

ベルケイド注射用 3mg

第 2 部 : CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

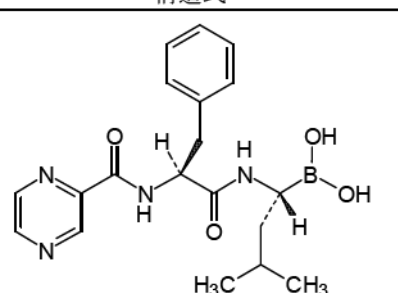
－ 毒性試験の概要文 －

ヤンセンファーマ株式会社

目次

2.6.6	毒性試験の概要文.....	3
2.6.6.1	まとめ.....	3
2.6.6.2	単回投与毒性試験.....	4
2.6.6.3	反復投与毒性試験.....	4
2.6.6.4	遺伝毒性試験.....	9
2.6.6.5	がん原性試験.....	9
2.6.6.6	生殖発生毒性試験.....	9
2.6.6.7	局所刺激性試験.....	9
2.6.6.8	その他の毒性試験.....	10
2.6.6.9	考察及び結論.....	10
2.6.6.10	図表.....	11
2.6.7	毒性試験概要表.....	1

略号一覧表

略号又は略称	化学名又は一般名	構造式
ボルテゾミブ	{(1 <i>R</i>)-3-Methyl-1-[(2 <i>S</i>)-3-phenyl-2-(pyrazine-2-carboxamido)propanamido]butyl}boronic acid	

略号又は略称	名称及び内容
AUC _{last}	0 時間から最終定量可能時間までの血漿又は血液中濃度－時間曲線下面積 (area under the plasma/blood concentration-time curve from time zero to the last quantifiable time)
AUC _t	0 時間から t 時間までの血漿又は血液中濃度－時間曲線下面積 (area under the plasma/blood concentration-time curve from time zero to time t)
BIW	週 2 回 (twice weekly)
C _{max}	最高血漿又は血液中濃度 (maximum plasma/blood concentration)
GLP	Good Laboratory Practice
h	時間 (hour)
HNSTD	重度の毒性が発現しない最大投与量 (highest nonseverely toxic dose)
IV	静脈内 (に) (intravenous(ly))
MTD	最大耐量 (maximum tolerated dose)
NOAEL	無毒性量 (no-observed-adverse-effect level)
OECD	経済協力開発機構 (Organization for Economic Cooperation and Development)
QD	1 日 1 回 (once daily)
QW	週 1 回 (once weekly)
RBC	赤血球 (red blood cell)
SC	皮下 (に) (subcutaneous(ly))
SOP	標準操作手順書 (Standard Operating Procedure)
TK	トキシコキネティクス (toxicokinetics)
t _{max}	最高血漿又は血液中濃度到達時間 (time to maximum plasma/blood concentration)
WBC	白血球 (white blood cell)

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ベルケイド（以下、本剤）の有効成分であるボルテゾミブを用いた静脈内投与時の非臨床毒性試験は、CTD1.13「ベルケイド注射用 3mg」平成 17 年 10 月 12 日承認申請（以下、ベルケイド初回申請）時に提出した試験結果に基づき審査されている。今回、本剤の皮下投与時の毒性を、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において評価し、静脈内投与時の毒性プロファイルと比較した。更にウサギを用いた試験を実施し、単回皮下投与したときのボルテゾミブの局所忍容性/組織反応性を評価した。

主要な毒性試験は、経済協力開発機構（OECD）の Principles of Good Laboratory Practice（GLP 原則）を遵守して実施した。主要な毒性試験以外の試験は非 GLP であったが、OECD-GLP 原則に準拠した標準操作手順書（SOP）を遵守して実施した。各試験の GLP 適合状況及び実施場所に関する情報を、毒性試験一覧表「概要表 2.6.7.1」に示す。試験実施期間及び元データ保管場所は添付した個々の報告書に記載されている。これらに加え、トキシコキネティクス（TK）データを含む試験の概要及び TK 試験成績の概要をそれぞれ、トキシコキネティクス試験の一覧表「概要表 2.6.7.2」及びトキシコキネティクス試験成績の一覧「概要表 2.6.7.3」に示す。更に、使用したバッチに関する情報を被験物質一覧「概要表 2.6.7.4」に示す。

雄性カニクイザルにおける探索的反復皮下投与毒性試験では、ボルテゾミブ 0.166 mg/kg (2.0 mg/m²) を週 1 回 (QW)、3 週間反復皮下投与した。初回投与 1 日後に 1 例を切迫屠殺したところ、剖検において胃潰瘍が認められ、瀕死状態の原因と推定されたが、投与前に発症していたものがボルテゾミブ投与により悪化したものと考えられた。同群の他の 2 例ではボルテゾミブの忍容性は良好であることが示された。同試験において、1 例に 0.166 mg/kg を Day 1 に、0.182 mg/kg (2.2 mg/m²) を Day 8 及び 15 に漸増皮下投与したが、これも良好な忍容性を示した。両群の生存例全例で、投与期間中に顕著な白血球 (WBC) 数の増加及び赤血球 (RBC) パラメータの軽度の減少がみられたが、これらは 10 日間の休薬期間終了後には可逆的であることが示された。

カニクイザルを用いた 12 週間 (4 サイクル) 反復皮下及び静脈内投与毒性試験では、ボルテゾミブ 0, 0.075 及び 0.1 mg/kg (0, 0.9 及び 1.2 mg/m²) を週 2 回 (BIW) 投与した。2 週間 (Day 1, 4, 8 及び 11) 投与後に 1 週間の休薬期間 (4 サイクル目は除く) を設けるレジメンを 1 サイクルとして、4 サイクル投与し、最終サイクルの Day 11 の投与 72 時間後に屠殺した。その結果、ボルテゾミブの重度の毒性が発現しない最大投与量 (HNSTD) は、皮下 (ボルテゾミブ濃度 3.5 mg/mL) 及び静脈内 (ボルテゾミブ濃度 1.0 mg/mL) のいずれの投与経路においても 0.1 mg/kg であった。毒性プロファイルは皮下投与群と静脈内投与群で明らかな差はなかった。

同試験におけるボルテゾミブ 0.166 mg/kg の QW、12 週間反復皮下投与では、死亡がみられ、本投与量は最大耐量 (MTD) を上回ると考えられた。主な毒性は、嘔吐、下痢を含む異常便、体重減少、食欲不振あるいは脱水状態による二次的な血液生化学的パラメータの変動及び末梢神経系、脊髄、腎臓、骨髄及びリンパ節における病理組織学的変化であった。これらの所見の頻度及び程度は、皮下投与群でわずかにより高頻度に認められた異常便及び神経病変を除き、皮下投与群と静脈内投与群で明瞭な差はなかったが、0.166 mg/kg 皮下投与群の毒性は、0.1 mg/kg の BIW 投与による皮下投与群及び静脈内投与群と比較し、より顕著であった。

カニクイザルを用いたボルテゾミブの1日1回（QD）、8週間反復皮下投与毒性試験（毎週連続5日間投与後2日間の休薬）では、最大投与量 0.05 mg/kg (0.6 mg/m²) まで忍容性が良好であることが示された。主要標的器官は過去の試験成績と類似し、毒性学的に意味のある新規の所見は認められなかった。

以上のボルテゾミブのサルへの皮下投与では、注射部位に有意な刺激性は認められなかった。

ウサギを用いた局所忍容性/組織反応性試験において、ボルテゾミブ 0.1 mg/kg (1.2 mg/m²) の濃度 1.0 又は 3.5 mg/mL での単回皮下投与は、注射部位に軽微な反応をもたらすのみであった。

非臨床 TK データにより、ボルテゾミブは、皮下から速やかかつほぼ完全に吸収され、皮下及び静脈内投与後の血漿及び血液中ボルテゾミブ濃度は、ほぼ同様な推移で消失することが示された【2.6.4.3.2.2 参照】。

結論として、非臨床毒性試験結果より、皮下及び静脈内投与時の毒性プロファイルは類似し、いずれの投与経路も局所忍容性は良好であることが実証された。また、ボルテゾミブは、皮下から速やかかつほぼ完全に吸収され、その血漿及び血液中濃度は静脈内投与時とほぼ同様な推移で消失することが示された。これは、ボルテゾミブの投与経路の拡大、すなわち皮下投与経路の追加を支持するものである。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験はベルケイド初回申請時概要に記載した。新たな単回投与毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 カニクイザルを用いた試験

2.6.6.3.1.1 探索的反復皮下投与毒性試験

【参考資料 4.2.3.2.1】

雄性カニクイザルに皮下投与したときのボルテゾミブの潜在的全身毒性及び観察された所見の10日間の休薬期間後の持続性又は可逆性を評価するため、本試験（非 GLP）を実施した「概要表 2.6.7.6」。

2群からなる雄性カニクイザルの、群1（1例）にボルテゾミブを漸増皮下投与（Day 1 に 0.166 mg/kg [2.0 mg/m²]、Day 8 及び 15 に 0.182 mg/kg [2.2 mg/m²]）し、群2（3例）に 0.166 mg/kg を QW で3回（Day 1、8 及び 15）、3週間反復皮下投与した。ボルテゾミブの濃度は 3.5 mg/mL とした。

