

審議結果報告書

平成 30 年 2 月 8 日
医薬・生活衛生局医薬品審査管理課

[販 売 名] ゾフルーザ錠10 mg、同錠20 mg
[一 般 名] バロキサビル マルボキシル
[申 請 者 名] 塩野義製薬株式会社
[申 請 年 月 日] 平成 29 年 10 月 25 日

[審議結果]

平成 30 年 2 月 2 日に開催された医薬品第二部会において、本品目を承認して差し支えないとされ、薬事・食品衛生審議会薬事分科会に報告することとされた。

本品目は生物由来製品及び特定生物由来製品のいずれにも該当せず、再審査期間は 8 年、原体及び製剤は毒薬及び劇薬のいずれにも該当しないとされた。

[承認条件]

医薬品リスク管理計画を策定の上、適切に実施すること。

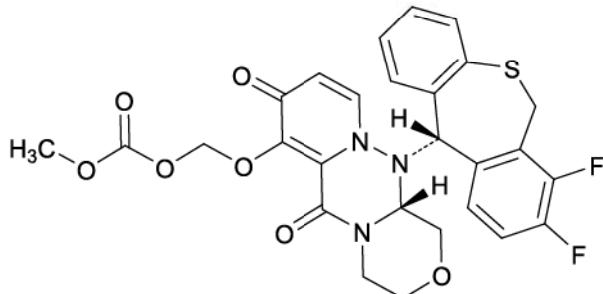
審査報告書

平成 30 年 1 月 17 日
独立行政法人医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医薬品にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下のとおりである。

記

- [販売名] ゾフルーザ錠 10 mg、同錠 20 mg
[一般名] バロキサビル マルボキシル
[申請者] 塩野義製薬株式会社
[申請年月日] 平成 29 年 10 月 25 日
[剤形・含量] 1錠中にバロキサビル マルボキシル 10 mg を含有する素錠（割線入り）
1錠中にバロキサビル マルボキシル 20 mg を含有するフィルムコーティング錠
[申請区分] 医療用医薬品（1）新有効成分含有医薬品
[化学構造]



分子式 : C₂₇H₂₃F₂N₃O₇S

分子量 : 571.55

化学名 :

(日本名) 炭酸({(12aR)-12-[(11S)-7,8-ジフルオロ-6,11-ジヒドロジベンゾ[b,e]チエピン-11-イル]-6,8-ジオキソ-3,4,6,8,12,12a-ヘキサヒドロ-1H-[1,4]オキサジノ[3,4-c]ピリド[2,1-f][1,2,4]トリアジン-7-イル}オキシ)メチルメチル

(英名) ({(12aR)-12-[(11S)-7,8-Difluoro-6,11-dihydridobenzo[b,e]thiepin-11-yl]-6,8-dioxo-3,4,6,8,12,12a-hexahydro-1H-[1,4]oxazino[3,4-c]pyrido[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl}oxy)methyl methyl carbonate

- [特記事項] 先駆け審査指定医薬品 [指定番号 : 先駆け審査（27薬）第3号、平成27年10月27日付け薬生審査発1027第1号]、医薬品先駆け総合評価相談実施品目
[審査担当部] 新薬審査第四部

[審査結果]

別紙のとおり、提出された資料から、本品目の A 型又は B 型インフルエンザウイルス感染症に対する有効性は示され、認められたベネフィットを踏まえると安全性は許容可能と判断する。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本品目については、下記の承認条件を付した上で、以下の効能又は効果並びに用法及び用量で承認して差し支えないと判断した。

[効能又は効果]

A 型又は B 型インフルエンザウイルス感染症

[用法及び用量]

- 通常、成人及び 12 歳以上の小児には、20 mg 錠 2 錠（バロキサビル マルボキシルとして 40 mg）を単回経口投与する。ただし、体重 80 kg 以上の患者には 20 mg 錠 4 錠（バロキサビル マルボキシルとして 80 mg）を単回経口投与する。
- 通常、12 歳未満の小児には、以下の用量を単回経口投与する。

体重	用量
40 kg 以上	20 mg 錠 2 錠（バロキサビル マルボキシルとして 40 mg）
20 kg 以上 40 kg 未満	20 mg 錠 1 錠（バロキサビル マルボキシルとして 20 mg）
10 kg 以上 20 kg 未満	10 mg 錠 1 錠（バロキサビル マルボキシルとして 10 mg）

[承認条件]

医薬品リスク管理計画を策定の上、適切に実施すること。

審査報告（1）

平成 29 年 12 月 13 日

本申請において、申請者が提出した資料及び医薬品医療機器総合機構における審査の概略等は、以下のとおりである。

申請品目

- [販 売 名] S-033188 錠 10 mg、同錠 20 mg (製造販売承認申請時)
 [一 般 名] バロキサビル マルボキシル
 [申 請 者] 塩野義製薬株式会社
 [申請年月日] 平成 29 年 10 月 25 日
 [剤形・含量] 1 錠中にバロキサビル マルボキシル 10 mg を含有する素錠 (割線入り)
 1 錠中にバロキサビル マルボキシル 20 mg を含有するフィルムコーティング錠

[申請時の効能・効果] A 型又は B 型インフルエンザウイルス感染症

[申請時の用法・用量]

1. 成人、12 歳以上の小児
 通常、バロキサビル マルボキシルとして 40 mg を単回経口投与する。
 ただし、体重 80 kg 以上の患者にはバロキサビル マルボキシルとして 80 mg を単回経口投与する。
2. 12 歳未満の小児
 通常、バロキサビル マルボキシルとして以下の用量を単回経口投与する。

体重	用量
40 kg 以上	40 mg
20 kg 以上 40 kg 未満	20 mg
10 kg 以上 20 kg 未満	10 mg
5 kg 以上 10 kg 未満	5 mg

[目 次]

1. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料等	3
2. 品質に関する資料及び機構における審査の概略	4
3. 非臨床薬理試験に関する資料及び機構における審査の概略	6
4. 非臨床薬物動態試験に関する資料及び機構における審査の概略	23
5. 毒性試験に関する資料及び機構における審査の概略	33
6. 生物薬剤学試験及び関連する分析法、臨床薬理試験に関する資料並びに機構における審査の概略	37
7. 臨床的有効性及び臨床的安全性に関する資料並びに機構における審査の概略	46
8. 機構による承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果及び機構の判断	68
9. 審査報告（1）作成時における総合評価	68

[略語等一覧]

別記のとおり。

1. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料等

パロキサビル マルボキシル（本薬、図 1）は塩野義製薬株式会社で創製された抗インフルエンザウイルス薬であり、小腸、血液及び肝臓等でアリルアセタミドデアセチラーゼ等により速やかに加水分解され、活性体 S-033447（図 2）となる。S-033447 は RNA ウィルスであるインフルエンザウイルスに感染した細胞内の宿主 pre-mRNA のキャップ構造を切断するエンドヌクレアーゼ活性を阻害する。この作用により、感染細胞内でのインフルエンザウイルス RNA の転写反応を阻害し、宿主内でのウイルス増殖を抑制すると考えられている。

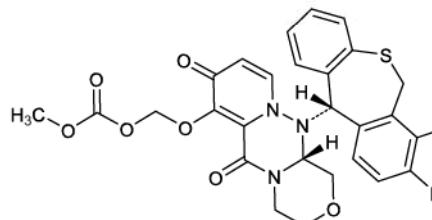


図 1 パロキサビル マルボキシルの構造式

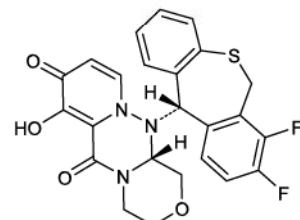


図 2 S-033447 の構造式

A 型又は B 型インフルエンザウイルス感染症は、飛沫感染により伝播する急性呼吸器感染症である。これらのウイルス感染後は 1~4 日の潜伏期間を経て、発熱、悪寒、頭痛、筋肉痛、食欲不振等の全身症状が発現する。近年の国内推定年間感染者数は約 1,500 万人であり、その半数程度が 14 歳以下である [http://www.nih.go.jp/niid/images/idsc/disease/influ/fludoco1516.pdf (最終確認日：平成 29 年 12 月)]。

現在、インフルエンザウイルス感染症に対する抗ウイルス薬として、本邦ではインフルエンザウイルス表面のノイラミニダーゼを阻害するオセルタミビルリン酸塩、ザナミビル水和物、ペラミビル水和物及びラニナミビルオクタン酸エステル水和物、並びにインフルエンザウイルス表面の M2 プロトショチャネルを阻害するアマンタジン塩酸塩及び RNA 依存性 RNA ポリメラーゼを阻害するリボシリル三リン酸体のプロドラッグであるファビピラビルが承認されている。しかしながら、アマンタジン塩酸塩製剤について、B 型インフルエンザウイルス感染症は未承認であり、近年では本邦でのインフルエンザウイルス感染症に対する臨床使用は限定的である。催奇形性リスクが懸念されるファビピラビル製剤は、效能又は効果が「新型又は再興型インフルエンザウイルス感染症（ただし、他の抗インフルエンザウイルス薬が無効又は効果不十分なものに限る。）」とされ、かつ厚生労働大臣の要請がない限りは、製造販売を行わないことが承認条件として付与されている。また、これ以外の国内外の日常診療で汎用されている既存の抗インフルエンザウイルス薬は、作用機序が類似しているため、各ノイラミニダーゼ阻害薬に交差耐性を有するウイルスがヒト社会に将来蔓延する可能性が懸念されている。

本薬は、既存の抗インフルエンザウイルス薬とは異なる薬理作用を有し、インフルエンザウイルス感染症患者を対象とした臨床試験（T0821 試験、T0831 試験及び T0822 試験）の成績等を踏まえ、A 型又は B 型インフルエンザウイルス感染症患者における有効性及び安全性が確認されたとして、今般、製造販売承認申請が行われた。

なお、製造販売承認申請後の審査過程で、本剤の販売名は「S-033188 錠 10 mg、S-033188 錠 20 mg」から「ゾフルーザ錠 10 mg、ゾフルーザ錠 20 mg」に変更された。

2. 品質に関する資料及び機構における審査の概略

2.1 原薬

2.1.1 特性

原薬は、白色～淡黄白色の粉末であり、性状、溶解性、吸湿性、熱分析、pH、酸解離定数、分配係数、旋光度、立体異性体、結晶多形について検討されている。原薬には3種の結晶形が認められるが、実生産では単独の結晶形のみが生成され、室温保存下では結晶形は安定であることが確認されている。

原薬は2つの不斉中心を有し、その化学構造は、元素分析、紫外可視吸収スペクトル、赤外吸収スペクトル、核磁気共鳴スペクトル (^1H NMR 及び ^{13}C NMR) 、質量スペクトル及びX線結晶構造解析により確認されている。

2.1.2 製造方法

原薬は、[REDACTED]

[REDACTED] 及び [REDACTED] を出発物質として合成される。

また、以下の検討等により、品質の管理戦略が構築されている。

- 重要品質特性として、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]を特定
- 品質リスクアセスメントに基づく重要工程パラメータの特定

重要工程として、中間体である [REDACTED]¹⁾、[REDACTED]²⁾ 及び [REDACTED]³⁾ の合成工程、並びに [REDACTED] の合成及び [REDACTED] 工程が設定されている。また、重要中間体として [REDACTED]、[REDACTED] 及び [REDACTED] が設定され、それぞれ管理項目及び管理値が設定されている。

2.1.3 原薬の管理

原薬の規格及び試験方法として、含量、性状、確認試験（紫外可視吸収スペクトル及び赤外吸収スペクトル）、純度試験〔類縁物質（液体クロマトグラフィー）、[REDACTED]（液体クロマトグラフィー）、残留溶媒（ガスクロマトグラフィー）〕、水分、強熱残分、[REDACTED]、定量法（液体クロマトグラフィー）が設定されている。

2.1.4 原薬の安定性

原薬の主な安定性試験は表1のとおりである。また、光安定性試験の結果、原薬は光に不安定であった。

表1 原薬の安定性試験

試験名	基準ロット	温度	湿度	保存形態	保存期間
長期保存試験	パイロット3ロット	30°C	65%RH	低密度ポリエチレン袋（二重）	12カ月
加速試験	パイロット3ロット	40°C	75%RH		6カ月

1) [REDACTED]

2) [REDACTED]

3) [REDACTED]

以上より、原薬のリテスト期間は、「安定性データの評価に関するガイドラインについて」（平成15年6月3日付け医薬品審査第0603004号）に基づき、二重のポリエチレン袋に入れ、これを金属缶又はファイバードラムに入れ、遮光下で室温保存するとき、■カ月と設定された。なお、原薬の長期保存試験は■カ月まで継続予定である。

2.2 製剤

2.2.1 製剤及び処方並びに製剤設計

製剤は、1錠中に原薬10mgを含有する割線を有する素錠、及び原薬20mgを含有するフィルムコーティング錠である。各製剤には、乳糖水和物、クロスカルメロースナトリウム、ポビドン、結晶セルロース、フマル酸ステアリルナトリウムが添加剤として含まれ、これに加えて20mg錠にはヒプロメロース、酸化チタン及びタルクが添加剤として含まれる。

2.2.2 製造方法

製剤は、■、■、■、■、■、打錠、■、■、コーティング（20mg錠のみ）、充てん、表示、包装、試験及び保管からなる工程により製造される。これらの工程のうち、■工程、■工程、■工程、■工程、■工程及び■工程が重要工程とされ、■工程、■工程及び■工程にはそれぞれ工程管理項目及び工程管理値が設定されている。

