目次

1. まとめ....6
2. 単回投与毒性試験....17
2.1 ラット....17
2.2 イヌ....17
2.3 サル....18
3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）....19
3.1 ラット....19
3.1.1 7 日間反復経口投与毒性試験....19
3.1.2 28 日間反復経口投与毒性試験....19
3.1.3 13 週間反復経口投与毒性試験....21
3.2 イヌ....23
3.2.1 7 日間反復経口投与毒性試験....23
3.2.2 28 日間反復経口投与毒性試験....24
3.2.3 13 週間反復経口投与毒性試験....26
3.3 サル....28
3.3.1 5 日間反復経口投与毒性試験....28
3.3.2 14 日間反復経口投与毒性試験....29
3.3.3 28 日間反復経口投与毒性試験....29
3.3.4 13 週間反復経口投与毒性試験....32
4. 遺伝毒性試験....36
4.1 In vitro....36
4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験....36
4.1.2 哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験....36
4.1.3 染色体異常試験....37
4.2 In vivo....37
4.2.1 キザルチニブ単回投与後のラット骨髄を用いた小核試験....37
4.2.2 キザルチニブ 28 日間反復投与後のラット骨髄を用いた小核試験....38
5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）....39
6. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）....39
6.1 胚・胎児発生毒性試験....39
6.1.1 ラット胚・胎児発生毒性試験（用量設定試験）....39
6.1.2 ラット胚・胎児発生毒性試験（主試験）....40
6.2 幼若動物を用いる毒性試験....41
6.2.1 幼若ラットを用いた反復投与毒性試験（用量設定試験）....41
6.2.2 幼若ラットを用いた 9 週間反復投与毒性試験（主試験）....42

7. 局所刺激性試験 44
8. その他の毒性試験 44
8.1 抗原性試験 44
8.2 不純物の毒性試験 45
8.3 その他の試験 46
8.3.1 In vitro 光毒性試験 46
8.3.2 ウサギ眼刺激性試験 46
8.3.3 ウサギ皮膚刺激性試験 47
9. 考察及び結論 48
10. 結論 52
11. 参考文献一覧 55

表一覧

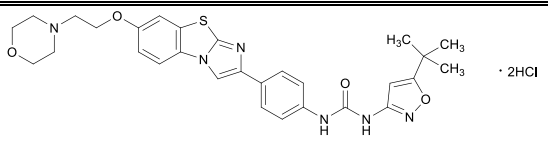
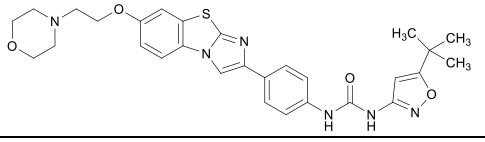
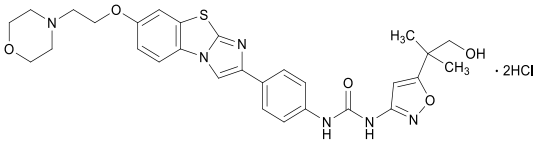
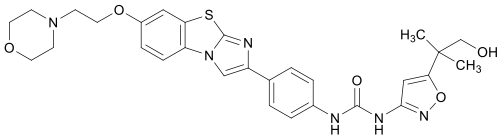
表 2.6.6.1-1　キザルチニブの毒性試験プログラムの要約 7
表 2.6.6.1-2　単回投与毒性試験の要約 9
表 2.6.6.1-3　反復投与毒性試験の要約 10
表 2.6.6.1-4　遺伝毒性試験の要約 13
表 2.6.6.1-5　生殖発生毒性試験の要約 15
表 2.6.6.1-6　その他の毒性試験の要約 16
表 2.6.6.3-1　ラットにおけるキザルチニブ塩酸塩の 28 日間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ 21
表 2.6.6.3-2　ラットにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ 23
表 2.6.6.3-3　イヌにおけるキザルチニブ塩酸塩の 28 日間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ 26
表 2.6.6.3-4　イヌにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ 28
表 2.6.6.3-5　サルにおけるキザルチニブ塩酸塩の 28 日間経口投与後のキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ 32
表 2.6.6.3-6　サルにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ 35
表 2.6.6.6-1　妊娠ラットにおけるキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ 41
表 2.6.6.6-2　幼若ラットにおけるキザルチニブ塩酸塩の 9 週間経口投与後のキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ 44
表 2.6.6.10-1　臨床用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日と、標的臓器毒性に対する無毒性量又は毒性用量での全身曝露量（AUC）の比較に基づくキザルチニブ及び AC886 の曝露マージン 53

略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
ALB	albumin	アルブミン
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-24}	area under the plasma concentration-time curve up to 24 h	投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time	定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CPZ	chlorpromazine	クロルプロマジン
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DPBS	Dulbecco’s phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+}	Ca^{2+}及び Mg^{2+}含有ダルベッコリン酸緩衝食塩水
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FLT3	FMS-like tyrosine kinase 3	FMS 様チロシンキナーゼ 3
GD	gestation day	妊娠日齢
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HCA	α-hexylcinnamaldehyde	α-ヘキシルシンナミックアルデヒド
HCT	hematocrit	ヘマトクリット
HGB	hemoglobin	ヘモグロビン
HNSTD	highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
HPβCD	2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin	2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IE	immature erythrocyte	未成熟赤血球
MCH	mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCV	mean corpuscular volume	平均赤血球容積
ME	mature erythrocyte	成熟赤血球
MIE	micronucleated immature erythrocyte	小核を含有する未成熟赤血球
MPE	mean photo effect	－
MTD	maximum tolerated dose	最大耐用量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NRU	neutral red uptake	ニュートラルレッド取り込み
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
PIF	photoirritancy factor	－
PND	postnatal day	出生後日数
SD	Sprague-Dawley	－
S9	9000 *g* supernatant	9000 *g* 遠心上清
STD_{10}	severely toxic dose in 10% of the animals	供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する用量
TBIL	total bilirubin	総ビリルビン
TK	toxicokinetic	トキシコキネティクス
Tmax	time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
UVA	ultraviolet A light	紫外線 A 波

－: 該当する表記なし

化合物一覧

一般名	化学名	構造式
キザルチニブ塩酸塩	1-(5-*tert*-Butyl-1,2-oxazol-3-yl)-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea dihydrochloride	
キザルチニブ	1-(5-*tert*-Butyl-1,2-oxazol-3-yl)-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea	
AC886 塩酸塩	1-[5-(1-Hydroxy-2-methylpropan-2-yl)-1,2-oxazol-3-yl]-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea dihydrochloride	
AC886	1-[5-(1-Hydroxy-2-methylpropan-2-yl)-1,2-oxazol-3-yl]-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea	

1. まとめ

キザルチニブの毒性プロファイルは、ラット、イヌ、及びカニクイザルの単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、ラット胚・胎児発生毒性試験、幼若ラット反復投与毒性試験、並びにその他の特殊毒性試験（抗原性試験、キザルチニブの各種不純物の評価、光毒性試験、皮膚及び眼刺激性試験）で評価した（表 2.6.6.1-1、2.6.7.1）。本概要では、特記しない限り、投与量及び濃度はフリー体換算で表示する。

開発の初期には、キザルチニブの非げっ歯類での毒性をイヌで評価した。しかし、ヒト、ラット、及びサルでの曝露量はイヌと比較して高かったにもかかわらず、イヌでの血中主要代謝物のうち 1 種類（モルフォリン環の酸化体）は、これらの種で検出されず、イヌのみで検出された。この代謝物はイヌ特有の肝毒性（複屈折結晶沈着）に関与した可能性がある（2.6.4.5）。そのため、薬物動態及び毒性データに基づき非げっ歯類でのキザルチニブの毒性プロファイル評価によるヒトでの安全性リスクの予測には、イヌの代わりにカニクイザルを用いた。一部の短期間の反復投与試験及びパイロット試験を除き、毒性試験及びトキシコキネティクス（toxicokinetic: TK）試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice: GLP）を遵守し実施したほか、各試験の実施時に有効であった経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development）基準にも準拠して実施した。また、医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use: ICH）、欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会（Committee for Medicinal Products for Human Use）、及び米国食品医薬品局（Food and Drug Administration: FDA）の該当するガイダンス文書も参照した [1,2,3,4,5,6,7]。ICH S9（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン、2010 年）[2] に従い、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、及びがん原性試験は実施しなかった。

ラット、イヌ、及びサル血漿中のキザルチニブとその代謝物 AC886 の定量法をバリデートした。また、2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin: HPβCD）の 5%～22%溶液を溶媒とする投与液中のキザルチニブの分析法もバリデートした。TK 及び投与液の分析に用いた分析法は、2.6.5.2.A、2.6.5.2.C、及び 2.6.4.2 に要約する。主要な反復投与毒性試験終了後に、ヒトから採取した血漿検体中のキザルチニブ及び AC886 濃度が、検体の処理方法、特に血漿分離までの血液保存条件の影響を受けることが報告された。ヒト全血では、血漿から血球への移行性が温度依存性を示すため、22°C 以上での保存条件、もしくは 15°C での 30 分以内の保存後に血漿を分離した条件では、キザルチニブ及び AC886 の血漿中濃度に変化はみられなかったが、低温での保存条件（氷中保存）では血漿中濃度が上昇した（2.7.1.1.4）。これに対し、ラット及びイヌ血液中のキザルチニブ及び AC886 濃度は、検体処理方法による影響を受けなかった（氷中保存条件と 37°C 保存条件との比較）。しかし、サル血液を血漿分離時まで氷中保存したときの血漿中 AC886 濃度は、37°C 保存条件での濃度と比較して 4 倍高かった。一方、キザルチニブ濃度には、このような保存温度による差はみられなかった（2.6.4.2.4）。実際の毒性試験では、TK 解析用に採取した血液検体は血漿分

離時まで氷中保存されたことから、リスクアセスメントでサルでの AC886 の毒性が過大評価される可能性を低減するため、サル試験では、AC886 濃度の補正値（最大増加率で除した値）も示した。

表 2.6.6.1-1　キザルチニブの毒性試験プログラムの要約（1/2）

試験の種類及び期間	投与経路	動物種／系統	添付資料番号	GLP 適用
単回投与毒性試験 [a]				
単回投与	強制経口	SD ラット	4.2.3.1-1（第 I 相）	適
用量漸増	強制経口	ビーグル犬	4.2.3.1-2（第 I、II 相）	適
用量漸増	強制経口	カニクイザル	4.2.3.1-3（第 I 相）	不適
反復投与毒性試験				
7 日間	強制経口	SD ラット	4.2.3.1-1（第 II 相）	適
28 日間	強制経口	SD ラット	4.2.3.2-1	適
13 週間	強制経口	SD ラット	4.2.3.2-2	適
7 日間	強制経口	ビーグル犬	4.2.3.1-2（第 III 相）	適
28 日間	強制経口	ビーグル犬	4.2.3.2-3	適
13 週間	強制経口	ビーグル犬	4.2.3.2-4	適
5 日間	強制経口	カニクイザル	4.2.3.1-3（第 II 相）	不適
14 日間	強制経口	カニクイザル	4.2.3.2-5	不適
28 日間	強制経口	カニクイザル	4.2.3.2-6	適
13 週間	強制経口	カニクイザル	4.2.3.2-7	適
遺伝毒性試験				
細菌を用いた復帰突然変異試験	In vitro	ネズミチフス菌及び大腸菌	4.2.3.3.1-1	適
哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験	In vitro	マウスリンフォーマ L5178Y $TK^{+/-}$細胞	4.2.3.3.1-2	適
染色体異常試験	In vitro	ヒト末梢血リンパ球	4.2.3.3.1-3	適
骨髄小核試験（単回投与）	強制経口	SD ラット	4.2.3.3.2-1	適
骨髄小核試験（28 日間）	強制経口	SD ラット	4.2.3.3.2-2[b]	適
生殖発生毒性試験				
胚・胎児発生毒性試験（用量設定試験）	強制経口	SD ラット	4.2.3.5.2-1	不適
胚・胎児発生毒性試験（主試験）	強制経口	SD ラット	4.2.3.5.2-2	適
幼若動物を用いる毒性試験（用量設定試験）	強制経口	SD ラット	4.2.3.5.4-1	不適
幼若動物を用いる毒性試験（主試験）	強制経口	SD ラット	4.2.3.5.4-2	適

表 2.6.6.1-1　キザルチニブの毒性試験プログラムの要約（2/2）

試験の種類及び期間	投与経路	動物種／系統	試験番号	GLP 適用
その他の毒性試験				
抗原性試験	経皮	Hartley 系モルモット	4.2.3.7.1-1	適
不純物の毒性試験	強制経口	SD ラット	4.2.3.7.6-1	適
光毒性試験	In vitro	BALB/c マウス線維芽細胞（3T3）株	4.2.3.7.7-1	適
眼刺激性試験	点眼	NZW ウサギ	4.2.3.7.7-2	適
皮膚刺激性試験	経皮	NZW ウサギ	4.2.3.7.7-3	適

GLP: 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、NZW: ニュージーランドホワイト、SD: Sprague-Dawley
[a] 単回投与毒性はいずれも、反復投与毒性試験の初期に評価した。
[b] 本試験には、ラット 28 日間反復投与毒性試験（添付資料番号：4.2.3.2-1）で採取した検体を用いた。

Sprague-Dawley（SD）ラット、ビーグル犬、及びカニクイザルにおける単回投与毒性は、各動物種を用いた用量設定試験の初期に最大耐用量（maximum tolerated dose: MTD）を求める試験として評価した。これらの試験を表 2.6.6.1-2 及び 2.6.7.5 に要約するとともに、2 項で論じる。

雌ラットでは、150 mg/kg 以上の投与群で死亡がみられたが、雄ラットでは、300 mg/kg まで死亡はみられなかった。自発運動の低下、軟便又は暗色便、血尿、半閉眼、及び皮膚蒼白が雌雄で認められたが、キザルチニブの毒性（一般状態悪化の発現時期及び重篤度）に対する感受性は、雄ラットより雌ラットで高かった。イヌでは、40 mg/kg 以上の投与群の雌で軽度の体重減少が認められたことを除き、200 mg/kg まで死亡例及びキザルチニブ投与に関連する重篤な所見は認められなかった。カニクイザルでは、400 mg/kg まで死亡は認められなかった。キザルチニブ投与に関連する毒性変化として、100 mg/kg 以上の投与群でトレーに白色又は褐色の泡、あるいは赤色の粘液物質がみられたほか、摂餌量低下及び体重減少（9%～11%）が認められた。また、200 mg/kg 以上の投与群で軟便又は液状便が認められ、300 mg/kg 以上の投与群では、液状便の発現頻度がさらに上昇した。

表 2.6.6.1-2　単回投与毒性試験の要約

動物種／系統	投与量（mg/kg）／溶媒	MTD（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見（mg/kg）
SD ラット	100、150、200、250、及び 300 溶媒: 22% HPβCD	100	雄：>300 雌：150	死亡: ≥150（F）、>300（M） ≥150: 自発運動の低下、軟便又は暗色便、血尿、半閉眼、及び皮膚蒼白
ビーグル犬	10、20、40、80、100、150、及び 200 溶媒: 10%又は 22% HPβCD[a]	>200	>200	死亡はみられなかった。 ≥40: 雌で軽度の体重減少
カニクイザル	30、100、200、300、及び 400 溶媒: 22% HPβCD	200	>400	死亡はみられなかった。 ≥100: 中等度～重度の摂餌量低下とそれによる体重減少（11%～12%） ≥300: 軟便又は液状便（液状便の発現頻度がさらに上昇）

F: 雌、HPβCD: 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン、M: 雄、MTD: 最大耐用量、SD: Sprague-Dawley
[a] 被験物質の溶解性のため、150 及び 200 mg/kg の投与液は 22% HPβCD を溶媒として調製した。

SD ラット、ビーグル犬、及びカニクイザルにおけるキザルチニブの反復投与毒性試験を表 2.6.6.1-3、2.6.7.6、及び 2.6.7.7 に要約するとともに、3 項で論じる。ラット、イヌ、及びサルから採取した血漿中のキザルチニブ又は AC886 の TK は、2.6.7.3 に要約する。

各動物種で 13 週間までの反復投与毒性を評価した。各動物種の 28 日間又は 13 週間毒性試験では、キザルチニブ投与に関連する毒性の回復性、持続性、及び遅発性を 4 週間評価した。

ラットでは 125/100 mg/kg／日の 7 日間投与及び 60/30 mg/kg／日の 28 日間投与、イヌでは 200 mg/kg／日の 7 日間投与及び 150/40 mg/kg／日の 28 日間投与、サルでは 10/6 mg/kg／日の 13 週間投与で、死亡例が認められた。ラット及びイヌでの死亡及び瀕死状態は、複数臓器に対する毒性の複合的な影響に起因すると判断した。サルでの死亡及び瀕死状態は、キザルチニブ塩酸塩と溶媒（HPβCD）の複合的な影響による摂餌量低下及び体重減少に関連するものと考えられた。

評価したすべての動物種で毒性がみられた主要標的臓器は骨髄及びリンパ器官であった。さらに、腎臓、肝臓、卵巣、膣、及び精巣で毒性所見が認められた。標的臓器における毒性は用量及び時間依存的で、ほとんどの毒性所見が 4 週間の回復期間で回復性を示した。しかし、赤血球及び白血球パラメータの軽度減少、骨髄細胞密度の軽微な低下、並びに肝臓内結晶沈着（イヌ）は回復期間終了時も認められた。すべての動物種で骨髄抑制が認められたことは、キザルチニブの作用機序（FMS 様チロシンキナーゼ 3［FMS-like tyrosine kinase 3: FLT3］及び KIT の阻害）と矛盾しなかった。13 週間反復投与試験では、ラット及びイヌのそれぞれの最高用量（10 及び 15 mg/kg／日）で血液学的検査パラメータの減少、肝酵素の上昇、骨髄及びリンパ器官の病理組織学的変化などの毒性所見がみられた。サル 13 週間反復投与試験では、10/6 mg/kg／日で死亡及び一般状態悪化がみられ、他の動物種での所見と一致した。13 週間反復投与毒性試験における無毒性量（no observed adverse effect level: NOAEL）は、ラッ

トで 3 mg/kg／日、イヌで 5 mg/kg／日、サルで 3 mg/kg／日であった。

表 2.6.6.1-3　反復投与毒性試験の要約（1/3）

動物種／系統	試験期間	投与量（mg/kg／日）／溶媒	NOAEL（mg/kg／日）	特記すべき所見（mg/kg／日）
SD ラット	7 日間	125/100[a] 溶媒: 22% HPβCD	ND	投与 3～6 日目に全例が死亡もしくは切迫解剖 一般状態悪化として暗色便又は軟便、自発運動の低下、皮膚蒼白、接触時冷感、及び半閉眼（両眼）、持続的な体重減少、腎臓、消化管、肝臓、膵臓、精巣、及び胸腺の暗色化又は蒼白化、膀胱の斑点形成、肺の暗色領域／斑点形成及び非虚脱肺、前立腺及び精嚢の小型化
	28 日間	0（溶媒）、5、15、60/30[b] 溶媒: 22% HPβCD	ND	≥5: 好中球数、赤血球数、HGB 及び HCT の減少、肝酵素の上昇、卵巣重量並びに脾臓及び精巣相対重量の減少、骨髄細胞密度の低下 15: 胸腺重量減少、胸腺萎縮、腎臓（雄）の尿細管細胞空胞化及び尿細管上皮の好塩基性化 60/30: 死亡及び切迫解剖、一般状態悪化、体重減少、摂餌量低下、尿中ビリルビン、タンパク及び結晶増加、腎臓の尿細管壊死、脾臓、下顎及び腸間膜リンパ節のリンパ組織萎縮、肝臓の単細胞壊死、副腎の肥大、精巣の生殖細胞変性、精巣上体管内の細胞残渣、心筋の空胞化、胃の単細胞壊死、小腸及び大腸の粘膜萎縮 Cmax 及び AUC は、投与量比を上回る上昇、性差及び蓄積なし STD_{10}: 15 mg/kg／日
	13 週間	0（溶媒）、1、3、10 溶媒: 5% HPβCD	3	≥3: キザルチニブの薬理作用に関連する白血球数、赤血球数、HGB、HCT、血小板数、及び網状赤血球数の減少、脾臓、胸腺、精巣、及び子宮の重量減少、骨髄細胞密度の低下、胸腺リンパ組織の萎縮／壊死、卵巣嚢胞、腎尿細管上皮の好塩基性化及び結晶（雄）、並びに精巣の変性 Cmax 及び AUC は、投与量比を上回る上昇、わずかな蓄積あり、明らかな性差なし

表 2.6.6.1-3　反復投与毒性試験の要約（2/3）

動物種／系統	試験期間	投与量（mg/kg／日）／溶媒	NOAEL（mg/kg／日）	特記すべき所見（mg/kg／日）
ビーグル犬	7 日間	200/250[c] 溶媒: 22% HPβCD	ND	死亡、一般状態悪化、体重減少、全身黄疸、及び肝葉の硬化
	28 日間	0（溶媒）、10/5、50/25、150/40[d] 溶媒: 22% HPβCD	10/5	≥50/25: 摂餌量低下を伴う体重の増加抑制又は体重減少、白血球数、赤血球数、HGB 及び HCT の減少、肝酵素及び TBIL の上昇、胸腺重量減少、副腎の皮質肥大、骨髄細胞密度低下、腎臓の尿細管上皮の好塩基性化、肝臓の肝細胞空胞化及び結晶沈着、脾臓及び胸腺のリンパ組織萎縮 150/40: 切迫解剖 Cmax 及び AUC は、投与量比を上回る上昇、明らかな性差なし HNSTD: 10/5 mg/kg／日
	13 週間	0（溶媒）、1、5、15 溶媒: 22% HPβCD	5	15: 皮膚蒼白、白血球数、赤血球数、HGB、及び HCT の減少、体重減少、肝酵素及び T-BIL の上昇、肝臓重量増加、肝臓内結晶 Cmax 及び AUC は投与量に比例して上昇、性差及び蓄積なし

表 2.6.6.1-3　反復投与毒性試験の要約（3/3）

動物種／系統	試験期間	投与量（mg/kg／日）／溶媒	NOAEL（mg/kg／日）	特記すべき所見（mg/kg／日）
カニクイザル	5 日間	200 溶媒: 22% HPβCD	ND	死亡例なし 網状赤血球数、単球数、及びリンパ球数の減少、肝酵素、T-BIL、クレアチニン、及び血中尿素の明らかな上昇
	14 日間	30、100、200 溶媒: 22% HPβCD	<30	死亡例なし ≥30: 摂餌量低下、脱水、又は液状便、体重減少、赤血球数、HGB、HCT、網状赤血球数、白血球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、及び好塩基球数の減少、骨髄細胞密度の低下、リンパ組織の萎縮／壊死、並びに腎尿細管変性
	28 日間	0（溶媒）、10、30、100/60[e] 溶媒: 5%又は 22% HPβCD[f]	10	≥30: 体重減少、骨髄抑制、及びリンパ組織の萎縮／壊死 100/60: 死亡 キザルチニブ及び AC886 の Cmax 及び AUC は、投与量比を下回る上昇、蓄積あり、明らかな性差なし
	13 週間	0（溶媒）、3、10/6、30/12[g] 溶媒: 5% HPβCD	3	≥10/6: 死亡、摂餌量低下、自発運動の低下、重度の脱水、軟便又は液状便、重度の嘔吐、骨髄抑制、及びリンパ組織の萎縮、AST 及び ALT の上昇 キザルチニブ及び AC886 の Cmax 及び AUC は、投与量に応じて上昇、蓄積あり、明らかな性差なし、AC886 の Cmax 及び AUC はキザルチニブより高値

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、Cmax: 最高血漿中濃度、HCT: ヘマトクリット、HGB: ヘモグロビン、HNSTD: 重篤な毒性が発現しない最大投与量、HPβCD: 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン、ND: 未確定、NOAEL: 無毒性量、STD_{10}: 供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する用量、TBIL: 総ビリルビン

[a] 125 mg/kg／日を 2 日間投与した。重篤な一般状態変化が認められたため、1 日休薬後（投与 3 日目）、全生存動物に 100 mg/kg／日を 2 日間投与した（投与 4 及び 5 日目）。

[b] 60 mg/kg／日を 3～5 日間投与した。高用量で毒性が認められたため、1 日休薬後、投与 5～7 日目から投与量を 30 mg/kg／日に減量した。

[c] 200 mg/kg／日で投与を開始したが、投与期間初期に一般状態変化がみられなかったため、投与 3 日目に 250 mg/kg／日に増量した。

[d] 50 及び 150 mg/kg／日群で投与 9 日目までに重篤な毒性が認められたため、2 日以上の休薬後、10 mg/kg／日群、50 mg/kg／日群、及び 150 mg/kg／日群の投与量をそれぞれ 5 mg/kg／日、25 mg/kg／日、及び 40 mg/kg／日に減量した。

[e] 2 例が死亡したことを受け（雄 1 例の死亡が投与 11 日目、雌 1 例の死亡が投与 16 日目に確認）、5 日間休薬後、投与 16 日目から最高用量を 60 mg/kg／日に減量した。

[f] 試験開始時の溶媒中の HPβCD 濃度は 22%であった。対照群を含む全投与群で一般状態悪化が認められたほか、高用量群の 1 例が死亡し、溶媒がその原因と考えられた。そのため、投与 12 日目以降の HPβCD 濃度を 5%に下げた。

[g] 重篤な一般状態悪化が認められたため、10 及び 30 mg/kg／日をそれぞれ 6 及び 12 mg/kg／日に減量した。

キザルチニブの遺伝毒性は、細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（マウスリンフォーマ・チミジンキナーゼ試験）、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、及びラットを用いたキザルチニブ塩酸塩の単回又は 28 日間反復経口投与後の骨髄小核試験にて評価した。これらの試験を表 2.6.6.1-4、2.6.7.8、及び 2.6.7.9 に要約するとともに、4 項で論じる。

キザルチニブは、細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性、哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験及び染色体異常試験で陰性であった。また、28 日間反復投与毒性試験に組み入れた最初のラット小核試験では明確な結論が得られず、再検証のため、単回投与によるラット小核試験を実施したところ陰性であった。

表 2.6.6.1-4　遺伝毒性試験の要約

試験	投与経路	試験系又は動物種／系統	投与量（mg/kg／日）	結果
細菌を用いた復帰突然変異試験	In vitro	ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535、及び TA1537 株）及び大腸菌（WP2*uvrA* 株）	5000 μg／プレートまでの濃度（S9 存在下又は非存在下）	陽性
哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験	In vitro	マウスリンフォーマ L5178Y $TK^{+/-}$細胞	1.84～28.8 μg/mL（3 時間、S9 非存在下） 3.32～20.2 μg/mL（3 時間、S9 存在下） 0.00894～0.143 μg/mL（24 時間、S9 非存在下）	陰性
染色体異常試験	In vitro	ヒト末梢血リンパ球	40～160 μg/mL（4 時間、S9 非存在下） 160～640 μg/mL（4 時間、S9 存在下） 5～20 μg/mL（21 時間、S9 非存在下）	陰性
骨髄小核試験（単回投与）	強制経口	SD ラット	0（溶媒）、15、50、100 溶媒: 5% HPβCD	陰性
骨髄小核試験（28 日間）	強制経口	SD ラット	0（溶媒）、5、15、60/30 溶媒: 22% HPβCD	明確な結論なし

HPβCD: 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン、SD: Sprague-Dawley

胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験及び主試験では、妊娠 SD ラットの妊娠 6～17 日（器官形成期）にキザルチニブを投与した。これらの試験を表 2.6.6.1-5、2.6.7.11、及び 2.6.7.13 に要約するとともに、6 項で論じる。

用量設定試験では、雌ラットに 0 mg/kg／日、1 mg/kg／日、3 mg/kg／日、10 mg/kg／日、及び 20 mg/kg／日のキザルチニブ塩酸塩を投与したところ、10 mg/kg／日群の母動物で体重の軽度増加抑制及び摂餌量減少、20 mg/kg／日群の母動物で一般状態悪化が認められた。10 mg/kg／日群の胎児では、着床後死亡の上昇、胎児奇形、及び胎児低体重が認められた。さらに、20 mg/kg／日群では、胚胎児死亡（全胎児吸収の所見）がみられた。

主試験では、雌ラットに、0 mg/kg／日、0.6 mg/kg／日、2 mg/kg／日、及び 6 mg/kg／日の

キザルチニブ塩酸塩を投与したところ、6 mg/kg／日まで母動物に対する毒性は認められなかった。また、6 mg/kg／日までキザルチニブ投与に関連する胚胎児死亡はみられなかった。6 mg/kg／日群で、胎児毒性（主な所見は骨化に対する影響を伴う胎児低体重）及び催奇形性（主な胎児異常所見は全身浮腫）が認められた。以上の結果から、母動物での一般毒性及び生殖に対する NOAEL は 6 mg/kg／日であり、胚・胎児発生に対する NOAEL は 2 mg/kg／日と判断した。

幼若動物を用いる毒性試験の用量設定試験及び主試験は雌雄の幼若 SD ラットを用いて実施した。これらの試験を表 2.6.6.1-5 及び 2.6.7.15 に要約する。

用量設定試験では、幼若ラットに出生後 10 日から 28 日まで、0 mg/kg／日、0.3 mg/kg／日、1 mg/kg／日、及び 3 mg/kg／日のキザルチニブ塩酸塩を投与した。3 mg/kg／日群まで、キザルチニブに対する忍容性は良好であった。1 及び 3 mg/kg／日群で標的臓器に対する影響、すなわち体重及び器官重量の減少がみられた。3 mg/kg／日群では血液学的検査値の低下も認められた。

