TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 2

本項で使用する用語・略語 3

1. まとめ 4

2. 単回投与毒性試験 6

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 6

3.1. ラットを用いた試験 6

3.1.1. ラットを用いたニルマトレルビルの 4 日間経口投与毒性試験（[redacted]GR250 試験） 6

3.1.2. ラットを用いたニルマトレルビルの 14 日間経口投与毒性試験（[redacted]GR276 試験） 6

3.1.3. ラットを用いたニルマトレルビルの 1 ヵ月間経口投与毒性試験（[redacted]GR122 試験） 8

3.2. サルを用いた試験 9

3.2.1. サルを用いたニルマトレルビルの 4 日間，1 日 2 回経口投与探索毒性試験（[redacted]GR271 試験） 9

3.2.2. サルを用いたニルマトレルビルの 15 日間の 1 日 2 回経口投与毒性試験（[redacted]GR289 試験） 10

3.2.3. サルを用いたニルマトレルビルの 1 ヵ月間，1 日 2 回経口投与毒性試験（[redacted]GR125 試験） 12

4. 遺伝毒性試験 13

4.1. 細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted]試験） 13

4.2. ヒトリンパ芽球細胞 TK6 を用いた小核試験（[redacted]試験） 13

4.3. ラットを用いた in vivo 小核試験（[redacted]GR276 試験） 14

5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 15

6. 生殖発生毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 15

6.1. ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験（[redacted]GR146 試験） 15

6.2. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（[redacted]GR132 試験） 16

6.3. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（[redacted]GR126 試験） 17

6.4. ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（00655272 試験） 19

7. 局所刺激性試験 22

8. その他の毒性試験 22
8.1. 光毒性試験 22
8.2. 抗原性試験 22
8.3. 免疫毒性試験 22
8.4. 毒性発現の機序に関する試験 22
8.5. 依存性試験 22
8.6. 代謝物の毒性試験 22
8.7. 不純物の毒性試験 23
8.7.1. ラットを用いた不純物の 2 週間経口投与毒性試験（[redacted]GR206 試験） 23
8.8. その他の試験 23
9. 考察及び結論 24
10. 参考文献 26

LIST OF TABLES

Table 1. ニルマトレルビルの毒性試験一覧 5

本項で使用する用語・略語

略号，用語	省略していない表現または定義
A/G	albumin/globulin：アルブミン/グロブリン
ALT	alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
ALP	alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
APTT	activated partial thromboplastin time：活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{24}	area under the plasma concentration-time curve from zero to 24 hours：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
BID	twice daily：1 日 2 回（投与）
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
DMSO	dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPMCAS-MF	hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate high fine
HPMCAS-MG	hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate high granular
ICH	International Council for Harmonisation：医薬品規制調和国際会議
MTBE	methyl tert-butyl ether
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
NOAEL	no-observed-adverse-effect level：無毒性量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
PR	time from the beginning of the P wave to the beginning of the QRS complex in the electrocardiogram：心電図上の P 波の開始から QRS 群の開始までの時間
PT	prothrombin time：プロトロンビン時間
QRS	time from the beginning of the Q wave to the end of the S wave in the electrocardiogram：心電図上の Q 波の開始から S 波の終了までの時間
QT	time from the beginning of the QRS complex to the end of the T wave in the electrocardiogram：心電図上の QRS 群の開始から T 波の終了までの時間
QTc	QT interval corrected for heart rate：心拍数で補正した QT 間隔
RR	time from the peak of one QRS complex to the peak of the next：2 つの QRS 波の頂点の間の時間
SDD	spray dried dispersion：噴霧乾燥分散
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス

1. まとめ

Table 1 に示す一連の非臨床試験でニルマトレルビルの毒性を評価した。

ラット，サルおよびヒトにおけるニルマトレルビルの代謝および血漿タンパク結合率が類似していたことから，毒性試験に用いる動物種としてラットおよびサルを選択した。なお，ニルマトレルビルの標的分子がウイルス特異的タンパク質であり，副次的薬理試験の結果よりオフターゲット活性が低いことが示されているため，薬理学的に関連のある動物種は存在しないと考えられる。In vivo 試験の投与経路として，臨床投与経路である経口投与を選択した。

試験デザインおよび毒性評価は，ICH および OECD ガイドラインならびに各極（米国，欧州および日本）に示された原則に沿って実施した。特記しない限り，重要な試験はすべて，米国 FDA の GLP に準拠し，OECD データ相互受け入れ参加国で実施した。

Table 1.　ニルマトレルビルの毒性試験一覧

試験 [a,b]	試験番号（試験委託者参照番号）	濃度または用量 [c]	GLP 適用	概要表
反復投与毒性試験				
重要な試験以外の試験				
ラット 4 日間試験	[redacted]GR250	0, 30, 100, 1000	非適用	2.6.7.6
サル 4 日間試験	[redacted]GR271	0, 30 (15 BID), 300 (150 BID), 1000 (500 BID)[d]	非適用	2.6.7.6
重要な試験				
ラット 2 週間試験および 2 週間回復試験	[redacted]GR276	0, 0 (150 MTBE)[e], 60, 200, 1000	適用	2.6.7.7A
ラット 1 ヵ月間試験および 2 週間回復試験	[redacted]GR122	0, 60, 200, 1000	適用	2.6.7.7B
サル 15 日間試験	[redacted]GR289	0, 0 (90 [45 BID] MTBE)[e], 40 (20 BID), 100 (50 BID), 600 (300 BID)[d]	適用	2.6.7.7C
サル 1 ヵ月間試験および 2 週間回復試験	[redacted]GR125	0, 40 (20 BID), 100 (50 BID), 600 (300 BID)[d]	適用	2.6.7.7D
遺伝毒性試験				
In Vitro 試験				
細菌を用いた復帰突然変異試験	[redacted] ([redacted]GR288)	1.50-5000 µg/plate	適用	2.6.7.8A
ヒトリンパ球を用いた小核試験	[redacted] ([redacted]GR286)	62.5-500 µg/mL	適用	2.6.7.8B
In Vivo 試験				
ラット小核試験 [f]	[redacted]GR276[f]	0, 0 (150 MTBE)[e], 60, 200, 1000	適用	2.6.7.9A
生殖発生毒性試験				
ラット受胎能試験	[redacted]GR146	0, 60, 200, 1000	適用	2.6.7.12
ラット胚・胎児発生試験	[redacted]GR132	0, 100, 300, 1000	適用	2.6.7.13A
ウサギ胚・胎児発生試験	[redacted]GR126	0, 100, 300, 1000	適用	2.6.7.13B
ラット周産期試験	00655272 ([redacted]GR149)	0, 100, 300, 1000	適用	2.6.7.14
その他の毒性試験				
不純物に関するラット 2 週間試験	[redacted]GR206	0 (30 MTBE), 200[e]	適用	2.6.7.17

a.すべての GLP 試験は OECD データ相互受け入れ参加国で実施した。
b.雌のみを用いた胚・胎児発生毒性試験ならびに出生前および出生後の発生毒性試験を除き，すべての in vivo 試験において雌雄を用いて実施した。
c.特記しない限り，用量は mg/kg として示した。
d.1 日 2 回投与の投与間隔は約 6 時間であった。
e.2 週間反復投与毒性試験および不純物に関する試験では，曝露量を増加させる目的で，ニルマトレルビル無水物の溶媒和物として MTBE を使用した。MTBE を投与した独立した対照群もこれらの試験に含めた。対照群の MTBE 量は，高用量群の MTBE 量（15% MTBE）に基づいた。この MTBE 量は，[redacted]GR276 試験では 150 mg/kg/日，[redacted]GR289 試験では 90 mg/kg/日（45 mg/kg BID），[redacted]GR206 試験では 30 mg/kg/日に相当した。
f. ラット 2 週間毒性試験（[redacted]GR276 試験）の一環として実施した。

2. 単回投与毒性試験

ニルマトレルビルの単回投与毒性試験は実施されていない。

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

3.1. ラットを用いた試験

3.1.1. ラットを用いたニルマトレルビルの 4 日間経口投与毒性試験（[redacted]GR250 試験）

Wistar Han ラット（3 匹/性/群）にニルマトレルビルを 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 2%ポリソルベート 80（v/v）含有懸濁液］，30，100 または 1000 mg/kg/日の用量，10 mL/kg の投与容量で，1 日 1 回，4 日間経口投与したときの忍容性および TK を評価した。

ニルマトレルビル投与に関連した一般状態，体重，血液学的検査および血液生化学検査への影響および剖検所見は認められず，胸骨および骨髄に病理組織学的所見も認められなかった。1000 mg/kg/日群の雄 1 例で，左精巣上体の小型化および左側精巣の欠損が認められたが，投与期間（4 日間）中に生じるものではないため，発達の過程で生じたものであり，ニルマトレルビル投与には関連しない所見と考えられた。

試験 4 日の 1000 mg/kg 群における曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，雄ではそれぞれ 21,300 ng/mL および 268,000 ng·h/mL，雌ではそれぞれ 50,900 ng/mL および 562,000 ng·h/mL であった。

3.1.2. ラットを用いたニルマトレルビルの 14 日間経口投与毒性試験（[redacted]GR276 試験）

Wistar Han ラット（15 匹/性/群）にニルマトレルビルを 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 2%ポリソルベート 80（v/v）含有懸濁液（溶媒対照群）］，0（150 mg/kg MTBE 対照群），60，200 または 1000 mg/kg/日の用量で，1 日 1 回，2 週間（14 日間），経口投与したときの毒性，TK および小核誘発能を評価するとともに，2 週間の回復期間後に影響の可逆性を評価した。本試験の最高用量は，先に実施したラット 4 日間試験（[redacted]GR250 試験）において 1000 mg/kg/日までの用量で毒性学的に意味のある変化が認められなかったことから設定した。本試験では被験物質を 1:1 の MTBE 溶媒和物として投与したため，試験でみられる変化に対する MTBE の寄与を評価するため，溶媒対照群とは別に高用量群と同濃度の MTBE を添加した対照群を設けた。

評価項目は一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，小核評価，臓器重量，剖検および病理組織学的検査とした。また，TK 評価のため，試験 1 日および 14 日の投与後 0.5，1，2，4 および 24 時間に各群の雌雄各 5 匹から採血し，血漿中ニルマトレルビル濃度を測定した。

一般状態，摂餌量または眼科学的検査においてニルマトレルビル投与に関連した変化は認められなかった。

雄では投与期間中および回復期間中に，体重に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。投与群と対照群との間に認められた回復期間中の平均体重の見かけの差は，回復期間の動物が少数であったことに起因するアーティファクトであり，投与前値における個体値の違いを反映したものと考えられた。雌では，200 mg/kg/日以上の群で投与 14 日に体

重が軽度に増加（対照群の 1.01～1.04 倍）を示し，投与 1～14 日の間の体重増加量も有意に増加した。この影響は回復期間にも持続し，休薬 8 日には 600 mg/kg/日以上で体重が増加を示した（対照群の 1.04～1.12 倍）。しかしながら，休薬 1～11 日までの期間の体重増加量に差は認められなかったため，雌の回復期間における変化も，雄同様のアーティファクトである可能性もある。

投与 15 日（投与期間終了の翌日）におけるニルマトレルビル投与に関連した血液学的検査値および凝固検査値の変化として，60 mg/kg/日以上の雄および 1000 mg/kg/日の雌における PT 延長，200 mg/kg/日以上の雄および 1000 mg/kg/日の雌における APTT 延長，1000 mg/kg/日の雌雄における血小板数増加，1000 mg/kg/日における赤血球パラメータ（ヘモグロビン，ヘマトクリットおよび赤血球数）の減少およびフィブリノゲン増加（雌のみ）が認められた。投与 15 日におけるニルマトレルビル投与に関連した血液生化学検査所見としては，1000 mg/kg/日の雌雄でグロブリン増加，雌で A/G 値減少，ALP 減少およびコレステロール増加が認められた。尿検査では，投与 15 日に 1000 mg/kg/日の雄に pH 減少が認められた。これらの臨床病理学的変化は休薬によってすべて回復し，回復期間終了時にはニルマトレルビル投与に関連した新たな所見は認められなかった。

投与 15 日におけるニルマトレルビル投与に関連した臓器重量［絶対重量および相対重量（体重比および脳重量比）］の変化は，雌雄の肝臓重量増加および雌の心臓重量減少のみであった。1000 mg/kg/日の雌雄において，肝臓に絶対重量および相対重量の増加が認められた。これと関連する病理組織学的所見として，同用量の雌雄で門脈周囲に肝細胞肥大が認められた。心臓では 1000 mg/kg/日の雌にのみ，絶対重量および相対重量の減少が認められた。心臓には関連する病理組織学的変化は認められなかった。回復期間終了時には雌雄ともニルマトレルビル投与に関連した肝臓および心臓重量の差はみられず，投与期間中に 1000 mg/kg/日で認められたこれらの臓器重量変化が完全に回復したことが示された。剖検では 1000 mg/kg/日群の雌雄でニルマトレルビル投与に関連した肝臓の大型化が認められたが，休薬によって完全に回復した。

投与期間の終了時に認められた病理組織学的変化として，肝臓では門脈周囲の肝細胞肥大が 1000 mg/kg/日の雄および 200 mg/kg/日以上の雌で認められた。これに加え，1000 mg/kg/日では甲状腺の濾胞細胞肥大が雌雄で認められ，雌における門脈周囲の肝細胞肥大の発現率および重症度が増加した。回復期間終了時には，200 mg/kg/日以上で肝臓または甲状腺にニルマトレルビル投与に関連した病理組織学的所見は認められず，完全な回復が示された。MTBE 投与に関連した腎臓の所見として尿細管上皮における硝子滴が，被験物質投与群および MTBE 対照群の雄で認められたが，回復期間終了時には溶媒対照群および MTBE を投与した雄で重症度は同等であり，投与期間終了時と比較して例数の減少および重症度の低下がみられたことから，回復性が示された。この所見は MTBE 投与時に起こることが知られている雄ラットに特有の影響であり，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた[1,2]。

ニルマトレルビルを 60，200 または 1000 mg/kg/日で経口投与したとき，雌雄ラットの末梢血から得た網状赤血球に小核は誘発されなかった（2.6.6.4.3 項）。

ニルマトレルビルの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）には一貫した性差は認められず，AUC_{24} の雄/雌比は投与 1 日では 0.84～1.5，投与 14 日では 0.49～0.95 の範囲であった。投与 1 および 14 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，雌雄とも用量の増加とともに増加した。すべての用量の雌

雄で投与 14 日の曝露量（AUC_{24}）は投与 1 日よりも低く，蓄積率（AUC_{24} の投与 14 日/投与 1 日の比）は 0.18～0.74 の範囲であった。

以上，本試験では毒性学的意義のある所見が認められなかったことから NOAEL は 1000 mg/kg/日と判断され，同用量における投与 14 日の雌雄合算での C_{max} は 51.5 µg/mL，AUC_{24} は 292 µg•h/mL であった。

3.1.3. ラットを用いたニルマトレルビルの 1 ヵ月間経口投与毒性試験（[redacted]GR122 試験）

Wistar Han ラット（15 匹/性/群）にニルマトレルビルを 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 1% Soluplus（w/v）含有懸濁液］，60，200 または 1000 mg/kg/日の用量，10 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回，1 ヵ月間，経口投与したときの毒性および TK を評価するとともに，2 週間の回復期間後に影響の可逆性を評価した。本試験の最高用量は，先に実施したラット 2 週間試験（[redacted]GR276 試験）において 1000 mg/kg/日までの用量で毒性学的に意味のある変化が認められなかったことから設定した。本試験では，ニルマトレルビルの 50% SDD 製剤（50% ニルマトレルビル活性等量: 50% HPMCAS-MG）を投与液の調製に用いた。

評価項目は一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，臓器重量，剖検および病理組織学的検査とした。また，TK 評価のため，試験 1 日および 25 日の投与後 0.5，1，2，4 および 24 時間に各群の雌雄各 5 匹から採血し，血漿中ニルマトレルビル濃度を測定した。

ニルマトレルビル投与に関連した予定外の死亡はなく，体重，摂餌量または眼科学的検査値の変化も認められなかった。一般状態ではニルマトレルビル投与に関連した毒性学的意義の低い変化として，投与 22～29 日に流涎（全用量）および軟便［200 mg/kg/日（1 例）および 1000 mg/kg/日］が散発的に認められた。これらの変化に関連する剖検または病理組織学的所見は認められなかった。

