CTD 第 2 部
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.6 毒性試験の概要文

MSD 株式会社

目次

頁

表一覧 3
略号及び用語の定義 4
2.6.6 毒性試験の概要文 6
2.6.6.1 まとめ 6
2.6.6.2 単回投与毒性試験 21
2.6.6.3 反復投与毒性試験 24
2.6.6.3.1 ラットの2週間静脈内投与用量設定試験 26
2.6.6.3.2 ラットの4週間静脈内投与用量設定試験 27
2.6.6.3.3 ラットの4週間静脈内投与用量設定試験 27
2.6.6.3.4 ラットの4週間静脈内投与毒性試験及び4週間休薬試験 28
2.6.6.3.5 ラットの4週間静脈内投与 TK 試験 30
2.6.6.3.6 ラットの4週間静脈内投与毒性及び TK 試験並びに4週間回復性試験 31
2.6.6.3.7 イヌの2週間静脈内投与毒性試験 32
2.6.6.3.8 イヌの4週間静脈内投与毒性試験及び4週間休薬試験 33
2.6.6.3.9 ラットの4週間併用静脈内投与試験 37
2.6.6.3.10 イヌの2週間1日2回併用静脈内投与試験 40
2.6.6.4 遺伝毒性試験 41
2.6.6.4.1 In silico 解析 45
2.6.6.4.2 細菌を用いた復帰突然変異試験 45
2.6.6.4.3 ほ乳動物細胞を用いた In vitro 遺伝毒性試験 46
2.6.6.4.4 In vivo 遺伝毒性試験 49
2.6.6.5 がん原性試験 51
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 51
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 52
2.6.6.6.1.1 ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内投与試験 52
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 53
2.6.6.6.2.1 マウスの胚・胎児発生に関する静脈内投与試験 53
2.6.6.6.2.2 ラットの胚・胎児発生に関する静脈内投与試験 54
2.6.6.6.3 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 56
2.6.6.6.3.1 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静脈内投与試験 56
2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験 58
2.6.6.6.4.1 幼若ラットの2週間皮下投与用量設定及び TK 試験 58
2.6.6.6.4.2 幼若ラットの4週間皮下投与毒性及び TK 試験並びに4週間回復性試験 60

Confidential

2.6.6.7 局所刺激性試験 62
2.6.6.8 その他の毒性試験 63
2.6.6.8.1 抗原性試験 63
2.6.6.8.2 免疫毒性試験 64
2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験 66
2.6.6.8.4 依存性試験 66
2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験 67
2.6.6.8.6 不純物の毒性試験 67
2.6.6.8.6.1 開発時の工程で製造したセフトロザン製剤（Lot [redacted]）を用いた試験 71
2.6.6.8.6.2 製造販売用の工程で製造したセフトロザン原薬の強制劣化品（Lot [redacted]）を用いた試験 72
2.6.6.8.6.3 製造販売用の工程で製造したセフトロザン原薬（Lot [redacted]）を用いた試験 73
2.6.6.8.6.4 In vitro 遺伝毒性試験で用いた培養条件下での不純物確認試験 74
2.6.6.8.6.5 セフトロザンの原料及び製造時中間体の生物学的安全性試験 74
2.6.6.8.7 その他の試験 74
2.6.6.8.7.1 光毒性試験 74
2.6.6.8.7.2 溶血性試験 75
2.6.6.8.7.3 労働者安全性試験 76
2.6.6.9 考察及び結論 76
2.6.6.9.1 安全域 76
2.6.6.9.1.1 反復投与毒性試験成績に基づく安全域 76
2.6.6.9.1.2 生殖発生毒性試験成績に基づく安全域 79
2.6.6.9.2 考察 84
2.6.6.10 参考文献 90

Confidential

表一覧

頁

表 2.6.6-1　セフトロザンを用いて実施した毒性試験の一覧 12
表 2.6.6-2　セフトロザン／タゾバクタム（用量比2:1）を用いて実施した毒性試験の一覧 20
表 2.6.6-3　ラットにセフトロザンを4週間静脈内投与した際の腎臓中セフトロザン濃度 29
表 2.6.6-4　ラットにセフトロザンを4週間静脈内投与した際の AUC 及び C_{max} 30
表 2.6.6-5　雌雄ラットにセフトロザンを静脈内投与したときの C_{max} 及び AUC_{last} 32
表 2.6.6-6　セフトロザンを1日1回4週間静脈内投与した雌雄イヌの腎臓中セフトロザン濃度 34
表 2.6.6-7　セフトロザンを1日1回4週間静脈内投与した雌雄イヌの $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ 及び C_{max} 35
表 2.6.6-8　セフトロザン／タゾバクタムを1日1回4週間静脈内投与した雌雄 SD ラットにおけるセフトロザンの C_{max} 及び AUC 39
表 2.6.6-9　セフトロザン／タゾバクタムを1日1回4週間静脈内投与した雌雄 SD ラットにおけるタゾバクタムの C_{max} 及び AUC 39
表 2.6.6-10　ビーグルを用いたセフトロザン／タゾバクタムの1日2回2週間静脈内投与試験におけるセフトロザンの C_{max} 及び AUC 41
表 2.6.6-11　ビーグルを用いたセフトロザン／タゾバクタムの1日2回2週間静脈内投与試験におけるタゾバクタムの C_{max} 及び AUC 41
表 2.6.6-12　セフトロザン及びタゾバクタムの遺伝毒性試験の一覧 44
表 2.6.6-13　セフトロザンの原薬又は製品で規格値を0.05%以上に設定したセフトロザン関連の不純物の反復投与毒性試験成績に基づく安全性確認 69
表 2.6.6-14　安全性確認の試験に用いたセフトロザン原薬中の不純物プロファイル 70
表 2.6.6-15　反復投与毒性試験成績に基づくセフトロザンの安全域 77
表 2.6.6-16　反復投与毒性試験成績に基づくタゾバクタムの安全域 78
表 2.6.6-17　生殖発生毒性試験成績に基づくセフトロザンの安全域 80
表 2.6.6-18　生殖発生毒性試験成績に基づくタゾバクタムの安全域 81
表 2.6.6-19　幼若動物試験成績に基づくセフトロザンの安全域 82
表 2.6.6-20　幼若動物試験成績に基づくタゾバクタムの安全域 83

C Confidential

略号及び用語の定義

略号	定義	
A/G	Albumin/Globulin	アルブミン／グロブリン
Alum	Aluminum hydroxide	水酸化アルミニウム
ASA	Active systemic anaphylaxis	能動性全身アナフィラキシー
$AUC_{0\text{-}8hr}$	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 8 hours	時間0から8時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24hr}$	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours	時間0から24時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity	0時間から無限大までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last measurable concentration	0時間から最終定量可能時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BSA	Bovine serum albumin	ウシ血清アルブミン
CHL	Chinese hamster lung	チャイニーズハムスター肺
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
cIAI	Complicated Intra-abdominal Infections	複雑性腹腔内感染症
cUTI	Complicated Urinary Tract Infections	複雑性尿路感染症
C_0	Initial (fictive) or back-extrapolated plasma drug concentration at time zero following bolus intravenous injection	急速静脈内投与した際の0時間における血漿中薬物濃度
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DP	Drug Product	製剤
DS	Drug Substance	原薬
F_0	Parental generation	親世代
F_1	First generation offspring	第1世代
F_2	Second generation offspring	第2世代
FCA	Freund’s complete adjuvant	完全フロインドアジュバント
GD	Gestation day	着床後の日数
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HED	Human-equivalent dose	ヒト等価用量

C Confidential

略号	定義	
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
Hprt	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ
IC_{50}	Median inhibition concentration	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
ID	Intradermal	皮内
IgE	Immunoglobulin E	免疫グロブリン E
IP	Intraperitoneal	腹腔内
IV	Intravenous	静脈内
LC/MS	Liquid Scintillation Mass Spectrometry	液体クロマトグラフ質量分析計
MLA	Mouse lymphoma assay	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
PAS	Periodic acid-Schiff	過ヨウ素酸シッフ
PCA	Passive cutaneous anaphylactic reaction	受動的皮膚アナフィラキシー反応
PI	Package insert	添付文書
PND	Postnatal day	出生後日数
S9	Liver microsome fraction	肝ミクロソーム酵素活性化系
SC	Subcutaneous	皮下
SD	Sprague Dawley	–
TK	Toxicokinetic	トキシコキネティクス
UDS	Unscheduled deoxyribonucleic acid (DNA) synthesis	不定期 DNA 合成
UV	Ultraviolet	紫外線

Confidential

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

タゾバクタムナトリウム／セフトロザン硫酸塩 注射剤（開発コード：MK-7625A）は、抗緑膿菌作用を有する新規のセファロスポリン系抗菌薬であるセフトロザン（セフトロザン硫酸塩：セフトロザン、開発コード：CXA-101、CB-500,101、FR264205、[redacted]及び MK-7625）に、既に製造販売されている注射用タゾバクタム／ピペラシリンの組成成分の1つである β-ラクタマーゼ阻害薬のタゾバクタム（タゾバクタムナトリウム：タゾバクタム）を組み合わせた新規の注射用配合剤である。

ラット及びイヌにセフトロザンを1,000 mg/kg/日（試験での最高用量）まで14日間又は28日間反復静脈内投与した結果、臨床的に意味のある毒性所見は認められなかった。セフトロザンに関連する主な所見として、病理組織学的検査で腎臓の近位尿細管に硝子滴がみられたが、その毒性学的意義はほとんどなく、回復性のある変化であった。また、セフトロザンの投与により、げっ歯類では投与部位局所に回復性のある影響が認められたが、イヌでは認められなかった。タゾバクタムの安全性については、ヒトに長期間使用されてきた実績がある。タゾバクタムの投与に関連した非臨床試験における主な所見として、肝細胞細胞質にグリコーゲンの蓄積がみられたが、その毒性学的意義はほとんどなく、回復性のある変化であった。セフトロザン及びタゾバクタムを併用投与しても、動物に新規の所見及び予測できない毒性は認められなかった。

遺伝毒性試験の証拠（in vivo 試験の陰性結果を含む）の重み付けから、臨床使用においてセフトロザン単独又はタゾバクタムとの併用投与が遺伝毒性のリスクをもたらすことはないと考えられた。また、セフトロザンが生殖発生毒性を発現する可能性及び抗原性を有する可能性も低いと考えられた。セフトロザンは光毒性及び免疫毒性を示さず、in vitro 試験でヒト血球に対する溶血性を示さなかった。これまでに集積したセフトロザン／タゾバクタムの非臨床毒性成績は、細菌による複雑性尿路感染症（cUTI）及び複雑性腹腔内感染症（cIAI）に対する治療として、1日3回（セフトロザンの1回あたりの投与量は1,000 mg、タゾバクタムは500 mg）の静脈内投与（最長14日間）を支持している。母集団薬物動態解析に基づき、日本人患者での血漿中セフトロザン及びタゾバクタムの $AUC_{0\text{-}24\ hr}$［1日当たりの AUC として、承認申請用量（セフトロザン1 g＋タゾバクタム0.5 g、クレアチニンクリアランスが50 mL/min 以下の患者ではセフトロザン500 mg＋タゾバクタム250 mg）を8時間ごとに反復投与した時の $AUC_{tau,ss}$ の幾何平均を3倍して算出］及び C_{max} の幾何平均は、セフトロザンではそれぞれ591 μg·hr/mL 及び67.8 μg/mL、タゾバクタムではそれぞれ95.7 μg·hr/mL 及び18.3 μg/mL であった（013/014試験）[資料5.3.4.2: 04SQ2L]。また、タゾバクタムの主要代謝物である M1の日本人患者での曝露量は算出していないが、日本人健康被験者での C_{max} の幾何平均は0.61 μg/mL、1日3回投与のため1日当たりの曝露量の概算値として $AUC_{0\text{-}last}$ を3倍した値は13.2 μg·hr/mL であった[2.7.2 項]（CXA-EB-13-05試験）。

セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用投与による毒性を、広範囲にわたる in vitro 及び in vivo の非臨床試験で適切に評価し、被験物質に関連する変化及びこれらの変化に対する回復性を含めて主要な安全性の所見が特定されている。

セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用投与による重要な試験は、全て医薬品の安全性に

Confidential

関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。大部分の試験では、セフトロザン及びタゾバクタムのそのものの毒性検索に重点を置いたために原薬を用いた。臨床で予定される投与経路に合わせて、全ての in vivo 毒性試験は静脈内投与で実施したが、例外として、幼若ラットを用いた毒性試験では、体が小さく静脈内投与が困難であったため、皮下投与で実施した。臨床では60分間の点滴静脈内投与であるが、イヌでの1試験を除く全ての毒性試験は急速静脈内投与し、最高血中濃度（C_{max}）に関連する所見を評価した。セフトロザン／タゾバクタムは臨床では1日3回投与であるが、非臨床試験では動物に1日3回静脈内投与を行うとストレスにより被験物質に関連のない所見が現れると考えられたため、イヌを用いた1試験（15分間の静注を1日2回）を除いて1日1回投与とした。また、動物への投与を1日1回としても、臨床推奨用量におけるヒトでの曝露量を超えた1日曝露量が得られている。

全体として、セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用投与における非臨床毒性試験は、関連する ICH ガイドラインに適切かつ十分に準拠して実施した。反復投与毒性試験は十分な動物数を用いて実施され、毒性の適切な評価項目を検討した。腎臓におけるセフトロザンに関連する所見は、標準的な病理組織学的検査に加えて電子顕微鏡検査によって評価した。セフトロザンを用いた反復投与毒性試験では、被験物質に関連する所見の回復性を検討するために休薬期間を設定した。

重要な試験は日本、米国又はカナダで実施した。日本、米国及びカナダは経済協力開発機構（OECD）の加盟国であり、OECD の「データの相互受け入れ」システムが適用される。全ての重要な試験は、セフトロザンあるいはタゾバクタムのトキシコキネティクス（TK）試験結果に基づいて評価した。TK 試験は当該試験の一部として実施するか、同じ投与調製物を用いて同じ用量を投与した同一条件の別試験として実施した。GLP 適用下の反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験での最高用量は、当該試験の条件下で投与可能な最高用量又は毒性により制限される用量とした。

重要な毒性試験では、適切に検証された投与液及び生体試料の測定並びに TK 解析を用いた。投与液の測定は、紫外線検出器を用いた高速液体クロマトグラフィー（HPLC-UV 法）で実施した。生体試料の測定はまず HPLC-UV 法で行われ、その後、質量分析法を用いた液体クロマトグラフィー（LC/MS 法）を開発して利用した。臨床試験の開始に必要な全ての毒性試験は、臨床試験で用いた製剤と同じ工程で製造されたセフトロザンを用いて実施した。製造工程はその後、より強固な製造販売用の工程に変更された。ラットにおける28日間投与ブリッジング毒性試験（CX.101.TX.031）は、この新しい製造販売用の工程で製造されたセフトロザンを用いて実施した。また、遺伝毒性試験の in vitro マウスリンフォーマ *Tk*（MLA）試験（15-9036）及び in vitro *hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase*（*Hprt*）試験（15-9028及び16-9019）は、セフトロザンの製造販売用の工程の原薬を用いた。試験に用いた被験物質は[2.6.7.4 項]に示す。

単回投与毒性試験（セフトロザン）[2.6.6.2 項]

マウスにおけるセフトロザンの単回静脈内投与試験では1,500 mg/kg 以上の群で体重の減少が認められ、2,000 mg/kg 群では痙攣及び死亡が認められた。ラットにおける単回静脈内投与試験で

C Confidential

は、1,000 mg/kg 以上の群で一過性の体重減少が観察された。

イヌにおけるセフトロザンの単回静脈内投与試験では300 mg/kg 以上の群で、一般状態に肥満細胞の脱顆粒によるヒスタミンの放出に関連する変化が認められた。また、300 mg/kg 以上の群では嘔吐もみられた。500 mg/kg 以上の群では嘔吐並びに耳介及び口腔粘膜の潮紅が認められた。2,000 mg/kg 群では腹臥位、自発運動の低下、頭部腫脹、皮膚の暗紫色化がみられた。血漿中のヒスタミン濃度は300 mg/kg 以上の群で増加した。イヌは、セファロスポリン系抗菌薬の投与後における肥満細胞の脱顆粒によるヒスタミンの放出に、高い感受性を示すことが知られている[資料4.3: 311]。

反復投与毒性試験（セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用）[2.6.6.3 項]

ラット及びイヌにおけるセフトロザンの反復（最長28日間）静脈内投与毒性試験では、検討した最高投与量まで、臨床的に意味のある毒性所見は認められなかった。病理組織学的検査で腎臓に硝子滴がみられたが、同変化は腎臓の専門家で構成される独立した病理学専門家ワーキンググループによって、毒性学的に意義がある変化ではないと判断された。ラット及びイヌの28日間反復静脈内投与試験において、セフトロザンの300及び1,000 mg/kg/日群で、腎臓の近位尿細管で硝子滴が認められ、電子顕微鏡検査によって二次リソソームであることが確認された。ラットでは腎臓重量の増加も併せて認められたが、イヌでは認められなかった。これらの腎臓の病理組織学的所見は、変性及び壊死を伴わず、腎機能に関連する血液尿素窒素（BUN）、クレアチニン、無機リン又は尿検査項目の検査値に生物学的に意義ある変化はみられなかった。この所見はラット及びイヌとも投与後28日間の休薬期間終了時には回復傾向を示した。無毒性量は、ラット及びイヌでそれぞれ1,000及び300 mg/kg/日であった。イヌの無毒性量は、腎臓に関連する所見ではなく、高用量群（1,000 mg/kg/日群）でみれらたヒスタミンに関連する一般状態の変化に基づいて300 mg/kg/日と判断した。両動物種の無毒性量での曝露に基づく日本人 cUTI 及び cIAI 患者におけるセフトロザンの安全域は、AUC で約2.0～6.0倍、C_{max} で約11.3～118倍であった[表 2.6.6-15]。血液学的検査（赤血球数）での変化及び腸管（ラットのみで認められた盲腸）での変化もみられたが、一貫性がなく、1動物種のみに発現したもの、あるいは動物への抗菌薬投与に関連する影響として知られているものである。

ラット又はイヌにセフトロザン／タゾバクタムを用量比2：1で併用投与した際、個々の単独投与時と比較して、新規の所見及び予測できない毒性は認められなかった。また、併用投与で認められた所見の発現頻度及び程度は、単独投与した場合と同様であった。セフトロザン／タゾバクタムの無毒性量は、ラットで1,000/500 mg/kg/日、イヌで300/150 mg/kg/日であった。セフトロザン／タゾバクタムの併用投与試験から得た両動物種の無毒性量での曝露に基づく日本人 cUTI 及び cIAI 患者におけるセフトロザンの安全域は AUC で約2.1～3.2倍、C_{max} で約13.7～34.0倍であり、タゾバクタムの安全域は AUC で約0.9～5.7倍、C_{max} で約12.5～18.5倍であった[表 2.6.6-16]。

遺伝毒性試験（セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用）[2.6.6.4 項]

セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用時における遺伝毒性は、in silico での評価に加えて

Confidential

一連の広範囲な in vitro 及び in vivo の遺伝毒性試験で十分に特徴づけられている。各試験から得られた証拠の総合的な重み付けから、臨床使用においてセフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用投与が遺伝毒性のリスクをもたらすことはないと考えられた。

DEREK 及び Leadscope による in silico 解析において、セフトロザンに変異原性の警告構造は認められなかった。細菌を用いた変異原性試験、ほ乳動物細胞を用いた染色体異常試験、マウス小核試験及びラット肝細胞を用いた in vivo 不定期 DNA 合成試験において、セフトロザンの遺伝毒性は陰性であった。また、in vitro マウス MLA 試験において、セフトロザンを5,000 µg/mL で3時間処理したところ弱い陽性を示し、328 µg/mL 以上で24時間処理したところ陽性を示した。これらの結果は、別途実施した試験、すなわち、現行の ICH S2（R1）及び OECD 490ガイドラインに準拠したセフトロザン単独での2つの独立した試験[2.6.7.8C 項]（15-9036）、並びにタゾバクタムと併用した試験において再現性がみられなかった。MLA 試験の1試験ではセフトロザンは陽性を示したが、現行の ICH S2（R1）及び OECD 490ガイドラインに準拠した独立した2試験、及び臨床で使用されるタゾバクタムとの併用試験において再現性がなかったことから、総合的には、MLA 試験におけるセフトロザンの遺伝毒性は陰性と判断した。また、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた *Hprt* 遺伝子への前進突然変異誘発能を検出する試験で、セフトロザンは陰性であった[2.6.7.8F 項]（16-9019）。セフトロザン及びタゾバクタムを用量比2:1で併用した際、マウスリンフォーマ細胞において遺伝毒性は認められず、CHO 細胞において染色体の数的異常を引き起こすことはなく、ラットの骨髄において小核を有する多染性赤血球を増加させることはなかった。セフトロザン／タゾバクタムを併用した際の CHO 細胞を用いた in vitro 試験において、染色体の構造異常がみられたが、現在の ICH S2（R1）の推奨濃度を超え、顕著な細胞毒性を示す濃度でのみみられた。さらに、同様の濃度のセフトロザン及びタゾバクタムをそれぞれ単独で試験した結果、染色体異常はみられなかった。

生殖発生毒性試験（セフトロザン）及び幼若動物を用いた試験（セフトロザン／タゾバクタム）[2.6.6.6 項]

げっ歯類にセフトロザンの1,000 又は2,000 mg/kg/日（評価した最高用量）までを反復投与しても、受胎能、生殖能、胚及び胎児発生並びに催奇形性に関する影響は認められなかった。ラットにセフトロザンを最高1,000 mg/kg/日まで投与したところ、300及び1,000 mg/kg/日群の F_1動物に聴覚性驚愕反応の低下がみられた。その他の神経行動学的パラメータに影響はなく、同変化以外に出生前及び出生後の発生に関する影響はなかった。

幼若ラットにセフトロザン／タゾバクタムを50/25、300/150及び1,000/500 mg/kg/日の用量で1日1回皮下投与した非 GLP 用量設定試験（生後4日から14日間投与）及び GLP 評価試験（生後4日から28日間投与した後、28日間の休薬期間を設定）を実施した。300/150及び1,000/500 mg/kg/日群で一般状態に変化（自発運動の低下、立ち直り反射の消失／障害、運動失調）がみられ、1,000/500 mg/kg/日で認められた変化は毒性と考えられた。小葉中心性肝細胞肥大を伴う肝臓重量の増加が片方又は両方の試験の300/150及び1,000/500 mg/kg/日群で認められたが、毒性学的意義はないと考えられた。また、評価試験の1,000/500 mg/kg/日群で赤血球系パラメータの減少がみられ

Confidential

たが毒性学的意義はないと考えられた。投与部位に剖検所見（用量設定試験の1,000/500 mg/kg/日で赤色化及び／又は紫色化）及び刺激性を示す組織学的所見（評価試験の全用量）が認められたが、投与経路が皮下投与であったことから、投与部位での反応は無毒性量の判定には考慮しなかった。

用量設定試験では、300/150 mg/kg/日以上の群で腎臓近位尿細管上皮の細胞質空胞化を伴う腎臓重量の増加、1,000/500 mg/kg/日群で硝子滴（雄のみ）、好塩基性尿細管及び皮質の線維化が認められた。好塩基性尿細管及び皮質の線維化は試験の初期に発現していた可能性がある尿細管変性を示唆し、毒性所見と考えられた。しかしながら、これらの腎臓の毒性所見は、同じ用量、より長い投与期間、より多い動物数を設定した幼若動物の評価試験で再現されず、毒性学的意義は限定的と考えられた。また、用量設定試験で認められた所見と同様の腎臓所見（好塩基性尿細管及び皮質の線維化）は、評価試験の対照群でも認められた。評価試験で認められた所見は、28日間の休薬期間終了時には回復又は回復途中であった。1,000/500 mg/kg/日群で一般状態に変化が認められたことから、評価試験での無毒性量は300/150 mg/kg/日であり、生後4日での AUC_{last} 及び C_{max} はそれぞれ約1,520/426 µg·hr/mL 及び約525/257 µg/mL、生後31日での AUC_{last} 及び C_{max} はそれぞれ296/33.0 µg·hr/mL 及び294/59.8 µg/mL であった。無毒性量での曝露に基づく日本人 cUTI 及び cIAI 患者におけるセフトロザンの安全域（生後4日）は AUC で約2.6倍、C_{max} で約7.7倍であった。同様に、タゾバクタムの安全域は AUC で約4.5倍、C_{max} で約14.0倍であった。

局所刺激性試験（セフトロザン）[2.6.6.7 項]

セフトロザンを1日1回反復静脈内投与した試験において、げっ歯類では投与部位に変化がみられたが、イヌの試験では認められなかった。セフトロザンに関連する投与部位の変化は、紅斑及び浮腫、落屑、皮下又は血管周囲の出血及び炎症性細胞の浸潤、血管周囲の線維化及び内膜の肥厚、並びに痂皮形成であった。マウス及びラットにセフトロザンを100～2,000 mg/kg/日の用量範囲で投与した際に投与部位に変化が認められ、その用量範囲での投与液のセフトロザン濃度は10～200 mg/mL であった。イヌでは、セフトロザンを1,000 mg/kg/日まで投与しても投与部位に変化は認められず、投与液のセフトロザン濃度は200 mg/mL であった。臨床用投与液のセフトロザン濃度は約9 mg/mL である。

その他の毒性試験（セフトロザン）[2.6.6.8 項]

ラットにセフトロザンを1,000 mg/kg/日（評価した最高用量）まで投与しても、光毒性は認められなかった。マウス及びモルモットにおいてセフトロザンは強力な感作物質（フロイントアジュバントなど）がない状態で抗原性を示さなかった。マウスの局所（膝窩）リンパ節試験においてセフトロザンは免疫反応を示さず、ラット及びイヌに最長28日間反復静脈内投与しても、免疫毒性を示唆する変化はみられなかった。ヒトの赤血球を用いた in vitro 試験において、セフトロザンは最大50,000 µg/mL の濃度まで溶血性を示さなかった。

C Confidential

要約

単独投与及びタゾバクタムと併用投与したときのセフトロザンの毒性を、広範囲にわたる in vitro 及び in vivo の非臨床試験において適切に評価した。セフトロザンを単独投与又はタゾバクタムと併用投与した反復投与試験において、標的臓器毒性は確認されなかった。セフトロザン及びタゾバクタムの単独投与に関連する病理組織学的所見はそれぞれ肝臓及び腎臓に限定してみられ、毒性学的意義はほとんどないと考えられた。セフトロザン／タゾバクタムを併用投与しても、新規の所見及び予測できない毒性は認められなかった。遺伝毒性試験の証拠（in vivo 試験の陰性結果を含む）の重み付けから、臨床使用においてセフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用投与が遺伝毒性のリスクをもたらすことはないと考えられた。セフトロザンは、げっ歯類では局所刺激性を示したが、イヌでは示さなかった。抗原性及び生殖発生毒性を有する可能性は低く、光毒性、免疫毒性又は溶血性は示さなかった。これまでに集積した非臨床毒性試験成績は、cUTI 及び cIAI 患者におけるセフトロザン／タゾバクタム（1,000/500 mg）の1日3回14日間までの静脈内投与を支持するものである。

セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用投与の非臨床毒性試験の一覧をそれぞれ[表 2.6.6-1]及び[表 2.6.6-2]に示した。

C Confidential

表 2.6.6-1 セフトロザンを用いて実施した毒性試験の一覧

Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose	Species/strain
Single-Dose Toxicity					
TX[redacted]1008	Single dose	GLP	IV	1,000, 2,000 mg/kg	Rat/SD
TX[redacted]9019	Single dose	Non-GLP	IV	100, 300, 1,000 mg/kg	Dog /Beagle
TX[redacted]1007	Single dose	GLP	IV	500, 2,000 mg/kg	Dog /Beagle
Repeat-dose Toxicity					
TX[redacted]9047	Repeat dose screening. Once daily for 2 weeks	Non-GLP	IV	0, 20, 50, 100 mg/kg/day	Rat/SD
TX[redacted]9055	Repeat dose screening. Once daily for 4 weeks	Non-GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Rat/SD
TX[redacted]9067	Repeat dose screening. Once daily for 4 weeks	Non-GLP	IV	0, 100, 300 mg/kg/day	Rat/SD
TX[redacted]3014	Pivotal repeat dose. Once daily for 4 weeks with a 4-week recovery period	GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Rat/SD
TX[redacted]3006	Pivotal repeat dose. Once daily for 4 weeks (TK study)	GLP	IV	100, 300, 1,000 mg/kg/day	Rat/SD

C Confidential

表 2.6.6-1 セフトロザンを用いて実施した毒性試験の一覧（続き）

Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose	Species/strain
Repeat-dose Toxicity (continued)					
CX.101.TX.031	Pivotal repeat dose. Once daily for 4 weeks with a 4-week recovery period	GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Rat/SD
TX[redacted]9054	Repeat dose screening. Once daily for 2 weeks	Non-GLP	IV	100, 300, 1,000 mg/kg/day	Dog /Beagle
TX[redacted]3013	Pivotal repeat dose. Once daily for 4 weeks with a 4-week recovery period	GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Dog /Beagle
CX.101.TX.032	Repeat dose non pivotal.	Non-GLP	NA	NA	NA
Genotoxicity					
TX[redacted]7122	Inhibition of bacterial growth	Non-GLP	In vitro	0.0206 to 10 µg/plate	*S. typhimurium* and *E. coli*
TX[redacted]7148	Microbial mutagenicity -bacterial reverse mutation assay	GLP	In vitro	0.0391 to 20 µg/plate	*S. typhimurium* and *E. coli*
TX[redacted]7166	Mammalian cell gene mutation assay	Non-GLP	In vitro	78.1 to 5,000 µg/mL	Mouse lymphoma cells
7689 (148-095)	Mammalian cell gene mutation assay	GLP	In vitro	328 to 5,000 µg/mL	Mouse lymphoma cells
TX[redacted]7169	Mammalian cell chromosomal aberration	Non-GLP	In vitro	625 to 5,000 µg/mL	Chinese Hamster Lung Fibroblasts
15-9036	Mammalian cell gene mutation assays (2 independent GLP assays and a non-GLP range-finding toxicity assay)	GLP	In vitro	Assay 1: 10 to 500 µg/mL Assay 2: 20 to 500 µg/mL	Mouse lymphoma cells
TX[redacted]7143	Mammalian cell chromosomal aberration	GLP	In vitro	125 to 5,000 µg/mL	Chinese Hamster Lung Fibroblasts

C Confidential

表 2.6.6-1 セフトロザンを用いて実施した毒性試験の一覧（続き）

Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose	Species/strain
Genotoxicity (continued)					
15-9028	Cytotoxicity assay in CHO cells	Non-GLP	In vitro	0.977 to 500 µg/mL	In vitro/Chinese Hamster Ovary (CHO) cells
16-9019	HPRT/CHO assay	GLP	In vitro	0, 31.3, 62.5, 125, 250 and 500 µg/mL with and without S9	In vitro/Chinese Hamster Ovary (CHO) cells
TX[redacted]7179	Micronucleus study. Single dose.	Non-GLP	IV	0, 1,000, 2,000 mg/kg	Mouse/ICR
TX[redacted]7139	Micronucleus study. Single dose.	GLP	IV	0, 500, 1,000, 2,000 mg/kg	Mouse/ICR
TX[redacted]7180	UDS assay. Single dose.	Non-GLP	IV	0, 2,000 mg/kg	In vivo/ in vitro; Rat (SD)/ Rat hepatocytes
7690 (148-096)	UDS assay. Single dose.	GLP	IV	0, 1,000, 2,000 mg/kg	In vivo/ in vitro; Rat (SD)/ Rat hepatocytes
Reproductive/Development Toxicity					
CX.101.TX.002	Fertility; M, 59 to 60 days; F, 22 to 35 days	GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Rat/SD
CXA101-T-005	Dose range-finding embryo/fetal; GD 6 to GD15	GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Mouse/ICR
CX.101.TX.001	Embryo/fetal; GD 6 to GD15	GLP	IV	0, 300, 1,000, 2,000 mg/kg/day	Mouse/ICR
CXA101-T-006	Embryo/fetal ; GD 6 to GD17	GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Rat/SD
CX.101.TX.012	Pre- and postnatal development; GD6 to lactation day 21	GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Rat/SD

C Confidential

表 2.6.6-1 セフトロザンを用いて実施した毒性試験の一覧（続き）

Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose	Species/strain
Other Toxicity Studies: Antigenicity					
TX[redacted]2007	Antigenicity Day 0 and Day 21	Non-GLP	IP	10 or 100 µg/mouse ceftolozane + alum	Mouse/BDF1
[redacted]48-42	Antigenicity 3 times at 2 week intervals	Non-GLP	Sensitization: SC Skin reaction: ID Systemic anaphylaxis: IV	0, 10 mg/kg; 0, 50 µg/0.1 mL/site ceftolozane; 0, 20 mg/kg	Guinea pig /Hartley
TX[redacted]2004	Antigenicity Once/week for 4 weeks	Non-GLP	Sensitization: SC Skin reaction: ID Systemic anaphylaxis: IV	0, 10 mg/kg; 0, 50 µg/0.1 mL/site ceftolozane; 0, 20 mg/kg	Guinea pig /Hartley
TX[redacted]2009	Antigenicity 3 times at 2 week intervals	Non-GLP	Sensitization: SC Skin reaction: ID Systemic anaphylaxis: IV	0, 10 mg/kg; 0, 50 µg/0.1 mL/site ceftolozane; 0, 20 mg/kg	Guinea pig /Hartley
TX[redacted]2001	Antigenicity Once/week for 4 weeks	Non-GLP	Sensitization: SC Skin reaction: ID Systemic anaphylaxis: IV	0, 10 mg/kg; 0, 50 µg/0.1 mL/site ceftolozane; 0, 20 mg/kg	Guinea pig /Hartley

Confidential

表 2.6.6-1 セフトロザンを用いて実施した毒性試験の一覧（続き）

Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose	Species/strain
Other Toxicity Studies: Antigenicity (continued)					
TX[redacted]2005	Antigenicity Once/week for 4 weeks	Non-GLP	Sensitization: SC Skin reaction: ID Systemic anaphylaxis: IV	0, 10 mg/kg; 0, 50 µg/0.1 mL/site ceftolozane; 0, 20 mg/kg	Guinea pig /Hartley
TX[redacted]2008	Antigenicity Once/week for 4 weeks	Non-GLP	Sensitization: SC Skin reaction: ID Systemic anaphylaxis: IV	0, 10 mg/kg; 0, 50 µg/0.1 mL/site ceftolozane; 0, 20 mg/kg	Guinea pig /Hartley
TX[redacted]2017	Antigenicity Once/week for 4 weeks	Non-GLP	Sensitization: SC Skin reaction: ID Systemic anaphylaxis: IV	0, 10 mg/kg; 0, 50 µg/0.1 mL/site ceftolozane; 0, 20 mg/kg	Guinea pig /Hartley
TX[redacted]2012	Antigenicity Once/week for 4 weeks	Non-GLP	Sensitization: SC Skin reaction: ID Systemic anaphylaxis: IV	0, 10 mg/kg; 0, 50 µg/0.1 mL/site ceftolozane; 0, 20 mg/kg	Guinea pig /Hartley
[redacted]48-24	Antigenicity 3 times at 2 week intervals	Non-GLP	Sensitization: SC Skin reaction: ID Systemic anaphylaxis: IV	0, 10 mg/kg; 0, 50 µg/0.1 mL/site ceftolozane; 0, 20 mg/kg	Guinea pig /Hartley
Other Toxicity Studies: Immunotoxicity					
MB[redacted]0034	Immunotoxicity: Serum IgM/spleen pathology. Once daily for 5 days	Non-GLP	IV	0, 300 mg/kg	Mouse/BALBc and BDF1
800524	Immunotoxicity	Non-GLP	SC	0, 20, 60, or 200 mg/mL and D-penicillamine	Mouse /BALB/cAnN Crj, SPF

C Confidential

表 2.6.6-1 セフトロザンを用いて実施した毒性試験の一覧（続き）

Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose	Species/strain
Other Toxicity Studies: Impurities					
TX[redacted]3007	Impurity qualification: Repeat dose general toxicity. Once daily for 4 weeks	GLP	IV	0, 100, 300 mg/kg/day	Rat/SD
CX.101.TX.031	Impurity qualification: Repeat dose general toxicity. Once daily for 4 weeks	GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Rat/SD
CX.101.TX.034	Impurity qualification: In silico analysis for mutagenicity (DEREK and Leadscope)	Non-GLP	NA	NA	NA
TX[redacted]7068	Impurity qualification: Microbial growth inhibition; forced degraded ceftolozane	Non-GLP	In vitro	0, 0.156 to 40 µg/plate	*S. typhimurium* and *E. coli*
TX[redacted]7091	Impurity qualification: Microbial mutagenicity -bacterial reverse mutation assay; forced degraded ceftolozane	GLP	In vitro	0, 0.0781 to 20 µg/plate	*S. typhimurium* and *E.coli*
TX[redacted]7071	Impurity qualification: Mammalian cell growth inhibition; forced degraded ceftolozane	Non-GLP	In vitro	0, 156 to 5,000 µg/mL	Chinese Hamster Lung fibroblasts

C Confidential

表 2.6.6-1 セフトロザンを用いて実施した毒性試験の一覧（続き）

Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose	Species/strain
TX[redacted]7088	Impurity qualification: Mammalian cell chromosome aberration; forced degraded ceftolozane	GLP	In vitro	0, 125 to 5,000 µg/mL	Chinese Hamster Lung fibroblasts
TX[redacted]7055	Single dose, forced degraded ceftolozane (dose selection study for impurity qualification mouse micronucleus study TX[redacted]7079)	Non-GLP	IV	500, 1,000, 1,500, 2,000 mg/kg	Mouse/ICR
TX[redacted]7079	Impurity qualification: micronucleus study. Single dose; forced degraded ceftolozane	GLP	IV	0, 375, 750, 1,500 mg/kg	Mouse/ICR
CX.101.TX.036	Impurity qualification report	Non-GLP	NA	NA	NA
Other Toxicity Studies: Phototoxicity					
CX.101.TX.013	Phototoxicity. Once daily for 4 days	GLP	IV	0, 100, 300, 1,000 mg/kg/day	Rat/Long Evans
Other Toxicity Studies: Hemolysis					
PDR[redacted]0244	Hemolysis	Non-GLP	In vitro	5, 10, 20, 30, or 50 mg/mL	Human whole blood
PH[redacted]1574	Hemolysis	Non-GLP	In vitro	0.3, 1, 3 mg/mL	Human whole blood

C Confidential

表 2.6.6-1 セフトロザンを用いて実施した毒性試験の一覧（続き）

Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose	Species/strain
Other Toxicity Studies: Other					
TX[redacted]7137	Biological safety testing of raw materials and intermediates	Non-GLP	In vitro	0.195 to 2,500 µg/mL (MTT assay) 6.86 to 5,000 µg/mL (umu assay)	Chinese Hamster Lung cells and *S. typhimurium* (TA1535/pSK1002)
TX[redacted]7179	Biological safety testing of raw materials and intermediates	Non-GLP	In vitro	0.195 to 2,500 µg/mL (MTT assay) 6.86 to 5,000 µg/mL (umu assay)	Chinese Hamster Lung cells and *S. typhimurium* (TA1535/pSK1002)
K[redacted]Z380	Biological safety testing of raw materials and intermediates	Non-GLP	In vitro	1.22 to 5,000 µg/mL (MTT assay) 6.86 to 5,000 µg/mL (umu assay)	Chinese Hamster Lung cells and *S. typhimurium* (TA1535/pSK1002)
K[redacted]Z138	Biological safety testing of raw materials and intermediates	Non-GLP	In vitro	0.08 to 625 µg/mL (MTT assay) 6.86 to 185 µg/mL (umu assay)	Chinese Hamster Lung cells and *S. typhimurium* (TA1535/pSK1002)
CX.101.TX.027	Worker safety; guinea pig sensitization 6 hours exposure once/week for 3	GLP	Dermal	0, 400 mg at 100% (w/v)	Guinea pig /Hartley
CX.101.TX.028	Worker safety; dermal irritation 3 minutes to 4 hours	GLP	Dermal	500 mg	Rabbit/New Zealand White Hra:(NZW) SPF

Abbreviations: GLP = good laboratory practice; ID = intradermal; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; NA = not applicable;
SC = subcutaneous; TK = toxicokinetic; UDS = unscheduled DNA synthesis; w/v = weight to volume ratio.

C Confidential

表 2.6.6-2 セフトロザン／タゾバクタム（用量比 2:1）を用いて実施した毒性試験の一覧

Study Report Number	Study Type and Duration	GLP Status	Route of Administration	Dose (mg/kg)	Species
Repeat-Dose Toxicity					
CXA201-T-001	Pivotal repeat dose toxicity. Once daily for 28 days	GLP	IV bolus	C/T: 0/0, 100/50, 250/125, 1,000/500 mg/kg/day C only: 1,000 mg/kg/day T only: 500 mg/kg/day	Rat (SD)
CXA201-T-005	Pivotal repeat dose toxicity. Twice daily for 14 days	GLP	IV – 15 minute infusion	C/T: 0/0, 100/50, 300/150 mg/kg/day C only: 300 mg/kg/day T only: 150 mg/kg/day	Dog (Beagle)
Genotoxicity					
CXA201-T-003	Mammalian cell gene mutation assay	GLP	In vitro	C/T: 4h (with/without S9); 1,000/500 to 5,000/2,500 µg/mL 24h (without S9); 5.0/2.5 to 75/37.5 µg/mL	Mouse lymphoma cells
CXA-201-T-002	Mammalian cell chromosome aberration-cell growth inhibition	GLP	In vitro	C/T: 4h (with/without S9); 50/25 to 5,000/2,500 µg/mL 20h (without S9); 100/50 to 2,750/1,375 µg/mL	Chinese Hamster Ovary cells
CXA201-T-004	Bone marrow micronucleus study	GLP	Single dose IV	C/T: 0/0, 500/250, 1,000/500, 2,000/1,000 mg/kg	Rat (SD)
Studies in Juvenile Animals					
CXA.101.TX. 033	Repeat dose screening. Once daily for 14 days	Non-GLP	SC	C/T: 0/0, 50/25, 300/150, 1,000/500 mg/kg/day	Rat (SD)
CX.101.TX. 038	Pivotal repeat dose. Once daily for 28 days	GLP	SC	C/T: 0/0, 50/25, 300/150, 1,000/500 mg/kg/day	Rat (SD)

Abbreviations: C = ceftolozane; T/C = tazobactam/ceftolozane; GLP = good laboratory practice; IV = intravenous; SD = Sprague Dawley; SC = Subcutaneous; T = tazobactam.

C Confidential

非臨床試験で用いた被験物質の物理化学的性質

セフトロザン原薬は半合成の注射用セファロスポリン系抗菌薬であり、分子量は764.77（硫酸塩）又は666.69（遊離塩基）である。タゾバクタムはペニシラン酸スルホン誘導体で、分子量は322.27（ナトリウム塩）又は300.29（遊離酸）である。

セフトロザン及びタゾバクタムの水溶性は高く、水酸化ナトリウムで調整した塩溶液での溶解度はタゾバクタム100 mg/mL 及びセフトロザン200 mg/mL であった。そのため、セフトロザンの最高用量はラットでは1,000 mg/kg/日（5 mL/kg）、マウスでは2,000 mg/kg/日（10 mL/kg）であり、それぞれの動物種における静脈内投与可能な最高用量である。

cUTI 及び cIAI 治療に用いる市販製剤1バイアル中には、セフトロザン（遊離塩基）として1,000 mg、タゾバクタム（遊離酸）として500 mg、無水クエン酸21 mg、塩化ナトリウム487 mg及び pH 調整剤として L-アルギニンが含まれている。cUTI 及び cIAI 治療における1日の推奨臨床用量（セフトロザン3,000 mg 及びタゾバクタム1,500 mg）における無水クエン酸、塩化ナトリウム及び L-アルギニンの1日摂取量は、本邦における使用前例の範囲内である。ほとんどの毒性試験では、セフトロザン及びタゾバクタムそのものの毒性評価に重点を置いたため、セフトロザン及びタゾバクタムの原薬（正確には、セフトロザン硫酸塩及びタゾバクタム酸）を生理食塩液で溶解して用いた。一部の毒性試験（TX[redacted]3007）、（TX[redacted]7068）、（TX[redacted]7071）、（TX[redacted]7091）、（TX[redacted]7079）、（TX[redacted]7088）、（CX.101.TX.031）では、不純物及び分解物の安全性を確認するため、強制劣化させたセフトロザンを使用した[2.6.7.17.3 項]。強制劣化させたセフトロザン（Lot [redacted]）の被験物質では、1 g あたり[redacted]2,000 mg、塩化ナトリウム[redacted] mg、無水クエン酸20 mg を含有する。cUTI 及び cIAI 治療におけるセフトロザン／タゾバクタムの1日の臨床推奨用量（3,000/1,500 mg）における無水クエン酸、塩化ナトリウム及び L-アルギニンの摂取量は、本邦における使用前例の範囲内である。

セフトロザン硫酸塩及びタゾバクタム酸は、動物への投与前に、生理食塩液で用時調製した。これらの薬物は酸性であるため、生理食塩液で調製後の溶液の pH は低く（セフトロザン硫酸塩原薬でおよそ pH 2未満、タゾバクタム酸原薬でおよそ pH 2）、静脈内投与には適さなかった。投与前に投与液を水酸化ナトリウムでおよそ pH 5～6に調整した。

全ての重要な毒性試験を含む大部分の非臨床試験において、投与液中の純度又は力価を、動物への投与前に調整した。

GLP 適用試験では、種々の水溶液及び有機溶媒中、並びに投与液中でのセフトロザンの単独及びタゾバクタムと併用した際の安定性を、検証された HPLC 法により確認した。セフトロザン単独及びタゾバクタムと併用した際毒性試験に最もよく用いた媒体は、水酸化ナトリウムで pH 調整した生理食塩液であった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

セフトロザン

<げっ歯類>

マウスの単回静脈内投与試験（各群雌雄各3例）では、1,500 mg/kg 以上の群で、全例に体重の

Confidential

減少が認められた[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7055、セフトロザンの強制劣化品を用いた）。加えて、2,000 mg/kg 群の全例に痙攣が発現し、その後、雌雄各2例が死亡した。概略の致死量は2,000 mg/kg であった。2,000 mg/kg 群にみられた痙攣及び死亡は、推定される C_{max} が6,740 µg/mL[2.6.5.3.1A 項]（PH[redacted]0332）という高い曝露量と関連すると考えられた。この値は日本人 cUTI 及び cIAI 患者における平均 C_{max} の約99倍であった。マウスに1,500 mg/kg を投与したときの推定 C_{max} 及び AUC はそれぞれ5,055 µg/mL 及び約1,283 µg·hr/mL であり、臨床におけるセフトロザンの C_{max} の約75倍及び AUC の約2.2倍であった。ラットにおける単回静脈内投与試験では、1,000 mg/kg 以上の群で一過性の体重減少が認められたが、2,000 mg/kg 群まで死亡はみられなかった[2.6.7.5.1 項]（TX[redacted]1008）。概略の致死量は2,000 mg/kg 超であった。一過性の体重減少がみられた1,000 mg/kg 群での推定[2.6.5.4.1B 項]（TX[redacted]3006）の C_{max} は約1,845 µg/mL 及び AUC は約1,282 µg·hr/mL であった。これらは日本人 cUTI 及び cIAI 患者の平均 C_{max} の約27倍、平均 AUC の約2.2倍であった。

<イヌ>

イヌの単回静脈内投与試験では、300 mg/kg 以上の群で嘔吐が認められた[2.6.7.5.1 項]（TX[redacted]9019）。また、500 mg/kg 以上の群では、嘔吐及び耳介／口腔粘膜の潮紅が認められた[2.6.7.5.1 項]（TX[redacted]1007）、（TX[redacted]9019）。さらに、2,000 mg/kg 群では一般状態及び血清生化学的変化として腹臥位、自発運動の低下、頭部腫脹、皮膚の暗紫色化、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の増加、及び血清カルシウムの減少が認められた（TX[redacted]1007）。死亡はみられず、概略の致死量は2,000 mg/kg 超であった。より程度の高い所見が2,000 mg/kg 群で観察され、この用量での推定（TX[redacted]3013）の C_{max} は5,674 µg/mL 及び推定の AUC は9,497 µg·hr/mL であった。これらは日本人 cUTI 及び cIAI 患者の平均 C_{max} の約84倍、平均 AUC の約16倍であった。イヌに300 mg/kg を投与した時の推定 C_{max} 及び AUC はそれぞれ769 µg/mL 及び1,209 µg·hr/mL であり、臨床 C_{max} 及び AUC の約11倍及び2.0倍であった。

イヌで認められた上述のセフトロザン関連の所見と類似した所見は、製造販売されている他のいくつかのセファロスポリン系抗菌薬でもイヌでの所見として報告されており、イヌの感受性が非常に高いことによるセファロスポリン系抗菌薬のクラスエフェクトと考えられた。イヌへの高用量のセファゼドン投与により嘔吐及び流涎が認められ[資料4.3: 301]、セファゾリン、セファレキシン、セフメタゾール及びセフマチレンでも流涎及び嘔吐が報告されている[資料4.3: 302]、[資料4.3: 303]、[資料4.3: 304]、[資料4.3: 305]。しかし、健康成人の被験者にセフトロザン／タゾバクタム 9 g/日（セフトロザンとして6 g/日）を10日間投与してもこれらの所見は観察されなかった[2.7.2 項]（CXA-MD-11-07）。

イヌの単回静脈内投与試験で認められた所見は、C_{max} に関連し、ヒスタミンを介した肥満細胞の直接的な活性化反応である。この反応はアナフィラキシー様反応であり、ほ乳類では皮膚、消化器、呼吸系、循環器系を含む複数の臓器に影響を及ぼし[資料4.3: 306]、潮紅、紅斑、血圧低下、脱力、悪心及び嘔吐が発現する場合がある（これらに限定されない）[資料4.3: 306]、[資料4.3: 307]。肥満細胞の活性化反応は、薬物と肥満細胞／好塩基球が直接相互作用した結果であり、肥満細胞／好塩基球の活性化によって脱顆粒が生じ、ヒスタミンを含む様々な血管作動性メディエーター

Confidential

が放出される。ヒスタミンは全身及び局所における肥満細胞の脱顆粒反応の主要なメディエーターであることが知られている[資料4.3: 306]、[資料4.3: 308]、[資料4.3: 309]。

このような反応は特定の抗菌薬、麻酔薬、非ステロイド性抗炎症薬及び造影剤の投与によっても観察される[資料4.3: 306]。これらの薬剤は肥満細胞及び好塩基球に直接作用するため、関連する所見は初回投与後でも、薬物の血中濃度が特定の閾値に到達することで発現する。[資料4.3: 308]。

イヌにセフトロザンを単回静脈内投与した結果、血漿中のヒスタミンレベルが増加し、この仮説が直接裏付けられた[2.6.7.5.1 項]（TX[redacted]9019）、[2.6.7.6.1 項]（TX[redacted]9054）。

したがって、イヌにおいてセフトロザン静脈内投与後に認められた一般状態の変化は、他のセファロスポリン系抗菌薬を投与されたイヌにおいても観察された肥満細胞の脱顆粒によるヒスタミン放出による所見と一致する。げっ歯類では同様の所見は認められなかったことから、イヌはセフトロザンに関連する影響に非常に感受性が高い可能性がある。

タゾバクタム

タゾバクタムの急性毒性に関する情報は文献から入手した。タゾバクタムの単回投与毒性試験は、イヌでは静脈内投与、マウス及びラットでは静脈内、経口、腹腔内及び皮下投与など様々な投与経路で実施されている[資料4.3: 310]。ICR マウス（各群雌雄各7匹）にタゾバクタム5,000 mg/kg を静脈内、経口、腹腔内及び皮下の投与経路でそれぞれ単回投与したところ、タゾバクタム関連の様々な所見が観察された。これらの所見の種類及び程度は投与経路に依存していた。マウス、ラット及びイヌの単回静脈内投与では、自発運動の低下、呼吸器系への影響、眼瞼下垂（上目蓋の下垂）、体重の減少／体重増加の抑制及び軟便／下痢が認められた。マウス及びラットではさらに、静脈内投与後に尾部の壊死／痂皮形成が認められた。マウスでのみ認められた所見は、死亡、チアノーゼ、体温低下、うずくまり姿勢、腎臓の退色並びに肺の充血及び水腫であった。イヌに特有の所見は、血尿、嘔吐、振戦、鼻端の乾燥、呼気時の震え、結膜の充血、皮膚の発赤、膀胱粘膜下の赤色点又は斑状出血及び摂餌量の減少であった。非臨床動物におけるタゾバクタム関連のこれらの所見は、ヒト等価用量（体表面積を基準として：mg/m^2）で換算すると、cUTI 及び cIAI 治療のための臨床での1日投与量1.5 g/日（平均体重を70 kg と仮定すると約21 mg/kg）の約19～129倍の投与量で認められた。

セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザン／タゾバクタム反復投与後に新規の所見や予測できない毒性は認められなかったため、セフトロザン／タゾバクタムの単回投与毒性試験は実施しなかった。単回投与後の毒性は、反復投与毒性試験の初回投与後に評価した。

セフトロザン／タゾバクタムの反復投与毒性試験では、ラット（各群雌雄各10匹）に0（生理食塩液の媒体対照群）、100/50、250/125、及び1,000/500 mg/kg/日の用量で1日1回28日間静脈内投与[2.6.6.3.9 項]し、イヌ（各群雌雄各3匹）に0（生理食塩液の媒体対照群）、100/50、及び300/150 mg/kg/日の用量で1日2回14日間静脈内投与[2.6.6.3.10 項]した。初回投与後にラットでは1,000/500 mg/kg/日まで、イヌでは300/150 mg/kg/日まで、投与に関連した死亡、並びに、一般状態、体重及び摂餌

Confidential

量の変化は認められなかった。概略の致死量は、ラット及びイヌでそれぞれ1,000/500及び300/150 mg/kg 超であった。ラットでは、1,000/500 mg/kg/日群の投与初日のセフトロザンの AUC 及び C_{max} は、それぞれ1,228 μg·hr/mL 及び2,315 μg/mL であり、日本人 cUTI 及び cIAI 患者におけるセフトロザンの安全域は AUC で約2.1倍、C_{max} で約34倍であった。同様に、タゾバクタムの AUC 及び C_{max} は、それぞれ192 μg·hr/mL 及び533 μg/mL であり、安全域は AUC で約2.0倍、C_{max} で約29倍であった。イヌでは、300/150 mg/kg/日群の投与初日のセフトロザンの AUC 及び C_{max} は、それぞれ1,510 μg·hr/mL 及び783 μg/mL であり、日本人 cUTI 及び cIAI 患者におけるセフトロザンの安全域は AUC で約2.6倍、C_{max} で約12倍であった。同様に、タゾバクタムの AUC 及び C_{max} は、それぞれ458 μg·hr/mL 及び283 μg/mL であり、安全域は AUC で約4.8倍、C_{max} で約15倍であった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

ラット又はイヌにセフトロザンを1,000 mg/kg/日（試験での最高用量）まで14～28日間反復静脈内投与したが、臨床的に意味のある毒性所見は認められなかった。セフトロザン関連の所見は、主に病理組織学的検査での腎臓の近位尿細管における回復性のある毒性学的意義の低い硝子滴のみであった。タゾバクタムは既に製造販売されている注射用タゾバクタム／ピペラシリンの組成成分の1つであり、その安全性は長期の臨床使用実績によって確認されている。ラット及びイヌにおいて明らかとなっているタゾバクタム関連の所見は主として肝細胞細胞質におけるグリコーゲン蓄積であり、回復性のある毒性学的意義の低い変化であった。セフトロザン／タゾバクタムを用量比2：1で併用投与した結果、個々の薬剤を単独で投与した場合と比較して、新規の所見又は予測できない毒性は観察されなかった。

ラット及びイヌにセフトロザンを300及び1,000 mg/kg/日の用量で1日1回28日間反復静脈内投与した結果、近位尿細管に硝子滴が検出され、電子顕微鏡検査によって二次リソソームであることが確認された。これらの投与量においてラットでは腎臓重量の増加が併せて観察されたが、イヌでは認められなかった。100 mg/kg/日では、腎臓にセフトロザン関連の所見は概して観察されなかった。

これらの影響に関してラットはイヌより感受性が高く、雌に比べて雄のラットでより感受性が高かった。セフトロザンを投与したラットでは、イヌに比べて低い全身曝露量（血漿中 AUC 及び C_{max}）で硝子滴が検出された。ラット及びイヌの硝子滴の程度は、300 mg/kg/日群ではごく軽度、1,000 mg/kg/日群ではごく軽度から中等度で、緩徐な用量反応性を示す変化であった。イヌにおいて、セフトロザンを静脈内投与する期間を2週間から4週間に延長すると、硝子滴の発現頻度及び程度が上昇したことから、この腎臓の変化は投与期間に依存して増加する可能性がある。ラット及びイヌのいずれにおいても、28日間の休薬後に、硝子滴は回復又は回復傾向を示した。重要なこととして、病理組織学的検査で尿細管にセフトロザンに関連する変性や壊死は観察されず、BUN、クレアチニン、無機リン、尿量の腎機能に関連する臨床検査値に毒性学的に意義のある変化はみられなかった。