主試験では、幼若ラットに対し出生後 10～70 日に、0 mg/kg／日、0.3 mg/kg／日、3 mg/kg／日、及び 10 mg/kg／日のキザルチニブ塩酸塩を投与した後、出生後 113 日まで 6 週間の回復期間を設けた。10 mg/kg／日群で死亡及び切迫解剖に至り、その原因は重度の骨髄毒性であった。3 mg/kg／日群でキザルチニブ投与に関連する器官重量の変化又は骨髄及び雄生殖器の病理組織学的変化が認められたことから、雌雄ラットにおける NOAEL は 0.3 mg/kg／日であった。

表 2.6.6.1-5　生殖発生毒性試験の要約

試験（投与期間）	動物種／系統	投与量（mg/kg／日）	特記すべき所見（mg/kg／日）
胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験（妊娠 6～17 日）	SD ラット	0（溶媒）、1、3、10、及び 20 溶媒: 5% HPβCD	母動物 10: 体重の増加抑制及び摂餌量低下 20: 一般状態悪化 胎児 10: 着床後死亡の上昇、胎児奇形、及び胎児低体重 20: 全胎児吸収
胚・胎児発生毒性試験の主試験（妊娠 6～17 日）	SD ラット	0（溶媒）、0.6、2、及び 6 溶媒: 5% HPβCD	母動物 6: 母動物に対する毒性なし 胎児 6: 骨化に対する影響を伴う胎児低体重、胎児異常（全身浮腫） NOAEL: 母動物での一般毒性及び生殖: 6 mg/kg／日 胚・胎児発生: 2 mg/kg／日
幼若動物を用いる毒性試験の用量設定試験（出生後 10～28 日）	SD ラット	0（溶媒）、0.3、1、及び 3 溶媒: 5% HPβCD	死亡例なし ≥1: 体重並びに胸腺及び精巣重量の減少 3: 摂餌量低下（雌）、白血球数、赤血球数、HGB、及び HCT の減少、並びに MCV 及び MCH の上昇
幼若動物を用いる毒性試験の主試験（出生後 10～70 日）	SD ラット	0（溶媒）、0.3、3、及び 10 溶媒: 5% HPβCD	≥3: 赤血球数、網状赤血球数、白血球数、好中球数、及びリンパ球数の減少、MCV 及び MCH の上昇、NK 細胞数、B リンパ球数、T リンパ球の総数、ヘルパーT リンパ球数、及び細胞傷害性 T リンパ球数の減少、精巣及び精巣上体重量の減少、精巣の精細管変性及び萎縮、精巣上体管腔内の精子減少、及び骨髄細胞密度低下 10: 死亡、重度の骨髄細胞密度低下 NOAEL: 0.3 mg/kg／日

HCT: ヘマトクリット、HGB: ヘモグロビン、HPβCD: 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン、MCH: 平均赤血球ヘモグロビン量、MCV: 平均赤血球容積、NOAEL: 無毒性量、SD: Sprague-Dawley

その他の毒性試験として、抗原性試験、キザルチニブの各種不純物の評価、光毒性試験、並びに皮膚及び眼刺激性試験を実施した。これらの試験を表 2.6.6.1-6 及び 2.6.7.17 に要約するとともに、8 項で論じる。

表 2.6.6.1-6　その他の毒性試験の要約

試験の種類	試験系	投与経路	投与量（mg/kg／日）	結果
抗原性試験	Hartley 系モルモット	経皮	100%（0.3 g／部位）	陰性
不純物の毒性試験（28 日間）	SD ラット	強制経口	5[a] + [redacted]（[redacted]%）[b]及び 5[a] + [redacted]（[redacted]%）[b]	いずれの不純物も [redacted]%までの濃度で毒性変化なし
光毒性試験	BALB/c マウス線維芽細胞（3T3）株	In vitro	0.00332～10.5 mg/L	陰性
眼刺激性試験	NZW ウサギ	点眼	0.0354 g／眼	軽度の眼刺激性
皮膚刺激性試験	NZW ウサギ	経皮	0.57 g／部位	軽度の皮膚刺激性

NZW: ニュージーランドホワイト、SD: Sprague-Dawley
[a] キザルチニブ
[b] 評価した不純物は [redacted] A*、[redacted] B*、[redacted] C*、[redacted] D*、及び [redacted] E* であった。

モルモットを用いてキザルチニブの抗原性を評価した。その試験結果から、キザルチニブは接触感作を誘発しないと判断した。

毒性試験に用いたロット中に存在しない 5 種の不純物（[redacted] A*、[redacted] B*、[redacted] C*、[redacted] D*、及び [redacted] E*）の毒性を、ICH Q3A 及び Q3B ガイドライン[6,7]を参照し、ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験で別途評価した。不純物含有率 [redacted]%及び [redacted]%のキザルチニブを 28 日間強制経口投与したとき、いずれのパラメータにも毒性変化はみられなかった。

キザルチニブは、BALB/c マウス線維芽細胞（3T3）株を用いた in vitro ニュートラルレッド取り込み（neutral red uptake: NRU）光毒性試験で、光毒性を示さなかった。

作業場所での安全性を裏付けるため、眼及び皮膚刺激性試験を実施した。キザルチニブはウサギで軽度の眼刺激性及び軽度の皮膚刺激性を有すると判断した。

2. 単回投与毒性試験

SD ラット、ビーグル犬、及びカニクイザルにおける単回投与毒性は、各動物種を用いた用量設定試験の初期に MTD を求める試験として評価した。全試験は臨床予定投与経路である経口投与により実施した。キザルチニブ塩酸塩の投与液は 10%又は 22% HPβCD を溶媒として調製した。

2.1 ラット

添付資料番号：4.2.3.1-1

雌雄 SD ラットを用いた単回経口投与（第 I 相）及び 7 日間反復経口投与（第 II 相、3.1.1 項）から構成される用量設定試験の第 I 相として実施した（2.6.7.5）。キザルチニブ塩酸塩を 22% HPβCD に懸濁し、100 mg/kg、150 mg/kg、200 mg/kg、250 mg/kg、及び 300 mg/kg の投与量で SD ラット（雌雄各 3 例／群、7～9 週齢）に単回強制経口投与した。観察期間を通して、動物の生死、一般状態、及び体重をモニターした。単回投与後の観察 4 日目に、死亡例（雌 6 例）のうち 4 例及び全生存動物を剖検に供した。

100 mg/kg では、雌 1 例の暗色便を除き、異常所見は認められなかった。雌ラットでは、150 mg/kg 以上の投与群で死亡（150 及び 200 mg/kg 群の各 1 例、並びに 250 及び 300 mg/kg 群の各 2 例）がみられたが、雄ラットでは、300 mg/kg まで死亡はみられなかった。死亡前に、自発運動の低下、軟便又は暗色便、血尿、半閉眼、及び皮膚蒼白が認められた。雄でも同様の一般状態悪化が認められたが、キザルチニブの毒性（一般状態悪化の発現時期及び重篤度）に対する感受性は、雄より雌のほうが高かった。死亡した雌の剖検では、腎臓、副腎、胸腺、肺、膵臓、胃、消化管内容物、下顎リンパ節などの器官に肉眼的変化が認められた。生存動物の剖検でも、腎臓の暗色化又は蒼白化が認められた。

以上の結果より、ラットへのキザルチニブ塩酸塩の単回投与時の MTD は 100 mg/kg、概略の致死量は雄で 300 mg/kg 超、雌で 150 mg/kg と推定された。ラットでは、キザルチニブ単回投与に対する感受性が、雄より雌のほうが高かった。

2.2 イヌ

添付資料番号：4.2.3.1-2

雌雄ビーグル犬を用いた単回経口漸増投与（第 I 相）、単回経口投与（第 II 相）、及び 7 日間反復経口投与（第 III 相、3.2.1 項）から構成される用量設定試験の第 I 相及び第 II 相として実施した（2.6.7.5）。本試験の用量漸増期（第 I 相）には、キザルチニブ塩酸塩を 10%もしくは 22% HPβCD に懸濁し、ビーグル犬（雌雄各 1 例／群、11～12 ヵ月齢）に 10 mg/kg、20 mg/kg、40 mg/kg、80 mg/kg、100 mg/kg、及び 200 mg/kg の順に単回強制経口投与した。各投与量間に 3 日以上の休薬期間を設けた。第 II 相では、キザルチニブ塩酸塩 150 mg/kg をビーグル犬（雌雄各 1 例／群、11～12 ヵ月齢）に単回強制経口投与した。被験物質の溶解性のため、150 及び 200 mg/kg の投与液は 22% HPβCD を溶媒として調製した。投与終了後、14 日間観察し、15 日目に動物を剖検に供した。投与後の観察期間中、動物の生死、一般状態、及び体重を評

価し、肉眼的観察を実施した。

200 mg/kg までの単回経口投与後には、重篤な一般状態の変化はみられなかった。嘔吐が散発的に認められた。第I相において、雌は40 mg/kg投与後に軽度の体重減少を示し、80 mg/kg以上の投与量でも体重減少が一貫して認められた。第 II 相では、雌は試験 1 日前から 14 日目までの体重減少量が 0.6 kg であり、回復の徴候はみられなかった。第 I 相及び第 II 相のいずれにおいても、雄の体重に大きな変化はみられなかった。第 II 相の剖検では、キザルチニブ投与に関連する所見は認められなかった。

以上の結果より、雌で軽度の体重減少が認められたものの、イヌへのキザルチニブ塩酸塩の単回投与時の MTD 及び概略の致死量は 200 mg/kg 超と判断した。

2.3　サル

添付資料番号：4.2.3.1-3

雌雄カニクイザルを用いた単回経口漸増投与（第 I 相）及び 5 日間反復経口投与（第 II 相、3.3.1 項）から構成される用量設定試験の第 I 相として実施した（2.6.7.5）。キザルチニブ塩酸塩を 22% HPβCD に懸濁し、カニクイザル（雌雄各 1 例／群、3.5～4.5 歳齢）に 30 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg、300 mg/kg、及び 400 mg/kg の順に単回強制経口投与した。各投与量間に 2 日以上の休薬期間を設けた。観察期間中、動物の生死、一般状態、体重、及び臨床検査値をモニターした。

30 mg/kg では、一般状態に変化はみられなかった。キザルチニブ投与に関連する一般状態の変化として、100 mg/kg 以上の投与群でトレーに白色又は褐色の泡、あるいは赤色の粘液物質がみられたほか、摂餌量低下及び体重減少（9%～11%）が認められた。また、200 mg/kg 以上の投与群で軟便又は液状便が認められ、300 及び 400 mg/kg 群では液状便の発現頻度がさらに上昇した。最終投与（400 mg/kg）の 3 日後に、雄でリンパ球数及び単球数の減少、雌雄で網状赤血球数の減少が認められた。

以上の結果より、300 mg/kg 以上で軟便又は液状便の発現頻度が高かったことから、カニクイザルへのキザルチニブ塩酸塩の単回投与時の MTD は 200 mg/kg、概略の致死量は 400 mg/kg 超と判断した。

3.　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

SD ラット、ビーグル犬、及びカニクイザルを用いて、キザルチニブ塩酸塩の 13 週間までの反復投与毒性試験を実施した。全試験は臨床予定投与経路である経口投与により実施した。キザルチニブ塩酸塩の投与液は 5%又は 22% HPβCD を溶媒として調製した。各動物種の 28 日間又は 13 週間毒性試験では、投与終了後 4 週間までキザルチニブ投与に関連する影響の回復性、持続性、及び遅発性を評価した。

3.1　ラット

3.1.1　7 日間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.1-1

雌雄 SD ラットを用いて 7 日間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.6）。キザルチニブ塩酸塩を 22% HPβCD に懸濁し、ラット（雌雄各 5 例／群、7～9 週齢）に 125 mg/kg／日の投与量で 1 日 1 回経口投与した。しかし、125 mg/kg／日で重篤な一般状態変化がみられ、投与 3 日目の投与までに 6 例（雄 2 例及び雌 4 例）が死亡又は瀕死状態に至ったため、1 日休薬後、生存動物全 4 例（雄 3 例及び雌 1 例）に投与 4 日目から 100 mg/kg／日を投与した。その結果、投与 6 日目までに全 4 例が死亡した。投与期間を通して、動物の生死、一般状態、及び体重をモニターし、肉眼的観察を実施した。

125 mg/kg／日の 2 日間投与後、ほとんどの動物で血尿がみられた。暗色便又は軟便、自発運動の低下、皮膚蒼白、接触時冷感、及び半閉眼（両眼）も観察された。また、全例で持続的な体重減少がみられた。7 日間の投与期間完了前に、全 10 例が死亡又は切迫解剖に至った。

死亡が確認された 9 例の肉眼的観察所見として、腎臓の暗色化、盲腸、結腸、十二指腸、回腸、胃、肝臓、膵臓、及び精巣の暗色／蒼白領域、膀胱の斑点形成、胸腺の暗色領域、消化管内容物中の暗色／淡色の物質、肺の暗色領域／斑点形成、並びに非虚脱肺が認められた。さらに、雄 1 例で前立腺及び精嚢の小型化が認められた。切迫解剖された雌 1 例でも、腎臓の暗色化及び膵臓の蒼白化が認められた。

以上の結果より、キザルチニブ塩酸塩 125 mg/kg／日を 2 日間経口投与後に 100 mg/kg／日を 2 日間経口投与したとき、投与 3～6 日目に全例が死亡又は切迫解剖に至った。

3.1.2　28 日間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.2-1

雌雄 SD ラットを用いて 28 日間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.7.A）。キザルチニブ塩酸塩を 22% HPβCD に懸濁し、ラット（雌雄各 10 例／群、9～10 週齢）に 0 mg/kg／日（溶媒）、5 mg/kg／日、15 mg/kg／日、及び 60 mg/kg／日の投与量で 28 日間経口投与した。別のラット（雌雄各 10 例／群、9～10 週齢）にキザルチニブ塩酸塩を 5 mg/kg／日、15 mg/kg／日、及び 60 mg/kg／日の投与量で 28 日間投与し、TK 解析に供した後、28 日間の回復期間を設け、臨床検査パラメータ及び肉眼所見の回復性、持続性、及び遅発性を評価した。高用量群で投与 2～4 日目に毒性が認められたため、雄の生存例は 1 日休薬後、投与 5～7 日目に

投与量を 30 mg/kg／日に減量し（以降、同投与量は 60/30 mg/kg／日と表記する）、14 日目まで投与した。投与 15 日目までに全例が死亡で発見又は切迫解剖された。一方、雌は投与 3～5 日目以降 2 日間休薬したが 7 日目までに全例が死亡又は切迫解剖に至った。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、剖検時の肉眼的観察及び器官重量、並びに病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。TK 解析は、投与 1、14、21、及び 28 日目に実施した（5 mg/kg／日群の TK 解析は、投与 14 及び 21 日目に実施）。小核試験用の骨髄検体も採取した（4.2.2 項）。

3 例（対照群 2 例及び 15 mg/kg／日群 1 例）の死亡が、それぞれ投与 5、26、及び 42 日目に確認された。死亡例の検査では、キザルチニブ投与に関連する変化及び投与ミスを裏付ける所見は確認されなかった。さらに、TK 解析用の 15 mg/kg／日群 1 例の死亡が投与 28 日目に確認された。しかし、TK 解析用の動物であったため、検査を実施しなかった。これらの動物の死因は特定されなかった。

高用量群では、全例が投与 3～15 日目に死亡又は切迫解剖に至った。死亡例及び切迫解剖例で認められた一般状態変化は、血尿、糞の変化、流涙、自発運動の低下、削痩、皮膚蒼白、接触時冷感、及び半閉眼（両眼）であった。ラットでは、キザルチニブの毒性（一般状態悪化の発現時期及び重篤度）に対する感受性は、概して雄より雌のほうが高かった。さらに、体重減少及び摂餌量低下、小赤血球症、大赤血球増多症、不同血球症、及び多染性赤血球症の発現率上昇、アラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase: ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（aspartate aminotransferase: AST）、及びアルカリフォスファターゼ（alkaline phosphatase: ALP）の上昇、尿中ビリルビン、タンパク質（3.0 g/L 以上）、及びウロビリノーゲン（16 μmol/L）の軽度～中程度の上昇、並びに尿中結晶の増加が認められた。死亡例及び切迫解剖例の剖検及び病理組織学的評価では、肉眼的及び病理組織学的変化が、腎臓（尿細管壊死）、骨髄（細胞密度低下）、胸腺（萎縮）、脾臓（リンパ組織の萎縮）、下顎及び腸間膜リンパ節（リンパ組織の萎縮）、肝臓（単細胞壊死）、副腎（肥大）、精巣（生殖細胞変性）、精巣上体（精巣上体管内の細胞残渣）、心臓（心筋の空胞化）、胃（単細胞壊死）、並びに小腸及び大腸（粘膜萎縮）で認められた。したがって、これらの動物が死亡又は瀕死状態に至った原因は、複数臓器に対する毒性の複合的な影響と判断した。

5 及び 15 mg/kg／日群では、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液凝固パラメータ、及び尿検査に対してキザルチニブ投与に関連する変化はみられなかった。

血液学的検査では、投与 14 日目に、5 mg/kg／日群の 1 例で白血球数及びリンパ球数の増加が、15 mg/kg／日群で赤血球数、ヘモグロビン（hemoglobin: HGB）、ヘマトクリット（hematocrit: HCT）、好中球数、及び単球数の減少が認められた。また、投与 29 日目に、5 mg/kg／日以上の投与群で赤血球数、HGB、HCT、好中球数、単球数、及び好酸球数の用量依存的な減少、並びに平均赤血球容積（mean corpuscular volume: MCV）及び平均赤血球ヘモグロビン量（mean corpuscular hemoglobin: MCH）の増加も認められた。15 mg/kg／日群の雌では、網状赤血球の絶対数及び相対数がともに、対照群と比較して統計学的に有意に高かった。血球形態検査では、15 mg/kg／日群で小赤血球症、大赤血球増多症、不同血球症、及び多染性

赤血球症の発現率が上昇した。血液化学的検査では、投与 14 日目に、5 mg/kg／日以上の投与群で ALT、AST、及び ALP の上昇がみられた。投与 29 日目に、15 mg/kg／日群の雌でこれらの酵素の軽度上昇が、15 mg/kg 群の雄で AST の軽度上昇がみられた。器官重量については、5 mg/kg／日以上の投与群の雌で卵巣重量が、15 mg/kg／日群の雌雄で胸腺重量がそれぞれ減少した。また、5 mg/kg／日以上の投与群の雌雄で脾臓の相対重量が、5 mg/kg／日以上の投与群の雄で精巣の相対重量がそれぞれ減少した。病理組織学的検査では、5 mg/kg／日群で骨髄細胞密度の軽微な低下がみられた。15 mg/kg／日群で骨髄細胞密度の軽微～中等度の低下（胸骨及び大腿骨）、軽微な胸腺萎縮、及び腎尿細管細胞の軽微～軽度の空胞化の発現率上昇が認められ、ときに腎尿細管上皮の好塩基性化及び顆粒円柱を伴った。

血液学的及び血液化学的検査値、器官重量、並びに肉眼所見の異常はすべて、回復期間終了時までに回復した。

TK の結果一覧を表 2.6.6.3-1 に示す。最高血漿中濃度（maximum plasma concentration: Cmax）及び定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time: AUC_{0-t}）は、雌雄ともに投与量比を上回る上昇を示した。明らかな性差はみられなかった。5 及び 15 mg/kg／日の 28 日間反復投与後に蓄積はみられなかった。

表 2.6.6.3-1　ラットにおけるキザルチニブ塩酸塩の 28 日間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	性別	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-t}（ng·h/mL）	
		投与 1 日目	投与 28 日目	投与 1 日目	投与 28 日目	投与 1 日目	投与 28 日目
5	M	487	615	4	4	7300	7920
	F	594	591	4	2	8170	8340
15	M	2420	2340	4	4	30,000	39,600
	F	2210	2870	4	4	29,500	43,000
60/30[a]	M	6710	NA	6	NA	123,000	NA
	F	8620	NA	6	NA	165,000	NA

AUC_{0-t}: 定量可能な最終時点（24 時間）までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、NA: 該当なし、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

[a] 60 mg/kg／日を 3～5 日間投与した。毒性が認められたため、1 日休薬後、投与 5～7 日目から投与量を 30 mg/kg／日に減量した。

以上の結果より、ラットでは、キザルチニブ塩酸塩は 5 及び 15 mg/kg／日の 28 日間反復投与で良好な忍容性を示し、供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する用量（severely toxic dose in 10% of the animals: STD_{10}）は 15 mg/kg／日と判断した。しかし、骨髄抑制が 5 mg/kg／日以上で認められたため、NOAEL は確定できなかった。

3.1.3　13 週間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.2-2

雌雄 SD ラットを用いて 13 週間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.7.B）。キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に懸濁し、ラット（雌雄各 10 例／群、8 週齢）に 0 mg/kg／日（溶媒）、1 mg/kg／日、3 mg/kg／日、及び 10 mg/kg／日の投与量で 13 週間経口投与した。さらに 1 群雌雄各 5 例のラットにキザルチニブ塩酸塩の 0 及び 10 mg/kg／日を 13 週間投与した後、30 日間の回復期間を設け、認められた変化の回復性、持続性、及び遅発性を評価した。また、サテライト群（雌雄各 9 例／群）を設け、TK 解析を投与 1 及び 86 日目に実施した。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、剖検時の肉眼的観察及び器官重量、並びに病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。

投与 30 日目に 10 mg/kg／日群の雌 1 例の死亡が確認された。肉眼所見として、腹側胸部の骨格筋に凝血塊が認められ、病理組織学的所見（採血手技に伴う出血）と相関した。

いずれの投与量でも、キザルチニブ投与に関連する死亡及び一般状態変化は認められず、体重、摂餌量、尿検査、及び眼科学的検査に変化はなかった。

血液学的検査では、3 mg/kg／日以上の投与群で主な変化として、キザルチニブの薬理作用に起因する白血球数及び白血球分画ごとの血球数の減少、赤血球数、HGB、HCT、血小板数、及び網状赤血球の絶対数の減少、並びに MCV、MCH、赤血球分布幅、及び平均血小板容積の増加が認められた。30 日間の回復期間終了時には、10 mg/kg／日群の雄における赤血球数減少、並びに 10 mg/kg／日群の雌における白血球数、好中球数、リンパ球数、及び好酸球数の軽度減少を除く大半の変化が回復した。血液化学的検査では、3 mg/kg／日以上の投与群で、AST の軽度低下、ALT の上昇（雄）、並びに AST、ALP、及び ALT の軽度上昇（雌）が認められた。しかし、変化は軽微であり、また、30 日間の回復期間終了時に完全に回復していたことから、毒性変化でないと判断した。3 mg/kg／日以上の投与群の雌雄でグルコースの増加が、10 mg/kg／日群の雄又は雌で尿素及びクレアチニンの上昇が認められた。投与期間終了時に、10 mg/kg／日群の雌雄で尿素の軽度上昇、雄でクレアチニンの軽度上昇がみられた。これらの血液化学的検査パラメータの変化は回復期間終了時に完全に回復した。

キザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見が、骨髄、腎臓、脾臓、胸腺、精巣、精巣上体、卵巣、及び膣にみられた。骨髄では、3 mg/kg／日以上の投与群の大半の雌雄で、造血細胞密度低下が認められた。腎臓では、10 mg/kg／日群で、尿細管上皮の好塩基性化、尿細管上皮の結晶形成、腎尿細管上皮の空胞化、尿細管拡張、及び単核細胞浸潤が認められた。尿細管上皮に形成された結晶は、偏光照射時に複屈折性を示したが、Perl 法による鉄染色、Hall 法によるビリルビン染色、及び Schmorl 法によるリポフスチン染色では陰性であった。脾臓では、1 mg/kg／日以上の投与群で、色素沈着増加（金褐色、Perl 法による鉄染色陽性）及び脾臓重量減少が認められた。10 mg/kg／日群の雄で髄外造血の亢進もみられたが、雌では明確な所見は得られず、10 例中 2 例に軽微な影響がみられたにすぎなかった。胸腺では、1 mg/kg／日以上の投与群の雌及び 3 mg/kg／日以上の投与群の雄で、リンパ組織の萎縮／壊死が認められた。精巣では、10 mg/kg／日群の一部の雄で、精巣重量減少、精上皮の変性／萎縮、及び精子細胞の停留が認められた。一部の雄では、これらの所見とともに、精巣上体で精液減少／無精液又は精巣上体管内の細胞残渣貯留が認められた。3 mg/kg／日以上の投与

群の一部の雌で、卵巣嚢胞が認められた。膣粘膜上皮では粘液産生異常／亢進が認められ、卵巣の変化と矛盾しなかった。また、子宮重量が減少した。30 日間の回復期間終了時には、キザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見が部分的な回復を示したが、10 mg/kg／日群では、回復期間終了時においても骨髄造血細胞密度の軽微～軽度低下、腎臓における尿細管上皮の好塩基性化、尿細管上皮の色素沈着又は尿細管拡張、尿細管上皮の結晶形成（偏光照射時に複屈折性を示す）、脾臓の軽度の色素沈着（金褐色）、並びに膣粘膜上皮の粘液産生異常／亢進が認められた。

TK の結果一覧を表 2.6.6.3-2 に示す。投与 1 及び 86 日目の Cmax 及び投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to 24 h: AUC_{0-24}）は、雌雄ともに投与量比を上回る上昇を示した。投与 86 日目の TK パラメータは投与 1 日目と比較して高値であり、反復投与による蓄積が確認された。明らかな性差はみられなかった。

表 2.6.6.3-2　ラットにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	性別	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-24}（ng·h/mL）	
		投与 1 日目	投与 86 日目	投与 1 日目	投与 86 日目	投与 1 日目	投与 86 日目
1	M	73.3	179	6	2	1090	2840
	F	116	236	4	4	1490	3140
3	M	296	730	4	2	4360	11,700
	F	374	908	2	2	4830	12,500
10	M	1360	3650	6	4	20,700	65,400
	F	1780	4610	6	4	25,500	85,800

AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

以上の結果より、1 mg/kg／日以上の投与群で、胸腺リンパ組織の萎縮／壊死及び脾臓の色素沈着増加、3 mg/kg／日以上の投与群で、血液学的検査パラメータの減少、骨髄細胞密度の低下、腎尿細管の変化、及び膣粘膜の粘液産生亢進、10 mg/kg／日群で、精巣における精上皮変性／萎縮及び精子細胞の停留が認められた。これらの所見は、完全もしくは部分的な回復を示した。3 mg/kg／日群では、所見の発現率及び重篤度が低かったこと、また、骨髄細胞密度の低下が薬理作用による反応であったことから、本試験での NOAEL は 3 mg/kg／日と判断した。

3.2　イヌ

3.2.1　7 日間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.1-2

雌雄ビーグル犬を用いて 7 日間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.6）。キザルチニブ塩酸塩を 22% HPβCD に懸濁し、ビーグル犬（雌雄各 2 例／群、11～12 ヵ月齢）に 200 mg/kg

／日を 2 日間、250 mg/kg／日を 4 日間経口投与した。試験開始時の投与量（200 mg/kg／日）で一般状態に変化がみられなかったため、投与 3 日目に 250 mg/kg／日まで増量した。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、及び肉眼的観察に基づき、毒性を評価した。

250 mg/kg／日投与後に重篤な一般状態変化がみられたため、投与 6 日目に全例を切迫解剖した。200 mg/kg／日投与時の一般状態変化として、大半の動物で、嘔吐物、ケージのトレーに未消化の飼料及び赤色の液体が認められたほか、糞中に黄色の粘液／湿性物質が認められた。250 mg/kg／日投与時には、大半の動物で、重篤な一般状態変化（自発運動の低下、円背位又はケージ床での臥位、摂餌量低下を伴う削痩、流涎過剰、身体各部の重度の黄色皮膚、便量減少又は無便）がみられた。摂餌量低下を伴う著明な体重減少が、投与期間を通して認められた。肉眼所見として、大半の動物で全身黄疸（外部及び内部組織、並びに器官の黄色化）及び肝葉の硬化がみられた。

以上の結果より、キザルチニブ塩酸塩の 200 mg/kg／日を 2 日間、250 mg/kg／日を 4 日間経口投与したとき、重篤な一般状態悪化、摂餌量低下を伴う体重減少、全身黄疸、及び肝葉の硬化が引き起こされ、瀕死状態に至った。

3.2.2　28 日間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.2-3

雌雄ビーグル犬を用いて 28 日間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.7.C）。キザルチニブ塩酸塩を 22% HPβCD に懸濁し、ビーグル犬（雌雄各 3 例／群、5～7 ヵ月齢）に 0 mg/kg／日（溶媒）、10 mg/kg／日、50 mg/kg／日、及び 150 mg/kg／日の投与量で 28 日間経口投与した。50 及び 150 mg/kg／日群で投与 9 日目までに重篤な毒性が認められたことを受け、10 mg/kg／日、50 mg/kg／日、及び 150 mg/kg／日をそれぞれ 5 mg/kg／日、25 mg/kg／日、及び 40 mg/kg／日に減量した（以降、これらの投与量は 10/5 mg/kg／日、50/25 mg/kg／日、及び 150/40 mg/kg／日と表記する）。高用量群のほとんどの動物で 2 日以上の休薬期間を挟んだ。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査又は心電図検査、臨床検査、剖検時の肉眼的観察及び器官重量、並びに病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。TK 解析は、投与 1 及び 28 日目に実施した。

一般状態悪化のため、150 mg/kg／日群の雄 1 例を投与 8 日目に切迫解剖した。この 1 例は、中等度の自発運動低下、ケージ床での臥位、中等度の削痩、全身性の重度の黄色皮膚、体重減少、及び摂餌量低下を示した。

