2.6.6 毒性試験の概要文

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 8
2.6.6.3 反復投与毒性試験 8
2.6.6.4 遺伝毒性試験 15
2.6.6.5 がん原性試験 16
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 16
2.6.6.7 局所刺激性試験 19
2.6.6.8 その他の毒性試験 20
2.6.6.9 考察及び結論 22
2.6.6.10 図表 31
2.6.6.11 参考文献 31

2.6.6 毒性試験の概要文

用語及び略号一覧

用語及び略号	内容又は日本語名称
ALP	アルカリフォスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血漿中濃度–時間曲線下面積
Binimetinib	ビニメチニブ
BUN	血中尿素窒素
Cmax	最高血漿中濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
DMSO	ジメチルスルホキシド
Encorafenib	エンコラフェニブ
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	医薬品規制調和国際会議
IC_{50}	50%阻害濃度
MEK	Mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase
NR	ニュートラルレッド
PEG	ポリエンチレングリコール
PIF	Photo-irritation-factor
S9mix	代謝活性化系
TK	トキシコキネティクス
Tween 80	モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン
UVA	紫外線 A 波

2.6.6.1 まとめ

Encorafenib の経口投与製剤を BRAF 遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫の治療薬として承認申請するにあたり，ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（薬食審査発 0604 第 1 号，平成 22 年 6 月 4 日）（以下，ICH S9 ガイドライン）に基づき，encorafenib の毒性試験を実施した．実施した毒性試験の一覧を表 2.6.6.1-1 に示す．単回及び反復投与毒性試験では，げっ歯類はラットを，非げっ歯類については encorafenib の *in vivo* 代謝物プロファイルがヒトと類似しているサルを使用し，すべての重要な試験は GLP に準拠して実施した．

表 2.6.6.1-1 毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	GLP 適用
単回投与毒性試験			
用量漸増による単回[a]	経口	カニクイザル	不適
反復投与毒性試験			
1 カ月間	経口	ラット	適
3 カ月間	経口	ラット	適
1 カ月間	経口	カニクイザル	適
3 カ月間	経口	カニクイザル	適
3 カ月間[b]	経口	カニクイザル	適
遺伝毒性試験			
復帰突然変異試験	*In vitro*	*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*	適
染色体異常試験	*In vitro*	ヒトリンパ球	適
小核試験	経口	ラット	適
生殖発生毒性試験			
胚・胎児試験	経口	ラット	適
胚・胎児用量設定試験	経口	ウサギ	不適
胚・胎児試験	経口	ウサギ	適
局所刺激性試験			
皮膚刺激性試験	経皮	ウサギ	適
その他の毒性試験			
皮膚感作性試験	経皮	マウス	適
光毒性試験	*In vitro*	マウス Balb/c 3T3 細胞	不適

a：用量漸増により encorafenib を 3～4 日間隔で単回経口投与した．
b：Encorafenib 投与液（[redacted]）の調製を，より高い血中曝露量が得られる方法に変更し，再試験として実施した．

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

げっ歯類については単回投与毒性試験を実施しなかったため，ラットを用いた 2 日間反復経口投与による小核試験の結果に基づき急性毒性を評価した．また，非げっ歯類としてサルを用いた用量漸増による単回経口投与毒性試験を実施した．

ラットの小核試験では，1000 mg/kg 以上で最終投与日（投与 2 日）の翌日に体重減少が認められた．一方，最高投与量である 2000 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められず，一般状態にも変化はなかった．

サルの単回投与毒性試験では，100 mg/kg で投与後約 35 分に，200 mg/kg では投与後約 1～3 時間に嘔吐が認められたが，最高投与量である 200 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められなかった．

以上より，単回経口投与による概略の致死量は，ラットで 2000 mg/kg を超える量，サルで 200 mg/kg を超える量と判断した．

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

ラット及びサルを用いて，3 カ月間までの反復投与毒性試験を経口投与により実施した．

ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験では，最高投与量である 400 mg/kg で投与 8 日以降に自発運動減少，削痩，摂餌量の低値や体重減少を伴った死亡例及び切迫剖検例が認められた．最低投与量の 20 mg/kg 以上で体重増加抑制，皮膚の扁平上皮過形成，過角化及び炎症細胞浸潤，精巣の精細管変性及び空胞化，精巣上体の重量低値を伴う精子減少，100 mg/kg 以上で好中球数，リンパ球数及び好酸球数の高値，前胃の扁平上皮過形成及び過角化が認められたことから，無毒性量は 20 mg/kg 未満と判断した．ラットの 3 カ月間反復投与毒性試験では，最低投与量の 6 mg/kg 以上で体重増加抑制，好酸球数の高値，皮膚の扁平上皮過形成及び過角化，精巣の精細管変性及び精巣上体の精子減少，20 mg/kg 以上で摂餌量の低値，精巣上体重量の低値，前胃の扁平上皮過形成及び過角化，60 mg/kg で好中球数の高値及び精巣重量の低値が認められ，無毒性量は 6 mg/kg 未満と判断した．最高投与量の 60 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められず，回復性に乏しい重篤な毒性変化も認められなかった．

サルの 1 カ月間反復投与毒性試験では，最高投与量の 100 mg/kg で軟便，下痢，血便，嘔吐などの消化器症状，摂餌量の低値及び体重減少が認められ，無毒性量は 20 mg/kg と判断した．最高投与量の 100 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められず，回復性に乏しい重篤な毒性変化も認められなかった．サルの 3 カ月間反復投与毒性試験では，最高投与量の 60 mg/kg で嘔吐，流涎及び体重減少，また眼科学的検査及び病理組織学的検査で網膜黄斑部に滲出性の網膜剥離を示唆する変化が認められ，無毒性量は 20 mg/kg と判断した．最高投与量

の 60 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められず，回復性に乏しい重篤な毒性変化も認められなかった．

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験及びラットを用いた小核試験を実施した結果，いずれも陰性であり，encorafenib は遺伝毒性を有さないと判断した．

2.6.6.1.4 がん原性試験

Encorafenib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，がん原性試験は実施しなかった．

2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験

ラット及びウサギを用いて，胚・胎児発生に関する試験を経口投与により実施した．

妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験において，母動物では最高投与量である 20 mg/kg まで毒性変化は認められなかった．胚・胎児では 20 mg/kg で体重の低値及び骨化遅延を示唆する変化が認められた．妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において，母動物では 75 mg/kg で摂餌の廃絶や消化器症状を伴う切迫剖検例，胚・胎児では同投与量で体重の低値及び骨化遅延を示唆する変化が認められた．いずれの動物種においても催奇形性は認められず，ラット及びウサギの胚・胎児に対する無毒性量はそれぞれ 5 及び 25 mg/kg と判断した．

Encorafenib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験は実施せず，一般毒性試験で生殖器に対する影響を評価した．その結果，ラットの反復投与毒性試験において，最低投与量である 6 mg/kg から精巣の精細管変性及びこれに関連した精巣上体の精子減少が認められたが，いずれも休薬による回復性が確認された．

2.6.6.1.6 局所刺激性試験

ウサギの皮膚刺激性試験において，ウサギの胴体背部の皮膚に encorafenib を塗布した結果，0.5 g（1 mL の水に混和）で皮膚刺激性は認められなかった．

マウス局所リンパ節増殖試験において，マウスの耳介皮膚に encorafenib を塗布した結果，50%の濃度で耳介重量の高値が認められたことから，encorafenib は軽度な皮膚刺激性を有すると判断した．5%以下の濃度では刺激性を示唆する変化は認められなかった．

2.6.6.1.7 その他の毒性試験

2.6.6.1.7.1 皮膚感作性試験

マウス局所リンパ節増殖試験において，マウスの耳介皮膚に encorafenib を塗布した結果，最高濃度である 50%まで皮膚感作性は認められなかった．

2.6.6.1.7.2 光毒性試験

Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験の結果，PIF は 82 を超える値と算出され，光毒性陽性の判断基準（PIF＞5）を上回ったことから，encorafenib は光毒性陽性と判断した．

2.6.6.1.7.3 代謝物の安全性評価

Encorafenib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，個別の代謝物の毒性試験は実施しなかった．

2.6.6.1.7.4 不純物の安全性評価

原薬及び製剤中において，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」（医薬審発第 1216001 号，平成 14 年 12 月 16 日）（以下，ICH Q3A(R2)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」（医薬審発第 0624001 号，平成 15 年 6 月 24 日）（以下，ICH Q3B(R2)ガイドライン）における安全性確認の必要な閾値を超える不純物は認められないことから，不純物の安全性評価は実施しなかった．

2.6.6.2 単回投与毒性試験

げっ歯類については単回投与毒性試験を実施しなかったため，ラットを用いた小核試験の結果に基づき急性毒性を評価した．また，非げっ歯類の単回投与毒性試験としてサルを用いた用量漸増による単回経口投与毒性試験を実施した．

2.6.6.2.1 ラットにおける小核試験

［評価資料：4.2.3.3.2-1］

Crl:WI(Han)系ラット（雄 6 例／群）に encorafenib を 200，1000 及び 2000 mg/kg で 1 日 1 回 2 日間反復経口投与したときの急性毒性を評価した．投与容量は 10 mL/kg とし，対照群には媒体である 0.5 vol%Tween 80 含有 0.5 w/v%CMC 溶液を投与した．評価項目として，投与 2 日の翌日まで一般状態観察及び体重測定を実施した．

その結果，いずれの投与量においても死亡例及び状態悪化例は認められなかった．また，一般状態にも変化はみられなかったが，1000 mg/kg 以上で最終投与日（投与 2 日）の翌日に体重減少が認められた．

以上より，encorafenib のラットにおける単回経口投与による概略の致死量は 2000 mg/kg を超える量と判断した．

2.6.6.2.2 サルにおける用量漸増による単回経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.1-1］

カニクイザル（雄 3 例／群）に encorafenib を 50，100 及び 200 mg/kg（100 mg/kg を 1 日 2 回投与）で用量漸増により 3～4 日間隔で単回経口投与したときの急性毒性を評価した．投与容量は 3 mL/kg とし，対照群には媒体である PEG400，クレモフォール EL 及びオレイン酸の混合液（56：29：15）を投与した．評価項目として，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，血液学的検査（血液凝固系検査含む），血液生化学検査を実施した．

その結果，いずれの投与量においても死亡例及び状態悪化例は認められなかった．一般状態観察では，100 mg/kg の 1 例で投与後約 35 分に，200 mg/kg の 2 例で 2 回目投与後の約 1～3 時間に嘔吐がみられたが，その他の検査に影響は認められなかった．

以上より，encorafenib のサルにおける単回経口投与による概略の致死量は 200 mg/kg を超える量と判断した．

2.6.6.3 反復投与毒性試験

ラット及びサルを用いて，1 及び 3 カ月間反復投与毒性試験を経口投与により実施した．

2.6.6.3.1 ラットにおける 1 カ月間反復経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-1］

Crl:WI(Han)系ラット（雌雄各 10 又は 16 例／群）に encorafenib を 20，100 及び 400 mg/kg で 1 日 1 回 1 カ月間反復経口投与したときの毒性を評価した．投与容量は 5 mL/kg とし，対照群には媒体である 0.5 vol%Tween 80 含有 0.5 w/v%CMC 溶液を投与した．対照群及び 400 mg/kg では雌雄各 6 例／群を休薬動物とし，1 カ月間の休薬による回復性を検討した．なお，400 mg/kg の雌では，投与 8 日以降に死亡例及び切迫剖検例が頻発したため，投与 10 日以降の投与を中止し，投与 10 日に生存例 1 例を途中剖検した．また，同群の残りの生存例及び雌の対照群の休薬動物を休薬期間に移行させた．評価項目として，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査（血液凝固系検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査を実施した．また，TK 測定用に休薬動物以外の動物（雌雄各 2 例／群／時点）から採血し，血漿中 encorafenib 濃度を測定した．

その結果，400 mg/kg では投与 8 日以降に雌 2 例が死亡し，雄 1 例及び雌 8 例が切迫剖検に至った．また，400 mg/kg の雌 1 例が休薬 2 日に切迫剖検に至った．これらの例では，投与 7 日以降に立毛，削痩，脱水，自発運動減少，円背位，眼瞼下垂や体温低下（皮温感）などの一般状態の悪化を示唆する変化や摂餌量の低値及び体重減少が認められた．また，状態悪化に関連して，赤血球数の高値や肝機能パラメータの変動，胃粘膜の暗赤色巣，前胃及び腺胃のびらん／潰瘍，副腎の腫大及び皮質細胞の細胞質空胞化，胸腺，脾臓及びリンパ節に萎縮性変化などが認められた．消化管では，前胃及び食道の過角化も認められた．更に，腎臓の尿細管上皮の空胞化及び壊死，BUN の高値，リン及びマグネシウムの高値やカルシウムの低値，上皮小体の細胞質空胞化が認められた．その他，網状赤血球数の低値，血小板数の低値及び骨髄細胞の減少などが認められた．

生存例では，一般状態観察において 20 mg/kg 以上の雌雄で尾の創傷，四肢の足底における皮膚の鱗屑，赤色化及び腫脹が投与 15 日よりみられたが，400 mg/kg の雌では最終投与日（投与 9 日）までにこれらの変化はみられず，休薬期間開始後 8～14 日にみられた．また，400 mg/kg では雌雄ともに立毛，削痩及び脱水が認められ，雌では易刺激性及び円背位が認められた．

体重では，100 mg/kg 以上の雄及び 20 mg/kg 以上の雌で体重増加量の低値，400 mg/kg の雌で体重減少が認められた．

摂餌量では，400 mg/kg の雌雄で摂餌量の低値が認められた．

血液学的検査では，100 mg/kg 以上の雄で好中球数，リンパ球数及び好酸球数の高値が認められた．

血液化学的検査では，400 mg/kg の雄でトリグリセリド及びクレアチニンの低値が認められた．

器官重量測定では，20 mg/kg 以上で精巣上体重量の低値，400 mg/kg では前立腺重量の低値が認められた．

剖検では，100 mg/kg 以上の雄，20 及び 100 mg/kg の雌で後肢／前肢足底の皮膚の変化（鱗屑及び肥厚）が認められた．なお，400 mg/kg の雌ではこれらの変化は認められなかったが，早期に投与を中止したことが原因と考えられた．

病理組織学的検査では，20 mg/kg 以上で精巣の精細管変性及び空胞化，精巣上体の精子減少及び細胞残屑が認められた．精細管の空胞化した細胞は形態学的に主にセルトリ細胞と考えられた．精細管変性は精子細胞の減少を伴っており，精細管内腔及び精巣上体管内腔では主に伸長精子細胞の減少が認められた．また，20 及び 100 mg/kg の雌，100 mg/kg 以上の雄で後肢／前肢足底の皮膚の扁平上皮過形成，過角化及び炎症細胞浸潤が認められ，100 mg/kg 以上の雌雄で胃（前胃）の扁平上皮過形成及び過角化が認められた．

上記の変化は，いずれも休薬による回復性が認められた．

TK 測定では，初回及び反復投与後の Cmax 及び AUC24h は概ね投与量に比例して増加したが，初回投与時の 400 mg/kg の雌では投与量比未満の増加を示した．雌の AUC24h は，初回及び反復投与後ともに雄の約 2 倍であった．雌雄のいずれにおいても反復投与による蓄積性は認められなかった．なお，400 mg/kg の雌については投与 10 日以降の投与を中止したため，反復投与後の TK 採血を実施しなかった．

尿検査及び眼科学的検査では，encorafenib 投与による影響は認められなかった．

以上より，encorafenib をラットに 1 カ月間反復経口投与したとき，400 mg/kg で死亡例及び切迫剖検例が認められたが，100 mg/kg までは忍容であった．20 mg/kg 以上の雄で精巣の精細管変性や精巣上体の精子減少，雌で皮膚の扁平上皮過形成及び過角化などが認められたことから，無毒性量は 20 mg/kg 未満と判断した．

2.6.6.3.2　　ラットにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-2］

Crl:WI(Han)系ラット（雌雄各 10 又は 16 例／群）に encorafenib を 6，20 及び 60 mg/kg で 1 日 1 回 3 カ月間反復経口投与したときの毒性を評価した．投与容量は 5 mL/kg とし，対照群には媒体である 0.5 vol％Tween 80 含有 0.5 w/v％CMC 溶液を投与した．対照群及び 60 mg/kg では雌雄各 6 例／群を休薬動物とし，1 カ月間の休薬による回復性を検討した．評価項目として，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査（血液凝固系検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査を実

施した．また，TK 測定用に休薬動物以外の動物（雌雄各 2 例／群／時点）から採血し，血漿中 encorafenib 濃度を測定した．

その結果，encorafenib 投与に起因した死亡例及び状態悪化例は認められなかった．なお，投与 82 日に 60 mg/kg の雄 1 例が状態悪化したため，切迫剖検した．剖検の結果，食道から胃内に経口ゾンデが認められた．本例では，体重及び摂餌量の減少が投与 77 日にみられたことから，投与過誤によって食道から胃内に経口ゾンデが詰まり摂餌困難となったために，状態が悪化したものと考えられた．

一般状態観察では，6 mg/kg 以上で後肢，前肢及び尾に皮膚の異常（痂皮，乾燥，鱗屑，腫脹など）が認められた．これらの変化は投与 1 週より投与期間を通して認められ，用量に応じて発現時期が早まった．

体重では，6 mg/kg 以上で体重及び体重増加量が投与量に応じて低値を示した．

摂餌量では，20 mg/kg 以上の雄で低値を示した．

血液学的検査では，6 mg/kg 以上の雄及び 20 mg/kg 以上の雌で好酸球数の高値，60 mg/kg で好中球数の高値が認められ，それらを反映して 20 mg/kg 以上の雌及び 60 mg/kg の雄で白血球数が高値を示した．また，20 mg/kg 以上の雌で網状赤血球数の高値（対照群と比較して 24%の高値）が認められたが，その他の赤血球系パラメータに変化はなく，骨髄及び脾臓などの造血器系の病理組織学的検査においても赤血球系の造血亢進を示唆する変化は認められないことから，毒性学的意義のない変化と判断した．

血液化学的検査では，6 mg/kg 以上の雄でコレステロールの高値（対照群と比較して 30%の高値），20 mg/kg 以上の雄で BUN の高値（対照群と比較して 16%の高値），雌でトリグリセリドの高値（対照群と比較して 35%の高値），20 mg/kg 以上の雌及び 60 mg/kg の雄でグルコースの高値（対照群と比較して最大 16%の高値），60 mg/kg の雄でトリグリセリドの低値（対照群と比較して 29%の低値）が認められたが，いずれも軽度な変動であり，病理組織学的検査において腎臓，肝臓及び膵臓などに傷害性変化や脂質及び糖代謝への影響を示唆する変化は認められないことから，毒性学的意義のない変化と判断した．また，休薬期間終了時に 60 mg/kg の数例で AST，ALT 及び ALP の高値（それぞれ対照群に比較して 25～34%，33～65%及び 50%の高値）が認められたが，投与期間終了時にはみられない変化であり，また肝傷害を示唆する病理組織学的変化を伴わないことから毒性学的意義のない変化と判断した．

器官重量測定では，20 mg/kg 以上で精巣上体重量の低値，60 mg/kg で精巣重量の低値が認められた．

剖検では，20 mg/kg 以上で精巣及び精巣上体の軟化及び小型，60 mg/kg の雄で後肢足底の皮膚の黄色化を伴った肥厚が認められた．

病理組織学的検査では，6 mg/kg 以上で精巣の精細管変性，精巣上体の精子減少及び細胞残屑，後肢足底の皮膚の扁平上皮過形成及び過角化，20 mg/kg 以上の雄及び 60 mg/kg の雌で前胃の扁平上皮過形成及び過角化が認められた．

上記の変化は，いずれも休薬による回復性が認められた．

尿検査及び眼科学的検査では，encorafenib 投与による影響は認められなかった．

TK 測定では，初回及び反復投与後の Cmax 及び AUC24h は概ね投与量に比例して増加した．反復投与後の Cmax 及び AUC24h は初回投与時と比較してやや高値を示したが，反復投与による明らかな蓄積性は認められなかった．初回及び反復投与後のいずれにおいても雌の AUC24h は雄の約 2 倍であった．

以上より，encorafenib をラットに 3 カ月間反復経口投与したとき，60 mg/kg まで encorafenib に起因した死亡例及び状態悪化例は認められなかった．6 mg/kg 以上で精細管変性や精巣上体の精子減少，皮膚の扁平上皮過形成及び過角化などが認められたことから，無毒性量は 6 mg/kg 未満と判断した．

2.6.6.3.3 サルにおける 1 カ月間反復経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-3］

カニクイザル（雌雄各 3 又は 5 例／群）に encorafenib を 5，20 及び 100 mg/kg で 1 日 1 回 1 カ月間反復経口投与したときの毒性を評価した．投与容量は 3 mL/kg とし，対照群には媒体である PEG400，クレモフォール EL 及びオレイン酸の混合液（56：29：15）を投与した．対照群及び 100 mg/kg では雌雄各 2 例／群を休薬動物とし，1 カ月間の休薬による回復性を検討した．評価項目として，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，心電図検査，眼科学的検査，血液学的検査（血液凝固系検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査を実施した．また，血漿中 encorafenib 濃度を測定した．

その結果，いずれの投与量においても死亡例及び状態悪化例は認められなかった．

一般状態観察では，100 mg/kg で軟便，下痢及び血便がみられ，同投与量の雌 1 例では嘔吐も認められた．20 mg/kg の雌 1 例でも，投与期間中に嘔吐及び血便が認められたが，それぞれ 1 回のみであり，その他の消化器症状や体重及び摂餌量の推移に明らかな異常がないことから，毒性学的意義に乏しい変化と判断した．