200 mg/kg/日以上の雌雄において，ニルマトレルビル投与に関連した血小板数増加または PT 延長が認められたが，回復期間終了時には完全に回復した。ニルマトレルビル投与に関連した血液生化学検査値の変化は認められなかった。尿検査では，1000 mg/kg/日の雌において，投与期間および回復期間の各終了時で，尿比重の減少（いずれも対照群の 0.97 倍）および尿量の増加（それぞれ対照群の 5.02 倍および 3.76 倍）が認められた。変化に用量反応性がないこと，雄で同様の所見がないこと，関連する病理組織学的所見が認められないこと，曝露量に性差がないこと，またこれらのパラメータの背景データは大きく変動することから，当該所見は被験物質に関連しない変化であると判断された。

臓器重量では，60 mg/kg/日以上の雌雄において肝臓に絶対重量および相対重量（体重比および脳重量比）の増加が認められた。200 mg/kg/日以上の雌雄では関連する病理組織学的変化として軽微から軽度の門脈周囲の肝細胞肥大が認められた。全用量の雌ならびに 60 および 200 mg/kg/日の雄においては肝臓重量の増加は完全に回復した。雄の 1000 mg/kg/日では 2 週間の回復期間終了時に肝臓の絶対重量および相対重量の増加が依然として認められたが，投与期間中に認められたよりも程度は低かったことから，部分的な回復が示された。1000 mg/kg/日の雄では，軽微な肝細胞肥大の病理組織学的所見が依然として認められた。

剖検では，1000 mg/kg/日の雌雄で肝臓の大型化および雌 1 例で色調異常（斑状）が認められた。これらは回復期間終了時には認められず，完全な回復が示された。投与期間終了時に認められたニルマトレルビル投与に関連した病理組織学的所見として，60 mg/kg/日以上の雄で甲状腺の濾胞細胞肥大および下垂体前葉（前部）の内分泌細胞空胞化が認められた。200 mg/kg/日以上では門脈周囲の肝細胞肥大が雌雄で，甲状腺濾胞細胞肥大が雌で認められた。1000 mg/kg/日の雌では，肝臓の肝細胞空胞化の重症度が増加した。雄の 200 mg/kg/日以下でみられた所見は回復期間終了時には認められず，これらの用量における完全な回復が示された。1000 mg/kg/日群の回復期間終了時にはこれらの所見が依然として認められたが，投与期間終了時と比較して発現率・重症度は低かったことから，部分的な回復が示された。1000 mg/kg/日群における肝細胞肥大は，肝臓重量の増加と相関した。雌では，ニルマトレルビル投与に関連した投与期間中の病理組織学的変化は休薬によって完全に回復した。

ニルマトレルビルの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）に一貫した性差は認められなかったため，TK パラメータの群平均値は雌雄合算値で算出した。曝露量は用量の増加に伴って増加した。AUC_{24} に基づく蓄積率（投与 25 日と投与 1 日の比）は 0.38～0.56 の範囲であった。

以上，本試験では毒性学的意義のある所見が認められなかったことから NOAEL は 1000 mg/kg/日と判断され，投与 25 日における C_{max} は 44,500 ng/mL，AUC_{24} は 548,000 ng•h/mL であった。

3.2. サルを用いた試験

3.2.1. サルを用いたニルマトレルビルの 4 日間，1 日 2 回経口投与探索毒性試験（[redacted]GR271 試験）

ニルマトレルビルをカニクイザル（1 匹/性/群）に 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 2%ポリソルベート 80（v/v）含有懸濁液］，30，300 または 1000 mg/kg/日（15，150 または 500 mg/kg BID）の用量，5 mL/kg の投与容量で 4 日間経口投与して，忍容性を評価すると共に，TK 評価のため試験 1 日および 4 日の 1 回目投与後 0.5，1，2，4，6（2 回目投与前），7 および 24 時間に採血し，血漿中ニルマトレルビル濃度を測定した。BID の投与間隔は約 6 時間とした。

300 mg/kg/日以上の雌雄でニルマトレルビル投与に関連した嘔吐（飼料様物質）が認められた。試験 1 日および 2 日には，300 および 1000 mg/kg/日の 1 回目または 2 回目投与後に，複数回（4～5 回）の嘔吐が雌（動物番号 7 および 8）で，1～2 回の嘔吐が雄（動物番号 3 および 4）で認められた。また，300 mg/kg 以上において，1～2 回の嘔吐が試験 3 および 4 日（1 回目投与前にのみ）に，主に 2 回目投与の約 1 時間後または夜間に認められた。試験 4 日には，2 回目投与後に雄（動物番号 4，1000 mg/kg/日）に一過性の運動量低下および円背位が 1 回発現した。この変化は，試験 5 日の脱水および電解質喪失を示唆する血液生化学検査値の変化と相関することから，ニルマトレルビル投与に関連する所見と考えられた。雌（動物番号 8，1000 mg/kg/日）において試験 1 日の投与前に皮膚緊張低下が認められ，試験 4 日まで継続した。本所見は試験 1 日の投与前からみられていたことから，当該動物がもともと有していた症状であった可能性がある。1000 mg/kg/日において，試験 1 日の投与前体重と比較して試験 4 日にニルマトレルビル投与に関連した体重減少が雄（0.96 倍）および雌（0.94 倍）で認められた。定性的な観察による摂餌量の変化は認められなかった。

300 mg/kg/日以上で，ニルマトレルビル投与に関連したフィブリノゲンおよび単球数の増加が認められた。300 mg/kg/日では，ニルマトレルビル投与に関連した変化は雌のみで認められた。1000 mg/kg/日の雌雄で，白血球数の増加（好中球数増加が原因と考えられる）および網状赤血球数の減少が認められた。同用量の雌では，ニルマトレルビル投与に関連した赤血球数，ヘモグロビン，ビリルビン，トリグリセリド，グルコース，総タンパク（アルブミンとグロブリンの両方の増加が原因と考えられる），尿素窒素およびクレアチニンの増加，ならびにナトリウム，カリウムおよびクロールの減少も認められた。300 mg/kg/日の雌（動物番号 7）で，試験 5 日にニルマトレルビル投与に関連したフィブリノゲン（2.10 倍：投与前値との比較。以下同じ）および単球数（2.02 倍）の増加が認められた。赤血球パラメータ（赤血球数，ヘマトクリットおよびヘモグロビン）の減少ならびにアルブミンおよびグロブリンの減少に起因した総タンパクの減少も認められたが，これらの変化は月経に起因するものであり，ニルマトレルビル投与との関連はないものと考えられた。1000 mg/kg/日の雄（動物番号 4）で，ニルマトレルビル投与に関連したフィブリノゲン増加（1.76 倍），好中球数増加（3.45 倍）に起因する白血球数増加（2.03 倍）および網状赤血球数減少（0.37 倍）が試験 5 日に認められた。1000 mg/kg/日の雌（動物番号 8）で，ニルマトレルビル投与に関連したフィブリノゲン増加（2.05 倍），好中球数（4.15 倍）および単球数数増加（2.45 倍）に起因する白血球数増加（2.12 倍），赤血球数増加（1.06 倍），ヘモグロビン増加（1.04 倍）ならびに網状赤血球数減少（0.21 倍）が試験 5 日に認められた。ビリルビン（3.0 倍），トリグリセリド（2.67 倍），グルコース（1.60 倍），アルブミン（1.10 倍）とグロブリン（1.11 倍）の両方の増加に起因する総タンパク（1.11 倍），尿素窒素（3.0 倍）およびクレアチニン（1.57 倍）の増加，ならびにナトリウム（0.93 倍），カリウム（0.80 倍）およびクロール（0.77 倍）の減少も認められた。

曝露量は用量依存的に増加した。AUC_{24} に基づくと，試験 1～4 日の間に蓄積の徴候はなく，蓄積率（試験 4 日と試験 1 日の比）は投与群全体で 0.97～1.75 の範囲であった。投与群間で曝露量（C_{max} および AUC_{24}）に一貫した性差は認められなかったため，TK パラメータの群平均は雌雄合算値で示したが，例数が限られているため（各用量あたり雌雄各 1 例），性差は適切に評価できないことに留意する必要がある。

以上，カニクイザルに 1 日 2 回，4 日間経口投与したとき，すべての用量で忍容性が認められ，ニルマトレルビル投与に関連した影響としては，嘔吐により生じた体液喪失，軽微な体重減少，ならびに急性期／炎症性応答および血液濃縮／脱水を示唆する臨床病理検査値の変化のみが認められた。最高用量である 1000 mg/kg/日（500 mg/kg BID）における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 144,000 ng/mL および 1,770,000 ng•h/mL であった。

3.2.2. サルを用いたニルマトレルビルの 15 日間の 1 日 2 回経口投与毒性試験（[redacted]GR289 試験）

ニルマトレルビルをカニクイザル（3 匹/性/群）に 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 2%ポリソルベート 80（v/v）含有懸濁液（溶媒対照群）］，0（90 mg/kg MTBE 対照群），40，100 または 600 mg/kg/日（20，50 または 300 mg/kg BID）の用量（投与間隔は約 6 時間），5 mL/kg の投与容量で 15 日間経口投与したときの毒性および TK を評価した。用量は先に実施した 4 日間探索毒性試験（[redacted]GR271 試験）に基づいて選択した。本試験では被験物質を 1:1 の MTBE 溶媒和物として投与したため，試験でみられる変化に対する MTBE の寄与を評価するため，溶媒対照群とは別に高用量群と同濃度の MTBE を添加した対照群を設けた。

評価項目は一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，臓器重量，剖検，病理組織学的検査とした。また，TK 評価のため，試験 1 日および 15 日の 1 回目投与後 0.5，1，2，4，6（2 回目投与前），7 および 24 時間に全動物から採血し，血漿中ニルマトレルビル濃度を測定した。

600 mg/kg/日の雄および 100 mg/kg/日以上の雌でニルマトレルビル投与に関連した嘔吐が認められた。嘔吐は概して飼料様物質または透明／泡状の液体であり，2 回目投与の約 1 時間後または夜間に認められた。600 mg/kg/日の雄 2/3 例（動物番号 13 および 15）において，投与期間中の少なくとも 6～8 日間，嘔吐（1～3 回）が認められた。同用量の別の雄（動物番号 14）においても投与 2，7 および 15 日の夜間に嘔吐（飼料用物質）が認められた。雌では散発的な嘔吐（1～5 回）が 100 mg/kg/日で投与 9，10 または 13 日に，600 mg/kg/日で投与 1，2，3 または 6 日に認められた。溶媒対照群と MTBE 対照群の両群において，嘔吐が雌雄各 1/3 例で 1 回認められた。そのほかに認められた糞便の変化（液状便，粘液状便，軟便），円背位，運動量低下，反応性低下，流涎，分泌物，退色，挫傷，瘢痕，脱毛，削痩またはまれに生じた他の変化などは一過性であったか，または発現率は対照群と同等以下であったため，これらはニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

定性的な観察による摂餌量または眼科検査所見に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。600 mg/kg/日の雄 1 例（動物番号 13）において，投与 15 日にニルマトレルビル投与に関連した体重減少が認められた（投与 1 日の 0.91 倍）。溶媒対照群および MTBE 対照群を含むその他の動物で軽微な体重変動が認められたが，カニクイザルの正常な変動範囲内であり，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

ニルマトレルビル投与に関連した心拍数，RR 間隔，PR 間隔，QRS 間隔，QT 間隔および QTc 間隔の変化ならびに心電図波形の変化は認められなかった。600 mg/kg/日で PR 間隔（-2 msec）および QRS 間隔（-0.3 msec）に統計的に有意な変化が認められたが，これらの変化は程度が小さく，用量依存的ではなく，投与開始前と測定日（投与 13 日）の投与直前の比較でのみ認められたため，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

ニルマトレルビル投与に関連したフィブリノゲン増加（1.72～2.09 倍：投与前値との比較。以下同じ）が 600 mg/kg/日の雄 2 例および雌 1 例で認められた。ニルマトレルビル投与に関連した血液生化学検査所見としてナトリウム（0.96 倍）およびクロール（0.93 倍）の減少が 600 mg/kg/日の雄 1 例（動物番号 13）で認められた。ニルマトレルビル投与に関連した尿検査所見として 600 mg/kg/日の雌雄で pH 低下（対照群の 0.73～0.80 倍）が認められた。これらの臨床病理学的変化は，変化が軽度であり，関連する病理組織学的変化が認められていないことから，毒性学的意義の低い変化と考えられた。

ニルマトレルビル投与に関連した臓器重量の変化は認められず，剖検および病理組織学的検査にも所見は認められなかった。

曝露量（AUC_{24}）には一貫した性差は認められなかった。投与 1 および 15 日の曝露量は，概して用量比を上回って増加した。AUC_{24} に基づく蓄積率（投与 15 日と投与 1 日の比）は，すべての投与群の雄で 0.83～1.7 の範囲，雌で 0.56～1.6 の範囲であった。

以上，本試験で評価した項目に毒性学的意義のある所見が認められなかったことから，NOAELは 600 mg/kg/日（300 mg/kg BID）と判断された。同用量における雌雄合算での投与 15 日の C_{max} は 106 µg/mL，AUC_{24} は 1220 µg•h/mL であった。

3.2.3. サルを用いたニルマトレルビルの 1 ヵ月間，1 日 2 回経口投与毒性試験（[redacted]GR125 試験）

カニクイザル（3 または 5 匹/性/群）にニルマトレルビルを 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 1% Soluplus 含有懸濁液］，40，100 または 600 mg/kg/日（20，50 または 300 mg/kg BID）の用量，5 mL/kg の投与容量で，1 ヵ月間（28 日間，投与間隔は約 6 時間）経口投与したときの毒性および TK を評価するとともに，2 週間の回復期間後に影響の可逆性を評価した。用量は，先に実施した 15 日間試験（[redacted]GR289 試験）において最高用量の 600 mg/kg/日（300 mg/kg BID）が NOAEL と判断されたことから選択した。本試験では，ニルマトレルビルの 50% SDD 製剤（50% ニルマトレルビル活性等量: 50% HPMCAS-MG）を投与液の調製に用いた。

評価項目は一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，臓器重量，剖検，病理組織学的検査とした。また，TK 評価のため，試験 1 日および 28 日の 1 回目投与後 0.5，1，2，4，6（2 回目投与前），7 および 24 時間に全動物から採血し，血漿中ニルマトレルビル濃度を測定した。

本試験で死亡または瀕死は認められず，全例が計画剖検［投与 29 日（投与期間終了の翌日）または休薬 15/14 日］時まで生存した。600 mg/kg/日の雌雄において，ニルマトレルビル投与に関連した嘔吐が散発的に認められた。嘔吐は概して飼料様物質または透明／白色泡状の液体であり，投与の約 1 時間後または夜間に認められた。600 mg/kg/日のサル 9/10 例において，投与期間中の少なくとも 1～5 日間，投与 1～23 日に嘔吐が散発的に認められた（1～4 回）。溶媒対照群，40 mg/kg/日群および 100 mg/kg/日群では，それぞれ雄 2/5 例，雌 1/3 例および雄 1/3 例で嘔吐が各 1 回認められた。100 mg/kg/日以下ではニルマトレルビル投与に関連した一般状態変化は認められなかった。その他に認められた糞の変化（液状便，軟便），流涎，分泌物，退色，挫傷，腫脹，瘢痕，脱毛，またはまれに生じた他の変化などの所見は一過性であるか，発現率が対照群と同等以下であったかあるいは投与開始前もしくは回復期間中のみに認められたため，ニルマトレルビル投与に関連しない変化と考えられた。

ニルマトレルビル投与に関連した体重および定性的な摂餌量に対する影響，または心電図パラメータ（心拍数，RR 間隔，PR 間隔，QRS 間隔，QT 間隔および QTc 間隔），心電図波形の変化，眼科検査所見，臓器重量変化ならびに剖検および病理組織学的所見は認められなかった。

ニルマトレルビル投与に関連した凝固検査所見は 600 mg/kg/日の雌雄で認められたフィブリノゲン増加のみであった。フィブリノゲンの投与前値からの増加は対照群でも認められたが，その程度はニルマトレルビルを投与した動物でわずかに大きかった。回復期間の終了時，フィブリノゲン値は投与前値と同等であったことから，本所見の完全な可逆性が示された。ニルマトレルビル投与に関連した血液生化学検査所見として 600 mg/kg/日の雄 2 例および雌 1 例で ALT または AST の増加が認められた。ニルマトレルビル投与に関連した血液学的検査または尿検査の所見は認められなかった。回復期間終了時，ALT 値および AST 値は対照群および投与前値と同等であった。投与期間終了時に AST および ALT の増加を示した雄は剖検したため，これらの動物の回復は評価しなかったが，投与期間終了時に AST 増加を示した雌は回復した。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）に性差は認められなかった。投与 1 および 28 日の曝露量は用量比を上回って増加した。AUC_{24} 値に基づくと，投与期間の投与 1～28 日の間の蓄積は軽微であり，蓄積率（AUC_{24} の投与 28 日と投与 1 日の比）はすべての投与群で 1.12～1.55 の範囲であった。