群1では、ボルテゾミブに関連する一般状態及び体重の変化はみられなかった。

群2の1例は初回投与1日後に切迫屠殺した。この動物の一般状態所見には、体温低下、円背位、嗜眠、不応答性、粘膜蒼白、異常発声及び嘔吐が認められた。また、RBC 及び WBC パラメータの増加が観察され、肝酵素値の上昇も認められた。剖検において、胃表面の約 1/3～1/2 に及ぶ大きい胃潰瘍が認められた。この胃潰瘍は、投与前に存在し、ボルテゾミブ投与により悪化し瀕死状態をもたらした可能性が考えられた。

群2の生存した2例では、紅斑、眼周囲の軽度の腫脹、乾燥薄片状皮膚又は表皮剥離が認められた。紅斑及び乾燥薄片状皮膚は、休薬期間終了時においても1例で観察された。両例に嘔吐が2回目及び3回目投与1日後（Day 9及びDay 16）に観察され、うち1例には嗜眠及び粘膜蒼白も認められた。体重への影響はみられなかった。

血液学的検査では、両群の生存例全例で、各投与1日後に網状赤血球数の軽度の増加を伴うRBCパラメータの軽度の減少がみられた。更に、WBC数（特に好中球数）の増加がみられた。WBC数の増加は、休薬期間終了時にはほぼ正常に戻り、可逆的であることが示された。また、RBCパラメータの減少は休薬期間終了時においても認められたが、網状赤血球数の増加がみられ、これも可逆的であることが示唆された。

以上のように、Day 1に0.166 mg/kg、Day 8及びDay 15に0.182 mg/kgのボルテゾミブを漸増皮下投与したところ、1例において可逆性のWBC数の増加及びRBCパラメータの減少がみられたが、忍容性は良好であることが示された。

0.166 mg/kgのQW、3週間反復皮下投与では、生存例2例に一般状態変化、可逆性のWBC数の増加及びRBCパラメータの減少がみられたが、忍容性は良好であることが示された。この群の残りの1例は切迫屠殺を要したが、瀕死状態は、投与前に存在しボルテゾミブ投与により悪化した胃潰瘍に起因するものと考えられた。

2.6.6.3.1.2 12週間（4サイクル）反復皮下及び静脈内投与毒性試験

【評価資料4.2.3.2.2】

ボルテゾミブをBIW、4サイクルで皮下及び静脈内投与したときの毒性をカニクイザルにおいて検討するため、本試験（GLP適合）を実施した。加えて、ボルテゾミブをQW、12週間反復皮下投与したときの毒性も検討した「概要表2.6.7.7A」。

雌雄カニクイザル（3例/性/群）に、4サイクルで、ボルテゾミブの0、0.075及び0.1 mg/kg（0、0.9及び1.2 mg/m²）を皮下投与、又は0.1 mg/kgを静脈内投与した。各サイクルは、2週間（Day 1、4、8及び11）のBIW投与並びにその後の1週間の休薬期間からなっている。最終サイクルのDay 11の投与72時間後に屠殺した。別群（3例/性/群）には、0.166 mg/kg（2.0 mg/m²）をQW、12週間反復皮下投与した。ボルテゾミブ濃度は、皮下投与溶液は3.5 mg/mL、静脈内投与溶液は1.0 mg/mLとした。

神経学的及び眼科学的検査、心電図、尿検査、剖検所見及び器官重量に、ボルテゾミブに関連する影響はみられなかった。

0.166 mg/kgのQW、12週間反復皮下投与では、12回目投与1日後に雄性1例、及び11回目投与1日後に雌性1例が死亡した。両例ともに、軟/液状便、嘔吐及び食欲不振を示した。この雌性では、他にも全身状態の悪化を示す症状が認められ、更にWBC数（主に好中球数）及びトリグリセリドの増加、尿素及びクレアチニンの顕著な増加がみられた。尿素及びクレアチニンの増加は、ボルテゾミブの直接的な影響によるものではなく、脱水状態及び全身状態の悪化に由来するものと考えられた。病理組織学的検査では、両例に骨髓造血細胞の低細胞性が認められ、これに加えて、雌性では肝臓及び肺の血管における白血球増加も認められた。

ボルテゾミブ0.075、0.1及び0.166 mg/kgの皮下投与は、有意な局所刺激の徴候及びボルテゾミブに関連する病理組織学的変化を注射部位にもたらさず、局所刺激性に関しては試験期間を通

して忍容性が良好であることが示された。静脈内投与群では、注射部位に紅斑及び浮腫が観察され、その発現頻度は対照群及び皮下投与群よりも高かった。

ボルテゾミブ 0.075 mg/kg の BIW、皮下投与による所見は限定的であり、総たん白及びグロブリンの軽度の減少及び 6 例中 2 例で腎皮質尿細管の変性/肥大が認められた。

ボルテゾミブの 0.1 mg/kg 皮下及び静脈内、並びに 0.166 mg/kg 皮下投与により、総たん白及びグロブリンの軽微から軽度の減少に加え、異常便（軟便、液状便及び/又は変色便）、嘔吐、食欲不振及び自発運動の低下がみられ、0.166 mg/kg 皮下投与群の雄性 3 例中 2 例では体重減少もみられた。また、病理組織学的変化が、末梢神経系（軽微から軽度な神経線維変性、数例では脊髄においても軽微にみられた）、腎臓（皮質尿細管の変性/肥大）、骨髓（低細胞性）及びリンパ節（萎縮）にみられた。病理組織学的変化は、概して、0.166 mg/kg の QW、皮下投与群において、他のボルテゾミブ投与群と比較して高頻度かつ顕著にみられた。0.1 mg/kg 皮下投与群と静脈内投与群でみられた所見の頻度及び程度は、皮下投与群でわずかにより高頻度に認められた異常便及び神経病変を除き、0.1 mg/kg 皮下投与群と静脈内投与群で明瞭な差はなかった。

TK 解析により、血漿又は血液中の曝露量に明らかな性差はなかった。皮下投与後の最高血漿又は血液中濃度到達時間（ t_{max} ）はおおむね 0.117～0.25 時間であり、皮下からの吸収は速やかであった（表 2.6.6-1）。0.1 mg/kg の用量で皮下投与及び静脈内投与したとき、0 時間から 72 時間までの血液中濃度－時間曲線下面積（ AUC_{72h} ）に基づく絶対的バイオアベイラビリティは、ほぼ 100%であった【2.6.4.3.2.2 参照】。0.075～0.166 mg/kg の用量で単回皮下投与したとき、 AUC_{72h} は、血漿中では用量比を超えて増加したが、血液中では用量にほぼ比例して増加する傾向にあった。

表 2.6.6-1 雌雄カニクイザルにボルテゾミブを皮下又は静脈内投与したときの
平均血漿及び血液中 TK パラメータ

採血日	投与量 (mg/kg)	C _{max} (ng/mL)		t _{max} (h)		AUC _{72h} (ng·h/mL)	
		M	F	M	F	M	F
血漿							
サイクル 1, Day 1 (サイクル投与) 又は Day 1 (QW 投与)	0.075 SC	58.0	64.2	0.117	0.117	36.7	NC
	0.1 SC	75.9	102 ^a	0.117	0.117 ^a	57.4	NC
	0.166 SC	182 ^a	119	0.117 ^a	0.25	168 ^a	NC
	0.1 IV	47.7	251	0.117	0.25	117	150 ^a
サイクル 2, Day 32 (サイクル投与) 又は Day 50 (QW 投与)	0.075 SC	36.2	81.3	0.5	0.117	106 ^a	114 ^a
	0.1 SC	130	151	0.117	0.117	174	306 ^a
	0.166 SC	173	164	0.117	0.117	223	186
	0.1 IV	110	68.4	0.117	0.167	206	128
サイクル 4, Day 74 (サイクル投与) 又は Day 78 (QW 投与)	0.075 SC	60.9	79.2	0.117	0.117	123	121
	0.1 SC	117	109	0.117	0.117	200	222
	0.166 SC	189	113 ^a	0.25	0.267 ^a	296 ^a	162 ^a
	0.1 IV	138	109	0.117	0.117	147	134
血液							
サイクル 1, Day 1 (サイクル投与) 又は Day 1 (QW 投与)	0.075 SC	108	108	0.117	0.117	3,786	3,646
	0.1 SC	132	149 ^a	0.117	0.184 ^a	4,416	4,791 ^a
	0.166 SC	242 ^a	197	0.117 ^a	0.25	6,339 ^a	5,536
	0.1 IV	154	300	0.117	0.25	5,039	4,846
サイクル 2, Day 32 (サイクル投与) 又は Day 50 (QW 投与)	0.075 SC	179	164	0.133	0.117	6,524	6,032
	0.1 SC	220	230	0.117	0.117	6,511	7,422
	0.166 SC	242	223	0.117	0.117	6,539	5,919
	0.1 IV	225	189	0.117	0.167	7,399	6,863
サイクル 4, Day 74 (サイクル投与) 又は Day 78 (QW 投与)	0.075 SC	185	182	0.25	0.133	6,899	6,153
	0.1 SC	175	200	0.25	0.25	5,308	6,535
	0.166 SC	255	194 ^a	0.25	0.267 ^a	6,569 ^a	5,781 ^a
	0.1 IV	224	205	0.117	0.117	6,012	6,438

