ヘマンジオルシロップ小児用0.375%

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

2.6.6　毒性試験の概要文

マルホ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
ANP	Atrial natriuretic peptide：心房性ナトリウム利尿ペプチド
$AUC_{0\text{-}24\ h}$	Area under the time-concentration curve：時間-血漿中濃度曲線下面積 （投与開始0時間後から24時間後までの時間-血漿中濃度曲線下面積）
BNP-32	Brain natriuretic peptide-32：脳性ナトリウム利尿ペプチド
C_{max}	Maximal plasma concentration：最高血漿中濃度
C-Tn I	Cardiac troponin I：心臓トロポニン I
FOB	Functional Observation Battery：機能観察総合評価法
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
NOAEL	No observed adverse effect level：無毒性量
PFD	Pierre Fabre Dermatologie
T_{max}	Time to peak plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間

目次

頁

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
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 4
2.6.6.5 がん原性試験 4
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 4
2.6.6.7 局所刺激性試験 8
2.6.6.8 その他の毒性試験 8
2.6.6.9 考察及び結論 8
2.6.6.10 図表 8
2.6.6.11 参考文献一覧 8

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ヘマンジオルシロップ小児用0.375%（以下、本剤）は、乳児血管腫を適応として開発された。本剤の有効成分であるプロプラノロールは、心血管疾患への使用法が確立されている有効成分であり、長年にわたって世界各国で臨床使用されている。

乳児血管腫を適応とする本剤の申請区分は、医療用医薬品（4）新効能医薬品及び（5）新剤形医薬品に相当する。この申請区分では、新たな非臨床毒性試験資料の提出は不要とされているが、本申請における対象疾患の患者層が乳幼児であることを鑑み、Pierre Fabre Dermatologie（以下、PFD）社にて幼若ラットを用いた毒性評価が実施された。本試験の概要を以下に示す。

幼若ラットにプロプラノロールの0、10、20、40 mg/kg/dayを、18日間（生後4日から生後21日まで）反復経口投与し、その毒性を検討した。一般毒性学的な評価に加え、心臓バイオマーカー検査、脛骨長測定、学習・記憶及び生殖能検査などを指標に器官・機能の発達を評価し、回復性についても検討した。

器官・機能の発達、生殖能力及び心臓機能に関して、40 mg/kg/dayまでプロプラノロール投与に関連する変化は観察されなかった。一般毒性学的パラメータについては、高用量の40 mg/kg/dayのみで所見（死亡、体重の低値）が認められた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.5 がん原性試験

該当資料なし。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 幼若ラットを用いた試験（試験番号：39331RSR、4.2.3.5.4-1）

(1) 試験目的

幼若ラットの発達に対するプロプラノロールの毒性を評価することを目的とし、生後4日の幼若ラットに18日間反復経口投与した試験を実施した。投与期間はヒトの新生児期及び乳幼児期に相当する時期を満たすように設定し、その後の休薬期間を含めた総試験期間は、更に児童期、青少年期に相当する時期を満たすように設定した。なお、本試験は、Good Laboratory Practice（GLP）に準拠して実施された。

(2) 試験方法

1群雌雄各32匹の幼若Sprague-Dawleyラットに、プロプラノロールの0、10、20、40 mg/kg/dayを18日間（生後4日から生後21日まで）、毎日、反復経口投与した。これらの動物を、最終投

与翌日に屠殺するSubset Iと、投与期間終了後に休薬して生殖能検査等を実施するSubset IIに分けた。それぞれの検査項目を以下に示す。

• Subset I（雌雄各16匹/群）

死亡数、一般状態観察及び体重測定に加えて、離乳前発達に関する検査として開眼、切歯萌出、耳道開口、空中落下正向反射及び断崖回避の検査を実施した。投与終了時に眼科検査及び尿検査を、最終投与翌日に血液学検査、血液生化学検査、心臓バイオマーカー検査（ANP、BNP-32、C-Tn I）、剖検及び器官重量測定を実施し、対照群及び高用量群の全例について病理組織学的検査を実施した。

