オルミエント錠４ｍｇ
オルミエント錠２ｍｇ

2.6.6　毒性試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 1
2.6.6.1 まとめ 1
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
2.6.6.3.1 CD-1 マウスを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験 4
2.6.6.3.2 CD-1 マウスを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験 6
2.6.6.3.3 Sprague-Dawley ラットを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 7
2.6.6.3.4 Sprague-Dawley ラットを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験 9
2.6.6.3.5 ビーグル犬を用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 11
2.6.6.3.6 ビーグル犬を用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験 12
2.6.6.3.7 ビーグル犬を用いた 9 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験 14
2.6.6.4 遺伝毒性試験 17
2.6.6.5 がん原性試験 17
2.6.6.5.1 マウスがん原性試験 18
2.6.6.5.1.1 用量設定 18
2.6.6.5.1.2 rasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験 18
2.6.6.5.2 ラットがん原性試験 20
2.6.6.5.2.1 用量設定 20
2.6.6.5.2.2 ラットを用いた 2 年間がん原性試験の結果 20
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 22
2.6.6.6.1 雌雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 22
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 24
2.6.6.6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 24
2.6.6.6.2.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 26
2.6.6.6.3 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 27
2.6.6.7 局所刺激性試験 30
2.6.6.8 その他の毒性試験 30
2.6.6.8.1 光毒性試験 30
2.6.6.8.2 眼刺激性試験 30
2.6.6.8.3 皮膚刺激性試験 31
2.6.6.8.4 免疫毒性 31
2.6.6.8.5 不純物の評価 31
2.6.6.9 考察及び結論 31
2.6.6.10 図表 35
2.6.6.11 参考文献 35

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

バリシチニブの関節リウマチ患者への投与の安全性を担保することを目的として、試験実施時点における最新の国際的規制ガイドラインに準じて、一連の毒性試験を実施した（表 2.6.6-1、概要表 2.6.7.1）。毒性試験における高用量は、試験動物に全身性の薬理作用及び毒性変化を誘発するよう設定した。低用量は無影響量（NOEL）又は無毒性量（NOAEL）が得られるよう設定した。当初、本剤はリン酸塩として開発されたが、第 II 相臨床試験実施中に遊離塩基として開発されることとなった。そのため、大部分の毒性試験ではバリシチニブリン酸塩が使用された。一部の毒性試験（表 2.6.6-1）ではバリシチニブ（遊離塩基）が用いられたが、マウス及びラットを用いたトキシコキネティクス（TK）試験において、バリシチニブの遊離塩基とリン酸塩の曝露プロファイルの類似性が示されている。単回投与毒性試験、用量設定のための予備試験、被験物質の品質特性評価及び非標準的パラメータの測定を除き、毒性試験及び TK 試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。非 GLP 適用で実施した手順については試験報告書内に記述しており、それらは試験の完全性及び結果の解釈に影響を及ぼすものではなかった。動物種選択、用量設定の妥当性を含む毒性試験試験計画の詳細については CTD 第 2.4.1 項に詳述した。以下に毒性試験成績の概要を示す。

［単回及び反復投与毒性試験］

- マウス、ラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験におけるバリシチニブの忍容性は良好であった。一般状態の変化として、皮膚の発赤及び瞬膜突出が見られた。
- 反復投与毒性試験において、主にリンパ球及び好酸球に影響が見られた。
  - イヌでは、リンパ球及び好酸球が減少し、それに伴う免疫抑制の臨床徴候として、毛包虫症並びに細菌、原虫及び酵母の感染が認められた。
  - ラットでは、末梢リンパ球が減少し、それに一致して、脾臓、胸腺及び骨髄におけるリンパ球全般の枯渇が見られた。
  - ラット及びイヌにおける血液学的パラメータ、リンパ系器官及び骨髄に対するバリシチニブの免疫抑制作用と考えられる変化には回復性が認められた。
- 腎尿細管毒性及び心筋症の悪化が、ラットの 6 ヵ月間反復投与毒性試験において、高用量［100/60 mg/kg（雌のみ試験中に 100 から 60 mg/kg に減量）］で認められた。
- 肝毒性が、イヌの 9 ヵ月間反復投与毒性試験において、高用量［3 及び 9/6 mg/kg（試験中に 9 から 6 mg/kg に減量）］で認められた。

［生殖発生毒性試験］

- 雌雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の最高用量（雄 50 mg/kg、雌 100 mg/kg）で、受胎能の低下［受精率（妊娠動物数／交配動物数）低下、受胎率（妊娠動物数／交尾動物数）低下、黄体数減少、着床数減少及び着床前死亡率増加］、並びに子宮内胚生存に対する有害作用が認められた。
- 胚・胎児発生に関する試験並びに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で骨格奇形（四肢弯曲及び肋骨異常）及び骨格発生変異の発現頻度の増加が、ラット及びウサギの胎児に見られた。

- ラットの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における用量制限毒性は出生児体重の減少であった。同試験では出生児は胎生期にも母動物を介してバリシチニブに曝露されたため、その体重減少がバリシチニブの乳汁移行の影響か否かは明らかではない。

［遺伝毒性及びがん原性］

- 細菌を用いる復帰突然変異試験、in vitro 染色体異常試験及び in vivo ラット小核試験において、バリシチニブは遺伝毒性を示さなかった。
- ラット及びマウスのがん原性試験におけるバリシチニブの忍容性は良好で、いずれの用量においても腫瘍の発現頻度の上昇は認められなかった。ラットではバリシチニブの投与に伴って生存率が増加し、増殖性/腫瘍性病変の発現頻度が減少した。

表 2.6.6-1 バリシチニブの毒性試験一覧

試験種	試験番号	投与経路	動物種	被験薬
単回投与毒性試験				
単回投与毒性試験	T08-07-05 T08-05-05	経口	マウス	バリシチニブリン酸塩
単回投与毒性試験	T07-06-12 T07-06-09	経口	ラット	バリシチニブリン酸塩
単回投与毒性試験	T07-07-09 T07-08-03	経口	イヌ	バリシチニブリン酸塩
反復投与毒性試験				
1 ヵ月間反復投与毒性試験	T08-07-08	経口	マウス	バリシチニブリン酸塩
1 ヵ月間反復投与毒性試験	8268827	経口	rasH2 マウス	バリシチニブ（遊離塩基）
3 ヵ月間反復投与毒性試験	T08-09-01	経口	マウス	バリシチニブリン酸塩
1 ヵ月間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験	T07-11-01	経口	ラット	バリシチニブリン酸塩
6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験	T08-04-05	経口	ラット	バリシチニブリン酸塩
1 ヵ月間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験	T07-12-03	経口	イヌ	バリシチニブリン酸塩
6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験	T08-04-04	経口	イヌ	バリシチニブリン酸塩
9 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験	8221785	経口	イヌ	バリシチニブリン酸塩
遺伝毒性試験				
細菌を用いる復帰突然変異試験	T08-01-02	In vitro	*S. typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, TA100); *E. coli* (WP2*uvrA*)	バリシチニブリン酸塩
染色体異常試験	T08-01-01	In vitro	ヒト末梢血リンパ球	バリシチニブリン酸塩
小核試験	T08-01-05	経口	ラット	バリシチニブリン酸塩
がん原性試験				
6 ヵ月間がん原性試験	8291245	経口	rasH2 マウス	バリシチニブ（遊離塩基）
2 年間がん原性試験	8253534	経口	ラット	バリシチニブ（遊離塩基）
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	[redacted]-353240	経口	ラット	バリシチニブリン酸塩
胚・胎児発生に関する試験	T08-07-01	経口	ラット	バリシチニブリン酸塩
胚・胎児発生に関する試験	T08-07-02	経口	ウサギ	バリシチニブリン酸塩
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	[redacted]-353280	経口	ラット	バリシチニブ（遊離塩基）
その他の毒性試験				
光毒性試験	20007788	In vitro	Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞	バリシチニブリン酸塩
眼刺激性試験	[redacted]12-20568.09	In vitro	ウシ角膜	バリシチニブ（遊離塩基）
皮膚刺激性試験	[redacted]12-20568.02	局所	ウサギ	バリシチニブ（遊離塩基）

2.6.6.2 単回投与毒性試験

参考資料：T08-07-05 (4.2.3.1.1), T08-05-05 (4.2.3.1.2), T07-06-12 (4.2.3.1.3), T07-06-09 (4.2.3.1.4), T07-07-09 (4.2.3.1.5), T07-08-03 (4.2.3.1.6); 概要表 2.6.7.5

CD-1 マウス、Sprague-Dawley ラット及びビーグル犬を用いて、バリシチニブの単回経口投与毒性を評価した。概して、バリシチニブの単回経口投与毒性は低く、検討した最高用量（マウス、ラット及びイヌでそれぞれ 1200、600 及び 40 mg/kg）においても忍容性が認められた。

マウスに 1200 mg/kg までの用量で経口投与したとき、死亡は見られず、顕著な所見は尿変色及び泌尿生殖器の汚れのみであった（T08-07-05 試験）。600 mg/kg までの用量で実施した別の試験（T08-05-05 試験）では泌尿生殖器の汚れに加えて、冷触感及び半眼が見られた。以上より、マウスに経口投与時の概略の致死量は 1200 mg/kg を超える用量と考えられた。

ラットに 600 mg/kg までの用量で経口投与したとき、死亡は見られず、忍容性は良好であった。一般状態の軽度な変化として、耳、掌及び陰嚢の発赤が認められた（T07-06-12、T07-06-09 試験）。以上より、ラットに経口投与時の概略の致死量は 600 mg/kg を超える用量と考えられた。

ビーグル犬に 5、10、20 又は 40 mg/kg の用量で単回経口投与したところ、種々の一般状態の変化が観察された（T07-07-09 試験）。バリシチニブの影響と考えられる眼関連所見として、瞬膜突出、眼の腫脹（眼下部位）及び流涙が認められた。嘔吐及び活動性低下がすべての群で、耳発赤が 20 及び 40 mg/kg 群で、運動失調及び振戦が 40 mg/kg 群の 1 例でそれぞれ見られた。瞬膜突出は別の単回投与毒性試験（T07-08-03 試験）でも観察された（2 mg/kg 群のみ）が、10 mg/kg までの用量でほかにバリシチニブの影響は認められなかった。以上より、イヌに経口投与時の概略の致死量は 40 mg/kg を超える用量と考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

バリシチニブの毒性及び TK を、マウスで最長 3 ヵ月間、ラットで最長 6 ヵ月間、イヌで最長 9 ヵ月間の反復経口投与毒性試験で評価した。ラット及びイヌの試験では毒性変化の回復性も評価した。これらの毒性試験において、バリシチニブの薬理作用［ヤヌスキナーゼ（JAK）阻害］による変化として、主にリンパ球及び好酸球に影響が認められた。これらの変化に伴って、リンパ球全般の枯渇及び骨髄細胞充実性の低下も見られたが、いずれも休薬により回復した。イヌでは、リンパ球及び好酸球の減少に起因する免疫抑制に関連した一般状態の変化として、毛包虫症並びに細菌、原虫及び酵母の感染が認められた。免疫抑制作用に加えて、ラット 6 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量［100 mg/kg（雌のみ試験中に 60 mg/kg に減量）］群では結晶形成に起因する腎尿細管毒性及び心筋症の悪化が、イヌ 9 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量［3 mg/kg 及び 9 mg/kg（試験中に 6 mg/kg に減量）］群では肝毒性がそれぞれ認められた。

2.6.6.3.1 CD-1 マウスを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験

評価資料：T08-07-08 (4.2.3.2.1); 概要表 2.6.7.7A

参考資料：T08-05-10 (4.2.3.2.2)

バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、10、75、250 及び 500 mg/kg の用量で雌雄の CD-1 マウスに 28 日間連日経口投与した際の毒性及び TK を評価した（T08-07-08 試験）。バリシチニブを 8 日間連日投与した予備試験（用量：0、100、250 及び 500 mg/kg；病理組織学的検査は行わず；T08-05-10 試験）において毒性学的に意義のある所見が見られなかったことか

ら（100 及び 500 mg/kg 群の雌マウスで試験 1～2 日目に平均体重増加量の統計学的に有意な低下が認められたものの、本所見は試験期間を通して持続せず）、500 mg/kg を 1 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量として設定した。試験デザインを表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2 CD-1 マウスを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	1 群の動物数 主試験	1 群の動物数 TK	評価パラメータ
1	0[a]	0	10	雌雄各 10	雌雄各 13	一般状態観察、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、TK、剖検
2	10	1.0	10	雌雄各 10	雌雄各 46	
3	75	7.5	10	雌雄各 10	雌雄各 46	
4	250	25	10	雌雄各 10	雌雄各 46	
5	500	25	20	雌雄各 10	雌雄各 46	

略語：TK = トキシコキネティクス

[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

500 mg/kg 群の雌雄各 1 例が瀕死状態で安楽殺に至り、同群の雌 3 例が死亡した。死因は不明であったが、バリシチニブ投与による影響と考えられた。安楽殺した個体で見られた一般状態の変化は、削痩、糞排泄減少、皮膚弛緩、冷触感、努力性呼吸、間欠性振戦、ハンドリング時の痙攣及び身体表面上に見られた黄色物であった。

250 及び 500 mg/kg 群の雌雄において、対照群との比較で体重に軽度な増加傾向が見られた。また、250 及び 500 mg/kg 群の雄では摂餌量にも軽度な増加傾向が見られた。

250 及び 500 mg/kg 群で白血球数及びリンパ球数の減少（47%～63%）が見られ、日和見感染や回復不能な感染症を誘発する可能性のある重篤度であったことから、毒性変化と判断した。250 及び 500 mg/kg 群の雌雄における軽度の赤血球数の減少、250 及び 500 mg/kg 群の雌における軽度の網状赤血球数の減少、500 mg/kg 群の雌雄における中等度の赤血球容積粒度分布幅の増加並びに 250 及び 500 mg/kg 群の雌雄における中等度の血小板数の増加が見られ、バリシチニブ投与に関連した変化と考えられたが、その程度が小さかったことから毒性変化とは判断しなかった。

全バリシチニブ投与群の雄並びに 250 及び 500 mg/kg 群の雌で見られた尿素窒素の増加は、いずれの群平均値も背景データの範囲内であったことから、毒性とは判断しなかった。

腎臓の蒼白及び皮髄境界部の赤色化が、安楽殺した 500 mg/kg 群の雌で観察された。腎臓の蒼白及び小型化は雌の生存例でも 250 及び 500 mg/kg 群で認められた。

以上、バリシチニブをマウスに 28 日間投与したところ、500 mg/kg での全身毒性として、死亡及び重度の一般状態の変化が見られた。毒性変化である白血球数及びリンパ球数の減少が 250 及び 500 mg/kg で認められたことから、本試験における NOAEL は 75 mg/kg と考えられた。

TK 評価群の動物を用いて、試験 0（投与初日）及び 27 日目にバリシチニブの血漿中濃度を測定した（概要表 2.6.7.7A）。TK に明確な性差は認められなかった。最高血漿中濃度（C_{max}）は 10～75 mg/kg の用量間で用量に比例して増加したが、75～500 mg/kg の用量間では用量比を下回った。血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24hr}$）は 10～250 mg/kg の用量間では用量に比例して増加したが、250～500 mg/kg の用量間での増加は用量比を下回った。試験 0 及び 27 日目の $AUC_{0\text{-}24hr}$ はほぼ同等であった。最高血漿中濃度到達時間（T_{max}）及び終末相半減期は用量に依存しなかった。

2.6.6.3.2 CD-1 マウスを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験

評価資料：T08-09-01 (4.2.3.2.3); 概要表 2.6.7.7C

バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、10、75 及び 150 mg/kg の用量で雌雄の CD-1 マウスに 3 ヵ月間連日経口投与した際の毒性及び TK を評価した（T08-09-01 試験）。用量は 1 ヵ月間反復投与毒性試験（用量：0、10、75、250 及び 500 mg/kg ; T08-07-08 試験）の成績に基づいて設定した。すなわち、500 mg/kg で死亡及び重度の一般状態の変化が認められ最大耐量を上回る用量であったこと、また、薬理作用による白血球数及びリンパ球数の減少が 250 及び 500 mg/kg で認められ、75 mg/kg が NOAEL であったことから、投与期間に応じて薬理作用に基づく変化が増強する可能性を検証する目的で、3 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量及び中用量をそれぞれ 150 及び 75 mg/kg と設定した。低用量の 10 mg/kg は毒性所見が見られない用量と予想し設定した。試験デザインを表 2.6.6-3 に示す。

表 2.6.6-3 CD-1 マウスを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	1 群の動物数 主試験	1 群の動物数 TK	評価パラメータ
1	0[a]	0	10	雌雄各 10	雌雄各 13	一般状態観察、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、TK、器官重量、剖検、病理組織学的検査
2	10	1.0	10	雌雄各 10	雌雄各 40	
3	75	7.5	10	雌雄各 10	雌雄各 40	
4	150	15	10	雌雄各 10	雌雄各 40	

略語：TK = トキシコキネティクス
[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

バリシチニブ投与に関連した死亡が 150 mg/kg 群の雌雄各 1 例で認められた。雄では死亡（試験 62 日目）前に活動性低下、皮膚弛緩、努力性呼吸及び冷触感が見られ、雌では死亡（試験 91 日目）前に努力性呼吸及びハンドリング時の痙攣が認められた。軽度の骨髄細胞充実性の低下並びに脾臓、胸腺及びリンパ節における軽微から中等度のリンパ球枯渇が見られたが、これらはバリシチニブの薬理作用である JAK 阻害作用に関連する可能性がある。これらの所見は死因とはならなかったと考えられ、死因は不明であったが、被験物質との関連性は否定できなかった。

体重、摂餌量、血液生化学的検査及び尿検査のパラメータ並びに眼科学的検査及び剖検の所見にはバリシチニブ投与に関連した変化は認められなかった。また、計画屠殺時まで生存した動物の一般状態観察ではバリシチニブの影響は見られなかった。

75 及び 150 mg/kg 群の雄における赤血球数の減少、平均赤血球ヘモグロビン量の増加、赤血球容積粒度分布幅の増加及び血小板数の増加は、バリシチニブ投与に関連した変化と考えられたが、その程度が小さく用量相関性も見られなかったことから毒性変化とは判断しなかった。リンパ球数の減少及びリンパ球比率の低下が 10、75 及び 150 mg/kg 群の雌雄に見られ、白血球数の減少が 10、75 及び 150 mg/kg 群の雌に認められた。75 及び 150 mg/kg 群の雌雄におけるリンパ球数の減少（それぞれの対照群値の 48%～61%）は、より長期の試験では日和見感染などの重度の毒性が誘発される可能性があるレベルであったため、毒性変化と判断した。

10、75 及び 150 mg/kg 群の雌雄における脾臓及び胸腺重量の減少並びに 10、75 及び 150 mg/kg 群の雌における副腎重量の減少は、バリシチニブ投与に関連したものと考えられた。

組織学的変化として、大腿骨の骨髄細胞充実性の低下が 150 mg/kg 群の雄に、肝臓の単核細胞浸潤の減少が 75 及び 150 mg/kg 群の雌雄に、眼窩外涙腺のリンパ球浸潤の減少が 75 及び 150 mg/kg 群の雄に認められた。リンパ球枯渇及び骨髄細胞充実性の低下は、バリシチニブの薬理作用から予想される影響である。

以上、バリシチニブをマウスに 3 ヵ月間投与したところ、すべての用量でバリシチニブの影響が見られた。75 及び 150 mg/kg 群で見られた骨髄細胞充実性の低下及び循環血中リンパ球数の減少はバリシチニブの薬理作用による影響と考えられた。75 mg/kg 以上の用量で見られたリンパ球数減少は毒性変化と判断したことから、本試験における NOAEL は 10 mg/kg と考えられた。

TK 評価群の動物を用いて、試験 0（投与初日）及び 90 日目にバリシチニブの血漿中濃度を測定した（概要表 2.6.7.7C）。TK に明確な性差は認められなかった。C_{max} は 10～75 mg/kg の用量間では用量に比例して増加したが、75～150 mg/kg の用量間では用量比を下回った。$AUC_{0\text{-}24hr}$ は 10～150 mg/kg の用量間で用量に比例して増加した。試験 0 から 90 日目にかけて、雌のみで C_{max} 及び AUC の軽度な減少（15%～30%）が見られたが、これは日間変動内の変化と考えられた。T_{max} 及び終末相半減期は用量に依存しなかった。

2.6.6.3.3 Sprague-Dawley ラットを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

評価資料：T07-11-01 (4.2.3.2.4); 概要表 2.6.7.7D
参考資料：T07-10-10 (4.2.3.2.5)

バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、2、10 及び 40 mg/kg の用量で雌雄の Sprague-Dawley ラットに 28 日間連日経口投与した際の毒性及び TK、並びに 4 週間の休薬期間における回復性を評価した（T07-11-01 試験）。用量はバリシチニブを 10 日間連日投与した予備試験（用量：0、10、30、100 及び 300 mg/kg；T07-10-10 試験）の成績に基づいて設定した。予備試験において、300 mg/kg 群の 5 例が死亡した。体重及び体重増加量の低下が 100 及び 300 mg/kg 群の雌雄で見られ、300 mg/kg 群の雄では統計学的有意差も認められた。病理組織学的検査において、用量依存的な細胞充実性の低下が脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節及び骨髄に見られ、これに伴い循環血中のリンパ球数及び網状赤血球数の減少も認められた。さらに 300 mg/kg 群では重度の肝細胞変性及び壊死、心筋症並びに死亡が認められた。この予備試験結果に基づき、1 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量として 40 mg/kg を設定した。試験デザインを表 2.6.6-4 に示す。

表 2.6.6-4 ラットを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	1 群の動物数 主試験	1 群の動物数 回復性試験	評価パラメータ
1	0[a]	0	10	雌雄各 10	雌雄各 5	一般状態観察、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、TK、尿中代謝物、器官重量、剖検、病理組織学的検査
2	2	0.2	10	雌雄各 10	雌雄各 5	
3	10	1	10	雌雄各 10	雌雄各 5	
4	40	4	10	雌雄各 10	雌雄各 5	

略語：TK = トキシコキネティクス
[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

10 mg/kg 群の雄 1 例を試験 2 週目に瀕死状態で安楽殺したが、同所見は中用量群の 1 例のみに見られ、他群では見られなかったこと、瀕死状態の原因を特定する病理組織学的所見が認められなかったことから、バリシチニブの投与には関連しないと判断した。

10 及び 40 mg/kg 群の雄ラットで体重低下が認められ、4 週時点での対照群との差はそれぞれ 7%及び 10%であった。40 mg/kg 群における体重低下は 10%であったことから毒性変化と判断した。いずれの群でも摂餌量に明らかな影響は見られなかった。回復期間中、体重低下が 40 mg/kg 群で認められたが、体重増加率を算出したところ、雌雄ラットにおける体重増加率は溶媒対照群とほぼ同等であった。40 mg/kg 群の雄で有意な摂餌量減少が休薬 1 週目に見られたが、残りの回復期間では、雌雄のいずれにおいても、統計学的に有意な対照値との差は認められなかった。

血液学的検査において、すべての用量の雌雄で白血球、多くの白血球サブタイプ及び網状赤血球の数の減少が用量依存的に認められ、これらはバリシチニブの影響と考えられた。変化の程度は雌の方が大きく、すべての変化は回復期間終了時には回復した。凝固検査、血液生化学的検査及び尿検査に変化はなかった。

用量依存的な器官重量の減少が脾臓及び胸腺に認められた。40 mg/kg 群では、重量減少に伴う病理組織学的所見として、脾臓及び胸腺のリンパ球全般の枯渇が観察された。その他、大腿骨及び胸骨の骨髄、下顎リンパ節並びに腸間膜リンパ節にも病理組織学的所見が認められた。すべての系統の骨髄細胞（赤芽球系、骨髄球系、リンパ球系及び巨核球系細胞）が軽度に減少した、軽微な混合細胞性の骨髄細胞枯渇が 10 mg/kg 群（雌）及び 40 mg/kg 群（雌雄）の大腿骨及び胸骨の骨髄に見られた。また、40 mg/kg 群（雌雄）のリンパ節において、微細空胞化（泡沫状）細胞質を伴う軽微な組織球の増加が主に傍皮質領域に見られ、リンパ球数のびまん性減少からなる軽微から軽度のリンパ球全般の枯渇も認められた。

回復期間終了時には、すべての用量の雄で胸腺重量の減少が見られたのみであり、剖検及び病理組織学的検査において変化は認められなかった。

以上、バリシチニブをラットに 28 日間投与したところ、10 及び 40 mg/kg 群の雄で体重低下が認められた。白血球、多くの白血球サブタイプ及び網状赤血球の数の減少が 2、10 及び 40 mg/kg 群の雌雄で認められた。40 mg/kg 群では病理組織学的所見（リンパ球全般の枯渇）を伴う脾臓及び胸腺重量の減少が雌雄ともに見られた。大腿骨及び胸骨の骨髄細胞枯渇が 10 mg/kg 群（雌）及び 40 mg/kg 群（雌雄）で見られ、下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節の組織球増加が 40 mg/kg 群の雌雄で認められた。回復性試験の雄では胸腺重量の減少が見られたが、それに伴う病理組織学的変化は認められなかった。骨髄及びリンパ系器官はバリシチニブの薬理作用の標的器官と予測され、骨髄抑制を示唆する変化及びリンパ系器官の変化はバリシチニブの薬理作用による影響と考えられたが、いずれも可逆性の変化であった。以上のすべての所見（体重低下、血液学的パラメータの減少、リンパ系器官の変化及び骨髄細胞密度の減少）を総合的に考慮し、40 mg/kg を毒性用量と判断したことから、本試験における NOAEL は 10 mg/kg と考えられた。

TK 評価群の動物を用いて、試験 1 及び 28 日目にバリシチニブの血漿中濃度を測定した（概要表 2.6.7.7D）。雄ラットにおける C_{max} 及び AUC は用量に比例して増加し、28 日目が 1 日目より軽度に高かった。雌ラットにおける C_{max} 及び AUC は用量比を軽度に上回って増加したことから、40 mg/kg における曝露量は雄よりも高かった。T_{max} はいずれの群においても 1 時間であり、終末相半減期（3.21～7.79 時間）に性差や用量依存性は認められなかった。

2.6.6.3.4 Sprague-Dawley ラットを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験

評価資料：T08-04-05 (4.2.3.2.6); 概要表 2.6.7.7E

バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、0.5、5、25 及び 100/60 mg/kg（雌のみ試験中に 100 から 60 mg/kg に減量）の用量で雌雄の Sprague-Dawley ラットに 6 ヵ月間連日経口投与した際の毒性及び TK、並びに 6 週間の休薬期間における回復性を評価した（T08-04-05 試験）。用量は 1 ヵ月間反復投与毒性試験（用量：0、2、10 及び 40 mg/kg；T07-11-01 試験）の成績に基づいて設定した。1 ヵ月間反復投与毒性試験では、主として JAK 阻害作用に関連する毒性（血液学的パラメータの減少、リンパ系器官及び骨髄の細胞充実性の低下）及び体重減少に基づき、NOAEL は 10 mg/kg と判断された。6 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量である 100 mg/kg は、薬理作用を介した変化が見られる用量を上回る用量での標的器官毒性の有無を評価するために設定した。低用量として臨床用量の曝露量を軽度に上回る曝露量が得られる用量を設定した。試験デザインを表 2.6.6-5 に示す。

表 2.6.6-5 ラットを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	1 群の動物数 主試験	1 群の動物数 回復性試験	評価パラメータ
1	0[a]	0	10	雌雄各 15	雌雄各 8	一般状態観察、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、尿中代謝物、TK、器官重量、剖検、病理組織学的検査
2	0.5	0.05	10	雌雄各 15	雌雄各 8	
3	5	0.5	10	雌雄各 15	雌雄各 8	
4	25	2.5	10	雌雄各 15	雌雄各 8	
5	100/60[b]	10/6	10	雌雄各 15	雌雄各 8	

略語：TK = トキシコキネティクス

[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

[b] 試験開始後の 3 週間で雌が死亡したため、4 日間の休薬後の試験 27 日目に雌の用量を 60 mg/kg に減量した。しかしながら、その後、この死亡は投与過誤によるものであり、バリシチニブの毒性によるものではないことが判明した。

投与期間中、17 例の動物で、死亡が発見されるか瀕死安楽殺に至った（表 2.6.6-6）。試験開始後の 3 週間で高用量群の雌が死亡したため、雌についてのみ 4 日間の休薬後の試験 27 日目に用量を 100 から 60 mg/kg に減量した。

表 2.6.6-6 ラットを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験における死亡数及びその死因

用量 (mg/kg)	死亡（死因） 雄	死亡（死因） 雌
0	0	0
0.5	0	0
5	0	1（投与過誤）
25	1（不明）	1（投与過誤） 1（不明）
100/60	6（心筋症） 1（投与過誤） 1（肝臓の炎症/壊死）	5（投与過誤）

毒性と判断された体重（投与期間終了時で対照群より 10%以上の低下）及び体重増加量の減少が、25 mg/kg 以上の群の雄で認められた。統計学的に有意な摂餌量の減少が 25 mg/kg 以上の群の雌雄に見られたが、雌での変化は散発的であった。

バリシチニブ投与に関連した用量依存的な血液学的変化として、リンパ球を主とした白血球数の減少が概して 5 mg/kg 以上の用量で認められた。25 mg/kg 以上でのリンパ球減少（対照群と比較して 40%以上）を毒性変化と判断した。赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットが雌雄とも統計学的に有意に減少したが、個々の値は背景データの範囲内にあったことから、毒性変化とはしなかった。血液生化学的検査では、25 mg/kg 以上の用量からバリシチニブの影響が見られ、100/60 mg/kg 群の雄で尿素窒素、カリウム、塩素、アルブミン及びアルカリホスファターゼ（ALP）の増加が認められた。100/60 mg/kg 群の雌では ALP の増加が見られた。

投与終了時の剖検において、脾重量の用量依存的な減少がすべての用量（雌雄）で見られ、それに伴う病理組織学的変化として、リンパ球全般の枯渇が観察された。その他、投与終了時の剖検での病理組織学的所見として、脾臓、大腿骨骨髄、パイエル板、腸間膜リンパ節及び胸腺におけるリンパ球全般の枯渇、並びに雄の胸骨骨髄の細胞減少が観察され、これらはバリシチニブの薬理作用に関連する変化と考えられた。概して、これらの所見は 0.5 mg/kg 以上の雄及び 5 mg/kg 以上の雌に認められ、軽微から軽度の変化であったが、100/60 mg/kg での一部の所見は中等度の変化であった。死亡あるいは安楽殺に至った高用量群のほとんどの動物では、重度の脾臓及び胸腺のリンパ球枯渇が認められた。リンパ系器官の病理組織学的変化は、いずれの用量においても回復期間終了時の剖検では認められなかった。回復期間終了時の剖検では雄の胸腺重量の増加が見られた。明らかな病理組織学的所見は伴わなかったものの、この胸腺重量の増加は胸腺、脾臓及びその他の器官でのリンパ球枯渇に対する胸腺リンパ球集団の回復性変化を反映している可能性がある。

バリシチニブ投与に関連した腎臓での所見として、結晶の形成に伴う尿細管変性、尿細管拡張、腎盂の炎症及び移行上皮過形成が、雌雄の高用量群で投与終了時及び回復期間終了時の剖検において低頻度に認められた。これらの所見は変性性及び炎症性の変化であったことから、毒性変化と考えられた。

100 mg/kg 群の途中死亡例のうちの雄 6 例に、中等度から重度の心筋症が認められ、うち 1 例では心房血栓も認められた。これらは心機能に影響すると考えられる重篤度であったことから、この 6 例の死因と考えられた。雄の途中死亡例の一部では、心臓の所見による二次的変化と考えられる肝臓の壊死及び炎症が見られ、このうち雄 1 例では主要な死因と考えられた。心筋症は加齢に伴い雄ラットで見られる一般的な背景所見である（Jokinen et al. 2011）。本試験の対照群においても軽微から軽度の心筋症が観察されており、バリシチニブの反復投与によりこの病変が悪化した可能性がある。これらの動物の大半では脾臓及び胸腺のリンパ球枯渇も見られ、パイエル板、腸間膜リンパ節及び下顎リンパ節でも枯渇が散見された。

以上、バリシチニブをラットに 6 ヵ月間投与したところ、毒性と判断された体重の低下及び体重増加量の減少（25 mg/kg 以上の雄のみ）が見られ、それに伴って摂餌量の減少（25 mg/kg 以上の雌雄）も認められた。病理組織学的検査では、高用量（100 mg/kg）での毒性所見として雄における心筋症の悪化が見られ、結晶沈着に関連する腎臓の変性／炎症が高用量（100/60 mg/kg の雌雄）で認められた。毒性変化と判断した別の所見として、25 mg/kg 以上でのリンパ球の可逆的

な減少、リンパ球全般の枯渇及び骨髄細胞充実性の低下が見られ、いずれも薬理作用である JAK 阻害作用によるものと推定された。本試験における NOAEL は 5 mg/kg と考えられた。

TK 評価群の動物を用いて、試験 1、28 及び 181 目にバリシチニブの血漿中濃度を測定した（概要表 2.6.7.7E）。C_{max} 及び AUC は、ほぼ用量比例的又は用量比を上回って増加し、性差は軽微であった。試験 1 日目、28 日目（100 mg/kg 群では 23 日目）及び 181 日目における C_{max} 及び AUC の差は概して 2 倍未満であった。T_{max} 及び終末相半減期は用量に依存しなかった。

2.6.6.3.5 ビーグル犬を用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

評価資料：T07-12-03 (4.2.3.2.7); 概要表 2.6.7.7F
参考資料：T07-10-09 (4.2.3.2.8)

バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、0.15、0.45 及び 3 mg/kg の用量で雌雄のビーグル犬に 28 日間連日経口投与した際の毒性及び TK、並びに 4 週間の休薬期間における回復性を評価した（T07-12-03 試験）。用量は 7 日間反復投与毒性試験（用量：0、3、10 及び 30 mg/kg；T07-10-09 試験）の成績に基づいて設定した。7 日間反復投与毒性試験において、3 mg/kg 以上の群で網状赤血球数及び骨髄細胞の減少が、10 mg/kg 以上の群で一般状態の変化［流涙、瞬膜突出、眼周囲腫脹、強膜充血、振戦、耳発赤及び排泄物関連所見（軟便、水様便）］が、30 mg/kg 群では脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節、パイエル板及び骨髄における細胞充実性の低下が認められた。リンパ系器官の細胞充実性の低下は、循環血中白血球（リンパ球）数及び網状赤血球数の減少を反映したものであった。30 mg/kg 群の 4 例中 2 例を瀕死安楽殺したことから、30 mg/kg は最大耐量を超えていたと考えられた。30 mg/kg で見られた死亡並びに 10 mg/kg で見られた免疫抑制及び一般状態の毒性変化に基づいて、1 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量（3 mg/kg）を設定した。低用量の 0.15 mg/kg は、有効用量近傍でのバリシチニブの毒性を評価するために設定した。試験デザインを表 2.6.6-7 に示す。

表 2.6.6-7 イヌを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	1 群の動物数 主試験	1 群の動物数 回復性試験	評価パラメータ
1	0[a]	0	10	雌雄各 4	雌雄各 2	一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図、薬力学的バイオマーカー、尿中代謝物、血液学的検査、凝固検査、血液生化学的検査、尿検査、TK、器官重量、剖検、病理組織学的検査
2	0.15	0.015	10	雌雄各 4	雌雄各 2	
3	0.45	0.045	10	雌雄各 4	雌雄各 2	
4	3	0.3	10	雌雄各 4	雌雄各 2	

略語：TK = トキシコキネティクス
[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

すべての動物が投与期間及び回復期間の終了時まで生存した。

明らかな一般状態の変化は見られなかったが、両側性の強膜充血及び流涙がバリシチニブ投与群で見られ、バリシチニブ投与との関連性が示唆された。3 mg/kg 群の雄 1 例で、黄色鼻分泌物が見られ、上気道細菌感染が懸念されたことから、獣医による治療を施したが、本所見をバリシチニブによる影響とは結論できなかった。3 mg/kg 群では、ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数及び網状赤血球数の軽度な減少が見られたが、変化の程度が小さかったことから、これらの所見は毒性変化ではないと判断した。