また、以下の検討等により、品質の管理戦略が構築されている。

- 重要品質特性として、■、■、■、■、■、■、■を特定
- 品質リスクアセスメント及び重要品質特性に及ぼす影響評価に基づく重要工程パラメータの特定

2.2.3 製剤の管理

製剤の規格及び試験方法として、含量、性状、確認試験（液体クロマトグラフィー／紫外吸収スペクトル）、純度試験〔類縁物質（液体クロマトグラフィー）〕、■、製剤均一性試験〔含量均一性試験（液体クロマトグラフィー）〕、■、溶出性（紫外可視吸光度測定法）、定量法（液体クロマトグラフィー）が設定されている。

2.2.4 製剤の安定性

製剤の主な安定性試験は表2のとおりである。また、光安定性試験の結果、10mg錠は光に不安定であったが、20mg錠は光に安定であった。

表2 製剤の安定性試験

試験名	基準ロット	温度	湿度	保存形態	保存期間
長期保存試験	10mg錠 パイロット3ロット	25°C	60%RH	PTP包装 (■)	12カ月
	20mg錠 実生産3ロット				
加速試験	10mg錠 パイロット3ロット	40°C	75%RH	+紙箱 (■)	6カ月
	20mg錠 実生産3ロット				

以上より、製剤の有効期間は、「安定性データの評価に関するガイドラインについて」（平成15年6月3日付け医薬審発第0603004号）に基づき、PTP（[REDACTED]）及び紙箱に包装し、室温保存するとき、24カ月と設定された。なお、10mg錠は遮光下で保存することとされている。製剤の長期保存試験は[REDACTED]カ月まで継続予定である。

2.R 機構における審査の概略

機構は、提出された資料及び以下の検討から、原薬及び製剤の品質は適切に管理されているものと判断した。

2.R.1 10 mg 錠の分割後の品質について

申請者は、割線入り10mg錠の分割後の品質について、以下のように説明している。

10mg錠を分割し、製剤均一性、溶出性及び安定性を評価した。10mg錠3ロットについて、錠剤5個を分割することにより得られた10個の0.5錠製剤の製剤均一性（含量均一性）を評価した結果、製剤均一性の判定値は[REDACTED]%であり、分割後も良好な均一性を示した。また、分割前後の溶出性を確認するため、10mg錠3ロットについて、0.5錠製剤2個と非分割の製剤（10mg錠1錠）を溶出試験法によって評価した結果、0.5錠製剤2個と非分割の製剤（10mg錠1錠）の[REDACTED]間の溶出率は、それぞれ[REDACTED]及び[REDACTED]%であり、両者は同等の溶出挙動を示した。さらに、分割後の安定性を確認するため、分割後の製剤を[REDACTED]、25°C/60%RH、遮光の条件下で[REDACTED]カ月間保存したところ、わずかに[REDACTED]が認められたものの、性状、純度試験の類縁物質、溶出性及び含量については、試験開始時から変化を認めなかった。

以上の結果から、10mg錠は分割後も適切な品質が担保されていると考える。

機構は、以上の申請者の説明について、特段の問題はないと判断した。

3. 非臨床薬理試験に関する資料及び機構における審査の概略

本薬の薬理作用は、効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験において、検討された。また、3.1.4項において、特に記載のない限り、溶媒には0.5%（w/v）メチルセルロース水溶液が用いられた。

3.1 効力を裏付ける試験

3.1.1 作用機序

3.1.1.1 インフルエンザウイルスのキャップ依存性エンドヌクレアーゼ活性に対するS-033447の阻害作用（CTD 4.2.1.1-01）

A型（4株）及びB型（3株）インフルエンザウイルスより抽出したリボ核タンパク質複合体を用いて、A型及びB型インフルエンザウイルスのキャップ依存性エンドヌクレアーゼ活性に対するS-033447及びスラミンナトリウム塩⁴⁾の阻害作用について、キャップ依存性エンドヌクレアーゼ活性産物（RNAフラグメント量）を指標として検討された。結果は表3のとおりであった。

⁴⁾ 種々のウイルス由来酵素を非特異的に阻害することが知られている化合物（PLoS Pathog 2013; 8: e58010、Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 9742-7）。

表3 A型及びB型インフルエンザウイルス由来キャップ依存性エンドヌクレアーゼ活性に対するS-033447及びスラミンナトリウム塩の阻害作用

型／亜型	株	IC ₅₀ (nmol/L)	
		S-033447	スラミンナトリウム塩
A/H1N1	A/WSN/33	1.4	22.0×10 ³
A/H1N1	A/PR/8/34	2.7	70.0×10 ³
A/H3N2	A/Victoria/3/75	2.3	96.0×10 ³
A/H3N2	A/Hong Kong/8/68	3.1	150×10 ³
B	B/Maryland/1/59	8.9	37.0×10 ³
B	B/Hong Kong/5/72	5.1	34.0×10 ³
B	B/Lee/40	4.5	33.0×10 ³
平均値			

3.1.1.2 A型インフルエンザウイルス遺伝子の転写反応に対する本薬及びS-033447の阻害作用(CTD 4.2.1.1-02)

A型インフルエンザウイルス株(A/WSN/33)由来の組換えRNAポリメラーゼ複合体を用いて、RNAポリメラーゼ複合体が有するキャップ依存性エンドヌクレアーゼ活性、RdRp活性及びキャップ依存性エンドヌクレアーゼとRdRpが順次反応するキャップ依存性エンドヌクレアーゼ/RdRp活性をそれぞれ測定する試験系において、S-033447、本薬及びスラミンナトリウム塩⁴⁾のインフルエンザウイルス遺伝子の転写反応に対する阻害作用が検討された。S-033447のキャップ依存性エンドヌクレアーゼ活性、RdRp活性及びキャップ依存性エンドヌクレアーゼ/RdRp活性に対するIC₅₀はそれぞれ2.5、>40及び1.6 nmol/Lであった。一方、本薬のIC₅₀はそれぞれ530、>5.0×10³及び340 nmol/Lであった。なお、スラミンナトリウム塩のIC₅₀は、それぞれ11×10³、5.7×10³及び7.4×10³ nmol/Lであった。

以上の結果より、申請者は、本薬のキャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害活性はS-033447よりも低く、加水分解されたS-033447がキャップ依存性エンドヌクレアーゼ活性を阻害することでインフルエンザウイルス遺伝子の転写反応を阻害すると説明している。

3.1.1.3 A型インフルエンザウイルス感染細胞におけるS-033447のウイルス遺伝子転写反応に対する阻害作用(CTD 4.2.1.1-23)

A型インフルエンザウイルス(A/WSN/33)を感染させたMDCK細胞を用いて、S-033447及びファビピラビル存在下で培養し、感染6時間後の細胞内のウイルスmRNA量を指標に、S-033447及びファビピラビルの転写反応阻害作用が検討された。被験薬非存在下と比較して、mRNA量を1/10に抑制するために必要なS-033447及びファビピラビルの濃度(EC₉₀)は、それぞれ5.27及び332×10³ nmol/Lであった。なお、ヒト血清がS-033447及びファビピラビルのウイルス遺伝子転写反応阻害作用に及ぼす影響が検討されたが、いずれもヒト血清濃度と比例した関係での変動は認められず、阻害作用にほとんど影響を及ぼさなかった。

3.1.2 *in vitro* 抗ウイルス活性

3.1.2.1 インフルエンザウイルスに対するS-033447の*in vitro* 抗ウイルス活性

3.1.2.1.1 A型及びB型インフルエンザウイルスに対するS-033447のウイルス放出抑制効果(CTD 4.2.1.1-03、4.2.1.1-04)

A型又はB型インフルエンザウイルス(実験室保存株及び臨床分離株)を感染させたMDCK細胞を用いて、各被験薬存在下でそれぞれ24又は30時間培養した後の培養上清が回収された。回収された培養上清をMDCK細胞に添加し、培養3日後の細胞変性効果を指標として、ウイルス力価(TCID₅₀)

が測定された。各被験薬非存在下と比較して、力値を 1/10 に抑制するために必要な各被験薬の濃度が EC₉₀ とされ、結果は表 4 のとおりであった。

表 4 A 型及び B 型インフルエンザウイルスに対する各被験薬のウイルス放出抑制効果

型／亜型	株	EC ₉₀ (nmol/L)				
		S-033447	ファビピラビル	オセルタミビル活性体	ザナミビル水和物	ラニナミビル
実験室株						
A/H1N1	A/WSN/33	0.79	3.78×10^3	161	233	17.7
A/H1N1	A/WSN/33-NA/H274Y ^{a)}	0.46	3.14×10^3	> 400	198	19.1
A/H1N1	A/PR/8/34	0.79	3.94×10^3	181	170	9.03
A/H3N2	A/Victoria/3/75	0.98	4.81×10^3	64.6	202	45.0
A/H3N2	A/Hong Kong/8/68	0.64	2.94×10^3	44.2	98.1	23.2
B	B/Maryland/1/59	3.08	2.71×10^3	246	59.6	20.9
B	B/Hong Kong/5/72	2.21	1.80×10^3	538	178	40.5
B	B/Lee/40	3.40	3.73×10^3	372	249	46.0
臨床分離株 (2006 年から 2013 年に国内で分離された臨床分離株)						
A/H1N1	A/Kadoma/3/2006	0.88	3.42×10^3	—	—	—
A/H1N1	A/Osaka/129/2009	0.86	4.18×10^3	—	—	—
A/H1N1	A/Osaka/180/2009 ^{a)}	0.95	3.95×10^3	—	—	—
A/H3N2	A/Hokkaido/12H048/2013	0.63	3.34×10^3	—	—	—
A/H3N2	A/Niigata/12F392/2013	0.87	1.90×10^3	—	—	—
B	B/Hokkaido/11H011/2012	6.48	1.74×10^3	—	—	—
B	B/Gunma/12G045/2013	6.10	2.59×10^3	—	—	—

平均値

— : 未検討

a) NA 阻害薬に対する耐性変異である NA/H274Y を有する株

3.1.2.1.2 A 型及び B 型インフルエンザウイルスに対する S-033447 のpla-que 形成抑制効果 (CTD 4.2.1.1-05、4.2.1.1-06、4.2.1.1-07、5.3.5.2-01)

A 型及び B 型インフルエンザウイルス（実験室保存株、臨床分離株及びワクチン株）を感染させた MDCK 細胞を用いて、S-033447 又はファビピラビル存在下で 3 日間培養した後に形成されたpla-que 数を指標として、S-033447 及びファビピラビルのウイルス増殖抑制効果が検討された。被験薬非存在下と比較してpla-que 数を 50% 抑制するために必要な被験薬の濃度が EC₅₀ とされ、結果は表 5 のとおりであった。

表 5 A 型及び B 型インフルエンザウイルスに対する S-033447 及びファビピラビルのpla-que 形成抑制効果

型／亜型	株	EC ₅₀ (nmol/L)	
		S-033447	ファビピラビル
実験室株			
A/H1N1	A/WSN/33	0.76	20.2×10^3
A/H1N1	A/WSN/33-NA/H274Y	0.49	19.7×10^3
A/H3N2	A/Victoria/3/75	0.76	10.6×10^3
A/H3N2	A/Hong Kong/8/68	0.35	5.06×10^3
B	B/Maryland/1/59	4.85	21.1×10^3
B	B/Hong Kong/5/72	4.33	15.8×10^3
臨床分離株 (2006 年から 2014 年に国内で分離された臨床分離株)			
A/H1N1	A/Kadoma/3/2006	0.94	15.9×10^3
A/H1N1	A/Osaka/129/2009	0.26	6.00×10^3
A/H1N1	A/Osaka/180/2009 ^{a)}	0.48	7.78×10^3
A/H1N1	A/Nagasaki/10N073/2011	0.20	7.11×10^3
A/H1N1	A/Kyoto/10K124/2011 ^{a)}	0.35	7.52×10^3
A/H1N1	A/Kyoto/10K118/2011	0.80	9.29×10^3
A/H1N1	A/Hokkaido/13H020/2014	0.99	5.70×10^3
A/H1N1	A/Nagasaki/13N019/2014	0.52	5.21×10^3
A/H1N1	A/Nagasaki/13N059/2014 ^{a)}	0.66	5.53×10^3
A/H1N1	A/Hokkaido/07H002/2008	1.55	12.4×10^3
A/H1N1	A/Nagasaki/07N020/2008 ^{a)}	0.73	9.79×10^3
A/H3N2	A/Hyogo/10K051/2011	0.66	8.58×10^3

型／亜型	株	EC ₅₀ (nmol/L)	
		S-033447	ファビピラビル
A/H3N2	A/Niigata/10F017/2011	0.43	10.9×10^3
A/H3N2	A/Niigata/11F027/2012	0.90	10.0×10^3
A/H3N2	A/Tokyo/11IM003/2012	0.49	8.61×10^3
A/H3N2	A/Hokkaido/12H048/2013	0.56	20.1×10^3
A/H3N2	A/Niigata/12F392/2013	0.68	11.0×10^3
A/H3N2	A/Kyoto/13SK042/2014	0.49	9.93×10^3
A/H3N2	A/Nagasaki/13N033/2014	0.42	6.25×10^3
A/H3N2	A/Niigata/05F067/2006	0.38	8.47×10^3
A/H3N2	A/Nagasaki/05N007/2006	0.80	5.60×10^3
A/H3N2	A/Kyoto/06K110/2007	0.55	7.40×10^3
B	B/Kyoto/10K131/2011	4.01	5.39×10^3
B	B/Hokkaido/11H011/2012	5.28	7.96×10^3
B	B/Gunma/12G045/2013	5.04	6.55×10^3
B	B/Gunma/13G004/2014	11.3	7.21×10^3
B	B/Niigata/06F075/2007	4.72	9.12×10^3
B	B/Gunma/06G040/2007	5.97	8.70×10^3
B	B/Kyoto/08K015/2009	5.04	5.06×10^3
B	B/Kyoto/11K272/2012	4.39	3.84×10^3
B	B/Nagasaki/13N013/2013	4.03	7.86×10^3
B	B/Niigata/13F044/2014	3.33	2.38×10^3
B	B/Kyoto/13K042/2014	5.96	8.53×10^3
ワクチン株			
A/H1N1	A/Brisbane/59/2007	1.85	11.8×10^3
A/H1N1	A/California/7/2009	1.18	12.4×10^3
A/H3N2	A/Victoria/361/2011	1.87	11.4×10^3
A/H3N2	A/New York/39/2012	0.74	11.0×10^3
A/H3N2	A/Texas/50/2012	1.00	12.9×10^3
A/H3N2	A/Switzerland/9715293/2013	1.04	10.4×10^3
B	B/Phuket/3073/2013	9.24	13.9×10^3
B	B/Malaysia/2506/2004	12.3	13.6×10^3
B	B/Brisbane/60/2008	10.6	9.60×10^3
B	B/Wisconsin/1/2010	13.0	9.45×10^3
B	B/Massachusetts/2/2012	9.53	9.40×10^3
B	B/Texas/2/2013	11.9	8.82×10^3