眼科学的検査、心電図検査、尿検査、及び血液凝固検査パラメータには、いずれの投与量でも、キザルチニブ投与に関連する所見はみられなかった。

被験物質に関連する一般状態変化として、10/5 mg/kg／日群の雌で削痩、50/25 mg/kg／日群の雌雄でケージのトレーに赤色の液体、無便、削痩、150/40 mg/kg／日群の雌雄でケージのトレーに赤色／褐色の乾燥物質、無便、軽度～中等度の自発運動低下、全身の黄色化、円背位、接触時冷感、及び流涎過剰が認められた。

50 mg/kg／日以上の投与群で、投与量の減量前に摂餌量低下を伴う体重減少（−0.3～

−0.6 kg）が認められた。投与量の減量後、50/25 mg/kg／日群の体重は回復したが、150/40 mg/kg／日群の体重減少は持続した。

臨床検査では、50/25 mg/kg／日以上の投与群で、投与 7 日目、14 日目、及び 4 週目に、血液学的検査パラメータ（赤血球数、HGB、HCT、白血球数、好中球数、リンパ球数、及び単球数）の減少が認められた。網状赤血球数の減少も、10/5 mg/kg／日以上の投与群で投与 7 日目、50/25 mg/kg／日以上の投与群で投与 4 週目に認められた。150/40 mg/kg／日群では、大型血小板又は血小板凝集塊、大赤血球増多症、及び不同血球症の発現率が上昇した。投与量の減量後、これらの変化の程度は投与 4 週目までに投与 7 又は 14 日目と比較して軽減した。50/25 mg/kg／日及び 150/40 mg/kg／日群では、投与量の減量前（投与 7 日目）に TBIL、ALT、AST、及び ALP が著明な高値を示し、投与 14 日目及び 4 週目にも、投与量の減量前ほど顕著でなかったものの、対照群と比較して高値を示した。

剖検では、50/25 mg/kg／日以上の投与群で、胸腺の小型化及び胸腺重量減少、並びに肝臓の蒼白化が認められた。被験物質に関連する用量依存的な病理組織学的変化が、副腎、骨髄、腎臓、肝臓、脾臓、及び胸腺で認められた。その内訳は、50/25 mg/kg／日以上の投与群の全例で認められたクッパー細胞活性化を伴う中等度～重度の結晶沈着、50/25 mg/kg／日以上の投与群で認められた門脈周囲の軽微～軽度の肝細胞空胞化、軽微～重度の胸腺又は脾臓萎縮、大腿骨及び胸骨の軽微～軽度の骨髄細胞密度低下、腎尿細管上皮の好塩基性化（散発的に単細胞壊死を伴う）、並びに軽微～軽度の副腎皮質肥大であった。

TK の結果一覧を表 2.6.6.3-3 に示す。Cmax 及び AUC_{0-t} はいずれも、投与量比を上回る上昇を示した。性差はみられなかった。

表 2.6.6.3-3　イヌにおけるキザルチニブ塩酸塩の 28 日間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）[a]	性別	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-t}（ng·h/mL）	
		投与 1 日目	投与 28 日目	投与 1 日目	投与 28 日目	投与 1 日目	投与 28 日目
10	M	229	NA	2	NA	1740	NA
	F	439	NA	1	NA	2700	NA
5	M	NA	95.7	NA	2	NA	574
	F	NA	159	NA	1	NA	699
50	M	1890	NA	1	NA	18,600	NA
	F	1620	NA	4	NA	16,700	NA
25	M	NA	774	NA	1	NA	4580
	F	NA	805	NA	1	NA	3590
150	M	5480	NA	11	NA	83,600	NA
	F	5630	NA	1	NA	62,500	NA
40	M	NA	1950	NA	1	NA	9990
	F	NA	2760	NA	2	NA	18,100

AUC_{0-t}: 定量可能な最終時点（8 時間又は 24 時間）までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間、NA: 該当なし

[a] 50 及び 150 mg/kg／日群で投与 9 日目までに重篤な毒性が認められたことを受け、高用量群のほとんどの動物で 2 日以上の休薬期間を挟み、10 mg/kg／日群、50 mg/kg／日群、及び 150 mg/kg／日群の投与量をそれぞれ 5 mg/kg／日、25 mg/kg／日、及び 40 mg/kg／日に減量した。投与 7～10 日目に減量し、その投与量で投与 28 日目まで継続した。

以上の結果より、キザルチニブ塩酸塩 10/5 mg/kg／日の 28 日間経口投与は良好な忍容性を示し、重篤な毒性が発現しない最大投与量（highest non-severely toxic dose: HNSTD）及び NOAEL は 10/5 mg/kg／日と判断した。

3.2.3　13 週間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.2-4

雌雄ビーグル犬を用いて 13 週間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.7.D）。キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に懸濁し、ビーグル犬（雌雄各 4 例／群、7～8 ヵ月齢）に 0 mg/kg／日（溶媒）、1 mg/kg／日、5 mg/kg／日、及び 15 mg/kg／日の投与量で 13 週間経口投与後、30 日間の回復期間を設けた（0 及び 15 mg/kg／日群の雌雄各 2 例／群、7～8 ヵ月齢）。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査、剖検時の肉眼的観察及び器官重量、並びに病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。TK 解析は、投与 1 日目及び 13 週目に実施した。

投与期間を通して死亡例はみられなかった。15 mg/kg／日群で皮膚蒼白が認められた。5 mg/kg／日以上の投与群の雄で、有意な体重（群平均値）の低値がみられた。回復期間終了時には、これらの差は認められなかった。

投与期間中、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、及び尿検査にキザルチニブ投与に関連する変化はみられなかった。

血液学的検査では、15 mg/kg／日群で白血球パラメータ（好中球数、リンパ球数、単球数、

好酸球数、好塩基球数、及び大型非染色細胞数）の減少が認められた。15 mg/kg／日群の雄では、投与 4 週目以降に赤血球パラメータ（赤血球数、HGB、及び HCT）の減少も認められた。また、5 mg/kg／日以上の投与群で、投与 2 週目に一過性の網状赤血球数減少がみられたが、投与 4 週目以降はみられず、変化への適応及び回復性が示された。

血液化学的検査では、15 mg/kg／日群の雌雄で AST、ALT、ALP、TBIL、及び抱合型ビリルビンの上昇が、15 mg/kg／日群の雌でトリグリセリドの上昇がみられた。これらの変化はいずれも、回復期間終了時には認められなかった。

剖検では、1 及び 15 mg/kg／日群の雄で、キザルチニブ投与に関連する肉眼所見が胸腺に認められた。器官重量の測定では、15 mg/kg／日群（特に雄）で肝臓重量の増加が、15 mg/kg／日群の雄及び 1 mg/kg／日以上の投与群の雌で胸腺重量の減少が認められた（統計学的有意差なし）。一部の動物では、胸腺重量の減少に相関する肉眼所見（胸腺の小型化）又は病理組織学的所見（リンパ組織の萎縮／壊死）が認められた。30 日間の回復期間終了時には、雄の胸腺重量は依然として低値（統計学的有意差なし）であったが、雌で胸腺重量の増加（統計学的有意差なし）が認められた。

キザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見が、腎臓及び胸腺（雄のみ）、並びに肝臓及び脾臓（雌雄）にみられた。腎臓では、1 mg/kg／日以上の投与群の雄で尿細管上皮の好塩基性化の発現率上昇、5 mg/kg／日群の雄 1 例で単細胞壊死（尿細管細胞）、15 mg/kg／日群で腎尿細管／尿細管細胞の色素沈着が認められた。腎尿細管上皮に沈着した色素は複屈折性であり、Perl 法による鉄染色、Hall 法によるビリルビン染色、及び Schmorl 法によるリポフスチン染色で陰性であった。肝臓では、5 mg/kg／日以上の投与群の雄及び 15 mg/kg／日の雌で色素沈着（偏光照射時に複屈折性を示す）及び類洞壁細胞の（より顕著な）活性化が認められた。15 mg/kg／日群の雄で、肝細胞の単細胞壊死が認められた。また、15 mg/kg／日群の雌雄で、線維化、炎症、肝細胞の空胞化、及び髄外造血がみられた。5 mg/kg／日以上の投与群の雌では胆管過形成もみられた。肝臓に沈着した色素は、Perl 法による鉄染色、Hall 法によるビリルビン染色、及び Schmorl 法によるリポフスチン染色で陰性であった。脾臓では、15 mg/kg／日群の雄及び 5 mg/kg／日以上の投与群の雌で、色素沈着増加（ヘモジデリンと想定される）又は髄外造血が認められた。しかし、一部のイヌの脾臓を Perl 法による鉄染色に供したところ、染色の程度に明らかな群間差はみられなかった。胸腺では、全投薬群の雄で、リンパ組織の萎縮／壊死の発現率が上昇した。30 日間の回復期間終了時には、キザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見が腎臓及び肝臓で認められた。腎臓では、15 mg/kg／日群の雌 1 例で尿細管上皮の軽微な好塩基性化及び尿細管上皮の色素沈着（非複屈折結晶状）が認められた。肝臓では、15 mg/kg／日群のすべての雌雄で、色素沈着、類洞壁細胞の活性化、及び炎症が認められた。その他の病理組織学的所見は、30 日間の回復期間終了時に回復していた。

TK の結果一覧を表 2.6.6.3-4 に示す。Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は投与量にほぼ比例して上昇した。投与 90 日目には投与 1 日目と比較して、Cmax が低下し最高血漿中濃度到達時間（time to reach maximum plasma concentration: Tmax）が延長した。15 mg/kg／日群では、投与 90 日目の平均

AUC_{0-24} が投与 1 日目と比較して低下したほか、雄の Cmax 及び AUC_{0-24} は雌より低かった。

表 2.6.6.3-4　イヌにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	性別	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-24}（ng·h/mL）	
		投与 1 日目	投与 90 日目	投与 1 日目	投与 90 日目	投与 1 日目	投与 90 日目
1	M	97.3	86.4	1	2	697	769
	F	104	69.0	1	3	801	834
5	M	569	453	1	2	4520	4480
	F	546	387	1	2	3850	3380
15	M	2440	807	2	4	17,300	9470
	F	2370	1240	2	5	17,700	13,200

AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

以上の結果より、キザルチニブ 15 mg/kg／日を 13 週間投与した結果、体重減少、赤血球及び白血球パラメータの減少、並びに肝臓関連の検査値上昇が認められた。臨床検査値の変化と相関する病理組織学的変化が肝臓、胸腺、及び脾臓で認められた。腎臓にも変化が認められた。これらの変化の大半は回復性を示した。さらに、5 mg/kg／日以上の投与群で肝臓に複屈折結晶状の色素沈着が認められ、重篤度及び発現率は用量依存性を示した。色素沈着は、高用量（15 mg/kg／日）群でのみ、肝酵素の上昇との相関を示し、30 日間の回復期間終了時に回復性を示さなかった。5 mg/kg 群で肝酵素の上昇がみられなかったこと、また、肝臓の色素沈着が軽度で退行性又は壊死性変化を伴わなかったことから、本試験での NOAEL は 5 mg/kg／日と判断した。

3.3　サル

3.3.1　5 日間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.1-3

雌雄カニクイザルを用いて 5 日間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.6）。キザルチニブ塩酸塩を 22% HPβCD に懸濁し、カニクイザル（雌雄各 1 例／群、3.5～4.5 ヵ月齢）に 200 mg/kg／日の投与量で 5 日間経口投与した。動物の生死、一般状態、体重、臨床検査、肉眼的観察、及び病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。キザルチニブとその代謝物 AC886 の TK 解析は、投与 1 及び 5 日目に実施した。

200 mg/kg／日の 5 日間投与は肝酵素、TBIL、クレアチニン、及び血中尿素の明らかな上昇、並びに網状赤血球数、単球数、及びリンパ球数の減少がみられたことを除き、良好な忍容性を示した。病理組織学的検査では、雌の肝臓で軽微な肝細胞空胞化がみられた。

TK の結果から、カニクイザルがキザルチニブ及び AC886 に曝露されたことが示された。投与期間を通して、キザルチニブに対する AC886 の比は約 1 対 1 であった。

以上の結果より、キザルチニブ塩酸塩 200 mg/kg／日の 5 日間反復投与は良好な忍容性を

示し、MTD は 200 mg/kg／日と判断した。ただし、この投与量では、肝酵素、TBIL、クレアチニン、及び血中尿素の明らかな上昇、並びに網状赤血球数、単球数、及びリンパ球数の減少がみられた。また、病理組織学的検査では、雌の肝臓で軽微な肝細胞空胞化がみられた。

3.3.2 14 日間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.2-5

雌雄カニクイザルを用いて 14 日間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.6）。キザルチニブ塩酸塩を 22% HPβCD に懸濁し、0 mg/kg／日（溶媒）、30 mg/kg／日、100 mg/kg／日、30/200 mg/kg／日*、及び 200 mg/kg／日の投与量でカニクイザル（雌雄各 1 例／群、2.5～3.5 歳齢）に 14 日間経口投与した（*投与 5 日目に投与ミス［30 mg/kg／日群に 200 mg/kg／日、200 mg/kg／日群に 30 mg/kg／日を 1 回ずつ投与］が発生したため、30 mg/kg／日群に 2 例を追加した）。これらの投与量は、イヌ及びサルを用いた先行試験（それぞれ 3.2.2 項及び 3.3.1 項）に基づき設定した。動物の生死、一般状態、体重、臨床検査、肉眼的観察、及び病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。キザルチニブ及び AC886 の TK 解析を投与 1 及び 14 日目に実施した。

投与期間中、死亡例はみられなかった。一般状態変化として、30 mg/kg／日以上の投与群で、体重減少（6%～14%）を伴う重度の摂餌量減少及び脱水、軟便及び液状便が認められた。しかし、観察された変化と投与量の間に明らかな相関がみられなかったため、これらの一般状態変化は溶媒に関連するものであった可能性がある。

30 mg/kg／日以上の投与群で、血液学的検査パラメータ（赤血球数、HGB、HCT、白血球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、及び網状赤血球数）の減少が認められた。血液化学的検査パラメータに、毒性学的に重要な変化はみられなかった。

キザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見として、30 mg/kg／日以上の投与群の全例で、造血細胞密度の中等度～重度の低下（大腿骨骨髄）及び胸腺リンパ組織の軽微～中等度の萎縮／壊死がみられた。また、3 例（30/200 mg/kg／日群、100 mg/kg／日群、及び 200 mg/kg／日群の各 1 例）で、骨髄巨核球の軽微なエンペリポレシス及び腎尿細管上皮の軽微な変性がみられた。

キザルチニブ及び AC886 の血漿中の曝露量は、30 mg/kg／日から 100 mg/kg／日まで概ね用量依存的に増加したが、100 mg/kg／日から 200 mg/kg／日までは明らかな増加を示さなかった。いずれの投与量でも、AC886 の Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、キザルチニブの Cmax 及び $AUC_{0\text{-}24}$ より高値であった。30 及び 100 mg/kg／日群の雄では、キザルチニブの曝露量が雌と比較してわずかに高かった。いずれの投与量でも、キザルチニブが蓄積する可能性が示された。

以上の結果より、本試験では NOAEL を確定できなかった。

3.3.3 28 日間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.2-6

雌雄カニクイザルを用いて 28 日間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.7.E）。キザル

チニブ塩酸塩を 22% HPβCD に懸濁し、カニクイザル（雌雄各 3 例／群、2～3 歳齢）に 0 mg/kg／日（溶媒）、10 mg/kg／日、30 mg/kg／日、及び 100 mg/kg／日の投与量で 28 日間経口投与後、28 日間の回復期間を設けた（雌雄各 2 例／群、2～3 歳齢）。投与量は、カニクイザルの 14 日間反復投与毒性試験（3.3.2 項）のデータから設定した。22% HPβCD を溶媒としてキザルチニブ塩酸塩投与液を調製し、カニクイザルに投与した。しかし、対照群を含む全投与群で一般状態悪化が認められたほか、100 mg/kg／日群の 1 例が死亡し、溶媒が原因と判断した。そのため、投与 12 日目以降の HPβCD 濃度を 5%まで下げた。100 mg/kg／日群では、2 例がさらに死亡したこと（投与 11 日目に雄 1 例、投与 16 日目に雌 1 例の死亡を確認）を受け、投与 16 日目から 5 日間休薬した後、投与量を 60 mg/kg／日に減量した。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査、肉眼的観察、及び病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。キザルチニブ及び AC886 の TK 解析を投与 1 及び 28 日目に実施した。

高用量（100/60 mg/kg／日）群の 3 例が死亡又は切迫解剖に至った（投与 11 日目に雄 1 例の死亡を確認、投与 16 日目に雌 1 例の死亡を確認、投与 33 日目に雄 1 例を切迫解剖）。これらの死亡例は、キザルチニブと溶媒（HPβCD）の複合的な影響による摂餌量低下及び体重減少に関連するものと判断した。

溶媒に関連する一般状態変化として、摂餌量低下、糞の変化（軟便又は液状便）、嘔吐などが認められた。さらに、キザルチニブ群では投与期間中、（トレー内に）乾燥物質、泡状物質、又は液状物質が散発的に観察された。キザルチニブに起因すると判断された一般状態変化（半閉眼、自発運動の低下、円背位、脱水、削痩など）は、主に 100/60 mg/kg／日群で認められた。死亡又は切迫解剖例で認められた一般状態変化は、同群の他の動物でも認められた。円背位、脱水、及び削痩は、30 mg/kg／日群の一部の動物でも認められた。

30 及び 100 mg/kg／日群で投与 7 日目に軽度の体重減少が認められた。初期の体重減少後に補足飼料を与え食欲を刺激したところ、死亡又は切迫解剖に至った 100/60 mg/kg／日群の 3 例を除く動物では、残りの投与期間及び回復期間を通して体重が安定的に推移した。

いずれの投与量でも、血液凝固検査パラメータ、眼科学的検査パラメータ、及び心電図パラメータに変化はみられなかった。さらに、10 mg/kg 群では、一般状態、体重、及び血液化学的検査パラメータにキザルチニブ投与に関連する変化はみられなかった。

血液学的検査では、30 mg/kg／日以上の投与群で、投与 3 週目に、軽度～中等度のリンパ球数減少に起因する軽度の白血球数減少が認められた。白血球に対する影響は投与 4 週目には低減又は消失しており、これは、主に好中球の絶対数増加によるものであった。さらに、30 mg/kg／日以上の投与群では、投与 3 及び 4 週目に網状赤血球数の重度減少がみられたが、赤血球パラメータ（赤血球数、HGB、及び HCT）は概ね軽微な減少であった。30 mg/kg／日以上の投与群の雌では、投与 3 週目に平均赤血球容積及び赤血球容積分布幅の減少もみられた。10 mg/kg／日群でも、投与 3 週目に、雄で単球数、好塩基球数、及び赤血球パラメータ（赤血球数、HGB、及び HCT）、並びに雌で赤血球パラメータ（赤血球数、HGB、及び HCT）に同様の減少が認められたが、変化は 30 mg/kg／日以上の投与群に比べ軽度であった。

10 mg/kg／日群の雄では、投与 4 週目にも、リンパ球数、好塩基球数、及び赤血球パラメータ（赤血球数、HGB、及び HCT）に同様の減少が認められたが、変化は 30 mg/kg／日以上の投与群に比べ軽度であった。組織学的検査では、赤血球パラメータの減少に関連する骨髄の組織学的異常所見が認められた。

血液化学的検査では、30 mg/kg／日以上の投与群で、投与 3 週目に ALT の中等度上昇、総タンパク、アルブミン（albumin: ALB）、及びグロブリンの軽度～中等度低下、並びに ALP、コレステロール、カルシウム、及びリンの軽度低下が認められた。投与 4 週目には、投与 3 週目にみられた各種変化が持続したことに加え、100/60 mg/kg／日群でクレアチニン、尿素、及び AST の上昇も認められた。

28 日間の回復期間終了時には、血液学的及び血液化学的検査値の変化は部分的～完全な回復を示した。

器官重量の測定では、10 mg/kg／日以上の投与群で、リンパ組織の萎縮／壊死を伴う脾臓及び胸腺重量の減少がみられた。28 日間の回復期間終了時には、キザルチニブ群の平均脾臓重量は正常値まで回復していた。胸腺重量（絶対重量及び体重に対する相対重量）は対照群と比較してわずかに低値であったが、回復傾向を示した。

骨髄検査では、被験物質投与に関連する影響として、細胞密度、及び骨髄球系前駆細胞と赤血球系前駆細胞の比率が変化した。10 mg/kg／日以上の投与群で、骨髄細胞密度の軽度低下が認められた。100/60 mg/kg／日群の骨髄塗抹検査では、赤血球系前駆細胞に対する骨髄球系前駆細胞の比が著明に上昇し、赤血球低形成及び顆粒球過形成がみられた。一方、10 mg/kg／日群（雄のみ）及び 30 mg/kg／日群では、赤血球系前駆細胞に対する骨髄球系前駆細胞の比の軽度～中等度上昇及び様々な細胞診所見が認められた。回復期間終了時の剖検では、骨髄の変化として、10 mg/kg／日以上の投与群で、中等度～高い細胞密度及び赤血球過形成が認められた。これらの結果に相関する結果として、10 及び 30 mg/kg／日群の雌雄で網状赤血球の絶対数増加が認められ、反跳性の赤血球増加であることが示唆された。100/60 mg/kg／日群の雌雄では、回復期間終了時の剖検でも網状赤血球の絶対数が対照群と比較して低値であり、この結果は赤血球生成抑制の部分的な回復に一致した。

キザルチニブ投与に関連する病理組織学的変化は、主に骨髄及びリンパ組織で認められ、28 日間の回復期間終了時に回復性を示した。

10 mg/kg／日以上の投与群の大腿骨又は胸骨骨髄で造血細胞密度の軽微～著明な低下がみられ、巨核球の軽微なエンペリポレシスを伴う場合があった。また、10 mg/kg／日以上の投与群の下顎及び腸間膜リンパ節、消化管関連リンパ系組織、脾臓、又は胸腺で、リンパ組織の軽微～重度の萎縮がみられた。リンパ組織の萎縮／壊死に相関する結果として、10 mg/kg／日以上の投与群で脾臓及び胸腺の平均重量が低値を示した。28 日間の回復期間終了時には、100/60 mg/kg／日群の雌 1 例で下顎リンパ節に軽微な変化が認められたことを除き、リンパ組織の萎縮／壊死は完全に回復した。100/60／日 mg/kg 群の腎皮質又は髄質で軽微な急性尿細管変性が認められ、軽度の腎尿細管拡張を伴う場合があった。28 日間の回復期間終了時には、腎臓の変化は完全に回復していた。100/60 ／日 mg/kg 群の雄 1 例で、胃の変化（腺胃粘

膜の中等度のびらん／潰瘍形成、腺胃幽門部粘膜の軽度の急性炎症など）が認められた。これらの胃の変化と同時に、十二指腸、空腸、又は回腸で軽微～軽度の絨毛萎縮が認められた。回復期間終了時には、いずれの投薬群でも消化管の変化はみられなかった。

TK の結果一覧を表 2.6.6.3-5 に示す。キザルチニブの全身曝露量は、投与 1 日目には投与量比を下回る上昇を示し、定常状態（投与 28 日目）には投与量にやや比例して上昇した。キザルチニブ及び AC886 の全身曝露量は明らかな性差を示さなかった。反復投与後、キザルチニブ及び AC886 は血漿中に蓄積する可能性が示された。

表 2.6.6.3-5　サルにおけるキザルチニブ塩酸塩の 28 日間経口投与後のキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	性別	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-24}（ng·h/mL）	
キザルチニブ							
		投与 1 日目	投与 28 日目	投与 1 日目	投与 28 日目	投与 1 日目	投与 28 日目
10	M	182	402	3	2	1420	2870
	F	180	365	2	2	1130	2600
30	M	490	811	3	4	3790	9210
	F	469	885	3	2	4330	8880
100[a]	M	819	NA	3	NA	7470	NA
	F	1030	NA	3	NA	9810	NA
60[a]	M	NA	1420	NA	4	NA	19,000
	F	NA	1660	NA	5	NA	21,400
AC886							
		投与 1 日目	投与 28 日目	投与 1 日目	投与 28 日目	投与 1 日目	投与 28 日目
10	M	763	853	4	4	9040	11,400
	F	843	809	5	4	9000	10,300
30	M	1550	1510	5	5	18,000	23,200
	F	1990	1800	6	5	26,200	27,400
100[a]	M	1950	NA	4	NA	24,400	NA
	F	3060	NA	4	NA	38,500	NA
60[a]	M	NA	2140	NA	7	NA	40,000
	F	NA	2450	NA	6	NA	44,800

AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間、NA: 該当なし

[a] 投与 11 及び 16 日目に一般状態悪化が認められたため、5 日間休薬した後、投与量を 100 mg/kg／日から 60 mg/kg／日に減量した。

以上の結果より、キザルチニブの 30 mg/kg／日以上の投与群で、半閉眼、自発運動の低下、円背位、脱水、削痩などの一般状態変化のほか、体重減少、病理組織学的変化（主に骨髄及びリンパ組織）とそれに相関する臨床検査パラメータの一過性の変化が認められた。本試験での NOAEL は 10 mg/kg／日と判断した。

3.3.4　13 週間反復経口投与毒性試験

添付資料番号：4.2.3.2-7

雌雄カニクイザルを用いて 13 週間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.7.F）。キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に懸濁し、カニクイザル（雌雄各 4 例／群、4.5～5 歳齢）に 0 mg/kg／日（溶媒）、3 mg/kg／日、10 mg/kg／日、及び 30 mg/kg／日の投与量で 13 週間経口投与後、4 週間の回復期間を設けた（雌雄各 2 例／群、4.5～5 歳齢）。重篤な一般状態悪化がみられたため、10 mg/kg／日群の投与量を雄で投与 48 日目、雌で投与 46 日目に 6 mg/kg／日に減量し、30 mg/kg／日群の投与量を雄で投与 43 日目、雌で投与 42 日目に 12 mg/kg／日に減量した（以降、これらの投与量は 10/6 及び 30/12 mg/kg／日と表記する）。これらの群では、10 日間の休薬期間を設けた後に、変更後の投与量で投与を再開した。しかし、30/12 mg/kg／日群（回復試験群を含む）で一般状態が悪化したため、雄を投与 61 日目、雌を投与 60 日目に剖検に供した。動物の生死、一般状態、体重、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査、肉眼的観察、及び病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。キザルチニブ及び AC886 の TK 解析を投与 1 及び 91 日目に実施した。

10 mg/kg／日群の 2 例及び 30 mg/kg／日群の 3 例が、投与 6～36 日目に死亡又は切迫解剖に至った。2 例の死因は貧血であった。また、1 例の死亡は骨髄細胞密度の著明な低下に伴う二次的な影響に起因する可能性が高く、残り 2 例の死因は不明であった。

10/6 mg/kg／日以上の投与群では、一般状態変化として、摂餌量低下、自発運動の低下、円背位、重度の脱水、半閉眼、中等度～重度の協調運動障害、軟便又は液状便、重度の嘔吐、及び脊椎の隆起が認められた。10/6 mg/kg／日以上の投与群で体重減少が認められた。減量前の投与期間には、体重減少がより顕著であった。3 mg/kg／日群でも、軽度の体重減少が認められたが、回復期間終了時に体重減少はみられなかった。

臨床検査では、すべての投薬群で、好中球数、平均赤血球容積、赤血球容積分布幅、及び血小板数の増加、AST、ALT、TBIL、尿素、クレアチニン、グルコース、及びトリグリセリドの上昇、リンパ球数、好酸球数、赤血球数、HGB、HCT、及び網状赤血球数の減少、並びに総タンパク、ALB、グロブリン、リン、ナトリウム、カリウム、及びクロライドの低下がみられた。回復期間終了時には、これらの変化のうち、10/6 mg/kg／日群の赤血球パラメータの減少、並びに総タンパク及び ALB の低下の回復は部分的であったが、その他の変化は完全に回復していた。

剖検では、キザルチニブ投与に関連する肉眼所見が、10/6 mg/kg／日以上の投与群（胸腺の小型化［雌］）及び 30/12 mg/kg／日群（副腎の肥大、胸腺の小型化［雄］、及び脾臓の小型化［雌 1 例］）で認められた。また、キザルチニブ投与に関連する器官重量の変化が、3 mg/kg／日以上の投与群（精巣、脾臓、子宮、及び卵巣）、10/6 mg/kg／日以上の投与群（胸腺［雌］、副腎［雌］、及び肝臓）、及び 30/12 mg/kg／日群（胸腺［雄］）で認められた。回復期間終了時には、10/6 mg/kg／日以下の投与群で、器官重量の変化及びキザルチニブ投与に関連する肉眼所見はみられなかった。

病理組織学的検査では、すべての投薬群で、キザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見が、リンパ及び造血系（胸腺、リンパ節、及び脾臓におけるリンパ組織の萎縮、並びに骨髄造血細胞密度の低下）、消化器系（食道及び舌における上皮変性／萎縮、及び肝臓における

細胞質の希薄化、単細胞壊死、小葉中心性の壊死、及び肝細胞の空胞化)、生殖器系（精巣の生殖細胞減少、並びに子宮、膣、及び卵巣の萎縮）といった複数の器官系に認められた。3 mg/kg 群では、雌にのみ、病理組織学的変化（骨髄、腸間膜リンパ節、及び脾臓）が認められた。10/6 mg/kg／日以上の投与群では、病理組織学的変化が骨髄、胸腺、リンパ節（腸間膜及び下顎)、脾臓（雌)、食道、舌、肝臓、精巣、子宮、卵巣、膣、心外膜脂肪（雌)、盲腸及び結腸（雄: 慢性炎症)、並びに副腎（雌: 皮質過形成）に認められた。30/12 mg/kg／日群では、雄の脾臓、心外膜脂肪、盲腸、結腸、及び副腎にも病理組織学的変化が認められた。