病理組織学的検査では、リンパ節、脾臓、パイエル板又は胸腺のリンパ球枯渇（多くは軽微）が 3 mg/kg 群で散見された。また、肋骨及び胸骨の骨髄における軽微から軽度な細胞充実性の低下が、3 mg/kg 群の少数例で観察された。これらの所見はバリシチニブの薬理作用に関連する可能性が高く、また変化の程度が小さかった（軽微から軽度）ことから、毒性変化ではないと判断した。3 mg/kg 群の雌 1 例では、回腸パイエル板の小壊死性炎症巣及び腸間膜リンパ節における多巣性又は融合性の壊死性炎症が認められた。この個体の脾臓、胸腺及びその他のリンパ系器官の組織像並びに循環血中リンパ球数は正常範囲内で、免疫機能の状態は悪化していないことが示唆されたため、バリシチニブ投与との関連性は不明であった。回復期間終了時において、バリシチニブと関連した血液学的及び組織学的所見は、部分的な回復に留まった赤血球の減少を除き、いずれも完全に回復した。

以上、バリシチニブとの関連性は不明であるものの、壊死性炎症が 3 mg/kg で見られたことから、NOAEL は 0.45 mg/kg と考えられた。

TK 評価群の動物を用いて、試験 1 及び 27 日目にバリシチニブの血漿中濃度を測定した（概要表 2.6.7.7F）。試験 1 日目の C_{max} 及び AUC は、0.15～3 mg/kg の用量間で用量比を軽度に上回って増加し、いずれの TK パラメータにも性差は認められなかった。$AUC_{0\text{-}24hr}$ はいずれの用量においても試験 1 日目と 27 日目でほぼ同等であったことから、バリシチニブは自身の代謝を誘導しないことが示唆された。試験 1 及び 27 日目における T_{max}（1.00～1.50 時間）及び終末相半減期（2.36～3.74 時間）は用量に依存しなかった。

2.6.6.3.6 ビーグル犬を用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験

評価資料：T08-04-04 (4.2.3.2.9); 概要表 2.6.7.7G

バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、0.25、1/0.75、5/2.5 及び 20/15/5 mg/kg の用量（試験中に 1 から 0.75 に、5 から 2.5 に、20 から 15 さらに 5 mg/kg にそれぞれ減量）で雌雄のビーグル犬に 6 ヵ月間連日経口投与した際の毒性及び TK、並びに 6 週間の休薬期間における回復性を評価した（T08-04-04 試験）。用量は 1 ヵ月間反復投与毒性試験（用量：0、0.15、0.45 及び 3 mg/kg；T07-12-03 試験）の成績に基づいて設定した。1 ヵ月間反復投与毒性試験において、3 mg/kg 群のイヌでリンパ球枯渇及び骨髄における軽微から軽度の細胞充実性の低下が散見された。すべての変化は薬理作用を介したものと考えられた。3 mg/kg 群の雌 1 例でパイエル板の小壊死性炎症巣及び腸間膜リンパ節の壊死性炎症が見られたが、免疫抑制（リンパ球枯渇など）は認められなかった。より低用量ではバリシチニブと関連した変化は見られなかった。6 ヵ月間反復投与毒性試験における高用量（20 mg/kg）は、標的器官毒性の有無を明らかにする目的で設定した。試験デザインを表 2.6.6-8 に示す。

表 2.6.6-8 イヌを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	1 群の動物数 主試験	1 群の動物数 回復性試験	評価パラメータ
1	0[a]	0	10	雌雄各 5	雌雄各 2	一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図、薬力学的バイオマーカー、血液学的検査、凝固検査、血液生化学的検査、免疫表現型検査、尿検査、TK、器官重量、剖検、病理組織学的検査
2	0.25	0.025	10	雌雄各 5	雌雄各 2	
3	1/0.75[b]	0.1/0.075	10	雌雄各 5	雌雄各 2	
4	5/2.5[b]	0.5/0.25	10	雌雄各 5	雌雄各 2	
5	20/15/5[b]	2/1.5/0.5	10	雌雄各 5	雌雄各 2	

略語：TK = トキシコキネティクス

[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

[b] 試験開始直後の 3 週間にバリシチニブに関連すると考えられた一般状態の変化（本文参照）が見られたため、第 3、4 及び 5 群の用量を減量した（それぞれ 1→0.75、5→2.5 及び 20→15→5 mg/kg）。

試験開始後の 3 週間に赤色便、ケージ受け皿上の赤色物、軟便、瞬膜突出、強膜充血、冷触感、嘔吐、皮膚赤色化などの一般状態の変化が見られ、バリシチニブに関連すると考えられたため、1、5 及び 20 mg/kg 群の用量を減量した（それぞれ 1→0.75、5→2.5 及び 20→15→5 mg/kg）。

毛包虫症に伴う進行性かつ用量依存的な一般状態の変化が試験開始後の約 16 週目以降に見られた。毛包虫症に関連する一般状態の変化として、結節（耳など）、皮膚発赤及び紅斑（鼻／口吻、耳、四肢など）、粗毛及び痂皮（体表面の種々の部位）、肥厚した革状の皮膚（口唇及び耳など）並びに腫脹（四肢、足、口唇など）が高頻度で見られた。ケージ飼育されたビーグル犬によく見られる指間嚢胞が、特に 2 つの高用量群で多数の個体に肉眼的に観察された。獣医師が抗炎症剤及び抗生物質による治療を継続的に施した。変化が重度であった 1/0.75 mg/kg 群の雌 1 例及び 5/2.5 mg/kg 以上の群の全例を試験途中（18 週以降）で安楽殺した（回復性試験用の動物を除く）。回復期間中、感染症に対する治療を行わなかったため、特に 5/2.5 mg/kg 以上の群で症状が進行する傾向が見られた。

約 20 週目以降、体重低下及び摂餌量減少が 5/2.5 mg/kg 以上の群の雌雄で顕著となり、回復期間を通して持続した。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、バリシチニブの JAK 阻害によると考えられる用量依存的な好酸球数の減少に加え、炎症やストレスによると考えられる種々の変化も見られた。

毛包虫症（ニキビダニ属のダニ感染）に関連した所見が主要な剖検所見であった。バリシチニブに関連した病理組織学的所見が、皮膚（炎症、びらん、過形成）、リンパ節（リンパ球枯渇）、胸腺（リンパ球枯渇）、脾臓（リンパ球枯渇）、胃（胃底部及び幽門部の炎症）、小腸及び大腸（炎症）、肝臓（炎症）、腎臓（炎症及び鉱質沈着）並びに肺（炎症）で観察された。これらの病理組織学的所見は、バリシチニブの免疫抑制作用により生じた日和見感染（ダニ、細菌、原虫や酵母の増殖）に関連した所見と考えられた。感染症に対する治療を行わなかったため、1/0.75 mg/kg 群の雌 1 例及び 5/2.5 mg/kg 以上の群の雌雄において、バリシチニブの免疫抑制作用に関連した毛包虫症などの感染症に起因する所見が回復期間にも認められた。

以上、当試験では、1/0.75 mg/kg 群の雌 1 例及び 5/2.5 mg/kg 以上の群の全例において、過剰な薬理作用（持続的な JAK 阻害による免疫抑制）によるイヌ特異的な病的所見（毛包虫症）が発現し、途中安楽殺が必要となったことから、NOAEL は 0.25 mg/kg と考えられた。

TK 評価群の動物を用いて、試験 1、29 及び 182（5/2.5 及び 20/15/5 mg/kg 群では 154）日目にバリシチニブの血漿中濃度を測定した（概要表 2.6.7.7G）。C_{max} 及び AUC の性差は軽微であっ

た。C_{max} 及び AUC は、試験 1 日目の 0.25～5 mg/kg の用量及び反復投与後の 0.25～5/2.5 mg/kg の用量で用量に比例して増加したが、試験 1 日目の 5～20 mg/kg の用量及び反復投与後の 5/2.5～20/15/5 mg/kg の用量では必ずしも用量に比例しなかった。試験中に実施した用量調節により、試験 1 日目と反復投与後の C_{max} 及び AUC はほぼ同等となった。T_{max} 及び終末相半減期は、すべての投与群でほぼ同等であった。

2.6.6.3.7 ビーグル犬を用いた 9 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験

評価資料：8221785 (4.2.3.2.10); 概要表 2.6.7.7H

バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、0.25、0.5、3 及び 9/6 mg/kg（試験中に 9 から 6 mg/kg に減量）の用量で雌雄のビーグル犬に 39 週間連日経口投与した際の毒性及び TK、並びに 6 週間の休薬期間における回復性を評価した（8221785 試験）。用量設定は 6 ヵ月間反復投与毒性試験（用量：0、0.25、1/0.75、5/2.5 及び 20/15/5 mg/kg；T08-04-04 試験）の成績に基づいて設定した。6 ヵ月間反復投与毒性試験における主要な所見は免疫抑制による二次的変化（毛包虫症）であった。毛包虫症のため、5/2.5 mg/kg 以上の群の全例及び 1/0.75 mg/kg 群の 1 例が安楽殺に至った。9 ヵ月間反復投与毒性試験の用量は、6 ヵ月間反復投与毒性試験よりも減量し、かつ臨床用量を上回る用量範囲となるように設定した。試験デザインを表 2.6.6-9 に示す。

表 2.6.6-9 イヌを用いた 9 ヵ月間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	1 群の動物数 主試験	1 群の動物数 回復性試験	評価パラメータ
1	0[a]	0	10	雌雄各 5	雌雄各 2	一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図、血液学的検査、凝固検査、血液生化学的検査、イムノフェノタイピング、尿検査、TK、器官重量、剖検、病理組織学的検査
2	0.25	0.025	10	雌雄各 5	雌雄各 2	
3	0.5	0.05	10	雌雄各 5	雌雄各 2	
4	3	0.3	10	雌雄各 5	雌雄各 3	
5	9/6[b]	0.9/0.6	10	雌雄各 5	雌雄各 3	

略語：TK = トキシコキネティクス

[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

[b] 9 mg/kg の用量で 50 日間投与した後、1 週間の投与休止を行い、試験 58 日目に用量を 6 mg/kg に減量した。

バリシチニブを 3 mg/kg 以上の用量で反復投与したところ、忍容性は見られなかった。9/6 mg/kg 群の雌 1 例及び雄 1 例をそれぞれ試験 45 日目及び 60 日目に瀕死状態で安楽殺した。試験開始後の 7 週間（48 日間）に多数の投与休止が生じ、その中には上記の雌雄に加えて 3 mg/kg 群の雄 1 例及び 9/6 mg/kg 群の雌 1 例が含まれていた。この 3 mg/kg 群の雄及び 9/6 mg/kg 群の多くの動物で、活動性低下、脱水、下痢、結膜炎、摂餌量減少及び発熱が観察された。9 mg/kg の用量で 50 日間投与した後、この群の動物については、1 週間の投与休止を行い、試験 58 日目に用量を 6 mg/kg に減量した上で、投与を再開した。

約 5 ヵ月間の投与後に、毛包虫症（主に脱毛、痂皮形成、皮膚発赤及び皮膚乾燥を特徴とする）が 3 及び 9/6 mg/kg 群で高頻度に見られた。毛包虫症は 0.25 及び 0.5 mg/kg 群でも認められたが、3 及び 9/6 mg/kg 群と比較して、その発現頻度は低かった。当初、毛包虫症の多くは局所（耳又は口吻）のみで見られたが、3 又は 9/6 mg/kg での投与を継続したところ、毛包虫症は多数の部位で見られるようになり、数例の動物では中等度から重度の所見と判定されるに至った。3 及び

9/6 mg/kg 群では、ケージ触痛も高頻度に観察された。3 mg/kg 群の雌雄各 1 例及び 9/6 mg/kg の雌 2 例の一般状態の変化が重度であったことから、試験 193 日目から 214 日目にかけて投与を休止した。獣医師による治療を継続的に施しても毛包虫症の進行が軽減しなかったため、3 及び 9/6 mg/kg 群では試験 231 日目の投与後に投与を終了した。3 mg/kg 群の雌雄各 4 例及び 9/6 mg/kg 群の雌雄各 3 例を試験 232 日目に安楽殺し、これらの群の残りの生存例については 6 週間の回復性試験を実施した。

回復期間を通して、3 及び 9/6 mg/kg 群の多くのイヌで毛包虫症及びケージ触痛が継続して見られ、0.25 及び 0.5 mg/kg 群の動物でも同所見が低頻度で認められた。9/6 mg/kg 群の雄 1 例は、重度の全身性毛包虫症及び全身衰弱が見られたため、休薬 29 日目に安楽殺した。回復性試験群の他のすべてのイヌは計画屠殺時まで生存した。

3 及び 9/6 mg/kg 群の雌雄において、統計学的有意差を伴わないものの、体重増加量の減少が見られた（雄でそれぞれ 27.5%及び 25.0%減少、雌でそれぞれ 31.0%及び 37.9%減少）。0.5 mg/kg 及び 0.25 mg/kg 群の雌雄でも体重増加量が減少（0.5 mg/kg 群の雄のみ 19.5%有意に減少）したが、ほかに毒性変化が見られず、また、体重に変化が認められなかったことから、毒性変化ではないと考えられた。回復期間中の体重増加量並びに投与期間中及び回復期間中の平均体重には、変化が認められなかった。

眼科学的検査及び心電図検査では、バリシチニブに関連した変化は認められなかった。

軽度から中等度の絶対リンパ球数の減少が、試験 232 日目（雌では試験 29 日目でも）に 3 及び 9/6 mg/kg 群で見られた。絶対 T 細胞数並びに絶対及び相対ヘルパーT 細胞数の中等度の減少（ヘルパーT 細胞では顕著な減少も）が投与 232 日目に 3 及び 9/6 mg/kg 群で見られ、0.5 mg/kg 群では軽微な減少が認められた（雄で試験 270 日目、雌で試験 29 日目）。相対 T 細胞数の中等度の減少が、試験 29 日目に 0.5 mg/kg 以上の群で見られた。対照群及びバリシチニブ投与群に細胞傷害性 T 細胞の絶対数の増加が試験 232 日目に見られ、軽度から中等度の絶対数の減少が試験 29 日目に認められた。細胞傷害性 T 細胞の中等度の相対数の減少が 3 mg/kg 以上の群で試験 29 日目に見られ、0.5 mg/kg 群の雌にも認められた。末梢血 T 細胞に関するイムノフェノタイピングパラメータは、休薬 39 日目には投与前値あるいはそれ以上の値まで回復した。末梢血 T 細胞に及ぼす影響は本薬の薬理作用に起因するものと考えられ、その変化の程度は小さくかつ可逆的であったことから、毒性変化ではないと考えられた。B 細胞数にバリシチニブに関連した変化は認められなかった。

試験 29 日目から 232 日目にかけて、軽微から軽度の赤血球パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少が 3 及び 9/6 mg/kg 群で見られた。休薬 39 日目には、赤血球数の減少は部分的又は完全に回復した。試験 29 日目から 232 日目にかけて、好酸球数の減少が 3 及び 9/6 mg/kg 群の雄に見られたが、休薬 39 日目には回復した。3 及び 9/6 mg/kg 群におけるその他の血液学的変化は軽微から軽度かつ断続的であり、休薬 39 日目には回復が認められた。3 mg/kg 群の雌 1 例並びに 9/6 mg/kg 群の雌 2 例及び雄 1 例で、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、ALP 及びガンマグルタミルトランスフェラーゼ（GGT）の増加が試験 179 日目及び 232 日目に認められたが、休薬 39 日目には回復した。試験 56 日目から 232 日目にかけて、3 及び 9/6 mg/kg 群で、毛包虫症及び化膿性肉芽腫性皮膚炎の発症に関連して、軽微から軽度のグロブリン濃度の増加及びそれに伴うアルブミ

ン：グロブリン比の減少が認められた。凝固検査及び尿検査ではバリシチニブに関連した変化は見られなかった。

途中屠殺した 9/6 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 1 例の血液生化学的検査から、バリシチニブ投与の直接的な又は二次的な影響として、赤血球数の減少が全例で、赤血球ヘモグロビン及び好酸球数の減少が雄 1 例で、単球数の増加が別の雄 1 例で認められた。血液生化学的検査では、軽度のグロブリン濃度の増加及びアルブミン：グロブリン比の減少が 9/6 mg/kg 群の雄 1 例で見られた。

投与終了時及び回復期間終了時の屠殺例で見られた皮膚／皮下組織（肛門周囲皮膚を含む）において、毛包虫症に関連する化膿性肉芽腫性炎症及び毛包拡張／肥大が見られ、まれに潰瘍も認められた。これらの皮膚所見に伴って、毛包あるいは毛包外にダニ類寄生虫（イヌニキビダニ）がしばしば観察された。これらの病理組織学的所見は、投与期間中及び回復期間中のイヌに見られた肉眼的所見である痂皮形成、変色、鱗状皮膚／皮下組織、脱毛及び皮膚／皮下組織の剥脱と関連する所見であった。投与期間中及び回復期間中のイヌに見られた皮膚／皮下組織の炎症による二次的変化として、下顎リンパ節の炎症性／反応性の所見が認められた。これらのリンパ節の炎症に伴って、ニキビダニ属寄生虫の断面が見られる場合があった。リンパ節の反応性所見として、濾胞過形成、傍皮質リンパ芽球の増加あるいは髄洞マクロファージの増加などが見られた。投与終了時の屠殺例の一部では、濾胞及び傍皮質におけるリンパ球の減少も観察された。傍皮質リンパ球の減少及びマクロファージの増加を除いて、下顎リンパ節におけるこれらの反応性の所見の発現頻度及び重症度は、回復性試験群のイヌでは概して低かった。

一部の投与終了時屠殺例では腸間膜リンパ節に炎症性／反応性の所見が見られ、傍皮質リンパ芽球の増加が認められた。一部のイヌでは腸間膜リンパ節に濾胞リンパ球の減少も見られた。回復性試験群のイヌでは、これらの所見は見られないか、より軽度であった。

脾臓における濾胞数の減少及び胚濾胞の小型化を特徴とするリンパ球枯渇が、投与終了時屠殺群の雌雄に見られた。同所見は回復性試験群でも見られたが、その発現頻度及び重症度はより低かった。投与終了時屠殺群及び回復性試験群の一部で肝門脈領域における細胞浸潤／炎症が認められ、この変化に伴って、投与終了時屠殺群の雌雄及び回復性試験群の雌で胆管過形成が観察された。本試験では毛包虫症に対する薬物治療を施したため、肝臓におけるこれらの所見とバリシチニブ投与との関連性は明らかではなかった（詳細は CTD 第 2.6.6.9 項参照）。

投与終了時屠殺群及び回復性試験群の一部において、単核細胞及びマクロファージを主とし、少数の好中球を特徴とする細胞浸潤／炎症が肺の気道及び血管周囲に散見され、発現頻度及び重症度は共に低かったが、対照群では見られなかったことから、バリシチニブ投与に関連した所見と考えられた。同所見は終末細気管支及び気道に局在したことから、被験物質の誤嚥による二次的変化の可能性があり、高用量における発現頻度及び重症度の増加は、被験物質による刺激性を反映している可能性がある。投与終了時屠殺群の雌 1 例で肉眼所見として肺葉変色が見られ、それに対応する病理組織学的所見として真菌感染（ニューモシスチス属、薬理作用の JAK1/2 阻害による二次的影響の可能性が高い）に伴う炎症が観察された。

投与終了時屠殺群及び回復性試験群で、大腿骨及び胸骨の骨髄に、骨髄球系前駆細胞の増加を特徴とする骨髄過形成が認められた。この所見は、ほかの組織、主として皮膚／皮下組織の炎症に対する二次的変化と考えられた。

胃及び空腸において、主に漿膜における血管周囲及び一部の動物で外側の筋層に多巣性に進展する単核細胞を特徴とする軽度の炎症が、投与終了時屠殺群の雌で、極めて低頻度で観察された。盲腸及び結腸の単核細胞浸潤の増加が投与終了時屠殺群の雄では見られたが、同所見は回復性試験群では見られなかった。

以上、当試験では 0.5 mg/kg までの用量でおおむね良好な忍容性が認められた。0.25 及び 0.5 mg/kg 群における一般状態の変化はおおむね軽度で、病理組織学的変化も軽微から軽度であり、休薬期間終了時には完全に回復するか回復傾向を示したことから、毒性変化ではないと考えられた。3 mg/kg 以上の投与により、一般状態の毒性変化、病理学的変化及び臨床検査値の変化が見られ、途中屠殺及び投与休止例も認められた。これらはバリシチニブの薬理作用に基づく二次的変化である毛包虫症及び化膿性肉芽腫性皮膚炎に関連する所見であった。3 mg/kg 以上の群で見られた全身性毛包虫症は毒性変化であり、NOAEL は 0.5 mg/kg と考えられた。

バリシチニブの血漿中濃度を測定する目的で、血液試料を試験 1 及び 28 日目並びに 39 週目に採取した（概要表 2.6.7.7H）。C_{max} 及び AUC は 0.25～9/6 mg/kg の用量間でほぼ用量に比例して増加するか、用量比を軽度に上回って増加した。血漿中曝露量に明らかな性差は認められなかった。T_{max} 及び終末相半減期には用量依存性は見られず、反復投与による蓄積もほとんど認められなかった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

評価資料：T08-01-02 (4.2.3.3.1.1); 概要表 2.6.7.8A、
T08-01-01 (4.2.3.3.1.2); 概要表 2.6.7.8B、T08-01-05 (4.2.3.3.2.1); 概要表 2.6.7.9

In vitro 試験として、細菌を用いる復帰突然変異試験（T08-01-02 試験）及びヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験（T08-01-01 試験）を Aroclor で誘導したラット肝 S9 mix による代謝活性化系の存在下又は非存在下でそれぞれ実施した。いずれの試験にも適切な陽性対照を用いた。In vivo 試験として、ラットを用いる骨髄小核試験を実施した（T08-01-05 試験）。一連の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験でバリシチニブは遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

バリシチニブを rasH2 マウス及びラットにそれぞれ 6 ヵ月間及び 2 年間経口投与し、バリシチニブのがん原性を評価した。高用量は日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH） S1C (R2) ガイドラインで規定される最大耐量（MTD）とした。バリシチニブの代謝経路はマウス、ラット及びヒトで類似している（CTD 第 2.6.4.5 項）。ヒト循環血中にバリシチニブの代謝物は検出されず、尿及び糞中で代謝物がわずかに検出（4 つの代謝物の総計で投与量の 10%以下）された（CTD 第 2.7.2 項、JADG 試験）。ヒトで認められた代謝物は、マウス、ラット又はイヌの少なくとも 1 種類以上の生体試料（血漿、尿、糞、胆汁）中に認められたことから、これらの動物種がヒトと同じ代謝物に曝露され、代謝物もがん原性試験で適切に評価されたことが示唆される。

2.6.6.5.1 マウスがん原性試験

2.6.6.5.1.1 用量設定

評価資料：8268827 (4.2.3.2.11); 概要表 2.6.7.7B

rasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験の用量は、1 ヵ月間反復投与毒性試験（8268827 試験）の成績に基づいて設定した。1 ヵ月間反復投与毒性試験において、雌雄の rasH2 野生型マウスにバリシチニブ（遊離塩基）を 0、75、150 及び 300 mg/kg の用量で経口投与したところ、バリシチニブ投与による死亡は見られず、体重増加量にも明らかな影響は認められなかった。すべての用量において、リンパ球数の顕著な減少が、雄（対照群との比較で 54%～58%減少）及び雌（対照群との比較で 37%～45%減少）で認められた。これらの所見に関連する病理組織学的所見として、骨髄細胞充実性の低下（大腿骨、胸骨）が雌雄ともに見られ、脾臓、胸腺及び腸間膜リンパ節におけるリンパ球の減少が雌のみに認められた。リンパ球数の減少に起因する死亡や感染症は見られなかった。雄では、50%以上のリンパ球数減少が 75、150 及び 300 mg/kg 群ともに同様に認められたことから、MTD を 300 mg/kg に設定した。雌での MTD は、300 mg/kg で尿細管の変性／壊死、拡張、鉱質沈着及び再生が見られ、それに伴って尿素窒素が 2.3 倍に上昇したことから 150 mg/kg に設定した。以上のことから、がん原性試験に用いるバリシチニブ（遊離塩基）の用量は、雄で 0（溶媒）、15、40 及び 300 mg/kg、雌で 0（溶媒）、10、30 及び 150 mg/kg に設定した。これらの用量については、試験開始前に、米国食品医薬品局がん原性評価委員会と協議し、同意を得た。

2.6.6.5.1.2 rasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験

評価資料：8291245 (4.2.3.4.2.1); 概要表 2.6.7.10A

バリシチニブ（遊離塩基）を雄には 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、15、40 及び 300 mg/kg、雌には 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、10、30 及び 150 mg/kg の用量で、rasH2 マウスに 6 ヵ月間連日経口投与し、バリシチニブのがん原性を評価した（8291245 試験）。また、野生型 rasH2 マウスのサテライト群を用いて、バリシチニブの血漿中濃度を測定した。評価項目は、死亡、一般状態、眼科学的検査、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理組織学的検査とした。試験デザインを表 2.6.6-10 に示す。

表 2.6.6-10 rasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験の試験デザイン

群	サブグループ[a]	動物数		用量 (mg/kg)[b]		投与液濃度 (mg/mL)[b]	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
1（溶媒対照）[c]	がん原性評価	25	25	0	0	0	0
	TK 評価	9	9	0	0	0	0
2（低用量）	がん原性評価	25	25	15	10	1.5	1.0
	TK 評価	48	48	15	10	1.5	1.0
3（中用量）	がん原性評価	25	25	40	30	4.0	3.0
	TK 評価	48	48	40	30	4.0	3.0
4（高用量）	がん原性評価	25	25	300	150	30.0	15.0
	TK 評価	48	48	300	150	30.0	15.0
5（陽性対照）[d]	がん原性評価	10	10	75	75	7.5	7.5

略語：TK = トキシコキネティクス

[a] TK 評価用の動物は血液試料採取の目的のみに使用した（1 群雌雄各 3 例の動物は予備）。

[b] 投与容量は 10 mL/kg とした。濃度はロット毎の効力に応じて補正した。

[c] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

[d] 陽性対照として、N-メチル-N-ニトロソウレアを試験 1 日目に 75 mg/kg（10 mL/kg）の用量で単回腹腔内投与した。

いずれのバリシチニブ投与群においても、有意な死亡率の増加は認められなかった。

バリシチニブ投与による一般状態の変化や眼科学的検査での所見は認められなかった。バリシチニブ投与群の雄では、摂餌量、体重及び体重増加量に影響は見られなかった。雌では数週間にわたって摂餌量が減少し、体重も低下（10%未満）したが、いずれも軽度な変化であったことから、毒性変化ではないと考えられた。

バリシチニブ投与による血液腫瘍形成を示唆するような血液学的検査値は得られなかった。赤血球パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少並びに白血球数及びリンパ球数の減少がすべての用量で、血小板数の増加が 300 mg/kg 群の雄及び 30 mg/kg 以上の群の雌で、尿素窒素の増加が 40 mg/kg 以上の群の雄及び 150 mg/kg 群の雌で認められたが、変化の程度が小さく、組織学的変化を伴わなかったことから、いずれも毒性変化ではないと考えられた。

器官重量の変化は 15 mg/kg 以上の群の雄及び 10 mg/kg 以上の群の雌における脾臓重量の減少のみで、それに伴う病理組織学的所見は認められなかった。

病理組織学的検査において、バリシチニブ投与による腫瘍の増加は見られなかった。非腫瘍性の変化として、300 mg/kg 群の雄及び主に 150 mg/kg 群の雌の骨髄に散発的な骨髄細胞充実性の低下を伴う脂肪細胞の増加が観察された。この所見の発現頻度及び重症度は雌の方が高かった。これらの変化の程度は軽く、骨髄機能への影響は小さいと思われたことから、毒性変化ではないと考えられた。

陽性対照群では、死亡率及び腫瘍性所見の発現頻度の上昇が認められた。

以上、当試験では、バリシチニブ投与による生存率の変化及び腫瘍の発現頻度の上昇は認められなかった。非腫瘍性の所見としては、骨髄の変化（細胞充実性の低下及び脂肪細胞の増加）及び血液学的検査値の変化が見られたが、いずれも毒性変化ではないと考えられた。したがって、rasH2 マウスにおけるバリシチニブの腫瘍に関する NOEL 及び非腫瘍性所見に関する NOAEL は、雄では 300 mg/kg、雌では 150 mg/kg と考えられた。雄及び雌の腫瘍に関する NOEL と臨床用量（4 mg）との曝露量比は雄で 48 倍及び雌で 68 倍であった。

バリシチニブへの全身曝露量は、雄では 15～300 mg/kg、雌では 10～150 mg/kg の用量で、用量の増加に伴って増加した（概要表 2.6.7.10A）。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は、用量比を下回って増加した。バリシチニブの反復投与による蓄積は認められなかった。

2.6.6.5.2 ラットがん原性試験

2.6.6.5.2.1 用量設定

評価資料：T08-04-05 (4.2.3.2.6); 概要表 2.6.7.7E

ラットを用いた 2 年間がん原性試験の用量は、6 ヵ月間反復投与毒性試験（用量：0、0.5、5、25 及び 100/60 mg/kg；T08-04-05 試験）の成績に基づいて設定した。

試験 26 週目における雄の体重は用量依存的に低下し、対照群との比較で、0.5、5、25 及び 100 mg/kg 群でそれぞれ 5%、8%、16%及び 27%の低下であった。試験 26 週目における 100/60 mg/kg 群の雌の体重は、対照群と比較して 5%低下した。

毒性標的器官は心臓、腎臓、骨髄（大腿骨及び胸骨）、腸間膜リンパ節、胸腺、脾臓及びパイエル板であった。高用量群では、心筋症の悪化による雄の死亡及び腎における結晶の形成に伴う尿細管の変性がバリシチニブ投与により誘発された。大腿骨骨髄における混合細胞枯渇が 0.5 mg/kg 以上の雄及び 5 mg/kg 以上の雌で認められた。胸骨骨髄における混合細胞枯渇も 0.5 mg/kg 以上の雄で認められた。骨髄の所見に伴って、赤血球パラメータの減少が高用量で、白血球数の減少が 5 mg/kg 以上の用量で見られた。用量依存的なリンパ球枯渇が、脾臓、胸腺及びパイエル板において、25 mg/kg 以上の雄及び 5 mg/kg 以上の雌に認められた。雄では 25 mg/kg における毒性変化として、体重減少、末梢血白血球数（主にリンパ球）の減少、組織内リンパ球の枯渇及び骨髄細胞充実性の低下が見られた。体重変化を除き、同様の変化が雌でも認められた。主として 25 mg/kg 群で見られた体重減少に基づき、8 mg/kg を雄の高用量として設定した。雌では 25 mg/kg の用量で免疫抑制が見られたことから、同用量を高用量に設定した。

また、7 日間反復投与ブリッジング TK 試験の結果により、6 ヵ月間反復投与毒性試験で使用したリン酸塩型から遊離塩基型への変更による TK の変化はほとんどないことが確認された（表 2.6.4-6、RAUV11_8259423 試験）。

以上のことから、がん原性試験に用いるバリシチニブ（遊離塩基）の用量は、雄で 0（溶媒）、1、3 及び 8 mg/kg、雌で 0（溶媒）、3、8 及び 25 mg/kg と設定した。これらの用量については、試験開始前に、米国食品医薬品局がん原性評価委員会と協議し、同意を得た。

2.6.6.5.2.2 ラットを用いた 2 年間がん原性試験の結果

評価資料：8253534 (4.2.3.4.1.1); 概要表 2.6.7.10.B

バリシチニブ（遊離塩基）を雄には 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、1、3 及び 8 mg/kg、雌には 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、3、8 及び 25 mg/kg の用量で、Sprague-Dawley ラットに 2 年間連日経口投与し、バリシチニブのがん原性を評価した（8253534 試験）。また、全身曝露量を評価するため、サテライト群を用いて、バリシチニブの血漿中濃度を測定した。評価項目は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、臨床検査及び病理組織学的検査とした。試験デザインを表 2.6.6-11 に示す。

表 2.6.6-11 ラットを用いた 2 年間がん原性試験の試験デザイン

群	サブグループ [a]	動物数		用量 (mg/kg)[b]		投与液濃度 (mg/mL)[b]	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
1（溶媒対照）[c]	がん原性評価	60	60	0	0	0	0
	TK 評価	6	6	0	0	0	0
2（低用量）	がん原性評価	60	60	1	3	0.1	0.3
	TK 評価	12	12	1	3	0.1	0.3
3（中用量）	がん原性評価	60	60	3	8	0.3	0.8
	TK 評価	12	12	3	8	0.3	0.8
4（高用量）	がん原性評価	60	60	8	25	0.8	2.5
	TK 評価	12	12	8	25	0.8	2.5

略語：TK = トキシコキネティクス

[a] TK 評価用の動物は血液試料採取の目的にのみ使用した（1 群雌雄各 3 例の動物は予備）。

[b] 投与容量は 10 mL/kg とした。濃度はロット毎の効力に応じて補正した。

[c] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

バリシチニブの投与により、用量依存的な生存率の増加傾向が、雌雄においてそれぞれの対照群との比較で認められた。バリシチニブ投与による生存率の増加は、8 mg/kg 群の雄における造血器腫瘍による死亡の減少及び 25 mg/kg 群の雌における乳腺腫瘍による死亡の減少によるものと考えられた。

一般状態の変化は見られなかった。すべてのバリシチニブ投与群の体重は対照群と比較して低かったが、明らかな用量依存性は見られず、有意な体重低下（11.8%）が見られたのは 8 mg/kg 群の雄のみであった。バリシチニブ投与群の雌雄における摂餌量は、対照群と比較して、ほぼ同等又は軽度に少なかった。

病理組織学的検査において、バリシチニブ投与による腫瘍の増加は見られなかったが、雌の乳腺及び雌雄の肝臓における腫瘍性及び過形成性病変の発現頻度の減少が認められた。乳腺では、線維腺腫及び癌の発現頻度が 8 mg/kg 以上の雌で減少し、乳腺上皮過形成の発現頻度及び重症度がすべての投与群の雌で減少した。肝臓における胆管過形成の発現頻度及び重症度の減少が、すべての投与群で認められた。肝臓における好塩基性細胞巣の発現頻度及び重症度が、25 mg/kg 群の雌で減少した。肝臓の明細胞性細胞巣の発現頻度の増加が、8 mg/kg 以上の雌で認められた。

バリシチニブ投与による非増殖性病変として、肺胞リポ蛋白異常症が 8 mg/kg 以上の雌に見られた。その他の変化として、脾臓及び腸関連リンパ組織／パイエル板におけるリンパ球の減少及び脾臓の髄外造血の減少が、25 mg/kg 群の雌で認められた。

以上、当試験における忍容性は良好で、バリシチニブ投与群の生存率はおおむね用量依存的に増加した。バリシチニブ投与による腫瘍の発現頻度の上昇はいずれの用量においても認められなかったことから、バリシチニブは雄で 8 mg/kg、雌で 25 mg/kg までの用量においてがん原性を示さないと考えられた。腫瘍に関する NOEL と臨床用量（4 mg）との曝露量比は雄で 5.9 倍、雌で 26 倍であった。

バリシチニブへの全身曝露量は、雄では 1～8 mg/kg、雌では 3～25 mg/kg の用量で、用量の増加に伴って増加した（概要表 2.6.7.10.B）。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ はおおむね用量に比例して増加した。3 及び 8 mg/kg における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は雌の方が高かったが、その差は 2 倍未満であった。バリシチニブの反復投与による蓄積は認められなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

雌雄の受胎能（ラット）、胚・胎児発生（ラット及びウサギ）並びに出生前及び出生後の発生（ラット）に及ぼすバリシチニブの影響を評価した。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では、免疫系の発達に対する影響も併せて評価した。反復投与毒性試験と同様に、溶媒には 0.5%メチルセルロース水溶液を用い、血漿中濃度を測定した。