イヌのみで観察されたセフトロザン関連の所見として、300及び1,000 mg/kg/日の投与で、耳介及び口腔粘膜の潮紅、頭部腫脹、嘔吐、流涎、側臥位等がみられた。これらの変化は、肥満細胞

C Confidential

の脱顆粒によるヒスタミン放出による所見と一致しており、セファロスポリン系抗菌薬でよく知られたイヌに対するクラスエフェクトである[資料4.3: 301]、[資料4.3: 302]、[資料4.3: 303]、[資料4.3: 304]、[資料4.3: 305]、[資料4.3: 311]。

ヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数の減少が、ラット及びイヌの各1試験の1,000 mg/kg/日群（イヌでは雌1例）で認められた。100～1,000 mg/kg/日の投与量において、血管周囲線維化、出血、内膜の肥厚及び炎症性細胞の浸潤などの投与部位の影響がげっ歯類で観察されたが、イヌではみられなかった。このときの投与溶液のセフトロザン濃度は20～200 mg/mL であった。これに対して臨床での cIAI 及び cUTI 治療ではセフトロザン濃度は約9 mg/mL である。

盲腸への影響（一部肥大を伴う重量増加）が、ラットの100～1,000 mg/kg/日群で認められた。一部盲腸肥大を伴う重量増加は、抗菌薬を投与したげっ歯類で以前から報告されている[資料4.3: 301]、[資料4.3: 312]、[資料4.3: 313]。この所見は腸内フローラの変化によるものであり、ヒトに対して毒性学的な意義があるとは考えられていない。

ラット及びイヌに4週間投与した重要な GLP 試験の報告書[2.6.7.7.1B 項]（TX[redacted]3014）、[2.6.7.7.1D 項]（TX[redacted]3013）では、腎臓に変性や壊死といった病理組織学的所見及び腎機能への影響は認められなかったものの、病理組織学的検査で腎臓に硝子滴が観察されたことから、無毒性量はいずれも100 mg/kg/日とされた。しかし、腎臓の病理学的な評価を専門とする4名の認定病理学者で構成する独立した病理学専門家ワーキンググループが、ラット及びイヌにおけるこれらの腎臓の変化を再調査し、それぞれの試験について病理学的な解釈を討議し、これら所見と臨床的な意義について専門的な助言を提示した。病理学専門家ワーキンググループは、ラット及びイヌにおける腎皮質の尿細管上皮細胞のセフトロザン投与に関連する硝子滴について、1,000 mg/kg/日までの用量で毒性学的な意義はないと結論付けた。これは、硝子滴が観察された尿細管に毒性学的に意義のある変性や壊死がなかったこと、腎機能に関連する BUN、クレアチニン、無機リン、尿量に生物学的に意義がある変化がみられなかったこと、尿中に細胞又は顆粒円柱が観察されなかったことに基づき結論付けられた[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。以上の経緯で病理学専門家ワーキンググループは、GLP に準拠したラットにおける4週間反復投与毒性試験[2.6.7.7.1B 項]（TX[redacted]3014）の無毒性量を1,000 mg/kg/日と結論付けた。この結論は、上述のように硝子滴を含む尿細管上皮細胞に毒性学的に意義のある変性や壊死がなかったこと、腎機能に関連する BUN、クレアチニン、無機リン、尿量の臨床検査値に生物学的に意義のある変化が認められないこと、尿中に細胞又は顆粒円柱が観察されないこと、全身毒性を示す一般状態の変化もないこと、300及び1,000 mg/kg/日群における硝子滴の発現頻度及び程度に基づいている[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。GLP に準拠したイヌにおける4週間反復投与毒性試験については、病理学専門家ワーキンググループは、無毒性量を300 mg/kg/日と結論付けた。これは、1,000 mg/kg/日群ではセファロスポリン系抗菌薬が誘発するヒスタミンの放出に関連した一般状態の変化、即ち、耳介及び口腔粘膜の潮紅、頭部腫脹、嘔吐、流涎、側臥位が認められたことに基づいている[資料4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。ほとんどの毒性試験は開発時の工程で製造されたセフトロザンを用いて実施した。しかし、GLP に準拠したラットの28日間反復投与毒性試験では、製造販売用の工程で製造されたセフトロザンを用いて実施し、無毒性量は病理学専門家ワーキンググループの結

C Confidential

論と同様、1,000 mg/kg/日であった[2.6.7.7.1C 項]（CX.101.TX.031）。

タゾバクタム関連の主な所見は、ラット及びイヌの肝臓で認められた。タゾバクタムの毒性学的な情報は主に文献から入手した[資料4.3: 314]、[資料4.3: 315]。

ラット及びイヌにおいて、タゾバクタムを80又は160 mg/kg/日の用量で6ヵ月間1日2回反復腹腔内又は静脈内投与した結果、病理組織学的検査で肝細胞に回復性のグリコーゲンの蓄積が認められた。ラットでは、80及び160 mg/kg/日群でグリコーゲンの蓄積に関連する回復性の肝臓比重量の増加が認められた。ラットのみでみられたタゾバクタムに関連する他の変化は、雌雄での用量依存性のない摂餌量の増加、80及び160 mg/kg/日群の雌での網状赤血球の増加、160 mg/kg/日群の雄及びタゾバクタム群の雌でのトリグリセリドの減少、及び160 mg/kg/日群の雌での盲腸拡張であった。イヌの160 mg/kg/日群の電子顕微鏡検査から、タゾバクタムの単独投与により肝細胞内の滑面小胞体及びグリコーゲン顆粒の増加が認められた。引用した文献におけるラット及びイヌの無毒性量は、肝臓の病理組織学的所見に基づき、40 mg/kg/日であった[資料4.3: 314]、[資料4.3: 315]。しかし、これらの試験では肝細胞に変性や壊死がみられず、血清肝酵素に変化が認められなかったことから、観察された肝臓の変化は、適応性変化であり、毒性学的意義はないと考えられた。

さらに、セフトロザン／タゾバクタムを用量比2：1でラットに併用投与した結果、個々の薬剤を単独投与した場合と比較して、新規の所見又は予測できない毒性は観察されなかった[2.6.7.7.3A 項]（CXA201-T-001）。併用投与で認められた所見の発現頻度及び程度は、単独投与した場合と概ね同様であった。

無毒性量での AUC 及び C_{max} と日本人 cUTI 及び cIAI 患者のそれぞれの値を比較して算出した安全域を[表 2.6.6-15]及び[表 2.6.6-16]に示す。

セフトロザン

4週間以上投与した試験の項では、最初のパラグラフに簡潔な要約を記載する。GLP 非適用下で実施したセフトロザンの予備的な用量設定試験の目的は、セフトロザンの毒性を予備的に評価すること、及び主要な GLP 適用試験を実施するための適切な用量範囲を見出すことであった。

2.6.6.3.1 ラットの2週間静脈内投与用量設定試験

[2.6.7.6.1 項] （TX[redacted]9047） [資料 4.2.3.2.1]

この非 GLP 用量設定試験では、セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot[redacted]）を6週齢の雄ラットに0（生理食塩液の媒体対照群）、20、50、及び100 mg/kg/日の用量で1日1回2週間静脈内投与した。死亡及び一般状態の変化は観察されず、体重、摂餌量、血漿 IgM 濃度、血液学的検査、血清生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査にセフトロザン投与に関連する変化は認められなかった。無毒性量は100 mg/kg/日以上と考えられた。

Confidential

2.6.6.3.2 ラットの4週間静脈内投与用量設定試験

[2.6.7.6.1 項] （TX[redacted]9055） [資料 4.2.3.2.2]

この非 GLP 用量設定試験では、セフトロザン投与により腎臓重量の増加を伴う腎臓の硝子滴が病理組織学的検査において観察された。さらに投与部位の変化、髄外造血、摂餌量の減少、赤血球系パラメータの変化、盲腸の重量増加及び拡張がみられた。試験報告書では、無毒性量は300 mg/kg/日と記載されたが、独立した病理学専門家ワーキンググループがラットを用いたセフトロザンの28日間反復投与毒性試験で指摘したとおり[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）、腎臓の病理組織学的検査で変性や壊死はみられなかったこと、腎機能への影響も認められなかったことから、腎臓で観察された所見に毒性学的な意義はないと考えられた。以上のことから、全てのラット試験における全身毒性の総括的な無毒性量は1,000 mg/kg/日と考える。

セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を6週齢の SD ラット（各群雌雄各5匹）に0（媒体：生理食塩液）、100、300、及び1,000 mg/kg/日の用量で1日1回4週間静脈内投与した結果、死亡や一般状態の毒性変化は認められず、体重及び血清生化学的検査にも変化は認められなかった。1,000 mg/kg/日群の病理組織学的検査で腎皮質近位尿細管に硝子滴が認められ、これに伴い腎臓重量の11%～16%の増加が観察された。また、雌2例に腎臓の淡色化が認められた。さらに、1,000 mg/kg/日群において、脾臓における髄外造血（雄のみ）、投与部位における血管周囲線維化（雌のみ）及び血管内膜の肥厚（雄のみ）が観察された。

1,000 mg/kg/日群の雄では、投与1～8日の摂餌量に減少傾向が認められたが、短期間の傾向でしかなく、平均摂餌量は対照群と比較して3 g/日と軽度な減少であった。また1,000 mg/kg/日群の雄では、ヘマトクリット（42.7%）及びヘモグロビン（14.4 g/dL）が生理食塩液対照群（それぞれ45.2%及び15.4 g/dL）と比較して低下した。しかし、軽度な低下であり、試験施設の背景値の範囲内であった。

セフトロザン群の雌雄では、生理食塩液対照群と比較して盲腸重量の用量依存的な増加（18%～179%）が認められ、1,000 mg/kg/日群の雌では5例中1例に盲腸肥大が認められた。

100、300、及び1,000 mg/kg/日群の腎臓におけるセフトロザンの平均組織中濃度は、雄ではそれぞれ約162、約393、及び約1,000 µg/g であり、雌ではそれぞれ約147、約246、及び約805 µg/g であった[2.6.5.5.1E 項]。また、肝臓におけるセフトロザンの平均組織中濃度は、雄ではそれぞれ1.39、3.38、及び10.04 µg/g、雌ではそれぞれ1.43、3.45、及び12.96 µg/g であった[2.6.5.5.1E 項]。試験責任者は無毒性量を300 mg/kg/日と判断したが、腎臓の変化を含む全ての全身性の変化の毒性学的意義は低いと考えられた。このため、申請者は全身毒性についての無毒性量を1,000 mg/kg/日と考える。

2.6.6.3.3 ラットの4週間静脈内投与用量設定試験

[2.6.7.6.1 項] （TX[redacted]9067） [資料 4.2.3.2.3]

この非 GLP 用量設定試験では、SD ラットにセフトロザンを100又は300 mg/kg/日の用量で1日1回4週間反復静脈内投与した結果、病理組織学的検査で脾臓のリンパ濾胞発達、血清カルシウムの減少、盲腸重量の増加、軟便が認められた。無毒性量は100 mg/kg/日未満であった。

Confidential

セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を0（媒体：生理食塩液）、100、及び300 mg/kg/日の用量で6週齢の SD ラット（各群雌雄各5匹）に1日1回4週間投与した。

セフトロザン投与による死亡はなく、体重、摂餌量、血液学的検査、剖検に変化は認められなかった。100 mg/kg/日群の雌1例及び雄2例、並びに300 mg/kg/日群の雌5例及び雄4例に病理組織学的検査で脾臓のリンパ濾胞発達が認められた。血清カルシウムは、生理食塩液対照群（9.7 mg/dL）と比較して、300 mg/kg/日群（9.1 mg/dL）で有意に減少していた。内容物を含んだ盲腸相対重量は、媒体対照群と比較して、100及び300 mg/kg/日群の雄でそれぞれ70%及び40%高かった。300 mg/kg/日群の雌1例において、投与3及び5日に軟便が認められた。脾臓のリンパ濾胞発達に基づき無毒性量は100 mg/kg/日未満とされた。しかし、後に実施されたラットの4週間投与の GLP 試験では、より厳格にエンドトキシン濃度を管理したセフトロザンをより高用量（最高用量は1,000 mg/kg/日）で単独又はタゾバクタムと併用で4週間投与したが同様の所見は認められなかったことから、この非 GLP 用量設定試験で認められたリンパ組織所見はエンドトキシンによる可能性が高いと考えられた。腎臓におけるセフトロザンの平均組織中濃度は、100及び300 mg/kg/日群で、雄ではそれぞれ約84及び219 µg/g、雌ではそれぞれ約56及び133 µg/g であった[2.6.5.5.1F 項]。肝臓におけるセフトロザンの平均組織中濃度は、100及び300 mg/kg/日群で、雄ではそれぞれ2.07及び4.18 µg/g、雌ではそれぞれ2.14及び3.95 µg/g であった[2.6.5.5.1F 項]。

2.6.6.3.4 ラットの4週間静脈内投与毒性試験及び4週間休薬試験

[2.6.7.7.1B 項]（TX[redacted]3014）[資料 4.2.3.2.4]

本 GLP 試験において、ラットにセフトロザンを1,000 mg/kg/日（本試験での最高用量）までの用量で4週間反復静脈内投与したが、臨床的に意味のある変化は認められなかった。300及び1,000 mg/kg/日群において、病理組織学的検査で腎臓に重量増加を伴う硝子滴が観察されたが、この所見は4週間の休薬期間後に回復した。1,000 mg/kg/日群で投与部位に変化が観察された。病理学専門家ワーキンググループの結論[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）に基づき、全身毒性についての無毒性量は、最高用量である1,000 mg/kg/日と考えられた。無毒性量の1,000 mg/kg/日における投与28日の $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ は、雌で約1,360 µg·hr/mL、雄で約1,605 µg·hr/mL、C_{max} は雌で約2,174 µg/mL、雄で約2,239 µg/mL であった[2.6.7.7.1A 項]（TX[redacted]3006）。

セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を0（媒体：生理食塩液）、100、300、及び1,000 mg/kg/日の用量で、6週齢の SD ラット（各群雌雄各10匹）に1日1回4週間反復静脈内投与してその毒性を評価した。また、生理食塩液対照群及び1,000 mg/kg/日群の雌雄各5匹を加え、4週間の投与後に4週間の休薬期間を設け、セフトロザン投与に関連する所見の回復性を検討した。投与容量は5 mL/kg で、約2 mL/分の速度で尾静脈に投与した。本試験の検査及び観察項目は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量、病理組織学的検査であった。また、主毒性試験と回復性試験の対照群及び1,000 mg/kg/日群の雌雄各1例について、肝臓と腎臓の組織を用いて電子顕微鏡検査を実施した。別途、剖検時に腎臓のセフトロザン濃度も測定した[2.6.5.5.1G 項]（CRD[redacted]0003）。

セフトロザンを1,000 mg/kg/日（本試験での最高用量）まで投与しても、死亡及び一般状態の変

Confidential

化はみられず、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査及び尿検査に変化は認められなかった。300 mg/kg/日群の雄及び1,000 mg/kg/日群の雌雄で、腎臓の絶対重量及び相対重量の増加がみられた。300及び1,000 mg/kg/日群の雌雄において、内容物を含む盲腸の絶対重量及び相対重量の増加が認められ、剖検では1,000 mg/kg/日群の雄2例、雌4例の盲腸が肥大していた。

300 mg/kg/日群の雄5例（ごく軽度）、1,000 mg/kg/日群の雄9例（ごく軽度又は軽度）及び雌4例（ごく軽度）に、腎皮質の近位尿細管に硝子滴が観察され、電子顕微鏡検査によって二次リソソームであることが確認された。この硝子滴に関連した変性又は壊死などの病理組織学的変化は認められず、腎機能への影響に関しても、BUN、クレアチニン、無機リン及び尿検査項目に変化はみられなかった。1,000 mg/kg/日群で、投与部位にごく軽度から中等度の血管周囲線維化がみられ、同変化の程度は対照群と比して高かったことから、セフトロザンの投与と関連があると考えられた。剖検で盲腸肥大がみられたが、この所見に関連する病理組織学的変化は認められなかった。

4週間の休薬期間後に、セフトロザンの投与に関連する盲腸及び腎臓重量の変化は回復した。また、1,000 mg/kg/日群の雌雄各1例で近位尿細管の硝子滴がみられた部位と同一の部位に褐色色素の沈着が認められたが、同群で近位尿細管の硝子滴は観察されなかった。投与部位の変化は、休薬群ではごく軽度であり、休薬により回復傾向を示すものと考えられた。

100、300及び1,000 mg/kg/日群の剖検時における腎臓中セフトロザン濃度を[表 2.6.6-3]に示す。

表 2.6.6-3 ラットにセフトロザンを 4 週間静脈内投与した際の腎臓中セフトロザン濃度

Dose (mg/kg/day)	Ceftolozane Concentration (µg/g)[a] (Mean ± SE)	
	Male	Female
100	141.3 ± 8.7	107.3 ± 10.5
300	366.4 ± 14.6	247.8 ± 21.9
1,000	1,175.3 ± 66.2	691.7 ± 62.2

a Data from study CRD[redacted]0003 [2.6.5.5.1G 項].
Ceftolozane concentrations were below the quantification limit (<1 µg/g tissue) following the 4-week recovery period.

本試験の TK 成績は、別途 GLP に準拠して実施した TK 試験[2.6.5.4.1B 項]（TX[redacted]3006）から推測した。その成績を[表 2.6.6-4]に示す。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ は用量に比例して増加し、雌雄間に差は認められず、28日間の反復投与後の全身曝露量にも投与初日と比べて明らかな差は認められなかった。

Confidential

表 2.6.6-4 ラットにセフトロザンを 4 週間静脈内投与した際の AUC 及び C_{max}

Dose (mg/kg/day)	Day 1 (first day of dosing)				Week 4			
	C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (µg·hr/mL)		C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (µg·hr/mL)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
100	220.1	226.2	129.7	144.7	221.9	194.8	155.0	124.5
300	682.3	568.8	420.8	340.4	683.1	628.9	471.1	403.2
1,000	2,027.6	1,662.7	1,441.3	1,122.8	2,238.7	2,173.6	1,604.9	1,359.6

Data from [Sec. 2.6.7.7.1A]
Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from zero to 24 hours; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration.

以上、本 GLP 試験において、ラットにセフトロザンを1,000 mg/kg/日（本試験での最高用量）まで4週間反復静脈内投与しても、毒性学的に意義がある所見は認められなかった。300及び1,000 mg/kg/日群において、腎臓に重量増加とともに皮質近位尿細管に硝子滴が観察され、この硝子滴は電子顕微鏡検査によって二次リソソームであることが確認された。剖検時の腎組織においてセフトロザンが高レベルに検出されたことから、腎臓における硝子滴の所見は、セフトロザンの腎クリアランスに関連があると考えられた。重要なこととして、腎機能に影響はみられず、尿細管にセフトロザンに関連する変性、壊死又は細胞小器官の有害な変化を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。300及び1,000 mg/kg/日群において腎臓に硝子滴がみられたことから、試験報告書では無毒性量を100 mg/kg/日としたが、腎臓の病理学的な評価を専門とする4名の認定病理学者から構成される独立した病理学専門家ワーキンググループは、全身毒性の無毒性量を1,000 mg/kg/日と結論付けた[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。この結論は、300及び1,000 mg/kg/日群における硝子滴の発現頻度及び程度、硝子滴がみられた尿細管上皮細胞に毒性学的に意義がある変性及び壊死がなかったこと、腎機能に関連する臨床検査項目（BUN、クレアチニン、無機リン、尿量）に生物学的に意義がある影響が認められなかったこと、尿に細胞又は顆粒円柱が観察されなかったこと、全身毒性を示す一般状態の変化も認められなかったことに基づいている。無毒性量の1,000 mg/kg/日群における投与28日の平均 $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ は、雌及び雄でそれぞれ約1,360及び1,605 µg·hr/mL であり、平均 C_{max} は雌及び雄でそれぞれ約2,174及び2,239 µg/mL であった[2.6.7.7.1A 項]（TX[redacted]3006）。無毒性量での AUC 及び C_{max} と日本人 cUTI 及び cIAI 患者での値をもとに算出した安全域を[表 2.6.6-15]に示す。

2.6.6.3.5 ラットの4週間静脈内投与 TK 試験

[2.6.7.7.1A 項] （TX[redacted]3006） [資料 4.2.3.2.5]

本試験は GLP に準拠し、TX[redacted]3014試験[2.6.7.7.1B 項]に対する独立した TK 試験として実施した。6週齢の SD ラットにセフトロザンを最大1,000 mg/kg/日までの用量で4週間1日1回静脈内投与した結果、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ は用量に比例して増加した。全身曝露量に雌雄間の差及び反復投与による変化は認められなかった。

C Confidential

6週齢の SD ラット（各群雌雄各9匹）にセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を100、300、及び1,000 mg/kg/日の用量で1日1回4週間静脈内投与した。

試験の最高用量まで投与しても、死亡や一般状態の毒性変化は認められず、体重の変化も認められなかった。TK 解析用の血漿サンプルは投与初日及び投与4週の投与前（投与初日を除く）、投与後10分、1、2、4及び24時間に採取した。

$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ 及び C_{max} の要約を[表 2.6.6-4]に示した。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ は投与初日及び投与4週に雌雄共ほぼ用量に比例して増加し、セフトロザンの全身曝露量に雌雄間の差及び反復投与よる変化は認められなかった

2.6.6.3.6 ラットの4週間静脈内投与毒性及び TK 試験並びに4週間回復性試験

[2.6.7.7.1C 項] （CX.101.TX.031） [資料 4.2.3.2.6]

本試験では GLP に準拠し、製造販売用の工程で製造したセフトロザンを、本試験での最高用量（投与可能な最高用量）の1,000 mg/kg/日まで、ラットに1日1回4週間反復静脈内投与したが、毒性所見は認められなかった。無毒性量は1,000 mg/kg/日であり、投与初日における AUC_{last} は雌雄それぞれ1,640及び3,560 µg·hr/mL、C_{max} がそれぞれ3,080及び7,990 µg/mL であった。

本 GLP 試験では、製造販売用の工程で製造したセフトロザン（Lot [redacted]）の毒性を検討した。さらに、製造販売用の工程に関連した新規の不純物及び既知の不純物のより高い含有量での安全性を検討した。不純物の安全性評価は[2.6.6.8.6 項]（不純物の毒性試験の項）で概説している。約7週齢の SD ラット（各群雌雄各10匹）に製造販売用の工程で製造したセフトロザンを0（媒体：生理食塩液）、100、300、及び1,000 mg/kg/日の用量で1日1回4週間反復静脈内投与した。対照群及び1,000 mg/kg/日群には追加で雌雄各5匹を割り当て、4週間の休薬期間後にセフトロザン投与に関連する所見の回復性を検討した。比較のため、開発時の工程で製造したセフトロザンの1,000 mg/kg/日群を設けた。投与容量は5 mL/kg とし、ラット尾静脈に投与した。試験期間中の検査及び観察項目として、死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を設定した。投与初日のセフトロザン投与後に、TK 試験用の採血を行った。ラットでは1日1回4週間反復静脈内投与してもセフトロザンの蓄積は認められないことが既に示されていたため、投与28日の採血は実施しなかった[2.6.5.4.1B 項]（TX[redacted]3006）、[2.6.5.4.3A 項]（CXA201-T-001）。

セフトロザンを1,000 mg/kg/日（本試験での最高用量）まで投与しても、投与に関連する死亡及び一般状態の毒性変化はなく、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査に変化は認められなかった。

セフトロザンの投与に関連する所見がみられたが、いずれも毒性学的意義は低くかった。即ち、セフトロザン投与群の全群で赤血球数のごく軽度の減少（-0.9%～-6.1%）、これに伴い網状赤血球の絶対値及び比率の増加（4.8%～44.4%）、300 mg/kg/日群の雄2例及び1,000 mg/kg/日群の雄7例で腎臓の淡色化、1,000 mg/kg/日群の雌雄で腎臓重量のごく軽度の増加（6.0%～13.7%）、病理組織学的所見としてセフトロザン全群の雄で腎臓の硝子滴、1,000 mg/kg/日群の雌5例で尿細管細胞の空胞化が認められた。被験物質に関連する投与部位での所見は、組織形態学的所見も含め認めら

Confidential

れなかった。硝子滴はまた、300 mg/kg/日群の雄5例、100 mg/kg/日群の雄4例、生理食塩液対照群の雄2例の尿細管でも認められた。病理組織学的検査で壊死及び変性が認められず、腎機能と関連する BUN 及びクレアチニンレベルの変化並びに関連する尿検査項目の変化もみられなかったことから、腎臓でみられた所見は毒性学的意義がある変化ではないと考えられた。赤血球数の変動についても、用量との関連性に一貫性を示さず、全ての変動データが試験施設の背景値の範囲内であったことから、毒性学的意義がある変化ではないと考えられた。セフトロザン投与に関連する剖検所見、腎臓重量増加及び赤血球数の変化は28日間の休薬期間後に回復性を示した。腎臓の硝子滴は休薬後にも雄1例で観察されたが、硝子滴の生理学的除去が進行中でまだ完了しいないことを示唆するものであった。セフトロザン（製造販売用の工程）1,000 mg/kg/日群及びセフトロザン（開発時の工程で製造）1,000 mg/kg/日群で観察された所見はおおむね類似していた[2.6.7.17.3 項]。

セフトロザン（製造販売用の工程で製造）を投与したラットの TK 試験成績を[表 2.6.6-5]に示す。

表 2.6.6-5 雌雄ラットにセフトロザンを静脈内投与したときの C_{max} 及び AUC_{last}

Dose (mg/kg/day)	Day 0 (first day of dosing)			
	C_{max} (µg/mL)		AUC_{last} (µg·hr/mL)	
	Male	Female	Male	Female
100	351	329	187	154
300	1,050	784	522	448
1,000	7,990	3,080	3,560	1,640

製造販売用の工程で製造したセフトロザンを、本試験での最高用量（投与可能な最高用量）の1,000 mg/kg/日までラットに1日1回4週間反復静脈内投与した結果、毒性学的に意義のある所見は観察されなかった。無毒性量は1,000 mg/kg/日であり、この用量で投与初日の AUC_{last} は雌雄それぞれ1,640及び3,560 µg·hr/mL、C_{max} は3,080及び7,990 µg/mL であった。

2.6.6.3.7 イヌの2週間静脈内投与毒性試験

[2.6.7.6.1 項] （TX[redacted]9054） [資料 4.2.3.2.7]

この非 GLP 用量設定試験では、6～10ヵ月齢のビーグル（各群雌雄各2匹）にセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を100、300及び1,000 mg/kg/日の用量で1日1回2週間反復静脈内投与した。1,000 mg/kg/日群では、一般状態の変化（嘔吐、流涎、耳介及び口腔粘膜の潮紅、頭部腫脹）が観察された。これらの所見は肥満細胞の脱顆粒によるヒスタミンの放出の影響と一致し、血漿中ヒスタミン濃度の上昇によるものとして報告されている。血漿中ヒスタミン濃度の上昇にはイヌの個体差があるが、1,000 mg/kg/日群の雄1例では、投与前と比べて約420倍に上昇した。病理組織学的検査では近位尿細管における硝子滴が1,000 mg/kg/日群で認められ、1例では腎臓重量の増加を伴っていた。セフトロザンの全身曝露量は投与量の増加にほぼ比例して増加し、雌雄

C Confidential

間の差及び反復投与による変化は認められなかった。投与14日の C_{max} は100、300及び1,000 mg/kg/日群でそれぞれ約235、674及び2,148 µg/mL であり、$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ はそれぞれ343、1,053及び3,133 µg·hr/mL であった。剖検時における腎臓のセフトロザンの平均組織内濃度は、100、300及び1,000 mg/kg/日群でそれぞれ79.85、304.66及び786.18 µg/g であり、肝臓の平均組織内濃度は、それぞれの群で3.83、10.62及び45.38 µg/g であった。

本試験で観察された一般状態の変化（嘔吐、流涎、耳介及び口腔粘膜の潮紅、頭部腫脹）は、イヌに対してセファロスポリン系抗菌薬を投与した際の、肥満細胞の脱顆粒によるヒスタミンの放出に起因するクラスエフェクトと考えられ、このことは本試験のイヌの血液におけるヒスタミンレベルの増加から裏付けられた。

一般状態の毒性変化が1,000 mg/kg/日群で観察されたことから、無毒性量は300 mg/kg/日であり、この用量における $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ 及び C_{max} はそれぞれ1,053 µg·hr/mL 及び約674 µg/mL であった。試験した最高濃度（200 mg/mL）まで投与部位に毒性変化は認められなかった。

2.6.6.3.8 イヌの4週間静脈内投与毒性試験及び4週間休薬試験

[2.6.7.7.1D 項] （TX[redacted]3013） [資料 4.2.3.2.8]

本試験では GLP に準拠し、セフトロザンをイヌに4週間反復静脈内投与した結果、主に1,000 mg/kg/日の高用量群において、嘔吐、耳介及び口腔粘膜の潮紅、頭部腫脹、流涎、及び側臥位並びに回復性の赤血球系パラメータの低下が観察された。1,000 mg/kg/日群の雄1匹で BUN の増加が観察されたが、腎臓の病理組織学的検査で変性及び壊死は認められなかった。腎臓の硝子滴は300及び1,000 mg/kg/日群で認められた。これらの所見は4週間の休薬後に回復した。病理学専門家ワーキンググループは1,000 mg/kg/日群で認められた一般状態の変化（腎臓の所見ではなく）を毒性と判断し、全身毒性の無毒性量を300 mg/kg/日とした[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。無毒性量の300 mg/kg/日における投与4週の $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ は雌及び雄でそれぞれ約1,316及び1,106 µg·hr/mL であり、C_{max} はそれぞれ約798及び740 µg/mL であった。

セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot[redacted]）を、約7～8ヵ月齢のビーグル（各群雌雄各3匹）に0（媒体：生理食塩液）、100、300及び1,000 mg/kg/日の用量で1日1回4週間反復静脈内投与し、その毒性を評価した。また、1,000 mg/kg/日群には追加で雌雄各3匹を割り当て、4週間の休薬後にセフトロザン投与に関連する所見の回復性を検討した。投与容量は5 mL/kg/日とし、約10 mL/分で橈側皮静脈に投与した。検査及び観察項目は、一般状態の毒性変化、体重、摂餌量、血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、心電図、TK、剖検、器官重量及び病理組織学的検査とした。通常の評価に加え、対照群と1,000 mg/kg/日群（回復性試験も含む）に腎臓の過ヨウ素酸シッフ（PAS）染色検査を行い、対照群及び1,000 mg/kg/日群（回復性試験も含む）の雌雄各1例では腎臓の電子顕微鏡検査を実施した。腎臓における組織中セフトロザン濃度も測定した。

最高用量の1,000 mg/kg/日まで死亡はなく、体重、摂餌量、尿検査、眼科学的検査、心電図、剖検及び器官重量に変化は認められなかった。300 mg/kg/日群の雌雄各2例で散発的な嘔吐が、1,000 mg/kg/日群の全例で頻繁な嘔吐が観察された。セフトロザン投与に関連するその他の一般状

C Confidential

態の変化は全て1,000 mg/kg/日群で認められた。同群において、投与1～30日に雄2例を除く全例で耳介及び口腔粘膜の潮紅が観察された。投与1～12日には雄3例及び雌1例を除く全例で頭部腫脹が観察された。また、投与開始日には雄1例に側臥位が観察され、投与1～20日には雄4例及び雌3例に流涎がみられた。休薬期間中では雌2例に1日だけ観察された嘔吐を除いて、上記の一般状態の変化はみられなかった。

投与4週に1,000 mg/kg/日群の雌1例（No. 15518）で、ヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数の減少がみられた。投与前のヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数はそれぞれ43.3%、14.6 g/dL 及び6.76 x 10^6/μL であり、投与4週ではそれぞれ35.7%、11.6 g/dL 及び5.44 x 10^6/μL であった。このヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数の減少は、セフトロザン群の1例のみで認められたこと、対照群の1例で類似の所見が認められたこと、及び、病理検査で関連する所見が認められなかったことから、投与との関連は明らかではなく、また、毒性学的意義はないと考えられた。4週間の休薬後、全例のこれらの検査値は、試験施設の背景値の範囲内であった。

投与4週に1,000 mg/kg/日群の雄1例（No. 15223）で BUN の増加がみられた。同例の投与前の BUN は10 mg/dL であり、投与4週では17 mg/dL であった。投与4週の値は、試験施設の背景値の範囲内であり[資料4.3: 316]、腎臓の病理組織学的検査で変性及び壊死は認められなかった。病理学専門家ワーキンググループは、この変化を腎臓における変性や壊死から生じる変動ではなく、セフトロザンをイヌに投与したときに観察されるヒスタミンの放出に続く血圧及び腎血流の変化によって生じる腎前性の影響によるものと示唆されると結論付けた[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。BUN の増加はごく軽度で、1例でのみ認められたことから、偶発的な所見と考えられた。同例（No. 15223）の4週間の休薬後の BUN は媒体対照群と同様であった。剖検時における100、300及び1,000 mg/kg/日群の腎臓の組織中セフトロザン濃度を[表 2.6.6-6]に示す。

表 2.6.6-6 セフトロザンを１日１回４週間静脈内投与した雌雄イヌの腎臓中セフトロザン濃度

Dose (mg/kg/day)	Ceftolozane Concentration (μg/g)[a] (Mean ± SE)	
	Male	Female
100	96.0 ± 10.0	73.8 ± 24.2
300	161.7 ± 40.9	240.1 ± 64.7
1,000	738.0 ± 97.3	739.3 ± 50.8

a Data from study CRD[redacted]0004 [2.6.5.5.1I 項]. Ceftolozane concentrations were below the quantification limit (<1 μg/g tissue) following the 4-week recovery period.

投与初日及び投与4週において雌雄共に C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ はほぼ用量に比例して増加した。雌雄間差及び投与期間の4週間を通してセフトロザンの全身曝露量に変化は認められなかった。TK パラメータの平均値を[表 2.6.6-7]に示す。

C Confidential

表 2.6.6-7 セフトロザンを 1 日 1 回 4 週間静脈内投与した雌雄イヌの $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ 及び C_{max}

Dose (mg/kg/day)	Day 1 (first day of dosing)				Week 4			
	C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (µg·hr/mL)		C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (µg·hr/mL)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
100	243.9	252.1	379.4	401.6	242.6	273.6	383.3	432.9
300	793.1	745.4	1,142.5	1,275.2	739.9	798.0	1,106.1	1,316.4
1,000	2,870.1	2,803.7	5,070.1	4,427.0	2,529.7	2,651.6	3,885.8	3,931.9

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours;
C_{max} = maximum (peak) plasma concentration.

病理組織学的検査で、腎皮質近位尿細管の硝子滴が300 mg/kg/日群の雌雄各1例（ごく軽度）及び1,000 mg/kg/日群の全例（軽度から中等度）で認められた。これらの硝子滴は病理組織学的な細胞の変性及び壊死を伴っていなかった。4週間の休薬後には腎臓に硝子滴は観察されなかったが、1,000 mg/kg/日群の雄2例及び雌1例の腎皮質近位尿細管に褐色の色素沈着が認められた。1,000 mg/kg/日群で観察された硝子滴及び褐色の色素沈着は PAS による腎臓の染色検査で陽性を示し、電子顕微鏡検査で二次リソソームであることが確認された。リソソームの大きさ及びその数は4週間投与後の検査時に比べ休薬後の検査時では縮減していた。

要約すると、イヌにセフトロザンを4週間反復静脈内投与したときの所見は主に高用量の1,000 mg/kg/日群で認められた。同群では、肥満細胞の脱顆粒によるヒスタミンの放出に関連した一般状態の毒性変化及び1例で赤血球系パラメータの低下が認められた。雄1例で BUN の増加がみられたが、その変動は試験施設の背景値の範囲内であった。この変動に関連する病理組織学的な変性や壊死は認められなかった。300及び1,000 mg/kg/日群で、腎臓に硝子滴が観察された。腎臓の所見は回復性の変化であり、腎機能に影響を与えるものではなかった。さらに、病理組織学的検査では、セフトロザンに関連する尿細管の変性や壊死、細胞小器官への有害な変化は観察されなかった。腎臓の近位尿細管に硝子滴が認められたことから、試験報告書では無毒性量は100 mg/kg/日と記載されたが、腎臓の病理学的な評価を専門とする4名の認定病理学者で構成する独立した病理学専門家ワーキンググループは、これらの硝子滴の毒性学的意義はないと判断し、全身毒性の無毒性量は300 mg/kg/日と結論付けた[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。この結論は、腎臓の病理組織学的変化ではなく、1,000 mg/kg/日群で観察されたセファロスポリン系抗菌薬が誘発するヒスタミンに関連する一般状態の変化（耳介及び口腔粘膜の潮紅、頭部腫脹、嘔吐、側臥位など）に基づいている。無毒性量の300 mg/kg/日における投与4週の $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ は雌及び雄それぞれ約1,316及び約1,106 µg·hr/mL であり、C_{max} はそれぞれ約798及び約740 µg/mL であった。無毒性量における $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ 及び C_{max} と日本人 cUTI 及び cIAI 患者のそれぞれの検査値から算出した安全域を[表 2.6.6-15].に示す。試験した最高濃度（200 mg/mL）まで、局所毒性を示す所見は認められなかった。

C Confidential

タゾバクタム

以下に記載するタゾバクタムの毒性の情報は公表文献から入手した。

<ラット>

ラットの6ヵ月間投与毒性試験において、タゾバクタムの投与に関連する主要な所見は、肝臓での回復性のあるグリコーゲンの蓄積であり、重量増加を伴ってみられた[資料4.3: 314]。本試験では、雌雄ラットにタゾバクタムを40、80、及び160 mg/kg/日の用量で1日2回6ヵ月間腹腔内投与した。評価した最高用量である160 mg/kg/日まで、タゾバクタムの投与に関連する死亡、一般状態の毒性変化、尿検査及び眼科学的検査の所見はみられなかった。80 mg/kg/日群の雄及び160 mg/kg/日群の雌雄でタゾバクタムの投与に関連する回復性のある肝臓重量の増加が認められ、病理組織学的検査ではこれに関連して雄のみで肝細胞にグリコーゲン蓄積が認められた。タゾバクタムの投与に関連するその他の所見として、雌雄で用量依存性のない摂餌量の増加、80及び160 mg/kg/日群の雌で網状赤血球数の増加、160 mg/kg/日群の雄でトリグリセリドの減少が認められ、いずれも回復性のある変化であった。タゾバクタムを投与した雌の全例で血清トリグリセリドの減少がみられた。また、160 mg/kg/日群の雌でタゾバクタムの投与に関連する盲腸拡張が認められた。80及び160 mg/kg/日群で観察されたタゾバクタムの投与に関連する肝臓の病理組織学的所見に基づき、本試験におけるタゾバクタムの無毒性量は40 mg/kg/日と報告された。しかし、本試験では肝細胞に変性や壊死がみられず、血清肝酵素に変化が認められなかったことから、観察された肝臓の変化は、適応性変化であり、毒性学的意義はないと考えられた。ラットに対する160 mg/kg/日の投与は、アロメトリックな尺度に基づいてヒト等価用量に換算（臨床での1日投与量1,500 mg/日、平均体重を70 kg と仮定）すると26 mg/kg/日であり、安全域は約1.2倍であった[資料4.3: 317]。

<イヌ>

イヌの6ヵ月間投与毒性試験において、タゾバクタムの投与に関連する主要な所見は、肝臓での回復性のあるグリコーゲンの蓄積であった[資料4.3: 315]。本試験では、雌雄のイヌにタゾバクタムを40、80及び160 mg/kg/日の用量で1日2回6ヵ月間静脈内投与している。評価した最高用量である160 mg/kg/日まで、タゾバクタムの投与に関連する死亡はなく、一般状態、体重、血圧及び体温、眼科学的検査、生理学的検査、心電図及び尿検査に変化は認められなかった。80及び160 mg/kg/日群で、肝細胞において、グリコーゲンと推定される回復性のある PAS 染色陽性物質の凝集体の蓄積が観察され、160 mg/kg/日群の電子顕微鏡検査で肝細胞中の滑面小胞体及びグリコーゲン顆粒の増加を確認した。これらの病理組織学的所見に基づき、本試験におけるタゾバクタムの無毒性量は40 mg/kg/日と報告された。しかし、本試験では肝細胞に変性や壊死がみられず、血清肝酵素に変化が認められなかったことから、観察された肝臓の変化は、適応性変化であり、毒性学的意義はないと考えられた。イヌに対する160 mg/kg/日の投与は、アロメトリックな尺度に基づいてヒト等価用量に換算（臨床での1日投与量1,500 mg/日、平均体重を70 kg と仮定）すると87 mg/kg/日であり、安全域は約4.1倍であった[資料4.3: 317]。

Confidential

セフトロザン／タゾバクタム

2.6.6.3.9 ラットの4週間併用静脈内投与試験

[2.6.7.7.3A 項] (CXA201-T-001) [資料 4.2.3.2.10]

本試験ではGLPに準拠し、ラットにセフトロザン／タゾバクタムを用量比2 : 1で1日1回28日間併用静脈内投与した結果、本試験での最高用量である1,000/500 mg/kg/日までセフトロザン／タゾバクタムの投与に関連する毒性所見は観察されなかった。セフトロザン／タゾバクタムを投与したすべての用量群で盲腸拡張が認められたが、関連する体重及び摂餌量への影響及び病理組織学的変化は認められず、抗菌薬による腸内フローラの変化と一致するものであることから毒性ではないと考えられた。この所見がヒトに対して毒性学的な意義のあるものとは考えられていない。腎臓及び肝臓に変化が認められたが、個々の薬物の単独投与で観察された変化と一致しており、回復性が認められ、毒性学的意義がある変化ではないと考えられた。新規の所見及び予測できない毒性は認められなかった。腎臓重量の増加及び腎皮質の近位尿細管の硝子滴が、セフトロザン単独群及びタゾバクタムとの併用群のいずれにおいても観察された。肝細胞におけるグリコーゲンの蓄積と一致する細胞質の変化が、タゾバクタム単独群及びセフトロザンとの併用群のいずれにおいても観察された。血清生化学的検査では、アルブミン、アルブミン／グロブリン（A/G）比、グルコース、トリグリセリド、グロブリン及びカリウムに変化が認められた。腎臓の病理学的な評価を専門とする4名の認定病理学者で構成する独立した病理学専門家ワーキンググループの結論に基づいて、本試験におけるセフトロザン／タゾバクタムの無毒性量は1,000/500 mg/kg/日と考えられた[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。セフトロザン及びタゾバクタムを併用投与したときとそれぞれを単独投与したときを比べると、$AUC_{0\text{-}8\ hr}$及びC_{max}は類似していた。セフトロザン／タゾバクタムの無毒性量での投与4週の $AUC_{0\text{-}8\ hr}$ は雄及び雌でそれぞれ約1,367/89及び1,094/87 μg·hr/mL であり、C_{max}は約2,480/232及び2,133/226 μg/mL であった。

約6週齢の SD ラット（各群雌雄各10匹）にセフトロザン／タゾバクタムを0（媒体：生理食塩液）、100/50、250/125及び1,000/500 mg/kg/日の用量で1日1回28日間反復静脈内投与し、セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot[redacted]）及びタゾバクタム（Lot[redacted]）の毒性を評価した。本試験での投与期間は、臨床で予定される投与期間（14日以内）の2倍である。対照群としてセフトロザン単独群（1,000 mg/kg/日）及びタゾバクタム単独群（500 mg/kg/日）も設定した。投与容量は5 mL/kg/日とし、約2 mL/分で投与した。検査及び観察項目は、死亡、一般状態の変化、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査）、TK、器官重量、剖検及び病理組織学的検査とした。

本試験中に被験物質に関連する死亡、一般状態、体重、摂餌量、血液凝固系検査、尿検査、眼科学的検査、剖検に変化はみられなかった。

血液学的検査では、セフトロザン及びタゾバクタムの単独及び併用投与のいずれにおいても毒性学的に意義のある変化はみられなかった。タゾバクタム単独（500 mg/kg/日）群及び併用1,000/500 mg/kg/日群において、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットのごく軽度の減少、並びに血小板及び網状赤血球数の軽度の増加がみられた。

血清生化学的検査では、タゾバクタム500 mg/kg/日群（単独及び併用群）の雌雄にアルブミン、

Confidential

グルコース及びトリグリセリドの減少、並びにグロブリン及びカリウムの増加がみられた。これらの変化と併せて、A/G 比の減少も認められた。

器官重量では、セフトロザン及びタゾバクタムの投与に関連する変化として、それぞれ腎臓及び肝臓の重量増加が認められた。腎臓重量（絶対値及び最終体重に対する相対値）の増加がセフトロザン単独（1,000 mg/kg/日）群の雌雄、併用の250/125 mg/kg/日群の雄、及び1,000/500 mg/kg/日群の雌雄で認められた。肝臓重量（絶対値及び最終体重に対する相対値）の増加は、タゾバクタム単独（500 mg/kg/日）群及び併用の1,000/500 mg/kg/日群の雌雄で認められた。

剖検では、各併用（100/50、250/125及び1000/500 mg/kg/日）群で盲腸拡張が認められた。この所見に関連する病理組織学的変化は認められなかった。

本試験の病理担当者による報告では、セフトロザンの投与に関連する病理組織学的所見は報告されなかった。しかし、この試験のために招集された病理学専門家ワーキンググループは、全てのセフトロザン群において、変性及び壊死はみられないものの、腎皮質の近位尿細管上皮に硝子滴が存在し、毒性学的に意義がある変化ではないことを確認した[資料 4.2.3.2.9] (CX.101.TX.032)。硝子滴の程度は、併用の100/50及び250/125 mg/kg/日群においてごく軽度から軽度、1,000/500 mg/kg/日群においてごく軽度から中等度、セフトロザン単独（1,000 mg/kg/日）群において軽度から中等度であった。

病理組織学的検査では、タゾバクタム単独（500 mg/kg/日）群及び併用の1,000/500 mg/kg/日群の雌雄で、肝細胞細胞質に好酸性で蒼白な泡沫状又は微細の空胞化物質の蓄積が認められた。これらのタゾバクタムの投与に関連する変化の程度は、雌でごく軽度、雄で軽度から中等度であった。肝臓切片を PAS 染色したところ、これらの影響を受けた部位とグリコーゲンの蓄積部位が一致した。併用の250/125 mg/kg/日群の肝臓切片にタゾバクタムによる細胞質の変化はみられなかったが、250/125 mg/kg/日群の雌雄の肝細胞細胞質の PAS 染色は陽性であり、この用量で PAS 染色陽性の細胞質成分の存在を示した。

セフトロザン及びタゾバクタムについて、それぞれの単独投与時と併用投与時を比較したときの全身曝露量は類似しており、1,000/500 mg/kg/日まで両薬物間に薬物動態学的相互作用はないことが示された。セフトロザン／タゾバクタムの C_{max} 及び AUC は概して用量比例性を示し、雌雄差及び反復投与による全身曝露量の変化は認められなかった。セフトロザン／タゾバクタムの TK を[表 2.6.6-8]及び[表 2.6.6-9]に示す。

C Confidential

表 2.6.6-8 セフトロザン／タゾバクタムを１日１回４週間静脈内投与した雌雄 SD ラットにおけるセフトロザンの C_{max} 及び AUC

Dose (mg/kg/day)	Day 1 (first day of dosing)				Week 4			
	C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}8\ hr}$ (µg·hr/mL)		C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}8\ hr}$ (µg·hr/mL)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
1,000 C only	2,626.67	2,576.67	1,396.59	1,248.25	2,690.00	2,196.67	1,584.87	1,201.77
100 C/ 50 T	232.33	259.33	125.49	123.86	312.33	311.67	170.98	152.77
250 C/ 125 T	537.33	621.33	304.94	318.26	765.67	730.00	419.12	359.48
1,000 C/ 500 T	2,416.67	2,213.33	1,309.61	1,147.22	2,480.00	2,133.33	1,366.67	1,094.28

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}8\ hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to 8 hours;
C = ceftolozane; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; M = male; T = tazobactam.

表 2.6.6-9 セフトロザン／タゾバクタムを１日１回４週間静脈内投与した雌雄 SD ラットにおけるタゾバクタムの C_{max} 及び AUC

Dose (mg/kg/day)	Day 1 (first day of dosing)				Week 4			
	C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}8\ hr}$ (µg·hr/mL)		C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}8\ hr}$ (µg·hr/mL)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
500 T only	493.33	631.00	186.40	229.26	257.00	298.67	96.37	113.97
100 C/ 50 T	32.60	42.07	11.53	14.83	32.87	44.73	12.48	16.56
250 C/ 125 T	86.17	123.33	31.75	43.79	127.67	117.90	48.35	43.52
1,000 C/ 500 T	523.33	543.33	193.18	191.53	231.67	226.00	89.30	87.05

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}8\ hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to 8 hours;
C = ceftolozane; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; M = male; T = tazobactam.

要約すると、ラットにセフトロザン／タゾバクタムを1,000/500 mg/kg/日（本試験での最高用量）までの用量で1日1回28日間併用静脈内投与しても、毒性所見は認められなかった。セフトロザン／タゾバクタムを投与したすべての用量群で盲腸拡張が認められたが、関連する体重及び摂餌量への影響及び病理組織学的変化は認められず、抗菌薬による腸内フローラの変化と一致するものであることから毒性ではないと考えられた。この所見がヒトに対して毒性学的な意義のあるものとは考えられていない。腎臓及び肝臓に変化が認められたが、個々の薬剤の単独投与試験で観察された所見と一致しており、回復性が認められ、毒性学的意義がある変化ではないと考えられた[2.6.6.3 項]。新規の所見及び予測できない毒性も認められなかった。

セフトロザン及びタゾバクタムの C_{max} 及び AUC は、併用投与時でも単独投与時でも類似しており、1,000/500 mg/kg/日の用量までセフトロザン及びタゾバクタムに薬物動態学的相互作用がないことが示唆された。試験報告書ではセフトロザン／タゾバクタムの無毒性量は250/125 mg/kg/日と記載されているが、本試験のために招集された腎臓の病理学的な評価を専門とする4名の認定

C Confidential

病理学者で構成する独立した病理学専門家ワーキンググループは無毒性量を1,000/500 mg/kg/日と結論づけた[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。この結論は、1）硝子滴が認められた尿細管上皮細胞及び細胞質の変化が認められた肝細胞に毒性学的に意義ある変性や壊死がなかったこと、2）アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）、BUN、クレアチニン、無機リン、及び尿量の臨床検査項目に生物学的に意義のある変化が認められないこと、3）尿中に細胞又は顆粒円柱が観察されなかったこと、4）全身毒性を示す一般状態の変化が認められないことに基づいている。セフトロザン／タゾバクタムの無毒性量（1,000/500 mg/kg/日）における投与4週の $AUC_{0\text{-}8\ hr}$ は雌及び雄でそれぞれ約1,094/87及び1,367/89 μg·hr/mL であり、C_{max} はそれぞれ約2,133/226及び2,480/232 μg/mL であった。無毒性量における AUC 及び C_{max} と日本人 cUTI 及び cIAI 患者の曝露量から算出した安全域を[表 2.6.6-15]及び[表 2.6.6-16]に示す。

2.6.6.3.10 イヌの2週間1日2回併用静脈内投与試験

[2.6.7.7.3B 項] (CXA201-T-005) [資料 4.2.3.2.11]

本試験では GLP に準拠し、ビーグルにセフトロザン単独又はタゾバクタムと併用で1日2回14日間併用静脈内投与した結果、投与に関連する所見は認められなかった。セフトロザン／タゾバクタムの無毒性量（及び無影響量）は高用量群の300/150 mg/kg/日であり、同用量におけるセフトロザン及びタゾバクタムの1日当たりの AUC はそれぞれ1,868及び550 μg·hr/mL、C_{max} は931及び339 μg/mL と推定された。

約7～8ヵ月齢のビーグル（各群雌雄各3匹）に、セフトロザン／タゾバクタムを0（媒体：生理食塩液）、100/50、及び300/150 mg/kg/日の用量で1日2回14日間反復静脈内投与し、セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）及びタゾバクタム（Lot [redacted]）の毒性を評価した。対照群としてセフトロザン単独群（300 mg/kg/日）及びタゾバクタム単独群（150 mg/kg/日）も設定した。容量は5 mL/kg とし、イヌの前肢橈側皮静脈に約15分かけて投与した。1日2回の投与は約8時間間隔とした。検査・観察項目として、死亡、一般状態の変化、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査）、TK、心電図、器官重量、剖検、病理組織学的検査とした。

死亡及び一般状態の変化は認められず、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査）、心電図、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査に変化は認められなかった。

セフトロザン及びタゾバクタムについて、それぞれの単独投与時と併用投与時を比較したときの薬物動態は類似しており、両薬物間に薬物動態学的相互作用は認められなかった。

セフトロザン及びタゾバクタムの AUC と C_{max} は投与初日及び投与2週ともほぼ用量に比例して増加した。雌雄間の差及び反復投与による全身曝露量の変化は認められなかった。セフトロザン及びタゾバクタムの TK 試験成績の要約を[表 2.6.6-10]及び[表 2.6.6-11]に示した。

C Confidential

表 2.6.6-10 ビーグルを用いたセフトロザン／タゾバクタムの１日２回２週間静脈内投与試験におけるセフトロザンの C_{max} 及び AUC

Dose (mg/kg/day)[a]	Day 0 (first day of dosing)[b]		Day 13 (Week 2)[b]	
	C_{max} (µg/mL)	Daily AUC[c] (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	Daily AUC[c] (µg·hr/mL)
300 C alone	903	1,710	817	1,470
100 C / 50 T	342	586	300	542
300 C / 150 T	783	1,510	931	1,868

a Ceftolozane/tazobactam was administered by 15-minute infusion twice daily (approximately 8 hours apart).
b Values shown include male and female values combined as no gender differences were noted.
c Daily AUC values were estimated by multiplying $AUC_{0\text{-}8\ hr}$ x 2 given twice daily infusion.
Abbreviations: $AUC_{0\text{-}8\ hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to 8 hours; C = ceftolozane; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; T = tazobactam.

表 2.6.6-11 ビーグルを用いたセフトロザン／タゾバクタムの１日２回２週間静脈内投与試験におけるタゾバクタムの C_{max} 及び AUC

Dose (mg/kg/day)[a]	Day 0 (first day of dosing)[b]		Day 13 (Week 2)[b]	
	C_{max} (µg/mL)	Daily AUC[c] (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	Daily AUC[c] (µg·hr/mL)
300 C alone	289	502	284	438
100 C / 50 T	117	151.4	99.9	141.8
300 C / 150 T	283	458	339	550

a Ceftolozane/tazobactam was administered by 15-minute infusion twice daily (approximately 8 hours apart).
b Values shown include male and female values combined as no gender differences were noted.
c Daily AUC values were estimated by multiplying $AUC_{0\text{-}8\ hr}$ x 2 given twice daily infusion.
Abbreviations: $AUC_{0\text{-}8\ hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to 8 hours; C = ceftolozane; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; T = tazobactam.