以上，本試験で評価した項目にニルマトレルビル投与に関連した毒性学的意義のある所見が認められないこと，ならびに凝固検査および血液生化学検査の毒性学的意義の低い変化が可逆的であったことから，NOAEL は 600 mg/kg/日と判断され，同用量における投与 28 日の雌雄合算での C_{max} は 87.5 µg/mL，AUC_{24} は 991 µg•h/mL であった。

4. 遺伝毒性試験

4.1. 細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted] 試験）

ネズミチフス菌株（*S. typhimurium* TA98，TA100，TA1535 および TA1537）および大腸菌株（*E. coli* WP2 *uvrA*）を用いて，外因性代謝活性化系（アロクロール誘導ラット肝 S9）の存在下および非存在下におけるニルマトレルビルの復帰突然変異誘発能を測定し，変異原性を評価した。溶媒には DMSO を用いた。

用量設定試験は 1.50，5.00，15.0，50.0，150，500，1500 および 5000 µg/プレートの濃度で実施した。いずれの条件においても沈殿物や生育阻害は認められなかった。WP2 *uvrA* 株で S9 活性化の非存在下，コロニー数の最大 1.7 倍の増加（背景データをわずかに上回る）が，また TA100 株で S9 活性化の存在下，最大 1.8 倍の増加（背景データの範囲内）が認められたものの，いずれの条件の S9 活性化存在下または非存在下，いずれの試験菌株においても，陽性の変異原性反応は認められなかった。

本試験は，S9 活性化存在下の TA100 株および S9 活性化非存在下の WP2 *uvrA* 株では 15.0, 32.5，50.0，75.0，150，325，500，1500 および 5000 µg/プレート，その他の条件では 15.0, 50.0，150，500，1500 および 5000 µg/プレートの濃度で実施した。いずれの条件においても沈殿物や生育阻害は認められなかった。用量設定試験でコロニー数の増加が認められた S9 活性化非存在下の WP2 *uvrA* 株および S9 活性化存在下の TA100 株では中間用量を追加したが，コロニー数増加は再現しなかった。溶媒対照において S9 活性化非存在下の TA98 株および S9 活性化存在下の TA100 株のコロニー数は背景データの 95%の範囲からは外れていたが，99%の範囲内であった。いずれの条件の S9 活性化存在下または非存在下，いずれの試験菌株においても，陽性の変異原性反応は認められなかった。

以上，ニルマトレルビルは， S9 の存在下または非存在下，いずれの試験菌株（TA98, TA100，TA1535，TA1537 および WP2 uvrA）においても陽性の変異原性反応を生じないことが示された。

4.2. ヒトリンパ芽球細胞 TK6 を用いた小核試験（[redacted] 試験）

ヒトリンパ芽球細胞株 TK6 を用いて，代謝活性化（アロクロール誘導ラット肝 S9）系の存在下および非存在下におけるニルマトレルビルの小核誘発能を評価した。溶媒には DMSO を用いた。

検討したすべての濃度で，処置期間中の被験物質の培地への溶解性は良好で，最高濃度での pH は 7.5 であった。処置濃度は 125，250 および 500 µg/mL とした。

S9 活性化非存在下，4 時間処置での最高濃度 500 µg/mL における細胞毒性は 9%であり，いずれの濃度においても統計的に有意なまたは用量依存的な小核誘発の増加は認められず（$p > 0.05$，Fisher の正確確率検定および Cochran-Armitage 検定），背景データの 95%の範囲内であった。陽性対照として用いたマイトマイシン C の小核誘発（2.75%）は統計的に有意であった（$p \leq 0.01$，Fisher の正確確率検定）。

S9 活性化存在下，4 時間処置での最高濃度 500 µg/mL における細胞毒性は 0%であり，いずれの濃度においても統計的に有意なまたは用量依存的な小核誘発の増加は認められなかった（$p > 0.05$，Fisher の正確確率検定および Cochran-Armitage 検定）。小核誘発は背景データの 95%の範囲内であった。陽性対照として用いたシクロホスファミドの小核誘発（1.90%）は統計的に有意であった（$p \leq 0.01$，Fisher の正確確率検定）。

S9 活性化非存在化，27 時間処置での最高濃度 500 µg/mL における細胞毒性は 22%であり，いずれの濃度においても統計的に有意なまたは用量依存的な小核誘発の増加は認められなかった（$p > 0.05$，Fisher の正確確率検定および Cochran-Armitage 検定）。小核誘発は背景データの 95%の範囲内であった。溶媒対照と比較したビンブラスチンの小核誘発（7.20%）は統計的に有意であった（$p \leq 0.01$，Fisher の正確確率検定）。

以上，TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験の S9 活性化存在下および非存在下におけるニルマトレルビルの小核誘発能は陰性であった。

4.3. ラットを用いた in vivo 小核試験（[redacted]GR276 試験）

ラット 14 日間投与毒性試験（2.6.6.3.1.2 項）の一部として，ニルマトレルビルの染色体損傷誘発能を，末梢血より採取した網状赤血球の小核頻度の増加を指標として評価した。雌雄 Wistar Han ラットにニルマトレルビルを 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 2%ポリソルベート 80（v/v）含有懸濁液（溶媒対照群）］，0（150 mg/kg MTBE 対照群），60，200 または 1000 mg/kg/日の用量，10 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回，14 日間経口投与した本試験において，投与 4 日に 5 匹/性/群の動物から採血し，小核評価に供した。

1000 mg/kg/日の雄では，溶媒および MTBE のいずれの対照群との比較でも網状赤血球存在比の統計的に有意な減少が認められ，赤血球の産生および成熟に対するニルマトレルビルの影響が示唆されたが，いずれの対照群との比較でも，小核化網状赤血球数に統計的に有意な変化は認められなかった。

雌では，溶媒および MTBE のいずれの対照群との比較でも網状赤血球存在比または小核化網状赤血球数に統計的に有意な変化は認められなかった。

以上，ニルマトレルビル投与により統計的に有意な網状赤血球存在比の減少が雄で認められたが，背景データの範囲内であり，生物学的な意義は低いと考えられた。ニルマトレルビルを 60，200 または 1000 mg/kg/日で経口投与したとき，雌雄ラットの末梢血から得た網状赤血球に小核は誘発されなかった。

5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

がん原性試験は実施していない。

6. 生殖発生毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

6.1. ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験（[redacted]GR146 試験）

雌雄 Wistar Han ラットにおける受胎能および着床までの初期胚発生に対するニルマトレルビルの影響について評価すると共に，ニルマトレルビルの血漿中曝露を確認した。ニルマトレルビルを 0［100 mg/mL HPMCAS-MF，0.5%メチルセルロース（w/v）および 1% Soluplus（w/v）含有懸濁液］，60，200 または 1000 mg/kg/日の用量，10 mL/kg の投与容量で Wistar Han ラット（20 匹/性/群）に，雌には交配期間の 14 日前から交配期間中および妊娠 6 日まで，雄には交配期間の 14 日前から交配期間中の合計 32 日間，1 日 1 回，経口投与した。本試験では，ニルマトレルビルの 50% SDD 製剤（50% PF-07321332 活性等量: 50% HPMCAS-MF）を投与液の調製に用いた。

一般状態，体重，摂餌量，発情周期，交尾率，受胎率および妊娠率を評価した。投与 10 日に各群の雌雄各 5 匹から投与後 0.5 時間に採血し，血漿中曝露を確認した。投与した雌雄を交尾が認められるまで最大 15 日間同居させた。妊娠 14 日に雌を帝王切開した。交尾が認められない雌は交配期間終了後 8 日に安楽殺し，子宮内検査を実施した。黄体数，着床痕数および生存胚数を記録した。胎盤を肉眼的に観察した。初期胚死亡を検出するため，着床の認められない子宮を 10%硫化アンモニウム溶液に浸漬し，早期胚死亡の有無を調べた。最終投与の 1 日後，すべての雄を安楽殺し，剖検を行い，副生殖器（前立腺および精嚢腺），精巣上体および精巣を採取した。

雄動物の評価

一般状態，体重および体重増加量にニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。1000 mg/kg/日で交配前 1～14 日に統計的に有意な摂餌量減少が認められたが，程度が小さく（対照群の 0.93 倍），交配前期間中に一貫した変化ではなく，投与期間終了時までに対照群と同程度になり，かつ体重または体重増加量に対する影響が認められなかったことから，ニルマトレルビル投与に関連しない変化と考えられた。

ニルマトレルビル投与に関連した肉眼所見は認められなかった。0，60，200 および 1000 mg/kg/日群の雄ラットでそれぞれ 1 例，0 例，4 例，3 例に腎臓の腎盂拡張が認められたが，これは試験実施施設で対照群ラットに認められる所見であることから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。様々な系統のラットの主に雄で水腎症が自然発生的に生じることが観察されており，片側性水腎が通常右腎に生じることが知られている[3]。その他の剖検所見として 0，60，200 および 1000 mg/kg/日群の雄ラットでそれぞれ 0 例，1 例，0 例，1 例に精嚢の小型化が認められたが，用量相関性がないことから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

雌動物の評価

一般状態および摂餌量にニルマトレルビル投与に関連した変化は認められなかった。ニルマトレルビル投与に関連した統計的に有意な体重増加量の増加が交配前期間中に 1000 mg/kg/日で認

められ，その結果交配前期間の投与 14 日に統計的に有意ではないが体重の軽微な増加（対照群の 1.04 倍）が認められた。1000 mg/kg/日で妊娠期間中に認められた体重減少は投与期間終了後（妊娠 7～14 日）に限られ，この用量では妊娠終了までに体重に対する全体的な影響が認められなかったため，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。60 および 200 mg/kg/日では，体重または体重増加量に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。

母動物に剖検所見は認められなかった。

受胎能の評価

発情周期の数または期間，交配までの日数，交尾率，受胎率，妊娠率および子宮内パラメータ（生存胚数含む）に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。

以上，本試験でニルマトレルビル投与に関連した毒性学的意義のある作用が認められなかったことから，雌雄動物の毒性および受胎能に関する NOAEL は，いずれも 1000 mg/kg/日と判断された。同用量での投与 10 日の投与後約 0.5 時間における曝露量（C_{max}）は，雄および雌でそれぞれ 19,100 ng/mL および 46,700 ng/mL であった。

6.2. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（[redacted]GR132 試験）

妊娠雌 Wistar Han ラット（20 匹/群）にニルマトレルビルを投与して，母動物への毒性ならびに着床から硬口蓋閉鎖までの胚・胎児の発生に対する影響を評価するとともに TK 評価を実施した。

ニルマトレルビルを 0［100 mg/mL HPMCAS-MF，0.5%メチルセルロース（w/v）および 1% Soluplus（w/v）含有懸濁液］，100，300 または 1000 mg/kg/日の用量，10 mL/kg の投与容量で妊娠 6～17 日まで 12 日間，1 日 1 回経口投与した。本試験では，ニルマトレルビルの 50% SDD 製剤（50%ニルマトレルビル活性等量: 50% HPMCAS-MG）を投与液の調製に用いた。

母動物の一般状態，体重および摂餌量を評価した。妊娠 21 日に生存動物を帝王切開した。妊娠子宮重量を測定し，正味の体重増加量を算出した。黄体数，着床痕数，後期および早期吸収胚数，ならびに生存胎児数を記録した。また，胎盤を肉眼的に観察した。個々の胎児について性別を判定し，体重測定し，外表，内臓および骨格検査を行った。妊娠 17 日の投与の 0（投与前），0.5，1，2 および 4 時間後に，各群の最初の 5 匹から採取した血液試料について血漿中ニルマトレルビル濃度を分析し，曝露量（C_{max} および AUC_{24}）を算出した。

母動物の評価

ニルマトレルビル投与に関連した死亡は認められなかった。100 mg/kg/日の 1 例（動物番号 006）については，当該動物が予定した帝王切開の前である妊娠 21 日に出産した後，安楽殺した。この早産は，発現が 1 例のみであり，用量反応性がなく，また，ラットが妊娠 21 日に出産することはまれではないことから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

母動物の一般状態，体重，体重増加量または摂餌量に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。1000 mg/kg/日の雌 1 例（動物番号 016）において，妊娠 13～21 日に

眼球突出が認められた。1 例のみの所見であり，この母動物でその他の影響が認められず，本試験のその他の動物で関連する所見が認められなかったため，本所見はニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。その他すべての症状は，用量反応性がない，動物 1 例または 1 回のみの発現であった，あるいはげっ歯類において低頻度ながら一般的に認められる所見（脱毛など）であったことから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

母動物の剖検または帝王切開時の所見にニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。100 mg/kg/日で早期に出産した動物に加えて，0，100，300 および 1000 mg/kg/日において非妊娠ラットがそれぞれ 2 例，2 例，0 例および 1 例認められた。このため，妊娠 21 日の帝王切開で評価可能な母動物は 0，100，300 および 1000 mg/kg/日群でそれぞれ 18 例，17 例，20 例および 19 例であった。1000 mg/kg/日群でわずかに生存胎児数平均値が低かったが（対照群の 10.2 匹と比較して 8.9 匹），用量反応性がなく，統計的に有意ではなく，また背景データ（8.5～10.5 匹）の範囲内であったことから，ニルマトレルビル投与に関連しない正常な生物学的変動と考えられた。なお，対照群の生存胎児数は背景データの上限近い値であった。

胎児の評価

外表所見は認められず，胎児体重，内臓所見ならびに骨格所見にもニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。胎児の骨格変異として，第 27 仙骨前椎骨の一腹あたりの胎児での発現率（胎児数）は，対照群，100，300 および 1000 mg/kg/日群でそれぞれ 0.93%（2 例），0%（0 例），0.56%（1 例）および 4.29%（4 例）であった。1000 mg/kg/日群における数値は試験実施施設の背景データの最大値（2.4%）をやや上回ったが，対照群との差は統計的に有意ではなく，第 27 仙骨前椎骨の存在は，その他の試験施設で得られた背景データにおいても Wistar Han ラットで高頻度に認められており[4]，関連する骨格の奇形または変異を伴わないことから，本所見はニルマトレルビル投与に関連しない変化と考えられた。

以上，本試験でニルマトレルビル投与に関連した毒性学的意義のある所見が認められなかったことから，ニルマトレルビルの母動物および発生に対する NOAEL はいずれも 1000 mg/kg/日と判断された。同用量群の妊娠 17 日における血漿中ニルマトレルビルの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）はそれぞれ 65,400 ng/mL および 535,000 ng•h/mL であった。

6.3. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（[redacted]GR126 試験）

妊娠 New Zealand White ウサギ（20 匹/群）にニルマトレルビルを投与して，母動物への毒性および着床から硬口蓋閉鎖までの胚・胎児の発生に対する影響を評価するとともに TK 評価を実施した。

ニルマトレルビルを 0［100 mg/mL HPMCAS-MF，0.5%メチルセルロース（w/v）および 1% Soluplus（w/v）含有懸濁液］，100，300 または 1000 mg/kg/日の用量，10 mL/kg の投与容量で妊娠 7～19 日まで 13 日間，1 日 1 回経口投与した。本試験では，ニルマトレルビルの 50% SDD 製剤（50% PF-07321332 活性等量: 50% HPMCAS-MG）を投与液の調製に用いた。

母動物の一般状態，体重および摂餌量を評価した。妊娠 29 日に生存動物を帝王切開した。妊娠子宮重量を測定し，正味の体重増加量を算出した。黄体数，着床痕数，後期および早期吸収胚数，ならびに生存胎児数を記録した。また，胎盤を肉眼的に観察した。個々の胎児について性

別を判定し，体重測定し，外表，内臓および骨格検査を行った。妊娠 19 日の投与の 0（投与前），0.5，1，2 および 4 時間後に，各群の最初の 5 匹から採取した血液試料について血漿中ニルマトレルビル濃度を分析し，曝露量（C_{max} および AUC_{24}）を算出した。

母動物の評価

ニルマトレルビル投与に関連した死亡は認められなかった。300 mg/kg/日の 1 例（動物番号 060）については，後肢損傷の疑いが原因で初回投与前に安楽殺した。

ニルマトレルビル投与に関連した一般状態変化は認められなかった。全群で認められた糞量減少，軟便，無便および液状便は，用量反応性がないことから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。また，耳介の挫傷および病変は採血に起因したものであり，用量反応性がなかったため，これらもニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。その他の一般状態変化も，用量反応性がない，動物 1 例または 1 回のみの発現であった，あるいはウサギにおいて低頻度ながら一般的に認められる所見であったことから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

1000 mg/kg/日でニルマトレルビル投与に関連した体重増加量の減少（対照群の 0.58 倍）が妊娠 7～20 日に認められたが，体重への影響はなかった（妊娠 20 日および 29 日でそれぞれ対照群の 0.99 倍および 0.98 倍）。母動物の体重，体重増加量，妊娠子宮重量で補正した正味の体重または体重増加量に対するその他のニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。