平均値

a) NA 阻害薬に対する耐性変異である NA/H274Y を有する株

3.1.2.1.3 国内臨床試験（T0821 試験及び T0822 試験）及び国際共同第Ⅲ相試験（T0831 試験）におけるインフルエンザウイルスの臨床分離株に対する S-033447 の抗ウイルス活性（CTD 5.3.5.2-01、5.3.5.4-05、5.3.5.4-06、5.3.5.4-17）

成人患者を対象とした国内第Ⅱ相試験（T0821 試験）において、治験薬投与前に臨床分離されたウイルス株を MDCK-SIAT1 細胞を用いて増幅し、プラークアッセイ法により S-033447 の抗ウイルス活性が検討された。その結果、T0821 試験で分離されたウイルスの型／亜型別の EC₅₀（中央値）は、A/H1N1pdm 亜型 1.40 nmol/L、A/H3N2 亜型 1.05 nmol/L、B 型 6.90 nmol/L であり、対照ウイルス [A 型 : A/Victoria/361/2011 (H3N2)、B 型 : B/Wisconsin/1/2010] の EC₅₀ との比（中央値）は、A/H1N1pdm 亜型 2.13、A/H3N2 亜型 1.32、B 型 2.33 であった。対照ウイルスに対する投与前のウイルスの EC₅₀ の比が 10 を超えた試料のうち、A/H1N1pdm 亜型の 2 例において、特徴的なアミノ酸変異（A36V 及び I545T）が認められた。これらのアミノ酸変異が S-033447 の薬剤感受性に及ぼす影響について、リバースジェネティクス法により組換えたウイルスを用いて検討した結果、対照ウイルス [rgA/WSN/33 (A/H1N1pdm 亜型)] に対する組換えウイルス (A36V 及び I545T) の EC₅₀ の比はそれぞれ 3.59 及び 0.73 であった。

12 歳未満の患者を対象とした国内試験（T0822 試験）において、治験薬投与前に臨床分離されたウイルス株を MDCK 細胞を用いて増幅し、[REDACTED] アッセイにより S-033447 の抗ウイルス活性が検討

された。その結果、ウイルスの型／亜型別の EC₅₀（中央値）は、A/H1N1pdm 亜型 17.96 nmol/L、A/H3N2 亜型 4.48 nmol/L、B 型 18.67 nmol/L であり、対照ウイルス [A 型 : A/Victoria/361/2011 (H3N2)、B 型 : B/Wisconsin/1/2010] の EC₅₀ との比（中央値）は、A/H1N1pdm 亜型 3.2、A/H3N2 亜型 0.9、B 型 1.2 であった。なお、対照ウイルスに対する投与前のウイルスの EC₅₀ の比が 10 を超えた試料は認められなかった。

12 歳以上の患者を対象とした国際共同第Ⅲ相試験 (T0831 試験) において、治験薬投与前に臨床分離されたウイルス株を MDCK 細胞を用いて増幅し、[REDACTED] アッセイにより S-033447 の抗ウイルス活性が検討された。その結果、T0831 試験で分離されたウイルスの型／亜型別の EC₅₀（中央値）は、A/H1N1pdm 亜型 13.8 nmol/L、A/H3N2 亜型 4.94 nmol/L、B 型 52.6 nmol/L であり、対照ウイルス [A 型 : A/Victoria/361/2011 (H3N2)、B 型 : B/Wisconsin/1/2010] の EC₅₀ との比（中央値）は、A/H1N1pdm 亜型 2.4、A/H3N2 亜型 0.9、B 型 1.2 であった。なお、対照ウイルスに対する投与前のウイルスの EC₅₀ の比が 10 を超えた試料が 1 例に認められた。

3.1.2.1.4 S-033447 及び NA 阻害薬の併用効果 (CTD 4.2.1.1-08)

A 型インフルエンザウイルス株 (A/PR/8/34) を感染させた MDCK 細胞を用いて、ウイルス増殖に起因する細胞変性を指標として、S-033447 と NA 阻害薬の併用効果が検討された。結果は表 6 のとおりであり、S-033447 は NA 阻害薬と併用することにより相乗的なウイルス増殖抑制効果を示す、と申請者は説明している。

表 6 S-033447 及び NA 阻害薬の併用効果

型／亜型	株	被験薬	CI (Combination index) ^{a)}	併用効果 ^{b)}
A/H1N1	A/PR/8/34	S-033447／オセルタミビル活性体	0.49	相乗効果
		S-033447／ザナミビル水和物	0.52	相乗効果
		S-033447／ラニナミビル	0.58	相乗効果
		S-033447／ペラミビル水和物	0.59	相乗効果

a) Chou-Talalay method に基づき、併用する各薬剤の EC₅₀ に近い割合で混合し、2 剤のウイルス増殖抑制効果に対する寄与が概ね同等となる条件下で得られる阻害効果を基に算出された。(Adv Enzyme Regul 1984; 22: 27-55)

b) CI≤0.8 のとき相乗効果、0.8<CI<1.2 のとき相加効果、CI≥1.2 のとき拮抗効果と定義。

3.1.2.2 季節性以外のインフルエンザウイルスに対する S-033447 の *in vitro* 抗ウイルス活性

3.1.2.2.1 高病原性鳥インフルエンザウイルス (A/H5N1) 及び鳥インフルエンザウイルス (A/H7N9) に対する S-033447 のウイルス放出抑制効果 (CTD 4.2.1.1-15、4.2.1.1-16)

ヒトから分離された A/H5N1 亜型の高病原性インフルエンザウイルス (A/Hong Kong/483/97) 及び A/H7N9 亜型の鳥インフルエンザウイルス (A/Anhui/1/2013) 並びにリバースジエネティクス法により作製した NA/H274Y 又は NA/R292K を有する組換えウイルス (A/Hong Kong/483/97-NA/H274Y 又は A/Anhui/1/2013-NA/R292K) を感染させた MDCK 細胞を用いて、S-033447 及びオセルタミビル活性体存在下で 24 時間培養し、培養上清が採取された。採取された培養上清を MDCK 細胞に接種し、培養 3 日後の細胞変性を指標として、ウイルス力価 (TCID₅₀) が測定された。各被験薬非存在下と比較して、力価を 1/10 に抑制するために必要な各被験薬の濃度が EC₉₀ とされ、結果は表 7 のとおりであった。

表7 高病原性鳥インフルエンザウイルス（A/H5N1）及び鳥インフルエンザウイルス（A/H7N9）に対するS-033447及びオセルタミビル活性体のウイルス放出抑制効果

型／亜型	株	EC ₉₀ (nmol/L)	
		S-033447	オセルタミビル活性体
A/H5N1	A/Hong Kong/483/97	1.64	11.2
A/H5N1	A/Hong Kong/483/97-NA/H274Y	3.16	4.05×10 ³
A/H7N9	A/Anhui/1/2013	0.80	15.4
A/H7N9	A/Anhui/1/2013-NA/R292K	1.12	142×10 ³
平均値			

3.1.2.2.2 動物由来インフルエンザウイルスに対するS-033447のウイルス放出抑制効果(CTD 4.2.1.1-17)

動物（ブタ、ニワトリ及びアヒル）から分離された5種のA型インフルエンザウイルスを感染させたMDCK細胞を用いて、S-033447又はファビピラビル存在下で24時間培養し、培養上清が回収された。回収された培養上清をMDCK細胞に添加し、培養3日後の細胞変性を指標として、ウイルス力価(TCID₅₀)が測定された。各被験薬非存在下と比較して、力価を1/10に抑制するために必要な各被験薬の濃度がEC₉₀とされ、結果は表8のとおりであった。

表8 動物由来インフルエンザウイルスに対するS-033447及びファビピラビルのウイルス放出抑制効果^{a)}

型／亜型	株	EC ₉₀ (nmol/L)	
		S-033447	ファビピラビル
A/H1N2	A/swine/Chiba/14/2012	1.20	25.3×10 ³
A/H5N2	A/chicken/Taiwan/K703-1/2008	0.96	21.9×10 ³
A/H5N6	A/duck/Vietnam/HU4-879/2015	0.73	20.5×10 ³
A/H9N2	A/chicken/Vietnam/HU1-1050/2014	0.79	29.3×10 ³
A/H9N2	A/duck/Vietnam/HU1-1512/2014	0.96	12.6×10 ³
平均値			

a) 対照【季節性インフルエンザウイルス A/PR/8/34 株】に対するS-033447及びファビピラビルのEC₉₀はそれぞれ0.66及び14.4×10³ nmol/Lであった。

3.1.3 耐性ウイルスの選択について

3.1.3.1 A型インフルエンザウイルス(H1N1)のS-033447に対する耐性ウイルスの選択(CTD 4.2.1.1-09、4.2.1.1-10、4.2.1.1-11、4.2.1.1-12)

A型インフルエンザウイルス A/WSN/33 株 (H1N1) を感染させたMDBK細胞を用いて、S-033447 (0.02、0.1、0.5、2.5 又は 12.5 nmol/L) 存在下 (各濃度3試料) で培養を開始し、3日間の培養を1継代として、継代毎に薬剤濃度を2倍ずつ増加し、一定の感染力価 (0.01 plaque forming unit/cell) で継代培養された。ウイルスの薬剤感受性変化及びPA遺伝子解析は、MDBK細胞を用いて培養上清中のウイルスを被験薬非存在下で増幅した後、plaquer形成抑制試験及びサンガーフラート法によりそれぞれ検討された。その結果、15試料のうち、2.5及び12.5 nmol/Lで培養した5試料は最初の継代で、残り10試料は10継代までに継代不能となった (最終薬剤濃度 12.8 nmol/L以下)。0.02 nmol/Lで培養開始後8及び9代目の試料並びに0.10 nmol/Lで培養開始後6及び7代目の試料で22.5～41.4倍の薬剤感受性の低下が認められ、それら全ての株でPA/I38T 変異⁵⁾が認められた。

耐性ウイルス分離試験で得られたPA/I38T 変異を有するウイルス株 (A/WSN/33-P9-6-1 及びA/WSN/33-P7-9-1)、リバースジェネティクス法により作製したPA/I38T 変異を有する組換えウイルス株 (rgA/WSN/33-PA/I38T) 及びその親株を各種細胞に感染させ、培養上清中のウイルス力価(TCID₅₀)

⁵⁾ ウィルス増殖操作に伴う遺伝子変異体の見落としを避けるため、試料中に含まれるインフルエンザウイルスを增幅せずにサンガーフラート法による遺伝子解析を再度実施した結果、4検体のうち1検体はPA/I38L/Tとして検出されたが、それ以外の変異体は全てPA/I38Tであり、新たなアミノ酸変異は検出されなかった。

を指標として、PA/I38T 変異を有することによるウイルスの増殖性に対する影響が検討された。結果は表 9 のとおりであった。

表 9 各種培養細胞におけるウイルス増殖初期過程の培養上清中のウイルス力価

型／亜型	株	ウイルス力価 (\log_{10} TCID ₅₀ /mL) ^{a)}			
		MDBK 細胞	MDCK 細胞	RPMI2650 細胞	A549 細胞
A/H1N1	A/WSN/33 (野性型)	4.67	6.72	4.48	2.91
	A/WSN/33-NA/H274Y	4.22	6.00	3.83	3.50
	A/WSN/33-P9-6-1	3.72	4.83	2.85	1.56
	A/WSN/33-P7-9-1	3.83	2.56	2.80	1.50
	rgA/WSN/33 (野性型)	4.00	5.06	4.33	4.72
	rgA/WSN/33-PA/I38T	3.28	3.72	3.06	3.59

平均値

A549 細胞：ヒト肺腺癌由来細胞

a) MDBK 細胞、MDCK 細胞及び RPMI2650 細胞は培養 24 時間後、A549 細胞は培養 36 時間後の培養上清中のウイルス力価が測定された。

耐性ウイルス分離試験で得られた PA/I38T 変異を有するウイルス株 (A/WSN/33-P9-6-1) 、リバースジェネティクス法により作製した PA/I38T 変異を有する組換えウイルス株 (rgA/WSN/33-PA/I38T) 及びその親株を感染させた MDCK 細胞を用いて、S-033447 及びファビピラビル存在下で 24 時間培養し、培養上清が回収された。回収された培養上清を MDCK 細胞に添加し、培養 3 日後の細胞変性効果を指標として、ウイルス力価 (TCID₅₀) が測定された。各被験薬非存在下と比較して、力価を 1/10 に抑制するために必要な各被験薬の濃度が EC₉₀ とされ、結果は表 10 のとおりであった。