注：3 例/性/群，a=2 例，

QW 投与は 0.166 SC のみ，その他はサイクル投与 [1 サイクルは，2 週間 (Day 1, 4, 8 及び 11) 投与後，1 週間休薬 (サイクル 4 除く)]

AUC_{72h}=0 時間から 72 時間までの血漿又は血液中濃度-時間曲線下面積；C_{max}=最高血漿又は血液中濃度；

F=雌性；h=時間；IV=静脈内；M=雄性；NC=計算せず；SC=皮下；QW=週 1 回；t_{max}=最高血漿又は血液中濃度到達時間 (中央値)

以上のように，ボルテゾミブ 0.166 mg/kg の QW，12 週間反復皮下投与においては，死亡が認められ，毒性も顕著であったことから，本用量は MTD を上回るものと考えられた。

ボルテゾミブ 0.1 mg/kg の 4 サイクルによる皮下投与と静脈内投与では，毒性所見及び TK プロファイルに明らかな差はなかった。神経病変がわずかにより高頻度で皮下投与群にみられたが，これが明白に皮下投与に起因するとは判断できなかった。ボルテゾミブ 0.075 mg/kg の BIW，4 サイクルによる皮下投与は，血液生化学的パラメータへの軽度の影響及び腎皮質尿管の病変を伴うものの，概して忍容性が良好であることが示された。本試験において無毒性量 (NOAEL) は決定できなかった。BIW による皮下及び静脈内投与の HNSTD は，0.1 mg/kg であった。

2.6.6.3.1.3 8 週間反復皮下投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.3】

ボルテゾミブを QD で週あたり連続 5 日間 8 週間反復皮下投与したときのカニクイザルにおける毒性を評価するため，本試験 (GLP 適合) を実施した「概要表 2.6.7.7 B」。

雌雄カニクイザル（3 例/性/群）に、ボルテゾミブ 0, 0.0166, 0.0333 及び 0.05 mg/kg（0, 0.2, 0.4 及び 0.6 mg/m²）を QD で 8 週間（毎週連続 5 日間投与後 2 日間の休薬）反復皮下投与した。投与溶液のボルテゾミブ濃度は 1.0 mg/mL とした。動物の背部の注射部位は、個々の部位が隔週 1 回、計 4 回投与されるように交替させた。

すべての動物が試験終了時まで生存し、心電図、眼科学的検査、直腸温、血圧及び血液生化学的検査に、ボルテゾミブに関連する影響はみられなかった。剖検においても、ボルテゾミブ投与群で異常な所見は観察されなかった。

注射部位の観察所見として、紅斑及び浮腫の発現数、頻度及び程度が用量依存的に増加した。各注射部位の紅斑及び浮腫は、投与後 3 日以内に発現し、おおむね 1 週間後には観察されなかったが、中用量群の雌性 1 例及び高用量群の雄性 1 例は試験期間中、持続した。病理組織学的所見として、0.05 mg/kg 投与群の雌雄に、コラーゲン（瘢痕組織）から成る線維増殖（軽微から軽度）及び単核球/好中球の浸潤（軽微から軽度）が注射部位で観察された。注射部位領域数及び検査標本切片数が多いことを考慮すると、高用量群でさえも発現はまれ¹であった。線維増殖は高用量群でのみ観察された。これに対し単核球/好中球の浸潤は、対照群でも観察されたが、ボルテゾミブ投与群では用量依存性の増加がみられた。

ボルテゾミブ投与群で軟/液状便が複数日に発現した。0.0333 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例及び 0.05 mg/kg 投与群の雄性 1 例で、軽度の食欲不振が観察された。これらの群では、軽度の体重減少がみられたが、試験終了時までにはほとんどの動物は馴化時の体重に戻った。

投与 1 週にボルテゾミブ投与による尿中クレアチニン、無機リン及びナトリウム濃度の増加が観察されたが、最終投与時までにベースライン値に戻った。血液学的検査では、血小板数が減少し、血小板容積の平均値は全ボルテゾミブ投与群で用量依存的に増加した。低用量群の雄性 1 例、中用量群の雄性 1 例、高用量群の雄性全 3 例すべてで、凝固パラメータであるフィブリノーゲンが投与期間を通して増加した。

0.0333 mg/kg 以上の投与群で、頸部及び腰部脊髄背索並びに末梢神経に軽微な神経線維の変性が認められた。腎臓では、0.0333 mg/kg 以上の投与群において、軽微から軽度の尿細管の変性/再生が観察され、当該所見は 0.05 mg/kg 投与群では腎臓重量の増加を伴っていた。0.0333 mg/kg 以上の投与群でみられたその他のボルテゾミブに関連する所見として、雌雄ともに脾臓チモール顆粒減少、及び雄性に前立腺腺房の壊死片がみられた。更に、0.05 mg/kg 投与群の雌雄の膝関節に軽微から軽度の滑膜下血管新生がみられた。脾臓及び前立腺における変化の程度は軽微から軽度であり、脾臓では臓器機能に影響を及ぼしていないと考えられ、また膝関節では変性又は瘢痕等の器質的变化を伴っていないことから、十分に長い回復期間を経れば、ほとんどが可逆性のものであろうと考えられた。

TK 解析により、評価したすべてのパラメータで性差を示す傾向は認められなかったため、雌雄のデータを併合した（表 2.6.6-2）。最高血漿中濃度（C_{max}）は投与後 0.116～0.203 時間に得られ、皮下からの吸収は速やかであった。0.0166 から 0.0333 mg/kg の用量では、C_{max} 及び 0 時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）は、用量比以上に増加した。0.0333 から 0.05 mg/kg の用量では、C_{max} 及び AUC_{last} は、用量にほぼ比例して増加した。8 週間の

¹ 線維増殖の発現例数は雄性 3 例中 2 例及び雌性 3 例中 3 例。しかしながら、ほとんどの動物は 1 領域の 1 切片でのみ認められ、2 例は 2 領域（各領域の 1 切片）でのみ認められた。

反復皮下投与後では、軽度（0.0166 mg/kg）から中等度（0.0333 及び 0.05 mg/kg）のボルテゾミブの累積がみられた。

表 2.6.6-2 雌雄カニクイザルにボルテゾミブを皮下投与したときの
平均血漿中 TK パラメータ

Day	投与量 (mg/kg)	C _{max} (ng/mL)	t _{max} (h)	AUC _{last} (ng·h/mL)
1	0.0166	10.7	0.148	4.78
	0.0333	23.7	0.116	14.4
	0.05	34.2	0.200	30.7
3	0.0166	11.0	0.138	8.73
	0.0333	27.5	0.165	39.1
	0.05	48.1	0.203	64.5
54	0.0166	14.1	0.161	20.5
	0.0333	45.5	0.184	85.0
	0.05	68.3	0.185	101

注：性差はみられなかったため、雌雄のトキシコキネティクスデータを併合した。（3 例/性/群）

AUC_{last} = 0 時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積；

C_{max} = 最高血漿中濃度；h = 時間；t_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

以上のように、カニクイザルを用いたボルテゾミブの週 5 日間 QD による 8 週間反復皮下投与毒性試験において、NOAEL は決定できなかったが、忍容性は良好であることが示された。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

遺伝毒性はベルケイド初回申請時概要において評価済みである。新たな遺伝毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性はベルケイド初回申請時概要において評価済みである。新たな生殖発生毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

皮下投与による局所刺激性についてはベルケイド初回申請時概要において評価済みであるが、より高濃度の薬液による刺激性を確認するため、非 GLP 試験を参考のため実施した。

2.6.6.7.1 ウサギを用いた局所忍容性/組織反応性試験

【参考資料 4.2.3.6.1】

雌性 New Zealand White ウサギにボルテゾミブを単回皮下投与したときの局所忍容性/組織反応性を評価するため、本試験（非 GLP）を実施した「概要表 2.6.7.16」。

雌性 New Zealand White ウサギ（3 例/群）に溶媒又はボルテゾミブ 0.1 mg/kg (1.2 mg/m²) を異なる 2 種類の濃度（1.0 又は 3.5 mg/mL）でそれぞれ単回皮下投与し、投与 1 及び 3 日後に剖検を実施した。

試験期間中に死亡はなく、ボルテゾミブに関連する一般状態及び体重（増加量）の変化も認められなかった。少数例でボルテゾミブ及び溶媒の注射部位に、注射手技に関連した軽度から高度な皮下出血がみられた。1.0 mg/mL の濃度の投与を受けた 1 例の剖検時に（投与 3 日後）注射部位に浮腫が認められ、ボルテゾミブに関連すると考えられた。

病理組織学的検査では、3.5 又は 1.0 mg/mL の濃度の投与を受けた 12 例中 8 例でボルテゾミブに関連した注射部位反応はみられなかったが、12 例中 4 例で、軽微な炎症反応が観察された。