要約すると、ビーグルにセフトロザンを単独又はタゾバクタムと併用で1日2回14日間併用静脈内投与した結果、投与に関連する所見は認められなかった。セフトロザン／タゾバクタム併用時の無毒性量は300/150 mg/kg/日であり、同用量での1日当たりの全身曝露量（AUC）はそれぞれ1,868及び550 µg·hr/mL、C_{max} はそれぞれ931及び339 µg/mL であった。無毒性量での AUC 及び C_{max} と日本人 cUTI 及び cIAI 患者の曝露量から算出した安全域を[表 2.6.6-15]及び[表 2.6.6-16]に示す。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

臨床使用において、セフトロザンの単独及びタゾバクタムとの併用投与が遺伝毒性のリスクをもたらすことはないと考えられた。セフトロザン単独及びタゾバクタムと併用したときの遺伝毒性は、DEREK 及び Leadscope を用いた in silico 解析[2.6.7.17.3 項]（CX.101.TX.034）、細菌を用いた復帰突然変異試験、ほ乳動物細胞を用いた染色体異常試験、ほ乳動物細胞を用いた変異原性試験（MLA 試験及び *Hprt* 試験）を含む広範な遺伝毒性試験で評価した。タゾバクタム単独の遺伝

Confidential

毒性データは、FDA 審査報告書[資料4.3: 318]及び注射用タゾバクタム／ピペラシリンの米国添付文書より得た[資料4.3: 319]。遺伝毒性試験の要約を[表 2.6.6-12]に示す。

DEREK（Lhasa Limited, Leeds, UK）及び Leadscope（Leadscope Inc., Columbus, OH, USA）の2つの異なる in silico システムで評価した結果、セフトロザン及びタゾバクタムに変異原性の警告構造は認められなかった[2.6.7.17.3 項]（CX.101.TX.034）。

細菌を用いた復帰突然変異試験でも、セフトロザン及びタゾバクタムはいずれも陰性であった。タゾバクタムの細菌を用いた復帰突然変異試験成績は[資料4.3: 319]に記載されている。

MLA 試験では、セフトロザン単独を5,000 µg/mL で3時間処理した結果、弱い陽性、328 µg/mL 以上で24時間処理した結果、陽性を示した。これらの陽性結果は、追加で実施した3回の MLA 試験で再現されなかった。セフトロザンとタゾバクタムを併用した MLA 試験では、セフトロザン単独で弱い陽性が認められた5,000 µg/mL を含む濃度で短時間（4時間）処理した結果、陽性結果は再現されなかった。セフトロザン単独で2回追加実施した MLA 試験では、ICH S2（R1）ガイドラインで推奨されている最高濃度である500 µg/mL まで検討した結果、3時間処理で変異体の増加は認められなかった。また、これらの追加の MLA 試験では、最初の試験で陽性結果が認められた濃度で24時間処理しても、変異体の増加は認められなかった。総合的な結論として、ICH S2（R1）及び OECD490ガイドラインに従って実施した2回の追加の MLA 試験及び臨床的に意義があるセフトロザンとタゾバクタムの併用条件で実施した試験で陽性結果が再現されなかったことから、MLA 試験の結果は陰性と判断した。セフトロザンが変異原性を有さないことは、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた *Hprt* 遺伝子前進突然変異試験で、代謝活性化系の有無にかかわらず、ICH S2（R1）ガイドラインで推奨されている最高濃度である500 µg/mL までの濃度でセフトロザンは陰性であったことからも確認した。

タゾバクタムの MLA 試験の結果は、3,000 µg/mL 以上の濃度で陽性であったことが報告されている[資料4.3: 319]。しかし、セフトロザンとタゾバクタムを併用した MLA 試験では、高濃度（5,000/2,500 µg/mL）で4時間処理しても陰性であった[2.6.7.8.E 項]（CXA201-T-003）。このように、セフトロザン及びタゾバクタムの MLA 試験成績は、単独の試験で弱い陽性又は陽性を示した高濃度域では、同様の濃度であっても、併用の試験では陰性を示し、各々単独の試験の結果と一致しなかった。ほ乳動物細胞を用いた変異原性試験（CHO 細胞を用いた *Hprt* 試験）では、タゾバクタムは5,000 µg/mL まで陰性であった。

チャイニーズハムスター肺（CHL）細胞を用いてセフトロザン単独の染色体異常試験を実施した結果、細胞毒性（細胞増殖及び有糸分裂指数の低下）を指標に試験可能な濃度（処理時間により500～5,000 µg/mL）まで陰性であった。タゾバクタム単独では、CHL 細胞を用いた染色体異常試験で3,000 µg/mL まで陰性であったことが報告されている[資料4.3: 320]、[資料4.3: 319]。

セフトロザン及びタゾバクタム併用の染色体異常試験では、CHO 細胞を用いて検討した。セフトロザン／タゾバクタムを1,000/500 µg/mL で代謝活性化系の存在下、4時間処理した結果、染色体の構造異常を有する細胞の割合が対照群と比較して有意に上昇し、試験施設の背景値の範囲を上回った。染色体の数的異常を有する細胞の増加はみられなかった。代謝活性化系の非存在下、

C Confidential

20時間処理した結果では、3,000/1,500 µg/mL で構造異常を有する細胞の割合が対照群と比較して有意に上昇し、背景値の範囲を上回った。数的異常を有する細胞の増加はみられなかった。同様の濃度で検討した単独の試験では、各薬物に染色体異常誘発能は認められておらず、セフトロザンとタゾバクタムを併用した際の試験結果の意義には疑問の余地がある。また、構造異常を有する細胞の増加は著しい細胞毒性と関連しており、3,000/1,500 µg/mL で20時間処理したときの増殖抑制率は58%、1,000/500 µg/mL で4時間処理したときの増殖抑制率は66%であり、本試験で推奨されている増殖抑制率上限の50%を超えており、用量も ICH S2（R1）で推奨されている最高用量である500 µg/mL を超えていた。重要なこととして、げっ歯類を用いた in vivo 小核試験において、セフトロザンは単独及びタゾバクタムとの併用でも高用量（2,000 mg/kg の静脈内投与）まで染色体異常誘発能は認められなかった。タゾバクタム単独でラットに5,000 mg/kg までの用量で静脈内投与した染色体異常試験の結果は陰性と報告されており、またセフトロザン単独のラット肝の in vivo UDS 試験でも陰性であった［7690（148-096）］。

証拠の重み付けより、臨床使用において、セフトロザン及びタゾバクタムに遺伝毒性のリスクはないことが示された。根拠としては、変異原性の in silico 解析で両薬物とも陰性、細菌を用いた復帰突然変異試験で両薬物とも陰性、MLA 試験でセフトロザン単独及びタゾバクタムの併用で陰性（タゾバクタム単独では陽性）、*Hprt* 試験で両薬物とも陰性、in vitro 染色体異常試験で両薬物とも陰性（併用では ICH S2（R1）で推奨される濃度を超え、細胞毒性を認める高い濃度で陽性）、in vivo 小核試験（in vivo 染色体異常試験）で両薬物とも陰性及び併用では高用量（セフトロザンは2,000 mg/kg の静脈内投与、タゾバクタムは5,000 mg/kg の静脈内投与）まで陰性、UDS 試験で高用量（セフトロザンは2,000 mg/kg の静脈内投与）まで陰性であったことを考慮した。

以上より、広範囲にわたる in silico 解析並びに in vitro 及び in vivo の遺伝毒性試験成績より得られた証拠の重み付けより、臨床使用において、セフトロザン及びタゾバクタムの単独及び併用投与が遺伝毒性のリスクをもたらすことはないと考えられた。

C Confidential

表 2.6.6-12 セフトロザン及びタゾバクタムの遺伝毒性試験の一覧

Study Type	Ceftolozane	Tazobactam	Ceftolozane/Tazobactam
In silico mutagenicity (DEREK and Leadscope)	Negative	Negative[a]	NA
Bacterial reverse mutation assay	Negative	Negative[b]	ND
Mammalian chromosome aberration assay	Negative	Negative[b]	Positive for structural but not numerical aberrations. Increases seen only at highly toxic concentrations
Mouse lymphoma gene mutation assay	Overall negative. Weak positive at 5,000 µg/mL after a 3-hr treatment was not reproduced in a test in combination with tazobactam up to 5,000 µg/mL ceftolozane. Positive results after 24-hour treatment at ≥328 µg/mL were not reproduced in two additional assays of ceftolozane that included a similar range of cytotoxicity	Positive at concentrations ≥3000 µg/mL[b]	Negative up to high ceftolozane/tazobactam concentrations (5,000/2,500 µg/mL) after the 4-hour treatment
Rodent in vivo micronucleus assay	Negative	Negative[b]	Negative
In vitro/in vivo rat liver UDS assay	Negative	Negative[b]	ND
Hprt gene mutation assay (CHO)	Negative	Negative[b]	ND
BALB/c 3T3 transformation assay	ND	Negative[b]	ND

a Data obtained from CX.101.TX.034 [2.6.7.17.3 項].
b Data obtained from [資料4.3: 320], [資料4.3: 318] and [資料4.3: 319].
Abbreviations: CHO = Chinese hamster ovary; Hprt = hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase; NA = not applicable; ND = not determined; UDS = unscheduled DNA synthesis.

C Confidential

2.6.6.4.1 In silico 解析

セフトロザン

DEREK 及び Leadscope を用いた in silico 評価系で、セフトロザンに変異原性を示す警告構造は認められなかった[2.6.7.17.3 項]（CX.101.TX.034）。

タゾバクタム

DEREK 及び Leadscope を用いた in silico 評価系で、タゾバクタムに変異原性を示す警告構造は認められなかった[2.6.7.17.3 項]（CX.101.TX.034）。

2.6.6.4.2 細菌を用いた復帰突然変異試験

セフトロザン

プレート法により変異原性を検討した結果、セフトロザンに変異原性は認められなかった。

GLP 非適用下の用量設定試験では、セファロスポリン系抗菌薬であるセフトロザンは代謝活性化系の存在下及び非存在下で *Salmonella typhimurium*（*S. typhimurium*）の試験株である TA100、TA98、TA1535、TA1537及び *Escherichia coli*（*E. coli*）の試験株である WP2 uvrA の増殖を1.67～10 µg/plate の濃度で阻害した[2.6.7.8 項]（TX[redacted]7122）。

GLP 適用下の細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537及び *E. coli* WP2 uvrA）を用いた復帰突然変異試験（セフトロザンは開発時の工程で製造した Lot[redacted]）において、代謝活性化系の存在下及び非存在下でそれぞれ20 µg/plate の濃度まで陰性であった[2.6.7.8A 項]（TX[redacted]7148）。セフトロザンはセファロスポリン系抗菌薬であり、試験に用いた細菌に対して増殖阻害作用を示すため、より高い濃度での試験は実施できなかった。適切な陽性対照物質による処理では、想定通りに用量依存的な変異コロニー数の増加が認められ、代謝活性化系の存在下及び非存在下とも試験系の感受性を確認した。

タゾバクタム

タゾバクタムは細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537及び *E. coli* WP2 uvrA）を用いた復帰突然変異試験において、代謝活性化系の存在下及び非存在下でそれぞれ1,000 µg/plate の濃度まで陰性であった[資料4.3: 320]。注射用タゾバクタム／ピペラシリンの米国添付文書及び EU 製品概要より得られた情報では、タゾバクタムは細菌を用いた復帰突然変異試験で333 µg/plate まで陰性であった[資料4.3: 319]。

セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザン及びタゾバクタム併用の細菌を用いた復帰突然変異試験は、各薬物で得られた試験結果が陰性であったことから実施していない。

C Confidential

2.6.6.4.3 ほ乳動物細胞を用いた In vitro 遺伝毒性試験

セフトロザン

CHL 細胞を用いたセフトロザンの染色体異常試験において、代謝活性化系の存在下及び非存在下、5,000 µg/mL の濃度まで染色体の構造異常及び数的異常の誘発は認められなかった。セフトロザンは、L5178Y *Tk*$^{+/-}$マウスリンフォーマ細胞を用いた MLA 試験において、代謝活性化系の存在下及び非存在下で陽性結果が得られたが、その後実施した3回の GLP 試験（1試験はタゾバクタムと併用、2試験はセフトロザン単独）で再現性は認められなかった（後述）。

GLP 非適用下で実施した CHL 細胞を用いた in vitro 染色体異常用量設定試験（セフトロザンは開発時の工程で製造した Lot [redacted]）において、代謝活性化系の存在下及び非存在下、それぞれ2,500及び5,000 µg/mL までの濃度で6時間及び24時間処理しても、染色体の構造異常及び数的異常の誘発は認められなかった[2.6.7.8 項]（TX[redacted]7169）。代謝活性化系の非存在下の48時間処理により、溶媒対照群と比較して、セフトロザンの1,250 µg/mL で構造異常の明らかな増加が認められたが、625 µg/mL では認められなかった。しかし、1,250 µg/mL の用量では、強い細胞増殖阻害（61%）がみられており、細胞毒性による偽陽性と考えられた。その後 GLP 適用下で実施した染色体異常試験（セフトロザンは開発時の工程で製造した Lot [redacted]）では、染色体異常の誘発を示唆する証拠は認められなかった[2.6.7.8D 項]（TX[redacted]7143）。本試験では、セフトロザンを5,000 µg/mL までの濃度で代謝活性化系の存在下及び非存在下で6時間処理、1,000 µg/mL までの濃度で代謝活性化系の非存在下で24時間処理、及び500 µg/mL までの濃度で代謝活性化系の非存在下で48時間処理しても、染色体異常の誘発を示唆する証拠は認められなかった。細胞毒性（細胞増殖阻害）は、代謝活性化系の非存在下、48時間処理した500 µg/mL の濃度で50%を超えていた。各濃度のセフトロザン、陰性対照及び陽性対照を2回検査し、培養液からそれぞれ細胞を100個ずつ解析して染色体異常を評価した。

GLP 非適用下で実施した L5178Y *Tk*$^{+/-}$マウスリンフォーマ細胞を用いたチミジンキナーゼ *Tk* 遺伝子座突然変異（MLA）用量設定試験（セフトロザンは開発時の工程で製造した Lot [redacted]）において、代謝活性化系の存在下及び非存在下、5,000 µg/mL までの濃度で 3 時間処理しても遺伝毒性は認められなかった[2.6.7.8 項]（TX[redacted]7166）。代謝活性化系の非存在下で 24 時間処理した結果、変異頻度の濃度依存的な頻度増加（媒体対照と比較して 2 倍超）が認められ、相対生存率の低下と一致していた。セフトロザンの 0（溶媒：生理食塩液）、78.1、156、313、625、1,250、2,500 及び 5,000 µg/mL で、変異頻度はそれぞれ 99.2、71.4、131.1、205.1、285.2、664.1 及び 1,619.0 x 10^{-6}、相対生存率はそれぞれ 100%、64.7%、88.2%、91.3%、43.4%、9.3%及び 2.7%であった。しかし、the Mouse Lymphoma Assay (MLA) Workgroup of the International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT)の公表文献では、総合的評価ファクター（GEF；陰性対照の変異頻度＋1 標準偏差として定義；使用したマイクロタイタープレートアッセイプロトコルでは 126）を上回る変異頻度を誘発した濃度を陽性と判定するべきとされている[資料 4.3: 321]。本試験では GEF を用いた判定基準は 225（99.2 + 126）であり、625 µg/mL 以上で陽性と判定され、これは ICH S2（R1）で推奨される最高濃度の 500 µg/mL を上回っていた。

Confidential

その後、GLP 適用下の MLA 試験を実施した。この試験では、セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を1,000～5,000 µg/mL の濃度で代謝活性化系の存在下及び非存在下3時間、又は328～1,250 µg/mL の濃度で代謝活性化系の非存在下24時間処理した[2.6.7.8B 項]（7689 (148-095)）。処理期間中、セフトロザンの析出及び培養液の pH の変化は認められなかった。代謝活性化系の非存在下で3時間処理した結果、陰性対照と比較して生物学的に意義のある変異頻度増加及び細胞毒性は認められなかった。代謝活性化系の存在下で3時間処理した結果、細胞毒性は認められなかったが、陰性対照と比較して変異頻度の有意な増加が認められた（セフトロザンの0、1,000、2,000、3,000、4,000及び5,000 µg/mL の変異頻度はそれぞれ122.3、119.5、157.2、123.5、192.1、及び299.5 x 10^{-6}）。しかし、IWGT の判定基準を適用すると、GEF を用いた判定基準は248（122 + 126）であり、濃度は5,000 µg/mL のみが陽性と判定された[資料4.3: 321]。代謝活性化系の非存在下の24時間処理では、セフトロザンの0、328、410、512、640、800、1,000及び1,250 µg/mL の変異頻度はそれぞれ170.1、364.7、306.3、590.0、635.1、1,192.7、1,638.7及び1,765.9 x 10^{-6}であり、用量依存的で統計学的に有意な変異頻度増加が認められた。セフトロザンの1,000 µg/mL 以上では細胞毒性の指標である相対総増殖率が10%以下であったため、統計学的解析は328～800 µg/mL の範囲のみ実施した。セフトロザンの328～800 µg/mL での相対総増殖率は11%～86%であった。IWGT の判定基準を適用すると GEF を用いた判定基準は296（170 + 126）であり、細胞毒性が許容される328 µg/mL 以上が陽性と判定された[資料4.3: 321]。

加えて、GLP 適用下で L5178Y *Tk*$^{+/-}$細胞を用いた2回の MLA 試験（セフトロザンは製造販売用の工程で製造した Lot [redacted]）を実施した[2.6.7.8C 項]（15-9036）。ICH S2（R1）ガイドラインに基づき、最高濃度は500 µg/mL とした。2回の独立した試験とも、代謝活性化系の存在下及び非存在下での3時間の処理で500 µg/mL までの濃度で変異頻度の増加は認められず、相対総増殖率の低下も認められない、又はほとんど認められなかった。1回目の試験で、代謝活性化系の非存在下で24時間処理した結果、相対総増殖率は40 µg/mL で約92%、150 µg/mL で約29%に減少し、200 µg/mL では細胞毒性のため変異原性は評価不能であった。2回目の試験では、24時間処理した結果、相対総増殖率は40 µg/mL で約96%、125 µg/mL で約16%に減少し、150 µg/mL では細胞毒性のため変異原性は評価不能であった。2回の試験とも、24時間の処理後、150又は125 µg/mL までの濃度で変異頻度の増加は認められず、各濃度での変異頻度は GEF を用いた判定基準より低かった。したがって、最初に実施した MLA 試験と追加で実施した2回の MLA 試験で、細胞毒性が認められた濃度範囲は類似していたものの、最初の試験の328 µg/mL 以上の濃度で認められた陽性結果は再現されなかった。

CHO 細胞を用いた *Hprt* 遺伝子座前進突然変異試験（セフトロザンは製造販売用の工程で製造）を実施し、代謝活性化系の存在下及び非存在下で処理した際の6-チオグアニンの存在下でコロニーの形成を評価した[2.6.7.8F 項]（16-9019）。媒体として注射用生理食塩液を用い、溶解を補助するために水酸化ナトリウムを用いた。CHO-K1-BH4細胞を用いた細胞毒性試験の結果[2.6.7.8 項]（15-9028）に基づき、本変異原性試験の代謝活性化系の存在下及び非存在下で用いる濃度を31.3、62.5、125、250及び500 µg/mL と設定した。本変異原性試験では、代謝活性化系の存在下及び非存

C Confidential

在下とも、処理開始時及び終了時に目視で確認できる析出は認められなかった。試験した最高濃度はICH S2（R1）ガイドラインで推奨されている制限濃度とした。500 µg/mL での補正後相対生存率は代謝活性化系の非存在下で91.64%、代謝活性化系の存在下では105.74%であった。すべての濃度の処理標本を変異頻度評価に用いた。代謝活性化系の存在下及び非存在下とも、陰性対照と比較して試験した全ての濃度で変異頻度の有意な増加は認められず（P>0.05）、用量との相関も認められなかった。陽性対照では変異頻度の有意な（P≤0.05）の増加が認められた。以上の結果から、セフトロザン硫酸塩は、CHO 細胞を用いた *Hprt* 試験で、代謝活性化系の存在下及び非存在下とも *Hprt* 遺伝子座の前進突然変異を誘発しなかった。

タゾバクタム

CHL 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験で、タゾバクタムは10 mM まで、代謝活性化系の存在下6時間、代謝活性化系の非存在下で6、24及び48時間処理しても、染色体の数的異常及び構造異常を誘発しなかった[資料4.3: 320]。タゾバクタムは、ほ乳動物細胞を用いた変異原性試験（CHO 細胞を用いた *Hprt* 試験）で、5,000 µg/mL の濃度で陰性であったことが報告されている[資料4.3: 319]、[資料4.3: 318]。タゾバクタムは、MLA 試験で、3,000 µg/mL 以上の濃度で陽性、CHL 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験で3,000 µg/mL の濃度で陰性であった。また、タゾバクタムは、BALB/3T3 細胞を用いた形質転換試験で900 µg/mL の濃度で陰性であり、UDS 試験では2,000 µg/mL の濃度で陰性であった。

セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザン及びタゾバクタムを濃度比2：1で併用した MLA 試験の結果は陰性であった[2.6.7.8E 項]（CXA201-T-003）。同様に併用した CHO 細胞を用いた染色体異常試験では[2.6.7.8G 項]（CXA-201-T-002）、数的異常は代謝活性化系の存在下及び非存在下とも陰性であったが、構造異常は、ICH S2（R1）で推奨されている最高濃度を超え、かつ細胞毒性がみられた高濃度で代謝活性化系の存在下及び非存在下とも陽性であった。

GLP 適用下で実施した MLA 試験で、セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）及びタゾバクタム（Lot [redacted]）を2：1の濃度比で、検討した結果、代謝活性化系の存在下及び非存在下とも陰性であった[2.6.7.8E 項]（CXA201-T-003）。用量設定試験（CXA201-T-003）の結果に基づいて、セフトロザン／タゾバクタムの濃度を1,000/500～5,000/2,500 µg/mL と設定し、代謝活性化系の存在下及び非存在下で処理時間を4時間とした。代謝活性化系の存在下で変異頻度に濃度依存的な増加傾向は認められなかった。代謝活性化系の非存在下4時間処理で変異頻度に濃度依存的な増加傾向が認められたが、いずれの濃度でも陰性対照より高い変異頻度であるクローニング可能な細胞10^6個あたり90（ソフトアガー法での GEF）以上の変異頻度は認められなかった。代謝活性化系の非存在下、処理時間を24時間とした評価では、セフトロザン／タゾバクタムの濃度を5.0/2.5～75/37.5 µg/mL とした。試験した濃度では、目視で確認できる析出は認められなかった。評価する濃度は、5/2.5、10/5.0、25/12.5、50/25及び75/37.5 µg/mL とした。セフトロザン／タゾバ

C Confidential

クタムによる変異頻度は、いずれの濃度でも陰性対照より高いクローニング可能な細胞10^6個あたり90個以上の変異頻度は認められず、濃度依存性も認められなかった。

GLP 適用下で実施した染色体異常試験[2.6.7.8G 項]（CXA-201-T-002）では、セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）及びタゾバクタム（Lot [redacted]）を2：1の用量比で、CHO 細胞を用いて代謝活性化系の存在下及び非存在下で染色体異常誘発能を評価した結果、数的異常については陰性、構造異常については陽性であった。セフトロザン／タゾバクタムの濃度は250/125、500/250及び1,000/500 µg/mL とし、代謝活性化系の存在下で4時間処理し、顕微鏡観察した。評価したいずれの濃度でも、陰性対照と比較して染色体の数的異常を有する細胞の割合に有意な上昇は認められなかった。染色体の構造異常を有する細胞の割合は、500/250及び1,000/500 µg/mL で陰性対照と比較してそれぞれ4%及び10%高かった。なお、4%は試験施設の背景値（0%～6.5%）の範囲内であった（CXA-201-T-002）。代謝活性化系の非存在下、処理時間を20時間とした評価では、セフトロザン／タゾバクタムの濃度を1,000/500、2,000/1,000及び3,000/1,500 µg/mL とした。陰性対照と比較し、染色体の数的異常を有する細胞の割合に統計学的に有意な上昇は認められなかった。染色体に構造異常を有する細胞の割合は、2,000/1,000及び3,000/1,500 µg/mL で陰性対照と比較してそれぞれ5%及び23%高かった。なお、5%は試験施設の背景値（0%～5.5%）の範囲内であった（CXA-201-T-002）。4時間及び20時間の処理後に認められた構造異常の増加は著しい細胞毒性と関連していると考えられた。構造異常の増加がみられた濃度での増殖抑制率は20時間処理で58%、4時間処理で66%であり、現行の ICH S2（R1）で推奨されている増殖抑制の上限（50%）を超えていた。また、影響の認められた最低濃度も ICH S2（R1）で推奨される最高濃度より高かった。加えて、被験物質の染色体異常誘発能を同様の濃度範囲で別々に評価した結果では、いずれも陰性であった。

2.6.6.4.4 In vivo 遺伝毒性試験

セフトロザン

マウス小核試験で、2,000 mg/kg までのセフトロザンを単回静脈内投与したところ、陰性対照と比較して抹消血中にセフトロザンによる小核を有する網状赤血球の増加は認められなかった。UDS 試験で、2,000 mg/kg までのセフトロザンを単回静脈内投与したラットより単離した初代培養肝細胞においても不定期 DNA 合成の誘導は認められなかった。

GLP 非適用下の用量設定[2.6.7.9 項]（TX[redacted]7179）試験及び GLP 適用下のマウス小核試験[2.6.7.9A 項]（TX[redacted]7139）で、セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted] 及び[redacted]）を雌雄 ICR マウスに2,000 mg/kg までの用量で静脈内投与し、投与48及び72時間後に採取した血液で検討した結果、生理食塩液（陰性対照）と比較して、小核を有する網状赤血球の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

ICR マウス（約7週齢、5匹/性/群）にセフトロザンを単回静脈内投与した。1例につき2,000個の赤血球を観察し、小核を有する網状赤血球を計測した。陽性対照であるマイトマイシン C では、小核を有する網状赤血球の出現頻度が有意に増加した。全赤血球に対する多染性赤血球の比率を

C Confidential

指標とした際の毒性は認められなかった。マウスに2,000 mg/kg のセフトロザンを単回静脈内投与したときの C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は、妊娠 ICR マウスの妊娠6日にセフトロザンを投与して TK を解析した結果からそれぞれ約 4,845 µg/mL 及び 1,531 µg·hr/mL であった[2.6.5.7.1A 項]（CX.101.TK.002）。このときの C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は、日本人 cUTI 及び cIAI 患者に投与したときの C_{max} 及び AUC と比較してそれぞれ約71及び2.6倍高かった。

GLP 非適用下の用量設定[2.6.7.9 項]（TX[redacted]7180）試験及び GLP 適用下の UDS 試験[2.6.7.9B 項]［7690（148-096）］の結果、2,000 mg/kg までのセフトロザン（それぞれの Lot は[redacted] 及び[redacted]）を投与したラットより単離した肝初代培養細胞において、生理食塩液と比較して、不定期 DNA 合成の誘導は認められなかった。

雄 SD ラット（約8週齢、3匹/群）にセフトロザン（開発時の工程で製造）を単回静脈内投与した。セフトロザン投与から2又は16時間後に肝細胞を単離し、ネット核グレイン数を測定した。媒体対照と比較して、不定期 DNA 合成を示す平均ネット核グレイン数の有意な増加は認められなかった。陽性対照としたジメチルニトロソアミン及び2-アセチルアミノフルオレンを投与したラットの肝細胞では、平均ネット核グレイン数の増加が認められた。ラットに2,000 mg/kg のセフトロザンを単回静脈内投与したときの C_{max} 及び $AUC_{0-24\ hr}$は、雄ラットに1,000 mg/kg のセフトロザンを投与した試験の投与初日における TK 測定結果からそれぞれ約4,055 µg/mL 及び2,883 µg·hr/mL と推定された[2.6.5.4.1B 項]（TX[redacted]3006）。このときの C_{max} 及び AUC は、日本人 cUTI 及び cIAI 患者に投与したときの C_{max} 及び AUC と比較してそれぞれ約60及び4.9倍高かった。

タゾバクタム

最高用量5,000 mg/kg で単回静脈内投与したマウス骨髄小核試験において、タゾバクタムによる小核を有する網状赤血球の増加は認められなかった[資料4.3: 320]。

セフトロザン／タゾバクタム

GLP 適用下のラット小核試験[2.6.7.9C 項]（CXA201-T-004）において、セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot[redacted]）及びタゾバクタム（Lot[redacted]）を用量比2：1でラットに投与した結果、骨髄中の小核を有する網状赤血球の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

本小核試験では、6～8週齢のラット（5匹/性/群、用量設定試験では雌雄、評価試験では雄）にセフトロザン／タゾバクタムを2,000/1,000 mg/kg までの用量で単回静脈内投与した。評価試験では、投与24及び48時間後に、1例につき2,000個の多染性赤血球を観察し、小核の有無を計測した。いずれの用量でも骨髄細胞に対する毒性を示す証拠は認められなかった。骨髄において、溶媒対照（生理食塩液）と比較して、セフトロザン／タゾバクタムの投与による小核を有する多染性赤血球の有意な増加は認められなかった。陽性対照であるシクロフォスファミドでは、小核を有する多染性赤血球が有意に増加した。ラットに2,000 mg/kg のセフトロザンを投与したときの C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は、雌雄ラットに1,000 mg/kg のセフトロザンを投与して TK を解析した投与初日の

C Confidential

結果からそれぞれ4,630 µg/mL 及び2,457 µg·hr/mL と推定された[2.6.5.4.3A 項]（CXA201-T-001）。このセフトロザンの推定 C_{max} 及び AUC は、日本人 cUTI 及び cIAI 患者に投与したときの C_{max} 及び AUC と比較してそれぞれ約68及び4.2倍高かった。ラットに1,000 mg/kg のタゾバクタムを投与したときの C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は、雌雄ラットに500 mg/kg のタゾバクタムを投与して TK を解析した投与初日の結果からそれぞれ1,067 µg/mL 及び385 µg·hr/mL と推定された（CXA201-T-001）。このタゾバクタムの推定 C_{max} 及び AUC は、日本人 cUTI 及び cIAI 患者に投与したときの C_{max} 及び AUC と比較してそれぞれ約58及び4.0倍であった。

2.6.6.5 がん原性試験

セフトロザン単独及びタゾバクタム併用のがん原性試験は実施していない。ICH S1A「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス」では、がん原性試験が必要となる最短の臨床使用期間は6ヵ月とされている。臨床での投与期間は短期間（14日以内）を想定していること、DEREK 及び Leadscope を用いた in silico 解析で変異原性の警告構造は示されなかったこと、in vivo 遺伝毒性試験で陰性であったこと、並びに、ラット及びイヌを用いた最長28日間の反復投与毒性試験で、臓器及び組織に増殖性の変化は認められていないことから、がん原性試験は不要と判断した。また、セフトロザン及びタゾバクタムが属する医薬品のクラス（セファロスポリン及びβ-ラクタマーゼ阻害薬）では、長期の臨床経験でがん原性を示唆する証拠は示されていない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

セフトロザンの生殖発生毒性試験は ICH M3（R2）「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」及び、ICH S5（R2）「医薬品の生殖発生毒性試験に係るガイドライン」に従って実施した。ラットを用いてセフトロザン及びタゾバクタムに関する受胎能、胚・胎児発生、並びに出生前及び出生後の発生への影響を評価した。ウサギは抗生物質を投与すると、腸内フローラの変化による重度の下痢とその二次的影響として脱水が認められるなど、敏感に反応することが知られているため[資料4.3: 322]、マウスをセフトロザンの胚・胎児発生に関する試験での第2の動物種として用いた。受胎能試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験でのセフトロザンの用量は、既に実施されていた反復投与毒性試験の成績に基づいて設定した[2.6.7.7.1B 項]（TX[redacted]3014）。胚・胎児発生に関する試験でのセフトロザンの用量は、用量設定試験の結果に基づいて設定した。マウスを用いた試験で最高用量とした2,000 mg/kg/日は、セフトロザンの溶解性及びマウスの静脈内への投与可能な容量を考慮した、投与可能な最高用量であった[資料4.3: 323]。ラットを用いた試験で最高用量とした1,000 mg/kg/日は母毒性が検出できる用量として設定した。

タゾバクタムの生殖発生毒性情報は、注射用タゾバクタム／ピペラシリンの米国添付文書及び公表文献より入手した[資料4.3: 324]、[資料4.3: 325]、[資料4.3: 326]。

セフトロザン／タゾバクタムの幼若動物を用いた毒性試験は、用量設定試験及び評価試験ともラットを用いた。これらの試験でラットを用いた理由は、（腎臓での硝子滴について）最も感受性が高い動物種と考えられたためである。薬物動態データ及び幼若動物の用量設定試験の結果から、

C Confidential

評価試験でのセフトロザン／タゾバクタムの最高用量を1,000/500 mg/kg/日と設定し、投与経路は皮下とした。

セフトロザン及びセフトロザン／タゾバクタムを用いた試験の項では、最初のパラグラフに簡潔な要約を記載する。

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

セフトロザン

2.6.6.6.1.1 ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する静脈内投与試験

[2.6.7.12A 項] （CX.101.TX.002） [資料 4.2.3.5.1.1]

本 GLP 試験において、セフトロザンを1,000 mg/kg/日までの用量で雌雄 SD ラットに交配前から交尾まであるいは着床まで1日1回静脈内投与したが、生殖能、受胎能及び子宮内での生存に有害な影響は認められず、無毒性量は最高用量の1,000 mg/kg/日であった。無毒性量での C_{max} は、雌及び雄でそれぞれ約2,174及び2,239 µg/mL、$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ はそれぞれ約1,360及び1,605 µg·hr/mL であった[表 2.6.6-4]。

雌雄 SD ラット（約9～10週齢、25匹/性/群）にセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を0（溶媒：生理食塩液）、100、300及び1,000 mg/kg/日（容量は5 mL/kg）の用量で静脈内投与した。雄には、交配前の28日間及び交配期間を通して安楽死前日までの合計59～60回投与した。雌には、雄との交配前14日間及び妊娠7日までの合計22回～35回投与した。評価項目は、死亡、瀕死状態、一般状態、投与部位の観察、体重、摂餌量、発情周期、交尾率、受胎率、剖検び器官重量とした。雌は妊娠15日に子宮を摘出し、黄体数、胚の数及び位置、早期吸収胚数並びに着床数を記録した。また、生存胚数も記録した。肉眼で着床痕が確認できなかった子宮では、10%硫化アンモニウム溶液に浸染して早期着床胚死亡を検査した。全ての雄で精子形成の評価項目（精巣及び精巣上体の平均精子数並びに精子の形成速度、運動性及び形態）を検討した。

すべての群で、雌雄ともセフトロザンに関連する死亡及び一般状態の変化は認められなかった。300及び1,000 mg/kg/日の反復静脈内投与により、雌雄とも外側尾静脈の投与部位に変化が認められた。また、雄では、対照群と比較して、いずれの用量でも生殖能（交尾率及び受胎率）、精子形成（精巣の及び精巣上体での平均精子数並びに精子の形成速度、運動性及び形態）あるいは器官重量にセフトロザンに関連する影響は認められなかった。また、雄の剖検にもセフトロザンに関連する影響は認められなかった。雌では、対照群と比較して、いずれの用量でも生殖能（交尾率、受胎率、発情周期及び交尾までの日数）にセフトロザンに関連する影響は認められなかった。また、対照群と比較していずれの用量でも器官重量及び子宮内生存率（着床前胚死亡率、着床後胚死亡率、平均生存胚数、平均黄体数及び着床部位）への影響はみられなかった。いずれの用量でも、妊娠15日の剖検でセフトロザンによる影響は認められなかった。

以上、雌雄 SD ラットに1,000 mg/kg/日までの用量で反復静脈内投与したが、雌雄の生殖能、受胎能、及び初期胚発生にセフトロザンによる影響は認められず、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験での無毒性量は最大用量の1,000 mg/kg/日であった。GLP 適用下での TK 試験の成績[表 2.6.6-4]（TX[redacted]3006）より、無毒性量での C_{max} は雌及び雄でそれぞれ約2,174及び2,239 µg/mL、

Confidential

AUC はそれぞれ約1,360及び1,605 μg·hr/mL であった。無毒性量での AUC 及び C_{max} に基づく日本人 cUTI 及び cIAI 患者での曝露量から算出した安全域を[表 2.6.6-17]に示す。

タゾバクタム

雌雄 SD ラットにタゾバクタムを40、160及び640 mg/kg/日で1日2回腹腔内投与した試験で、母動物に毒性（盲腸の隆起／変色、体重及び／又は摂餌量の減少）が認められたが、受胎能及び生殖能に影響は認められなかったことが報告されている[資料4.3: 324]。最高用量の640 mg/kg/日が受胎能に関する無毒性量であった。本試験では TK は評価されていない。無毒性量でのヒト等価用量は104 mg/kg/日（[資料4.3: 317]に記載されたラット体表面積に基づく係数0.162を640 mg/kg/日に乗じて算出）であった。無毒性量でのヒト等価用量に対する cIAI 及び cUTI 患者での安全域は[表 2.6.6-18]に示す。

セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザンの生殖発生毒性試験は ICH M3（R2）「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に従い、セフトロザン／タゾバクタム併用の受胎能及び初期胚発生に関する試験は実施していない。また、セフトロザン及びタゾバクタムの動物での薬物動態及び曝露量は両薬物を併用投与した場合とそれぞれ単独投与した場合を比較して類似していたことから、併用しても曝露量に影響する薬物相互作用はないことが示唆されている[2.6.4.3.1.3 項]。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

セフトロザン

2.6.6.6.2.1 マウスの胚・胎児発生に関する静脈内投与試験

[2.6.7.13A 項] （CX.101.TX.001） [資料 4.2.3.5.2.2]

GLP 適用下で実施した本試験では、ICR マウスの妊娠6～15日にセフトロザンを最高2,000 mg/kg/日（投与可能な最高用量）までの用量で1日1回反復静脈内投与したが母動物及び胚・胎児に毒性変化は認められず、2,000 mg/kg/日での妊娠15日の C_0 及び $AUC_{0-\infty}$ はそれぞれ9,506 μg/mL 及び3,538 μg·hr/mL であった。

妊娠 ICR マウス（約12週齢、各群25～28匹）の妊娠6~15日にセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を0（溶媒：生理食塩液）、300、1,000及び2,000 mg/kg/日の用量で1日1回静脈内投与した（投与容量は10 mL/kg とした）。用量は、非 GLP 用量設定試験で最高用量とした1,000 mg/kg/日まで母動物毒性及び意義のある胚・胎児毒性が認められなかった[2.6.7.11 項]（CXA101-T-005）ことから設定した。2,000 mg/kg/日は、セフトロザンの溶解性及びマウスの静脈内への投与可能な容量（10 mL/kg）を考慮した投与可能な最高用量であった[資料4.3: 323]。妊娠18日に子宮を摘出した。評価項目は、死亡、瀕死状態、一般状態、投与部位の観察、母動物の体重、摂餌量、剖検、子宮重量、子宮の検査（黄体数、胎児の数及び位置、早期及び後期胚吸収数、並びに着床痕数）とした。胎盤も検査した。剖検で着床痕が確認できなかった子宮は、10%

Confidential

硫化アンモニウム溶液に浸染して早期着床胚死亡を検査した。胎児については体重及び性比、並びに外表、内臓、及び骨格の変異及び奇形の詳細な検査を実施した。

母動物に、セフトロザンに関連する死亡は認められなかった。すべての用量群で外側尾静脈の投与部位に変化が認められた。最高用量である2,000 mg/kg/日まで、生殖への影響並びに流産、早産及び胎児吸収は認められなかった。母動物の体重増加量、子宮重量及び摂餌量にセフトロザンの投与による変化は認められなかった。平均黄体数、平均着床数及び着床前胚死亡率にもセフトロザンの投与による変化は認められなかった。子宮内の胎児の発育及び生存に、対照群と比較してすべての群で影響は認められなかった。生存胎児数、死亡胎児数、胎児吸収数、生存同腹児数、着床後胚死亡率は対照群と投薬群で類似していた。1,000 mg/kg/日群の胎児の平均体重（1.29 g）は、対照群の胎児体重（1.35 g）より低かったが、この値は試験施設の背景値の範囲（1.21～1.41 g）内であり、2,000 mg/kg/日群の胎児の平均体重は、対照群（生理食塩液）と類似していた。いずれの用量でも胎児の形態に、セフトロザンに関連する変化は認められなかった。観察されたすべての外表、内臓及び骨格の奇形及び変異は、まれな頻度か、又は対照群と類似の頻度で発現し、用量依存性はなく、試験施設の背景値の範囲内であったことから、原因は自然発生的なものと考えられた。

本試験ではTKを測定していないが、別途GLP適用下で妊娠ICRマウスを用いて同様の条件下でセフトロザンのTK試験を実施している[2.6.5.7.1A 項]（CX.101.TK.002）。300、1,000及び2,000 mg/kg/日群での妊娠6日のC_0はそれぞれ1,240、4,704及び8,494 µg/mLであり、妊娠15日でのC_0はそれぞれ1,672、5,191及び9,506 µg/mLであった。$AUC_{0-\infty}$はそれぞれ307、1,019及び1,899 µg·hr/mLであり、妊娠15日での$AUC_{0-\infty}$はそれぞれ520、1,648及び3,538 µg/mLであった。妊娠6日と15日の間のセフトロザンの全身曝露に明らかな差は認められず、$AUC_{0-\infty}$及びC_0はいずれの群でも2倍以内の差であった。

以上より、妊娠6～15日のICRマウスにセフトロザンを2,000 mg/kg/日（投与可能な最高用量）までの用量で1日1回静脈内投与したが、母動物及び胚・胎児に毒性変化は認められず、催奇形性を示唆する変化も認められなかった。セフトロザンは、生殖発生毒性を発現する物質ではないと考えられた。無毒性量は2,000 mg/kg/日であり、同用量における妊娠15日の$AUC_{0-\infty}$及びC_0は、それぞれ3,538 µg·hr/mL及び9,506 µg/mLと推定された。無毒性量でのAUC及びC_{max}と、日本人cUTI及びcIAI患者での両パラメータを基に算出した安全域を[表 2.6.6-17]に示す。

2.6.6.6.2.2 ラットの胚・胎児発生に関する静脈内投与試験

[2.6.7.13B 項]（CXA101-T-006）[資料 4.2.3.5.2.3]

GLP適用下で実施した本試験では、妊娠6～17日のSDラットにセフトロザンを最高1,000 mg/kg/日の用量で1日1回反復静脈内投与したが、胚・胎児に毒性変化は認められず、及び催奇形性を示唆する変化も認められなかった。1,000 mg/kg/日の投与により母動物毒性として体重増加抑制が認められた。胚・胎児発生に関する無毒性量は1,000 mg/kg/日であり、この用量での妊娠17日のC_0及び$AUC_{0-\infty}$はそれぞれ5,015 µg/mL及び2,013 µg·hr/mLであった。母動物に関する無毒性量は300 mg/kg/日であり、この用量での妊娠17日のC_0及び$AUC_{0-\infty}$はそれぞれ1,759 µg/mL及び

Confidential

678 μg·hr/mL であった。

妊娠 SD ラット（約12週齢、各群23～25匹）の妊娠6～17日にセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を0（媒体：生理食塩液）、100、300及び1,000 mg/kg/日の用量（投与容量は5 mL/kg）で1日1回反復静脈内投与し、妊娠20日に子宮を摘出した。評価項目は上述の CX.101.TX.001試験の項と同様の項目を設定した。

セフトロザンを投与した全例が妊娠20日目の剖検時まで生存した。投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。妊娠12～18日の体重増加量に、対照群（56 g）と比較して1,000 mg/kg/日群（50 g）で統計学的に有意な減少が認められた。その結果、妊娠6～18日の体重増加量も同用量（64 g）で対照群（73 g）と比較して減少が認められた。100及び300 mg/kg/日群ではセフトロザンの投与に関連する体重増加量の変化あるいは母動物毒性を示唆する変化は認められなかった。

子宮重量及び摂餌量には、セフトロザンの投与による変化は認められなかった。また、妊娠20日の剖検で、セフトロザンの投与に関連した母動物での変化も認められなかった。子宮内の胎児の発育及び生存に1,000 mg/kg/日までの用量で影響は認められず、着床後胚死亡率、生存同腹児数、胎児体重、及び性比にも変化は認められなかった。投薬群での黄体数、着床痕数、及び着床前胚死亡率は対照群と類似していた。セフトロザンの投与に関連した外表、内臓及び骨格の変異及び奇形は認められなかった。

本試験では TK を評価していないが、別途 GLP 適用下で妊娠 SD ラットを用いて同様の条件下でセフトロザンの TK 試験を実施している[2.6.5.7.1B 項]（CX.101.TK.001）。100、300及び1,000 mg/kg/日群での妊娠6日での C_0はそれぞれ332、1,062及び3,977 μg/mL であり、妊娠17日での C_0はそれぞれ612、1,759及び5,015 μg/mL であった。同様に、AUC は妊娠6日でそれぞれ169、522及び1,770 μg·hr/mL、妊娠17日でそれぞれ230、678及び2,013 μg·hr/mL であった。

妊娠6日と17日の間のセフトロザンの全身曝露量に明らかな差は認められなかった。

以上より、妊娠6～17日の SD ラットにセフトロザンを1,000 mg/kg/日（最高用量かつ投与可能な最高用量であり、母動物毒性がみられた用量）までの用量で1日1回反復静脈内投与したが、胚・胎児に毒性変化は認められず、催奇形性を示唆する変化も認められなかった。これらの結果からセフトロザンは発生毒性を発現する物質ではないと考えられた。本試験での胚・胎児発生に関する無毒性量は1,000 mg/kg/日であり、この用量での妊娠17日での C_0及び $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ はそれぞれ5,015 μg/mL 及び2,013 μg·hr/mL と推定された。本試験での母動物に関する無毒性量は300 mg/kg/日であり、妊娠17日での C_0及び $AUC_{0\text{-}\infty}$はそれぞれ1,759 μg/mL 及び678 μg·hr/mL と推定された。無毒性量での AUC 及び C_{max} と、日本人 cUTI 及び cIAI 患者での両パラメータを基に算出した安全域を[表 2.6.6-17]に示す。

タゾバクタム

タゾバクタムをラットの妊娠7～17日に125、500及び3,000 mg/kg/日の用量で1日2回静脈内投与した試験で、3,000 mg/kg/日で母動物毒性（体重及び摂餌量の減少）が認められたが、胚・胎児発生への影響及び催奇形性は認められなかったことが報告されている[資料4.3: 325]。本試験では TK

Confidential

は評価されていない。無毒性量でのヒト等価用量は486 mg/kg/日（[資料4.3: 317]に記載されたラット体表面積に基づく係数0.162を3,000 mg/kg/日に乗じて算出）であった。無毒性量のヒト等価用量と cIAI 及び cUTI 患者での投与量を基に算出した安全域を[表 2.6.6-18]に示す。

セフトロザン／タゾバクタム

ICH M3（R2）「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に従い、セフトロザン／タゾバクタム併用の胚・胎児発生に関する試験は実施していない。また、セフトロザン及びタゾバクタムの動物での薬物動態及び曝露量は両薬物を併用投与した場合とそれぞれ単独投与した場合を比較して類似していたことから、併用しても曝露量に影響する薬物相互作用はないことが示唆されている[2.6.4.3.1.3 項]。

2.6.6.6.3 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

セフトロザン

2.6.6.6.3.1 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静脈内投与試験

[2.6.7.14A 項] （CX.101.TX.012） [資料 4.2.3.5.3.1]

GLP 適用下で実施した本試験では、妊娠 SD ラットの妊娠6日～授乳20日にセフトロザンを100、300及び1,000 mg/kg/日の用量で1日1回静脈内投与したが、発生毒性は認められなかった。1,000 mg/kg/日群では母動物の外側尾静脈の投与部位に毒性変化が認められた。母動物へのセフトロザンの投与による F_1出生児の発育、生存、腎臓の病理及び発達、並びに F_2出生児の発育及び生存への影響は認められなかった。300及び1,000 mg/kg/日群の F_1出生児で生後60日に聴覚性驚愕反応への影響が認められ、最大強度及び平均強度は低下し、反応時間は延長していた。母動物に対するすべての毒性を含めた無毒性量及び全身毒性に関する無毒性量はそれぞれ300及び1,000 mg/kg/日であった。F_1出生児の発生及び幼若期の毒性、成熟期の全身毒性、生殖毒性、腎臓（病理所見）及び F_2出生児の発生毒性に関する無毒性量は、最高用量である1,000 mg/kg/日であった。F_1出生児の神経行動に関する無毒性量は100 mg/kg/日であった。

妊娠 SD ラット（約14週齢、各群25匹）にセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を0（溶媒：生理食塩液）、100、300及び1,000 mg/kg/日の用量（投与容量は5 mL/kg）で1日1回静脈内投与した。最高用量（1,000 mg/kg/日）はセフトロザンの溶解性及び投与可能な容量を考慮した投与可能な最高用量であった。母動物への投与は、妊娠6日～授乳20日までの合計36～38回であった。母動物に関する評価項目は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、分娩及び剖検とした。F_1出生児に関する評価項目は、生死、一般状態、体重、性別、同腹児数及び出生後の生存とした。F_1出生児の発達指標、感覚機能及び神経行動の評価のため、亀頭包皮分離、膣開口、自発運動、聴覚性驚愕反応、学習・記憶能力（Biel 型迷路試験）及び腎臓病理（出生後21日）を検討した。F_1出生児の生殖能は、雌雄の交尾率、雌雄受胎率、雌の受胎率及び分娩で評価した。F_2出生児に関しては、生存児数、一般状態、体重、性別、同腹生存児数及び出生後の生存を評価した。

母動物では、死亡は認められず、妊娠期間、分娩及び剖検に変化は認められなかった。

C Confidential

1,000 mg/kg/日群では、母動物に懸念の必要がない摂餌量減少、投与部位局所（尾静脈）に毒性変化（紅斑、浮腫、落屑、白化、皮下出血及び壊死）が認められた。

F_1出生児では、母動物へのセフトロザンの投与による出生後生存率、体重、発達指標、学習・記憶能力、生殖能及び腎臓（病理検査）に影響は認められなかった。母動物にセフトロザンを300及び1,000 mg/kg/日で投与した群では、F_1出生児の聴覚性驚愕反応に影響が認められ、生後60日の最大強度及び平均強度は300 mg/kg/日群の雄（それぞれ25.0%及び28.6%）及び1,000 mg/kg/日群の雄（それぞれ28.0%及び31.1%）で統計学的に有意に減少した。生後60日での反応時間はこれらの群（それぞれ13.6%及び7.2%）で統計学的に有意に延長した。F_1出生児の雌では、生後60日での最大強度及び平均強度は雄と同様の傾向を示し、対照群と比較して、300 mg/kg/日群でそれぞれ18.5%及び19.7%減少し、1,000 mg/kg/日群でそれぞれ21.6%及び23.1%減少したが、統計学的に有意な減少ではなかった。生後20日のF_1出生児では、聴覚性驚愕反応にセフトロザンの投与による影響は認められなかった。生後20日での最大強度、平均強度及び反応時間はセフトロザン群及び対照群を通して雌雄の F_1出生児で類似していた。他の神経行動学的パラメータ（自発運動及びBiel 型水迷路試験）にセフトロザンの影響は認められなかった。驚愕反応の獲得に対する影響が生後60日でのみ認められ、より早期の生後20日（母動物への投与最終日）で認められなかったこと、他の神経行動学的検査に異常が認められなかったことから、本所見の臨床的意義については疑問の余地がある。

母動物にセフトロザンを投与しても、F_2出生児の一般状態、発育及び生存に影響はみられなかった。

以上より、セフトロザンは生殖発生毒性を発現する物質ではないと考えられた。1,000 mg/kg/日群の母動物の投与部位（外側尾静脈）に毒性変化が認められたことから、母動物についての包括的な無毒性量は300 mg/kg/日と考えられた。

投与部位で認められた所見はセフトロザンの静脈内投与による局所的な影響であり、全身毒性ではないと考えられた。したがって、母動物の全身毒性についての無毒性量は1,000 mg/kg/日と考えられた。母動物への300及び1,000 mg/kg/日の投与により、生後60日の F_1出生児の聴覚性驚愕反応に影響が認められた。そのため、F_1出生児の神経行動ついての無毒性量は100 mg/kg/日であった。しかし、生後20日に同所見が認められなかったこと、後述のセフトロザンとタゾバクタムを併用で幼若ラットの生後4～31日に直接皮下投与した試験（CX.101.TX.038）では同様の所見が認められなかったことから、出生前及び出生後の発生に関する試験で認められた驚愕反応の獲得に対する影響の臨床的意義には疑問の余地がある。F_1出生児の発生／幼若期の毒性、生殖毒性及び腎臓（病理所見）、並びに F_2出生児の幼若期の毒性に関する無毒性量は、検討した最高用量まで F_1及び F_2出生児に影響が認められなかったことから1,000 mg/kg/日と考えられた。無毒性量での推定AUC 及び C_{max} と日本人 cUTI 及び cIAI 患者での両パラメータに基づいて算出した安全域を[表2.6.6-17]に示す。

タゾバクタム

タゾバクタムの出生前及び出生後の発生に関する影響については、本薬物の生殖発生毒性試験

Confidential

の一部として報告されている[資料 4.3: 324]、[資料 4.3: 326]。雌性ラットにタゾバクタムの投与を交配前 15 日より開始し、交配期間、妊娠及び授乳期間を通して 1 日 2 回腹腔内投与した結果、640 mg/kg/日群で着床数のごく軽度の減少とこれに伴う生存胎児数のごく軽度の減少、死産児数の増加及び腎臓の発生に回復性のある遅延が認められ、無毒性量は 160 mg/kg/日であった[資料 4.3: 324]。F_1 出生児の生育、発達、交尾行動及び生殖能に影響は認められなかった。ラットの妊娠 17 日から授乳 21 日までタゾバクタムを 40、320 及び 1,280 mg/kg/日の用量で 1 日 2 回腹腔内投与したところ、母動物毒性（全用量群での摂餌量の減少、及び 1,280 mg/kg/日群での体重の減少）が認められた[資料 4.3: 326]。本試験の出生児では、320 mg/kg/日以上の群で授乳期の体重減少及び死産児数の増加、1,280 mg/kg/日群で離乳後早期の体重減少が認められた。本試験の無影響量は 40 mg/kg/日であった。本試験では TK は評価されていない。無影響量でのヒト等価用量は 6.5 mg/kg/日（[資料 4.3: 317]に記載されたラット体表面積に基づく係数 0.162 を 40 mg/kg/日に乗じて算出）であった。両試験成績より、出生前及び出生後の発生に関する無毒性量は 160 mg/kg/日であった。無毒性量でのヒト等価用量に基づく日本人 cIAI 及び cUTI 患者での安全域を[表 2.6.6-18]に示す。

セフトロザン／タゾバクタム

ICH M3（R2）「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に従い、セフトロザン／タゾバクタム併用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は実施していない。また、セフトロザン及びタゾバクタムの動物での薬物動態及び曝露量は両薬物を併用投与した場合とそれぞれ単独投与した場合を比較して類似していたことから、併用しても曝露量に影響する薬物相互作用はないことが示唆されている[2.6.4.3.1.3 項]。

2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験

セフトロザン

セフトロザンを単独投与した幼若動物の毒性試験は実施していない。

タゾバクタム

タゾバクタムを単独投与した幼若動物の毒性試験は実施していない。

セフトロザン／タゾバクタム

2.6.6.6.4.1 幼若ラットの2週間皮下投与用量設定及び TK 試験

[2.6.7.11 項]（CXA.101.TX.033）[資料 4.2.3.5.4.1]

この非 GLP 用量設定試験で、幼若 SD ラットにセフトロザンとタゾバクタムを2 : 1の用量比で生後4日より1日1回14日間皮下投与した結果、1,000/500 mg/kg/日群で一般状態の変化（自発運動の低下、立ち直り反射の消失／障害、運動失調）、肝臓及び腎臓重量の増加、小葉中心性肝細胞肥大並びに腎臓近位尿細管上皮の細胞質空胞化が認められた。加えて、同用量で腎臓に硝子滴（雄

Confidential

のみ)、尿細管好塩基性化及び線維化も認められた。300/150 mg/kg/日群では、肝臓及び腎臓重量の増加、並びにこれらに関連する小葉中心性肝細胞肥大及び腎臓近位尿細管上皮の細胞質空胞化が認められた。50/25 mg/kg/日群では被験物質に関連する変化は認められなかった。本試験での無毒性量は300/150 mg/kg/日であり、同用量での生後17日のセフトロザンとタゾバクタムの $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} はそれぞれ657/145 µg·hr/mL 及び416/184 µg/mL であった。本試験の結果から、GLP 適用下で実施する生後4日のラットを用いた28日間投与毒性試験のセフトロザン／タゾバクタムの用量を0/0、50/25、300/150及び1,000/500 mg/kg/日とした。

雌雄 SD ラット（生後4日、6匹/性/群）にセフトロザン（製造販売用の工程で製造した Lot [redacted]）及びタゾバクタム（Lot [redacted]）を0/0（媒体：生理食塩液)、50/25、300/150及び1,000/500 mg/kg/日の用量（投与容量は10 mL/kg）で1日1回皮下投与した。TK 評価には、別途設定したラット（生後4日、18匹/性/群）を用いた。評価項目は、死亡、一般状態の変化、体重、血液学的検査、血清生化学的検査、生後17日での TK、剖検、器官重量、大腿骨長及び特定の組織での病理組織学的検査とした。

投与に関連した死亡は認められず、体重、大腿骨長、血液学的検査、血清生化学的検査及び剖検にも変化は認められなかった。セフトロザン／タゾバクタム投与に関連した一般状態の毒性変化として、1,000/500 mg/kg/日群で生後12～16日に自発運動の低下、立ち直り反射の消失／障害及び運動失調が認められた。これらの変化は、概ね1日のみ発生した。TK 測定用の1,000/500 mg/kg/日群の雌雄18例中17例で、生後4、5あるいは6日に投与部位に赤色化あるいは紫色化がみられたが、懸念すべき所見ではないと考えられる。