2.6.6.6.1 雌雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

評価資料：[redacted]-353240 (4.2.3.5.1.1); 概要表 2.6.7.12

バリシチニブを雄ラットには 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、5、15 及び 50 mg/kg の用量で、雌ラットには 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、5、25 及び 100 mg/kg の用量で、それぞれ連日経口投与し、雌雄の Sprague-Dawley ラットにおけるバリシチニブの生殖毒性を評価した（[redacted]-353240 試験）。用量は 1 ヵ月間反復投与毒性試験（用量：0、2、10 及び 40 mg/kg；T07-11-01 試験）及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験（用量：0.5、5、25 及び 100/60 mg/kg；T08-04-05 試験）の成績に基づいて設定した。これらの試験では、雌雄の生殖器官への影響は認められなかった。雄の用量は、1 ヵ月間反復投与毒性試験における体重減少及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験における 100 mg/kg での心筋症悪化による死亡が生じたことに基づき設定した。雌では 6 ヵ月間反復投与毒性試験において 100 mg/kg までの用量で忍容性が見られ、リンパ系のパラメータ及び器官において予想される変化が認められたことから設定した。試験デザインを表 2.6.6-12 及び表 2.6.6-13 に示す。

表 2.6.6-12 雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の試験デザイン

群	投与	用量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	雄の例数 主試験 [a]	雄の例数 TK 試験 [b]
1	溶媒 [c]	0	10	20	4
2	バリシチニブ	5	10	20	12
3	バリシチニブ	15	10	20	12
4	バリシチニブ	50	10	20	12

略語：TK = トキシコキネティクス
[a] 雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（[redacted]-353240M）
[b] 雄の TK 試験（[redacted]-353240T）
[c] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

表 2.6.6-13 雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の試験デザイン

群	投与	用量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	雌の例数 主試験 [a]	雌の例数 TK 試験 [b]
1	溶媒 [c]	0	10	20	4
2	バリシチニブ	5	10	20	12
3	バリシチニブ	25	10	20	12
4	バリシチニブ	100	10	20	12

略語：TK = トキシコキネティクス
[a] 雌の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（[redacted]-353240F）
[b] 雌の TK 試験（[redacted]-353240K）
[c] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

雄ラットにバリシチニブを交配前 4 週間、交配期間中及び屠殺時まで投与した（6 週間以上の投与）。正常な性周期を示す雌ラットにバリシチニブを交配前 2 週間、交尾確認までの交配期間中及び妊娠 6 日まで投与した。交尾が確認された雌ラットを妊娠 15 日に安楽殺し、母動物の生殖パラメータを評価するとともに、胚の生存性を評価した。交尾が確認されなかった雌は、最後の交尾確認雌の剖検後に安楽殺して剖検した。雄ラットは交配期間後に剖検した。精子検査、精巣及び精巣上体の重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

バリシチニブ投与に関連した死亡はいずれの群でも見られなかった。100 mg/kg 群の雌 1 例で、交尾確認 2 日後に死亡が発見された。この雌では死亡前日の一般状態の変化として、軽度の眼瞼下垂、流涙、鼻周囲赤色物質及び口周囲透明物質が、定時観察時及び投与 1 時間後に認められた。ほかのラットでは同様の変化は見られず、残りの動物はすべて計画剖検まで生存したことから、この死亡はバリシチニブ投与の影響ではないと判断された。

バリシチニブ投与に関連した一般状態の変化として、前肢、後肢及び耳の発赤が、50 mg/kg 群の雄及び 100 mg/kg 群の雌で、投与 1 時間後に観察された。100 mg/kg 群の雌では、流涙及び軽度の眼瞼下垂も投与 1 時間後に認められた。

雄では、バリシチニブ投与に関連した体重の低下及び体重増加量の減少が、15 及び 50 mg/kg 群でほぼ投与期間全体を通して認められ、投与期間終了時の体重は、対照群と比較して、それぞれ 8.8%及び 12.7%低くなった。体重低下に応じたほどの摂餌量の減少は見られなかった。5 mg/kg 群の雄の体重増加量も、おおむね投与期間を通して対照群より低かったが、摂餌量に変化は見られず、体重変化も認められなかった。

雌では、交配前投与期間中、いずれの投与群においてもバリシチニブ投与に関連した体重及び体重増加量の変化は見られなかった。100 mg/kg 群の雌では妊娠中の投与期間後における体重増加量及び妊娠期間全体の総体重増加量が低下し、最終の体重は対照群より軽度に低かった。この群では交配前期間中に摂餌量の増加が見られたが、妊娠中の投与期間後においては摂餌量の減少が認められた。100 mg/kg 群で妊娠中の投与期間後に見られた体重増加量及び摂餌量の減少は、おそらくこの群における早期吸収胚の増加によるものと考えられた。

雄 50 及び雌 100 mg/kg 群における受精率［妊娠動物数（妊娠させた動物数）／交配動物数（%）］及び受胎率［妊娠動物数（妊娠させた動物数）／交尾動物数（%）］は、いずれも対照群より低かった。また、着床後胚死亡（早期吸収胚）を伴う母体比率の増加が、25 及び 100 mg/kg 群の雌に見られ、これに対応する生存胚数及び生存胚率の減少が認められた。さらに、対照群と比較して、100 mg/kg 群における黄体数及び着床数は少なく、着床前胚死亡を伴う母動物の比率は高かった。

いずれの用量においても、精子の運動能及び濃度並びに精子形態への影響は見られず、雄性生殖器官の肉眼所見や組織学的変化も認められなかった。体重及び摂餌量低下に伴うと考えられる器官重量の低下（体重比重量の変化を伴わない）が見られた。精巣及び副生殖器官で軽度の器官重量脳重量比の減少（絶対器官重量減少を伴う）が見られた。

以上、50 mg/kg 群の雄で一般状態の毒性変化が見られ、5、15 及び 50 mg/kg で体重の低下及び体重増加量の減少が認められたことから、雄動物の一般毒性に関する NOAEL は 5 mg/kg 未満と考えられた。50 mg/kg で雄の受精率及び受胎率が低下したが、精子の運動能、濃度及び形態には変化が認められなかったことから、雄の生殖能に関する NOAEL は 15 mg/kg と考えられた。

100 mg/kg 群の雌で一般状態の毒性変化並びに体重の低下及び体重増加量の減少が見られたことから、雌動物の一般毒性に関する NOAEL は 25 mg/kg と考えられた。25 及び 100 mg/kg で受精率及び受胎率の低下、黄体数及び着床数の減少、着床前胚死亡率の増加及び子宮内胚生存に対する有害作用が見られたことから、雌の受胎能及び初期胚発生に関する NOAEL は 5 mg/kg と考えられた。この試験では雌雄ともに投与を行ったため、受胎能低下に関与したのが雄、雌又は雌雄両方のいずれであったかを明確に判断することはできないものの、雌では受精率・受胎率の低下に加え、黄体数の減少及び胚生存率の低下が見られ、一方、雄では受精率・受胎率の低下が見られたのみであったことから、影響を受けたのは雌の生殖過程であった可能性が高いと考えられた。

バリシチニブの血漿中濃度を測定する目的で、雄については試験 0 日及び 28 日に、雌については試験 14 日及び妊娠 6 日に血液試料を採取した（概要表 2.6.7.12）。バリシチニブの経口投与を受けたすべての動物で、バリシチニブへの全身曝露が認められた。雄の $AUC_{0\text{-}24hr}$ は、いずれの測定日においても、5～15 mg/kg の用量では用量に比例して増加し、15～50 mg/kg の用量では用量比を上回って増加した。雄の C_{max} は、5～50 mg/kg の用量範囲において、試験 0 日目には用量比を上回って増加し、試験 28 日目には用量に比例して増加した。雄での曝露量は、試験 0 日目から試験 28 日目にかけて軽度に増加したが、反復投与による 2 倍を上回る蓄積は、いずれの用量においても認められなかった（蓄積比は 1.2～1.4）。雄の T_{max} は 0.5 又は 1 時間で、用量又は測定日による違いは見られなかった。雌での曝露量は、いずれの測定日においても、5～100 mg/kg の用量範囲で、$AUC_{0\text{-}24hr}$ については用量に比例して増加し、C_{max} については用量比を下回って増加した。雌での曝露量は、いずれの用量でも試験 14 日目と妊娠 6 日目の間でほぼ同等であった。試験 14 日目の雌の C_{max} は投与 0.5～1 時間後に見られ、用量による特定の傾向は見られなかった。妊娠 6 日目の T_{max} は 0.5～2 時間で、用量増加に伴って T_{max} が長くなる傾向が見られた。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

評価資料：T08-07-01 (4.2.3.5.2.1), T08-05-02 (4.2.3.5.2.2); 概要表 2.6.7.13A

バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、2、10 及び 40 mg/kg の用量で、妊娠した Sprague-Dawley ラットの器官形成期（妊娠 6～17 日）に連日経口投与し、母動物並びに胚・胎児に及ぼす影響を評価した（T08-07-01 試験）。用量は、妊娠 Sprague-Dawley ラットに 0、25、75、150 及び 300 mg/kg の用量で経口投与した胚・胎児発生に関する予備試験（T08-05-02 試験）の成績に基づいて設定した。すなわち、予備試験では、150 mg/kg 以上の用量で死亡、瀕死状態及び摂餌量の減少が、75 mg/kg 以上の用量で体重増加量の減少及び体重低下が見られ、75 mg/kg では胎児体重の低下及び胎児生存率の低下も見られた。150 mg/kg 以上の用量でバリシチニブの消失に飽和が認められた。試験デザインを表 2.6.6-14 に示す。

表 2.6.6-14 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	雌の例数
1	0[a]	0	10	25
2	2	0.2	10	25
3	10	1	10	25
4	40	4	10	25

[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

ラットを妊娠 20 日に安楽殺して母動物の生殖パラメータを評価するとともに、胎児の生存性、体重、性別及び形態を評価した。

すべての雌が、妊娠 20 日の計画剖検時まで生存した。投与期間中の投与約 1 時間後に、一般状態の変化として、発赤が 10 及び 40 mg/kg 群で、流涙が 40 mg/kg 群で認められた。発赤は一過性の変化であったこと、また 40 mg/kg 群における流涙の発現頻度は高かったことから、流涙のみが毒性変化と考えられた。

投与初日（妊娠 6～7 日）に、体重増加量の減少がすべてのバリシチニブ投与群で見られ、体重低下が 40 mg/kg 群で認められた。体重増加量は残りの投与期間を通して対照群とほぼ同程度であったが、投与初日に見られた変化により、妊娠 6～9 日の体重増加量がすべてのバリシチニブ投与群で軽度に減少し、40 mg/kg 群では投与期間全体（妊娠 6～18 日）でもわずかな減少が見られた。40 mg/kg 群では体重増加量に対する初回投与の影響が妊娠 18 日まで持続的に見られたことから、この群の変化のみが被験物質関連の毒性変化と考えられた。いずれの用量においても、妊娠子宮重量を除く体重及び体重増加量並びに妊娠子宮重量に変化は見られず、摂餌量への影響も認められなかった。

計画剖検時において、いずれの群でも被験物質関連の肉眼所見は見られなかった。40 mg/kg 群で、胎児体重の低下（対照群：3.8 g、40 mg/kg 群：3.5 g、雌雄合算値）が認められたが、2 及び 10 mg/kg 群に変化はなかった。胚・胎児生存率にはいずれの投与群においてもバリシチニブの影響は見られなかった。

10 及び 40 mg/kg 群では、対照群と比較して、四肢骨弯曲及び肋骨異常の増加が認められた。これらの骨格奇形は、被験物質による毒性変化と考えられた。また、40 mg/kg 群では、対照群と比較して、骨格変異である肋骨弯曲及び第 7 頸肋の発現頻度の増加が認められた。40 mg/kg で見られた骨格奇形と合わせて評価すると、これらの骨格変異は被験物質関連の毒性変化と考えられた。

以上、40 mg/kg 群における体重増加量の軽度な減少並びに 10 mg/kg 以上で見られた発赤及び 40 mg/kg 群で見られた流涙に基づき、10 mg/kg が母動物の一般毒性に関する NOAEL と考えられた。10 mg/kg 以上で胎児骨格奇形（四肢骨弯曲及び肋骨異常）の発現頻度が増加し、40 mg/kg では胎児体重低下及び骨格変異（肋骨弯曲及び第 7 頸肋）の発現頻度が増加したことから、バリシチニブを妊娠したラットに経口投与したときの胚・胎児発生に関する NOAEL は 2 mg/kg と考えられた。

バリシチニブの TK を評価するため、サテライト群の妊娠ラットにバリシチニブを 2、10 及び 40 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 17 日まで投与した（概要表 2.6.7.13A）。妊娠ラットにバリシチニブを反復経口投与したときの C_{max} 及び AUC は、2～40 mg/kg の用量間で用量に比例して増加

した。妊娠 6 日におけるバリシチニブの曝露量は妊娠 17 日とほぼ同等で、蓄積は認められなかった。T_{max}（1.00 時間）及び終末相半減期（3.06～3.70 時間）は、すべての投与群でほぼ同等であった。

2.6.6.6.2.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

評価資料：T08-07-02 (4.2.3.5.2.3), T08-05-03 (4.2.3.5.2.5); 概要表 2.6.7.13B
参考資料：T08-04-03 (4.2.3.5.2.4)

バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、3、10 及び 30 mg/kg の用量で、妊娠したニュージーランドホワイト（NZW）ウサギに妊娠 7 日から 20 日まで連日経口投与し、母動物並びに胚・胎児に及ぼす影響を評価した（T08-07-02 試験）。用量はウサギを用いた 2 つの予備試験の成績に基づいて設定した。ウサギ 5 日間反復投与毒性予備試験（T08-04-03 試験）では、バリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、30、100、300 又は 600 mg/kg の用量で、非妊娠 NZW ウサギに投与した。重度の毒性として、死亡又は瀕死状態が、300 及び 600 mg/kg 群の全例並びに 100 mg/kg 群の 3 例中 2 例に認められた。30 mg/kg における忍容性は良好であった。ウサギ胚・胎児発生に関する予備試験（T08-05-03 試験）では、妊娠した NZW ウサギにバリシチニブを 0（0.5%メチルセルロース水溶液）、20、40、60 及び 80 mg/kg の用量で経口投与した。60 及び 80 mg/kg 群では、妊娠 15 又は 16 日に過剰な毒性が見られ、全例が死亡又は安楽殺に至った。40 mg/kg 以上の群で母動物の体重増加量の減少、体重低下及び摂餌量減少が認められた。40 mg/kg 群において着床後胚死亡率（主として早期吸収）の増加並びに生存胎児数及び同腹児比率の低下が認められた。また、40 mg/kg 群の雌の胎児体重は対照群の値より低かった。これらの影響に伴い 40 mg/kg 群では妊娠子宮重量が減少した。試験デザインを表 2.6.6-15 に示す。

表 2.6.6-15 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	雌の例数
1	0[a]	0	10	23
2	3	0.3	10	23
3	10	1	10	23
4	30	3	10	23

[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

ウサギを妊娠 29 日に安楽殺して母動物の生殖パラメータを評価するとともに、胎児の生存性、体重、性別及び形態を評価した。

10 及び 30 mg/kg 群のそれぞれ 1 例及び 2 例の雌で、試験中に死亡が発見された。30 mg/kg 群の死亡例では、死亡前数日間にわたる体重増加量及び摂餌量の減少が認められたことから、バリシチニブ投与に関連した影響と考えられた。これらの雌における一般状態の変化として、糞排泄の減少及びケージ受け皿内の赤色物が認められた。10 mg/kg 群の死亡例では、投与期間中に毒性変化が観察されなかったことから、被験物質との関連はないと考えられた。

計画剖検時まで生存した雌では、いずれの用量においても、バリシチニブ投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。また、3、10 及び 30 mg/kg 群における母動物の体重、体重増加量、妊娠子宮重量を除く体重及び体重増加量並びに摂餌量にはバリシチニブ投与の影響は見られ

なかった。計画屠殺時まで生存した雌では、いずれの用量においても特筆すべき剖検時の肉眼所見は認められなかった。

着床後胚死亡率（早期及び後期吸収胚）の増加及び生存胎児率の減少が、対照群との比較で 30 mg/kg 群に見られ、それにより 30 mg/kg 群では妊娠子宮重量が減少した。また、30 mg/kg 群では胎児重量が対照群より約 11%低下し、骨格奇形（肋骨異常及び肋骨異常を伴う又は伴わない椎骨異常の同腹児比率の増加）も認められた。3 及び 10 mg/kg では、子宮内発育及び生存並びに胎児の形態におけるバリシチニブ投与の影響は認められなかった。3 及び 10 mg/kg 群の妊娠子宮重量にはバリシチニブ投与の影響は見られなかった。

以上、30 mg/kg 群で見られた死亡に基づき、10 mg/kg が母動物の一般毒性に関する NOAEL と考えられた。また、30 mg/kg で胚・胎児死亡、胎児体重の低下及び骨格奇形が認められたことから、バリシチニブを妊娠したウサギに経口投与したときの胚・胎児発生に関する NOEL 及び NOAEL は 10 mg/kg と考えられた。

バリシチニブの TK を評価するため、サテライト群の妊娠ウサギにバリシチニブを 3、10 及び 30 mg/kg の用量で妊娠 7 日から 20 日まで投与した（概要表 2.6.7.13B）。妊娠 7 日及び 20 日における C_{max} 及び AUC は 3～30 mg/kg の用量間で用量比を上回って増加した。妊娠 20 日における 3、10 及び 30 mg/kg での C_{max} は妊娠 7 日の値の約 2 倍であった。妊娠 20 日の $AUC_{0\text{-}24hr}$ も妊娠 7 日と比較して高かった。T_{max} はすべての投与群で同程度（0.625～1.13 時間）であり、終末相半減期には用量依存性が見られず、妊娠 7 日で 1.45～3.31 時間、妊娠 20 日で 2.69～4.75 時間の範囲であった。

2.6.6.6.3 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

評価資料：[redacted]-353280 (4.2.3.5.3.1); 概要表 2.6.7.14

妊娠 6 日から分娩後 20 日まで、Sprague-Dawley ラットの F_0 雌動物に溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）もしくはバリシチニブ（遊離塩基）を 2、5 又は 25 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与し、母動物の妊娠期間及び授乳期間にバリシチニブに曝露したときの母動物の妊娠維持、分娩及び授乳並びに F_1 児の成長、生存及び発達に対する有害作用を検討した（[redacted]-353280 試験）。F_1 世代の生殖能及び行動能（F_2 世代の出産まで）についても評価した。末梢血イムノフェノタイピング検査を一部の F_1 児について実施し、免疫組織化学的検査を同じ動物の脾臓及び胸腺について実施した。用量は、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（用量：0、2、10 及び 40 mg/kg；T08-07-01 試験）の成績に基づいて設定した。この試験では、40 mg/kg 群における体重増加量の軽度な減少並びに 10 mg/kg 以上で見られた発赤及び 40 mg/kg 群で見られた流涙に基づき、10 mg/kg が母動物の一般毒性に関する NOAEL と考えられた。これらの所見に基づき、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では、一般状態の毒性変化を伴わない母動物毒性が誘発されると予想される 25 mg/kg を高用量に設定した。試験デザインを表 2.6.6-16 に示す。

表 2.6.6-16 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の試験デザイン

群	投与	用量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	雌の例数 PPN 試験	雌の例数 TK 試験
1	溶媒[a]	0	5	30	4
2	バリシチニブ（遊離塩基）	2	5	30	12
3	バリシチニブ（遊離塩基）	5	5	30	12
4	バリシチニブ（遊離塩基）	25	5	30	12

略語：PPN 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、TK = トキシコキネティクス
[a] 溶媒（0.5%メチルセルロース水溶液）を投与

5 及び 25 mg/kg 群の 1 例で、それぞれ分娩 23 及び 12 日後に死亡が発見された。母動物の体重、体重増加量及び摂餌量にはバリシチニブ投与に関連した毒性変化は見られず、一般状態の変化や肉眼所見も認められなかったことから、これらの死亡はバリシチニブ投与に起因するものではないと考えられた。ほかのすべての母動物は、計画剖検時まで生存した。

25 mg/kg 群で前肢脱毛の発現頻度が増加したが、この所見はラットでよく見られることから毒性変化ではないと考えられた。摂餌量の減少が 25 mg/kg 群で妊娠後期及び授乳期間中に見られたが、体重低下が見られなかったことから、毒性変化ではないと考えられた。

母動物の妊娠期間及び分娩過程には、バリシチニブ投与による影響は認められなかった。2、5 及び 25 mg/kg 群の着床数及び着床後死亡数は、対照群と同程度であった。

いずれの用量においても、F_1 出生児数及び出生時の性比にはバリシチニブ投与の影響は見られず、2 及び 5 mg/kg での生後生存率への影響も認められなかった。F_1 児の死亡例、瀕死安楽殺例及び生後 21 日の計画屠殺例の剖検において、母動物へのバリシチニブ投与に起因すると考えられる肉眼所見は見られなかった。25 mg/kg 群で見られた F_1 児の生後生存率の低下、離乳前体重及び体重増加量の減少並びに前肢異常回転の発現頻度の増加は、母動物へのバリシチニブ投与に起因する毒性変化と考えられた。同群では体重低下に伴って、一般状態観察で小型の F_1 児の発現頻度の増加が認められた。5 mg/kg 群で離乳前体重の低下が交配前期間（生後 84 日まで）に持続的に見られたが、これは母動物へのバリシチニブ投与に起因すると考えられ、変化の持続性及びその程度から毒性変化と考えられた。2 mg/kg 群の離乳前体重には対照群と比較して軽度の減少が認められたが、統計学的有意差は散見されたのみであり、全体として離乳後期間における持続的な減少は見られず、変化の程度も背景データの範囲内であったことから、毒性変化ではないと判断された。

離乳後は、F_1 世代の全例が計画剖検時まで生存した。F_1 世代の成獣には、母動物へのバリシチニブ投与に起因すると考えられる一般状態の変化は認められなかった。25 mg/kg 群の雌雄で離乳前期間に見られた F_1 児の体重及び体重増加量の低下は、交配前期間（雌雄）及びこの世代全体（雄）を通して持続的に観察された。25 mg/kg 群における雌 F_1 児の体重変化は、妊娠期間を通して分娩後 1 日の安楽殺まで持続的に認められた。5 mg/kg 群では、対照群と比較して、F_1 児の出生時体重の低下並びに散発的な体重低下及び体重増加量の減少が認められた。2 mg/kg 群では、F_1 児の体重や体重増加量への影響は見られなかった。2、5 及び 25 mg/kg 群における妊娠中の雌 F_1 児の摂餌量には、母動物へのバリシチニブ投与の影響は見られなかった。

2、5 及び 25 mg/kg 群の F_1 児における背地走性には、母動物へのバリシチニブ投与の影響は認められなかった。25 mg/kg 群における亀頭包皮分離及び膣開口の日齢には、体重減少に起因する

と考えられる遅延が認められた。また、25 mg/kg 群の雌雄及び 5 mg/kg 群の雌において、生後 20 及び 60 日の前肢・後肢の握力低下（毒性変化と考えられる）、並びに聴覚性驚愕反応検査における生後 22 日の最大反応振幅（V_{MAX}）及び平均反応振幅（V_{AVE}）の低下が見られた。生後 22 日の最大反応潜時（T_{MAX}）、生後 62 日のいずれの評価項目（V_{MAX}、V_{AVE}、T_{MAX}）、生後 22 及び 62 日での驚愕反応のパターンに影響は見られなかった。25 mg/kg 群の雌雄及び 5 mg/kg 群の雌で見られた V_{MAX} 及び V_{AVE} の低下の程度は低く、驚愕反応のパターンに影響は見られず、生後 62 日までは持続しなかったことから、これらの所見はバリシチニブによる変化ではあるが、毒性変化ではないと考えられた。いずれの用量においても自発運動量にはバリシチニブ投与に関連した変化は見られなかった。2 mg/kg 群の F_1 児における聴覚性驚愕反応検査、2 及び 5 mg/kg 群の F_1 児における発達指標達成日及び詳細な一般状態観察にバリシチニブ投与に関連した変化は認められなかった。生後 70 日に実施した Biel 型迷路検査では、いずれの用量においてもバリシチニブ投与の影響は見られなかった。

生後 35 日のイムノフェノタイピング検査において、25 mg/kg 群の雌で、細胞傷害性 T 細胞の絶対数及び比率に有意な低下が認められたが、生後 65 日の検査では同所見は認められなかった。生後 65 日の検査において、25 mg/kg 群の雌でヘルパーT 細胞の絶対数増加が見られ、それにより細胞傷害性 T 細胞に対するヘルパーT 細胞の比率が増加し、有意差が認められた。2 及び 5 mg/kg 群ではバリシチニブ投与による影響は見られなかった。血液生化学的検査では、いずれの用量の雌雄においてもバリシチニブ投与による影響は認められなかった。

いずれの用量においても、性周期長、完全性周期数、正常及び異常な性周期の総数、交尾所要日数、雌雄の交配及び受胎率、雄の交尾率並びに雌の妊娠率といった F_1 生殖パラメータにバリシチニブ投与の影響は認められなかった。F_1 妊娠期間、分娩過程及び精子評価項目（精子の運動能、濃度及び形態）にも、いずれの用量においても、母動物へのバリシチニブ投与の影響は見られなかった。

F_1 児の最終剖検時、いずれの用量においても、F_0 母動物へのバリシチニブ投与に起因すると考えられる肉眼所見は見られなかった。着床数、黄体数及び着床後死亡数は、すべての群で同程度であった。25 mg/kg 群の F_1 児では最終体重及び絶対器官重量［脾臓、胸腺及び雄性生殖器官（前立腺、精巣上体、精巣）］が減少したが、これらの群における相対器官重量（最終体重比及び脳重量比）は対照群と同程度であった。また、いずれの用量においても、F_1 児の生殖器官には病理組織学的所見は認められず、25 mg/kg 群で見られた絶対器官重量の減少は体重減少に起因するものであり、毒性変化ではないと考えられた。

いずれの用量においても、F_2 児の出生児数、生後 0 日の生存児数、新生児生存率（生後 1 日まで）、出生児体重及び一般状態には、バリシチニブ投与の影響は認められなかった。F_2 児の死亡例には、特筆すべき肉眼所見は見られなかった。

以上、体重、体重増加量及び摂餌量に毒性変化は見られなかったことから、母動物の一般毒性に関する NOAEL は、検討した最高用量の 25 mg/kg と考えられた。25 mg/kg 群では、生後生存率の低下及び F_1 世代全体（離乳前及び離乳後）を通して体重低下（小型の出生児の増加を伴う）及び体重増加量の減少が認められ、この群では前肢異常回転の発現頻度増加も見られた。この用量では、前肢・後肢の握力にバリシチニブ投与に関連した影響も認められた。5 mg/kg で持続的な離乳前体重の低下及び体重増加量の減少が見られたことから、F_1 発達に関する NOAEL は

2 mg/kg と考えられた。いずれの用量においても、F_1 生殖パラメータや F_2 出生児生存率における毒性変化は認められなかったことから、F_1 生殖毒性及び F_2 新生児毒性に関する NOAEL は 25 mg/kg と考えられた。

バリシチニブの血漿中濃度を測定する目的で、妊娠 6 日及び分娩後 4 日に血液試料を採取した（概要表 2.6.7.14）。バリシチニブの経口投与を受けたすべての F_0 母動物でバリシチニブへの全身曝露が認められた。妊娠 6 日及び分娩後 4 日における $AUC_{0\text{-last}}$ 及び C_{max} は、2～25 mg/kg の範囲でほぼ用量の増加に比例して増加し、いずれの用量においても反復投与による蓄積は認められなかった。母動物の T_{max} はいずれの評価日においても 2 及び 5 mg/kg では投与 0.5 時間後であり、25 mg/kg では投与 1 時間後であった。対照群の F_1 出生児での生後 4 日の投与 1 時間後におけるバリシチニブの血漿中濃度は定量下限値以下であったが、すべてのバリシチニブ投与群の F_1 児では生後 4 日の投与 8 時間後（最終測定時点）までバリシチニブの血漿中濃度を測定可能であった。F_1 児の投与 1、4 及び 8 時間後の血漿中バリシチニブ濃度は、母動物における投与 1、4 及び 8 時間後の血漿中濃度と比較して、ぞれぞれ 65～100 分の 1、5～12 分の 1 及びほぼ同等であった。

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

2.6.6.8.1 光毒性試験

評価資料：20007788 (4.2.3.7.7.1); 概要表 2.6.7.17

バリシチニブは 290 nm を超える波長で吸収を示すこと（CTD 第 3.2.S.1.3 項、図 S.1.3-4）、また、有色ラットの眼ブドウ膜においてバリシチニブの分布が見られたこと（CTD 第 2.6.4.4.1 項、DMB-08-199-1 試験）から、バリシチニブの光毒性を評価するため、Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いた in vitro 試験を実施した（20007788 試験）。バリシチニブと紫外線 A（UVA）を処理した線維芽細胞の生存率をバリシチニブのみを処理した線維芽細胞の生存率と比較することにより、バリシチニブの光毒性を評価した。評価した濃度範囲（最高濃度は 22.8 mg/L）において、UVA（5 J/cm2）処理の有無に関わらず、バリシチニブは光毒性や細胞毒性を示さなかった。

2.6.6.8.2 眼刺激性試験

評価資料：[redacted]12-20568.09 (4.2.3.7.7.2); 概要表 2.6.7.17

作業場及び輸送時の安全性担保の目的から、in vitro 眼刺激性試験を実施した（[redacted]12-20568.09 試験）。In vitro において、摘出ウシ角膜を最小必須培地に懸濁させたバリシチニブ（遊離塩基、20%濃度）で処理した。摘出ウシ角膜の混濁及びフルオレセインの透過性を指標とした評価から、バリシチニブは非刺激性物質に分類された。

2.6.6.8.3 皮膚刺激性試験

評価資料：[redacted]12-20568.02 (4.2.3.7.7.3); 概要表 2.6.7.17

NZW ウサギを用いて、バリシチニブの皮膚刺激性を評価した（[redacted] 12-20568.02 試験）。雌雄各 5 例のウサギにバリシチニブ（遊離塩基）を 1000 mg/kg の用量（当試験系における適用限界量）で 24 時間にわたり単回経皮投与した。ウサギを毎日観察し、計画安楽殺時（14 日目）に全例の剖検を実施した。死亡は見られず、剖検時に明らかな肉眼的所見は認められなかった。試験期間を通して体重が一定であった 1 例を除いて、全例に体重増加が見られた。被験物質適用部位における皮膚刺激性は認められず、バリシチニブは非皮膚刺激性物質であると判定された。

2.6.6.8.4 免疫毒性

免疫系に対するバリシチニブの影響を、通常の血液学的検査、病理組織学的検査に加え、末梢血イムノフェノタイピング検査並びに脾臓及び胸腺の免疫組織化学的検査により評価した。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では F_1 出生児を対象に両検査（生後 35 及び 65 日目）を（CTD 第 2.6.6.6.3 項）、イヌを用いた 6 ヵ月間及び 9 ヵ月間反復投与毒性試験ではイムノフェノタイピング検査を実施した（CTD 第 2.6.6.3.6 項、2.6.6.3.7 項）。ラット及びイヌにおいて、バリシチニブの JAK 阻害作用に起因すると考えられるリンパ球の減少が見られたが、リンパ球の減少はサブタイプに選択的ではなく、休薬期間中に正常値まで回復した。イヌではリンパ球に加え好酸球数も減少し、これに関連する免疫系の変化として毛包虫症が 6 ヵ月間及び 9 ヵ月間反復投与毒性試験で認められ、毛包虫症はおおむね回復性を示さず、安楽殺又は死亡に至る個体もあった。日和見感染はラット及びマウスでは認められなかった。

2.6.6.8.5 不純物の評価

バリシチニブ原薬の不純物の毒性は、バリシチニブを対象とした一連の毒性試験で評価した。毒性試験に供した原薬中の単一不純物濃度はいずれも [redacted]%以下であった（概要表 2.6.7.4）。警告構造に基づく評価、in silico での変異原性予測及び細菌を用いる復帰突然変異試験により、変異原性不純物の評価を実施したところ、日常的に確認を要するような変異原性不純物あるいは分解物は見いだされなかった（CTD 第 3.2.S.3.2.4 項）。個々の不純物の規格は、ICH Q3A ガイドラインに基づき「[redacted]%以下」に設定した。また、不純物の合計量の規格は、製造のばらつき、分析方法のばらつき及び毒性評価の結果を基に「[redacted]%以下」に設定した。

2.6.6.9 考察及び結論

バリシチニブの毒性を一連の in vitro 及び in vivo 試験で評価した。選択した動物種及び試験デザインは、予定の効能・効果及び用法・用量での安全性評価において適切であった。また、主要な毒性試験の試験計画書は試験実施時点における国際的規制ガイドラインに準拠し、GLP 及び経済協力開発機構（OECD）の基準に適合するものであった。

バリシチニブ投与により主にリンパ球及び好酸球が影響を受けた。リンパ球及び好酸球の減少に一致して、リンパ球全般の枯渇及び骨髄細胞充実性の低下が認められた。これらの免疫抑制作用には休薬期間終了時には回復が見られた。イヌでは、リンパ球及び好酸球の減少による免疫抑制に関連した毛包虫症並びに細菌、原虫及び酵母の感染が認められた。免疫抑制に加えて、結晶

形成に起因する腎尿細管毒性及び心筋症の悪化がバリシチニブを高用量で 6 ヵ月間投与したラットに見られ、肝毒性がイヌ 9 ヵ月間反復投与毒性試験の高用量で認められた。ラットあるいはウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では骨格奇形が見られた。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では、出生児体重の低下が用量制限毒性であった。

バリシチニブは、細菌を用いる復帰突然変異試験、in vitro 染色体異常試験及びラットを用いた in vivo 小核試験で遺伝毒性を示さなかった。ラットを用いた 2 年間がん原性試験及び rasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験におけるバリシチニブの忍容性は良好で、予定臨床用量（4 mg の 1 日 1 回投与）での曝露量の 68 倍の曝露を受けても腫瘍の発現頻度の上昇は認められなかった。ラットでは、バリシチニブの投与に伴って生存率の上昇並びに乳腺及び肝臓における腫瘍性病変及び過形成性病変の発現頻度の低下が認められた。

バリシチニブは強力かつ選択的な JAK/シグナル伝達兼転写活性化因子（STAT）経路の阻害剤であり、リンパ系組織で見られた変化はバリシチニブの薬理活性に一致する。脾臓、胸腺、パイエル板及び腸間膜リンパ節といった雌雄のラットのリンパ系組織において、すべてのリンパ球サブタイプの全般的な枯渇が見られた。また、雌雄の大腿骨骨髄及び胸骨骨髄では、赤血球系及び顆粒球系の混合細胞集団の枯渇が認められた。休薬期間終了時のリンパ系組織における所見には、ラット及びイヌともに明確な用量反応性が見られなかったことから、バリシチニブの投与により生じたこれらの変化は休薬により回復したと判断された。