以上のように、ボルテゾミブ 0.1 mg/kg を単回皮下投与したとき、3.5 mg/mL の濃度まで局所忍容性は良好であることが示された。

2.6.6.8 その他の毒性試験

その他の毒性（抗原性、免疫毒性、類縁物質の毒性）は、ベルケイド初回申請時概要において評価済みである。新たなその他の毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.9 考察及び結論

ボルテゾミブの皮下及び静脈内の 2 投与経路の毒性を比較し、皮下投与の局所忍容性を評価するため、非臨床毒性試験を実施した。

カニクイザルにおける皮下投与によるボルテゾミブの毒性所見は、用量依存的に発現し、この毒性プロファイルは、既に実施された静脈内投与による毒性試験で認められたものと同様であった。特に、サルを用いた 12 週間（4 サイクル）反復皮下及び静脈内投与毒性試験において、皮下投与群と静脈内投与群で毒性プロファイルに明らかな差がないことが確認された。皮下投与の用量は、サルを用いた 38 週間（13 サイクル）反復静脈内投与毒性試験【ベルケイド初回申請 CTD 2.6.6.3 (7) 参照】で用いた投与量の高い方からの 2 用量を選択した。HNSTD は、BIW（4 サイクル）による皮下投与及び静脈内投与ともに 0.1 mg/kg (1.2 mg/m²) であった。同試験において、ボルテゾミブ 0.166 mg/kg (2.0 mg/m²) の QW、12 週間反復皮下投与では、死亡を含む顕著な毒性の発現がみられ、本用量は MTD を上回った。サルを用いた探索的反復皮下投与毒性試験の同用量群（0.166 mg/kg, QW, 3 週間）でみられた皮膚病変は、本試験では観察されなかった。

カニクイザルにボルテゾミブを QD で 8 週間（毎週連続 5 日間投与後 2 日間の休薬）反復皮下投与した毒性試験では、良好な忍容性が示され、主要標的器官は過去の試験成績と同様であった。毒性学的に意味のある新規の所見はみられなかった。

ウサギ及びサルへのボルテゾミブの皮下投与は、注射部位に毒性学的に有意な刺激性を示さなかった。

皮下投与後のボルテゾミブの t_{max} 及び絶対的バイオアベイラビリティから、ボルテゾミブは皮下から速やかかつほぼ完全に吸収され、皮下投与時の AUC_{72h} は、静脈内投与後の血液中 AUC_{72h} とほぼ等しいことが示された。また、ボルテゾミブを 0.1 mg/kg の用量で皮下又は静脈内投与し

たとき、血漿及び血液中ボルテゾミブ濃度は、両投与経路間で $C_{\max}$ は異なるものの、ほぼ同様な推移で消失した【2.6.4.3.2.2 参照】。

8週間反復皮下投与毒性試験のボルテゾミブの TK プロファイルは、ボルテゾミブを毎週連続 5 日間 QD で皮下投与したときの予想範囲内であった。静脈内投与時と同様に、皮下投与時の曝露量は、反復投与後の方が単回投与後より大きかった。

結論として、非臨床毒性試験結果より、皮下及び静脈内投与時の毒性プロファイルは類似し、いずれも局所忍容性は良好であることが実証された。また、ボルテゾミブは皮下から速やかかつほぼ完全に吸収され、その血漿及び血液中濃度は静脈内投与時とほぼ同様な推移で消失することが示された。これは、ボルテゾミブの投与経路の拡大、すなわち皮下投与経路の追加を支持するものである。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

ベルケイド注射用 3mg

第 2 部：CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

－ 毒性試験概要表 －

ヤンセンファーマ株式会社

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Type of Study	Species and Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg [mg/m ²])	Lot of Drug Substance	TK	GLP Compliance	Testing Facility	Test Article: bortezomib	
									Study No.	Location in CTD
Repeat-dose toxicity	Monkey/ cynomolgus	SC 0.9% saline/ 3.5 mg/mL of bortezomib, 35 mg/mL of mannitol	Days 1, 8, 15 + 10-day recovery	0.166 [2.0], 0.182 [2.2] ^a	WB2003 ^b	No	No		KL A00236	4.2.3.2.1
	Monkey/ cynomolgus	SC 0.9% sodium chloride for injection USP/ 3.5 mg/mL of bortezomib, 35 mg/mL of mannitol IV	4 cycles of 2 weeks + 1-week recovery; QW for 12 weeks ^c	SC: 0 [0], 0.075 [0.9], 0.1 [1.2], 0.166 [2.0; QW for 12 weeks] IV: 0.1 [1.2]	WB2003 ^b	Yes	Yes		TOX7345	4.2.3.2.2
	Monkey/ cynomolgus	0.9% sodium chloride for injection USP/ 1.0 mg/mL of bortezomib, 10 mg/mL of mannitol								
	Monkey/ cynomolgus	SC 0.9% sodium chloride for injection USP/ 1.0 mg/mL of bortezomib, 10 mg/mL of mannitol	5 consecutive days + 2-day dosing holiday /week; QD for 8 weeks	0 [0], 0.0166 [0.2], 0.0333 [0.4], 0.05 [0.6]	ZC2092 ^b	Yes	Yes		TOX8394	4.2.3.2.3
Local Tolerance	Rabbit/ New Zealand White	SC 0.9% sodium chloride for injection USP/ 1.0 and 3.5 mg/mL of bortezomib, 10 and 35 mg/mL of mannitol	single dose +1 or 3-day observation period	0.1 [1.2]	020150 ^b	No	No	J&J	TOX6863	4.2.3.6.1

^a One group was dosed at 0.166 mg/kg on Day 1 and at 0.182 mg/kg on Days 8 and 15, while the other group was dosed at 0.166 mg/kg on all dosing days.
^b = Lot number bortezomib; Velcade® for Injection (bortezomib 3.5 mg + mannitol 35 mg) batch number is YB005A for KL A00236 and TOX7345, 6GZSN-1 for TOX8394, YB010A for TOX6863
^c One cycle = dosing on Days 1, 4, 8 and 11, followed by a 1-week recovery period except for the last cycle. One group was dosed at 0.166 mg/kg SC once weekly during 12 weeks.  TOX7345;  TOX7345;  TOX7345;  TOX7345;  TOX7345; TOX7345;

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Type of Study	Species and Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Dose (mg/kg [mg/m ²])	Test Article: bortezomib	
				Study No.	Location in CTD
Repeat-dose toxicity	Monkey/cynomolgus	SC 0.9% sodium chloride for injection USP/ 3.5 mg/mL of bortezomib, 3.5 mg/mL of mannitol	SC: 0.075 [0.9], 0.1 [1.2], 0.166 [2.0; QW for 12 weeks] IV: 0.1 [1.2]	TOX7345	4.2.3.2.2
		IV 0.9% sodium chloride for injection USP/ 1.0 mg/mL of bortezomib, 10 mg/mL of mannitol			
Repeat-dose toxicity	Monkey/cynomolgus	SC 0.9% sodium chloride for injection USP/ 1.0 mg/mL of bortezomib, 10 mg/mL of mannitol	0.0166 [0.2], 0.0333 [0.4], 0.05 [0.6]	TOX8394	4.2.3.2.3

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous(ly); QW = once weekly; SC = subcutaneous(ly)

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data

Test Article: bortezomib														
Dose (mg/kg [mg/m ²])	Study Duration	Day	Cynomolgus monkey: mean plasma data											
			C _{max} (ng/mL)			AUC _t (ng·h/mL)			AUC _{last} (ng·h/mL)			t _{max} (h)		
			M	F	M+F	M	F	M+F	M	F	M+F	M	F	M+F
0.0166 [0.2]	5 days/week (8 weeks)	1 ^a	-	-	10.7	-	-	5.01 ^b	-	-	4.78	-	-	0.249
0.0166 [0.2]	5 days/week (8 weeks)	3 ^a	-	-	11.0	-	-	6.82 ^b	-	-	8.73	-	-	3.57
0.0166 [0.2]	5 days/week (8 weeks)	5 ^a	-	-	4.13	-	-	9.34 ^b	-	-	16.9	-	-	37.6
0.0166 [0.2]	5 days/week (8 weeks)	12 ^a	-	-	4.16	-	-	11.2 ^b	-	-	18.1	-	-	NC
0.0166 [0.2]	5 days/week (8 weeks)	19 ^a	-	-	4.77	-	-	12.0 ^b	-	-	14.7	-	-	NC
0.0166 [0.2]	5 days/week (8 weeks)	33 ^a	-	-	5.99	-	-	15.5 ^b	-	-	21.7	-	-	NC
0.0166 [0.2]	5 days/week (8 weeks)	54 ^a	-	-	14.1	-	-	10.6 ^b	-	-	20.5	-	-	35.2
0.0333 [0.4]	5 days/week (8 weeks)	1 ^a	-	-	23.7	-	-	12.3 ^b	-	-	14.4	-	-	1.60
0.0333 [0.4]	5 days/week (8 weeks)	3 ^a	-	-	27.5	-	-	18.4 ^b	-	-	39.1	-	-	44.6
0.0333 [0.4]	5 days/week (8 weeks)	5 ^a	-	-	13.6	-	-	30.3 ^b	-	-	55.1	-	-	47.3
0.0333 [0.4]	5 days/week (8 weeks)	12 ^a	-	-	12.4	-	-	27.5 ^b	-	-	48.8	-	-	33.4
0.0333 [0.4]	5 days/week (8 weeks)	19 ^a	-	-	15.2	-	-	34.0 ^b	-	-	61.7	-	-	28.8
0.0333 [0.4]	5 days/week (8 weeks)	33 ^a	-	-	22.2	-	-	48.6 ^b	-	-	83.1	-	-	37.2
0.0333 [0.4]	5 days/week (8 weeks)	54 ^a	-	-	45.5	-	-	36.2 ^b	-	-	85.0	-	-	43.4

Legend at end of table.