1000 mg/kg/日でニルマトレルビル投与に関連した摂餌量の減少（対照群の 0.83 倍）が妊娠 7～20 日に統計的に有意に認められたが，上述の通り体重への影響は認められなかった。摂餌量に関し，ニルマトレルビル投与に関連したその他の影響は認められなかった。

ニルマトレルビル投与に関連した母動物の剖検所見は認められなかった。上述の通り 300 mg/kg/日群の 1 例を初回投与前に試験から除外した。また，1000 mg/kg/日で非妊娠動物が 1 例認められた。したがって，妊娠 29 日の帝王切開で評価可能であったのは 0，100，300 および 1000 mg/kg/日でそれぞれ 20 例，20 例，19 例および 19 例であった。胎児生存率を含め，帝王切開時の所見にニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。

胎児の評価

ニルマトレルビル投与に関連した胎児体重の減少（対照群の 0.91 倍）が 1000 mg/kg/日で統計的に有意に認められた。胎児体重に対するその他のニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。

ニルマトレルビル投与に関連した胎児の外表所見，内臓所見および骨格所見は認められなかった。

小型胆嚢の発現率は，0，100，300 および 1000 mg/kg/日でそれぞれ一腹あたりの胎児での発現率として 3.39%，4.88%，4.12%および 6.16%であった。1000 mg/kg/日での発現率は試験実施施設（ファイザー社）の背景データ最大値（4.2%）をやや上回ったが，発達上の変異であり，[redacted] 社 [redacted] 研究所（[redacted]）における同系統ウサギに関するより大規模な背景データでは小型胆嚢または胆嚢欠失が胎児において高頻度に発現している（最大値 9.91%）こと

から，この発現はニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。その他の内臓所見は，用量反応性がない，1 例のみの発現であった，あるいはファイザー社の背景データの範囲内であったことから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

1000 mg/kg/日における胸骨分節癒合の発現率（一腹あたりの胎児での発現率 3.52%）は，対照群（2.33%）およびファイザー社の背景データにおける最大値（2.0%）よりもやや高かったが，この奇形は [redacted] 社 [redacted] 研究所（[redacted]）における同系統ウサギに関するより大規模な背景データでは高頻度に発現している（最大値 5.2%）ため，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。1000 mg/kg/日群で胸骨分節癒合を呈した胎児 3/5 例において，胸骨分節配列異常も認められた。この胸骨分節配列異常の発現率（一腹あたりの胎児での発現率 2.28%）は，ファイザー社の背景データ最大値（1.0%）よりもやや高かったが，[redacted] の背景データでは最大 4.46%に認められていることから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

1000 mg/kg/日における舌骨弓弯曲の発現率（一腹あたりの胎児での発現率 7.96%）は，対照群の一腹あたりの胎児での発現率 1.46%およびファイザーの過去の対照データにおける一腹あたりの胎児での発現率の最大値 4.8%よりも高かったが，この変異は [redacted] の背景データでは最大値 10.97%に認められていることから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

以上，本試験において母動物にニルマトレルビル投与に関連した毒性学的意義のある所見が認められなかったことから，母動物の NOAEL は 1000 mg/kg/日と判断された。発生毒性に関しては，胎児生存率や形態学的発達に対するニルマトレルビル投与に関連した影響も認められなかったものの，1000 mg/kg/日で胎児体重が減少したことから， NOAEL は 300 mg/kg/日と考えられた。300 mg/kg/日での妊娠 19 日における血漿中ニルマトレルビル曝露量（C_{max} および AUC_{24}）はそれぞれ 42,900 ng/mL および 195,000 ng•h/mL であった。

6.4. ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（00655272 試験）

妊娠 Wistar Han ラット（22 匹/群）に着床から離乳までの期間，ニルマトレルビルを投与して，母動物（F_0）の妊娠，出産および授乳ならびに F_1 出生児の成長，生存率，発達および生殖能力に対する影響を評価した。ニルマトレルビルは 0［100 mg/mL HPMCAS-MF，0.5%メチルセルロース（w/v）および 1% Soluplus（w/v）含有懸濁液］，100，300 または 1000 mg/kg/日の用量，10 mL/kg の投与容量で妊娠 6 日～授乳 20 日まで，1 日 1 回経口投与した。本試験では，ニルマトレルビルの 50% SDD 製剤（50%ニルマトレルビル活性等量: 50% HPMCAS-MF）を投与液の調製に用いた。

F_0 世代の評価

いずれの用量においても，ニルマトレルビル投与に関連した死亡または所見は認められなかった。対照群，100 mg/kg/日群および 1000 mg/kg/日群の各 1 例は出産に至らず，うち 100 mg/kg/日の雌 1 例（動物番号 2502）では完全な胚吸収を示し，その他は非妊娠であった。これらには用量反応性がなく，また対照群でも認められたことから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。100 mg/kg/日の別の 1 例（動物番号 2506）において，授乳 0 日に全腹児死亡が認められた。これは低用量で 1 例のみに発現したため，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

100 および 300 mg/kg/日では，妊娠中に母動物の体重および体重増加量に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。投与開始直後（妊娠 6～7 日），ニルマトレルビル投与に関連した一過性の体重増加量の減少が 1000 mg/kg/日で統計的に有意に認められたが，体重への影響はみられなかった（妊娠 7 日で対照群の 1.00 倍）。その他の妊娠中の投与期間（妊娠 6～20 日）ではニルマトレルビル投与に関連した体重増加量の増加が認められた。妊娠 8～9 日，19～20 日および 6～20 日で統計的に有意であったが，これらの変化も体重には影響せず，妊娠 20 日で対照群の 1.07 倍であった。

100 および 300 mg/kg/日では，授乳中に母動物の体重および体重増加量に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。授乳期間中，ニルマトレルビル投与に関連したわずかな体重増加量の増加が 1000 mg/kg/日で授乳初期に認められたが（授乳 1～7 日で対照群の 1.12～1.18 倍），授乳終了までに正常に復した。これらの変化は体重には影響を及ぼさず，授乳 1 日で対照群の 1.06 倍，授乳 21 日では対照群の 1.07 倍であり，毒性学的意義のある変化ではないと考えられた。

いずれの用量においても妊娠または授乳期間中に，母動物の摂餌量に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。

いずれの用量においても，ニルマトレルビル投与に関連した剖検所見は認められず，妊娠期間，分娩状況または着床痕数に対する影響も認められなかった。

F_1 世代の評価（離乳前）

いずれの用量においても，出生後生存率に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。対照群，100，300 および 1000 mg/kg/日群でそれぞれ出生児 6 例（4 腹），11 例（2 腹），14 例（5 腹）および 8 例（4 腹）に死亡または安楽殺があった。同じ群の出生児 2 例（1 腹），3 例（2 腹），5 例（5 腹）および 2 例（2 腹）が食殺されたと推測された。いずれの用量においても，F_1 出生児数および性比に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。

100 および 300 mg/kg/日では，離乳前期間中に F_1 出生児の体重および体重増加量に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。出生後 10～17 日の間に，ニルマトレルビル投与に関連した体重増加量の減少が 1000 mg/kg/日の雌雄で認められ，出生後 17 日における雌雄の体重は対照群の 0.92 倍となった。同用量での出生後 17～21 日における体重増加量は概して対照群と同程度であったが，体重は出生後 21 日でも依存として低かった（対照群と比較し，雄で 0.93 倍，雌で 0.94 倍）。体重増加量に対するこれらの影響は，対照群からの変化の程度が小さいため，毒性学的意義は低いと考えられた。なお，同用量での出生後 1～10 日の間の出生児の体重増加量は，概して対照群と同程度であった。

いずれの用量においても，耳介分離までの日数，驚愕反応または瞳孔反射までの日数に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。

いずれの用量においても，眼瞼開裂までの日数に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。300 および 1000 mg/kg/日で対照群との差は統計的に有意であったが，全群の平均日数の差は 1 日以内（対照群，100，300 および 1000 mg/kg/日群でそれぞれ 15.7,

15.4，15.3 および 15.2 日）であり，300 および 1000 mg/kg/日群の群平均値は対照群よりも CRL-ASH の背景データの最大値（15.1 日）に近かった。

死亡または安楽殺した出生児の剖検において，F_0 母動物へのニルマトレルビル投与に起因する可能性があると考えられる剖検所見は認められなかった。早期出生後死亡または安楽死処置でよく認められる所見である胃内容物の不在を除き，内臓所見は 300 mg/kg/日の 4 例（出生児番号 3501～3504）に認められた膨張胃のみであった。出生後 21 日に安楽死処置した F_1 出生児の剖検時には，F_0 母動物へのニルマトレルビル投与に起因する可能性があると考えられる剖検所見は認められなかった。内臓所見は，100 mg/kg/日の 3 例（出生児番号 2512～2514）で認められた右精巣および精巣上体の小型化ならびに偶発的にみられた右精巣の退色のみであった。

F_1 世代の評価（離乳後）

いずれの用量においてもニルマトレルビル投与に関連した死亡は認められなかった。F_1 世代のすべての雌雄が計画剖検まで生存した。いずれの用量においても，ニルマトレルビル投与に関連した一般状態，体重または体重増加量に対する影響は認められなかった。

いずれの用量においても，包皮分離までの日数，膣開口までの日数またはそれらを達成した時点における体重に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。

F_1 の聴覚性驚愕反応に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。出生後 60 日におけるニルマトレルビル投与群と対照群の F_1 雌雄ですべての試行に対する驚愕反応のピーク振幅（PEAK 値）およびピーク到達時間（Tpeak 値）は同様で，対照群と比較して統計的な有意差は認められなかった。全 50 回の試行で，馴化反応パターンに影響は認められなかった。

出生後 61 日における F_1 の自発運動パターン（総運動量および歩行計数）に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。全 60 分間の試験および 6 つの区間（0～10 分，11～20 分，21～30 分，31～40 分，41～50 分および 51～60 分）で得られた値は対照群と同程度であり，統計的な有意差はなかった。対照群との比較において，いずれのニルマトレルビル投与群においても馴化パターンの顕著な変化は生じなかった。

Biel 型迷路の学習および記憶に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。Biel 型迷路評価の初日（出生後 62 日）における水泳能力は，対照群，100，300 および 1000 mg/kg/日群で同程度であり，出生後 63 日以降の F_1 雌雄間ならびにニルマトレルビル投与群と対照群との間に学習記憶試験中の基準時間（水面下プラットホームの探索時間平均値）に生物学的に意味のある傾向は認められなかった。様々な評価段階中における誤選択の平均数は，概してすべてのニルマトレルビル投与群および対照群で同程度であった。試行 10 または 11（学習経路 B）の間に，統計的に有意な逃避までの時間の延長および誤選択数の増加が 100，300 および 1000 mg/kg/日の F_1 雌で認められた。しかしながら，すべての区間を複合したときの差は統計的に有意ではなく，100，300 または 1000 mg/kg/日群の F_1 雄では差は認められなかった。このため，F_1 雌でみられた差はニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

いずれの用量においても，F_1 の生殖能力（交配，受胎能および妊娠パラメータ），発情周期または交尾前日数に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。対照群お

よび 300 mg/kg/日群の交配対 1 組では出産がみられず，妊娠していなかった。これは 300 mg/kg/日の 1 例のみで生じ，用量反応性がなかったことから，ニルマトレルビル投与に関連しないと考えられた。

いずれの用量においても，F_1 雌雄にニルマトレルビル投与に関連した剖検所見は認められず，F_1 母動物の体重または体重増加量に対する影響も認められなかった。

いずれの用量においても，ニルマトレルビル投与に関連した F_1 雌の黄体数および着床痕数，または F_2 胚の子宮内生存率に対する影響は認められなかった。

以上，本試験において毒性学的意義のある所見が認められなかったことから，ニルマトレルビルを Wistar Han ラットの F_0 雌に経口投与したときの F_0 母動物および F_1 出生児の生殖発生に関する NOAEL はいずれも 1000 mg/kg/日であると考えられた。

7. 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施していない。

8. その他の毒性試験

8.1. 光毒性試験

ニルマトレルビルの光毒性試験は実施していないが，紫外可視吸光度を評価したところ，モル吸光係数は閾値である 1000 L mol^{-1} cm^{-1} を上回らなかったことから，ニルマトレルビルは光毒性のリスクを有しないことが示されている。

8.2. 抗原性試験

ニルマトレルビルの抗原性試験は実施していない。

8.3. 免疫毒性試験

ニルマトレルビルの免疫毒性試験は実施していない。

8.4. 毒性発現の機序に関する試験

ニルマトレルビルの毒性発現の機序に関する試験は実施していない。

8.5. 依存性試験

ニルマトレルビルの依存性試験は実施していない。

8.6. 代謝物の毒性試験

ニルマトレルビルの代謝物を投与する独立した試験は実施していない。ニルマトレルビルのヒト特有の代謝物は認められていない。ヒト肝ミクロソームおよびヒト肝細胞を用いた in vitro 代謝試験で検出された代謝物はいずれも毒性試験で用いた動物種（ラットおよびサル）でも認められた。

8.7. 不純物の毒性試験

8.7.1. ラットを用いた不純物の 2 週間経口投与毒性試験（[redacted]GR206 試験）

Wistar Han ラットに複数の不純物（ *不純物A ， *不純物B ， *不純物C ， *不純物D ， *不純物E ， *不純物F または *不純物G ）を添加したニルマトレルビルを 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 2%ポリソルベート 80（v/v）含有懸濁液（溶媒対照群）］または 200 mg/kg/日の用量，10 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回，2 週間経口投与したときの毒性を評価した。本試験では，不純物を添加していないニルマトレルビル（ロット番号 FJ7592：第 2 群）を比較対照として投与し，不純物を添加したニルマトレルビルとしてロット番号 00711831-651-01（第 3 群： *不純物A ， *不純物B ， *不純物C および *不純物D を添加）ならびにロット番号 00711831-651-02（第 4 群： *不純物E ， *不純物F および *不純物G を添加）を投与した。被験物質はいずれのロットも 1:1 の MTBE 溶媒和物として投与したため，対照群（第 1 群）にも同濃度の MTBE（0.3% w/v）を添加した溶媒を投与した。

ニルマトレルビル投与に関連した体重，摂餌量または眼科学的検査値の変化は認められなかった。ニルマトレルビル投与に関連した所見は，不純物添加の有無にかかわらずニルマトレルビルを投与したすべての群で投与 14 日の投与前に認められた流涎に限られた。時に認められた薄毛，皮膚病変または尾の退色は，単発的に発現したかまたはラットでよく認められる所見であるため，被験物質に関連しない変化と考えられた。

ニルマトレルビルを投与した雌雄ラットで，血液学的検査，凝固検査，血液生化学検査または尿検査において毒性学的意義のある影響は認められなかった。溶媒対照群（第 1 群）と比較し，不純物を添加しないニルマトレルビルを投与した雄（第 2 群）および不純物を添加したニルマトレルビルを投与した雄（第 3 および 4 群）では，PT の延長（それぞれ 1.06 倍，1.05 倍および 1.07 倍）および APTT の延長（それぞれ 1.13 倍，1.18 倍および 1.10 倍）が認められた。溶媒対照と比較し，第 2 群と第 3 群の雄でグロブリンの増加（それぞれ 1.04 倍および 1.07 倍）が認められ，それにより総タンパクの増加が生じた（それぞれ 1.04 倍および 1.04 倍）。また，グロブリン増加に伴い，第 3 群の雄で A/G 比の減少（0.95 倍）が認められたものの，毒性学的に意義のある変化ではなかった。

不純物を添加した群と添加しない群の間で，臓器重量に差は認められなかった。ニルマトレルビルを投与した雌では，不純物の有無にかかわらず，対照群と比較した毒性学的意義の低い臓器重量の差として肝臓の絶対重量および相対重量の増加（1.11～1.18 倍）のみが認められたが，肝臓に関連する剖検または病理組織学的変化は認められなかった。不純物を添加したニルマトレルビルを投与したラットで，ニルマトレルビル投与に関連した剖検所見または病理組織学的所見は認められなかった。

以上，ニルマトレルビルを Wistar Han ラットに 1 日 1 回，14 日間経口投与したときの NOAEL は，不純物添加の有無にかかわらず 200 mg/kg/日であると判断された。不純物の存在により，ニルマトレルビルの安全性プロファイルは変化しなかった。