10/6 mg/kg／日以下の投与群で認められたキザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見の多くは、回復期間終了時に消失しており、可逆的変化であることが確認された。3 mg/kg／日群で認められた変化は軽度であり、回復期間終了時までに消失した。

TK の結果一覧を表 2.6.6.3-6 に示す。キザルチニブ及び AC886 の Cmax 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともにキザルチニブ投与量の増加に応じて上昇した。反復投与後におけるキザルチニブ及び AC886 の血漿中曝露量は、投与 1 日目と比較して高かった。明らかな性差はみられなかった。

表 2.6.6.3-6　サルにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	性別	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-24}（ng·h/mL）	
キザルチニブ							
		投与 1 日目	投与 91 日目	投与 1 日目	投与 91 日目	投与 1 日目	投与 91 日目
3	M	40.8	102	1	2	278	836
	F	71.8	123	1	2	332	618
10[a]	M	191	NA	1	NA	1660	NA
	F	220	NA	1	NA	1570	NA
6[a]	M	58.3	305	2	4	628	4060
	F	43.5	296	2	2	364	2440
30[b]	M	274	NA	18	NA	4630	NA
	F	291	NA	2	NA	3650	NA
12[b]	M	131	340	2	4	1580	4280
	F	158	618	2	4	1600	8140
AC886							
		投与 1 日目	投与 91 日目	投与 1 日目	投与 91 日目	投与 1 日目	投与 91 日目
3	M	177	347	4	4	2290	5010
	F	334	386	4	2	3540	4950
10[a]	M	659	NA	4	NA	10,700	NA
	F	794	NA	4	NA	10,800	NA
6[a]	M	331	656	4	4	4580	11,300
	F	219	657	4	4	3150	10,100
30[b]	M	1410	NA	18	NA	25,900	NA
	F	1530	NA	5	NA	25,200	NA
12[b]	M	610	1260	6	6	9510	24,000
	F	808	1320	4	6	11,000	25,400

AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間、NA: 該当なし

[a] 重篤な一般状態悪化がみられたため、10 日間休薬後、雄では投与 48 日目、雌では投与 46 日目に 10 mg/kg から 6 mg/kg／日に減量した。トータルで 13 週間の投与を完了させるため、上記の投与終了後に 10 日間の投与を追加した（投与終了時は 14 週目）

[b] 重篤な一般状態悪化がみられたため、10 日間休薬後、雄では投与 43 日目、雌では投与 42 日目に 30 mg/kg ／日から 12 mg/kg に減量した。状態悪化のため同群の雄は投与 61 日目に、雌は投与 60 日目にそれぞれ全例の剖検を実施した。

以上の結果より、10/6 mg/kg／日で死亡、体重減少、重度の嘔吐、脱水、全身脱力、重度の貧血のほか、複数の器官で病理組織学的異常所見がみられたことから、NOAEL は 3 mg/kg ／日と判断した。

4. 遺伝毒性試験

4.1 In vitro

4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

添付資料番号：4.2.3.3.1-1

細菌を用いた復帰突然変異試験では、ネズミチフス菌 4 株（TA98、TA100、TA1535、及び TA1537）及び大腸菌 WP2*uvrA* 株を用いて、代謝活性化系（誘導剤としてフェノバルビタールと 5,6-ベンゾフラボンを併用投与したラット肝の 9000 *g* 遠心上清［9000 *g* supernatant: S9］分画）の存在下又は非存在下で、キザルチニブの遺伝毒性を評価した（2.6.7.8.A）。キザルチニブ塩酸塩を 22% HPβCD に溶解し、初回試験及び検証試験ともに、すべての菌株で 5000 µg／プレートの濃度まで検討した。

初回試験（プレート法）では、キザルチニブによる処理後、TA98 及び TA100 株で復帰変異コロニー数が明らかに増加した。そのため、初回試験と同一条件で、2 回目のルーチン試験（検証試験）を別途実施し、被験物質を評価した。検証試験でも、TA98 及び TA100 株で復帰変異コロニー数が明らかに増加した。これらの増加は概ね用量依存性を示した。TA100 株で復帰変異コロニー数が増加したのは、S9 代謝活性化系存在下のみであった。

初回試験及び検証試験のいずれにおいても、標準的な陽性対照物質とともに細菌をインキュベートしたところ、陽性対照物質に対する各種菌株の反応から、試験系の感度及び S9 mix の活性が確認された。

以上の結果より、キザルチニブは、細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性であった。

4.1.2 哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験

添付資料番号：4.2.3.3.1-2

本試験では、哺乳類培養細胞を用いた in vitro 遺伝子突然変異試験で、キザルチニブの遺伝毒性を評価した（2.6.7.8.B）。22% HPβCD に溶解したキザルチニブ塩酸塩を細胞に曝露した。

予備的な毒性試験の結果を用いて、主試験の濃度を設定した。主試験では、マウスリンフォーマ L5178Y $TK^{+/-}$細胞を溶媒、被験物質、又は陽性対照とともに、S9 代謝活性化系の存在下及び非存在下で 3 時間、あるいは S9 代謝活性化系の非存在下で 24 時間インキュベートした。増殖能の回復期間を 48 時間設けた後、変異細胞のみがコロニーを形成できる選択培地（マイクロウェルプレートに分注）に細胞を播種した。

選択培地への播種後、適切な増殖期間を設け、コロニーが形成されたウェル数を評価した。処理細胞の生存率を勘案して、各処理後の突然変異頻度を算出した。陽性対照に対する反応から、本アッセイの感度及び S9 mix の活性が確認された。

キザルチニブを添加した細胞では、細胞毒性の発現濃度まで、突然変異頻度の明らかな上昇はみられなかった。

以上の結果より、キザルチニブは本試験（哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験）で遺伝毒性を示さなかった。

4.1.3　染色体異常試験

添付資料番号：4.2.3.3.1-3

ヒト末梢血リンパ球を用いて、キザルチニブの染色体異常誘発性を評価した（2.6.7.8.C）。22% HPβCD に溶解したキザルチニブ塩酸塩をヒト血液に添加後、インキュベートした。検討したキザルチニブ濃度は代謝活性化系非存在下の 4 時間処理では 40～320 µg/mL、代謝活性化系非存在下の 21 時間処理では 5～20 µg/mL、代謝活性化系存在下の 4 時間処理では 160～1280 µg/mL とした。処理条件ごとに、適切な溶媒対照及び陽性対照を用いた。

キザルチニブを添加しても、細胞毒性の発現濃度まで分裂中期細胞の染色体異常の出現頻度に統計学的に有意な上昇はみられなかった。陽性対照物質により、染色体損傷を示す細胞の割合が有意に上昇し、試験系の感度及び S9 mix の活性が確認された。

以上の結果より、キザルチニブは、この染色体異常試験で遺伝毒性を示さなかった。

4.2　In vivo

4.2.1　キザルチニブ単回投与後のラット骨髄を用いた小核試験

添付資料番号：4.2.3.3.2-1

雌雄 SD ラットを用いて、キザルチニブが骨髄中の小核を含有する未成熟赤血球（micronucleated immature erythrocyte: MIE）の出現頻度を上昇させるか否かを検討した（2.6.7.9.A）。キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に溶解し、0 mg/kg（溶媒）、15 mg/kg、50 mg/kg、及び 100 mg/kg の投与量で、ラット（雌雄各 5 例／群、7～8 週齢）に投与した。高用量は、SD ラットでの MTD にほぼ相当する 100 mg/kg に設定した（2.1 項）。陽性対照として、別のラット（雌雄各 3 例、7～8 週齢）にシクロホスファミド一水和物 20 mg/kg を投与した。投与 24 又は 48 時間後にラットを解剖し、血液学的検査パラメータの評価及び骨髄塗抹標本の蛍光顕微鏡による評価を実施した。1 例あたり計 2000 個の未成熟赤血球（immature erythrocyte: IE）について、染色体損傷の指標である小核の有無を検査した。さらに、骨髄毒性の指標として、全赤血球（IE + 成熟赤血球［mature erythrocyte: ME］）に対する IE の比率を 1 例ずつ評価した。

キザルチニブ群では、一般状態変化及び死亡例は認められなかった。

溶媒対照群のデータ（IE + ME に対する IE の平均比率［%］及び MIE の出現頻度）は、実施施設の背景データの範囲内であった。陽性対照群では、小核の出現頻度が明確に上昇した。したがって、本試験は成立と結論付けた。

網状赤血球の割合（%）及び網状赤血球の絶対数は、すべてのキザルチニブ群で溶媒対照群の値と比較して低下した。これらの低下は、投与 24 時間後より 48 時間後に採取した検体で顕著であり、網状赤血球の比率（%）及び網状赤血球の絶対数の低下率は、雄でそれぞれ 53%及び 62%、雌でそれぞれ 50%及び 66%であった。

キザルチニブ群では、MIE の出現頻度に統計学的に有意な上昇はみられなかった。100 mg/kg 群では、投与 48 時間後の検体で、IE の比率がわずかだが統計学的に有意に低下した。この結果は、同群で赤血球生成が軽度に抑制されたことを示していると考えられ、上記

の血中網状赤血球数の減少と一致していた。

この小核試験の結論として、キザルチニブは遺伝毒性を示さなかった。評価した投与量で、赤血球生成の抑制が認められた。

4.2.2 キザルチニブ 28 日間反復投与後のラット骨髄を用いた小核試験

添付資料番号：4.2.3.3.2-2

キザルチニブ塩酸塩を 28 日間投与した 28 日間反復経口投与毒性試験（3.2.2 項）で採取した検体を用いて、雌雄 SD ラットの骨髄中で、キザルチニブが MIE の出現頻度を上昇させるか否かを検討した（2.6.7.9.B）。小核試験の検査に使用したラットは、最終投与の約 18～24 時間後に解剖し、1 群あたり雌雄各 5 例から骨髄塗抹標本を作製した。雌雄各 3 例から陽性対照スライドを作製し、小核試験のスライド観察時に試験成立判定のための対照として用いた。これらの陽性対照の塗抹標本は、同じ施設で実施した別の非 GLP 試験で、シクロホスファミド一水和物（20 mg/kg）の経口投与 24 時間後に解剖したラットから作製した。

キザルチニブ群では、MIE の出現頻度が軽度ながら統計学的に有意な上昇を示し、この上昇は 15 mg/kg／日群で明らかであった。しかし、キザルチニブ群の個体値、群平均値ともに背景データ（個体値の背景データ：0～12 個、群平均値の背景データ：0.0～0.3 個／群から 4.8～5.1 個／群）の範囲内であった。陽性対照物質は、MIE の出現頻度を統計学的に有意に上昇させた。

キザルチニブ群では、IE の比率に統計学的に有意な低下はみられなかった。

以上の結果より、キザルチニブの 15 mg/kg／日群でのみ、MIE の出現頻度が軽度な上昇を示した。しかし、個体値、群平均値ともに背景データの範囲内であった。したがって、MIE の出現頻度は見かけ上、わずかに上昇したものの、この上昇がキザルチニブ投与に関連するか、あるいは偶発的な個体間／群間変動に起因するかは、結論は得られなかった。したがって、本試験でのキザルチニブの in vivo 遺伝毒性の判定では、キザルチニブが MIE の出現頻度を上昇させるか否か、明確な結論が得られなかった。

5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

がん原性試験は実施しなかった。

6. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験及び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。

胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験及び主試験（GLP 試験）では、妊娠 SD ラットの妊娠 6～17 日（胚・胎児の器官形成期）にキザルチニブ塩酸塩を 1 日 1 回投与した。1 種の動物種で胚・胎児発生毒性試験を実施するという方針は、ICH S9 ガイドラインに一致する [2]。幼若動物を用いる毒性試験の用量設定試験及び主試験（GLP 試験）では、雌雄の幼若 SD ラットに対し、出生後 10～28 日（用量設定試験）又は出生後 10～70 日（主試験）にキザルチニブ塩酸塩を 1 日 1 回投与した。全試験は臨床予定投与経路である経口投与により実施した。キザルチニブ塩酸塩の投与液は HPβCD を溶媒として調製した。

6.1 胚・胎児発生毒性試験

6.1.1 ラット胚・胎児発生毒性試験（用量設定試験）

添付資料番号：4.2.3.5.2-1

胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験は、妊娠 SD ラットを用いて実施した（2.6.7.11）。キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に溶解し、雌ラット（3～5 例／群、11 週齢）の妊娠 6～17 日に、0 mg/kg／日（溶媒）、1 mg/kg／日、3 mg/kg／日、10 mg/kg／日、及び 20 mg/kg／日の投与量で経口投与した。

母動物の一般状態を観察するとともに、体重及び摂餌量を測定した。妊娠 21 日に肉眼による病理検査を実施し、黄体数を評価した。妊娠子宮重量を測定し、子宮内容物（胎盤を含む）を検査したほか、生存及び死亡胎児の数及び位置、並びに早期、中期、及び後期吸収胚数を記録した。各胎児の体重及び性別を評価し、外表検査を実施した。

投与期間中、いずれの投与量でも母動物の死亡はみられなかった。20 mg/kg／日群で、脱水、皮膚蒼白、削痩、及び頭蓋腫脹が認められ、被毛の汚れ（赤色）の発現率が上昇した。同群の 5 例中 2 例では、妊娠 18～19 日に褐色又は赤色の膣分泌液も認められた。10 mg/kg／日群の 1 例で、妊娠 19 日に褐色の膣分泌液が認められ、妊娠 21 日に死亡胎児由来組織が早期娩出された。10 mg/kg／日群では、母動物で妊娠 18 日及び試験終了時（妊娠 21 日）に体重の軽度低値及び摂餌量減少が認められたほか、同腹児数及び胎児体重が低値であった。投与期間（妊娠 6～18 日）を通して、体重の軽度増加抑制（溶媒対照群より 10%低値）が認められた。いずれの投与量でも、キザルチニブ投与に関連する肉眼所見はみられなかった。10 mg/kg／日群の母動物では、後期吸収胚数の増加の結果として着床後死亡が上昇した。同腹児数及び胎児体重が低値であったため、妊娠子宮の平均重量も低値であった。妊娠 21 日に死亡胎児及び胎盤組織を早期娩出した 10 mg/kg／日群の 1 例の子宮内容物を検査したところ、全胚・胎児死亡（早期、中期、及び後期吸収）が確認された。

10 mg/kg／日群の生存胎児は、平均胎児体重の減少（溶媒対照群と比較して 14%低値）を示した。同群のすべての生存同腹児で、全身性の皮下浮腫（全身浮腫）が認められた。同群の生存同腹児の一部では、全身性の皮膚蒼白、並びに上顎及び下顎の短縮（小顎症）も認められた。また、1 腹の生存胎児でのみ短尾（microcaudia）が認められた。

以上の結果から、10 mg/kg／日以上で母動物に対する毒性が認められ、10 mg/kg／日で体重の軽度増加抑制及び摂餌量減少、20 mg/kg／日で一般状態悪化がみられた。胚胎児死亡が 10 mg/kg／日以上で認められた。また、10 mg/kg／日では胎児奇形及び胎児低体重も認められた。

6.1.2　ラット胚・胎児発生毒性試験（主試験）

添付資料番号：4.2.3.5.2-2

胚・胎児発生毒性試験の主試験は、妊娠 SD ラットを用いて実施した（2.6.7.13）。キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に溶解し、雌ラット（25 例／群、10 週齢以上）の妊娠 6～17 日に、0 mg/kg／日（溶媒）、0.6 mg/kg／日、2 mg/kg／日、及び 6 mg/kg／日の投与量で経口投与した。サテライト群（各群 6 例）を設け、妊娠 6 及び 17 日に TK パラメータを評価した。

母動物の一般状態を観察するとともに、体重及び摂餌量を測定した。妊娠 21 日目に肉眼による病理検査を実施し、黄体数を評価した。妊娠子宮重量を測定し、子宮内容物（胎盤を含む）を検査したほか、生存及び死亡胎児の数及び位置、並びに早期、中期、及び後期吸収胚数を記録した。各胎児の体重及び性別を評価し、詳細な外表、内臓、及び骨格検査を実施した。

いずれの投与量でも、母動物の死亡及び一般状態異常は認められず、体重及び摂餌量の明らかな変化はみられなかった。いずれの投与量でも、キザルチニブ投与に関連する肉眼所見はみられなかった。

黄体数、着床部位、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数、性比、胎盤、並びに着床前及び着床後死亡に、キザルチニブ投与に関連する影響はみられなかった。6 mg/kg／日群では、妊娠子宮重量が軽度の低値を示し（溶媒対照群より 11%低値）、同群で認められた胎児数減少に関連するものと考えられた。

胎児体重（雌雄別及び雌雄併合値）は、6 mg/kg／日群で対照群より 12%～13%低く、0.6 及び 2 mg/kg／日群で対照群と同程度であった。

6 mg/kg／日群で、奇形及び外表の変異の発現率が上昇した。最も高頻度に認められた異常は浮腫であり、全身性の皮下浮腫（全身浮腫）、後趾先端の浮腫、及び腹側頸部の浮腫がみられた胎児の割合は、それぞれ 18%、66%、及び 11%であった。骨格の奇形はみられなかった。6 mg/kg／日群では、前頭骨骨化不全の発現率が相対的に高かったほか（5.5%）、胸椎椎体の変異（未骨化／不完全骨化／部分二分骨化／二分骨化）の発現率上昇も認められた。これらの骨化遅延の一因は、同群の胎児の小型化にあると考えられた。

キザルチニブの曝露量は投与量比を上回る上昇を示したが、AC886 の曝露量は投与量に比例した上昇を示した。キザルチニブ及び AC886 はいずれも、Tmax が 2～6 時間であった。キ

ザルチニブの 12 日間反復強制経口投与後、キザルチニブ及び AC886 に明らかな蓄積はみられなかった。0.6～6 mg/kg／日投与時のキザルチニブに対する AC886 の Cmax 及び AUC_{0-t} 比は、妊娠 6 日で 41%～83%、妊娠 17 日では 31%～77%であった。TK の結果一覧を表 2.6.6.6-1 に示す。

表 2.6.6.6-1　妊娠ラットにおけるキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-t}（ng·h/mL）	
キザルチニブ						
	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17
0.6	56.3	64.5	4	4	726	993
2	224	294	2	2	3290	4390
6	1160	1770	6	6	17,200	28,000
AC886						
	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17
0.6	43.9	49.5	2	6	601	741
2	172	202	4	4	2550	2710
6	478	551	6	6	7160	9070

AUC_{0-t}: 定量可能な最終時点（24 時間）までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、GD: 妊娠日齢、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

以上の結果から、6 mg/kg／日まで母動物に対する毒性は認められなかった。また、6 mg/kg／日までキザルチニブ投与による胚胎児死亡はみられなかった。6 mg/kg／日群で、胎児毒性（主な所見は骨化に対する影響を伴う胎児低体重）及び催奇形性（主な胎児異常所見は全身浮腫）が認められた。したがって、母動物での一般毒性及び生殖に対する NOAEL は 6 mg/kg／日であり、胚・胎児発生に対する NOAEL は 2 mg/kg／日と判断した。

6.2　幼若動物を用いる毒性試験

6.2.1　幼若ラットを用いた反復投与毒性試験（用量設定試験）

添付資料番号：4.2.3.5.4-1

雌雄の幼若 SD ラットを用いて、反復投与毒性試験の用量設定試験を実施した（2.6.7.15.A）。キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に懸濁し、ラット（雌雄各 8 例／群）に出生後 10 日から 28 日まで、0 mg/kg／日（溶媒）、0.3 mg/kg／日、1 mg/kg／日、及び 3 mg/kg／日の投与量で経口投与した。サテライト群（雌雄各 60 例／群）を設け、出生後 10、21、及び 28 日にキザルチニブとその代謝物 AC886 の TK を解析した。

動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液凝固検査、血液化学的検査、並びに剖検時の肉眼的観察及び器官重量に基づき、毒性を評価した。

キザルチニブ投与に関連した死亡は認められず、一般状態、血液化学的検査又は血液凝固検査、及び剖検所見に毒性変化はみられなかった。1 及び 3 mg/kg／日群の雄、並びに 3 mg/kg／日群の雌で体重が減少した。3 mg/kg／日群の雌でのみ、摂餌量が対照群と比較して 10%以

上低かった。3 mg/kg／日群の雌雄で血液学的検査値の低下が認められた。キザルチニブの全投与群で、精巣及び胸腺の絶対重量及び相対重量が対照群と比較して減少した。1 及び 3 mg/kg／日群でみられた精巣及び胸腺重量の減少は、毒性と判断した。

TK の結果から、ラットがキザルチニブ及び AC886 に曝露されたことが示された。キザルチニブに対する AC886 の曝露量（Cmax 及び AUC_{0-t}）比は、出生後 10 日で 49%～135%、出生後 21 日で 70%～254%、出生後 28 日で 57%～82%であった。

以上の結果より、キザルチニブ塩酸塩 3 mg/kg／日の 1 日 1 回強制経口投与は、忍容性が良好であった。1 及び 3 mg/kg／日群で標的臓器に対する影響が認められ、その内訳は雌雄ラットの体重及び器官重量の減少であった。3 mg/kg 群の雌雄ラットで血液学的検査値の低下が認められた。

6.2.2　幼若ラットを用いた 9 週間反復投与毒性試験（主試験）

添付資料番号：4.2.3.5.4-2

雌雄の幼若 SD ラットを用いて、9 週間反復経口投与毒性試験を実施した（2.6.7.15.B）。キザルチニブ塩酸塩を 5% HPβCD に懸濁し、ラット（雌雄各 20 例／群）に出生後 10 日から 70 日まで、0 mg/kg／日（溶媒）、0.3 mg/kg／日、3 mg/kg／日、及び 10 mg/kg／日の投与量で経口投与した後、出生後 113 日まで 6 週間の回復期間を設けた（雌雄各 10 例／群）。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、離乳前の発達指標、頭臀長、大腿長、性成熟、眼科学的検査、行動評価（機能観察総合評価、運動量、音響驚愕反応、及び Morris 水迷路試験）、性周期評価、交配及び受胎能、イムノフェノタイピング、臨床検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液化学的検査、及び尿検査）、剖検所見、卵巣及び子宮の検査、雄生殖器官の評価（精子の運動性、濃度、及び形態）、器官重量、骨密度測定、並びに病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。出生後 10、21、56、及び 70 日に、キザルチニブとその代謝物 AC886 の TK を解析した。

10 mg/kg／日群は、死亡率が高かったため、出生後 36 日までに切迫解剖された。早期に死亡及び瀕死状態に至った原因は骨髄毒性（著明～重度の細胞密度低下の病理組織学的所見）であった。

3 mg/kg／日以下の投与群では、一般状態、体重、摂餌量、血液化学的検査、尿検査、血液凝固検査、離乳前の発達指標、頭臀長、大腿長、性成熟、卵巣及び子宮の検査、眼科学的検査、行動評価、及び骨密度測定において、キザルチニブ投与による毒性変化はみられなかった。

3 mg/kg／日以下の投与群では、性周期、並びに雌雄ラットの交配及び受胎能に対する影響はみられなかった。雄生殖器官の評価では、群間差はみられなかった。

血液学的検査では、好中球数及びリンパ球数の軽微～軽度減少が、3 mg/kg／日群の雄及び 0.3 mg/kg／日以上の群の雌（雌では好中球数の減少のみ）で認められ、3 mg/kg／日群の雌雄（雌では好中球数の減少のみ）では回復期間終了時まで持続した。この減少を反映する結果として、3 mg/kg／日群の雄では、白血球数が軽微な減少を示した。

3 mg/kg／日群の雌雄で、軽微かつ可逆的な赤血球数減少とともに、可逆的な網状赤血球数減少が認められた。これらの減少に伴う HGB 及び HCT の変化はみられなかったが、MCV 及び MCH は軽微な増加を示した。骨髄塗抹検査では、3 mg/kg／日群で、赤血球系細胞数の軽度減少のため、赤血球系前駆細胞に対する骨髄球系前駆細胞の比が軽微な低下を示した。赤血球系の細胞は、二核赤芽球数の増加を特徴とした。

3 mg/kg／日群では、雌雄で NK 細胞（$CD3^{-}/CD161a^{+}$）数及び雄で B リンパ球（$CD3^{-}/CD45RA^{+}$）数の可逆的減少が、出生後 71 日に認められた。3 mg/kg／日群の雄では、T リンパ球（$CD3^{+}$）の総数及びヘルパーT リンパ球（$CD3^{+}/CD4^{+}$）数の軽度減少も出生後 71 日に認められ、出生後 113 日には変化はより顕著であった。さらに、3 mg/kg／日群では、出生後 113 日に細胞傷害性 T リンパ球（$CD3^{+}/CD8a^{+}$）数の減少も確認された。

投与終了時（出生後 71 日）の解剖では、3 mg/kg／日群で精巣及び精巣上体に被験物質投与による肉眼所見が認められた。病理組織学的所見として精細管変性／萎縮を伴う精巣重量減少による精巣の小型化が認められ、精細管の拡張を伴う精巣の肥大がみられた。また、精巣上体管腔内の精子減少を伴う精巣上体重量減少による精巣上体の小型化が認められ、精巣の退行性変化に伴う二次的な影響と判断した。さらに、骨髄でも被験物質投与による病理組織学的所見が認められた。3 mg/kg／日群で、軽微～軽度の骨髄細胞密度低下が認められた。

回復期間終了時（出生後 113 日）の解剖では、肉眼所見及び器官重量の評価で、被験物質投与に関連する所見は認められなかった。しかし、3 mg/kg／日群では、被験物質投与に関連する軽微な骨髄細胞密度低下が認められた。

TK の結果一覧を表 2.6.6.6-2 に示す。キザルチニブ及び AC886 の Cmax 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は、0.3～10 mg/kg／日の範囲で投与量比を上回る上昇を示した。Cmax 及び $AUC_{0\text{-}t}$ に重要な性差はみられなかった。出生後 21、56、及び 70 日におけるキザルチニブの曝露量から、3 mg/kg／日群では、キザルチニブの曝露量が出生後 21 日に定常状態に到達していたと判断した。AC886 の曝露量はキザルチニブの曝露量より低く、キザルチニブに対する AC886 の曝露量比の平均値は 31%～95%であった。

表 2.6.6.6-2　幼若ラットにおけるキザルチニブ塩酸塩の 9 週間経口投与後のキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	性別	Cmax（ng/mL）				Tmax（h）				AUC_{0-t}（ng·h/mL）			
キザルチニブ													
PND		10	21	56	70	10	21	56	70	10	21	56	70
0.3	M	33.8	39.5	34.4	42.0	4	8	4	4	509	605	434	566
	F	29.0	38.2	602	46.7	4	2	2	2	554	501	1600	607
3	M	340	755	481	604	4	2	2	4	6970	8390	5620	7910
	F	386	706	557	672	8	2	4	2	7230	7870	6700	8990
10	M	1630	4450	NA	NA	4	8	NA	NA	30,300	79,800	NA	NA
	F	1490	4750	NA	NA	4	4	NA	NA	29,400	66,800	NA	NA
AC886													
PND		10	21	56	70	10	21	56	70	10	21	56	70
0.3	M	20.4	36.1	20.5	21.0	24	8	4	4	264	577	135	307
	F	31.0	28.3	295	26.2	24	4	2	4	471	159	706	364
3	M	433	477	281	338	24	2	2	4	5920	5010	4240	4900
	F	449	405	290	323	24	2	4	4	6110	4780	4390	4390
10	M	1380	2290	NA	NA	24	8	NA	NA	18,500	51,100	NA	NA
	F	1210	2530	NA	NA	24	4	NA	NA	16,900	45,300	NA	NA

AUC_{0-t}: 定量可能な最終時点（24 時間）までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、NA: 該当なし、PND: 出生後日数、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

以上の結果より、キザルチニブ塩酸塩 10 mg/kg／日の経口投与により死亡及び切迫解剖に至り、その原因は重篤な骨髄毒性であった。3 mg/kg／日群でキザルチニブ投与に関連する器官重量の変化、及び骨髄及び雄生殖器の病理組織学的変化が認められたことから、雌雄ラットでの NOAEL は 0.3 mg/kg／日と判断した。血液学的検査及び免疫学的検査で認められた変化は、過剰な薬理作用によると判断され、6 週間の回復期間終了後に回復又は回復傾向を示した。

7.　局所刺激性試験

投与経路が経口投与であるため、局所刺激性試験は実施しなかった。

8.　その他の毒性試験

8.1　抗原性試験

添付資料番号：4.2.3.7.1-1

キザルチニブの皮膚感作性は、Hartley 系のアルビノモルモットを用いて評価した（2.6.7.17.A）。モルモット（雌雄各 10 例、6～7 週齢）に対し、濃度 100%（0.3 g／部位）のキザルチニブ塩酸塩を週 1 回、3 週間連続で局所適用した。2 週間の休薬後、濃度 100%のキザルチニブ塩酸塩を局所適用することにより惹起を行った。キザルチニブ投与群で認められた惹起適用に対する反応を、惹起対照群（雌雄各 5 例／群、6～7 週齢）の反応と比較した。α-ヘキシルシンナミックアルデヒド（α-Hexylcinnamaldehyde: HCA）群（雌雄各 5 例／群、6

～7 週齢）を本試験の陽性対照群とした。HCA 群では、感作誘導に 5% (w/v) HCA 溶液（エタノールを溶媒とする）、惹起に 2.5%及び 1.0% w/v HCA 溶液（アセトンを溶媒とする）を使用し、上記と同様に局所適用した。

濃度 100%のキザルチニブ塩酸塩による惹起後、キザルチニブ投与群及び惹起対照群で皮膚反応は認められず、皮膚スコアは 0 であった。

HCA 群では、2.5% (w/v) HCA 溶液（アセトンを溶媒とする）の惹起適用 24 及び 48 時間後の皮膚スコアが、10 例中 5 例で 1 又は 2 であった。HCA 試験群の残りの動物及び HCA 惹起対照群では、皮膚スコアが 0 又は±であった。HCA 試験群における皮膚スコアの群平均値は、HCA 惹起対照群と比較して高かった。