(Continued)

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (Continued)

Test Article: bortezomil																	
Dose (mg/kg [mg/m ²])	Study Duration	Day	Cynomolgus monkey: mean plasma data														
			C _{max} (ng/mL)			AUC _t (ng·h/mL)			AUC _{last} (ng·h/mL)			t _{max} (h)			t _{1/2} (h)		
			M	F	M+F	M	F	M+F	M	F	M+F	M	F	M+F	M	F	M+F
0.05 [0.6]	5 days/week (8 weeks)	1 ^a	-	-	34.2	-	-	21.8 ^b	-	-	30.7	-	-	0.200	-	-	29.2
0.05 [0.6]	5 days/week (8 weeks)	3 ^a	-	-	48.1	-	-	34.1 ^b	-	-	64.5	-	-	0.203	-	-	29.6
0.05 [0.6]	5 days/week (8 weeks)	5 ^a	-	-	19.1	-	-	42.4 ^b	-	-	81.0	-	-	1.75	-	-	29.4
0.05 [0.6]	5 days/week (8 weeks)	12 ^a	-	-	25.9	-	-	55.4 ^b	-	-	83.1	-	-	0.506	-	-	20.0
0.05 [0.6]	5 days/week (8 weeks)	19 ^a	-	-	31.9	-	-	68.5 ^b	-	-	106	-	-	0.501	-	-	30.5
0.05 [0.6]	5 days/week (8 weeks)	33 ^a	-	-	32.4	-	-	70.4 ^b	-	-	104	-	-	0.507	-	-	19.6
0.05 [0.6]	5 days/week (8 weeks)	54 ^a	-	-	68.3	-	-	55.4 ^b	-	-	101	-	-	0.185	-	-	30.9
0.075 [0.9]	4 cycles ^c	1 ^f	58.0	64.2	61.1	36.7 ^e	NC	36.7 ^e	31.6	37.2	34.4	0.117 ^g	0.117 ^g	0.117 ^g	7.02	NC	6.63
0.075 [0.9]	4 cycles ^c	32 ^f	36.2	81.3	58.8	106 ^e	114 ^e	110 ^e	86.3	98.7	92.5	0.5 ^g	0.117 ^g	0.125 ^g	-	-	-
0.075 [0.9]	4 cycles ^c	74 ^f	60.9	79.2	70.1	123 ^e	121 ^e	122 ^e	123	121	122	0.117 ^g	0.117 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.1 [1.2]	4 cycles ^c	1 ^f	75.9	102	86.2	57.4 ^e	NC	77.5 ^e	47.3	107	71.3	0.117 ^g	0.117 ^g	0.117 ^g	NC	-	-
0.1 [1.2]	4 cycles ^c	32 ^f	130	151	141	174 ^e	306 ^e	227 ^e	174	247	211	0.117 ^g	0.117 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.1 [1.2]	4 cycles ^c	74 ^f	117	109	113	200 ^e	222 ^e	211 ^e	200	222	211	0.117 ^g	0.117 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.1 [1.2] ^d	4 cycles ^c	1 ^f	47.7	251	149	117 ^e	150 ^e	131 ^e	117	132	124	0.117 ^g	0.25 ^g	0.25 ^g	-	30.2	30.2
0.1 [1.2] ^d	4 cycles ^c	32 ^f	110	68.4	89.3	206 ^e	128 ^e	167 ^e	206	128	167	0.117 ^g	0.167 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.1 [1.2] ^d	4 cycles ^c	74 ^f	138	109	124	147 ^e	134 ^e	141 ^e	147	134	141	0.117 ^g	0.117 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.166 [2.0]	QW (12 weeks)	1 ^f	182	119	144	168 ^e	NC	160 ^e	168	124	142	0.117 ^g	0.25 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.166 [2.0]	QW (12 weeks)	50 ^f	173	164	168	223 ^e	186 ^e	205 ^e	223	186	205	0.117 ^g	0.117 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.166 [2.0]	QW (12 weeks)	78 ^f	189	113	158	296 ^e	162 ^e	229 ^e	199	162	184	0.25 ^g	0.267 ^g	0.25 ^g	NC	-	-

Legend at end of table.

(Continued)

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (Continued)

Test Article: bortezomib

Dose (mg/kg [mg/m ²])	Study Duration	Day	Cynomolgus monkey: mean blood data										t _{1/2} (h)			
			C _{max} (ng/mL)		AUC _t (ng·h/mL)		AUC _{last} (ng·h/mL)		t _{max} (h)							
			M	F	M+F	M	F	M+F	M	F	M+F	M	F	M+F	M	F
0.075 [0.9]	4 cycles ^c	1 ^f	108	108	108	3,786 ^e	3,646 ^e	3,716 ^e	3,786	3,646	3,716	0.117 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.075 [0.9]	4 cycles ^c	32 ^f	179	164	172	6,524 ^e	6,032 ^e	6,278 ^e	6,524	6,032	6,278	0.133 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.075 [0.9]	4 cycles ^c	74 ^f	185	182	184	6,899 ^e	6,153 ^e	6,526 ^e	6,899	6,153	6,526	0.25 ^g	0.133 ^g	-	-	-
0.1 [1.2]	4 cycles ^c	1 ^f	132	149	139	4,416 ^e	4,791 ^e	4,566 ^e	4,416	4,791	4,566	0.117 ^g	0.184 ^g	-	-	-
0.1 [1.2]	4 cycles ^c	32 ^f	220	230	225	6,511 ^e	7,422 ^e	6,966 ^e	6,511	7,422	6,966	0.117 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.1 [1.2]	4 cycles ^c	74 ^f	175	200	188	5,308 ^e	6,535 ^e	5,921 ^e	5,308	6,535	5,921	0.25 ^g	0.25 ^g	-	-	-
0.1 [1.2] ^d	4 cycles ^c	1 ^f	154	300	227	5,039 ^e	4,846 ^e	4,943 ^e	5,039	4,846	4,943	0.117 ^g	0.25 ^g	-	-	-
0.1 [1.2] ^d	4 cycles ^c	32 ^f	225	189	207	7,399 ^e	6,863 ^e	7,131 ^e	7,399	6,863	7,131	0.117 ^g	0.167 ^g	-	-	-
0.1 [1.2] ^d	4 cycles ^c	74 ^f	224	205	215	6,012 ^e	6,438 ^e	6,225 ^e	6,012	6,438	6,225	0.117 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.166 [2.0]	QW (12 weeks)	1 ^f	242	197	215	6,339 ^e	5,536 ^e	5,857 ^e	6,339	5,536	5,857	0.117 ^g	0.25 ^g	-	-	-
0.166 [2.0]	QW (12 weeks)	50 ^f	242	223	233	6,539 ^e	5,919 ^e	6,229 ^e	6,539	5,919	6,229	0.117 ^g	0.117 ^g	-	-	-
0.166 [2.0]	QW (12 weeks)	78 ^f	255	194	230	6,569 ^e	5,781 ^e	6,175 ^e	4,958	5,781	5,287	0.25 ^g	0.267 ^g	-	-	-

Legend at end of table.

(Continued)

Legend at end of table.

(Continued)

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (Continued)

Test Article: bortezomib	
-	= no data available; AUC_{last} = area under the plasma/blood concentration-time curve from time zero to the last quantifiable time; AUC_t = area under the plasma/blood concentration-time curve from time zero to time t; C_{max} = maximum plasma/blood concentration; F = female; M = male; NC = not calculated (did not meet acceptance criteria); QW = once weekly; t_{max} = time to maximum plasma/blood concentration; $t_{1/2}$ = elimination half-life
a	TOX8394
b	AUC_{4h}
c	Dosing on Days 1, 4, 8, and 11 + 1-week of recovery period for each cycle; terminal euthanasia: 72 hours after last dose
d	Intravenous administration (all others: subcutaneous).
e	AUC_{72h}
f	TOX7345
g	Median value reported for t_{max} .