8.8. その他の試験

ニルマトレルビルのその他の試験は実施していない。

9. 考察及び結論

Wistar Han ラットおよびカニクイザルを用いた最長 1 ヵ月間の GLP 適用反復投与毒性試験 4 試験で，ニルマトレルビルの毒性を評価した。いずれの試験においても毒性学的意義のある所見は認められなかった。NOAEL は各試験で投与した最高用量であり，300/100 mg のニルマトレルビル/リトナビル（1 日 2 回）を投与したときのヒトにおけるニルマトレルビル総濃度の曝露量（C_{max} および AUC）[a]と比較した 1 ヵ月間毒性試験の NOAEL における曝露量は，ラットでは C_{max} で 14 倍，AUC_{24} で 10 倍であり，サルでは C_{max} で 28 倍，AUC_{24} で 18 倍であった。毒性学的意義の低いニルマトレルビル投与に関連した一般状態変化として，ラット 1 ヵ月間試験での散発的な流涎および軟便ならびにサルにおけるわずかな体重減少を伴う散発的な嘔吐が認められた。ラットでは，毒性学的意義の低いモニタリング可能な可逆性の臨床病理所見として，一般状態または病理組織学的検査との関連がない重症度の低い炎症または凝固経路の変化を示唆する変化がみられた。サルでは，毒性学的意義が低く，モニタリング可能で，概して可逆性の臨床病理所見として，一般状態または病理組織学的検査との関連がない ALT 増加（投与前値の 1.63～3.53 倍）または AST 増加（投与前値の 2.68～7.41 倍）ならびにフィブリノゲン増加（投与前値の 1.20～1.91 倍）が 1 ヵ月間試験の高用量で認められた。ラット 14 日間試験の 1000 mg/kg/日群において，対照群と比較して，心臓の絶対重量および相対重量の減少が雌で認められた。この所見には病理組織学的関連がなく，2 週間の回復期間終了時に完全に回復し，1 ヵ月間試験では認められなかった。ラットの 14 日間および 1 ヵ月間試験の両試験で，対照群と比較して肝臓重量の増加が認められ，肝臓（門脈周囲の肝細胞肥大および肝細胞細胞質空胞化），甲状腺（濾胞細胞肥大）および下垂体（前葉の内分泌細胞における細胞質空胞化：1 ヵ月間試験の雄のみ）における軽微から軽度の完全に回復または部分的に回復する毒性学的意義の低い病理組織学的所見と相関した。これらの変化はラット特異的な肝酵素誘導応答と一致し，その結果，チロキシン異化の増加，血清甲状腺刺激ホルモンの増加，甲状腺濾胞細胞肥大および下垂体前葉空胞化が生じるとされている[5,6,7]。この機序は，甲状腺ホルモンの血漿中半減期および輸送タンパク質への結合がげっ歯類とヒトとの間で顕著に異なることから，ヒトとの関連性はほとんどないと考えられる[5]。

In vitro 遺伝毒性試験で，ニルマトレルビルは変異原性または染色体異常誘発性を示さず，GLP 適用ラット 14 日間反復投与毒性試験に組み込まれた in vivo ラット小核試験において陰性であった。

最高 1000 mg/kg/日の用量において，ニルマトレルビルは，ラットにおける雌雄の受胎能，ラットおよびウサギにおける胎児の形態および胚・胎児の生存，ならびにラットにおける出生前および出生後の発生に対して毒性学的意義のある作用を示さなかった。臨床におけるニルマトレルビル総濃度曝露量と比較したとき，ラット受胎能試験，ラット胚・胎児発生試験，ウサギ胚・胎児発生試験ならびにラット周産期試験における 1000 mg/kg/日での曝露比（C_{max}/AUC_{24} に基づく）は，それぞれ 16 倍/5.3 倍，21 倍/9.8 倍，32 倍/13 倍および 21 倍/9.8 倍であった。受胎能試験では，毒性学的意義の低い体重増加量の増加が 1000 mg/kg/日の雌で交配前期間に認めら

[a] 成人 COVID-19 患者にニルマトレルビル/リトナビルを 300/100 mg BID で 5 日間投与したときのシミュレーションに基づく投与 5 日における C_{max}：3.16 µg/mL，AUC_{24}：54.7 µg•hr/mL［AUC_{12}（27.35 µg•hr/mL）の 2 倍］（2.7.2.4.3.2 項）

れた。ラット胚・胎児発生試験ではニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。ウサギ胚・胎児発生試験では，母動物の体重増加量および摂餌量に対する軽度の影響が認められた 1000 mg/kg/日において，ニルマトレルビル投与に関連した毒性学的意義のある胎児体重の減少（対照群の 0.91 倍）が認められたが，胎児の形態または胚・胎児の生存に対するニルマトレルビル投与に関連した影響は認められなかった。ラット周産期試験の F_0 世代では，対照群と比較して，高用量群において妊娠および授乳の様々な期間で毒性学的意義の低い体重増加量の変化が認められたが，体重に対する影響はなかった。F_1 世代では，出生後 10～17 日に高用量群において毒性学的意義の低い一過性の体重増加量の減少が認められ，出生後 17 日（対照群の 0.92 倍）および 21 日（対照群と比較し，雄で 0.93 倍，雌で 0.94 倍）における体重の減少を生じた。体重減少は離乳前に回復し始め，離乳後期間までは持続しなかった。体重変化は，ヒトにおいてはニルマトレルビル投与終了後に回復すると考えられ，また，種々の試験で十分な曝露比の得られる高用量でのみ認められた。したがって，ニルマトレルビルのヒトの生殖発生機能に対するリスクはほとんどないと考えられる。

ニルマトレルビルの光毒性試験は実施していないが，紫外可視吸光度を評価したところ，モル吸光係数は閾値である 1000 L mol^{-1} cm^{-1} を上回らなかったことから，ニルマトレルビルは光毒性のリスクを示さないと考えられる。

ラットを用いた不純物の 2 週間経口投与毒性試験において，複数の不純物（ *不純物A ， *不純物B ， *不純物C ， *不純物D ， *不純物E ， *不純物F または *不純物G ）を添加したニルマトレルビル 200 mg/kg/日を投与したところ，ニルマトレルビルの安全性プロファイルは変化しなかった。

ニルマトレルビルとリトナビルの併用投与毒性試験は実施していない。リトナビルは非臨床および臨床安全性プロファイルが十分に評価されている市販薬であり，また，ニルマトレルビルの非臨床および臨床安全性プロファイルも良好である。そのため，両薬物の併用による毒性の重複または増悪は予想されない。また，ニルマトレルビル単独の非臨床試験において，ニルマトレルビルの臨床での曝露を上回る広い安全域が得られている（2.4.4 項を参照）。このため，併用投与毒性試験からは，ニルマトレルビルおよびリトナビルの既知の毒性プロファイルを超える情報が得られる可能性は低いと考えられ，このアプローチは，FDA や EMA など海外の複数の保健当局で合意されている。

以上，ICH M3(R2)ガイドラインに準拠した非臨床毒性試験パッケージにより，ニルマトレルビルのリトナビルとの併用による臨床適用が適切に裏付けられていると考える。

10. 参考文献

[1] Prescott-Mathews JS, Wolf DC, Wong BA, et al. Methyl tert-butyl ether causes alpha2μ-globulin nephropathy and enhanced renal cell proliferation in male Fischer-344 rats. Toxicol Appl Pharmacol 1997;143:301-14.

[2] Greaves P. Urinary tract. In: Greaves P, editor. Histopathology of preclinical toxicity studies. 4th ed, Elsevier, 2012:562-6.

[3] Maronpot RR. Spontaneous Hydronephrosis, Rat. In: Jones, TC, Hard, GC, Mohr, U, eds. Urinary System. Monographs on Pathology of Laboratory Animals. Springer, Berlin, Heidelberg. 1998: p. 306-309.

[4] Kuwagata M, Sakai Y, Tanaka S, et al. Historical control data on developmental toxicity studies in rats. Congenital Anomalies. 2019;59:125-31.

[5] Childs GV, Ellison DG, Lorenzen JR, et al. Immunocytochemical studies of gonadotropin storage in developing castration cells. Endocrinology. 1982;111:1318-28.

[6] Greaves P. Endocrine glands. In: Histopathology of preclinical toxicity studies. 4th edition. Elsevier; 2012, p. 772-3.

[7] Rosol T, De Lellis R, Harvey P, et al. Endocrine System. In: Haschek W, Rousseau C,Wallig M, eds. Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology. Academic Press, London, UK Vol 1. 3rd ed. 2013: p. 2391-492.

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW 2
2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES 5
2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 6
2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE 8
2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 10
2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY 12
2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY 15
2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY 18
2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY 20
2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO 22
2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO 26
2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO 28
2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION 29
2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 32
2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 34
2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION 36
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES 40

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Nirmatrelvir

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Single-Dose Toxicity								
Not conducted								
Repeat-Dose Toxicity[b]								
Nonpivotal								
Exploratory Toxicity	Rat/Wistar Han	Oral gavage	4 Days	0, 30, 100, 1000	No	PWRDM	[redacted]GR250	NA
Exploratory Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage	4 Days	0, 30 (15 BID), 300 (150 BID), 1000 (500 BID)	No	PWRDM	[redacted]GR271	NA
Pivotal								
Toxicity With AOM With 2-Week Recovery	Rat/Wistar Han	Oral gavage	2 Weeks	0, 0 (150 MTBE)[c], 60, 200, 1000	Yes	PWRDM	[redacted]GR276	NA
Toxicity With 2-Week Recovery	Rat/Wistar Han	Oral gavage	28 Days	0, 60, 200, 1000	Yes	PWRDM	[redacted]GR122	NA
Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage	15 Days	0, 0 (90 [45 BID] MTBE)[c], 40 (20 BID), 100 (50 BID), 600 (300 BID)	Yes	PWRDM	[redacted]GR289	NA
Toxicity With 2-Week Recovery	Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage	28 Days	0, 40 (20 BID), 100 (50 BID), 600 (300 BID)	Yes	PWRDM	[redacted]GR125	NA

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Nirmatrelvir

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Genotoxicity								
Bacterial Reverse Mutation Assay	*Salmonella typhimurium*/ TA98, TA100, TA1535, TA1537 *Escherichia coli*/ WP2 uvrA	In Vitro	NA	15.0-5000 µg/plate	Yes	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]GR288
In Vitro Micronucleus Assay	TK6 human lymphoblastoid cells	In Vitro	NA	62.5-500 µg/mL	Yes	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]GR286
In Vivo Micronucleus[e]	Rat/Wistar Han	Oral gavage	2 Weeks	0, 0 (150 MTBE)[c], 60, 200, 1000	Yes	PWRDM	[redacted]GR276[e]	NA
Carcinogenicity								
Not conducted								
Reproductive and Developmental Toxicity								
Combined Fertility and Early Embryonic Development	Rat/Wistar Han	Oral gavage	M: 14 days prior to mating through mating to euthanasia F: 14 days prior to mating through GD 6	0, 60, 200, 1000	Yes	PWRDM	[redacted]GR146	NA
Definitive EFD	Rat/Wistar Han	Oral gavage	GD 6-17	0, 100, 300, 1000	Yes	PWRDM	[redacted]GR132	NA
Definitive EFD	Rabbit/NZW	Oral gavage	GD 7-19	0, 100, 300, 1000	Yes	PWRDM	[redacted]GR126	NA
Pre- and Postnatal Development	Rat/Wistar Han	Oral gavage	GD 6 through LD 20	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted][f]	00655272	[redacted]GR149
Local Tolerance								
Not conducted								

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Nirmatrelvir

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Other Toxicity Studies								
Impurity Qualification Toxicity	Rat/Wistar Han	Oral gavage	2 Weeks	0 (30 MTBE)[c], 200	Yes	PWRDM	[redacted]GR206	NA

AOM = add-on micronucleus; BID = twice daily; EFD = embryo-fetal development; F = female; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; LD = Lactation Day; M = male; MTBE = methyl tert-butyl ether; NA = not applicable; NZW = New Zealand White; PWRDM = Pfizer Worldwide Research Development & Medical.

a. Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. For repeat-dose toxicity studies the NOAEL (no observed adverse effect level) is underlined.

c. The amount of MTBE in the vehicle control was based on the amount of MTBE present in the high dose group (15% MTBE). This was equivalent to 150 mg/kg/day MTBE for Study [redacted]GR276, 90 (45 BID) mg/kg/day MTBE for Study [redacted]GR289, and 30 mg/kg/day MTBE for Study [redacted]GR206.

d. [redacted], Maryland.

e. Conducted as part of the 2-week pivotal rat study (Study [redacted]GR276).

f. [redacted], Ohio.

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Test Article: Nirmatrelvir

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg/dose)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
2-Week Toxicity	Rat	Oral gavage	0, 0 (150 MTBE)[b], 60, 200, 1000	Yes	[redacted]GR276
1-Month Toxicity	Rat	Oral gavage	0, 60, 200, 1000	Yes	[redacted]GR122
15-Day Toxicity	Monkey	Oral gavage	0, 0 (90 [45 BID] MTBE)[b], 40 (20 BID), 100 (50 BID), 600 (300 BID)[c]	Yes	[redacted]GR289
1-Month Toxicity	Monkey	Oral gavage	0, 40 (20 BID), 100 (50 BID), 600 (300 BID)[c]	Yes	[redacted]GR125
Embryo-Fetal Development	Rat	Oral gavage	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted]GR132
Embryo-Fetal Development	Rabbit	Oral gavage	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted]GR126

BID = twice daily; GLP = Good Laboratory Practice; MTBE = methyl tert-butyl ether.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per dose.
b. In the 2-week repeat-dose GLP toxicity studies, MTBE was used as a solvate for the anhydrous form of PF-07321332 in order to increase systemic exposure. A separate control group administered MTBE was also included in these studies. The amount of MTBE in the control was based on the amount of MTBE present in the high dose group (15% MTBE). This was equivalent to 150 mg/kg/day MTBE for Study [redacted]GR276 and 90 (45 BID) mg/kg/day for Study [redacted]GR289.
c. The interval between BID dosing sessions was approximately 6 hours.

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Nirmatrelvir

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Total Steady State AUC_{24} (µg•h/mL)			
				Rat	Rabbit	Monkey	Human
				Combined Sexes[b]	F	Combined Sexes	
40 (20 BID)	15-Day Toxicity	[redacted]GR289	15			9.61	
40 (20 BID)	1-Month Toxicity	[redacted]GR125	28			5.62	
60	2-Week Toxicity	[redacted]GR276	14	17.2			
60	1-Month Toxicity	[redacted]GR122	25	19.2			
100 QD	Rat EFD	[redacted]GR132	GD 17	75.5 (F)			
100 QD	Rabbit EFD	[redacted]GR126	GD 19		98.7		
100 (50 BID)	15-Day Toxicity	[redacted]GR289	15			52.6	
100 (50 BID)	1-Month Toxicity	[redacted]GR125	28			45.9	
200	2-Week Toxicity	[redacted]GR276	14	80.5			
200	1-Month Toxicity	[redacted]GR122	25	94.9			
300 QD	Rat EFD	[redacted]GR132	GD 17	346 (F)			
300 QD	Rabbit EFD	[redacted]GR126	GD 19		195		
600 (300 BID)	15-Day Toxicity	[redacted]GR289	15			1220	
600 (300 BID)	1-Month Toxicity	[redacted]GR125	28			991	
1000	2-Week Toxicity	[redacted]GR276	14	292			
1000	1-Month Toxicity	[redacted]GR122	25	548			
1000	Rat EFD	[redacted]GR132	GD 17	535 (F)			
1000	Rabbit EFD	[redacted]GR126	GD 19		689		
300[c] (150 BID) mg	Clinical Study	PMAR-1323	PK modeling				54.7

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Nirmatrelvir

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Total Steady State C_{max} (µg/mL)			
				Rat	Rabbit	Monkey	Human
				Combined Sexes[b]	F	Combined Sexes	
40 (20 BID)	15-Day Toxicity	[redacted]GR289	15			2.42	
40 (20 BID	1-Month Toxicity	[redacted]GR125	28			1.38	
60	2-Week Toxicity	[redacted]GR276	14	13.3			
60	1-Month Toxicity	[redacted]GR122	25	12.8			
100 QD	Rat EFD	[redacted]GR132	GD 17	29.0 (F)			
100 QD	Rabbit EFD	[redacted]GR126	GD 19		17.0		
100 (50 BID)	15-Day Toxicity	[redacted]GR289	15			11.8	
100 (50 BID)	1-Month Toxicity	[redacted]GR125	28			7.80	
200	2-Week Toxicity	[redacted]GR276	14	27.1			
200	1-Month Toxicity	[redacted]GR122	25	26.0			
300 QD	Rat EFD	[redacted]GR132	GD 17	43.2 (F)			
300 QD	Rabbit EFD	[redacted]GR126	GD 19		42.9		
600 (300 BID)	15-Day Toxicity	[redacted]GR289	15			106	
600 (300 BID)	1-Month Toxicity	[redacted]GR125	28			87.5	
1000	2-Week Toxicity	[redacted]GR276	14	51.5			
1000	1-Month Toxicity	[redacted]GR122	25	44.5			
1000	Rat EFD	[redacted]GR132	GD 17	65.4 (F)			
1000	Rabbit EFD	[redacted]GR126	GD 19		99.6		
300[c] (150 BID) mg	Clinical Study	PMAR-1323					3.16

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours; BID = twice daily; C_{max} = maximum observed concentration; EFD = embryo-fetal development; F = female; GD = Gestation Day; PK = pharmacokinetics; QD = once daily.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Combined sexes unless specified otherwise.
c. Human dose of 300/100 mg nirmatrelvir/ritonavir.