体重及び摂餌量では，100 mg/kg で体重減少（投与前に対して 3.5～11.1%の減少）及び摂餌量の低値が認められた．

上記の変化は，いずれも休薬による回復性が認められた．

心電図検査，眼科学的検査，血液学的検査（血液凝固系検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査では，encorafenib 投与による影響は認められなかった．

TK 測定では，初回及び反復投与後の Cmax 及び AUC24h は投与量比を上回る増加を示し，明らかな性差は認められなかった．また，反復投与後の 100 mg/kg の Cmax 及び AUC24h は初回投与時に比べて低値を示したが，その他の投与量では蓄積性などの明らかな変動は認められなかった．

以上より，encorafenib をサルに 1 カ月間反復経口投与したとき，100 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められなかった．100 mg/kg で軟便，下痢及び血便などの消化器症状，摂餌量の低値及び軽度な体重減少が認められたが，いずれも回復性のある変化であったことから，無毒性量は 100 mg/kg と本試験の試験責任者に判断されている．しかし，消化器症状，摂餌量減少や体重減少は重要な所見であり，回復性があっても毒性と判断すべきと考えられた．一方，20 mg/kg では消化器症状も含め，毒性学的意義のある変化は認められなかったことから，申請者は本試験の無毒性量を 20 mg/kg と判断した．

2.6.6.3.4　　サルにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験（1）

［参考資料：4.2.3.2-4］

カニクイザル（雌雄各 4 又は 6 例／群）に encorafenib（[redacted]）を超純水に懸濁し，6，20 及び 60 mg/kg で 1 日 1 回 3 カ月間反復経口投与したときの毒性を評価した．投与容量は 10 mL/kg とし，対照群にはプラセボ（[redacted]）を超純水に懸濁して投与した．対照群及び 60 mg/kg では雌雄各 2 例／群を休薬動物とし，1 カ月間の休薬による回復性を検討した．また，血漿中 encorafenib 濃度を測定した．

その結果，いずれの投与量においても死亡例及び状態悪化例は認められず，一般状態や体重及び摂餌量の推移に明らかな異常は認められなかった．

心電図検査，眼科学的検査，血液学的検査（血液凝固系検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査において，encorafenib 投与による影響は認められなかった．

TK 測定では，初回及び反復投与後の Cmax 及び AUC24h は，個体間差が認められたが概ね投与量に比例して増加し，明らかな性差及び反復投与による蓄積性は認められなかった．

以上より，encorafenib をサルに 3 カ月間反復経口投与したとき，最高投与量である 60 mg/kg まで毒性変化は認められず，無毒性量は 60 mg/kg と判断した．

2.6.6.3.5　　サルにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験（2）

［評価資料：4.2.3.2-5］

別途実施した薬物動態試験［2.6.4.8.2］において，投与液の調製頻度（1 回／週）を用時調製に変更することで，より高い血中曝露が得られることが明らかとなった．そのため，サルの 3 カ月間反復経口投与毒性試験の再試験を実施した．

カニクイザル（雌雄各 4 又は 6 例／群）に encorafenib（[redacted]）を純水に懸濁し，20 及び 60 mg/kg で 1 日 1 回 3 カ月間反復経口投与したときの毒性を評価した．投与容量は 10 mL/kg とし，対照群にはプラセボ（[redacted]）を純水に懸濁して投与した．対照群及び 60 mg/kg では雌雄各 2 例／群を休薬動物とし，10 週間の休薬による回復性を検討した．評価項目として，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，心電図検査，眼科学的検査，血液学的検査（血液凝固系検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査を実施した．また，血漿中 encorafenib 濃度を測定した．

その結果，いずれの投与量においても死亡例及び状態悪化例は認められなかった．

一般状態観察では，60 mg/kg で嘔吐が散見され，雌では流涎も認められた．また，20 mg/kg の雌 3 例では投与期間中に嘔吐が 1 回みられたが，対照群においても認められた一過性の変化であり，体重や摂餌量の推移に明らかな異常もなかったことから，毒性学的意義に乏しい変化と判断した．

体重では，20 mg/kg 以上の雌で体重減少が認められ，20 及び 60 mg/kg の投与前値からの体重減少率はそれぞれ 4.9 及び 7.4%であった．20 mg/kg での体重減少は，対照群においても認められる程度及び頻度の軽度な変化であり，毒性学的意義のない変化と判断した．

一般状態及び体重の変化は，いずれも休薬による回復性が認められた．

眼科学的検査では，60 mg/kg の雌雄各 1 例に網膜黄斑部の水泡様病変が認められた．本病変部では漿液と考えられる黄色物質が認められ，病変サイズは投与 85 日～92 日にかけて増大した．休薬した雄 1 例では，休薬 11 日以降に網膜黄斑部の水泡様病変のサイズが縮小，休薬 69 日には黄色物質も減少し，回復性が認められた．

病理組織学的検査では，眼科学的検査で病変がみられた 60 mg/kg の雌雄各 1 例の網膜黄斑部の中心窩において，杆状体及び錐状体外層と網膜色素上皮との間に分離又は剥離が認められた．投与期間終了時に剖検した 60 mg/kg の雌 1 例では，分離又は剥離した視細胞層と網膜色素上皮の間隙に漿液と考えられる好酸性物質が満たされていた．一方，休薬した 60 mg/kg の雄 1 例では，視細胞層と網膜色素上皮との分離又は剥離の範囲は小さく，視細胞層と網膜色素上皮の間隙には顆粒状残屑を含むマクロファージが認められたことから，これらの変化は休薬による回復性があると判断した．

摂餌量，心電図検査，血液学的検査（血液凝固検査含む），血液化学的検査，尿検査，器官重量測定及び剖検では，encorafenib 投与による影響は認められなかった．

TK 測定では，初回及び反復投与後の Cmax 及び AUC24h は，個体間差が認められたが概ね投与量に比例して増加し，明らかな性差及び反復投与による蓄積性は認められなかった．

以上より，encorafenib をサルに 3 カ月間反復経口投与したとき，60 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められなかった．60 mg/kg で黄斑部に滲出性の網膜剥離を示唆する変化が認められたことから，無毒性量は 20 mg/kg と判断した．

2.6.6.4 遺伝毒性試験

In vitro 試験として，細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験を実施し，*in vivo* 試験としてラットを用いた小核試験を実施した．

2.6.6.4.1 非哺乳動物細胞系での *in vitro* 試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

［評価資料：4.2.3.3.1-1］

Salmonella typhimurium TA98，TA100，TA1535，TA97a 及び TA102 を用い，代謝活性化による場合（S9mix 存在下）はプレインキュベーション法，代謝活性化によらない場合（S9mix 非存在下）はプレート法で試験を行った．Encorafenib は DMSO に溶解し，用量は 156.3～5000 μg/plate とした．

その結果，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．

以上より，encorafenib は遺伝子突然変異誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.4.2 哺乳動物細胞系での *in vitro* 試験

2.6.6.4.2.1 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

［評価資料：4.2.3.3.1-2］

非喫煙健康成人男性より得られた末梢血リンパ球を用い，短時間処理（S9mix 非存在下又は S9mix 存在下で encorafenib を 3 時間処理後，新鮮培養液で 17 時間培養）及び連続処理（S9mix 非存在下で encorafenib を 20 時間連続処理）で試験を行った．Encorafenib は DMSO に溶解して培養液に添加し，短時間処理では S9mix 非存在下で 25～600 μg/mL，S9mix 存在下で 25～700 μg/mL 並びに 25～600 μg/mL，連続処理では 5～150 μg/mL の濃度に設定した．標本観察は短時間処理の S9mix 非存在下で 75～400 μg/mL，S9mix 存在下で 75～500 μg/mL，連続処理では 5～60 μg/mL について実施した．

その結果，短時間処理及び連続処理のいずれにおいても染色体異常を示す細胞の増加は認められなかった．

以上より，encorafenib はヒト末梢血リンパ球において染色体異常誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.4.3 哺乳動物系での *in vivo* 試験

2.6.6.4.3.1 ラットにおける小核試験

［評価資料：4.2.3.3.2-1］

Crl:WI(Han)系ラット（雄 6 例／群）を用い，encorafenib の 1 日 1 回 2 日間反復経口投与による小核試験を行った．用量設定試験において最高投与量である 2000 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められなかったことから，本試験の投与量は 200，1000 及び 2000 mg/kg とし，陰性対照群には媒体である 0.5 vol%Tween 80 含有 0.5 w/v%CMC 溶液を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．最終投与後 24 時間に骨髄塗抹標本を作製し，小核を有する幼若赤血球の観察を行った．

その結果，いずれの投与量においても小核を有する幼若赤血球の出現頻度の上昇は認められなかった．

以上より，encorafenib はラットにおいて小核誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.5 がん原性試験

Encorafenib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，がん原性試験は実施しなかった．

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

ラット及びウサギを用いて，胚・胎児発生に関する試験を経口投与により実施した．

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

Encorafenib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施せず，一般毒性試験で生殖器に対する影響を評価した．その結果，ラットの反復投与毒性試験において雌性生殖器に対する影響はなかったが，雄では最低投与量である 6 mg/kg から精巣の精細管変性及びこれに関連した精巣上体の精子減少や細胞残屑が認められた．なお，サルの反復投与毒性試験では雌雄生殖器に対する影響は認められなかった．

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラットにおける胚・胎児発生に関する経口投与試験

［評価資料：4.2.3.5.2-1］

Crl:WI(Han)系妊娠ラット（24 例／群）に encorafenib を 0.5，5 及び 20 mg/kg で胎児器官形成期（妊娠 6 日から 17 日）に 1 日 1 回反復経口投与した．投与容量は 5 mL/kg とし，対照群には媒体である 0.5 vol%Tween 80 含有 0.5 w/v%CMC 溶液を投与した．妊娠 21 日に帝王切開し，母動物の剖検及び胎児の観察を実施した．また，TK 測定用にサテライト動物（各 3 又は 5 例／群）を設け，母体及び胎児の血漿中 encorafenib 濃度を測定した．

その結果，母動物では，いずれの投与量においても死亡例及び状態悪化例は認められず，一般状態及び摂餌量の推移にも encorafenib 投与による影響は認められなかった．なお，20 mg/kg で投与期間中（妊娠 6～18 日）の体重増加量の低値が認められたが，投与初期（妊娠 6～9 日）の一過性の体重増加抑制による影響であり，また妊娠 21 日（帝王切開日）の母動物の体重は対照群と比較して 2%程度の僅かな差であったことから，毒性学的意義に乏しい変化と判断した．剖検では，encorafenib 投与による影響は認められなかった．

胚・胎児では，20 mg/kg で体重の低値が認められた．胎児の骨格観察において，20 mg/kg で頭頂骨及び頭頂間骨不完全骨化並びに胸椎体における骨格変異（未骨化／不完全骨化／ダンベル状骨化／二分骨化）の発生頻度の高値が認められ，これらは体重の低値に関連した骨化遅延を示唆する変化と考えられた．その他，生存胎児数，胚・胎児死亡率，性比並びに胎児の外表及び内臓観察において，encorafenib 投与による影響は認められなかった．

TK 測定では，母動物の encorafenib の Cmax 及び AUC24h は概ね投与量に比例して増加した．妊娠 17 日の投与後 1 時間の胎児における血漿中 encorafenib 濃度は，いずれの投与量においても母動物の血漿中濃度の約 1～2%であった．

以上より，最高投与量である 20 mg/kg まで母動物に対する毒性は認められなかったが，20 mg/kg で胎児体重の低値及び骨化遅延を示唆する変化が認められたことから，ラットの母動物に対する一般毒性学的な無毒性量は 20 mg/kg，胚・胎児発生に対する無毒性量は 5 mg/kg と判断した．いずれの投与量においても催奇形性は認められなかった．

2.6.6.6.2.2 ウサギにおける胚・胎児発生に関する経口投与用量設定試験

［参考資料：4.2.3.5.2-2］

NZW 系妊娠ウサギ（3 又は 6 例／群）に encorafenib を 50，75，100 及び 200 mg/kg で胎児器官形成期（妊娠 7 日から 20 日）に 1 日 1 回反復経口投与した．投与容量は 5 mL/kg とし，対照群には媒体である 0.5 vol%Tween 80 含有 0.5 w/v%CMC 溶液を投与した．妊娠 29 日に帝王切開し，母動物の剖検及び胎児の観察を実施した．

その結果，200 mg/kg の母動物において，摂餌の廃絶，軟便又は液状便，排便量の減少が認められ，妊娠 13 日に全例が死亡又は切迫剖検に至った．また，100 mg/kg の 1 例を妊娠 17 日に切迫剖検した．この例では妊娠 10～17 日に体重減少，妊娠 12～16 日に摂餌量の低値，妊娠 17 日に削痩及び糞便の小型が認められた．剖検では 200 mg/kg で早期吸収胚がみられたが，その他に encorafenib 投与による影響は認められなかった．

母動物の生存例では，50 mg/kg 以上で摂餌量の低値，100 mg/kg で体重増加抑制がみられたが，剖検では encorafenib 投与による影響は認められなかった．

胚・胎児では，生存及び死亡胎児数，胚・胎児死亡率，性比，生存胎児体重，妊娠子宮重量及び胎児の外表観察において，100 mg/kg まで encorafenib 投与による影響は認められなかった．

以上より，母動物において 50 mg/kg 以上で摂餌量の低値，100 mg/kg 以上で体重増加抑制及び切迫剖検例が認められたが，75 mg/kg まで忍容であったことから，胚・胎児発生に関する主試験の最高投与量を 75 mg/kg に設定した．

2.6.6.6.2.3 ウサギにおける胚・胎児発生に関する経口投与試験

［評価資料：4.2.3.5.2-3］

NZW 系妊娠ウサギ（20 例／群）に encorafenib を 5，25 及び 75 mg/kg で胎児器官形成期（妊娠 7 日から 20 日）に 1 日 1 回反復経口投与した．投与容量は 5 mL/kg とし，対照群には媒体である 0.5 vol％Tween 80 含有 0.5 w/v％CMC 溶液を投与した．妊娠 29 日に帝王切開し，母動物の剖検及び胎児の観察を実施した．また，TK 測定用としてサテライト動物（3 例又は 5 例／群）を設け，妊娠 19 及び 20 日に母動物から，妊娠 20 日に胎児から採血し，血漿中 encorafenib 濃度を測定した．

その結果，75 mg/kg の母動物 4 例において，妊娠 14 日以降に摂餌の廃絶，妊娠 15 日以降に排便量の減少及び糞便の小型，妊娠 20 日以降に粘状便又は水様便，眼瞼下垂及び削痩などが認められ，いずれも妊娠 20 日～23 日に切迫剖検した．剖検では盲腸内水様物，肺の黒色点（斑），縦隔リンパ節の腫大及び黒色化，胆嚢壁の肥厚，肝臓の白色点（斑），膣内の黒色物などが認められた．

母動物の生存例では，75 mg/kg で糞便量の減少及び糞便の小型，摂餌量の低値及び体重増加抑制が認められた．剖検では，encorafenib 投与による影響は認められなかった．

胚・胎児では，75 mg/kg で体重の低値が認められたが，施設背景値の範囲内の軽度な変化であった．骨格観察では，75 mg/kg で胸椎体のダンベル状骨化，前頭骨の不完全骨化，仙椎前椎骨の過剰，恥骨及び 13 肋骨の不完全骨化の発生頻度の高値が認められた．内臓観察では，75 mg/kg で母動物 4 例の各 1 胎児に心臓や肺などの異常所見が認められたが，内臓異常

を有する胎児数や異常胎児を有する母動物数の割合は施設背景値の範囲内であった．なお，75 mg/kg では一部の内臓異常（大動脈弓及び上行大動脈の拡張など）の母動物あたりの発生頻度が，それぞれの施設背景値をわずかに上回ったが，状態悪化による切迫剖検のため評価可能な母動物数が少なく，相対的にこれらの内臓異常の発生頻度が高値を示したと考えられた．したがって，認められた所見はいずれも encorafenib 投与による影響ではないと判断した．その他，生存胎児数，胚・胎児死亡率，性比，妊娠子宮重量並びに胎児の外表では，encorafenib 投与による影響は認められなかった．

TK 測定では，母動物の血漿中 encorafenib の Cmax 及び AUC24h は概ね投与量に比例して増加した．妊娠 20 日の投与後 3 時間の胎児における血漿中 encorafenib 濃度は，いずれの投与量においても母動物の血漿中濃度の 1%未満であった．

以上より，75 mg/kg で母動物に摂餌の廃絶や消化器症状を伴う切迫剖検例，胚胎児に体重の低値及び骨化遅延を示唆する変化が認められたことから，ウサギの母動物に対する一般毒性学的な無毒性量及び胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも 25 mg/kg と判断した．いずれの投与量においても催奇形性は認められなかった．

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

Encorafenib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった．

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 ウサギ皮膚刺激性試験

［評価資料：4.2.3.6-1］

NZW 系ウサギ（雄 3 例）の剃毛した胴体背部の皮膚に 1 mL の水に混和した 0.5 g の encorafenib を半閉塞包帯を用いて 4 時間塗布した．塗布終了の 1，24，48 及び 72 時間後に塗布部位の肉眼的観察を行った．また，塗布終了後に一般状態観察及び体重測定を行った．

塗布部位の肉眼的観察において異常は認められなかった．また，いずれの動物においても一般状態及び体重に異常は認められなかった．

以上より，1 mL の水に混和した 0.5 g の encorafenib をウサギの胴体背部の皮膚に塗布したとき，皮膚刺激性は認められなかった．

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 皮膚感作性試験

2.6.6.8.1.1 マウス局所リンパ節増殖試験

［評価資料：4.2.3.7.7-1］

Balb/c 系マウス（雌 6 例／群）の両耳介背側に encorafenib を 0.5，5 及び 50%の濃度で 1 日 1 回 3 日間反復塗布した．投与容量は耳介片側あたり 25 μL とし，対照群には媒体である *N,N*-ジメチルアセタミド，アセトン及びエタノールの混合液（4：3：3）を塗布した．投与期間中に一般状態観察，体重測定，耳介の肉眼的観察を行い，最終塗布の 24 時間後に耳介重量，耳介リンパ節重量及び耳介リンパ節細胞数を測定した．

5%以上の濃度では剖検で耳介リンパ節の軽度な腫大，50%の濃度では耳介重量の高値が認められた．しかし，いずれの濃度でも一般状態，体重，耳介の肉眼的観察，耳介リンパ節重量及び耳介リンパ節細胞数に，encorafenib の影響は認められなかった．

以上より，encorafenib はマウスにおいて皮膚感作性を示さないと判断した．なお，50%の濃度で耳介重量の高値が認められたことから，encorafenib は軽度な皮膚刺激性を有すると判断した．

2.6.6.8.2 光毒性試験

2.6.6.8.2.1 Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験

［参考資料：4.2.3.7.7-2］

培養ほ乳類細胞 Balb/c 3T3 を用いて *in vitro* 光毒性試験を実施した．Balb/c 3T3 細胞に UVA 照射下及び非照射下で 0.0589～185.18 μmol/L の 8 濃度段階の encorafenib を添加し，NR の取り込みによる細胞生存率を求めた．

細胞生存率に対する encorafenib の IC_{50} 値は UVA 照射下で 2.27 μmol/L，非照射下で 185.18 μmol/L を超える濃度であった．PIF は 82 を超える値と算出され，光毒性陽性の判断基準（PIF＞5）を上回った．

以上より，encorafenib は光毒性陽性と判断した．

2.6.6.8.3 代謝物の安全性評価

Encorafenib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，個別の代謝物の毒性試験は実施しなかった．

なお，ヒト血漿中において encorafenib 関連物質の総曝露量の 10%を超える代謝物は，LHY746（N-脱アルキル化体）及び M12.8（encorafenib が N-脱アルキル化及び加水分解を受けた代謝物のグルクロン酸抱合体）である［2.7.2.2.1.2］が，ラット及びサルの反復投与毒

性試験の最大耐量における血漿中 LHY746 曝露量は，臨床用量（450 mg/person q.d.）をヒトに投与したときの曝露量の 0.5 倍以上（表 2.6.6.8.3-1）であることから，これらの反復投与毒性試験で LHY746 の安全性は確認されているものと判断した．また，M12.8 は，グルクロン酸抱合体であることから毒性学的懸念はないと考えられた．

表 2.6.6.8.3-1　ヒト，ラット及びサルの血漿中 LHY746 濃度比較

動物種	投与量	性	Encorafenib AUC（ng･h/mL）	LHY746 比	LHY746 AUC（ng･h/mL）	LHY746 濃度比（動物／ヒト）
ヒト	450 mg/body		13800[a]	1.0[b]	13800[c]	-
ラット	60 mg/kg[#]	雄 雌	614000 1110000	0.022[d]	13508[e] 24420[e]	0.98 1.8
サル	20 mg/kg	雄 雌	3120 4280	0.49[f]	671[g] 2097[g]	0.049 0.15
	60 mg/kg[#]	雄 雌	20300 23900	0.49[f]	9947[g] 11711[g]	0.72 0.85