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance

Batch (Product)	Lot (Drug Substance)	Purity (%)	Test Article: bortezomib	
			Specified Impurities	Type of Study
			Total Impurity (%)	Location in CTD
			Individual Impurities	
YB005A	WB2003	99	Impurity A+B: <0.21% Impurity E: 0.05% Impurity O, C, S, G+H, K, largest single unknown: <0.05% Impurity P, D, T, L, F+M+N, J: not detected	0.21 Repeat-dose investigative toxicity study after SC dosing in cynomolgus monkey 4.2.3.2.1
YB005A	WB2003	99.8	Impurity A+B: <0.21% Impurity E: 0.05% Impurity O, C, S, G+H, K, largest single unknown: <0.05% Impurity P, D, T, L, F+M+N, J: not detected	0.21 4-cycle SC and IV injection toxicity study in cynomolgus monkey 4.2.3.2.2
6GZSN-1	ZC2092	99	Impurity A+B: 0.14% Impurity L, D, E, K, S, C, G+H: <0.05% Individual unspecified: <0.05% Impurity O, P, T, J, F+M+N: not detected	0.12 8-week SC toxicity study in cynomolgus monkey 4.2.3.2.3
YB010A	020150	101.1	Largest individual unknown: 0.11% Impurity A+B: <0.11% Impurity F+M+N: <0.10% Impurity G+H: 0.05% Impurity E, C, P, D, K: <0.05% Impurity O, T, S, L, J: not detected	0.22 Local tolerability/tissue reaction study in female New Zealand White rabbits after SC injection 4.2.3.6.1
IV = intravenous(Iv); SC = subcutaneous(Iv)				

IV = intravenous(ly); SC = subcutaneous(ly)

2.6.7.5 Single-Dose Toxicity

Test Article: bortezomib	
Not applicable	

2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Non-Pivotal Studies

Species/Strain Sex/No. Per Group		Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg [mg/m ²])	Noteworthy Findings	Test Article: bortezomib Study No./ Location in CTD
Monkey/cynomolgus Male Group 1: 1M Group 2: 3M		SC 0.9% saline/ 3.5 mg/mL of bortezomib, 3.5 mg/mL of mannitol	Dosing on Days 1, 8, and 15 + 10-day recovery	Group 1: 0.166 [2.0] (Day 1), 0.182 [2.2] (Days 8, 15) Group 2: 0.166 [2.0] (Days 1, 8, 15)	One Group 2 animal was sacrificed the day after the first dose at 0.166 mg/kg. <u>Clinical signs</u>: cold to touch, hunched posture, lethargy, non-responsive, pale mucous membranes, vocalization, vomiting. <u>Hematology</u>: ↑ red and white blood cell parameters. <u>Serum</u>: ↑ liver enzymes. <u>Gross necropsy</u>: clear gelatinous accumulation of material at the administration site, red discoloration of the colon and rectum, large ulcer on the stomach covering 1/3 to 1/2 of the gastric surface. Gastric ulcer = pre-existing condition that was exacerbated by VELCADE® administration. Group 1&2: <u>Hematology</u>: the day after each dose: ↓ red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, ↑ reticulocytes, white blood cell count, neutrophils <u>End of 10-day recovery</u>: white blood cell parameters back to normal. Reticulocytes increased. Group 2: <u>Clinical signs</u>: skin erythema, mild swelling around the eyes, dry flaky skin (1 monkey), peeling skin (1 monkey), vomiting the day after the 2nd and 3rd doses, lethargic with pale mucous membranes (1 monkey) <u>End of 10-day recovery</u>: 1 monkey still had skin erythema and dry flaky skin.	KLA00236/ 4.2.3.2.1

M = male; SC = subcutaneous(ly)

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity

Report Title: Velcade (Bortezomib): A 4-Cycle Subcutaneous and Intravenous Injection Toxicity Study in Cynomolgus Monkey		Study No.: TOX7345		Test Article: bortezomib	
Species/Strain: Monkey/cynomolgus		Duration of Dosing: subcutaneous and intravenous; 4 cycles of 2 weeks; each cycle: dosing on Days 1, 4, 8, and 11, followed by 1 week of recovery. At end of study: terminal euthanasia 72 hours after final dose on Day 11.		Location in CTD: 4.2.3.2.2	
Age at First Dose: approximately 2.5 to 3 years		Subcutaneous high dose: once weekly for up to 12 weeks		GLP Compliance: Yes	
Date of First Dose: 05 January 2006		Duration of Postdose: 1 week after each cycle (except for last cycle – 72 hours)			
Vehicle/Formulation: SC; 0.9% sodium chloride for injection USP/ 3.5 mg/mL of bortezomib, 35 mg/mL of mannitol, IV; 0.9% sodium chloride for injection USP/ 1.0 mg/mL of bortezomib, 10 mg/mL of mannitol		Route: SC or IV injection			
NOAEL = not determined					
HNSTD = 0.1 mg/kg/dose (1.2 mg/m ² ; IV or SC; 4 cycles of twice weekly dosing followed by one week untreated); not determined for weekly injection (< 0.166 mg/kg/dose [< 2.0 mg/m ²])					
Dose (mg/kg [mg/m ²])		Vehicle SC ^a		0.111.2ISC ^a	
No. of Animals		M:3 F:3		M:3 F:3	
Toxicokinetics				0.16612.0ISC ^b	
No. of Animals		M:3 F:3		M:3 F:3	
PLASMA				0.111.2IV ^a	
Cycle 1, Day 1(Cycle dosing) / Day 1 (SC QW)				M:3 F:3	
C _{max} (ng/mL)		BQL		75.9	
AUC _{72h} (ng·h/mL)		NA		57.4	
t _{max} (h)		NA		0.117 ^h	
Cycle 2, Day 32(Cycle dosing) / Day 50 (SC QW)				102 (n=2)	
C _{max} (ng/mL)		BQL		NC	
AUC _{72h} (ng·h/mL)		NA		168 (n=2)	
t _{max} (h)		NA		0.117 ^h (n=2)	
Cycle 4, Day 74(Cycle dosing) / Day 78 (SC QW)				119	
C _{max} (ng/mL)		BQL		NC	
AUC _{72h} (ng·h/mL)		NA		164	
t _{max} (h)		NA		186	
				0.117 ^h	
				110	
				206	
				0.117 ^h	
				138	
				147	
				0.117 ^h	
				109	
				134	
				0.117 ^h	

Legend at end of table

(Continued)

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity (Continued)

Report Title: Velcade (Bortezomib): A 4-Cycle Subcutaneous and Intravenous Injection Toxicity Study in Cynomolgus Monkey										Test Article: bortezomib	
Dose (mg/kg [mg/m ²])		Vehicle SC ^a		0.075 [0.9] SC ^a		0.1 [1.2] SC ^a		0.166 [2.0] SC ^b		0.1 [1.2] IV ^a	
No. of Animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics (Continued)											
No. of Animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
BLOOD											
Cycle 1, Day 1 (Cycle dosing) / Day 1 (SC QW)											
C _{max} (ng/mL)		BQL	BQL	108	108	132	149 (n=2)	242 (n=2)	197	154	300
AUC _{72h} (ng·h/mL)		NA	NA	3786	3646	4416	4791 (n=2)	6339 (n=2)	5536	5039	4846
t _{max} (h)		NA	NA	0.117 ^h	0.117 ^h	0.117 ^h	0.184 ^h (n=2)	0.117 ^h (n=2)	0.25 ^h	0.117 ^h	0.25 ^h
Cycle 2, Day 32 (Cycle dosing) / Day 50 (SC QW)											
C _{max} (ng/mL)		BQL	BQL	179	164	220	230	242	223	225	189
AUC _{72h} (ng·h/mL)		NA	NA	6524	6032	6511	7422	6539	5919	7399	6863
t _{max} (h)		NA	NA	0.133 ^h	0.117 ^h	0.117 ^h	0.117 ^h	0.117 ^h	0.117 ^h	0.117 ^h	0.167 ^h
Cycle 4, Day 74 (Cycle dosing) / Day 78 (SC QW)											
C _{max} (ng/mL)		BQL	BQL	185	182	175	200	255	194 (n=2)	224	205
AUC _{72h} (ng·h/mL)		NA	NA	6899	6153	5308	6535	6569 (n=2)	5781 (n=2)	6012	6438
t _{max} (h)		NA	NA	0.25 ^h	0.133 ^h	0.25 ^h	0.25 ^h	0.25 ^h	0.267 ^h (n=2)	0.117 ^h	0.117 ^h
Noteworthy Findings											
Died or Sacrificed Moribund		-	-	-	-	-	-	1 ^c	1 ^d	-	-
Clinical Observations											
Abnormal feces (soft, liquid and/or discolored)		-	-	-	-	-	↑	-	↑	-	↑
Emesis ^e		-	-	-	-	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Reduced appetite		-	-	-	-	present	present	present	present	present	present
Decreased activity		-	-	-	-	1	1	2	3	2	-
Body weight (Day 76/77; kg) ^f		2.63	-	-	-	-	-	0.85	-	-	-
Body weight gain (Day -1 - 76/77; kg)		+ 0.20	-	-	-	-	-	-0.14	-	-	-

Legend at end of table

(Continued)

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity (Continued)