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: Nirmatrelvir

Lot/Batch Number	Purity (%)	Identified Impurities						Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
		*不純物H	*不純物I	*不純物J	*不純物A	*不純物K	*不純物F		
Proposed Specification:	49.7% - 100%								
[redacted]	100[a]							[redacted]GR250	4-Day Rat
	98.8%							[redacted]GR271	4-Day Monkey
	98.1%							[redacted]GR276	2-Week Rat With 2-Week Recovery
	49.8%[e]							[redacted]GR122	1-Month Rat With 2-Week Recovery
	98.1%							[redacted]GR289	15-Day Monkey
	49.7%[h]							[redacted]GR125	1-Month Monkey With 2-Week Recovery
	98.1%							[redacted] (GR288)	Bacterial Reverse Mutation
	98.1%							[redacted] ([redacted]GR286)	Micronuclei Induction in Cultured Human Lymphoblastoid TK6 Cells
	49.8%[e]							[redacted]GR146	Fertility Study in Rats
	49.8%[e]							[redacted]GR132	Embryo-Fetal Development Study in Rats
	49.8%[e]							[redacted]GR126	Embryo-Fetal Development Study in Rabbits
	49.8%[i,j]							00655272 ([redacted]GR149)	Pre- and Postnatal Development Study in Rats

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: Nirmatrelvir

Lot/Batch Number	Purity (%)	Identified Impurities	Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
		*不純物H *不純物I *不純物J *不純物A *不純物K *不純物F		
[redacted][k]	99.4%	[redacted]	[redacted]GR206	2-Week Impurity Qualification in Rats
[redacted][m]	97.9%		[redacted]GR206	2-Week Impurity Qualification in Rats
[redacted][n]	98.2%		[redacted]GR206	2-Week Impurity Qualification in Rats
		Specified Impurities		
		*不純物B *不純物G *不純物D *不純物E *不純物C *不純物L		
Proposed Specification:				
[redacted][k]	99.4%	[redacted]	[redacted]GR206	2-Week Impurity Qualification in Rats
[redacted][m]	97.9%		[redacted]GR206	2-Week Impurity Qualification in Rats
[redacted][n]	98.2%		[redacted]GR206	2-Week Impurity Qualification in Rats

NMT = not more than; NT = not tested; SFC = supercritical fluid chromatography.
a. Lot [redacted] was an early lot that went through SFC screening for nonpivotal toxicity studies. Purity assessed at 210 nm. No specified or unspecified impurities were detected for each of the solvent systems used.
b. No specified or unspecified impurities were detected for each of the solvent systems used.
c. Not tested for specified impurity *不純物A .
d. Not tested for specified impurity *不純物F .
e. Lot [redacted] was a 50% spray-dried dispersion (SDD); 1 g of SDD at 99.6% × 0.5 = 49.8% active moiety.
f. Not tested for specified impurity *不純物I .
g. Not tested for specified impurity *不純物J .
h. Lot [redacted] was a 50% spray-dried dispersion (SDD); 1 g of SDD at 99.4% × 0.5 = 49.7% active moiety.
i. Lot [redacted] is a blend of 2 sublots (60% [redacted] and 40% [redacted]). Lot [redacted] is representative of the bulk blended material.
j. Lot [redacted] was a 50% spray-dried dispersion (SDD); 1 g of SDD at 99.6% × 0.5 = 49.8% active moiety.
k. Lot [redacted] was the unspiked lot used in impurity study [redacted]GR206.
l. Not tested for specified impurity *不純物H .
m. Lot [redacted] was spiked with [redacted]% *不純物A , [redacted]% *不純物B , [redacted]% *不純物C , and [redacted]% *不純物D for use in impurity study [redacted]GR206.
n. Lot [redacted] was spiked with [redacted]% *不純物E, [redacted]% *不純物F, and [redacted]% *不純物G for use in impurity study [redacted]GR206.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Nirmatrelvir

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Rat/Wistar Han	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (2% [v/v] Polysorbate 80 in 0.5% [w/v] methylcellulose in purified water/Suspension) Lot [redacted]	4 Days	0, 30, 100, 1000	3M, 3F	Not reported	None	[redacted]GR250/No

Toxicokinetic Parameters (M/F): Dose (mg/kg/day)	0	30	100	1000
Day 1				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	9690/8350	20000/23100	62200/64900
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	11400/14000	37600/71400	685000/660000
Day 4				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	3810/6600	12900/16200	21300/50900
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	4590/9610	23800/41300	268000/562000

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NOAEL = no observed adverse effect level; QD = once daily.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. All samples were below assay limit of quantitation (1.0 ng/mL) with the exception of 3 females at 2 hours postdose on Day 1 and 1 male at 1 and 2 hours postdose and 3 females at 2 hours postdose on Day 4 (values ranging from 1.00 ng/mL to 7.38 ng/mL). These values were near the lower limit of quantitation and orders of magnitude lower than the plasma concentrations seen in animals even in the lowest dose group; therefore, the values were deemed to have no impact on the overall interpretation of the exposure data.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Nirmatrelvir

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/ day)	Number/ Sex/ Group	NOAEL (mg/kg/ day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage, BID, 5 mL/kg (2% [v/v] Polysorbate 80 in 0.5% [w/v] methylcellulose in purified water/Suspension) Lot [redacted]	4 Days	0, 30 (15 BID), 300 (150 BID), 1000 (500 BID)	1M, 1F	Not reported	30 (15 BID) mg/kg/day: none ≥ 300 (150 BID) mg/kg/day: Emesis, ↑ fibrinogen (F), ↑ monocytes (F) 1000 (500 BID) mg/kg/day: ↓ Activity (M), hunched posture (M), ↓ skin turgor (F), ↓ body weight, ↑ fibrinogen (M),↑ white blood cells, ↑ neutrophils, ↓reticulocytes, ↑ red blood cells (F), ↑ hemoglobin (F), ↑ bilirubin (F), ↑ triglycerides (F), ↑ glucose (F), ↑ total protein (F), ↑ albumin (F), ↑ globulin (F), ↑ blood urea nitrogen (F), ↑ creatinine (F), ↓ sodium (F), ↓ potassium (F), ↓ chloride (F)	[redacted]GR271/ No

Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes): Dose (mg/kg/day)	0	30 (15 BID)	300 (150 BID)	1000 (500 BID)
Day 1				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	562	47800	109000
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	6330	275000	1010000
Day 4				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	1990	44500	144000
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	6130	451000	1770000

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BID = twice daily; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NOAEL = no observed adverse effect level.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (1.00 ng/mL).

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 2-Week Oral Gavage Toxicity and Micronucleus Assessment Study of PF-07321332 in Wistar Han Rats With a 2-Week Recovery

Test Article: Nirmatrelvir

Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 9 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 2 Weeks
Duration of Postdose: 2 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 2% (v/v) Polysorbate 80 in 0.5% (w/v) of methylcellulose in purified water/Suspension
Study Number: [redacted]GR276
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Special Features: See 2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo for additional micronucleus results. Two control groups were included: Since the test article was administered as a MTBE solvate, a control group (Control 1) was administered vehicle spiked with 15% MTBE at a concentration equivalent to that present in the test article formulation at 1000 mg/kg or 150 mg/kg MTBE. A second control group (Control 2) was administered 2% (v/v) Polysorbate 80 in 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water. Control 2 served as the reference group when compared to vehicle + MTBE [150] and/or the test article groups.
No Observed Adverse Effect Level: 1000 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Vehicle + MTBE [150]) Control 1**		**0 (Vehicle Control) Control 2**		**60**		**200**		**1000**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (µg/mL)										
Day 1	NA[b]		NA[b]		12.9		37.0		62.1	
Day 14	NA[b]		NA[b]		13.3		27.1		51.5	
AUC_{24} (µg•h/mL)										
Day 1	NA[b]		NA[b]		27.3		291		796	
Day 14	NA[b]		NA[b]		17.2		80.5		292	
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)[c]										
Day 14	-	193.47	-	195.49	-	0.97	-	1.01	-	1.04*
Body Weight Change (g)[c]										
Days 1-8	-	1.10	-	9.75	-	0.72	-	1.45†	-	1.86†
Days 8-14	-	1.07	-	9.71	-	1.09	-	1.18	-	1.45*
Days 1-14	-	1.08	-	19.47	-	0.90	-	1.31*†	-	1.65†
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR276 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Vehicle + MTBE [150]) Control 1		0 (Vehicle Control) Control 2		60		200		1000	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation										
Hemoglobin (g/dL)	-	13.86	-	13.51	-	13.30	-	13.13	-	12.79†
Platelets (10e3/uL)	926.2	907.4	877.0	870.4	933.5*	924.4	932.9*	883.1	1066.8†	1090.1†
Prothrombin Time (sec)	13.75	12.73*	14.68	11.99	17.05*	12.20	20.14†	12.36*	36.68†	16.73†
APTT (sec)	18.30	16.61	18.19	16.52	19.06*	16.55	19.75*†	17.16	21.72†	18.34†
Fibrinogen (mg/dL)	-	236.5	-	228.3	-	224.0	-	218.4	-	251.2*
Clinical Chemistry										
Globulin (g/dL)	2.13	1.81	2.07	1.88	2.11	1.78*	2.15*	1.83	2.21†	2.02*†
Albumin:Globulin	-	2.00	-	1.98	-	2.08*	-	1.96	-	1.79†
Alkaline phosphatase (U/L)	-	63.5	-	63.0	-	64.1	-	62.9	-	41.3†
Cholesterol (mg/dL)	-	33.2*	-	44.1	-	34.6	-	43.8	-	58.8†
Urinalysis										
pH	7.00	-	6.85	-	6.90	-	6.55	-	6.15*	-
Organ Weights[c]										
Liver										
Absolute (g)	1.03	0.95	7.9507	5.2167	1.02	0.95	1.09	1.07*	1.36†	1.59†
Relative (g/100 g body weight)	1.03	0.98	2.8291	2.8120	1.03*	1.02	1.10†	1.11†	1.35†	1.54†
Relative (g/g brain weight)	1.01	0.92	4.1604	2.9234	1.00	0.94	1.09	1.06*	1.35†	1.54†
Heart										
Absolute (g)	-	0.96	-	0.7024	-	0.93*	-	0.92*	-	0.88*†
Relative (g/100 g body weight)	-	0.99	-	0.3807	-	1.00	-	0.95	-	0.85†
Relative (g/g brain weight)	-	0.92	-	0.3951	-	0.92*	-	0.91*	-	0.85†
Gross Pathology										
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver										
Abnormal size (enlarged)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Histopathology										
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR276 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Vehicle + MTBE [150]) Control 1		0 (Vehicle Control) Control 2		60		200		1000	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Liver										
Hypertrophy, hepatocyte, periportal										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3	1	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	5	8
Vacuolation, hepatocyte, periportal										
Minimal	0	5	0	4	0	3	0	5	0	6
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Gland, Thyroid										
Hypertrophy, follicular cell										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Kidney										
Hyaline droplet, tubular epithelium										
Minimal	2	0	3	0	6	0	4	0	0	0
Mild	5	0	0	0	1	0	5	0	7	0
Moderate	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Additional Examination Micronucleus Assessment	negative	negative	negative	negative	negative	negative	negative	negative	negative	negative
Postdose Evaluation Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

∗ $p \leq 0.05$; † $p \leq 0.01$, significantly different from vehicle control (0 mg/kg; Control 2) based on appropriate trend and/or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

- = no noteworthy findings; APTT = activated partial thromboplastin time; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HPD = hours post dose; M = male; MTBE = methyl tert-butyl ether; NA = not applicable; QD = once daily.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. All samples below assay limit of quantitation (0.0100 µg/mL) with 2 exceptions, 0.0628 µg/mL in 1 female (vehicle + MTBE) at 2 HPD on Day 1, and 0.0456 µg/mL in 1 female (vehicle control) at 2 HPD on Day 14.

c. Group means are shown for controls (0 mg/kg/day). Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article or vehicle + MTBE [150]. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 1-Month Oral Gavage Toxicity Study of PF-07321332 in Wistar Han Rats with a 2-Week Recovery

Test Article: Nirmatrelvir

Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 8 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 1 Month
Duration of Postdose: 2 Weeks[a]
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 1% (w/v) Soluplus and 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water/Suspension[b]
Special Features: NA
No Observed Adverse Effect Level: 1000 mg/kg/day
Study Number: [redacted]GR122
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Dose[c] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**60**		**200**		**1000**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	15	15	15	15	15	15	15	15
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[d]		16200		35000		87300	
Day 25	NA[d]		12800		26000		44500	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[d]		34800		252000		982000	
Day 25	NA[d]		19200		94900		548000	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	1[e]	0	0	0	0
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations								
Salivation	0	0	2	3	8	10	7	14
Feces, soft	0	0	0	0	0	1	4	0
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation – Day 29								
Platelets ($10^3/\mu L$)	836.1	1007.0	940.0*†	1026.9	967.2*†	1126.6*	1073.1†	1174.7*†
Prothrombin time (sec)	13.02	11.94	13.66*†	12.22	13.84*†	12.37	14.92†	12.62*
Clinical Chemistry – Day 29	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR122
(continued)

Dose[c] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**60**		**200**		**1000**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Urinalysis – Day 29	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[f]								
Liver								
Absolute (g)	7.7336	4.8982	1.07	1.07*	1.14†	1.25†	1.49†	1.83†
Relative (g/100 g body weight)	2.3772	2.5051	1.08†	1.08†	1.15†	1.21†	1.53†	1.75†
Relative (g/g brain weight)	3.9927	2.6699	1.07	1.12†	1.14†	1.24†	1.46†	1.79†
Gross Pathology								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver								
Abnormal size (enlarged)	0	0	0	0	0	0	1	4
Abnormal color (mottled)	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology								
Number Examined[g]	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver								
Hypertrophy, hepatocyte, periportal								
Minimal	0	0	0	0	2	2	8	6
Mild	0	0	0	0	0	0	1	4
Thyroid gland								
Hypertrophy, follicular cell								
Minimal	0	0	1	0	4	2	6	2
Mild	0	0	0	0	0	0	4	8
Pituitary gland								
Vacuolation, endocrine cells, pars anterior (distalis)								
Minimal	0	0	2	NA	2	NA	4	0
Mild	0	0	0	NA	0	NA	1	0
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5
Organ Weights[f]								
Number Examined	5	5	5	5	5	5	5	5
Liver								
Absolute (g)	8.4948	-	1.08	-	0.94	-	1.18	-
Relative (g/100 g body weight)	2.4421	-	1.03	-	1.01	-	1.11†	-

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR122
(continued)

Dose[c] (mg/kg/day)	0 (Control)		60		200		1000	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Relative (g/g brain weight)	4.2337	-	1.08	-	0.96	-	1.20*	-
Histopathology								
Number Examined[h]	5	5	NA	NA	5	NA	5	5
Liver								
Hypertrophy, hepatocyte, periportal								
Minimal	0	0	NA	NA	0	NA	2	0
Thyroid gland								
Hypertrophy, follicular cell								
Minimal	0	0	NA	NA	0	NA	2	0
Pituitary gland								
Vacuolation, endocrine cells, pars anterior (distalis)								
Minimal	0	0	NA	NA	0	NA	2	0

* $p \leq 0.05$; † $p \leq 0.01$, significantly different from control based on appropriate trend and/or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice; HPD = hours postdose; NA = not applicable.
a. Duration of postdose 14 days for females and 15 days males.
b. Test article was administered as a 50% active PF-07321332: 50% HPMCAS-MG (hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-medium granular) spray-dried dispersion suspension. Vehicle control animals were administered a HPMCAS-MF (medium fine) formulation that was equivalent to the amount of HPMCAS that was present in the 1000 mg/kg/day formulation.
c. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
d. All samples below assay limit of quantitation (10.0 ng/mL).
e. One female animal was found dead in restrainer after the 2 HPD TK blood collection on Day 25 of the dosing phase. There were no clinical signs prior to death nor test article-related macroscopic or microscopic findings therefore this death was not considered test article related given lack of similar effects at higher doses.
f. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
g. Pituitary gland not examined microscopically in females at 60 and 200 mg/kg based on lack of test article-related microscopic findings in the 1000 mg/kg group.
h. Liver, thyroid gland, and pituitary gland not examined microscopically in 60 mg/kg animals (males and females) or 200 mg/kg females based on lack of test article-related microscopic findings in higher dose group(s).