心筋症は高齢の雄ラットで見られる一般的な背景所見であり（Jokinen et al. 2011）、6 ヵ月間反復投与毒性試験においても対照群及び低用量群の雄ラットに軽微から軽度の心筋症が認められた。6 ヵ月間反復投与毒性試験では中等度から重度の心筋症が高用量群の雄ラットの死因と考えられ、心筋線維の変性／壊死を伴う心臓組織の広範な亜急性／慢性炎症が認められた。また、1 例では右心房血栓を伴っていた。計画屠殺した高用量（100 mg/kg）群の雄ラット数例での心筋症は軽微で、これらの個体ではバリシチニブの投与で心筋症が悪化したことを示唆するような所見は見られなかった。イヌ及びマウスでは心筋症は見られなかった。JAK/STAT 経路の活性化が心臓保護的に働くことが示されており（Kurdi and Booz 2007）、ラットで JAK/STAT 経路を阻害すると加齢に伴う心筋症が悪化する可能性がある。一方で、JAK/STAT 経路の選択的阻害剤が心筋虚血保護作用を示す治療剤となる可能性も示唆されている（Booz et al. 2002; Ananthakrishnan et al. 2005; Kurdi and Booz 2007）。また、大腿骨及び胸骨の骨髄における混合細胞集団の枯渇により赤血球数が減少し、その結果、心筋症を促進する心虚血が生じたとする間接的な機序も推察される。トファシチニブ（pan-JAK 阻害剤）及びルキソリチニブ（JAK1/JAK2 阻害剤）の毒性試験では心筋症は報告されていないが、ルキソリチニブのラット 3 ヵ月間反復投与毒性試験では心筋の線維化が見られている。心筋症の発症初期に心筋の線維化が観察され、心筋の線維化は高齢ラットの背景病変である心筋症に関連している。ルキソリチニブによる心筋線維化の発症機序に関しては、JAK/STAT 経路阻害による赤血球及びリンパ球の減少によるとの仮説がある。さらに、心筋症の悪化が見られた用量での曝露量（予定臨床用量での曝露量の 80 倍以上）ではバリシチニブの JAK1/2 に対する結合の選択性が消失し、JAK/STAT 経路以外のシグナル伝達経路が影響を受けて心筋症が悪化した可能性もある。バリシチニブは、カルシウム／カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ（CaMK2d 及び CaMK2g）に対して、中等度の結合親和性を示す。CaMK2d の活性化は適応性心肥大の進行に関与すること（Awad et al. 2015）や CaMK2d の阻害は心不全の

進行を抑制すること（Ling et al. 2009）が報告されているが、バリシチニブ投与による心筋症の悪化の機序を直接的に説明するものではない。以上のように、現在のところ、バリシチニブによる心筋症の悪化は、バリシチニブの直接作用か間接作用によるものか、また、薬理作用による影響であるのか否かはいずれも明らかではない。

ラットを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験では、高用量群の一部のラットで肝細胞の壊死及び炎症が見られ、これらは心臓の所見による二次的変化と考えられた。これらの動物における肝細胞壊死が血管周囲性であったことは、心機能不全の二次的な影響により肝臓への血流が急性的又は慢性的に高度に減少したことに一致する。肝臓の炎症の多くは亜急性から慢性の炎症であり、それに伴って血管周囲から広範な肝細胞壊死が認められた。雄死亡例の 1 例での心筋症は軽微であったが、肝臓の壊死及び炎症はこの動物の主要な死因と考えられる重症度であった。同様の病変は、投与期間終了時の剖検（雄の 0、25 及び 100 mg/kg 群）及び回復期間終了時の剖検（雄の 0 及び 100 mg/kg 群）のいずれにも見られなかった。

ラットを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験の投与期間終了時の剖検において、100/60 mg/kg 群の雌 1 例で、腎尿細管内に微量の管腔内結晶が認められた。試験中に死亡した 100 mg/kg 群の雄 1 例でも微量の管腔内結晶が見られ、回復性試験の 100 mg/kg 群の雄 1 例では腎盂に結晶が観察された。結晶の組成は不明であるが、これらの結晶は褐色から黄色で、脆く、楕円形であり、扇形配列を示すか又は個々の結晶凝集塊の不規則な集団であった。結晶の存在に伴って、尿細管の変性、拡張、炎症及び腎盂の移行上皮過形成が認められた。これらの変化は高用量群（予定臨床用量での曝露量の 80 倍）のみに見られたことから、バリシチニブ投与に関連した影響と考えられた。

イヌの 6 ヵ月間及び 9 ヵ月間反復投与毒性試験において、バリシチニブ投与により、その薬理作用から予想される免疫抑制（Ghoreschi et al. 2009）が認められた。イヌの免疫機能が低下すると、皮膚に常在するイヌニキビダニの感染により毛包虫症が発症することがある（Owen 1972）。全身性毛包虫症は重度の全身性病変であり、その多くは二次的細菌感染（化膿性毛包虫症）により悪化し、しばしば足皮膚炎を伴う。イヌの毛包虫症ダニは、主に好酸球を介した非特異的免疫機序によって制御されるが、好酸球の機能及び生存と JAK/STAT シグナル伝達の間には密接な正の相関性が認められている（Pazdrak et al. 1995; Stout et al. 2004）。6 ヵ月間及び 9 ヵ月間反復投与毒性試験では、バリシチニブの強力な JAK/STAT 阻害作用により好酸球数が減少し、好酸球機能が低下することにより毛包虫症が多数のイヌで発症した可能性がある。また、毛包虫症のイヌは、全身性のリンパ節腫脹、嗜眠、深在性膿皮症を伴う発熱、せつ腫症又は全身性疾患を示唆する蜂窩織炎を示す場合がある（Merck 2008）。毛包虫症に伴う死亡率の増加及び炎症により、6 ヵ月間反復投与毒性試験の解釈が困難となった。イヌを用いた 9 ヵ月間反復投与毒性試験では毛包虫症が発症することが予想されたことから、広範囲の抗寄生虫作用を有するアベルメクチン系薬物であるイベルメクチンを投与開始 10 週目から全例に予防的に投与（2 週に 1 回）した。約 5 ヵ月間のバリシチニブ投与後、毛包虫症が認められたため、イベルメクチンの投与頻度を上げ、全例で週 1 回投与とした。その後、3 及び 9/6 mg/kg 群の複数の動物で全身性毛包虫症の臨床徴候が見られたため、投与 29 週目にイベルメクチンの連日投与を開始した。3 及び 9/6 mg/kg 群で症状が見られた大部分の症例については、イベルメクチンに加えて、抗生物質（エンロフロキサシン及びセファレキシン）の併用投与、非ステロイド系抗炎症剤（エトドラク）などの疼痛緩和剤

及びその他の支持治療薬を投与した。これらの群の少数例については、抗真菌剤、駆虫薬、抗ヒスタミン剤又はその他の鎮痛剤も投与した。バリシチニブ投与との関連性が不確定な所見として、肝門脈領域の細胞浸潤／炎症が、9/6 mg/kg 群の雄及び 3 mg/kg 以上の投与群の雌に見られた。この変化に伴う胆管過形成が、投与期間終了時の剖検では 3 mg/kg 以上の投与群の雌雄に、回復期間終了時の剖検では 3 mg/kg 以上の投与群の雌で認められた。本試験で使用したイベルメクチン及び非ステロイド系抗炎症剤は主に胆管を介して排泄されること、エトドラクはイヌで消化管障害を示すことが知られている（Cayen et al. 1981; Scott et al. 1992; EtoGesic® 2004）。これらの薬物を反復投与（一部は長期）した際の各々の相互作用、及びバリシチニブとの相互作用については明確な評価を下すことはできなかったことから、本試験で見られたイヌの肝病変とバリシチニブとの関連性については明らかでない。毛包虫症は、免疫機能が抑制された際に発現するイヌに特異的な疾患であり、ヒトの健康に重大な影響を与えるものではないと考えられる（Ferrer et al. 2014）。

イヌで一貫して見られた血液学的変化は、軽微から軽度の赤血球パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少であったが、これは休薬期間終了時には部分的又は完全に回復した。イヌにおける赤血球パラメータの変化は軽度から重度の毛包虫症の発症に伴って見られ、慢性貧血で見られる変化に類似していた。また、赤血球の減少はバリシチニブの薬理作用である JAK 阻害作用から予測される変化（Neubauer et al. 1998）であった。好酸球数が減少したが、休薬期間終了時には回復が見られた。好酸球数の減少は、バリシチニブの薬理作用による可能性があると考えられた（Pazdrak et al. 1995; Stout et al. 2004）。以上のように、血液学的変化は軽微から軽度で、おおむね休薬期間終了時には回復した。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では、骨格奇形（四肢弯曲及び肋骨異常）及び骨格変異の発現頻度の増加が、中及び高用量群の胎児に認められた。ウサギでは、母動物に毒性が見られたのと同じ用量で、骨格奇形（肋骨及び椎骨の異常）の発現頻度の増加が見られた。JAK/STAT 経路は、特に STAT3 経路を介して初期胚発生に関与する（Aaronson and Horvath 2002）。胎児の発生においては上皮系細胞の極性化に基づき形態形成が生じるが、JAK/STAT 経路は、細胞接着、細胞極性の確立及び極性変化にも関与する（Hombría and Sotillos 2008）。ラット及びウサギの所見に基づくと、妊娠中にバリシチニブを服薬した場合、又はバリシチニブを服薬中に妊娠した場合には、ヒト胎児に危険が及ぶ可能性が示唆される。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトの蛋白結合率（CTD 第 2.6.4 項、表 2.6.4-12）を用いて、非結合体の血漿中濃度に基づく安全域を算出した。すべての毒性試験において、1 を上回る安全域が得られたものの、バリシチニブはリンパ系に対して強力な薬理作用を及ぼし、それによる二次的作用も示すことから、安全域は比較的狭かった（表 2.6.6-17）。しかしながら、JAK 阻害作用による血液学的パラメータの可逆的な変化は、心臓、腎臓及び肝臓の変化と比較して、概して発現がより早く、より低い用量で認められた。臨床ではこれらの所見に基づき適切なリスク管理を行う予定である（CTD 第 2.4 項、2.7.4 項）。

以上の毒性試験成績を踏まえると、関節リウマチを有する成人患者を対象としたバリシチニブ投与について申請する用法及び用量は妥当なものと考える。

表 2.6.6-17 バリシチニブを 4 mg の用量でヒトに経口投与したときの安全域

動物種 試験	用量	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)	非結合体の $AUC_{0\text{-}24hr}$[a] (ng•hr/mL)	非結合体の 安全域
ヒト[b]	4 mg	477.6	238.8	–
ラット 6 ヵ月間反復投与毒性試験の NOAEL	5 mg/kg	1616	792	3.3
イヌ 9 ヵ月間反復投与毒性試験の NOAEL	0.5 mg/kg	447.5	246	1.0
ラット 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の NOAEL				
雄ラットの生殖能	15 mg/kg	5859	2870.9	12.0
雌ラットの生殖能	5 mg/kg	1972	966.3	4.0
ラット 胚・胎児発生に関する試験の NOAEL 胚・胎児発生	2 mg/kg	1092	535.1	2.2
ウサギ 胚・胎児発生に関する試験の NOAEL 胚・胎児発生	10 mg/kg	3027	1422.7	6.0
ラット 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の NOAEL				
F_1 発達	2 mg/kg	840	411.6	1.7
F_0 母動物、F_1 の生殖、F_2 児の生存	25 mg/kg	10300	5047	21.1
ラット 2 年間がん原性試験の NOEL				
雄	8 mg/kg	2874	1408.3	5.9
雌	25 mg/kg	12964	6352.4	26.6
マウス 6 ヵ月間がん原性試験の NOEL				
雄	300 mg/kg	26400	11616	48.6
雌	150 mg/kg	37200	16368	68.5

略語：$AUC_{0\text{-}24hr}$ = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、NOAEL = 無毒性量、NOEL = 無影響量

[a] In vitro 試験から算出した血漿中蛋白非結合型分率はラットで 49%、マウスで 44%、イヌで 55%、ウサギで 47%、ヒトで 50%であった。

[b] 関節リウマチ患者に 4 mg/日の用量で投与したときの AUC は、臨床第 2/3 相試験の母集団薬物動態解析により算出した（CTD 第 2.7.2.3.1.2 項）。薬物動態パラメータに人種（日本人/外国人）による影響は認められなかった。

2.6.6.10 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Aaronson DS, Horvath CM. A road map for those who don’t know JAK-STAT. Science. 2002;296(5573):1653-1655.

Ananthakrishnan R, Hallam K, Li Q, Ramasamy R. JAK-STAT pathway in cardiac ischemic stress. Vascul Pharmacol. 2005;43(5):353-356.

Awad S, Al-Haffar KM, Marashly Q, Quijada P, Kunhi M, Al-Yacoub N, et al. Control of histone H3 phosphorylation by CaMKIIδ in response to haemodynamic cardiac stress. J Pathol. 2015;235(4):606-618.

Booz GW, Day JN, Baker KM. Interplay between the cardiac renin angiotensin system and JAK-STAT signaling: role in cardiac hypertrophy, ischemia/reperfusion dysfunction, and heart failure. J Mol Cell Cardiol. 2002;34(11):1443-1453.

Cayen MN, Kraml M, Ferdinandi ES, Greselin E, Dvornik D. The metabolic disposition of etodolac in rats, dogs, and man. Drug Metab Rev. 1981;12(2): 339-362.

EtoGesic® (Etodolac). 2004. Label, NADA 141-108. Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, Iowa (2004). Available at: http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/DrugLabels/UCM050389.pdf. Accessed November 26, 2015.

Ferrer L, Ravera I, Silbermayr K. Immunology and pathogenesis of canine demodicosis. Vet Dermatol. 2014;25(5):427-e65.

Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. Immunol Rev. 2009;228(1):273-278.

Hombría JC, Sotillos S. Disclosing JAK/STAT links to cell adhesion and cell polarity. Semin Cell Dev Biol. 2008;19(4):370-378.

Jokinen MP, Lieuallen WG, Boyle MC, Johnson CL, Malarkey DE, Nyska A. Morphologic aspects of rodent cardiotoxicity in a retrospective evaluation of National Toxicology Program studies. Toxicol Pathol. 2011;39(5):850-860.

Kurdi M, Booz GW. Can the protective actions of JAK-STAT in the heart be exploited therapeutically? Parsing the regulation of interleukin-6-type cytokine signaling. J Cardiovasc Pharmacol. 2007;50(2):126-141.

Ling H, Zhang T, Pereira L, Means CK, Cheng H, Gu Y, et al. Requirement for Ca^{2+}/calmodulin-dependent kinase II in the transition from pressure overload-induced cardiac hypertrophy to heart failure in mice. J Clin Invest. 2009;119(5):1230-1240.

Merck and Co. Inc. "Mange in Dogs and Cats" Merck Veterinary Manual: Whitehouse Station, New Jersey. Available at: http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/72005.htm. 2008. Accessed November 26, 2015.

Neubauer H, Cumano A, Muller M, Wu H, Huffstadt U, Pfeffer K. JAK2 deficiency defines an essential developmental checkpoint in definitive hematopoiesis. Cell. 1998;93(3):397-409.

Owen LN. Demodectic mange in dogs immunosuppressed with antilymphocyte serum. Transplantation. 1972;13(6):616-617.

Pazdrak K, Stafford S, Alam R. The activation of the JAK-STAT1 signaling pathway by IL-5 in eosinophils. J Immunol. 1995;155(1):397-402.

Scott EW, McKellar QA. The distribution and some pharmacokinetic parameters of ivermectin in pigs. Vet Res Commun. 1992;16(2):139-146.

Stout BA, Bates ME, Liu LY, Farrington NN, Bertics PJ. IL-5 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor activate STAT3 and STAT5 and promote Pim-1 and Cyclin D3 protein expression in human eosinophils. J Immunol. 2004;173(10):6409-6417.

オルミエント錠４ｍｇ
オルミエント錠２ｍｇ

2.6.7　毒性試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary 1
2.6.7.1 Toxicology: Overview 1
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies 4
2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data for Baricitinib 5
2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance 8
2.6.7.5 Single-Dose Toxicity 11
2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Nonpivotal Studies 12
2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in Mice 13
2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in HRAS Mice 16
2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity: 3-Month Study in Mice 22
2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats 26
2.6.7.7E Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats 31
2.6.7.7F Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Beagle Dogs 37
2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs 42
2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs 55
2.6.7.8A Genotoxicity: In Vitro, Bacterial Mutation 78
2.6.7.8B Genotoxicity: In Vitro: Chromosome Aberration 79
2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo, Micronucleus 80
2.6.7.10A Carcinogenicity: 6-Month Study in RasH2 Mice 81
2.6.7.10B Carcinogenicity: 2-Year Study in Rats 84
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies 88
2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development 89
2.6.7.13A Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryofetal Development in Rat 94
2.6.7.13B Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryofetal Development in Rabbit 97
2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development 100
2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals (Not Applicable) 109
2.6.7.16 Local Tolerance (Not Applicable) 109
2.6.7.17 Other Toxicity Studies: Phototoxicity, Ocular Irritation, and Acute Dermal .. 110

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Type of Study	Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Document ID	Location in CTD
Single-Dose Toxicity								
	Mouse, CD-1	Oral gavage	1 day	0, 100, 300, 600	No	Incyte Corporation	T08-05-05	4.2.3.1.2
	Mouse, CD-1	Oral gavage	1 day	0, 600, 900, 1200	No	Incyte Corporation	T08-07-05	4.2.3.1.1
	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	1 day	0, 50, 100, 200, 400	No	Incyte Corporation	T07-06-09	4.2.3.1.4
	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	1 day	0, 200, 600	No	Incyte Corporation	T07-06-12	4.2.3.1.3
	Dog, beagle	Oral gavage	1 day	5, 10, 20, 40	No	[redacted]	T07-07-09	4.2.3.1.5
	Dog, beagle	Oral gavage	1 day	2, 10	No	[redacted]	T07-08-03	4.2.3.1.6
Repeat-Dose Toxicity								
	Mouse, CD-1	Oral gavage	8 days	0, 100, 250, 500	No	Incyte Corporation	T08-05-10	4.2.3.2.2
	Mouse, CD-1	Oral gavage	28 days	0, 10, 75, 250, 500	Yes	[redacted]	T08-07-08	4.2.3.2.1
	Mouse, HRAS	Oral gavage	1 month	0, 75, 150, 300	Yes	[redacted]	8268827	4.2.3.2.11
	Mouse, CD-1	Oral gavage	3 months	0, 10, 75, 150	Yes	[redacted]	T08-09-01	4.2.3.2.3
	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	10 days	0, 10, 30, 100, 300	No	[redacted]	T07-10-10	4.2.3.2.5
	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	1 month + 4-week recovery period	0, 2, 10, 40	Yes	[redacted]	T07-11-01	4.2.3.2.4
	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	6 months + 6-week recovery period	0, 0.5, 5, 25, 100/60	Yes	[redacted]	T08-04-05	4.2.3.2.6
	Dog, beagle	Oral gavage	7 days	0, 3, 10, 30	No	[redacted]	T07-10-09	4.2.3.2.8
	Dog, beagle	Oral gavage	1 month + 4-week recovery period	0, 0.15, 0.45, 3	Yes	[redacted]	T07-12-03	4.2.3.2.7

(continued)

2.6.7.1 Toxicology: Overview (continued)

Type of Study	Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Document ID	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity (concluded)								
	Dog, beagle	Oral gavage	6 months + 6-week recovery period	0, 0.25, 1/0.75, 5/2.5, 20/15/5	Yes	[redacted]	T08-04-04	4.2.3.2.9
	Dog, beagle	Oral gavage	9 months + 6-week recovery period	0, 0.25, 0.5, 3, 9/6	Yes	[redacted]	8221785	4.2.3.2.10
Genotoxicity, In Vitro								
Bacterial mutation	Bacteria	Cell culture	48 hours	50 – 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	T08-01-02	4.2.3.3.1.1
Chromosome aberration	HPBL	Cell culture	4-20 hours	5 – 1200 µg/mL	Yes	[redacted]	T08-01-01	4.2.3.3.1.2
Genotoxicity, In Vivo								
In vivo micronucleus	Rat, CD (Crl:CD)	Oral gavage	2 days	200, 400, 800	Yes	[redacted]	T08-01-05	4.2.3.3.2.1
Carcinogenicity								
	Mouse, 001178-T	Oral gavage	6 months	0, 15, 40, 300 (M) 0, 10, 30, 150 (F)	Yes	[redacted]	8291245	4.2.3.4.2.1
	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	2 years	0, 1, 3, 8 (M) 0, 3, 8, 25 (F)	Yes	[redacted]	8253534	4.2.3.4.1.1
Reproductive and Developmental Toxicity								
Fertility/early embryonic development	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	43-44 Days (M) 22-35 Days (F)	0, 5, 15, 50 (M) 0, 5, 25, 100 (F)	Yes	[redacted]	[redacted]-353240	4.2.3.5.1.1
Embryo/fetal pilot	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6-17	0,25, 75, 150, 300	Yes	[redacted]	T08-05-02	4.2.3.5.2.2
Embryo/fetal	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6-17	0, 2, 10, 40	Yes	[redacted]	T08-07-01	4.2.3.5.2.1
Embryo/fetal pilot	Rabbit, NZW	Oral gavage	5 days	30, 100, 300, 600	No	[redacted]	T08-04-03	4.2.3.5.2.4

(continued)

2.6.7.1 Toxicology: Overview (concluded)

Type of Study	Species, Strain	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP	Testing Facility	Document ID	Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity (concluded)								
Embryo/fetal pilot	Rabbit, NZW	Oral gavage	GD 7-20	0, 20, 40, 60, 80	Yes	[redacted]	T08-05-03	4.2.3.5.2.5
Embryo/fetal	Rabbit, NZW	Oral gavage	GD 7-20	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]	T08-07-02	4.2.3.5.2.3
Pre/postnatal	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6-LD 20	0, 2, 5, 25	Yes	[redacted]	[redacted]-353280	4.2.3.5.3.1
Other Toxicity Studies								
Phototoxicity	Balb/c 3T3 mouse fibroblasts	In vitro	1 day	1.28 to 22.8 mg/L	Yes	[redacted]	20007788	4.2.3.7.7.1
Ocular irritation	Bovine cornea	In vitro	1 day	0.75 mL of 20% suspension	Yes	[redacted]	[redacted] 12-20568.09	4.2.3.7.7.2
Acute dermal	Rabbit, NZW	Topical	1 day	1000	Yes	[redacted]	[redacted] 12-20568.02	4.2.3.7.7.3

Abbreviations: GD = gestation day, LD = lactation day, NZW = New Zealand White.

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Type of Study	Species	Route	Doses (mg/kg)	GLP	Document ID	Location in CTD
Repeat-dose, 1-month	Mouse	Oral gavage	0, 10, 75, 250, 500	Yes	T08-07-08	4.2.3.2.1
Repeat-dose, 1-month	Mouse	Oral gavage	0, 75, 150, 300	Yes	8268827	4.2.3.2.11
Repeat-dose, 3-month	Mouse	Oral gavage	0, 10, 75, 150	Yes	T08-09-01	4.2.3.2.3
Repeat-dose, 1-month	Rat	Oral gavage	0, 2, 10, 40	Yes	T07-11-01	4.2.3.2.4
Repeat-dose, 1-month	Dog	Oral gavage	0, 0.15, 0.45, 3	Yes	T07-12-03	4.2.3.2.7
Repeat-dose, 6-month	Rat	Oral gavage	0, 0.5, 5, 25, 100/60	Yes	T08-04-05	4.2.3.2.6
Repeat-dose, 6-month	Dog	Oral gavage	0, 0.25, 1/0.75, 5/2.5, 20/15/5	Yes	T08-04-04	4.2.3.2.9
Repeat-dose, 9-month	Dog	Oral gavage	0, 0.25, 0.5, 3, 9/6	Yes	8221785	4.2.3.2.10
Carcinogenicity, 6-month	Mouse	Oral gavage	0, 15. 40, 300 (males) 0, 10, 30, 150 (females)	Yes	8291245	4.2.3.4.2.1
Carcinogenicity, 2-year	Rat	Oral gavage	0, 1, 3, 8 (males) 0, 3, 8, 25(females)	Yes	8253534	4.2.3.4.1.1
Embryo/fetal	Rat	Oral gavage	0, 2, 10, 40	Yes	T08-07-01	4.2.3.5.2.1
Embryo/fetal	Rabbit	Oral gavage	0, 3, 10, 30	Yes	T08-07-02	4.2.3.5.2.3
Fertility/early embryonic development	Rat	Oral gavage	0, 5, 15, 50 (males) 0, 5, 25, 100 (females)	Yes	[redacted]-353240	4.2.3.5.1.1
Pre/postnatal	Rat	Oral gavage	0, 2, 5, 25	Yes	[redacted]-353280	4.2.3.5.3.1

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data for Baricitinib

Daily Dose (mg/kg)	Steady State C_{max} (ng/mL) and AUC (ng•hr/mL)													
	Mice				Rats				Dogs				Rabbits	
	C_{max}		AUC_{0-24hr}		C_{max}		AUC_{0-24hr}		C_{max}		AUC_{0-24hr}		C_{max}	AUC_{0-24hr}
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	F	F
0.15									32.6[a]	37.5[a]	153[a]	147[a]		
0.25									72.8[b]	79.1[b]	363[b]	401[b]		
0.25									47.9[c]	45.3[c]	285[c]	261[c]		
0.45									118[a]	131[a]	542[a]	553[a]		
0.5					39.0[d]	73.5[d]	178[d]	264[d]						
0.5									85.1[c]	94.0[c]	446[c]	449[c]		
1/0.75									264[b]	240[b]	1374[b]	1259[b]		
1					100[e]		410[e]							
2					148[f]	129[f]	461[f]	498[f]						
2						222[g]		1092[g]						
2						174[h]		840[h]						
3									858[a]	947[a]	3974[a]	4754[a]		
3									631[c]	735[c]	3246[c]	4085[c]		
3													297[i]	1096[i]
3					279[e]	371[e]	1161[e]	1188[e]						
5					423[d]	494[d]	1367[d]	1865[d]						
5/2.5									962[b]	1293[b]	5608[b]	7168[b]		
5					598[j]	1046[j]	1875[j]	2233[j]						
5						493[h]		2110[h]						
8					678[e]	1052[e]	2874[e]	3801[e]						
9/6									1909[c]	1586[c]	9211[c]	8283[c]		

(continued)

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data for Baricitinib (continued)

Daily Dose (mg/kg)	Steady State C_{max} (ng/mL) and AUC (ng•hr/mL)													
	Mice				Rats				Dogs				Rabbits	
	C_{max}		AUC_{0-24hr}		C_{max}		AUC_{0-24hr}		C_{max}		AUC_{0-24hr}		C_{max}	AUC_{0-24hr}
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	F	F
10					1033[f]	906[f]	2737[f]	2867[f]						
10													1125[i]	3027[i]
10						1311[g]		4866[g]						
10		753[k]		2470[k]										
10	1456[l]	1649[l]	3168[l]	3053[l]										
10	1241[m]	1025[m]	2838[m]	2411[m]										
15					1790[j]		5859[j]							
15	320[k]		1340[k]											
20/15/5									2173[b]	1920[b]	12851[b]	11477[b]		
25					4234[d]	5274[d]	10363[d]	14151[d]						
25						5105[j]		12130[j]						
25						2610[e]		12964[e]						
25						2150[h]		10300[h]						
30													6388[i]	20094[i]
30		3780[k]		9160[k]										
40					4123[f]	6834[f]	12814[f]	17754[f]						
40						6760[g]		26259[g]						
40	768[k]		2030[k]											
50					6038[j]		26870[j]							
75	4857[n]	11300[n]	14765[n]	21755[n]										
75	9360[l]	12331[l]	18014[l]	17865[l]										
75	10585[m]	10437[m]	20057[m]	18497[m]										

(continued)

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data for Baricitinib (concluded)

Daily Dose (mg/kg)	Steady State C_{max} (ng/mL) and AUC (ng•hr/mL)													
	Mice				Rats				Dogs				Rabbits	
	C_{max}		AUC_{0-24hr}		C_{max}		AUC_{0-24hr}		C_{max}		AUC_{0-24hr}		C_{max}	AUC_{0-24hr}
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	F	F
100/60						8877[d]		35396[d]						
100					11848[d]		42342[d]							
100						9285[j]		44722[j]						
150	8483[n]	13187[n]	21793[n]	22664[n]										
150		12300[k]		37200[k]										
150	13780[m]	13408[m]	49399[m]	35768[m]										
250	20131[l]	23177[l]	60913[l]	73913[l]										
300	9323[n]	12543[n]	24030[n]	31271[n]										
300	5280[k]		26400[k]											
500	18200[l]	17382[l]	70941[l]	79855[l]										

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration-time curve, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, M = male.

[a] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 27 (T07-12-03).
[b] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 154/182 (T08-04-04).
[c] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 231/269 (8221785).
[d] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day181 (T08-04-05).
[e] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 176 (8253534).
[f] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 28 (T07-11-01).
[g] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Gestation Day 17 (T08-07-01).
[h] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Lactation Day 4 ([redacted]-353280).
[i] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 20 (T08-07-02).
[j] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 28 for males and on Day 14 for females ([redacted]-353240).
[k] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 176 (8291245).
[l] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 27 (T08-07-08).
[m] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 90 (T08-09-01).
[n] C_{max} and AUC_{0-24hr} on Day 28 (8268827).

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance

Lot Number	Purity (%)	Specified Impurities (%)						Document ID	Location in CTD	Type of Study
		INCB-021500[a]	INCB-032304[b]	INCB-033471[c]	INCB-033472[d]	INCB-033474[e]	INCB-034032[f]			
Specification	[redacted] – [redacted]									
[redacted][g,i]	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	T08-05-05	4.2.3.1.2	Single-dose, mouse
[redacted][g,i]	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	T07-07-09	4.2.3.1.5	Single-dose, dog
								T08-05-10	4.2.3.2.2	Repeat-dose, 8-day, mouse
[redacted][i]	[redacted]	ND	ND	ND	NR	ND	NR	T08-07-05	4.2.3.1.1	Single-dose, mouse
								T08-07-08	4.2.3.2.1	Repeat-dose, 1-month, mouse
								T08-09-01	4.2.3.2.3	Repeat-dose, 3-month, mouse
								T08-04-05	4.2.3.2.6	Repeat-dose, 6-month, rat
								T08-04-04	4.2.3.2.9	Repeat-dose, 6-month, dog
								T08-07-01	4.2.3.5.2.1	Embryo/fetal, rat
								T08-07-02	4.2.3.5.2.3	Embryo/fetal, rabbit
								20007788	4.2.3.7.7.1	Phototoxicity
[redacted][g,i]	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	T07-06-09	4.2.3.1.4	Single-dose, rat
								T07-06-12	4.2.3.1.3	Single-dose, rat
[redacted][g,i]	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	T07-10-10	4.2.3.2.5	Repeat-dose, 10-day, rat
								T07-10-09	4.2.3.2.8	Repeat-dose, 7-day, dog

(continued)

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance (Continued)

Lot Number	Purity (%)	Specified Impurities (%)						Document ID	Location in CTD	Type of Study
		INCB-021500[a]	INCB-032304[b]	INCB-033471[c]	INCB-033472[d]	INCB-033474[e]	INCB-034032[f]			
[redacted]h	[redacted]	NR	NR	NR	NR	NR	NR	8268827	4.2.3.2.11	Repeat-dose, 1-month, mouse
								8291245	4.2.3.4.2.1	Carcinogenicity, mouse
								8253534	4.2.3.4.1.1	Carcinogenicity, rat
								[redacted]-353280	4.2.3.5.3.1	Pre/postnatal, rat
[redacted]i	[redacted]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	T07-11-01	4.2.3.2.4	Repeat-dose, 1-month, rat
								T07-12-03	4.2.3.2.7	Repeat-dose, 1-month, dog
								T08-01-02	4.2.3.3.1.1	Bacterial mutation
								T08-01-01	4.2.3.3.1.2	Chromosome aberration
								T08-01-05	4.2.3.3.2.1	In vivo micronucleus
								T08-04-03	4.2.3.5.2.4	Embryo/fetal pilot, rabbit
[redacted]i	[redacted]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	T08-04-05	4.2.3.2.6	Repeat-dose, 6-month, rat
								T08-04-04	4.2.3.2.9	Repeat-dose, 6-month, dog
								T08-05-02	4.2.3.5.2.2	Embryo/fetal pilot, rat
								T08-05-03	4.2.3.5.2.5	Embryo/Fetal pilot, rabbit

(continued)

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance (Concluded)

Lot Number	Purity (%)	Specified Impurities (%)						Document ID	Location in CTD	Type of Study
		INCB-021500[a]	INCB-032304[b]	INCB-033471[c]	INCB-033472[d]	INCB-033474[e]	INCB-034032[f]			
[i,j]		ND NQ	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	8221785	4.2.3.2.10	Repeat-dose, 9-month, dog
[i]		ND	ND	ND	ND	ND	ND	-353240	4.2.3.5.1.1	Fertility/early embryonic development, rat
[h]		ND	ND	ND	ND	ND	ND	12-20568.09	4.2.3.7.7.2	Ocular irritation
								-12-20568.02	4.2.3.7.7.3	Acute dermal, rabbit
Lot number not listed in report[i]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	T07-08-03	4.2.3.1.6	Single-dose, dog

Abbreviations: NA = not applicab e ND = below the limit of detection, NQ = below the limit of quantitation, NR = only results exceeding 0.05% are reported.

a

b

c

d

e

f

g No Certifica e of Analysis available.

h INCB028050 as the free base (Baricitinib).

i INCB028050 phosphate (Compound 3009106).

j Two certificates of analysis were listed for same lot. Dose formulations used throughout the study were based on a purity of %. A purity of % was reported on the second Certificate of Analysis provided by the sponsor to extend the period of use for the test article through the remainder of the study.

2.6.7.5 Single-Dose Toxicity

Species Strain	Route	Test article Doses[a] (mg/kg)	Sex #/Group	Obs Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Document ID (Location in CTD)
Mouse, CD-1	Oral[b]	0, 100, 300, 600	10M, 10F	600	>600	600 mg/kg: cool to the touch, partially closed eyes, staining in the urogenital area	T08-05-05 (4.2.3.1.2)
Mouse, CD-1	Oral[b]	0, 600, 900, 1200	10M, 10F	1200	>1200	≥600 mg/kg: discoloration of the urine (pink) ≥900 mg/kg: wet material/staining of the urogenital region	T08-07-05 (4.2.3.1.1)
Rat, Sprague-Dawley	Oral[b]	0, 50, 100, 200, 400	6M, 6F (4M, 4F at 100 mg/kg)	400	>400	≥100 mg/kg: reddening of the ears, paws, and testes	T07-06-09 (4.2.3.1.4)
Rat, Sprague-Dawley	Oral[b]	0, 200, 600	6M, 6F	600	>600	≥200 mg/kg: slight redness of the ears 600 mg/kg: slight staining around the eyes and nose; moderate staining on face, forelimbs, and urogenital area	T07-06-12 (4.2.3.1.3)
Dog, beagle	Oral[b]	2, 10	1M, 1F	10	>10	2 mg/kg only: protrusion of the nictitating membrane	T07-08-03 (4.2.3.1.6)
Dog, beagle	Oral[b]	5, 10, 20, 40	1M, 1F	40	>40	≥5 mg/kg: protrusion of the nictitating membrane, ↓activity, emesis, eye swollen, lacrimation ≥20 mg/kg: mucoid, soft feces, and/or watery feces; ears reddened 40 mg/kg: ataxia, tremors	T07-07-09 (4.2.3.1.5)

Abbreviations: ↓ = decrease, # = number, F = female, M = male, Obs = observed.

[a] Single doses of monophosphate salt.

[b] Administered by gavage in vehicle (0.5% aqueous methylcellulose).

2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Nonpivotal Studies

Species Strain	Route	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	Sex #/Group	Noteworthy Findings	Document ID (Location in CTD)
Mouse, CD-1	Oral	8 days	0, 100, 250,500	13M, 13F	No noteworthy findings NOAEL = 500 mg/kg	T08-05-10 (4.2.3.2.2)
Rat, Sprague-Dawley	Oral	10 days	0, 10, 30, 100, 300	6M, 6F	≥10 mg/kg: ↓ spleen wt.; hypocellularity bone marrow ≥30 mg/kg: ↓ thymus wt, ↓ adrenal gland wt; hypocellularity spleen and thymus ≥100 mg/kg: hypocellularity mesenteric lymph node 300 mg/kg: mortality;2% body wt loss (males); ↓ reticulocytes; ↓ lymphocytes; ↓ thrombocytes; ↑ BUN; ↑ liver wt; severe hepatocellular degeneration and necrosis; cardiomyopathy; nonregenerative anemia	T07-10-10 (4.2.3.2.5)
Dog, beagle	Oral	7 days	0, 3, 10, 30	2M, 2F	≥3 mg/kg: ↓ reticulocytes; ↑ basophils; ↑ large unstained cells; ↓ phosphorus; ↓ total protein; ↓ albumin; ↓ bone marrow cells ≥10 mg/kg: lacrimation; protrusion of nictitating membrane; periocular swelling; injected sclera; shivering; reddening of the ears; soft and/or watery feces; ↑ urea nitrogen; ↓ Ca 30 mg/kg: mortality; ↓ BW; ↓ FC; decreased activity; skin cool to touch; red or green discoloration of feces; red material in cage pan; inappetance, labored breathing; loss of skin elasticity; ↓ erythrocytes; ↓ Hb; ↓ HCT; ↓ leukocytes; ↑ SDH; ↓ Na; red discoloration of the small and large intestinal mucosa; red discoloration of the mesenteric lymph node; severe intestinal pathology accompanied by a decrease in the cellularity of spleen, thymus, mesenteric lymph nodes, Peyer's patches, lymphocytes, bone marrow	T07-10-09 (4.2.3.2.8)

Abbreviations: # = number, ↓ = decrease, ↑ = increase, BUN = blood urea nitrogen, BW = body weight, Ca = calcium, F = female, FC = food consumption, Hb = hemoglobin, HCT = hematocrit, M = male, Na = sodium, NOAEL = no-observed-adverse-effect level, SDH = sorbitol dehydrogenase, wt = weight.