Report Title: Velcade (Bortezomib): A 4-Cycle Subcutaneous and Intravenous Injection Toxicity Study in Cynomolgus Monkey									
Dose (mg/kg [mg/m ²])									
No. of Animals	Vehicle SC ^a			0.075 [0.9] SC ^a			0.1 [1.2] SC ^a		
	M:3	F:3	-	M:3	F:3	-	M:3	F:3	-
Injection site evaluations	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neurological examinations	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry ^{f,g}	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Day 35									
Total protein (g/dL)	-	7.77	-	-	0.91**	-	-	0.89 ⁱ	-
Globulin (g/dL)	-	3.30	-	-	0.84	-	-	0.87 ⁱ	-
Day 77									
Total protein (g/dL)	-	7.90	-	-	0.89***	-	-	0.89 ^j (n=2)	-
Globulin (g/dL)	-	3.37	-	-	0.80*	-	-	0.79 ^j (n=2)	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights and Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spinal cord-cervical: nerve fiber degeneration, Minimal	0	1	-	1	-	-	-	1	-
Spinal cord-thoracic: nerve fiber degeneration, Minimal	1	0	-	1	-	-	-	2	-
Spinal cord-lumbar: nerve fiber degeneration, Minimal	0	1	-	1	-	-	-	2	-

Legend at end of table

(Continued)

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity (Continued)

Report Title: Velcade (Bortezomib): A 4-Cycle Subcutaneous and Intravenous Injection Toxicity Study in Cynomolgus Monkey									
Dose (mg/kg [mg/m ²])									
No. of Animals	Vehicle SC ^a			0.075 [0.9] SC ^a			0.1 [1.2] SC ^a		
	M:3	F:3	E:3	M:3	F:3	E:3	M:3	F:3	E:3
Histopathology (continued)									
Sciatic Nerve: nerve fiber degeneration									
Minimal	0	0	-	-	-	-	1	2	-
Slight	0	0	-	1	-	-	-	-	-
Peroneal nerve: nerve fiber degeneration									
Minimal	0	0	-	-	-	-	-	1	-
Slight	0	0	-	1	-	-	-	1	-
Sural nerve: nerve fiber degeneration									
Minimal	0	1	-	-	-	-	-	2	-
Tibial nerve: nerve fiber degeneration									
Minimal	0	0	-	-	-	-	2	3	1
Trigeminal nerve: nerve fiber degeneration, Minimal									
Cervical dorsal root ganglion: nerve fiber degeneration, Minimal	0	0	-	1	-	-	2 (n=2)	2	1
Thoracic dorsal root: nerve fiber degeneration, Minimal	0 (n=2)	0	-	-	-	-	1	-	-
Lumbar dorsal root: nerve fiber degeneration, Minimal	0	0	-	1	-	-	2	2	-
Lumbar dorsal root ganglion: nerve fiber degeneration, Minimal	0	0	-	1	1	-	2	3	-
Lumbar ventral root: nerve fiber degeneration, Minimal	0	0	-	-	-	-	-	2	-
Kidney: prominent mesangial cells									
Minimal	0	0	-	1	1	1	1	1	1
Slight	0	0	-	-	-	-	-	-	-

Legend at end of table

(Continued)

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity (Continued)

Report Title: Velcade (Bortezomib): A 4-Cycle Subcutaneous and Intravenous Injection Toxicity Study in Cynomolgus Monkey										Test Article: bortezomib			
Dose (mg/kg [mg/m ²])										0.1 [1.2] IV ^a			
No. of Animals										0.166 [2.0] SC ^b			
Histopathology (continued)										0.1 [1.2] SC ^a			
Kidney: cortical tubular degeneration/hypertrophy										0.075 [0.9] SC ^a			
Minimal										M:3	E:3	M:3	E:3
Slight										M:3	E:3	M:3	E:3
Moderate										M:3	E:3	M:3	E:3
Marked										M:3	E:3	M:3	E:3
Bone marrow:										0.1 [1.2] SC ^a			
hematopoietic hypocellularity										0.166 [2.0] SC ^b			
Minimal										M:3	E:3	M:3	E:3
Slight										M:3	E:3	M:3	E:3
Moderate										M:3	E:3	M:3	E:3
Lymph node mandibular:										0.1 [1.2] SC ^a			
lymphoid atrophy/necrosis										0.166 [2.0] SC ^b			
Minimal										M:3	E:3	M:3	E:3
Slight										M:3	E:3	M:3	E:3
Moderate										M:3	E:3	M:3	E:3
Lymph node mesenteric:										0.1 [1.2] SC ^a			
lymphoid atrophy/necrosis										0.166 [2.0] SC ^b			
Minimal										M:3	E:3	M:3	E:3
Slight										M:3	E:3	M:3	E:3
Moderate										M:3	E:3	M:3	E:3
Thymus:										0.1 [1.2] SC ^a			
lymphoid atrophy/necrosis										0.166 [2.0] SC ^b			
Minimal										M:3	E:3	M:3	E:3
Slight										M:3	E:3	M:3	E:3
Moderate										M:3	E:3	M:3	E:3
Spleen: lymphoid atrophy/necrosis										0.1 [1.2] SC ^a			
Minimal										0.166 [2.0] SC ^b			
Slight										M:3	E:3	M:3	E:3
Moderate										M:3	E:3	M:3	E:3
Marked										M:3	E:3	M:3	E:3

Legend at end of table

(Continued)

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity (Continued)

Report Title: Velcade (Bortezomib): A 4-Cycle Subcutaneous and Intravenous Injection Toxicity Study in Cynomolgus Monkey	Test Article: bortezomib
- = no noteworthy findings; ↑ = increase; AUC_t = area under the plasma/blood concentration-time curve from time zero to time t; BQL = below quantification limit; C_{max} = maximum plasma/blood concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HNSTD = highest nonseverely toxic dose; IV = intravenous(ly); M = male; NA = not applicable; NC = not calculated (n < 2); NOAEL = no-observed-adverse-effect level; QW = once weekly; SC = subcutaneous(ly); t_{max} = time to maximum plasma/blood concentration. ^a Dosing for 4 cycles (Cycles 1, 2, and 3 = dosing on Days 1, 4, 8 and 11, followed by a 1-week recovery period; Cycle 4 = dosing on Days 1, 4, 8 and 11 with terminal euthanasia 72 hours after the last dose) ^b Once weekly dosing for 12 weeks with terminal euthanasia 72 hours after the last dose. ^c Found dead on Day 79 (= the day after receiving the 12th dose). Male showed clinical history of chronic soft/liquid feces and/or emesis (often characterized by the presence of discolored and/or mucoid material in the cage tray) following dose administration. Minimally decreased total protein and albumin values were observed in serum on Days 11 and 53 and mild decreases in phosphorus, potassium and chloride, which were considered secondary to the observed clinical signs (reduced appetite associated with emesis and diarrhea). Histopathologically, hemopoietic hypocellularity of the bone marrow was seen. Treatment-related microscopic findings similar to those recorded in terminally euthanized animals were observed. ^d Found dead the day after administration of the 11th weekly dose (Day 72). Female showed repeated transient episodes of decreased activity, reduced body temperature, and reduced appetite following each weekly dose administration. Other clinical signs indicative of a deteriorating condition included: vocalization, sunken eyes, dehydration, pallor of the gums or skin, soft, liquid feces and/or emesis (often characterized by the presence of discolored material in the cage tray), prominent backbone, hunched posture, thinness, and decreased muscle tone. Re-hydration and food supplementation were provided on several occasions. Blood: ↑ total white blood cell counts (primarily ↑ neutrophils, particularly evident on Day 67). Serum: ↑ triglyceride on Days 11, 32, 53 and 67. ↑ in urea and creatinine on Day 67 (returned to normal on Day 70 after re-hydration by injection of lactated Ringer[®] solution and gavage with sterile water). Histopathologically, hemopoietic hypocellularity of the bone marrow was seen, as well as vascular leukocytosis in liver and lung sections. Treatment-related microscopic findings similar to those recorded in terminally euthanized animals were observed. ^e Often characterized by the presence of discolored material in the cage tray. ^f For vehicles, group means are shown. For treated groups, multiples of vehicle are shown. ^g The serum findings were considered secondary to the reduced appetite and/or dehydration seen in bortezomib-treated animals. ^h Median value reported for t_{max}. ⁱ Calculation on the data obtained on Day 32 to data of vehicle on Day 35. ^j Calculation on the data obtained on Day 81 to data of vehicle on Day 77. * p ≤ 0.05; ** p ≤ 0.01; *** p ≤ 0.001 (Dunnett test)	