[#]：忍容性が確認された最大投与量
a：BRAF 変異メラノーマ患者に encorafenib を 450 mg/person で 1 日 1 回 28 日間経口投与したときの投与 15 日の encorafenib の AUC24h（CLGX818X2101 試験）［2.7.2.2.1.2］
b：ヒト反復投与時の LHY746（29%）/encorafenib（29%）の AUC 比［2.7.2.2.1.1］
c：450 mg/person 投与時の encorafenib の AUC24h から比例計算で算出した値
d：雄ラットに encorafenib を 50 mg/kg で単回経口投与した時の LHY746（1.9%）/encorafenib（85%）の AUC 比［2.6.4.5.2.1］
e：ラット 3 カ月間反復投与毒性試験の 60 mg/kg における投与終了時の AUC24h［2.6.7.7B］から比例計算で算出した値
f：雄サルに encorafenib を 20 mg/kg で単回経口投与した時の LHY746（4.9%）/encorafenib（10%）の AUC 比［2.6.4.5.2.2］
g：サル 3 カ月間反復投与毒性試験（2）の 20 及び 60 mg/kg における投与終了時の AUC24h［2.6.7.7E］から比例計算で算出した値

2.6.6.8.4　不純物の安全性評価

原薬及び製剤中において，ICH Q3A(R2)ガイドライン及び ICH Q3B(R2)ガイドラインにおける安全性確認の必要な閾値を超える規格値が設定された不純物は認められないことから，不純物の安全性評価は実施しなかった．

2.6.6.8.5　Binimetinib（MEK 阻害剤）との併用投与時の安全性評価

臨床において encorafenib は MEK 阻害剤である binimetinib と併用投与される．いずれも進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，併用投与による安全性評価は，マウス異種移植モデルを用いた *in vivo* 薬理試験において実施した［2.6.2.2.4.1］．

ヒト悪性黒色腫由来細胞 HMEX1906 移植マウスに encorafenib（3 mg/kg）と binimetinib（3 又は 10 mg/kg）をいずれも 1 日 2 回最長 117 日間併用経口投与し，一般状態観察，体重測定，血液学的検査，剖検及び病理組織学的検査を実施した．その結果，血液学的検査において，encorafenib 及び binimetinib のいずれの単剤投与でも好中球数の増加などが認められたが，併用投与による増強はなかった．また，病理組織学的検査において，binimetinib 単剤投与で角膜縁の炎症が認められたが，併用投与による程度及び頻度の増強はなかった．一方，併用投与時にそれぞれの単剤投与では見られない肝臓小葉辺縁部への炎症細胞浸潤が認められたが，肝細胞壊死等の傷害性変化や血液学的検査値の変動を伴わないことから，重篤な毒性を示唆する変化ではないと判断した．

以上より，encorafenib 及び binimetinib の併用投与により，軽度な肝毒性が生じる可能性があるが，単剤投与時の毒性が明らかに増強する可能性は低いと考えられた．

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 急性毒性

ラットの小核試験及びサルの用量漸増による単回投与毒性試験の結果に基づき，encorafenib の急性毒性を評価した．

ラットに encorafenib を 2 日間反復経口投与した結果，1000 mg/kg 以上で最終投与日（投与 2 日）の翌日に体重減少がみられたが，最高投与量の 2000 mg/kg まで一般状態に変化はなく，死亡例及び状態悪化例も認められなかった．

サルに encorafenib を用量漸増により単回経口投与した結果，100 mg/kg で投与後約 35 分に，200 mg/kg では投与後約 1～3 時間に嘔吐がみられたが，最高投与量である 200 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められなかった．

以上より，いずれの動物種においても最高投与量まで死亡例は認められず，単回経口投与による概略の致死量はラットで 2000 mg/kg を超える量，サルで 200 mg/kg を超える量と判断した．

2.6.6.9.2 反復投与毒性

Encorafenib の反復投与毒性試験として，ラット及びサルを用いた 3 カ月間までの反復経口投与毒性試験を実施した．

ラットでは，主に皮膚及び前胃の増殖性変化並びに精巣への影響が認められた．6 mg/kg 以上で体重増加抑制，皮膚の扁平上皮過形成及び過角化，精巣の精細管変性や精巣上体の精子減少などが認められた．20 mg/kg 以上では前胃粘膜の扁平上皮過形成及び過角化，精巣上

体重量の低値又は摂餌量の低値が認められた．60 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められず，回復性に乏しい重篤な毒性変化も認められなかった．

サルでは，主に消化器症状及び網膜への影響が認められた．60 mg/kg 以上で流涎，嘔吐及び体重減少，3 カ月の反復投与後には黄斑部に滲出性の網膜剥離を示唆する変化が認められた．

皮膚及び前胃，精巣並びに網膜で認められた影響について，以下に考察した．

2.6.6.9.2.1 扁平上皮（皮膚及び前胃）への影響

ラットにおいて，6 mg/kg 以上で肢や尾などの皮膚の異常（痂皮，乾燥，鱗屑及び腫脹など），病理組織学的検査で皮膚の扁平上皮過形成及び過角化が認められた．また，20 mg/kg 以上で前胃の扁平上皮過形成及び過角化が認められた．これらの上皮組織における過形成性の変化は，重層扁平上皮で構成される皮膚や前胃のみで認められた．

RAF 阻害剤は，野生型 RAF を有する細胞において MAP キナーゼ経路をパラドキシカルに活性化させ細胞増殖を亢進する作用を有しており，*in vivo* ではマウス及びラットにおいて前胃の扁平上皮過形成を誘発することが報告されている [1) 2) 3)]．また，RAF 阻害剤であるダブラフェニブの毒性試験においても皮膚及び前胃における扁平上皮過形成及び過角化が認められている [4)]．

以上より，encorafenib で認められた皮膚及び前胃の扁平上皮過形成は，RAF 阻害作用に基づくパラドキシカルな細胞増殖作用に伴う変化と考えられた．

ラットの反復投与毒性試験で皮膚及び前胃に生じた扁平上皮過形成などの増殖性病変は，encorafenib の 1 カ月の反復投与後からみられており，投与期間を 3 カ月に延長しても病変の増悪はなく，休薬による回復性も認められた．Eencorafenib は変異原性や染色体異常誘発性を有さず，遺伝毒性に基づく発がん性を示さないと考えられるが，皮膚などの扁平上皮において RAF 阻害作用に基づく細胞増殖作用により二次発がんが生じる可能性も考えられることから，臨床において皮膚などの増殖性病変に留意する必要があると考えられた．

2.6.6.9.2.2 消化管に対する影響

サルにおいて，60 mg/kg 以上で嘔吐，100 mg/kg では軟便，下痢及び血便が認められた．病理組織学的検査において消化管の粘膜傷害を示唆する変化は認められなかったが，RAF-MEK シグナル伝達経路が消化管における粘膜バリア機能の維持に貢献している [5)] ことから，encorafenib によるこれらの消化器症状は RAF 阻害作用に基づく変化である可能性が考えられた．

2.6.6.9.2.3 精巣に対する影響

ラットにおいて，6 mg/kg 以上で精巣の精細管変性及び空胞化，精巣上体の精子減少や細胞残屑，20 mg/kg 以上で精巣上体重量の低値，60 mg/kg で精巣重量の低値が認められた．精細管内腔及び精巣上体管内腔では，精子形成過程の後期でみられる伸長精子細胞が減少しており，精細管の空胞化は精子成熟を支持するセルトリ細胞の空胞化を示唆する変化であることから，encorafenib が精子細胞の形成及び成熟に影響したものと推察された．精巣上体管腔内に認められた細胞残屑は成熟できずに脱落した精子細胞と考えられ，同部位の精子減少は精巣への影響に伴う二次的変化と考察された．

精子細胞の成熟を支持するセルトリ細胞への精子細胞の接着に対する RAF の関与が報告されている [6)]．精子形成過程の初期にみられる円形精子細胞には BRAF が高発現しているが，円形精子細胞が成熟した伸長精子細胞では BRAF の発現は低下しており，BRAF が精子細胞の形成から成熟過程において重要な役割を担っていることが示唆されている [7) 8)]．また，*hop* 及び hop^{hpy} 変異マウスでは精巣における BRAF 活性の低下を伴って，伸長精子細胞の形成不全を生じることが報告されている [9)]．更に RAF 阻害剤であるダブラフェニブでは，マウス，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において encorafenib と同様の精巣及び精巣上体への影響が認められている [4)]．

以上より，encorafenib の精子細胞の形成及び成熟に対する影響は，BRAF 阻害作用に基づく可能性が考えられた．

Encorafeinb のラットの反復投与毒性試験で生じた精巣への影響は，精子形成過程の後期に発生する伸長精子細胞の減少や精子成熟を支持するセルトリ細胞の空胞化が主体であり，精祖細胞や精母細胞への細胞傷害性を示唆する変化ではなかった．また，休薬による回復性も認められたことから，重篤な精巣毒性を示唆する変化ではないが，臨床において男性の受胎能に対する影響に留意する必要があると考えられた．

2.6.6.9.2.4 網膜に対する影響

サルに encorafenib を 3 カ月間反復投与した結果，60 mg/kg の雌雄各 1 例の眼科学的検査で網膜の黄斑部に水疱様病変がみられ，病変部に漿液とみられる黄色物質が認められた．また，病理組織学的検査では網膜の黄斑中心窩において杆状体及び錐状体外層と網膜色素上皮との間に分離又は剥離が認められ，その間隙が漿液と考えられる好酸性物質で満たされていたことから，これらの病変は黄斑部における滲出性の網膜剥離を示唆する変化と考えられた．網膜黄斑部の水疱様病変のサイズは投与 85 日及び 92 日の数日間で増大したことから，投与継続により増悪する変化と考えられたが，休薬により網膜黄斑部の水疱様病変のサイズは縮小したことから，回復性のある変化と判断した．また，黄斑部の網膜剥離を示唆する病変は，

病理組織学的変化を認めたすべての動物において眼科学的検査で病変が確認されたことから，モニター可能な変化と考えられた．

RAF シグナル経路の下流にある MEK を阻害するトラメチニブでは，臨床において中心性漿液性網膜症が認められており [10]，encorafenib のサル 3 カ月間反復投与毒性試験で認められた網膜病変と類似した所見であったことから，encorafenib による網膜病変は MAP キナーゼ経路の阻害に関連して発現した可能性が考えられた．なお，RAF 阻害剤であるダブラフェニブの毒性試験では，黄斑部の網膜剥離を示唆する病変は認められていない [4]．

Encorafeinb のサル反復投与毒性試験で認められた黄斑部の網膜剥離を示唆する病変は，眼科学的検査でモニター可能かつ休薬により回復する変化であったが，増悪した場合には視覚に重篤な影響を及ぼす可能性もあることから，臨床において網膜への影響に留意する必要があると考えられた．

2.6.6.9.2.5 反復投与毒性試験と臨床の用法・用量における encorafenib の曝露比について

ラット及びサルの反復経口投与毒性試験における初回投与時及び投与終了時における血漿中 encorafenib の AUC 並びにヒトの AUC との比を表 2.6.6.9.2.5-1 に示した．3 カ月間反復投与毒性試験の無毒性量は，ラットで 6 mg/kg 未満，サルで 20 mg/kg であった．これらの投与量におけるラット及びサル血漿中 encorafenib の AUC24h はそれぞれ 45.2 μg·h/mL 未満及び 3.12～4.28 μg·h/mL であり，臨床用量（450 mg/person q.d.）でのヒト曝露量との比はラットで 3.3 倍未満，サルで 1 倍未満であった．臨床用量での曝露量付近から認められた毒性変化は，ラットでは皮膚毒性及び精巣毒性，サルでは網膜毒性であり，いずれも回復性が確認され，顕著な一般状態変化や体重の変動を伴うことはなかった．最大耐量の観点からは，ラットでは 400 mg/kg（臨床用量との曝露比：129 倍）で死亡例及び切迫剖検例が認められ，60 mg/kg まで忍容であった．このときの血漿中 encorafenib の AUC24h は 614～1110 μg·h/mL であり，臨床用量との曝露比は 44～80 倍であった．また，サルでは死亡例及び切迫剖検例は認められず，60 mg/kg まで忍容であることが確認された．このときの血漿中 encorafenib の AUC24h は 20.3～23.9 μg·h/mL であり，臨床用量との曝露比は 1.5～1.7 倍であった．

以上，encorafenib の毒性試験において，臨床用量における曝露量付近から皮膚，精巣及び網膜に対する毒性が認められた．これらの毒性変化はいずれも回復性が確認されたが，臨床では皮膚の増殖性病変，滲出性の網膜剥離及び男性の受胎能に対する影響に留意する必要があると考えられた．

表 2.6.6.9.2.5-1　主要な毒性試験における曝露量及びヒトとの曝露量比

種	投与量（mg/kg）	性	AUC24h（μg·h/mL）		動物／ヒト曝露比 e
			投与1日	投与終了時	
ラット a（1カ月間）	20	雄	145	106	7.7
		雌	303	276	20
	100#	雄	528	775	56
		雌	1080	1690	122
	400	雄	1160	1780	129
		雌	2170	-	-
ラット b（3カ月間）	6	雄	40.9	45.2	3.3
		雌	96.8	114	8.3
	20	雄	141	178	13
		雌	288	414	30
	60#	雄	303	614	44
		雌	879	1110	80
サル c（1カ月間）	5	雄	0.260	0.330	0.024
		雌	0.339	0.319	0.023
	20	雄	2.04	1.88	0.14
		雌	2.14	1.87	0.14
	100#	雄	63.9	28.5	2.1
		雌	61.1	12.0	0.87
サル d（3カ月間）	20	雄	5.83	3.12	0.23
		雌	11.1	4.28	0.31
	60#	雄	24.2	20.3	1.5
		雌	43.0	23.9	1.7

下線：無毒性量，#：忍容性が確認された最大投与量，-：データなし
a：ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験における投与 1 日及び投与 29 日の encorafenib の AUC24h［2.6.7.7A］
b：ラットの 3 カ月間反復投与毒性試験における投与 1 日及び投与 90 日の encorafenib の AUC24h［2.6.7.7B］
c：サルの 1 カ月間反復投与毒性試験における投与 1 日及び投与 29 日の encorafenib の AUC24h［2.6.7.7C］
d：サルの 3 カ月間反復投与毒性試験（2）における投与 1 日及び投与 86 日の encorafenib の AUC24h［2.6.7.7E］
e：BRAF 変異メラノーマ患者に encorafenib を 450 mg/person で 1 日 1 回 28 日間経口投与したときの投与 15 日の encorafenib の AUC24h（13.8 μg·h/mL）（CLGX818X2101 試験）［2.7.2.2.1.2］と毒性試験における投与終了時の AUC24h との比較

2.6.6.9.3　遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験及びラットを用いた小核試験を実施した結果，いずれも陰性であった.

したがって，encorafenib は遺伝毒性を有さないと判断した.

2.6.6.9.4 生殖発生毒性

ラット及びウサギを用いて胚・胎児発生への影響を評価した結果，いずれの動物種においても催奇形性は認められなかった．ラットでは 20 mg/kg まで母動物に毒性変化はみられなかったが，20 mg/kg で胎児体重の低値及び胎児の骨化遅延が認められ，母動物及び胚・胎児に対する無毒性量はそれぞれ 20 mg/kg 及び 5 mg/kg であった．ウサギでは 75 mg/kg で母動物に摂餌の廃絶や消化器症状を伴う切迫剖検例，胚・胎児に体重低値及び骨化遅延が認められ，母動物及び胚・胎児に対する無毒性量はいずれも 25 mg/kg であった．

胚・胎児に対する無毒性量と臨床用量における血中曝露量（AUC24h）に基づく安全域は，ラットで 6.5 倍，ウサギで 73 倍（表 2.6.6.9.4-1）であった．ラットにおいて母動物に対する毒性を示さない投与量から胎児毒性が認められており，十分な安全域がないことから，臨床では妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には投与しないことが望ましいと考えられた．

表 2.6.6.9.4-1 胚・胎児試験における曝露量及びヒトとの曝露量比

種	投与量 (mg/kg)	AUC24h (μg·h/mL)	動物／ヒト 曝露比 [c]
ラット [a]	0.5	13.7	0.99
	5	90.2	6.5
	20#	370	27
ウサギ [b]	5	302	22
	25#	1010	73
	75	2480	180

下線：胚・胎児の無毒性量，#：母動物の無毒性量
a：ラットの胚・胎児発生に関する試験における投与 11 日（妊娠 16 日）の AUC24h［2.6.7.13A］
b：ウサギの胚・胎児発生に関する試験における投与 13 日（妊娠 19 日）の AUC24h［2.6.7.13B］
c：BRAF 変異メラノーマ患者に encorafenib を 450 mg/person で 1 日 1 回 28 日間経口投与したときの投与 15 日の encorafenib の AUC24h（13.8 μg·h/mL）（CLGX818X2101 試験）［2.7.2.2.1.2］と毒性試験における投与終了時の AUC24h との比較

なお，encorafenib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施せず，一般毒性試験で生殖器に対する影響を評価した．その結果，ラットの雌性生殖器及びサルの雌雄生殖器に影響はみられなかったが，ラットの雄で最低投与量である 6 mg/kg から精巣の精細管変性及びこれに関連した精巣上体の精子減少や細胞残屑が認められた．したがって，encorafenib が臨床で女性の受胎能に明らかな影響を示す可能性は低いが，男性の受胎能に対する影響に留意する必要があると考えられた．

2.6.6.9.5 局所刺激性

ウサギの皮膚刺激性試験において，ウサギの胴体背部の皮膚に 1 mL の水に混和した 0.5 g の encorafenib を塗布した結果，皮膚刺激性は認められなかった．一方，マウスの耳介皮膚に encorafenib を 0.5，5 及び 50%の濃度で塗布した結果，50%で軽度な皮膚刺激性を示した．

2.6.6.9.6 皮膚感作性

マウス局所リンパ節増殖試験において，マウスの耳介皮膚に encorafenib を 0.5，5 及び 50%の濃度で塗布した結果，いずれの濃度でも皮膚感作性は示さなかった．

2.6.6.9.7 光毒性

Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験において，PIF は 82 を超える値と算出され，光毒性陽性の判断基準（PIF＞5）を上回ったことから，encorafenib は光毒性陽性と判断した．

臨床試験における光線過敏症の発現頻度及び発現率は，国際共同第 III 相試験の Combo 450 投与群で 9/192 例（4.7%）であった［2.7.4.2.1.5］．Encorafenib の光毒性試験の結果は陽性であったが，臨床試験における光線過敏症の発現頻度は低いことから，臨床使用により重篤な光毒性が発現するリスクは低いと考えられた．

2.6.6.9.8 代謝物の安全性評価

Encorafenib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，個別の代謝物の毒性試験は実施しなかった．

なお，ヒト血漿中において encorafenib 関連物質の総曝露量の 10%を超える代謝物は，LHY746（N-脱アルキル化体）及び M12.8（encorafenib が N-脱アルキル化及び加水分解を受けた代謝物のグルクロン酸抱合体）である［2.7.2.2.1.2］が，ラット及びサルの反復投与毒性試験において忍容性が確認された最大投与量における血漿中 LHY746 曝露量は，臨床用量（450 mg/person q.d.）をヒトに投与したときの曝露量の 0.5 倍以上（表 2.6.6.8.3-1）であることから，これらの反復投与毒性試験で LHY746 の安全性は確認されているものと判断した．

Encorafenib のラット及びサルの反復投与毒性試験において忍容性が確認された最大投与量で認められた主な毒性変化はいずれも薬理作用に関連した変化と考えられたことから，LHY746 が臨床で薬理作用に関連しない毒性を発現する可能性は低く，また LHY746 の *in vitro* 薬理活性は encorafenib の約 1/30 である［2.6.2.2.1.8］ことから，LHY746 が薬理作用による毒性発現に寄与する可能性も低いと考えられた．また，M12.8 はグルクロン酸抱合体であることから毒性学的懸念はないと考えられた．

2.6.6.9.9 不純物の安全性評価

原薬及び製剤中において，ICH Q3A(R2)ガイドライン及び ICH Q3B(R2)ガイドラインにおける安全性確認の必要な閾値を超える不純物は認められないことから，不純物の安全性評価は実施しなかった.

2.6.6.9.10 Binimetinib（MEK 阻害剤）との併用投与時の安全性評価

臨床において encorafenib は MEK 阻害剤である binimetinib と併用投与されることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，*in vivo* 薬理試験において併用投与による安全性を評価した．また，encorafenib と binimetinib の単剤投与時の毒性標的臓器の重複性やそれぞれの毒性発現機序から，併用投与時の安全性を考察した.

併用投与による *in vivo* 薬理試験では，併用時にそれぞれの単剤投与では認められない肝臓小葉辺縁部の炎症細胞浸潤が認められたが，肝細胞壊死などの傷害性変化や血液学的検査値の変動を伴わないことから，重篤な毒性を示唆する変化ではないと判断した.

Encorafenib 及び binimetinib の単剤投与時の毒性標的臓器を踏まえると，併用投与時に皮膚及び消化管に対する影響が重複すると考えられた．また，それぞれの毒性発現機序から，併用投与時に消化管及び網膜に対する影響が増強する可能性があると考えられた.

以下に，併用投与時の皮膚，消化管及び網膜に対する影響についての考察を示す.

2.6.6.9.10.1 皮膚への影響

Encorafenib のラット反復投与毒性試験において，6 mg/kg 以上で足底部の皮膚の乾燥，鱗屑，肥厚を含む皮膚病変が認められ，病理組織学的には皮膚の扁平上皮過形成，過角化及び炎症性細胞浸潤であった．Binimetinib のラット反復投与毒性試験では，1 mg/kg 以上で脱毛，3 mg/kg 以上で皮膚の痂皮，びらん／潰瘍及び炎症がみられ，皮膚傷害に対する反応性の変化としての再生性過形成が認められているが，扁平上皮に対する直接的な細胞増殖亢進作用を示唆する変化は認められていない [11) 12) 13) 14)]．したがって，encorafenib による皮膚の過形成性変化が binimetinib との併用により増強される可能性は低いと考えられた.