• Subset II（雌雄各16匹/群）

死亡数、一般状態観察、体重測定、眼科検査（投与終了時に1回）及び離乳前発達検査（開眼、切歯萌出、耳道開口、空中落下正向反射及び断崖回避）を実施した。

これらに加えて、生後6日～6週齢まで脛骨長測定、離乳以降に摂餌量測定、6～8週齢時に機能観察総合評価法（FOB）、自発運動量及び学習・記憶検査、生後38日以降の雄及び生後28日以降の雌の性成熟検査（包皮分離及び膣開口）を実施した。更に、膣開口～交配まで雌の性周期検査、交配前に尿検査、血液学検査及び血液生化学検査を行い、約13週齢時点で雌雄を交配させた。交配15日に剖検、器官重量測定、帝王切開時検査（黄体数、着床数、生存胚数及び死亡胚数、初期吸収胚数及び後期吸収胚数、着床痕数）及び精子検査を実施した。

• サテライト

血漿中薬物濃度測定用サテライト動物として、各被験物質投与群につき雌雄各45匹を使用し、投与1日及び投与18日のそれぞれ投与後1、2、4、8及び24時間に血液を採取した。また、媒体対照群には雌雄各9匹を使用し、投与1日及び投与18日のそれぞれ投与後1時間に血液を採取した。

(3) 試験結果

1) 死亡数（Subset I、Subset II及びサテライト群）

10及び20 mg/kg/day群において、投与に関連した死亡は観察されなかった。

40 mg/kg/day群（主群及びサテライト群）では、プロプラノロール投与との関連性を否定できない死亡が、雌雄ともに77例中1例に観察された。このうち、主群のSubset IIの雄1例は、投与4日（生後7日）に痩削・低体温・脱水により切迫屠殺された。サテライト群の雌1例は、投与4日（生後7日）に共食いとして死亡発見された。

2) 一般状態観察（Subset I及びSubset II）

投与に関連した一般状態の異常はみられなかった。

3) 体重及び体重変化量（Subset I及びSubset II）

雄の40 mg/kg/day群で体重の低値がみられた（最大で投与18日（生後21日）の-10.3%）。また、雌雄の40 mg/kg/day群で、投与期間中の体重変化量のわずかな低値がみられた（雄：対照群の+ 47 gに対して+ 41 g、雌：対照群の+ 45 gに対して+ 41 g）。

休薬期間終了時及び妊娠期間中は、毒性学的に有意な変化はみられなかった。

4) 摂餌量（Subset II）
いずれの投与群も対照群との間に相違はなかった。

5) 脛骨長（Subset II）
いずれの投与群も対照群との間に相違はなかった。

6) 離乳前発達（Subset I及びSubset II）
開眼、切歯萌出、耳道開口、空中落下正向反射及び断崖回避について、いずれの投与群も対照群と比較して毒性学的に意義のある成長遅延はなかった。

7) 機能観察総合評価法（FOB）及び自発運動量（Subset II）
機能観察総合評価法（FOB）及び自発運動量に、投与に関連した変化はみられなかった。

8) 学習・記憶（Subset II）
学習あるいは記憶機能について、投与に関連した毒性兆候はみられなかった。

9) 性成熟（Subset II）
包皮分離あるいは膣開口検査で、投与に関連した変化はみられなかった。

10) 眼科検査（Subset I及びSubset II）
投与に関連した所見はみられなかった。

11) 血液学検査（Subset I及びSubset II）
10及び20 mg/kg/day群では、毒性学的に有意な変化はみられなかった。
40 mg/kg/day群のSubset IIでは、毒性学的に有意な変化はみられなかった。Subset Iについては、採血量の不足により十分な測定サンプル数を確保できなかったことから、結論を出せなかった。

12) 血液生化学検査（Subset I及びSubset II）
いずれの投与群も、毒性学的に有意な変化はみられなかった。

13) 心臓バイオマーカー（Subset I）
血漿中ANP、BNP-32、C-Tn I濃度について、投与に関連した変化はみられなかった。

14) 尿検査（Subset I及びSubset II）
投与終了時（Subset I）では、雄の40 mg/kg/day群（対照群の3 mLに対して1 mL）、雌の20及び40 mg/kg/day群（対照群の3 mLに対してそれぞれ2 mL及び1 mL）で、尿量の低値がみられた。本所見は投与に関連する変化と考えられたが、腎臓の病理組織学的検査など他の泌尿器系への影響はみられなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。なお、休薬後（Subset II）には本変化はみられず、完全に回復した。