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity

Report Title: An 8-Week Subcutaneous Toxicity Study of Velcade in Cynomolgus Monkeys										Test Article: bortezomib	
Species/Strain: Monkey/cynomolgus		Duration of Dosing: QD for 5 consecutive days per week; a total of 8 weeks								Study No.: TOX8394	
Age at First Dose: approximately 4.52 to 6.29 years		Duration of Postdose: 2 days per week (after 5 daily doses)								Location in CTD: 4.2.3.2.3	
Date of First Dose: 25 June, 2007		Route: SC injection								GLP Compliance: Yes	
Vehicle/Formulation: 0.9% sodium chloride for injection USP/ 1.0 mg/mL of bortezomib, 10 mg/mL of mannitol											
NOAEL = not determined											
HNSTD = 0.05 mg/kg/dose [0.6 mg/m ²]											
Dose (mg/kg [mg/m ²])		<u>M:3</u>		<u>Vehicle</u>		<u>0.0166 [0.21]</u>		<u>0.0333 [0.41]</u>		<u>0.05 [0.61]</u>	
No. of Animals		<u>M:3</u>		<u>F:3</u>		<u>M:3</u>		<u>F:3</u>		<u>M:3</u>	
Toxicokinetics											
No. of Animals		<u>M:0</u>		<u>F:0</u>		<u>M:3+ F:3</u>		<u>M:3+ F:3</u>		<u>M:3+ F:3</u>	
Day 1											
C _{max} (ng/mL)		NA		10.7		23.7		34.2			
AUC _{last} (ng·h/mL)		NA		4.78		14.4		30.7			
AUC _{4h} (ng·h/mL)		NA		5.01		12.3		21.8			
t _{max} (h)		NA		0.148		0.116		0.200			
Day 3											
C _{max} (ng/mL)		NA		11.0		27.5		48.1			
AUC _{last} (ng·h/mL)		NA		8.73		39.1		64.5			
AUC _{4h} (ng·h/mL)		NA		6.82		18.4		34.1			
t _{max} (h)		NA		0.138		0.165		0.203			
Day 5											
C _{max} (ng/mL)		NA		4.13		13.6		19.1			
AUC _{last} (ng·h/mL)		NA		16.9 (n=3)		55.1		81.0			
AUC _{4h} (ng·h/mL)		NA		9.34 (n=3)		30.3		42.4			
t _{max} (h)		NA		0.502		0.504		1.75			
Day 12											
C _{max} (ng/mL)		NA		4.16		12.4		25.9			
AUC _{last} (ng·h/mL)		NA		18.1 (n=3)		48.8		83.1			
AUC _{4h} (ng·h/mL)		NA		11.2 (n=3)		27.5		55.4			
t _{max} (h)		NA		0.501		0.505		0.506			
Day 19											
C _{max} (ng/mL)		NA		4.77 (n=5)		15.2		31.9 (n=5)			
AUC _{last} (ng·h/mL)		NA		14.7 (n=1)		61.7		106 (n=5)			
AUC _{4h} (ng·h/mL)		NA		12.0 (n=1)		34.0		68.5 (n=5)			
t _{max} (h)		NA		0.499 (n=5)		0.498		0.501 (n=5)			
Legend at end of table.											
(Continued)											

(Continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity (Continued)

Report Title: An 8-Week Subcutaneous Toxicity Study of Velcade in Cynomolgus Monkeys				Test Article: bortezomib			
Dose (mg/kg [mg/m ²])		Vehicle		0.0166 [0.21]		0.0333 [0.41]	
Toxicokinetics (Continued)							
No. of Animals							
Day 33							
C _{max} (ng/mL)							
AUC _{last} (ng·h/mL)							
AUC _{4h} (ng·h/mL)							
t _{max} (h)							
Day 54							
C _{max} (ng/mL)							
AUC _{last} (ng·h/mL)							
AUC _{4h} (ng·h/mL)							
t _{max} (h)							
No. of Animals							
Noteworthy Findings							
Died or Sacrificed Moribund							
Clinical Observations							
Soft/liquid stool (multiple days)							
Injection site observations:							
erythema and edema ^a							
Food Consumption							
Body weight gain (kg) ^b							
Day 7							
Day 14							
Day 21							
Day 28							
Day 35							
Day 42							
Day 49							
Day 56							
Legend at end of table.							

(Continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity (Continued)

Report Title: An 8-Week Subcutaneous Toxicity Study of Velcade in Cynomolgus Monkeys									
Dose (mg/kg [mg/m ²])									
No. of Animals	Vehicle			0.0166 [0.2]			0.0333 [0.4]		
	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3
ECG	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rectal temperature	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood pressure	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis ^c	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Day 6									
Creatinine (mg/dL)	82.5	158.5	2.24	1.05	2.29	1.97	4.51	1.96	1.96
Inorganic phosphorus (mg/dL)	18.3 (n=1)	13.6 (n=1)	0.55 (n=1)	4.56	1.98	9.80	0.81 (n=2)	13.85	13.85
Sodium (mEq/L)	13.6	43.0	1.13	0.95	2.65	1.19	6.08	0.57	0.57
Day 54									
Hematology ^c	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Day 6									
Platelet number (10 ³ /μL)	431	515	0.98	1.04	0.78	0.61	0.59 *	0.50	0.50
Platelet volume (fL)	8.9	9.9	1.15	0.99	1.10	1.11	1.26	1.08	1.08
Day 27									
Platelet number (10 ³ /μL)	379	498	0.86	0.94	0.90	0.60	0.80	0.62	0.62
Platelet volume (fL)	9.5	10.1	1.21	1.01	1.26 *	1.38	1.33 *	1.18	1.18
Day 55									
Platelet number (10 ³ /μL)	335	438	0.84	1.07	0.78	0.27 *	0.33	0.34 *	0.34 *
Platelet volume (fL)	9.6	10.4	1.29	1.02	1.25	1.21	1.20	1.11	1.11
Coagulation ^c									
Fibrinogen (mg/dL)									
Day 6	302	-	1.10	-	1.22	-	1.61 *	-	-
Day 27	257	-	1.16	-	1.35	-	1.90	-	-
Day 55	295	-	1.11	-	1.28	-	1.65	-	-
Serum Chemistry									
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights: Kidney (g) ^c	18.5691	12.8294	-	-	-	-	1.37 *	1.32 *	1.32 *

Legend at end of table.

(Continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity (Continued)

Report Title: An 8-Week Subcutaneous Toxicity Study of Velcade in Cynomolgus Monkeys									
Dose (mg/kg [mg/m ²])									
No. of Animals	Vehicle		0.0166 [0.2]		0.0333 [0.4]		0.05 [0.6]		Test Article: bortezomib
	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	
Histopathology									
Kidney: degeneration/regeneration, tubular	0	0	-	-	present	-	present	present	present
Pancreas: decreased zymogen granules in acinar cells	0	0	-	-	present	present	present	present	present
Prostate: degeneration/regeneration, acini, with necrotic debris, lumen	0	NA	-	NA	present	NA	present	present	NA
Joints, knee: neovascularization, subsynovial	0	0	-	-	-	-	present	present	present
Cervical and lumbar spinal cord: degeneration, white matter, dorsal funiculi	0	0	-	-	-	present	present	present	present
Peripheral nerves: increase, degeneration, nerve fibers	0	0	-	-	-	present	present	present	present
Injection site: fibroplasia									
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1	3
Mild	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Injection site: mononuclear cell/neutrophil infiltration									
Minimal	2	3	3	2	3	2	2	3	3
Mild	0	0	0	1	0	1	1	0	0

↓ = decrease; ↑ = increase; - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last quantifiable time; AUC_t = area under the plasma concentration-time curve from time zero to time t; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HNSTD = highest nonseverely toxic dose; M = male; NA = not applicable; NOAEL = no-observed-adverse-effect level; QD = once daily; SC = subcutaneous(y); t_{max} = time to maximum plasma concentration.

^a Dose-dependent increase in incidence, frequency, and severity of erythema and edema.

^b Body weight gain data are calculated towards the body weight data at the end of the acclimation period. One male and 3 females dosed at 0.0333 mg/kg/dose [0.4 mg/m²] and 3 males and 2 females dosed at 0.05 mg/kg/dose [0.6 mg/m²] in particular, showed a body weight loss between 3% and 12%.

^c For vehicles, group means are shown. For treated groups, multiples of vehicle are shown.

* p < 0.05 (Dunnett test)

2.6.7.8 Genotoxicity: In Vitro		Test Article: bortezomib
Not applicable		

2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo		Test Article: bortezomib
Not applicable		

2.6.7.10 Carcinogenicity		Test Article: bortezomib
Not applicable		

2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Non-Pivotal Studies

Test Article: bortezomib
Not applicable

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic Development to Implantation

Test Article: bortezomib	
Not applicable	

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Embryo-Fetal Development

Test Article: bortezomib
Not applicable

2.6.7.14	Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function	Test Article: bortezomib
Not applicable		

2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals		Test Article: bortezomib
2.6.7.15	Studies in Juvenile Animals	Not applicable

2.6.7.16 Local Tolerance

Test Article: bortezomib					Study No./ Location in CTD
Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg [mg/m ²])	Noteworthy Findings	
Rabbit/ New Zealand White 3 Female	SC 0.9% sodium chloride for injection USP/ 1.0 and 3.5 mg/mL of bortezomib, 10 and 35 mg/mL of mannitol	Single dose + 1-or 3-day observation period	0.1 [1.2]	No mortality or test article- related clinical observations. No change in body weight and body weight gain. <u>Gross pathology:</u> -Slight-to-marked subcutaneous hemorrhages (in bortezomib and vehicle injection sites) mainly related to the injection procedure (4 rabbits). -Edema at the bortezomib injection site (1 rabbit dosed with 1.0 mg/mL, sacrificed after a 3-day observation period). <u>Histopathology:</u> Minimal reaction at the bortezomib injection site (4 of 12 rabbits).	TOX6863/ 4.2.3.6.1
SC = subcutaneous (ly)					

2.6.7.17 Other Toxicity Studies

Test Article: bortezomib
Not applicable