臨床では，RAF 阻害剤であるダブラフェニブと MEK 阻害剤であるトラメチニブとの併用により，ダブラフェニブでみられる皮膚の過形成性変化の発現頻度が低下している [15)]．RAF 阻害剤による皮膚の過形成性変化には，RAF 阻害作用によるパラドキシカルな MAP キナーゼ経路の活性化 [1) 2)] が関与しており，過形成性変化の発現頻度の低下は RAF の下流に位置する MEK に対する阻害剤の併用により，MAP キナーゼ経路の活性化が抑制されたためと考察される．したがって，encorafenib による皮膚の過形成性変化は，binimetinib との併用により軽減する可能性があると考えられた.

2.6.6.9.10.2 消化管への影響

Encorafenib のサル反復投与毒性試験において，60 mg/kg 以上で嘔吐，100 mg/kg では軟便，下痢及び血便が認められ，体重減少を伴っていた．病理組織学的検査において消化管の粘膜傷害を示唆する変化は認められなかったが，RAF-MEK シグナル伝達経路が消化管における粘膜バリア機能の維持に貢献している[5)]ことから，encorafenib によるこれらの消化器症状は，RAF 阻害作用に基づく変化である可能性が考えられる．

Binimetinib のサル反復投与毒性試験において，2 mg/kg 以上で大腸粘膜の傷害性を示唆する変化が認められ[13) 14)]，MEK 阻害作用に基づく変化の可能性が考えられる．したがって，RAF 及び MEK が同じ MAP キナーゼ経路にあることも併せて考察すると，併用投与時に消化管に対する影響が増強する可能性が考えられる．しかし，臨床試験では，併用群とそれぞれの単剤群における消化管障害の発現率及び重篤度に明らかな差は認められない［2.7.4.2］ことから，臨床使用において encorafenib と binimetinib の併用により消化管障害が増悪する可能性は低いと考えられた．

2.6.6.9.10.3 網膜への影響

Encorafenib のサル反復投与毒性試験において，眼科学的検査及び病理組織学的検査で 60 mg/kg の雌雄各 1 例に黄斑部における滲出性の網膜剥離を示唆する変化が認められたが，binimetinib の反復投与毒性試験において，網膜に対する影響は認められていない[11) 12) 13) 14)]．

Encorafenib による滲出性の網膜剥離を示唆する変化は，RAF の下流にある MEK を阻害するトラメチニブの臨床で認められた中心性漿液性網膜症[10)]と類似していることから，MAP キナーゼ経路の阻害に関連して発現した可能性が考えられた．Binimetinib の毒性試験において網膜に対する影響は認められていないが，臨床試験において滲出性の網膜剥離が認められており，MEK 阻害作用に関連した変化と考えられている［2.7.4.2.1.5］．したがって，RAF 及び MEK が同じ MAP キナーゼ経路にあることも併せて考察すると，併用投与時に網膜に対する影響が増強する可能性が考えられる．網膜への影響が増悪した場合には視覚に重篤な影響を及ぼす可能性があることから，臨床において網膜への影響に留意する必要があると考えられた．

2.6.6.9.11 結論

Encorafenib による主要な毒性として，扁平上皮（皮膚及び前胃）の過形成性変化，消化器症状，精巣毒性並びに網膜毒性が認められた．扁平上皮の過形成性変化，消化器症状及び精巣毒性は，いずれも類薬の RAF 阻害剤においても認められることから，RAF 阻害に関連し

て発現したものと考えられた．また，網膜毒性は類薬の RAF 阻害剤では認められていないが，MEK 阻害剤により誘発される中心性漿液性網膜症と類似していることや，MAP キナーゼ経路においてMEKがRAFの下流に位置することを併せて考慮すると，RAF阻害作用に関連した変化である可能性が考えられた．ラットにおいて母動物に対する毒性を示さない投与量から胎児毒性が認められており，十分な安全域がないことから，臨床では妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には投与しないことが望ましいと考えられた．

Binimetinib との併用時には皮膚の過形成性変化が軽減する可能性があるが，網膜毒性については増強する可能性が考えられた．また，encorafenib 及び binimetinib の単剤投与時に認められた毒性変化はいずれも回復性が確認されているが，臨床用量に対する安全域はいずれも 1 倍未満であることから，臨床での併用時には網膜に対する影響に留意する必要があると考えられた．また，encorafenib の単剤投与時に精巣毒性が認められたことから，臨床での併用時にも男性の受胎能に対する影響に留意する必要があると考えられた．

以上の非臨床毒性試験成績より，encorafenib は BRAF 遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫の治療薬として，忍容可能な安全性プロファイルを有すると考えられた．

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した．

2.6.6.11 参考文献

1） Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, Brandhuber BJ, Anderson DJ, Alvarado R. et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. Nature. 2010;464:431-5.

2） Carnahan J, Beltran PJ, Babij C, Le Q, Rose MJ, Vonderfecht S. et al. Selective and potent Raf inhibitors paradoxically stimulate normal cell proliferation and tumor growth. Mol Cancer Ther. 2010;9:2399-410.

3） Wisler JA, Afshari C, Fielden M, Zimmermann C, Taylor S, Carnahan J. et al. Raf inhibition causes extensive multiple tissue hyperplasia and urinary bladder neoplasia in the rat. Toxicol Pathol. 2011;39:809-22.

4） タフィンラーカプセル 50 mg，同カプセル 75mg 申請資料概要 2.6. 非臨床試験の概要文及び概要表.

5） Cornick S, Tawiah A, Chadee K. Roles and regulation of the mucus barrier in the gut. Tissue Barriers. 2015;3(1-2):e982426.

6） Shupe J, Cheng J, Puri P, Kostereva N, Walker WH. Regulation of Sertoli-germ cell adhesion and sperm release by FSH and nonclassical testosterone signaling. Mol Endocrinol. 2011; 25(2):238-52.

7） Barnier JV, Papin C, Eychène A, Lecoq O, Calothy G. The mouse B-raf gene encodes multiple protein isoforms with tissue-specific expression. J Biol Chem. 1995;270:23381-9.

8） Berruti G. A novel Rap1/B-Raf/14-3-3 θ protein complex is formed in vivo during the morphogenetic differentiation of postmeiotic male germ cells. Exp Cell Res. 2000;257:172-9.

9） Wojnowski L, Berna R, Park CM, Handel MA, Hollander WF, Zimmer A. Reduced activity of BRAF protein kinase in *hop* and *hop*^{hpy} mouse mutants. Mamm Genome 1998;9:905-6.

10） Renouf DJ, Velazquez-Martin JP, Simpson R, Siu LL, Bedard PL. Ocular toxicity of targeted therapies. J Clin Oncol. 2012;30:3277-86.

11） 社内資料：28-day repeat-dose oral toxicity study of ARRY-215311 in rats followed by a 4-week recovery. 最終報告書，1140-007

12） 社内資料：26-week repeat-dose oral toxicity study of ARRY-438162 in rats followed by a 4-week recovery. 最終報告書，1140-029

13） 社内資料：A 4-week toxicity study of ARRY-215311 administered by nasogastric intubation to Cynomolgus Monkeys, with a 4-week recovery period. 最終報告書，[redacted]00028

14） 社内資料：A 9-month toxicity study of ARRY-438162 administered by nasogastric intubation to Cynomolgus Monkeys, with a 3−month recovery period. 最終報告書，[redacted]00117

15） Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, Levchenko E, de Braud F, Larkin J, et al. Combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma. N Engl J Med. 2014;371(20):1877-88.

2.6.7 毒性試験の概要表

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.7 Toxicology tabulated summary 3
2.6.7.1 Toxicology: Overview 3
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview 6
2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data 7
2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance 14
2.6.7.5 Single-Dose Toxicity 15
2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Non-Pivotal Studies 16
2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies 17
2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro* 42
2.6.7.9 Genotoxicity: *In Vivo* 49
2.6.7.10 Carcinogenicity 50
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Non-Pivotal Studies 51
2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development to Implantation 52
2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development 53
2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre-And Postnatal Development, Including Maternal Function 57
2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals 58
2.6.7.16 Local Tolerance 59
2.6.7.17 Other Toxicity Studies 60

2.6.7 Toxicology tabulated summary

Encorafenib was referred to as LGX818, LGX818-NXA.XXX (where XXX is a range of 3 digit numbers), LGX818 Blend, NVP-LGX818 or NVP-LGX818-NX-2. This was solely administrative nomenclature, and there were no changes to the chemistry or method of manufacture and controls of the compound.

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test article : Encorafenib

Type of Study	Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	1 day	50, 100, 200 [b]	No	Novartis Pharm. Corp.	[redacted]70615a	4.2.3.1-1
Repeated-Dose Toxicity	Rat/Wistar Hannover	Oral (gavage)	1 month	0, 20, 100, 400	Yes	Novartis Pharm. Corp.	[redacted]70180	4.2.3.2-1
	Rat/Wistar Hannover	Oral (gavage)	3 months	0, 6, 20, 60	Yes	[redacted]	8000058	4.2.3.2-2
	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	1 month	0, 5, <u>20</u>, 100	Yes	Novartis Pharm. Corp.	[redacted]70179	4.2.3.2-3
	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	3 months	0, 6, 20, <u>60</u>	Yes	[redacted]	8000059	4.2.3.2-4
	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	3 months	0, <u>20</u>, 60	Yes	Novartis Pharm. Corp.	[redacted]70471	4.2.3.2-5

Admin.: Administration
a: Doses are in units of mg/kg unless otherwise specified. For repeated-dose toxicity study, the NOAEL is underlined.
b: 100 mg/kg b.i.d.

2.6.7.1 Toxicology: Overview (continued)

Test article : Encorafenib

Type of Study	Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Genotoxicity								
In vitro								
Bacterial reverse mutation assay	*S. typhimurium* /TA98, TA100, TA1535, TA97a and TA102	*In vitro*	NA	Initial toxicity mutation assay 1.6-5000 μ g/plate (±S9; TA100) Confirmatory assays 156.3-5000 μ g/plate (±S9; all strains)	Yes	[redacted]	8229996	4.2.3.3.1-1
Mammalian chromosomal aberration test	Human, peripheral blood lymphocytes	*In vitro*	3h treatment + 17 h recovery (±S9) 3 h treatment + 17 h recovery (+S9) 20 h treatment + 0 h recovery (-S9)	Experiment 1 25-700 μ g/mL (+S9) 25-600 μ g/mL (-S9) Experiment 2 25-600 μ g/mL (+S9) 5-150 μ g/mL (-S9)	Yes	[redacted]	8229997	4.2.3.3.1-2
In vivo								
Micronucleus test	Rat/ Wistar Hannover	Oral (gavage)	2 days	Toxicity dose range-finding study 1000, 1400, 2000 Main study 200, 1000 and 2000	Yes	[redacted]	8265568	4.2.3.3.2-1

Admin.: Administration, NA: Not applicable
a: Doses are in units of mg/kg unless otherwise specified.

2.6.7.1 Toxicology: Overview (continued)

Test article : Encorafenib

Type of Study	Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity								
Embryo-fetal development	Rat/ Wistar Hannover	Oral (gavage)	pc6-pc17	0, 0.5, 5 [c] and 20 [b]	Yes	[redacted]	9000201	4.2.3.5.2-1
	Rabbit/ NZW	Oral (gavage)	pc7-pc20	0, 50, 75, 100, 200	No	[redacted]	9000202	4.2.3.5.2-2
	Rabbit/ NZW	Oral (gavage)	pc7-pc20	0, 5, 25 [b,c], 75	Yes	[redacted]	9000203	4.2.3.5.2-3
Local Tolerance								
Skin irritation	Rabbit/ NZW	Topical	4 h semi-occlusion	500 mg per application	Yes	[redacted]	501816	4.2.3.6-1
Other toxicity studies								
Contact sensitization - local lymph node assay	Mouse, Balb/c	Topical	3 days	0, 0.5, 5.0 and 50% w/w	Yes	[redacted]	501817	4.2.3.7.7-1
Phototoxicity- Neutral red uptake	Balb/c 3T3 fibroblasts	*In vitro*	Incubation: 24 h	Up to 185.18 μ M	No	[redacted]	[redacted]090801	4.2.3.7.7-2

Admin.: Administration, pc: post-coitum day, NZW: New Zealand White
a: Doses are in units of mg/kg unless otherwise specified. For reproductive and developmental toxicity, the NOAEL is underlined.
b: NOAEL for maternal toxicity.
c: NOAEL for embryo-fetal development.

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview

Test article：Encorafenib

Type of Study	Test System	Method of Admin.	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Location in CTD
Escalating single dose toxicity	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	50, 100, 200 [b]	No	4.2.3.1-1
1-month repeated dose toxicity [c]	Rat/Wistar Hannover	Oral (gavage)	0, 20, 100, 400	Yes [d]	4.2.3.2-1
3-month repeated dose toxicity [c]	Rat/Wistar Hannover	Oral (gavage)	0, 6, 20, 60	Yes [d]	4.2.3.2-2
1-month repeated dose toxicity [c]	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	0, 5, 20, 100	Yes [d]	4.2.3.2-3
3-month repeated dose toxicity (1) [c]	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	0, 6, 20, 60	Yes [d]	4.2.3.2-4
3-month repeated dose toxicity (2) [c]	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	0, 20, 60	Yes [d]	4.2.3.2-5
Reproductive & Developmental Toxicity [c]	Rat/Wistar Hannover	Oral (gavage)	0, 0.5, 5, 20	Yes [d]	4.2.3.5.2-1
Reproductive & Developmental Toxicity [c]	Rabbit/NZW	Oral (gavage)	0, 5, 25, 75	Yes [d]	4.2.3.5.2-3

Admin.: Administration, NZW: New Zealand White
a: All studies were conducted using encorafenib and all dose levels refer to active substance.
b: 100 mg/kg b.i.d.
c: These studies performed in accordance with Good Laboratory Practices (GLPs; 21CFR§58) at study sites listed in Section 2.6.7.1.
d: The toxicokinetic analyses for these studies were performed in accordance with GLPs at Novartis Pharmaceuticals Corporation, East Hanover, NJ.

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data

Test article: Encorafenib

Report Title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period -Toxicokinetic report: Determination and toxicokinetics of LGX818 in rat plasma-
Study No.: [redacted]70180/ DMPK R[redacted]70180
Species and strain: Rat, Wistar Hannover
Method of administration: Oral gavage
Duration of dosing: 4 weeks
Recovery Period: 4 weeks (control and high dose group only)
Location in CTD: 4.2.3.2-1

Parameters	Time period (Day)	Daily dose (mg/kg)						**Human #**
		Female (N = 2/time point*)(mean ± SE†)			Male (N = 2/time point*)(mean ± SE†)			450 mg/person q.d.
		20	100	400	20	100	400	
Cmax (ng/mL)	1	42200	128000	180000	50700	83800	129000	6650
	29	45400	155000	NA	39700	91200	172000	
Cmax/Dose ((ng/mL)/(mg/kg/day))	1	2110	1280	450	2540	838	323	-
	29	2270	1550	NA	1990	912	430	-
Tmax (h)	1	0.5	0.5	3.0	1.0	1.0	1.0	-
	29	0.5	1.0	NA	1.0	1.0	1.0	-
AUC0-24h (ng·h/mL)	1	303000 ± 32000	1080000 ± 91000	2170000 ± 97000	145000 ± 36700	528000 ± 173000	1160000 ± 395000	13800
	29	276000 ± 40400	1690000 ± 378000	NA	106000 ± 32400	775000 ± 205000	1780000	
AUC0-24h/Dose ((ng·h/mL)/(mg/kg/day))	1	15100 ± 1600	10800 ± 910	5430 ± 243	7260 ± 1835	5280 ± 1730	2900 ± 988	-
	29	13800 ± 2020	16900 ± 3780	NA	5300 ± 1620	7750 ± 2050	4460	-

NA: Female high dose animals were terminated on Day 10; no Day 29 TK sample available.
*: TK sampling time points were: 0.5, 1, 3, 7 and 24 h post-dose.
†: SE values only calculated for AUC0-24h and AUC0-24h/Dose; Only 1 male animal at 400 mg/kg on Day 29 – no SE reported.
#: Mean Cmax at Day 1 and mean AUCtau of encorafenib at Day 15 achieved in the adult patients with BRAF mutant melanoma after administration of encorafenib at the dose of 450 mg/person q.d. for 28 days.(Study No.: CLGX818X2101) ［2.7.2.2.1.2］

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (continued)

Test Article: Encorafenib

Report Title: A 13-week oral (gavage) toxicity study with a 4-week recovery period in the rat -Toxicokinetic report: Determination and toxicokinetics of LGX818 in rat plasma-
Study No.: 8000058/ DMPK R[redacted]70356
Species and strain: Rat, Wistar Hannover
Method of administration: Oral gavage
Duration of dosing: 13 weeks
Recovery period: 4 weeks
Location in CTD: 4.2.3.2-2

Parameters	Time Period (Day)	Daily dose (mg/kg)						**Human #**
		Female (N = 2/time point*)(mean ± SE†)			Male (2/time point*)(mean ± SE†)			450 mg/person q.d.
		6	20	60	6	20	60	
Cmax (ng/mL)	1	16800	48300	102000	9820	27500	57800	6650
	90	18600	54500	150000	10400	42100	100000	
Cmax/Dose ((ng/mL)/(mg/kg/day))	1	2800	2420	1700	1640	1380	963	-
	90	3100	2730	2500	1730	2110	1670	-
Tmax (h)	1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	-
	90	1.0	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	-
AUC0-24h (ng·h/mL)	1	96800 ± 6900	288000 ± 89000	879000 ± 18400	40900 ± 7130	141000 ± 13800	303000 ± 68400	13800
	90	114000 ± 6730	414000 ± 44700	1110000 ± 73700	45200 ± 2340	178000 ± 20100	614000 ± 73600	
AUC0-24h/Dose ((ng·h/mL)/(mg/kg/day))	1	16100	14400	14600	6820	7040	5060	-
	90	19000	20700	18500	7540	8890	10200	-

*: TK sampling time points were: 0.5, 1, 3, 7 and 24 h post-dose.
†: SE values only calculated for AUC0-24h.
#: Mean Cmax at Day 1 and mean AUCtau of encorafenib at Day 15 achieved in the adult patients with BRAF mutant melanoma after administration of encorafenib at the dose of 450 mg/person q.d. for 28 days.(Study No.: CLGX818X2101) ［2.7.2.2.1.2］

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (continued)

Test Article: Encorafenib

Report Title: 4-week oral (gavage) toxicity study in monkeys with a 4-week recovery period - Toxicokinetic report: Determination and toxicokinetics of LGX818 in monkey plasma-
Study No.: [redacted]70179/DMPK R[redacted]70179
Species and strain: Monkey, cynomolgus
Method of administration: Oral gavage
Duration of dosing: 4 weeks
Recovery Period: 4 weeks (control and high dose group only)
Location in CTD: 4.2.3.2-3

Parameters	Time period (Day)	Daily dose (mg/kg)						**Human #**
		Female* (mean ± SD†)			Male* (mean ± SD†)			450 mg/person q.d.
		5 (N=3)	20 (N=3)	100 (N=5)	5 (N=3)	20 (N=3)	100 (N=5)	
Cmax (ng/mL)	1	64.0 ± 56.1	401 ± 351	11100 ± 4970	56.4 ± 15.8	398 ± 126	9610 ± 3390	6650
	29	61.2 ± 33.5	485 ± 191	3020 ± 3380	90.3 ± 24.7	499 ± 154	7890 ± 5560	
Cmax/Dose ((ng/mL)/(mg/kg/day))	1	12.8 ± 11.2	20.1 ± 17.6	111 ± 49.7	11.3 ± 3.15	19.9 ± 6.25	96.1 ± 33.9	-
	29	12.2 ± 6.7	24.3 ± 9.54	30.2 ± 33.8	18.1 ± 4.91	25.0 ± 7.67	78.9 ± 55.6	-
Tmax (h)	1	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	4.60	-
	29	3.00	3.00	2.20	3.00	2.33	2.20	-
AUC0-24h (ng·h/mL)	1	339 ± 289	2140 ± 1240	61100 ± 33100	260 ± 24.2	2040 ± 491	63900 ± 19400	13800
	29	319 ± 201	1870 ± 608	12000 ± 9590	330 ± 90.6	1880 ± 518	28500 ± 18800	
AUC0-24h/Dose ((ng·h/mL)/(mg/kg/day))	1	67.8 ± 57.8	107 ± 61.8	611 ± 331	52.0 ± 4.8	102 ± 24.4	639 ± 194	-
	29	63.9 ± 40.3	93.7 ± 30.6	120 ± 95.9	66.1 ± 18.1	94 ± 25.8	285 ± 188	-

*: TK sampling time points were: 0.5, 1, 3, 7 and 24 h post-dose.
†: SD values not calculated for Tmax.
#: Mean Cmax at Day 1 and mean AUCtau of encorafenib at Day 15 achieved in the adult patients with BRAF mutant melanoma after administration of encorafenib at the dose of 450 mg/person q.d. for 28 days.(Study No.: CLGX818X2101) ［2.7.2.2.1.2］

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (continued)

Test Article: Encorafenib

		Report Title: A 13-week oral (gavage) toxicity study with a 4-week recovery period in the Cynomolgus monkey -Toxicokinetic report: Determination and toxicokinetics of LGX818 in monkey plasma- **Study No.:** 8000059/ DMPK R[redacted]70357 **Species and strain:** Monkey, cynomolgus **Method of administration:** Oral gavage **Duration of dosing:** 13 weeks (terminal) **Recovery period:** 4 weeks							
		Location in CTD: 4.2.3.2-4							
Parameters	Time Period (Day)	Daily dose (mg/kg)						**Human** [#]	
		Female[*](mean ± SD[†])			Male[*](mean ± SD[†])			450 mg/person q.d.	
		6	20	60	6	20	60		
Cmax (ng/mL)	1	183	477	343	293	133	604	6650	
	28	267	1140	2730	142	134	2340		
	84	434	619	218	119	71.6	218		
Cmax/Dose ((ng/mL)/(mg/kg/day))	1	30.4	23.8	5.72	49.0	6.65	10.1	-	
	28	44.6	56.9	45.4	23.6	6.70	38.9	-	
	84	72.3	31.0	3.64	19.8	3.58	3.64	-	
Tmax (h)	1	0.5	1.500	1.92	0.5	1.88	2.00	-	
	28	0.5	0.750	1.25	0.5	1.50	2.00	-	
	84	0.5	0.625	2.25	0.5	1.50	1.25	-	
AUC0-24h (ng·h/mL)	1	332 ± 190	1530 ± 1160	1260 ± 614	454 ± 379	788 ± 312	2490 ± 1260	13800	
	28	379 ± 157	1950 ± 864	3550 ± 6950	359 ± 139	614 ± 244	5330 ± 9030		
	84	545 ± 263	1430 ± 1030	794 ± 629	300 ± 127	463 ± 221	1190 ± 601		
AUC0-24h/Dose ((ng·h/mL)/(mg/kg/day))	1	55.4 ± 31.5	76.7 ± 58.4	21.1 ± 10.2	75.6 ± 63.1	39.4 ± 15.5	41.5 ± 21.1	-	
	28	63.1 ± 26.1	97.4 ± 43.0	59.1 ± 116	59.8 ± 23.1	30.7 ± 12.2	88.7 ± 150	-	
	84	90.8 ± 43.7	71.3 ± 51.6	13.2 ± 10.4	50.0 ± 21.2	23.2 ± 11.0	19.7 ± 10.0	-	

*: For each sex, N = 4 for the 6 mg/kg and 20 mg/kg dose groups and 6 for the 60 mg/kg dose group. TK sampling time points were: 0.5, 1, 3, 7 and 24 h post-dose

†: SD was only reported for AUC values.