表 10 PA/I38T 変異を有する A/WSN/33 株に対する S-033447 及びファビピラビルのウイルス放出抑制効果

型／亜型	株	EC ₉₀ (nmol/L)	
		S-033447	ファビピラビル
A/H1N1	A/WSN/33 (野性型)	0.82	4.54×10^3
	A/WSN/33-P9-6-1	29.5	2.00×10^3
	rgA/WSN/33 (野性型)	0.47	3.75×10^3
	rgA/WSN/33-PA/I38T	15.6	4.23×10^3

平均値

3.1.3.2 A 型インフルエンザウイルス (H3N2) の S-033447 に対する耐性ウイルスの選択 (CTD 4.2.1.1-13)

A 型インフルエンザウイルス A/Victoria/3/75 株 (H3N2) を感染させた MDCK 細胞を用いて、S-033447 (0.02、0.1、0.5、2.5 又は 12.5 nmol/L) 存在下 (各濃度 3 試料) で培養を開始し、3 日間の培養を 1 継代として、継代毎に薬剤濃度を 2 倍ずつ増加し、一定の感染力価 (0.01 plaque forming unit/cell) で継代培養された。ウイルスの薬剤感受性変化及び PA 遺伝子解析は、ウイルスを增幅せず、plaquer を免疫染色法にて検出する試験方法⁶⁾ 及びサンガーフラッシュ法によりそれぞれ検討された。その結果、15 試料のうち、12.5 nmol/L で培養した 2 試料は最初の継代で、残り 13 試料は 8 継代までに継代不能となった (最終薬剤濃度 25 nmol/L 以下)。0.1 nmol/L で培養開始後 2~4 代目及び 5 代目の 2 試料で PA/K362K/R、0.5 nmol/L で培養開始後 4 代目の 1 試料で PA/I38I/T、12.5 nmol/L で培養開始後 1 代目の 1 試料で PA/E199G のアミノ酸変異がそれぞれ検出された。これらの変異株の S-033447 に対する薬剤感受性は、親株と比較してそれぞれ 1~1.1 倍、34.9 倍、及び 3.2 倍の低下が認められた。アミノ酸変異体が混在している PA/K362K/R 及び PA/I38I/T を含む試料を S-033447 存在下で培養した結果、PA/I38T を有する 5 株が得られ、これらの変異株の S-033447 に対する薬剤感受性は、親株と比較して 31.8~105.6 倍の低下が認められた。

⁶⁾ 試料中に含まれるインフルエンザウイルスにアミノ酸変異体が混在している場合は、S-033447 存在下でウイルスを増幅し、アミノ酸変異体を単離後、薬剤感受性試験が実施された。

3.1.3.3 B型インフルエンザウイルスのS-033447に対する耐性ウイルスの選択（CTD 4.2.1.1-14）

B型インフルエンザウイルスB/Maryland/1/59株を感染させたMDCK細胞を用いて、S-033447(0.2、1、5、25又は125 nmol/L)存在下(各濃度3試料)で培養を開始し、3日間の培養を1継代として、継代毎に薬剤濃度を2倍ずつ増加させ、一定の感染力値(0.01 plaque forming unit/cell)で継代培養された。PA遺伝子解析はウイルスを增幅せずにサンガーフラクタ法により検討された。その結果、15試料のうち、125 nmol/Lで培養した3試料は最初の継代で、残り12試料は8継代までに継代不能となり(最終薬剤濃度50 nmol/L以下)、またいずれの試料からもPA遺伝子のアミノ酸変異は認められなかった。

3.1.3.4 国内臨床試験(T0821試験及びT0822試験)及び国際共同第Ⅲ相試験(T0831試験)におけるS-033447耐性株の発現状況（CTD 5.3.5.1-02、5.3.5.2-01、5.3.5.4-06、5.3.5.4-08、5.3.5.4-09、5.3.5.4-10、5.3.5.4-11、5.3.5.4-12）

成人患者を対象とした国内第Ⅱ相試験(T0821試験)において、本薬が投与された患者のうち、投与前後に塩基配列解析が可能であった182例から採取した試料を用いて、サンガーフラクタ法によりPA領域の塩基配列が解析された。その結果、本薬投与後のPA領域のアミノ酸変異が5例[A/H1N1pdm亜型:I38T 2例及びI38F 2例、B型:R548G (R548Rを含む)]に認められた。さらに投与後にウイルス力値が前評価時点より増加が認められた8例のうち、A/H1N1pdm亜型1例でE23Kのアミノ酸変異が認められた。これら6例で認められたアミノ酸変異がS-033447の薬剤感受性に及ぼす影響について、リバースジエネティクス法により組換えたウイルスを用いて検討した。その結果、対照ウイルス[A型:rgA/WSN/33(H1N1)、B型:rgB/Maryland/1/59]に対する組換えウイルスのS-033447のEC₅₀の比は、A/H1N1pdm亜型I38Tでは27.24、I38Fでは10.61、E23Kでは4.74、B型のR548Gでは0.88であった。一方、これらのアミノ酸変異はオセルタミビル活性体の感受性に影響を及ぼさなかった。

12歳未満の患者を対象とした国内試験(T0822試験)において、本薬の投与前後に塩基配列解析が可能であった77例から採取した試料を用いて、サンガーフラクタ法によりPA領域の塩基配列が解析された。その結果、本薬投与後のPA領域のアミノ酸変異が15例[A/H3N2亜型:I38T 12例(I38Iとの混合4例含む)及びI38M 3例(I38Iとの混合1例を含む)]に認められた。さらに投与後にウイルス力値が前評価時点より増加が認められた25例のうち、A/H3N2亜型3例でI38T(I38Iとの混合1例を含む)のアミノ酸変異が認められた。A/H3N2亜型におけるI38のアミノ酸変異がS-033447の薬剤感受性に及ぼす影響について、リバースジエネティクス法により組換えたウイルスを用いて検討した。その結果、対照ウイルス[A型:rgA/Victoria/3/75(H3N2)]に対する組換えウイルスのS-033447のEC₅₀の比は、A/H3N2亜型のI38Tでは56.59、I38Mでは13.77であった。一方、これらのアミノ酸変異はオセルタミビル活性体の感受性に影響を及ぼさなかった。

12歳以上の患者を対象とした国際共同第Ⅲ相試験(T0831試験)において、本薬の投与前後に塩基配列解析が可能であった370例から採取した試料を用いて、サンガーフラクタ法によりPA領域の塩基配列が解析された。その結果、I38のアミノ酸変異が36例[A/H3N2亜型のI38Tが35例(I38Iとの混合3

例、並びに I38T/T⁷⁾、I38I 及び I38M との混合 2 例を含む)、I38M が 1 例 (I38I との混合)、B 型の I38T が 1 例 (I38I との混合、A/H3N2 亜型の I38T 及び I38I との混合例と同一例)] に認められた。

I38 のアミノ酸変異がウイルスの増殖性に及ぼす影響について、MDCK 細胞又は RPMI2650 細胞を用いて、感染後 24 又は 48 時間におけるウイルス力値を指標に検討された。結果は表 11 のとおりであった。

表 11 ウィルスの増殖性に及ぼすアミノ酸変異の影響

株	ウイルス力値 (\log_{10} TCID ₅₀ /mL)	
	MDCK 紹介	RPMI2650 紹介
rgA/WSN/33 (H1N1)	5.56	7.06
rgA/WSN/33-PA/I38T (H1N1)	2.78	5.17
rgA/WSN/33-PA/I38F (H1N1)	3.28	5.19
rgA/WSN/33-PA/I38M (H1N1)	3.89	5.91
rgA/Victoria/3/75 (H3N2)	5.83	3.63
rgA/Victoria/3/75-PA/I38T (H3N2)	4.11	1.83
rgA/Victoria/3/75-PA/I38F (H3N2)	4.56	1.56
rgA/Victoria/3/75-PA/I38M (H3N2)	5.06	1.94
rgB/Maryland/1/59	4.06	3.91
rgB/Maryland/1/59-PA/I38T	3.94	3.61
rgB/Maryland/1/59-PA/I38F	3.33	2.44
rgB/Maryland/1/59-PA/I38M	4.50	4.35
平均値		

また、臨床試験で認められた I38 のアミノ酸変異が臨床症状（インフルエンザウイルス症状及び発熱）⁸⁾に与える影響を検討するため、各試験について、I38 のアミノ酸変異の有無別の臨床症状の有無を評価した結果、I38 のアミノ酸変異の有無と臨床症状との関連は認められなかった(7.R.2.4 参照)。

3.1.4 *in vivo* 抗ウイルス活性

3.1.4.1 インフルエンザウイルスに対する S-033447 の *in vivo* 抗ウイルス活性

3.1.4.1.1 マウス感染モデルにおける肺内ウイルスの増殖抑制 (CTD 4.2.1.1-19、4.2.1.1-20、4.2.1.1-21)

A 型インフルエンザウイルス A/WSN/33 株 (H1N1) [2.0 \log_{10} (1.00×10²) TCID₅₀ (非致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した 5 日後、本薬 [0 (溶媒)、0.5、1.5、5、15 又は 50 mg/kg BID] 及びオセルタミビルリン酸塩 [5 (臨床用量に相当) 又は 50 mg/kg BID] を 1 日間経口投与し、24 時間後の肺内ウイルス力値が検討された。本薬の 0.5~50 mg/kg BID 群では用量依存的な肺内ウイルス力値の低下が認められ、1.5 mg/kg BID 以上の投与では、オセルタミビルリン酸塩 5 及び 50 mg/kg BID 群と比較して、肺内ウイルス力値の低下が認められた。本薬 (1.5 mg/kg BID) 1 日間投与群の肺内ウイルス力値は、オセルタミビルリン酸塩 (5 mg/kg BID) 1 日間投与群と比較して、0.99 \log_{10} TCID₅₀/mL 低かった。さらに同感染モデルに、ラニナミビルオクタン酸エステル[1(臨床用量に相当) 又は 3 mg/kg QD] を 1 日間経鼻投与、ザナミビル水和物 (10 mg/kg BID) を 1 日間経鼻投与、若しくはファビピラビル (50 又は 150 mg/kg BID) を 1 日間経口投与したときの 24 時間後の肺内ウイルス力値は、本薬 5 mg/kg BID 群における 24 時間後の肺内ウイルス力値より高かった。

A 型インフルエンザウイルス A/Hong Kong/8/68 株 (H3N2) [2.0 \log_{10} (1.00×10²) TCID₅₀ (非致死量)] 又は B 型インフルエンザウイルス B/Hong Kong/5/72 株 [2.6 \log_{10} (4.00×10²) TCID₅₀ (非致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した 5 日後、本薬 [0 (溶媒)、0.5、1.5、5、15 又は 50 mg/kg

⁷⁾ トレオニンのコドンが異なる

⁸⁾ インフルエンザ症状は治験薬投与から 5 日目又は 6 日目以降に中等度以上の咳、鼻づまりが 21.5 時間以上持続と定義し、発熱は 5 日目又は 6 日目以降に 37.5°C 以上が 12 時間以上持続と定義した。

BID] 若しくはオセルタミビルリン酸塩 [5 (臨床用量に相当) 又は 50 mg/kg BID] を 1 日間経口投与し、24 時間後の肺内ウイルス力価が検討された。いずれの感染マウスにおいても、本薬 0.5~50 mg/kg BID 群では用量依存的な肺内ウイルス力価の低下が認められ、A/Hong Kong/8/68 株感染マウスでは 0.5 mg/kg BID 以上、B/Hong Kong/5/72 株感染マウスでは 5 mg/kg BID 以上の投与により、オセルタミビルリン酸塩 5 及び 50 mg/kg BID 群と比較して、肺内ウイルス力価の低下が認められた。A/Hong Kong/8/68 株感染マウスでは、本薬 (1.5 mg/kg BID) 1 日間投与群の肺内ウイルス力価は、オセルタミビルリン酸塩 (5 mg/kg BID) 1 日間投与群よりも、 $1.55 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 低かった。B/Hong Kong/5/72 株感染マウスでは、本薬 (15 mg/kg BID) 1 日間投与群の肺内ウイルス力価は、オセルタミビルリン酸塩 (5 mg/kg BID) 1 日間投与群よりも、 $0.97 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 低かった。

A 型インフルエンザウイルス A/Osaka/129/2009 株 (H1N1) [$3.6 \log_{10} (4.30 \times 10^3)$ TCID₅₀ (非致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した 5 日後、本薬 (0.5 又は 5 mg/kg BID) を 1 若しくは 3 日間反復投与又はオセルタミビルリン酸塩 [5 mg/kg BID] を 3 日間反復投与し、投与開始後 3 日間の肺内ウイルス力価が検討された。その結果、いずれの本薬群においてもオセルタミビルリン酸塩群と比較して肺内ウイルス力価の低下が認められた。また、投与開始後 48 時間後にウイルス定量下限未満となったマウスの例数は、本薬 0.5 及び 5 mg/kg BID を 1 日間投与した群 (1/5 及び 2/5 例) 並びに 3 日間投与した群 (2/5 及び 5/5 例) では、溶媒対照 (0 例) 及びオセルタミビルリン酸塩群 (0 例) と比較して多かった。