[a] Vehicle = 0.5% methylcellulose (400 cps) in deionized water.

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in Mice

Report title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of INCB028050 in Mice

Species/strain: Mice/CD-1
Initial age: 8 weeks old at initiation of dosing
Date of first dose: [redacted]
NOAEL: 75 mg/kg

Special features: None

Duration of dosing: 1 Month
Duration of reversibility: NA
Route: Oral
Vehicle: 0.5% (w/v) methylcellulose [low viscosity (400 cps)] in reverse osmosis (RO) water

Document ID: T08-07-08 (4.2.3.2.1)
GLP compliance: Yes
Test Article: Baricitinib phosphate

Composite Toxicokinetics

Sample: Plasma | Analyte: Baricitinib | Number of animals: 3 animals/sex/group/time point
Feeding condition: Fed | Dose frequency: Daily | Assay/Method: LC-MS/MS; DMB-09-31-1 (4.2.2.1.2)

Dose (mg/kg)	10		75		250		500	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Toxicokinetics (Day 0)								
C_{max} (ng/mL)[a]	1608	1709	11254	9843	19351	19462	22917	23845
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)[a]	3035	2555	26037	16825	68713	57570	82455	80598
T_{max} (hr)	0.50	0.50	0.50	0.50	2.00	1.00	2.00	0.50
$T_{1/2}$ (hr)	1.19	4.50	2.00	2.49	2.00	2.96	2.31	4.13
Toxicokinetics (Day 27)								
C_{max} (ng/mL)[a]	1456	1649	9360	12331	20131	23177	18200	17382
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)[a]	3168	3053	18014	17865	60913	73913	70941	79855
T_{max} (hr)	0.50	0.50	0.50	0.50	1.00	1.00	0.50	0.50
$T_{1/2}$ (hr)	1.64	1.85	3.82	2.87	2.29	2.48	4.40	2.21

(continued)

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in Mice (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		75		250		500	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings – terminal necropsy										
Died or euthanized moribund [b,d]	0	0	0	1	1	0	0	0	1	4
Clinical signs (n)[d]										
Soiling, dry, yellow, urogenital area	1	0	0	0	0	0	1	0	3	0
Soiling, dry, yellow, ventral area	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Thinness	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Tremors, intermittent	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Convulsions upon handling	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Defecation, decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Dermal atonia	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Cool to touch	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Respiration, labored	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Body weight (g), Week 4 (% change)[c]	32.5	26.2	↑2.5	↑2.3	↑1.2	↑1.9	↑4.0	↑6.5	↑6.2	↑5.7
Body weight gain (g), Week 0-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption, g/animal/day, Week 3-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Hematology, Week 4										
White Blood Cells ($10^3/\mu L$)	4.60	5.74	5.18	3.19	6.01	4.01	3.78	4.42	3.18	3.18
Lymphocytes ($10^3/\mu L$)	3.49	4.61	3.93	2.56	4.17	3.02	1.85	2.28*	1.46*	1.72*
Red Blood Cell ($10^6/\mu L$)	10.03	9.37	9.49	9.74	9.44	9.90	8.91	9.05	8.87	8.53
Red Cell Width (%)	12.6	13.1	13.2	13.0	13.4	13.6	13.9*	13.9	15.5**	15.6**
Hemoglobin (g/dL)	15.5	15.1	14.8	15.8	14.9	15.7	14.2	14.6	14.7	14.2
Hematocrit (%)	48.1	47.3	45.6	48.8	46.0	47.8	43.0	44.4	44.4	43.6
Reticulocytes Abs ($10^3/\mu L$)	235.5	254.7	308.8	205.8	243.2	232.6	227.7	148.2*	226.2	163.1
Platelets ($10^3/\mu L$)	1162	1154	1227	1253	1341	1288	1619	1789	1898*	1955*
Neutrophils Abs ($10^3/\mu L$)	0.89	0.90	1.08	0.48	1.63	0.81	1.60	1.98	1.54	1.26
Coagulation	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE

(continued)

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in Mice (Concluded)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		75		250		500	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Clinical chemistry, Week 4										
Urea nitrogen (mg/dL)	20.3	19.7	26.0	19.3	22.5	21.0	25.3	21.9	24.6	54.0
Urinalysis	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Macroscopic Examinations (n)[d]										
Kidney										
Pale	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3
Small	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2

Abbreviations: ↑ = increase, – = no important findings, Abs = Absolute, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, M = male, NA = not applicable, NE = not evaluated, NOAEL = no-observed-adverse effect level, $T_{1/2}$ = half-life, T_{max} = time to maximum concentration.

a Data was converted from µM or µM•hr to ng/mL or ng•hr/mL, respectively, by multiplying the value by molecular weight of baricitinib, which is 371.42.

b One male and 1 female were given 500 mg/kg were euthanized in extremis on study days 21 and 14, respectively. Three female given 500 mg/kg were found dead (study days 9, 26 and 12). The cause of death for the animals that were found dead was undetermined, but considered to be test article-related. One male in the 75 mg/kg group and one female in the 10 mg/kg group were also found dead. Macroscopic findings for these two animals were consistent with dosing accidents (gavage error).

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

d Number of animals or tissues.

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in HRAS Mice

Report title: A Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Mice Given LY3009104 by Oral Gavage for 1 Month

Species/strain: Model 001178-W (wild type), CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic mice

Duration of dosing: 1 Month

Document ID: 8268827 (4.2.3.2.11)

Initial age: 8 Weeks old at initiation of dosing

Duration of reversibility: NA

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]

Route: Oral

Test Article: Baricitinib

NOAEL: 300 mg/kg (males) and 150 mg/kg (females)

Vehicle: 0.5% (w/v) methylcellulose [low viscosity (400 cps)] in reverse osmosis (RO) water

Special features: Transgenic mice (wild type) used as test system

Composite Toxicokinetics									
Sample: Plasma	Analyte: Baricitinib				Number of animals: 3 animals/sex/group/time point				
Feeding condition: Fed	Dose frequency: Once Daily				Assay/Method: LC-MS/MS; 8232102 (4.2.2.1.1)				
Dose (mg/kg)	0 (Control)		75		150		300		
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	
Toxicokinetics (Day 1) [a]									
C_{max} (ng/mL)	NC	NC	2553	8673	5053	8727	7620	10080	
(SD)			(2177)	(1152)	(2964)	(2352)	(2018)	(3115)	
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	8482	15951	17846	18764	28831	80700	
(SEM)			(1891)	(2302)	(2092)	(1900)	(5630)	(7943)	
Toxicokinetics (Day 28)[a]									
C_{max} (ng/mL)	NC	NC	4857	11300	8483	13187	9323	12543	
(SD)			(1855)	(1664)	(1800)	(5574)	(3590)	(2785)	
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	14765	21755	21793	22664	24030	31271	
(SEM)			(1258)	(2442)	(2447)	(2821)	(2579)	(2872)	

(continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in HRAS Mice (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		75		150		300	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings								
Died or euthanized moribund	0	0	0	0	1[b]	1[b]	0	0
Body weight (g), Day 29 (% change)[c]	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption, cumulative average	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical signs (n)[d]								
hunched	0	0	0	0	0	0	0	1
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Enzyme induction	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Hematology								
Red blood cell ($10^6/\mu L$)	10.02	9.88	9.61	9.42*	9.37*	9.10*	9.23*	8.46*
Hemoglobin (g/dL)	15.1	14.5	14.3	14.4	14.1*	14.0	13.9*	12.8*
Hematocrit (%)	54.0	54.0	52.7	52.0	51.7	50.8*	50.1*	46.5*
Reticulocyte ($10^3/\mu L$)	263.8	246.0	182.7*	251.0	208.3*	245.0	200.2*	128.4*
Platelet ($10^3/\mu L$)	919	697	1232	966	1450	1060	1424	1534*
Neutrophil ($10^3/\mu L$)	0.33	0.34	0.42	0.39	0.51*	0.46	0.55*	0.66*
Lymphocyte ($10^3/\mu L$)	1.58	1.41	0.66*	0.89	0.75*	0.78*	0.73*	0.79*
Eosinophil ($10^3/\mu L$)	0.08	0.09	0.06	0.05	0.05	0.08*	0.04	0.04*
Clinical chemistry								
Blood urea nitrogen (mg/dL)	16	18	19	17	17	18	18	41
Creatinine (mg/dL)	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.5
Urinalysis	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Gross pathology (n)[d]								
Kidney								
Discolored	0	0	0	0	0	0	0	4

(continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in HRAS Mice (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		75		150		300	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings (continued)								
Organ weight, mg/100 g, (% change)[c]								
Epididymis								
Absolute Weight (g)	0.0972	NA	↓7	NA	↓8	NA	↓13*	NA
Body Weight Ratio (%)	0.3532	NA	↓8	NA	↓10	NA	↓15*	NA
Brain Weight Ratio (%)	20.7058	NA	↓8	NA	↓7	NA	↓13*	NA
Testis								
Absolute Weight (g)	0.2753	NA	↓4	NA	↓6	NA	↓8	NA
Body Weight Ratio (%)	1.0002	NA	↓5	NA	↓8	NA	↓10*	NA
Brain Weight Ratio (%)	58.5748	NA	↓5	NA	↓5	NA	↓7	NA
Ovary								
Absolute Weight (g)	NA	0.0194	NA	↑6	NA	↑18	NA	↓24*
Body Weight Ratio (%)	NA	0.0920	NA	↑1	NA	↑13	NA	↓22*
Brain Weight Ratio (%)	NA	4.0546	NA	↑5	NA	↑15	NA	↓25*
Uterus								
Absolute Weight (g)	NA	0.0882	NA	↑40	NA	↑25	NA	↓22
Body Weight Ratio (%)	NA	0.4230	NA	↑32	NA	↑19	NA	↓23
Brain Weight Ratio (%)	NA	18.5034	NA	↑38	NA	↑22	NA	↓24
Thymus								
Absolute Weight (g)	0.0412	0.0499	↓39*	↓22*	↓45*	↓30*	↓57*	↓59*
Body Weight Ratio (%)	0.1485	0.2358	↓40*	↓25*	↓46*	↓33*	↓57*	↓59*
Brain Weight Ratio (%)	8.7457	10.4213	↓40*	↓23*	↓45*	↓32*	↓57*	↓60*
Spleen								
Absolute Weight (g)	0.0808	0.0841	↓31*	↓34*	↓38*	↓29*	↓39*	↓42*
Body Weight Ratio (%)	0.2925	0.3974	↓32*	↓37*	↓39*	↓32*	↓41*	↓42*
Brain Weight Ratio (%)	17.2093	17.5443	↓32*	↓35*	↓38*	↓30*	↓39*	↓43*

(continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in HRAS Mice (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		75		150		300	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings								
Kidney								
Absolute Weight (g)	0.3941	0.2668	↓8	↓5	↓6	↓2	↓12*	↑10
Body Weight Ratio (%)	1.4273	1.2608	↓9*	↓9*	↓8*	↓6	↓15*	↑14
Brain Weight Ratio (%)	83.8389	55.7119	↓9*	↓6	↓6	↓4	↓12*	↑9
Histopathology (n)[d]								
# examined	10	10	10	10	9	9	10	10
Kidney								
Degeneration/necrosis, tubule								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	4
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2
Dilatation, tubule(s)								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Regeneration, tubule cell								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	4
Mineralization, tubule								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	5
Marrow, Femur								
Hypocellular								
Minimal	0	0	5	10	9	7	10	3
Slight	0	0	0	0	0	2	0	4
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1

(continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in HRAS Mice (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		75		150		300	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:9	F:9	M:10	F:10
Noteworthy Findings								
Histopathology (n)[d] (continued)								
Marrow, Sternum								
Hypocellular								
Minimal	0	0	4	4	7	7	9	7
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen								
Lymphocytes, decreased								
Minimal	0	0	7	5	9	5	7	2
Slight	0	0	0	1	0	1	2	6
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Thymus								
Lymphocytes, decreased								
Minimal	0	0	5	3	5	2	7	1
Slight	0	0	0	0	1	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Marked	0	0	0	0	0	0	0	2
Lymph Node, Mesenteric								
Lymphocytes, decreased								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Testis								
Degeneration, seminiferous tubule								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA

(continued)

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study in HRAS Mice (Concluded)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		75		150		300	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:9	F:9	M:10	F:10
Noteworthy Findings								
Histopathology (n)[d] (concluded)								
Epididymis								
Debris, cellular, increased, lumen								
Minimal	0	NA	6	NA	7	NA	10	NA
Ovary								
Corpora lutea, mature/regressing, decreased								
Minimal	NA	5	NA	7	NA	2	NA	2
Slight	NA	1	NA	1	NA	2	NA	7
Uterus								
Atrophy								
Slight	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, – = no important findings, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, NE = not evaluated, NOAEL = no-observed-adverse effect level, SD = standard deviation, SEM = standard error of the mean.

[a] Values represent 3 animals/sex/group/time point except on Day 28 which had 2 animals for the following time points: Group 3 females and Group 4 males at predose and 24 hours postdose and Group 4 females at predose. Units of ng/mL or ng•hr/mL can be converted to nM or nM•hr, respectively, by multiplying the above value by 2.6924, which takes into account molecular weight of 371.42.

[b] These animals were found dead and the cause of death was related to gavage injury or was not determined.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

[d] Number of animals or tissues.

* $p \leq 0.05$ (Dunnett's test).

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity: 3-Month Study in Mice

Report title: A 3-Month Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of INCB028050 in Mice

Species/strain: Mice/CD-1(ICR)
Initial age: 8 weeks old at initiation of dosing
Date of first dose: [redacted]
NOAEL: 10 mg/kg

Special features: None

Duration of dosing: 3 Months
Duration of reversibility: NA
Route: Oral
Vehicle: 0.5% (w/v) methylcellulose [low viscosity (400 cps)] in reverse osmosis (RO) water

Document ID: T08-09-01 (4.2.3.2.3)
GLP compliance: Yes
Test Article: Baricitinib phosphate

Composite Toxicokinetics

Sample: Plasma | Analyte: Baricitinib | Number of animals: 3 animals/sex/group/time point
Feeding condition: Fed | Dose frequency: Daily | Assay/Method: LC-MS/MS; DMB-09-31-1 (4.2.2.1.2)

Dose (mg/kg)	10		75		150	
Sex	M	F	M	F	M	F
Toxicokinetics (Day 0)						
C_{max} (ng/mL)[a]	1668	1311	12145	15265	17717	18905
AUC_{0-24hr} (ng•hr/mL)[a]	3194	2834	22694	27077	57199	52370
T_{max} (hr)	0.50	0.50	0.50	0.50	1.00	0.50
$T_{1/2}$ (hr)	1.18	1.30	0.98	0.84	1.94	1.16
Toxicokinetics (Day 90)						
C_{max} (ng/mL)[a]	1241	1025	10585	10437	13780	13408
AUC_{0-24hr} (ng•hr/mL)[a]	2838	2411	20057	18497	49399	35768
T_{max} (hr)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
$T_{1/2}$ (hr)	1.17	1.29	1.09	2.26	1.24	2.45

(continued)

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity: 3-Month Study in Mice (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		75		150	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings								
Died or euthanized moribund	0	0	0	0	0	0	2[b]	2[b]
Clinical signs (n)[c]								
Hypoactivity	0	0	0	0	0	0	2	1
Dermal atonia	0	0	0	0	0	1	1	1
Labored respiration	0	1	0	0	0	0	1	1
Body cool to touch	0	1	0	0	0	0	2	1
Convulsion upon handling	0	0	0	0	0	0	0	1
Body weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, Week 13								
Red blood cell count (mil/μL)	9.76	9.20	9.32	8.86	8.84*	8.94	8.91*	9.07
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	15.3	16.2	15.9	16.3	16.4*	16.4	16.5*	16.2
Red cell width (%)	12.6	12.4	12.8	13.0	13.4**	13.5	13.2*	13.5
Platelet count (thous/μL)	1206	1250	1331	1386	1699**	1328	1736**	1410
Absolute lymphocyte count (thous/μL)	4.10	4.31	3.16	3.12	2.51*	2.08	2.39*	2.09
Leukocytes (white cells, thous/μL)	5.16	5.48	5.01	4.24	4.41	3.13	4.55	3.32
Lymphocyte (%)	79.4	78.8	66.9	71.6	58.1**	67.3	52.4**	62.8*
Serum chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights, (% change)[d]								
Adrenal gland								
Absolute Weight (g)	0.0050	0.0121	0.0	↓14.9	↓8.0	↓22.3*	↓8.0	↓22.3*
Body Weight Ratio, g/100g BW (%)	0.015	0.042	↓6.7	↓16.7	↓13.3	↓21.4*	↓6.7	↓23.8*
Brain Weight Ratio, g/100g BrW (%)	1.050	2.561	↓0.1	↓16.8	↓10.0	↓25.8*	↓9.2	↓22.6*

(continued)

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity: 3-Month Study in Mice (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		75		150	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings (continued)								
Organ weights, g/100g BW (% change)[d]								
Spleen								
Absolute Weight (g)	0.0773	0.0910	↓16.0	↓14.7	↓25.7**	↓26.8*	↓32.1**	↓27.4*
Body Weight Ratio, g/100g BW (%)	0.222	0.317	↓15.3	↓17.7	↓26.1**	↓26.8*	↓30.2**	↓28.7*
Brain Weight Ratio, g/100g BrW (%)	16.353	19.430	↓15.4	↓18.1	↓27.7**	↓30.5**	↓32.8**	↓28.3*
Thymus								
Absolute Weight (g)	0.0264	0.0372	↓9.1	↓11.8	↓21.6	↓26.6	↓9.1	↓16.1
Body Weight Ratio, g/100g BW (%)	0.076	0.130	↓7.9	↓14.6	↓21.1	↓26.9	↓6.6	↓19.2
Brain Weight Ratio, g/100g BrW (%)	5.572	7.986	↓7.6	↓15.4	↓21.7	↓31.0	↓9.9	↓18.4
Histopathology (n)[c]								
Marrow, femur								
Hypocellular								
Minimal	0	0	0	0	1	0	4	2
Mild	0	0	0	0	0	0	3	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver								
Infiltrate, mononuclear								
Minimal	6	5	4	7	1	1	0	1
Lacrimal gland exorbital								
Infiltrate, lymphocyte								
Minimal	2	1	3	0	1	0	0	0
Mild	3	0	0	0	0	0	0	0
Moderate	1	0	0	0	0	0	0	0
Spleen								
Depletion, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0

(continued)

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity: 3-Month Study in Mice (Concluded)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		75		150	
Sex: Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings (concluded)								
Histopathology (n)[c]								
Thymus								
Depletion, lymphoid								
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1
Lymph node, mandibular								
Depletion, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph node, mesenteric								
Depletion, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1

Abbreviations: ↓ = decrease, – = no important findings, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, BW = body weight, BrW = brain weight, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, M = male, NOAEL = no-observed-adverse effect level, T_{max} = time to maximum concentration, $T_{1/2}$ = half-life.

[a] Data was converted from µM or µM•hr to ng/mL or ng•hr/mL, respectively, by multiplying the value by molecular weight of baricitinib, which is 371.42.

[b] Two males and 2 females from the 150 mg/kg group died prior to the scheduled necropsy. The cause of death for male no. 3417 (study day 37) and female no. 3638 (study day 88) was attributed to a gavage error and considered accidental deaths. The cause of death for male no. 3355 (study day 62) and female no. 3617 (study day 91) was undetermined; however, a test article-related effect cannot be ruled out. Prior to death, hypoactivity, dermal atonia, labored respiration, and body cool to touch were noted for male no. 3355. Female no. 3617 was observed with labored respiration and convulsions upon handling.

[c] Number of animals or tissues.

[d] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

* p≤0.05, ** p≤0.01(Dunnett's test).

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats

Report title: INCB028050: A 28-Day Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Sprague-Dawley Rats Including a 4-Week Recovery Period

Species/strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial age: 6 Weeks
Date of first dose: [redacted]
NOAEL: 10 mg/kg
Special features: None

Duration of dosing: 4 Weeks
Duration of reversibility: 4 Weeks
Route: Oral gavage
Vehicle: 0.5% methylcellulose, 400 cps, in deionized water

Document ID: T07-11-01 (4.2.3.2.4)
GLP compliance: Yes
Test Article: Baricitinib Phosphate

Composite Toxicokinetics

Sample: Plasma | Analyte: Baricitinib | Number of animals: 3 Rats/ sex/group/time point
Feeding condition: Fed | Dose frequency: Daily | Assay/Method: LC-MS/MS; DMB-08-11-2 (4.2.2.1.4)

Dose (mg/kg)	0 (Control)		2		10		40	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Toxicokinetics (Day 1)								
C_{max} (ng/mL)[a]	NC	NC	120	103	839	813	3673	4828
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)[a]	NC	NC	354	435	2177	2689	10363	13445
T_{max} (hr)	NC	NC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
$T_{1/2}$ (hr)	NC	NC	5.17	7.79	4.66	4.36	4.06	3.21
Toxicokinetics (Day 28)	BLQ	BLQ						
C_{max} (ng/mL)[a]	NC	NC	148	129	1033	906	4123	6834
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)[a]	NC	NC	461	498	2737	2867	12814	17754
T_{max} (hr)	NC	NC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
$T_{1/2}$ (hr)	NC	NC	5.10	5.14	4.26	4.82	4.56	4.58

(continued)

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2		10		40	
Sex: Number of Animals	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
Noteworthy Findings – terminal necropsy[b,e]								
Died or euthanized moribund	0	0	0	0	1[e]	0	0	0
Clinical signs (n)[c]								
Hair sparse (Weeks 1-4)	10	4	12	5	8	8	17	2
Body weight (g), (% change)[d]								
Week 1	250.7	193.1	↓0.3	↓0.6	↓0.3	↓0.1	↓6.6**	↓5.8**
Week 2	308.9	218.1	↓1.9	↓2.2	↓3.1	↓0.2	↓6.1**	↓3.7
Week 3	357.3	237.9	↓3.2	↓4.5	↓5.8**	↓2.8	↓8.2**	↓5.4*
Week 4	396.9	253.9	↓3.7	↓5.0	↓7.2**	↓3.0	↓9.5**	↓6.5*
Food consumption, g/animal/day (% change)[d]								
Week 1	22.78	16.59	↓1.9	↑0.7	↑2.8	↑4.8	↓0.7	↑0.5
Week 2	25.98	17.97	↓4.0	↓3.2	↓4.1	↑6.9	↓1.2	↑1.7
Week 3	27.08	18.72	↓6.3	↓4.8	↓6.2	↓0.2	↓4.2	↓5.3
Week 4	27.32	19.01	↓5.7	↓5.9	↓10.0*	↓2.3	↓6.0	↓7.9
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, terminal								
Leukocytes ($10^3/\mu L$)	13.05	12.60	11.28	8.36**	9.42**	9.18*	7.57**	6.73**
Neutrophils ($10^3/\mu L$)	1.424	1.364	1.266	1.026	1.327	1.338	1.082	0.800**
Lymphocytes ($10^3/\mu L$)	11.048	10.648	9.484	6.960**	7.624**	7.502*	6.162**	5.744**
Eosinophils ($10^3/\mu L$)	0.100	0.138	0.089	0.088	0.065*	0.071**	0.069	0.046**
Basophils ($10^3/\mu L$)	0.087	0.081	0.056	0.049*	0.025**	0.029**	0.019**	0.016**
Large unstained cells ($10^3/\mu L$)	0.106	0.126	0.094	0.056**	0.067*	0.058**	0.049**	0.037**
Absolute Reticulocytes ($10^3/\mu L$)	149.78	180.53	134.94	112.46	117.78*	120.15	83.97**	78.84*

(continued)

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2		10		40	
Sex: Number of Animals	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weight (% change)[d]								
Spleen								
Absolute weight (g)	0.705	0.526	↓16.5	↓24.7**	↓30.9**	↓28.7**	↓39.4**	↓40.3**
Relative organ weight/body weight (%)	0.1949	0.2351	↓13.1	↓22.5**	↓24.1*	↓28.3**	↓32.3**	↓37.1**
Relative organ weight/brain weight (ratio)	0.3636	0.2869	↓14.6	↓21.9**	↓29.7**	↓27.6**	↓38.4**	↓39.3**
Thymus								
Absolute weight (g)	0.538	0.528	↓11.7	↓30.3**	↓28.8**	↓35.0**	↓46.7**	↓58.5**
Relative organ weight/body weight (%)	0.1498	0.2356	↓8.3	↓28.4**	↓22.8*	↓35.7**	↓41.1**	↓56.5**
Relative organ weight/brain weight (ratio)	0.2769	0.2883	↓10.2	↓27.3*	↓28.0**	↓33.5**	↓45.6**	↓57.8**
Histopathology (n)[c]								
Bone marrow, femur								
Depletion, mixed								
Minimal	0	0	0	0	0	5	4	10
Bone marrow, sternum								
Depletion, mixed								
Minimal	0	0	0	0	0	5	3	10
Lymph node, mandibular								
Histiocytosis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Lymph node, mesenteric								
Histiocytosis								
Minimal	0	0	0	0	9	9	10	9
Spleen								
Depletion lymphoid, generalized								
Minimal	0	0	0	0	0	0	6	4
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0

(continued)

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2		10		40	
Sex: Number of Animals	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
Noteworthy Findings – (continued)								
Thymus								
Depletion lymphoid, generalized								
Minimal	1	0	0	0	1	0	5	8
Mild	0	0	0	0	0	0	1	2
Noteworthy Findings – Recovery[b]								
# of animals designated for recovery	5	5	5	5	4	5	5	5
Body weight (g), (% change)[d]								
Week 5	427.4	253.6	↓3.6	↓5.2	↓7.5	↓6.0	↓12.0*	↓8.8*
Week 6	468.6	272.2	↓3.1	↓6.7	↓8.0	↓6.9	↓11.4*	↓10.5*
Week 7	488.4	278.8	↓1.7	↓7.7	↓9.0	↓10.9*	↓10.3	↓11.2*
Week 8	523.8	291.2	↓3.4	↓8.2	↓7.3	↓9.3*	↓10.2	↓10.0*
Food consumption, g/animal/day (% change)[d]								
Week 5	27.91	19.17	↓2.7	↓11.3	↓7.1	↓12.2	↓17.6**	↓15.3
Week 6	30.09	19.49	↓5.5	↓8.0	↓14.3	↓11.6	↓14.7	↓11.2
Week 7	29.54	20.83	↓2.0	↓12.0	↓6.9	↓14.5*	↓7.6	↓10.2
Week 8	26.89	24.57	↑9.7	↓25.2	↑8.5	↓22.1	↑2.8	↓19.2

(continued)

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats (Concluded)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2		10		40	
Sex: Number of Animals	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
Noteworthy Findings – Recovery (concluded)								
Organ weight, (% change)[d]								
Thymus								
Absolute weight (g)	0.623	0.334	↓31.9*	↑33.8	↓29.7	↑25.1	↓33.7*	↑14.4
Relative organ weight/body weight (%)	0.1290	0.1267	↓29.0*	↑47.8*	↓24.0	↑40.6	↓26.0*	↑30.2
Relative organ weight/brain weight (ratio)	0.3100	0.1826	↓33.0*	↑30.3	↓32.1	↑20.0	↓34.5*	↑20.8

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, – = no important findings, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, M = male, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, NOAEL = no-observed-adverse effect level, $T_{1/2}$ = half-life, T_{max} = time to maximum concentration.

a Data was converted from µM or µM•hr to ng/mL or ng•hr/mL, respectively, by multiplying the value by molecular weight of baricitinib, which is 371.42.

b 10 animals/sex/group were necropsied at the end of the four week dosing period. The remaining 4 or 5 animals/sex/group were maintained for a 4-week recovery period.

c Number of animals or tissues.

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

e One male at 10 mg/kg/day was euthanized in extremis during Week 2. This early death was not considered to be related to treatment.

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

2.6.7.7E Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats

Report title: INCB028050: A 6-Month Oral Toxicity And Toxicokinetic Study In Sprague-Dawley Rats Including A 6-Week Recovery
Species/strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial age: 6 weeks
Date of first dose: [redacted]
NOAEL: 5 mg/kg
Special features: Urine metabolite analysis
Duration of dosing: 6 Months
Duration of reversibility: 6 Weeks
Route: Oral gavage
Vehicle: 0.5% methylcellulose, 400 cps, in deionized water
Document ID: T08-04-05 (4.2.3.2.6)
GLP compliance: Yes
Test Article: Baricitinib Phosphate

Composite Toxicokinetics

Sample: Plasma | Analyte: Baricitinib | Number of animals: 3 animals/sex/group/time point
Feeding condition: Fed | Dose frequency: Daily | Assay/Method: LC-MS/MS; DMB-08-11-2 (4.2.2.1.4)

Dose (mg/kg)	0.5		5		25		100/60[b]	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Toxicokinetics (Day 1)								
C_{max} (ng/mL)[a]	19.0	29.8	268	420	2113	2830	6574	11625
AUC_{0-24hr} (ng•hr/mL)[a]	81.0	120	891	1185	4977	10028	29974	38999
T_{max} (hr)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
$T_{1/2}$ (hr)	2.56	4.87	3.65	4.81	3.85	2.62	2.88	3.72
Toxicokinetics (Day 28)[c]								
C_{max} (ng/mL)[a]	18.2	29.6	326	505	1623	2630	10697	9397
AUC_{0-24hr} (ng•hr/mL)[a]	78.0	104	1118	1571	6983	7577	47542	69456
T_{max} (hr)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	4.00
$T_{1/2}$ (hr)	3.08	5.51	5.63	4.26	2.91	3.59	2.96	4.21
Toxicokinetics (Day 181)								
C_{max} (ng/mL)[a]	39.0	73.5	423	494	4234	5274	11848	8877
AUC_{0-24hr} (ng•hr/mL)[a]	178	264	1367	1865	10363	14151	42342	35396
T_{max} (hr)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
$T_{1/2}$ (hr)	5.68	8.59	6.68	7.28	3.48	5.92	3.91	3.56

(continued)

2.6.7.7E Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.5		5		25		100/60[d]	
Sex: Number of Animals	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23
Noteworthy Findings – terminal necropsy[e]										
Died or euthanized moribund[f]	0	0	0	0	0	1	1	2	8	5
Clinical signs (n)[g]										
Skin discolored, red (various locations)	0	0	0	0	2	1	18	17	23	20
Body weight (g), Week 26 (% change)[h]	622.4	332.8	↓5	↑2	↓8	↓2	↓16**	↓1	↓27**	↓5
Body weight gain (g), Week (-1)-26	374.9	142.7	347.2	147.4	326.3*	137.1	278.5**	137.8	204.8**	124.1
Food consumption, g/animal/day, Week 26 (% change)[h]	25.62	18.38	↑2.8	↑6.4	↓0.5	↑1.0	↓3.1	↓0.1	↓12.4**	↑2.1
Food Consumption, # of weeks statistically decreased from control	NA	NA	0	0	1	0	15	2	22	2
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, Week 26										
Leukocytes ($10^3/\mu L$)	12.85	9.27	12.02	8.65	10.35	7.29*	6.28**	5.91**	5.34**	4.95**
Lymphocytes ($10^3/\mu L$)	10.281	7.399	9.179	6.855	7.851**	5.601*	4.574**	4.471**	3.254**	3.593**
Monocytes ($10^3/\mu L$)	0.327	0.318	0.373	0.299	0.361	0.226	0.196**	0.221*	0.239	0.175**
Eosinophils ($10^3/\mu L$)	0.194	0.128	0.204	0.113	0.170	0.089*	0.107**	0.083**	0.036**	0.062**
Basophils ($10^3/\mu L$)	0.075	0.054	0.061	0.042	0.041*	0.023**	0.017**	0.018**	0.011**	0.013**
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry, Week 26										
Urea nitrogen (mg/dL)	13.5	14.6	13.1	15.1	12.9	14.2	13.2	14.0	17.6*	15.1
Potassium (mEq/L)	6.23	6.85	6.51	6.92	6.58	6.81	7.20**	7.21	7.58**	7.53
Chloride (mEq/L)	102.0	102.0	102.0	102.1	101.9	101.5	102.2	102.5	104.3**	103.1
Albumin (g/dL)	3.28	3.88	3.39	3.81	3.36	3.53**	3.51**	3.52**	3.54**	3.72
Alkaline phosphatase (U/L)	85.7	48.1	100.4	46.1	90.9	56.8	118.7*	57.8	145.3**	86.1**
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(continued)

2.6.7.7E Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.5		5		25		100/60[d]	
Sex: Number of Animals	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23
Macroscopic observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weight, Week 26 (% change)[h]										
Spleen										
Absolute weight (g)	0.966	0.570	↓11.9	↓7.4	↓28.6**	↓20.5**	↓49.2**	↓30.9**	↓59.2**	↓35.6**
Relative organ weight/body weight (%)	0.1626	0.1883	↓7.81	↓11.7*	↓19.8**	↓18.3**	↓35.9**	↓31.6**	↓41.3**	↓29.9**
Relative organ weight/brain weight (ratio)	0.4461	0.2983	↓9.37	↓7.1	↓27.0**	↓21.6**	↓46.4**	↓31.7**	↓56.2**	↓37.3**
Thymus gland										
Absolute weight (g)	0.329	0.238	↑7.6	↑8.0	↓0.3	↑10.9	↓17.6	↓10.5	↓28.9	↓18.5
Relative organ weight/body weight (%)	0.0551	0.0783	↑10.2	↑4.1	↑10.0	↑11.9	↑4.0	↓12.1	↑1.5	↓10.6
Relative organ weight/brain weight (ratio)	0.1528	0.1243	↑10.5	↑8.8	↑1.4	↑9.8	↓12.6	↓11.1	↓23.2	↓20.7
Histopathology (n)[g]										
Bone marrow, femur										
Depletion, mixed										
Minimal	0	0	8	0	9	2	13	3	3	4
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0	12	0
Bone marrow, sternum										
Depletion, mixed										
Minimal	0	0	3	0	3	0	9	0	9	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0
Heart										
Cardiomyopathy										
Minimal	8	3	9	3	7	3	4	0	4	2
Mild	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Severe	0	0	0	0	0	0	0	0	3[i]	0
Kidney										
Crystals, intraluminal										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

(continued)

2.6.7.7E Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.5		5		25		100/60[d]	
Sex: Number of Animals	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23
Histopathology (n)[g], continued										
Kidney (continued)										
Degeneration/regeneration, tubular										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Dilatation, tubular										
Minimal	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Hyperplasia, transitional cell										
Minimal	1	0	0	0	1	0	0	0	0	2
Pyelitis										
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Pyelonephritis, bilateral										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Pyelonephritis, unilateral										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver										
Inflammation, subacute/chronic										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1[i]	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1[i]	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	4[i]	0
Lymph node, mesenteric										
Depletion, lymphoid, generalized										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	5	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Peyer’s patch										
Depletion, lymphoid, generalized										
Minimal	0	0	0	0	0	2	2	1	3	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	7	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

(continued)

2.6.7.7E Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.5		5		25		100/60[d]	
Sex: Number of Animals	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23	M:23	F:23
Histopathology (n)[g], continued										
Spleen										
Depletion, lymphoid, generalized										
Minimal	0	0	0	0	0	3	10	9	2	4
Mild	0	0	0	0	0	0	2	3	5	8
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	7	3
Severe	0	0	0	0	0	0	0	0	1[i]	1[i]
Thymus gland										
Depletion, lymphoid, generalized										
Minimal	0	1	0	0	0	0	1	0	1	3
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	4	5
Severe	0	0	0	0	0	1[i]	0	1[i]	6[i]	3[i]
Noteworthy Findings – recovery necropsy[e]										
# of animals designated for recovery	M:8	F:8	M:8	F:8	M:8	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Body weight (g), Week 32 (% change)[h]	624.4	372.5	↑0.5	↓1.5	↑0.9	↓4	↓7	↓10	↓18*	↓9
Organ weight, Week 32 (% change)[h]										
Thymus gland										
Absolute weight (g)	0.283	0.324	↑3.9	↓14.2	↑27.3	↓12.0	↑59.0*	↑0.6	↑25.1	↓14.2
Relative organ weight/body weight (%)	0.0462	0.0921	↑5.4	↓12.1	↑30.5	↓8.5	↑77.3**	↑10.5	↑58.2*	↓3.0
Relative organ weight/brain weight (ratio)	0.1338	0.1673	↑2.8	↓15.2	↑26.7	↓14.2	↑57.5*	↑2.0	↑28.1	↓13.4
Histopathology (n)[g]										
Kidney										
Crystals, intraluminal										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver										
Inflammation, subacute/chronic	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(continued)

2.6.7.7E Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Sprague-Dawley Rats (Concluded)

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, – = no important findings, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, M = male, NA = not applicable, NOAEL = no-observed-adverse effect level, $T_{1/2}$ = half-life, T_{max} = time to maximum concentration.