#: Mean Cmax at Day 1 and mean AUCtau of encorafenib at Day 15 achieved in the adult patients with BRAF mutant melanoma after administration of encorafenib at the dose of 450 mg/person q.d. for 28 days.(Study No.: CLGX818X2101) ［2.7.2.2.1.2］

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (continued)

Test Article: Encorafenib

		Report Title: 13-week oral (gavage) toxicity study in monkeys with a 10-week recovery period -Toxicokinetic report: Determination and toxicokinetics of LGX818 in monkey plasma- **Study No.:** [redacted]70471/ DMPK R[redacted]70471 **Species and strain:** Monkey, cynomolgus **Method of administration**: Oral gavage **Duration of dosing:** 13 weeks (terminal) **Recovery period:** 10 weeks				
		Location in CTD: 4.2.3.2-5				
Parameters	Time Period (Day)	Daily dose (mg/kg)				**Human #**
		Female*(mean ± SD†)		Male*(mean ± SD†)		450 mg/person q.d.
		20	60	20	60	
Cmax (ng/mL)	1	8270	12700	3590	10400	6650
	23	3190	12800	1740	12100	
	86	2930	7790	1640	6790	
Cmax/Dose ((ng/mL)/(mg/kg/day))	1	414	211	180	173	-
	23	160	214	87	202	-
	86	147	130	82	113	-
Tmax (h)	1	0.75	1.00	1.00	0.917	-
	23	0.75	1.25	0.875	0.917	-
	86	1.13	2.00	0.875	1.67	-
AUC0-24h (ng·h/mL)	1	11100 ± 3980	43000 ± 31000	5830 ± 6390	24200 ± 17100	13800
	23	4940 ± 3390	31400 ± 20800	2730 ± 2630	23500 ± 17800	
	86	4280 ± 4620	23900 ± 20400	3120 ± 2450	20300 ± 19200	
AUC0-24h/Dose ((ng·h/mL)/(mg/kg/day))	1	558 ± 200	717 ± 519	291 ± 320	404 ± 285	-
	23	247 ± 169	523 ± 346	137 ± 131	392 ± 297	-
	86	214 ± 232	399 ± 340	156 ± 123	339 ± 321	-

* For each sex, N = 4 for the 20 mg/kg dose group and 6 for the 60 mg/kg dose group. TK sampling time points were: 0.5, 1, 3, 7 and 24 h post-dose.
† SD was only reported for AUC values.
#: Mean Cmax at Day 1 and mean AUCtau of encorafenib at Day 15 achieved in the adult patients with BRAF mutant melanoma after administration of encorafenib at the dose of 450 mg/person q.d. for 28 days.(Study No.: CLGX818X2101) ［2.7.2.2.1.2］

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (continued)

Test Article: Encorafenib

		Report Title: LGX818: An oral gavage study of embryo-fetal development in the rat -Toxicokinetic report: Determination and toxicokinetics of LGX818 in rat plasma- **Study No.:** 9000201/ DMPK R[redacted]70077 **Species and strain:** Rat, Wistar Hannover **Method of administration:** Oral gavage **Duration of dosing:** 12 days (pc6-pc17) **Location in CTD**: 4.2.3.5.2-1			
Parameters	Time Period (pc)	Daily dose (mg/kg)			**Human** [#]
		0.5	5	20	450 mg/person q.d.
Maternal Plasma Exposures					
Cmax (ng/mL)	16	2040	12700	36400	6650
Cmax/Dose ((ng/mL)/(mg/kg/day))	16	4090	2540	1820	-
Tmax (h)	16	0.5	0.7	1.0	-
AUC0-24h (ng·h/mL)	16	13700 ± 1040	90200 ± 23000	370000 ± 35100	13800
AUC0-24h/Dose ((ng·h/mL)/(mg/kg/day))	16	27400 ± 2130	18000 ± 4590	18500 ± 1730	-
Maternal and Fetal Plasma Exposures					
$C_{maternal}$ (ng/mL)	17 (1h post-dose)	1848	13620	37125	-
C_{fetal} (ng/mL)	17 (1h post-dose)	27.5	237	583	-
C_{fetal} (ng/mL)/ $C_{maternal}$ (ng/mL)	17 (1h post-dose)	0.0149	0.0174	0.0157	-

pc: post-coitum day, TK sampling time points were: 0.5, 1, 3, 7 and 24 h post-dose.
Mean values are listed (N = 4 for the 0.5 mg/kg/d and 20 mg/kg/d dose groups and N=5 for the 5 mg/kg/d dose group).
SD was only reported for AUC values.
#: Mean Cmax at Day 1 and mean AUCtau of encorafenib at Day 15 achieved in the adult patients with BRAF mutant melanoma after administration of encorafenib at the dose of 450 mg/person q.d. for 28 days.(Study No.: CLGX818X2101) ［2.7.2.2.1.2］

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (continued)

Test Article: Encorafenib

		Report Title: LGX818: An oral gavage study of embryo-fetal development in the rabbit -Toxicokinetic report: Determination and toxicokinetics of LGX818 in maternal and fetal rabbit plasma- **Study No.:** 9000203/ DMPK R[redacted]70141 **Species and strain:** Rabbit, New Zealand White **Method of administration:** Oral gavage **Duration of dosing:** 14 days (pc7-pc20)			
		Location in CTD: 4.2.3.5.2-3			
Parameters	Time Period (pc)	Daily dose (mg/kg)			**Human** [#]
		5	25	75	450 mg/person q.d.
Maternal Exposures					
Cmax (ng/mL)	19	23800 ± 2250	83800 ± 16600	213000 ± 20900	6650
Cmax/Dose ((ng/mL)/(mg/kg/day))	19	4760	3350	2840	-
Tmax (h)	19	4	1.8	1.0	-
AUC0-24h (ng·h/mL)	19	302000 ± 107000	1010000 ± 85200	2480000 ± 361000	13800
AUC0-24h/Dose ((ng·h/mL)/(mg/kg/day))	19	60300 ± 21400	40300 ± 3430	33000 ± 4810	-
Maternal and Fetal Plasma Exposures					
$C_{maternal}$ (ng/mL)	19 (3 h post-dose)	18500	77200	179000	-
C_{fetal} (ng/mL)	20 (3 h post-dose)	73.4	357	1400	-
Percent LGX818 in fetal plasma	20 (3 h post-dose)	0.397	0.462	0.782	-

pc: post-coitum day, TK sampling time points were: 0.5, 1, 3, 7 and 24 h post-dose.
Mean values are listed (N = 4 per group for the 5 mg/kg/d dose and N=5 per group for the 25 and 75 mg/kg/d dose groups).
SD was only reported for Cmax and AUC values.
#: Mean Cmax at Day 1 and mean AUCtau of encorafenib at Day 15 achieved in the adult patients with BRAF mutant melanoma after administration of encorafenib at the dose of 450 mg/person q.d. for 28 days.(Study No.: CLGX818X2101) ［2.7.2.2.1.2］

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance

Test Article: Encorafenib

Batch No.	Purity (%)	Impurities (Area %)									Study Number	Type of Study
		501-13	089-13	616-14	615-14	624-13	503-13	510-13	RRT 0.17	RRT 1.07		
Regulatory specification	Drug substnace	[redacted]					[redacted]					
	Drug pruduct					[redacted]						
LGX818-[redacted]033-006	>98.0	0.4									[redacted]70615a	Single-Dose escalation toxicity study in monkeys
1050001	99.2	<0.1									[redacted]70180	Repeat-Dose Toxicity, Rat, 1 month
											8229996	Genotoxicity (Ames)
											8229997	Genotoxicity (Chomosomal abberration)
1051002	98.1	<0.1									[redacted]70179	Repeat-Dose Toxicity, Monkey, 1 month
	98.6	<0.1									8265568	Genotoxicity (Rat micronucleus)
1151004	99.3	<0.1	<0.05	0.31	0.09	0.06			0.09	0.06	8000058	Repeat-Dose Toxicity, Rat, 3 months
[redacted]2803-080 [1)]	99.7										8000059	Repeat-Dose Toxicity, Monkey, 3 months (1)
											[redacted]70471	Repeat-Dose Toxicity, Monkey, 3 months (2)
1010000737	100.0	<0.1	0.12	<0.05	0.13	<0.05			<0.05	<0.05	9000201	Reproductive and Developmental Toxicity (rat Seg II)
1010002084 [2)]	100.0	<0.05	0.05	<0.05			<0.05	<0.05			9000202	Dose range finding study of embryo-fetal development in the rabbit
											9000203	Reproductive and Developmental Toxicity (rabbit Seg II)
1151003	100.0	<0.1	<0.1	0.2	0.1	<0.1			<0.1	<0.1	501816	Local Tolerance (skin irritation)
											501817	Mouse LLNA (contact sensitization)

RRT: Relative Retention Time. _Impurities in drug substances were assayed by HPLC otherwise specified.
1) Batch No. of drug product containing drug substance the batch number of which is 1151004.
2) Assay by UPLC. Content of individual impurities were presented in %w/w.

2.6.7.5 Single-Dose Toxicity

Test Article: Encorafenib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg/day)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage (56:29:15%(w:w:w) PEG400:Cremophor EL:Oleic Acid)	Single-dose escalation	50, 100, 200 [a]	3M	200	>200	No mortality and no effects on body weight, food consumption, hematology and hematochemistry were observed at any doses. **100 mg/kg:** Emesis: 1/3 animals (approximately 35 minutes after dosing) **200 mg/kg [a]:** Emesis: 2/3 animals (approximately 1-3 h after dosing) **Toxicokinetics** At the day of administration of each dose. (Mean value of 3 males/group) Dose (mg/kg): 50 / 100 / 200 Cmax (ng/mL): 1650 / 5580 / 6870 AUC0-24h (ng·h/mL): 12800 / 43900 / 41400	[redacted]70615a	4.2.3.1-1

a: 100 mg/kg b.i.d.

2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Non-Pivotal Studies

No non-pivotal general toxicology studies were performed.

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats

Report Title: 4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period		**Test Article:** Encorafenib
Species/Strain: Rat/Wistar Hannover	**Duration of Dosing:** 4 weeks	**Study No.:** [redacted]70180
Initial Age: 9-10 weeks of age	**Duration of Post-dose:** 4 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2-1
Date of First Dose: 28 September 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
	Vehicle/Formulation: 0.5% w/v CMC and 0.5 vol% Tween 80 in water/ suspension	GLP Compliance: Yes
Special Features: Investigational (non-GLP) gene expression analysis of various tissues. Results not included in the GLP study report. Due to mortality and excessive body weight loss, the surviving group 4 (400 mg/kg) female were sacrificed early on day 10, while the control and group 4 female recovery animals began recovery on the same day.		
No Observed Adverse Effect Level: Not determined.		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Number of Animals	M:16	F:16	M: 10	F: 10	M: 10	F:10	M:16	F:16
Toxicokinetics:AUC0-24h(ng·h/mL)	TK-Males (n=2)	TK-Females (n=2)	TK-Males (n=2)	TK-Females (n=2)	TK-Males (n=2)	TK-Females (n=2)	TK-Males (n=2)	TK-Females (n=2)
Day 1 (mean ± SE)	NE	NE	145000 ± 36700	303000 ± 32000	528000 ± 173000	1080000 ± 91000	1160000 ± 395000	2170000 ± 97000
Day 29 (mean ± SE)	NE	NE	106000 ± 32400	276000 ± 40400	775000 ± 205000	1690000 ± 378000	1780000 (n=1)	NA
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund [a]	0	0	0	0	0	0	1	10
Body weight (g) [b]	338.6	230.4	329.1 (-2.8%)	216.3* (-6.1%)	314.3 (-7.2%)	205.9** (-10.6%)	284.9** (-15.9%)	164.0** [c] (-22.1%)
Body weight gain (g) [b]	74.1	34.8	62.7 (-15.4%)	19.7** (-43.4%)	47.1** (-36.4%)	10.5** (-69.8%)	18.9** (-74.5%)	-35.6** [c] (-341%)
Food consumption (g/animal/day) [b]	19.5	14.5	-4.1%	-2.1%	-6.2%	+1.4%	-7.7%	-65%** [c]

*: significantly different from control ($p<0.05$), **: significantly different from control ($p<0.01$) (ANOVA, Dunnett's test), NA:Not applicatable, NE: Not examined
a: One male and ten females died or were sacrificed moribund between day 8 and day 10; test article-related: increases in red blood cell counts, BUN and magnesium, decreases in platelet counts and calcium, changes in liver function parameters. Histopathology: atrophy of thymus, spleen and lymph nodes, enlargement of adrenal gland, erosion/ulcer in gastric mucosa.
b: Performed at end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, group means and/or percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
c: On day 10 of treatment period compared to controls on day 10

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies (continued)

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: [redacted]70180 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Number of Animals	M:16	F:16	M: 10	F: 10	M: 10	F:10	M:16	F:16
Clinical Observations: no. of animals (mean no. animal days with clinical sign)								
General Behavior								
Hypersensitive to touch	-	-	-	-	-	-	-	2 (1)
Appearance								
Thin	-	-	-	-	-	-	1 (1.0)	3 (2.7)
Dehydrated	-	-	-	-	-	-	6 (2.5)	8 (1.4)
Pale	-	-	-	-	-	-	-	4 (1)
Cold to touch	-	-	-	-	-	-	-	4 (1.3)
Hunched posture	-	-	-	-	-	-	-	8 (1.5)
Motor abilities								
Decreased locomotion (slight)	-	-	-	-	-	-	-	1 (1.0)
Decreased locomotion (moderate)	-	-	-	-	-	-	-	2 (1.0)
Muscle tremors	-	-	-	-	-	-	-	1 (1.0)
Twitches	-	-	-	-	-	-	-	1 (1.0)
Eyes								
Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	4 (1.0)
Nose								
Chomorhinorrhea	-	-	-	-	1 (1.0)	-	-	2 (1.0)

-: No noteworthy findings

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies (continued)

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: [redacted]70180 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Number of Animals	M:16	F:16	M: 10	F: 10	M: 10	F:10	M:16	F:16
Clinical Observations: no. of animals (mean no. animal days with clinical sign)								
Skin /fur								
Hairloss	-	3 (10.7)	1(30.0)	1 (5.0)	2 (14.5)	1 (11.0)	1(18.0)	3 (8.7)
Piloerection	-	-	-	-	-	-	1 (3.0)	11 (2.0)
Scab	-	-	-	-	1 (23.0)	-	1 (19.0)	-
Flaky skin/hindpaw(s)	-	-	2 (10.5)	9 (13.4)	10 (14.9)	10 (9.6)	10 (11.0)	-
Flaky skin/forepaw(s)	-	-	1 (10.0)	2 (13.0)	3 (8.3)	2 (3.0)	5 (4.6)	-
Reddened skin/hindpaw(s)	-	-	3 (3.0)	-	8 (4.3)	9 (6.4)	14 (7.3)	-
Reddened skin/forepaw(s)	-	-	-	-	1 (5.0)	-	6 (6.2)	-
Footpad swelling	-	-	1 (1.0)	2 (1.5)	1 (1.0)	5 (5.4)	8 (4.9)	-
Limbs/tail								
Tail Sore	-	-	2 (16.5)	2 (16.0)	7 (13.1)	4 (10.0)	6 (11.2)	-
Oral								
Salivation	-	-	-	-	-	-	1 (1.0)	-

-: No noteworthy findings

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies (continued)

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: [redacted]70180 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Number of Animals	M:16	F:10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M:15	F:5 [e]
Hematology [d]								
Hemoglobin (g/dL)	15.1	14.5	-	-	-	-	14.6 (-3.3%)*	14.8
Mean red cell volume (fL)	51.1	52.5	-	-	-	50.8 (-3,2%)**	49.7 (-2.7%)*	49.9
Mean RBC corp. hemoglobin(pg)	17.5	18.2	-	-	-	17.4 (-4.4%)**	16.9 (-3.4%)*	17.5
Absolute reticulocytes (10^3/µL)	231.4	212.5	-	-	-	264.3 (+24%)*	-	66.7
Percent reticulocytes (%)	2.7	2.7	-	-	-	-	-	0.8
White blood cell count (10^3/µL)	8.2	5.4	-	-	10.9 (+33%)**	-	-	2.6
Neutrophils (10^3/µL)	0.91	0.8	-	-	1.40 (+54%)*	-	1.66(+82%)**	0.5
Lymphocytes (10^3/µL)	6.87	4.36	-	-	9.04 (+32%)**	-	-	2.02
Eosinophils (10^3/µL)	0.11	0.09	-	-	0.18 (+64%)**	0.18 (+100%)**	0.19 (+73%)**	0.03
Serum Chemistry [d]								
Phosphorus (mg/dL)	6.2	4.7	-	-	-	-	5.4(-13%)*	6.1
AST (U/L)	81	73	-	60 (-18%)**	65 (-20%)*	-	64 (-21%)*	87
Creatinine (mg/dL)	0.30	0.30	-	-	-	-	0.24 (-20%)**	0.21
Total protein (g/dL)	6.3	6.7	-	-	-	-	6.2 (-1.6%)*	3.8
Triglycerides (mg/dL)	229	143	-	-	166 (-28%)*	73 (-49%)**	108 (-53%)**	60
Globulin (g/dL)	2.5	2.2	-	-	-	-	2.3 (-8%)**	1.3
Albumin/globulin ratio	1.55	2.03	-	-	-	-	1.72 (+11%)*	1.83

-: No noteworthy findings
*: significantly different from control ($p<0.05$); **: significantly different from control ($p<0.01$) (ANOVA, Dunnett's test)
d: On Day 25 of treatment period. For control group, means are shown; for treated groups, mean (percent difference from control) are shown.
e: Mean value from 5 surviving animals in Group 4 on Day 10 of treatment period ; non-tolerated dose level

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies (continued)

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: [redacted]70180 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Number of Animals	M:16	F:10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M:15	F:0
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	NA
Ophthalmoscopy	-	-	NA	NA	NA	-	-	NA
Organ Weights								
Number of animals examined	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:9	F:0
Body weight (g)	339.8	228.7	327.9	216.6*	310.1*	205.7**	286.8**	NA
Adrenal gl.								
Absolute (g)	0.05823	0.07531	-	-	-	0.06420*	-	NA
BW Relative (%)	0.01718	0.03285	-	-	-	-	-	NA
Epididymides								
Absolute (g)	1.12	NA	0.98881	NA	0.95738*	NA	0.83150**	NA
BW Relative (%)	0.32900	NA	0.30058	NA	0.31033	NA	0.29121*	NA
Pituitary gland								
Absolute (g)	0.00928	0.01467	-	-	-	-	0.00709**	NA
BW Relative (%)	0.00273	0.00644	-	-	-	-	-	NA
Prostate								
Absolute (g)	0.66895	NA	-	NA	-	NA	0.47899*	NA
BW Relative (%)	0.19693	NA	-	NA	-	NA	0.16759	NA
Thyroid gland								
Absolute (g)	0.02912	0.02433	0.02085**	0.02034*	-	0.01828**	0.02109**	NA
BW Relative (%)	0.00858	0.01068	0.00637**	-	-	-	-	NA

-: No noteworthy findings, NA: Not applicable

*: significantly different from control ($p<0.05$), **: significantly different from control ($p<0.01$) (ANOVA, Dunnett's test or Dunn's test)

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: [redacted]70180 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Gross Pathology								
Number of animals examined	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10(1)†	F: 10(10)†
Skin								
Scaly, foot	0	0	0	7	8	9	5	0
Thickened area, foot	0	0	0	3	8	8	5	0
Histopathology (no. animals with grade) f								
Number of animals examined	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10(1)†	F: 10(10)†
Adrenal glands								
Congestion	-	-	NE	NE	NE	-	-	1(1)+++
Hypertrophy, cortical	-	-	NE	NE	NE	-	-	1(1)+
Hemorrhage, cortical	-	-	NE	NE	NE	-	-	1(1)+, 1(1)++
Vacuolation, cortical	-	-	NE	NE	NE	-	-	2(2)+, 2(2)++
Bone marrow								
Hypocellularity	-	-	NE	NE	NE	-	1(1)+++	2(2)++, 4(4)+++, 3(3)++++
Epididymides								
Debris, cellular	-	NA	1 ++, 1 ++++	NA	3+	NA	5+	NA
Oligospermia	-	NA	2++++	NA	5+, 1+++	NA	5+	NA
Kidneys								
Necrosis, tubular	-	-	NE	NE	NE	-	-	1(1)+, 1(1)++
Mineralization	-	3+	NE	NE	NE	3+	-	1(1)+
Vacuolation, tubular	-	-	NE	NE	NE	-	1(1)+++	5(5)++, 3(3)+++, 1(1)++++
Liver								
Vacuolation, cytoplasmic	-	-	-	-	NE	-	1(1)+	1(1)++, 3(3)+++, 1(1)++++
Necrosis	1++	-	-	-	NE	-	-	1(1)+, 1(1)++

-: No noteworthy findings, NA: not applicable, NE: Not examined, + Minimal, ++Mild, +++ Moderate, ++++ Marked

†: Number of dead or moribund animals observed at the treatment period and the animals at the interim necropsy. The numbers of the dead or moribund animals are shown in parentheses.

f: Data describing severity is represented as total number of animals with the findings with an indication of severity (e.g., "2+" means the finding was observed/found in 2 animals with minimal severity; "4++" means the finding was observed/found in four animals with mild severity). The numbers of the dead or moribund animals with the findings are shown in parentheses.