3.1.4.1.2 NA 阻害薬耐性ウイルスマウス感染モデルにおける肺内ウイルスの増殖抑制 (CTD 4.2.1.1-20)

NA/H274Y 変異を有する A 型インフルエンザウイルス A/WSN/33-NA/H274Y (H1N1) 株 [$2.0 \log_{10} (1.00 \times 10^2)$ TCID₅₀ (非致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した 5 日後、本薬 [0 (溶媒)、0.5、1.5、5、15 又は 50 mg/kg BID] 又はオセルタミビルリン酸塩 [5 mg/kg BID] を 1 日間経口投与し、24 時間後の肺内ウイルス力価が検討された。その結果、本薬 0.5~50 mg/kg BID 群の肺内ウイルス力価は $1.60 \sim 3.86 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ であり、用量依存的な肺内ウイルスの低下が認められた。0.5 mg/kg BID 以上の投与では、オセルタミビルリン酸塩 5 mg/kg BID 群の $4.54 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ と比較して、肺内ウイルス力価の低下が認められた。

3.1.4.1.3 免疫抑制マウス感染モデルにおける肺内ウイルスの増殖抑制 (CTD 4.2.1.1-30、4.2.1.1-31)

CPA 0.2 mg をウイルス接種前日から QD 11 日間皮下投与することにより免疫抑制状態を惹起した雌性 BALB/c マウスに、A 型インフルエンザウイルス A/PR/8/34 株 (H1N1) [$2.0 \log_{10} (1.00 \times 10^2)$ TCID₅₀ (非致死量)] を経鼻接種した 5 日後、本薬 [0 (溶媒)、1.5、15 又は 50 mg/kg BID] 又はオセルタミビルリン酸塩 [5 又は 50 mg/kg BID] を 5 日間反復経口投与し、経時的に肺内ウイルス力価及び体重減少率が検討された。CPA 投与マウスは、ウイルス接種後 5~10 日目で $4 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 以上の肺内ウイルス力価を維持した一方、CPA 非投与マウスでは、ウイルス接種後 9 日目には肺内ウイルス力価が $2 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ まで減少したことから、CPA によるウイルス感染期間延長効果が確認された。

本薬群における肺内ウイルス力価は本薬投与開始後 24 時間で用量依存的な低下を認め、本薬投与開始後 3 日目に本薬 15 又は 50 mg/kg BID 群で定量下限 ($1.5 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$) 未満に達し、溶媒対照

及びオセルタミビルリン酸塩群と比較して低下が認められた。また、本薬群における体重減少率は溶媒対照及びオセルタミビルリン酸塩群と比較して低かった。

また、本薬を 5 日間反復経口投与した免疫抑制マウスにおける S-033447 に対する低感受性ウイルスの発現状況を検討するため、本薬 1.5~50 mg/kg BID 投与開始から 1、3 及び 5 日後の肺試料を用いて、試料中に含まれるインフルエンザウイルスを增幅せず、サンガー法により PA 遺伝子解析が実施された。その結果、いずれの試料においてもアミノ酸変異を有するウイルスは認められなかった。

3.1.4.1.4 フェレット感染モデルにおける鼻腔内ウイルスの増殖抑制（CTD 4.2.1.1-29）

A 型インフルエンザウイルス A/Kadoma/3/2006 株 (H1N1) [3.0 log₁₀ (1.00×10³) TCID₅₀ (非致死量)] をフェレットに経鼻接種した 24 時間後、本薬 [0 (溶媒)、10 又は 30 mg/kg BID 1 日間] 又はオセルタミビルリン酸塩 [5 mg/kg BID 2 日間] を経口投与し、投与開始後 2 日間の鼻腔洗浄液内ウイルス力価及び体温変化量が検討された。投与 1 日後で本薬のいずれの用量群においても鼻腔洗浄液内ウイルス力価は定量下限 (0.5 log₁₀ TCID₅₀/mL) 未満となった。投与 2 日後、再度、定量下限を超える鼻腔洗浄液内ウイルス力価が検出されたが、溶媒対照及びオセルタミビルリン酸塩群と比較して本薬群では低かった。また、投与 2 日後の体温変化量は、溶媒対照及びオセルタミビルリン酸塩群と比較して、本薬群で小さかった。

3.1.4.1.5 PK/PD 解析（CTD 4.2.1.1-22）

A 型インフルエンザウイルス A/WSN/33 (H1N1) 株 [2.0 log₁₀ (1.00×10²) TCID₅₀ (非致死量)] を BALB/c マウスに経鼻接種した 5 日後、0.0625~8 mg/kg の S-033447 を QD、BID 又は 1 日 4 回で皮下投与し、AUC₀₋₂₄、C_{max}、C₂₄、C_t 並びに 2、10 又は 50 ng/mL を超える濃度を維持するそれぞれの時間の PK パラメータを用いた PK/PD 解析を行った。その結果、PD パラメータ（投与開始から 24 時間後の肺内ウイルス力価）に最も相関する PK パラメータは、C_t であった。

また、非臨床モデルでの薬効目標は、マウス感染モデルにおいて、S-033447 経口投与後の肺内ウイルス力価を臨床用量相当のオセルタミビルリン酸塩投与群の 1/10 にすることと設定され、A 型及び B 型インフルエンザウイルス感染マウスにおける検討（3.1.4.1.1 参照）並びに、A 型及び B 型インフルエンザウイルスの感受性の差を考慮し、本薬の有効薬効用量は 15 mg/kg BID 1 日間経口投与 (C_t: 6.85 ng/mL) とされた。

3.1.4.1.6 マウス感染モデルにおける治療効果（CTD 4.2.1.1-24、4.2.1.1-25）

A 型インフルエンザウイルス A/PR/8/34 株 (H1N1) [3.1 log₁₀ (1.38×10³) TCID₅₀ 又は 4.6 log₁₀ (4.42×10⁴) TCID₅₀ (いずれも致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した直後、本薬 [0 (溶媒)、0.05、0.5 又は 5 mg/kg BID 1 日間] 又はオセルタミビルリン酸塩 [5 又は 50 mg/kg BID 5 日間] を経口投与し、接種 21 日後の生存率が検討された。結果は表 12 のとおりであった。

表 12 A型インフルエンザウイルスマウス感染モデルにおける接種 21 日後の生存率

被験薬	用法・用量	接種 21 日後の生存率	
		1.38×10^3 TCID ₅₀ 接種時	4.42×10^4 TCID ₅₀ 接種時
溶媒	溶媒 BID 1 日間	0% (0/10)	0% (0/10)
本薬	0.05 mg/kg BID 1 日間	30% (3/10)	0% (0/10)
	0.5 mg/kg BID 1 日間	100% (10/10)	100% (10/10)
	5 mg/kg BID 1 日間	100% (9/9) ^{a)}	100% (10/10)
	5 mg/kg BID 5 日間	90% (9/10)	20% (2/10)
オセルタミビルリン酸塩	50 mg/kg BID 5 日間	—	80% (8/10)

% (例数)

－：未検討

a) 1 例でインフルエンザウイルス接種後、著しい体重減少が認められ、接種 2 日後に死亡。

B 型インフルエンザウイルス B/Hong Kong/5/72 株 [$5.5 \log_{10}$ (3.3×10^5) TCID₅₀ 又は $6.3 \log_{10}$ (1.98×10^6) TCID₅₀ (いずれも致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した直後、本薬 [0 (溶媒)、0.5、5 又は 50 mg/kg BID 1 日間] 又はオセルタミビルリン酸塩 [5 又は 50 mg/kg BID 5 日間] を経口投与し、接種 14 日後の生存率が検討された。結果は表 13 のとおりであった。

表 13 B 型インフルエンザウイルス感染モデルにおける接種 14 日後の生存率

被験薬	用法・用量	接種 14 日後の生存率	
		3.3×10^5 TCID ₅₀ 接種時	1.98×10^6 TCID ₅₀ 接種時
溶媒	溶媒 BID 1 日間	0% (0/10)	0% (0/10)
本薬	0.5 mg/kg BID 1 日間	20% (2/10)	0% (0/10)
	5 mg/kg BID 1 日間	100% (10/10)	100% (10/10)
	50 mg/kg BID 1 日間	100% (10/10)	100% (10/10)
オセルタミビルリン酸塩	5 mg/kg BID 5 日間	100% (10/10)	20% (2/10)
	50 mg/kg BID 5 日間	—	70% (7/10)

% (例数)

－：未検討

3.1.4.1.7 マウス感染モデルにおける治療効果に及ぼす投与開始時期の影響 (CTD 4.2.1.1-26、4.2.1.1-27)

A 型インフルエンザウイルス A/PR/8/34 株 (H1N1) [$3.1 \log_{10}$ (1.38×10^3) TCID₅₀ (致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した 24、48、72 又は 96 時間後、本薬 [0 (溶媒)、1.5 又は 15 mg/kg BID] 又はオセルタミビルリン酸塩 [5 mg/kg BID] を 5 日間反復経口投与し、接種 28 日後の生存率が評価された。各群における生存率は表 14 のとおりであった。また、本薬 BID 群はウイルス増殖に起因する体重減少を用量依存的に抑制した。

表 14 マウス感染モデルにおける投与開始時期別の接種 28 日後の生存率

被験薬	用法・用量	接種 28 日後の生存率			
		接種 24 時間後	接種 48 時間後	接種 72 時間後	接種 96 時間後
溶媒群	溶媒 BID 5 日間	0% (0/10)	0% (0/10)	0% (0/10)	0% (0/10)
本薬	1.5 mg/kg BID 5 日間	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	50% (5/10)
	15 mg/kg BID 5 日間	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	70% (7/10)
オセルタミビルリン酸塩	5 mg/kg BID 5 日間	90% (9/10)	70% (7/10)	10% (1/10)	10% (1/10)

% (例数)

A 型インフルエンザウイルス A/PR/8/34 株 (H1N1) [$3.1 \log_{10}$ (1.38×10^3) TCID₅₀ (致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した 72 時間後、本薬 [0 (溶媒)、1.5 又は 15 mg/kg BID] 又はオセルタミビルリン酸塩 5 mg/kg BID を 5 日間反復経口投与し、経時に肺内ウイルス力値が検討された。その結果、本薬 1.5 及び 15 mg/kg BID 群では、投与開始 1 及び 3 日後に用量依存的な肺内ウイルス力値の低下が認められ、オセルタミビルリン酸塩 BID 群と比較して肺内ウイルス力値の低下が認められた。

3.1.4.1.8 マウス感染モデルにおける NA 阻害薬併用時の治療効果（CTD 4.2.1.1-28）

A型インフルエンザウイルス A/PR/8/34 株 (HIN1) [$2.9 \log_{10} (8.00 \times 10^2)$ TCID₅₀ (致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した 96 時間後、本薬 [0 (溶媒)、0.5、1.5、15 又は 50 mg/kg BID] 又はオセルタミビルリン酸塩 [10 又は 50 mg/kg BID] を単独又は併用で 5 日間反復経口投与し、接種 28 日後の生存率が検討された。各群における生存率は表 15 のとおりであった。また、ウイルス増殖に起因する体重減少について、本薬及びオセルタミビルリン酸塩の併用により、抑制効果が認められた。

表 15 マウス感染モデルにおける NA 阻害薬併用時の接種 28 日後の生存率

被験薬及び用法・用量 ^{a)}	接種 28 日後の生存率
溶媒 (5 日間)	0% (0/10)
オセルタミビルリン酸塩 10 mg/kg BID (5 日間)	10% (1/10)
オセルタミビルリン酸塩 50 mg/kg BID (5 日間)	40% (4/10)
本薬 0.5 mg/kg BID (5 日間)	40% (4/10)
本薬 1.5 mg/kg BID (5 日間)	70% (7/10)
本薬 15 mg/kg BID (5 日間)	100% (10/10)
本薬 50 mg/kg BID (5 日間)	100% (10/10)
本薬 0.5 mg/kg BID (5 日間) + オセルタミビルリン酸塩 10 mg/kg BID (5 日間)	70% (7/10)
本薬 0.5 mg/kg BID (5 日間) + オセルタミビルリン酸塩 50 mg/kg BID (5 日間)	90% (9/10)
本薬 1.5 mg/kg BID (5 日間) + オセルタミビルリン酸塩 10 mg/kg BID (5 日間)	100% (10/10)
本薬 1.5 mg/kg BID (5 日間) + オセルタミビルリン酸塩 50 mg/kg BID (5 日間)	100% (10/10)

% (例数)

a) 本薬 15 mg/kg 以上の用量では、単独投与の生存率が 100% であったことから、オセルタミビルリン酸塩との併用効果は評価されなかった。

3.1.4.2 季節性以外のインフルエンザウイルスに対する本薬の *in vivo* 抗ウイルス活性

3.1.4.2.1 高病原性鳥インフルエンザウイルス (A/H5N1) 感染マウスモデルにおける治療効果 (CTD 4.2.1.1-32)

ヒトから分離された A/H5N1 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルス A/Hong Kong/483/97 株 [$1.9 \log_{10} (0.75 \times 10^2)$ TCID₅₀ (致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した直後、本薬 [0 (溶媒)、0.5、5 又は 50 mg/kg BID] 又はオセルタミビルリン酸塩 [5 又は 50 mg/kg BID] を 1 又は 5 日間反復経口投与し、接種 14 日後の生存率、並びに被験薬投与開始 1、3 及び 5 日後の肺内ウイルス力価が検討された。その結果、本薬 (5 又は 50 mg/kg BID) を 1 又は 5 日間反復投与した群の接種 14 日後の生存率はいずれも 100% (10/10 例) であり、溶媒対照 [0% (0/10 例)] 及びオセルタミビルリン酸塩 [5 mg/kg BID 5 日間 : 0% (0/10 例)、50 mg/kg BID 5 日間 : 70% (7/10 例)] と比較して高かった。また、本薬 (5 又は 50 mg/kg BID) を 1 又は 5 日間反復投与した群における投与開始 1、3 及び 5 日後の肺内ウイルス力価は、溶媒対照群やオセルタミビルリン酸塩 5 mg/kg BID 群と比較して低かった。