300/150及び1,000/500 mg/kg/日群の肝臓及び腎臓で、絶対重量の用量依存的な増加が認められたが、懸念すべき所見ではないと考えられた。肝臓重量は、対照群と比較すると、300/150 mg/kg/日群で6%～8%高く、1,000/500 mg/kg/日群では11%～17%高かった。左右腎臓の合計重量は、対照群と比較して、300/150 mg/kg/日群で7%～12%高く、1,000/500 mg/kg/日群では21%～24%高かった。肝臓及び腎臓重量の増加と関連する病理組織学的所見が認められた。1,000/500 mg/kg/日の雄5例及び雌1例並びに300/150 mg/kg/日群の雄1例に、軽度の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。これらの動物で認められた肥大の程度では臨床的に意義はないと考えられ、関連する壊死も認められなかった。1,000/500 mg/kg/日群の雌雄で、腎臓に近位尿細管の空胞化及び好塩基性化、並びにごく軽度から軽度の皮質の線維化がみられた。300/150 mg/kg/日群の雌6例中4例でも近位尿細管空胞化が認められたが、懸念すべき所見ではないと考えられた。1,000/500 mg/kg/日群の雄2例で近位尿細管上皮に硝子滴が認められた。尿細管上皮細胞に壊死は認められなかったが、尿細管でみられた好塩基性化は、投与期間中に起こったと考えられる細胞消失後の再生と一致しているものと考えられた。腎皮質の線維化も、投与期間に起こった可能性のある尿細管の損傷を示唆するものである。しかし、これらの毒性所見は、幼若ラットに同じ用量で、より長い期間（生後4～31日)、より多くの動物に投与した GLP 適用下の28日間投与試験で再現されなかった。加えて、後述するこの幼若ラットの評価試験[2.6.7.15A 項]（CX.101.TX.038）の対照群に、同様の腎臓所見（好塩基性化及び線維化）が認められている。50/25、300/150及び1,000/500 mg/kg/日群でのセフトロザ

C Confidential

ンの C_{max} はそれぞれ81.5、416及び1,280 µg/mL、$AUC_{0-\infty}$はそれぞれ124、657及び2,250 µg·hr/mL、タゾバクタムの C_{max} はそれぞれ32.9、184及び644 µg/mL、$AUC_{0-\infty}$はそれぞれ29.7、145及び641 µg·hr/mL であった。セフトロザン及びタゾバクタムの曝露量は概して用量に比例しており、いずれの薬物も性別による差違は認められなかった。

これらの結果から、雌雄幼若 SD ラットの生後4～17日にセフトロザン及びタゾバクタムを皮下投与したときの無毒性量は300/150 mg/kg/日であり、同用量での生後17日のセフトロザン／タゾバクタムの C_{max} 及 $AUC_{0-\infty}$はそれぞれ416/184 µg/mL 及び657/145 µg·hr/mL であった。ラットにセフトロザン及びタゾバクタムを生後4日から28日間投与する評価試験の投与量は0/0、50/25、300/150及び1,000/500 mg/kg/日とした。無毒性量での AUC 及び C_{max} と、日本人 cUTI 及び cIAI 患者での曝露量に基づいて算出した安全域を[表 2.6.6-19]及び[表 2.6.6-20]に示す。

2.6.6.6.4.2 幼若ラットの4週間皮下投与毒性及び TK 試験並びに4週間回復性試験

[2.6.7.15A 項] (CX.101.TX.038) [資料 4.2.3.5.4.2]

本 GLP 評価試験で、幼若 SD ラットの生後4～31日に、セフトロザン／タゾバクタムを2：1の用量比（50/25、300/150及び1,000/500 mg/kg/日）で、1日1回皮下投与した結果、300/150及び1,000/500 mg/kg/日群で一般状態の変化（自発運動の低下及び立ち直り反射の障害）が認められ、1,000/500 mg/kg/日群での所見は毒性と判断した。臨床検査では、1,000/500 mg/kg/日群の雌雄の生後32日に、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少が認められたが、懸念すべき所見ではないと考えられた。病理検査では、1,000/500 mg/kg/日群で小葉中心性肝細胞肥大が認められたが、懸念すべき所見ではないと考えられた。これらの所見は、4週間の休薬後、回復又は回復傾向を示した。1,000/500 mg/kg/日群で一般状態の変化が認められたことから、無毒性量は300/150 mg/kg/日であり、同用量での生後4日の AUC_{last} 及び C_{max} はそれぞれ1,520/426 µg·hr/mL 及び525/257 µg/mL、生後31日の AUC_{last} 及び C_{max} はそれぞれ296/33.0 µg·hr/mL 及び294/59.8 µg/mL であった。

雌雄 SD ラット（各群雌雄各20匹）の生後4～31日に、セフトロザン（製造販売用の工程で製造した Lot [redacted]）及びタゾバクタム（Lot [redacted]）を用量比2：1の0/0（媒体：生理食塩液）、50/25、300/150及び1,000/500 mg/kg/日の用量で1日1回皮下投与し、毒性を評価した。4週間の休薬期間を設定し、対照群及び全投薬群に雌雄各10匹を追加で割り当て、セフトロザンに関連する変化の回復性を検討した。各動物には1日分の投与量を2箇所に半量ずつ投与した。評価項目は、死亡／瀕死状態、一般状態、体重、摂餌量、TK、眼科学的検査、性成熟、聴覚性驚愕反応、機能観察総合評価、自発運動、大腿骨長、血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査とした。

セフトロザン／タゾバクタムの投与に関連した死亡は認められなかった。セフトロザン／タゾバクタムを1,000/500 mg/kg/日までの用量で投与したが、体重、摂餌量、眼科学的検査、性成熟、大腿骨長、聴覚性驚愕反応、機能観察総合評価、自発運動（制限区域内で光照射の有無により測定）、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査及び剖検に影響は認められなかった。

セフトロザン／タゾバクタムに関連した一般状態の毒性変化として、自発運動の低下及び立ち

Confidential

直り反射の障害が1,000/500 mg/kg/日群にのみ認められた。これらの所見は、1,000/500 mg/kg/日群の雄の20例中19例及び雌の20例中全例で認められ、生後13日に始めて観察され、生後31日の最終日まで観察された。各個体での発現期間は、最短で1日間、最長で9日間であった。自発運動の低下及び立ち直り反射の障害は、投与後まもなく同時に発生し、1～2時間で消失した。同所見の発現期間は短かったが、1,000/500 mg/kg/日群のほとんどすべてのラットで平均して5日間に認められ、懸念すべき変化と考えられた。また、自発運動の低下及び立ち直り反射の障害は300/150 mg/kg/日群の雄の20例中7例及び雌の20例中2例にも認められ、生後17、18及び20日の3日間に同所見が認められた雌1例を除いては、いずれも生後17～21日の投与期間中に1日のみで認められた。300/150 mg/kg/日群では、これらの所見の発現頻度は低く、期間も短かったことから、毒性学的な意義はないと考えられた。これらの所見は4週間の休薬後、いずれの群でも認められなかった。

臨床検査では、1,000/500 mg/kg/日群の雌雄の生後32日に、対照群と比較して、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの有意な低下（7%～10%）がみられた。これらの変化はセフトロザン／タゾバクタム投与に関連するものと考えられたが、変化の程度が低く、試験施設の背景値の範囲内であったため、懸念すべき変化ではないと考えられた。4週間の休薬後、これらのパラメータは4群間で同程度となり、統計学的有意差は認められなかった。

病理検査では、1,000/500 mg/kg/日群の雄の10例中4例及び雌の10例中8例に、小葉中心性肝細胞肥大がみられ、細胞質の体積増加及び半透明性の上昇を特徴とし、タゾバクタムとの関連が既に報告されている細胞質変化と形態学的に一致していた。肝臓重量及び血清生化学的検査に変化が認められないことから、これらの変化は適応性の変化で、懸念すべき変化ではないと考えられた[資料4.3: 327]。小葉中心性肝細胞肥大は、休薬期間終了時（生後60日）にも1,000/500 mg/kg/日群の雄の9例中5例及び雌の10例中4例に認められたが、程度は低い傾向にあり、回復途中であることが示唆された。

投与部位への刺激性を示す病理組織学的変化（ごく軽度から中等度の皮下出血及びごく軽度から軽度の各種細胞浸潤）が、生後32日に対照群の雌1例を含むすべての投与群で認められたが、本試験での無毒性量の判定には考慮しなかった。4週間の休薬期間終了時には投与部位の出血は完全に回復し、1,000/500 mg/kg/日群の雌1例のみにごく軽度の各種細胞浸潤が認められた。

生後4日及び31日に測定したセフトロザン／タゾバクタムの AUC_{last} 及び C_{max} は、セフトロザンの50～1000 mg/kg/日の用量間で概して用量に比例しており、いずれの用量でも性差は認められなかった。セフトロザン及びタゾバクタムとも、いずれの投与量及び性でも AUC_{last} 及び C_{max} は生後4日と比較して生後31日で低かった。セフトロザンの生後31日での AUC_{last} 及び C_{max} は、生後4日と比較してそれぞれ5分の1及び2分の1であった。タゾバクタムの生後31日での AUC_{last} 及び C_{max} は、生後4日と比較してそれぞれ9分の1及び15分の1であった。生後4日と比較して生後31日の曝露量が低かったのは、出生から授乳期間又はそれ以降も続く幼若ラットの腎臓の発達によりクリアランスが増加したためと考えられる[資料4.3: 328]。

1,000/500 mg/kg/日群で、一般状態の毒性変化として、自発運動の低下及び立ち直り反射の障害が認められたことから、雌雄幼若 SD ラットの生後4～31日にセフトロザン／タゾバクタムを皮下投与したときの無毒性量は、300/150 mg/kg/日と考えられた。この用量でのセフトロザン／タゾバ

Confidential

クタムの雌雄合算の平均 AUC_{last} 及び C_{max} は、生後4日でそれぞれ1,520/426 µg·hr/mL 及び525/257 µg/mL であり、生後31日ではそれぞれ296/33.0 µg·hr/mL 及び294/59.8 µg/mL であった。無毒性量での AUC 及び C_{max} に基づく日本人 cUTI 及び cIAI 患者での安全域を[表 2.6.6-19]及び[表 2.6.6-20]に示す。

2.6.6.7 局所刺激性試験

セフトロザン単独及びセフトロザンとタゾバクタムとを併用投与する独立した局所刺激性試験は実施しなかった。局所刺激性はセフトロザン単独及びセフトロザンとタゾバクタムとの併用で実施した単回及び反復投与毒性試験の成績で評価した。セフトロザン及びタゾバクタムをげっ歯類に単回又は反復静脈内投与したときに投与部位に変化が認められた。これらの試験には、ラットを用いたセフトロザンとタゾバクタムの併用反復皮下投与毒性試験も含まれる。

セフトロザン

セフトロザンを100～2,000 mg/kg/日の用量（投与液濃度は10～200 mg/mL）でマウス及びラットの尾静脈に1日1回反復投与した結果、投与部位局所に変化（紅斑、浮腫、落屑、皮下出血、血管周囲出血、痂皮、血管周囲線維化、内膜肥厚、炎症性細胞浸潤、及び紫色変色）が認められた。

単回静脈内投与試験では、マウス、ラット及びイヌで最高2,000 mg/kg（投与液濃度は200 mg/mL）の用量まで投与したが、投与部位に変化は認められなかった[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7055）、[2.6.7.5.1 項]（TX[redacted]9019）、（TX[redacted]1007）、（TX[redacted]1008）。

セフトロザン投与に関連する投与部位の変化は、げっ歯類に1日1回反復静脈内投与した場合に限ってみられていた。

マウスに1日1回5日間まで静脈内投与した試験では、変化は認められなかった[2.6.7.17.2 項]（MB[redacted]0034）。妊娠マウスに妊娠6～15日に1日1回静脈内投与した結果、投与部位の変化が用量依存的に認められた[2.6.7.13A 項]（CX.101.TX.001）。投与部位にごく軽度から軽度の紅斑、浮腫、落屑、皮下出血及び痂皮形性がみられ、変化がみられた例数は0（溶媒：生理食塩液）、300、1,000及び2,000 mg/kg/日群でそれぞれ1、6、17及び22例と用量依存的であった（CX.101.TX.001）。それぞれの用量での投与液中セフトロザン濃度はそれぞれ0、30、100及び200 mg/mL であった。

ラットにセフトロザンを100 mg/kg/日までの用量（投与液濃度は20 mg/mL）で1日1回14日間静脈内投与した試験では、投与部位に変化は認められなかった[2.6.7.6.1 項]（TX[redacted]9047）。ラットに1日1回28日間静脈内投与した試験では、1,000 mg/kg/日群（投与液濃度は200 mg/mL）にごく軽度から重度の血管周囲線維化及び内膜肥厚が認められた[2.6.7.6.1 項]（TX[redacted]9055）、（TX[redacted]3014）。4週間の休薬後、投与部位の変化は消失あるいは軽減した[2.6.7.7.1B 項]（TX[redacted]3014）。本試験での投与液中のセフトロザン濃度は20～200 mg/mL であった。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、300及び1,000 mg/kg/日群（投与液濃度はそれぞれ60及び200 mg/mL）で紅斑及び落屑が認められた[2.6.7.12A 項]（CX.101.TX.002）。加えて、1000 mg/kg/日群では浮腫、紫色化及び皮下出血も認められた。投与部位の変化（紅斑、浮腫、落屑、白化、皮下出血及び壊死）は、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1,000 mg/kg/日群にも認められた

C Confidential

[2.6.7.14A 項]（CX.101.TX.012）。同試験で認められたごく軽度から重度の紅斑、ごく軽度から中等度の浮腫、落屑、白化、皮下出血及び壊死は、1,000 mg/kg/日群の母動物でそれぞれ21、9、6、4、8及び4例に認められた。

イヌではセフトロザンを最高1,000 mg/kg/日（投与液濃度は200 mg/mL）の用量まで1日1回28日間反復静脈内投与したが、投与部位に変化は認められなかった[2.6.7.6.1 項]（TX[redacted]9054）、[2.6.7.7.1D 項]（TX[redacted]3013）。

タゾバクタム

雌雄 ICR マウス及び SD ラットにタゾバクタムを5,000 mg/kg（投与液濃度は40%、約400 mg/mL）の用量で単回静脈内投与した試験で、投与後の尾部に壊死及び痂皮／欠落が認められたことが報告されている[資料4.3: 310]。投与14日後の剖検時でも、尾部に痂皮、壊死及び脱毛が認められた。

雌雄 ICR マウス及び SD ラットに5,000 mg/kg のタゾバクタムを単回腹腔内投与した試験では、14日後の剖検で腹膜炎が認められたことが報告されている[資料4.3: 310]。

雌雄 ICR マウス及び SD ラットに5,000 mg/kg のタゾバクタムを単回皮下投与した試験では、投与部位に脱毛及び痂皮が認められた[資料4.3: 310]。投与後14日の剖検では、投与部位に痂皮、脱毛、出血、壊死、浮腫及び赤色の水様性又は緑色の泥状のうっ滞を含む肉芽腫が認められた。

腹腔内及び皮下投与は臨床投与経路と異なるため、これらの投与で認められた投与部位の変化の臨床的意義は低い。

セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザン及びタゾバクタムをラットに1,000/500 mg/kg/日までの用量で1日1回28日間静脈内投与した試験（CXA201-T-001）、又は、イヌに300/150 mg/kg/日までの用量で1日2回14日間静脈内投与した試験（CXA201-T-005）では、投与部位に変化は認められなかった。セフトロザンとタゾバクタムの投与液中濃度は、ラット及びイヌの試験でそれぞれ200/100及び30/15 mg/mL であった。

セフトロザン及びタゾバクタムを幼若 SD ラットの生後4～31日に用量比2：1の50/25、300/150及び1,000/500 mg/kg/日の用量で1日1回皮下投与した試験では、投与部位に皮下出血及び各種細胞浸潤がみられ、その程度及び頻度に用量依存性が認められたが、28日間の休薬後には回復が認められた。これらの所見は懸念すべき毒性ではないと考えられた。本試験での投与液中セフトロザン／タゾバクタム濃度は5/2.5～100/50 mg/mL であった[2.6.7.15A 項]（CX.101.TX.038）。

臨床試験成績からは、セフトロザンとタゾバクタムの併用投与により血栓性静脈炎又は静注に関連し治療下で発現する有害事象が生じる可能性は低いことが示唆されている[2.7.4 項]、[2.5 項]。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

セフトロザン及びタゾバクタムに強い抗原性は認められなかった。セフトロザン及びタゾバク

C Confidential

タムをそれぞれ単独でマウス及びモルモットに感作性増強条件（フロイントアジュバントなど）の非存在下で投与したが抗原性は認められなかった。セフトロザンは、フロイントアジュバントなどの強力な感作性増強物質の存在下では弱い抗原性が認められた。

セフトロザン

セフトロザンは弱い抗原性を示した。

セフトロザンを投与した BDF1マウスに、抗セフトロザン-IgE 産生を誘発する抗原性は認められなかった[2.6.7.17.1 項]（TX[redacted]2007）。雄モルモットを用いた合計9つの非 GLP 試験では、ロットの異なるセフトロザン原薬（Lo[redacted]、[redacted]、[redacted]）、製剤（Lot：[redacted]）及び媒体（$NaHCO_3$又は NaOH で調整した生理食塩液）を、フロイント完全アジュバント又はフロイント不完全アジュバントの存在下又は非存在下で感作させた[2.6.7.17.1 項]（[redacted]48-42）、（TX[redacted]2004）（TX[redacted]2009）、（TX[redacted]2001）、（TX[redacted]2005）、（TX[redacted]2008）、（TX[redacted]2017）、（TX[redacted]2012）、（[redacted]48-24）。フロイントアジュバントの非存在下でセフトロザンを皮下投与したが、抗原性に関連する皮膚反応、能動全身アナフィラキシー反応（ASA、即時型過敏反応）及び受動皮膚アナフィラキシー反応［PCA（IgG 値を含む）、遅延型過敏反応］は認められなかった。強力な感作性増強条件（フロイントアジュバント）の存在下では、セフトロザンの投与により遅延型あるいは即時型過敏反応が認められた。本試験の条件で、陽性対照としたペニシリン G 及びウシ血清アルブミンは抗原性を示した。モルモットで認められる抗原によるアナフィラキシー反応は、ヒトでの反応を予測させるものではないと考えられており[資料4.3: 329]、[資料4.3: 330]、本試験結果は、セフトロザンがヒトで抗原による反応を誘導するリスクは低いことを示している。セフトロザンを投与したヒトで、抗原性を示唆する重篤な有害事象は認められていない[2.5 項]。

タゾバクタム

タゾバクタムは弱い抗原性を有している。BALB/c マウス、C3H/He マウス及びモルモットにタゾバクタムを単独、又はピペラシリンと併用投与した PCA 試験で、アレルギーを示唆する変化は認められなかった[資料4.3: 331]。加えて、モルモットを用いた ASA 試験で、タゾバクタムによるアナフィラキシー反応は認められなかった[資料4.3: 331]。モルモットを用いた PCA 試験では、感作及び惹起抗原としてタンパク質と結合させた場合に、陽性反応が認められた[資料4.3: 331]。

セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザンとタゾバクタムを併用した抗原性試験は、各薬物の免疫原性が低いため実施していない。日本人の cUTI 及び cIAI 患者を対象とした第 III 相試験（それぞれ P014及び P013試験）でも、アナフィラキシー又は過敏反応の有害事象は認められなかった[2.5 項]。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

セフトロザンを単独又はタゾバクタムと併用投与しても、免疫系細胞に一貫した影響は認めら

C Confidential

れず、免疫毒性はないと考えられた。

セフトロザン

マウスを用いたセフトロザンの膝窩リンパ節試験で、免疫毒性は認められなかった[2.6.7.17.2 項]（800524）。BALB/cAnNCrj 雄マウス（約9週齢）の右足蹠に、セフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を0（溶媒：生理食塩液）、1、3、及び10 mg/site（それぞれ0、20、60及び200 mg/mL）で単回皮下投与した。陽性対照は D-ペニシラミンとした。投与後7日に摘出した膝窩リンパ節の重量を測定し、重量インデックス（対照の左側リンパ節に対する右側リンパ節の重量比）及び細胞性インデックス（左側リンパ節中のリンパ球数に対する右側リンパ節中のリンパ球数比）を算出した。右側リンパ節及び左側リンパ節より取り出した細胞懸濁液をプールし、T 細胞及び B 細胞の比率をフローサイトメトリーで測定した。マウスの一般状態及び体重に変化は認められなかった。全ての用量のセフトロザン群で、陰性対照群と比較して重量インデックス及び細胞性インデックスに統計学的な有意差は認められなかった。T 細胞及び B 細胞の比率も陰性対照群と比較してセフトロザンに関連する差違は認められなかった。

陽性対照とした D-ペニシラミン群では、陰性対照群と比較して重量インデックス、細胞性インデックス並びに T 細胞及び B 細胞比率に統計学的な有意差が認められた。

GLP 非適用下で、BDF1マウス又は BALB/c マウスにセフトロザンを0及び300 mg/kg/日の用量で1日1回5日間静脈内投与した。BDF1マウスでは、脾臓の剖検でリンパ濾胞発達が4例に認められた[2.6.7.17.2 項]（MB[redacted]0034）。対照群では1例に脾臓のリンパ濾胞発達が認められた。BALB/c マウスでは、セフトロザン群及び対照群とも脾臓でのリンパ組織の濾胞発達は認められなかった。対照群と比較して軽度ではあるが、統計学的に有意な IgM の増加が BDF1マウスで認められた（BALB/c マウスでは認められなかった）。

ラット及びイヌの28日間反復静脈内投与試験で、免疫系組織にセフトロザンによる一貫した影響は認められなかった。複数の試験を通して、セフトロザンによる循環血中白血球数並びに脾臓及び胸腺重量への一貫した変化も認められなかった。さらに、病理組織学的検査でも、脾臓、胸腺及びリンパ節にセフトロザンによる一貫した変化は認められなかった。雌雄ラットにセフトロザンを100及び300 mg/kg/日の用量で1日1回4週間反復静脈内投与した非 GLP 用量設定試験[2.6.7.6.1 項]（TX[redacted]9067）で脾臓にリンパ濾胞発達が認められたが、これは初期の開発時工程で製造した非 GLP 用量設定試験用のセフトロザン（Lot [redacted]）中のエンドトキシンによる可能性が高いと結論づけられた。この原薬中のエンドトキシン量は測定していないが、その後、原薬を用い、エンドトキシン量の監視／管理下で実施された GLP 適用試験では、セフトロザンを1,000 mg/kg/日の用量まで投与しても同所見は認められなかった。ラットに4週間投与した非 GLP 用量設定試験で、1,000 mg/kg/日群の3例で髄外造血が認められた[2.6.7.6.1 項]（TX[redacted]9055）。しかし、その後実施された GLP 適用試験で再現されなかったことから、同所見はセフトロザンの投与に関連するものではないと考えられた[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]3007）、[2.6.7.7.1B 項]（TX[redacted]3014）。イヌではセフトロザン投与による免疫系への影響は認められなかった[2.6.7.6.1 項]（TX[redacted]9054）、[2.6.7.7.1D 項]（TX[redacted]3013）。

C Confidential

タゾバクタム

タゾバクタムでは、ラット及びイヌに最長6ヵ月間反復投与した試験で、免疫毒性を示唆する変化は認められていないことが報告されている[資料4.3: 314]、[資料4.3: 315]。

セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザンとタゾバクタムを用量比2：1の併用で、ラットに1日1回28日間静脈内反復投与[2.6.7.7.3A 項]（CXA201-T-001）又はイヌに1日2回14日間静脈内反復投与[2.6.7.7.3B 項]（CXA201-T-005）したが、免疫系組織への影響は認められなかった。セフトロザンとタゾバクタムの併用投与による循環血中白血球数、脾臓及び胸腺重量並びに脾臓、リンパ節及び胸腺の病理組織学的検査に変化は認められなかった。

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

セフトロザン単独、タゾバクタム単独及びセフトロザンとタゾバクタムとの併用による毒性発現の機序に関する試験は実施していない。

2.6.6.8.4 依存性試験

In vitro 及び in vivo 試験成績より、セフトロザン、タゾバクタム及びタゾバクタムの主要代謝物（M1）は、身体的依存又は薬物乱用を引き起こす可能性がはほとんどないと考えられた。

In vitro 受容体／酵素スクリーニング試験で、128～130種類の受容体及び酵素に対する結合阻害活性を測定し、セフトロザン、タゾバクタム及びタゾバクタム M1代謝物の副次的薬理作用を検討した。

セフトロザンの試験では、無血清条件下、766 μg/mL の濃度でオピオイド μ（89%）、κ（57%）、及び δ（51%）受容体の結合を50%以上阻害した[2.6.3.3 項]（CX.101.SP.001）。この濃度は、日本人 cUTI 及び cIAI 患者での平均 C_{max} と比較して約11.3倍高かった。薬物乱用に関連することが知られている他の神経伝達物質受容体［γ-アミノ酪酸（GABA）、カンナビノイド（CB）、N-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）及びドパミン受容体など］の結合で、セフトロザンが50%を超える阻害率を示した受容体はなかった。

タゾバクタムの試験では、無血清条件下、448 μg/mL の濃度で検討した結果、薬物乱用に関連することが知られている神経伝達物質受容体（GABA、CB、NMDA 及びドパミン受容体など）の結合で、50%超阻害された受容体はなかった[2.6.3.3 項]（CX.101.SP.002）。タゾバクタムの M1代謝物は30 μg/mL で CB1受容体の結合を57%阻害した[2.6.3.3 項]（CX.101.SP.003）。この濃度は、日本人 cUTI 及び cIAI 患者（タゾバクタム）又は健康被験者（タゾバクタム M1代謝物）での平均 C_{max} と比較して約24及び49倍高かった。

認められた阻害が比較的軽微であった（大半は60%未満）こと、また、これらの阻害が日本人 cUTI 及び cIAI 患者又は健康被験者での平均 C_{max} と比較して11.3～49倍の高い濃度でみられたことから、上述の受容体に対する50%阻害濃度を求めるための追加試験は実施しなかった。セフト

C Confidential

ロザンによる受容体結合の生物学的、薬理学的及び臨床的意義は明らかではない。被験物質の動物での身体的依存性を評価するようにデザインされていないものの、ラット及びイヌを用いたセフトロザン単独又はタゾバクタムとの併用の反復投与毒性試験では、依存性又は退薬症候の明らかな徴候は認められなかった。また、重篤な細菌感染症に対してセフトロザンは短期間（14日以内）の投与が予定されている。加えて、セフトロザンは、長期の臨床経験で薬物乱用との関連が認められていないクラス（セファロスポリン系抗菌薬）に属する薬物であり、ラットではセフトロザンを静脈内投与しても脳への移行はほとんどなく（PH[redacted]0485；CRD[redacted]0182）、作用機序は細菌の細胞壁合成に関する細菌由来酵素阻害のみである。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

セフトロザン

ラットの単回静脈内投与試験で、セフトロザンは代謝を受けにくく、主に未変化体として腎臓より排泄されることが示されている[2.6.5.9.1A 項]（CRD[redacted]0183）、[2.6.5.13.1B 項]（CRD[redacted]0182）。ラットの試験成績は、臨床試験でセフトロザンが代謝を受けにくく主に未変化体として腎臓より排泄されたことと一致していた。臨床で投与薬物に関連する総ての物質の曝露量の10%を超える代謝物は認められなかったことから、ICH M3（R2）ガイダンスに従いセフトロザンの代謝物を用いた毒性試験は実施しなかった。

タゾバクタム

タゾバクタムは、静脈内投与後、β-ラクタム環が開環し、薬理及び抗菌活性を有さない主要代謝物 M1のみ生成される[資料4.3: 201]。タゾバクタムの M1代謝物の安全性情報は注射用タゾバクタム／ピペラシリンの米国添付文書[資料4.3: 319]に記載されている。また、M1代謝物は、安全性薬理試験及びイヌの3週間反復静脈内投与毒性試験で評価され、臨床的に意義がある用量／血漿中濃度で問題がなかったことが注射用タゾバクタム／ピペラシリンの米国新薬承認審査資料に記載されている[資料4.3: 318]。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

セフトロザン及びタゾバクタムの原薬は、いずれも半合成品である。セフトロザン及びタゾバクタムの各原薬及び配合剤に含まれる全ての不純物及び分解物は、ICH M7 「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」ガイドライン、ICH Q3A（R2）「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」及び、ICH Q3B（R2）「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」に従って評価した。各原薬及び製剤とも、重篤な細菌感染症治療のために予定される短期（14日以内）の薬物投与に許容される量を上回る遺伝毒性不純物は存在しない。

セフトロザンに関連する合計9つの分解物／不純物（Peak 1 [不純物A*]、Peak 2a [不純物B*]、Peak 2b [不純物C*]、Peak 2c [不純物D*]、Peak 3 [不純物E*]、Peak 4 [不純物F*]、Peak 5 [不純物G*]、Peak 7 [不純物H*]及び Peak 9 [不純物I*]）の原薬及び製剤中の含有率は0.05%

* 新薬承認情報提供時に置き換え
Confidential

以上であり、最も感受性の高い動物種を用いた反復投与毒性試験、遺伝毒性試験[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7068）、（TX[redacted]7091）、（TX[redacted]7071）、（TX[redacted]7088）、（TX[redacted]7079）、（TX[redacted]7055）及び変異原性の in silico 解析[CX.101.TX.034] の結果に基づいてこれらの安全性を確認した。これらの不純物に関する品質確認計算及び製品出荷規格を[表 2.6.6-13]に示す。

C Confidential

表 2.6.6-13 セフトロザンの原薬又は製品で規格値を 0.05%以上に設定したセフトロザン関連の不純物の反復投与毒性試験成績に基づく安全性確認

Impurity No. (CB Number; RRT value)	Level in Lot Used in Tox Study	QA[a] (mg/kg/day)	HED[b] (mg/kg/day)	Total Daily Intake[c] (mg)	Qualified Impurity Level[d] (%)	Specification (Japan)	
						Drug Substance (area%)	Drug Product Shelf Life (area%)
P1 (不純物A*; RRT [redacted])	[redacted]%[e]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	≤[redacted]%	≤[redacted]%
P2a (不純物B*; RRT [redacted])	[redacted]%[f]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	≤[redacted]%	-
P2b (不純物C*; RRT [redacted])	[redacted]%[f]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	≤[redacted]%	-
P2c (不純物D*; RRT [redacted])	[redacted]%[e]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	≤[redacted]%	≤[redacted]%
P3 (不純物E*; RRT [redacted])	[redacted]%[g]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	≤[redacted]%	-
P4 (不純物F*; RRT [redacted])	[redacted]%[g]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	≤[redacted]%	-
P5 (不純物G*; RRT [redacted])	[redacted]%[g]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	≤[redacted]%	≤[redacted]%
P7 (不純物H*; RRT [redacted])	[redacted]%[e]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	≤[redacted]%	≤[redacted]%
P9 (不純物I*; RRT [redacted])	[redacted]%[e]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	≤[redacted]%	≤[redacted]%

Abbreviations: DP = drug product; DS = drug substance; HED = human-equivalent dose; NA = not applicable; P = peak; QA = qualified amount; RRT = relative retention time.; - = < [redacted] %

[a] QA is based on the NOAEL of 1000 mg/kg/day in both 4-week repeat-dose toxicity studies in rats: Study TX[redacted]3014 and Study CX.101.TX.031. Although mentioned in Report CX.101.TX.036: Ceftolozane/Tazobactam: Qualification of Degradants and Impurities in Drug Substance and Drug Product to Support Release Specifications, Study TX[redacted]3007 and associated NOAEL (highest dose tested: 300 mg/kg/day) were not used for the calculation of qualified cefttolozane impurities.

[b] HED; In accordance with FDA's "Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers" July, 2005). The conversion factor for rat is 0.162.

[c] Total daily intake calculated using an assumed average body weight of 70 kg *(References. Antunovic B, et al, Guidance on selection default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. EFSA Journal.2012;10(3):2579-611 and McDowell MA, et al, Anthropometric reference data for children and adults: United States, 2003-2006. National Health Statistics Reports. 2008 Oct 22;10:1-45.*

[d] Qualified Level: Total daily intake ÷ by 3000 mg x 100 based upon a maximum total clinical daily dose of 3000 mg (1000 mg administered thrice daily).

[e] Impurity qualified in 28-Day rat toxicity study CX.101.TX.031 using forced degraded lot [redacted].

[f] Impurity qualified in 28-Day rat toxicity study CX.101.TX.031 using lot [redacted]

[g] Impurity qualified in 28-Day rat toxicity study TX[redacted]3014 using lot [redacted]

タゾバクタムに関連する不純物としては、安全性確認の閾値を超える不純物が1つ認められた。この不純物（構造的にタゾバクタムの主要代謝物 M1と同じ）は、日本薬局方タゾバクタムで規定されている類縁物質であること[資料4.3: 332]、変異原性の in silico 解析で警告構造が認められなかったこと、臨床でタゾバクタムを静脈内投与した際にタゾバクタム M1代謝物に十分に曝露

C Confidential

されていることから、その安全性は確認されていると考えられた(タゾバクタム原薬及びセフトロザン／タゾバクタム配合剤での規格は[redacted]%以下)。

前述したセフトロザン及びタゾバクタムの不純物規格に関する要約は CX.101.TX.036試験[2.6.7.17.3 項]に詳述した。

セフトロザン原薬製造時のすべての出発物質、溶媒、試薬、構造的に関連する中間体、並びに、セフトロザンの原薬中に存在する構造的に関連する不純物及び構造的に無関係の不純物は適切に管理されていると考えられ、1日あたり3,000 mg のセフトロザンを投与される患者に対する安全性上の懸念はないと考えられる[2.6.7.17.3 項] （CX.101.TX.034)。

セフトロザンの原薬に、重篤な細菌感染症治療のために予定される短期（14日以内）の薬物投与に許容される量を上回る変異原性不純物は存在しない。セフトロザン／タゾバクタム製剤の製造過程で新たな不純物の産生も認められなかった。既知不純物についても、製剤中の不純物の許容限度値（40 ppm）を超える増加はなかった。許容限度値の40 ppm/日（120 µg/日）は、セフトロザンの1日用量（3,000 mg）及び ICH M7「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」ガイドラインより求めた。

タゾバクタムナトリウムの不純物の管理及び監視に関する情報は原薬等登録原簿（MF 登録番号：229MF10179 平成29年9月21日）に記載されている。

不純物の安全性確認のため、強制劣化により不純物の含量を増加させたセフトロザンを用いたラットの反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験の成績を以下に記載する。試験に用いた lot に含まれた P1、P2a、P2b、P2c、P3、P4、P5、P7及び P9不純物の含量を[表 2.6.6-14]に示す。

表 2.6.6-14 安全性確認の試験に用いたセフトロザン原薬中の不純物プロファイル

Peak (CB Number; RRT)	Lot			
	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
P1 (不純物A*; RRT [redacted])	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%
P2a (不純物B*; RRT [redacted])	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%
P2b (不純物C*; RRT [redacted])	[redacted]	[redacted]	<[redacted]%	[redacted]%
P2c (不純物D*; RRT [redacted])[a]	[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]
P3 (不純物E*; RRT [redacted])	[redacted]%	[redacted]%	<[redacted]%	<[redacted]%
P4 (不純物F*; RRT [redacted])	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%
P5 (不純物G*; RRT [redacted])	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%
P7 (不純物H*; RRT [redacted])	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%
P9 (不純物I*; RRT [redacted])	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%

[a] Identified as RRT [redacted] on Certificate of Analysis.
NA = not applicable.
ND = not detected.
RRT = relative retention time

＊ 新薬承認情報提供時に置き換え

Confidential

以下の各試験の概要では、最初の段落に簡略な要約を記載した。

2.6.6.8.6.1 開発時の工程で製造したセフトロザン製剤（Lot [redacted]）を用いた試験

Lot [redacted] は、セフトロザン原薬（Lot [redacted]）1,000 mg あたり[redacted]2,000 mg、塩化ナトリウム[redacted] mg 及びクエン酸20 mg を添加した製剤を70°C、3日間処理して強制劣化させたものである。

一般毒性試験

2.6.6.8.6.1.1 セフトロザン製剤の強制劣化品を用いたラットの4週間静脈内投与試験

[2.6.7.17.3 項] （TX[redacted]3007） [資料 4.2.3.7.6.2]

本 GLP 試験では、強制劣化させたセフトロザンを100及び300 mg/kg/日で雌雄ラットに1日1回、4週間静脈内投与したが、毒性所見は認められなかった。300 mg/kg/日の雄で腎臓近位尿細管に硝子滴が認められた。病理学専門家ワーキンググループの判断[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）に基づき、全身毒性に関する無毒性量は最高用量である300 mg/kg/日と考えられた。

強制劣化させたセフトロザン製剤（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）を0（溶媒：生理食塩液）、100及び300 mg/kg/日で SD ラット（6週齢、10匹/性別/群）に1日1回、4週間静脈内投与し、毒性を評価した。

投与容量は5 mL/kg とし、2 mL/分で尾静脈より注入した。評価項目は、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査とした。

死亡及び毒性を示す一般状態の変化は認められず、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、及び剖検に影響は認められなかった。300 mg/kg/日群の雄2例で腎臓の近位尿細管にごく軽度の硝子滴が認められた。この所見については、腎臓の病理学的な評価を専門とする4名の認定病理学者で構成される独立した病理学専門家ワーキンググループが、セフトロザンを投与した動物で腎臓に変性及び壊死がみられなかったこと、腎機能に関連する臨床検査項目（BUN、クレアチニン、無機リン、尿量）に変化がみられなかったこと、尿中に細胞又は顆粒円柱が観察されなかったことから、毒性学的な意義はないと判断した。

投与部位での変化としては、媒体対照群と比較して100及び300 mg/kg/日群で血管周囲出血、炎症性細胞の浸潤、及び線維化の発現頻度及び程度の上昇が認められた。総コレステロールの有意な増加が、300 mg/kg/日群の雄（対照群の64 ± 7.8 mg/dL に対して79 ± 15.6 mg/dL）でみられた。総コレステロールの増加について、顕著ではないこと及び肝臓の病理組織学的検査で関連する変化が認められなかったことから、毒性学的意義はほとんどないと考えられた。100及び300 mg/kg/日群の雌雄で内容物を含んだ盲腸の絶対及び相対重量の増加が認められたが、毒性学的意義はないと考えられた。

以上より、強制劣化させたセフトロザンを100及び300 mg/kg/日で雌雄ラットに1日1回4週間静脈内投与したが毒性所見は認められなかった。

300 mg/kg/日群の雄で腎臓近位尿細管に硝子滴が認められた。病理学専門家ワーキンググルー

Confidential

プの判断[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）に基づき、全身毒性に関する無毒性量は最高用量である300 mg/kg/日と考えられた。

遺伝毒性試験

非 GLP 用量設定試験[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7068）では、強制劣化させたセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot[redacted]）は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で *S. typhimurium* の TA100、TA98、TA1535、TA1537及び *E. coli* の WP2 uvrA の増殖を1.25～10 µg/mL 以上の濃度で阻害した。

細菌（*S. typhimurium* の TA98、TA100、TA1535、TA1537及び *E. coli* の WP2 uvrA）を用いた GLP 復帰突然変異試験[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7091）において、強制劣化させたセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot[redacted]）は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、TA1535、TA1537及び WP2 uvrA では1.25 µg/plate、TA100及び TA98では5 µg/plate の濃度まで陰性であった。セフトロザンはセファロスポリン系抗菌薬であり、試験に用いた細菌に対して増殖阻害作用を示すため、より高い濃度での試験は実施できなかった。適切な陽性対照物質による処理では、想定通りに用量依存的な変異コロニー数の増加が認められ、代謝活性化系の存在下及び非存在下とも試験系の感受性を確認した。

CHL 細胞を用いた非 GLP 用量設定試験[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7071）で、強制劣化させたセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot[redacted]）による細胞増殖に対する影響を検討した。この用量設定試験の結果に基づき、引き続いて実施した GLP 試験[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7088）での試験濃度を決定した。本 GLP 試験では、強制劣化させたセフトロザンを最大5,000 µg/mL までの濃度で代謝活性化系の存在下及び非存在下で6時間まで処理したが、CHL 細胞の染色体に対する数的及び構造異常の誘導能は認められなかった。加えて、代謝活性化系の非存在下、5,000、1,000及び500 µg/mL でそれぞれ6、24及び48時間処理しても、染色体の数的及び構造異常の増加は認められなかった。

GLP 小核試験[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7079）では、強制劣化させたセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot[redacted]）を1,500 mg/kg までの用量で雌雄 ICR マウスに単回静脈内投与したが、媒体対照群と比較して血液中の小核を有する網状赤血球数の有意な増加は認められなかった。1,500 mg/kg は、強制劣化させたセフトロザンを用いた用量設定試験での最大耐量であった[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7055）。

2.6.6.8.6.2 製造販売用の工程で製造したセフトロザン原薬の強制劣化品（Lot[redacted]）を用いた試験

Lot[redacted]は、Lot[redacted]（製造販売用の工程で製造）を注射用滅菌水に溶解し、不純物含量を増加させるため、水酸化ナトリウムで pH 5.7～5.9に調整後、室温で72時間放置し、凍結乾燥させたものである。

C Confidential

2.6.6.8.6.2.1 セフトロザン原薬の強制劣化品を用いたラットの28日間反復静脈内（緩徐）投与毒性試験及び TK 試験並びに28日間回復性試験

[2.6.7.7.1C 項] [2.6.7.17.3 項] （CX.101.TX.031） [資料 4.2.3.2.6]

本 GLP 試験では、製造販売用の工程で原薬製造後、強制劣化させたセフトロザンを用いて、試験での最高用量かつ投与可能な最高用量の1,000 mg/kg/日までをラットに1日1回4週間反復静脈内投与した結果、毒性所見は認められなかった。無毒性量は1,000 mg/kg/日であった。

本 GLP 試験の目的の1つは、製造販売用の工程で原薬製造後、強制劣化により不純物を増加させたセフトロザンの無毒性量を求めることであった。

約7週齢の SD ラット（各群雌雄各10匹）に、強制劣化させたセフトロザン（Lot [redacted]）を0（媒体：生理食塩液）、100、300、及び1,000 mg/kg/日の用量で1日1回4週間反復静脈内投与した。加えて、対照群及び1,000 mg/kg/日群に、追加で雌雄各5匹を割り当て、4週間の休薬期間後にセフトロザン投与に関連する変化の回復性を検討した。投与容量は5 mL/kg とし、尾静脈に投与した。試験期間中の検査及び観察項目として、死亡、毒性を示す一般状態の変化、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を設定した。

セフトロザンを1,000 mg/kg/日（試験での最高用量）まで投与したが、投与に関連する死亡及び毒性を示す一般状態の変化はなく、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液凝固系検査、血清生化学的検査、尿検査への影響も認められなかった。

セフトロザンの投与に関連する所見として、全投薬群で赤血球数のごく軽度の減少（-1.8%～-6.5%）及びこれに対応した網状赤血球数の増加（4.8%～44.4%）、300及び1,000 mg/kg/日群の雄で腎臓の淡色化、1,000 mg/kg/日群の雌雄で腎臓重量のごく軽度の増加（10.5%～21.9%）がみられ、投与期間終了後の病理組織学的検査では全群の雄で腎臓に硝子滴、1,000 mg/kg/日群の雌で尿細管の細胞空胞化が認められた。これらの腎臓に関連する所見については、病理組織学的検査で壊死及び変性を示唆する変化が認められなかったこと、腎機能と関連する BUN 及びクレアチニンの変化並びに関連する尿の検査項目に変化がみられなかったこと、1,000 mg/kg/日群の休薬期間後の剖検で変化が認められなかったことから、毒性学的な意義はないと考えられた。赤血球系パラメータの変動についても、用量との関連性に一貫性が認められず、いずれの値も試験施設の背景値の範囲内であったことから、毒性学的な意義はないと考えられた。

以上より、製造販売用の工程で原薬製造後、強制劣化させたセフトロザンを用いて、試験での最高用量かつ投与可能な最高用量の1,000 mg/kg/日までをラットに1日1回4週間反復静脈内投与した結果、毒性所見は観察されなかった。無毒性量は1,000 mg/kg/日であった。これらのデータに基づき、Lot [redacted] に含まれる不純物量から安全性確認のレベルを算出した[2.6.7.17.3 項]。

2.6.6.8.6.3 製造販売用の工程で製造したセフトロザン原薬（Lot [redacted]）を用いた試験

製造販売用の工程で製造したセフトロザンで新たな不純物（P2a、不純物B*）が認められた。

* 新薬承認情報提供時に置き換え

C Confidential

この不純物は、開発時の工程で製造したセフトロザン原薬では認められていなかった。この不純物の安全性を評価するため、製造販売用の工程で製造したセフトロザン原薬を用いたラットの4週間反復投与毒性試験を実施した。

2.6.6.8.6.3.1 製造販売用の工程で製造したセフトロザン原薬を用いたラットの4週間静脈内投与毒性及び TK 試験並びに4週間回復性試験

[2.6.7.7.1C 項] [2.6.7.17.3 項] （CX.101.TX.031） [資料 4.2.3.2.6]

本 GLP 試験の詳細は[2.6.6.4 項]に記載した。本試験では、製造販売用の工程で製造したセフトロザン原薬をラットに1日1回4週間反復静脈内投与した結果、試験での最高用量かつ投与可能な最高用量の1,000 mg/kg/日まで毒性所見は認められなかった。

2.6.6.8.6.4 In vitro 遺伝毒性試験で用いた培養条件下での不純物確認試験

（CX.101.AN.001）

In vitro 染色体異常試験及び MLA 試験で用いた条件下で、培養液中のセフトロザン関連の分解物である Peak 2c（不純物D*）及びタゾバクタム M1を定量した（CX.101.AN.001）。培養条件下での Peak 2c（不純物D*）及びタゾバクタム M1の含有比率は、試験薬物に関連する総量のそれぞれ最大11.8%及び31.2%であった。これらの結果から、セフトロザン（TX[redacted]7143）（7689 (148-095)）及びタゾバクタムの染色体異常試験及び MLA 試験の条件下で Peak 2c（不純物D*）及びタゾバクタム M1が産生されていたことが示唆され、これらの遺伝毒性試験で Peak 2c（不純物D*）及びタゾバクタム M1の遺伝毒性が評価されていることが裏付けられている。

2.6.6.8.6.5 セフトロザンの原料及び製造時中間体の生物学的安全性試験

セフトロザン原薬の製造過程で利用される原料及び中間体の細胞毒性及び遺伝毒性を検討するため、4つの非 GLP 試験を実施した[2.6.7.17.3 項]（TX[redacted]7137）、（TX[redacted]7179）、（K[redacted]Z380）、（K[redacted]Z138）。試験した物質には、出発物質及び各種中間体が含まれている。CHL 細胞に対する毒性は、3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide（MTT）を用いた標準的な MTT 試験で評価した。遺伝毒性は *S. typhimurium* を用いた Umu 試験で評価した。細胞毒性の IC_{50}の範囲は32～>5,000 µg/mL であった。試験した全ての出発物質及び中間体は Umu 試験で陰性であった。

2.6.6.8.7 その他の試験

2.6.6.8.7.1 光毒性試験

セフトロザンは波長290～700 nm の光を吸収する。ラットにセフトロザンを最高1,000 mg/kg/日までの用量で1日1回4日間反復静脈内投与した結果、光毒性は認められなかった。タゾバクタムは波長290～700 nm の光を吸収しないため、光毒性はないと考えられた。

＊ 新薬承認情報提供時に置き換え

C Confidential

セフトロザン

2.6.6.8.7.1.1 有色ラットの反復静脈内投与光毒性試験

[2.6.7.17.4 項] （CX.101.TX.013） [資料 4.2.3.7.7.1]

本 GLP 試験でセフトロザン（開発時の工程で製造した Lot [redacted]）の光毒性を評価した。雌性 Long Evans ラット（約10週齢、5匹／群）にセフトロザンを0（媒体：生理食塩液）、100、300及び1,000 mg/kg/日で1日1回4日間反復静脈内投与後、キセノンランプを用いて紫外線を照射した。

体重にセフトロザンの投与に関連する影響は認められなかった。光毒性を示唆する皮膚反応、眼科学的所見、及び眼の病理組織学的変化は認められなかった。雌性 Long Evans ラットを用いた薬物動態試験成績（CXA.101.PK.001）より、高用量での C_0及び $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ は、それぞれ4,970 µg/mL及び1,540 µg·hr/mL であり、日本人 cUTI 及び cIAI 患者での平均 C_{max} 及び AUC と比較してそれぞれ約73及び2.6倍高かった。

陽性対照として投与した8-メトキシソラレン（8-MOP）では、疑似太陽光紫外線に単回曝露したラットで光毒性を示唆する皮膚反応及び眼科学的所見（病理組織病理学的にも確認）が認められたことから、試験は適切に実施された。

タゾバクタム

タゾバクタムは波長290～700 nm の光を吸収しないため、本薬物の光毒性試験は実施しなかった。

セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザンが光毒性を示さなかったこと、タゾバクタムが波長290～700 nm の光を吸収しなかったことから、セフトロザンとタゾバクタムの併用の光毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.7.2 溶血性試験

ヒトの赤血球を用いた in vitro 溶血性試験で、セフトロザンを3,000 µg/mL までの濃度で検討した結果、溶血性は認められなかった。3,000 µg/mL は日本人 cUTI 及び cIAI 患者での平均 C_{max} の約44倍に相当する。セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用による凝集試験は、水性基質中でセフトロザンが高い溶解度（200 mg/mL）を示すことから実施しなかった。

ヒトの赤血球を用いた溶血性試験で、セフトロザンを3,000 µg/mL までの濃度で検討したが、溶血性は認められなかった[2.6.7.17.4 項]（PH[redacted]1574）。2名の健康男性より得た全血を生理食塩液で希釈し、最終濃度300、1,000及び3,000 µg/mL のセフトロザンと37℃で30分間処理した。検討した最高濃度である3,000 µg/mL でも溶血は認められなかった。陽性対照としたアムホテリシン B では顕著な溶血が認められた。別の試験（PDR[redacted]0244）では、セフトロザン原薬、塩化ナトリウム、マルトース、無水クエン酸物、及び水酸化ナトリウムを含む生理食塩液（pH 6.0）を用い、セフトロザンを最大50,000 µg/mL までの濃度で検討したが、ヒトの血液に対する溶血性は認められなかった。

C Confidential

2.6.6.8.7.3 労働者安全性試験

労働者安全性試験として、セフトロザン原薬をウサギの皮膚に単回塗布後、ドレイズの判定基準に従って評価した結果、刺激性は認められなかった[2.6.7.17.4 項]（CX.101.TX.028）。また、労働者安全性試験として、モルモットを用いた感作性試験を実施した結果、セフトロザンは非感作性物質と判定された[2.6.7.17.4 項]（CX.101.TX.027）。ウサギの眼に対するセフトロザン原薬の刺激性は評価していない。セフトロザン原薬は溶解時の pH が低い（2%水溶液で1.92）ことから、眼に対して刺激性を有することが予想される。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 安全域

2.6.6.9.1.1 反復投与毒性試験成績に基づく安全域

ラット及びイヌの反復投与毒性試験の成績に基づいて日本人 cUTI 及び cIAI 患者におけるセフトロザンの安全域を算出すると、AUC では約2.0～6.0倍、C_{max} では約11.3～118倍であった[表 2.6.6-15]。タゾバクタムの cUTI 及び cIAI 患者での安全域は AUC では約0.9～5.7倍、C_{max} では約12.5～18.5倍であった[表 2.6.6-16]。セフトロザンに関連する腎臓への影響及びタゾバクタムに関連する肝臓への影響に関して、イヌよりもラットで感受性が高かった。

Confidential

表 2.6.6-15 反復投与毒性試験成績に基づくセフトロザンの安全域

Study No.	Study Type	Species	NOAEL (mg/kg/day)	AUC (µg•hr/mL)[a]	Cmax (µg/mL)[a]	Safety Margins[b]	
						AUC	Cmax
TX[redacted]3014	28-Day Tox with Ceftolozane[c]	Rat	1,000[de]	1,482[f]	2,206[f]	2.5	32.5
TX[redacted]3013	28-Day Tox with Ceftolozane[c]	Dog	300[dg]	1,211	769	2.0	11.3
CX.101.TX.031	28-Day Tox with Ceftolozane[h]	Rat	1,000[e]	3,560 (M) 1,640 (F)	7,990 (M) 3,080 (F)	6.0 2.8	118 45.4
CXA201-T-001	28-Day Tox with Ceftolozane[c] and Tazobactam	Rat	1,000[de]	1,230	2,307	2.1	34.0
CXA201-T-005	14-Day Tox with Ceftolozane[c] and Tazobactam	Dog	300	1,868[i]	931	3.2	13.7

a AUC and C_{max} values shown represent the average of males and females with the exception of study CX.101.TX.031 [2.6.7.7.1C 項]; [2.6.7.17.3 項]. Values are post 14 or 28 days of dosing.
b Based on clinical ceftolozane AUC and C_{max} values of 591µg•hr/mL and 67.8 µg/mL, respectively, observed in Japanese cUTI and cIAI patients following a ceftolozane/tazobactam dose of 1,000/500mg [資料 5.3.4.2: 04SQ2L] .
c Ceftolozane utilized for this study was manufactured using the clinical development process.
d NOAEL for calculation of safety margins based on conclusion from the Pathology Working Group report (CX.101.TX.032).
e Maximum dose based on optimal dosing volume for rats (5 mL/kg) and maximum solubility of ceftolozane test article (200 mg/mL).
f Value obtained from companion GLP toxicokinetic study TX[redacted]3006 [2.6.5.4.1B 項].
g NOAEL of 300 mg/kg/day based on clinical observations noted at 1000 mg/kg/day.
h Ceftolozane utilized in this study was manufactured using the commercial process.
i Calculated daily exposure based on AUC data following first dose on day 14 (i.e. AUC x 2 = calculated daily dose).
Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration-time curve; cIAI = complicated intra-abdominal infections; Cmax = maximum (peak) plasma drug concentration; cUTI = complicated urinary tract infections; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level.

C Confidential

表 2.6.6-16 反復投与毒性試験成績に基づくタゾバクタムの安全域

Study No.	Study Type	Species	NOAEL (mg/kg/day)	AUC (µg•hr/mL)[a]	Cmax (µg/mL[a])	Safety Margins[b]	
						AUC	Cmax
CXA201-T-001	28-Day Tox with Ceftolozane[c] and Tazobactam	Rat	500[d]	88[e]	229[e]	0.9	12.5
CXA201-T-005	14-Day Tox with Ceftolozane[c] and Tazobactam	Dog	150	550[f]	339[e]	5.7	18.5

a AUC and C_{max} values shown represent the average of males and females. Values are following 14 or 28 days of dosing.
b Based upon tazobactam clinical AUC and C_{max} values of 95.7 µg•hr/mL and 18.3 µg/mL, respectively, observed in Japanese cUTI and cIAI patients following a ceftolozane/tazobactam dose of 1000/500 mg thrice daily [資料 5.3.4.2: 04SQ2L].
c Ceftolozane utilized for this study was manufactured using the development process.
d NOAEL for calculation of safety margins based on conclusion from the Pathology Working Group report (CX.101.TX.032).
e Values shown represent the average of group males and females.
f Values shown represent the average of the individual males and female results.

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration-time curve; cIAI = complicated urinary tract infections; Cmax = maximum (peak) plasma drug concentration; cUTI = complicated urinary tract infections; NOAEL= no-observed-adverse-effect- level.

C Confidential

2.6.6.9.1.2 生殖発生毒性試験成績に基づく安全域

マウス及びラットの生殖発生毒性試験の成績に基づいて日本人 cUTI 及び cIAI 患者におけるセフトロザンの安全域を算出すると、AUC では約0.39～6.0倍、C_{max} では約9.0～140倍であった[表 2.6.6-17]。cIAI 及び cUTI 患者におけるタゾバクタムの安全域は、生殖発生毒性試験の無毒性量でのヒト等価用量に基づいて算出した結果、約1.2～23.1倍であった[表 2.6.6-18]。

C Confidential

表 2.6.6-17 生殖発生毒性試験成績に基づくセフトロザンの安全域

Study No.	Study Type	Species	NOAEL (mg/kg/day)		AUC (µg•hr/mL)	C_0 or Cmax (µg/mL)	Safety Margins[a]	
			Maternal	Reproductive			AUC	Cmax
CX.101.TX.002	Segment I: Fertility and Early Embryonic Development	Rat	1,000[bc]	1,000	1,482[d]	2,206[d]	2.5	32.5
CX.101.TX.001	Segment II:Embryo/Fetal Development	Mouse[e]	2,000[bf]	2,000	3,538[g]	9,506[g]	6.0	140
CXA101-T-006	Segment II: Embryo/Fetal Development	Rat	300[b]	1,000	2,013[h]	5,015[h]	3.4	74.0
CX.101.TX.012	Segment III: Pre-and Post Natal Development with Maternal Function	Rat	1,000[bc]	100[i] 1,000[j]	230[h] 2,013[h]	612[h] 5,015[h]	0.39 3.4	9.0 74.0

a Based on ceftolozane clinical AUC and C_{max} values of 591 µg•hr/mL and 67.8 µg/mL, respectively, observed in Japanese cUTI and cIAI patients following a ceftolozane/tazobactam dose of 1000/500 mg thrice daily [資料 5.3.4.2: 04SQ2L].

b NOAEL for systemic toxicity.

c Maximum dose based on optimal dosing volume for rats (5 mL/kg) and maximum solubility of ceftolozane test article (200 mg/mL).

d Value obtained from companion GLP toxicokinetic study TX[redacted]3006. Value shown represents the average of males and females 28 days postdosing.

e The mouse was chosen as the second species in which to investigate the effects of ceftolozane on embryo-fetal development as rabbits are known to be highly sensitive to antibiotic administration due to changes in gastrointestinal microflora leading to severe diarrhea and secondary effects such as dehydration [資料 4.3: 322].

f Maximum dose based on dosing volume for mice (10 mL/kg) and maximum solubility of ceftolozane test article (200 mg/mL).

g Value obtained from companion GLP toxicokinetic study CX.101.TK.002. Value shown represents the average of males and females 28 days post dosing.

h Value obtained from companion GLP toxicokinetic study CX.101.TK.001.

i NOAEL for F_1 neurobehavioral effects.

j NOAEL for reproductive toxicity.