HCA 群では、1.0% w/v HCA 溶液（アセトンを溶媒とする）の惹起適用 24 及び 48 時間後の皮膚スコアが、10 例中 2 例で 1 であった。HCA 惹起対照群の皮膚反応はスコア 0 であった。HCA 試験群における皮膚スコアの群平均値は、HCA 惹起対照群と比較して高かった。

HCA 陽性対照試験の結果から、本試験は成立と判断され、本試験デザインにより接触感作物質を検出できることが示された。

以上の結果より、キザルチニブはモルモットで接触感作を誘発しないと判断した。

8.2　不純物の毒性試験

添付資料番号：4.2.3.7.6-1

キザルチニブの不純物の毒性を、雌雄 SD ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験で評価した（2.6.7.17.B）。評価した不純物は [redacted] A*、[redacted] B*、[redacted] C*、[redacted] D*、及び [redacted] E* であった。ラット（雌雄各 10 例／群）に対し、溶媒対照（5% HPβCD）、キザルチニブ塩酸塩（5 mg/kg／日）、又は不純物（[redacted] mg/kg／日［[redacted]%］又は [redacted] mg/kg／日［[redacted]%］）を添加したキザルチニブ塩酸塩（5 mg/kg／日）を 28 日間投与した。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、及び剖検に基づき、毒性を評価した。

一般状態、体重、摂餌量、及び眼科学的検査において毒性変化はみられなかった。

血液学的検査では、キザルチニブの全投与群で、赤血球パラメータ（赤血球数、HGB、又は HCT）及び網状赤血球数、好中球数、並びに好酸球数の減少が認められた。これらの変化は赤血球生成及び顆粒球生成の抑制を示すものであり、骨髄細胞密度の低下が認められたことと相関した。これらの変化はキザルチニブ投与に関連するもので、添加した不純物には関連しないと判断した。また、[redacted]%の不純物を添加したキザルチニブ 5 mg/kg／日群で、AST 及び ALT の上昇が認められたことから、肝細胞に対する影響が示唆された。不純物を添加していないキザルチニブの投与群で同様の上昇がみられなかったことから、AST 及び ALT の上昇は不純物に関連する可能性が高かった。しかし、変化の程度が小さく、相関する病理組織学的所見が観察されなかったことから、これらの影響は毒性ではないと判断した。

雄又は雌の精巣、脾臓、及び胸腺で統計学的に有意な器官重量の変化がみられた。脾臓重量の減少は、上記の赤血球パラメータの変化に起因する可能性が高かった。器官重量の有意な変化は不純物添加（[redacted]%及び [redacted]%）群でのみ認められたものの、軽度であり、相関する病理

組織学的所見が観察されなかったことから、毒性ではないと判断した。

以上の結果より、不純物含有率 [redacted]%又は [redacted]%のキザルチニブを 28 日間強制経口投与したとき、評価したいずれのパラメータにも毒性変化はみられなかった。

8.3 その他の試験

8.3.1 In vitro 光毒性試験

添付資料番号：4.2.3.7.7-1

キザルチニブの光毒性は、BALB/c マウス線維芽細胞（3T3）株を用いて検討した（2.6.7.17.C）。キザルチニブ塩酸塩の溶解性を評価したところ、1%ジメチルスルホキシド（dimethyl sulfoxide: DMSO）/Ca^{2+}及びMg^{2+}含有ダルベッコリン酸緩衝食塩水（Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+}: DPBS）への溶解限度が 10.5 mg/L であることが示された。したがって、キザルチニブ塩酸塩は、1% DMSO/DPBS に 10.5 mg/L までの濃度で溶解し、用量設定試験及び主試験を行った。濃度 0.1～120 mg/L のクロルプロマジン（chlorpromazine: CPZ）を陽性対照物質とした。

光毒性の評価では、Schott WG 320 フィルター（厚さ 1 mm）を装着した 6500W キセノンアークソーラーシュミレーターから、紫外線 A 波（ultraviolet A light: UVA）5 J/cm^2 を細胞に照射した。背景データから、同照射には紫外線 B 波（ultraviolet B light: UVB）約 18 mJ/cm^2 が含まれていることが確認されている。

50%阻害濃度（50% inhibitory concentration: IC_{50}）、photo irritation factor（PIF）、及び mean photo effect（MPE）を算出した。陽性対照物質 CPZ による細胞毒性及び光毒性反応から、本試験は成立と判断した。

用量設定試験又は主試験のいずれにおいても、1% DMSO/DPBS に溶解するキザルチニブの最高濃度（用量設定試験: 10.5 mg/L、主試験: 10.05 mg/L）は、細胞毒性の IC_{50} より低濃度であった。キザルチニブは UVA 照射条件でのみ細胞毒性を示したため、正確な PIF 値は算出できなかった（用量設定試験の PIF: >3.313、主試験の平均 PIF: >1.576）。これに対し、MPE の算出値は 0.15 未満であり、ICH S10 ガイドラインに従い[8]光毒性を示さないと判断した。

以上の結果より、BALB/c マウス線維芽細胞（3T3）株を用いた in vitro NRU 光毒性試験で、キザルチニブは光毒性を示さなかった。

8.3.2 ウサギ眼刺激性試験

添付資料番号：4.2.3.7.7-2

雌ニュージーランドホワイト（New Zealand White: NZW）ウサギを用いて、キザルチニブの単回投与による眼刺激性試験を実施した（2.6.7.17.D）。ウサギ 3 例の右眼結膜嚢に、キザルチニブ塩酸塩 0.0354 g（0.1 mL に相当する重量）を適用した。各動物の左眼を無処置対照とした。試験眼及び対照眼の刺激症状を、投与 72 時間後まで観察した。

キザルチニブの曝露 1 時間後に、3 眼中 3 眼で結膜炎（発赤、膨張、又は眼脂）がみられた。3 眼中 2 眼では曝露 48 時間後までに、1 眼では曝露 72 時間後までに、結膜炎は完全に回

復した。その他の眼所見として、全供試動物の眼内にキザルチニブが残存していた。

以上の結果より、Kay and Calandra の評価基準では、キザルチニブはウサギ眼組織に軽度の眼刺激性を示すと判断した。EEC Ocular Evaluation Criteria では、キザルチニブは非刺激性物質に分類される。ウサギ 1 例で投与 24 及び 48 時間後に結膜発赤のスコアが 2 であったことから、FDA の評価基準では、キザルチニブの眼刺激性は equivocal に分類される。

8.3.3 ウサギ皮膚刺激性試験

添付資料番号：4.2.3.7.7-3

雄 NZW ウサギを用いて、キザルチニブの単回投与による皮膚刺激性試験を実施した（2.6.7.17.E）。ウサギ 3 例（20 週齢）の皮膚にキザルチニブ塩酸塩 0.57 g を単回塗布した。キザルチニブを塗布した半密封パッチを皮膚に貼付し、キザルチニブに 4 時間曝露した。曝露時間終了時にパッチを除去し、皮膚に残存するキザルチニブを、脱イオン水で湿らせたガーゼ、乾燥ガーゼを順に用いて拭き取った。その後、試験部位を観察し、パッチ貼布 72 時間後まで皮膚刺激性を採点した。

キザルチニブの曝露 1 時間後に、3 例中 3 例で辺縁明瞭な紅斑がみられた。3 例中 2 例では曝露 48 時間後までに、残り 1 例では曝露 72 時間後までに、皮膚刺激性は完全に回復した。

以上の結果より、EPA-FIFRA Dermal Irritation Descriptive Classification Criteria では、キザルチニブはウサギで軽度の皮膚刺激性を示すと判断した。被験物質の Primary Irritation Index（皮膚一次刺激性指数）は 0.83 と算出された。FDA Dermal Evaluation Criteria 及び EEC Dermal Evaluation Criteria では、キザルチニブは非刺激性物質と判断した。

9. 考察及び結論

キザルチニブの毒性プロファイルは、ラット、イヌ、及びカニクイザルの単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、ラット胚・胎児発生毒性試験、幼若ラット反復投与毒性試験、並びにその他の特殊毒性試験（抗原性試験、キザルチニブの各種不純物の毒性評価、光毒性試験、皮膚及び眼刺激性試験）で評価した。

キザルチニブに関連する毒性の主要標的臓器（骨髄、リンパ器官など）は、動物種を問わず同様であった。しかし、キザルチニブ投与による腎臓の毒性変化はラット及びイヌで、肝毒性はイヌ及びサルでみられた。一部の血液学的及び血液化学的検査パラメータにみられた変化は、それぞれ骨髄抑制及び肝毒性と概ね相関を示した。ラットでは、他の動物種より強い毒性が認められた。この理由は、恐らくキザルチニブの吸収が他の動物種より良好であったために、同じ用量での曝露量が相対的に高かったことに起因すると考えられる。キザルチニブ投与に関連して認められた毒性は、用量及び投与期間にも依存していた。しかし、ラット、イヌ、及びサルでみられた標的臓器毒性は、28 日間投与毒性試験と 13 週間投与毒性試験の間で差はなかった。

ラットでは、キザルチニブの 150 mg/kg 以上の単回投与、及び 60/30 mg/kg／日以上の 28 日間反復投与で、死亡及び一般状態悪化（血尿、液状便、自発運動の低下、皮膚蒼白など）が認められた。ラット 13 週間投与試験では、10 mg/kg／日まで死亡及びキザルチニブ投与に関連する一般状態変化はみられなかった。イヌでは、200 mg/kg までの単回投与は良好な忍容性を示したが、200/250 mg/kg／日の 7 日間反復投与及び 150/40 mg/kg／日の 28 日間反復投与により、死亡又は切迫解剖に至った。瀕死状態のイヌで認められた一般状態変化は、体重減少、摂餌量低下、自発運動の低下、便量減少又は無便、円背位又はケージ床での臥位などであった。イヌ 13 週間投与試験では、15 mg/kg／日群の雌雄で認められた所見は皮膚蒼白のみであった。サル単回投与試験では 400 mg/kg まで、サル 5 又は 14 日間投与試験では 200 mg/kg／日まで、死亡例は認められなかった。しかし、サルでは、他の動物種より顕著な摂餌量低下及び体重減少がみられ、キザルチニブと溶媒（HPβCD）の複合的な影響と考えられた。サル 13 週間投与試験では、10/6 mg/kg／日以上の投与量で、摂餌量低下、自発運動の低下、重度の脱水、中等度～重度の協調運動障害、軟便又は液状便、重度の嘔吐、円背位、脊椎の隆起、半閉眼などが認められた。

キザルチニブ投与に関連して認められた血液／造血毒性は、白血球及び赤血球パラメータの減少などであり、骨髄細胞密度の低下と相関していた。ラット 13 週間投与試験では、3 mg/kg／日以上の投与群で、白血球及び赤血球パラメータの減少、並びに骨髄細胞密度の低下が用量依存的に認められた。30 日間の回復期間終了時には、骨髄の組織学的変化は部分的な回復を示した。10 mg/kg／日群で軽微～軽度の骨髄造血細胞密度低下が認められた。イヌ 13 週間投与試験では、15 mg/kg／日群で、白血球数及び赤血球パラメータの可逆的な減少がみられた。サル 13 週間投与試験では、10/6 mg/kg／日以上の投与群で、骨髄造血細胞密度の低下と赤血球パラメータの減少が認められた。10/6 mg/kg／日以下の投与群で認められたキザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見の多くは、回復期間終了時に消失しており、可

逆的変化であることが確認された。キザルチニブは、FLT3、KIT などの複数のチロシンキナーゼの選択的な阻害により、正常な造血組織に用量依存的な阻害作用を示すものと考えられる[9]。したがって、骨髄細胞密度の軽度低下とそれに伴う血液学的検査値の変化は、毒性変化でなく過剰な薬理作用と解釈できる。13 週間投与試験で認められた重度の造血阻害とそれによる骨髄細胞密度の低下に関する NOAEL は、ラットで 3 mg/kg／日、イヌで 5 mg/kg／日、サルで 3 mg/kg／日であった。

ラット、イヌ、及びサルでは、キザルチニブ投与により、用量及び投与期間依存的な胸腺重量減少及び胸腺リンパ組織の萎縮／壊死が認められた。胸腺萎縮／壊死が認められた投与量は、ラットの 28 日間及び 13 週間投与試験でそれぞれ 15 mg/kg／日以上及び 1 mg/kg／日以上、イヌの 28 日間及び 13 週間投与試験でそれぞれ 50/25 mg/kg／日以上及び 1 mg/kg／日以上（雄）、サルの 28 日間及び 13 週間投与試験でそれぞれ 10 mg/kg／日以上及び 10/6 mg/kg／日以上であった。脾臓萎縮が認められた投与量は、ラット及びイヌの 28 日間投与試験でそれぞれ 60/30 mg/kg／日以上及び 50/25 mg/kg／日、サルの 28 日間及び 13 週間投与試験でそれぞれ 10 mg/kg／日以上及び 3 mg/kg／日以上であったが、ラット及びイヌの 13 週間投与試験では脾臓萎縮は認められなかった。ラット、イヌ、及びサルにおけるリンパ器官の変化は、4 週間の休薬により回復した。

キザルチニブによる肝毒性は用量及び投与期間に依存するとともに、変化には種差が認められた。ラットでは、5 mg/kg／日以上の 28 日間投与で肝酵素（ALT、AST、及び ALP）の軽度上昇が認められた。ラット肝臓の組織学的変化（単細胞壊死）は、60/30 mg/kg／日群の死亡例で認められたが、切迫解剖例ではみられなかった。したがって、この所見は、MTD を上回る高用量を投与されたラットの瀕死状態に関連するものと判断した[10,11]。ラット 13 週間投与試験では、3 mg/kg／日以上の投与群で肝酵素の軽度上昇のみが認められ、肝臓の組織学的変化はみられなかった。サル 28 日間投与試験では、100/60 mg/kg／日までの投与群で、中等度の ALT 上昇が認められたが、TBIL 上昇及び肝臓の病理組織学的変化はみられなかった。しかし、サル 13 週間投与試験では、10/6 mg/kg／日以上の投与群で、AST、ALT、及び TBIL の軽度上昇、並びに軽微な組織学的変化（単細胞壊死、小葉中心性壊死、あるいは肝細胞の空胞化）が認められた。イヌは、キザルチニブの肝毒性（AST、ALT、ALP、TBIL、及び抱合型ビリルビン上昇）に対する感受性が相対的に高く、組織学的変化（複屈折結晶沈着、類洞細胞の活性化、及び肝細胞の空胞化）を示すと考えられた。イヌでは、肝臓内に結晶沈着がみられ、その重篤度及び発現率が用量依存性を示したが、ラット及びサルの 28 日間及び 13 週間投与試験では結晶沈着は観察されなかった。イヌ 13 週間投与試験では、炎症を伴わない肝臓内結晶沈着及び肝酵素上昇に関する NOAEL は、5 mg/kg／日と判断した。イヌの肝臓内に結晶沈着が発生する機序は明らかになっていない。しかし、イヌ 13 週間投与試験の 15 mg/kg／日群のホルマリン固定肝臓標本を生体試料分析した結果、肝臓内の結晶は概ね不溶性で、キザルチニブと様々な代謝物の複合体を含有することが確認された（2.6.5.9.I）。イヌ、ラット、及びサルの間では、キザルチニブの肝代謝又は肝細胞輸送に種差があると考えられ、イヌでは肝臓内の結晶沈着において、キザルチニブ及び代謝物が蓄積しやすい傾向に

あると推察された。結晶の発生機序との関連は明らかでないが、ヒト、ラット、又はサルで検出されず、イヌのみで検出されている代謝物が 1 種類（モルフォリン環の酸化体）存在する（2.6.4.5）。生体異物の肝細胞内輸送及び胆汁内排泄には種差が存在することが認識されており[12,13]、イヌでのみ肝臓内に結晶沈着がみられた一因は、このような種差にあると推察される。したがって、イヌ肝臓内での結晶沈着はヒトの肝毒性リスクと関連しないと考えられる。

ラットの 28 日間及び 13 週間投与試験では、腎臓の用量依存的な変化（可逆的な腎尿細管上皮の複屈折結晶沈着及び腎尿細管上皮の好塩基性化）が、10 mg/kg／日以上の投与群の雄で特に高頻度に認められた。ラット 13 週間投与試験では、10 mg/kg／日群で、腎尿細管上皮に若干の好塩基性化が認められた。13 週間投与試験の 30 日間の回復期間終了時には、10 mg/kg／日群の雌で腎臓内の結晶沈着はみられなかったが、同群の雌雄で腎尿細管上皮の好塩基性化が依然として認められた。腎臓の病理組織学的変化と相関する血液化学的検査パラメータ（血中尿素窒素及びクレアチニン）及び尿検査パラメータの異常は認められず、腎機能に影響しないことが示唆された。イヌでは、28 日間投与試験の 50/25 mg/kg／日以上の投与群及び 13 週間投与試験の 1 mg/kg／日以上の投与群（雄）で、腎尿細管上皮に好塩基性化が認められたが、13 週間投与試験では相関する血液化学的検査値の変動はみられなかった。さらに、13 週間投与試験では、15 mg/kg／日群の雄で腎尿細管上皮に非複屈折結晶状の色素沈着が認められた。サル 13 週間投与試験で尿素及びクレアチニンの軽度上昇がみられたが、30/12 mg/kg／日までの投与群で腎尿細管上皮に好塩基性化は認められなかった。裏付けとなる分析試験は未実施であるが、ラットの腎尿細管上皮に認められた複屈折結晶の構成成分は、キザルチニブ又は代謝物（イヌ肝臓内の結晶に類似）と考えられた（2.6.5.10）。雄ラットで腎臓の変化（特に結晶沈着）が高頻度にみられたことは、雄ラット特有の相互作用（腎臓内での α-2u グロブリンと、腎排泄されるキザルチニブの間の相互作用）に関連すると考えられる。雄ラットでは、近位尿細管で α-2u グロブリンと生体異物との相互作用が発生するため、雄ラットは、ヒトの腎毒性及びがん原性の予測モデルに適さないとみなされることが少なくない[14]。

心毒性の可能性については、サルのテレメトリー試験では、キザルチニブの単回経口投与により、10 mg/kg／日以上の投与群で QTc が延長し、100 mg/kg／日以上の投与群で体血圧が上昇した（2.6.2.4）。これに対し、28 日間投与試験の 150/40 mg/kg／日群のイヌ、13 週間投与試験の 15 mg/kg／日群のイヌ、28 日間投与試験の 100/60 mg/kg／日群のサル、及び 13 週間投与試験の 10/6 mg/kg／日群のサルでキザルチニブ投与に関連する心電図の変化は認められなかった。さらに、ラット、イヌ、及びサルに単回経口投与及び最長 13 週間反復経口投与したとき、毒性学的に重要な心臓の形態学的変化は認められなかった。

生殖器系に対する臓器毒性としては、ラット 13 週間投与試験の 10 mg/kg／日群の雄で、可逆性の精巣の精細管変性及び精子細胞の停留が認められた。雌では、10 mg/kg／日で毒性学的意義のある卵巣嚢胞及び膣粘膜の粘液産生亢進（不可逆性）が認められ、膣粘膜の変化は回復期間終了時にもみられた。サル 13 週間投与試験では、10/6 mg/kg／日以上の投与群で、

精巣の軽微～重度の生殖細胞減少、並びに子宮、卵巣、及び膣の萎縮がみられた。これらの変化は 4 週間の回復期間終了時に回復性を示した。イヌ 13 週間投与試験では、15 mg/kg／日までの投与群で毒性学的に重要な所見はみられなかった。

遺伝毒性試験では、キザルチニブは染色体異常試験及び単回投与によるラット骨髄小核試験で陰性であった。28 日間反復投与毒性試験に組み入れたラット小核試験では明確な結論が得られなかった。キザルチニブは、哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（マウスリンフォーマ・チミジンキナーゼ試験）で陰性であったのに対し、細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性の結果を示した。

ラット胚・胎児発生毒性試験では、6 mg/kg／日で胎児毒性が認められ、主な所見は骨化に対する影響を伴う胎児低体重であった。6 mg/kg／日では催奇形性（主な胎児異常所見は全身浮腫）も認められた。

幼若ラットを用いた毒性試験では、成熟ラットでみられたものと同質の変化が認められ、3 mg/kg／日での毒性の標的臓器は骨髄及び雄生殖器であった。

モルモットを用いてキザルチニブの抗原性を評価した。その試験結果から、キザルチニブはモルモットで接触感作を誘発しないと判断した。

キザルチニブは若干の光吸収性を示し、波長 290～350 nm に最大吸収がある。しかし、キザルチニブは、BALB/c マウス線維芽細胞（3T3）株を用いた in vitro NRU 光毒性試験で陰性であった。したがって、キザルチニブにより光毒性が生じるリスクは高くないと判断した。

非臨床毒性試験の一部として、キザルチニブの不純物の毒性を評価した。これらの不純物及び反復投与毒性試験に用いたロット中の不純物全体の濃度に関する規格は、毒性学的にみて妥当と判断した（2.6.7.4）。毒性試験に用いたロット中に存在しない 5 種の不純物（[redacted] A*、[redacted] B*、[redacted] C*、[redacted] D*、及び [redacted] E*）を添加したキザルチニブロットを用いて、ラット 28 日間反復経口投与毒性試験を実施したところ、不純物濃度 [redacted]%又は [redacted]%を含むキザルチニブは、いずれのパラメータにも毒性変化を及ぼさなかった。したがって、毒性データ及び製造実績から、設定した不純物の規格は妥当と判断した。

作業場所での安全性を裏付けるため、眼及び皮膚刺激性試験を実施した。これらの試験の結果から、キザルチニブはウサギで軽度の眼刺激性及び軽度の皮膚刺激性を有すると判断した。

10. 結論

一般毒性試験、遺伝毒性試験、生殖毒性試験、幼若動物を用いた試験、及びその他の毒性試験で、キザルチニブを評価した。主要標的臓器は、骨髄（ラット、イヌ、及びサル）、肝臓（イヌ及びサル）、並びに腎臓（ラット及びイヌ）であり、これらの臓器に対する影響より重篤度は低いが、胸腺（ラット、イヌ、及びサル）、卵巣、膣、及び精巣（ラット及びサル）にも影響が認められた。キザルチニブと AC886 が類似の薬理学的特性を示すこと、また、キザルチニブに関連する毒性の大半が薬理作用によるものと判断されたことから、安全性を評価する際には、両成分（キザルチニブ及び AC886）の曝露量を考慮する必要がある。キザルチニブ塩酸塩を投与後のキザルチニブと AC886 の血漿中濃度比に、種差及び用量依存性が認められた（2.6.4.5）。さらに、サル血液を血漿分離時まで氷中保存したときの血漿中 AC886 濃度は、37°C 保存条件での濃度と比較して 4 倍高かったが、キザルチニブ濃度には、このような保存温度による差はみられなかった（2.6.4.2.4）。実際の毒性試験では、TK 解析用に採取した血液検体は血漿分離時まで氷中保存されたことから、リスクアセスメントでサルでの AC886 の毒性が過大評価される可能性を低減するため、サル試験では、AC886 濃度の補正値（最大増加率で除した値）も使用した。

キザルチニブ及び AC886 の曝露量に関する最大臨床推奨用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日との比較に基づくマージンを、表 2.6.6.10-1 に示す。げっ歯類及び非げっ歯類で認められた両化合物の標的臓器毒性（骨髄毒性を除く）の安全性マージン、並びにこれらの毒性の程度又は重篤度が軽度かつ可逆的であったことから、キザルチニブを長期連日投与することは、非臨床データから妥当と判断した。

表 2.6.6.10-1　臨床用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日と、標的臓器毒性に対する無毒性量又は毒性用量での全身曝露量（AUC）の比較に基づくキザルチニブ及び AC886 の曝露マージン（1/2）

試験の種類／標的毒性	動物種	投与量／NOAEL 又は毒性用量（mg/kg／日）	性別	キザルチニブ		AC886[d]		キザルチニブ ＋ AC886[d]	
				$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	MOE	$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	MOE	$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	MOE
臨床試験[a]	ヒト	53 mg/man	NA	8276	NA	4232	NA	14,280	
反復投与毒性試験									
血液／造血毒性	ラット	3	M	11,700	1.4	4680[b]	1.1	16,380	1.1
			F	12,500	1.5	5000[b]	1.2	17,500	1.2
		10	M	65,400	7.9	26,160[b]	6.2	91,560	6.4
			F	85,800	10	34,320[b]	8.1	120,120	8.4
	イヌ	5	M	4480	0.54	896[b]	0.21	5376	0.38
			F	3380	0.41	676[b]	0.16	4056	0.28
		15	M	9470	1.1	1894[b]	0.45	11,364	0.80
			F	13,200	1.6	2640[b]	0.62	15,840	1.1
	サル	3	M	836	0.10	5010 (1253)	1.2 (0.30)	5846 (2089)	0.41 (0.15)
			F	618	0.075	4950 (1238)	1.2 (0.29)	5568 (1856)	0.39 (0.13)
		10/6[c]	M	4060	0.49	11,300 (2825)	2.7 (0.67)	15,360 (6885)	1.1 (0.48)
			F	2440	0.29	10,100 (2525)	2.4 (0.60)	12,540 (4965)	0.88 (0.35)
肝毒性	ラット	10	M	65,400	7.9	26,160[b]	6.2	91,560	6.4
			F	85,800	10	34,320[b]	8.1	120,120	8.4
		NA	M	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			F	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	イヌ	5	M	4480	0.54	896[b]	0.21	5376	0.38
			F	3380	0.41	676[b]	0.16	4056	0.28
		15	M	9470	1.1	1894[b]	0.45	11,364	0.80
			F	13,200	1.6	2640[b]	0.62	15,840	1.1
	サル	3	M	836	0.10	5010 (1253)	1.2 (0.30)	5846 (2089)	0.41 (0.15)
			F	618	0.075	4950 (1238)	1.2 (0.29)	5568 (1856)	0.39 (0.13)
		10/6[c]	M	4060	0.49	11,300 (2825)	2.7 (0.67)	15,360 (6885)	1.1 (0.48)
			F	2440	0.29	10,100 (2525)	2.4 (0.60)	12,540 (4965)	0.88 (0.35)

表 2.6.6.10-1　臨床用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日と、標的臓器毒性に対する無毒性量又は毒性用量での全身曝露量（AUC）の比較に基づくキザルチニブ及び AC886 の曝露マージン（2/2）

試験の種類／標的毒性	動物種	投与量／NOAEL 又は毒性用量（mg/kg／日）	性別	キザルチニブ		AC886[d]		キザルチニブ ＋ AC886[d]	
				AUC_{0-24}（ng·h/mL）	MOE	AUC_{0-24}（ng·h/mL）	MOE	AUC_{0-24}（ng·h/mL）	MOE
腎毒性	ラット	3	M	11,700	1.4	4680[b]	1.1	16,380	1.1
			F	12,500	1.5	5000[b]	1.2	17,500	1.2
		10	M	65,400	7.9	26,160[b]	6.2	91,560	6.4
			F	85,800	10	34,320[b]	8.1	120,120	8.4
	イヌ	15	M	9470	1.1	1894[b]	0.45	11,364	0.80
			F	13,200	1.6	2640[b]	0.62	15,840	1.1
		NA	M	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			F	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	サル	30/12[c]	M	4280	0.52	24,000 (6000)	5.7 (1.4)	28,280 (10,280)	2.0 (0.72)
			F	8140	0.98	25,400 (6350)	6.0 (1.5)	33,540 (14,490)	2.3 (1.0)
		NA	M	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			F	NA	NA	NA	NA	NA	NA
生殖器毒性	ラット	3	M	11,700	1.4	4680[b]	1.1	16,380	1.1
			F	12,500	1.5	5000[b]	1.2	17,500	1.2
		10	M	65,400	7.9	26,160[b]	6.2	91,560	6.4
			F	85,800	10	34,320[b]	8.1	120,120	8.4
	イヌ	15	M	9470	1.1	1894[b]	0.45	11,364	0.80
			F	13,200	1.6	2640[b]	0.62	15,840	1.1
		NA	M	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			F	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	サル	3	M	836	0.10	5010 (1253)	1.2 (0.30)	5846 (2089)	0.41 (0.15)
			F	618	0.075	4950 (1238)	1.2 (0.29)	5568 (1856)	0.39 (0.13)
		10/6[c]	M	4060	0.49	11,300 (2825)	2.7 (0.67)	15,360 (6885)	1.1 (0.48)
			F	2440	0.29	10,100 (2525)	2.4 (0.60)	12,540 (4965)	0.88 (0.35)
生殖発生毒性試験									
催奇形性	ラット	2	F	4390	0.53	2710	0.64	7100	0.50
		6	F	28,000	3.4	9070	2.1	37,070	2.6

AUC_{0-24}: 定常状態における投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、F: 雌、M: 雄、MOE: 曝露マージン、NA: 該当なし、NOAEL: 無毒性量（下線部）

[a] ヒトにおける AUC 値は代表的な幾何平均の値（添付資料番号：5.3.5.2-2）

[b] ラット及びイヌでの血漿中 AC886 濃度は、AC886 の AUC_{0-24} がラット及びイヌでキザルチニブの AUC_{0-24} のそれぞれ 40%（添付資料番号：4.2.2.2-6）及び 20%（添付資料番号：4.2.2.4-9）であると仮定し、薬物動態試験結果から推定した。

[c] 重篤な一般状態悪化がみられたため、10 日間休薬後、雄では投与 43 日目、雌では投与 42 日目に 30 mg/kg／日から 12 mg/kg／日に減量した。

[d] サル血液中の AC886 濃度は、氷中保存条件では 37°C 保存条件と比べて 4 倍高かったため、血液を氷中保存した場合には最大増加率「4」で補正した濃度を括弧内に示す（2.6.4.2.4）。

11. 参考文献一覧

1. Guidance for Industry: S2B Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals; July, 1997. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER) (CBER).
2. Guidance for Industry: S9 Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; March, 2010. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER).
3. Guidance for Industry: Photosafety Testing; May, 2003. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER).
4. OECD Guideline for Testing of Chemicals. In Vitro 3T3 NRU phototoxicity test, No. 432 Section 4 Health Effects (Pink pages); adopted April 13, 2004. Organisation for Economic Co-operation and Development.
5. Note for Guidance on Photosafety Testing; June 27, 2002. Committee for Proprietary Medicinal Products. CPMP/SWP/398/01; EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products).
6. Guidance for Industry: Q3A(R2) Impurities in New Drug Substances; June, 2008. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER) (CBER).
7. Guidance for Industry: Q3B(R2) Impurities in New Drug Products; July, 2006. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER) (CBER).
8. Guidance for Industry: S10 Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals; January, 2015. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER) (CBER).
9. Lyman SD, Jacobsen SEW. c-KIT Ligand and Flt3 Ligand: Stem/Progenitor Cell Factors With Overlapping Yet distinct Activities. Blood. 1998;91:1101-34.
10. Greaves P. Histopathology of preclinical toxicity studies. 4th edition. 2012. 453-4, Elsevier, London.
11. Thoolen B, Maronpot RR, Harada T, et al. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse hepatobiliary system. Toxicol Pathol. 2010;38:5S-81S.
12. Ishizuka H, Konno K, Shiina T, et al. Species Differences in the Transport Activity for Organic Anions Across the Bile Canalicular Membrane. J Pharm Exp. Ther. 1999;290(3):1324-30.
13. Ninomiya M, Ito K, Horie T. Functional Analysis of Dog Multidrug Resistance-Associated Protein 2 (MRP2) in Comparison with Rat MRP2. Drug Metab Disposition. 2005;33(2):225-32.
14. Rodgers IS, Baetcke KP. Interpretation of Male Rat Renal Tubule Tumors. Environ Health Perspectives Supplements. 1993;101(6):45-52.