15) 交配及び性周期（Subset II）

交配所要日数は各群で同程度であり、交配の確認されたすべての雌が妊娠した。性周期について、投与に関連した変化はみられなかった。

16) 帝王切開時検査（Subset II）

各検査項目について、投与に関連した変化はみられなかった。

17) 精子検査（Subset II）

精巣上体の精子数、精子運動能、精巣の精子頭部数及び精巣の精子産生率について、投与に関連した変化はみられなかった。精子形態は、各投与群と対照群で同等であった。

18) 病理検査及び器官重量（Subset I及びSubset II）

切迫屠殺及び死亡発見の動物を含め、投与に関連した剖検所見はなかった。

投与終了時（Subset I）の雄の40 mg/kg/day群、雌のすべての投与群において、脾臓重量の低値が認められた（相対重量：対照群に対して-15%～-28%）。また、雌雄の40 mg/kg/day群の病理組織学的検査で脾臓及び肝臓の髄外造血の程度の減弱がみられた。しかしながら、骨髄の病理組織学的検査など他の造血器系への影響はみられなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。なお、休薬後（Subset II）には器官重量の変化はみられず、完全に回復した。

19) トキシコキネティクス

すべての幼若ラットにおいて、プロプラノロールの全身暴露が確認された。投与用量に応じたC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24\ h}$の増加がみられ、また、投与1日に比較して投与18日では暴露量の低下がみられた（表 2.6.6-1）。

表 2.6.6-1 プロプラノロールのトキシコキネティクスパラメータ

Dose (mg/kg/day)	Gender	Day	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (ng·h/mL)
10	Male	1	195.8	1	537
		18	17.55	1	54[a)]
	Female	1	161.0	1	456
		18	59.31	1	237[a)]
20	Male	1	229.2	1	843
		18	43.05	2	262
	Female	1	567.6	1	1778
		18	88.20	1	221[a)]
40	Male	1	465.9	1	3387
		18	324.6	1	2516
	Female	1	948.0	1	3030
		18	229.1	4	1051[a)]

a): $AUC_{0\text{-}8\ h}$

(4) 結論

幼若Sprague-Dawleyラットに、生後4日から生後21日までプロプラノロールを10、20あるいは40 mg/kg/dayの用量で1日1回経口投与した。

プロプラノロールの全身暴露を、投与1日（生後4日）及び投与18日（生後21日）に確認したところ、いずれの日も投与用量に応じたC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24\ h}$の増加がみられた。また、投与1日に比較して投与18日では暴露量の低下がみられた。

器官・機能の発達、生殖能力及び心臓機能に関して、投与に関連した変化あるいは毒性学的意義のある所見はみられなかった。これらの評価項目についてのNOAELは、雌雄共に40 mg/kg/dayであり、この用量の血漿中プロプラノロール濃度の$AUC_{0\text{-}24\ h}$は、投与1日（生後4日）の雄で3387 ng·h/mL、雌で3030 ng·h/mL、投与18日（生後21日）の雄で2516 ng·h/mL、雌で1051 ng·h/mLであった。

一般毒性学的パラメータについては、40 mg/kg/dayで投与との関連を否定できない所見がみられた（痩削・低体温・脱水による切迫屠殺：1例、共食いによる死亡発見：1例、体重の低値）。このため、一般毒性のNOAELは雌雄共に20 mg/kg/dayであり、この用量の血漿中プロプラノロール濃度の$AUC_{0\text{-}24\ h}$は、投与1日（生後4日）の雄で843 ng·h/mL、雌で1778 ng·h/mL、投与18日（生後21日）の雄で262 ng·h/mL、雌で221 ng·h/mLであった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