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration-time curve; cIAI = complicated intra-abdominal infections; Cmax = maximum (peak) plasma drug concentration; cUTI = complicated urinary tract infections; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level.

C Confidential

表 2.6.6-18 生殖発生毒性試験成績に基づくタゾバクタムの安全域

Data Source	Study Type	Species	NOAEL (mg/kg/day)	HED[a] (mg/kg)	Safety Margins[b]
Sato, 1994 (pages 199-214) [資料4.3: 324]	Segment I; Fertility and reproductive performance	Rat	640	104	5.0
Sato 1994 (pages 215-232) [資料4.3: 325]	Segment II: Embryo/Fetal Development	Rat	3,000	486	23.1
Sato 1994 (pages 199-247) [資料4.3: 324], [資料4.3: 326]	Segment III: Pre-and Post Natal Development	Rat	160	26	1.2

a The HED was calculated as NOAEL x 0.162 (allometric scaling for body surface area for rats based on the Guidance document [資料 4.3: 317].

b Safety margins were calculated as HED (mg/kg) divided by calculated tazobactam daily dose of 1,500 mg for assumed 70 kg person (21 mg/kg/day).

Abbreviations: HED = human-equivalent dose; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level.

C Confidential

幼若ラットの毒性試験での無毒性量に基づいて日本人 cUTI 及び cIAI 患者におけるセフトロザンの安全域を算出すると、AUC では約0.50～2.6倍、C_{max} では約4.3～7.7倍であった[表 2.6.6-19]。これらの試験でのタゾバクタムの無毒性量に基づいて日本人 cUTI 及び cIAI 患者における安全域は AUC では約0.34～4.5倍、C_{max} では約3.3～14.0倍であった[表 2.6.6-20]。

表 2.6.6-19 幼若動物試験成績に基づくセフトロザンの安全域

Study Type	Species	NOAEL (mg/kg/day)	AUC (µg•hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	Safety Margins[a]	
					AUC	C_{max}
14-Day Tox with Ceftolozane and Tazobactam (CXA.101.TX.033)	Rat	300[b]	657 (PND17)	416 (PND17)	1.1	6.1
28-Day Tox with Ceftolozane and Tazobactam (CXA.101.TX.038)	Rat	300[c]	1520 (PND4) 296 (PND31)	525 (PND4) 294 (PND31)	2.6 0.50	7.7 4.3

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration-time curve; cIAI = complicated intra-abdominal infections; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; cUTI = complicated urinary tract infections; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; PND = postnatal day.

a Based on ceftolozane clinical AUC and C_{max} values of 591 µg•hr/mL and 67.8 µg/mL, respectively, observed in Japanese cUTI and cIAI patients following a ceftolozane/tazobactam dose of 1,000/500 mg thrice daily [資料 5.3.4.2: 04SQ2L]

b NOAEL of 300 mg/kg/day based on clinical observations and renal histopathologic findings at 1000 mg/kg/day.

c NOAEL of 300 mg/kg/day based on clinical observations at 1,000 mg/kg/day (likely related to C_{max} effect). No adverse effects related to AUC exposure up to the highest dose of 1,000 mg/kg/day. At this dose, the safety margin in Japanese cUTI and cIAI patients based on AUC was 10.4-fold and 1.7-fold on PND4 and PND31, respectively (plasma AUC µg•hr/mLof 6,180 and 1,000 in rats on these days, respectively).

C Confidential

表 2.6.6-20 幼若動物試験成績に基づくタゾバクタムの安全域

Study Type	Species	NOAEL (mg/kg/day)	AUC (µg•hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	Safety Margins[a]	
					AUC	C_{max}
14-Day Tox with Ceftolozane and Tazobactam (CXA.101.TX.033)	Rat	150[b]	145 (PND17)	184 (PND17)	1.5	10.1
28-Day Tox with Ceftolozane and Tazobactam (CXA.101.TX.038)	Rat	150[c]	426 (PND4) 33 (PND31)	257 (PND4) 59.8 (PND31)	4.5 0.34	14.0 3.3

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration-time curve; cIAI = complicated urinary tract infections; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; cUTI = complicated urinary tract infections; NOAEL= no-observed-adverse-effect- level; PND = postnatal day.

a Based upon tazobactam clinical AUC and C_{max} values of 95.7 µg•hr/mL and 18.3 µg/mL, respectively, for ceftolozane/tazobactam at a daily dose of 1,000/500 mg thrice daily observed in Japanese cUTI and cIAI patients [資料5.3.4.2: 04SQ2L].

b NOAEL of 150 mg/kg/day based on clinical observations and renal histopathologic findings at 500 mg/kg/day.

c NOAEL of 150 mg/kg/day based on clinical observations at 500 mg/kg/day(likely related to C_{max} effect). No adverse effects related to AUC exposure up to the highest dose of 500 mg/kg/day. At this dose, the safety margin in Japanese cUTI and cIAI patients based on AUC was 25-fold and 1.6-fold on PND4 and PND31, respectively (plasma AUC µg•hr/mL of 2,360 and 155 in rats on these days, respectively).

セフトロザン及びタゾバクタムの安全域は、以下の理由から、cUTI 及び cIAI 治療のためにセフトロザン／タゾバクタム（1,000 mg/500 mg）を1日3回（1日用量は3,000 mg/1,500 mg）14日間までの静脈内投与を支持する十分な成績と考えられた。

1. GLP 反復投与毒性試験でのセフトロザンの無毒性量は、ラットで1000 mg/kg/日（投与した最高用量であり、この用量での臨床曝露量比は AUC で約2.1～6.0倍、C_{max} で約32.5～118倍）、イヌで300 mg/kg/日（投与した中間用量であり、この用量での臨床曝露量比は AUC で約2.0～3.2倍、C_{max} で約11.3～13.7倍）であったこと
2. セフトロザンに関連する腎臓の所見（硝子滴）は、ごく軽度かつ回復性の変化であり、腎機能に影響はなく、独立した病理学専門家ワーキンググループが毒性学的な意義はないと結論づけたこと
3. セフトロザンに関連する腎臓の所見は、既存のセファロスポリン系抗菌薬でよく特徴づけられていること
4. セフトロザンはセファロスポリン系抗菌薬であり、このクラスの抗菌薬は臨床で40年以上にわたって広く使用されており、安全性、有効性及び抗菌プロファイルはよく特徴づけられていること
5. タゾバクタム（β-ラクタマーゼ阻害薬）は、既に製造販売されている注射用タゾバクタム／ピペラシリンの組成成分の一つであり、作用機序、薬物動態及び安全性プロファイルは動物及びヒトで特徴づけられ、確立していること

C Confidential

6. 細菌による重篤な感染症の治療のための臨床投与期間は14日以下であること

2.6.6.9.2 考察

ラット又はイヌにセフトロザンを1,000 mg/kg/日（試験での最高用量）までの用量で14日間又は28日間反復静脈内投与したが、臨床的に意味のある毒性所見は認められなかった。セフトロザンに関連する主な所見は、病理組織学的検査で認められた腎臓の近位尿細管における硝子滴のみであり、懸念すべき変化ではなく、回復性の変化であった。セフトロザンによる投与部位の変化は、げっ歯類で認められ、イヌではみられなかった。タゾバクタムには、臨床で長期間使用されてきた実績がある。動物で認められたタゾバクタムに関連する所見は、主として肝細胞細胞質におけるグリコーゲンの蓄積であり、懸念すべき変化ではなく、回復性の変化であった。セフトロザンとタゾバクタムを併用投与した毒性試験で、新規の所見又は予測できない毒性は認められなかった。

遺伝毒性試験の証拠（in vivo 試験の陰性結果を含む）の重み付けから、臨床使用において、セフトロザン単独及びタゾバクタムとの併用投与が遺伝毒性のリスクをもたらすことはないと考えられた。また、セフトロザンが生殖発生毒性を発現する可能性及び抗原性を有する可能性は低く、セフトロザンに光毒性、免疫毒性、in vitro でヒトの赤血球に対する溶血性も認められなかった。これまでに集積したセフトロザン及びタゾバクタムの毒性試験成績は、細菌による cUTI 及び cIAI に対する治療として、1日3回（セフトロザンの1回あたりの投与量は1,000 mg、タゾバクタムは500 mg）14日間までの静脈内投与を支持するものである。

セフトロザン単独及びタゾバクタムと併用した際の毒性については、広範な一連の in vitro 及び in vivo の非臨床試験において、被験物質による変化及びその回復性を含む安全性に関する重要な知見を明らかにし、十分に特徴づけた。タゾバクタムは現在製造販売されている注射用タゾバクタム／ピペラシリンの組成成分の一つであり、広範囲にわたる非臨床試験成績及び臨床の安全性データベースが存在することから、考察の項ではセフトロザンを単独又はタゾバクタムと併用投与した試験に注目して記載した。

ラット及びイヌでのセフトロザンの投与に関連する主な所見は腎臓で認められた。ラット及びイヌでの腎臓の所見は病理組織学的検査で認められた近位尿細管の硝子滴のみであり、電子顕微鏡検査によって二次リソソームであることが確認された。ラットでは腎臓重量の増加も併せて認められたが、イヌでは認められなかった。ラット及びイヌとも、投与した最高用量である1,000 mg/kg/日までの用量で腎臓に変性及び壊死は認められず、1,000 mg/kg/日での C_{max} 及び AUC はラットでそれぞれ7,990 µg/mL 及び3,560 µg·hr/mL[2.6.7.7.1C 項]（CX.101.TX.031）、イヌでそれぞれ約2,591 µg/mL 及び約3,909 µg·hr/mL[2.6.7.7.1D 項]（TX[redacted]3013）であった。重要なこととして、ラット及びイヌの腎臓に硝子滴が存在しても、1,000 mg/kg/日の用量まで腎機能に関連する臨床検査項目（BUN、クレアチニン、無機リン、尿量）に毒性学的に意義ある変化は認められず尿中に腎臓毒性を示唆する細胞又は顆粒円柱も観察されなかった。このため、この腎臓の所見は、腎臓の病理学的な評価を専門とする4人の認定病理学者で構成される独立した病理学専門家のワーキンググループによって、毒性学的に意味がある変化ではないと判断された[資料 4.2.3.2.9]

Confidential

（CX.101.TX.032）。

セフトロザンを投与したラットの腎臓でみられた硝子滴の程度はイヌよりもやや高く、また雌と比較して雄で高かった。硝子滴は、イヌと比較してラットではより低い全身曝露量（血漿中 AUC 及び C_{max}）となるセフトロザンの投与量で認められた。また、セフトロザンを300 mg/kg/日で1日1回28日間反復静脈内投与したラットの腎臓では、雄の10例中5例にごく軽度の硝子滴が認められたが、雌（10例）では認められなかった[2.6.6.3 項]（TX[redacted]3014）。

同じ試験で、1,000 mg/kg/日群では、雄で10例中5例にごく軽度、4例に軽度の硝子滴が認められたのに対し、雌では10例中4例にごく軽度の硝子滴が認められたのみであった。イヌでは、腎臓でみられた硝子滴の頻度及び程度に明らかな性差は認められなかった[2.6.6.3 項]（TX[redacted]3013）。

ラット及びイヌの硝子滴の程度は、300 mg/kg/日群ではごく軽度で、1,000 mg/kg/日群ではごく軽度～中等度と上昇し、セフトロザンに関連した所見に緩やかな用量反応性がみられた。イヌにおいて、セフトロザンを静脈内投与した期間を2週間から4週間に延長すると、硝子滴の発現頻度及び程度が上昇したことから、この腎臓の変化は投与期間に依存して増加する可能性がある。ラット及びイヌのいずれにおいても、28日間の休薬後に、硝子滴は回復又は回復傾向を示した。

硝子滴の存在自体に毒性学的な意義はなく、臨床における安全性の重大な懸念でもなく、投与されたセファロスポリン系抗菌薬を処理するための身体の適応性変化と考えられた[資料4.3: 301]、[資料4.3: 333]。この結論の裏付けとして、独立した病理学専門家ワーキンググループが、ラット及びイヌの全ての重要な GLP 毒性試験について腎臓のスライド標本を調査し、セフトロザンを1日1回最大28日間反復静脈内投与したラット及びイヌで腎皮質の近位尿細管上皮細胞に認められたセフトロザン投与に関連した硝子滴に毒性学的な意義はないと結論づけた[資料 4.2.3.2.9]（CX.101.TX.032）。しかし、硝子滴の存在は、より高い細胞濃度では変性性変化を誘導する連続的な変化の一部である[資料4.3: 334]。重要なこととして、セフトロザンによる腎臓での硝子滴形成は、セファロスポリン系又はラクタム系抗菌薬である cephacetrile [資料4.3: 334]、cephalothin [資料4.3: 334]、cephaloridine [資料4.3: 334]、ceftazadime [資料4.3: 335]、cefoperazone [資料4.3: 336]、cefotiam [資料4.3: 311]及び cefulprenam [資料4.3: 337]で知られている変化と一致するものである。

反復投与後に認められたセフトロザンに関連する他の所見として、げっ歯類では盲腸への影響、イヌではヒスタミンを介する影響（嘔吐、耳介及び口腔粘膜の潮紅、流涎、側臥位及び頭部腫脹）が認められた。げっ歯類では、抗菌薬投与後に、盲腸に一部肥大を伴う重量増加がみられることは、以前から報告されている[資料4.3: 301]、[資料4.3: 312]、[資料4.3: 313]。盲腸重量の増加は腸内フローラの変化によるものであり、ヒトに対して毒性学的な意義があるとは考えられていない。イヌで認められた一般状態の変化は、ヒスタミンの放出による所見と一致している[資料4.3: 306]、[資料4.3: 307]、[資料4.3: 308]、[資料4.3: 309]。この結論は、セフトロザンを静脈内投与したイヌで血漿中ヒスタミン濃度が上昇したことにより裏付けられている[2.6.6.3 項]（TX[redacted]9019）、TX[redacted]9054）。これらのヒスタミンの放出による影響は、セファロスポリン系抗菌薬でよく知られているイヌでのクラスエフェクトであり、臨床的な意義は低い[資料4.3: 301]、[資料4.3: 302]、[資料4.3: 303]、[資料4.3: 304]、[資料4.3: 305]、[資料4.3: 311]。

試験間で一貫性はないものの、赤血球系パラメータに変化が認められた。ラットに4週間投与し

Confidential

た非 GLP 用量設定試験の1つで雄にヘマトクリット及びヘモグロビンの用量依存的な減少が認められた。ヘマトクリット及びヘモグロビンの減少は、1,000 mg/kg/日で統計学的に有意であったが[2.6.6.3 項]（TX[redacted]9055）、変化の程度は軽度で、試験施設の背景値の範囲内であった。また、赤血球系パラメータの減少は、幼若ラットを用いた GLP 試験で、最高用量（1,000/500 mg/kg/日）を投与した雌雄動物の生後32日に認められたが、回復性があり懸念すべき変化ではないと判断された[2.6.6.6.4 項]。加えて、イヌに1,000 mg/kg/日を投与した雌1例でも赤血球系パラメータの減少は認められた[2.6.6.3 項]（TX[redacted]3013）。

タゾバクタム投与に関連した動物における主な所見は肝細胞細胞質におけるグリコーゲンの蓄積であり、毒性学的意義は低く、回復性のある変化であった。加えて、肝臓では、細胞質の変化（肝細胞の細胞質内に弱い好酸性の泡沫状又は微細な空胞の蓄積）及びこれと関連する肝臓重量の増加が認められた。アルブミン、グルコース、トリグリセリド及び A/G 比の低下、並びに、グロブリン及びカリウムの増加が認められたが、生物学的意義はなかった[2.6.6.3 項]（CXA201-T-001）。細胞質中の影響を受けた部位は、PAS で染色されるグリコーゲンの蓄積部位と一致した。所見の程度は雌ではごく軽度、雄では軽度から中等度であった。本試験で認められたタゾバクタムに関連する肝臓の変化は、文献で報告されているタゾバクタムの毒性所見と一致する[資料4.3: 314]、[資料4.3: 315]。重要なこととして、ラット及びイヌにおいてセフトロザン及びタゾバクタムを2：1の用量比で併用投与しても、新規の所見又は予測できない毒性は認められなかった。

以上の結果より、試験間を通したセフトロザンの無毒性量はラット及びイヌでそれぞれ1,000及び300 mg/kg/日であった。また、試験間を通したセフトロザン／タゾバクタムの無毒性量はラット及びイヌでそれぞれ1,000/500及び300/150 mg/kg/日であった。

広範囲にわたる in vitro 及び in vivo の遺伝毒性試験並びに変異原性の in silico 解析より得られた証拠の重み付けより、臨床使用において、セフトロザン及びタゾバクタムとの併用投与が、遺伝毒性のリスクをもたらすことはないと考えられた[2.6.6.4 項]。セフトロザンとタゾバクタムを併用投与した in vivo 遺伝毒性試験の結果は陰性であった。セフトロザンとタゾバクタムを併用した in vitro MLA 試験及び in vivo ラット骨髄小核試験の結果も陰性であった。セフトロザンとタゾバクタムの併用による CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験で、構造異常の陽性結果が、細胞毒性を示す高濃度でのみに認められた。

セフトロザンは、細菌を用いた復帰突然変異試験、CHL 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験、in vitro MLA 突然変異試験（セフトロザンを用いた初回試験での陽性結果は、その後に実施した2つの独立した追加試験及びセフトロザン／タゾバクタムを併用した試験において再現されなかった）、突然変異誘発能がないことを確認するための CHO 細胞を用いた in vitro *Hprt* 試験からなる遺伝毒性試験において総合的に陰性であった。加えて、in vivo マウス小核試験、及び in vivo 不定期 DNA 合成試験の結果も陰性であった。

タゾバクタムは、細菌を用いた復帰突然変異試験、CHL 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験、CHO 細胞を用いた *Hprt* 試験、ラットを用いた in vivo 染色体異常試験、in vivo マウス骨髄小核試

C Confidential

験、及び in vitro 不定期 DNA 合成試験でいずれも陰性であった。タゾバクタムは in vitro MLA 試験で、3,000 µg/mL 以上の濃度で陽性であったが、3,000 µg/mL は臨床では到達しない濃度であり、ICH S2（R1）で推奨される最高濃度より高い濃度であった。

セフトロザン単独及びタゾバクタム併用のがん原性試験は実施していない。臨床での投与期間は短期間（14日以内）を想定していること、DEREK 及び Leadscope を用いた in silico 解析で変異原性の警告構造は示されなかったこと、in vivo 遺伝毒性試験で陰性であったこと、並びに、ラット及びイヌを用いた最長28日間の反復投与毒性試験で、臓器及び組織に増殖性の変化は認められていないことから、がん原性試験は不要と判断した。また、セフトロザン及びタゾバクタムが属する医薬品のクラス（セファロスポリン及びβ-ラクタマーゼ阻害薬）では、長期の臨床経験でがん原性を示唆する証拠は示されていない。

セフトロザンは、マウス及びラットにそれぞれ最大2,000 及び1,000 mg/kg/日の用量で反復静脈内投与したが、受胎能、生殖能、及び胚・胎児発生に影響はみられず、催奇形性を示唆する変化も認められなかった[2.6.6.6.1 項]、[2.6.6.6.2 項]。セフトロザンを単独で F_0ラット（母動物）の妊娠期及び授乳期に最大1,000 mg/kg/日の用量で投与した結果、300及び1,000 mg/kg/日で F_1出生児に聴覚性驚愕反応の低下が認められたことを除いて、出生前及び出生後の発生に変化はみられず[2.6.6.6.3 項]、その他の神経行動学的パラメータに変化はなかった。300 mg/kg/日での曝露量は、ヒトに臨床用量である1 g を1日3回投与した際の1日あたりの AUC に相当する。聴覚性驚愕反応への影響は300及び1,000 mg/kg/日群の雄でのみ統計学的に有意にみられ、100 mg/kg/日群では雌雄とも影響は認められなかった。この所見の臨床的意義については疑問の余地がある。聴覚性驚愕反応への影響は、母動物へのセフトロザンの投与終了直後である生後20日では認められず、その約40日後である生後60日でのみ認められた。加えて、生後21～84日の雌雄体重増加量の平均値は対照群と比較して300及び1,000 mg/kg/日群で低く、平均体重は雄では最大3.6%及び5.2%、雌では最大5.2%及び6.3%低かった（CX.101.TX.012）。一般的に、聴覚性驚愕反応に体重への影響が大きく関与することが知られており、体重の不足は聴覚性驚愕反応の評価において被験物質の影響の解釈を困難にする[資料4.3: 338]。出生児への曝露はリスクを理解するために重要であり、生後4～31日にセフトロザン及びタゾバクタムを直接皮下投与した幼若ラットでは、生後25及び50日に検査した聴覚性驚愕反応及び体重に影響は認められなかった（CX.101.TX.038）。重要なこととして、ラットにおける生後4日はヒトでは late preterm の発生時期に相当することから、ヒトの妊娠後期又は新生児期での曝露に関連する明らかなリスクがないことを示唆している。セフトロザンを成熟ラットに689 mg/kg までの用量で単回投与したが、中枢神経機能（聴覚性驚愕反応を含む）への影響は認められず(CXA101-T-002)、ラットの一般毒性試験でも中枢神経系に明らかな影響は認められなかった。これらのデータの全体評価では、セフトロザンを妊娠6日から授乳20日に投与した母動物の雌雄 F_1出生児で認められた聴性性驚愕反応の低下は、ヒトの新生児への曝露に対して潜在的リスクはなく、毒性学的な意義はない可能性がある。

幼若ラットを用いてセフトロザンとタゾバクタムを併用投与した非 GLP14日間投与用量設定

C Confidential

試験及び GLP 適用下の28日間投与評価試験で認められた主な所見は、1,000/500 mg/kg/日群での一般状態の変化（自発運動の低下、立ち直り反射の消失／障害、運動失調）であった。これらの変化は投与直後の短時間で発現し、急速に消失したことから、発達的に発現したものではなく、C_{max} に関連していると考えられた。これらの一般状態の変化は、ラットを用いた機能観察総合評価での所見と一致するものではなく、臨床での C_{max} と比較して高い濃度で認められ、関連する病理組織学的所見もなく、臨床的にモニター可能な回復性の変化である。加えて、非 GLP 用量設定試験（生後4～17日に投与）では、試験の初期に腎尿細管に変性が発現した可能性を示唆する腎臓の毒性所見が認められた。同所見は、皮質の尿細管好塩基性化及び線維化（程度は概してごく軽度又は軽度、頻度は低い限局性の線維化）であった。しかし、これらの毒性所見は、幼若ラットに同じ用量で、より長い投与期間（生後4～31日）、より多くの動物に投与した GLP 適用下の28日間投与評価試験で再現されなかった。さらに、用量設定試験で認められた前述の腎臓所見（皮質の尿細管好塩基性化及び線維化）と同様の所見は、幼若動物を用いた評価試験の対照群でも認められた。ラットにおける生後4日は、ヒトでは late preterm の発生時期に相当する。出生時の腎臓はヒトと比較してラットでは未熟であることから[資料4.3: 328]、幼若動物の生後4～17日（腎臓の発生に重要な時期）に投与した用量設定試験で認められた腎臓の影響は、成熟ラット及びイヌを用いた非臨床試験で腎臓の変性を示唆する変化が認められていないこととの比較において、late preterm の児を除き、ヒトのリスク評価での意義は低い。

投与部位の変化は、セフトロザンを1日1回反復静脈内投与したげっ歯類で認められたが、イヌではみられなかった[2.6.6.7 項]。セフトロザンの投与に関連する紅斑、浮腫、落屑、皮下出血、血管周囲出血、炎症性細胞の浸潤、血管周囲線維化、内膜肥厚、及び痂皮が認められた。これらの投与部位の変化は、100～2,000 mg/kg/日（投与液濃度は10～200 mg/mL）の用量で投与したマウス及びラットで認められ、4週間の休薬後、回復又は回復途中として観察された。イヌではセフトロザンを1,000 mg/kg/日（投与液濃度は200 mg/mL）の用量まで投与しても、投与部位に変化は認められなかった。ラット及びイヌにセファロスポリン系抗菌薬を非経口的に投与した際の局所刺激性は以前より報告されている[資料4.3: 302]、[資料4.3: 339]、[資料4.3: 340]、[資料4.3: 341]。ラット及びイヌにセフトロザンとタゾバクタムを併用で静脈内投与したが、投与部位に変化は認められなかった。しかし、セフトロザンとタゾバクタムを2：1の用量比で50/25、300/150及び1,000/500 mg/kg/日の用量で幼若 SD ラットの生後4～31日に1日1回反復皮下投与した結果、投与部位に皮下出血及び各種細胞浸潤がみられ、その程度及び頻度に用量依存性が認められたが、休薬期間後には回復が認められ、これらの所見は懸念すべき毒性ではないと考えられた。本試験での投与液中セフトロザン／タゾバクタム濃度は5/2.5～100/50 mg/mL であった。臨床試験成績からは、セフトロザンとタゾバクタムの併用投与により血栓性静脈炎又は静注に関連し治療下で発現する有害事象が生じる可能性は低いことが示唆されている[2.7.4 項]、[2.5 項]。

光毒性試験として、ラットにセフトロザンを最高1,000 mg/kg/日までの用量で1日1回4日間反復静脈内投与した結果、光毒性は認められなかった[2.6.6.8.7.1 項]。タゾバクタムは波長290～700 nm の光を吸収しないため、光毒性はないと考えられた[2.6.6.8.7.1 項]。セフトロザンをマウス及びモルモットに感作性増強条件（フロイントアジュバント）の非存在下で投与しても、抗原性は認め

C Confidential

られなかった[2.6.6.8.1 項]。免疫毒性はマウスの膝窩リンパ節試験並びにラット及びイヌの最長28日間の反復静脈内投与毒性試験で評価したが、セフトロザンによる免疫毒性を示唆する変化は認められなかった[2.6.6.8.2 項]。In vitro 及び in vivo の試験成績より、セフトロザンは身体的依存又は薬物乱用を引き起こすことはほとんどないと考えられた[2.6.6.8.4 項]。ヒトの赤血球を用いた in vitro 溶血性試験で、セフトロザンを3,000 µg/mL の濃度まで検討した結果、溶血性は認められなかった[2.6.6.8.7.2 項]。セフトロザン及びタゾバクタムの各原薬及び配合剤に含まれる全ての不純物及び分解物の安全性は評価されている。各原薬及び製剤とも、重篤な細菌感染症治療のために予定される短期（14日以内）の薬物投与に許容される量を上回る遺伝毒性不純物は存在しない。

セフトロザン及びタゾバクタムの安全域は、以下の理由から、cUTI 及び cIAI 治療のためにセフトロザン／タゾバクタム（1,000 mg/500 mg）を1日3回（1日用量は3,000 mg/1,500 mg）14日間までの静脈内投与を支持する十分な成績と考えられた。

1. GLP 反復投与毒性試験でのセフトロザンの無毒性量は、ラットで1000 mg/kg/日（投与した最高用量であり、この用量での臨床曝露量比は AUC で約2.1～6.0倍、C_{max} で約32.5～118倍）、イヌで300 mg/kg/日（投与した中間用量であり、この用量での臨床曝露量比は AUC で約2.0～3.2倍、C_{max} で約11.3～13.7倍）であったこと
2. セフトロザンに関連する腎臓の所見（硝子滴）は、ごく軽度かつ回復性の変化であり、腎機能に影響はなく、独立した病理学専門家ワーキンググループが毒性学的な意義はないと結論づけたこと
3. セフトロザンに関連する腎臓の所見は、既存のセファロスポリン系抗菌薬でよく特徴づけられていること
4. セフトロザンはセファロスポリン系抗菌薬であり、このクラスの抗菌薬は臨床で40年以上にわたって広く使用されており、安全性、有効性及び抗菌プロファイルはよく特徴づけられていること
5. タゾバクタム（β-ラクタマーゼ阻害薬）は、既に製造販売されている注射用タゾバクタム／ピペラシリンの組成成分の一つであり、作用機序、薬物動態及び安全性プロファイルは動物及びヒトで特徴づけられ、確立していること
6. 細菌による重篤な感染症の治療のための臨床投与期間は14日以下であること

結論として、セフトロザン単独及びタゾバクタムと併用投与したときの毒性は、一連の in vitro 及び in vivo の非臨床試験において十分に特徴づけられている。非臨床毒性試験成績より、cUTI 及び cIAI 治療のためにセフトロザン／タゾバクタム（1,000 mg/500 mg）1日3回（1日用量は3,000 mg/1,500 mg）14日間（最長）の静脈内投与が支持された。

C Confidential

2.6.6.10 参考文献

[資料4.3: 201] Halstenson CE, Wong MO, Johnson CA, et al. Pharmacokinetics of tazobactam M1 metabolite after administration of piperacillin/tazobactam in subjects with renal impairment. J Clin Pharmacol. 1994; 34: 1208-17.

[資料4.3: 301] von Eberstein M, Frohberg H, Gembardt C, et al. Short- and long-term toxicological studies on cefazedone. Arzneimittelforschung. 1979; 29: 424-30.

[資料4.3: 302] 渡辺 信夫, 岩波 黄葵, 藤井 登志之. Cefazolin sodium の毒性および胎仔への影響. Chemotherapy. 1970; 18: 528-43.

[資料4.3: 303] Welles JS, Froman RO, Gibson WR, et al. The toxicity, distribution, and excretion of cephalexin in laboratory animals. Int J Clin Pharmacol. 1970; 36-41.

[資料4.3: 304] Moe JB, Piper RC, Tanase H, et al. Preclinical safety studies of cefmetazole. J Antimicrob Chemother. 1989; 23 Suppl D: 125-9.

[資料4.3: 305] 加藤 育雄、西村 清一、上野 元伸、他. 塩酸セフマチレン水和物（S-1090）の毒性試験（第2報） -イヌにおける単回経口投与毒性試験-. J Toxicol Sci. 2001; 26 Suppl 1: 5-12.

[資料4.3: 306] Bochner BS, Lichtenstein LM. Anaphylaxis. N Engl J Med. 1991; 324: 1785-90.

[資料4.3: 307] Ellis AK, Day JH. Diagnosis and management of anaphylaxis. CMAJ. 2003; 169: 307-11.

[資料4.3: 308] Botana LM, Orallo F, Espinosa J, et al. In vivo inhibition of polymyxin B-induced hypotension: evidence of β-adrenergic inhibitory activity on rat mast cells. Gen Pharmac. 1986; 17: 615-8.

[資料4.3: 309] Kaliner M, Sigler R, Summers R, et al. Effects of infused histamine: analysis of the effects of H-1 and H-2 histamine receptor antagonists on cardiovascular and pulmonary responses. J Allergy Clin Immunol. 1981; 68: 365-71.

[資料4.3: 310] 林 泰司、矢田 英昭、穴井 真紀子、他. Tazobactam と Piperacillin の配合剤および Tazobactam の単回投与毒性試験. J Toxicol Sci. 1994; 19 Suppl 2: 145-53.

[資料4.3: 311] 高野 喜一. Cefotiam (SCE-963)の亜急性および慢性毒性試験. Chemotherapy. 1979; 27 Suppl 3: 163-71.

[資料4.3: 312] Butterworth KR, Lake BG, Mason PL, et al. Proceedings: Enlargement of the caecum in the rat. Br J Pharmacol. 1975; 55: 260P.

[資料4.3: 313] Savage DC, Dubos R. Alterations in the mouse cecum and its flora

C Confidential

produced by antibacterial drugs. J Exp Med. 1968; 128: 97-110.

[資料4.3: 314] 林 泰司, 矢田 英昭, Auletta CS, et al. Tazobactam と Piperacillin の配合剤および Tazobactam のラット腹腔内投与による6ヵ月間反復投与毒性試験. J Toxicol Sci. 1994; 19 Suppl 2: 155-76.

[資料4.3: 315] 林 泰司, 矢田 英昭, Blair M, et al. Tazobactam と Piperacillin の配合剤および Tazobactam のイヌ静脈内投与による6ヵ月間反復投与毒性試験. J Toxicol Sci. 1994; 19 Suppl 2: 177-97.

[資料4.3: 316] [redacted].: 7170S 形自動分析装置による血液生化学的検査のバックグラウンドデータ（ラット、イヌ及びサル）.

[資料4.3: 317] U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER): Guidance for Industry -Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical trials for Therapeutics in Adults Healthy Volunteers-.

[資料4.3: 318] U.S. Food and Drug Administration: Review and Evaluation of Pharmacology and Toxicology Data, Division of Anti-Infective Drug Products, HFD-520. NDA 50-684 Tazobactam Sodium/Piperacillin Sodium Injectable (Astat), 1993.

[資料4.3: 319] Zosyn® 米国添付文書 Revised May, 2012.

[資料4.3: 320] 大内田 昭信、谷口 明美、河内 泰英、他. Tazobactam と Piperacillin の配合剤、Tazobactam および Piperacillin の変異原性試験. J Toxicol Sci. 1994; 19 Suppl 2: 263-80.

[資料4.3: 321] Moore MM, Honma M, Clements J, et al. Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay: follow-up meeting of the International Workshop on Genotoxicity Testing-Aberdeen, Scotland, 2003-assay acceptance criteria, positive controls, and data evaluation. Environ Mol Mutagen. 2006; 47: 1-5.

[資料4.3: 322] Irlbeck NA. How to feed the rabbit (Oryctolagus cuniculus) gastrointestinal tract. J Anim Sci. 2001; 79(E. Suppl.): 343-6.

[資料4.3: 323] Diehl KH, Hull R, Morton D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. J Appl Toxicol. 2001; 21: 15-23.

[資料4.3: 324] 佐藤 利和, Lochry EA, Hoberman AM, et al. Tazobactam と Piperacillin の配合剤および Tazobactam の生殖・発生毒性試験（第1報） -ラット腹腔内投与による受胎能および一般生殖能試験-. J Toxicol Sci. 1994; 19 Suppl 2: 199-214.

[資料4.3: 325] 佐藤 利和, Lochry EA, Hoberman AM, et al. Tazobactam と

Confidential

Piperacillin の配合剤および Tazobactam の生殖・発生毒性試験（第2報） -ラット静脈内投与による胎児の器官形成期投与試験-. J Toxicol Sci. 1994; 19 Suppl 2: 215-32.

[資料4.3: 326] 佐藤 利和, Hoberman AM, Christian MS. Tazobactam と Piperacillin の配合剤および Tazobactam の生殖・発生毒性試験（第3報） -ラット腹腔内投与による周産期および授乳期投与試験-. J Toxicol Sci. 1994; 19 Suppl 2: 233-47.

[資料4.3: 327] Hall AP, Elcombe CR, Foster JR et al. Liver hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-adverse) changes - conclusions from the 3rd international ESTP expert workshop. Toxicol Pathol. 2012; 40: 971-94.

[資料4.3: 328] Zoetis T, Hurtt ME. Species comparison of anatomical and functional renal development. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2003; 68: 111-20.

[資料4.3: 329] Nauta A, Knippels L, Garssen J, et al. Animal models of anaphylaxis; Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology. 2007; 7: 355-359.

[資料4.3: 330] Immunotoxicology of Drugs and Chemicals: an Experimental and Clinical Approach - Volume I: Principles and Methods of Immunotoxicology; Chapter 7 Nonclinical evaluation of the potential for hypersensitivity. 2004 (1):219-242.

[資料4.3: 331] 竹本 稔、松尾 弘也、小黒 元春、他. Tazobactam と Piperacillin の配合剤、Tazobactam および Piperacillin の抗原性試験. J Toxicol Sci. 1994; 19 Suppl 2: 249-62.

[資料4.3: 332] 第十七改正日本薬局方 タゾバクタム

[資料4.3: 333] Lewis RW, Billington R, Debryune E, et al. Recognition of adverse and nonadverse effects in toxicity studies. Toxicol Pathol. 2002; 30: 66-74.

[資料4.3: 334] Watanabe M. Drug-induced lysosomal changes and nephrotoxicity in rats. Acta Pathol Jpn. 1978; 28: 867-89.

[資料4.3: 335] 長谷川 隆司、細川 常通、野村 章、他. Ceftazidime の安全性に関する研究 (II): ラットにおける静脈内投与亜急性毒性試験. Chemotherapy. 1983; 31 Suppl 3: 842-63.

[資料4.3: 336] 米田 豊昭、柴田 哲夫、正谷 博之、他. Cefoperazone （T-1551）の毒性試験（第2報） -ラット腹腔内投与亜急性、慢性毒性試験-. Chemotherapy. 1980; 28: 189-219.

[資料4.3: 337] 知本 忠士、早川 和宏、本岡 覚、他. セフルプレナムのラットにおける13週間静脈内投与による反復投与毒性試験. Jpn Pharmacol Ther. 1997; 25(S6): 147-70.

Confidential

[資料4.3: 338] Beck MJ, Padgett EL, Bowman CJ, et al. Nonclinical juvenile toxicity testing (Chapter 8) In: Developmental and reproductive toxicology: A practical approach edited by Ronald D. Hood 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press Taylor & Francis Group, 2006: 263-327.

[資料4.3: 339] Birkhead HA, Briggs GB, Saunders LZ. Toxicology of cefazolin in animals. J Infect Dis. 1973; 128: Suppl: S379-81.

[資料4.3: 340] Wold JS, Welles JS, Owen NV, et al. Toxicologic evaluation of cefamandole nafate in laboratory animals. J Infect Dis. 1978; 137 Suppl: S51-S59.

[資料4.3: 341] 二木 力夫、塩田 尚三、宇佐美 正義、他. Ceftezole の一般毒性および胎仔への影響. Chemotherapy. 1976; 24: 671-702.

C Confidential

CTD 第 2 部
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.7 毒性試験概要表

MSD 株式会社

目次

2.6.7　毒性試験概要表 2
2.6.7.1　毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 20
2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 23
2.6.7.4　毒性試験：被験物質一覧 26
2.6.7.5　単回投与毒性試験 31
2.6.7.5.1　セフトロザン 31
2.6.7.5.2　タゾバクタム 33
2.6.7.5.3　セフトロザン／タゾバクタム 33
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 34
2.6.7.6.1　セフトロザン 34
2.6.7.6.2　タゾバクタム 39
2.6.7.6.3　セフトロザン／タゾバクタム 39
2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験 40
2.6.7.7.1　セフトロザン 40
2.6.7.7.2　タゾバクタム 59
2.6.7.7.3　セフトロザン／タゾバクタム 60
2.6.7.8　In Vitro 遺伝毒性試験 68
2.6.7.9　In Vivo 遺伝毒性試験 95
2.6.7.10　がん原性試験 102
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 103
2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 106
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 110
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 118
2.6.7.15　生殖発生毒性試験：幼若動物を用いた試験 124
2.6.7.16　局所刺激性試験 129
2.6.7.17　その他の毒性試験 130

Confidential

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Single-Dose Toxicity							
Single-dose	Rat (Sprague Dawley)	IV	Once	1000, 2000 mg/kg (non-lethal doses)	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.1.1] TX[redacted]1008 評価資料
Single-dose	Dog (Beagle)	IV	Once	100, 300, 1000 mg/kg (non-lethal doses)	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.1.2] TX[redacted]9019 参考資料
Single-dose	Dog (Beagle)	IV	Once	500, 2000 mg/kg (non-lethal doses)	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.1.3] TX[redacted]1007 評価資料
Repeat-Dose Toxicity							
Repeat-dose (non-pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	IV	Daily for 2 weeks	0, 20, 50, 100 mg/kg/day	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.2.1] TX[redacted]9047 参考資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Repeat-Dose Toxicity (continued)							
Repeat-dose (non-pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	IV	Daily for 4 weeks	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day[b]	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.2.2] TX[redacted]9055 参考資料
Repeat-dose (non-pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	IV	Daily for 4 weeks	0, 100[c], 300 mg/kg/day	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.2.3] TX[redacted]9067 参考資料
Repeat-dose (pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	IV	Daily for 4 weeks with a 4-week recovery period.	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day[b]	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.2.4] TX[redacted]3014 評価資料
Repeat-dose (pivotal TK; not dedicated to define a NOAEL)	Rat (Sprague Dawley)	IV	Daily for 4 weeks	100, 300, 1000 mg/kg/day	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.2.5] TX[redacted]3006 評価資料
Repeat-dose (pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	IV	Daily for 4 weeks	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.2.6] CX.101.TX.031 評価資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Repeat-Dose Toxicity (continued)							
Repeat-dose (non-pivotal)	Dog (Beagle)	IV	Daily for 2 weeks	100, 300, 1000 mg/kg/day	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.2.7] TX[redacted]9054 参考資料
Repeat-dose (pivotal)	Dog (Beagle)	IV	Daily for 4 weeks with a 4-week recovery period.	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day[b]	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.2.8] TX[redacted]3013 評価資料
Repeat-dose (non-pivotal)	NA	NA	NA	NA	Non-GLP	[redacted]	[資料4.2.3.2.9] CX.101.TX.032 参考資料
Genotoxicity							
Bacterial growth inhibition	In vitro; *S. typhimurium* TA100, TA98, TA1535, TA1537 and *E. coli* WP2 *uvrA*	In vitro	48 h	With and without metabolic activation: 0.0206, 0.0617, 0.185, 0.556, 1.67, 5, 10 µg/plate	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.3.1.1] TX[redacted]7122 参考資料
Bacterial reverse mutation (pivotal)	In vitro; *Salmonella typhimurium* TA100, TA98, TA1535, TA1537 and *E. coli* WP2 *uvrA*	In vitro	48 h	With and without metabolic activation: 0.0391, 0.0781, 0.156, 0.313, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 µg/plate	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.3.1.2] TX[redacted]7148 評価資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Genotoxicity (continued)							
Mammalian cell gene mutation (screening)	In vitro; mouse lymphoma L5178Y $tk^{+/-}$ cells	In vitro	3 or 24 h	78.1 to 5000 µg/mL	Non-GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.3.1.3] TX[redacted]7166 参考資料
Mammalian cell gene Mutation 1 (pivotal)	In vitro; mouse lymphoma L5178Y $tk^{+/-}$ cells	In vitro	3 or 24 h	328 to 5000 µg/mL	GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.3.1.4] 7689(148-095) 評価資料
Mammalian cell gene Mutation 2 (pivotal)	In vitro; mouse lymphoma L5178Y $tk^{+/-}$ cells	In vitro	3 or 24 h	10 to 500 µg/mL	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.3.1.5] (2 independent studies conducted and reported under 15-9036) 評価資料
Mammalian cell gene Mutation 3 (pivotal)	In vitro; mouse lymphoma L5178Y $tk^{+/-}$ cells	In vitro	3 or 24 h	20 to 500 µg/mL	GLP	[redacted], USA	
Mammalian cell chromosomal aberration (screening)	In vitro; Chinese hamster lung fibroblasts	In vitro	6, 24, or 48 h	625 to 5000 µg/mL	Non-GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.3.1.6] TX[redacted]7169 参考資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Genotoxicity (Continued)							
Mammalian cell chromosomal aberration (pivotal)	In vitro; Chinese hamster lung fibroblasts	In vitro	6, 24, or 48 h	125 to 5000 µg/mL	GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.3.1.7] TX[redacted]7143 評価資料
Cytotoxicity assay in CHO cells (screening)	In vitro, Chinese hamster ovary cells	In vitro	3 to 3.3 h ± S9	0.977 to 500 µg/mL	Non-GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.3.1.8] 15-9028 参考資料
Mammalian cell hprt gene mutation assay/CHO assay (pivotal)	In vitro, Chinese hamster ovary cells	In vitro	3 to 3.3 h ± S9	0, 31.3, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL with and without S9	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.3.1.9] 16-9019 評価資料
Micronucleus (screening)	Mouse (ICR)	IV	Single dose; harvest at 48 or 72 h	0, 1000, 2000 mg/kg	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.3.2.1] TX[redacted]7179 参考資料
Micronucleus (pivotal)	Mouse (ICR)	IV	Single dose; harvest at 48 or 72 h	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.3.2.2] TX[redacted]7139 評価資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Genotoxicity (Continued)							
UDS (screening)	In vivo; rat (Sprague Dawley) In vitro; primary rat hepatocytes	IV	Single dose; harvest at 2 or 16 h	0, 2000 mg/kg	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.3.2.3] TX[redacted]7180 参考資料
UDS (pivotal)	In vivo; rat (Sprague Dawley) In vitro; primary rat hepatocytes	IV	Single dose; harvest at 2 or 16 h	0, 1000, 2000 mg/kg	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.3.2.4] 7690(148-096) 評価資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Reproductive and Developmental Toxicity							
Fertility and early embryonic development (pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	IV	M:Daily for 59 to 60 days F: Daily for 22 to 35 days	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.5.1.1] CX.101.TX.002 評価資料
Embryo-fetal (dose range finding; not dedicated to define a NOAEL)	Mouse (ICR)	IV	Daily from GD6 to GD15	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.5.2.1] CXA101-T-005 参考資料
Embryo-fetal (pivotal)	Mouse (ICR)	IV	Daily from GD6 to GD15	0, 300, 1000, 2000 mg/kg/day	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.5.2.2] CX.101.TX.001 評価資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Reproductive and Developmental Toxicity (continued)							
Embryo-fetal (pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	IV	Daily from GD6 to GD17	0, 100, 300 (maternal toxicity), 1000 (reproductive toxicity) mg/kg/day	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.5.2.3] CXA101-T-006 評価資料
Pre- and postnatal development (pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	IV	F: Daily from GD6 to lactation day 20	0, 100 (neurobehavioral effects), 300 (overall maternal toxicity), 1000 (systemic maternal toxicity and embryofetal toxicity) mg/kg/day	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.5.3.1] CX.101.TX.012 評価資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Other Toxicity Studies							
Antigenicity	Mouse (BDF1)	IP; First sensitization (with first administration); second sensitization (ie, 2nd dose administration) on Day 21	2 times at Day 0 and Day 21	10, 100 µg/animal ceftolozane + alum[d]	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.1.1] TX[redacted]2007 参考資料
Antigenicity	Guinea pig (Hartley)	Sensitizing: SC Elicitation: various[e]	3 times at 2 week intervals	0, 10 mg/kg	Non-GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.7.1.2] [redacted]48-42 参考資料
Antigenicity	Guinea pig (Hartley)	Sensitizing: SC Elicitation: various[e]	Once/week for 4 weeks	0, 10 mg/kg	Non-GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.7.1.3] TX[redacted]2004 参考資料
Antigenicity	Guinea pig (Hartley)	Sensitizing: SC Elicitation: various[e]	3 times at 2 week intervals	0, 10 mg/kg	Non-GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.7.1.4] TX[redacted]2009 参考資料
Antigenicity	Guinea pig (Hartley)	Sensitizing: SC Elicitation: various[e]	Once/week for 4 weeks	0, 10 mg/kg	Non-GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.7.1.5] TX[redacted]2001 参考資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Other Toxicity Studies (Continued)							
Antigenicity	Guinea pig (Hartley)	Sensitizing: SC Elicitation: various[e]	Once/week for 4 weeks	0, 10 mg/kg	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.1.6] TX[redacted]2005 参考資料
Antigenicity	Guinea pig (Hartley)	Sensitizing: SC Elicitation: various[e]	Once/week for 4 weeks	0, 10 mg/kg	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.1.7] TX[redacted]2008 参考資料
Antigenicity	Guinea pig (Hartley)	Sensitizing: SC Elicitation: various[e]	Once/week for 4 weeks	0, 10 mg/kg	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.1.8] TX[redacted]2017 参考資料
Antigenicity	Guinea pig (Hartley)	Sensitizing: SC Elicitation: various[e]	Once/week for 4 weeks	0, 10 mg/kg	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.1.9] TX[redacted]2012 参考資料
Antigenicity	Guinea pig (Hartley)	Sensitizing: SC Elicitation: various[e]	3 times at 2 week intervals	0, 10 mg/kg	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.1.10] [redacted]48-24 参考資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Other Toxicity Studies (continued)							
Immunotoxicity	Mouse (BALB/cAnN Crj, SPF)	SC into either left (controls) or right (treatments) foot pad	Once	0, 20, 60, 200 mg/mL and D-penicillamine	Non-GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.7.2.1] 800524 参考資料
Immunotoxicity: Repeat dose serum IgM/spleen pathology	Mouse (BALB/c and BDF1)	IV	Once daily for 5 days	0, 300 mg/kg/day	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.2.2] MB[redacted]0034 参考資料
Impurity qualification: Degradants/impurities in drug substance and drug product	NA	NA	NA	NA	Non-GLP	Cubist Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA, USA	[資料4.2.3.7.6.1] CX.101.TX.036 参考資料
Impurity qualification: General toxicity	Rat (Sprague Dawley)	IV	Daily for 4 weeks	0, 100, 300 mg/kg/day (forced degraded)	GLP	[redacted] Japan	[資料4.2.3.7.6.2] TX[redacted]3007 評価資料
Impurity qualification: General toxicity	Rat (Sprague Dawley)	IV	Daily for 4 weeks	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day (forced degraded)	GLP	[redacted], USA	[資料4.2.3.2.6] CX.101.TX.031 評価資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Other Toxicity Studies (continued)							
Impurity qualification: Mutagenicity analysis using DEREK and Leadscope	NA	NA	NA	NA	Non-GLP	Cubist Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA, USA	[資料4.2.3.7.6.3] CX.101.TX.034 参考資料
Impurity qualification: Microbial growth inhibition (screening)	In vitro; *S. typhimurium* TA100, TA98, TA1535, TA1537 and *E. coli* WP2 *uvrA*	In vitro	48 h	With and without metabolic activation: 0, 0.156, 0.313, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 µg/plate (forced degraded)	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.6.4] TX[redacted]7068 参考資料
Impurity qualification: Bacterial mutagenicity	In vitro; *S. typhimurium* TA100, TA98, TA1535, TA1537 and *E. coli* WP2 *uvrA*	In vitro	48 h	With and without metabolic activation: 0, 0.0781, 0.156, 0.313, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 µg/plate (forced degraded)	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.6.5] TX[redacted]7091 評価資料
Impurity qualification: Mammalian cell growth inhibition (screening)	In vitro; Chinese hamster lung fibroblasts	In vitro	6, 24, or 48 h	0, 156 to 5000 µg/mL (forced degraded)	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.6.6] TX[redacted]7071 参考資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Other Toxicity Studies (continued)							
Impurity qualification: Chromosome aberration test	In vitro; Chinese hamster lung fibroblasts	In vitro	6, 24, or 48 h	0, 125 to 5000 µg/mL (forced degraded)	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.6.7] TX[redacted]7088 評価資料
Single dose (dose selection study for impurity qualification mouse micronucleus study TX[redacted]7079)	Mouse (ICR)	IV	Single dose	500, 1000, 1500, 2000 mg/kg (forced degraded)	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.6.8] TX[redacted]7055 参考資料
Impurity qualification: Micronucleus test	Mouse (ICR)	IV	Single dose; harvest at 48 or 72 h	0, 375, 750, 1500 mg/kg (forced degraded)	GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.6.9] TX[redacted]7079 評価資料
Biological safety of raw materials and intermediates	In vitro; Chinese Hamster Lung Cells and *S. typhimurium* (TA1535/ pSK1002)	In vitro	24 hours for MTT (cytotoxicity) assay; 2 hours for Salmonella (genotoxicity) assay	0.195 to 2500 µg/mL for MTT assay; 6.86 to 5000 µg/mL for Salmonella assay (Starting materials and intermediates of ceftolozane)	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.7.3] TX[redacted]7137 参考資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Other Toxicity Studies (continued)							
Biological safety of raw materials and intermediates	In vitro; Chinese Hamster Lung Cells and *S. typhimurium* (TA1535/ pSK1002)	In vitro	24 hours for MTT assay; 2 hours for Salmonell aassay	0.195 to 2500 µg/mL for MTT assay; 6.86 to 5000 µg/mL for Salmonella assay (Staring materials and intermediates of ceftolozane)	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.7.4] TX[redacted]7179 参考資料
Biological safety of raw materials and intermediates	In vitro; Chinese Hamster Lung Cells and *S. typhimurium* (TA1535/ pSK1002)	In vitro	24 hours for MTT assay; 2 hours for Salmonella assay	1.22 to 5000 µg/mL for MTT assay; 6.86 to 5000 µg/mL for Salmonella assay (Ceftolozane and 3 intermediates)	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.7.5] K[redacted]Z380 参考資料
Biological safety of raw materials and intermediates	In vitro; Chinese Hamster Lung Cells and *S. typhimurium* (TA1535/ pSK1002)	In vitro	24 hours for MTT assay; 2 hours for Salmonella assay	0.08 to 625 µg/mL for MTT assay; 6.86 to 185 µg/mL for Salmonella assay (2 intermediates of ceftolozane)	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.7.6] K[redacted]Z138 参考資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Other Toxicity Studies (continued)							
Phototoxicity	Rat (Long Evans)	IV	Once daily for 4 days	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.7.7.1] CX.101.TX.013 評価資料
Hemolysis	In vitro; human whole blood	In vitro	30 minutes	5, 10, 20, 30, 50 mg/mL	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.3.7.7.2] PDR[redacted]0244 参考資料
Hemolysis	In vitro; human whole blood	In vitro	30 minutes	0.3, 1, 3 mg/mL	Non-GLP	[redacted], Japan	[資料4.2.1.3.7] PH[redacted]1574 参考資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Other Toxicity Studies (continued)							
Worker safety; skin sensitization	Guinea pig (Hartley)	Dermal	6 hours exposure once/week for 3 weeks	0, 400 mg at 100% (w/v)	GLP	[redacted], USA	[資料4.2.3.7.7.7] CX.101.TX.027 参考資料
Worker safety; dermal irritation	Rabbit (New Zealand White Hra:(NZW) SPF	Dermal	3 minutes to 4 hours	500 mg	GLP	[redacted], USA	[資料4.2.3.7.7.8] CX.101.TX.028 参考資料

a NOAELs are underscored for repeat-dose toxicity, pivotal reproductive and developmental toxicity, juvenile toxicity, and phototoxicity studies.
b The NOAEL was based on the conclusions of Pathology Working Group Review Report (CX.101.TX.032).
c Follicular lymphoid development was detected microscopically in the spleen of one female and two males in the 100 mg/kg/day group as well as five females and four males in the 300 mg/kg/day dose group; based on this, the NOAEL was identified as <100 mg/kg/day in the study report. However, since similar effects were not observed in the subsequent GLP rat studies with higher doses of ceftolozane (up to 1000 mg/kg/day), alone or in combination with tazobactam, for 4 weeks in which endotoxin levels were monitored/controlled, the lymphoid findings in the present study were considered most likely the result of endotoxins.
d Four different preparations of ceftolozane were administered with alum at each concentration, i.e.: (1) Lot No. [redacted] (repurified sample of P1 substance), (2) Lot No. [redacted] (synthesized by penicillin synthetic route), (3) Lot No. [redacted] (synthesized by 7-ACA method), (4) Lot No. [redacted] [drug product: Wincef for drip infusion, 1 g/vial (potency)] (comparative control).
e For the skin reaction test, animals were injected intradermally with a single 0 or 50 µg dose of ceftolozane. For the systemic anaphylactic reaction test, animals were intravenously administered a single dose of 0 or 20 mg/kg of ceftolozane. For the passive cutaneous anaphylaxis test, IgG antibodies were measured in serum following elicitation with a 20 mg/kg intravenous dose of ceftolozane. Exceptions to these elicitation conditions are noted in the above table.