目次

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 7
2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 8
2.6.7.3.A. トキシコキネティクス試験成績（キザルチニブ）の一覧 8
2.6.7.3.B. トキシコキネティクス試験成績（AC886）の一覧 10
2.6.7.4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 12
2.6.7.5. 単回投与毒性試験 16
2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 17
2.6.7.7. 反復投与毒性試験：重要な試験 19
2.6.7.7.A. ラット 28 日間反復経口投与毒性試験 19
2.6.7.7.B. ラット 13 週間反復経口投与毒性試験 29
2.6.7.7.C. イヌ 28 日間反復経口投与毒性試験 35
2.6.7.7.D. イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験 43
2.6.7.7.E. サル 28 日間反復経口投与毒性試験 50
2.6.7.7.F. サル 13 週間反復経口投与毒性試験 57
2.6.7.8. In vitro 遺伝毒性試験 70
2.6.7.8.A. 細菌を用いた復帰突然変異試験 70
2.6.7.8.B. 哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験 73
2.6.7.8.C. 染色体異常試験 75
2.6.7.9. In vivo 遺伝毒性試験 77
2.6.7.9.A. キザルチニブ単回投与後のラット骨髄を用いた小核試験 77
2.6.7.9.B. キザルチニブ 28 日間反復投与後のラット骨髄を用いた小核試験 79
2.6.7.10. がん原性試験 80
2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 81
2.6.7.12. 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 82
2.6.7.13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 83
2.6.7.14. 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 87
2.6.7.15. 新生児を用いた試験 88
2.6.7.15.A. 重要な試験以外の試験 88
2.6.7.15.B. 幼若ラットを用いた 9 週間反復投与毒性試験 89
2.6.7.16. 局所刺激性試験 100
2.6.7.17. その他の毒性試験 101
2.6.7.17.A. 抗原性試験 101
2.6.7.17.B. 不純物の毒性試験：ラット 28 日間反復経口投与毒性試験 102
2.6.7.17.C. 光毒性試験 104

2.6.7.17.D. 眼刺激性試験 105
2.6.7.17.E. 皮膚刺激性試験 106

2.6.7.1. 毒性試験：一覧表

Overview						**Test Article**: Quizartinib dihydrochloride		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Dose (mg/kg/day)**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Single-Dose Toxicity								
Single-dose Toxicity	Rat/SD	Oral (gavage)	Single	100, 150, 200, 250, 300	Yes†	[redacted]	4.2.3.1-1 (Phase 1)	4.2.3.1
Escalating Single-dose Toxicity	Dog/Beagle	Oral (gavage)	Single	10, 20, 40, 80, 100, and 200 (Phase 1); 150 (Phase 2)	Yes†	[redacted]	4.2.3.1-2 (Phases 1 and 2)	4.2.3.1
Escalating Single-dose Toxicity	Cynomolgus Monkey	Oral (gavage)	Single	30, 100, 200, 300, 400	No	[redacted]	4.2.3.1-3	4.2.3.1
Repeat-Dose Toxicity (Non-pivotal)								
7-day Toxicity	Rat/SD	Oral (gavage)	7 days (4 days [a])	125/100 [a]	Yes†	[redacted]	4.2.3.1-1 (Phase 2)	4.2.3.1
7-day Toxicity	Dog/Beagle	Oral (gavage)	7 days (6 days [b])	200/250 [b]	Yes†	[redacted]	4.2.3.1-2 (Phase 3)	4.2.3.1
5-day Toxicity	Cynomolgus Monkey	Oral (gavage)	5 days	200	No	[redacted]	4.2.3.1-3	4.2.3.2
14-day Toxicity	Cynomolgus Monkey	Oral (gavage)	14 days	30, 100, or 200	No	[redacted]	4.2.3.2-5	4.2.3.2
Repeat-Dose Toxicity (Pivotal)								
28-day Toxicity with 28-day Recovery	Rat/SD	Oral (gavage)	28 days	0 (22% HPβCD), 5, 15, 60/30 [c]	Yes	[redacted]	4.2.3.2-1	4.2.3.2
13-week Toxicity with a 30-day Recovery	Rat/SD	Oral (gavage)	13 weeks	0 (5% HPβCD), 1, 3, 10	Yes‡	[redacted]	4.2.3.2-2	4.2.3.2
28-day Toxicity	Dog/Beagle	Oral (gavage)	28 days	0 (22% HPβCD), 10/5, 50/25, 150/40 [d]	Yes	[redacted]	4.2.3.2-3	4.2.3.2
13-week Toxicity with a 30-day Recovery	Dog/Beagle	Oral (gavage)	13 weeks	0 (5% HPβCD), 1, 5, 15	Yes‡	[redacted]	4.2.3.2-4	4.2.3.2
28-day Toxicity with 28-day Recovery	Cynomolgus Monkey	Oral (gavage)	28 days	0 (22/5% HPβCD) [e], 10, 30, 100/60 [f]	Yes	[redacted]	4.2.3.2-6	4.2.3.2

Overview						**Test Article**: Quizartinib dihydrochloride		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Dose (mg/kg/day)**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
13-week Toxicity with 28-day Recovery	Cynomolgus Monkey	Oral (gavage)	13 weeks	0 (5% HPβCD), 3, 10/6, 30/12 [g]	Yes‡	[redacted]	4.2.3.2-7	4.2.3.2
Genotoxicity								
Bacterial Reverse Mutation	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537); *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro	48 h to 72 h	1.58 to 5000 µg/plate, ± S9	Yes	[redacted]	4.2.3.3.1-1	4.2.3.3.1
Mammalian Cell Mutation	Mouse Lymphoma L5178Y TK$^{+/-}$	In vitro	3 h, ± S9; 24 h, −S9	1.84 to 28.8 µg/mL (3 h, −S9) 3.32 to 20.2 µg/mL (3 h, +S9) 0.00894 to 0.143 µg/mL (24 h, −S9)	Yes‡	[redacted]	4.2.3.3.1-2	4.2.3.3.1
Chromosome Aberration	Human peripheral blood lymphocytes	In vitro	4 h, ± S9; 21 h, −S9	40 to 320 µg/mL (4 h, −S9) 160 to 1280 µg/mL (4 h, +S9) 5 to 20 µg/mL (21 h, −S9)	Yes	[redacted]	4.2.3.3.1-3	4.2.3.3.1
Bone Marrow Micronucleus	Rat/SD	Oral (gavage)	1 day	0 (5% HPβCD), 15, 50, 100	Yes‡	[redacted]	4.2.3.3.2-1	4.2.3.3.2
Bone Marrow Micronucleus	Rat/SD	Oral (gavage)	28 days	0 (22% HPβCD), 5, 15, 60/30 [c]	Yes	[redacted]	4.2.3.3.2-2	4.2.3.3.2
Carcinogenicity								
No studies conducted								
Reproductive and Developmental Toxicity								

Overview						**Test Article**: Quizartinib dihydrochloride		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Dose (mg/kg/day)**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Embryofetal Developmental Toxicity (Dose range-finding)	Rat/SD	Oral (gavage)	GD 6 to GD 17	0 (5% HPβCD), 1, 3, 10, 20	No	[redacted]	4.2.3.5.2-1	4.2.3.5.2
Definitive Embryofetal Developmental Toxicity	Rat/SD	Oral (gavage)	GD 6 to GD 17	0 (5% HPβCD), 0.6, 2[h], 6[i]	Yes‡	[redacted]	4.2.3.5.2-2	4.2.3.5.2
Juvenile Toxicity (Dose range-finding)	Rat/SD	Oral (gavage)	PND 10 to PND 28	0 (5% HPβCD), 0.3, 1, 3	No	[redacted]	4.2.3.5.4-1	4.2.3.5.4
Definitive Juvenile Toxicity	Rat/SD	Oral (gavage)	PND 10 to PND 70	0 (5% HPβCD), 0.3, 3, 10	Yes‡	[redacted]	4.2.3.5.4-2	4.2.3.5.4
Local Tolerance								
No studies conducted								
Other Toxicity Studies								
Antigenicity	Guinea Pig/Hartley	Dermal	once/week for 3 weeks	100% (0.3 g/site)	Yes‡	[redacted]	4.2.3.7.1-1	4.2.3.7.1
Impurities	Rat/SD	Oral (gavage)	28 days	[redacted] (%) or [redacted] (%) [j]	Yes	[redacted]	4.2.3.7.6-1	4.2.3.7.6
3T3 NRU Phototoxicity	Balb/c 3T3 mouse fibroblasts	In vitro	2.5h	0.00332 to 10.5 mg/L	Yes‡	[redacted]	4.2.3.7.7-1	4.2.3.7.7

Overview						**Test Article**: Quizartinib dihydrochloride		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Dose (mg/kg/day)**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Attachment Number**	**Location in CTD**
Ocular irritation	Rabbit/NZW	Ocular	Single	0.0354 g/eye (0.1 mL weight equivalent)	Yes‡	[redacted]	4.2.3.7.7-2	4.2.3.7.7
Skin irritation	Rabbit/NZW	Dermal	Single	0.57 g/site	Yes‡	[redacted]	4.2.3.7.7-3	4.2.3.7.7

CRL: Charles River Laboratories; GD: Gestation Day; GLP: Good Laboratory Practices; h: hours; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; MF: Mutation frequency; NZW: New Zealand White; PE: Plating efficiency; PND: Postnatal Day; SD: Sprague-Dawley
The underlined dose represents the no observed adverse effect level (NOAEL).
†The study was GLP compliant with the exception of the dose formulation analysis, formulation stability testing, and/or analysis of plasma samples.
‡Test article characterization was performed in accordance with Good Manufacturing Practices (GMP) regulations.
[a]: A dose of 125 mg/kg/day was administered to animals for 2 days, and due to severe clinical signs, all surviving animals were given a 1-day observation without dosing and then received 100 mg/kg/day for 2 days (Days 4 and 5).
[b]: The initial dose of 200 mg/kg/day was subsequently increased to 250 mg/kg/day from Day 3 due to an initial lack of clinical signs. Due to the severe toxicity observed, all animals were prematurely terminated after dosing on Day 6.
[c]: A dose of 60 mg/kg/day was administered for 3 to 5 days. Because of observed toxicity, the highest dose was reduced to 30 mg/kg/day from Days 5 to 7 following a 2-day observation period.
[d]: Due to severe adverse effects observed in the 50 and 150 mg/kg/day group for up to Day 9, the dose levels of 10, 50, or 150 mg/kg/day reduced to 5, 25, or 40 mg/kg/day, respectively following at least 2 days observation period.
[e]: The concentration of HPβCD was lowered from 22% to 5%, due to adverse clinical signs noted in all treated groups including controls and the premature death of one high dose animal, which at that time was considered due to the vehicle.
[f]: Due to the death of two animals (one male found dead on Day 11 and one female found dead on Day 16), the high dose was reduced to 60 mg/kg/day, following a 5-day off-drug period (Day 16 to 20 for males or Day 15 to Day 19 for females).
[g]: Due to the severe adverse clinical signs, the dose levels in the mid or high–dose groups were reduced to 6 or 12 mg/kg/day, respectively.
[h]: NOAEL for embryofetal development.
[i]: NOAEL for dams general toxicity and reproduction.
[j]: Impurities included [redacted] A*, [redacted] B*, [redacted] C*, [redacted] D*, and [redacted] E*.

2.6.7.2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP	Attachment Number
Single-Dose Toxicity					
Single-Dose Toxicity	Dog/Beagle	Oral (gavage)	150	Yes [a]	4.2.3.1-2 (Phase 2)
Repeat-Dose Toxicity					
28-Day Toxicity	Rat/SD	Oral (gavage)	0, 5, 15, 60/30	Yes	4.2.3.2-1
13-Week Toxicity	Rat/SD	Oral (gavage)	0, 1, 3, 10	Yes	4.2.3.2-2
7-Day Toxicity	Dog/Beagle	Oral (gavage)	200, 250	Yes [a]	4.2.3.1-2 (Phase 3)
28-Day Toxicity	Dog/Beagle	Oral (gavage)	0, 10/5, 50/25, 150/40	Yes	4.2.3.2-3
13-Week Toxicity	Dog/Beagle	Oral (gavage)	0, 1, 5, 15	Yes	4.2.3.2-4
5-day Toxicity	Cynomolgus Monkey	Oral (gavage)	200	No	4.2.3.1-3
14-day Toxicity	Cynomolgus Monkey	Oral (gavage)	30, 100, 200	No	4.2.3.2-5
28-Day Toxicity	Cynomolgus Monkey	Oral (gavage)	0, 10, 30, 100/60	Yes	4.2.3.2-6
13-Week Toxicity	Cynomolgus Monkey	Oral (gavage)	0, 3, 10/6, 30/12	Yes	4.2.3.2-7
Reproductive and Developmental Toxicity					
Definitive Embryofetal Developmental Toxicity	Rat/SD	Oral (gavage)	0, 0.6, 2[b], 6[c]	Yes	4.2.3.5.2-2
Juvenile Toxicity (Dose range-finding)	Rat/SD	Oral (gavage)	0, 0.3, 1, 3	No	4.2.3.5.4-1
Definitive Juvenile Toxicity	Rat/SD	Oral (gavage)	0, 0.3, 3, 10	Yes	4.2.3.5.4-2

GLP: Good Laboratory Practice; SD: Sprague-Dawley.
The underlined dose represents the no observed adverse effect level (NOAEL).
[a]: Compliant with GLP except dosing formulation analysis and bioanalysis of plasma samples; the formulation stability was not obtained at concentrations of 4 to 50 mg/mL.
[b]: NOAEL for embryofetal development.
[c]: NOAEL for dams general toxicity and reproduction.

2.6.7.3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

2.6.7.3.A. トキシコキネティクス試験成績（キザルチニブ）の一覧

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Analyte: Quizartinib

Study	Test System	Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	Cmax (ng/mL)				AUC_{0-t} (ng·h/mL)				Attachment Number
				Males		Females		Males		Females		
				Day1	Steady state [e]	Day1	Steady state [e]	Day1	Steady state [e]	Day1	Steady state [e]	
Single-dose toxicity	Dog/Beagle	150	Single	5.32 μM	NA	10.1 μM	NA	NC	NA	NC	NA	4.2.3.1-2 (Phase 2)
Repeat-dose toxicity	Rat/SD	5	28 days	487	615	594	591	7300	7920	8170	8340	4.2.3.2-1
		15		2420	2340	2210	2870	30,000	39,600	29,500	43,000	
		60/30 [a]		6710	NA	8620	NA	123,000	NA	165,000	NA	
Repeat-dose toxicity	Rat/SD	1	13 weeks	73.3	179	116	236	1090	2840	1490	3140	4.2.3.2-2
		3		296	730	374	908	4360	11,700	4830	12,500	
		10		1360	3650	1780	4610	20,700	65,400	25,500	85,800	
Repeat-dose toxicity	Dog/Beagle	200	2 days	7.07 μM	NA	11.7 μM	NA	NC	NA	NC	NA	4.2.3.1-2 (Phase 3)
		250	4 days	NA	14.0 μM	NA	7.92 μM	NA	NC	NA	NC	
Repeat-dose toxicity	Dog/Beagle	10 [b]	28 days	229	NA	439	NA	1740	NA	2700	NA	4.2.3.2-3
		5 [b]		NA	95.7	NA	159	NA	574	NA	699	
		50 [b]		1890	NA	1620	NA	18,600	NA	16,700	NA	
		25 [b]		NA	774	NA	805	NA	4580	NA	3590	
		150 [b]		5480	NA	5630	NA	83,600	NA	62,500	NA	
		40 [b]		NA	1950	NA	2760	NA	9990	NA	18,100	
Repeat-dose toxicity	Dog/Beagle	1	13 weeks	97.3	86.4	104	69.0	697	769	801	834	4.2.3.2-4
		5		569	453	546	387	4520	4480	3850	3380	
		15		2440	807	2370	1240	17,300	9470	17,700	13,200	
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus Monkey	200	5 days	4.19 μM	5.09 μM	3.34 μM	5.59 μM	74.5 μM·h	84.9 μM·h	40.6 μM·h	103 μM·h	4.2.3.1-3
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus Monkey	30	14 days	890	1180	286	610	10,700	13,300	3160	6290	4.2.3.2-5
		100		1700	1150	1090	2310	14,400	20,800	9700	27,200	
		200		1290	ND	2320	1160	16,800	ND	25,700	21,500	
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus Monkey	10	28 days	182	402	180	365	1420	2870	1130	2600	4.2.3.2-6
		30		490	811	469	885	3790	9210	4330	8880	
		100 [c]		819	NA	1030	NA	7470	NA	9810	NA	
		60 [c]		NA	1420	NA	1660	NA	19,000	NA	21,400	

Study	Test System	Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	Cmax (ng/mL)				AUC_{0-t} (ng·h/mL)				Attachment Number
				Males		Females		Males		Females		
				Day1	Steady state [e]	Day1	Steady state [e]	Day1	Steady state [e]	Day1	Steady state [e]	
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus Monkey	3	13 weeks	40.8	102	71.8	123	278	836	332	618	4.2.3.2-7
		10 [d]		191	NA	220	NA	1660	NA	1570	NA	
		6 [d]		58.3	305	43.5	296	628	4060	364	2440	
		30 [d]		274	NA	291	NA	4630	NA	3650	NA	
		12 [d]		131	340	158	618	1580	4280	1600	8140	
Definitive Embryofetal developmental toxicity	Rat/SD	0.6	12 days	NA	NA	56.3	64.5	NA	NA	726	993	4.2.3.5.2-2
		2				224	294			3290	4390	
		6				1160	1770			17,200	28,000	
Juvenile Toxicity (Dose range-finding)	Rat/SD	0.3	19 days	46.5	22.8	50.3	18.6	695	138	653	127	4.2.3.5.4-1
		1		119	115	137	96.0	2200	1310	2320	1210	
		3		523	306	381	351	7950	3910	6290	3860	
Definitive Juvenile Toxicity	Rat/SD	0.3	61 days	33.8	42.0	29.0	46.7	509	566	554	607	4.2.3.5.4-2
		3		340	604	386	672	6970	7910	7230	8990	
		10		1630	ND	1490	ND	30,300	ND	29,400	ND	

AUC_{0-t}: Area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time; Cmax: Maximum plasma concentration; NA: Not applicable; NC: Not calculated; ND: No data due to animal death; SD: Sprague-Dawley; Tmax: Time to reach maximum plasma concentration

[a]: A dose of 60 mg/kg/day was administered for 3 to 5 days. Because of observed toxicity, the highest dose was reduced to 30 mg/kg/day from Days 5 to 7 following a 2-day observation period.

[b]: Due to severe adverse effects observed in the 50 and 150 mg/kg/day group for up to Day 9, the dose levels of 10, 50, or 150 mg/kg/day reduced to 5, 25, or 40 mg/kg/day, respectively following at least 2 days observation period.

[c]: Due to the death of two animals (one male found dead on Day 11 and one female found dead on Day 16), the high dose was reduced to 60 mg/kg/day, following a 5-day observation period from Day 16.

[d]: Due to the severe adverse clinical signs, the dose levels in the mid or high–dose groups were reduced to 6 or 12 mg/kg/day, respectively. TK parameters for the middle dose (6 mg/kg/day) were calculated on Day 1 (the corresponding Day 48 for males and Day 46 for females) and Day 45 (the corresponding Day 91), for the highest dose (12 mg/kg/day) were calculated on Day 1 (the corresponding Day 43 for males and Day 42 for females) and Day 17 (the corresponding Day 60 for males and Day 59 for females) after starting the revised dose.

[e]: In the 13-week study, TK analysis was done on Day 86, Day 90, or Day 91 in rats, dogs, or monkeys, respectively. In the embryofetal developmental toxicity study, TK analysis was done on Day 17 of gestation. In the juvenile toxicity study, TK analysis was done on PND 28 in the dose range-finding study and on PND 70 in the definitive study. In other studies, TK evaluation was conducted on the final dosing day.

2.6.7.3.B. トキシコキネティクス試験成績（AC886）の一覧

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Analyte: AC886

Study	Test System	Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	Cmax (ng/mL)				AUC_{0-t} (ng·h/mL)				Attachment Number
				Males		Females		Males		Females		
				Day1	Steady state [c]	Day1	Steady state [c]	Day1	Steady state [c]	Day1	Steady state [c]	
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus Monkey	200	5 days	4.96 µM	4.74 µM	4.10 µM	6.70 µM	81.3 µM·h	99.0 µM·h	67.2 µM·h	129 µM·h	4.2.3.1-3
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus Monkey	30	14 days	1720	1860	1400	1350	29,200	30,300	19,200	23,300	4.2.3.2-5
		100		2670	2880	2910	3210	46,000	48,000	40,400	58,500	
		200		2740	ND	4120	2550	44,200	ND	58,100	51,400	
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus Monkey	10	28 days	763	853	843	809	9040	11,400	9000	10,300	4.2.3.2-6
		30		1550	1510	1990	1800	18,000	23,200	26,200	27,400	
		100 [a]		1950	NA	3060	NA	24,400	NA	38,500	NA	
		60 [a]		NA	2140	NA	2450	NA	39,700	NA	44,800	
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus Monkey	3	13 weeks	177	347	334	386	2290	5010	3540	4950	4.2.3.2-7
		10 [b]		659	NA	794	NA	10,700	NA	10,800	NA	
		6 [b]		331	656	219	657	4580	11,300	3150	10,100	
		30 [b]		1410	NA	1530	NA	25,900	NA	25,200	NA	
		12 [b]		610	1260	808	1320	9510	24,000	11,000	25,400	
Definitive Embryofetal developmental toxicity	Rat/SD	0.6	12 days	NA	NA	43.9	49.5	NA	NA	601	741	4.2.3.5.2-2
		2				172	202			2550	2710	
		6				478	551			7160	9070	
Juvenile Toxicity (Dose range-finding)	Rat/SD	0.3	19 days	26.4	18.7	24.6	12.3	395	102	400	78.7	4.2.3.5.4-1
		1		161	65.2	158	56.9	2130	837	2190	783	
		3		319	181	382	228	4460	2620	5090	2510	
Definitive Juvenile Toxicity	Rat/SD	0.3	61 days	20.4	21.0	31.0	26.2	264	307	471	364	4.2.3.5.4-2
		3		433	338	449	323	5920	4900	6110	4390	
		10		1380	ND	1210	ND	18,500	ND	16,900	ND	

AUC_{0-t}: Area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time; Cmax: Maximum plasma concentration; NA: Not applicable; ND: No data due to animal death; SD: Sprague-Dawley; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations

[a]: Due to the death of two animals (one male found dead on Day 11 and one female found dead on Day 16), the high dose was reduced to 60 mg/kg/day, following a 5-day observation period from Day 16.

[b]: Due to the severe adverse clinical signs, the dose levels in the mid or high–dose groups were reduced to 6 or 12 mg/kg/day, respectively. TK parameters for the middle dose (6 mg/kg/day) were calculated on Day 1 (the corresponding Day 48 for males and Day 46 for females) and Day 45 (the corresponding Day 91), for the highest dose (12 mg/kg/day) were

calculated on Day 1 (the corresponding Day 43 for males and Day 42 for females) and Day 17 (the corresponding Day 60 for males and Day 59 for females) after starting the revised dose.

[c]: TK evaluation was conducted on Day 14, Day 28, or Day 91 in the monkey 14-day, 28-day, or 13-week study, respectively. In the embryofetal developmental toxicity study, TK evaluation was conducted on Day 17 of gestation. In the juvenile toxicity study, TK evaluation was conducted on PND 28 in the dose range-finding study and on PND 70 in the definitive study.

2.6.7.4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Batch No.	Assay (%)	Impurities (HPLC, area %)			Attachment Number	Type of Study
		Unknown	Known [redacted] F*	Total		
PROPOSED SPECIFICATION	[redacted] to [redacted]	NMT [redacted], report all ≥ [redacted]	NMT [redacted], report all ≥ [redacted]	NMT [redacted]		
767-56-2[a]	98.2[c]	0.32 (RRT = 0.47), 0.13 (RRT = 0.58) 1.20 (RRT = 0.76)	ND	1.8	4.2.3.1-2	Maximum Tolerated Dose (MTD) and 7-Day Repeat Dose Toxicity in Dogs
					4.2.3.2-3	28-Day Repeated Toxicity Study in Dogs
					4.2.3.1-1	Escalating Dose Tolerance and a 7-Day Repeated Dose Toxicity in Rats
					4.2.3.2-1	28-Day Repeated Toxicity in Rats
					4.2.3.3.1-1	Bacterial Reverse Mutation
					4.2.3.3.1-3	Chromosome Aberration
08-12934-1s[a]	ND	0.44 (RRT = 0.21), 0.10 (RRT = 0.33) 0.09 (RRT = 0.74), 0.25 (RRT = 0.76) 0.12 (RRT = 0.94), 0.19 (RRT = 1.04) 0.12 (RRT = 1.10), 0.10 (RRT = 1.12)	ND	1.4	4.2.3.2-6	28-Day Repeated Toxicity in Monkeys
					4.2.3.5.2-1	Range-Finding Teratology Study in Rats
					4.2.3.5.2-2	Embryofetal Development Toxicity in Rats
					4.2.3.3.2-1	Rat Micronucleus Test
01AMB04-01-36B[a]	101.1	No impurities ≥ 0.05	No impurities ≥ 0.05	<0.05	4.2.3.2-7	13-Week Repeated Toxicity in Monkeys
AC010220.010.000.000[b]	97.5	0.40 (RRT = 0.18), 0.14 (RRT = 0.40) 0.03 (RRT = 0.60), 0.04 (RRT = 0.73)	1.40	2.01	4.2.3.1-3	Single-Dose and 5-Day Repeated Toxicity in Monkeys
					4.2.3.2-5	14-Day Repeated Toxicity in Monkeys

N/A: Not applicable; ND: Not determined.
[a]: The test materials were characterized using GMP-compliant analytical methods. For consistency, the data are referred from batch analysis in Module 3.2.S, Table 3.2.S.4.4.
[b]: The test material was used only for non-GLP compliant studies.
[c]: Assay was not performed for this batch. This is the HPLC purity value.

Batch No.	Assay (%)	Impurities (HPLC, area %)			Attachment Number	Type of Study
		Unknown	Known [redacted] F*	Total		
PROPOSED SPECIFICATION	[redacted] to [redacted]	NMT [redacted], report all ≥ [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]		
CMLW-318/06-AC4[a]	99.9	0.12 (RRT = 0.18), 0.05 (RRT = 0.59) 0.03 (RRT = 0.80), 0.05 (RRT = 0.83)	0.79	1.1	4.2.3.2-2	90-Day Repeated Toxicity in Rats
					4.2.3.2-4	90-Day Repeated Toxicity in Dogs
CMLW-318/06-AC4 (18-month retest)[a]	98.9	0.13 (RRT = 0.18), 0.05 (RRT = 0.59) 0.04 (RRT = 0.83)	0.72	0.95	4.2.3.3.1-2	Mammalian Cell Mutation
					4.2.3.3.2-1	Rat Micronucleus Test
					4.2.3.2-5	14-Day Repeated Toxicity in Monkeys

N/A: Not applicable; ND: Not determined.
[a]: The test materials were characterized using GLP-compliant analytical methods.