該当資料なし。

2.6.6.8 その他の毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.9 考察及び結論

本申請における対象疾患の患者層が乳幼児であることを鑑み、PFD社にて幼若ラットを用いた毒性試験が実施された。

幼若ラットにプロプラノロールの10、20、40 mg/kg/dayを18日間（生後4日から生後21日まで）反復経口投与したところ、器官・機能の発達、生殖能力及び心臓機能に関して、40 mg/kg/dayまでプロプラノロール投与に関連した変化はみられなかった。これらの指標におけるNOAELは雌雄共に40 mg/kg/dayであった。

一般毒性学的パラメータについては、高用量の40 mg/kg/dayのみで所見が認められ、一般毒性のNOAELは、雌雄共に20 mg/kg/dayであった。

2.6.6.10 図表

毒性試験の概要文中に図表を含めた。

2.6.6.11 参考文献一覧

該当なし。

ヘマンジオルシロップ小児用0.375%

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

2.6.7　毒性試験の概要表

マルホ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
ANP	Atrial natriuretic peptide：心房性ナトリウム利尿ペプチド
$AUC_{0\text{-}24\ h}$	Area under the time-concentration curve：時間-血漿中濃度曲線下面積 （投与開始0時間後から24時間後までの時間-血漿中濃度曲線下面積）
BLQ	Below Limit of Quantification：定量下限
BNP-32	Brain natriuretic peptide-32：脳性ナトリウム利尿ペプチド
C_{max}	Maximal plasma concentration：最高血漿中濃度
C-Tn I	Cardiac troponin I：心臓トロポニン I
GD	Gestation Day：胎生X日
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
PND	Post-natal Day：生後X日
SD	Study Day：試験X日
T_{max}	Time to peak plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間

目次

頁

2.6.7 毒性試験の概要表 4
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 5
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 6
2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧 7
2.6.7.5 単回投与毒性試験 8
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 8
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 8
2.6.7.8 *in vitro*遺伝毒性試験 8
2.6.7.9 *in vivo*遺伝毒性試験 8
2.6.7.10 がん原性試験 8
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 8
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 8
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 8
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：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 9
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 10
2.6.7.16 局所刺激性試験 18
2.6.7.17 その他の毒性試験 18

2.6.7 毒性試験の概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：プロプラノロール

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Study in juvenile animals	Rats Sprague-Dawley	Oral gavage	18 days from PND4 to PND21	0, 10, 20 or 40	yes	[redacted], France	39331RSR	4.2.3.5.4-1

PND: Post-natal Day

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：プロプラノロール

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Study in juvenile animals	Rats Sprague-Dawley	Oral gavage	18 days from PND4 to PND21	10, 20 or 40	yes	[redacted], France	39331RSR	4.2.3.5.4-1

PND: Post-natal Day

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：プロプラノロール

Dose-Level (mg/kg/day)	Day	$AUC_{0\text{-}24\ h}$ (ng·h/mL)			C_{max} (ng/mL)		
		Rat [a]		Human [b]	Rat [a]		Human [b]
		Male	Female		Male	Female	
3	Week4 [c]			1082 [e]			78.5
	Week12 [d]			860 [f]			79.2
10	Day1/PND4	537	456		195.8	161.0	
	Day18/PND21	54 [g]	237 [g]		17.55	59.31	
20	Day1/PND4	843	1778		229.2	567.6	
	Day18/PND21	262	221 [g]		43.05	88.20	
40	Day1/PND4	3387	3030		465.9	948.0	
	Day18/PND21	2516	1051 [g]		324.6	229.1	

a: Toxicity study by oral route (gavage) in juvenile rats. Plasma concentration of propranolol after single dosing on PND4 and 18-day repeated oral administration from PND4 to 21.
b: Patient pharmacokinetic and tolerability studies. Plasma concentration of propranolol after repeated twice daily oral administration of propranolol.
c: Aged from 35 to 90 days at inclusion. Pharmacokinetic assessment after 4 weeks of treatment (including the titration period).
d: Aged from 91 to 150 days at inclusion. Pharmacokinetic assessment after 12 weeks of treatment (including the titration period).
e: Based on $AUC_{0\text{-}12\ h}$ = 541 ng·h/mL.
f: Based on $AUC_{0\text{-}12\ h}$ = 430 ng·h/mL.
g: $AUC_{0\text{-}8\ h}$
PND: Post-natal Day