3.1.4.2.2 鳥インフルエンザウイルス (A/H7N9) 感染マウスモデルにおける治療効果 (CTD 4.2.1.1-33)

ヒトから分離された A/H7N9 亜型の鳥インフルエンザウイルス A/Anhui/1/2013 株 [$5.6 \log_{10} (4.00 \times 10^5)$ TCID₅₀ (致死量)] を雌性 BALB/c マウスに経鼻接種した直後、本薬 [0 (溶媒)、0.5、5 又は 50 mg/kg BID] 又はオセルタミビルリン酸塩 [5 又は 50 mg/kg BID] を 1 又は 5 日間反復経口投与し、接種 28 日後の生存率、並びに被験薬投与開始 1、3 及び 5 日後の肺内ウイルス力価が検討された。その結果、本薬 (5 又は 50 mg/kg BID) を 1 又は 5 日間反復投与した群の接種 28 日後の生存率はいずれも 100% (10/10 例) であり、溶媒対照 [0% (0/10 例)] 及びオセルタミビルリン酸塩 [5 mg/kg

BID 5 日間 : 30% (3/10 例) 、 50 mg/kg BID 5 日間 : 50% (5/10 例)] と比較して高かった。また、本薬 (5 又は 50 mg/kg BID) を 1 又は 5 日間反復投与した群の投与開始 1、3 及び 5 日後の肺内ウイルス力価は、溶媒対照群やオセルタミビルリン酸塩 5 mg/kg BID 群と比較して低かった。

3.2 副次的薬理試験

3.2.1 各種酵素及び受容体に対する活性 (CTD 4.2.1.2-05)

*in vitro*において、66 種類の各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーターへのリガンド結合に対する S-033447 の阻害活性が検討された。S-033447 (10 μmol/L) [ヒト臨床曝露量 (C_{max}) の約 39 倍⁹⁾] は、各リガンド結合に対して 50%を超える阻害作用は示さなかった。

3.2.2 各種細胞に対する細胞傷害作用

3.2.2.1 培養細胞に対する細胞傷害作用 (CTD 4.2.1.2-01、4.2.1.2-03)

S-033447 (0.39~200 μmol/L) 含有培地を用いて、MDBK 細胞、MDCK 細胞、RPMI2650 細胞及びヒト肺腺癌由来 A549 細胞を 3 日間培養後、脱水素酵素活性を指標として、S-033447 の細胞傷害作用が検討された。各種細胞に対する S-033447 の CC_{50} はそれぞれ 47.5、18.9、22.8 及び 17.3 μmol/L であった。

S-033447 (0.01~100 μmol/L) 含有培地を用いて、増殖期のヒト各種組織由来細胞 9 株¹⁰⁾ を 48 時間培養後、細胞中の ATP 量を指標として、S-033447 の細胞傷害作用が検討された。増殖期の各種細胞に対する S-033447 の IC_{50} はいずれも 2.2~50 μmol/L であった。

S-033447 (0.01~100 μmol/L) 含有培地を用いて、非増殖期のヒト各種組織由来細胞 5 株¹¹⁾ を 48 時間培養後、細胞中の ATP 量を指標として、S-033447 の細胞傷害作用が検討された。非増殖期の各種細胞に対する S-033447 の IC_{50} はいずれも >3.0~>100 μmol/L であった。

3.2.2.2 インフルエンザウイルス感染による細胞変性に対する抑制効果及び細胞傷害作用について (CTD 4.2.1.2-02)

A 型又は B 型インフルエンザウイルス (各 2 株) を感染させた MDCK 細胞を用いて、S-033447 (0.128~400 nmol/L) 、リバビリン (3.91~125 μmol/L) 又はファビピラビル (0.977~31.3 μmol/L) 存在下で 6 日間培養し、ウイルス増殖に起因した細胞変性に対する各種被験薬の抑制効果が検討された。また、MDCK 細胞を S-033447 (16~50,000 nmol/L) 、リバビリン (62.5~2,000 μmol/L) 又はファビピラビル (31.3~1,000 μmol/L) 存在下で 6 日間培養し、脱水素酵素活性を指標として、各種被験薬の細胞傷害作用が検討された。結果は表 16 のとおりであった。

⁹⁾ 曝露量比は、日本人健康成人男性に本薬 40 mg を空腹時に単回投与したときの血漿中 S-033447 濃度 (C_{max} : 123 ng/mL) を用いて算出された (6.2.1.1 参照)。

¹⁰⁾ 検討されたヒト各種組織由来細胞株は以下のとおり。

ヒト包皮由来線維芽細胞 (BJ 細胞) 、ヒト胎児腎由来細胞 (HEK293 細胞) 、ヒト肝癌由来細胞 (HepG2 細胞) 、ヒト腎近位尿細管由来上皮細胞 (HK2 細胞) 、ヒト臍帯静脈由来内皮細胞 (HUVEC 細胞) 、ヒト T 細胞性白血病由来細胞 (Jurkat 細胞) 、ヒト胎児肺由来線維芽細胞 (MRC-5 細胞) 、ヒト神経芽細胞腫由来細胞 (SH-SY5Y 細胞及び SK-N-SH 細胞) 。

¹¹⁾ 検討されたヒト各種組織由来細胞株は以下のとおり。

ヒト胎児腎由来細胞 (HEK293 細胞) 、ヒト腎近位尿細管由来上皮細胞 (HK2 細胞) 、ヒト T 細胞性白血病由来細胞 (Jurkat 細胞) 、ヒト胎児肺由来線維芽細胞 (MRC-5 細胞) 、ヒト神経芽細胞腫由来細胞 (SH-SY5Y 細胞) 。

表 16 S-033447、リバピリン及びファビピラビルのウイルス増殖に起因した細胞変性に対する抑制効果
及び細胞傷害作用について

株	S-033447		リバピリン		ファビピラビル	
	EC ₅₀ (nmol/L)	SI ^{a)}	EC ₅₀ (nmol/L)	SI ^{a)}	EC ₅₀ (nmol/L)	SI ^{a)}
A/WSN/33 (H1N1)	1.23	2,409	83.3×10^3	7.13	8.73×10^3	—
A/Victoria/3/75 (H3N2)	1.59	1,857	64.7×10^3	9.18	7.47×10^3	—
B/Maryland/1/59	5.73	516.4	34.6×10^3	17.16	4.32×10^3	—
B/Hong Kong/5/72	2.02	1,463	23.2×10^3	25.58	2.89×10^3	—

平均値

a) SI (selectivity index) は、各被験薬のウイルス増殖に起因した細胞変性の抑制効果 (EC₅₀) に対する各種被験薬の細胞傷害作用の CC₅₀ (S-033447 : 2.96×10^3 nmol/L、リバピリン : 594×10^3 nmol/L) の比として算出された。なお、ファビピラビルについては、CC₅₀ が算出できなかったため、SI は算出されなかった。

3.2.3 ミトコンドリアに対する作用 (CTD 4.2.1.2-04)

ヒト肝細胞癌由来 HepG2 細胞を本薬又は S-033447 存在下でグルコース又はガラクトース含有培地を用いて培養し、24 時間又は 6 日間培養後の細胞中 ATP 量を指標として、被験薬のヒトミトコンドリアに対する影響が検討された。24 時間培養時の細胞中 ATP 量に対する本薬及び S-033447 の IC₅₀ 値は、全ての培養条件下で 200 μmol/L 超であった。グルコース又はガラクトース含有培地で 6 日間培養したときの本薬の IC₅₀ 値はそれぞれ 20.5 及び 16 μmol/L、S-033447 はそれぞれ 11.1 及び 8.79 μmol/L であった。以上より、グルコース含有培地とガラクトース含有培地で培養したときの IC₅₀ 値が同程度であったことから、本薬及び S-033447 は HepG2 細胞のミトコンドリア機能に対して選択性的な影響を及ぼさない、と申請者は説明している。

3.3 安全性薬理試験 (CTD 4.2.1.3-01、4.2.1.3-02、4.2.1.3-03、4.2.1.3-04、4.2.1.3-05、4.2.1.3-06、4.2.1.3-07)

中枢神経系、呼吸系及び心血管系に及ぼす S-033447 の影響が検討された（表 17）。

表 17 安全性薬理試験成績の概略

項目	試験系	評価項目・方法等	投与量	投与経路	所見
中枢神経系	SD ラット (1 群雄 6 例)	FOB 法	本薬 : 0 (溶媒)、200、600、 2,000 mg/kg	経口	2,000 mg/kg 投与まで一般症状には影響を及ぼさなかった。 600 mg/kg 群 : 対照と比較して体温低下が認められた。 2,000 mg/kg 群 : 対照と比較して体温低下及びわずかな尿量の減少が認められた。
心血管系	チャイニーズハム スター卵母細胞 (各濃度 5 標本)	hERG 電流	本薬 : 0、0.572、1.71、5.72 μg/mL (溶媒 : 0.1% DMSO 水溶液) S-033447 : 0、0.300、1.00、4.08 μg/mL (溶媒 : 0.1% DMSO 水溶液)	in vitro	本薬 : いずれの濃度においても hERG 電流に影響を及ぼさなかった。 S-033447 (0.300、1.00、4.08 μg/mL) : hERG 電流をそれぞれ 0.24、2.72 及び 26% 阻害した (IC ₅₀ 値 : 7.31 μg/mL)。
	摘出モルモット右 心室乳頭筋標本 (各濃度 5 標本)	活動電位 等	本薬 : 0、0.0572、0.171、0.572 μg/mL (溶媒 : 0.1% DMSO 水溶液) S-033447 : 0、0.040、0.12、0.40 μg/mL (溶媒 : 0.1% DMSO 水溶液)	in vitro	特記事項なし
	カニクイザル (1 群雄 4 例)	テレメトリー法	本薬 : 0 (溶媒)、200、400 mg/kg	経口	いずれの投与量においても、血圧、心拍数及び心電図のパラメータに影響は認められなかった。 200 及び 400 mg/kg 投与群で、異常便 [軟便、下痢又は白色便] (それぞれ 2 及び 3 例) 及び摂食量の低下 (それぞれ 1 及び 3 例) が認められた。 400 mg/kg 投与群 (1 例) で嘔気・嘔吐が認められた。
呼吸系	SD ラット (1 群雄 8 例)	呼吸数、1 回換気量、 分時換気 量 (WBP 法)	本薬 : 0 (溶媒)、200、600、 2,000 mg/kg	経口	特記事項なし

3.R 機構における審査の概略

3.R.1 S-033447 の抗ウイルス活性について

(1) 季節性のインフルエンザウイルスに対する S-033447 の抗ウイルス活性について

申請者は、S-033447 の季節性のインフルエンザウイルスに対する抗ウイルス活性について、3.1.2.1 及び 3.1.4.1 項における成績より、本薬は季節性の A 型及び B 型インフルエンザウイルスに対して、オセルタミビルリン酸塩より高いウイルス増殖抑制効果を示すと説明している。

機構は、*in vitro* 及び *in vivo* 試験において、A 型インフルエンザウイルスと比較して B 型インフルエンザウイルスの S-033447 に対する感受性が低い傾向を認めた要因について、申請者に説明を求め、申請者は以下のように説明している。

インフルエンザウイルスのキャップ依存性エンドヌクレアーゼの活性中心がある PA の N 末端領域の X 線結晶構造に基づいて、PA と S-033447 のドッキングモデルを構築した結果、17 のアミノ酸残基¹²⁾ が S-033447 と相互作用する可能性が示唆された。米国 National Center for Biotechnology Information に登録されている PA のアミノ酸配列のデータベースを用いて、上記 17 のアミノ酸残基の保存性を解析した。その結果、A/H1N1 亜型と A/H3N2 亜型の間で共通であった。一方、A 型と B 型の間では S-033447 と相互作用すると考えられる活性中心のアミノ酸残基は共通であったが、疎水性ポケットを形成するアミノ酸残基 5 個のうち 3 個が異なっていた（A 型：A20、Y24 及び A37、B 型：T20、F24 及び N37）。そのため、B 型の疎水性ポケットは A 型と比べて極性が高く、S-033447 の疎水性 3 環構造との疎水性相互作用に影響を与え、A 型と B 型インフルエンザウイルスに対する S-033447 の抗ウイルス活性に差異が生じたものと考える。

機構は、*in vitro* 及び *in vivo* 試験において、B 型インフルエンザウイルスに対する S-033447 の抗ウイルス活性は A 型インフルエンザウイルスよりも低い傾向が認められたものの、ウイルス放出抑制効果を指標とした *in vitro* 試験において、A 型及び B 型インフルエンザウイルスに対する本薬の EC₉₀ は、オセルタミビル等の既存のインフルエンザウイルス薬の EC₉₀ よりも低値を示していること、また *in vivo* 試験において、本薬投与群では、オセルタミビルリン酸塩投与群と比較して、肺内ウイルス力値の低下及び致死率の低下が認められていることを確認した。ただし、A 型及び B 型インフルエンザウイルスに対する本薬の有効性については、臨床試験成績を踏まえて判断する必要があると考える（7.R.2 参照）。

(2) 季節性以外のインフルエンザウイルスに対する S-033447 の抗ウイルス活性について

申請者は、季節性以外のインフルエンザウイルスに対する S-033447 の抗ウイルス活性について、3.1.2.2 及び 3.1.4.2 項に示した成績より、季節性のインフルエンザウイルスと同様に、鳥やブタ由来の様々な亜型の A 型インフルエンザウイルスに対しても S-033447 の抗ウイルス活性は期待できると考える。

¹²⁾ PA と S-033447 の相互作用に寄与する可能性のある 17 のアミノ酸残基は次のとおり。A20、M21、Y24、E26、K34、A37、I38、H41、E80、R84、L106、D108、E119、I120、G121、Y130 及び K134（A/H1N1 pdm 亜型のアミノ酸配列を基準に記載）。