Abbreviations: alum = aluminum hydroxide gel suspension (4 mg/animal); BSA = bovine serum albumin; *E. coli* = *Escherichia coli*; F = female; FCA = Freund's complete adjuvant; GD = gestation day; GLP = good laboratory practice; h = hour; ID = intradermal; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; M = male; MTT = 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; NA = not applicable; PCA = passive cutaneous anaphylaxis; *S. typhmurium* = *Salmonella typhimurium*; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetic; UDS = unscheduled DNA synthesis; v = volume; w = weight

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane/Tazobactam

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Repeat-Dose Toxicity							
Repeat-dose (pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	IV	Once daily for 28 days	C/T: 0/0, 1000/0, 0/500, 100/50, 250/125, 1000/500 mg/kg/day[b]	GLP	[redacted], Canada	[資料4.2.3.2.10] CXA201-T-001 評価資料
Repeat-dose (pivotal)	Dog (Beagle)	IV	Twice daily for 14 days	C/T: 0/0, 300/0, 0/150, 100/50, 300/150 mg/kg/day	GLP	[redacted] USA	[資料4.2.3.2.11] CXA201-T-005 評価資料
Genotoxicity							
Mammalian cell gene mutation (pivotal)	In vitro; mouse lymphoma cells L5178Y $tk^{+/-}$	In vitro	4 or 24 h	C/T: 4h (with/without S9); 1000/500 to 5000/2500 µg/mL 24h (without S9); 5.0/2.5 to 75/37.5 µg/mL	GLP	[redacted], USA	[資料4.2.3.3.1.10] CXA201-T-003 評価資料
Mammalian cell chromosome aberration (pivotal)	In vitro; Chinese hamster ovary cells	In vitro	4 or 20 h	C/T: 4h (with/without S9); 50/25 to 5000/2500 µg/mL 20h (without S9); 100/50 to 2750/1375 µg/mL	GLP	[redacted], USA	[資料4.2.3.3.1.11] CXA-201-T-002 評価資料

C Confidential

Summary of Toxicology Studies Conducted with Ceftolozane/Tazobactam (Continued)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Type of Study	Species and Strain	Route of Administration	Duration of Dosing	Doses [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Module/Study Report Number
Genotoxicity (continued)							
Micronucleus (pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	Single dose IV	24 or 48 h	C/T; 0/0, 500/250, 1000/500, 2000/1000 mg/kg	GLP	[redacted], USA	[資料4.2.3.3.2.5] CXA201-T-004 評価資料
Studies in Juvenile Animals							
Repeat-dose (screening)	Rat (Sprague Dawley)	SC	Once daily for 14 days	C/T: 0/0, 50/25, 300/150, 1000/500 mg/kg/day	Non-GLP	[redacted], USA	[資料4.2.3.5.4.1] CXA.101.TX.033 参考資料
Repeat-dose (pivotal)	Rat (Sprague Dawley)	SC	Once daily for 28 days	C/T: 0/0, 50/25, 300/150, 1000/500 mg/kg/day	GLP	[redacted], USA	[資料4.2.3.5.4.2] CX.101.TX.038 評価資料

a　NOAELS are underscored for repeat-dose toxicity and juvenile toxicity studies.
b　The NOAEL was based on the conclusions of Pathology Working Group Review Report (CX.101.TX.032).
Abbreviations: BID = twice daily administration; C/T = ceftolozane/tazobactam; GLP = good laboratory practice; h = hour; SC = subcutaneous.

C Confidential

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Summary of Toxicokinetic Studies Conducted with Ceftolozane

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Module/Study Report Number
Pivotal repeat-dose toxicokinetic study	Rat (Sprague Dawley)	IV	100, 300, 1000	GLP	[資料4.2.3.2.5] TX[redacted]3006
Pivotal repeat-dose toxicokinetic study	Rat (Sprague Dawley)	IV	0, 100, 300, 1000	GLP	[資料4.2.3.2.6] CX.101.TX.031
Non-pivotal repeat-dose toxicity study	Dog (Beagle)	IV	100, 300, 1000	Non-GLP	[資料4.2.3.2.7] TX[redacted]9054
Pivotal repeat-dose toxicokinetic study	Dog (Beagle)	IV	0, 100, 300, 1000	GLP	[資料4.2.3.2.8] TX[redacted]3013
Pivotal embryo-fetal development	Mouse (pregnant ICR)	IV	0, 300, 1000, 2000	GLP	[資料4.2.2.2.11] CX.101.TK.002
Pivotal embryo-fetal development	Rat (pregnant Sprague Dawley)	IV	0, 100, 300, 1000	GLP	[資料4.2.2.2.12] CX.101.TK.001

Abbreviations: GLP = good laboratory practice; IV = intravenous.

C Confidential

Summary of Toxicokinetic Studies Conducted with Tazobactam

タゾバクタム単独のトキシコキネティクス試験は実施しなかった。なお、セフトロザン／タゾバクタムを用いた CXA201-T-001 [資料4.2.3.2.10]及び CXA201-T-005[資料4.2.3.2.11])試験には、タゾバクタム単独投与群が含まれる。

C Confidential

Summary of Toxicokinetic Studies Conducted with Ceftolozane/Tazobactam

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Module/Study Report Number
Pivotal repeat-dose toxicokinetic study	Rat (Sprague Dawley; adult)	IV	C/T: 0/0, 1000/0, 0/500, 100/50, 250/125, 1000/500	GLP	[資料4.2.3.2.10] CXA201-T-001
Dose range finding repeat-dose toxicokinetic study	Rat (Sprague Dawley; neonatal)	SC	C/T: 0/0, 50/25, 300/150, 1000/500	Non-GLP	[資料4.2.3.5.4.1] CXA.101.TX.033
Pivotal repeat-dose toxicokinetic study	Dog (Beagle)	IV	C/T: 0/0, 300/0, 0/150, 100/50, 300/150	GLP	[資料4.2.3.2.11] CXA201-T-005

Abbreviations: C/T = ceftolozane/tazobactam; GLP = good laboratory practice; IV = intravenous; SC = subcutaneous.

C Confidential

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Summary of Ceftolozane Toxicokinetics Data in Adult Animals

Mean AUC at steady state (µg·h/mL)							**Test Article: Ceftolozane**
Dose (mg/kg)	**Rats**		**Mice**	**Dogs**			**Humans**
	M	**F**	**F**	**M**	**F**	**M and F**	**M and F**
~43[a]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	591[b]
100	155.0[c]	124.5[c]/230[d]	NA	383.3[e]	432.9[e]	343[f]	NA
300	471.1[c]	403.2[c]/678[d]	520[g]	1106.1[e]	1316.4[e]	1053[f]	NA
1000	1604.9[c]	1359.6[c]/2013[d]	1648[g]	3885.8[e]	3931.9[e]	3133[f]	NA
2000	NA	NA	3538[g]	NA	NA	NA	NA
Mean C_0 or C_{max} at steady state (µg/mL)							
~43[a]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	67.8[b]
100	221.9[c]	194.8[c]/612[d]	NA	242.6[e]	273.6[e]	235.43[f]	NA
300	683.1[c]	628.9[c]/1759[d]	1672[g]	739.9[e]	798.0[e]	674.37[f]	NA
1000	2238.7[c]	2173.6[c]/5015[d]	5191[g]	2529.7[e]	2651.6[e]	2148.25[f]	NA
2000	NA	NA	9506[g]	NA	NA	NA	NA

a　Clinical dose based upon the total daily dose (3000 mg) divided by an average assumed body weight of 70 kg.
b　Based on population pharmacokinetic analysis, data from Japanese patients (including patients with renal impairment) in Clinical Study 013/014; daily AUC for thrice $AUC_{tau, ss}$ (administered q8h) at clinical dose of 1000 mg ceftolozane/500 mg tazobactam (500 mg ceftolozane/250 mg tazobactam for patient with low creatinine clearance [≤50 mL/min]).
c　Data from TX[redacted]3006　[資料4.2.3.2.5], 4-week IV administration.　AUC values represent $AUC_{0–24}$.
d　Data from CX.101.TK.001 [資料4.2.2.2.12], 12-day IV administration to pregnant rats.　AUC values represent $AUC_{0–\infty}$ for gestation day 17.
e　Data from TX[redacted]3013 [資料4.2.3.2.8], 4-week IV administration. AUC values represent $AUC_{0–24}$.
f　Data from TX[redacted]9054[資料4.2.3.2.7], 14-day IV administration.
g　Data from CX.101.TK.002[資料4.2.2.2.11], 10-day IV administration to pregnant mice.　AUC values represent $AUC_{0–\infty}$ on gestation day 15.
Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_0 = plasma drug concentration at time zero; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; M = male; NA = not applicable.

C Confidential

Summary of Tazobactam Toxicokinetics Data in Adult Animals

タゾバクタム単独のトキシコキネティクス試験は実施しなかった。なお、タゾバクタム単独投与時のトキシコキネティクスは、セフトロザン／タゾバクタム併用毒性試験におけるタゾバクタム単独投与群のデータを用いて評価した。タゾバクタム単独投与時のトキシコキネティクスを次頁に示す。

C Confidential

Summary of Ceftolozane/Tazobactam Toxicokinetics Data in Adults

Mean Ceftolozane/Tazobactam AUC (at steady state) (µg·h/mL)				**Test Article: Ceftolozane/Tazobactam (2:1)**
C/T Dose (mg/kg/day)	**Rats**		**Dogs**	**Humans**
	M	**F**	**M and F**	**M and F**
~43/~21[a]	NA	NA	NA	591/95.7[b]
0/150	NA	NA	NA/219[c]	NA
0/500	NA/96.37[d]	NA/113.97[d]	NA	NA
100/50	170.98/12.48[d]	152.77/16.56[d]	272/73.4[c]	NA
250/125	419.12/48.35[d]	359.48/43.52[d]	NA	NA
300/0	NA	NA	736/NA[c]	NA
300/150	NA	NA	936/275[c]	NA
1000/0	1584.87/NA[d]	1201.77/NA[d]	NA	NA
1000/500	1366.67/89.30[d]	1094.28/87.05[d]	NA	NA
Mean C_o or C_{max} at steady state (µg/mL)				
~43/~21[a]	NA	NA	NA	67.8/18.3[b]
0/150	NA	NA	NA/284[c]	NA
0/500	NA/257.00[d]	NA/298.67[d]	NA	NA
100/50	312.33/32.87[d]	311.67/44.73[d]	300/99.9[c]	NA
250/125	765.67/127.67[d]	730.00/117.90[d]	NA	NA
300/0	NA	NA	817/NA[c]	NA
300/150	NA	NA	931/339[c]	NA
1000/0	2690.00/NA[d]	2196.67/NA[d]	NA	NA
1000/500	2480.00/231.67[d]	2133.33/226.00[d]	NA	NA

a　Clinical dose based upon the total daily dose (3000 mg ceftolozane/1500 mg tazobactam) divided by an assumed average body weight of 70 kg.
b　Based on population pharmacokinetic analysis, data from Japanese patients (including patients with renal impairment) in Clinical Study 013/014; daily AUC for thrice $AUC_{tau,ss}$ (administered q8h) at clinical dose of 1000 mg ceftolozane/500 mg tazobactam (500 mg ceftolozane/250 mg tazobactam for patient with low creatinine clearance [≤50 mL/min]).
c　Data from CX201-T-005[資料4.2.3.2.11], 14-day twice daily IV administration.　AUC values represent $AUC_{0-\infty}$.
d　Data from CX201-T-001[資料4.2.3.2.10], 28-day IV administration. AUC values represent AUC_{0-8h}.
Abbreviations: AUC = Area under the plasma concentration-time curve; C/T = ceftolozane/tazobactam; C_0 = plasma drug concentration at time zero; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; M = male; NA = not applicable; T = tazobactam.

C Confidential

2.6.7.4　毒性試験：被験物質一覧

Summary of Ceftolozane Drug Substance Lots Utilized for GLP Studies

Lot No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)									Module/Study Number[a]	Type of Study
		P1[b]	P2a[b]	P2b[b]	P2c[b]	P3[b]	P4[b]	P5[b]	P7[b]	P9[b]		
Proposed Specification: Drug Substance:	Total impurities: ≤[redacted]	≤[redacted]	≤0[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]		
Proposed Specification: Drug Product Shelf life:	Total impurities: ≤[redacted]	≤[redacted]	-	-	≤[redacted]	-	-	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]		
[redacted][c]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.7.6.2] TX[redacted]3007	28-Day repeat dose (rat) (impurity qualification)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.7.6.5] TX[redacted]7091	AMES microbial mutagenicity (impurity qualification)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.7.6.7] TX[redacted]7088	Mammalian cell chromosomal aberration (impurity qualification)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.7.6.9] TX[redacted]7079	Mouse micronucleus (impurity qualification)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.4] TX[redacted]3014	28-Day repeat dose with recovery (rat)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.8] TX[redacted]3013	28-Day repeat dose with recovery (dog)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.1.2] TX[redacted]7148	AMES microbial mutagenicity
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.1.4] 7689(148-095)	Mammalian cell gene mutation

C Confidential

Summary of Ceftolozane Drug Substance Lots Utilized for GLP Studies (Continued)

Lot No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)									Module/Study Number[a]	Type of Study
		P1[b]	P2a[b]	P2b[b]	P2c[b]	P3[b]	P4[b]	P5[b]	P7[b]	P9[b]		
Proposed Specification: Drug Substance:	Total impurities: ≤3.0	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]		
Proposed Specification: Drug Product Shelf life:	Total impurities: ≤5.0	≤[redacted]	-	-	≤[redacted]	-	-	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.1.7] TX[redacted]7143	Mammalian cell chromosomal aberration
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.2.2] TX[redacted]7139	Mouse micronucleus
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.2.4] 7690(148-096)	UDS assay
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.5] TX[redacted]3006	GLP TK study in rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.5.2.3] CXA101-T-006	Embryo-fetal development (rat)
[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.10] CXA201-T-001	28-Day repeat dose with C/T combination (rat)
[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.11] CXA201-T-005	14-Day BID repeat dose with C/T combination (dog)
[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.1.10] CXA201-T-003	Mammalian cell gene mutation with C/T combination
[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.1.11] CXA-201-T-002	Mammalian cell chromosomal aberration with C/T combination
[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.2.5] CXA201-T-004	Bone marrow micronucleus with C/T combination (rat)

C Confidential

Summary of Ceftolozane Drug Substance Lots Utilized for GLP Studies (Continued)

Lot No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)									Module/Study Number[a]	Type of Study
		P1[b]	P2a[b]	P2b[b]	P2c[b]	P3[b]	P4[b]	P5[b]	P7[b]	P9[b]		
Proposed Specification: Drug Substance:	Total impurities: ≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]	[redacted]		
Proposed Specification: Drug Product Shelf life:	Total impurities: ≤[redacted]	≤[redacted]	-	-	≤[redacted]	-	-	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]		
[redacted][e]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.6] CX.101.TX.031	28-Day repeat dose (rat) for impurity qualification
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.5.2.2] CX.101.TX.001	Embryo-fetal development (mouse)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.5.1.1] CX.101.TX.002	Fertility and early embryonic development (rat)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.5.3.1] CX.101.TX.012	Pre- and postnatal development (rat)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.7.7.1] CX.101.TX.013	Phototoxicity
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.6] CX.101.TX.031	28-Day repeat dose (rat) for impurity qualification
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.6] CX.101.TX.031	28-Day repeat dose (rat) for impurity qualification
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.5.4.2] CX.101.TX.038	28-Day repeat dose pivotal GLP juvenile study (rats)

C Confidential

Summary of Ceftolozane Drug Substance Lots Utilized for GLP Studies (Continued)

Lot No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)									Module/Study Number[a]	Type of Study
		P1[b]	P2a[b]	P2b[b]	P2c[b]	P3[b]	P4[b]	P5[b]	P7[b]	P9[b]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	<[redacted]	<[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.1.5] 15-9036; 15-9034 (AE28HS.704ICH.BTL)	Mammalian cell gene mutation; 2 independent assays and exploratory range-finding cytotoxicity
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	<[redacted]	<[redacted]	<[redacted]	<[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.1.9] 16-9019 (AE28HS.783ICH.BTL)	Mammalian cell hprt gene mutation assay

a　All studies shown represent GLP studies.
b　Impurity peaks and correlating compound numbers are as follows: P1, 不純物A* ; P2a, 不純物B* ; P2b, 不純物C* ; P2c, 不純物D* ; P3, 不純物E* ; P4, 不純物F* ; P5, 不純物G* ; P7, 不純物H* , P9, 不純物I* .　P-2 (a specified unidentified impurity) was observed in some early lots ([redacted], [redacted], [redacted], and [redacted]) but is no longer observed in the manufacturing process.
c　Lot [redacted] was prepared by forced degrading Lot [redacted] at 70°C for 3 days.
d　Data shown for ceftolozane used in combination ceftolozane/tazobactam study.
e　Lot [redacted] was prepared by forced degrading Lot [redacted] in sterile water at room temperature for 3 days. Lot [redacted] was made using the commercial manufacturing process.
Abbreviations:　BID = twice daily administration; C/T = ceftolozane/tazobactam; NA = not applicable; ND = not detected.

* 新薬承認情報提供時に置き換え

C Confidential

Summary of Tazobactam Drug Substance Lots Utilized for GLP Studies

Batch No.	**Purity (%)**	**Specified Impurities (%) (Tazobactam Related Compound A)**	**Module/Study Number[a]**	**Type of Study**
Proposed Specification:	Total impurities (except tazobactam related compound A): ≤[redacted]	≤[redacted] (drug substance shelf life and drug product)	NA	NA
[redacted][b]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.10] CXA201-T-001	28-Day repeat dose with C/T combination (rat)
[redacted][b]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.2.11] CXA201-T-005	14-Day BID repeat dose with C/T combination (dog)
[redacted][b]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.5.4.1] CXA.101.TX.033	14-Day non-GLP dose-ranging toxicity study with C/T in Postnatal Day (PND) 4 Sprague-Dawley Rats
[redacted][b]	[redacted]	<[redacted]	[資料4.2.3.5.4.2] CX.101.TX.038	28-Day pivotal GLP toxicity study with C/T in Postnatal Day (PND) 4 Sprague-Dawley Rats
[redacted][b]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.1.10] CXA201-T-003	Mammalian cell gene mutation with C/T combination
[redacted][b]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.1.11] CXA201-T-002	Mammalian cell chromosomal aberration with C/T combination
[redacted][b]	[redacted]	[redacted]	[資料4.2.3.3.2.5] CXA201-T-004	Bone marrow micronucleus with C/T combination (rat)

a　Studies that did not have study numbers reported or had the following study numbers 89-3482, 89-105, 88046, 88022, 356, 357, 355 did not have batch numbers reported and were thus omitted from this table.

b　Data shown for tazobactam used in combination ceftolozane/tazobactam study.

Abbreviations: C/T = ceftolozane/tazobactam.

C Confidential

2.6.7.5　単回投与毒性試験

2.6.7.5.1　セフトロザン

Summary of Single-Dose Toxicity Studies Conducted with Ceftolozane

Test Article:　Ceftolozane

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Module/Study Number
Rat/Sprague Dawley	IV (NaOH-physiological saline)	1000, 2000	M / 5 F / 5	2000	>2000	1000: Transient decrease in body weight on Day 1 in M. 2000: Transient decrease in body weight on Day 1 in M. No mortalities or macroscopic findings at any dose level.	[資料4.2.3.1.1] TX[redacted]1008

C Confidential

Summary of Single-Dose Toxicity Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article:　Ceftolozane

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Module/Study Number
Dog/Beagle	IV (NaOH-physiological saline)	500, 2000	M / 1 F / 1	2000	>2000	500: Vomiting observed in the M 2 minutes postdose.　Flush of the auricle and oral mucosa observed in the F 4 minutes after dosing. 2000: Both the M and F exhibited vomiting and flush of the auricle and oral mucosa from the time of dosing.　Other clinical signs observed in the 2000 mg/kg dose group included prone position, decrease in spontaneous motility, swelling of the head, and dark purplish coloration of the skin. Increased GPT activity and decreased calcium in the M and F of the 2000 mg/kg group 1 day after dosing; however, results were normal by Day 7.	[資料4.2.3.1.3] TX[redacted]1007
Dog/Beagle	IV (Na_2CO_3-Physiological saline	100, 300, 1000	M / 1 F / 1	1000	>1000	100: No noteworthy findings 300: Vomiting observed in both dogs.　Plasma histamine concentrations for the M were <1.0 nM at baseline, 94.4 nM immediately after dosing and 12.7 nM at 15 minutes after dosing. There were no changes in plasma histamine concentrations in the F. 1000: Flushing of the oral mucosa and auricles after dosing in the F that resolved by 30 minutes after dosing.　Plasma histamine levels in the F were 2.34, 208 and 150 nM at baseline, immediately after dosing and at 15 minutes after dosing, respectively.　There were no findings in the M.	[資料4.2.3.1.2] TX[redacted]9019

Abbreviations: F = female; GPT = alanine aminotransferase; IV = intravenous;　M = male.

C Confidential

2.6.7.5.2　　タゾバクタム

タゾバクタムを用いた単回投与毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.5.3　　セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザン／タゾバクタムを用いた単回投与毒性試験は実施しなかった。

C Confidential

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.6.1　セフトロザン

Summary of Data from Nonpivotal Repeat-Dose Toxicity Studies Conducted with Ceftolozane

Test Article: Ceftolozane

Species (Strain)	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Rat (Sprague Dawley)	IV (Saline)	2 weeks	0, 20, 50, 100	M / 10	≥100	There were no noteworthy findings. The NOAEL was concluded to be at least 100 mg/kg.	[資料4.2.3.2.1] TX[redacted]9047

C Confidential

Summary of Data from Nonpivotal Repeat-Dose Toxicity Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species (Strain)	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Rat (Sprague Dawley)	IV (Saline)	4 weeks	0, 100, 300, 1000	M / 5, F / 5	>1000	Food consumption: Decreased from Days 1 to 8 in M administered 1000 mg/kg/day. Hematology: decreased hematocrit (42.7% versus 45.2% in controls) and decreased hemoglobin (14.4 g/dL versus 15.4 g/dL in the control) was observed in M of the 1000 mg/kg/day group. Organ weight: Kidney weight increased 16% in M and 11% in F of the 1000 mg/kg/day group. Dose-dependent increase in cecum weights (18-179%) was observed. Gross pathology: 2F exhibited pale kidneys and 1F exhibited a dilated cecum in the 1000 mg/kg/day group. Histopathology: Hyaline droplets in the proximal tubules in the cortex of the kidneys in 5M and 3F in the 1000 mg/kg/day group. Increased incidence of splenic extramedullary hematopoiesis in M of the 1000 mg/kg/day dose group (3/5) compared to control (1/5). Increased incidence and severity of perivascular fibrosis in F and increased intimal (vascular) thickening at the injection site in M administered 1000 mg/kg/day. Although, the NOAEL was identified as 300 mg/kg/day by the Study Director, all the systemic changes, including the kidney changes were considered non-adverse by the Sponsor. Therefore, the Sponsor sets a systemic NOAEL at 1000 mg/kg/day.	[資料4.2.3.2.2] TX[redacted]9055

C Confidential

Summary of Data from Nonpivotal Repeat-Dose Toxicity Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species (Strain)	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Rat (Sprague Dawley)	IV (Saline)	4 weeks	0, 100, 300	M / 5, F / 5	<100	Clinical signs: Soft stool reported in 1F in the 300 mg/kg dose group (Days 3 and 5). Blood chemistry: Serum calcium was significantly (6.2%) lower in 300 mg/kg F. Organ weights: Cecum weights with contents were increased (40-70%) in drug-treated M. Histopathology: Splenic follicular lymphoid development noted in 1/5 F and 2/5 M in the 100 mg/kg group and 4/5 M and all F in the 300 mg/kg group. The NOAEL was identified as <100 mg/kg/day in the study report based on the follicular lymphoid development in the spleen. However, since similar effects were not observed in the subsequent GLP rat studies with higher doses of ceftolozane (up to 1000 mg/kg/day), alone or in combination with tazobactam, for 4 weeks in which endotoxin levels were monitored/controlled, the lymphoid findings in the present study were considered most likely the result of endotoxins.	[資料4.2.3.2.3] TX[redacted]9067

C Confidential

Summary of Data from Nonpivotal Repeat-Dose Toxicity Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species (Strain)	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Dog (Beagle)	IV (Saline)	2 weeks	100, 300, 1000	M / 2, F / 2	300	Clinical signs: In the 1000 mg/kg/day group vomiting was observed for 9 to 13 days in all animals. Flush of the oral mucosa and auricle and swelling of the head were observed in 1M from Day 1 of dosing. Salivation was observed in 3 animals on Days 14 and 15. Plasma Concentration of Histamine: 1M in the 1000 mg/kg/day dose group had elevated histamine concentration in the plasma on Day 1, approximately 420 and 42 times higher than the pre-dose immediately after and 15 minutes post-dose, respectively. 1 F in the 1000 mg/kg/day group had elevated histamine concentration in the plasma on Day 1, approximately 8-fold higher immediately postdose as compared to the pre-dose value. In addition, 1F from the 1000 mg/kg/day group and 2M in the 300 mg/kg/day group had smaller increases in histamine on Day 1 immediately after dosing. Organ weights: Increased kidney weight was observed in 1M in the high-dose group. The mean concentrations of test article in the kidney were 79.85, 304.66, and 786.18 µg/g for 100, 300, and 1000 mg/kg/day doses, respectively. The mean concentrations of test article in the liver were 3.83, 10.62, and 45.38 µg/g for 100, 300, and 1000 mg/kg/day doses, respectively. Histopathology: Proximal tubular hyaline droplets were observed in the renal cortex in all animals in the 1000 mg/kg/day dose group. Toxicokinetics: Systemic exposure increased in an approximate dose-proportional manner. No gender differences or accumulation of ceftolozane was noted following 14 days of administration. Day 14 C_{max} values were 235, 674, and 2148 µg/mL for the 100, 300, and 1000 mg/kg/day groups, respectively. $AUC_{0\text{-}24h}$ values were 343, 1053, and 3133 µg･h/mL for 100, 300, and 1000 mg/kg/day groups, respectively. NOAEL: identified as 300 mg/kg/day.	[資料4.2.3.2.7] TX[redacted]9054

C Confidential

Summary of Data from Nonpivotal Repeat-Dose Toxicity Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species (Strain)	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Pathology Working Group Review Report	NA	NA	NA	NA	NA	The Pathology Working Group concluded that ceftolozane-related accumulation of hyaline droplets in the tubular epithelial cells of the renal cortex of rats and dogs following once-daily intravenous administration of ceftolozane for up to 28 days was not an adverse finding. Cytoplasmic alterations present in the hepatocytes of rats were considered to be non-adverse and due to tazobactam alone. The Expert Panel interpreted the NOAEL for ceftolozane alone to be 1,000 mg/kg/day in rats (TX[redacted]3014) and 300 mg/kg/day in rats and dogs (TX[redacted]3007 and TX[redacted]3013, respectively; with 300 mg/kg/day the highest dose tested in rats in this study), and 1,000/500 mg/kg/day in rats (CXA201-T-001) given ceftolozane/tazobactam.	[資料4.2.3.2.9] CX.101.TX.032

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration time-curve from time zero to 24 hours; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; h = hour; IV = intravenous; M = male; NA = not appreciable; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level.

C Confidential

2.6.7.6.2　　タゾバクタム

タゾバクタムを用いた重要な試験以外の反復投与毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.6.3　　セフトロザン／タゾバクタム

セフトロザン／タゾバクタムを用いた重要な試験以外の反復投与毒性試験は実施しなかった。

C Confidential

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1　セフトロザン

2.6.7.7.1A　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats

Report Title: FR264205 のラット 4 週間静脈内投与トキシコキネティクス試験(TX[redacted]3006)

Test Article: Ceftolozane

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 4 weeks	**Module:** [資料4.2.3.2.5]
Initial Age: 6 weeks	**Duration of Postdose:** None	
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	**Method of Administration:** Once daily IV	**GLP Compliance:** Yes
Drug Substance Lot No.: [redacted]	**Vehicle/Formulation:** Physiological saline containing NaOH	**Laboratory:** [redacted], Japan
Special Features: None		
NOAEL: Not applicable		

TK Parameter	Time	Dose					
		100 mg/kg/day		300 mg/kg/day		1000 mg/kg/day	
		M / 9	F / 9	M / 9	F / 9	M / 9	F / 9
C_{max} (μg/mL)	Day 1	220.1	226.2	682.3	568.8	2027.6	1662.7
	Week 4	221.9	194.8	683.1	628.9	2238.7	2173.6
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	Day 1	129.7	144.7	420.8	340.4	1441.3	1122.8
	Week 4	155.0	124.5	471.1	403.2	1604.9	1359.6
t_{max} (h)	Day 1	0.167	0.167	0.167	0.167	0.167	0.167
	Week 4	0.167	0.167	0.167	0.167	0.167	0.167

C Confidential

2.6.7.7.1A　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: FR264205 のラット 4 週間静脈内投与トキシコキネティクス試験(TX[redacted]3006)

Test Article: Ceftolozane

Parameter	Dose					
	100 mg/kg/day		300 mg/kg/day		1000 mg/kg/day	
	M / 9	F / 9	M / 9	F / 9	M / 9	F / 9
NOTEWORTHY FINDINGS						
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-
Clinical Signs	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations	NA					

Abbreviations: - = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; h = hour; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; TK = toxicokinetic; T_{max} = time to reach C_{max}.

C Confidential

2.6.7.7.1B　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats

Report Title: FR264205 のラット 4 週間静脈内投与毒性試験および 4 週間休薬試験(TX[redacted]3014)

Test Article: Ceftolozane

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing**: 4 weeks	**Module**: [資料4.2.3.2.4]
Initial Age: 6 weeks	**Duration of Postdose**: 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	**Method of Administration**: Once daily IV	**GLP Compliance**: Yes
Drug Substance Lot No.: [redacted]	**Vehicle/Formulation**: Physiological saline containing NaOH	**Laboratory**: [redacted], Japan

Special Features: Electron microscopy of kidney sections. Toxicokinetics reported above with companion GLP toxicokinetic study [資料4.2.3.2.5].

NOAEL: 100 mg/kg/day (Study report); 1000 mg/kg/day (Pathology Working Group)[a]

Daily Dose	**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
Recovery	**M / 5**	**F / 5**	**NA**	**NA**	**NA**	**NA**	**M / 5**	**F / 5**
NOTEWORTHY FINDINGS – During Treatment								
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Signs	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.7.1B　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: FR264205 のラット 4 週間静脈内投与毒性試験および 4 週間休薬試験(TX[redacted]3014)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose	**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights (± SD)								
Absolute Kidney (mg)	2210 ± 100.4	1418 ± 101.5	2382 ± 183.5	1447 ± 84.4	2574** ± 219.5	1561* ± 135.0	2537** ± 179.6	1570* ± 171.2
Relative Kidney (%)	0.68 ± 0.035	0.70 ± 0.045	0.73 ± 0.050	0.71 ± 0.025	0.76** ± 0.050	0.73 ± 0.045	0.79** ± 0.036	0.77** ± 0.057
Absolute Cecum with contents (mg)	2845 ± 471.5	2085 ± 334.7	3435 ± 1173.5	2991 ± 740.8	5175** ± 1314.5	3581** ± 712.1	6616**± 5350.1	9777** ± 8100.5
Relative Cecum with contents (%)	0.88 ± 0.131	1.03 ± 0.146	1.03 ± 0.307	1.46 ± 0.320	1.52**± 0.306	1.68** ± 0.313	2.05** ± 1.615	4.78** ± 3.901

C Confidential

2.6.7.7.1B　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: FR264205 のラット 4 週間静脈内投与毒性試験および 4 週間休薬試験(TX[redacted]3014)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose	**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
Gross Pathology[b]								
Cecum; large	0	0	0	0	0	0	2	4
Histopathology[b]								
Kidney:								
Cortical, Proximal Tubular, hyaline deposit								
Minimal	0	0	0	0	5	0	5	4
Mild	0	0	0	0	0	0	4	0
Cortical, Proximal Tubular, Deposition, brown pigment	-	-	-	-	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.7.1B　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: FR264205 のラット 4 週間静脈内投与毒性試験および 4 週間休薬試験(TX[redacted]3014)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose	**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
Injection site:								
Perivascular Fibrosis								
Minimal	6	6	8	8	8	6	4	3
Mild	3	4	1	0	1	2	4	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	2
Electron Microscopy[b]								
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 1**	**F / 1**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 1**	**F / 1**
Kidney:								
Proximal Tubular, increased secondary lysosomes								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1

C Confidential

2.6.7.7.1B　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: FR264205 のラット 4 週間静脈内投与毒性試験および 4 週間休薬試験(TX[redacted]3014)

Test Article: Ceftolozane

Recovery Animals – Following 4 weeks of recovery								
Parameter Evaluated	**Terminal Observations for the Recovery Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals**							
	0 (Control)		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
	M / 5	**F / 5**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 5**	**F / 5**
Organ weights (± SD)								
Absolute Kidney (mg)	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Relative Kidney (%)	-	0.63 ± 0.046	NA	NA	NA	NA	-	0.71 ± 0.055*
Absolute Cecum with contents (mg)	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Relative Cecum with contents (%)	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Gross Pathology								
Cecum; large	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

C Confidential

2.6.7.7.1B　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: FR264205 のラット 4 週間静脈内投与毒性試験および 4 週間休薬試験(TX[redacted]3014)

Test Article: Ceftolozane

Parameter Evaluated	Terminal Observations for the Recovery Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals							
	0 (Control)		100 mg/kg/day		300 mg/kg/day		1000 mg/kg/day	
	M / 5	F / 5	M / 0	F / 0	M / 0	F / 0	M / 5	F / 5
Histopathology[b]								
Kidney:								
Cortical, Proximal Tubular, hyaline deposit	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Cortical, Proximal Tubular, Deposition, brown pigment								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1
Injection site:								
Perivascular Fibrosis								
Minimal	2	2	NA	NA	NA	NA	4	5

C Confidential

2.6.7.7.1B　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: FR264205 のラット 4 週間静脈内投与毒性試験および 4 週間休薬試験(TX[redacted]3014)

Test Article: Ceftolozane

Parameter Evaluated	Terminal Observations for the Recovery Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals							
	0 (Control)		100 mg/kg/day		300 mg/kg/day		1000 mg/kg/day	
	M / 1	F / 1	M / 0	F / 0	M / 0	F / 0	M / 1	F / 1
Electron Microscopy[b]								
Kidney: Proximal Tubular, increase, secondary lysosome								
Minimal	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

a The NOAEL was identified in the study report as 100 mg/kg/day based upon presence of hyaline droplets in the proximal tubules or renal cortex. There was no microscopic evidence of degeneration or necrosis or ceftolozane-related changes in BUN, creatinine, inorganic phosphorus or urine volume. The NOAEL is considered 1000 mg/kg/day based upon the conclusions of a Pathology Working Group conducted for this study (CX.101.TX.032) [資料4.2.3.2.9].

b The numbers listed are the number of animals with the finding.
* Statistically different from control group, $p<0.05$ by Dunnett's test.
** Statistically different from control group, $p<0.01$ by Dunnett's test.

Abbreviations: - = no noteworthy findings; BUN = blood urea nitrogen; F = female; GLP = good laboratory practice; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; SD = standard deviation.

C Confidential

2.6.7.7.1C　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats

Report Title: Ceftolozane (CXA-101): A 28-Day Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats with a 28-Day Recovery Period (Study CX.101.TX.031)

Test Article: Ceftolozane

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 4 weeks	**Module:** [資料4.2.3.2.6]
Initial Age: 7 weeks	**Duration of Postdose**: 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration**: Once daily IV	**GLP Compliance**: Yes
Drug Substance Lot No.: [redacted] (clinical development lot) [2.6.7.17.3項] [redacted] (forced degraded commercial lot) [2.6.7.17.3項] [redacted] (commercial lot) [2.6.7.7.1C 項]	**Vehicle/Formulation**: 0.9% saline containing NaOH	**Laboratory**: [redacted], USA
Special Features: The study results of [redacted] (commercial lot) are shown in this section [2.6.7.7.1C 項], and the study results of [redacted] (clinical development lot) and [redacted] (forced degraded commercial lot) are shown in [2.6.7.17.3項] for the qualification of the impurities.		
NOAEL: 1000 mg/kg/day		

Daily Dose	**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
Recovery	**M / 5**	**F / 5**	**NA**	**NA**	**NA**	**NA**	**M / 5**	**F / 5**
Toxicokinetics (Day 1)	**M / 3**	**F /3**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**
AUC_{last} (µg·h/mL)	NA	NA	187	154	522	448	3560	1640
C_0 (µg/mL)	NA	NA	442	433	1380	993	11200	3970
C_{max} (µg/mL)	NA	NA	351	329	1050	784	7990	3080

C Confidential

2.6.7.7.1C　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: Ceftolozane (CXA-101): A 28-Day Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats with a 28-Day Recovery Period (Study CX.101.TX.031)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose	**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
NOTEWORTHY FINDINGS								
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Signs	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (± SD)								
Absolute Red Blood Cell Count (mil/µL) [% from control][a]	8.67 ± 0.347	8.89 ± 0.408	8.40 ± 0.360 [-3.1]	8.77 ± 0.380 [-1.3]	8.59 ± 0.338 [-0.9]	8.35 ± 0.471 [-6.1]	8.36 ± 0.334 [-3.6]	8.57 ± 0.636 [-3.6]
Absolute Reticulotcyte Counts (thous/µ/L) [% from control][a]	171.8 ± 19.51	154.6 ± 26.85	180.1 ± 17.81 [+4.8]	172.4 ± 33.60 [+11.5]	182.3 ± 45.62 [+6.1]	213.0 ± 108.54 [+37.8]	196.8 ± 28.91 [+14.6]	196.6 ± 35.50 [+27.2]
Percent Reticulocytes (%) [% from control][a]	2.0 ± 0.24	1.8 ± 0.34	2.2 ± 0.28[+10.0]	2.0 ± 0.42[+11.1]	2.1 ± 0.48 [+5.0]	2.6 ± 1.48[+44.4]	2.4 ± 0.30 [+20.0]	2.3 ± 0.36[+27.8]
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.7.1C　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: Ceftolozane (CXA-101): A 28-Day Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats with a 28-Day Recovery Period (Study CX.101.TX.031)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose	**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
Organ weights (± SD)								
Kidney:								
Absolute weights[b] (g) [% from control]	3.15 ± 0.25	2.00 ± 0.20	3.36 ± 0.22 [+6.7]	2.09 ± 0.22 [+4.5]	3.37 ± 0.50 [+7.0]	1.99 ± 0.21 [-0.5]	3.54 ± 0.44 [+12.4]	2.12 ± 0.20 [+6.0]
Relative to body weight[b] (g/100g) [% from control]	0.844 ± 0.077	0.885 ± 0.046	0.904 ± 0.068 [+7.1]	0.932 ±0.071 [+5.3]	0.959 ± 0.101* [+13.6]	0.892 ± 0.049 [+0.8]	0.960 ± 0.066* [+13.7]	0.949 ± 0.053** [+7.2]
Relative to brain weight[b] (g/100g) [% from control]	157.0 ± 15.2	107.5 ± 8.4	166.6 ± 9.8 [+6.1]	115.0 ± 11.1 [+7.0]	169.8 ± 22.1 [+8.1]	109.4 ± 9.9 [+1.8]	176.5 ± 18.8 [+12.4]	115.0 ± 9.3 [+7.0]
Gross Pathology[c]								
Kidneys Pale[b]	0	0	0	0	2	0	7	0
Histopathology[c]								
Renal Hyaline Droplets[b]								
Minimal	2	0	4	0	5	0	4	0
Mild	0	0	0	0	0	0	6	0
Renal tubular vaculoation[b]								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	4
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0

C Confidential

2.6.7.7.1C　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: Ceftolozane (CXA-101): A 28-Day Intravenous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats with a 28-Day Recovery Period (Study CX.101.TX.031)

Test Article: Ceftolozane

Recovery Animals (Day 56)								
Parameter Evaluated	**Terminal Observations for the Recovery Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals**							
	0 (Control)		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
	M / 5	**F / 5**	**0**	**0**	**0**	**0**	**M / 5**	**F / 5**
Hematology	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Organ weights	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Gross Pathology	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Histopathology[c]								
Renal hyaline droples								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Renal tubular vaculoation	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

a　Variations in the red blood cell parameters were considered non-adverse because these changes were not dose-related and were within the historical control range.
b　Kidney-related findings were not considered adverse because there was no microscopic evidence of necrosis or degeneration or evidence of an effect on renal function as assessed by changes in urea nitrogen/creatinine levels or changes in relevant urine parameters.
c　The numbers listed are the numbers of animals with the finding.
Abbreviations: - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from the last measurable concentration; C_0 = plasma drug concentration at time zero; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; GLP = good laboratory practice; h = hour; IV = intravenous; M = male; mil/μL = millions/microliter; NA = not applicable; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; thous/μL = thousand/microliter.
* Significantly different from control group at 0.01 using Dunnett's test.
** Significantly different from control group at 0.05 using Dunnett's test.

C Confidential

2.6.7.7.1D　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs

Report Title: FR264205 のイヌ 4 週間静脈内投与毒性試験及び 4 週間休薬試験(TX[redacted]3013)

Test Article: Ceftolozane

Species/Strain: Dog/Beagle			**Duration of Dosing:** 4 weeks				**Module:** [資料4.2.3.2.8]		
Initial Age: 7 or 8 months			**Duration of Post-dose:** 4 weeks						
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]			**Method of Administration:** Once daily IV				**GLP Compliance**: Yes		
Drug Substance Lot No.: [redacted]			**Vehicle/Formulation:** Physiological saline containing NaOH				**Laboratory**: [redacted] Japan		
Special Features: Electron microscopy of kidney sections.									
NOAEL: 100 mg/kg/day (Study report); 300 mg/kg/day (Pathology Working Group)[a]									
Daily Dose		**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated									
Dosing Period		**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 6**	**F / 6**
Recovery Period		**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**M / 3**	**F / 3**
TK Parameter	**Time**	**Results for the Dosage Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals**							
		0 (Control)		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
		M / 3	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 6**	**F / 6**
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	Day 1	NA	NA	379.4	401.6	1142.5	1275.2	5070.1	4427.0
	Week 4	NA	NA	383.3	432.9	1106.1	1316.4	3885.8	3931.9
C_{max} (μg/mL)	Day 1	NA	NA	243.9	252.1	793.1	745.4	2870.1	2803.7

C Confidential

2.6.7.7.1D　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs (Continued)

Report Title: FR264205 のイヌ 4 週間静脈内投与毒性試験及び 4 週間休薬試験(TX[redacted]3013)

Test Article: Ceftolozane

TK Parameter	Time	Results for the Dosage Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals							
		0 (Control)		100 mg/kg/day		300 mg/kg/day		1000 mg/kg/day	
		M / 3	F / 3	M / 3	F / 3	M / 3	F / 3	M / 6	F / 6
C_{max} (μg/mL)	Week 4	NA	NA	242.6	273.6	739.9	798.0	2529.7	2651.6
T_{max} (h)	Day 1	NA	NA	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
	Week 4	NA	NA	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
NOTEWORTHY FINDINGS									
Died or Sacrificed Moribund		-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (kg)		-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g/animal/day)		-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[b]									
Flush of auricle		0	0	0	0	0	0	4	6
Flush of oral mucosa		0	0	0	0	0	0	4	6
Swelling (head)		0	0	0	0	0	0	3	5
Lateral position		0	0	0	0	0	0	1	0
Vomiting		0	0	0	0	2	2	6	6
Salivation		0	0	0	0	0	0	4	3

C Confidential

2.6.7.7.1D　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs (Continued)

Report Title: FR264205 のイヌ 4 週間静脈内投与毒性試験及び 4 週間休薬試験(TX[redacted]3013)

Test Article: Ceftolozane

Daily dose	**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 6**	**F / 6**
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Pathology								
Hematology[b]: Week 4								
HCT decrease	0	0	0	0	0	0	0	1[c]
Hb decrease	0	0	0	0	0	0	0	1[c]
RBC count decrease	0	0	0	0	0	0	0	1[c]
Blood Chemistry[b]: Week 4								
BUN increase	0	0	0	0	0	0	1[d]	0
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.7.1D　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs (Continued)

Report Title: FR264205 のイヌ 4 週間静脈内投与毒性試験及び 4 週間休薬試験(TX[redacted]3013)

Test Article: Ceftolozane

Daily dose	**0 (Control)**		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 6**	**F / 6**
Histopathology[b]								
Kidney:								
Cortical, Proximal Tubular, Hyaline Droplet								
Minimal	0	0	0	0	1	1	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1[e]	3[e]
Moderate	0	0	0	0	0	0	2[e]	0
Cortical, Proximal Tubular, Deposition Brown Pigment	-	-	-	-	-	-	-	-
Electron microscopy[b]								
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Dosing	**M / 1**	**F / 1**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 1**	**F / 1**
Kidney:								
Proximal Tubular, increase secondary lysosome								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1

C Confidential

2.6.7.7.1D　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs (Continued)

Report Title: FR264205 のイヌ 4 週間静脈内投与毒性試験及び 4 週間休薬試験(TX[redacted]3013)

Test Article: Ceftolozane

Recovery Period (~ Day 56)								
Parameter Evaluated	**Terminal Observations for the Recovery Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals**							
	0 (Control)		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
	M / 0	**F / 0**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 3**	**F / 3**
Clinical Observations[b]								
Vomiting	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	2 (1day)
Hematology	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Blood Chemistry	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Histopathology[b]								
Kidney:								
Cortical, Proximal Tubular, Hyaline Droplet	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Cortical, Proximal Tubular, Deposition Brown Pigment								
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2[e]	1[e]

C Confidential

2.6.7.7.1D　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs (Continued)

Report Title: FR264205 のイヌ 4 週間静脈内投与毒性試験及び 4 週間休薬試験(TX[redacted]3013)

Test Article: Ceftolozane

Recovery Period (~Day 56)								
Parameter Evaluated	**Terminal Observations for the Recovery Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals**							
	0 (Control)		**100 mg/kg/day**		**300 mg/kg/day**		**1000 mg/kg/day**	
	M / 0	**F / 0**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 3**	**F / 3**
Electron microscopy[b]								
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated								
Recovery	**M / 0**	**F / 0**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 0**	**F / 0**	**M / 1**	**F / 1**
Kidney:								
Proximal Tubular, increase secondary lysosome								
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1

a The NOAEL was identified in the study report as 100 mg/kg/day based upon vomiting and the presence of hyaline droplets in the proximal tubules of the renal cortex. There was no microscopic evidence of degeneration or necrosis and no biologically relevant changes in BUN, creatinine, inorganic phosphorus, or urine volume. Vomiting is a well-known effect associated with the administration of cephalosporins specifically to dogs and at a dose of 300 mg/kg/day did not produce any effect upon body weight or food consumption. The NOAEL was considered 300 mg/kg/day based on the conclusions of a Pathology Working Group conducted for this study (CX.101.TX.032) [資料 4.2.3.2.9].

b Number of animals with findings.

c Hematocrit, Hb, and RBC values in one dog (ID # 15518) were 35.7%, 11.6 g/dL, and 5.44 x 10^6/µL, respectively, during Week 4 of dosing as compared to predose values of 43.3%, 14.6 g/dL, and 6.76 x 10^6/µL, respectively. Treatmentrelationship of this decrease in hematocrit, Hb, and RBC count which occurred in one testarticle treated animal only and which was similar to effects seen in one control animal, and without postmortem correlate, was therefore of questionable relationship to treatment and of no toxicological significance.

d The BUN value for one dog (ID # 15223) was 17 mg/dL at Week 4 of dosing as compared to a predose value of 10 mg/dL. Importantly, a value of 17 mg/dL is within the historical control reference range for the Testing Facility.

e Positive for PAS reaction.

Abbreviations - = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BUN = blood urea nitrogen; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; GLP = good laboratory practice; h = hour; Hb = hemoglobin; HCT = hematocrit; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; RBC = red blood cell; TK = toxicokinetic; T_{max} = time to reach C_{max}.

C Confidential

2.6.7.7.2　　タゾバクタム

タゾバクタム単独の重要な反復投与毒性試験は実施しなかった。なお、セフトロザン／タゾバクタムを併用した各毒性試験[2.6.7.7.3項]には、タゾバクタム単独投与群が含まれる。

C Confidential

2.6.7.7.3　セフトロザン／タゾバクタム

2.6.7.7.3A　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats

Report Title: CXA-101 (Ceftolozane)/Tazobactam: A 28-Day Intravenous Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat (Study CXA201-T-001)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley			**Duration of Dosing:** 28 days					**Module:** [資料4.2.3.2.10]			
Initial Age: ~6 weeks old			**Duration of Postdose:** None								
Date of First Dose: [redacted]			**Method of Administration:** Once daily IV					**GLP Compliance:** Yes			
Drug Substance Lot No.: Ceftolozane: [redacted] Tazobactam: [redacted]			**Vehicle/Formulation:** Saline (0.9% Sodium Chloride for Injection)					**Laboratory:** [redacted], Canada			
Special Features: None											
NOAEL for ceftolozane/tazobactam: 250/125 mg/kg/day (Study Report) ; 1000/500 (Pathology Working Group)[a]											
Daily Dose (C/T)	**0/0 (Control)**		**1000/0 mg/kg/day**		**0/500 mg/kg/day**		**100/50 mg/kg/day**		**250/125 mg/kg/day**		**1000/500 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated												
Dosing	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
Toxicokinetics	**M / 3**	**F / 3**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**
$AUC_{0\text{-}8h}$ (µg·h/mL) Day 1: C	NA	NA	1396.59	1248.25	NA	NA	125.49	123.86	304.94	318.26	1309.61	1147.22
$AUC_{0\text{-}8h}$ (µg·h/mL) Day 28: C	NA	NA	1584.87	1201.77	NA	NA	170.98	152.77	419.12	359.48	1366.67	1094.28

C Confidential

2.6.7.7.3A　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: CXA-101 (Ceftolozane)/Tazobactam: A 28-Day Intravenous Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat (Study CXA201-T-001)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Daily Dose (C/T)	**0/0 (Control)**		**1000/0 mg/kg/day**		**0/500 mg/kg/day**		**100/50 mg/kg/day**		**250/125 mg/kg/day**		**1000/500 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated												
Toxicokinetics Continued	**M / 3**	**F / 3**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**	**M / 9**	**F / 9**
$AUC_{0\text{-}8h}$ (µg·h/mL) Day 1: T	NA	NA	NA	NA	186.40	229.26	11.53	14.83	31.75	43.79	193.18	191.53
$AUC_{0\text{-}8h}$ (µg·h/mL) Day 28: T	NA	NA	NA	NA	96.37	113.97	12.48	16.56	48.35	43.52	89.30	87.05
C_{max} (µg/mL) Day 1: C	NA	NA	2626.67	2576.67	NA	NA	232.33	259.33	537.33	621.33	2416.67	2213.33
C_{max} (µg/mL) Day 28: C	NA	NA	2690.00	2196.67	NA	NA	312.33	311.67	765.67	730.00	2480.00	2133.33
C_{max} (µg/mL) Day 1: T	NA	NA	NA	NA	493.33	631.00	32.60	42.07	86.17	123.33	523.33	543.33
C_{max} (µg/mL) Day 28: T	NA	NA	NA	NA	257.00	298.67	32.87	44.73	127.67	117.90	231.67	226.00

C Confidential

2.6.7.7.3A　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: CXA-101 (Ceftolozane)/Tazobactam: A 28-Day Intravenous Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat (Study CXA201-T-001)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Main Study												
Daily Dose (C/T)	**0/0 (Control)**		**1000/0 mg/kg/day**		**0/500 mg/kg/day**		**100/50 mg/kg/day**		**250/125 mg/kg/day**		**1000/500 mg/kg/day**	
No. animals evaluated	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
NOTEWORTHY FINDINGS[b]												
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Signs	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology												
Red blood cells ($x10^{12}$/L)	8.26	7.80	7.90	7.56	7.91	7.68	7.80	7.76	7.91	7.56	7.20**	7.50
Hemoglobin (g/L)	155	152	148	146*	144**	142**	148	148	149	147	136**	142**
Hematocrit (L/L)	0.45	0.43	0.43*	0.41*	0.42**	0.40**	0.43*	0.42	0.43	0.41	0.40**	0.40**
Platelets ($x10^9$/L)	1105	1155	1202	1145	1484**	1482**	1276*	1090	1163	1190	1430**	1508**
Reticulocytes ($x10^9$/L)	229.4	231.0	270.9	207.1	325.0**	213.5	273.4	208.3	287.8*	198.9	370.8**	256.1
Clinical Chemistry												
Albumin (g/L)	40.2	44.4	40.3	45.5	36.0**	39.4**	39.2	44.9	40.2	45.3	36.5**	38.8**
Globulin (g/L)	23.4	22.0	21.7*	19.8*	27.7**	27.6**	21.8	19.0**	22.4	20.4	27.0**	25.1**
A/G Ratio	1.72	2.03	1.87*	2.30**	1.30**	1.43**	1.81	2.37**	1.80	2.23*	1.35**	1.55**
Glucose (mmol/L)	6.0	6.2	6.1	6.2	5.3	5.4*	6.0	5.8	5.7	6.1	5.5	5.2**

C Confidential

2.6.7.7.3A　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: CXA-101 (Ceftolozane)/Tazobactam: A 28-Day Intravenous Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat (Study CXA201-T-001)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Daily Dose (C/T)	**0/0 (Control)**		**1000/0 mg/kg/day**		**0/500 mg/kg/day**		**100/50 mg/kg/day**		**250/125 mg/kg/day**		**1000/500 mg/kg/day**	
No. animals evaluated	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**	**M / 10**	**F / 10**
Triglycerides (mmol/L)	0.71	0.34	0.57	0.36	0.23**	0.26	0.54	0.27	0.49	0.25*	0.21**	0.20**
Potassium (mmol/L)	4.69	4.75	4.56	4.68	5.01*	5.05	4.85	4.60	4.66	4.59	5.16**	4.99
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights												
Kidney - Absolute (g)	2.411	1.551	2.775**	1.633	2.441	1.592	2.697	1.547	2.655	1.630	2.807**	1.648
Kidney- relative to body weight (%)	0.652	0.710	0.759**	0.779**	0.704	0.734	0.713	0.676	0.714*	0.730	0.796**	0.785**
Liver - absolute (g)	10.081	6.324	10.095	6.351	12.477**	7.461*	10.502	6.200	10.314	6.508	13.298**	7.094
Liver – relative to body weight (%)	2.718	2.886	2.741	3.022	3.574**	3.427**	2.770	2.711	2.775	2.907	3.763**	3.366**
Gross Pathology[c]												
Cecum; wall; Dilatation	0	0	0	0	0	0	1	3	0	4	5	3

C Confidential

2.6.7.7.3A　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: CXA-101 (Ceftolozane)/Tazobactam: A 28-Day Intravenous Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat (Study CXA201-T-001)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Parameter Evaluated	Terminal Observations for the Dosing Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals (Continued)											
	0/0 (Control)		1000/0 mg/kg/day		0/500 mg/kg/day		100/50 mg/kg/day		250/125 mg/kg/day		1000/500 mg/kg/day	
	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10
Histopathology[c]												
Liver- Cytoplasmic alteration												
Minimal	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	10
Mild	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	5	0
Moderate	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	0
Liver- Presence of PAS positive hepatocellular cytoplasm	NA	NA	NA	NA	10	10	0	0	10	4	10	10
Liver- Presence of PAS negative hepatocellular cytoplasm	NA	NA	NA	NA	0	0	10	10	0	6	0	0

C Confidential

2.6.7.7.3A　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Rats (Continued)

Report Title: CXA-101 (Ceftolozane)/Tazobactam: A 28-Day Intravenous Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat (Study CXA201-T-001)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Parameter Evaluated	Terminal Observations for the Dosing Period by Dosage Group and Gender / Number of Animals (Continued)											
	0/0 (Control)		1000/0 mg/kg/day		0/500 mg/kg/day		100/50 mg/kg/day		250/125 mg/kg/day		1000/500 mg/kg/day	
	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10	M / 10	F / 10
Additional data from Pathology Working Group[d]												
Kidney Cortical, Proximal Tubular, Hyaline Droplet	0	0	7 (slight) 3 (mod)	0	0	0	3 (min) 1 (slight)	0	6 (min) 2 (slight)	0	4 (min) 2 (slight) 1 (mod)	0

a Based on the conclusions of a Pathology Working Group conducted for this study. The expert panel concluded the NOAEL to be 1000/500 mg/kg/day for ceftolozane/tazobactam based on the absence of any toxicologically meaningful degeneration or necrosis of the renal tubular epithelial cells containing hyaline droplets or in hepatocytes containing cytoplasmic alterations, no biologically meaningful changes in relevant clinical pathology parameters (ALT, AST, GGT, BUN, creatinine, inorganic phosphorus, and/or urine volume), the absence of cellular or granular casts in the urine and absence of clinical signs of systemic toxicity.

b Findings represent group mean values at the end of the dosing period unless otherwise indicated.

c The numbers listed are the number of animals with the finding.

d Findings of hyaline droplets in the proximal tubules of the kidney were not reported in the study report. Hyaline droplets were reported in the Pathology Working Group report and are reported as the number of animals in each group and the severity of the finding (CX.101.TX.032) [資料4.2.3.2.9].

* Statistically different from control group, $p \leq 0.05$ by Dunnett's test.

** Statistically different from control group, $p \leq 0.01$ by Dunnett's test.

Abbreviations: - = no noteworthy findings; A/G = albumin/globulin; $AUC_{0\text{-}8h}$ = area under the plasma concentration- time curve from zero to 8 hours after dose; C = ceftolozane; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; GLP = good laboratory practice; h = hour; IV = intravenous; M = male; min = minimal; mod = moderate; NA = not applicable; No. = number; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; PAS = periodic acid-Schiff; T = tazobactam.