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 15-Day Twice Daily (BID) Oral Gavage Toxicity Study of PF-07321332 in Cynomolgus Monkeys

Test Article: Nirmatrelvir

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Age at First Dose: 3-5 Years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 15 Days
Duration of Postdose: NA
Method of Administration: Oral gavage, BID ~6 hours apart, 5 mL/kg

Study Number: [redacted]GR289
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]

Vehicle/Formulation: 2% (v/v) Polysorbate 80 in 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water/Suspension

GLP Compliance: Yes

Special Features: Two control groups were included: Since the test article was administered as a MTBE solvate, a control group (Control 1) was administered vehicle spiked with 15% MTBE at a concentration equivalent to that present in the test article formulation at 600 (300 BID) mg/kg or 90 (45 BID) mg/kg MTBE. A second control group (Control 2) was administered 2% (v/v) Polysorbate 80 in 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water. Control 2 served as the reference group when compared to Vehicle + MTBE [90] and/or the test article groups.

No Observed Adverse Effect Level: 600 (300 BID) mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Vehicle + MTBE [90]) Control 1**		**0 (Vehicle Control) Control 2**		**40 (20 BID)**		**100 (50 BID)**		**600 (300 BID)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (µg/mL)										
Day 1	NA[b]		NA[b]		1.79		11.3		59.6	
Day 15	NA[b]		NA[b]		2.42		11.8		106	
AUC_{24} (µg•h/mL)										
Day 1	NA[b]		NA[b]		10.4		84.2		723	
Day 15	NA[b]		NA[b]		9.61		52.6		1220	
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (kg)[c] – Day 15	0.80	-	5.40	-	0.99	-	0.76*†	-	0.72*† (0.91)[d]	-
Food Consumption (Qualitative)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations										
Emesis	1	1	1	1	0	0	0	3	3	3
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR289 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Vehicle + MTBE [90]) Control 1		0 (Vehicle Control) Control 2		40 (20 BID)		100 (50 BID)		600 (300 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation-Day 16										
Fibrinogen (mg/dL)	202.0	199.3	232.7	181.7	247.0	193.7	237.7	200.0	315 (317, 403)[e]	272.7* (300)[e]
Clinical Chemistry-Day 16										
Sodium (mmol/L)	147.7	-	148.0	-	147.0	-	146.0	-	144.3* (142)[f]	-
Chloride (mmol/L)	107.7	-	108.3	-	108.0	-	107.3	-	107.3 (103)[f]	-
Urinalysis-Day 16										
pH	8.50	8.67	7.50	8.50	8.67*	8.67	8.50	8.33	6.83	6.33
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

* $p \leq 0.05$; † $p \leq 0.01$, significantly different from vehicle control (0 mg/kg/day; Control 2) based on appropriate trend and/or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BID = twice daily; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; MTBE = methyl tert-butyl ether; NA = not applicable.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (0.0100 µg/mL).
c. Group means are shown for vehicle control (0 mg/kg/day). Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article or Vehicle + MTBE [90]. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
d. There was 1 male at 600 (300 BID) mg/kg/day that had a decrease in body weight (0.91x) on Day 15 compared to Day 1.
e. Group mean is shown followed by individual male and female values in parentheses; there were 2 males and 1 female in this group that had a test article-related increase in fibrinogen.
f. Group mean is shown followed by an individual male value in parentheses; there was 1 male in this group that had test article-related decreases in sodium and chloride.

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 1-Month BID Oral Gavage Toxicity Study of PF-07321332 in Cynomolgus Monkeys With a 2-Week Recovery

Test Article: Nirmatrelvir

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Age at First Dose: 3-3.5 Years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 1 Month
Duration of Postdose: 2 Weeks[a]
Method of Administration: Oral gavage, BID ~ 6 hours apart, 5 mL/kg

Study Number: [redacted]GR125
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]

Vehicle/Formulation: 1% (w/v) Soluplus and 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water/Suspension[b]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 600 (300 BID) mg/kg/day

GLP Compliance: Yes

Dose[c] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**40 (20 BID)**		**100 (50 BID)**		**600 (300 BID)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	5	5	3	3	3	3	5	5
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[d]		1250		5320		76600	
Day 28	NA[d]		1380		7800		87500	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[d]		4110		29600		885000	
Day 28	NA[d]		5620		45900		991000	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (kg)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations								
Emesis	2	0	0	1	1	0	5	4
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation – Day 29								
Fibrinogen (mg/dL)	211.2	192.8	215.3	201.7	219.3	215.7	294.6*†	261.4*†

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR125 (continued)

Dose[c] (mg/kg/day)	0 (Control)		40 (20 BID)		100 (50 BID)		600 (300 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Chemistry– Day 29								
Alanine aminotransferase (U/L)	50.6	-	40.3	-	57.3	-	91.8∗† (98, 127)[e]	-
Aspartate aminotransferase (U/L)	70.2	57.8	52.7	60.3	65.0	46.3	131.6∗† (134, 252)[f]	78.6 (108)
Urinalysis– Day 29	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	2	2	NA	NA	NA	NA	2	2

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend and/or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BID = twice daily; C_{max} = maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable.

a. Duration of postdose 14 days for females and 15 days for males.

b. Test article was administered as a 50% active PF-07321332: 50% HPMCAS-MG (hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-medium granular) spray-dried dispersion suspension. Vehicle control animals were administered a HPMCAS-MF (medium fine) formulation that was equivalent to the amount of HPMCAS that was present in the 300 mg/kg/dose formulation.

c. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

d. All samples below assay limit of quantitation (10.0 ng/mL).

e. Group mean is shown followed by individual male and female values in parentheses; there were 2 males in this group that had a test article-related increase in alanine aminotransferase.

f. Group mean is shown followed by an individual male value in parentheses; there were 2 males and 1 female in this group that had test article-related increases in aspartate aminotransferase.

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: PF-07321332: Bacterial Reverse Mutation Assay

Test Article: Nirmatrelvir

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli*
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** DMSO
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium azide which uses water
Treatment: Plate incorporation for 48-72 hours with and without metabolic activation.
Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None

Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3

Study Number: [redacted]
Sponsor Reference Number: [redacted] GR288
Batch Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: [redacted]
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted] (B1); [redacted] 20[redacted] (B2)

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Toxicity-Mutation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvr*A**
Without Metabolic Activation						
Vehicle Control (DMSO)	50.0 µL/plate	9 ± 1	83 ± 5	7 ± 2	8 ± 3	28 ± 5
PF-07321332	1.50	7 ± 2	77 ± 3	6 ± 1	10 ± 2	25 ± 4
PF-07321332	5.00	10 ± 3	79 ± 1	9 ± 2	7 ± 1	29 ± 2
PF-07321332	15.0	10 ± 5	78 ± 9	8 ± 1	6 ± 1	31 ± 10
PF-07321332	50.0	12 ± 5	78 ± 9	8 ± 1	2 ± 2	48 ± 1
PF-07321332	150	8 ± 5	74 ± 7	6 ± 2	4 ± 2	42 ± 8
PF-07321332	500	11 ± 2	84 ± 3	10 ± 5	8 ± 3	36 ± 6
PF-07321332	1500	8 ± 1	79 ± 4	8 ± 2	6 ± 3	26 ± 5
PF-07321332	5000	13 ± 5	86 ± 9	9 ± 1	7 ± 4	28 ± 6
Positive Controls						
2-nitrofluorene	1.0	132 ± 3	NT	NT	NT	NT
sodium azide	1.0	NT	683 ± 39	553 ± 18	NT	NT
9-Aminoacridine	75	NT	NT	NT	1137 ± 27	
methyl methanesulfonate	1000	NT	NT	NT	NT	377 ± 27

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted] **(continued)**

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Toxicity-Mutation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvr*A**
With Metabolic Activation						
Vehicle Control (DMSO)	50.0 µL/plate	20 ± 6	83 ± 7	8 ± 3	14 ± 1	27 ± 5
PF-07321332	1.50	22 ± 8	90 ± 24	8 ± 3	9 ± 2	28 ± 6
PF-07321332	5.00	16 ± 8	130 ± 17	11 ± 3	16 ± 6	33 ± 2
PF-07321332	15.0	20 ± 4	127 ± 7	9 ± 1	11 ± 5	22 ± 5
PF-07321332	50.0	21 ± 4	146 ± 9	12 ± 4	13 ± 8	35 ± 4
PF-07321332	150	20 ± 5	91 ± 15	14 ± 9	10 ± 4	28 ± 5
PF-07321332	500	18 ± 3	88 ± 1	10 ± 1	14 ± 8	25 ± 5
PF-07321332	1500	17 ± 2	72 ± 9	6 ± 3	14 ± 6	39 ± 2
PF-07321332	5000	21 ± 3	91 ± 12	8 ± 2	13 ± 6	27 ± 8
Positive Controls						
2-aminoanthracene	1.0	520 ± 18	NT	111 ± 11	NT	NT
2-aminoanthracene	5.0	NT	2215 ± 114	NT	153 ± 17	NT
2-aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	171 ± 8

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted] **(continued)**

Test Article	Dose (µg/plate)	Confirmatory Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvr*A**
Without Metabolic Activation						
Vehicle Control (DMSO)	50.0 µL/plate	24 ± 9	102 ± 6	8 ± 3	6 ± 4	29 ± 4
PF-07321332	15.0	20 ± 4	106 ± 9	11 ± 1	6 ± 4	28 ± 5
PF-07321332	32.5	NT	NT	NT	NT	22 ± 4
PF-07321332	50.0	22 ± 1	95 ± 13	7 ± 1	10 ± 3	25 ± 4
PF-07321332	75.0	NT	NT	NT	NT	28 ± 8
PF-07321332	150	15 ± 5	92 ± 5	11 ± 3	11 ± 3	28 ± 8
PF-07321332	325	NT	NT	NT	NT	31 ± 6
PF-07321332	500	23 ± 1	101 ± 4	11 ± 3	11 ± 6	29 ± 7
PF-07321332	1500	20 ± 7	92 ± 6	9 ± 5	7 ± 1	35 ± 6
PF-07321332	5000	21 ± 4	105 ± 3	9 ± 1	4 ± 1	30 ± 4
Positive Controls						
2-nitrofluorene	1.0	149 ± 14	NT	NT	NT	NT
sodium azide	1.0	NT	769 ± 28	573 ± 61	NT	NT
9-Aminoacridine	75	NT	NT	NT	884 ± 148	NT
methyl methanesulfonate	1000	NT	NT	NT	NT	292 ± 29

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted] **(continued)**

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Confirmatory Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvr*A
With Metabolic Activation						
Vehicle Control (DMSO)	50.0 µL/plate	24 ± 6	143 ± 19	11 ± 7	8 ± 1	27 ± 6
PF-07321332	15.0	25 ± 3	86 ± 10	13 ± 3	13 ± 9	31 ± 7
PF-07321332	32.5	NT	87 ± 8	NT	NT	NT
PF-07321332	50.0	25 ± 5	86 ± 3	10 ± 4	12 ± 4	32 ± 4
PF-07321332	75.0	NT	88 ± 11	NT	NT	NT
PF-07321332	150	25 ± 7	90 ± 1	16 ± 5	16 ± 1	29 ± 4
PF-07321332	325	NT	84 ± 16	NT	NT	NT
PF-07321332	500	29 ± 6	98 ± 6	13 ± 3	11 ± 6	23 ± 2
PF-07321332	1500	23 ± 4	84 ± 6	7 ± 3	11 ± 5	21 ± 5
PF-07321332	5000	25 ± 3	149 ± 19	9 ± 2	12 ± 6	22 ± 4
Positive Controls						
2-aminoanthracene	2.0	542 ± 6	NT	108 ± 7	NT	NT
2-aminoanthracene	5.0	NT	1673 ± 80	NT	174 ± 27	NT
2-aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	207 ± 27

Criteria for significance: 2 times (TA 98, TA100, and WP2 *uvr*A pKM101) and 3 times (TA1535 and TA1537) vehicle controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant.
B1: Initial Toxicity Mutation Assay; B2: Confirmatory Mutagenicity Assay.

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: PF-07321332: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay in TK6 Cells

Test Article: Nirmatrelvir

Test for Induction of: Micronuclei
Test Cells: TK6 Cells
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** Water
Treatment: 4-Hour treatment without metabolic activation, 4-hour treatment with metabolic activation, and 27-hour treatment without metabolic activation.

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 2
Number of Cells Analyzed/Culture: 1000

Study Number: [redacted]
Sponsor Reference Number: [redacted]GR286
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Numbers: [redacted]
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted] (Definitive Assay)

Cytotoxic Effects: In the micronucleus assay, cytotoxicity (≥50 ± 5% decrease in RPD relative to the vehicle control) was not observed at any concentration in any of the three treatment groups.

Genotoxic Effects: None.

Test Article	Concentration (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
4-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0	0.30	NA	NA
PF-07321332	125	2000	4	0.45	> 0.05	> 0.05
PF-07321332	250	2000	8	0.50	> 0.05	> 0.05
PF-07321332	500	2000	9	0.35	> 0.05	> 0.05
Mitomycin C	0.12	2000	42	2.75†	< 0.01	NA

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO

Test Article: Nirmatrelvir

Test Article	Concentration (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
4-Hour Treatment With Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0	0.40	NA	NA
PF-07321332	125	2000	-2	0.30	> 0.05	> 0.05
PF-07321332	250	2000	-4	0.40	> 0.05	> 0.05
PF-07321332	500	2000	0	0.35	> 0.05	> 0.05
Cyclophosphamide	4	2000	36	1.90†	< 0.01	NA
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0	0.45	NA	NA
PF-07321332	125	2000	7	0.35	> 0.05	> 0.05
PF-07321332	250	2000	9	0.35	> 0.05	> 0.05
PF-07321332	500	2000	22	0.45	> 0.05	> 0.05
Vinblastine Sulfate	12 ng/mL	2000	46	7.20†	< 0.01	NA

† $p \leq 0.01$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statisitical decision tree can be found in the final report for this study.
DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; RPD = relative population doubling; S9 = postmitochondrial supernatatant.
a. Toxicity = (100-RPD), where RPD = (the number of population doublings in the treated cultures/the number of population doublings in the negative control cultures).
b. % MN = % Micronucleated Mononucleates = (the total number of micronucleated mononucleates/ the total number of monoculeates analyzed).
c. P value based on a Fisher's Exact test. <0.05 = significant. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
d. Trend: A Cochran-Armitage test is performed. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.

2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO

Report Title: 2-Week Oral Gavage Toxicity and Micronucleus Assessment Study of PF-07321332 in Wistar Han Rats With a 2-Week Recovery

Test Article: Nirmatrelvir

Test for Induction of: Peripheral blood micronuclei
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at Dose Initiation: 9 Weeks

Cells Evaluated: RET and NCE

Treatment Schedule: 2 Weeks

Sample Time: Day 4
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg

Vehicle/Formulation: 2% (v/v) Polysorbate 80 in 0.5% (w/v) methylcellulose/Suspension

Study Number: [redacted]GR276[a]

Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Date of Dosing:
Males: [redacted]20[redacted] – [redacted]20[redacted]
Females: [redacted]20[redacted] – [redacted]20[redacted]

Number of Cells Analyzed/Animal: ~20,000 RET for micronuclei and for RET:NCE ratio.
Special Features: Two control groups were included: Since the test article was administered as a MTBE solvate, a control group (Control 1) was administered vehicle spiked with 15% MTBE at a concentration equivalent to that present in the test article formulation at 1000 mg/kg or 150 mg/kg MTBE. A second control group (Control 2) was administered 2% (v/v) Polysorbate 80 in 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water. Samples from animals administered the test article were statistically compared to both control groups and results of statistical analyses compared to both controls are presented below.
Toxic/Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None
Evidence of Exposure: Toxicokinetic parameters are presented on 2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity tabulated summary.