Batch No.	Assay (%)	Impurities (HPLC, area %)							Attachment Number	Type of Study
		Unspecified	Specified E*	Specified F*	Specified D*	Specified C*	Specified B*	Total		
PROPOSED SPECIFICATION	[redacted] to [redacted]	NMT [redacted], report all ≥ [redacted]%	NMT [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]		
HQ00001[a, b]	99.1	0.05 (RRT = 1.13)	ND	ND	ND	ND	0.04	0.1	4.2.3.7.7-1	3T3 NRU Phototoxicity
									4.2.3.5.4-1	Dose Range-Finding Repeated Toxicity in Juvenile Rats
									4.2.3.5.4-2	9-Week Repeated Toxicity in Juvenile Rats
HQ00005[a, b]	98.6	0.05 (RRT = 1.13)	0.23	ND	0.09	ND	0.06	0.55	4.2.3.7.1-1	Antigenicity
									4.2.3.7.7-2	Ocular irritation
									4.2.3.7.7-3	Skin irritation
									4.2.3.7.6-1	28-Day Repeated Toxicity with AC220 Impurities in Rats

NA: Not applicable; ND: Not determined.
[a]: The test materials were characterized using GMP-compliant analytical methods. For consistency, the data are referred from batch analysis in Module 3.2.S, Table 3.2.S.4.4.
[b]: HQ00001 (17IT01.HQ00001), HQ00005 (17IT01.HQ00005)

Batch No.	Impurities (%)					Attachment Number	Type of Study
	A*	B*	D*	C*	E*		
PROPOSED SPECIFICATION	N/A	NMT [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]		
TG-612-110[a]	2	2	2	2	2	4.2.3.7.6-1	28-Day Repeated Toxicity with AC220 Impurities in Rats
TG-612-111[a]	5	5	4	5	5	4.2.3.7.6-1	28-Day Repeated Toxicity with AC220 Impurities in Rats

N/A: Not applicable; ND: Not determined.
[a]: The test materials were spiked with impurities and analyzed prior to dosing to verify the level of impurities.

2.6.7.5. 単回投与毒性試験

Species/ Strain	Method of Administration, Vehicle/ Formulation	Doses (mg/kg)	Number per group and Gender	Observed Maximum Non-Lethal dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings (mg/kg)	Attachment Number
Rat/SD	Oral (gavage), 22% HPβCD/Suspension	100, 150, 200, 250, 300	3M 3F	100	M: >300 F: 150	No abnormal findings were noted at 100 mg/kg, except dark feces in one female. Deaths occurred in females at ≥150 mg/kg (one each at 150 and 200 mg/kg and two each at 250 and 300 mg/kg) Decreased physical activity, loose and/or dark feces, blood in urine, partially closed eyes, and skin pale in color prior to death. In males, similar adverse clinical sings were observed, but female rats were more susceptible to the toxicity of quizartinib than male rats in terms of the onset time and the severity of adverse clinical signs. MTD: 100	4.2.3.1-1 (Phase 1)
Dog/Beagle	Oral (gavage), 10 or 22% HPβCD [a]/Suspension	10, 20, 40, 80, 100, or 200 (Phase 1; escalating dose) 150 (Phase 2; single dose)	1M 1F	200	>200	Phase 1: No mortality or abnormal clinical signs up to 200 mg/kg ≥40: Slight body weight loss in the female Phase 2: 150: Female dog in Phase 2 lost 0.6 kg of body weight between Day −1 and Day 14. No macroscopic findings MTD: >200	4.2.3.1-2 (Phases 1 and 2)
Cynomolgus Monkey	Oral (gavage), 22% HPβCD/Suspension	30, 100, 200, 300, 400	1M 1F	400	>400	30: No abnormal clinical signs ≥100: Presence of white or brown froth or mucoid red material in the tray, decreased appetite and body weight loss (11 to 12%) ≥200: soft, loose or liquid feces Decreased lymphocytes and monocytes in the male and decreased reticulocytes in both male and female were noted at 3 days after the last dosing (400 mg/kg) MTD: 200	4.2.3.1-3 (Phase 1)

F: Female; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M: Male; MTD: Maximum tolerated dose; SD: Sprague-Dawley
[a]: Due to the solubility of test article, 150 and 200 mg/kg dose formulations were prepared with 22% HPβCD.

2.6.7.6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Species/ Strain	Method of Administration, Vehicle/ Formulation	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Number per Group and Gender	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy findings (mg/kg/day)	Attachment Number
Rat/SD	Oral (gavage), 22% HPβCD/Suspension	7 days (4 days [a])	125/100 [a]	5M 5F	ND	Death and moribundity in all animals between Days 3 and 6 Prior to death or moribundity, dark and/or loose feces, decreased physical activity, skin pale in color, cold to touch, and both eyes partially closed, and continuous body weight loss were observed in all animals. Blood in urine was observed in almost animals after they were dosed at 125 mg/kg/day for 2 days. Dark and/or pale discoloration of the kidneys, gastrointestinal tract, liver, pancreas, testes, thymus, mottling of the urinary bladder, dark area/mottling and non-collapsing lungs, small prostate and seminal vesicle were noted at necropsy. MTD: <100	4.2.3.1-1 (Phase 2)
Dog/Beagle	Oral (gavage), 22% HPβCD/Suspension	7 days (6 days [b])	200/250 [b]	2M 2F	ND	200: Vomited material, undigested food and red liquid on the cage tray, and yellow mucoid/wet material in feces 250: Severe clinical signs including decrease in activity, hunched back or lying on the cage floor, marked weight loss and thin body condition associated with decrease in appetite, excessive salivation, severe yellow skin on different parts of the body, and few or no feces; generalized icterus (external and internal tissues and organs appeared yellow) and firm liver lobes	4.2.3.1-2 (Phase 3)
Cynomolgus Monkey	Oral (gavage), 22% HPβCD/Suspension	5 days	200	1M 1F	ND	200: substantial increases in liver enzymes, total bilirubin, creatinine and blood urea, decreases in reticulocytes, monocytes and lymphocytes and minimal hepatocellular vacuolation MTD: 200	4.2.3.1-3 (Phase 2)
Cynomolgus Monkey	Oral (gavage), 22% HPβCD /Suspension	14 days	30, 100, or 200	1M 1F	ND	≥30: Decreased hematological parameters (RBC, HGB, HCT, absolute WBC counts, lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils, and reticulocyte counts); moderate to marked hematopoietic hypocellularity (femur bone marrow) and minimal to moderate lymphoid atrophy/necrosis of the thymus,	4.2.3.2-5

Species/ Strain	Method of Administration, Vehicle/ Formulation	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Number per Group and Gender	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy findings (mg/kg/day)	Attachment Number
						minimal megakaryocyte emperipolesis in the bone marrow and minimal tubular epithelial degeneration in the kidney Abnormal clinical signs including severely decreased appetite and dehydration with body weight loss (6% to 14%), along with soft, loose, and liquid feces at ≥30 mg/kg/day were considered vehicle-related because of no clear correlation to dose level.	

F: Female; HCT: Hematocrit; HGB: Hemoglobin; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M: Male; MTD: Maximum tolerated dose; NA: Not applicable; ND: Not determined; NOAEL: No observed adverse effect level; RBC: Red blood cell; WBC: White blood cell; SD: Sprague-Dawley.

[a]: A dose of 125 mg/kg/day was administered to animals for 2 days, and due to severe clinical signs, all surviving animals were given a 1 day observation without dosing (Day 3) and then received 100 mg/kg/day for 2 days (Days 4 and 5).

[b]: The initial dose of 200 mg/kg/day for 2 days was subsequently increased to 250 mg/kg/day from Day 3 due to an initial lack of clinical signs. Due to the severe toxicity observed, all animals were prematurely terminated after dosing on Day 6.

2.6.7.7. 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.A. ラット 28 日間反復経口投与毒性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: AC010220: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.2-1	
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)			**Duration of Dosing:** 28 days					
Initial Age: 9-10 Weeks			**Duration of Post-dose:** 28 days					
Date of First Dose: [redacted]			**Method of Administration:** Oral gavage					
			Vehicle/Formulation: 22% HPβCD/Suspension				**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: Toxicokinetics analysis was performed on Days 1, 14, 21, and 28 (on Days 14 and 21, analysis was performed in the 5 mg/kg/day group). Blood collection was done prior to dosing and 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, and 24 hours after dosing. The toxicokinetics analysis was also conducted 2 hours and 24 hours after dosing in the surviving males in the 60/30 mg/kg/day before premature euthanization. Bone marrow samples for the micronucleus assay were collected at termination approximately 18 to 24 h after the last dosing (2.6.7.9.B.). All surviving animals in toxicokinetic phase were retained for a 28-day recovery after completion of the treatment period. **No Observed Adverse-Effect Level:** Not determined								
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (vehicle)**		**5**		**15**		**60/30[a]**	
Number of Animals (Number of Animals/time point)	**M: 0 (0)**	**F: 0 (0)**	**M: 10 (3)**	**F: 10 (3)**	**M: 10 (3)**	**F: 10 (3)**	**M: 10 (3)**	**F: 10 (3)**
Toxicokinetics								
Cmax (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	487	594	2420	2210	6710	8620
Day 14	NA	NA	410	517	ND	ND	NA	NA
Day 21	NA	NA	528	552	ND	ND	NA	NA
Day 28	NA	NA	615	591	2340	2870	NA	NA
Tmax (h)								
Day 1	NA	NA	4	4	4	4	6	6
Day 14	NA	NA	4	4	ND	ND	NA	NA
Day 21	NA	NA	4	2	ND	ND	NA	NA
Day 28	NA	NA	4	2	4	4	NA	NA
AUC_{0-t} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	7300	8170	30,000	29,500	12,300	165,000
Day 14	NA	NA	5800	7090	ND	ND	NA	NA
Day 21	NA	NA	7820	8250	ND	ND	NA	NA
Day 28	NA	NA	7920	8340	39,600	43,000	NA	NA
Toxicity Examinations								
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**

Report Title: AC010220: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats							Attachment Number: 4.2.3.2-1	
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	2††	0	0	0	2[b] ††, †††	0	20[b]	20[b]
Body Weight (g) [number of animals examined]								
Day 1 (predose)	366	232	353	227	372	233	361	229
Day 2	363	229	352	225	364	226	349	215*
Day 3	369	232	361	228	373	227	345*	205* [5]
Day 4	373	234	363	228	376	231	337* [5]	NA
Day 5	385 [9]	236	369	232	383	234	321* [5]	NA
Day 6	391 [9]	238	375	236	389	236	318*	NA
Day 7	397 [9]	243	380	237	395	240	313* [9]	NA
Day 8	402 [9]	243	387	240	400	241	311* [8]	NA
Day 11	413 [9]	248	400	246	413	249	309* [4]	NA
Day 15	430 [9]	254	413	253	423	257	NA	NA
Day 18	440 [9]	258	426	258	429	261	NA	NA
Day 22	457 [9]	264	445	262	452	266	NA	NA
Day 25	454 [9]	266	453	266	464	271	NA	NA
Food Consumption (g) [n]								
Day 1 to day 8	224 [9]	151	226	148	217	137*	87*[8]	NA
Day 8 to Day 15	242 [9]	154	233	152	218	154	NA	NA
Day 15 to Day 22	235 [9]	159	236	157	225	150	NA	NA
Day 22 to Day 28	214 [8]	133	202	132	203	134	NA	NA
Clinical Observations								
Blood in urine	0	0	0	0	0	0	0	3
Changes in feces	1	1	0	0	1	1	9	3
Lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	4
Decreased physical activity	1	0	0	0	0	0	6	7
Thin body condition	0	0	0	0	0	0	0	3
Skin pale in color	0	0	0	0	0	0	8	4
Cold to touch	0	0	0	0	0	0	0	3
Both eyes partially closed	1	0	3	0	1	0	5	3
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Day 29[c]) [n]								

Report Title: AC010220: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.2-1	
Red blood cell count (10^{12}/L)	8.05 [8]	7.90 [8]	7.42*	7.41* [7]	5.76* [8]	5.76* [9]	6.00 [3]	NA
Hemoglobin (g/L)	149 [8]	148 [8]	144	143 [7]	124* [8]	121* [9]	122 [3]	
Hematocrit (L/L)	0.43 [8]	0.42 [8]	0.41	0.40 [7]	0.36# [8]	0.35# [9]	0.35 [3]	
Mean corpuscular volume (fL)	53.6 [8]	53.1 [8]	55.7*	54.1 [7]	62.4* [8]	60.4* [9]	58.5 [3]	
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	18.6 [8]	18.8 [8]	19.4*	19.2 [7]	21.5* [8]	21.1* [9]	20.3 [3]	
Reticulocytes (%)	2.80 [8]	2.17 [8]	2.37	2.12 [7]	4.04 [8]	4.34# [9]	2.73 [3]	
Reticulocytes (10^{12}/L)	0.225 [8]	0.172 [8]	0.174#	0.157 [7]	0.225 [8]	0.248* [9]	0.166 [3]	
White blood cell count (10^9/L)	9.11 [8]	6.87 [8]	8.77	7.49 [7]	8.76 [8]	6.43 [9]	3.55 [3]	
Neutrophils (10^9/L)	1.26 [8]	0.90 [8]	0.78	0.42 [7]	0.42# [8]	0.35# [9]	0.48 [3]	
Lymphocytes (10^9/L)	7.27 [8]	5.52 [8]	7.52	6.67 [7]	8.06 [8]	5.89 [9]	2.96 [3]	
Monocytes (10^9/L)	0.38 [8]	0.32 [8]	0.34	0.27 [7]	0.17* [8]	0.12* [9]	0.07 [3]	
Eosinophils (10^9/L)	0.13 [8]	0.08 [8]	0.07#	0.06 [7]	0.04# [8]	0.04* [9]	0.02 [3]	
Red cell morphology[d]	-	-	-	-	↑	↑	↑	NA
Coagulation (Day 29[c])	-	-	-	-	-	-	-	NA
Serum Chemistry (Day 29[c]) [n]								
Alanine aminotransferase (U/L)	54 [8]	60	52	71	62	135[9]	271 [3]	NA
Aspartate aminotransferase (U/L)	153 [8]	151	171	243	209	253 [9]	359 [3]	NA
Alkaline phosphatase (U/L)	134 [8]	82	155	87	162	107* [9]	231 [3]	NA
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	†	NA
Organ Weights (Day 29[c]) [n]								
Absolute ovary weight (g)	NA	0.1098	NA	0.0900*	NA	0.0932*	NA	NA
Relative ovary weight (%)		0.0449		0.0364*		0.0375*		
Relative spleen weight (%)	0.1947 [8]	0.2227	0.1641*	0.1970#	0.1690*	0.2061	0.1261[3]	
Relative testes weight (%)	0.7968 [8]	NA	0.7280	NA	0.6950#	NA	0.9466 [3]	
Absolute thymus weight (g)	0.454 [8]	0.371	0.463	0.360	0.343#	0.286*	0.211 [3]	
Relative thymus weight (%)	0.1014 [8]	0.1517	0.1075	0.1459	0.0782	0.1143*	0.0680 [3]	
Number of Animals	**M:8**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**
Gross Pathology (Scheduled Sacrifice)	-	-	-	-	-	-	NA	NA

Report Title: AC010220: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.2-1	
Histopathology (Scheduled Sacrifice)								
Adrenal, cortical mineralization	0	0	0	0	0	1+	NA	NA
Epididymis, ductal cell debris	0	NA	0	NA	1+	NA		
Epididymis, perivascular cell infiltrate	0	NA	3+	NA	0	NA		
Femoral bone marrow, hypocellularity	0	0	4+	1+	2+/6++/2+++	4+/5++/1+++		
Femoral bone marrow, hypercellularity	0	1+	0	0	0	0		
Heart, focal inflammation	2+	1+	1+/1++	0	5+	1+		
Kidney, calculus	0	0	1+++	0	0	1++		
Kidney, tubular basophilia	1+	0	2+	1+	5+	0		
Kidney, papillary mineralization	0	0	0	0	2+	1+		
Kidney, corticomedullary mineralization	0	6+	0	3+	0	3+		
Kidney, pyelitis	1++	0	1++++	0	0	0		
Kidney, pyelonephritis	0	1++++	0	0	0	1+++		
Kidney, tubular cell vacuolation	1+	1+	1+	0	6+/2++	0		
Kidney, granular cast	0	0	0	0	2+	0		
Kidney, interstitial cell infiltrate	1+	0	0	0	0	0		
Kidney, pelvic infiltrate	1+	0	0	1++	0	0		
Kidney, pelvic dilatation	1+/1++	1++/1+++	1+++	0	1++	1+++		
Kidney, pelvic mineralization	0	1+	1+	0	1+	1+		
Kidney, brown crystal deposition	0	0	0	0	1+	0		
Kidney, urothelial hyperplasia	0	0	0	1+	0	0		
Liver, focal necrosis	0	0	0	0	1+	0		
Liver, extramedullary hematopoiesis	2+	0	0	0	0	0		
Liver, microgranuloma	3+	3+	0	2+	0	0		

Report Title: AC010220: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.2-1	
Lymph node, lymphoid hyperplasia[e]	NA	1++	1++	NA	NA	1+		
Mandibular lymph node, agonal congestion/hemorrhage	1+	1+	0	0	2+	1+		
Mandibular lymph node, sinus erythrocytosis	0	0	1+	0	0	0		
Pancreas, interstitial cell infiltrate	0	0	0	1+	0	0		
Pancreas, acinar cell focal atrophy	1+	0	0	0	2+	0		
Sternal bone marrow, hypocellularity	0	0	8+	7+	5++/5+++	4+/5++/1+++		
Sternal bone marrow, hypercellularity	0	1+	0	0	0	0		
Stomach, mucosal erosion/ulcer	1+	1+	1+	0	0	0		
Thymus, atrophy	0	0	0	0	3+	3+		
Thymus, agonal congestion/hemorrhage	2+	2+	0	1+	0	1+		
Recovery Examinations								
Number of Animals	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F:9†††**	**M: 0**	**F: 0**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	NA	NA	0	0	1††	0	NA	NA
Body Weight	NA	NA	-	-	-	-	NA	NA
Clinical Observations	NA	NA	-	-	-	-	NA	NA
Hematology (Day57) [n]								
Neutrophils ($x10^9$/L)	NA	NA	1.01	0.55 [9]	1.07 [9]	0.51 [9]	NA	NA
Coagulation (Day57)	NA	NA	-	-	-	-	NA	NA
Serum Chemistry (Day57)	NA	NA	-	-	-	-	NA	NA
Urinalysis (Day 57)	NA	NA	-	-	-	-	NA	NA
Organ Weights (Day 57)	NA	NA	-	-	-	-	NA	NA
Gross Pathology (Scheduled Sacrifice)	NA	NA	-	-	-	-	NA	NA
Dead and Moribund Sacrificed Animals								
Toxicity groups								

Report Title: AC010220: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats							Attachment Number: 4.2.3.2-1	
Number of Animals	**M: 2**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 1†††**	**M: 10**	**F:10**
Gross Pathology								
Adrenal, enlarged	1	NA	NA	NA	NA	NA†††	2	1
Adrenal, dark discoloration	1						1	1
Digestive contents, dark material	0						0	1
Digestive contents, clear fluid	0						1	0
Digestive contents, opaque fluid	0						2	2
Digestive contents, pale material	0						7	2
Kidney, dark area	1						0	0
Kidney, dark discoloration	0						3	4
Kidney, dilatation	1						0	0
Kidney, enlargement	1						0	0
Kidney, irregular surface	1						0	0
Kidney, mottled	1						0	0
Kidney, opaque fluid	1						0	0
Kidney, pale area	1						0	0
Kidney, pale discoloration	0						0	3
Kidney, pale focus	1						2	0
Kidney, pale material	2						0	0
Kidney, soft	1						0	0
Liver, adhesion	1						0	0
Liver, dark area	0						1	0
Liver, dark discoloration	1						1	0
Liver, enlargement	1						0	0
Liver, pale area	0						1	0
Liver, pale discoloration	0						1	0
Lymph node, mesenteric, dark discoloration	0						0	2
Lymph node, dark discoloration	0						0	1
Pancreas, pale discoloration	0						1	0

Report Title: AC010220: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.2-1	
Pancreas, dark discoloration	0						1	0
Stomach, dark area	0						1	0
Stomach, dark discoloration	0						1	0
Stomach, dilatation	0						5	1
Stomach, raised area	0						1	0
Small intestine, duodenum, dilatation	0						1	0
Small intestine, duodenum, pale focus	0						1	0
Small intestine, duodenum, dark focus	0						0	1
Small intestine, ileum, dilatation	0						1	0
Small intestine, jejunum, dilatation	0						2	0
Spleen, small	0						3	2
Testis, dark discoloration	0						2	N A
Thymus, small	1						3	0
Histopathology								
Adrenal, cortical hypertrophy	2+	NA	NA	NA	NA	NA†††	9+	4+
Adrenal, cortical vacuolation	0						1+	0
Adrenal, single cell necrosis	0						5+	0
Adrenal, cystic degeneration	0						2+/2++	0
Adrenal, agonal congestion/hemorrhage	1++						0	1+
Epididymis, cell debris, ductal	1+/1++						7+/1++	NA
Epididymis, oligospermia/aspermia	0						3+/1++	NA
Femoral bone marrow, hypercellularity	1+/1++						0	0
Femoral bone marrow, hypocellularity	0						1++/8+++/1+++++	1++
Heart, inflammation, focal	0						8+	3+
Heart, vacuolation, myocardial	0						1+	0

Report Title: AC010220: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.2-1	
Kidney, calculus	1++++						0	0
Kidney, tubular necrosis	0						1+/5++	1+/1++/7+++
Kidney, tubular basophila	0						3+/5++/2+++	0
Kidney, hyaline droplets	0						5+/4++/1+++	1+/2++/7+++
Kidney, corticomedullary mineralization	0						0	3+
Kidney, pyelitis	0						2+	0
Kidney, pyelonephritis	1+++/1++++						0	0
Kidney, tubular cell vacuolation	0						2+/3++/2+++	1+/1++
Kidney, granular cast	0						7+	5+/4++
Kidney, agonal congestion/hemorrhage	0						1+	0
Kidney, eosinophilic crystal deposition	0						0	4+/1++
Kidney, brown crystal deposition	0						2+/2++	0
Liver, single cell necrosis	0						0	2+/6++
Liver, focal necrosis	0						0	1+
Liver, agonal congestion/hemorrhage	1++						1++	0
Mandibular lymph nodes, lymphoid atrophy	1++						2+/1++	1+
Mesenteric lymph nodes, lymphoid atrophy	0						5++	0
Pancreas, decreased zymogen granule	0						2+/1++	3+
Small intestine, duodenum, single cell necrosis	0						1+	0
Small intestine, duodenum, mucosal atrophy	0						2+	0
Small intestine, ileum, Peyer’s patch, atrophy	0						1+	0
Small intestine, ileum, mucosal atrophy	0						1+	0
Small intestine, jejunum, single cell necrosis	0						1+	0

Report Title: AC010220: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.2-1	
Small intestine, jejunum, mucosal atrophy	0						2+	0
Spleen, lymphoid atrophy	1++/1+++						4++/4+++	1+/4++
Sternal bone marrow, hypercellularity	1+/1++						0	0
Sternal bone marrow, hypocellularity	0						1++/7+++/2+++	1++
Stomach, single cell necrosis	0						2+	0
Stomach, mucosal atrophy	0						2+	0
Stomach, mucosal inflammation	0						1++	0
Stomach, hyperkeratosis	0						1+	0
Testis, germ cell degeneration/necrosis	0						3+/1++	NA
Thymus, atrophy	1+++						4++/6+++	3+/2++
Thymus, agonal congestion/hemorrhage	0						1+/1++	1+/1++
Recovery group								
Number of Animals	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 1††**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**
Gross Pathology								
Trachea/esophagus, dark material adhering	NA	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA
Digestive contents, dark					1			
Stomach, dark areas					1			
Thymus, dark areas					1			
Urinary bladder, luminal dilatation					1			

AUC_{0-t}: Area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time (24 h); Cmax: Maximum plasma concentration; F: Female, HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; NA: Not applicable; ND: Not determined; M: Male; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations
-: No toxicologically significant findings; ↑: Increase; +: Minimal; ++: Mild; +++: Moderate; ++++: Severe
†Small to moderate amounts of bilirubin, protein (≥3.0 g/L) and urobilinogen (16 µmol/L) and increased crystals were observed in the urine of prematurely terminated animals at 60/30 mg/kg/day. †† Three animals (2 in the control group and 1 in the 15 mg/kg/day group) were found dead on Days 5, 26, and 42, respectively. The cause of deaths in these animals was not determined. ††† One TK animal in the 15 mg/kg/day group was found dead on Day 28. No histopathology was conducted.
[a]: As a result of morbidity and mortality in the 60 mg/kg/day group, all surviving females had their last dose on June 10 (which corresponded to Days 3 to 5) and were euthanized; all surviving males were not dosed on June 12 but had their dose reduced to 30 mg/kg/day from June 13 (Days 5 to 7) onward.
[b]: The number of died or sacrificed moribund animals includes those in toxicokinetic groups.
[c]: Three male animals in the 60/30 mg/kg/day group were examined on the day of sacrifice moribund (Day 12 or Day 13) and data were excluded from statistics.

[d]: Increased incidence of microcytosis, macrocytosis, anisocytosis and polychromasia.
[e]: One female in the control group, 1 male in the 5 mg/kg/day group, and 1 female in the 15 mg/kg/day group were examined for lymphoid hyperplasia.
* $P \leq 0.05$: Significantly different from control group (Dunnett test).
# $P \leq 0.05$: Significantly different from control group (Dunn test).

2.6.7.7.B. ラット 13 週間反復経口投与毒性試験

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (With a 30 Day Recovery) in the Albino Rat							**Attachment Number: 4.2.3.2-2**	
Species/Strain: Rat/Crl:CD (SD)		**Duration of Dosing:** 90 days						
Initial Age: 8 weeks		**Duration of Post-dose:** 30 days						
Date of First Dose: [redacted]		**Method of Administration:** Oral gavage						
		Vehicle/Formulation: 5% HPβCD/Suspension					**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: Toxicokinetics analysis was performed on Days 1 and 86. Blood collection was done 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, and 24 hours after dosing. **No Observed Adverse-Effect Level:** 3 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (vehicle)**		**1**		**3**		**10**	
Number of Animals (Number of Animals/time point)	**M: 9 (3)**	**F: 9 (3)**	**M: 9 (3)**	**F: 9 (3)**	**M: 9 (3)**	**F: 9 (3)**	**M: 9 (3)**	**F: 9 (3)**
Toxicokinetics:								
Cmax (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	73.3	116	296	374	1360	1780
Day 86			179	236	730	908	3650	4610
Tmax (h)								
Day 1	NA	NA	6	4	4	2	6	6
Day 86			2	4	2	2	4	4
AUC_{0-24} (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	1090	1490	4360	4830	20,700	25,500
Day 86			2840	3140	11,700	12,500	65,400	85,800
Toxicity examinations								
Number of Animals	**M: 15**	**F: 15**	**M: 10**	**F:10**	**M: 10**	**F:10**	**M: 15**	**F:15**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	1[a]
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption(g/animal/day)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (With a 30 Day Recovery) in the Albino Rat							Attachment Number: 4.2.3.2-2	
Hematology [number of animals examined]								
White blood cell count (10^9/L)								
Day 14	10.885	9.686 [14]	11.580 [9]	9.486	10.539 [9]	7.756	9.130 [14]	7.039**
Day 30	10.349 [14]	10.046 [13]	11.436	9.615	12.026	8.021	8.561	6.968*
Neutrophils (10^9/L)								
Day 14	1.177	1.149 [14]	1.176 [9]	0.907	0.708# [9]	0.561	0.436### [14]	0.372###
Day 30	1.019 [14]	1.026 [13]	1.124	0.626	1.142	0.744	0.613	0.379###
Day 92/93	0.975 [10]	0.520 [10]	0.858	0.372	0.607	0.351	0.273### [10]	0.178### [9]
Monocytes (10^9/L)								
Day 14	0.181	0.181 [14]	0.187 [9]	0.147	0.142 [9]	0.130*	0.094### [14]	0.054***
Day 30	0.254 [14]	0.190 [13]	0.253	0.174	0.234	0.134	0.127###	0.063###
Day 92/93	0.226 [10]	0.107 [10]	0.155	0.127	0.189	0.099	0.062*** [10]	0.027*** [9]
Eosinophils (10^9/L)								
Day 14	0.066	0.096 [14]	0.084 [9]	0.080	0.072 [9]	0.072	0.050# [14]	0.042###
Day 30	0.090 [14]	0.079 [13]	0.079	0.083	0.057**	0.069	0.039***	0.039##
Day 92/93	0.133 [10]	0.082 [10]	0.103	0.060	0.069***	0.045*	0.030*** [10]	0.020*** [9]
Basophils (10^9/L)								
Day 30	0.054 [14]	0.041 [13]	0.050	0.036	0.058	0.030	0.028**	0.021**
Day 92/93	0.038 [10]	0.018 [10]	0.019#	0.012	0.029	0.015	0.014### [10]	0.006* [9]
Red blood cell count (10^{12}/L)								
Day 14	8.042	7.700 [14]	7.877 [9]	7.857	7.863 [9]	7.702	7.104### [14]	6.911***
Day 30	8.486 [14]	7.913 [13]	8.381	8.103	8.112*	7.780	6.690***	6.323***
Day 92/93	8.691 [10]	7.450 [10]	8.186	7.290	7.567##	6.773	3.550### [10]	3.440### [9]
Hemoglobin (g/dL)								
Day 14	15.59	15.03 [14]	15.61 [9]	15.21	15.29 [9]	14.95	14.46*** [14]	13.81***
Day 30	15.81 [14]	15.35 [13]	16.08	15.70	15.42	15.35	14.57***	13.73***
Day 92/93	15.39 [10]	14.39 [10]	15.52	14.51	14.90	14.22	10.64### [10]	9.66### [9]
Hematocrit (%)								
Day 14	44.88	42.35 [14]	44.80 [9]	43.06	44.22 [9]	42.53	41.60*** [14]	38.38***
Day 30	45.95 [14]	43.58 [13]	46.24	44.41	44.40	43.06	41.51***	38.95***
Day 92/93	43.75 [10]	39.35 [10]	43.29	39.80	41.77	38.56	29.57### [10]	26.49### [9]
Platelet count (10^9/L)								