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: [redacted]70180 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10(1)†	F:10(10)†
Histopathology (no. animals with grade) [f]								
Parathyroid glands								
Vacuolation	-	-	-	-	-	-	-	1(1)++, 2(2)++++
Skin [g]								
Hyperkeratosis	-	-	NE	3++, 4+++	1++, 6+++, 1++++	6++, 2+++, 1++++	2++, 2+++, 1++++	-
Hyperplasia, squamous cell	-	-	NE	2++, 3+++, 2++++	4+++, 4++++	4++, 5+++	1++, 3+++, 1++++	-
Inflammatory cell infiltrate	-	-	NE	7++	2+, 6++	3+, 1++	2+	-
Spleen								
Erythopoiesis, decrease	-	-	NE	NE	NE	-	-	1(1)+
Atrophy	-	-	NE	NE	NE	-	-	2(2)+, 2(2)++, 3(3)+++
Vacuolation, cytoplasmic	-	-	NE	NE	NE	-	1+	1(1)+, 1(1)++, 2(2)+++
Atrophy, lymphoid	-	-	NE	NE	NE	-	1+	1(1)+, 1(1)+++
Stomach								
Congestion	-	-	-	-	-	-	-	3(3)+
Erosion, gl. stomach	-	-	-	-	-	-	-	2(2)+, 2(2)++, 2(2)+++
Hyperkeratosis	2+	2+	4+	3+	8+	8+	8+, 1++	3(3)+
Hyperplasia, squamous cell	1+	1+	-	-	-	8+	9+	-
Ulcer, non-gl. stomach	-	-	-	-	-	-	-	3(3)++
Ulcer, gl. stomach	-	-	-	-	-	-	-	1(1)+++
Vacuolation, cytoplasmic	1+	1++	-	2+, 3++	1+	2+	-	-
Testes								
Degeneration, tubular [h]	-	NA	1+, 1++++	NA	4+, 2++	NA	1+, 5++	NA
Vacuolation, tubular [i]	-	NA	1+	NA	3+, 1++	NA	2+	NA
Thymus								
Depletion, lymphoid	-	1+	NE	NE	NE	1+	1(1)++++	2(2)+, 2(2)+++, 5(5)++++

-: No noteworthy findings, NA: not applicable, NE: Not examined, + Minimal, ++Mild, +++ Moderate, ++++ Marked

†: Number of dead or moribund animals observed at the treatment period and the animals at the interim necropsy. The numbers of the dead or moribund animals are shown in parentheses.

f: Data describing severity is represented as number of animals with the findings with an indication of severity (e.g., "2+" means the finding was observed/found in 2 animals with minimal severity; "4++" means the finding was observed/found in four animals with mild severity). The numbers of the dead or moribund animals with the findings are shown in parentheses.

g: Includes only the skin (from hind or front feet) collected based on gross observations.

h: more mature forms of spermatids were nearly absent within the lumens of the seminiferous tubules, i: most likely Sertoli cells (Sertoli cell vacuolation)

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: [redacted]70180 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Recovery period (through Day 58)								
Number Evaluated	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 4[†]
Died or Sacrificed Moribund	0	0	NE	NE	NE	NE	0	1
Body weight (g)	385.8	242.9	NE	NE	NE	NE	356.3	217.6
Food consumption (g/animal/day)	19.20	19.90	NE	NE	NE	NE	15.4	14.3
Clinical Observations: no. of animals (mean no. animal days with clinical sign)								
Appearance								
Pale	-	-	NE	NE	NE	NE	-	1 (1.0)
Thin	-	-	NE	NE	NE	NE	-	1 (1.0)
Dehydrated	-	-	NE	NE	NE	NE	-	3 (2.7)
Hunched posture	-	-	NE	NE	NE	NE	-	1 (1.0)
Motor Abilities								
Decreased locomotion (slight)	-	-	NE	NE	NE	NE	-	1 (1.0)
Nose								
Chomorhinorrhea	1 (1.0)	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Skin/fur								
Staining of fur	1(5.0)	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Hairloss	1(13.0)	1(27.0)	NE	NE	NE	NE	2 (27.5)	1 (3.0)
Piloerection	-	-	NE	NE	NE	NE	-	2 (4.0)
Flaky skin/hindpaw(s)	-	-	NE	NE	NE	NE	6 (6.7)	2 (4.0)
Flaky skin/forepaw(s)	-	-	NE	NE	NE	NE	-	1 (1.0)
Reddened skin/hindpaw(s)	-	-	NE	NE	NE	NE	6 (3.8)	-
Footpad swelling	-	-	NE	NE	NE	NE	2 (6.0)	-
Hematology [j]								
Red blood cell count (M/ µL)	8.84	8.39	NE	NE	NE	NE	-	7.92* (-5.6%)
Mean red cell volume (fL)	50.8	50.7	NE	NE	NE	NE	-	52.8** (+4.1%)
Absolute reticulocytes (10^3/µL)	213.7	214	NE	NE	NE	NE	239.5* (+12.1%)	-
Percent reticulocytes (%)	2.4	2.6	NE	NE	NE	NE	2.7* (+12.5%)	-

-: No noteworthy findings, NE: Not examined (or no sample taken), [†]: animals dosed for 10 days only
*:significantly different from control ($p<0.05$), **: significantly different from control ($p<0.01$) (ANOVA, Dunnett's test)
j: For control group, means are shown; for treated groups, mean (percent difference from control) are shown.

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: [redacted]70180 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Recovery period (Day 58) continued								
Histopathology (no. animals with grade) [f]								
Number of animals examined	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 4 [†]
Epididymides								
Edema, interstitial	-	NA	NE	NE	NE	NE	1+++	NA
Granuloma, spermatic	-	NA	NE	NE	NE	NE	1+++	NA
Debris, cellular	-	NA	NE	NE	NE	NE	1++++	NA
Oligospermia	-	NA	NE	NE	NE	NE	2++, 1++++	NA
Kidney								
Mineralization	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1+
Basophilia, tubular	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1+
Liver								
Inflammation, chonic	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	2+
Skin								
Follicultis	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1+	NE
Atrophy, hair follicle	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1+, 1++	NE
Hyperplasia, squamous cell	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1+++	NE
Hyperkeratosis	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1+++	NE

-: No noteworthy findings, NA: not applicable, NE: Not examined (or no sample taken)
+ Minimal, ++Mild, +++ Moderate, ++++ Marked
[†]: animals dosed for 10 days only
f: Data describing severity is represented as number of animals with the findings with an indication of severity (e.g., "2+" means the finding was observed/found in 2 animals with minimal severity; "4++" means the finding was observed/found in four animals with mild severity).

2.6.7.7A 1-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: [redacted]70180 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		100		400	
Recovery period (Day 58) continued								
Histopathology (no. animals with grade) [f]								
Number of animals examined	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 6	F: 4 [†]
Stomach								
Inflammation, mixed cell	-	1+	NE	NE	NE	NE	-	-
Vacuolation, cytoplasmic	1+, 1++, 1+++	1+	NE	NE	NE	NE	3+	-
Testes								
Vacuolation, tubular	-	NA	NE	NE	NE	NE	2++	NA
Degeneration, tubular	-	NA	NE	NE	NE	NE	2++, 1+++++	NA
Thymus								
Hemorrhage	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1++	-

-: No noteworthy findings, NA: not applicable, NE: Not examined (or no sample taken)
+ Minimal, ++Mild, +++ Moderate, ++++ Marked, +++++ Massive
[†] animals dosed for 10 days only.
f: Data describing severity is represented as number of animals with the findings with an indication of severity (e.g., "2+" means the finding was observed/found in 2 animals with minimal severity; "4++" means the finding was observed/found in four animals with mild severity).

2.6.7.7B 3-month repeated dose toxicity study in rats

Report Title : A 13-week oral (gavage) toxicity study with a 4-week recovery period in rat		**Test Article:** Encorafenib
Species/Strain: Rat/Wistar Hannover	**Duration of Dosing:**13 weeks	**Study No.:** 8000058
Initial Age: 8 weeks of age	**Duration of Post-dose:** 4 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-2
Date of First Dose: 18 October 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
	Vehicle/Formulation: 0.5 w/v% CMC and 0.5 vol% Tween 80 in water/ suspension	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Investigational (non-GLP) gene expression analysis of stomach, skin, eyelid and urinary bladder. Results not included in the GLP study report.		
No. Observed Adverse Effect Level: Not determined.		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals	M:16	F:16	M:10	F:10	M:10	F:10	M:16	F:16
Toxicokinetics								
Number of Animals for TK (2/sex/group/time point)	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
AUC0-24h (ng·h/mL) Day 1 (mean ± SE)	NE	NE	40900 ± 7130	96800 ± 6900	141000 ± 13800	288000 ± 89000	303000 ± 68400	879000 ± 18400
AUC0-24h (ng·h/mL) Day 90 (mean ± SE)	NE	NE	45200 ± 2340	114000 ± 6730	178000 ± 20100	414000 ± 44700	614000 ± 73600	1110000 ± 73700
Noteworthy Findings								
Died /Sacrificed Moribund [$]	0	0	0	0	0	0	1	0
Body weight (g) [a]	401.1	233.9	385.4 (-3.9%)	225.4 (-3.6%)	366.1* (-8.7%)	222.0 (-5.1%)	356.2** (-11.2%)	215.4** (-7.9%)
Body weight gain (g) [a]	186.7	67.2	172.2 (-7.8%)	61.7 (-8.2%)	154.7* (-17.1%)	54.7* (-18.6%)	140.8*** (-24.6%)	48.1*** (-28.4%)
Food consumption (g/animal/day) [a]	19.9	14.2	+3.0%	-1.4%	-7.5%	-4.2%	-11.1%	-2.8%

$: The single death confirmed due to gavage accident. NE: Not examined.

*: significantly different from control ($p<0.05$), **: significantly different from control ($p<0.01$), ***: significantly different from control ($p<0.001$), (ANOVA, Dunnett's test or Dunn's test)

a: Performed at the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, group means and percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies (continued)

2.6.7.7B 3-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: 8000058 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals	M:16	F:16	M:10	F:10	M:10	F:10	M:16	F:16
Clinical Observations [No. animals(study day range)]								
Appearance								
Swollen, soft (hindpaw, forepaws and/or tail)	-	-	-	-	-	-	4 (D8-92)	4 (D8-15)
Swollen, firm (hindpaw, forepaws and/or tail)	-	-	-	1 (D92)	2(D71-85)	6 (D29-92)	7 (D15-99)	10 (D15-92)
Skin								
Red	2 (D57-120)	1 (D78-92)	5 (Pre-D92)	8 (D15-92)	8 (D1-85)	10 (D8-92)	15 (D6-113)	16 (D8-120)
White (Pale)	-	-	-	4 (D50-78)	3 (D13-64)	8 (D8-92)	9 (D8-92)	16 (D8-92)
Dry	-	1 (D43)	2 (D22-92)	6 (D29-92)	5 (D8-92)	10 (D13-92)	14 (D8-120)	16 (D15-120)
Flaky	-	-	1 (D85-92)	5 (D29-92)	5 (D13-92)	10 (D13-92)	16 (D15-113)	16 (D15-99)
Papule	-	-	-	-	-	-	4 (D29-99)	-
Scab	2 (Pre-D57)	3 (Pre-D85)	-	3 (Pre-D43)	4 (D8-92)	6 (D15-92)	13 (Pre-D92)	11 (Pre-D120)
Fur, Dry	-	-	-	-	-	-	2 (D71-92)	2 (D85-120)
Piloerection	-	-	-	-	-	-	2 (D29-82)	1 (D43-57)
Fur, staining red	9 (D22-120)	3 (D29-36)	3 (D1-43)	3 (Pre-D22)	1 (D1-8)	4 (D1-57)	2 (D1-57)	7 (D1-120)
Fur, thin	1(Pre)	2 (Pre-D8)	3 (Pre-D92)	2 (D29-92)	4 (D8-92)	3 (D36-57)	4 (Pre-D92)	8 (D36-120)
Salivation	-	-	-	-	-	-	1 (D76)	3 (D29-92)
Vaginal discharge, liquid	NA	1 (Pre)	NA	-	NA	-	NA	5 (D50-99)

-: No noteworthy findings, D: Day, NA: not applicable

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies (continued)

2.6.7.7B 3-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: 8000058 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		6		20		60	
Treatment period (though Day 91)								
Number of Animals	M:16	F:16	M:10	F:10	M:10	F:10	M:16	F:16
Hematology [b]								
White blood cell count(10^3/μL)								
Week 5	7.913	5.730	-	-	-	6.979 (+22%)	8.999 (+14%)	6.549 (+14%)
Week 11	6.387	3.934	-	-	-	4.420 (+12%)	7.274 (+14%)	4.441 (+13%)
Absolute neutrophil count (10^3/μL)								
Week 5	1.061	0.848	-	-	-	-	1.453* (+37%)	0.956 (+13%)
Week 11	0.845	0.619	-	-	-	-	1.356*** (+61%)	0.834 (+35%)
Absolute eosinophil count (10^3/μL)								
Week 5	0.081	0.068	-	-	0.144* (+77%)	0.113** (+67%)	0.191*** (+135%)	0.113*** (+67%)
Week 11	0.077	0.057	0.125* (+62%)	-	0.114 (+47%)	0.078 (+37%)	0.175*** (+126%)	0.087** (+54%)
Absolute reticulocytes (10^3/μL)								
Week 5	221.63	209.85	-	-	-	-	-	250.25* (+19%)
Week 11	200.47	188.39	-	218.93* (+16%)	-	233.41** (+24%)	-	227.20** (+21%)
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Serum Chemistry [b]								
Urea (mg/dL)								
Week 5	14.9	18.3	-	-	17.1 (+15%)	-	16.8 (+13%)	-
Week 11	15.7	19.3	-	-	18.0 (+15%)	-	18.3 (+16%)*	-
Glucose (mg/dL)								
Week 5	114.1	116.6	-	-	-	-	126.4 (+11%)	-
Week 11	103.5	109.3	-	-	-	122.6 (+12%)	120.0 (+16%)	120.9 (+11%)

-: No noteworthy findings, NA: not applicable,
* :significantly different from control ($p<0.05$), ** :significantly different from control ($p<0.01$), ***:significantly different from control ($p<0.001$), (ANOVA, Dunnett's test or Dunn's test)
b: For control group, means are shown; for treated groups, mean (percent difference from control) are shown.

2.6.7.7B 3-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: 8000058 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		6		20		60	
Treatment period (through Day 91)								
Number of Animals	M:16	F:16	M:10	F:10	M:10	F:10	M:16	F:16
Serum Chemistry [b]								
Cholesterol (mg/dL)								
Week 5	84.2	77.3	101.4* (+20%)	-	108.9*** (+29%)	-	109.4*** (+30%)	-
Week 11	87.3	76.3	-	-	112.9*** (+29%)	-	111.2*** (+27%)	-
Triglycerides (mg/dL)								
Week 5	305.6	226.0	-	-	-	-	223.8* (-27%)	-
Week 11	268.4	208.9	-	-	-	282.7 (+35%)	191.3 (-29%)	243.8 (+17%)
Organ Weights [c]								
Body weight (g)	401.9	235.4	385.5	224.8	367.5	222.2	354.0*	217.9
Testes								
Absolute (g)	3.8944	NA	3.4155 (-12%)	NA	3.4647 (-11%)	NA	2.6662 (-32%)**	NA
BW Relative (%)	0.9727	NA	0.8888	NA	0.9454	NA	0.7478*	NA
Epididymes								
Absolute (g)	1.1833	NA	1.0739 (-9%)	NA	0.9744 (-17%)***	NA	0.8125 (-31%)***	NA
BW Relative (%)	0.2955	NA	0.2789	NA	0.2664	NA	0.2301***	NA

-: No noteworthy findings, NA: not applicable, *: significantly different from control ($p<0.05$), **: significantly different from control ($p<0.01$), ***: significantly different from control ($p<0.001$); (ANOVA, Dunnett's test or Dunn's test).

b: For control group, means are shown; for treated groups, mean (percent difference from control) are shown.

c: Number in parentheses indicates percent difference for the absolute organ weights.

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies (continued)

2.6.7.7B 3-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: 8000058 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		6		20		60	
Treatment period (Day 91)								
Gross Pathology								
Number of animals examined	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Testes								
Abnormal consistency, soft	0	NA	0	NA	1	NA	4	NA
Small	0	NA	0	NA	1	NA	4	NA
Epididymes								
Abnormal consistency, soft	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Small	0	NA	0	NA	1	NA	2	NA
Skin, hind paws								
Thick; yellow footpad	0	0	0	0	0	0	3	0
Histopathology [d]								
Number of animals examined	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Epididymes								
Oligo/aspermia	-	NA	1+++++	NA	1++++	NA	2++, 3+++, 1+++++	NA
Cellular debris	-	NA	1++++	NA	1++++	NA	1++, 4+++	NA
Skin, hind paws								
Epithelial hyperplasia	-	-	9+, 1++	7+, 1++	5+, 3++, 2+++	3+, 3++, 1+++	2+, 1++,3+++, 3++++	4+, 2++
Hyperkeratosis	-	-	7+, 3++	8+	7+, 1++, 2+++	7+	2+, 1++, 5+++, 1++++	6+, 2++
Stomach								
Epithelial hyperplasia, non-glandular	-	-	-	-	1+	-	3+	4+
Hyperkeratosis	-	-	-	-	1+	-	2+	4+
Testes								
Tubular degeneration	-	NA	1+, 1++	NA	1++++	NA	1+, 1+++, 1++++, 3+++++	NA

-: No noteworthy findings, NA: not applicable
+ Minimal, ++Mild, +++ Moderate, ++++ Marked ; +++++Severe
d: Data describing severity is represented as number of animals with the findings with an indication of severity (e.g., “2+” means the finding was observed/found in 2 animals with minimal severity; “4++” means the finding was observed/found in four animals with mild severity).

2.6.7.7B 3-month repeated dose toxicity study in rats **Study No.: 8000058 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		6		20		60	
Recovery period (Day 119)								
Number Evaluated	M: 6	F: 6	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 5	F: 6
Hematology [b]								
White blood cell count(10^3/μL)	5.058	3.465	NE	NE	NE	NE	5.963 (+18%)	4.122 (+19%)
Absolute eosinophil count (10^3/μL)	0.097	0.042	NE	NE	NE	NE	-	0.066 (+58%)
Serum Chemistry [b]								
ALT (U/L)	49.0	43.5	NE	NE	NE	NE	1.33 (2/5)	1.65 (2/6)
AST (U/L)	76.3	72.2	NE	NE	NE	NE	1.25 (3/5)*	1.34 (2/6)**
Alkaline Phosphatase (U/L)	98.0	49.7	NE	NE	NE	NE	-	1.50 (1/6)
Gross Pathology								
Stomach								
Wall, increased thickness	0	0	NE	NE	NE	NE	2	0
Histopathology [d]								
Skin, hind paws								
Epithelial hyperplasia	0	0	NE	NE	NE	NE	1+	1+
Hyperkeratosis	0	0	NE	NE	NE	NE	1+	1+
Stomach								
Epithelial hyperplasia	0	0	NE	NE	NE	NE	2+	1+
Epithelial hyperplasia, non-glandular	0	0	NE	NE	NE	NE	1+	0
Hyperkeratosis	0	0	NE	NE	NE	NE	2+	1+
Testes								
Tubular degeneration	1++	NA	NE	NA	NE	NA	1+, 2++, 1+++	NA

NA: not applicable; NE: not examined (or no sample taken), + Minimal, ++Mild, +++ Moderate
b: For control group, means are shown; for treated groups, mean (percent difference from control) are shown; Fold change versus control listed for enzyme activities (no. animals),
*: significantly different from control ($p<0.05$), **: significantly different from control ($p<0.01$) (Wilcoxon test).
d: Data describing severity is represented as number of animals with the findings with an indication of severity (e.g., "2+" means the finding was observed/found in 2 animals with minimal severity; "4++" means the finding was observed/found in four animals with mild severity).