C Confidential

2.6.7.7.3B　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs

Report Title: A 14-Day Twice Daily Intravenous (15 Minute) Infusion Combination Toxicity Study of CXA-101 (Ceftolozane) and Tazobactam in Beagle Dogs (Study CXA201-T-005)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Species/Strain: Dog/Beagle	**Duration of Dosing:** 14 days	**Module:** [資料4.2.3.2.11]
Initial Age: ~7 to 8 months old	**Duration of Postdose:** None	
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	**Method of Administration:** IV infusion (15 minutes), BID (8 h between doses)	**GLP Compliance:** Yes
Drug Substance Lot No.: Ceftolozane: [redacted] Tazobactam: [redacted]	**Vehicle/Formulation:** Saline (0.9% Sodium Chloride for Injection)	**Laboratory:** [redacted], USA
Special Features: None		
NOAEL (and NOEL): 300/150 mg/kg/day (Ceftolozane/Tazobactam)		

Daily Dose (C/T)	**0/0 (Control)**		**300/0 mg/kg/day**		**0/150 mg/kg/day**		**100/50 mg/kg/day**		**300/150 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**
Toxicokinetics (%CV)										
$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL) Day 0: C	NA	NA	856 (13.8)		NA		294 (17.9)		756 (17.6)	
$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL) Day 13: C	NA	NA	736 (19.4)		NA		272 (16.5)		936 (17.5)	
$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL) Day 0: T	NA	NA	NA		251 (25.7)		75.5 (22.2)		229 (15.2)	
$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL) Day 13: T	NA	NA	NA		219 (17.3)		73.4 (21.3)[a]		275 (10.0)	
C_{max} (µg/mL) Day 0: C	NA	NA	903 (15.6)		NA		342 (43.3)		783 (8.5)	
C_{max} (µg/mL) Day 13: C	NA	NA	817 (14.9)		NA		300 (13.0)		931 (21.3)	
C_{max} (µg/mL) Day 0: T	NA	NA	NA		289 (15.2)		117 (49.8)		283 (9.5)	
C_{max} (µg/mL) Day 13: T	NA	NA	NA		284 (20.7)		99.9 (15.4)		339 (21.3)	

C Confidential

2.6.7.7.3B　Pivotal Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs (Continued)

Report Title: A 14-Day Twice Daily Intravenous (15 Minute) Infusion Combination Toxicity Study of CXA-101 (Ceftolozane) and Tazobactam in Beagle Dogs (Study CXA201-T-005)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Daily Dose (C/T)	**0/0 (Control)**		**300/0 mg/kg/day**		**0/150 mg/kg/day**		**100/50 mg/kg/day**		**300/150 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No.) Evaluated	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**	**M / 3**	**F / 3**
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Signs	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiograms	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

a　N = 5

Abbreviations: - = no noteworthy findings; $AUC_{0-\infty}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity; BID = twice daily administration; C = ceftolozane; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; %CV = percent coefficient of variation; F = female; GLP = good laboratory practice; h = hour; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; NOEL = no-observed-effect-level; T = tazobactam.

C Confidential

2.6.7.8　In Vitro 遺伝毒性試験

In Vitro 遺伝毒性試験：重要な試験以外の試験

Summary of Genotoxicity Data from NonPivotal In Vitro Studies Conducted with Ceftolozane

Test Article: Ceftolozane

Study Type	Species/Strain	Method of Administration	Concentrations Tested	GLP Status	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Bacterial growth inhibition	*Salmonella typhimurium* (*S. typhymurium*) / TA 100, TA98, TA1535, TA1537 and *Escherichia coli* (*E. coli*) / WP2 *uvrA*	In vitro	0.0206 to 10 µg/plate	Non-GLP	Ceftolozane inhibited the growth of TA100 and TA98 at 10 µg/plate, TA1535 (with metabolic activation), TA1537 and WP2 *uvrA* at ≥1.67 µg/plate and higher, and TA1535 (without metabolic activation) at ≥5 µg/plate and higher.	[資料 4.2.3.3.1.1] TX[redacted]7122
Mammalian cell gene mutation	Mouse lymphoma cells/L5178Y $tk^{+/-}$	In vitro	78.1 to 5000 µg/mL	Non-GLP	No increase in mutation frequency was observed following 3 hours of culture with ceftolozane in the presence or absence of metabolic activation. A concentration-dependent increase in mutation frequency was observed following 24 hours of culture with ceftolozane in the absence of metabolic activation. Mutation frequencies were 99.2, 71.4, 131.1, 205.1, 285.2, 664.1, and 1619.0 x 10^{-6} at concentrations of 0 (vehicle control), 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, or 5000 µg/mL ceftolozane, respectively, with correlating relative survival values of 100, 64.7, 88.2, 91.3, 43.4, 9.3, and 2.7%. The ceftolozane-related mutation frequency was more than two-fold that of solvent vehicle control at concentrations of 313 µg/mL and higher.	[資料 4.2.3.3.1.3] TX[redacted]7166

C Confidential

Summary of Genotoxicity Data from NonPivotal In Vitro Studies Conducted with Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Study Type	Species/Strain	Method of Administration	Concentrations Tested	GLP Status	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Mammalian cell chromosomal aberration	Chinese hamster lung fibroblasts	In vitro	625 to 5000 µg/mL	Non-GLP	As compared to vehicle control, no significant increase in structural or numerical aberrations was observed following 6 hours of incubation with ceftolozane up to 5000 µg/mL in the presence or absence of metabolic activation. Further, no increase in chromosomal aberrations was noted following 24 hours of incubation with ceftolozane up to 2500 µg/mL in the absence of metabolic activation; 50% growth inhibition was observed at 5000 µg/mL. A statistically significant increase in structural but not numerical aberrations was noted following 48 hours of incubation with ceftolozane at a concentration of 1250 µg/mL in the absence of metabolic activation. However, 61% growth inhibition was observed at this concentration and higher. Therefore, this effect was concluded to be a false positive.	[資料4.2.3.3.1.6] TX[redacted]7169
Cytotoxicity assay	Chinese hamster (CHO-K1-BH4) cells	In vitro	0.977 to 500 µg/mL	Non-GLP	No cytotoxicity at any treatment condition	[資料4.2.3.3.1.8] 15-9028

Abbreviations: GLP = good laboratory practice.

C Confidential

In Vitro 遺伝毒性試験：重要な試験

2.6.7.8A Pivotal Genotoxicity:　In Vitro

Report Title: FR264205 の細菌を用いた復帰突然変異試験(TX[redacted]7148)

Test Article: Ceftolozane

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 2	**Module:** [資料4.2.3.3.1.2]
Strains: *S. typhimurium* TA100, TA98, TA1535, and TA 1537, and *E. coli* WP2 *uvrA* **Drug Substance Lot No.:** [redacted]	**No. of Replicate Cultures:** 2-3	**Laboratory:** [redacted], Japan
Metabolizing System: PB- and BF-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/ Culture:** Various for strains	
Vehicles: For Ceftolozane Test Article: Physiological Saline (containing NaOH) For Positive Controls: DMSO		**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Pre-incubation method for 48 h		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Cytotoxicity was observed at ≥10 µg/plate for TA100 and TA98, at ≥1.25 µg/plate with TA 1535, TA1537, and *E. coli* WP2 *urv*A.		
Genotoxic Effects: Negative		

C Confidential

2.6.7.8A Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: FR264205 の細菌を用いた復帰突然変異試験(TX[redacted]7148)

Test Article: Ceftolozane

Assay # 1							
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Mean Number of Revertant Colonies per Plate**				
			TA100	**TA98**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvrA***
Without Activation	Saline	0	122	39	12	14	25
	Ceftolozane	0.0781	NT	NT	12	14	23
		0.156	NT	NT	15	8	33
		0.313	137	52	13	19	29
		0.625	131	47	14	13	21
		1.25	140	53	6 [a]	6 [a]	9 [a]
		2.5	126	54	1 [a]	0 [a]	0 [a]
		5	117	43	0 [a]	NT	NT
		10	85[a]	21 [a]	NT	NT	NT
		20	14[a]	2 [a]	NT	NT	NT
	AF-2	0.01	721	NT	NT	NT	240
		0.1	NT	517	NT	NT	NT
	SAZ	0.5	NT	NT	436	NT	NT
	9-AAC	80	NT	NT	NT	549	NT

C Confidential

2.6.7.8A Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: FR264205 の細菌を用いた復帰突然変異試験(TX[redacted]7148)

Test Article: Ceftolozane

Assay # 1							
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Mean Number of Revertant Colonies per Plate**				
			TA100	**TA98**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvrA***
With Activation	Saline	0	109	32	10	19	25
	Ceftolozane	0.0781	NT	NT	10	27	27
		0.156	NT	NT	5	24	30
		0.313	112	27	4	16	28
		0.625	123	43	12	10	26
		1.25	128	32	5[a]	7[a]	4[a]
		2.5	123	44	0[a]	0[a]	0[a]
		5	112	31	NT	NT	NT
		10	73[a]	11[a]	NT	NT	NT
		20	10[a]	2[a]	NT	NT	NT
	2-AAnt	1	499	NT	NT	NT	NT
		0.5	NT	119	NT	NT	NT
		2	NT	NT	126	81	NT
		10	NT	NT	NT	NT	318

C Confidential

2.6.7.8A Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: FR264205 の細菌を用いた復帰突然変異試験(TX[redacted]7148)

Test Article: Ceftolozane

Assay # 2							
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Mean Number of Revertant Colonies per Plate**				
			TA100	**TA98**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvrA***
Without Activation	Saline	0	143	46	13	8	24
	Ceftolozane	0.0391	NT	NT	14	13	19
		0.0781	NT	NT	13	14	22
		0.156	NT	NT	15	9	22
		0.313	147	47	9	13	17
		0.625	149	50	10	5	17
		1.25	145	30	4[a]	3[a]	4[a]
		2.5	137	29	NT	NT	NT
		5	126	21	NT	NT	NT
		10	82[a]	7[a]	NT	NT	NT
	AF-2	0.01	756	NT	NT	NT	230
		0.1	NT	530	NT	NT	NT
	SAZ	0.5	NT	NT	472	NT	NT
	9-AAC	80	NT	NT	NT	601	NT

C Confidential

2.6.7.8A Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: FR264205 の細菌を用いた復帰突然変異試験(TX[redacted]7148)

Test Article: Ceftolozane

Assay # 2							
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Mean Number of Revertant Colonies per Plate**				
			TA100	**TA98**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvrA***
With Activation	Saline	0	134	40	9	18	21
	Ceftolozane	0.0391	NT	NT	4	19	25
		0.0781	NT	NT	8	24	28
		0.156	NT	NT	11	22	27
		0.313	136	37	8	18	29
		0.625	137	42	8	12	12
		1.25	115	35	3[a]	4[a]	3[a]
		2.5	129	26	NT	NT	NT
		5	114	32	NT	NT	NT
		10	70[a]	4 [a]	NT	NT	NT
	2-AAnt	1	422	NT	NT	NT	NT
		0.5	NT	94	NT	NT	NT
		2	NT	NT	84	65	NT
		10	NT	NT	NT	NT	335

a　Growth inhibition was observed.
Abbreviations: 2-AAnt = 2 amino-anthracene; 9-AAC = 9 amino-acridine HCl H_2O; AF-2 = 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide; BF = 5, 6-benzoflavone; DMSO = dimethyl sulfoxide; *E. coli* = *Escherichia coli*; GLP = good laboratory practice; h = hour; NT = not tested; PB = phenobarbital; S9 = Cofactor-supplemented postmitochondrial fraction; *S. typhimurium* = *Salmonella typhimurium*; SAZ = sodium azide.

C Confidential

2.6.7.8B Pivotal Genotoxicity:　In Vitro

Report Title: FR264205 のマウスリンフォーマ細胞を用いる遺伝子突然変異試験（MLA）(7689(148-095))

Test Article:　Ceftolozane

Test for Induction of:　Gene mutations in vitro	**No. of Independent Assays:**　1	**Module:** [資料4.2.3.3.1.4] **Laboratory**: [redacted], Japan
Strains:　Mouse lymphoma L5178Y $tk^{+/-}$ cells **Drug Substance Lot No.**: [redacted]	**No. of Replicate Cultures:**　1	
Metabolizing System: PB- and BF-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**　1.0×10^6 cells/mL	**GLP Compliance**: Yes
Vehicle: **For Test Article**: physiological saline containing NaOH **For Positive Controls**: physiological saline		
Treatment: Short-term treatment (3 h) with and without metabolic activation and continuous treatment for 24 h	**Date of Treatment**: [redacted], 20[redacted] and [redacted], 20[redacted]	
Cytotoxic Effects: Short-term treatment with or without S9 resulted in a decrease in Relative Suspension Growth (RSG) and Relative Total Growth (RTG) at higher concentrations.　Twenty-four hour continuous treatment with ceftolozane resulted in concentration-dependent decreases in RS and RTG (beginning after initial dose at 328 µg/mL)		
Genotoxic Effects: Positive		

C Confidential

2.6.7.8B Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: FR264205 のマウスリンフォーマ細胞を用いる遺伝子突然変異試験（MLA）(7689(148-095))

Test Article: Ceftolozane

Main Study Results										
Treatment	**Test Article**	**Conc. of Test Substance (μg/mL)**	**RS (%)**	**RSG (%)**	**RTG (%)**	**Mutant Frequency (× 10^{-6})**			**Inductivity**	**Small Colonies (%SC)**
						Large	**Small**	**Total**		
3 h, without activation	Saline	0	100.0	100.0	100.0	65.3	66.9	139.9	1.00	47.8
	Ceftolozane	1000	137.2	155.4	125.4	63.9	56.5	126.5	0.90	44.6
		1500	148.2	139.5	126.6	40.5	73.6	119.8	0.86	61.5
		2000	105.0	104.8	118.9	35.0	59.0	96.0	0.69	61.5
		2500	85.3	88.3	80.1	91.0	60.1	162.0	1.16	37.1
		3000	80.6	80.1	97.4	49.9	60.1	118.0	0.84	50.9
		3500	82.9	92.2	74.4	63.9	82.8	151.7	1.08	54.6
		4000	52.4	74.0	78.5	87.0	90.0	192.6	1.38	46.8
		4500	50.9	61.9	49.9	75.2	94.5	177.8	1.27	53.1
		5000	71.9	53.7	50.3	91.7	102.1	205.6	1.47	49.7
	MMS	10.0	98.8	95.5	72.8	197.9	329.0	684.2	4.89	48.1
3 h, with activation	Saline	0	100.0	100.0	100.0	63.3	52.5	122.3	1.00	43.0
	Ceftolozane	1000	81.2	92.8	101.5	70.3	42.8	119.5	0.98	35.8
		2000	92.3	92.2	94.8	64.9	81.5	157.2	1.29	51.8
		3000	55.6	65.4	67.2	48.7	68.1	123.5	1.01	55.2
		4000	76.4	51.4	49.8	90.1	86.5	192.1	1.57	45.0
		5000	51.1	51.3	36.2	169.4	113.8	299.5	2.45	38.0
	CP	3.00	76.4	78.9	55.7	299.5	446.9	990.5	8.10	45.1

C Confidential

2.6.7.8B Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: FR264205 のマウスリンフォーマ細胞を用いる遺伝子突然変異試験（MLA）(7689(148-095))

Test Article: Ceftolozane

Main Study Results

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (μg/mL)	RS (%)	RSG (%)	RTG (%)	Mutant Frequency (× 10^{-6})			Inductivity	Small Colonies (%SC)
						Large	Small	Total		
24 h, without activation	Saline	0	100.0	100.0	100.0	88.9	72.4	170.1	1.00	42.6
	Ceftolozane	328	110.3	104.6	86.2	141.3	180.0	364.7	2.14	49.3
		410	96.9	91.5	63.6	167.5	129.2	306.3	1.80	42.2
		512	70.8	73.2	44.0	260.0	266.9	590.0	3.47	45.2
		640	47.0	36.4	26.0	266.5	291.3	635.1	3.73	45.9
		800	27.7	18.4	11.1	384.2	561.9	1192.7	7.01	47.1
		1000	18.2	15.5	6.2	540.5	840.9	1638.7	9.63	51.3
		1250	9.1	9.2	1.6	730.0	993.5	1765.9	10.38	56.3
	MMS	5.0	42.0	91.9	67.6	590.4	530.7	1452.6	8.54	36.5

Abbreviations: %SC = (small mutant frequency/total mutant frequency) × 100; BF = 5,6-benzoflavone; CP = cyclophosphamide;
GLP = good laboratory practice; h = hour; MLA = mouse lymphoma assay; MMS = methyl methanesulfonate; PB = phenobarbital;
RS = relative survival of day 0; RSG = relative suspension growth; RTG = relative total growth; S9 = cofactor-supplemented postmitochondrial fraction.

C Confidential

2.6.7.8C Pivotal Genotoxicity:　In Vitro

Report Title: Mammalian Cell Gene Mutation test (L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Assay) (15-9036)

Mammalian Cell Gene Mutation test (L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Assay)		**Test Article:** Ceftolozane
Test for Induction of: Genotoxicity of Ceftolozane Sulfate in Mouse Lymphoma Cells (MLA) **Strains:** L5178Y/*TK*$^{+/-}$ clone 3.7.2C Mouse Lymphoma cells **Metabolizing System:** Aroclor 1254-induced rat liver S9 **Vehicle for Test Article:** Physiological Saline containing NaOH **Treatment:** Short-term treatment (3 – 3.3 h) with and without metabolic activation and continuous treatment for 24 h without metabolic activation **Drug Substance Batch:** [redacted]	**No. of Independent Mouse Lymphoma Assays of each treatment condition:** 2 **No. of Replicate Cultures:** 2 (1 for positive controls) **No. of Cells Analyzed/Culture:** 3.0×10^6 **Positive controls:** Methyl methanesulfonate (MMS) in water without S9; 7, 12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) in DMSO with S9	**Study No.:** 15-9034 and 15-9036 **Location in CTD:** [資料4.2.3.3.1.5] **GLP Compliance:** Yes 15-9036 15-9034 was a non-GLP range-finding cytotoxicity assay **Dates of Treatment:** 15-9036 [redacted], [redacted] and [redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects: In the preliminary 2-day cytotoxicity assay, 15-9034, there was little or no reduction in suspension growth (SG) after the 3-hour treatments up to 500 µg/mL, but toxicity after the 24-hour treatment, with SG 69% of control at 125 µg/mL and 0% at 250 and 500 µg/mL. In the two GLP MLAs, (15-9036) there was little or no reduction in survival (relative total growth, or RTG) after 3-hour treatments up to the maximum tested concentration, 500 µg/mL. After 24-hour treatment, there was dose- related toxicity particularly above 100 µg/ml, with survival too low for mutation assessment at 125 – 200 µg/mL.		
Genotoxic Effects: Negative. There were no increases in mutation above the global evaluation factor (GEF). See summary table below.		

C Confidential

2.6.7.8C Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: Mammalian Cell Gene Mutation test (L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Assay) (15-9036)

15-9034 (Non-GLP):　Preliminary Toxicity Assay in L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Cells Treated with Ceftolozane Sulfate

15-9034 – Preliminary Toxicity Assay		**Test Article:** Ceftolozane	
Treatment (µg/mL)	**Suspension growth as % of control**		
	3 hr -S9	**3 hr +S9**	**24 hr -S9**
1.95	102	110	92
3.91	96	102	99
7.81	94	94	95
15.6	96	101	97
31.3	97	86	94
62.5	95	89	92
125	95	96	69
250	95	101	0
500	94	97	0

C Confidential

2.6.7.8C Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: Mammalian Cell Gene Mutation test (L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Assay) (15-9036)

15-9036 (GLP):　Genotoxicity of Ceftolozane Sulfate in Mouse Lymphoma Cells (MLA): Summary of Data for Mean Mutant Frequency and Relative Total Growth

Test Article:　Ceftolozane

Dose level (µg/mL)	First assay						Second assay					
	Trial 1		Trial 2				Trial 3					
	3 hr -S9		3 hr +S9		24 hr -S9		3 hr -S9		3 hr +S9		24 hr -S9	
	MF	RTG	MF	RTG	MF	RTG	MF	RTG	MF	RTG	MF	RTG
Saline control	61	100	45	100	41	100	62	100	85	100	56	100
10					33	91						
20											49	116
30												
40					39	92					66	96
50												
60											78	89
80											67	101
100	70	82	41	96	43	78	50	96	84	95	88	63
125 [a]					53	61					95 [a]	22 [a]
150					69	29						
200	56	95	50	94			58	108	93	96		
250												
300	79	82	59	85			58	89	97	80		
400	71	89	48	97			63	96	81	98		
500	63	86	47	97			53	90	79	91		
Positive controls												
MMS 20	658	15					672	10				
MMS 5					383	30					622	24
DMBA 1			417	34					432	25		

C Confidential

2.6.7.8C Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: Mammalian Cell Gene Mutation test (L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Assay) (15-9036)

Values shown are means of two replicates, rounded to the nearest whole number.
RTG = Relative Total Growth as % of control.　MF = Mutant frequency per 10^6 cells
MMS = methyl methane sulfonate.　DMBA = 7,12-dimethylbenzanthracene
A positive point is a mutant fraction that exceeds the concurrent mean vehicle control by ≥90 mutants/10^6 clonable cells (the GEF or global evaluation factor).
a　Single culture.　Replicate with 9% RTG and MF of 25 excluded.

C Confidential

2.6.7.8D Pivotal Genotoxicity:　In Vitro

Report Title: FR264205 の哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験(TX[redacted]7143)

Test Article: Ceftolozane

Test for Induction of: Chromosomal aberrations	**No. of Independent Assays:** 2	**Module:** [資料4.2.3.3.1.7]
Strains: Fibroblast cell line derived from CHL	**No. of Replicate Cultures:** 2	**Laboratory** : [redacted], Japan
Metabolizing System: PB- and BF-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/ Culture:** 100	
Vehicle: For Test Article: Physiological saline containing NaOH For Positive Controls: Physiological saline	**Drug Substance Lot No.:** [redacted]	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Direct Method: 6[a,b] , 24-, and 48-h (-S9); Metabolic activation method: 6-h treatment[a,b] (+S9)		**Date of Treatment:** [redacted] and [redacted], 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Concentration-dependent inhibition of cell growth for 24- and 48-h treatments by the direct method		
Genotoxic Effects: Negative		

Assay #1

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (μg/mL)	Cytotoxicity[c] (%)	No of Cells with Structural Aberrations (% incidence)		No. of Polyploid Cells (% incidence)
				With gaps	Without gaps	
Direct Method 6 h	Saline	0	0	2 (1.0)	1 (0.5)	2 (1.0)
	Ceftolozane	625	-16	NE	NE	NE
		1250	-1	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)
		2500	1	5 (2.5)	4 (2.0)	0 (0.0)
		5000	6	1 (0.5)	1 (0.5)	2 (1.0)
	MMC	0.04	NT	53 (26.5)	50* (25.0)	1 (0.5)

C Confidential

2.6.7.8D Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: FR264205 の哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験(TX[redacted]7143)

Test Article: Ceftolozane

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (µg/mL)	Cytotoxicity[c] (%)	No of Cells with Structural Aberrations (% incidence)		No. of Polyploid Cells (% incidence)
				With gaps	Without gaps	
Direct Method 24 h	Saline	0	0	4 (2.0)	4 (2.0)	0 (0.0)
	Ceftolozane	1000	27	4 (2.0)	3 (1.5)	0 (0.0)
		2000[d]	28	NE	NE	NE
	MMC	0.02	NT	53 (26.5)	52* (26.0)	0 (0.0)
Direct Method 48 h	Saline	0	0	5 (2.5)	4 (2.0)	2 (1.0)
	Ceftolozane	250	34	5 (2.5)	5 (2.5)	1 (0.5)
		500	52	6 (3.0)	6 (3.0)	0 (0.0)
		1000[d]	72	NE	NE	NE
	MMC	0.02	NT	93 (46.5)	93* (46.5)	1 (0.5)
Metabolic Activation Method 6 h	Saline	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	1 (0.5)
	Ceftolozane	625[e]	-9	NE	NE	NE
		1250	1	3 (1.5)	2 (1.0)	0 (0.0)
		2500	8	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
		5000	6	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)
	DMN	500	NT	26 (13.0)	26* (13.0)	0 (0.0)

C Confidential

2.6.7.8D Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: FR264205 の哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験(TX[redacted]7143)

Test Article: Ceftolozane

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (μg/mL)	Cytotoxicity[c] (%)	No of Cells with Structural Aberrations (% incidence)		No. of Polyploid Cells (% incidence)
				With gaps	Without gaps	
Assay #2						
Direct Method 24 h	Saline	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)
	Ceftolozane	250	13	3 (1.5)	2 (1.0)	2 (1.0)
		500	14	2 (1.0)	2 (1.0)	2 (1.0)
		1000	18	6 (3.0)	6 (3.0)	0 (0.0)
		1500[d]	32	NE	NE	NE
		2000[d]	38	NE	NE	NE
	MMC	0.02	NT	48 (24.0)	48* (24.0)	0 (0.0)

C Confidential

2.6.7.8D Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: FR264205 の哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験(TX[redacted]7143)

Test Article: Ceftolozane

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (µg/mL)	Cytotoxicity[c] (%)	No of Cells with Structural Aberrations (% incidence)		No. of Polyploid Cells (% incidence)
				With gaps	Without gaps	
Direct Method 48 h	Saline	0	0	3 (1.5)	2 (1.0)	1 (0.5)
	Ceftolozane	62.5[e]	24	NE	NE	NE
		125	12	4 (2.0)	3 (1.5)	0 (0.0)
		250	31	3 (1.5)	3 (1.5)	1 (0.5)
		500	47	8 (4.0)	8 (4.0)	0 (0.0)
		1000[d]	68	NE	NE	NE
	MMC	0.02	NT	77 (38.5)	75* (37.5)	0 (0.0)

a　Only tested in Assay #1.
b　6-hour treatment with 18 hour recovery.
c　Cell growth inhibition.
d　Not examined for chromosomal aberration because analyzable cells were less than 200 per group at this concentration.
e　Not examined for chromosomal aberration because sufficient cells were analyzable at 3 higher concentrations.
* Significantly different from solvent control ($P<0.01$, X^2 test).
Abbreviations: BF = 5,6-benzoflavone; CHL = Chinese hamster lung fibroblasts; DMN = dimethylnitrosamine; GLP = good laboratory practice; h = hour; MMC = mitomycin C; NE = not examined; NT = not tested; PB = phenobarbital; S9 = cofactor-supplemented postmitochondrial fraction.

C Confidential

2.6.7.8E Pivotal Genotoxicity:　In Vitro

Report Title: In Vitro: Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Assay) with Ceftolozane/Tazobactam (Study CXA201-T-003)

Test Article:　Ceftolozane/Tazobactam

Test for Induction of:　Gene mutations in vitro	**No. of Independent Assays:**　2	**Module:** [資料4.2.3.3.1.10]
Strains: L5178Y/*tk*$^{+/-}$　Mouse lymphoma cells **Drug Substance Lot No.**: [redacted] (Ceftolozane) [redacted] (Tazobactam)	**No. of Replicate Cultures:**　2	**Laboratory:** [redacted], USA
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:** 1.0×10^6 cells/mL	**GLP Compliance:** Yes
Vehicle: For Test Article: 0.9% Saline For Positive Controls: Water or DMSO		
Treatment: Short-term treatment (4 h) with and without metabolic activation and continuous treatment for 24 h without activation.	**Date of Treatment:** [redacted] to [redacted], 20[redacted]	
Cytotoxic Effects: Short-term treatment with or without S9 resulted in a dose dependent decrease in % suspension growth.　24-h continuous treatment without S9 resulted in substantial toxicity, i.e., suspention growth of ≤50% of the solvent control at a concentration ≥75/37.5 µg/mL.		
Genotoxic Effects: Negative		

C Confidential

2.6.7.8E Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: In Vitro: Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Assay) with Ceftolozane/Tazobactam (Study CXA201-T-003)

Test Article:　Ceftolozane/Tazobactam

Main Study Results

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (µg/mL)	Total Suspension Growth	% Suspension Growth	TFT Colonies (mean)	VC Colonies (mean)	Total Mutant Frequency (per 10^6 cells)	Induced Mutant Frequency (per 10^6 Cells)	% Total Growth
4 h, without activation	Saline	0 0	18.4 20.4	100 100	25 34	169 159	29 42	N/A N/A	100 100
	Ceftolozane / Tazobactam (2:1)	1000/500 1000/500	16.6 18.8	85 96	19 26	201 137	19 38	-17 3	105 81
		2000/1000 2000/1000	18.9 17.0	97 87	32 28	133 139	49 40	13 4	79 74
		3000/1500 3000/1500	14.7 15.8	76 81	32 29	124 178	51 32	16 -4	57 89
		4000/2000 4000/2000	11.5 11.0	59 57	63 67	128 139	99 97	63 61	46 48
		5000/2500 5000/2500	10.4 9.7	53 50	78 79	166 130	95 122	59 86	54 39
	MMS	20 15	9.4 10.4	48 53	111 168	40 106	552 317	516 282	12 34

C Confidential

2.6.7.8E Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: In Vitro: Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Assay) with Ceftolozane/Tazobactam (Study CXA201-T-003)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (µg/mL)	Total Suspension Growth	% Suspension Growth	TFT Colonies (mean)	VC Colonies (mean)	Total Mutant Frequency (per 10^6 cells)	Induced Mutant Frequency (per 10^6 Cells)	% Total Growth
4 h, with S9 activation	0.9% Saline	0 0	13.1 13.6	100 100	42 36	172 193	49 38	N/A N/A	100 100
	Ceftolozane / Tazobactam (2:1)	1000/500 1000/500	10.7 10.9	80 81	43 37	179 185	48 40	4 -3	78 83
		1500/750 1500/750	8.7 8.6	65 64	50 38	199 184	50 41	7 -3	71 65
		2000/1000 2000/1000	6.4 6.1	47 46	47 33	185 169	51 39	8 -4	48 42
		3000/1500 3000/1500	4.5 3.8	34 31	51 57	168 182	60 63	17 19	32 31
		4000/2000 4000/2000	1.7 2.1	20 22	49 50	156 179	63 56	19 13	17 22
		5000/2500 5000/2500	1.6 1.5	19 19	44 77	147 169	60 92	17 48	16 17
	DMBA	1.25 1	0.8 1.8	12 21	247 213	102 127	482 336	439 293	7 15

C Confidential

2.6.7.8E Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: In Vitro: Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/*TK*$^{+/-}$ Mouse Lymphoma Assay) with Ceftolozane/Tazobactam (Study CXA201-T-003)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (µg/mL)	Total Suspension Growth	% Suspension Growth	TFT Colonies (mean)	VC Colonies (mean)	Total Mutant Frequency (per 10^6 cells)	Induced Mutant Frequency (per 10^6 Cells)	% Total Growth
24 h, without activation	0.9% Saline	0 0	20.1 20.3	100 100	51 48	124 146	83 65	N/A N/A	100 100
	Ceftolozane / Tazobactam (2:1)	5/2.5 5/2.5	21.1 21.0	104 104	53 43	155 136	68 63	-6 -11	120 105
		10/5.0 10/5.0	20.6 22.5	102 111	49 46	158 152	62 61	-13 -14	120 125
		25/12.5 25/12.5	16.6 17.1	82 85	54 50	118 104	91 95	17 21	71 65
		50/25 50/25	15.2 15.9	75 79	89 64	134 108	133 118	59 44	75 63
		75/37.5 75/37.5	8.0 6.7	39 33	50 43	111 115	91 75	17 1	32 28
		100/50 100/50	1.2 1.3	0 0	NE NE	NE NE	NE NE	NE NE	NE NE
	MMS	7.5 5	12.5 16.5	62 81	194 163	78 104	497 314	422 240	36 63

Abbreviations: DMBA= 7,12-dimethylbenz(a)anthracene; DMSO = dimethylsulfoxide; GLP = good laboratory practice; h = hour; MMS = methyl methanesulfonate; NA = not applicable; NE = not evaluated; S9 = cofactor-supplemented postmitochondrial fraction; TFT = trifluorothymidine; VC = viable count.

C Confidential

2.6.7.8F Pivotal Genotoxicity:　In Vitro

Report Title: In Vitro Mammalian Cell Forward Gene Mutation (CHO/HPRT) Assay with Duplicate Cultures (16-9019)

Test Article: Ceftolozane

Test for Induction of: Forward mutations at HPRT locus	**No. of Independent Assays with mutation data reported:** 1	**Module:** [資料4.2.3.3.1.9]
Strain: CHO-K1-BH4　cells	**No. of Replicate Cultures:** 2	**No. of Cells Analyzed/Culture:** 1 x 10^6
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9		**GLP Compliance:** Yes
Test Article Vehicle:　Physiological Saline containing NaOH	**Positive controls:** Ethylmethanesulfonate (EMS, in DMSO) -S9; Benzo(a)pyrene [B(a)P, in DMSO] +S9	
Treatment: 3 to 3.3 hours with and without S9	**Dates of Preparation:** First Mutagenicity Assay: [redacted] 20[redacted] Final Mutagenicity Assay: [redacted] 20[redacted]	
Cytotoxic Effects: First Mutagenicity Assay: The average adjusted relative survival was 91.64% at a concentration of 500 µg/mL without S9. Final Mutagenicity Assay: The average adjusted relative survival was 105.74% at a concentration of 500 µg/mL with S9.		
Genotoxic Effects:　No significant increases in mutant frequency, as compared to the concurrent vehicle controls, were observed at any concentration evaluated with and without S9 ($p > 0.05$).　The positive controls induced significant increases in mutant frequency ($p \leq 0.05$).		

C Confidential

2.6.7.8F Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: In Vitro Mammalian Cell Forward Gene Mutation (CHO/HPRT) Assay with Duplicate Cultures (16-9019)

Test Article: Ceftolozane

First Mutagenicity Assay					
Metabolic Activation and Exposure Time	**Test or Control Article**	**Concentration (µg/mL)**	**Mutant Frequency ($x10^6$)**	**Cloning Efficiency (%; Initial Survival)**	**Adjusted Relative Survival (%)**
3 to 3.3 hours without S9	Saline	10[a]	6.65	71.67	99.88
		10[a]	2.31	71.83	100.12
	Ceftolozane Sulfate	31.3	2.25	75.50	105.23
		31.3	4.74	69.50	96.86
		62.5	1.17	70.33	98.03
		62.5	5.04	70.00	97.56
		125	2.90	79.50	110.80
		125	2.94	60.17	83.86
		250	1.35	68.00	94.77
		250	1.98	66.00	91.99
		500	3.10	65.17	90.82
		500	7.14	66.33	92.45
	EMS	0.200[a]	289.41**	64.67	90.13
		0.200[a]	242.93**	65.67	91.52

[a] µL/mL

**Significant increase in mutant frequency as compared to the concurrent vehicle control values ($p \leq 0.05$)

C Confidential

2.6.7.8F Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: In Vitro Mammalian Cell Forward Gene Mutation (CHO/HPRT) Assay with Duplicate Cultures (16-9019)

Test Article: Ceftolozane

Final Mutagenicity Assay					
Metabolic Activation and Exposure Time	**Test or Control Article**	**Concentration (µg/mL)**	**Mutant Frequency ($x10^6$)**	**Cloning Efficiency (%; Initial Survival)**	**Adjusted Relative Survival (%)**
3 to 3.3 hours with S9	Saline	10[a]	0.43	79.50	99.58
		10[a]	7.08	80.17	100.42
	Ceftolozane Sulfate	31.3	2.28	87.50	109.60
		31.3	0.56	66.33	83.09
		62.5	1.01	84.33	105.64
		62.5	1.59	82.33	103.13
		125	2.91	79.00	98.96
		125	2.99	75.83	94.99
		250	5.45	75.83	94.99
		250	1.62	73.17	91.65
		500	2.50	81.00	101.46
		500	0.00	87.83	110.02
	B(a)P	4.00	190.61**	49.17	61.59
		4.00	199.62**	44.50	55.74

[a] µL/mL

**Significant increase in mutant frequency as compared to the concurrent vehicle control values ($p \leq 0.05$)

C Confidential

2.6.7.8G Pivotal Genotoxicity:　In Vitro

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test (CXA-201-T-002)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Test for Induction of: Chromosomal aberrations	**No. of Independent Assays:** 2	**Module:** [資料4.2.3.3.1.11]
Strains: Fibroblast cell line derived from CHO-K_1	**No. of Replicate Cultures:** 2	**Laboratory:** [redacted], USA
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/ Culture:** 100 [200/concentration]	
Vehicle: For Test Article: Saline For Positive Controls: Saline	**Drug Substance Lot No.:** [redacted](Ceftolozane) [redacted] (Tazobactam)	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: 4-h, 20-h treatments without S9; Metabolic activation method: 4-h treatment with S9		**Date of Treatment:** [redacted], 20[redacted] to [redacted], 20[redacted]

Cytotoxic Effects:
Greater than 50% cell growth inhibition was observed at the lowest effective concentrations of 1000/500 µg/mL in the 4h +S9 group and 3000/1500 µg/mL in the 20h –S9 group. Greater than 50% cell growth inhibition was not observed up to 5000/2500 µg/mL in the 4 h –S9 group.

Genotoxic Effects:
Positive for induction of structural chromosome aberrations and negative for the induction of numerical chromosome aberrations in CHO cells in both the non-activated and the S9-activated test systems.

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (µg/mL)	Mean Mitotic Index (%)	Mean Mitotic Inhibition (%)	Cell growth inhibition (%)	Aberrations Per Cell (Mean ± SD)	Cells With Numerical Aberrations (%)	Cells With Structural Aberrations (%)
4 h treatment, 16 h recovery -S9	Saline	0	12.9	-	0	0.000	2.0	0.0
	Ceftolozane/ Tazobactam (2:1)	1250/625	11.3	12	-7	0.000	2.0	0.0
		2500/1250	12.3	5	1	0.000	2.5	0.0
		5000/2500	11.5	11	29	0.015 ± 0.122	4.0	1.5
	MMC	0.2	7.2	44	39	0.340 ± 0.688	2.0	24.0**

C Confidential

2.6.7.8G Pivotal Genotoxicity:　In Vitro (Continued)

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test (CXA-201-T-002)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Treatment	Test Article	Conc. of Test Substance (µg/mL)	Mean Mitotic Index (%)	Mean Mitotic Inhibition (%)	Cell growth inhibition (%)	Aberrations Per Cell (Mean ± SD)	Cells With Numerical Aberrations (%)	Cells With Structural Aberrations (%)
4 h Treatment, 16 h recovery period +S9	Saline	0	12.7	-	0	0.010 ± 0.100	5.5	1.0
	Ceftolozane /Tazobactam (2:1)	250/125	10.3	19	6	0.025 ± 0.157	6.5	2.5
		500/250	8.8	31	10	0.045 ± 0.231	7.0	4.0*[a]
		1000/500	7.4	42	66	0.125 ± 0.413	8.0	10.0** [b]
	CP	10	3.7	71	36	0.480 ± 0.839	3.5	32.0**
20 h continuous treatment -S9	Saline	0	12.8	-	0	0.005 ± 0.071	3.5	0.5
	Ceftolozane /Tazobactam (2:1)	1000/500	10.7	16	-2	0.015 ± 0.122	3.5	1.5
		2000/1000	8.3	35	9	0.050 ± 0.218	4.0	5.0** [a]
		3000/1500	7.3	43	58	0.340 ± 0.685	3.0	23.0**[b]
	MMC	0.1	6.3	51	27	0.290 ± 0.640	2.5	21.0**

*　$p \leq 0.05$; using Fisher's Exact test.　　** $p \leq 0.01$; using Fisher's Exact test.
[a] within historical control range;　[b] lowest effective dose
Abbreviations: CHO = Chinese hamster ovary; CP = cyclophosphamide; GLP = good laboratory practice; h = hour; MMC = mitomycin C; S9 = cofactor-supplemented postmitochondrial fraction; SD = standard deviation.

C Confidential

2.6.7.9　In Vivo 遺伝毒性試験

In Vivo 遺伝毒性試験：重要な試験以外の試験

Summary of Genotoxicity Data from Nonpivotal In Vivo Studies Conducted with Ceftolozane

Test Article: Ceftolozane

Study Type	Species	Method of Administration	Doses Tested	GLP Status	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Micronucleus	Mouse / ICR	Single dose IV	0, 1000, 2000 mg/kg	Non-GLP	Ceftolozane was negative for micronucleus-inducing effects. No significant increase in the incidence of micronucleated reticulocytes was observed in the blood of mice 48 or 72 hours following a single IV administration of ceftolozane at 1000 or 2000 mg/kg.	[資料 4.2.3.3.2.1] TX[redacted]7179
UDS	Rat / Sprague Dawley	Single dose IV	0, 2000 mg/kg	Non-GLP	Ceftolozane did not produce DNA damage in vivo. Following a single IV administration of ceftolozane to rats at 2000 mg/kg, hepatic cells were isolated at 2 and 16 hours postdose. Net grain counts in hepatocytes from rats administered ceftolozane were not increased as compared to vehicle control.	[資料 4.2.3.3.2.3] TX[redacted]7180

Abbreviations: DNA = deoxyribonucleic acid; GLP = good laboratory practice; IV = intravenous; UDS = unscheduled DNA synthesis.

C Confidential

In Vivo 遺伝毒性試験：重要な試験

2.6.7.9A Pivotal Genotoxicity:　In Vivo

Report Title: FR264205 のマウスを用いた小核試験(TX[redacted]7139)

Test Article: Ceftolozane

Test for Induction of: peripheral blood micronuclei	**Treatment Schedule:** Single-dose	**Module:** [資料4.2.3.3.2.2]
Species/Strain: Mouse/ICR **Drug Substance Lot No.:**[redacted]	**Sampling Time:** Ceftolozane: 48 and 72 h after dosing; Vehicle: 48 h after dosing	**Laboratory:** [redacted], Japan
Age: 7 weeks	**Method of Administration:** IV	
Cells Evaluated: Reticulocytes and polychromatic erythrocytes	**Vehicle/Formulation:** NaOH-physiological saline	**GLP Compliance:** Yes
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000 reticulocytes and at least 2000 erythrocytes		**Date of Dosing:** [redacted], 20[redacted]
Special Features: None		
Toxic/Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: Negative		
Evidence of Exposure: Exposure estimated from toxicokinetic data obtained in pregnant ICR mice following a single IV administration of ceftolozane at 2000 mg/kg [2.6.5.7.1A 項] (CX.101.TK.002). Estimated C_{max} and $AUC_{0-\infty}$ values were approximately 4845 µg/mL and 1531 µg•h/mL, respectively.		

C Confidential

2.6.7.9A Pivotal Genotoxicity:　In Vivo (Continued)

Report Title: FR264205 のマウスを用いた小核試験(TX[redacted]7139)

Test Article: Ceftolozane

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	Sampling Time (h)	MNRETs (‰) Mean ± SD	PCEs (%) Mean ± SD
Vehicle	0	5 M	48	1.5 ± 1.17	1.8 ± 0.18
Mitomycin C	0.5	5 M	48	14.8 ± 1.99	1.2 ± 0.32
Ceftolozane	500	5 M	48 72	1.8 ± 0.57 1.8 ± 0.45	2.5 ± 0.47 2.1± 0.40
	1000	5 M	48 72	1.9 ± 1.56 2.0 ± 1.17	1.9 ± 0.32 1.9 ± 0.50
	2000	5 M	48 72	2.4 ± 0.89 1.1 ± 0.55	1.9 ± 0.63 1.6 ± 0.76
Vehicle	0	5 F	48	1.9 ± 0.96	2.0 ± 0.81
Mitomycin C	0.5	5 F	48	13.7 ± 2.51	0.9 ± 0.16
Ceftolozane	500	5 F	48 72	1.5 ± 0.79 1.8 ± 0.57	2.5 ± 1.05 2.1 ± 0.91
	1000	5 F	48 72	1.5 ± 1.27 1.4 ± 1.08	1.7 ± 0.24 1.7 ± 0.50
	2000	5 F	48 72	1.7 ± 1.04 1.7 ± 1.60	1.7 ± 0.47 2.0 ± 0.82

Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; GLP = good laboratory practice; h = hour; IV = intravenous; M = male; MNRETs = incidence of micronucleated reticulocytes; PCEs = ratio of polychromatic erythrocytes; SD = standard deviation.

C Confidential

2.6.7.9B Pivotal Genotoxicity:　In Vivo

Report Title: FR264205 のラット肝細胞を用いる in vivo/in vitro 不定期 DNA 合成（UDS）試験(7690(148-096))

Test Article: Ceftolozane

Test for Induction of: DNA damage in vivo	**Treatment Schedule:** Single dose	**Module:** [資料4.2.3.3.2.4]
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley **Drug Substance Lot No.:** [redacted]	**Sampling Time:** 2 or 16 h after dosing	**Laboratory:** [redacted], Japan
Age: 8 weeks	**Method of Administration:** IV	
Cells Evaluated: Rat hepatocytes	**Vehicle/Formulation:** Physiological saline containing NaOH	**GLP Compliance:** Yes
No. of Cells Analyzed/Animal: 100 hepatocytes/animal		**Date of Dosing:** [redacted], 20[redacted]
Special Features: None		
Toxic/Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: Negative		
Evidence of Exposure: Exposure was estimated from Day 1 toxicokinetic data obtained in male Sprague Dawley rats following a single IV administration of ceftolozane at 1000 mg/kg [2.6.7.7.1A 項] (TX[redacted]3006). Estimated C_{max} and AUC_{0-24} values at 2000 mg/kg were approximately 4055 µg/mL and 2883 µg•h/mL, respectively.		

Confidential

2.6.7.9B Pivotal Genotoxicity:　In Vivo (Continued)

Report Title: FR264205 のラット肝細胞を用いる in vivo/in vitro 不定期 DNA 合成（UDS）試験(7690(148-096))

Test Article: Ceftolozane

Test for Induction of: DNA damage in vivo		**Treatment Schedule:** Single dose				**Module:** [資料4.2.3.3.2.4]	
Test Article	**Dose (mg/kg)**	**No. of Animals**	**Nuclear Grains (Mean ± SD)**	**Cytoplasmic Grains (Mean ± SD)**	**Net Nuclear Grains[a](Mean)**	**Cells in Repair (%)[b] (Mean ± SD)**	**Genotoxicity**
2 h Post-treatment							
Saline	0	3	10.3 ± 0.1	11.7 ± 0.2	-1.4	0.3 ± 0.6	Neg
Ceftolozane	1000	3	10.9 ± 0.5	12.5 ± 0.9	-1.6	1.0 ± 0.0	Neg
	2000	3	10.7 ± 1.0	12.7 ± 0.5	-2.0	2.3 ± 1.2	Neg
DMN	5	3	38.8 ± 1.0	6.3 ± 0.5	32.5	100.0 ± 0.0	Pos
16 h Post-treatment							
Saline	0	3	10.8 ± 0.8	13.0 ± 1.1	-2.2	0.7 ± 0.6	Neg
Ceftolozane	1000	3	10.7 ± 1.0	13.1 ± 1.2	-2.4	2.0 ± 0.0	Neg
	2000	3	10.8 ± 1.8	12.5 ± 1.6	-1.7	2.7 ± 0.6	Neg
2-AAF	100	3	38.7 ± 0.9	7.5 ± 0.4	31.2	100.0 ± 0.0	Pos

a　Net Nuclear Grains (NNG) = Nuclear grains (mean) – Cytoplasmic grains (mean).
b　UDS positive cells: percentage of cells having ≥ 5 NNG.
Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration;
2-AAF = 2-acetylaminofluorene; DMN = dimethylnotraosamine; DNA = deoxyribonucleic acid; GLP = good laboratory practice; h = hour; IV = intravenous; Neg = negative; SD = standard deviation; UDS = unscheduled DNA synthesis; Pos = positive.

C Confidential

2.6.7.9C Pivotal Genotoxicity:　In Vivo

Report Title: Rat Bone Marrow Erythrocyte Micronucleus Test Following Intravenous Administration of CXA-101 and Tazobactam (CXA201-T-004)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Test for Induction of: Bone marrow micronuclei	**Treatment Schedule:** Single dose	**Module:** [資料4.2.3.3.2.5]
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley **Drug Substance Lot No.**: [redacted] (ceftolozane) [redacted] (tazobactam)	**Sampling Time:** 24 and 48-h after dosing.	**Laboratory:** [redacted] USA
Age: ~6 to 8 weeks	**Method of Administration:** IV (slow bolus)	
Cells Evaluated: Normochromatic and polychromatic erythrocytes	**Vehicle/Formulation:** 0.9% Saline	**GLP Compliance:** Yes
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000 PCEs	**Date of Experiment:** [redacted] to [redacted], 20[redacted]	
Special Features: None		
Toxic/Cytotoxic Effects: Negative		
Genotoxic Effects: Negative		
Evidence of Exposure: Exposure estimated from Day 1 toxicokinetic data obtained in Sprague Dawley rats following a single IV administration of ceftolozane/tazobactam at 1000/500 mg/kg [2.6.7.7.3A 項] (CXA201-T-001). Estimated ceftolozane C_{max} and $AUC_{0-\infty}$ values at a dose of 2000 mg/kg/day are approximately 4630 µg/mL and 2457 µg·hr/mL, respectively (male and female values combined). Estimated tazobactam C_{max} and $AUC_{0-\infty}$ values at a dose of 1000 mg/kg/day are approximately 1067 µg/mL and 385 µg·hr/mL, respectively (male and female values combined).		

C Confidential

2.6.7.9C Pivotal Genotoxicity:　In Vivo (Continued)

Report Title: Rat Bone Marrow Erythrocyte Micronucleus Test Following Intravenous Administration of CXA-101 and Tazobactam (CXA201-T-004)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Definitive Micronucleus Study[a]					
Test Article	**Dose (mg/kg)**	**No. of Animals**	**Sampling Time (h)**	**PCE/Total Erythrocytes (Mean ± SD)**	**Number of MNPCE/1000 PCE (Mean ± SD)**
Saline	0/0	5	24	0.540 ± 0.06	0.4 ± 0.22
C/T (in a 2:1 ratio)	500 / 250	5	24	0.502 ± 0.02	0.0 ± 0.00
	1000 / 500	5	24	0.514 ± 0.06	0.1 ± 0.22
	2000 / 1000	5	24	0.536 ± 0.04	0.2 ± 0.27
CP	40	5	24	0.400 ± 0.02	16.7 ± 2.64
Saline	0/0	5	48	0.554 ± 0.05	0.0 ± 0.00
C/T (in a 2:1 ratio)	2000 / 1000	5	48	0.557 ± 0.07	0.1 ± 0.22

a　No mortality, clinical signs of toxicity or changes in the animal body weight were observed at 2000 mg/kg/day ceftolozane/1000 mg/kg tazobactam in the confirmatory study. All rats appeared normal throughout the observation period.　In the absence of mortality, a dose of 2000 mg/kg ceftolozane/1000 mg/kg tazobactam was selected to be the highest combined dose in the definitive study.

Abbreviations: $AUC_{0-\infty}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; C = ceftolozane; CP = cyclophosphamide; GLP = good laboratory practice; h = hour; IV = intravenous; MNPCE = micronucleated polychromatic erythrocytes; PCEs = polychromatic erythrocytes; SD = standard deviation; T = tazobactam.

C Confidential

2.6.7.10　がん原性試験

セフトロザン／タゾバクタムを用いた治療は短期間（1 回あたり 14 日以内）であることから、がん原性試験は実施しなかった。In vivo 遺伝毒性試験の結果が陰性だったことを含め、実施済の試験より得られた知見から、セフトロザン単独又はタゾバクタムとの併用は臨床使用において遺伝毒性を示さないことが示唆された。

C Confidential

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Summary of Nonpivotal Developmental and Reproductive Toxicity Studies Conducted With Ceftolozane

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Mouse/ICR	IV (Saline)	GD6 to GD15	0, 100, 300, 1000	F/8	Two females in the control group found dead on GD9 and GD15, respectively, had no clinical findings noted prior to death and were found to be internally normal with normally developing implantations or dead fetuses with no malformations. One female from the 300 mg/kg/day group that delivered on GD18 was considered within the normal range of delivery days for this species. Mean litter proportion of late resorptions in the 1000 mg/kg/day group (3.5% per litter) was slightly higher when compared to the concurrent control group (0% per litter). However, this increase was not sufficient to affect postimplantation loss or the mean number and litter proportion of viable fetuses within this group. Dose levels of 100, 300, and 1000 mg/kg/day were considered appropriate for a definitive embryo/fetal development study.	[資料4.2.3.5.2.1] CXA101-T-005

C Confidential

Summary of Nonpivotal Developmental and Reproductive Toxicity Studies Conducted With Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Rat/ Sprague Dawley (pilot JV Toxicity)	SC	Once daily from PND 4 to PND 17	C/T: 0/0, 50/25, 300/150, 1000/500 (using the commercial lot: [redacted])	M/6, F/6 TK: M/18, F/18 (M/3, F/3 for 0/0 group)	Histopathology findings of basophilic tubules and fibrosis in the renal cortex in the 1000/500 mg/kg/day dose group was observed which was suggestive of previous tubular degeneration. This may have occurred during the dosing phase and was considered an adverse effect. Adverse clinical observations of decreased motor activity, lost or impaired righting reflex, and ataxia generally on a single day during PND12 through 16 in some of the rats in the 1000/500 mg/kg/day dose group were observed in the main study animals. Non-adverse effects observed included clinical observations of red and/or purple discoloration at the injection site were observed in 17 of 18 male and female rats on PND 4 to 6 in the toxicokinetic portion of the 1000/500 mg/kg/day dose group and dose-dependent increases in liver and kidney weights in the 300/150 and 1000/500 mg/kg/day dose groups were observed at the end of the dosing period. Liver weights were 6% to 8% higher than controls in the 300/150 mg/kg/day dose group and 11% to 17% higher in the 1000/500 mg/kg/day dose group. Mild centrilobular hepatocellular hypertrophy, possibly correlated with increased liver weights, was observed in the liver in five male rats and a single female rat in the 1000/500 mg/kg/day and in a single male rat in the 300/150 mg/kg/day dose group. Cortical tubular cytoplasmic vacuolation was observed in the proximal convoluted tubular epithelium of the kidney in the 300/150 and 1000/500 mg/kg/day dose groups, which may be an adaptive response and were not considered to be adverse effects.	[資料4.2.3.5.4.1] CXA.101.TX.033

C Confidential

Summary of Nonpivotal Developmental and Reproductive Toxicity Studies Conducted With Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Rat/ Sprague Dawley (pilot JV Toxicity) (Continued)	SC	Once daily from PND 4 to PND 17	C/T: 0/0, 50/25, 300/150, 1000/500 (using the commercial lot: [redacted])	M/6, F/6 TK: M/18, F/18 (M/3, F/3 for 0/0 group)	Low numbers of eosinophilic globules (synonymous with "hyaline droplets") were also seen in the proximal convoluted tubular epithelium of two male rats in the 1000/500 mg/kg/day dose group, but the low incidence was not considered to be toxicologically important. Mean systemic exposures to ceftolozane exhibited a C_{max} of 81.5, 416, and 1280 µg/mL and $AUC_{0-\infty}$ of 124, 657, and 2250 µg· hr/mL, while mean systemic exposures to tazobactam exhibited a C_{max} of 32.9, 184, and 644 µg/mL and $AUC_{0-\infty}$ of 29.7, 145, and 641µg· hr/mL in the 50/25, 300/150 and 1000/500 mg/kg/day dose groups, respectively. The NOAEL for this study was considered to be 300/150 mg/kg/day, which correlated with mean PND 17 ceftolozane/tazobactam AUC_{∞} and C_{max} values of 657/145 µg·hr/mL and 416/184 µg/mL, respectively.	[資料4.2.3.5.4.1] CXA.101.TX.033

Abbreviations: C/T = ceftolozane/tazobactam; F = female, GD = gestation day; IV = intravenous; NOAEL = no observed adverse effect level; PND = postnatal day; SC = subcutaneous.