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

被験物質：プロプラノロール

Drug Substance Batch Number	Purity (%)	Impurities (%)		Study Number	Type of Study
		Any impurity	Total content		
0116PRRII	99.7 by HPLC	[redacted]	[redacted]	39331RSR	Study in juvenile animals

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当資料なし。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし。

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

該当資料なし。

2.6.7.8 *in vitro*遺伝毒性試験

該当資料なし。

2.6.7.9 *in vivo*遺伝毒性試験

該当資料なし。

2.6.7.10 がん原性試験

該当資料なし。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし。

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当資料なし。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当資料なし。

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：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

該当資料なし。

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

Report Title: Toxicity Study by Oral Route (gavage) in Juvenile Rats

Species/Strain: Sprague-Dawley Rats

Date of First Dose:

For Subset I animals: [redacted]
For Subset II animals: [redacted]
For Satellite PND4 animals: [redacted]
For Satellite PND21 animals: [redacted]

Duration of Dosing: PND 4 to PND 21

Day of Mating: GD 0

Method of Administration: Gavage

Vehicle/Formulation: Drinking water treated by reversed osmosis

Test Article: PROPRANOLOL

Study No.: 39331 RSR

Location in CTD: 4.2.3.5.4-1

GLP Compliance: Yes

Special Features:

Principal study animals were allocated to either Subset I or Subset II:

- Subset I animals (16 males and 16 females per group) were dosed from PND 4 to PND 21. During the dosing period, development tests were conducted. On completion of dosing, the animals were sacrificed and tissues were retained for histopathological examination,
- Subset II animals (16 males and 16 females per group) were dosed from PND 4 to PND 21. Starting from approximately PND 57 (i.e. post-treatment) behavioural tests were conducted. At approximately 13 weeks of age, the animals were paired to assess reproductive performance. Females were sacrificed on day 15 post-coitum with males being sacrificed following review of female data.

In addition, 45 male and 45 female satellite animals per test item group were dosed for toxicokinetic assessment (9 male and 9 female satellites served as vehicle control group).

No Observed Adverse Effect Level: 40 mg/kg/day for developmental endpoints

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		40	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Toxicokinetics								
SD 1 (PND 4)								
Number of satellite animals	6	6	30	30	30	30	30	30
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	195.8	161.0	229.2	567.6	465.9	948.0
t_{max} (h)	na	na	1	1	1	1	1	1
$AUC_{0\text{-}24\,h}$ (ng·h/mL)	na	na	537	456	843	1778	3387	3030
SD 18 (PND 21)								
Number of satellite animals	3	3	15	15	15	15	15	15
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1[b]	1[c]
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	17.55	59.31	43.05	88.2	324.6	229.1
t_{max} (h)	na	na	1	1	2	1	1	4
$AUC_{0\text{-}24\,h}$ (ng·h/mL)	na	na	54[a]	237[a]	262	221[a]	2516	1051[a]

M: males F: females PND: Post-natal Day GD: Gestation Day SD: Study Day BLQ: Below Limit of Quantification na: not applicable a: $AUC_{0\text{-}8\,h}$

b: sacrificed on study day 6 (PND 9), had a hindlimb with abnormal color which was considered to be necrosis and due to tattooing. c: found dead cannibalized on study day 4 (PND 7)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		40	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Subset I and/or Subset II (SD 1 to 19)								
Total No. of animals (each Subset)	16	16	16	16	16	16	16	16
No. Died or Sacrificed Moribund (Subset I)	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%[a]) (Subsets I and II)								
SD 8	26 g	25 g	0	+ 4.0	0	0	-3.8	0
SD 11	34 g	33 g	+ 2.9	+ 3.0	0	0	-5.9*	-3.0
SD 15	45 g	43 g	0	+ 2.3	-2.2	0	-8.9*	-2.3
SD 18	58 g	55 g	-3.4	0	-3.4	-1.8	-10.3**	-5.5
Body Weight Change (%[a]) (Subsets I and II)								
SD 1 to SD 18	+ 47	+ 45	+ 45	+ 45	+ 45	+ 43	+ 41**	+ 41*
Clinical Observations (Subset I)	-	-	-	-	-	-	-	-
Pre-weaning Development (% of positive response) (Subsets I and II)								
Cliff avoidance (PND 11)	100	100	100	97	100	100	100	100
Tooth eruption (PND 13)	100	100	100	100	100	100	100	100
Auditory canal opening (PND 17)	100	100	100	100	100	100	100	100
Air righting (PND 17)	97	97	91	94	88	91	77	84
Eyes opening								
- PND 15	81	88	81	87	94	97	77	97
- PND 16	100	100	100	100	100	100	97	100
- PND 17	100	100	100	100	100	100	100	100
Ophthalmology (Subset I)	-	-	-	-	-	-	-	-