機構は、提出された資料から、鳥やブタ由来の A 型インフルエンザウイルスに対する S-033447 の抗ウイルス活性は期待できると考えるもの、臨床効果は現時点では不明であると考える。

3.R.2 S-033447 に対する耐性ウイルスについて

申請者は、S-033447 に対する耐性について、以下のように説明している。

A/H1N1 及び A/H3N2 亜型の耐性ウイルス分離試験において、PA/I38T のアミノ酸変異が認められたが、B 型の耐性ウイルス分離試験ではアミノ酸変異は認められなかった。リバースジェネティクス法を用いて、PA/I38T がインフルエンザウイルスの S-033447 に対する感受性及びウイルスの増殖性に及ぼす影響について検討した結果、PA/I38T はインフルエンザウイルスの S-033447 に対する感受性の低下とともに、ウイルスの増殖性も低下させることができた（3.1.3.1～3.1.3.3 参照）。PA/I38T はキャップ依存性エンドヌクレアーゼの疎水性ポケットに位置し、S-033447 の疎水性三環構造と相互作用すると考えられており、疎水性アミノ酸残基であるイソロイシンが親水性アミノ酸であるトレオニンに変異することで、PA と S-033447 の相互作用が減弱し、キャップ依存性エンドヌクレアーゼの阻害作用が低下したものと考える。

国内臨床試験（T0821 試験及び T0822 試験）及び国際共同第Ⅲ相試験（T0831 試験）において、本薬が投与された患者のうち、投与前後に塩基配列解析が可能であった患者を対象に、PA 領域の塩基配列解析を行った結果、いずれの試験においても I38 のアミノ酸変異（I38F、I38M 又は I38T）が認められ、リバースジェネティクス法を用いた検討により、これらのアミノ酸変異は S-033447 に対する感受性を低下させることができた（3.1.3.4 参照）。

PA/I38T を有する S-033447 低感受性株では病原性及び伝播性が低下することを支持するデータはない。しかし、インフルエンザウイルスの増殖性と病原性及び伝播性がそれぞれ相関する可能性を示唆する報告がなされていること（Science 2009; 325: 481-3、Antimicrob Agent Chemother 2005; 49: 4075-84、J Infect Dis 2004; 190: 1627-30）を踏まえると、PA/I38T は野性型と比較して、ウイルスの増殖性を低下させる傾向が認められていることから、PA/I38T の病原性や伝播性も低下し、症状が重篤化する可能性及び S-033447 低感受性株が流行する可能性は低いと考える。

また、臨床試験で認められた PA/I38 のアミノ酸変異の有効性に対する影響を評価した結果、I38 のアミノ酸変異を有するインフルエンザウイルスの感染被験者は、当該変異が認められないインフルエンザウイルスの感染被験者と比較して特徴的なインフルエンザウイルス症状や発熱の持続・再燃は認められなかった（3.1.3.4 参照）。

以上より、*in vitro* 試験及び臨床試験において、S-033447 に対する薬剤感受性の低下に寄与する PA/I38 のアミノ酸変異が認められているものの、これらのアミノ酸変異が臨床症状に影響を与える可能性は低いと考える。

機構は、*in vitro* 耐性ウイルス分離試験において、A/H1N1 及び A/H3N2 亜型インフルエンザウイルスの PA/I38T のアミノ酸変異を有するウイルスが検出されたこと、及び I38T のアミノ酸変異は S-033447 の感受性低下に寄与することを確認した（3.1.3.1～3.1.3.3 参照）。また、国内臨床試験（T0821 試験及び T0822 試験）及び国際共同第Ⅲ相試験（T0831 試験）のいずれの試験でも、本薬投与例において、一定の頻度で PA/I38 の変異の発現が認められたことを確認した（3.1.3.4 参照）。現時点では、PA/I38T を有する S-033447 感受性低下株の病原性及び伝播性に関する情報、並びにベースライン時に I38 のアミノ酸変異を有するインフルエンザウイルス感染患者に対する本薬の有効性に関する情報

は得られていないことから、これらのアミノ酸変異が臨床的に与える影響は不明であるものの、臨床試験における本薬に対する耐性発現状況等を医療現場に適切に情報提供するとともに、本薬の耐性化に関する情報は、製造販売後も引き続き情報収集し、得られた情報を医療現場に適切に提供する必要があると考える。なお、本薬に対する耐性変異の有効性に及ぼす影響については、7.R.2.4 項に記載する。

4. 非臨床薬物動態試験に関する資料及び機構における審査の概略

マウス、ラット、ウサギ、サル及びフェレットに本薬 (¹⁴C 標識体又は非標識体) を投与したときの PK が検討された。また、ヒト又は動物の生体試料を用いて、本薬の血清タンパク結合、薬物代謝酵素、トランスポーター等に関する検討が行われた。

生体試料中の本薬とその活性代謝物 S-033447 の濃度測定には、液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法（定量下限 0.500 又は 5.00 ng/mL）、生体試料中の本薬とその代謝物の放射能濃度の測定には液体シンチレーション計測法、組織中放射能濃度の測定には定量的全身オートラジオグラフィー（定量下限 8.51 ng eq./g）が用いられた。なお、特に記載のない限り、PK パラメータは平均値で示している。

4.1 吸収

4.1.1 単回投与試験 (CTD 4.2.1.1-19、4.2.1.1-29、4.2.2.2-01、4.2.2.2-02、4.2.2.2-03、4.2.2.2-04、4.2.2.2-06、4.2.2.2-07)

感染モデルマウス [A/WSN/33 (H1N1) 株 (100 TCID₅₀) を経鼻接種]、ラット（幼若及び成熟）、サル及びフェレットに本薬の ¹⁴C 標識体又は非標識体を単回静脈内又は経口投与したときの S-033447 又は放射能の PK パラメータは、表 18 及び表 19 のとおりであり、ラット及びサルに S-033447 を単回静脈内又は経口投与したときの血漿中の S-033447 の PK パラメータは表 20 のとおりであった。

感染モデルマウスにおける S-033447 の C_{max} 及び AUC_{inf} は、0.5～15 mg/kg の範囲では概ね用量比例性を示し、15 及び 50 mg/kg 間では用量比を下回る増加を示した。

幼若ラット (10、20 及び 30 日齢) に本薬を経口投与したとき、20 及び 30 日齢と比較して 10 日齢で S-033447 の C_{max} 及び AUC_{inf} は高値を示し、t_{1/2} は長かった。本薬単回経口投与後、10 日齢でのみ血漿中に未変化体が検出され、C_{max} 及び AUC₀₋₂₄ は S-033447 と比較してそれぞれ 0.75% 及び 0.04% 未満であった。また、幼若ラットに S-033447 (0.254 mg/kg) を静脈内投与したとき、20 及び 30 日齢と比較して 10 日齢で S-033447 の AUC_{inf} は高値を示し、t_{1/2} は長かった。

成熟ラット及びサルに本薬を単回経口投与したとき、S-033447 の C_{max} 及び AUC は検討された用量範囲において、概ね用量に比例して増加し、また絶食時投与と比較して非絶食時投与に低値を示した。S-033447 の C_{max} 及び AUC が摂餌により低下した理由について、サルにおける本薬と金属イオンとの併用投与試験(4.1.2 参照)を踏まえ、本薬経口投与後に消化管腔内で加水分解されて生成した S-033447 が食事に含まれる金属イオンとキレートを形成することにより、S-033447 の溶解性及び膜透過性が低下したためと考える、と申請者は説明している。

本薬の ¹⁴C 標識体（ラット及びサルでそれぞれ 1 及び 3 mg/kg）を単回経口投与したとき、ラット及びサルの血漿中における S-033447 の AUC₀₋₂₄ は、それぞれ 121 及び 1,390 ng·h/mL であり、血漿中放射能の約 90 及び 80% は S-033447 として存在することが示唆された。

なお、本薬単回投与後の血漿中未変化体濃度は、成熟ラット及びサルでは全測定時点で定量下限未満であったが、フェレットでは定量可能であり、未変化体の C_{max} 及び AUC_{0-24} は 10 mg/kg 群で 165 ng/mL 及び 715 ng·h/mL、30 mg/kg 群で 298 ng/mL 及び 1,260 ng·h/mL であった。

ラット及びサルに S-033447 を静脈内投与したとき、血漿中 S-033447 の $t_{1/2}$ 、CL 及び $V_{d,ss}$ は用量によらず概ね一定であった。また、ラットに S-033447 (0.846 mg/kg) を単回経口投与したときの血漿中 S-033447 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、本薬 (1 mg/kg) を単回経口投与したときと比較して 1/20.5 及び 1/15.3 であったことから、S-033447 をプロドラッグ化し本薬とすることで S-033447 の曝露量が増大すると考える、と申請者は説明している。

表 18 本薬単回経口投与時の S-033447 の PK パラメータ

動物種	投与量 (mg/kg)	例数	摂餌	C_{max} (ng/mL)	$t_{max}^a)$ (h)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	AUC_{inf} (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	BA (%)
感染モデル マウス	0.5	雌 3/時点	非絶食	5.05	1.0	22.0 ^{b)}	22.7	2.24 ^{c)}	—
	1.5	雌 3/時点		14.3	1.0	62.6 ^{b)}	66.1	2.56 ^{d)}	—
	5	雌 3/時点		45.7	0.50	242 ^{b)}	252	2.45 ^{d)}	—
	15	雌 3/時点		175	0.50	648 ^{b)}	670	2.26 ^{d)}	—
	50	雌 3/時点		284	2.0	1,580 ^{b)}	1,690	3.14 ^{d)}	—
ラット (幼若)	10 日齢	3	非絶食	688	2.0	9,420	11,200	9.22	68.3
		10		1,880	4.0	23,800	26,800	7.45	49.0
		30		4,570	1.0	48,100	51,800	6.35	31.6
	20 日齢	3		202	1.0	1,450	1,470	4.29	35.3
		10		707	1.0	3,490	3,520	3.61	25.3
		30		962	0.50	7,640	7,670	2.85	18.4
	30 日齢	3		90.4	0.50	472	473	2.87	27.7
		10		313	1.0	1,490	1,490	2.86	26.1
		30		609	0.50	3,150	3,160	2.74	18.5
ラット (成熟)	0.3	雄 4	非絶食	4.82 ± 0.85	1.0 [1.0 - 1.0]	34.7 ± 7.4	48.9 ± 21.2	10.4 ± 5.7	10.9 ± 2.3
	1	雄 4	絶食	34.3 ± 13.8	0.38 [0.25 - 0.50]	125 ± 11	122 ± 13	3.68 ± 0.84	11.9 ± 1.0
	1	雄 4	非絶食	17.1 ± 4.9	1.0 [1.0 - 2.0]	103 ± 20	101 ± 18	4.36 ± 0.57	9.77 ± 1.93
	3	雄 4	非絶食	68.9 ± 5.8	1.0 [0.50 - 1.0]	468 ± 183	479 ± 195	4.02 ± 0.62	14.7 ± 5.8
	10	雄 4	非絶食	169 ± 34	1.0 [0.50 - 1.0]	1,110 ± 120	1,120 ± 120	3.21 ± 0.10	10.5 ± 1.1
サル	0.3	雄 3	非絶食	5.81 ± 1.26	2.0 [0.50 - 4.0]	86.2 ± 11.8	158 ± 86	19.6 ± 12.8	10.4 ± 1.4
	1	雄 3	絶食	108 ± 48	2.0 [2.0 - 4.0]	1,450 ± 610	1,770 ± 730	9.32 ± 0.32	50.6 ± 15.1
	1	雄 3	非絶食	19.6 ± 4.2	6.0 [2.0 - 8.0]	309 ± 59	438 ± 112	12.7 ± 2.0	11.1 ± 1.6
フェレット	3	雄 3	非絶食	57.6 ± 5.4	4.0 [2.0 - 4.0]	957 ± 118	1,340 ± 150	12.5 ± 0.8	11.5 ± 1.3
	10	雌 4	絶食	66.6 ± 14.6	1.5 [1.0 - 2.0]	421 ± 119	460 ± 130	6.91 ± 3.79	—
	30	雌 4		365 ± 316	1.5 [1.0 - 4.0]	3,240 ± 3,240	3,300 ± 3,290	4.44 ± 0.67	—

平均値 ± 標準偏差

—：未検討又は該当せず、

a) 中央値 [範囲]、b) AUC_{0-12} 、c) 投与 4~10 時間後における $t_{1/2}$ 、d) 投与 6~12 時間後における $t_{1/2}$

BA : S-033447 0.254 mg 単回静脈内投与時の S-033447 の AUC_{0-24} (幼若ラットは AUC_{inf}) に対する本薬単回経口投与時の S-033447 の AUC_{0-24} (幼若ラットは AUC_{inf}) の割合を用量補正したもの

表 19 本薬の ^{14}C 標識体単回経口投与時の放射能の PK パラメータ

動物種	投与量 (mg/kg)	例数	摂餌	測定 検体	C_{max} (ng eq./mL)	$t_{max}^a)$ (h)	AUC_{0-24} (ng eq·h/mL)	AUC_{inf} (ng eq·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)
ラット	1	雄 4	非絶食	血液	20.8 ± 3.3	1.0 [0.25 - 1.0]	153 ± 16	200 ± 69	10.1 ± 5.5
				血漿	20.6 ± 3.1	1.0 [0.25 - 1.0]	135 ± 14	149 ± 38	6.42 ± 3.31
サル	3	雄 3	非絶食	血液	118 ± 92	4.0 [2.0 - 6.0]	1,950 ± 1,000	2,270 ± 1,150	17.3 ± 2.7
				血漿	119 ± 98	4.0 [2.0 - 6.0]	1,680 ± 820	1,990 ± 1,020	17.8 ± 4.0