2.6.7.7C 1-month repeated dose toxicity study in monkeys

Report Title : 4-week oral (gavage) toxicity study in monkeys with a 4-week recovery period		**Test Article:** Encorafenib
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	**Duration of Dosing:** 4 weeks	**Study No.:** [redacted]70179
Initial Age: 2-4 years old	**Duration of Recovery:** 4 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-3
Date of First Dose: 21 October 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
	Vehicle/Formulation:56:29:15%(w:w:w) PEG400:Cremophor EL:Oleic Acid	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 20 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
Number of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Toxicokinetics								
AUC0-24h (ng·h/mL) Day 1	NE	NE	260 ± 24.2	339 ± 289	2040 ± 491	2140 ± 1240	63900 ± 19400	61100 ± 33100
AUC0-24h (ng·h/mL) Day 29	NE	NE	330 ± 90.6	319 ± 201	1880 ± 518	1870 ± 608	28500 ± 18800	12000 ± 9590
Cmax (ng/mL) Day 1	NE	NE	56.4 ± 15.8	64.0 ± 56.1	398 ± 126	401 ± 351	9610 ± 3390	11100 ± 4970
Cmax (ng/mL) Day 29	NE	NE	90.3 ± 24.7	61.2 ± 33.5	499 ± 154	485 ± 191	7890 ± 5560	3020 ± 3380
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (g) [a]	3300	2766.7	3566.7 (+8.08%)	2966.7 (+7.23%)	3400.0 (+3.03%)	2900.0 (+4.82%)	2966.7 (-10.10%)	2533.3 (-8.43%)
Body weight gain (kg)	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	-0.2	0.0
Clinical Observations: no. of animals (mean no. animal days with clinical sign)								
Appearance								
Dehydration	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.0)	0 (0.0)
Stool								
25% feces, soft	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.0)
75% feces, soft	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.0)	0 (0.0)
25% diarrhea	3 (5.0)	3 (3.0)	3 (2.0)	0 (0.0)	2(1.0)	3 (3.0)	4 (2.0)	2 (1.0)
50% diarrhea	5 (9.6)	5 (7.2)	3 (8.0)	3 (2.0)	3 (2.0)	3 (3.0)	5 (5.6)	5 (6.0)
75% diarrhea	5 (17.4)	5 (23.6)	3 (16.0)	3 (28.0)	3 (19.0)	3 (26.0)	5 (14.8)	5 (19.8)
100% diarrhea	3 (1.0)	0 (0.0)	3 (3.0)	3 (2.3)	3 (7.0)	0 (0.0)	5 (8.4)	5 (5.8)
Blood in feces	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	3 (2.3)	1 (1.0)

NE: Not examined

a: Performed at the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, group means and percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.6.7C 1-month repeated dose toxicity study in monkeys **Study No.: [redacted]70179 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
Number of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Food								
100% consumed	5 (30.0)	5 (30.6)	3 (30.0)	3 (32.0)	3 (28.0)	3 (33.0)	5 (14.6)	5 (25.6)
75% consumed	3 (2.0)	3 (4.0)	0 (0.0)	3 (1.0)	3 (2.0)	0 (0.0)	5 (11.2)	5 (6.4)
50% consumed	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (5.0)	3 (1.0)
25% consumed	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)
Emesis								
With feed	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)
With apparent compound	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	1 (1.0)
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Treatment period (Day 29)								
Number of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology								
Number of animals examined	3	3	3	3	3	3	3	3
	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number of animals examined	3	3	3	3	3	3	3	3
	-	-	-	-	-	-	-	-

-: no noteworthy findings

2.6.6.7C 1-month repeated dose toxicity study in monkeys Study No.: [redacted]70179 (continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
Recovery period (Day 56)								
Number of animals	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Body weight (g) [b]	3700	2850	NE	NE	NE	NE	3550 (-4.05%)	2450 (-14.04%)
Ophthalmoscopy	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Electrocardiography	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Hematology	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Serum Chemistry	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Urinalysis	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Organ Weights	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Gross Pathology	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Histopathology	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-

-: No noteworthy findings, NE: Not examined (or no sample taken)
b: Performed at end of recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, group means and percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.7D 3-month repeated dose toxicity study in monkeys (1)

Report Title : A 13-week oral (gavage) toxicity study with a 4-week recovery period in the Cynomolgus monkey		**Test Article:** Encorafenib
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	**Duration of Dosing:** 13 weeks	**Study No.:** 8000059
Initial Age: 2-4 years old at start of dosing	**Duration of Recovery:** 4 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2-4
Date of First Dose: 20-21 Nov 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
	Vehicle/Formulation: Ultrapure water; LGX818 Blend (15% w/w as active ingredient)	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals		M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Toxicokinetics									
AUC0-24h (ng·h/mL) (mean ± SD)	Day 1	NE	NE	454 ± 397	332 ± 190	788 ± 312	1530 ± 1160	2490 ± 1260	1260 ± 614
	Day 28	NE	NE	359 ± 139	379 ± 157	614 ± 244	1950 ± 864	5330 ± 9030	3550 ± 6950
	Day 84	NE	NE	300 ± 127	545 ± 263	463 ± 221	1430 ± 1030	1190 ± 601	794 ± 629
Cmax (ng/mL)	Day 1	NE	NE	293	183	133	477	604	343
	Day 28	NE	NE	142	267	134	1140	2340	2730
	Day 84	NE	NE	119	434	71.6	619	218	218
Noteworthy Findings [a]									
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (kg) [b]		3.20	3.00	3.53 (+10.31%)	2.90 (-3.3%)	3.05 (-4.68%)	2.90 (-3.3%)	2.80 (-12.5%)	2.82 (-6.0%)
Body weight gain (kg)		0.40	0.28	0.43	0.23	0.30	0.33	0.15	0.17
Clinical Observations [c]		-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy		-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography		-	-	-	-	-	-	-	-

-: no noteworthy findings, NE: Not examined

a: Due to low and variable exposure to active test article with the LGX818 Blend formulation, no overt toxicity nor noteworthy findings were observed in this study.

b: Performed at the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, group means and percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

c: Includes evaluation of food consumption.

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies (continued)

2.6.7.7D 3-month repeated dose toxicity study in monkeys (1) Study No.: 8000059 (continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6	F:6
Treatment period (Day 92) [a]								
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology								
Number of animals examined	4	4	4	4	4	4	4	4
	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number of animals examined	4	4	4	4	4	4	4	4
	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery period (Day 120)								
Number of Animals	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Body weight (kg) [d]	3.80	3.30	NE	NE	NE	NE	3.25 (-14.48)	2.95 (-10.61)
Ophthalmoscopy	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Electrocardiography	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Hematology	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Serum Chemistry	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Urinalysis	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Organ Weights	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Gross Pathology								
Number of animals examined	2	2	0	0	0	0	2	2
	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Histopathology								
Number of animals examined	2	2	0	0	0	0	2	2
	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-

-: no noteworthy findings; NE: Not examined (or no sample taken)
a: Due to low and variable exposure to active test article with the LGX818 Blend formulation, no overt toxicity nor noteworthy findings were observed in this study.
d: Performed at the end of recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, group means and percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.7E 3-month repeated dose toxicity study in monkeys (2)

Report Title : 13-week oral (gavage) toxicity study in monkeys with a 10-week recovery period		**Test Article:** Encorafenib
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	**Duration of Dosing**: 13 weeks	**Study No.:** [redacted]70471
Initial Age: 3-5 years	**Duration of Recovery:** 10 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-5
Date of First Dose: 24 July 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
	Vehicle/Formulation: Purified water; LGX818 Blend [redacted] LGX818 [redacted]	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Investigational (non-GLP) gene expression analysis of esophagus, skin and urinary bladder. Results not included in the GLP study report.		
No Observed Adverse Effect Level: 20 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		20		60	
Number of Animals		M:6	F:6	M:4	F:4	M:6	F:6
Toxicokinetics							
AUC0-24h (ng·h/mL) (mean ± SD)	Day 1	NE	NE	5830 ± 6390	11100 ± 3980	24200 ± 17100	43000 ± 31000
	Day 23	NE	NE	2730 ± 2630	4940 ± 3390	23500 ± 17800	31400 ± 20800
	Day 86	NE	NE	3120 ± 2450	4280 ± 4620	20300 ± 19200	23900 ± 20400
Cmax (ng/mL)	Day 1	NE	NE	3590	8270	10400	12700
	Day 23	NE	NE	1740	3190	12100	12800
	Day 86	NE	NE	1640	2930	6790	7790
Noteworthy Findings							
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0
Body weight (kg) [a]		3.52	3.17	3.08 (-12.5)	2.90 (-8.52)	2.87* (-18.47)	2.90 (-8.52)
Body weight gain (kg)		0.08	-0.02	0.08	-0.15	-0.05	-0.23

NE: Not examined, *: significantly different from control ($p<0.05$) (ANOVA, Dunnett LSD test)
a: Performed at the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, group means and percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies (continued)

2.6.7.7E 3-month repeated dose toxicity study in monkeys (2) Study No.: [redacted]70471 (continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		60	
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:6	F:6
Clinical Observations: no. of animals (mean no. animal days with clinical sign)						
Emesis	1 (2.00)	1 (1.00)	1 (3.00)	1 (1.00)	4 (3.50)	5 (2.40)
Emesis with feed	0 (0.00)	2 (1.00)	0 (0.00)	1 (1.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
Emesis with apparent compound	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (1.00)	3 (1.67)	1 (2.00)
Salivation , clear	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (9.00)
Ophthalmoscopy (no. affected/total animals)						
Left and right eye. day 85						
Granular substance, fovea	-	-	-	-	-	1/4
Yellow lesion, fovea	-	-	-	-	-	1/4
Left eye, day 92						
Blister and yellow spots, central fovea	-	-	-	-	-	1/4
Blister, temporal fovea	-	-	-	-	-	1/4
Blister, dorsal fovea	-	-	-	-	-	1/4
Blister, optic nerve	-	-	-	-	-	1/4
Right eye, day 92						
Blister and yellow spots, central fovea	-	-	-	-	-	1/4
Blister and yellow spots, ventral fovea	-	-	-	-	-	1/4
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-

-: No noteworthy findings

2.6.7.7E 3-month repeated dose toxicity study in monkeys (2) Study No.: [redacted]70471 (continued)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		60	
Treatment period (Wk 13)						
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:6	F:6
Hematology	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology						
Number of animals examined	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
	-	-	-	-	-	-
Histopathology [b]						
Eye						
Retinal detachment, fovea, both eyes	-	-	-	-	-	1++ [c]
Recovery period (Wk 23)						
Number of Animals	M:2	F:2	M:0	F:0	M:2	F:2
Body weight (g) [d]	3.65	3.50	NE	NE	3.55 (-2.74)	3.35 (-4.29)
Ophthalmoscopy (no. affected/total animals)						
Right eye						
Day 85(dosing period)						
Blister and yellow band , macular area	-	-	NE	NE	1/2	-
Day 92 (dosing period)						
Blister (4x size of optic nerve at D85)	-	-	NE	NE	1/2	-
Yellow band ,ventral macular area	-	-	NE	NE	1/2	-

+ Minimal, ++Mild, +++ Moderate, ++++ Marked ; +++++Severe

-: No noteworthy findings, NE: Not examined (or no sample taken)

b: Data describing severity is represented as number of animals with the findings with an indication of severity (e.g., "2+" means the finding was observed/found in 2 animals with minimal severity; "4++" means the finding was observed/found in four animals with mild severity).

c: A punctate eosinophilic material filled the space left from the detachment.

d: Performed at the end of recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, group means and percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.7E 3-month repeated dose toxicity study in monkeys (2) **Study No.: [redacted]70471 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		60	
Recovery period (Wk 23) cont.						
Number of Animals	M:2	F:2	M:0	F:0	M:2	F:2
Day 11 (recovery period)						
Blister (reduced in size)	-	-	NE	NE	1/2	-
Yellow band ,ventral macular, enlarged from Day 92	-	-	NE	NE	1/2	-
Day 26 (recovery period)						
Blister with yellow substance over fovea	-	-	NE	NE	1/2	-
Day 47 (recovery period)						
Smaller blister with yellow substance over fovea	-	-	NE	NE	1/2	-
Day 69 (recovery period)						
Dorsal blister, nearly resolved; decreased yellow material	-	-	NE	NE	1/2	-
Central fovea blister, nearly resolved; yellow material, partially recovered	-	-	NE	NE	1/2	-
Electrocardiography	-	-	NE	NE	-	-
Hematology	-	-	NE	NE	-	-
Serum Chemistry	-	-	NE	NE	-	-
Urinalysis	-	-	NE	NE	-	-
Organ Weights	-	-	NE	NE	-	-
Gross Pathology						
Number of animals examined	M:2	F:2	M:0	F:0	M:2	F:2
	-	-	NE	NE	-	-
Histopathology [b]						
Retinal detachment, fovea, right eye	-	-	NE	NE	1++ [e]	-

-: No noteworthy findings; NE: Not examined (or no sample taken), + Minimal, ++Mild, +++ Moderate, ++++ Marked ; +++++Severe

b: Data describing severity is represented as number of animals with the findings with an indication of severity (e.g., "2+" means the finding was observed/found in 2 animals with minimal severity; "4++" means the finding was observed/found in four animals with mild severity).

e: The space was filled with a row of macrophages containing granular debris with a yellowish hue.

2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro*

2.6.7.8A Bacterial Reverse Mutation Assay

Report Title : Reverse Mutation in five histidine-requiring strains of *Salmonella typhimurium*		**Test Article:** Encorafenib
Test for Induction of: Histidine Independent Revertants	**No. of Independent Assays:** 2	**Study No.:** 8229996
Strains: Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA97a and TA102)	**No. of Replicate Cultures:** 2	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1-1
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:** Revertants from seeding of 0.9 to 2.6 x 10^8 cells/plate	**GLP Compliance:** Yes
Vehicles: For Test Article: DMSO For Positive Controls: DMSO or water (sodium azide)		
Treatment: 1.6-5000 µg per plate	**Date of Treatment:** 06 July 20[redacted]	
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

Metabolic Activation	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/plate)	Assay # 1 Revertant colony counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	TA102
Without Activation	Vehicle (DMSO)	-	21.8 ± 5.7	142.4 ± 14.2	23.4 ± 5.1	119.2 ± 18.7	253.6 ± 15.4
	LGX818	1.6	27.3 ± 5.5	161.7 ± 11.2	21.3 ± 5.1	112.7 ± 7.6	245.0 ± 19.7
		8	19.3 ± 3.1	144.0 ± 3.6	19.7 ± 6.0	103.3 ± 12.6	261.0 ± 16.4
		40	22.7 ± 2.1	146.7 ± 16.4	17.7 ± 7.6	106.3 ± 5.1	281.3 ± 4.9
		200	27.0 ± 13.7	135.7 ± 12.4	17.7 ± 5.9	118.7 ± 7.1	255.7 ± 7.6
		1000	25.7 ± 0.6	125.3 + 17.0	13.7 ± 6.1	113.0 ± 12.1	230.3 ± 8.1
		5000	32.0 ± 9.2	152.7 ± 22.5	17.7 ± 6.0	90.7 ± 9. 1	215.0 ± 26.5
	2-nitrofluorene	5	1510.3 ± 246.3				
	Sodium azide	2		489 ± 69.7	650.3 ± 19.3		
	Mitomycin C	0.2					648.0 + 46.0
	9-aminoacridine	100				635.7 ± 103.3	

2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro* (continued)

2.6.7.8A Bacterial Reverse Mutation Assay **Study No.: 8229996 (continued)**

Metabolic Activation	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/plate)	Assay # 1 Revertant colony counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	TA102
With Activation	Vehicle (DMSO)	-	30.4 ±3.8	144.2 ± 10.0	16.4 ± 4.0	124.6 ± 11.9	212.6 ± 21.5
	LGX818	1.6	32.7 ± 2.1	144.7 ± 10.8	16.7 ± 0.6	117.3 ± 2.5	181.0 ± 15.6
		8	39.0 ± 3.6	128.0± 39.7	8.0 ± 1.7	127.0 ± 15.6	167.0 ± 15.7
		40	31.7 ± 5.0	150.3 ± 11.5	17.7 ± 3.1	131.0 ± 12.5	170.7 ± 15.5
		200	38.0 ± 2.6	126.3 ± 9.5	17.0 ± 4.4	133.7 ± 14.6	165.0 ± 4.4
		1000	25.7 ± 3.5	133.3 ± 17.4	14.0 ± 3.5	127.0 ± 21.9	151.0 ± 15.0
		5000	29.0 ± 8.7	132.0 ± 13.9	17.3 ± 3.5	102.3. ± 15.8	183.7 ± 17.0
	2-aminoanthracene	5		808.3 ± 86.3	201.0 ± 12.8	1014.3 ± 66.3	
	2-aminoanthracene	20					1504.7 ± 181.6
	Benzo [a] pyrene	10	372.0 ± 29.6				
Metabolic Activation	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/plate)	Assay # 2 Revertant colony counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	TA102
Without Activation	Vehicle (DMSO)	-	29.2 ± 3.5	125.2 ± 8.7	17.0 ± 4.2	122.8 ± 9.7	225.6 ± 17.1
	LGX818	156.3	26.3 ± 6.5	132.3 ± 3.8	17.3 ± 2.3	87.3 ± 8.3	196.3 ± 4.0
		312.5	26.3 ± 12.3	114.0 ± 15.6	14.0 ± 9.0	95.0 ± 19.5	200.7 ± 8.1
		625	27.7 ± 6.1	118.7 ± 9.0	11.7 ± 2.3	97.7 ± 15.5	211.0 ± 4.4
		1250	27.3 ± 3.2	133.0 ± 6.9	12.0 ± 1.7	95.3 ± 3.2	208.0 ± 17.3
		2500	15.0 ± 0.0	125.7 ± 10.2	12.3 ± 5.8	101.7 ± 7.6	192.3 ± 12.4
		5000	20.0 ± 7.8	200.0 ± 57.3	16.3 ± 6.8	96.7 ± 18.0	201.7 ± 10.4
	2-Nitrofluorene	5	1198.3 ± 185.3				
	Sodium azide	2		880.3 ± 31.8	577.0 ± 56.1		
	Mitomycin C	0.2					678.3 ± 41.9
	9-aminoacridine	100				1027.0 ± 64.4	

2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro* (continued)

2.6.7.8A Bacterial Reverse Mutation Assay **Study No.: 8229996 (continued)**

Metabolic Activation	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/plate)	Assay # 2				
			Revertant colony counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	TA102
With Activation	Vehicle (DMSO)	-	32.0 ± 3.0	117.2 ± 14.0	16.4 ± 4.7	95.2 ± 2.5	217.6 ± 27.5
	LGX818	156.3	31.3 ± 2.5	124.0 ± 12.3	13.0 ± 4.4	93.0 ± 2.0	204.7 ± 12.7
		312.5	30.0 ± 3.6	128.3 ± 5.7	12.7 ± 6.8	97.7 ± 1.5	179.7 ± 18.0
		625	30.3 ± 5.1	115.3 ± 12.7	12.0 ± 3.5	107.7 ± 7.8	195.7 ± 25.0
		1250	39.7 ± 5.5	134.0 ± 10.5	14.0 ± 3.5	91.3 ± 19.1	188.7 ± 26.0
		2500	33.7 ± 5.1	138.3 ± 3.5	12.0 ± 3.5	100.3 ± 8.7	164.0 ± 25.5
		5000	29.0 ± 13.5	134.3 ± 5.1	13.0 ± 2.6	79.7 ± 9.1	172.7 ± 26.6
	2-aminoanthracene	5		1376.3 ± 80.3	218.0 ± 19.5	658.0 ± 36.0	
	2-aminoanthracene	20					1601.7 ± 90.6
	Benzo [a] pyrene	10	446.0 ± 27.5				

2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro* (continued)

2.6.7.8B Chromosomal aberration test

Report Title: Induction of chromosome aberrations in cultured human peripheral blood lymphocytes		**Test Article:** Encorafenib
Test for Induction of: chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes	**No. of Independent Assays:** 2 (plus 3 range finder assays)	**Study No.:** 8229997
	No. of Replicate Cultures: 2	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1-2
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9 **Vehicle:** DMSO	**No. of Cells Analyzed/Culture:** 300g cell pellet; final pre-treatment test volume 4.7 mL per culture	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Range finder: 18.14 to 5000 µg/mL Definitive: -S9: 5 to 600 µg/mL; +S9: 25 to 700 µg/mL		**Date of Treatment:** 5 July 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Mitotic inhibition > 50% at ≥ 400 µg/mL with 3+17 h exposure; and at ≥ 50 µg/mL with 20 h exposure (-S9)		
Genotoxic Effects: None		