C Confidential

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

2.6.7.12A　Reproductive and Developmental Toxicity

Report Title: CB-501,101: A GLP Intravenous Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study in Rats (CX.101.TX.002)

Test Article: Ceftolozane

Design similar to ICH 4.1.1: Yes					
Species/Strains: Rat/Crl:CD (SD) **Drug Substance Lot No.:** [redacted]		**Duration of Dosing:** **M:** 28 days prior to mating through 1 day prior to euthanasia on Day 59 to 60 (59 to 60 days) **F:** 14 days before mating through GD7 (22 to 35 days)		**Module:** [資料4.2.3.5.1.1]	
Initial Age: M: 9 weeks F: 10 weeks		**Day of Mating**: GD 0		**Laboratory:** [redacted] USA	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		**Day of C-Section:** GD15			
Special Features: None		**Method of Administration:** IV (lateral tail vein slow bolus)		**GLP Compliance:** Yes	
NOAEL: **F0 Males:** 1000 mg/kg/day **F0 Females:** 1000 mg/kg/day **F1 Litters:** 1000 mg/kg/day		**Vehicle/Formulation**: 0.9% Saline, pH 5.4 to 5.9 (Vehicle) / Saline (control)			
Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Males	**Toxicokinetics:**				
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL)[a]	NA	155.0	471.1	1604.9
	C_{max} (µg/mL)[a]	NA	221.9	683.1	2238.7
	No. Evaluated	25	25	25	25[b]
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0[c]

C Confidential

2.6.7.12A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CB-501,101: A GLP Intravenous Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study in Rats (CX.101.TX.002)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	100	300	1000
Males (continued)	**Clinical Observations**[d]				
	Injection site: erythema				
	very slight	0	0	16	22
	slight	0	0	0	10
	moderate	0	0	0	3
	severe	0	0	0	1
	Injection site: edema				
	very slight	0	0	0	3
	slight	0	0	0	1
	Injection site: desquamation	0	0	2	5
	Injection site: subcutaneous hemorrhage	0	1	1	1
	Injection site: purple discoloration	0	0	0	1
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Organ Weights	-	-	-	-
	Body Weight g (%)[e,f]	485	-2.9	-0.4	-2.5
	Food Consumption (g/animal/day)[g]	25	24	24	24
	Male mating index (%)	96	100	96	100
	Male fertility index (%)	96	100	96	96
	Male copulation index (%)	100	100	100	96
	Spermatogenic Endpoint Evaluations	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.12A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CB-501,101: A GLP Intravenous Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study in Rats (CX.101.TX.002)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Females	**Toxicokinetics:**				
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL)[a]	NA	124.5	403.2	1359.6
	C_{max} (µg/mL)[a]	NA	194.8	628.9	2173.6
	No. Evaluated	25	25	25	25
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations[d]				
	Injection site: erythema				
	very slight	3	3	12	23
	slight	0	0	1	14
	moderate	0	0	0	5
	severe	0	0	0	2
	Injection site: edema				
	very slight	0	0	0	7
	slight	0	0	0	1
	Injection site: desquamation	1	0	3	9
	Injection site: subcutaneous hemorrhage	0	3	2	11
	Injection site: purple discoloration	0	0	0	1
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Organ Weights	-	-	-	-
	Premating Body Weight g (%)[h,f]	244	-1.6	0.8	-2.5
	Gestation Body Weight g (%)[i,f]	321	-0.3	2.2	-1.2

C Confidential

2.6.7.12A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CB-501,101: A GLP Intravenous Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Study in Rats (CX.101.TX.002)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	100	300	1000
Females (continued)	**Premating Food Consumption (g/animal/day)[h]**	16	16	17	17
	Gestation Food Consumption (g/animal/day)[i]	24	24	24	24
	Mean　Length of Estrus Cycle (Days)	4.2	4.2	4.2	4.1
	Mean No. Days Prior to Mating	2.9	2.7	3.0	2.4
	No. of Pregnant Females (%)	25 (100)	25 (100)	25 (100)	24 (96)
	Female Mating Index (%)	100	100	100	100
	Female Fertility Index (%)	100	100	100	96
	Female Conception Index (%)	100	100	100	96
	Total Resorptions (%)	3.8	8.4	7.0	4.6
	Mean No. Corpora Lutea	15.0	16.5	15.6	15.0
	Mean No. Implantation Sites	14.0	14.8	14.9	13.8
	Mean % Preimplantation Loss	5.8	9.8	4.3	7.9
	Mean No. Live Conceptuses	13.5	13.5	13.9	13.1
	Mean No. Early Resorptions	0.5	1.3	1.0	0.6
	No. Dead Conceptuses	0	0	0	0
	Mean % Postimplantation Loss	3.8	8.4	7.0	4.6

a　Week 4 values from [資料4.2.3.2.5] (TX[redacted]3006).
b　A total of 27 males were initially included in this group in the event that animals needed to be replaced due to dosing difficulties.　Only 25 males in this group were mated.
c　One male was euthanized on Day 2 due to mechanical injury to the tail that occurred on the first day of dosing. This animal was replaced.
d　Number of animals presenting with clinical signs during the study.
e　Day 59 of dosing.
f　For controls group means are shown. For treated groups percent differences from control are shown.
g　Day 56 to 59 of dosing.
h　At end of premating period (Day25-27).
i　At end of gestation period (GD7-15).
Abbreviations: - = no noteworthy findings; AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; C-Section = caesarian section; F0 = parental generation; F1 = first generation offspring; F = female; GD = gestation day; GLP = good laboratory practice; IV = intravenous; M = male; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level.

C Confidential

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13A　Reproductive and Developmental Toxicity

Report Title: CB-501,101: A GLP Intravenous Embryo/Fetal Development Study in Mice (CX.101.TX.001)

Test Article: Ceftolozane

Design similar to ICH 4.1.3: Yes					
Species/Strains: Mouse/Crl:CD1(ICR) **Drug Substance Lot No.:** [redacted]		**Duration of Dosing:** GD6 to GD15		**Module:** [資料4.2.3.5.2.2]	
Initial Age: 12 weeks		**Day of Mating:** GD 0		**Laboratory:** [redacted], USA	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		**Day of C-Section:** GD18			
Special Features: None		**Method of Administration:** IV (lateral tail vein slow bolus)		**GLP Compliance:** Yes	
NOAELs: F0 Females: 2000 mg/kg/day; F1 Litters: 2000 mg/kg/day		**Vehicle/Formulation:** Saline, pH 5.4 to 5.9 (Vehicle) / Saline (Control)			
Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**300**	**1000**	**2000**
Dams/Does:	**Toxicokinetics:**[a]				
	$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL) GD6	NA	307	1019	1899 (1531)[b]
	$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL) GD15	NA	520	1648	3538
	C_0 (µg/mL)　GD6	NA	1240	4704	8494 (4845)[b]
	C_0 (µg/mL)　GD15	NA	1672	5191	9506
	No. Evaluated	28	25	25	25
	No. Pregnant	25	25	24	24
	No. Died or Sacrificed Moribund	4[c]	0	1[c]	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	1[d]	0	2[e]	0

C Confidential

2.6.7.13A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CB-501,101: A GLP Intravenous Embryo/Fetal Development Study in Mice (CX.101.TX.001)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**300**	**1000**	**2000**
Dams/Does: (Continued)	**Clinical Observations**				
	Injection site: erythema				
	very slight	0	4	10	22
	Injection site: erythema				
	slight	0	0	4	5
	Injection site: edema				
	very slight	0	0	3	7
	slight	0	0	0	1
	Injection site: desquamation	0	2	6	7
	Injection site: subcutaneous hemorrhage	1	2	8	12
	Injection site: encrustation	0	0	1	7
	Necropsy Observations				
	Scabbing at injection site	0	1	2	4
	Body Weight g (%)[f]	56.9	-2.1	-6.5	-3.2
	Body Weight Change (g)[g]	18.4	18.0	16.4	17.5
	Food Consumption (g/animal/day)[g]	7.1	6.5	6.6	6.8
	Gravid Uterin Weight (g)	22.9	21.9	19.8	20.8
	Mean No. Corpora Lutea	15.1	15.0	14.8	14.4
	Mean No. Implantation Sites	14.2	13.6	13.5	13.2
	Mean Preimplantation Loss	0.8	1.4	1.2	1.2

C Confidential

2.6.7.13A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CB-501,101: A GLP Intravenous Embryo/Fetal Development Study in Mice (CX.101.TX.001)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**300**	**1000**	**2000**
Litters:	**No. Litters Evaluated**	20	25	21	24
	No. Live Fetuses	269	328	269	297
	Mean No. Viable Fetuses	13.5	13.1	12.2	12.4
	Mean No. Resorptions early (late)	0.5 (0.3)	0.3 (0.1)	1.2 (0.1)	0.7 (0.1)
	No. Dead Fetuses	0	1	0	2
	Mean Percent Postimplantation Loss	5.3	3.6	9.2	6.4
	Mean Fetal Body Weight g (%) (M+F)[f]	1.35	-0.7	-4.4[h]	-0.7
	Fetal Sex Ratios (% males)	49.8	48.2	49.5	48.0
	Fetal Anomalies:[i]				
	Gross External				
	Cleft palate				
	No. Fetuses (%)	2 (0.7)	2 (0.6)	1 (0.4)	0
	No. Litters (%)	2 (10.0)	1 (4.0)	1 (4.8)	0
	Carpal and/or tarsal flexure				
	No. Fetuses (%)	2 (0.7)	0	1 (0.4)	4 (1.3)
	No. Litters (%)	2 (10.0)	0	1 (4.8)	4 (16.7)
	Open eyelid				
	No. Fetuses (%)	1 (0.4)	2 (0.6)	0	0
	No. Litters (%)	1 (5.0)	2 (8.0)	0	0

C Confidential

2.6.7.13A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CB-501,101: A GLP Intravenous Embryo/Fetal Development Study in Mice (CX.101.TX.001)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**300**	**1000**	**2000**
Litters: (Continued)	**Visceral Anomalies**				
	Kidney and ureter absent				
	No. Fetuses (%)	1 (0.4)	0	0	0
	No. Litters (%)	1 (5.0)	0	0	0
	Skeletal Anomalies				
	Sternebrae fused				
	No. Fetuses (%)	1 (0.4)	0	0	0
	No. Litters (%)	1 (5.0)	0	0	0
	Total Affected Fetuses (Litters)	6 (6)	4 (3)	2 (2)	4 (4)

a From toxicokinetics study [資料4.2.2.2.11] (CX.101.TK.002) conducted in pregnant mice using slow bolus IV injection to the lateral tail vein. There were three mice sampled per timepoint/dose.
b Bracketed value includes a single outlier following dose administration on day 6.
c Deaths occurred during dosing while animals were in the restrainer.
d This control female delivered early on GD 18.
e One female aborted 1 fetus on gestation day 17; 14 live fetuses with no apparent malformations were noted in utero. Body weight gains and food consumption for this female were similar to the control group values and there were no noteworthy clinical or macroscopic findings noted for this female. One female had an entirely resorbed litter; there were no remarkable clinical or macroscopic findings noted for the female. As no abortions or total resorptions were observed in the 2000 mg/kg/day group, these findings were not considered test article-related.
f Data from GD 18. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
g Data from GD 6 to 16.
h The values were within the historical control range of the testing facility.
i Percent values were calculated based on values reported in Table S13 of the study report as follows: (number of fetuses or litters with a reported finding) / (number of fetuses or litters examined) × 100%.

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours; $AUC_{0\text{-}\infty}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; C-Section = caesarian section; F0 = parental generation; F1 = first generation offspring; GLP = good laboratory practice; ICH = international conference on harmonisation; IV = intravenous; GD = gestation day; NA = not applicable; - = no noteworthy findings.

C Confidential

2.6.7.13B　Reproductive and Developmental Toxicity

Report Title: An Intravenous Injection Study of the Effects of CXA-101 on Embryo/Fetal Development in Rats (CXA101-T-006)

Test Article: Ceftolozane

Design similar to ICH 4.1.3: Yes					
Species/Strains: Rat/Sprague-Dawley [Crl:CD(SD)] **Drug Substance Lot No.:** [redacted]		**Duration of Dosing:** GD6 to GD17		**Module:** [資料4.2.3.5.2.3]	
Initial Age: 12 weeks		**Day of Mating:** GD 0		**Laboratory:** [redacted], USA	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		**Day of C-Section:** GD20			
Special Features: None		**Method of Administration:** Slow push IV (lateral tail vein)		**GLP Compliance:** Yes	
NOAELs: F0 Females: 300 mg/kg/day F1 Litters: 1000 mg/kg/day		**Vehicle/Formulation:** Saline, pH 5.5 to 6.0 (Vehicle)/ Saline (Control)			
Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Dams/Does:	**Toxicokinetics:**				
	$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL)[a] GD6	NA	169	522	1770
	$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL)[a] GD17	NA	230	678	2013
	C_0 (µg/mL)[a] GD6	NA	332	1062	3977
	C_0 (µg/mL)[a] GD17	NA	612	1759	5015
	No. Pregnant	23	25	24	25
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight g (%)[b]	373	0.5	-1.3	-2.7

C Confidential

2.6.7.13B　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: An Intravenous Injection Study of the Effects of CXA-101 on Embryo/Fetal Development in Rats (CXA101-T-006)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Dams/Does (continued):	**Body Weight Gain (g): GD6 to GD18**	73	76	71	64*
	Body Weight Gain (g): GD12 to GD18	56	58	56	50*
	Food Consumption g/animal/day (%)[b]	27	±0	-4	-7
	Gravid Uterine Weight (g)	86.1	87.7	82.7	80.9
	Mean No. Corpora Lutea	17.3	17.3	16.7	17.3
	Mean No. Implantations	16.4	16.7	15.8	15.4
	Mean Percent Preimplantation Loss	4.8	3.1	5.0	10.7
Litters:	**No. Litters Evaluated**	23	25	24	25
	No. Live Fetuses	356	402	360	371
	Live Litter Size	15.5	16.1	15.0	14.8
	Mean No. Early Resorptions	1.0	0.6	0.8	0.6
	No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
	Mean Percent Postimplantation Loss	6.0	3.8	4.6	3.6
	Mean Fetal Body Weight (g) (M+F)	3.6	3.5	3.5	3.6
	Fetal Sex Ratios (% males)	51.1	51.7	52.3	53.3
	Fetal Anomalies:[c]				
	Gross External				
	Intestine: Umbilical Herniation				
	No. Fetuses (%)	0	0	1 (0.3)	0
	No. Litters (%)	0	0	1 (4.2)	0
	Omphalocele				
	No. Fetuses (%)	1 (0.3)	0	0	0
	No. Litters (%)	1 (4.3)	0	0	0

C Confidential

2.6.7.13B　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: An Intravenous Injection Study of the Effects of CXA-101 on Embryo/Fetal Development in Rats (CXA101-T-006)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Litters (continued):	Vertebrae: Agenesis				
	No. Fetuses (%)	0	0	1 (0.3)	0
	No. Litters (%)	0	0	1 (4.2)	0
	Visceral Anomalies				
	Malpositioned Vessel				
	No. Fetuses (%)	1 (0.3)	0	0	0
	No. Litters (%)	1 (4.3)	0	0	0
	Lungs: Lobular Dysgenesis				
	No. Fetuses (%)	1 (0.3)	0	0	0
	No. Litters (%)	1 (4.3)	0	0	0
	Situs Inversus				
	No. Fetuses (%)	1 (0.3)	0	0	0
	No. Litters (%)	1 (4.3)	0	0	0
	Transposition of the Great Vessels				
	No. Fetuses (%)	1 (0.3)	0	0	0
	No. Litters (%)	1 (4.3)	0	0	0
	Skeletal Anomalies				
	Vertebral with or without Associated Rib Anomaly				
	No. Fetuses (%)	0	0	1 (0.3)	0
	No. Litters (%)	0	0	1 (4.2)	0

C Confidential

2.6.7.13B　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: An Intravenous Injection Study of the Effects of CXA-101 on Embryo/Fetal Development in Rats (CXA101-T-006)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Litters (continued):	Rib Anomaly				
	No. Fetuses (%)	1 (0.3)	0	0	1 (0.3)
	No. Litters (%)	1 (4.3)	0	0	1 (4.0)
	Sternoschisis				
	No. Fetuses (%)	0	1 (0.2)	0	0
	No. Litters (%)	0	1 (4.0)	0	0
	Total Affected Fetuses (Litters)	3 (2)	1 (1)	3 (2)	1 (1)

a From a toxicokinetic study conducted in pregnant rats [資料4.2.2.2.12] (CX.101.TK.001). There were four rats sampled per time point per group.

b At the end of the dosing period (GD18 for body weight and GD17 to GD18 for food consumption data reported). For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical analysis was conducted on empirical data (not on the percent differences).

c Percent values are calculated based on values reported in Table S12 of the study report as follows: (number of fetuses or litters with a reported finding) / (number of fetuses or litters examined) × 100%.

* $p<0.05$ (one-way analysis of variance followed by Dunnett's test).

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours; $AUC_{0\text{-}\infty}$ = area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity; C_0 = plasma drug concentration at time zero; C-Section = caesarian section; F0 = parental generation; F1 = first generation offspring; GLP = good laboratory practice; ICH = international conference on harmonisation; IV = intravenous; GD = gestation day; NA = not applicable; - = no noteworthy findings.

C Confidential

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.7.14A　Reproductive and Developmental Toxicity

Report Title: CXA-101:　A GLP Intravenous Pre- and Postnatal Development Study, Including Maternal Function, in Rats (CX.101.TX.012)

Test Article:　Ceftolozane

Design similar to ICH 4.1.2: Yes		**Duration of Dosing:** GD 6 - L 20	**Module:** [資料4.2.3.5.3.1]	
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) **Drug Substance Lot No.:** [redacted]		**Day of Mating:**　GD 0	**Laboratory:** [redacted] USA	
		Method of Administration: intravenous injection	**GLP Compliance:** Yes	
Initial Age: approximately 14 weeks		**Vehicle/Formulation:** sterile saline (0.9% NaCl), pH 5.4 to 5.9		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		**Litters Culled/Not Culled:** culled		
Special Features: histopathological examination of F_1 kidneys on PND 21				
No Observed Adverse Effect Levels:				
F_0 Overall Maternal Toxicity: 300 mg/kg/day (based on injection site effect) **F_0 Systemic Maternal Toxicity:** 1000 mg/kg/day **F_1 Neurobehavioral Toxicity:** 100 mg/kg/day **F_1 Developmental/Neonatal Toxicity:** 1000 mg/kg/day **F_1 Kidney Pathology Toxicity:** 1000 mg/kg/day		**F_1 Parental Systemic Toxicity:** 1000 mg/kg/day **F_1 Reproductive Toxicity:** 1000 mg/kg/day **F_2 Neonatal Toxicity:** 1000 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
F_0 Females:	**No. Evaluated**	25	25	25	25
	No. Pregnant	25	25	24	25
	No. Died or Euthanized *in Extremis*	0	1[a]	0	1[b]
	No. Aborted or with Total Res. of Litter	0	0	0	0

C Confidential

2.6.7.14A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CXA-101:　A GLP Intravenous on Pre- and Postnatal Development Study, Including Maternal Function, in Rats (CX.101.TX.012)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
F_0 Females: (Continued)	**Clinical Observations**[c]				
	Daily Examinations				
	Portion of tail black	0/0	0/0	0/0	83/4
	Injection Site Observations				
	Erythema – very slight	7/4	34/5	40/9	160/21
	Erythema – slight	0/0	3/2	2/1	91/12
	Erythema – moderate	0/0	0/0	0/0	13/5
	Erythema – severe	0/0	0/0	0/0	5/2
	Edema – very slight	0/0	2/2	2/1	67/9
	Edema –slight	0/0	0/0	0/0	30/4
	Edema – moderate	0/0	0/0	0/0	4/2
	Desquamation	0/0	0/0	0/0	16/6
	Blanching	0/0	0/0	0/0	61/4
	Subcutaneous hemorrhage	0/0	2/1	2/2	30/8
	Necrosis	0/0	0/0	0/0	81/4
	Gestation Body Weight (%)[d]	373	4.0	-0.3	-1.6
	Lactation Body Weight (%)[d]	323	3.4	0.3	2.5
	Gestation Food Consumption g/animal/day (GD 6 to 20)	21	22	21	20[e]
	Lactation Food Consumption g/animal/day (LD 1 to 21)	51	52	54	52
	Mean Duration of Gestation (days)	21.6	21.5	21.8	21.6
	Abnormal Parturition	-	-	-	-
	No. of Total Litter Losses	0	0	0	0
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	No. Litters Evaluated	25	24	24	25
	Mean No. of Implantations	14.1	15.8[e]	15.5	15.9[f]

C Confidential

2.6.7.14A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CXA-101:　A GLP Intravenous Pre- and Postnatal Development Study, Including Maternal Function, in Rats (CX.101.TX.012)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
F_1 Litters: (Preweaning)	**Mean No. Pups Born/Litter**	13.1	14.8	14.8	14.9[e]
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	13.1	14.8	14.8	14.9[e]
	Postnatal Survival to PND 4[g]	98.6	95.8	98.5	96.8
	Postnatal Survival PND4 to PND 21[g]	97.5	99.0	99.5	96.9
	Pup Birth Weight on PND 1- g (%)[h]				
	Male	7.0	6.7(-4.3)	6.8 (-2.9)	6.4 (-8.6)[f]
	Female	6.6	6.3 (-4.5)	6.5 (-1.5)	6.1 (-7.6)[f]
	Pup Birth Weight on PND 21- g (%)[h]				
	Male	48.5	49.2 (1.4)	52.9 (9.1)[f]	47.2 (-2.7)
	Female	46.4	46.7 (0.6)	50.1 (8.0)[e]	46.1 (-0.6)
	Pup Sex Ratios (% Males per Litter)	49.6	49.1	51.8	49.3
	Pup Clinical Observations	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-
	Kidney Histopathology Examination	-	-	-	-
F_1 Males: (Postweaning)	**No. Evaluated Postweaning Per Litter**	49	48	48	48
	No. Died or Euthanized *in Extremis*	0	0	1[i]	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight Change (g)				
	PND 21 to 84 (Pre-Mating)	427	431	411	405
	PND 21 to 126 (Entire Generation)	548	549	523	531

C Confidential

2.6.7.14A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CXA-101:　A GLP Intravenous Pre- and Postnatal Development Study, Including Maternal Function, in Rats (CX.101.TX.012)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
F_1 Males: (Postweaning) (Continued)	**Mean age at Preputial Separation (days)**	44.4	46.1[e]	44.0	45.5
	Startle Response[h]				
	PND 20	-	-	-	-
	PND 60				
	MAX (overall) (Newtons)	1.084	1.025 (-5.4%)	0.813[j] (-25.0%)	0.780[j] (-28.0%)
	T_{max} (overall) (milliseconds)	47.0	46.6 (-0.9%)	53.4[j] (13.6%)	50.4[j] (7.2%)
	AVE (Newtons)	0.476	0.444 (-6.7%)	0.340[j] (-28.6%)	0.328[j] (-31.1%)
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	No. of Males that Mated	23	22	23	23
	No. of Fertile Males	21	21	23	23

C Confidential

2.6.7.14A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CXA-101:　A GLP Intravenous Pre- and Postnatal Development Study, Including Maternal Function, in Rats (CX.101.TX.012)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
F_1 Females: (Postweaning)					
	No. Evaluated Postweaning	50	48	48	48
	No. Died or Euthanized *in Extremis*	1	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight Change (g) (PND 21 to 84)	241	234	223[e]	224[e]
	Gestation Body Weight Change (g) (GD 0 to 20)	139	130	125	138
	Lactation Body Weight Change (g) (LD 1 to 4)	12	9	12	9
	Mean Age of Vaginal Patency (days)	-	-	-	-
	Startle Response[h]				
	PND 20	-	-	-	-
	PND 60				
	MAX (overall) (Newtons)	0.867	0.733 (-15.5%)	0.707 (-18.5%)	0.680 (-21.6%)
	T_{max} (overall) (milliseconds)	52.1	51.5 (-1.2%)	54.1 (3.8%)	51.5 (-1.2%)
	AVE (Newtons)	0.355	0.298 (-16.1%)	0.285 (-19.7%)	0.273 (-23.1%)
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	2.7	3.4	2.5	3.0

C Confidential

2.6.7.14A　Reproductive and Developmental Toxicity (Continued)

Report Title: CXA-101:　A GLP Intravenous Pre- and Postnatal Development Study, Including Maternal Function, in Rats (CX.101.TX.012)

Test Article: Ceftolozane

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
F_1 Females: (Postweaning) (Continued)	**No. of Females with Evidence of Mating**	23	24	23	24
	No. Pregnant	21	23	24	24
	Mean Duration of Gestation (days)	21.7	21.9	21.8	21.7
	No. of Total Litter Loses	0	1	0	1
	Abnormal Parturition	-	-	-	-
	No. of Litters Evaluated	21	23	24	24
	Mean No. Implantations	15.5	14.2	14.1	14.8
	Mean No. of Pups Born/Litter	14.7	13.6	12.8	14.1
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	14.6	13.3	12.7	14.0
	Postnatal Survival to Day 4 (% per Litter)	97.9	91.2	98.5	88.5
	Pup Body Weight Change g (PND 1 to 4)				
	Males	2.5	2.9	3.0	2.5
	Females	2.5	2.8	2.9	2.6
F_2 Litters:	**Pup Sex Ratios (% Males per Litter)**	51.1	50.4	53.2	51.7
	Pup Clinical Observations	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-

a　Found dead immediately after dosing on gestation Day 12. This death was attributed to the IV dosing or restraining procedures.
b　Found dead after delivering on lactation Day 0. No other deaths, signs of systemic toxicity, or difficulties were noted in other F_0 female in 1000 mg/kg/day group. Therefore, this single death at the time of parturition was not attributed to test article administration.
c　Presented as the total occurrence/number of animals.
d　At end of gestation or lactation. For controls, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown.
e　Statistically significant using Dunnett's Test at　$p<0.05$. The changes were not attributed to test article administration (CX.101.TX.012).
f　Statistically significant using Dunnett's Test at　$p<0.01$. The changes were not attributed to test article administration (CX.101.TX.012).
g　% per litter.
h　For all groups means are shown. For ceftolozane treated groups, percent differences from control are shown in parentheses.
i　Euthanized in extremis on PND47. Hypoactivity, hunched posture, red material around the nose and decreased defecation were observed, but not dose-dependent.
j　Significantly different from control group at $p<0.05$ using repeated measures analysis.
Abbreviations: F0 = parents; F1 = first generation; F2 = second generation; GD = gestation day; g = grams;　LD = lactation day; PND = postnatal day; SD = Sprague Dawley; - = no noteworthy findings.

C Confidential

2.6.7.15　生殖発生毒性試験：幼若動物を用いた試験

2.6.7.15A　Pivotal Toxicity in Juvenile Animals

Report Title: Ceftolozane/Tazobactam: A GLP 28-Day Subcutaneous Toxicity Study Including Toxicokinetics with a 28-Day Recovery Period in Neonatal Sprague-Dawley Rats (CX.101.TX.038)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley			**Duration of Dosing:** 28 days			**Module:** [資料4.2.3.5.4.2]		
Initial Age: Postnatal day (PND) 4			**Duration of Postdose:** 28 days					
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]			**Method of Administration:** Once daily SC			**GLP Compliance:** Yes		
Drug Substance Lot No.: Ceftolozane: [redacted] Tazobactam: [redacted]			**Vehicle/Formulation:** Sterile saline for injection, pH 5.4 to 5.9			**Laboratory:** [redacted]		
Special Features: None								
NOAEL: 300/150 mg/kg/day								
Daily Dose (C/T)	**0/0 mg/kg/day**		**50/25 mg/kg/day**		**300/150 mg/kg/day**		**1000/500 mg/kg/day**	
Number of Animals (Gender / No. Evaluated)								
Dosing	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**
Recovery	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**
Toxicokinetics	**M / 6**	**F /6**	**M / 15-36[a]**	**F / 15-36[a]**	**M / 15-36[a]**	**F / 15-36[a]**	**M / 15-36[a]**	**F / 15-36[a]**
AUC_{last} (µg·h/mL) Day 1: C/T	NA	NA	289/61.4	263/58.5	1470/437	1580/416	5950/2250	6410/2470
	NA		276/59.9		1520/426		6180/2360	
AUC_{last} (µg·h/mL) Day 28: C/T	NA	NA	44.2/7.28	50.7/5.95	312/33.9	280/32.2	951/153	1050/157
	NA		47.5/6.62		296/33.0		1000/155	
C_{max} (µg/mL) Day 1: C/T	NA	NA	103/31.8	90.9/37.4	532/291	517/224	1370/730	1490/723
	NA		97.0/34.6		525/257		1430/727	
C_{max} (µg/mL) Day 28: C/T	NA	NA	42.0/10.2	51.5/10.8	287/54.4	300/65.1	727/248	894/266
	NA		46.8/10.5		294/59.8		811/257	

C Confidential

2.6.7.15A　Pivotal Toxicity in Juvenile Animals (Continued)

Report Title: Ceftolozane/Tazobactam: A GLP 28-Day Subcutaneous Toxicity Study Including Toxicokinetics with a 28-Day Recovery Period in Neonatal Sprague-Dawley Rats (CX.101.TX.038)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Daily Dose (C/T)	**0/0 mg/kg/day**		**50/25 mg/kg/day**		**300/150 mg/kg/day**		**1000/500 mg/kg/day**	
Main Study – dosing								
Noteworthy Findings								
No. animals evaluated	**M / 20**	**F /20**	**M / 20**	**F /20**	**M / 20**	**F /20**	**M / 20[b]**	**F /20**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1[b]	0
Clinical Observations								
Decreased clinical motor activity	0	0	0	0	7[c] (PND17-21)	2[c] (PND17-20)	19** (PND12-25)	20** (PND13-31)
Impaired righting reflex	0	0	0	0	7[c] (PND17-21)	2[c] (PND17-20)	19** (PND12-25)	20** (PND13-31)
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (PND 21-31)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology Exam	-	-	-	-	-	-	-	-
No. animals evaluated	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10[b]**	**F /10**
Sexual Maturation	-	-	-	-	-	-	-	-
Acoustic Startle Habituation (PND25 ±2)	-	-	-	-	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.15A　Pivotal Toxicity in Juvenile Animals (Continued)

Report Title: Ceftolozane/Tazobactam: A GLP 28-Day Subcutaneous Toxicity Study Including Toxicokinetics with a 28-Day Recovery Period in Neonatal Sprague-Dawley Rats (CX.101.TX.038)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Daily Dose (C/T)	**0/0 mg/kg/day**		**50/25 mg/kg/day**		**300/150 mg/kg/day**		**1000/500 mg/kg/day**	
Main Study – dosing (cont'd)								
No. animals evaluated	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10[b]**	**F /10**
Functional Observational Battery (PND28 ± 2)	-	-	-	-	-	-	-	-
Motor Activity (PND22 ± 2)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology[e]								
Erythrocytes (10^6/cmm)	6.01	5.79	5.76	5.89	5.76	5.97	5.38*[d]	5.36*[d]
Hemoglobin (g/dL)	12.9	12.4	12.4	12.5	12.3	12.6	11.5*[d]	11.4*[d]
Hematocrit (%)	42.4	40.7	40.7	41.0	40.6	41.6	38.7*[d]	38.0*[d]
Coagulation[e]	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry[e]	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Femur Length	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights								
Kidney (paired) g (%)[f]	1.47	1.43	+7.5	+2.1	+20.4**	+9.8*	+26.5**	+8.4*
Histopathology								
Liver – centrilobular hypertrophy[g]								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	3
Mild	0	0	0	0	0	0	1	5

C Confidential

2.6.7.15A　Pivotal Toxicity in Juvenile Animals (Continued)

Report Title: Ceftolozane/Tazobactam: A GLP 28-Day Subcutaneous Toxicity Study Including Toxicokinetics with a 28-Day Recovery Period in Neonatal Sprague-Dawley Rats (CX.101.TX.038)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Daily Dose (C/T)	**0/0 mg/kg/day**		**50/25 mg/kg/day**		**300/150 mg/kg/day**		**1000/500 mg/kg/day**	
Main Study – dosing (cont'd)								
No. animals evaluated	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**
Histopathology (cont'd)								
Administration site								
Subcutaneous hemorrhage[h]								
Minimal	0	0	0	0	4	3	2	1
Mild	0	1	0	0	0	1	4	7
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	1
Subcutaneous infiltration of mixed cells[h]								
Minimal	0	0	2	0	4	2	1	0
Mild	0	0	0	0	0	2	7	8
Recovery								
No. animals evaluated	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 9[b]**	**F /10**
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Acoustic Startle Habituation (PND53 ±2)	-	-	-	-	-	-	-	-
Functional Observational Battery (PND56 ± 2)	-	-	-	-	-	-	-	-
Motor Activity (PND50 ± 2)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.15A　Pivotal Toxicity in Juvenile Animals (Continued)

Report Title: Ceftolozane/Tazobactam: A GLP 28-Day Subcutaneous Toxicity Study Including Toxicokinetics with a 28-Day Recovery Period in Neonatal Sprague-Dawley Rats (CX.101.TX.038)

Test Article: Ceftolozane/Tazobactam

Daily Dose (C/T)	**0/0 mg/kg/day**		**50/25 mg/kg/day**		**300/150 mg/kg/day**		**1000/500 mg/kg/day**	
Recovery –(cont'd)								
No. animals evaluated	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 10**	**F /10**	**M / 9[b]**	**F /10**
Histopathology								
Liver – centrilobular hypertrophy								
Minimal	0	0	0	0	0	0	5	3
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Administration site								
Subcutaneous hemorrhage	-	-	-	-	-	-	-	-
Subcutaneous infiltration of mixed cells								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1

a A total of 36 rats/sex/group were utilized for toxicokinetics on PND4 (Day 1 of treatment) and 15 rats/sex/group used on PND31 (Day 28 of treatment).
b Male rat 771 was found dead on postnatal day 21. Histopathologic evaluation revealed the presence of focal hemorrhage within the substance of the spinal cord, consistent with traumatic spinal cord injury caused by insertion of the dosing needle into the spine. Values from this animal were excluded or not evaluated in the following examinations: Food Consumption, Ophthalmology Exam, Sexual Maturation, Acoustic Startle Habituation, Functional Observational Battery and Motor Activity.
c Changes in this group were not considered to be adverse or toxicologically relevant because they occurred at a low incidence and short duration.
d Changes were not considered to be adverse because they were of a small magnitude and within the historical control data.
e Due to the size of rats at sacrifice on PND32 and limited blood volume, blood for hematology and coagulation were collected from 5 rats/sex/group and blood from the remaining 5 rats/sex/group were collected for clinical chemistry.
f For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
g Change was considered to be adaptive and non-adverse because of the absence of effects on liver weight and clinical chemistry.
h Changes were not considered to be relevant to the determination of the NOAEL because similar changes were also observed in the control group.
* = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0.01$; using Dunnett's test.
Abbreviations: - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the plasma concentration time-curve from time zero to last time point; C = ceftolozane; C_{max} = maximum (peak) plasma drug concentration; F = female; M = male; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level; PND = postnatal day; SC = subcutaneous; T = tazobactam

C Confidential

2.6.7.16　局所刺激性試験

セフトロザン又はセフトロザン／タゾバクタムを用いた単独の局所刺激性試験は実施しなかった。局所刺激性は、セフトロザン又はセフトロザン／タゾバクタムを用いた単回及び反復投与毒性試験において評価した。

C Confidential

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.1　抗原性試験

Other Toxicity Studies: Ceftolozane

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Antigenicity						
Mouse/ Crj:BDF1	IP	Day 0 and Day 21	10 or 100 µg/animal + 4 mg/animal alum Positive control: 10 µg/animal Egg albumin + 4 mg/animal alum [4 lots ceftolozane evaluated]	F / 10	There was 1 mortality in an animal administered 10 µg ceftolozane (on Day 8) as well as in a positive control (Day 9). The causes of death for these animals were unknown. Ceftolozane did not elicit anti-ceftolozane IgE antibodies in the rat PCA reaction test.	[資料4.2.3.7.1.1] TX[redacted]2007
Guinea pigs/ Hartley	Sensitization: SC Elicitation: various[a]	3 times at 2 week intervals	0 (saline), 10 mg/kg ceftolozane Positive controls: 10 mg/kg.PCG, 5 mg/kg BSA (Co-administered with FCA 1st time and FIA for subsequent treatments)	M / 10 (Saline: M/14, BSA: M/2)	In the skin reaction test no positive reactions were observed with the ceftolozane. Ceftolozane showed a mild response in the systemic anaphylactic reaction test as 4/10 animals showed positive reactions compared to all animals in PCG-GPA and BSA-treated groups. In the PCA reaction test a mild response was observed in 2/10 animals administered (antibody values: 4X and 8X).	[資料4.2.3.7.1.2] [redacted]48-42

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Antigenicity (continued)						
Guinea pigs/ Hartley	Sensitization: SC Elicitation: various[a]	Once/ week for 4 weeks	0 (saline) + FCA, 10 mg/kg ceftolozane +/-FCA, Positive control: BSA + FCA [2 lots ceftolozane were evaluated]	M / 10 (Saline: M/5, BSA: M/5)	Ceftolozane did not result in any noteworthy responses in the skin reaction test. Ceftolozane administered alone was negative for immune responses in the other tests. 3/10 animals treated with lot [redacted] + FCA (all died) and 4/10 animals treated with lot [redacted] + FCA (3 died) were positive in the systemic anaphylactic test. In the PCA test 3/10 animals administered with lot [redacted] + FCA (antibody titer: 64 to 128) and 4/10 animals administered [redacted] + FCA (antibody titer: 8 to >512) were positive for serum IgG.	[資料4.2.3.7.1.3] TX[redacted]2004
Guinea pigs/ Hartley	Sensitization: SC Elicitation: various[a]	3 times at 2 week intervals	0 (saline), 10 mg/kg ceftolozane Positive controls: 5 mg/kg BSA, 10 mg/kg PCG (Co-administered with FCA 1st time and FIA for subsequent treatments)	M / 10 (Saline: M/2, BSA: M/3)	In the skin reaction test no reactions were observed with ceftolozane. In the systemic anaphylaxis reaction test, 2 animals were positive (1 died within 30 minutes). In the PCA reaction test 5 animals were positive for IgG (antibody titer 8 to >512).	[資料4.2.3.7.1.4] TX[redacted]2009

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Antigenicity (continued)						
Guinea pigs/ Hartley	Sensitization: SC Elicitation: various[a]	Once/ week for 4 weeks	0 (saline) + FCA, 10 mg/kg ceftolozane +/- FCA; Positive control: 5 mg/kg BSA + FCA [2 lots ceftolozane were evaluated]	M / 10 (Saline: M/5, BSA: M/5)	There were no noteworthy findings in animals treated with ceftolozane alone. In the skin reaction test up to 2 ceftolozane + FCA animals for each lot had a skin reaction after elicitation. In the systemic anaphylaxis test up to 6 animals in each of the ceftolozane + FCA groups displayed anaphylactic reactions (not more than 4 died in each group within 30 minutes after elicitation). In contrast, all BSA-treated animals died following elicitation. In the PCA reaction test up to 6 animals/ ceftolozane + FCA group had IgG antibodies (antibody titer: 4 to >512). In contrast all BSA-treated animals had antibody titers >512.	[資料4.2.3.7.1.5] TX[redacted]2001
Guinea pigs/ Hartley	Sensitization: SC Elicitation: various[a]	Once/ week for 4 weeks	0 (saline) + FCA, 10 mg/kg ceftolozane +/- FCA; Positive control: 5 mg/kg BSA + FCA [2 lots ceftolozane were evaluated]	M / 10 (1 lot: M/5) (Saline: M/5, BSA: M/5)	Ceftolozane administered alone did not result in any noteworthy responses in the skin reaction test. Ceftolozane administered alone was negative for immune responses in the other tests. In the systemic anaphylaxis test, up to 4 animals administered ceftolozane + FCA displayed anaphylaxis (1 animal died). In the PCA test up to 4 animals in each of the ceftolozane + FCA groups had IgG antibodies (antibody titer: 8 to 64).	[資料4.2.3.7.1.6] TX[redacted]2005

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Antigenicity (continued)						
Guinea pigs/ Hartley	Sensitization: SC Elicitation: various[a] [PCA elicitation dose was 1 mg/kg IV]	Once/ week for 4 weeks	0 (saline) + FCA, 10 mg/kg ceftolozane, 10 mg/kg ceftolozane + FCA Positive control: 5 mg/kg BSA + FCA	M / 5	Ceftolozane did not result in any noteworthy responses in the skin reaction test, systemic anaphylactic reaction test, or the PCA reaction test.	[資料4.2.3.7.1.7] TX[redacted]2008
Guinea pigs/ Hartley	Sensitization: SC Elicitation: various[a]	Once/ week for 4 weeks	0 (saline) + FCA, 10 mg/kg ceftolozane (bulk powder) +/- FCA, 10 mg/kg (drug product) +/- FCA Positive control: 5 mg/kg BSA + FCA [2 lots ceftolozane were evaluated]	M / 10 (Saline: M/3 or 4, BSA: M/3)	There were no reactions reported in the skin reaction test. In the systemic anaphylactic reaction test, there were no anaphylactic symptoms in animals given ceftolozane alone; however, anaphylactic symptoms were evident in 2/10 and 1/10 animals administered FCA with the bulk powder and drug product, respectively. Low levels of IgG antibodies (titres of 16 versus >512 in positive controls) were reported in 2/10 animals administered FCA and the ceftolozane bulk powder. All remaining animals administered ceftolozane were negative for IgG antibodies.	[資料4.2.3.7.1.8] TX[redacted]2017

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Antigenicity (continued)						
Guinea pigs/ Hartley	Sensitization: SC Elicitation: various[a]	Once/ week for 4 weeks	0 (saline) + FCA, 10 mg/kg ceftolozane, 10 mg/kg ceftolozane + FCA Positive control: 5 mg/kg BSA + FCA	M / 5	There were no reactions reported in the skin reaction test. In the systemic anaphylactic reaction test, there were no anaphylactic symptoms in animals given ceftolozane; however, anaphylactic symptoms were evident in 2 animals given ceftolozane plus FCA resulting in the death of 1 animal. These same 2 animals displayed low level IgG antibody responses in the PCA reaction test (antibody titers of 32 and 64, compared to >512 reported in positive controls). There were no other samples noted to have IgG antibodies.	[資料4.2.3.7.1.9] TX[redacted]2012
Guinea pigs/ Hartley	Sensitization: SC Elicitation: various[a]	3 times at 2 week intervals	0 (saline), 10 mg/kg ceftolozane Positive controls: 10 mg/kg PCG, 5 mg/kg BSA (Co-administered with FCA 1st time and FIA for subsequent treatments)	M / 10	Ceftolozane was not associated with any findings in the skin reaction test. In the systemic anaphylactic test, 5/10 animals displayed minimal to severe anaphylaxis (1 died). In the PCA reaction test, 2/10 animals had very low levels of IgG (titers of 32X compared to ≥4,096X for BSA-treated animals).	[4.2.3.7.1.10] [redacted]48-24

C Confidential

2.6.7.17.2　免疫毒性試験

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Immunotoxicity						
Mouse/ BALB/ cAnNCrj, SPF	SC into either left (controls) or right (treatments) foot pad	Once	0, 20, 60, or 200 mg/mL. Positive control: D-penicillamine	M / 10 for negative and positive controls; M / 20 dosed with ceftolozane	Ceftolozane was not associated with changes in weight index, cellularity index, or T cell ratios in the PLNA in mice. B cells were slightly higher at the site injected with test article compared to site injected with saline at 60 mg/mL (17.21 for B cells at the site of test article administration compared to 12.51 at the site of saline administration), but this was considered to be within normal background levels.	[資料4.2.3.7.2.1] 800524
Mouse BALB/c and BDF1	IV	5 days	0, 300 mg/kg/day	F / 5	300 mg/kg/day: four BDF1 mice showed microscopic evidence of lymphoid follicle development in spleen; one BDF1 mouse administered saline showed lymphoid follicles in the spleen. No difference between number of ceftolozane treated and saline treated BALB/c mice showing lymphoid follicles in spleen. Mean levels of serum IgM were slightly but statistically significantly increased in BDF1 mice (but not BALB/c mice) treated with ceftolozane as compared to saline controls.	[資料4.2.3.7.2.2] MB[redacted]0034

C Confidential

2.6.7.17.3　不純物の安全性

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Impurity Qualification (continued)						
NA	NA	NA	NA	NA	Ceftolozane-related degradants/impurities Peak 1 (不純物A*), Peak 2a (不純物B*), Peak 2b (不純物C*), Peak 2c (不純物D*), Peak 3 (不純物E*), Peak 4 (不純物F*), Peak 5 (不純物G*), Peak 7 (不純物H*), and Peak 9 (不純物I*) are qualified based upon the results of general repeat dose toxicity studies conducted using the most sensitive species combined with data from in silico mutagenicity analyses and genotoxicity assays. Tazobactam related compound A is considered qualified based on the USP Product Monograph in combination with the absence of structural alerts for mutagenicity using in silico analyses. These data justify the drug substance and drug product manufacturing and release specifications for these ceftolozane and tazobactam related degradants/impurities at a clinical daily dose of 3000 mg ceftolozane /1500 mg tazobactam for a clinical treatment duration of ≤ 14 days.	[資料4.2.3.7.6.1] CX.101.TX.036

*新薬承認情報提供時に置き換え

Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Impurity Qualification						
Rat/Sprague Dawley	IV once daily	Daily for 4 weeks	0, 100, 300 mg/kg/day	M / 10 F / 10	100 mg/kg/day: Perivascular fibrosis at the injection site was observed in females. 300 mg/kg/day: Proximal tubular hyaline droplets in the renal cortex were found in 2 males. At the injection site, perivascular hemorrhage and infiltration of inflammatory cells were found in males, and perivascular fibrosis was found in males and females. The NOAEL for this study is considered 300 mg/kg/day based on the conclusions of a Pathology Working Group convened for this study [資料4.2.3.2.9].	[資料4.2.3.7.6.2] TX[redacted]3007
Rat /Sprague Dawley	IV once daily	28 days	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day Lot [redacted] and [redacted] (forced degraded); 1000 mg/kg/day Lot [redacted]	M / 10-15 F / 10-15	Commercial process (Lot [redacted]): Non-adverse ceftolozane-related effects were limited to slightly lower (-0.9% to -6.1%) red blood cell counts with corresponding higher (4.8% to 44.4%) absolute and percent reticulocytes for all ceftolozane-treated groups, pale kidneys for the 300 and 1000 mg/kg/day group males, slightly higher (6.0% to 13.7%) kidney weights for the 1000 mg/kg/day group males and females, and microscopic findings of renal hyaline droplets for all ceftolozane-treated group males and renal tubular cell vacuolation in the 1000 mg/kg/day group females at the primary necropsy. The NOAEL was identified as 1000 mg/kg/day.	[資料4.2.3.2.6] CX.101.TX.031

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Impurity Qualification (continued)						
Rat /Sprague Dawley (Continued)	IV once daily	28 days	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day Lot [redacted] and [redacted] (forced degraded); 1000 mg/kg/day Lot [redacted]	M / 10-15 F / 10-15	Commercial process followed by forced degradation (Lot [redacted]): Non-adverse ceftolozane-related effects were limited to slightly lower (-1.8% to -6.5%) red blood cell counts with corresponding higher (5.0% to 44.4%) reticulocyte counts for all dose groups, pale kidneys for the 300 and 1000 mg/kg/day group males, slightly higher (10.5% to 21.9%) kidney weights for the 1000 mg/kg/day group males and females, and microscopic findings of renal hyaline droplets for all ceftolozane-treated group males and renal tubular cell vacuolation in the 1000 mg/kg/day group females at the primary necropsy. Variations in RBC parameters were within the historical control range, and no evidence of necrosis, degeneration or effect on renal function were observed in the kidney. The NOAEL was identified as 1000 mg/kg/day. Clinical development process (Lot [redacted]): Non-adverse slightly lower (-2.8% to -4.2%) red blood cell counts with corresponding higher (15.9% to 23.4%) reticulocyte counts for males and females, pale kidneys in males and microscopic findings of renal hyaline droplets in males at the primary necropsy in the 1000 mg/kg/day group. The NOAEL was identified as 1000 mg/kg/day.	CX.101.TX.031 (cont'd)

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Impurity Qualification (continued)						
Mutagenicity analysis using DEREK and Leadscope	In silico	NA	NA	NA	All starting materials, solvents, reagents, process intermediates, as well as structurally-related and structurally-unrelated impurities present in ceftolozane sulfate drug substance (DS) are considered adequately controlled and should not represent a safety concern to patients receiving the clinically relevant ceftolozane daily dose of 3000 mg. No ceftolozane-related impurities with mutagenic potential were detected in ceftolozane sulfate DS above the threshold acceptable for the intended short-term (≤ 14 days) drug administration period for the target indications for this drug candidate (ie, treatment of serious Gram-negative bacterial infections). No new ceftolozane-related impurities are known to be generated in the manufacture of the ceftolozane/tazobactam drug product (DP).	[資料4.2.3.7.6.3] CX.101.TX.034
S. typhimurium TA100, TA98, TA1535, TA1537 and *E.coli* WP2 *uvrA*	In vitro	48 h	0, 0.156 to 40 µg/plate (forced degraded product of ceftolozane)	NA	The forced degraded product of ceftolozane inhibited the growth of TA100 and TA98 at concentrations of 10 µg/plate and higher; TA1535 (with metabolic activation), TA1537 and WP2 *uvrA* at 1.25 µg/plate and higher; and TA1535 (without metabolic activation) at 2.5 µg/plate and higher.	[資料4.2.3.7.6.4] TX[redacted]7068

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Impurity Qualification (continued)						
In vitro; *S. typhimurium* TA100, TA98, TA1535, TA1537 and *E.coli* WP2 *uvrA*	In vitro	48 h	0, 0.0781 to 20 µg/plate (forced degraded product of ceftolozane)	NA	At concentrations of 0.0781 to 1.25 µg/plate (TA1535, TA1537, and WP2 *uvrA*) and 0.313 to 5 µg/plate (TA100 and TA98), the forced degradation product of ceftolozane did not increase the mean number of revertant colonies to at least double the number in the solvent control group for any bacterial strain tested, regardless of the presence or absence of metabolic activator. Ceftolozane inhibited the growth of the tester strains at higher concentrations.	[資料4.2.3.7.6.5] TX[redacted]7091
In vitro; Chinese hamster lung fibroblasts	In vitro	6, 24, or 48 h	0, 156 to 5000 µg/mL (forced degraded product of ceftolozane)	NA	Inhibition of the growth of CHL fibroblasts by the forced degraded product of ceftolozane was investigated. The growth of CHL cells was inhibited in a concentration-dependent manner after 24 and 48 hours of culture in the absence of metabolic activation with IC_{50} values of 2300 and 650 µg/mL, respectively. No inhibition of cell growth was observed after 6 hours of culture in the presence or absence of metabolic activation at concentrations up to and including 5000 µg/mL.	[資料4.2.3.7.6.6] TX[redacted]7071

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Impurity Qualification (continued)						
In vitro; Chinese hamster lung fibroblasts	In vitro	6, 24, or 48 h	0, 125 to 5000 µg/mL without metabolic activation; 1250 to 5000 µg/mL with metabolic activation (forced degraded product of ceftolozane)	NA	Forced degraded product of ceftolozane was not associated with a significant increase in the number of cells with structural and numerical chromosomal aberrations compared to the vehicle control at concentrations of 125 to 5000 µg/mL (without metabolic activation) or 1250 to 5000 µg/mL (with metabolic activation).	[資料4.2.3.7.6.7] TX[redacted]7088
Mouse/ICR	IV	Single dose (dose selection for TX[redacted]7079)	500, 1000, 1500, or 2000 mg/kg (forced degraded)	M / 3 F / 3	500: No findings. 1000: No findings. 1500: Transient decrease in body weight in male and females. 2000: 2 M and 2 F died. Convulsions observed immediately postdose. Transient decrease in body weight in both sexes on day after dosing.	[資料4.2.3.7.6.8] TX[redacted]7055
Mouse (ICR)	IV	Single dose	0, 375, 750, 1500 mg/kg (forced degraded)	M / 5 F / 5	The mean values of incidence of micronucleated reticulocytes in the test article treatment groups were 1.2 to 2.6‰ for males and 1.0 to 2.1‰ for females, which were similar to those in the vehicle control group (1.8‰ for males and 1.4‰ for females). The forced degraded product of ceftolozane was negative for clastogenic potential in vivo.	[資料4.2.3.7.6.9] TX[redacted]7079

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Biological Safety Studies of Raw Materials and Intermediates						
MTT test (cytotoxicity) : CHL Cells Umu test (genotoxicity): *S. typhimurium* TA1535/ pSK1002	In vitro	MTT: 24 h Umu test: 2 h	Various starting materials and intermediates of ceftolozane were evaluated: MTT: 0.195 to 2500 µg/mL Umu test: 6.86 to 5000 µg/mL [7 compounds evaluated]	NA	MTT IC_{50} values: IC_{50} values for cytotoxicity ranged from 32 to >2500 µg/mL. Umu: Each test substance resulted in no genotoxic potential (negative) in the presence or absence of S9 mix.	[資料4.2.3.7.7.3] TX[redacted]7137
MTT: CHL Cells Umu test: *S. typhimurium*	In vitro	MTT: 24 h Umu test: 2 h	MTT: 0.195 to 2500 µg/mL Umu test: 6.86 to 5000 µg/mL [Starting materials and intermediates of ceftolozane were evaluated]	NA	MTT IC_{50} values: IC_{50} values for cytotoxicity ranged from 44 to >2500 µg/mL. Umu: All test articles were negative for genotoxicity in the presence or absence of S9 mix.	[資料4.2.3.7.7.4] TX[redacted]7179

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Biological Safety Studies of Raw Materials and Intermediates (continued)						
MTT: CHL Cells Umu test: *S. typhimurium*	In vitro	MTT: 24 h Umu test: 2 h	MTT: 1.22 to 5000 µg/mL Umu test: 6.86 to 5000 µg/mL [Ceftolozane and 3 intermediates were evaluated]	NA	MTT IC_{50} values: Ceftolozane has an IC_{50} values of >5000 µg/mL. IC_{50} values of 3 intermediates ranged from >625 to >5000 µg/mL. Umu: All test articles were negative for genotoxicity in the presence or absence of S9 mix.	[資料4.2.3.7.7.5] K[redacted]Z380
MTT: CHL Cells Umu test : *S. typhimurium*	In vitro	MTT: 24 h Umu test: 2 h	MTT: 0.08 to 2500 µg/mL Umu test: 6.86 to 5000 µg/mL [5 intermediates of ceftolozane were evaluated]	NA	MTT IC_{50} values: IC_{50} values for cytotoxicity ranged from 10 to 336 µg/mL. Umu: All test articles were negative for genotoxicity in the presence or absence of S9 mix.	[資料4.2.3.7.7.6] K[redacted]Z138

C Confidential

2.6.7.17.4　その他の試験

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Phototoxicity						
Rat/Long Evans	IV	4 days	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day positive control: 10 mg/kg/day 8-methoxypsoralen	F / 5	Ceftolozane produced no skin reactions or ophthalmological observations (confirmed by histopathology) indicative of phototoxicity following four consecutive daily administrations to female Long Evans rats at doses up to and including 1000 mg/kg/day, the highest dose assessed. Rats administered the positive control showed skin reactions and ophthalmological observations (confirmed by histopathology) indicative of phototoxicity.	[資料4.2.3.7.7.1] CX.101.TX.013
Hemolysis						
Human whole blood	In vitro	30 minutes	5, 10, 20, 30, 50 mg/mL	NA	No hemolysis occurred at concentrations ranging from 5 to 50 mg/mL indicating that the drug solution can be administered IV without hemolysis in this range of the concentration.	[資料4.2.3.7.7.2] PDR[redacted]0244
Human whole blood	In vitro	30 minutes	0.3, 1, 3 mg/mL	M / 2	No hemolysis noted at concentrations up to and including 3 mg/mL.	[資料4.2.1.3.7] PH[redacted]1574

C Confidential

Other Toxicity Studies: Ceftolozane (Continued)

Test Article: Ceftolozane

Species/ Strain (Test System)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Module/ Study Number
Worker Safety Studies						
Guinea pig (Hartley)	Dermal	6 h exposure once/week for 3 weeks	400 mg at 100% w/v	M / 2; F / 2 for range finding M / 5-10; F / 5-10 for induction and challenge phase	Ceftolozane is classified as a nonsensitizer. Following topical patch applications to guinea pigs at 100% (neat), ceftolozane did not elicit skin sensitization reactions (allergic contact dermatitis). No dermal irritation was observed in any animal when challenged with ceftolozane.	[資料4.2.3.7.7.7] CX.101.TX.027
Rabbit / New Zealand White Hra: (NZW)SPF	Dermal	3 minutes to 4 h	500 mg	M / 3	Ceftolozane produced no irritation when administered dermally to three rabbits and scored according to the method of Draize.	[資料4.2.3.7.7.8] CX.101.TX.028

a For the skin reaction test, animals were injected intradermally with a single 0 or 50 µg dose of ceftolozane. For the systemic anaphylactic reaction test, animals were intravenously administered a single dose of 0 or 20 mg/kg of ceftolozane. For the Passive cutaneous anaphylaxis test, IgG antibodies were measured in serum following elicitation with a 20 mg/kg intravenous dose of ceftolozane. Exceptions to these elicitation conditions are noted in the above table.

Abbreviations: alum = aluminum hydroxide gel suspension; BSA = bovine serum albumin; CHL = Chinese hamster lung fibroblasts; F = female; FCA = Freund's complete adjuvant; FIA = Freund's incomplete adjuvant; GPA = guinea pig serum albumin; h = hours; IC_{50} = median inhibitory concentration; IgE = immunoglobulin E; IgG = immunoglobulin G; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; M = male; MTT = 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; NA = not applicable; PCA = passive cutaneous anaphylaxis; PCG = penicillin G potassium; PLNA = popliteal lymph node assay; SC = subcutaneous; SD = Sprague Dawley; S9 = metabolic activation mix; v = volume; w = weight.

C Confidential