平均値 ± 標準偏差

a) 中央値 [範囲]

表 20 S-033447 単回静脈内又は経口投与時の S-033447 の PK パラメータ

動物種	投与 経路	投与量 (mg/kg)	例数	摂餌	C _{max} (ng/mL)	t _{max} ^{a)} (h)	AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	AUC _{inf} (ng·h/mL)	t _{1/2} (h)	CL (mL/h/kg)	V _{d,ss} (mL/kg)
ラット	静脈内	0.254	雄 4	非絶食	—	—	318 ± 29	314 ± 38	3.74 ± 0.27	819 ± 97	3,690 ± 270
		0.846	雄 4	非絶食	—	—	974 ± 98	985 ± 97	4.03 ± 0.15	865 ± 83	4,040 ± 290
	経口	0.846	雄 4	非絶食	0.833 ± 0.064	5.0 [2.0 - 8.0]	6.75 ± 2.70	—	—	—	—
サル	静脈内	0.254	雄 3	非絶食	—	—	836 ± 116	1,050 ± 150	12.0 ± 0.8	245 ± 36	3,400 ± 550
		0.846	雄 3	非絶食	—	—	2,810 ± 320	3,480 ± 410	11.3 ± 0.7	245 ± 27	3,210 ± 370

平均値 ± 標準偏差

— : 未検討又は該当せず

a) 中央値 [範囲]

4.1.2 単回投与試験（金属イオンとの併用投与試験）（CTD 4.2.2.2-05）

サルに本薬（1 mg/kg）単独又は各種金属イオンとの併用で絶食下において単回経口投与したときの S-033447 の PK パラメータは、表 21 のとおりであった。本薬及び各種金属イオンとの併用投与では、本薬単独投与と比較して S-033447 の C_{max} 及び AUC_{inf} が低下したが、金属イオンの種類による顕著な差異は認められなかった。

表 21 本薬単回経口投与時の S-033447 の PK パラメータ

併用投与化合物	本薬単独	炭酸カルシウム (41.7 mg/kg)	水酸化マグネシウム (26.7 mg/kg) + 酸化アルミニウム (14.9 mg/kg)	フマル酸第一鉄 (4.5 mg/kg)	混合金属化合物 ^{a)}
例数	雄 3	雄 3	雄 3	雄 3	雄 3
C _{max} (ng/mL)	80.1 ± 46.3	50.1 ± 17.2	49.5 ± 20.1	38.3 ± 12.5	43.1 ± 18.6
t _{max} ^{b)} (h)	2.0 [1.0 - 4.0]	2.0 [2.0 - 2.0]	2.0 [2.0 - 2.0]	1.0 [1.0 - 2.0]	2.0 [2.0 - 4.0]
AUC _{inf} (ng·h/mL)	1,220 ± 720	772 ± 247	755 ± 308	596 ± 217	757 ± 356

平均値 ± 標準偏差

a) 炭酸カルシウム (40.6 mg/kg)、水酸化マグネシウム (2.7 mg/kg) 及びフマル酸第一鉄 (0.16 mg/kg) の混合物、b) 中央値 [範囲]

4.1.3 反復投与試験（CTD 4.2.3.2-02、4.2.3.2-05、4.2.3.5-03、4.2.3.5-05）

ラット（幼若及び成熟）、妊娠ウサギ（妊娠 7 日）及びサルに本薬を 1 日 1 回反復経口投与したときの S-033447 の PK パラメータは、表 22 のとおりであった。ラット及びサルにおいて、S-033447 の PK に明らかな性差は認められず、検討された用量の範囲で C_{max} 及び AUC₀₋₂₄ は用量比を下回って増加した。

幼若（10 日齢）及び成熟ラットでは反復投与により S-033447 の C_{max} 及び AUC₀₋₂₄ は低下した一方、妊娠ウサギ及びサルでは、反復投与による S-033447 の C_{max} 及び AUC₀₋₂₄ の低下は認められず、サルでは投与 14 及び 28 日後の C_{max} 及び AUC₀₋₂₄ は概ね同程度であった。

表 22 本薬反復経口投与時の S-033447 の PK パラメータ

動物種	投与量 (mg/kg/日)	測定日 (日)	例数	C _{max} (ng/mL)		t _{max} ^{a)} (h)		AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	
				雄	雌	雄	雌	雄	雌
ラット (幼若)	20	1	雌雄各 3/時点	2,140	2,290	1.00	1.00	26,100	27,800
		21	雌雄各 3/時点	218	194	1.00	1.00	1,230	844
		40	雌雄各 3/時点	109	104	1.00	1.00	667	554
	200	1	雌雄各 3/時点	7,020	7,090	1.00	4.00	87,100	103,000
		21	雌雄各 3/時点	295	300	1.00	2.00	2,420	2,740
		40	雌雄各 3/時点	295	382	1.00	2.00	2,570	2,760
	1,000	1	雌雄各 3/時点	8,240	9,690	1.00	1.00	133,000	147,000
		21	雌雄各 3/時点	331	512	2.00	1.00	3,590	5,980
		40	雌雄各 3/時点	248	282	1.00	2.00	2,950	3,050
ラット (成熟)	20	1	雌雄各 4	240 ± 61.8	189 ± 59.6	1.0 [1.0 - 1.0]	1.0 [1.0 - 1.0]	1,340 ± 364	990 ± 111
		14	雌雄各 4	137 ± 27.1	84.8 ± 19.5	1.0 [1.0 - 1.0]	1.0 [1.0 - 2.0]	807 ± 189	576 ± 89.7
		28	雌雄各 4	124 ± 14.7	123 ± 37.4	1.0 [1.0 - 1.0]	1.0 [1.0 - 1.0]	817 ± 184	722 ± 179
	200	1	雌雄各 4	713 ± 226	730 ± 166	2.0 [2.0 - 2.0]	2.0 [2.0 - 2.0]	5,900 ± 1,760	6,180 ± 894
		14	雌雄各 4	195 ± 46.3	229 ± 46.8	1.0 [1.0 - 2.0]	2.0 [1.0 - 2.0]	1,740 ± 550	1,830 ± 350
		28	雌雄各 4	198 ± 42.6	204 ± 22.0	1.0 [1.0 - 1.0]	1.5 [1.0 - 2.0]	1,660 ± 224	1,720 ± 598
	2,000	1	雌雄各 4	1,030 ± 124	1,240 ± 185	1.5 [1.0 - 4.0]	2.0 [1.0 - 4.0]	11,100 ± 2,550	17,300 ± 2,920
		14	雌雄各 4	307 ± 42.8	305 ± 86.5	1.5 [1.0 - 4.0]	2.0 [2.0 - 4.0]	3,750 ± 818	3,300 ± 505
		28	雌雄各 4	275 ± 56.9	460 ± 70.0	4.0 [1.0 - 4.0]	2.0 [2.0 - 4.0]	3,400 ± 855	4,760 ± 763
妊娠 ウサギ	30	1	雌 5	—	586 ± 140	—	2.0 [1.0 - 4.0]	—	6,290 ± 1,760
		13	雌 5	—	485 ± 163	—	1.0 [1.0 - 2.0]	—	4,600 ± 1,470
	100	1	雌 4	—	1,240 ± 219	—	2.5 [1.0 - 6.0]	—	14,400 ± 1,290
		13	雌 4	—	883 ± 155	—	1.0 [1.0 - 1.0]	—	9,260 ± 1,140
	1,000	1	雌 5	—	1,830 ± 425	—	4.0 [1.0 - 8.0]	—	35,600 ± 7,190
		13	雌 5	—	1,350 ± 416	—	4.0 [1.0 - 4.0]	—	20,900 ± 6,360
サル	1	1	雌雄各 3	50.7 ± 8.96	52.3 ± 5.92	1.0 [1.0 - 2.0]	2.0 [2.0]	555 ± 135	589 ± 30.3
		14	雌雄各 3	66.7 ± 13.1	69.4 ± 20.1	4.0 [2.0 - 4.0]	2.0 [1.0 - 2.0]	632 ± 78.9	740 ± 151
		28	雌雄各 3	51.5 ± 4.88	52.7 ± 19.6	2.0 [1.0 - 2.0]	2.0 [2.0]	527 ± 109	456 ± 158
	10	1	雌雄各 3	236 ± 40.9	189 ± 44.8	4.0 [2.0 - 4.0]	4.0 [2.0 - 6.0]	3,430 ± 638	2,660 ± 551
		14	雌雄各 3	277 ± 72.0	285 ± 41.7	4.0 [2.0 - 4.0]	2.0 [2.0 - 8.0]	4,140 ± 553	3,690 ± 816
		28	雌雄各 3	242 ± 10.4	229 ± 13.3	1.0 [1.0 - 2.0]	4.0 [1.0 - 4.0]	3,050 ± 290	3,140 ± 962
	100	1	雌雄各 5	496 ± 225	449 ± 95.7	8.0 [4.0 - 8.0]	6.0 [2.0 - 8.0]	8,960 ± 4,520	7,680 ± 768
		14	雌雄各 5	876 ± 535	627 ± 109	4.0 [4.0 - 6.0]	4.0 [1.0 - 8.0]	14,800 ± 8,040	10,200 ± 1,460
		28	雌雄各 5	714 ± 242	642 ± 169	6.0 [2.0 - 6.0]	8.0 [1.0 - 8.0]	11,600 ± 3,000	9,060 ± 2,020

平均値 ± 標準偏差

a) 中央値 [範囲]

4.1.4 *in vitro* における膜透過性 (CTD 4.2.2.7-01)

ヒト結腸腺癌由来 Caco-2 細胞を用いて本薬及び S-033447 の膜透過性が検討された。頂側膜側から側底膜側への見かけの透過係数は、本薬 2.8 μmol/L では 5.09×10^{-6} cm/秒、高膜透過性薬物のミノキシジル 10 μmol/L では 4.88×10^{-6} cm/秒、S-033447 2.8 μmol/L では 0.809×10^{-6} cm/秒、中膜透過性薬物のアテノロール 100 μmol/L では 0.146×10^{-6} cm/秒であった。

4.2 分布

4.2.1 組織内分布 (CTD 4.2.2.3-01)

有色ラット（雄各 1 例/時点）に本薬の ^{14}C 標識体を単回経口投与したときの放射能の組織分布が全身オートラジオグラフィーにより検討された。組織放射能は、大部分の組織において投与 2 時間後までに最高濃度を示し、小腸粘膜 (3,350 ng eq./g)、肝臓 (879 ng eq./g)、胃粘膜 (197 ng eq./g)、腎臓皮質 (144 ng eq./g) で高値を示し、大脳、小脳及び脊髄ではいずれの測定時点でも定量下限 (8.51 ng eq./g) 未満であった。大部分の組織において投与 24 時間後までに定量下限未満となり、投与 336 時間後にはいずれの組織でも定量下限未満となった。メラニンを含有するブドウ膜及び有色皮膚中の放射能濃度は投与 24 時間後には定量下限未満となったことから、本薬及び代謝物のメラニン

含有組織への蓄積性は低いことが示唆された。

4.2.2 血清タンパク結合及び血球移行性（CTD 4.2.2.2-01、4.2.2.2-03、5.3.2.1-01）

ラット、サル及びヒトの血清における S-033447 (¹⁴C 標識体 50～1,000 ng/mL) の血清タンパク結合率は、それぞれ 91.9～92.1、85.0～89.5 及び 92.9～93.9% であった。また、ヒト血清における S-033447 (¹⁴C 標識体 50～1,000 ng/mL) の結合タンパクの種類を検討した結果、血清アルブミン、 α 1-酸性糖タンパク及び γ -グロブリンに対する結合率はそれぞれ 91.2～92.1、52.2～59.3 及び 23.6～38.1% であった。

ラット、サル及びヒトの全血を用いて検討された S-033447 の血球移行率は、それぞれ 57.1～59.6、50.4～52.9 及び 48.5～54.4% であった。

ラットに本薬の ¹⁴C 標識体 1 mg/kg 及びサルに本薬の ¹⁴C 標識体 3 mg/kg を単回経口投与したとき、放射能の血球移行率はラット（投与 15 分～24 時間後）で 34.2～49.5%、サル（投与 15 分～48 時間後）で 38.4～52.3% であった。

4.2.3 胎盤通過性（CTD 4.2.2.3-02）

妊娠 18 日のラット（1 例/時点）に本薬の ¹⁴C 標識体 1 mg/kg を単回経口投与し、胎盤通過性が検討された。放射能は胎児組織に分布し、母動物の血漿濃度の 4 倍以上の放射能濃度が検出された胎児組織は、骨及び副腎であった。

以上より、本薬又は代謝物は胎盤を通過し、胎児に移行することが示唆された。

4.3 代謝¹³⁾

4.3.1 推定代謝経路

4.3.2 及び 4.3.3 での検討結果より、本薬の代謝経路は図 3 のとおりと推定された。

¹³⁾ 本項に記載した代謝物は、次のとおり。

M1 : (12aR,5S,11S) -S-033447 のスルホキシド体、M2 : (12aR,5R,11S) -S-033447 のスルホキシド体、M3 : S-033447 の二酸化体（推定）、M4 : S-033447 のグルクロン酸抱合体、M5 : S-033447 ピロール体（M7）のグルクロン酸抱合体（推定）、M6 : S-033447 のケトン体（推定）、M7 : S-033447 のピロール体、M8 及び M12 : S-033447 ピロール体（M7）の酸化体のグルクロン酸抱合体（推定）、M9 : S-033447 の酸化体のグルクロン酸抱合体（推定）、M10 及び M11 : S-033447 の酸化体（推定）