Experiment 1

Metabolic Activation	Exposure Duration (treatment + recovery)	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/mL)	Cells Scored	Cells with chromosomal aberrations with gaps	Cells with chromosomal aberrations without gaps	MIH (%)
-S9	3 hs + 17 hs	Vehicle (DMSO)	(B)	100	2	2	
			(A)	100	3	2	
			Total	200	5	4	-
		LGX818	75 (A)	100	1	1	
			75 (B)	100	2	2	
			Total	200	3	3	8
			100 (A)	100	0	0	
			100 (B)	100	0	0	
			Total	200	0	0	21
			250 (A)	100	0	0	
			250 (B)	100	0	0	
			Total	200	0	0	48
			400 (A)	100	0	0	
			400 (B)	100	3	3	
			Total	200	3	3	50

2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro* (continued)

2.6.7.8B Chromosomal aberration test **Study No.: 8229997 (continued)**

Experiment 1 (continued)

Metabolic Activation	Exposure Duration (treatment + recovery)	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/mL)	Cells Scored	Cells with chromosomal aberrations with gaps	Cells with chromosomal aberrations without gaps	MIH (%)
-S9	3 hs + 17 hs	4-Nitroquinoline-1-oxide	2.5 (A)	88	17 #	17 #	
			2.5 (B)	78	20 #	19 #	
			Total	166	37	36 [a]	
+ S9	3 hs + 17 hs	Vehicle (DMSO)	(A)	100	2	2	
			(B)	100	3	2	
			Total	200	5	4	
		LGX818	75 (A)	100	2	2	
			75 (B)	100	1	0	
			Total	200	3	2	10
			100 (A)	100	0	0	
			100 (B)	100	0	0	
			Total	200	0	0	27
			300 (A)	100	0	0	
			300 (B)	100	1	1	
			Total	200	1	1	38
			500 (A)	100	4 #	3	
			500 (B)	100	4 #	4 #	
			Total	200	8	7	47
		Cyclophosphamide	10 (A)	41	20 #	20 #	
			10 (B)	40	20 #	20 #	
			Total	81	40	40 [a]	

Solvent: DMSO
a: Statistical significance ($p < 0.001$), Fisher's exact test.
#: Numbers highlighted exceed historical negative control range

2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro* (continued)

2.6.7.8B Chromosomal aberration test **Study No.: 8229997 (continued)**

Experiment 2							
Metabolic Activation	Exposure Duration (treatment + recovery)	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/mL)	Cells Scored	Cells with chromosomal aberrations with gaps	Cells with chromosomal aberrations without gaps	MIH (%)
-S9	20 hs + 0 hs	Vehicle (DMSO)	(A)	100	2	1	
			(B)	100	1	1	
			Total	200	3	2	-
		LGX818	5 (A)	100	1	1	
			5 (B)	100	1	1	
			Total	200	2	2	35
			40 (A)	100	1	1	
			40 (B)	100	2	2	
			Total	200	3	3	15
			50 (A)	100	1	1	
			50 (B)	100	1	1	
			Total	200	2	2	34
			60 (A)	100	2	2	
			60 (B)	100	1	1	
			Total	200	3	3	60
		4-Nitroquinoline-1-oxide	5 (A)	55	20 #	20 #	
			5 (B)	64	21 #	20 #	
			Total	119	41	40 a	

a: Statistical significance ($p < 0.001$), Fisher's exact test.
#: Numbers highlighted exceed historical negative control range

2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro* (continued)

2.6.7.8B Chromosomal aberration test **Study No.: 8229997 (continued)**

Experiment 2							
Metabolic Activation	Exposure Duration (treatment + recovery)	Test Article	Concentration or Dose Level (µg/mL)	Cells Scored	Cells with chromosomal aberrations with gaps	Cells with chromosomal aberrations without gaps	MIH (%)
+ S9	3 hs + 17 hs	Vehicle (DMSO)	(A)	100	2	2	
			(B)	100	0	0	
			Total	200	2	2	
		LGX818	50 (A)	100	1	1	
			50 (B)	100	0	0	
			Total	200	1	1	9
			200 (A)	100	0	0	
			200 (B)	100	0	0	
			Total	200	0	0	31
			400 (A)	100	1	1	
			400 (B)	100	0	0	
			Total	200	1	1	44
			550 (A)	100	4 #	4 #	
			550 (B)	100	2	2	
			Total	200	6	6	57
		Cyclophosphamide	10 (A)	53	20 #	20 #	
			10 (B)	63	20 #	20 #	
			Total	116	40	40 [a]	

a: Statistical significance ($p < 0.001$), Fisher's exact test.
#: Numbers highlighted exceed historical negative control range

2.6.7.9 Genotoxicity: *In Vivo*

2.6.7.9A Micronucleus Test in Rats

Report Title : Induction of micronuclei in the bone marrow of treated rats		**Test Article:** Encorafenib
Test for Induction of: Micronuclei	**Treatment Schedule:** Two doses; Day 1 (0 h) and Day 2 (24 hs)	**Study No.:** 8265568
Species/Strains: Rat, Wistar/Hannover	**Sampling Time:** 48 hours	**Location in CTD:** 4.2.3.3.2-1
Age:8-9 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage	
Cells Evaluated: Bone marrow (polychromatic and normochromatic erythrocytes)	**Vehicle/Formulation :** 0.5 w/v% carboxymethyl cellulose (CMC) and 0.5 vol% Tween 80 in water	**GLP Compliance:** Yes
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000 polychromatic erythrocytes		**Date of Dosing:** 28 May 20[redacted]
Special Features: None		
Toxic/Cytotoxic Effects: Reduced body weight was observed at 1000 mg/kg/day or more. No mortality or significant clinical signs were observed at all doses.		
Genotoxic Effects: None		
Evidence of Exposure: Sufficient TK data from toxicology studies in rats exists; thus additional TK data in this study is not required.		

	Body weight (g)			
Dose (mg/kg)	0	200	1000	2000
Day 1	248.8	251.7	250.5	249.1
Day 3	256.2	256.7	250.3	247.8

Test Article	Dose (mg/kg)	Gender and No. of Animals	Time (h)	Number per PCEs scored	% PCE	MN/2000 PCE	%MN PCE (Mean ± SD)
Vehicle	-	6M	48	5/12000	42.73	0.83	0.04 ± 0.06
LGX818	200	6M	48	12/12000	36.93	2.00	0.10 ± 0.05
	1000	6M	48	9/12000	38.07	1.50	0.08 ± 0.05
	2000	6M	48	9/12000	38.13	1.50	0.08 ± 0.07
Cyclophosphamide	20	6M	48	*126/12000	37.23	21.00	1.05 ± 0.36

*Statistically significant, $p \leq 0.001$ (chi-squared; 2 x 2 contingency tables)
PCE: polychromatic erythrocytes
MN: micronucleated cells

2.6.7.10 Carcinogenicity

No study available.

2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Non-Pivotal Studies

2.6.7.11A Dose-range finding for embryo-fetal development toxicity study in rabbits **Test Article: Encorafenib**

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rabbit/New Zealand White	Gavage (0.5 w/v% carboxymethylcellulose (CMC) and 0.5 vol% Tween 80 in water)	pc7-pc20	0, 50, 75, 100, 200	3-6 Pregnant females	**200 mg/kg/day:** All animals(n=3) animal died or were sacrificed moribund on pc13 Negligible to no food consumption Decreased fecal output and soft/liquid feces Early resorption for all embryos **100 mg/kg/day:** 1/3 sacrificed moribund on pc17 due to significant body weight loss, Poor food consumption and decreased fecal size 32% reduction in food intake group as a whole Reduction in body weight gain No embryo-fetal mortality; no malformations or external variants **At 50 or 75 mg/kg/day:** No mortality or significant clinical signs Reduced food intake (up to 12%). No embryo-fetal mortality; no malformations or external variants	9000202	4.2.3.5.2-2

pc: post-coitum day

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

No study available.

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

2.6.7.13A Embryo-fetal development toxicity study in rats

Report Title: An oral gavage study of embryo-fetal development in the rat		**Test Article:** Encorafenib
Species/Strain: Rat/Wistar Hannover	**Duration of Dosing**: 12 days (pc6-pc17)	**Study No.:** 9000201
Initial Age: 77-86 days at pc6	**Day of Mating:** pc0	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2-1
Date of First Dose: 14 July 20[redacted]	**Day of C-Section :** pc21	
	Method of Administration: Oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 0.5 w/v% carboxymethylcellulose (CMC) and 0.5 vol% Tween 80 in water	
No Observed Adverse Effect Level: NOAEL for maternal toxicity was 20 mg/kg/day ; NOAEL for embryofetal development was 5 mg/kg/day		
F_0 Females: 96, F_1 Litters: 92		

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	0.5	5	20
Dams/Does:	**Toxicokinetics**				
	AUC0-24h (ng·h/mL) pc16	NE	13700	90200	370000
	Cmax (ng/mL) pc16	NE	2040	12700	36400
	No. Pregnant	24	22	23	23
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Body Weight				
	pc18 (g) [a]	286.2	286.8 (+0.2%)	285.6 (-0.2%)	279.2 (-2.4%)
	pc21 (g) [a]	318.8	319.8 (+0.3%)	319.2 (+0.1%)	311.7 (-2.2%)
	Body Weight gain				
	pc6-pc9 (g) [a]	9.7	9.8 (+1.0%)	7.4 (-23.7%)	7.0 (-27.8%)*
	pc6-pc18 (g) [a]	63.7	62.9 (-1.3%)	61.8 (-3.0%)	56.9 (-10.7%)
	pc6-pc21 (g) [a]	96.3	95.9 (-0.4%)	95.3 (-1.0%)	89.3 (-7.3%)
	Food Consumption				
	pc6-pc18 (based on mean g/animal)	238.6	234.6	236.3	230.6
	pc6-pc20 (based on mean g/animal)	283.7	277.1	281.0	275.6
	Mean No. Corpora Lutea	12.8	12.1	12.5	12.3
	Mean No. Implantations	11.9	11.3	11.0	11.2
	Mean % Preimplantation Loss	6.83	7.71	11.41	8.84
	Gravid Uterine Wt (g) [b]	80.6	79.4	77.9	77.2 (-4.22%)

pc: post-coitum day, -: No noteworthy findings, NE: Not examined,*: significantly different from control ($p<0.05$) (ANOVA, Dunnett's test)
a: For controls, group means are shown. For treated groups, group means and percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
b: at necropsy (pc21)

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development (continued)

2.6.7.13A Embryo-fetal development toxicity study in rats **Study No.: 9000201 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	0.5	5	20
Litters:	No. Litters Evaluated	24	22	23	23
	No. Live Fetuses (mean per animal)	11.3	10.9	10.8	10.9
	Total No. Fetuses	272	239	248	250
	Mean No. Resorptions	0.6	0.4	0.3	0.3
	No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
	Mean % Postimplantation Loss	4.61	3.47	2.59	3.17
	Mean Fetal Body Weight (g) [c]	M: 5.419 F: 5.128	M: 5.543 F: 5.240	M: 5.399 F: 5.161	M: 5.185* F: 4.951
	Fetal Sex Ratios (% males)	55.25	52.25	45.99	48.58
	Fetal Anomalies				
	Gross External Variants (number of fetuses/number of litters)	0/0	0/0	0/0	0/0
	Total Visceral Variants No. litters affected/fetuses affected % litters affected/fetuses affected	 1/1 4.2/0.4	 1/1 4.5/0.5	 0/0 0/0	 2/2 8.7/0.8
	Total Skeletal Variants No. litters affected/fetuses affected % litters affected/fetuses affected Skeletal Variants [No. Litters (%)/No. Fetuses (%)] : Skull Parietal bone, incomplete ossification Interparietal bone, incomplete ossification Thoracic content (unossified, incomplete, semi-bipartite/bipartite) [d]	 23/98 95.8/71.5 4(16.7)/5(3.6) 6(25.0)/6(4.4) 10(41.7)/12(8.8)	 19/74 86.4/60.7 6(27.3)/11(9.0) 6(27.3)/10(8.2) 12(54.5)/24*(19.7)	 22/80 95.7/64.0 6(26.1)/9(7.2) 10(43.5)/16*(12.8) 15(65.2)/21(16.8)	 23/84 100.0/67.2 13**(56.5)/25** (20) 14*(60.9)/29***(23.2) 16(69.6)/31***(24.8)
	Total Malfomations No. litters affected/fetuses affected % litters affected/fetuses affected	 1/1 4.2/0.4	 2/2 9.1/0.8	 2/3 8.7/1.2	 2/3 8.7/1.2

Significantly from control:*: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.001 (Fisher's test)
c: At end of dosing period.
d: Not included in the total calculation of skeletal variants.

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development (continued)

2.6.7.13B Embryo-fetal development toxicity study in rabbits

Report Title: An oral gavage study of embryo-fetal development in the rabbit			**Test Article:** Encorafenib
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White	**Duration of Dosing**: 14 days (pc7-pc20)		**Study No.:** 9000203
Initial Age: 5-6 months (pc7)	**Day of Mating:** pc0	**Day of C-Section :** pc29	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2-3
Date of First Dose: 12 August 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 0.5 w/v% carboxymethylcellulose (CMC) and 0.5 vol% Tween 80 in water		
No Observed Adverse-Effect Level: 25 mg/kg/day for maternal toxicity and embryo-fetal development		F_0 Females: 78 F_1 Litters: 73	

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	5	25	75
Dams	No. Dams evaluated	20	19	19	20
	Toxicokinetics				
	Maternal AUC0-24h (ng·h/mL) pc19/20	NE	302000	1010000	2480000
	Maternal Cmax (ng/mL) pc19/20	NE	23800	83800	213000
	Fetal [plasma](ng/mL) 3h post-dose on pc20	NE	73.4	357	1400
	No. Pregnant	20	19	19	20
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	4[a]
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	1
	Clinical Observations (Number of observations/Number of animals)				
	Hypersensitivity	0/0	7/2	2/1	0/0
	Excretion				
	Feces: liquid	1/1	-	1/1	3/3
	Feces: output decreased	10/8	11/9	7/7	50/13
	Feces: size reduced	12/6	16/9	10/6	32/12
	Necropsy Observations (Number of animals) [a]	0	0	0	4
	Body Weight pc21 (kg) [b]	3.55	-	-	3.34 (-5.9%)
	Body Weight gain pc7-pc21 (kg) [b]	0.21	-	-	-0.01 (-0.223%)**
	Food Consumption pc7-pc21 (based on mean g/animal) [b]	2171.2	-	-	1879.2(-13.4)
	Mean No. Corpora Lutea	10.3	10.4	10.2	10.9[c]
	Mean No. Implantations	9.6	9.7	9.4	9.8[c]
	Mean % Pre-implantation Loss	6.87	6.17	7.81	10.88 [c]
	Gravid Uterine Weight, g	534.6	549.6	526.5	495.9 (-7.24%)

-: No noteworthy findings, pc: post-coitum day, NE: Not examined, a: Four animals euthanized on day 20-23 post-coitum; test article-related: negligible/no food consumption, liquid/mucous feces, negligible feces, partly closed eyes, thinness apparent prior to death. Gross examination: watery contents of cecum, rectum and colon, dark foci on lungs, enlargement and dark discoloration in the mediastinal lymph node, pale focus in the liver, abnormal vaginal contents, thickened gall bladder.
b: For controls, group means are shown. For treated groups, group means and percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
c: Excluding animal with total resorptions, significantly from control:*: $p<0.05$; **: $p<0.01$ (Levene's-Dunn/ANOVA-Dunnett's/Welch's tests)

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development (continued)

2.6.7.13B Embryo-fetal development toxicity study in rabbits **Study No.: 9000203 (continued)**

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	5	25	75
Litters:	No. Litters Evaluated	20	19	19	15
	No. Live Fetuses (mean per animal)	9.1	9.6	8.8	9.0 [e]
	Total No. Fetuses	181	183	167	135
	Mean No. Resorptions	0.5	0.1	0.6	0.8 [e]
	No. of Litters with Dead Fetuses	1	0	0	0
	Mean % Post-implantation Loss	4.83	1.17	6.18	8.64 [e]
	Mean Fetal Body Weight (g) [d]	M:42.70 F:41.70	M:43.18 F:40.43	M:43.82 F:42.23	M:39.84 F:38.12
	Fetal Sex Ratios (% males per animal)	45.24	47.19	39.13	47.51 [e]
	Fetal Anomalies				
	Gross External Variants (number of fetuses/number of litters)	1/1	0/0	1/1	1/1
	Total External and Visceral Variants No. litters affected/fetuses affected % litters affected/fetuses affected	 9/22 45.0/12.2	 6/11 31.6/6.0	 7/14 36.8/8.4	 6/16 40.0/11.9
	Total Skeletal Variants No. litters affected/fetuses affected % litters affected/fetuses affected Skeletal Variants [No. Litters (%)/No. Fetuses (%)] : Skull Frontal bone(s), incomplete ossification Hyoid bone (s), incomplete ossification Vertebral column, extra presacral vertebrae Thoracic vertebral, centrum, semi-bipartite Bilateral 13th rib (extra/rudimentary/ossification center)[$] Ribs - total 13th rib (unilateral and bilateral, extra/rudimentary/ossification center)[$] Pubic bone(s), incomplete ossification	 20/77 100.0/42.5 13 (65.0)/33 (18.2) 15 (75.0)/22 (12.2) 1 (5.0)/1 (0.6) 4 (20.0)/7 (3.9) 15 (75.0)/46 (25.4) 19 (95.0)/67 (37.0) 5(25.0)/6 (3.3)	 18/90 94.7/49.2 13 (68.4)/28 (15.3) 14 (73.7)/47** (25.7) 0 (0.0)/0 (0.0) 7 (36.8)/12 (6.6) 14 (73.7)/46 (25.1) 15 (78.9)/57 (31.1) 7 (36.8)/10 (5.5)	 19/100** 100.0/59.9 17 (89.5)/41(24.6) 11(57.9)/38* (22.8) 3 (15.8)/5 (3.0) 12** (63.2)/18* (10.8) 12 (63.2)/37 (22.2) 17 (89.5)/57 (34.1) 6 (31.6)/9 (5.4)	 15/97** 100.0/71.9 13 (86.7)/42*(31.1) 11 (73.3)/34** (25.2) 4 (26.7)/6* (4.4) 10* (66.7)/24*** (17.8) 14 (93.3)/56** (41.5) 14 (93.3)/70* (51.9) 10 (66.7)/38*** (28.1)
	Total malformations [No. Litters (%)/No. Fetuses (%)] Dilation of ascending aorta Dilated aortic arch Interventricular septum absent Misshapen [globular] heart Spleen absent Small/reduced lung lobe	1 (5.0)/2 (1.1) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0)	0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0)	2 (10.5)/2 (1.2) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0) 0 (0.0)/0 (0.0)	4 (26.7)/ 4 (3.0) 2 (13.3)/ 2(1.5) 2 (13.3)/ 2(1.5) 1 (6.7)/ 1(0.7) 1 (6.7)/ 1(0.7) 1 (6.7)/ 1(0.7) 1 (6.7)/ 1(0.7)

-: No noteworthy findings. Significantly from control: *: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.001 (Fisher's test)
d: At the end of study. e: Excluding animal with total resorptions., $: not statistically analysed

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre-And Postnatal Development, Including Maternal Function

No study available.

2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals

No study available.

2.6.7.16 Local Tolerance

2.6.7.16A Skin Irritation in Rabbit **GLP Compliance: Yes** **Test Article: Encorafenib**

Species/Strain	Method of Administration	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rabbit/NZW	topical	500 mg	3M	4 h semi-occlusive patch No irritation, corrosion, discoloration of the skin No systemic toxicity Based on these results LGX818 does not have to be classified and has no obligatory labelling requirement for skin irritation	501816	4.2.3.6-1

2.6.7.17 Other Toxicity Studies

2.6.7.17A Local Lymph Node Assay in Mouse **GLP Compliance: Yes** **Test Article: Encorafenib**

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle)	Duration of Dosing	Doses (%, w/w)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Mouse, Balb/c	Topical (N,N-Dimethylacetamid/ Acetone/ Ethanol (4/3/3(v/v/v)))	3 days	0, 0.5, 5.0, 50	6F	Significant increase in ear weight at 50% concentration of LGX818 Visual examination: nodes of 5% and 50% LGX818-treated groups and positive control animals were slightly enlarged when compared to the vehicle control group No other macroscopic abnormalities No changes in lymph node weight and lymph node cell count Therefore, it can be concluded that there is a slight skin irritation effect but no sensitizing potential of LGX818	501817	4.2.3.7.7-1

2.6.7.17B *In Vitro* Phototoxicity (Using the Neutral Red Uptake Assay) **GLP Compliance: No** **Test Article: Encorafenib**

Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (µM)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Balb/c, 3T3 fibroblast	*In vitro*	Incubation 24h	Up to 185.18	NA	No decreases in cell survival, in the absence of UV-vis light. In the presence of UV-vis light, cytotoxicity was observed at the highest five concentrations analyzed (1.86 to 185.18 µM) The IC_{50} values in the absence and presence of UV-vis light were calculated >185.18 and 2.27 µM, respectively. The PIF was estimated to be >82. Conclusion: positive for phototoxicity	[redacted]090801	4.2.3.7.7-2

NA: not applicable
PIF: Photo-irritation Factor