[a] Data was converted from µM or µM•hr to ng/mL or ng•hr/mL, respectively, by multiplying the value by molecular weight of 371.42

[b] Males were administered 100 mg/kg for the duration of the study. Females were administered 100 mg/kg for 23 consecutive doses, followed by a dosing holiday from Day 24-26 and administered 60 mg/kg for remainder of study.

[c] Day 23 for 100 mg/kg (male) and 100/60 mg/kg (female) groups.

[d] Males were administered 100 mg/kg for the duration of the study. Females were administered 100 mg/kg for 22 consecutive doses, followed by a dosing holiday from Day 23-26 and administered 60 mg/kg for remainder of study.

[e] 15 animals/sex/group were necropsied at the end of the dosing period and 8 animals/sex/group were necropsied at the end of the recovery phase with the following exceptions: due to early deaths, females given 5 mg/kg, males given 25 mg/kg, and animals (males and females) given 100/60 mg/kg had 16 animals evaluated in the treatment phase groups and 7 animals evaluated following the recovery phase.

[f] The cause of death for early death animals at 5 mg/kg and 25 mg/kg were attributed to gavage error or were undetermined. One male animal at 100 mg/kg and 5 female animals at 100/60 mg/kg were attributed to gavage error. The cause of death for seven male animals at 100 mg/kg was attributed to cardiomyopathy or liver inflammation/necrosis.

[g] Number of animals or tissues.

[h] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

[i] Observed in unscheduled death animals but not animals at the terminal sacrifice.

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

2.6.7.7F Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Beagle Dogs

Report title: INCB028050: A 28-Day Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Beagle Dogs including a 4-Week Recovery Period

Species/strain: Dog / Beagle | Duration of dosing: 28 Days | Document ID: T07-12-03 (4.2.3.2.7)

Initial age: 5-6 Months | Duration of reversibility: 4 Weeks | GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] | Route: Oral gavage | Test Article: Baricitinib Phosphate

NOAEL: 0.45 mg/kg | Vehicle: 0.5% methylcellulose, 400 cps, in deionized water

Special features: Electrocardiographic examinations, Pharmacodynamic evaluation, Urine metabolite analysis

Toxicokinetics

Sample: Plasma | Analyte: Baricitinib | Number of animals: 6/sex/group

Feeding condition: Fed | Dose frequency: Daily | Assay/Method: LC-MS/MS; DMB-08-12-2 (4.2.2.1.9)

Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.15		0.45		3	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Toxicokinetics, Day 1								
C_{max} (ng/mL)[a]	NC	NC	46.8	45.3	138	131	1010	1029
(SD)			(8.17)	(6.31)	(16.7)	(25.3)	(186)	(297)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)[a]	NC	NC	202	209	557	557	4606	5014
(SD)			(52.0)	(48.3)	(96.6)	(111)	(1337)	(1746)
T_{max} (hr)	NC	NC	1.17	1.00	1.00	1.17	1.17	1.50
(SD)			(0.41)	(0.0)	(0.0)	(0.41)	(0.41)	(0.55)
$T_{1/2}$ (hr)	NC	NC	2.50	2.36	2.88	2.64	3.46	3.41
(SD)			(0.76)	(0.52)	(0.69)	(0.94)	(0.60)	(0.60)
Toxicokinetics, Day 27								
C_{max} (ng/mL)[a]	NC	NC	32.6	37.5	118	131	858	947
(SD)			(6.69)	(5.94)	(32.7)	(26.0)	(297)	(409)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)[a]	NC	NC	153	147	542	553	3974	4754
(SD)			(48.3)	(33.4)	(219)	(137)	(1449)	(1709)
T_{max} (hr)	NC	NC	1.33	1.00	1.00	1.00	1.50	1.33
(SD)			(0.52)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.55)	(0.52)
$T_{1/2}$ (hr)	NC	NC	2.7	2.45	2.64	2.88	3.42	3.74
(SD)			(0.99)	(0.80)	(0.94)	(0.79)	(1.0)	(0.61)

(continued)

2.6.7.7F Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.15		0.45		3	
Sex: Number of Animals	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
Noteworthy Findings – terminal necropsy[b]								
Died or euthanized moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical signs (n)[c]								
Lacrimation								
Week 1	1	0	1	0	0	2	1	2
Week 2	3	0	1	0	0	2	3	3
Week 3	2	0	2	2	0	2	5	3
Week 4	2	0	3	1	0	2	4	3
Sclera injected								
Week 1	0	0	0	0	0	0	0	0
Week 2	0	0	0	0	0	0	2	0
Week 3	0	0	0	0	0	0	3	0
Week 4	0	0	0	1	0	1	2	0
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Day 29)								
Erythrocytes (10^6/μL)	6.445	6.393	6.453	6.307	6.430	6.453	5.685*	6.013
Hemoglobin (g/dL)	14.38	13.82	14.42	14.33	13.92	14.02	12.23*	13.03
Hematocrit (%)	41.13	39.98	41.35	40.93	40.18	40.77	35.88*	37.30
Absolute reticulocytes (10^3/μL)	39.65	30.68	43.58	29.38	29.90	32.72	20.35	15.67
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

(continued)

2.6.7.7F Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.15		0.45		3	
Sex: Number of Animals	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
Macroscopic observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (n)[c]								
Bone marrow, rib								
Hypocellular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Bone marrow, sternum								
Hypocellular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Lymph node, mandibular								
Depletion, lymphoid, germinal center								
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph node, mesenteric								
Depletion, lymphoid, germinal center								
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Depletion, lymphoid, follicular								
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Necrosis								
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Peyer’s patch								
Depletion, lymphoid, marginal zone								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Necrosis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen								
Depletion, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3

(continued)

2.6.7.7F Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.15		0.45		3	
Sex: Number of Animals	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
Histopathology (n)[c], concluded								
Thymus gland								
Depletion, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	1	3	0
Noteworthy Findings –Recovery								
# of animals designated for recovery	2	2	2	2	2	2	2	2
Died or euthanized moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical signs (n)[c]								
Lacrimation								
Week 5	1	0	1	1	0	0	1	1
Week 6	1	0	1	1	0	0	1	1
Week 7	1	0	0	0	0	0	1	1
Week 8	1	0	1	0	0	0	1	2
Sclera injected								
Week 5	0	0	0	0	0	0	0	0
Week 6	0	0	0	0	0	0	0	0
Week 7	0	0	0	0	0	0	0	0
Week 8	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Day 56)								
Erythrocytes ($10^6/\mu L$)	6.630	6.185	6.220#	6.980#	6.735#	6.455#	5.885#	6.970#
Hemoglobin (g/dL)	14.65	13.70	14.10#	15.75#	14.40#	14.35#	13.00#	15.05#
Hematocrit (%)	43.70	40.50	42.20#	46.50#	42.65#	42.65#	38.80#	44.30#
Absolute reticulocytes ($10^3/\mu L$)	41.35	55.80	24.95#	28.55#	50.70#	22.10#	48.80#	18.00#
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

(continued)

2.6.7.7F Repeat-Dose Toxicity: 1-Month Study with a 4-Week Recovery in Beagle Dogs (Concluded)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.15		0.45		3	
Sex: Number of Animals	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
Macroscopic observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (n)[c]	-	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations: – = no important findings, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, M = male, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, NOAEL = no-observed-adverse effect level, SD = standard deviation, $T_{1/2}$ = half-life, T_{max} = time to maximum concentration.

a Data was converted from µM or µM•hr to ng/mL or ng•hr/mL, respectively, by multiplying value by molecular weight of 371.42.

b 4 animals/sex/group were necropsied at the end of the four week dosing period. The remaining 2 animals/sex/group were maintained for a 4-week recovery period.

c Number of animals or tissues.

* $p \leq 0.05$ (Dunnett's test).

No statistical analysis performed.

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs

Report title: INCB028050: A 6-Month Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Beagle Dogs Including a 6-Week Recovery

Species/strain: Dog / Beagle
Initial age: 5 Months
Date of first dose: [redacted]
NOAEL: 0.25 mg/kg

Duration of dosing: 6 Months
Duration of reversibility: 6 Weeks
Route: Oral gavage
Vehicle: 0.5% methylcellulose, 400 cps, in deionized water

Document ID: T08-04-04 (4.2.3.2.9)
GLP compliance: Yes
Test Article: Baricitinib Phosphate

Special features: Electrocardiographic examinations, Immunophenotype evaluations.

Toxicokinetics

Sample: Plasma | Analyte: Baricitinib | Number of animals:7 animals/sex/group
Feeding condition: Fed | Dose frequency: Daily | Assay/Method: LC-MS/MS; DMB-08-10-1 (4.2.2.1.10)

Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Toxicokinetics, Day 1										
C_{max} (ng/mL)[a]	NC	NC	76.1	70.9	369	320	1456	1664	4271	3825
(SD)			(10.0)	(7.06)	(115)	(55.7)	(289)	(445)	(1077)	(854)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)[a]	NC	NC	333	349	1574	1523	6686	8246	31088	23437
(SD)			(89.1)	(78.0)	(557)	(186)	(1486)	(2377)	(12257)	(5200)
T_{max} (hr)	NC	NC	1.14	1.29	1.29	1.14	1.00	1.14	2.14	1.71
(SD)			(0.38)	(0.49)	(0.49)	(0.38)	(0.0)	(0.38)	(0.90)	(1.1)
$T_{1/2}$ (hr)	NC	NC	2.64	3.14	2.75	2.94	3.19	3.72	2.93	3.03
(SD)			(0.63)	(0.74)	(0.60)	(0.27)	(0.47)	(1.6)	(0.59)	(0.30)

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Toxicokinetics, Day 29										
C_{max} (ng/mL)[a]	NC	NC	73.2	83.2	276	220	802	977	1266	1527
(SD)			(12.6)	(9.66)	(66.9)	(40.9)	(130)	(156)	(520)	(156)
AUC_{0-24hr} (ng•hr/mL)[a]	NC	NC	409	479	1389	1241	4457	5720	7094	7280
(SD)			(163)	(123)	(668)	(126)	(1597)	(1411)	(3380)	(1077)
T_{max} (hr)	NC	NC	1.14	1.29	1.14	1.29	1.29	1.57	1.57	1.14
(SD)			(0.38)	(0.49)	(0.38)	(0.49)	(0.49)	(0.53)	(0.53)	(0.38)
$T_{1/2}$ (hr)	NC	NC	4.15	4.87	4.22	4.19	4.23	4.63	4.47	4.15
(SD)			(1.2)	(0.71)	(0.72)	(0.63)	(0.79)	(0.43)	(1.3)	(0.76)
Toxicokinetics, Day 154/182[f]										
C_{max} (ng/mL)[a]	NC	NC	72.8	79.1	264	240	962	1293	2173	1920
(SD)			(18.9)	(9.29)	(74.3)	(44.6)[g]	(446)[g]	(238)[h]	(282)[i]	(409)[g]
AUC_{0-24hr} (ng•hr/mL)[a]	NC	NC	363	401	1374	1259	5608	7168	12851	11477
(SD)			(89.1)	(78.0)	(706)	(267)[g]	(2786)[g]	(1337)[h]	(2043)[i]	(3417)[g]
T_{max} (hr)	NC	NC	1.00	1.00	1.14	1.00	1.50	1.00	1.80	1.17
(SD)			(0.0)	(0.0)	(0.38)	(0.0)[g]	(0.55)[g]	(0.0)[h]	(1.3)[i]	(0.41)[g]
$T_{1/2}$ (hr)	NC	NC	3.13	3.20	3.18	3.11	4.43	4.11	3.73	3.93
(SD)			(0.53)	(0.75)	(0.56)	(0.55)[g]	(1.0)[g]	(1.1)[h]	(0.28)[i]	(0.40)[g]

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Noteworthy Findings – terminal necropsy[p]										
Early termination[e]	0	0	0	0	0	1	5	5	5	5
Clinical signs (n) [j]										
Demodicosis	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0
Emesis	30	30	18	14	26	23	20	33	36	25
Feces discolored, red	2	0	0	1	1	3	3	13	55	44
Feces soft	18	41	36	33	27	33	37	69	116	94
Hair sparse	14	0	7	6	20	28	16	12	21	10
Material in pan/bedding, red	0	8	1	2	1	5	1	7	14	14
Nictitating membrane protruding	0	2	1	0	0	0	3	5	14	34
Nodules (various size)	0	0	12	3	0	1	1	7	22	2
Scabbed areas (various body surfaces)	2	0	0	12	4	20	24	7	32	1
Sclera injected	8	45	2	4	7	7	6	15	18	18
Skin cold to touch	7	4	14	17	21	4	20	28	15	15
Skin discolored, red / Erythema	9	19	28	26	15	43	33	15	70	31
Skin thickened and leathery	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Swelling	0	0	0	0	2	7	2	4	2	10
Body weights (kg), (% change)[k]										
Week 1	8.671	7.325	↑0.8	↓1.0	↑3.6	↑4.5	↑3.7	↑3.4	↑0.3	↑2.6
Week 10	10.413	8.433	↑2.3	↓3.4	↑1.9	↑4.2	↑4.3	↑3.7	↑1.4	↑9.2
Week 20	11.124	8.997	↑2.1	↓4.7	↑1.0	↑4.0	↑1.0	↓2.8	↑1.8	↑8.0
Week 28	12.295	9.240	↓12.1	↓10.0	↓2.8	↓7.3	↓25.2	↓15.1	↓20.8	↓6.1
Food consumption, g/animal/day, (% change)[k]										
Week 1	256.52	263.94	↑10.2	↓15.6	↑22.3*	↑5.6	↑38.2**	↑15.4	↑16.7	↓1.5
Week 10	314.18	286.53	↑11.3	↓7.4	↑4.6	↑2.2	↑6.7	↓6.8	↑22.5*	↑7.9
Week 20	327.52	319.66	↑3.2	↓17.7	↓9.5	↓16.1	↓13.9	↓34.0**	↓13.6	↓29.6*
Week 28	282.93	199.57	↑2.3	↑11.6	↓22.3	↑21.2	↓69.9	↓21.5	↓40.6	↑26.5

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Physical examinations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic examinations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, Day 179[l]										
Leukocytes (10^3/µL)	11.87	10.80	9.86	10.61	11.64	12.31	10.90	14.60	12.33	8.97
Erythrocytes (10^6/µL)	7.147	7.116	7.249	7.033	7.034	6.956	6.417	6.570	6.637	6.280
Hemoglobin (g/dL)	16.61	16.26	16.34	15.84	15.23	15.71	13.03	13.47	13.67	12.50
Hematocrit (%)	46.00	44.79	45.64	44.29	43.29	43.94	39.28	40.97	40.70	38.12
Absolute reticulocytes (10^3/µL)	33.22	41.71	36.96	38.94	37.61	38.50	22.30	21.13	35.57	21.05
Neutrophils (10^3/µL)	7.961	6.973	6.679	7.791	8.186	8.946	7.592	10.453	8.693	6.353
Lymphocytes (10^3/µL)	2.956	2.979	2.426	2.121*	2.569	2.483	2.328	3.060	2.560	1.842
Monocytes (10^3/µL)	0.520	0.464	0.446	0.451	0.683	0.590	0.717	0.820	0.810	0.578
Eosinophils (10^3/µL)	0.286	0.307	0.180*	0.167	0.114**	0.157	0.115	0.083	0.107	0.085
Clinical chemistry, Day 179[g]										
Albumin (g/dL)	3.19	3.30	3.14	3.10	2.99	2.90	2.47	2.43	2.47	2.60
Globulin (g/dL)	2.93	2.87	3.33	2.81	3.39	3.27	4.12	3.60	4.00	3.07
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunophenotype measurements (n)	7	7	7	7	7	7				
Mature T cells (cells/µL)	1154.1	1390.1	877.9	857.0*	1046.3	1181.8	NE	NE	NE	NE
CD8+ T cells (% of lymphocytes)	13.186	16.523	12.646	12.264*	12.377	9.767**	NE	NE	NE	NE
CD8+ T cells (cells/µL)	263.4	309.9	187.0	177.7**	235.9	184.0**	NE	NE	NE	NE
Macroscopic observations (n)[j], Day 183[m]										
Ears										
Abrasion/scab										
Mild	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0
Swollen/thickened										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Macroscopic observations (n)[j], Day 183[m] (Continued)										
Skin										
Abrasion/scab										
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Swollen/thickened										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Histopathology (n)[j], Day 183[m]										
Kidney										
Inflammation, perivascular										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Large intestine, cecum										
Inflammation, granulomatous										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Large intestine, colon										
Inflammation, granulomatous										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Large intestine, rectum										
Inflammation, granulomatous										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Liver										
Inflammation, granulomatous, periportal										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Severe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Leukocytosis, vascular										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[j], Day 183[m] (Continued)										
Lung										
Inflammation, perivascular										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Leukocytosis, vascular										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymph node, mandibular										
Depletion, lymphoid, generalized										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hyperplasia, lymphoid, generalized										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hyperplasia, lymphoid, paracortex										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation, pyogranulomatous										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymph node, mesenteric										
Hyperplasia, lymphoid, paracortex										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation, pyogranulomatous										
Severe	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Skin										
Erosion/ulcer										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[j], Day 183[m] (Continued)										
Skin										
Exudates, epidermal surface										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Hyperplasia, epidermal										
Mild	0	0	0	0	0	0	1	2	2	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation, hair follicle, demodectic										
Minimal	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
Mild	0	0	0	1	0	0	1	2	1	2
Moderate	0	0	0	0	0	1	2	0	0	1
Severe	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
Small intestine, duodenum										
Congestion										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, granulomatous										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Inflammation, acute, mucosa										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, mononuclear cell, mucosa										
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Small intestine, jejunum										
Congestion										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[j], Day 183[m] (Continued)										
Small intestine, ileum										
Inflammation, granulomatous										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation, mononuclear cell, mucosa										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen										
Depletion, lymphoid, generalized										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Hyperplasia lymphoid, periarteriolar lymphoid sheaths										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Stomach, fundus										
Erosion										
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, granulomatous										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1
Inflammation, mononuclear cell, mucosa										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[j], Day 183[m] (Continued)										
Stomach, pylorus										
Inflammation, granulomatous										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1
Thymus										
Depletion, lymphoid, generalized										
Minimal	2	1	1	0	4	3	1	1	2	1
Mild	1	1	1	1	0	0	3	1	0	0
Moderate	1	0	1	0	0	0	0	2	0	3
Severe	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Noteworthy Findings – Recovery[n]										
# of animals designated for recovery	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Early termination	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
Clinical signs (n)[j]										
Feces soft	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
Hair sparse	0	0	0	0	1	0	2	1	2	2
Scabbed areas (various body surfaces)	1	0	0	0	0	0	2	0	1	0
Sclera injected	0	0	0	0	1	0	0	10	0	0
Skin cold to touch	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Skin discolored, red / Erythema	0	0	0	0	0	1	2	0	2	0
Body weight (kg), (% change)[k]										
Week 32	12.125	9.270	↓13.5	↓13.0	↓3.9	↓11.3	NA	NA	NA	NA
Food consumption, g/animal/day (% change)[k]										
Week 32	299	285.29	↑10.7	↓14.5	↑3.8	↓21.2	NA	NA	NA	NA
Immunophenotype measurements (insufficient N to evaluate recovery)	-	-	-	-	-	-	NE	NE	NE	NE
Macroscopic observations (n)[j], Day 225[o]										
Ears										
Swollen/thickened										
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Macroscopic observations (n)[j], Day 225[o] (Continued)										
Skin										
Abrasion/scab										
Mild	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Swollen/thickened										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Histopathology (n)[j], Day 225[o]										
Kidney										
Infiltration, lymphocytic, subcapsular										
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Liver										
Inflammation, granulomatous, periportal										
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Lung										
Inflammation, perivascular										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph node, cervical										
Inflammation, pyogranulomatous										
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph node, mandibular										
Depletion, lymphoid, generalized										
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[j], Day 225[o] (Continued)										
Lymph node, mandibular										
Hyperplasia, lymphoid, follicular										
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, pyogranulomatous										
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric										
Depletion, lymphoid, generalized										
Mild	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Lymph node, popliteal										
Hyperplasia, lymphoid, follicular										
Mild	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2
Inflammation, pyogranulomatous										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Skin										
Erosion/ulcer										
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0
Exudates, epidermal surface										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Mild	0	0	0	0	0	1	2	0	1	0
Hemorrhage										
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Hyperplasia, epidermal										
Mild	0	0	0	0	0	1	1	0	2	1

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		1/0.75[b]		5/2.5[c]		20/15/5[d]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[j], Day 225[o] (Continued)										
Skin										
Inflammation, hair follicle, demodectic										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Severe	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
Thymus										
Depletion, lymphoid, generalized										
Minimal	2	0	0	0	1	0	0	2	0	1
Mild	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1

(continued)

2.6.7.7G Repeat-Dose Toxicity: 6-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Concluded)

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, – = no important findings, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, NOAEL = no-observed-adverse effect level, SD = standard deviation, $T_{1/2}$ = half-life, T_{max} = time to maximum concentration.

a Data was converted from µM or µM•hr to ng/mL or ng•hr/mL, respectively, by multiplying value by molecular weight of 371.42.

b Starting on Day 17, the administered dosage was decreased to 0.75 mg/kg/day for the remainder of the study.

c Starting on Day 17, the administered dosage was decreased to 2.5 mg/kg/day for the remainder of the study.

d The dose level of 20 mg/kg was administered on Days 1-3. A 3-day dosing holiday was given and dosing resumed at 15 mg/kg on Day 7. A dose level of 15 mg/kg was administered on Days 7-11 followed by a 10-day dosing holiday. Dosing resumed at a dose level of 5 mg/kg on Day 22 and continued for the remainder of the study.

e Dosing was discontinued for one Group 3 female on Day 149 and the animal was allowed to recover. This animal was necropsied on Day 179. At 5/2.5 mg/kg (Group 4) and 20/15/5 mg/kg (Group 5), progressive clinical findings necessitated early euthanasia. Between Days 130 and 155, all main study animals in both groups were either euthanized in extremis, or terminated early. Dosing was discontinued early in both groups (the last day of dosing was day 154, Week 22) based on severe clinical findings, and two males and two females from each group were allowed to recover for six weeks. The recovery necropsy in Groups 4 and 5 occurred on Day 196.

f Day 182 for 0.25 mg/kg and 1.0/0.75 mg/kg groups; Day 154 for 5/2.5 mg/kg and 20/15/5 mg/kg groups.

g N=6.

h N=5; data for two female dogs were from Day 129 (other three were Day 154).

i N=5; data for one dog was Day 129 and one dog was Day 143 (other three were Day 154).

j Number of animals or tissues.

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

l Day 155 for Group 4 and 5 animals.

m Day 183 for Groups 1-3, Day 179 for Group 3 female 10140, and Day 155 for Group 4-5 animals. Scheduled necropsy observations only.

n All recovery animals in Groups 1 through 3 underwent recovery between Days 183 and 225. Dosing was discontinued for recovery animals in Groups 4 and 5 by Day 154 and these animals were allowed to recover for 6 weeks prior to their necropsy on Day 196.

o Day 225 for Groups 1-3 animals, Day 196 for Groups 4 and 5 animals.

p 5 animals/sex/group were designated as terminal necropsy animals on Day 183 and 2 animals/sex/group were designated recovery necropsy animals on Day 225.

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs

Report title: 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study with INCB028050 in Dogs with a 6-Week Recovery Phase

Species/strain: Dog/beagle
Initial age: 4 to 5 Months
Date of first dose: [redacted]
NOAEL: 0.5 mg/kg

Duration of dosing: 9 Months
Duration of reversibility: 6 Weeks
Route: Oral gavage
Vehicle: 0.5% (w/v) methylcellulose [low viscosity (400 cps)] in reverse osmosis water

Document ID: 8221785 (4.2.3.2.10)
GLP compliance: Yes
Test Article: Baricitinib Phosphate

Special features: Immunophenotyping was conducted. Dogs received a number of additional treatments (up to six additional drugs) for mange and pain/distress associated with the skin/subcutis inflammation. Dermal findings were often associated with follicular and extrafollicular acarine parasites (*Demodex canis*). Treatments included chronic administration of Ivermectin and multiple treatments with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and antibiotics. A few of the dogs also received antifungal, anthelmintic, antihistamine, or other analgesic treatment that included flunixin meglamine, cephalexin, Convenia®, Clavamox®, Enrofloxacin, Azithromycin, Fluconazole, Fenbendazole, Hydroxyzine, and Tramadol.

Toxicokinetics

Sample: Plasma | Analyte: Baricitinib | Number of animals: 7 animals/sex/group
Feeding condition: Fed | Dose frequency: Daily | Assay/Method: LC-MS/MS; DMB-08-12-2 (4.2.2.1.9)

Dose (mg/kg)	0.25 mg/kg		0.5 mg/kg		3 mg/kg		9/6 mg/kg[a]	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Day 1								
C_{max} (ng/mL)[b]	49.8	52.0	89.1	89.5	687	680	1909	1946
(SD)	(9.29)	(17.5)	(27.5)	(14.5)	(130)	(145)	(371)	(316)
T_{max} (hr)	1.36	0.857	1.07	1.07	1.07	1.07	1.21	1.57
(SD)	(0.63)	(0.24)	(0.45)	(0.45)	(0.45)	(0.45)	(0.57)	(0.53)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)[b]	242	234	371	401	2964	2997	9620	9657
(SD)	(70.6)	(63.1)	(108)	(52.0)	(338)	(371)	(2526)	(2303)
$T_{1/2}$ (hr)	3.87	2.80	2.86	2.54	3.88	3.30	3.44	3.13
(SD)	(1.2)	(0.88)	(0.95)	(0.68)	(0.31)	(0.23)	(0.51)	(0.37)

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Toxicokinetics

Dose (mg/kg)	0.25 mg/kg		0.5 mg/kg		3 mg/kg		9/6 mg/kg[a]	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Day 28								
C_{max} (ng/mL)[b]	47.5	53.1	80.2	95.5	657	657	2893	2195
(SD)	(11.5)	(16.0)	(31.2)	(23.0)	(134)	(85.4)	(1374)	(446)
T_{max} (hr)	1.14	0.929	1.00	1.00	1.00	0.857	1.50	1.29
(SD)	(0.63)	(0.19)	(0.50)	(0.50)	(0.0)	(0.24)	(0.65)	(0.49)
$AUC_{0\text{-}24hr}$(ng•hr/mL)[b]	238	250	365	394	2901	3049	19165	12257
(SD)	(55.7)	(55.7)	(130)	(66.9)	(409)	(446)	(19685)	(3491)
$T_{1/2}$ (hr)	4.02	3.50	3.20	3.35	4.09	3.54	4.59	3.68
(SD)	(1.2)	(1.1)	(1.2)	(1.0)	(0.51)	(0.46)	(1.1)	(0.46)
Day 58[c]								
C_{max} (ng/mL)[b]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2061	2132[e]
(SD)							(557)	(594)
T_{max} (hr)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.14	1.50[e]
(SD)							(0.90)	(0.55)
$AUC_{0\text{-}24hr}$(ng•hr/mL)[b]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	11254	11143[e]
(SD)							(2674)	(3454)
$T_{1/2}$ (hr)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.87	3.80[e]
(SD)							(0.62)	(0.60)
Day 78[d]								
C_{max} (ng/mL)[b]	42.3	45.0	82.5	91.0	613	743	1593[e]	1768[e]
(SD)	(4.46)	(13.0)	(13.0)	(20.4)	(111)	(81.7)	(557)	(353)
T_{max} (hr)	1.43	1.00	1.29	1.29	1.43	1.00	1.33[e]	1.00[e]
(SD)	(0.53)	(0.0)	(0.49)	(0.49)	(0.53)	(0.0)	(0.52)	(0.0)
$AUC_{0\text{-}24hr}$(ng•hr/mL)[b]	241	248	397	449	3064	3788	7540[e]	8617[e]
(SD)	(44.6)	(59.4)	(96.6)	(89.1)	(409)	(1040)	(1523)	(2154)
$T_{1/2}$ (hr)	3.89	3.87	2.91	3.52[e]	3.43	3.45	3.55[e]	3.44[e]
(SD)	(0.96)	(0.31)	(0.91)	(0.35)	(0.39)	(0.30)	(0.47)	(0.39)

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Toxicokinetics

Dose (mg/kg)	0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Day 79[d]								
C_{max} (ng/mL)[b]	51.6	44.2	88.8	96.2[e]	643	802	1545[e]	1527[e]
(SD)	(13.0)	(16.3)	(18.9)	(15.2)	(96.6)	(152)	(483)	(308)
T_{max} (hr)	1.00	1.14	1.00	1.33[e]	1.14	1.00	1.17[e]	1.33[e]
(SD)	(0.0)	(0.38)	(0.0)	(0.52)	(0.38)	(0.0)	(0.41)	(0.52)
$AUC_{0\text{-}24hr}$(ng•hr/mL)[b]	252	247	423	446[e]	3031	3503	7280[e]	8060[e]
(SD)	(52.0)	(59.4)	(85.4)	(66.9)	(483)	(1077)	(1263)	(2414)
$T_{1/2}$ (hr)	3.66	4.00	3.04	3.68[e]	3.33	3.46	3.18[e]	3.52[e]
(SD)	(1.2)	(0.51)	(0.86)	(0.28)	(0.27)	(0.46)	(0.37)	(0.43)
Day 231/269[f]								
C_{max} (ng/mL)[b]	47.9	45.3	85.1	94.0	631	735	1909[e]	1586[e]
(SD)	(9.66)	(15.6)	(9.66)	(24.9)	(66.9)	(271)	(446)	(256)
T_{max} (hr)	1.14	0.929	0.929	1.29	1.14	1.21	1.17[e]	1.50[e]
(SD)	(0.38)	(0.19)	(0.19)	(0.49)	(0.38)	(0.57)	(0.41)	(0.55)
$AUC_{0\text{-}24hr}$(ng•hr/mL)[b]	285	261	446	449	3246	4086	9211[e]	8283[e]
(SD)	(59.4)	(66.9)	(137)	(92.9)	(520)	(2414)	(3380)	(2749)
$T_{1/2}$ (hr)	4.40	4.28	3.74	3.33	3.42	4.38	3.22[e]	3.31[e]
(SD)	(1.2)	(0.68)	(0.87)	(0.47)	(0.61)	(1.6)	(0.40)	(0.58)

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Noteworthy Findings – terminal necropsy[i]										
Died or euthanized moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	1[i]	1[i]
Body weight (kg), (% change)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight gain (% control)[g], Days 1-232	NA	NA	↓17.5	↓17.2	↓15.0	↓10.3	↓27.5	↓31.0	↓25.0	↓37.9
Body weight gain (% control)[g], Days 1-274	NA	NA	↓17.1	↓13.3	↓19.5*	↓13.3	NA	NA	NA	NA
Food consumption (quantitative)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical signs (n)[h]										
Cage sores/ulcerations	0	0	2	1	0	1	3	2	3	3
Hypoactivity	0	0	0	0	0	0	1	0	3	2
Dehydration	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
Mucoid/nonformed feces	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Discharge from eye(s)	3	1	2	5	2	2	3	7	5	7
Conjunctivitis	0	0	0	0	1	0	1	2	3	3
Low food consumption	0	1	0	2	3	3	3	3	6	7
Alopecia	2	0	1	0	2	1	5	4	5	6
Dry skin	1	1	3	1	6	3	5	5	4	6
Red skin	6	2	5	5	6	4	7	7	6	6
Scabs	4	1	2	3	4	3	7	7	4	6
Warm to touch	1	0	0	0	0	0	2	1	2	1
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ECG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunophenotyping										
Lymphocytes ($10^3/\mu L$)										
Predose (Day -9)	3.54	4.25	3.62	3.48	3.49	3.78	3.19	3.59	3.82	3.30
Day 29	2.90	3.75	3.08	3.19	3.20	2.86	3.22	2.77	3.93	2.57
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1.98	2.24	2.46	1.99
Day 270	2.30	2.46	2.36	2.06	2.16	2.17	NE	NE	NE	NE

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Immunophenotyping (continued)										
Abs T Lymphocytes (10^3/µL)										
Predose (Day -9)	1.73	2.21	1.85	1.95	1.94	2.05	1.80	1.74	2.08	1.65
Day 29	1.45	1.61	1.36	1.43	1.60	1.04	1.40	0.96*	1.83	0.77*
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1.02	1.25	1.27	0.90
Day 270	1.34	1.60	1.37	1.21	1.21	1.34	NE	NE	NE	NE
Relative T Lymphocytes (%)										
Predose (Day -9)	49.97	52.79	50.70	56.57	55.90	54.40	55.32	48.22	54.84	49.26
Day 29	50.22	43.19	44.04	45.41	49.49	36.76	43.10	34.88	46.19	32.93
Day 232	55.93	56.84	NE	NE	NE	NE	51.98	55.44	51.74	48.02
Day 270	58.06	64.52	58.44	58.88	56.24	63.09	NE	NE	NE	NE
Abs CD4+ T Lymphocytes (10^3/µL)										
Predose (Day -9)	1.14	1.54	1.18	1.32	1.17	1.29	1.20	1.16	1.26	1.11
Day 29	0.94	1.14	0.89	1.00	1.06	0.73	0.96	0.64*	1.13	0.54*
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0.24	0.32	0.21	0.11
Day 270	0.82	0.97	0.90	0.80	0.75	0.81	NE	NE	NE	NE
Relative CD4+ T Lymphocytes (%)										
Predose (Day -9)	32.77	36.52	32.42	38.32	33.25	33.97	36.60	32.23	33.31	33.15
Day 29	32.75	30.32	28.83	31.83	32.63	25.80	30.00	23.17	25.62	22.62
Day 232	15.05	14.02	NE	NE	NE	NE	12.23	12.19	7.94*	5.77*
Day 270	35.67	39.54	38.41	38.85	34.49	37.22	NE	NE	NE	NE
Abs CD8+ T Lymphocytes (10^3/µL)										
Predose (Day -9)	0.44	0.46	0.51	0.48	0.54	0.54	0.45	0.41	0.60	0.36
Day 29	0.38	0.34	0.34	0.32	0.37	0.21	0.30	0.20	0.38	0.13*
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0.66	0.77	0.87	0.66
Day 270	0.36	0.43	0.30	0.28	0.28	0.30	NE	NE	NE	NE
Relative CD8+ T Lymphocytes (%)										
Predose (Day -9)	12.66	10.97	13.96	13.63	16.10	14.58	13.90	11.20	15.61	10.86
Day 29	12.90	9.10	11.02	10.22	11.49	7.50	8.97	7.43	7.97	5.53
Day 232	35.08	37.09	NE	NE	NE	NE	33.51	35.90	36.03	35.06
Day 270	15.57	16.89	12.92	14.03	13.00	13.85	NE	NE	NE	NE