M: males F: females

SD: Study Day PND: Post-natal Day -: no noteworthy findings Statistically significant: *: $p< 0.05$, **: $p< 0.01$

a: for controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		40	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Subset I (PND21)								
Total No. of animals	16	16	16	16	16	16	16	16
Hematology								
No. of examined	4	3	2	2	3	3	1	1
- Erythrocytes (T/L)	4.99	4.95	5.37 (b)	5.43 (b)	5.30	5.21	5.21 (b)	5.14 (b)
- Hemoglobin (g/dL)	9.7	10.3	10.3 (b)	11.0 (b)	10.2	10.7	9.6 (b)	9.9 (b)
- Mean cell hemoglobin concentration (g/dL)	28.9	29.5	28.8 (b)	29.4 (b)	28.4	29.9	28.6 (b)	29.7 (b)
- Thrombocytes (G/L)	1281	1109	1119 (b)	1279 (b)	1202	952	502 (b)	659 (b)
- Reticulocytes (%)	19.72	22.63	20.05 (b)	19.74 (b)	17.78	19.36	14.66 (b)	14.70 (b)
- Neutrophils (G/L)	0.25	0.36	0.28 (b)	0.36 (b)	0.34	0.67	0.50 (b)	0.60 (b)
- Basophils (G/L)	0.01	0.01	0.01 (b)	0.01 (b)	0.02	0.01	0.00 (b)	0.01 (b)
- Monocytes (G/L)	0.04	0.07	0.08 (b)	0.10 (b)	0.11	0.14	0.10 (b)	0.10 (b)
No. of examined	1	2	3	3	0	2	2	2
- Prothrombine time (s)	23.8 (b)	17.2 (b)	16.6	20.2	/	23.2 (b)	20.3 (b)	16.3 (b)
- Fibrinogen (g/L)	2.05 (b)	3.16 (b)	1.71	1.3	/	1.87 (b)	2.08 (b)	2.52 (b)
- Activated partial thromboplastin time (s)	12.9 (b)	9.3 (b)	12	11.3	/	11.1 (b)	9.4 (b)	10.2 (b)

M: males F: females PND: Post-natal Day

b: no statistical analysis performed (n< 3) /: no data

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		40	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Subset I (PND21)								
Total No. of animal	16	16	16	16	16	16	16	16
Blood Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Cardiac Biomarkers								
No. of examined	8	8	8	8	8	7	7	8
- ANP (ng/mL)	0.465	0.581	0.650	0.777	0.554	0.647	0.551	0.621
No. of examined	8	8	8	8	8	8	7	8
- BNP-32 (ng/mL)	0.080	0.073	0.162	0.355	0.146	0.131	0.176	LLQ
No. of examined	7	8	8	7	7	8	8	8
- cTn I (ng/mL)	LLQ	LLQ	LLQ	LLQ	LLQ	LLQ	LLQ	LLQ

M: males F: females
PND: Post-natal Day -: no noteworthy findings
LLQ: Lower than Limit of Quantification

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		40	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Subset I (PND21)								
Total No. of animal	16	16	16	16	16	16	16	16
Urinalysis								
- Volume (mL)	3	3	3	3	3	2*	1**	1**
Organ Weights								
- Spleen								
Absolute weight (g [a])	0.19463	0.22081	+ 2	-13	-5	-17*	-22*	-31**
Relative weight [a]	0.37801	0.44668	0	-17**	-2	-15*	-18*	-28**
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
- Spleen								
Hematopoiesis								
Minimal (grade 1)	0	0	na	na	na	na	0	1
Slight (grade 2)	5	1	na	na	na	na	8	12
Moderate (grade 3)	11	15	na	na	na	na	8	3
- Liver								
Hematopoiesis								
Minimal (grade 1)	3	2	na	na	na	na	10	10
Slight (grade 2)	13	14	na	na	na	na	6	6