Test Article	Dose[b] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	RET (%) Mean ± SD		MNRET (%) Mean ± SD	
			Male[§]	Female	Male	Female
MTBE[b]	0 (150 MTBE) (Control 1)	5M, 5F	2.8 ± 0.5	2.3 ± 0.7	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.03
PF-07321332	0 (Control 2)	5M, 5F	3.1 ± 0.3	2.4 ± 0.8	0.10 ± 0.02	0.11 ± 0.03
PF-07321332	60	5M, 5F	2.7 ± 0.6	2.7 ± 0.7	0.09 ± 0.03	0.08 ± 0.02
PF-07321332	200	5M, 5F	2.7 ± 0.2	2.7 ± 0.4	0.11 ± 0.05	0.06 ± 0.02
PF-07321332	1000	5M, 5F	1.8 ± 0.3[§]	2.2 ± 0.7	0.10 ± 0.04	0.08 ± 0.03

§ p≤0.001, significantly different from control (Control 1 and Control 2) based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; MNRET = micronucleated RETs; MTBE = methyl tert-butyl ether; NA = not applicable; NCE = normochromatic erythrocytes; QD = once daily; RET= reticulocyte.
a. Assay conducted in 14-day repeat-dose toxicity study and also reported on 2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity tabulated summary.
b. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Report Title: Oral Gavage Male and Female Fertility Study of PF-07321332 in Wistar Han Rats

Test Article: Nirmatrelvir

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han

Age at First Dose:
M: 12-14 weeks
F: 9-14 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None

Dosing Period:
M: 32 days (beginning 14 days prior to mating)
F: 14 days prior to mating through GD 6
Day of Mating (F): GD 0
Day of Cesarean Section: GD 14
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 1% (w/v) Soluplus and 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water/Suspension[a]

Study Number: [redacted]GR146
Sponsor Reference Number: NA

Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level:
Male Systemic Toxicity: 1000 mg/kg/day
Female Systemic Toxicity: 1000 mg/kg/day
Male Fertility and Early Embryonic Development: 1000 mg/kg/day
Female Fertility and Early Embryonic Development: 1000 mg/kg/day

Dose[b] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**60**		**200**		**1000**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	20	20	20	20	20	20	20	20
Plasma Concentrations (ng/mL) – Day 10 0.5 Hours Postdose	NA[c]	NA[c]	10400	15800	21000	33000	19100	46700
Males								
Number Died or Euthanized Moribund	0		0		0		0	
Clinical Observations	-		-		-		-	
Body Weight (g)	-		-		-		-	
Food Consumption (g)	-		-		-		-	
Mean Number Days Prior to Mating	3.70		3.55		2.95		3.15	
Number of Males Mated (Confirmed)	20		20		20		20	
Fertility Index (%)	100		95		90		100	
Necropsy Observations	-		-		-		-	

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: [redacted]GR146 (continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)	60	200	1000
Females				
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	1[d]	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight – Day 14 (g)[e]	224.56	1.02	1.01	1.04
Premating Body Weight Change – Day 1-14 (g)[e]	7.09	1.25	1.50	2.47†
Gestation Body Weight (g)	-	-	-	-
Premating Food Consumption (g)	-	-	-	-
Gestation Food Consumption (g)	-	-	-	-
Estrous Cycle Length	4.0	4.1	4.0	4.0
Cohabitation Length	-	-	-	-
Number of Females Mated (Confirmed)	20	20	20	20
Number of Pregnant Females	20	19	18	20
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Necropsy Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	20	20	20	20
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	19[f]	19	17	20
Mean Number Corpora Lutea	13.3	13.8	14.1	12.7
Mean Number Implantations	10.3	12.5	12.6	10.5
Mean % Preimplantation Loss	2.9	1.4	1.5	2.2
Mean % Postimplantation Loss	18.1	5.3	9.5	10.6
Mean Number Viable Conceptuses	8.9	11.8	11.5	9.6
Mean Number Early Resorptions	1.4	0.7	1.1	1.0

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: [redacted]GR146 (continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)	60	200	1000

† p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; F = female; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; M = male; NA = not applicable; QD = once daily.
a. Test article was administered as a 50% active PF-07321332: 50% HPMCAS-MG (hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-medium granular) spray-dried dispersion suspension. Vehicle control animals were administered a HPMCAS-MF (medium fine) formulation that was equivalent to the amount of HPMCAS that was present in the 1000 mg/kg/day formulation.
b. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
c. All samples below assay limit of quantitation (10 ng/mL).
d. One 200 mg/kg/day female with no evidence of mating was euthanized on the animal's presumed GD 8, due to signs of advanced pregnancy indicating that mating had not been detected; euthanasia was not test article related.
e. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
f. Cesearan section data for one control animal was excluded due to a documentation error; this animal was documented as having a late resorption which was not biologically possible at the stage of gestation (GD 14) therefore this was not an accurate documentation of viability status of the implants.

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: Oral Gavage Embryo-Fetal Development Study of PF-07321332 in Pregnant Wistar Han Rats

Test Article: Nirmatrelvir

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 8-11 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Dosing Period: GD 6-17
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 21
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: [redacted]GR132
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 1% (w/v) Soluplus and 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water/Suspension[a]

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 1000 mg/kg/day
Developmental: 1000 mg/kg/day

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)	100	300	1000
Maternal Females				
Number of Animals	20	20	20	20
Toxicokinetics – GD 17:				
C_{max} (ng/mL)	NA[c]	29000	43200	65400
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[c]	75500	346000	535000
Number Died or Euthanized Moribund	0	1[d]	0	0
Number Pregnant	18	18	20	19
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	1	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)	-	-	-	-
Body Weight Change (g)	-	-	-	-
Corrected Maternal Body Weight Change (g)	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-
Uterine Weight (g)	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	20	20	20	20

Study Number: [redacted]GR132 (continued)

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Dose[b](mg/kg/day)	0 (Control)	100	300	1000
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	18	17	20	19
Mean Number Corpora Lutea	12.1	11.4	11.5	11.5
Mean Number Implantations	11.2	9.9	9.3	9.7
Mean % Preimplantation Loss	7.11	12.77	18.73	15.27
Mean % Postimplantation Loss	9.67	6.51	6.81	9.65
Mean Number Viable Fetuses	10.2	9.2	8.7	8.9
Mean Number Early Resorptions	1.1	0.7	0.6	0.7
Mean Number Late Resorptions	0	0	0.1	0
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	183/18	157/17	174/20	170/19
Mean Number Live Fetuses	10.2	9.2	8.7	8.9
Mean Number Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean Fetal Body Weight (g)	5.19	5.33	5.45	5.37
Sex Ratios (% males)	50.5	49.3	48.9	50.9
Fetal Observations				
Number of Fetuses/Litters Evaluated	183/18	157/17	174/20	170/19
External Variations and Malformations	-	-	-	-
Visceral Variations and Malformations	-	-	-	-
Skeletal Variations and Malformations	-	-	-	-

- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; NA = not applicable; QD = once daily.

a. Test article was administered as a 50% active PF-07321332: 50% HPMCAS-MG (hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-medium granular) spray-dried dispersion suspension. Vehicle control animals were administered a HPMCAS-MF (medium fine) formulation that was equivalent to the amount of HPMCAS that was present in the 1000 mg/kg/day formulation.

b. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

c. All samples below assay limit of quantitation (10 ng/mL).

d. One female in the 100 mg/kg/day group was euthanized on GD 21 after it delivered its litter prior to the scheduled cesarean section. This early delivery was not considered PF-07321332-related due to the single incidence, lack of dose response relationship, and because it is not uncommon for rats to deliver on GD 21.

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: Oral Gavage Embryo-Fetal Development Study of PF-07321332 in Pregnant New Zealand White Rabbits

Test Article: Nirmatrelvir

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White
Age at First Dose: 4-6 Months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Dosing Period: GD 7-19
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 29
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: [redacted]GR126
Sponsor Reference Number: NA
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 1% (w/v) Soluplus and 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water/Suspension[a]

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 1000 mg/kg/day
Developmental: 300 mg/kg/day

Dose[b] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Maternal Females				
Number of Animals	20	20	20	20
Toxicokinetics – GD 19:				
C_{max} (ng/mL)	NA[c]	17000	42900	99600
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[c]	98700	195000	689000
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	1[d]	0
Number Pregnant	20	20	19	19
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)	-	-	-	-
Body Weight Change (g)[e] – GD 7-20	0.19	1.16	1.00	0.58
Corrected Maternal Body Weight Change (g)[e]	-	-	-	-
Food Consumption (g)[e] – GD 7-20	1780.69	1.01	0.97	0.83*
Uterine Weight (g)	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	20	20	19	20
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	20	20	19	19
Mean Number Corpora Lutea	10.2	9.7	9.4	9.5
Mean Number Implantations	9.0	8.2	8.6	8.8

Study Number: [redacted]GR126 (continued)

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)	100	300	1000
Mean % Preimplantation Loss	11.27	14.42	9.53	6.44
Mean % Postimplantation Loss	3.73	3.31	5.43	3.21
Mean Number Early Resorptions	0.3	0.3	0.4	0.2
Mean Number Late Resorptions	0.1	0.0	0.1	0.1
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	172/20	158/20	154/19	162/19
Mean Number Live Fetuses	8.6	7.9	8.1	8.5
Mean Number Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean Fetal Body Weight (g)	41.57	40.20	40.31	37.69†
Sex Ratios (% males)	46.9	49.7	48.0	44.8
Fetal Observations				
Number Fetuses/Litters Evaluated	172/20	158/20	154/19	162/19
External Malformations and Variations	-	-	-	-
Visceral Malformations and Variations	-	-	-	-
Skeletal Malformations and Variations	-	-	-	-

∗ $p \leq 0.05$; † $p \leq 0.01$, significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; LLOQ = lower limit of quantitation; NA = not applicable; QD = once daily.
a. Test article was administered as a 50% active PF-07321332: 50% HPMCAS-MG (hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-medium granular) spray-dried dispersion suspension. Vehicle control animals were administered a HPMCAS-MF (medium fine) formulation that was equivalent to the amount of HPMCAS that was present in the 1000 mg/kg/day formulation.
b. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
c. There were quantifiable concentrations in all 5 control animals (22/25 samples) at 0 (predose), 0.5, 1, 2, and 4 hours postdose on Gestation Day 19. These concentrations ranged from just above the LLOQ (10.0 ng/mL) to ~ 16x LLOQ (157 ng/mL) but individuals did not demonstrate a time-dependent change in concentration relative to time postdose that was generally observed in animals administered the test article. All control samples that were above the LLOQ were repeated in duplicate with 21 of 22 of repeated samples confirming original results.
d. One female in the 300 mg/kg/day group was euthanized prior to the first dose due to a suspected leg injury.
e. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of PF-07321332 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats

Test Article: Nirmatrelvir

Design Similar to ICH S5(R3): Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: ~ 11–12 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Dosing Period: GD 6 through LD 20
Day of Mating: GD 0
Method of Administration: Oral gavage, 10 mL/kg, QD
Vehicle/Formulation: 100 mg/mL HPMCAS-MF in 1% (w/v) soluplus in 0.5% (w/v) methylcellulose in deionized water/Suspension
Litters Culled/Not Culled: Culled to 4/sex/litter

Study Number: 00655272
Sponsor Reference Number: [redacted]GR149
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Special Features: NA
No Observed Adverse Effect Level:
F0 Females: 1000 mg/kg/day
F1 Males: 1000 mg/kg/day
F1 Females: 1000 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	0[b] (Control)	100	300	1000
F0 Females				
Number of Animals	22	22	22	22
Number Died or Euthanized Moribund	0	1	0	0
Number Pregnant	21	22	22	21
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	1	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight (g)[c,d]	295.6	1.03x	1.02x	1.07x
Lactation Body Weight (g)[c,d]	276.1	1.04x	1.00x	1.07x*
Gestation Food Consumption (g/animal/day)[c,e]	16.63	1.06x	1.02x	1.08x
Lactation Food Consumption (g/animal/day)[c,e]	39.20	1.04x	0.99x	1.01x
Mean Duration of Gestation (days)	21.1	21.1	21.1	21.2
Abnormal Parturition Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655272 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	100	300	1000
F1 Litters (Preweaning)				
Number Litters Evaluated	21	21	22	21
Mean Number Pups/Litter	9.8	10.6	10.3	10.3
Mean Number Liveborn Pups/Litter	9.8	10.6	10.3	10.3
Mean Number Stillborn Pups/Litter	0	0	0	0
Live Male Pups/Litter (% at birth)	51.99	56.74	49.77	50.71
Viability Index (Survival from Birth to PND 4) (%)	96.38	93.88	93.75	95.47
Lactation Index (Survival from PND 4 to Weaning) (%)	99.32	99.29	97.73	100.00
Change in Body Weights (g)[c,f]				
Males	37.03	1.03x	0.99x	0.92x
Females	36.27	1.04x	1.00x	0.93x
Clinical Observations	-	-	-	-
Pinnal Detachment (PND of Attainment)	3.5	3.3	3.2	3.2
Startle Reflex (PND of Attainment)	13.5	13.2	13.3	13.2
Eye Opening (PND of Attainment)	15.7	15.4	15.3*	15.2*
Pupillary Reflex (% on PND 21)	100.00	100.00	100.00	100.00
Necropsy Observations	-	-	-	-
F1 Males (Postweaning)				
Number Evaluated	21	20	22	21
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight Change (g)[c,g]	320.8	1.04x	1.01x	1.00x
Preputial Separation (PND)	45.9	45.3	44.6	45.6
Acoustic Startle Response	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Biel Water Maze	-	-	-	-
Number of Males Mated (Confirmed)	21	19	22	21
Number of Fertile Males	20	20	21	21
Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655272 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	100	300	1000
F1 Females (Postweaning)				
Number Evaluated	21	20	22	21
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight Change (g)[c,g]	182.4	1.05x	0.98x	0.99x
Gestation Body Weight Change (g)[c]	43.9	1.00x	1.00x	1.05x
Mean Age of Vaginal Patency (days)	32.3	31.9	33.0	32.0
Acoustic Startle Response	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Biel Water Maze	-	-	-	-
Estrous Cycle Length (days)	4.19	4.49	3.98	4.20
Cohabitation Length (days)	2.4	2.5	2.8	2.2
Number of Pregnant Females	20	20	21	21
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	20	19	21	21
Mean Number Corpora Lutea	15.4	15.1	15.3	15.4
Mean Number Implantations	13.9	13.5	13.8	13.7
Mean % Preimplantation Loss	9.78	10.29	10.23	10.22
Mean % Postimplantation Loss	3.21	6.77	9.57*	3.59
Mean Number Live Embryos	13.4	12.6	12.5	13.2
Mean Number Early Resorptions	0.5	0.9	1.2*	0.5

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655272 (continued)

∗ p ≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; F0 = maternal/paternal generation; F1 = first generation; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; HPMCAS-MF = hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate, medium fine grade; ICH = International Council for Harmonisation; LD = Lactation Day; NA = not applicable; PND = Postnatal Day; QD = once daily.
a. All doses are expressed as mg of active test article per kg of body weight per day.
b. 0 mg/kg/day PF-07321332 and 1000 mg/kg/day HPMCAS-MF.
c. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
d. At end of gestation or lactation.
e. Overall gestation or lactation dosing period (GD 6-20 or LD 1-14).
f. From birth to weaning.
g. From weaning to mating.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Nirmatrelvir

In Vivo

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Impurities							
Rat/Wistar Han	Oral gavage, QD 10 mL/kg (2% [v/v] Polysorbate 80 in 0.5% (w/v) methylcellulose in purified water/ Suspension) Lot [redacted][c] Lot [redacted][d] Lot [redacted][e]	2 Weeks	0 (30 MTBE)[b] 200[c,d,e]	10	200[c,d,e]	**200 mg/kg/day**[c,d,e]: salivation prior to dose administration on Day 14, ↑PT (M), ↑APTT (M), ↑ liver weights (F) **200 mg/kg/day**[c,d] (M): ↑globulin, ↑TP **200 mg/kg/day**[d] (M): ↓AG ratio	[redacted]GR206/Yes

Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes):				
Dose (mg/kg/day)	0	200[c]	200[d]	200[e]
Day 14 (0.5 HPD)				
Concentration (ng/mL)	NA[f]	29500	35300	31800

AG ratio = albumin/globulin ratio; APTT = activated partial thromboplastin time; F = females; GLP = Good Laboratory Practice; M = males; MTBE = methyl tert-butyl ether; NA = not applicable; PT = prothrombin time; QD = once daily; TP = total protein.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. Control group was administered vehicle spiked with 15% MTBE at a concentration equivalent to that present in the test article formulation at 200 mg/kg or 30 mg/kg MTBE.

c. Group 2 was administered 200 mg/kg of PF-07321332 Lot [redacted] without additional impurities.

d. Group 3 was administered 200 mg/kg of PF-07321332 Lot [redacted] spiked with impurities ([redacted]% *不純物A , [redacted]% *不純物B , [redacted]% *不純物C , and [redacted]% *不純物D).

e. Group 4 was administered 200 mg/kg of PF-07321332 Lot [redacted] spiked with impurities ([redacted]% *不純物E , [redacted]% *不純物F , and [redacted]% *不純物G).

f. All samples below assay limit of quantitation (10 ng/mL).

＊新薬承認情報提供時に置き換え