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Hematology										
Red blood cell ($10^6/\mu L$)										
Day 29	6.04	6.05	5.77	6.27	6.15	6.08	5.64	5.34*	5.37*	5.03*
Day 87	6.35	6.75	6.44	6.66	6.37	6.49	5.70*	5.97*	5.40*	5.47*
Day 179	6.57	6.70	6.74	6.79	6.83	6.69	6.15	6.00	5.93	5.28*
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	6.15	5.50	5.63	5.36
Day 270	7.16	6.97	6.87	6.83	6.63	6.87	NE	NE	NE	NE
Hemoglobin (g/dL)										
Day 29	12.6	12.5	11.9	13.0	12.6	12.6	11.4	11.1*	11.0*	10.4*
Day 87	13.7	14.5	13.7	14.3	13.4	13.9	11.8*	12.6*	11.3*	11.6*
Day 179	14.4	14.6	14.5	14.7	14.5	14.4	12.4*	12.6*	12.1*	11.0*
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	12.4	11.5	11.4	11.0
Day 270	15.6	15.4	14.6	15.3	14.0*	14.7	NE	NE	NE	NE
Hematocrit (%)										
Day 29	40.1	40.2	37.8	41.7	40.4	40.1	36.7	35.7*	34.9*	33.2*
Day 87	41.8	44.7	42.1	44.4	41.3	42.9	37.1*	39.8*	35.8*	37.1*
Day 179	42.9	43.8	43.7	44.1	43.8	43.1	38.4*	38.4*	37.6*	34.2*
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	38.4	35.0	35.3	34.3
Day 270	46.9	46.2	44.6	44.9	42.8	45.1	NE	NE	NE	NE
Mean corpuscular hemoglobin (pg)										
Day 29	20.8	20.6	20.6	20.7	20.5	20.8	20.3	20.9	20.6	20.6
Day 87	21.6	21.5	21.2	21.5	21.1	21.4	20.7	21.2	21.0	21.2
Day 179	21.9	21.8	21.5	21.7	21.2	21.5	20.2*	21.0	20.4*	20.9
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	20.1	21.0	20.3	20.5
Day 270	21.8	22.1	21.3	22.6	21.2	21.5	NE	NE	NE	NE
Eosinophils ($10^3/\mu L$)										
Day 29	0.15	0.20	0.10*	0.10*	0.12	0.09*	0.08*	0.10	0.09*	0.09*
Day 87	0.18	0.20	0.13	0.08*	0.18	0.10*	0.10	0.09*	0.11	0.07*
Day 179	0.18	0.24	0.14	0.12	0.17	0.09*	0.11	0.11*	0.18	0.11*
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0.09	0.23	0.12	0.10
Day 270	0.22	0.26	0.15	0.11*	0.19	0.13*	NE	NE	NE	NE

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Hematology (Continued)										
Lymphocytes (10^3/μL)										
Day 29	2.90	3.75	3.08	3.19	3.20	2.86	3.22	2.77	3.93	2.57
Day 87	2.74	3.56	3.01	2.58*	3.14	2.36*	2.52	3.04	3.33	2.37*
Day 179	2.54	3.02	2.49	2.28	2.66	2.12	2.22	2.83	2.96	1.75
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1.98	2.24	2.46	1.99
Day 270	2.30	2.46	2.36	2.06	2.16	2.17	NE	NE	NE	NE
Clinical chemistry										
Aspartate aminotransferase (U/L)										
Day 87	30	33	31	33	33	36	37*	34	45*	38
Day 179	29	29	31	31	34	34	39*	40*	47*	51*
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	41	40	56	40
Alanine transaminase (U/L)										
Day 87	26	28	31	31	27	34	34	27	36	27
Day 179	29	26	37	28	32	32	32	44	48	71
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	31	113	82	34
Alkaline phosphatase (U/L)										
Day 87	67	58	80	71	59	58	56	63	70	70
Day 179	38	38	47	43	38	35	37	79	68	104
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	45	223	137	53
Gamma glutamyltransferase (U/L)										
Day 87	4	3	4	3	4	4	4	4	4	4
Day 179	3	4	4	4	4	4	4	4	4	8
Day 232	NE	NE	NE	NE	NE	NE	4	13	6	4
Albumin (g/dL), Day 179	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.2	3.1*	3.1*	2.8*
Globulin (g/dL)										
Day 87	2.2	2.1	2.0	2.1	2.3	2.1	2.3	2.4	2.6*	2.2
Day 179	2.2	2.2	2.1	2.2	2.2	2.2	2.7	2.9*	2.8*	2.7
Albumin/globulin ratio										
Day 87	1.5	1.6	1.7	1.6	1.5	1.7	1.4	1.4	1.3*	1.3
Day 179	1.6	1.6	1.7	1.6	1.6	1.7	1.2	1.1*	1.1*	1.1*

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology (n)[h]										
# Evaluated	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4
Skin/Subcutis										
Alopecia	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Crusted	0	0	0	0	0	0	2	4	1	1
Discolored	0	0	0	0	0	0	2	4	2	3
Jejunum										
Discolored	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Spleen										
Discolored	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Lung										
Discolored	0	0	0	1	0	0	0	2	0	1
Lymph Node, Mandibular										
Large	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Organ wt (g), (% control)[g]										
Prostate (unadjusted)	11.700	NA	↓18	NA	↓17	NA	↓52	NA	↓39	NA
Histopathology (n)[h]										
Brain										
Infiltrates, mononuclear, perivascular, neuropil	0	0	1	2	2	0	0	1	0	2

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h] (continued)										
Brain										
Gliosis	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2
Skin/Subcutis										
Inflammation, Pyogranulomatous										
Not Present	5	5	5	5	4	5	2	0	2	1
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1
Marked	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1
Average severity	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	2.0	2.5	0.8	2.3
Ectasia/Hypertrophy, Follicular										
Not Present	5	5	5	5	4	5	2	0	1	1
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	3	3	3
Average severity	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	1.5	2.8	2.3	2.3
Ulcer										
Not Present	5	5	5	5	5	5	3	3	4	4
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Average severity	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0
Parasite, Follicular										
Not Present	5	5	5	5	4	5	2	0	1	1
Present	0	0	0	0	1	0	2	4	3	3

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h] (continued)										
Rectum										
Inflammation, Pyogranulomatous, Perianal										
Not Present	5	5	4	5	5	5	4	2	4	3
Slight	0	0	1	0	0	0	0	2	0	1
Average severity	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.5
Parasite, Follicular/Adnexa, Perianal Skin										
Not Present	5	5	5	5	5	5	4	2	3	2
Present	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2
Mandibular Lymph Node										
Inflammation										
Not Present	5	5	5	5	5	5	1	4	2	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3
Average Severity	0	0	0	0	0	0	1.0	0	0.8	1.5
Hyperplasia, Follicular										
Not Present	5	5	5	4	5	5	3	2	2	3
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Slight	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Average Severity	0	0	0	0.4	0	0	0.5	1.3	0.5	0.8
Lymphoblasts, Paracortex, Increased										
Not Present	5	5	5	5	5	5	3	4	2	2
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0.3	0	0.8	1.0

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h] (continued)										
Mandibular Lymph Node (continued)										
Macrophages, Sinus, Increased										
Not Present	5	4	5	5	5	2	3	3	3	0
Minimal	0	0	0	0	0	1	1	0	1	2
Slight	0	1	0	0	0	2	0	1	0	2
Average Severity	0	0.4	0	0	0	1.0	0.3	0.5	0.3	1.5
Lymphocytes, Follicles, Decreased										
Not Present	5	5	5	5	5	5	4	3	4	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	1.0
Lymphocytes, Paracortex, Decreased										
Not Present	5	5	5	5	5	4	1	1	4	3
Minimal	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	2	3	0	1
Average Severity	0	0	0	0	0	0.2	1.3	1.5	0	0.5
Mesenteric Lymph Node										
Inflammation										
Not Present	5	5	5	5	5	4	4	4	3	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Average Severity	0	0	0	0	0	0.4	0	0	0.3	2.0
Lymphoblasts, Paracortex, Increased										
Not Present	4	5	5	5	5	4	3	4	2	0
Slight	1	0	0	0	0	1	1	0	2	4
Average Severity	0.4	0	0	0	0	0.4	0.5	0	1.0	2.0

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h] (continued)										
Mandibular Lymph Node (continued)										
Lymphocytes, Follicles, Decreased										
Not Present	5	5	5	5	5	5	2	2	1	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0.8	0.8	1.0	2.3
Lymphocytes, Paracortex, Decreased										
Not Present	5	5	5	5	5	5	4	1	4	3
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	1.3	0	0.3
Peyer's Patch										
Depletion, Lymphocytes										
Not Present	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0	1.3	2.0
Spleen										
Depletion, Lymphocytes										
Not Present	5	5	5	5	5	5	2	1	0	2
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	3	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0.5	0.8	2.0	0.8

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h] (continued)										
Liver										
Infiltrates/Inflammation, Portal and Random										
Not Present	5	5	5	5	5	5	4	1	1	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	1.3	1.8	1.3
Hyperplasia, Bile Duct										
Not Present	5	5	5	5	5	5	3	1	2	2
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0.3	1.0	1.0	0.8
Lung										
Infiltrates/Inflammation, Airways/Perivascular										
Not Present	5	5	5	3	5	5	2	2	1	3
Minimal	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
Average Severity	0	0	0	0.8	0	0	0.8	1.0	1.3	0.8
Inflammation										
Not Present	3	2	3	4	2	2	3	2	4	3
Minimal	0	2	2	1	0	2	0	0	0	0
Slight	2	1	0	0	3	1	1	1	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Average Severity	0.8	0.8	0.4	0.2	1.2	0.8	0.5	1.3	0	0.5

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h] (continued)										
Lung										
Infiltrates, Neutrophils, Bronchial Mucosa										
Not Present	2	3	5	4	5	5	3	4	2	4
Minimal	3	2	0	1	0	0	0	0	2	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Average Severity	0.6	0.4	0	0.2	0	0	0.5	0	0.5	0
Bone Marrow, Femur										
Hyperplasia, Myeloid										
Not Present	5	5	5	5	5	5	4	4	1	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0	0.8	1.3
Bone Marrow, Sternum										
Hyperplasia, Myeloid										
Not Present	5	5	5	5	4	5	3	4	1	1
Minimal	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Average Severity	0	0	0	0	0.2	0	0.3	0	1.3	1.8
Prostate										
Atrophy										
Not Present	4	NA	4	NA	3	NA	0	NA	3	NA
Minimal	0	NA	1	NA	1	NA	2	NA	0	NA
Slight	1	NA	0	NA	1	NA	2	NA	0	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Average Severity	0.4	NA	0.2	NA	0.6	NA	1.5	NA	0.8	NA

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h] (concluded)										
Colon										
Infiltrates, Mononuclear, Lamina Propria, Increased										
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Jejunum										
Inflammation, Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Congestion, Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Cecum										
Infiltrates, Mononuclear, Lamina Propria, Increased										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
Stomach										
Inflammation, slight	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Noteworthy Findings, Recovery[i]										
# of animals designated for recovery	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3
Died or euthanized moribund, Recovery	0	0	0	0	0	0	0	0	1[i]	0
Body weight (kg), (Recovery Day 43)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight gain (kg), (Recovery Days 1-43)	↓0.2	↓0.2	↓0.6	↓0.6	↓0.1	↓0.3	↓0.3	↓0.1	↓0.2	↓0.2
Clinical signs (n)[h]										
Cagesore/ulceration	0	0	1	0	0	1	3	2	1	2
Red skin	0	1	1	0	1	0	3	3	2	3
Scabs	0	0	0	1	0	0	2	3	2	1
Hematology (Recovery Day 38/39)										
Red blood cell (10^6 /μL)	6.92	6.93	7.56	7.25	7.34	7.39	7.07	6.75	6.91	6.51
Hemoglobin (g/dL)	14.9	15.3	16.2	15.7	15.8	15.7	14.6	14.2	14.5	13.4
Hematocrit (%)	44.1	45.7	48.8	46.9	47.8	47.1	45.5	43.6	44.1	41.5
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	21.6	22.0	21.4	21.6	21.5	21.2	20.6	21.0	21.0	20.6
Eosinophils (10^3/μL)	0.27	0.28	0.14	0.24	0.20	0.28	0.33	0.41	0.29	0.35
Clinical Chemistry (Recovery Day 38/39)										
Aspartate aminotransferase (U/L)	27	23	24	31	28	32	31	29	37	33
Alanine transaminase (U/L)	34	31	30	40	32	38	23	31	34	27
Alkaline phosphatase (U/L)	28	38	45	72	30	73	32	47	50	49
Gamma glutamyltransferase (U/L)	3	3	NE	3	4	3	5	6	4	3

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Noteworthy findings, Recovery (continued)										
Organ wt (g), (% control)[g]										
Prostate	8.159	NA	↑33	NA	↑11	NA	↓5	NA	↓44	NA
Histopathology (n)[h], Recovery Day 38/39										
Skin/Subcutis										
Inflammation, Pyogranulomatous										
Not Present	2	2	1	1	1	2	0	1	0	0
Minimal	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Slight	0	0	1	0	0	0	0	0	2	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2
Average severity	0	0	1.0	0	0.5	0	2.7	2.3	2.7	3.3
Ectasia/Hypertrophy, Follicular										
Not Present	2	2	2	1	1	2	1	1	0	0
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2
Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Average severity	0	0	0	0	0.5	0	2.0	2.0	2.0	2.7
Ulcer										
Not Present	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Average severity	0	0	0	0	0	0	0.7	1.7	1.0	1.0
Parasite, Follicular										
Not Present	2	2	2	1	2	2	1	1	0	0
Present	0	0	0	0	0	0	2	2	3	3

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h], Recovery Day 38/39 (continued)										
Rectum										
Inflammation, Pyogranulomatous, Perianal										
Not Present	2	2	2	2	1	2	3	1	2	2
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Slight	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0
Average severity	0	0	0	0	1.0	0	0	1.3	0.3	0.3
Parasite, Follicular/Adnexa, Perianal Skin										
Not Present	2	2	2	2	2	2	3	3	3	1
Present	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Mandibular Lymph Node										
Inflammation										
Not Present	2	2	2	2	2	2	3	3	1	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	1.3
Hyperplasia, Follicular										
Not Present	2	2	2	2	2	2	3	2	3	3
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0	0
Lymphoblasts, Paracortex, Increased										
Not Present	2	2	2	2	2	2	3	3	2	3
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h], Recovery Day 38/39 (continued)										
Mandibular Lymph Node (continued)										
Macrophages, Sinus, Increased										
Not Present	2	2	2	1	2	1	0	1	0	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2
Slight	0	0	0	1	0	1	2	1	3	0
Average Severity	0	0	0	1.0	0	1.0	1.7	1.0	2.0	0.7
Lymphocytes, Paracortex, Decreased										
Not Present	2	2	2	2	2	2	1	2	1	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0.7	0.7	0.7	1.3
Mesenteric Lymph Node										
Inflammation										
Not Present	2	2	2	2	2	2	3	3	2	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0
Lymphocytes, Follicles, Decreased										
Not Present	2	2	2	1	2	2	3	3	1	2
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Average Severity	0	0	0	0.5	0	0	0	0	1.0	0.3

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h], Recovery Day 38/39 (continued)										
Mesenteric Lymph Node (continued)										
Lymphocytes, Paracortex, Decreased										
Not Present	2	2	2	1	2	2	3	3	3	2
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Average Severity	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0.3
Peyer's Patch										
Depletion, Lymphocytes										
Not Present	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	1.7
Spleen										
Depletion, Lymphocytes										
Not Present	2	2	2	2	2	2	3	2	1	3
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0.7	0
Liver										
Infiltrates/Inflammation, Portal and Random										
Not Present	2	2	2	2	2	2	3	1	1	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0.7	1.7
Hyperplasia, Bile Duct										
Not Present	2	2	2	2	2	2	3	2	3	2
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0	0.7

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h], Recovery Day 38/39 (continued)										
Lung										
Infiltrates/Inflammation, Airways/Perivascular										
Not Present	2	2	2	1	1	2	3	2	3	2
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
Slight	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Average Severity	0	0	0	0.5	1.0	0	0	0.3	0	0.7
Inflammation										
Not Present	2	1	0	1	1	2	1	2	1	1
Minimal	0	1	0	1	1	0	2	1	2	2
Slight	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
Average Severity	0	0.5	2.0	0.5	0.5	0	0.7	0.3	0.7	0.7
Infiltrates, Neutrophils, Bronchial Mucosa										
Not Present	2	1	2	2	2	1	3	2	2	1
Minimal	0	1	0	0	0	1	0	1	1	2
Average Severity	0	0.5	0	0	0	0.5	0	0.3	0.3	0.7
Bone Marrow, Femur										
Hyperplasia, Myeloid										
Not Present	2	2	2	2	2	2	3	3	2	3
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0	0	0.7	0

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.25		0.5		3		9/6[a]	
Sex: Number of Animals	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7	M:7	F:7
Histopathology (n)[h], Recovery Day 38/39 (continued)										
Bone Marrow, Sternum										
Hyperplasia, Myeloid										
Not Present	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Average Severity	0	0	0	0	0	0	0.3	0.7	1.0	0
Prostate										
Atrophy										
Not Present	2	NA	2	NA	1	NA	3	NA	1	NA
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Slight	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Average Severity	0	NA	0	NA	1.0	NA	0	NA	1.3	NA
Colon										
Infiltrates, Mononuclear, Lamina Propria, Increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jejunum										
Inflammation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Congestion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cecum										
Infiltrates, Mononuclear, Lamina Propria, Increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Stomach										
Inflammation, minimal	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0

(continued)

2.6.7.7H Repeat-Dose Toxicity: 9-Month Study with a 6-Week Recovery in Beagle Dogs (Concluded)

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, – = no important findings, Abs = absolute; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, M = male, NA = not applicable, NE = not evaluated, NOAEL = no-observed-adverse effect level, $T_{1/2}$ = half-life, T_{max} = time to maximum concentration, wt = weight.

Average severity grade was determined by dividing the sum of the severity scores for each animal by the number of animals examined.

[a] Dogs administered 9 mg/kg from Day 1-50, given a dosing holiday from Day 51-57 and administered 6 mg/kg for the remainder of the study.

[b] Data was converted from µM or µM•hr to ng/mL or ng•hr/mL, respectively, by multiplying value by molecular weight of 371.42.

[c] First day of dosing at 6 mg/kg for high dose group (Day 58).

[d] Oral ivermectin (0.3 mg/kg) given 4 hr after baricitinib INCB028050 dosing on Day 78.

[e] N=6.

[f] Day 231 for 3 mg/kg and 9/6 mg/kg groups; Day 269 for 0.25 mg/kg and 0.5 mg/kg groups.

[g] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

[h] Number of animals or tissues.

[i] 5 animals/sex/group were designated as terminal necropsy animals on Day 275 and 2 animals/sex/group were designated recovery necropsy animals. One female (Day 45) given 9 mg/kg and 1 male (Day 60) given 9/6 mg/kg were sacrificed during the treatment phase due to their moribund condition. Four animals/sex given 3 mg/kg/day and three animals/sex given 9/6 mg/kg/day were sacrificed on Day 232 of the dosing phase. Total surviving 4 animals in these groups (1M/1F in 3 mg/kg, 1M/1F in 9/6 mg/kg) underwent 6 weeks of recovery. The dosing phase for controls and animals given 0.25 mg/kg and 0.5 mg/kg was discontinued on Day 275 after 39 weeks of dosing. Animals designated for recovery were necropsied after 6 weeks of recovery. One male from the 9/6 mg/kg group was sacrificed on Day 29 of the recovery phase due to its moribund condition (severe generalized demodicosis and general debilitation).

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

2.6.7.8A Genotoxicity: In Vitro, Bacterial Mutation

Report title: Bacterial Reverse Mutation Assay		
Test for induction of: Bacterial mutation	# of independent assays: 1	Document ID: T08-01-02 (4.2.3.3.1.1)
Strains: *S. typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, and TA100); *E. coli* (WP2*uvrA*)	# of replicate cultures: 3	GLP compliance: Yes
Metabolizing system: Aroclor 1254-induced rat liver S9		Date of treatment: [redacted]
Vehicle for test article: DMSO	Vehicle for positive controls: DMSO/water	Test Article: Baricitinib Phosphate
Treatment: Plates incubated for approximately 48 to 72 hours at 37°C		
Cytotoxic effects: None Genotoxic effects: None		

Metabolic Activation	Treatment	Dose (µg/plate)	Number of Revertants/Plate (mean)				
			Tester Strain				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
Without Activation	Vehicle	NA	141	14	12	11	7
	Baricitinib	50	142	16	8	13	7
		150	157	14	12	11	8
		500	127	10	14	9	5
		150	147	11	8	13	5
		5000	127	14	9	11	4
	Positive Control		451	345	101	170	385
With Activation	Vehicle	NA	138	15	19	17	5
	Baricitinib	50	163	14	15	22	4
		150	160	14	15	15	5
		500	151	13	17	18	5
		150	137	14	9	13	6
		5000	124	9	11	11	4
	Positive Control		541	101	237	604	61

Abbreviation: NA = not applicable.

Positive Control = 2-aminoanthracene (+S9 TA100, TA98, TA1535, TA1537, WP2*uvrA*), 2-nitrofluorene (-S9 TA98), sodium azide (-S9 TA100, TA1535), 9-aminoacridine (-S9 TA1537), methyl methanesulfonate (-S9 WP2*uvrA*).

2.6.7.8B Genotoxicity: In Vitro: Chromosome Aberration

Report title: *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test		
Test for induction of: Chromosome aberrations	# of independent assays: 1	Document ID: T08-01-01 (4.2.3.3.1.2)
Strain: Human peripheral blood lymphocytes (HPBL)	# of replicate cultures: 2	GLP compliance: Yes
Metabolizing system: Aroclor 1254-induced rat liver S9	# of cells analyzed/culture: 100	Date of treatment: [redacted]
Vehicle for test article: DMSO	Vehicle for positive controls: DMSO	Test Article: Baricitinib Phosphate
Treatment: 4-hour incubation with 16-hour recovery or 20-hour incubation with 0-hour recovery		
Cytotoxic effects: None, Genotoxic effects: None		

Metabolic Activation	Treatment	Dose (µg/mL)	Treatment Time (hours)	Mean Mitotic Index [b] (%)	Cells with Aberrations	
					Numerical [c] (%)	Structural [d] (%)
Without Activation	Untreated	NA	NA	NA	NA	NA
	Vehicle	DMSO	4	16.5	0.0	0.0
	Baricitinib	75	4	14.0	0.0	0.0
		150	4	9.8	0.0	0.0
		300	4	6.4	0.0	0.5
	MMC [a]	0.6	4	4.4	0.0	17.0**
	Vehicle	DMSO	20	12.3	0.0	0.0
	Baricitinib	5	20	11.6	0.0	0.0
		10	20	10.4	0.0	0.0
		25	20	5.4	0.0	0.0
	MMC [a]	0.3	20	3.5	0.0	17.0**
With Activation	Untreated	NA	NA	NA	NA	NA
	Vehicle	DMSO	4	10.8	0.0	0.0
	Baricitinib	75	4	10.1	0.0	0.0
		150	4	8.8	0.0	0.0
		300	4	5.3	0.0	0.0
	CP [a]	20	4	1.5	0.0	14.0**

Abbreviations: # = number, CP = cyclophosphamide, DMSO = dimethyl sulfoxide, MMC = mitomycin C, NA = not applicable.

[a] Positive-control compounds.

[b] Number mitotic figures x 100/500 cells counted.

[c] Numerical includes polyploid and endoreduplicated cells.

[d] Structural excludes cells with only gaps.

** $p \leq 0.01$ (Fisher's Exact test).

2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo, Micronucleus

Report title: Rat Bone Marrow Erythrocyte Micronucleus Test Following Oral Administration of INCB028050		
Test for induction of Micronuclei	Treatment schedule: Single dose	Document ID: T08-01-05 (4.2.3.3.2.1)
Species/strain: Rat (Crl:CD) male and female	Sampling time: 24 or 48 hr	GLP compliance: Yes
Age: 6-8 Weeks	Route: Oral gavage	Date of dosing: [redacted]
Cells evaluated: Bone marrow # of cells analyzed: 2000 PCEs/animal		Test Article: Baricitinib Phosphate
Vehicle: 0.5% methylcellulose (10 mL/kg)		
Genotoxic effects: None		

Test Article	Dose (mg/kg)	# of Animals (Sex, Sample)	PCEs (# of PCEs/Total erythrocytes: Mean ± SD)	MPCEs (# of MPCEs/1000 PCEs:Mean ± SD)
Baricitinib	200	5, M, 24	0.584 ± 0.02	0.1 ± 0.22
	200	5, F, 24	0.593 ± 0.07	0.1 ± 0.22
	400	5, M, 24	0.567 ± 0.05	0.4 ± 0.42
	400	5, F, 24	0.576 ± 0.04	0.4 ± 0.22
	800	5, M, 24	0.569 ± 0.04	0.5 ± 0.35
	800	5, F, 24	0.566 ± 0.05	0.7 ± 0.27
	800	5, M, 48	0.574 ± 0.05	1.0 ± 0.71*[a]
	800	5, F, 48	0.456 ± 0.06	1.2 ± 0.76*[a]
Vehicle	NA	5, M, 24	0.542 ± 0.03	0.1 ± 0.22
	NA	5, F, 24	0.565 ± 0.02	0.2 ± 0.27
	NA	5, M, 48	0.589 ± 0.05	0.2 ± 0.45
	NA	5, F, 48	0.569 ± 0.02	0.2 ± 0.27
CP	40	5, M, 24	0.451 ± 0.04	20.6 ± 1.85*
	40	5, F, 24	0.467 ± 0.01	13.4 ± 4.57*

Abbreviations: # = number, CP = cyclophosphamide monohydrate, MPCEs = micronucleated PCEs, NA = not applicable, PCEs = Polychromatic erythrocytes, SD = standard deviation.

* $p \leq 0.01$ (Kastenbaum and Bowman).

[a] The mean incidence of MPCEs were statistically increased relative to the respective vehicle controls. However, the number of MPCEs per each animal ranged from 1-4 MPCEs/2000 PCEs for males and females, which was within the historical vehicle control range. A total number of MPCEs per male group (10 MPCEs/10,000 PCEs) was within the historical vehicle control range (0-16 MPCEs/10,000 PCEs), but in the female group, the number of MPCEs (12 MPCEs/10,000 PCEs) was slightly above the historical vehicle control range (0-9 MPCEs/10,000 PCEs). Therefore, this statistically significant increase in the incidence of MPCE was considered not to be biologically relevant or significant.

2.6.7.10A Carcinogenicity: 6-Month Study in RasH2 Mice

Report title: A Carcinogenicity and Toxicokinetic Study in 001178-T Mice Given LY3009104 by Oral Gavage for 26 Weeks

Species/strain: Mouse/001178-T (hemizygous for Tox; wild type for Toxicokinetics)
Duration of dosing: 6 Months
Document ID: 8291245 (4.2.3.4.2.1)

Initial age: 8-9 Weeks
Route: Gavage, oral
GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted]
Treatment of controls: Vehicle
Test Article: Baricitinib

Test Article Vehicle: 0.5% (w/v) methylcellulose (low viscosity [400 cps])
Positive Control Article: N-methyl-N-nitrosourea[a]

Positive Control Article Vehicle: Acidified physiological saline (pH 4.5)

Basis for high-dose selection: Maximum tolerated dose in 1-month study (8268827)

Special features: transgenic mice used as test system

Composite Toxicokinetics

Sample: Plasma
Analyte: Baricitinib
Number of animals: 3 animals/sex/group/time point

Feeding condition: Fed
Dose frequency: Daily
Assay/Method: LC-MS/MS; 8232102 (4.2.2.1.1)

Dose (mg/kg)	0 (Control)		15	10	40	30	300	150
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	NC	NC	1590	943	7370	3640	12700	13800
(SD)			(1040)	(188)	(3670)	(1630)	(1850)	(3090)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	3560	1810	11600	6680	25500	23500
(SEM)			(635)	(106)	(1790)	(768)	(2250)	(2030)
Day 176								
C_{max} (ng/mL)	NC	NC	320	753	768	3780	5280	12300
(SD)			(63.0)	(255)	(180)	(874)	(1650)	(2240)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	1340	2470	2030	9160	26400	37200
(SEM)			(371)	(246)	(213)	(860)	(6840)	(4020)

(continued)

2.6.7.10A Carcinogenicity: 6-Month Study in RasH2 Mice (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		15	10	40	30	300	150
Sex: Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Noteworthy Findings								
Died or euthanized moribund	2	3	1	4	2	3	3	5
Body weight (g), Day 183 (% change)[b]	-	20.9	-	↓3.3	-	↓3.3	-	↓5.7*
Body weight gain (g), Day 183 (% change)[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption, g/rat/day (% change)[b]								
Days 36-43	-	3.5	-	↓37.1*	-	↓28.6*	-	↓31.4*
Days 43-50	-	2.9	-	↓6.9	-	↑13.8	-	↓24.1*
Days 50-57	-	3.5	-	↓25.7	-	↓14.3	-	↓31.4*
Days 64-71	-	2.7	-	↓11.1	-	↓7.4	-	↓14.8*
Days 85-92	-	2.9	-	↓6.9	-	↑6.9	-	↓24.1*
Days 113-120	-	3.0	-	↓13.3*	-	↓13.3*	-	↓13.3*
Days 120-127	-	3.1	-	↓16.1*	-	↓9.7*	-	↓16.1*
Days 127-134	-	3.3	-	↓24.2*	-	↓3.0	-	↓24.2*
Days 155-162	-	3.6	-	↓27.8*	-	↓22.2	-	↓30.6*
Days 169-176	-	2.9	-	↓13.8*	-	↓13.8*	-	↓17.2*
Days 176-183	-	3.0	-	↓16.7*	-	↓13.3*	-	↓20.0*
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, Day 184								
Red blood cells (x 10^6/μL)	10.99	10.82	10.29*	10.55	10.36*	10.36*	9.50*	9.71*
Hemoglobin (g/dL)	16.0	15.7	15.3*	15.3*	15.2*	14.9*	14.2*	13.8*
Hematocrit (%)	54.8	54.5	52.0*	53.2	52.3	52.1*	49.0*	48.2*
White blood cells (x 10^3/μL)	1.46	1.84	1.14	1.28*	1.13*	0.99*	0.88*	0.94*
Lymphocytes (x 10^3/μL)	0.94	1.37	0.61*	0.86*	0.53*	0.57*	0.33*	0.37*
Blood chemistry, Day 184								
Urea Nitrogen (mg/dL)	18	21	18	23	20*	22	21*	34

(continued)

2.6.7.10A Carcinogenicity: 6-Month Study in RasH2 Mice (Concluded)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		15	10	40	30	300	150
Sex: Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Noteworthy Findings (continued)								
Urinalysis	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Organ weights[b]								
Spleen								
Absolute weight (g)	0.0673	0.0760	↓15*	↓16*	↓21*	↓29*	↓34*	↓46*
Body weight ratio (%)	0.2596	0.3975	↓17*	↓12*	↓19*	↓27*	↓32*	↓42*
Brain weight ratio (%)	14.2087	15.1621	↓15*	↓15*	↓21*	↓29*	↓33*	↓46*
Gross pathology (n)[c]	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology: neoplastic lesions (n)[c]	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology: nonneoplastic lesions (n)[c]								
Marrow, Femur								
Adipocytes, increased								
Minimal	0	0	0	1	0	0	11	12
Slight	0	0	0	0	0	0	3	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Hypocellular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, – = no important findings, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = maximum plasma concentration, F = female, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, NE = not evaluated , SD = standard deviation, SEM = standard error of the mean.

[a] Results associated with the positive control were not statistically evaluated. However, notable findings in the positive control included increased mortality and incidence of neoplastic findings that were considered typical for those seen in this strain of mouse after N-methyl-N-nitrosourea administration, indicating an effective positive control response.

[b] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

[c] Number of animals or tissues.

* $p<0.05$ (Dunnett's test).

2.6.7.10B Carcinogenicity: 2-Year Study in Rats

Report title: A Carcinogenicity Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Given LY3009104 by Oral Gavage for 2 Years
Species/strain: Rat/Sprague-Dawley | Duration of dosing: 24 Months | Document ID: 8253534 (4.2.3.4.1.1)
Initial age: 6 to 7 Weeks | Route: Oral gavage | GLP compliance: Yes
Date of first dose: [redacted] | Treatment of controls: Vehicle | Test Article: Baricitinib
Vehicle: 0.5% (w/v) methylcellulose (low viscosity [400 c])
Basis for high-dose selection: The high doses for males and females were recommended by the FDA based on their review of results from the 6-month rat study.
Special features: Due to low survival in the control animals, the study was terminated after Week 94 for the males and during Week 91 for the females.

Composite Toxicokinetics

Sample: Plasma | Analyte: Baricitinib | Number of animals: 3 animals/sex/group/time point
Feeding condition: Fed | Dose frequency: Daily | Assay/Method: LC-MS/MS; 8232101 (4.2.2.1.3)

Dose (mg/kg)	0 (Control)		1	3	3	8	8	25
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	NC	NC	66.8	217	172	594	495	2073
(SD)			(38.5)	(47.8)	(60.5)	(54.0)	(43.8)	(662)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	278	964	845	2544	1999	9048
(SEM)			(12.2)	(57.8)	(51.6)	(248)	(130)	(930)
Day 176								
C_{max} (ng/mL)	NC	NC	99.9	371	279	1052	678	2610
(SD)			(29.2)	(49.0)	(44.7)	(429)	(696)	(346)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)	NC	NC	410	1188	1161	3801	2874	12964
(SEM)			(30.7)	(142)	(112)	(296)	(337)	(580)

(continued)

2.6.7.10B Carcinogenicity: 2-Year Study in Rats (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1	3	3	8	8	25
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Noteworthy Findings								
Number of animals at start	60	60	60	60	60	60	60	60
Died or euthanized moribund	41	37	37	35	32	34	28	26
Body weight (g), (% change)[a]	931	588	↓6	↓7	↓5	↓12	↓12*	↓7
Food consumption, g/rat/day (% change)[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations (n)[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology (n)[b]								
Mammary Gland								
Mass	NA	20	NA	23	NA	10	NA	6
Lung								
Discolored (correlated with alveolar lipoproteinosis)	0	0	0	0	0	1	1	6
Histopathology: neoplastic/hyperplasia lesions (n)[b]								
Mammary gland								
Fibroadenoma	0	17	0	16	0	9	0	3
Carcinoma	0	13	0	12	0	8	0	5
Hyperplasia, epithelial								
Minimal	0	4	0	2	0	6	0	2
Slight	0	1	0	2	0	2	0	1
Moderate	0	5	0	0	0	0	0	0
Marked	0	1	0	0	0	0	0	0
Liver								
Hyperplasia, bile duct								
Minimal	15	5	6	0	4	0	0	0
Slight	1	1	0	0	0	0	0	0
Focus, cellular alteration, clear								
Minimal	3	6	7	4	6	18	8	26
Slight	0	0	1	0	1	0	0	0

(continued)

2.6.7.10B Carcinogenicity: 2-Year Study in Rats (Continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1	3	3	8	8	25
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Histopathology: neoplastic/hyperplasia lesions (n)[b]								
Liver (continued)								
Focus, cellular alteration, basophilic								
Minimal	3	33	6	33	3	31	4	19
Slight	0	5	0	2	0	3	0	1
Moderate	1	1	0	0	0	0	0	0
Histopathology: non-neoplastic/hyperplasia lesions (n)[b]								
Lung								
Alveolar lipoproteinosis								
Minimal	0	0	0	1	0	4	1	9
Slight	0	0	0	0	0	2	1	10
Spleen								
Lymphocytes, decreased								
Slight	0	1	1	0	2	0	0	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	6
Marked	0	0	0	1	0	0	0	0
Hematopoiesis, extramedullary, decreased								
Minimal	0	1	0	0	1	2	2	8
Slight	0	0	0	0	0	2	0	12
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
GALT/Peyer's patch								
Lymphocytes, decreased								
Minimal	5	3	5	3	8	3	2	5
Slight	0	1	0	0	4	3	0	2
Moderate	0	0	2	1	2	2	2	6
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1

(continued)

2.6.7.10B Carcinogenicity: 2-Year Study in Rats (Concluded)

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = maximum observed plasma concentration, F = female, GALT = Gut-associated lymphoid tissue, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, SD = standard deviation, SEM = standard error of the mean.