M: males F: females

PND: Post-natal Day -: no noteworthy findings na: not applicable Statistically significant: *: $p< 0.05$, **: $p< 0.01$

a: for controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		40	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Subset II:								
Total No. of animals	16	16	16	16	16	16	16	16
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1 [b]	0	0	2 [c]	0
Clinical Observations (SD 1 to 127)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations (pregnancy period)	na	-	na	-	na	-	na	-
Body Weight (%[a])								
SD 32	150 g	126 g	+ 2.7	+ 7.1*	+ 0.7	+ 3.2	-5.3	0
Food Consumption (g/animal, %[a])								
SD 78 to SD 82	32.2	19.3	+ 1.6	+ 9.8	-5.6	+ 1.0	+ 0.9	+ 3.6
Mean age of balanopreputial separation (days)	50.1	na	50.6	na	49.0	na	51.8	na
Mean age of vaginal openeing (days)	na	35.8	na	34.8	na	33.9	na	34.9
Long Bone Growth	-	-	-	-	-	-	-	-
Learning and Memory (Water multiple T-maze)	-	-	-	-	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-	-	-	-	-
Functional Observation Battery	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-

M: males F: females

SD: Study Day -: no noteworthy findings na: not applicable Statistically significant: *: $p < 0.05$

a: for controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

b: found dead on study day 4 (PND7), had abscess (micro-ship insert) and thin appearance.

c: one pup was sacrificed on study day 10 (PND13), a gavage error was suspected. The other pup was sacrificed on study day4 (PND7), had thin appearance and was dehydrated and cold to the touch.

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		40	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Subset II:								
Total No. of animals	16	16	16	16	16	16	16	16
Mean No. Days Prior to Mating	1.4		1.4		1.3		1.7	
No. of paird animals	16	16	15	15	16	16	16	16
No. of animals with evidence of mating	16	16	14	14	16	16	16	16
Gestation Body Weight (%[a])								
- GD 0	na	288 g	na	+ 8.3**	na	+ 3.8	na	+ 0.7
- GD 4	na	311 g	na	+ 9.3#	na	+ 4.5	na	+ 1.6
- GD 7	na	322 g	na	+ 10.2#	na	+ 5.3*	na	-2.2
- GD 11	na	344 g	na	+ 9.6#	na	+ 5.2*	na	+ 2.6
- GD 15	na	367 g	na	+ 9.8#	na	+ 4.9	na	+ 2.2
Gestation Body Weight Change								
- GD 4 to 7	na	+ 11	na	+ 16*	na	+ 14	na	+ 12
- GD 0 to 15	na	+ 79	na	+ 91*	na	+ 85	na	+ 84
Gestation Food Consumption (g/animal, %[a])								
- GD 11 to 15	na	29	na	+ 10.3**	na	+ 6.9	na	0
No. of Pregnant Females	na	16	na	14	na	16	na	16
Estrous Cycle	na	-	na	-	na	-	na	-
Mean No. Corpora Lutea	na	15.4	na	17.5*	na	16.8	na	18.0**
Mean No. Implantations	na	15.3	na	16.9	na	14.9	na	17.3
Mean % Pre-implantation Loss	na	1.2	na	3.6	na	12.9*	na	3.8
Net Body Weight Change	na	-	na	-	na	-	na	-
Seminology	-	na	-	na	-	na	-	na

M: males F: females

GD: Gestation Day -: no noteworthy findings na: not applicable Statistically significant: *: p< 0.05, **: p< 0.01, #:p< 0.001

a: for controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

Study No.: 39331 RSR (continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		40	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Subset II:								
Total No. of animals	16	16	16	16	16	16	16	16
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-

M: males F: females
-: no noteworthy findings

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当資料なし。

2.6.7.17 その他の毒性試験

該当資料なし。