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

[b] Number of animals or tissues.

* $p \leq 0.05$ (Homogeneous data were assessed using Dunnett's test. Indication of a possible treatment effect was assessed on the basis of rare or common tumor type, in line with the current FDA guidelines [FDA Draft Guidance for Industry, 2001]).

2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies

Species Strain	Route[a]	Dosing Period	Doses (mg/kg)	Sex #/Group	Noteworthy Findings	Document ID
Rat/Sprague-Dawley	Oral	GD 6 through 17	0, 25, 75, 150, 300	F/8 Main F/8 TK	≥150 mg/kg: 7 found dead or euthanized in between GD 11 and 15. Remaining females in these groups were euthanized on GD 12 to 14; no uterine/fetal evaluations. Clinical signs included hypoactivity, lethargy, pale, cool to touch, reddish material on body surface and discharge. ↓ FC. ≥75 mg/kg: ↓ BW, ↓ BWG 75 mg/kg: ↑ post-implantation loss ≤75 mg/kg: ↓fetal weight ≥25 mg/kg: flushed skin	T08-05-02 (4.2.3.5.2.2)
Rabbit/ NZW	Oral	5 Days	30, 100, 300, 600	F/3	≥100 mg/kg: mortality and moribundity occurred and clinical signs included prostration, gasping, labored or decreased respiration, body cool to touch and rocking, lurching or swaying while ambulating. 100 and 300 mg/kg: ↓ BW, ↓ FC; BW and FC not evaluated at 600 mg/kg.	T08-04-03 (4.2.3.5.2.4)
Rabbit/ NZW	Oral	GD 7 through 20	0, 20, 40, 60, 80	F/6 Main F/4 TK	≥60 mg/kg: death, euthanized moribund, prostration, hypoactivity, labored, gasping, or decreased respiration ≥40 mg/kg: ↓ BW, ↓ BWG, ↓ FC 40 mg/kg: ↑ postimplantation loss, ↓ fetal weight	T08-05-03 (4.2.3.5.2.5)

Abbreviation: ↑ = increase, ↓ = decreased, # = number, BW = body weight, BWG = body weight gain, F = female, FC = food consumption, GD = gestation day, NZW = New Zealand White, TK = toxicokinetic.

[a] Vehicle = 0.5% aqueous methylcellulose.

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development

Report title: A Fertility and Early Embryonic Development and Toxicokinetic Study of LY3009104 Phosphate (Compound 3009106) Administered Orally (gavage) in Male and Female Sprague-Dawley Rats

Design similar to ICH 4.1.1: Yes

Duration of dosing for males: 4 weeks prior to cohabitation, during a 2-week cohabitation period, continuing through the day prior to euthanasia

Duration of dosing for females: 2 weeks prior to cohabitation, during cohabitation, and through GD 6

Document ID: [redacted]-353240 (4.2.3.5.1.1)

Species/strain: Rat/Crl:CD(SD)

Day of mating: GD 0

GLP compliance: Yes

Initial age: Approximately 10 weeks for males; approximately 13 weeks for females

Day of C-section: GD 15

Test Article: Baricitinib phosphate

Date of first dose: [redacted]

Route: Oral Gavage

Vehicle: 0.5% methylcellulose (400 cps) in deionized water

Special features: None

No-observed-adverse-effect level:

F_0 general toxicity: <5 mg/kg for males; 25 mg/kg for females

F_0 fertility: 15 mg/kg for males; 5 mg/kg for females

Composite Toxicokinetics

Sample: Plasma | Analyte: Baricitinib | Number of animals: 4/sex/group/time point

Feeding condition: Fed | Dose frequency: Daily | Assay/Method: LC/MS/MS; 8232101 (4.2.2.1.3)

Males	Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	15	50
Day 0					
C_{max} (ng/mL)		NC	484	1580	5750
(SD)			(63.9)	(327)	(1963)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)		NC	1428	4327	22339
(SEM)			(84.3)	(359)	(3540)
T_{max} (hr)		NC	0.5	1	1

(continued)

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development (Continued)

Males	Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	15	50
Day 28					
C_{max} (ng/mL)		NC	598	1790	6038
(SD)			(199)	(153)	(1330)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)		NC	1875	5859	26870
(SEM)			(172)	(314)	(2801)
T_{max} (hr)		NC	1	0.5	1

Females	Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	25	100
Day 14					
C_{max} (ng/mL)		NC	1046	5105	9285
(SD)			(138)	(1536)	(1961)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)		NC	2233	12130	44722
(SEM)			(164)	(1077)	(6221)
T_{max} (hr)		NC	0.5	1	0.5
GD 6[a]					
C_{max} (ng/mL)		NC	819	3260	8585
(SD)			(NA)	(551)	(NA)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)		NC	1972	11332	40444[b]
(SEM)			(75.3)	(626)	(6609)
T_{max} (hr)		NC	0.5	1	2

(continued)

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development (Continued)

Males	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	15	50
	Number evaluated	20	20	20	20
	Number died or euthanized moribund	0	0	0	0
	Clinical observations (n)[c]				
	Reddened forelimbs, hindlimbs, and ears	0	0	0	10
	Necropsy observations	-	-	-	-
	Body weight (g), Day 42 (% change)[d]	511	↓4.9	↓8.8**	↓12.7**
	Body weight gain (g), Days 0–28 (premating) (% change)[d]	110	↓15.5*	↓26.4**	↓39.1**
	Body weight gain (g), Days 0–42 (% change)[d]	145	↓14.5*	↓28.3**	↓41.4**
	Food consumption, cumulative, g/rat/day, Days 24–28 (% change)[d]	31	↓6.5	↓6.5	↓12.9**
	Number males that mated that did not sire a litter	1	0	1	7
	Male and female mating index (%)	95.0	100.0	90.0	100.0
	Male and female fertility index (%)	90.0	100.0	85.0	63.2
	Male and female copulation index (%)	94.7	100.0	94.4	63.2*
	Sperm motility	-	-	-	-
	Sperm count	-	-	-	-
	Sperm morphology	-	-	-	-
	Organ weight (% change)[d]				
	Brain (g/100g final body weight)	0.402	↑6.5	↑9.2**	↑12.4**
	Epididymis rt (g)	0.71	↓4.2	↓8.5**	↓11.3**
	Epididymis lt (g)	0.65	0.0	↓7.7**	↓9.2**
	Prostate (g)	1.05	↓2.9	↓4.8	↓17.1**
	Testis, rt (g)	1.82	↓1.6	↓5.5	↓6.6*
	Testis, lt (g)	1.83	↓2.2	↓4.4	↓6.6

(continued)

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development (Continued)

Females	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	25	100
	Number evaluated	20	20	20	20
	Number died or euthanized moribund	0	0	0	1
	Clinical observations (n)[c]				
	Reddened forelimbs and/or hindlimbs	0	0	0	7
	Reddened ears	0	0	0	10
	Lacrimation	0	0	1	18
	Eyelids, drooping	0	0	0	19
	Body weight (g), Day 28 (% change)[d]	279	↓1.4	↓1.4	↑0.7
	Body weight (g), GD 15 (% change)[d]	352	↓2.3	↓4.5	↓6.0
	Body weight gain (g), (% change)[d]				
	Premating Days 1–14	11	↓36.4	↓36.4	↑9.1
	GD 0–7	32	↓9.4	↓21.9	↓18.8
	GD 7–15	39	0.0	↓5.1	↓48.7**
	Food consumption, cumulative, g/rat/day, Days 14–28 (% change)[d]	19	0.0	↑5.3	↑10.5**
	Food consumption, cumulative, g/rat/day, GD 7–15 (% change)[d]	25	↓8.0	↓8.0	↓8.0*
	Estrous cycle length (days)	4.4	4.3	4.2	4.4
	Precoital intervals (days)	2.3	3.0	4.4	3.4
	Number of pregnant females	18	20	17	12
	Number of nongravid females	1	0	1	7
	Necropsy observations	-	-	-	-
	Number of live fetuses - total	230	271	166	21
	Number of live fetuses/litter	12.8	13.6	9.8*	1.8**
	Number of corpora lutea/dam	15.2	15.8	14.2	10.8**
	Number of implantation sites/dam	13.5	14.4	12.9	6.9**
	Pre-implantation loss, %	10.1	8.7	7.7	36.8*
	Number early in utero deaths/litter (% per litter)	5.5	5.6	27.2**	82.9**
	Number late in utero deaths	0.0	0.0	0.0	0.0
	Number early and late in utero deaths/litter (% per litter)	5.5	5.6	27.2**	82.9**

(continued)

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development (Concluded)

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, – = no important findings, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = Maximum observed plasma concentration, g = grams, GD = Gestation Day, NA = not applicable, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, SD = standard deviation, SEM = standard error of the mean, T_{max} = time to maximum concentration.

[a] Toxicokinetic results for the pregnant animals only.

[b] There were no samples from pregnant animals at 24 hours post-dosing on GD 6 and therefore, the reported value is for $AUC_{0\text{-}12hr}$.

[c] Number of animals or tissues.

[d] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

Definitions:

Male (female) mating index (%) = No. of males(females) with evidence of mating (or confirmed pregnancy) / Total No. of males (females) used for mating × 100

Male fertility index (%) = No. of males siring a litter / Total No. of males used for mating × 100

Female fertility index (%) = No. of females with confirmed pregnancy / Total No. of females used for mating × 100

Male copulation index (%) = No. of males siring a litter / No. of males with evidence of mating (or females confirmed pregnant)

Female conception index (%) = No. of females with confirmed pregnancy / No. of females with evidence of mating (or confirmed pregnancy) × 100

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ (Dunnett's or Dunn's test).

2.6.7.13A Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryofetal Development in Rat

Report title: An Oral (Gavage) and Toxicokinetic Study of the Effects of INCB028050 on Embryo/Fetal Development in Rats

Design similar to ICH 4.1.3: Yes
Duration of dosing: GD 6 through GD 17
Document ID: T08-07-01 (4.2.3.5.2.1)
Species/strain: Rat/Crl:CD(SD)
Day of mating: GD 0
GLP compliance: Yes
Initial age: approximately 3 months
Day of C-section: GD 20
Test Article: Baricitinib phosphate
Date of first dose: [redacted]
Route: Oral Gavage
Vehicle: 0.5% methylcellulose (400 cps) in deionized water
Special features: None
No-observed-adverse-effect level:
Maternal toxicity: 10 mg/kg
Embryo/fetal development: 2 mg/kg

Composite Toxicokinetics

Sample: Plasma
Analyte: Baricitinib
Number of animals: 4 animals/group/time point
Feeding condition: Fed
Dose frequency: Daily
Assay/Method: LC/MS/MS; DMB-08-11-2 (4.2.2.1.4)

		Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	10	40
Dams	GD 6					
	C_{max} (ng/mL)		NC	216	1159	6128
	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)		NC	1025	3900	23697
	T_{max} (hr)		NC	1.00	1.00	1.00
	$T_{1/2}$ (hr)		NC	3.70	3.15	3.17
	GD 17					
	C_{max} (ng/mL)		NC	222	1311	6760
	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng•hr/mL)		NC	1092	4866	26259
	T_{max} (hr)		NC	1.00	1.00	1.00
	$T_{1/2}$ (hr)		NC	3.22	3.06	3.07

(continued)

2.6.7.13A Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryofetal Development in Rat (Continued)

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	10	40
Dams	Number pregnant	24	25	24	24
	Number died or euthanized moribund	0	0	0	0
	Number aborted	0	0	0	0
	Number with total resorption of litter	0	0	0	0
	Clinical observations (n)[a]				
	Lacrimation (right or left eye)	0	0	1	14
	Body flushed	0	0	18	25
	Necropsy observations	-	-	-	-
	Body weight gain (g), (% change)[b]				
	GD 6-9	12	↓25.0	↓33.3**	↓58.3**
	GD 6-18	87	↓4.6	↓4.6	↓12.6**
	Food consumption, g/rat/day (% change)[b]	-	-	-	-
	Mean number corpora lutea/dam	17.0	16.8	16.3	16.4
	Mean number implantations/dam	15.9	16.1	15.3	15.4
Litters	Number of litters evaluated	24	25	24	24
	Mean number of early utero deaths/litter (% per litter)	4.3	4.6	3.1	6.2
	Mean number of late utero deaths/litter (% per litter)	0.0	0.0	0.0	0.2
	Mean number of live fetuses/litter	15.2	15.3	14.8	14.5
	Fetal weight (g, gender combined, % change)[b]	3.8	↑2.6	0.0	↓7.9**
	Fetal sex ratios (% male, % change)[b]	54.8	↓5.3	↓3.1	↓9.7
	Fetal external and visceral morphology (number of fetuses [litters] examined)	364[24]	383[25]	355[24]	347[24]
	External malformations	-	-	-	-
	Visceral malformations	-	-	-	-
	Fetal skeletal morphology (number of fetuses [litters] examined)	363[24]	383[25]	355[24]	347[24]
	Malformation:				
	Rib anomaly[c] (fused and/or costal cartilage fused)	0	0	6[4]	3[1]
	Bent limb bones[c] (scapula, femur, humerus, radius, ulna and/or fibula)	0	0	1[1]	16[5]
	Variation:				
	Bent ribs	0	2[2]	2[1]	23[10]
	7th Cervical rib	3[2]	0	2[2]	19[11]

(continued)

2.6.7.13A Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryofetal Development in Rat (Concluded)

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, - = no adverse findings, $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, C_{max} = Maximum observed plasma concentration, g = grams, GD = Gestation Day, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, $T_{1/2}$ = half-life, T_{max} = time to maximum concentration.

[a] Number of animals or tissues.

[b] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

[c] Individual fetuses may occur in more than one category.

** $p \leq 0.01$ (Dunnett's or Dunn's test).

2.6.7.13B Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryofetal Development in Rabbit

Report title: An Oral (Gavage) and Toxicokinetic Study of the Effects of INCB028050 on Embryo/Fetal Development in Rabbits

Design similar to ICH 4.1.3: Yes
Duration of dosing: GD 7-20
Document ID: T08-07-02 (4.2.3.5.2.3)
Species/strain: Rabbit/NZW
Day of mating: GD 0
GLP compliance: Yes
Initial age: 5.5 months
Day of C-section: GD 29
Test Article: Baricitinib phosphate
Date of first dose: [redacted]
Route: Oral Gavage
Vehicle: 0.5% methylcellulose in deionized water
Special features: None
No-observed-adverse-effect level:
Maternal toxicity: 10 mg/kg/day
Embryo /fetal development: 10 mg/kg/day

Toxicokinetics

Sample: Plasma
Analyte: Baricitinib
Number of animals: 4/animals/group/time point
Feeding condition: Fed
Dose frequency: Daily
Assay/Method: LC/MS/MS; DMB-15-86-1 (4.2.2.1.7)

		Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
Dams	GD 7					
	C_{max} (ng/mL)[a]		NC	146	594	3272
	(SD)			(52)	(182)	(557)
	AUC_{0-24hr} (ng•hr/mL)[a]		NC	383	1790	9991
	(SD)			(85)	(152)	(1523)
	T_{max} (hr)		NC	1.13	0.625	0.750
	(SD)			(0.63)	(0.25)	(0.29)
	$T_{1/2}$ (hr)		NC	1.45[b]	2.33	3.31
	(SD)			(0.39)	(1.9)	(0.47)
	GD 20					
	C_{max} (ng/mL)[a]		NC	297	1125	6388
	(SD)			(48)	(208)	(2080)
	AUC_{0-24hr} (ng•hr/mL)[a]		NC	1096	3027	20094
	(SD)			(446)	(1226)	(3714)
	T_{max} (hr)		NC	0.750	0.625	0.625
	(SD)			(0.29)	(0.25)	(0.25)
	$T_{1/2}$ (hr)		NC	4.75	2.69	3.31
	(SD)			(3.8)	(2.8)	(0.63)

(continued)

2.6.7.13B Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryofetal Development in Rabbit (Continued)

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
Noteworthy Findings					
Dams	Number pregnant	23	23	20	21
	Number died or euthanized moribund	0	0	1	2
	Number aborted	0	0	0	0
	Number with total resorption of litter	0	0	0	1
	Clinical observations	-	-	-	-
	Necropsy observations	-	-	-	-
	Body weight gain (g), (% change)[c]				
	GD 7-21	272	↓4.0	↑7.7	↑11.4
	Food intake, g/animal/day, (% change)[c]				
	GD 7-21	176	↓3.4	↓1.7	↓5.7
	Gravid uterine weight (g), (% change)[c]	486.4	↑9.3	↑4.4	↓8.4
	Mean number corpora lutea/dam	9.9	10.9	10.4	9.7
	Mean number implantations/dam	8.7	9.7	9.4	9.0
Litters	Number of litters evaluated	23	23	20	20
	Number of live fetuses/litter	8.3	9.3	8.9	7.0
	Number of viable fetuses (%)	96.7	96.2	95.0	75.4++
	Mean number of early utero deaths/litter (% per litter)	2.1	3.4	2.3	10.1
	Mean number of late utero deaths/litter (% per litter)	1.2	0.4	2.6	14.4++
	Number of dead fetuses/litter	0.0	0.0	0.0	0.0
	Fetal weight (g, gender combined, % change)[c]	42.2	↓0.9	↓3.6	↓10.9**
	Sex ratio (% male, % change[c])	48.4	↓7.4	↑6.8	↑20.0
	Fetal anomalies (number of fetuses [litters] examined)	192[23]	215[23]	177[20]	147[20]
	External malformations	-	-	-	-
	Visceral malformations	-	-	-	-
	Skeletal malformations				
	Vertebral anomaly with or without associated rib anomaly	0	0	1[1]	2[2]

(continued)

2.6.7.13B Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryofetal Development in Rabbit (Concluded)

Abbreviations: ↑ = increase, ↓ = decrease, – = no important findings; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours post dose, BLQ = below the limit of quantitation, C_{max} = maximum observed plasma concentration, g = grams, GD = Gestation Day, NA = not applicable, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, NZW = New Zealand White, SD = standard deviation, $T_{1/2}$ = half-life, T_{max} = time to maximum concentration, g = grams, SD = standard deviation.

[a] Data was converted from µM or µM•hr to ng/mL or ng•hr/mL, respectively, by multiplying value by molecular weight of 371.42.

[b] N = 3, not calculated for one rabbit due to insufficient time points to define the terminal phase.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance based on actual data (not on the percent differences).

** p≤0.01 (Dunnett's rank test), ++ p≤0.01 (nonparametric analysis).

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development

Report title: A Prenatal and Postnatal Development and Toxicokinetic Study of LY3009104 (Compound 3009104) Administered Orally (Gavage) in Sprague-Dawley Rats

Design similar to ICH 4.1.2: Yes
Duration of dosing: GD 6 through LD 20
Document ID: [redacted]-353280 (4.2.3.5.3.1)
Species/strain: Rat/Crl:CD(SD)
Day of mating: GD 0
GLP compliance: Yes
Initial age: 13 Weeks
Litters culled / not culled: Culled to 4M/4F when possible
Test Article: Baricitinib
Date of first dose: [redacted]
Route: Oral Gavage
Vehicle: 0.5% methylcellulose in purified water
Special features: Peripheral blood immunophenotyping, immunohistochemistry on spleen and thymus
No-observed-adverse-effect level:

- F_0 maternal toxicity and reproduction: 25 mg/kg
- F_1 survival and growth: 2 mg/kg
- F_1 behavioral development, reproductive capacity and F_2 survival: 25 mg/kg

Composite Toxicokinetics

Sample: Plasma
Analyte: Baricitinib
Number of animals: 4/animals/group/time point
Feeding condition: Fed
Dose frequency: Daily
Assay/Method: LC/MS/MS; 8232101 (4.2.2.1.3)

Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	5	25
F_0 females				
GD 6				
C_{max} (ng/mL)	NC	263	514	3620
(SEM)		(22.8)	(114)	(653)
$AUC_{0\text{-last}}$ (ng•hr/mL)	NC	731	2170	10900
(SEM)		(45.9)	(246)	(804)
T_{max} (hr)	NC	0.5	0.5	1
LD 4				
C_{max} (ng/mL)	NC	174	493	2150
(SEM)		(21.1)	(38.8)	(505)
$AUC_{0\text{-last}}$ (ng•hr/mL)	NC	840	2110	10300
(SEM)		(58.2)	(96.0)	(987)
T_{max} (hr)	NC	0.5	0.5	1

(continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Continued)

	Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	5	25
Noteworthy Findings					
F_0 females	# pregnant	27	30	30	30
	# died or euthanized moribund	0	0	1	1
	# aborted	0	0	0	0
	# with total litter loss	0	0	1	2
	# that failed to deliver	0	0	0	1
	# with viable pups	27	30	29	27
	Clinical observations				
	Hairloss on forelimbs (No. of animals)	6	9	9	15
	Necropsy observations (animals with the finding)	-	-	-	-
	Body weight gain (g), GD 6-20 (% change)[a]	120	↓4.2	↓0.8	↓4.2
	Body weight gain (g), LD 1-21 (% change)[a]	41	↓9.8	↓12.2	↓4.9
	Food consumption (g/rat/day), GD 6-20 (% change)[a]	23	0.0	0.0	↓4.3
	Food consumption (g/rat/day), LD 1-14 (% change)[a]	46	↓4.3	0.0	↓13.0**
	Mean duration of gestation (days)	-	-	-	-
	Abnormal parturition	0	0	0	1

(continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Continued)

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	5	25
Noteworthy Findings					
F_1 litters					
Preweaning	Mean # of implantations	15.4	14.9	14.8	14.6
	Mean # pups/litter	14.6	14.5	13.8	13.9
	Mean # liveborn pups/litter	14.6	14.4	13.7	13.7
	Postnatal survival PND 0-1 (% per litter)	98.8	99.5	97.4	95.5
	Postnatal survival PND 1-4 (% per litter)	99.2	99.1	98.4	87.0*
	Postnatal survival to weaning (after cull) (% per litter)	98.2	97.5	96.3	93.1
	# of total litter losses	0	0	1	2
	# of pups(litters) found dead	5(5)	12(8)	5(3)	46(20)
	# pups with external anomalies (fetal / litter incidence)				
	Malrotated forelimb(s)	1/1	0/0	0/0	17/8
	Necropsy observations (scheduled or unscheduled deaths, through PND 28)	-	-	-	-
	Pup body weight (g), (% change)[a]				
	Newborn (PND 1)				
	Male	7.1	↓5.6	↓7.0**	↓16.9**
	Female	6.7	↓6.0	↓7.5**	↓17.9**
	Change from PND 1-4				
	Male	2.6	↓7.7	↓3.8	↓38.5**
	Female	2.6	↓11.5	↓11.5	↓42.3**
	Change from PND 21-28				
	Male	47.1	↓5.1	↓6.8*	↓24.8**
	Female	39.5	↓2.8	↓4.8	↓20.8**
	Final body weight (g), PND 35 (% change)[a]				
	Male	149	↑7.4	↑6.0	↓20.1**
	Female	136	↓2.9	↓6.6	↓22.8**
	Final body weight (g), PND 65 (% change)[a]				
	Male	418	↓1.2	↑1.0	↓14.6**
	Female	258	↓3.9	↓5.8	↓17.4**

(continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Continued)

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	5	25
Noteworthy Findings					
F_1 litters	Pup sex ratio on PND 0 (% males)	47.1	51.5	52.9	49.1
Preweaning	Pup clinical observations				
(concluded)	Small stature (neonates/litters)	6/6	6/4	5/4	27/14
	Physical development				
	Negative geotaxis	-	-	-	-
	Pup necropsy observations	-	-	-	-
F_1 Males	# litters evaluated	27	30	29	26
Postweaning	# died or euthanized moribund	-	-	-	-
	Clinical observations				
	Forelimb grip strength PND 20 (% change)[a,b]	166.3	↓8.8	↓10.2	↓34.5**
	Hindlimb grip strength PND 20 (% change)[a,b]	87.1	↓3.3	↓1.4	↓30.3**
	Forelimb grip strength PND 60 (% change)[a]	982.5	↓9.6	↓14.0*	↓22.9**
	Hindlimb grip strength PND 60 (% change)[a]	609.5	↓8.0	↓8.0	↓12.6**
	Necropsy observations	-	-	-	-
	Body weight change (g), nominal Day 28 of age to mating (PND 28-84, % change)[a]	426	↓4.5	↓6.6*	↓19.7**
	Preputial separation (day of attainment)	43.4	43.1	43.4	46.3**
	Motor activity (% change)[a]				
	PND 21 cumulative beam total	2901	↓5.3	↓4.3	↓3.1
	PND 21 cumulative ambulatory	1035	↓5.5	↓2.4	↑21.9
	PND 61 cumulative beam total	4046	↓9.0	↓5.9	↓12.2
	PND 61 cumulative ambulatory	824	↓9.5	↓7.5	↓6.2
	Auditory startle (% change)[a]				
	PND 22 Overall mean Max (neutons)	1.408	↓11.1	↓4.1	↓33.9*
	PND 22 Overall mean T_{max} (ms)	60.3	↑2.5	↓2.3	↑3.5
	PND 22 mean AVE (neutons)	0.579	↓11.6	↓2.4	↓33.5*
	PND 62 Overall mean Max (neutons)	0.880	↑2.8	↑0.8	↓5.8
	PND 62 Overall mean T_{max} (ms)	45.7	↑0.9	↑1.1	↑6.1
	PND 62 mean AVE (neutons)	0.373	↑5.4	↓0.5	↓5.6

(continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Continued)

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	5	25
Noteworthy Findings					
F_1 Males Postweaning (continued)	Learning and memory (Biel Maze)				
	Biel maze swimming ability (PND 70)	-	-	-	-
	Learning overall mean escape time PND70, path A, s, (% change)[a]	42.6	↑16.7	↑13.8	↑9.2
	Learning overall mean errors PND 70, path A	4	4	4	4
	Memory overall mean escape time PND 70, path A, s, (% change)[a]	51.5	↑0.4	↑5.6	↓13.8
	Memory overall mean errors PND 70, path A	5	5	5	4
	Mean # days prior to mating	3.3	3.1	2.7	4.2
	# of males that did not sire a litter	1	0	2	2
	Male mating index (%)	96.3	100.0	96.6	92.3
	Male fertility index (%)	96.3	100.0	93.1	92.3
	Male copulation index (%)	100.0	100.0	96.4	100.0
	Sperm evaluation				
	Motility, %, (% change)[a]	80.0	↓2.5	0.0	↑2.5
	Concentration, millions/g, (% change)[a]	873.4	NE	NE	↓12.9
	Morphology	-	-	-	-
	Hematology, PND 35	-	-	-	-
	Hematology, PND 65	-	-	-	-
	Immunophenotyping PND 35±1	-	-	-	-
	Immunophenotyping PND 65±1	-	-	-	-

(continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Continued)

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	5	25
Noteworthy Findings					
F_1 Males Postweaning (concluded)	Organ weight PND 35				
	Spleen (g), (% change)[a]	0.56	↑12.7	↑7.3	↓18.2*
	Thymus (g), (% change)[a]	0.55	↑13.1	↑0.6	↓22.5*
	Organ weight PND 65	-	-	-	-
	Final body weight (g), (% change)[a]	676	↓4.3	↓5.8	↓22.8**
	Organ weight final termination				
	Testis, rt (g), (% change)[a]	2.00	↓5.5	↓4.0	↓21.5**
	Testis, lt (g), (% change)[a]	2.11	↓10.4**	↓13.3**	↓25.1**
	Seminal vesicle-coagulating gland-fluid (g)	2.02	-	-	-
	Prostate (g), (% change)[a]	1.22	↓0.8	↓4.1	↓14.8**
	Epididymis, rt (g), (% change)[a]	0.78	↓3.8	↓5.1	↓17.9**
	Epididymis, lt (g), (% change)[a]	0.71	↓1.4	↓7.0	↓15.5**
F_1 Females Postweaning	# litters evaluated	27	30	29	26
	# died or euthanized moribund	0	0	0	0
	Clinical observations				
	Forelimb grip strength PND 20 (% change)[a]	161.0	↓7.1	↓3.4	↓31.4**
	Hindlimb grip strength PND 20 (% change)[a]	86.2	↑0.8	↓3.2	↓31.2**
	Forelimb grip strength PND 60 (% change)[a]	781.7	↑2.6	↓6.8	↓18.8**
	Hindlimb grip strength PND 60 (% change)[a]	516.9	↓2.6	↓2.8	↓14.0**
	Necropsy observations	-	-	-	-
	Body weight change (g), nominal Day 28 of age to mating (PND 28-84, % change)[a]	210	↓2.9	↓5.2	↓10.0**
	Gestation body weight change (g), GD 0-20, (% change)[a]	135	↑6.7	↑10.4	0.0
	Gestation food consumption, g/animal/day, GD 0-20, (% change)[a]	23	0.0	0.0	0.0
	Vaginal patency (day of attainment)	33.1	33.7	33.6	35.8**
	Motor activity (% change)[a]				
	PND 21 cumulative beam total	2816	↓6.0	↑2.1	↓15.3
	PND 21 cumulative ambulatory	1026	↓4.6	↑3.7	↑8.4
	PND 61 cumulative beam total	4278	↑0.4	↑5.5	↑3.0
	PND 61 cumulative ambulatory	1164	↑3.1	↑10.2	↑4.6

(continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Continued)

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	5	25
Noteworthy Findings					
F_1 Females Postweaning (continued)	Auditory startle (% change)[a]				
	PND 22 Overall mean Max (neutons)	1.731	↓9.4	↓18.8*	↓22.3*
	PND 22 Overall mean T_{max} (ms)	64.6	↑0.2	↑3.6	↓3.9
	PND 22 mean Ave (neutons)	0.736	↓11.5	↓21.3*	↓23.2*
	PND 62 Overall mean Max (neutons)	0.835	↓5.3	↓18.0	↓16.3
	PND 62 Overall mean T_{max} (ms)	50.6	↑1.4	↑6.3	↑0.6
	PND 62 mean Ave (neutons)	0.356	↓7.6	↓19.7	↓15.7
	Learning and memory (Biel Maze)				
	Biel maze swimming ability (PND 70)	-	-	-	-
	Learning overall mean escape time PND 70, path A, s, (% change)[a]	42.3	↓0.7	↓10.6	↑16.5
	Learning overall mean errors PND 70, path A	4	4	3	4
	Memory overall mean escape time PND 70, path A, s, (% change)[a]	64.8	↓20.7	↓4.0	↓16.4
	Memory overall mean errors PND 70, path A	6	5	6	5
	Estrous cycle length, mean days, (% change)[a]	4.1	↑14.6	0.0	↑12.2
	Complete estrous cycles	2.4	1.9	2.5	2.4
	# normal estrous cycles	2.4	1.9	2.4	2.3
	# abnormal estrous cycles	0.1	0.3	0.1	0.3
	Mean # days prior to mating	3.3	3.1	2.7	4.2
	Female mating index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
	Female fertility index (%)	100.0	100.0	96.6	100.0
	Female copulation index (%)	100.0	100.0	96.6	100.0
	Gestation length mean # of days	21.5	21.5	21.4	21.4
	# of pregnant females	27	30	28	26
	# aborted	0	0	0	0
	Mean # corpora lutea	17.1	18.4	17.5	15.6
	Mean # implantations	14.7	16.2	16.4	14.2
	Hematology PND 35	-	-	-	-
	Hematology PND 65	-	-	-	-

(continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Concluded)

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	2	5	25
Noteworthy Findings					
F_1 Females Postweaning (concluded)	Immunophenotyping PND 35±1 (% change)[a]				
	Cytotoxic T cells (CD5+CD8a+)	-	-	-	↓33%**
	Immunophenotyping PND 65±1 (% change)[a]				
	Helper T cells (CD5+CD4+)	-	-	-	↑29%*
	Helper T cell: Cytotoxic T cell ratio	-	-	-	↑25%*
	Immunohistochemistry	-	-	-	-
	Organ weight PND 35				
	Spleen (g), (% change)[a]	0.49	↓16.3	↓12.2	↓20.4*
	Thymus (g), (% change)[a]	0.50	↑3.7	↓5.1	↓20.6**
	Organ weight PND 65	-	-	-	-
	Final body weight (g), LD 1 (% change)[a]	339	↓0.9	↓2.1	↓10.9**
	Organ weight LD 1				
	Ovaries (g), (% change)[a]	0.155	↓3.1	↓3.4	↓11.5*
	Mean # live litter size	14.0	15.1	15.4	13.2
F_2 litters	Postnatal F_2 survival PND 0 (mean % per litter)	99.4	99.2	98.6	100.0
	Postnatal F_2 survival birth to PND 1(mean % per litter)	98.4	99.0	98.4	99.4
	Clinical signs F_2	-	-	-	-
	Neonatal body weight F_2 (g), mean, (% change)[a]				
	Male	7.1	↓2.8	↓4.2	↓1.4
	Female	6.7	↓3.0	↓3.0	↓1.5

(continued)

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Concluded)

Abbreviations: # = number, ↑ = increase, ↓ = decrease, – = no important findings, $AUC_{0\text{-last}}$ = area under the plasma concentration-time curve from 0 hours to the last quantifiable time point, C_{max} = maximum observed plasma concentration, GD = Gestation Day, LD = lactation day, lt = left, Max = maximum response amplitude, ms = milliseconds, NA = not applicable, NC = not calculated due to all concentrations being under the quantitation limit, NE = not evaluated, PND = postnatal day, rt = right, s = seconds, SEM = standard error of the mean, T_{max} = time to maximum concentration.

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

[b] N = 28 for males on PND 20

Definitions:

Male (female) mating index (%) = No. of males(females) with evidence of mating (or confirmed pregnancy) / Total No. of males (females) used for mating × 100

Male fertility index (%) = No. of males siring a litter / Total No. of males used for mating × 100

Female fertility index (%) = No. of females with confirmed pregnancy / Total No. of females used for mating × 100

Male copulation index (%) = No. of males siring a litter / No. of males with evidence of mating (or females confirmed pregnant)

Female conception index (%) = No. of females with confirmed pregnancy / No. of females with evidence of mating (or confirmed pregnancy) × 100

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ (using categorical, Dunnett's or parametric tests).

2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals (Not Applicable)

2.6.7.16 Local Tolerance (Not Applicable)

2.6.7.17 Other Toxicity Studies: Phototoxicity, Ocular Irritation, and Acute Dermal

Species Strain	Route	Duration of Dosing	Doses	Sex #/Group	Noteworthy Findings	Document ID
Phototoxicity						
Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts	In vitro	Single dose	1.28, 2.28, 4.0, 7.2, 12.8, and 22.8 mg/L Baricitinib Phosphate	NA	No phototoxicity or cytotoxicity	20007788 (4.2.3.7.7.1)
Ocular Irritation (BCOP)						
Bovine eyes (corneas)	In vitro	Single dose	0.75 ml of 20% Baricitinib suspension	NA	Non-irritant	[redacted] 12-20568.09 (4.2.3.7.7.2)
Acute Dermal						
Rabbits, New Zealand White	Dermal	Single dose	1000 mg/kg Baricitinib	5M, 5F	LD_{50} = >1000 mg/kg	[redacted] 12-20568.02 (4.2.3.7.7.3)

Abbreviations: # = number, BCOP = Bovine Corneal Opacity and Permeability, F = female, M = male, NA = not applicable.