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (With a 30 Day Recovery) in the Albino Rat							**Attachment Number: 4.2.3.2-2**	
Day 14	1330.9	1366.3 [14]	1243.3 [9]	1330.1	1225.3 [9]	1209.9	1137.7* [14]	1161.7**
Day 92/93	999.1 [10]	977.5 [10]	1003.1 [9]	961.2	961.4	834.3	1177.4** [10]	1020.4 [9]
Absolute reticulocyte count (10^9/L)								
Day 14	248.47	231.71 [14]	239.27 [9]	210.08	231.70 [9]	162.29**	151.87*** [14]	108.00***
Day 30	200.86 [14]	180.18 [13]	188.95	141.96	166.16*	136.62	148.92***	170.39
Day 92/93	176.82 [10]	139.95 [10]	157.20	140.22	116.77***	115.65*	112.81*** [10]	107.84** [9]
Mean corpuscular volume (fL)								
Day 14	55.85	55.09 [14]	56.90 [9]	54.83	56.28 [9]	55.30	58.65## [14]	55.56
Day 30	54.18 [14]	55.16 [13]	55.20	54.83	54.73	55.47	62.16###	61.76***
Day 92/93	50.36 [10]	52.90 [10]	52.91	54.58	55.23##	57.11#	84.24### [10]	78.31### [9]
Mean corpuscular hemoglobin (pg)								
Day 14	19.39	19.56 [14]	19.83 [9]	19.36	19.46 [9]	19.43	20.43*** [14]	19.98
Day 30	18.66 [14]	19.45 [13]	19.21*	19.39	19.05	19.76	21.82***	21.78***
Day 92/93	17.73 [10]	19.35 [10]	18.98	19.90	19.71##	21.04#	30.34### [10]	28.54### [9]
Red cell volume distribution width (%)								
Day 14	12.73	12.06 [14]	12.73 [9]	11.90	13.36 [9]	12.09	16.07*** [14]	13.64***
Day 30	12.56 [14]	12.28 [13]	12.47	12.61	13.55	13.60#	20.47###	21.01###
Day 92/93	13.39 [10]	12.06 [10]	13.11	12.06	14.33	12.82#	19.20### [10]	16.73### [9]
Mean platelet volume (fL)								
Day 14	7.35	6.66 [14]	7.51 [9]	7.04**	7.71## [9]	7.26***	7.74### [14]	7.69***
Day 30	7.22 [14]	7.51 [13]	7.58**	7.67	6.62***	7.68	8.05***	8.33***
Day 92/93	6.26 [10]	6.36 [10]	6.59	6.49	6.54	6.91*	7.63### [10]	7.56*** [9]
Serum Chemistry								
Urea (mg/dL)								
Day 14	15.82	19.76	16.61	21.41	16.97	20.27	16.33	22.60***
Day 30	15.81	19.62	16.13	20.37	16.33	18.82	16.97	22.75***
Day 92/93	18.19 [10]	17.52 [10]	16.14	18.23	17.90	16.90	22.02** [10]	21.02* [9]
Creatinine (mg/dL)								
Day 14	0.45	0.48	0.44	0.55	0.43	0.55	0.46	0.60***
Day 30	0.43	0.55	0.45	0.55	0.47	0.55	0.48	0.63**
Day 92/93	0.35 [10]	0.35 [10]	0.32	0.39	0.37	0.38	0.43** [10]	0.42 [9]
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (With a 30 Day Recovery) in the Albino Rat							Attachment Number: 4.2.3.2-2	
Organ Weights Relative to Body Weight (%) [n]								
Spleen	0.15488 [10]	0.17969 [10]	0.15020	0.17479	0.12064***	0.14566***	0.12717** [10]	0.15083** [9]
Thymus	0.03295 [10]	0.08250 [10]	0.03794	0.06215*	0.03274	0.04902***	0.01434***[10]	0.02844***[9]
Testis	0.60069 [10]	NA	0.60605	NA	0.56171	NA	0.39036***[10]	NA
Uterus	NA	0.26612[10]	NA	0.28522	NA	0.21556	NA	0.20692 [9]
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Gross Pathology								
Testis								
Area pale	-	NA	-	NA	-	NA	1	NA
Small	-	NA	-	NA	-	NA	3	NA
Soft	-	NA	-	NA	-	NA	1	NA
Epididymis (small)	-	NA	-	NA	-	NA	3	NA
Thymus								
Foci dark	-	-	-	-	-	-	-	1
Small	-	-	-	-	-	-	3	1
Histopathology								
Bone marrow								
Hypocellularity: hematopoietic	-	-	-	-	2+/8++	2+/7++	1+++/5++++ /4+++++	3++/2+++ /5++++
Kidney								
Tubular basophilia	2+	-	2+	-	2+	-	1+/3++/5+++ /1++++	3+/1++
Tubular crystal formation	-	-	-	-	-	-	4+/4++/1+++	-
Renal tubular vacuolation	-	-	-	-	1+	-	1+/1++	-
Tubular dilatation	-	-	1+	-	2+	-	1+/5++	-
Mononuclear cell infiltrates	-	1+	1+	1+	1+	-	5+	1+
Spleen								
Extramedullary hematopoiesis	-	-	-	1+	-	-	6+/3++	2+
Increased pigment deposition	-	1++	2++	4+/3++	1+/4++	2+/5++	1+/3++/6+++	2+/1++/5+++
Thymus								
Lymphoid atrophy/necrosis	-	1+	-	3+	4+/3++	9+	3+/4++/2+++ /1++++	1+/5++/3+++
Testis								

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (With a 30 Day Recovery) in the Albino Rat							Attachment Number: 4.2.3.2-2	
Degeneration/atrophy of seminiferous epithelium	-	NA	-	NA	-	NA	2+/1++/2+++ /1+++++	NA
Epididymis								
Oligo/aspermia	-	NA	-	NA	-	NA	2+++/1+++++	NA
Cellular debris intratubular	-	NA	-	NA	-	NA	1+/1++	NA
Ovary								
Cysts	NA	-	NA	-	NA	1+/4++	NA	1+/5++/2+++
Vagina								
Abnormal/increased epithelial mucification of the mucosa	NA	-	NA	1++	NA	1+++	NA	2+/4++
Recovery Examinations								
Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 5**	**F: 5**
Hematology								
White blood cell count (10^9/L)	9.700	6.876	ND	ND	ND	ND	9.546	4.016
Neutrophil count (10^9/L)	1.186	0.742					1.470	0.400*
Lymphocyte count (10^9/L)	7.988	5.794					7.542	3.436
Eosinophil count (10^9/L)	0.130	0.070					0.104	0.036**
Red blood cell count (10^{12}/L)	8.350	7.634					7.556*	6.500**
Mean corpuscular volume (fL)	50.86	54.24					59.12***	63.26***
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	18.18	19.54					20.54***	22.64***
Red cell volume distribution width (%)	13.82	11.56					18.12**	15.42***
Mean platelet volume (fL)	6.30	6.68					7.10**	6.98
Organ Weights (%)								
Spleen	0.15554	0.18678	ND	ND	ND	ND	0.14691	0.15567**
Thymus	0.02560	0.05259					0.02000	0.04459
Histopathology								
Bone marrow								
Hematopoietic hypocellularity	-	-	ND	ND	ND	ND	5++	2+/2++
Kidney								
Tubular basophilia	3+	-	ND	ND	ND	ND	4++/1+++	3+
Tubular pigment deposits	-	-					4+	-
Tubular dilation	-	-					1+	1+/1++
Tubular crystal formations	-	-					5+	-

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (With a 30 Day Recovery) in the Albino Rat							**Attachment Number: 4.2.3.2-2**	
Spleen								
Increased pigment deposition	-	-	ND	ND	ND	ND	2++	1++
Vagina								
Abnormal/increased epithelial mucification	NA	-	ND	ND	ND	ND	NA	1+/1++/1+++

AUC_{0-24}: Area under the plasma concentration-time curve up to 24 h; Cmax: Maximum plasma concentration; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; NA: Not applicable; ND: Not done; Tmax: Time to reach maximum plasma concentration.
-: No toxicologically significant findings; +: Minimal; ++: Slight; +++: Moderate; ++++: Marked; +++++: Severe.
[n]: if different from number of animals indicated in number of animals line above.
*$P \leq 0.05$, **$P \leq 0.01$, ***$P \leq 0.001$: Significantly different from control group (Dunnett test).
#$P \leq 0.05$, ##$P \leq 0.01$, ###$P \leq 0.001$: Significantly different from control group (Dunn test).
[a] One female at 10 mg/kg/day was found dead on Day 30. The death was concluded to relate to blood sampling procedures, and therefore, treatment-unrelated.

2.6.7.7.C. イヌ 28 日間反復経口投与毒性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Toxicity and Toxicokinetics Study in Beagle Dogs							**Attachment Number: 4.2.3.2-3**	
Species/Strain: Dog/Beagle			**Duration of Dosing:** 28 days					
Initial Age: 5-7 months			**Duration of Post-dose:** NA					
Date of First Dose: Replicate A: [redacted], Replicate B: [redacted], Replicate C: [redacted] [a]			**Method of Administration:** Oral gavage					
			Vehicle/Formulation: 22% HPβCD/Suspension				**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: Toxicokinetics analysis was performed on Days 1 and 28. Blood collection was done 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, and 24 hours after dosing. **No Observed Adverse-Effect Level:** 10/5 mg/kg/day [b]								
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (vehicle)**		**10/5 [b]**		**50/25 [b]**		**150/40 [b]**	
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Toxicokinetics:								
Cmax (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	229	439	1890	1620	5480	5630
Day 28			95.72	159	774	805	1950 [c]	2760
Tmax (h)								
Day 1	NA	NA	2	1	1	4	11	1
Day 28			2	1	1	1	1	2
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h /mL)								
Day 1	NA	NA	1740	2700	18,600	16,700	83,600	62,500
Day 28			574	670	4580	3590	9990[c]	18,100
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1	0
Body Weight (kg)								
Day -1	7.2	7.1	8.2	6.8	7.3	7.2	7.4	6.8
Day 7	7.2	7.4	8.4	6.9	6.9	7.0	6.8	6.3
Day 10	7.3	7.3	8.5	6.9	6.8	6.9	7.3[c]	6.5
Day 28	7.5	7.7	8.6	7.0	7.2	7.1	7.0[c]	6.1*
Food Consumption (g)								
Day -1	247	307	314	256	260	284	287	266
Day 7	256	318	294	280	171	194	180	160*
Day 10	287	340	277	265	205	249	194[c]	188
Day 28	288	348	342	280	266	315	302[c]	175#

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Toxicity and Toxicokinetics Study in Beagle Dogs							Attachment Number: 4.2.3.2-3	
Clinical Observations, Number of animals/Number of days with event [Number of moribund sacrificed animals/Number of days with event]								
Undigested food in cage/tray	1/1	1/1	1/1	2/1-3	3/1-4	2/1-8	3/4-10 [1/4] [c]	3/6-7
Dark feces	1/1	1/1	3/1	2/3	2/1	3/1-4	-	2/1-7
Liquid feces	-	-	1/3	1/2	1/1	-	1/1 [c]	-
Liquid and other feces	3/8-10	2/3-14	3/4-10	3/9-14	3/2-7	3/7-9	2/1-4 [c]	3/2-11
Loose feces	2/2-4	1/2	3/1-2	3/1-3	1/2	1/1	-	1/1
No feces	-	-	-	-	1/1	-	1/2 [1/2] [c]	2/1-6
Material in Cage/Tray								
Dry, beige material in cage/tray	-	-	-	-	-	-	-	1/2
Dry, brown material in cage/tray	-	-	1/1	-	-	-	2/1-2 [1/2] [c]	1/1
Dry, red material in cage/tray	-	-	-	-	-	-	2/1-2 [1/1] [c]	-
Dry, yellow material in cage/tray	-	-	-	-	-	-	-	2/1-2
Froth, beige material in cage/tray	1/1	-	-	-	-	-	-	1/1
Froth, white material in cage/tray	-	2/1-7	2/1-4	2/1	-	2/2	2/1-2 [1/2] [c]	3/1-5
Froth, yellow material in cage/tray	2/1-2	-	1/1	1/3	-	1/1	1/1 [1/1] [c]	2/1-2
Liquid, beige material in cage/tray	-	-	-	-	1/1	-	1/1 [1/1] [c]	1/1
Liquid, brown material in cage/tray	-	1/1	1/2	1/1	-	-	1/1 [1/1] [c]	-
Liquid, clear material in cage/tray	-	1/1	-	1/1	-	-	-	1/1
Liquid, red material in cage/tray	-	-	-	-	1/1	-	1/1 [1/1] [c]	-
Liquid, yellow material in cage/tray	-	-	-	-	-	-	1/1 [c]	2/1-2
Mucoid/wet, beige material in cage/tray	-	-	-	-	-	-	1/1 [c]	-
Material in Feces								
Froth, beige material in feces	3/3-10	3/1-3	3/1-4	3/3-5	3/1-2	3/1-2	1/2 [c]	2/2-4
Froth, yellow material in feces	2/1	2/1	1/1	2/2-3	-	-	-	1/1
Froth, white material in feces	-	-	1/1	2/1	-	-	-	-
Mucoid/wet, beige material in feces	1/1	1/1	1/1	2/1	1/1	1/2	1/1 [c]	1/1
Mucoid/wet, brown material in feces	1/1	-	-	2/1	1/2	1/2	-	2/1-2
Mucoid/wet, green/brown material in feces	-	-	-	1/1	-	-	-	-
Mucoid/wet, red material in feces	-	-	1/1	-	-	-	-	-
Mucoid/wet, yellow material in feces	-	-	-	1/1	-	1/1	-	1/1
Oral-Dental								

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Toxicity and Toxicokinetics Study in Beagle Dogs							**Attachment Number: 4.2.3.2-3**	
Excessive salivation	-	-	-	-	-	-	-	1/1
Physical Condition								
Activity decreased	-	-	-	-	-	-	2/1-4 [1/4] [c]	2/1-2
Cold to touch all limbs	-	-	-	-	-	-	-	1/2
Cold to touch pinna, left	-	-	-	-	-	-	-	1/2
Cold to touch pinna, right	-	-	-	-	-	-	-	1/2
Skin turgor slow	-	-	-	-	-	-	2/1 [1/1] [c]	2/1-2
Thin body condition	-	-	-	2/1-15	1/16	2/15-18	3/4-27 [1/4] [c]	3/2-27
Posture								
Hunched back	-	-	-	-	-	-	-	1/2
Lying on cage floor	-	-	-	-	-	-	1/3 [1/3] [c]	-
Skin								
Yellow on whole body	-	-	-	-	-	-	2/1-3 [1/1] [c]	3/1-22
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Red Blood Cell Count (10^{12}/L)								
Pretreatment	6.31	6.33	6.00	6.76[d]	6.98	6.20	6.26	6.14
Day 7	6.43	6.39	6.09	6.31	6.04	5.49	4.27	4.36*
Day 14	6.40	6.14	5.78	6.10	5.25	4.91*	4.65[c]	4.07*
Day 28	6.68	6.67	5.96	6.61	5.78	5.62*	4.98*[c]	5.07*
Hemoglobin (g/L)								
Pretreatment	129	135	126	147[d]	150	136	133	138
Day 7	132	136	129	136	130	120	89*	96*
Day 14	131	129	123	135	113	106	99*[c]	91*
Day 28	138	142	128	146	125	123	107*[c]	115*
Hematocrit (L/L)								
Pretreatment	0.39	0.41	0.39	0.44[d]	0.45	0.41	0.40	0.41
Day 7	0.39	0.41	0.38	0.40	0.38	0.35	0.26*	0.29*
Day 14	0.39	0.39	0.37	0.40	0.33*	0.32	0.30*[c]	0.28*
Day 28	0.41	0.43	0.38	0.44	0.38	0.37	0.33*[c]	0.35*
Reticulocyte (%)								

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Toxicity and Toxicokinetics Study in Beagle Dogs							Attachment Number: 4.2.3.2-3	
Pretreatment	0.69	0.93	0.87	0.88[d]	0.85	0.55	0.42	0.68
Day 7	0.45	0.69	0.18	0.22*	0.12	0.14*	0.34	0.18*
Day 14	0.46	0.62	0.50	0.50	0.26	0.22	1.19[c]	2.16
Day 28	0.90	0.91	0.59	0.78	0.65	0.49*	0.22[c]	0.42*
Reticulocyte (10^{12}/L)								
Pretreatment	0.043	0.060	0.052	0.059[d]	0.060	0.034	0.026	0.042
Day 7	0.029	0.044	0.010	0.014	0.007*	0.008#	0.012	0.008#
Day 14	0.029	0.038	0.028	0.031	0.014	0.011	0.052[c]	0.079
Day 28	0.059	0.060	0.034	0.052	0.038	0.027	0.011[c]	0.021#
White Blood Cell Count (10^9/L)								
Pretreatment	11.95	10.14	10.63	11.65[d]	9.96	8.46	7.77	12.52
Day 7	9.54	9.85	9.47	8.89	8.21	4.88*	5.85	5.82*
Day 14	10.18	8.34	10.78	8.31	6.40	4.32*	4.06*[c]	4.56*
Day 28	8.74	9.49	8.12	8.93	8.44	6.68	4.19[c]	5.74
Neutrophil (10^9/L)								
Pretreatment	7.09	6.44	7.02	6.74[d]	5.76	5.48	4.75	8.46
Day 7	5.12	5.83	6.09	5.24	5.14	2.95*	4.18	3.76*
Day 14	5.62	4.70	7.10	4.93	3.26	2.22*	2.24[c]	2.79*
Day 28	4.55	5.40	4.95	5.19	4.88	4.10	2.37[c]	3.42
Lymphocyte (10^9/L)								
Pretreatment	3.76	2.83	2.42	3.84[d]	3.26	2.18	2.27	2.68
Day 7	3.38	3.00	2.31	2.69	2.52	1.58	1.30	1.74
Day 14	3.52	2.87	2.44	2.48	2.59	1.77	1.55[c]	1.34
Day 28	3.32	3.12	2.22	2.71	2.63	2.01	1.49[c]	1.77
Monocyte (10^9/L)								
Pretreatment	0.88	0.65	0.82	0.75[d]	0.66	0.60	0.56	1.11
Day 7	0.80	0.62	0.75	0.65	0.28*	0.16*	0.21*	0.21*
Day 14	0.81	0.48	0.94	0.71	0.37	0.21	0.20*[c]	0.31
Day 28	0.64	0.62	0.64	0.71	0.70	0.43	0.28*[c]	0.42
Eosinophil (10^9/L)								
Pretreatment	0.13	0.16	0.32	0.15[d]	0.16	0.13	0.13	0.17
Day 7	0.12	0.33	0.27	0.20	0.19	0.13	0.12	0.07

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Toxicity and Toxicokinetics Study in Beagle Dogs							Attachment Number: 4.2.3.2-3	
Day 14	0.14	0.23	0.23	0.10	0.13	0.09	0.05[c]	0.07
Day 28	0.12	0.26	0.27*	0.19	0.17	0.08	0.04[c]	0.08
Basophil (10^9/L)								
Pretreatment	0.07	0.05	0.04	0.13[d]	0.08	0.05	0.05	0.07
Day 7	0.07	0.05	0.03	0.08	0.05	0.04	0.03	0.01
Day 14	0.06	0.05	0.04	0.07	0.03	0.02	0.01[c]	0.02
Day 28	0.07	0.05	0.03	0.09	0.05	0.04	0.02[c]	0.02
Large Unstained Cells (10^9/L)								
Pretreatment	0.03	0.02	0.02	0.04[d]	0.03	0.02	0.02	0.03
Day 7	0.04	0.02	0.02	0.04*	0.03	0.02	0.01*	0.01
Day 14	0.03	0.02	0.03	0.03	0.02	0.01	0.01[c]	0.02
Day 28	0.03	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01[c]	0.02
Anisocytosis, (n, severity) [e]								
Pretreatment	2++	-	-	-	1++	-	-	-
Day 7	1++	-	1++	-	-	-	1++/1+++	-
Day 14	1++	-	1++	-	-	-	1+++[c]	1++
Day 28	1++	-	-	-	-	-	1++[c]	1++
Macrocytosis, (n, severity) [e]								
Pretreatment	2++	-	-	-	1++	-	-	-
Day 7	-	-	-	-	-	-	-	-
Day 14	-	-	-	-	-	-	1+++[c]	1++
Day 28	1++	-	-	-	-	-	-[c]	-
Platelet Clump, (n, severity) [e]								
Pretreatment	-	1++	-	-	-	-	-	-
Day 7	-	-	-	-	-	-	-	1++
Day 14	-	-	-	-	-	-	-[c]	-
Day 28	-	-	1++	1+++	-	-	-[c]	-
Large Platelet, (n, severity) [e]								
Pretreatment	-	-	1++	-	-	-	-	-
Day 7	2++	-	-	-	1++	-	2++[f]	1++/1+++
Day 14	2++	1++	1++	1++	2+++	2++	1++/1+++[c]	2++/1 +++
Day 28	-	-	-	-	1++	-	-[c]	1++

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Toxicity and Toxicokinetics Study in Beagle Dogs							**Attachment Number: 4.2.3.2-3**	
Serum Chemistry [number with icterus]								
Alkaline phosphatase (U/L)								
Pretreatment	102	111	104	114	99	101	98	101
Day 7	88	88	87	108	216	330 [1]	370# [3]	403 [2]
Day 14	90	86	128	97	265	354	371*[c]	767
Day 28	91	89	115	99	190	210	365*[c]	508# [2]
Alanine aminotransferase (U/L)								
Pretreatment	30	33	31	26	34	32	30	29
Day 7	40	41	28	32	827*	508* [1]	683* [3]	669* [2]
Day 14	42	42	27	32	513	371*	479[c]	517*
Day 28	54	48	36	34	307	225	530[c]	439 [2]
Aspartate aminotransferase (U/L)								
Pretreatment	32	33	41	35	38	29	32	32
Day 7	39	43	39	35	111	86[1]	145[3]	216[2]
Day 14	33	37	43	35	79*	67	83*[c]	100
Day 28	30	33	34	27	54	47	76*[c]	92[2]
Total bilirubin (µmol/L)								
Pretreatment	BLOD	BLOD	BLOD	BLOD	BLOD	BLOD	BLOD	BLOD
Day 7	1.9[g]	2.0[g]	1.9[h]	BLOD	11.3	6.9[1]	121.9[3]	75.3[2]
Day 14	1.8[h]	BLOD	BLOD	BLOD	4.3	3.0	10.3[c]	13.3
Day 28	BLOD	2.3[h]	BLOD	BLOD	2.2[g]	2.1[h]	4.9[c]	7.5 [2]
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 2[c]**	**F: 3**
Organ Weights								
Thymus								
Absolute (g)	5.26	6.45	5.16	6.10	2.50	3.84	1.11	2.80
Relative to Body Weight (%)	0.0693	0.0832	0.0571	0.0854	0.0312	0.0525	0.0156	0.0435
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 2[c]**	**F: 3**
Gross Pathology (n)								
Liver								
Pale area	-	-	-	-	-	1	-	-
Pale discoloration	-	-	-	-	3	-	2	1

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Toxicity and Toxicokinetics Study in Beagle Dogs							**Attachment Number: 4.2.3.2-3**	
Thymus								
Small	-	-	-	-	2	-	2	1
Whole body								
Pale/yellow discoloration	-	-	-	-	-	-	1	2
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 2[c]**	**F: 3**
Histopathology, severity (n, severity of finding)								
Adrenal								
Cortical hypertrophy	-	-	-	-	2+/1++	1++	1+/1++	1++
Femur and marrow								
Hypocellular marrow	-	-	-	-	2+/1++	-	1+/1++	1+
Kidney								
Tubular dilatation	-	-	-	-	1+	-	-	-
Tubular basophilia	-	-	-	-	1+	-	1+	2+/1++
Tubular pigment	-	-	-	-	-	-	-	1+
Focal fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	1+
Single cell necrosis	-	-	-	-	2+	-	1+	1+
Liver								
Crystal deposition	-	-	-	-	1+++/2++++	3+++	2++++	3++++
Hepatocellular vacuolation	-	-	-	-	1++	2+/1++	1++	1+/2++
Spleen								
Lymphoid atrophy	-	-	-	-	1++	2+	2++	1+/2++
Sternum and marrow								
Hypocellular marrow	-	-	-	-	2+/1++	-	1+/1++	1+
Thymus								
Lymphoid atrophy	-	-	-	-	1+++/1++++	2+/1++	1++/1+++	2+++

AUC_{0-t}: Area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time (8 h or 24 h); BLOD: Below level of detection; Cmax: Maximum plasma concentration; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; HPF: high power field; NA: Not Applicable; ND: Not done; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations.
-: No noteworthy findings; +: minimal; ++: mild (slight); +++: moderate; ++++: severe.
* $P \leq 0.05$: Significantly different from control group (Dunnett test).
# $P \leq 0.05$: Significantly different from control group (Dunn test).
[a] Animals for each dose group were assigned to 3 different replicates (A, B, and C) for logistical reasons. Replicates were dosed and euthanized on different dates.
[b] As a result of severe adverse effects observed in animals dosed with quizartinib 50 and 150 mg/kg/day for up to 9 days, dose levels of animals treated with AC220 10, 50 and 150 mg/kg/day were reduced to 5, 25 and 40 mg/kg/day, respectively. The reduced dose levels were used starting from June 15, 2006 (Days 10, 9 and 7 for replicate A, B and C animals, respectively) until the last dosing day (Day 28). In addition, most animals that were in the 150 mg/kg/day dose group were not dosed for at least 2 days (on June 13 and 14, 2006).

[c] One male animal from the quizartinib 150/40 mg/kg/day dose group was euthanized on Day 8 as a result of a poor and deteriorating condition. Data from after day 8 is from 2 animals.
[d] Analysis performed twice for one female in the quizartinib 10/5 mg/kg/day dose group due to high values on first analysis, second analysis is being reported first analysis is kept in raw data.
[e] +: present (<2 cells/HPF); ++: slight (2 to 10 cells/HPF); +++: moderate (11 to 20 cells/HPF); ++++: severe (>20 cells/HPF).
[f] Severity of large platelet finding not indicated for one male treated with 150/40 mg/kg/day on Day 7.
[g] One value is below the level of detection and is excluded from statistics.
[h] Two values are below the level of detection and are excluded from statistics.

2.6.7.7.D. イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (with a 30 Day Recovery) in the Beagle Dog							**Attachment Number:** 4.2.3.2-4	
Species/Strain: Dog/Beagle			**Duration of Dosing:** 90 Days					
Initial Age: 7 to 8 months			**Duration of Post-dose:** 30 Days					
Date of First Dose: [redacted]			**Method of Administration:** Oral gavage					
			Vehicle/Formulation: 5% HPβCD/Suspension				**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: Toxicokinetics analysis was performed on Days 1 and 90. Blood collection was done 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, and 24 hours after dosing. **No Observed Adverse-Effect Level:** 5 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (control)**		**1**		**5**		**15**	
Number of Animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6**	**F: 6**
Toxicokinetics								
Number of Animals	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
Cmax (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	97.3	104	569	546	2440	2370
Day 90	NA	NA	86.4	69.0	453	387	807	1240
Tmax (h)								
Day 1	NA	NA	1	1	1	1	2	2
Day 90	NA	NA	2	3	2	2	4	5
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	697	801	4520	3850	17,300	17,700
Day 90	NA	NA	769	834	4480	3380	9470	13,200
Number of Animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6**	**F: 6**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (kg)								
Week -1	8.83	6.85	9.08	6.88	8.53	6.53	8.93	6.93
Week 7	9.73	7.83	9.90	7.68	8.75**	7.20	8.93*	7.43
Week 8	9.85	7.97	9.93	7.90	8.83*	7.43	8.90*	7.55
Week 9	9.85	7.93	10.08	7.75	8.80*	7.35	8.88*	7.50
Week 10	9.92	8.10	10.20	8.00	8.63**	7.53	8.97*	7.63
Week 11	9.98	8.08	10.30	7.95	9.00*	7.50	9.00*	7.60
Week 12	10.15	8.22	10.48	8.05	9.30	7.63	9.13#	7.73

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (with a 30 Day Recovery) in the Beagle Dog							Attachment Number: 4.2.3.2-4	
Week 13	9.75	7.98	10.08	7.83	8.85#	7.50	8.88#	7.65
Body Weight Gain								
Absolute Gain (kg) Weeks -1 to 13	0.92	1.13	1.00	0.95	0.33	0.98	−0.05*	0.72
% Gain (%) Weeks -1 to 13	10.633	16.566	11.148	13.963	3.767	14.980	−0.562*	10.560
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations (number of animals showing the finding)								
Skin pallor	0	0	0	0	1	1	6	6
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
White blood cell count (10^9/L)								
Pretreatment	10.388	10.700	11.560	8.263	10.355	9.350	10.397	11.545
Week 2	9.055	9.147	8.928	7.935	8.303	7.973	6.208**	6.292##
Week 4	10.400	10.407	8.895	7.498	8.038	8.848	7.242*	6.482#
Week 13	9.613	9.732	9.758	8.973	11.043	8.980	7.208*	7.805
Neutrophils (10^9/L)								
Pretreatment	5.812	6.273	7.280	4.195	5.878	5.488	6.220	7.200
Week 2	4.920	5.403	5.438	4.170	4.648	4.290	3.273	3.300***
Week 4	5.920	6.257	5.188	3.940*	4.345	5.153	3.740	3.263**
Week 13	5.297	5.550	6.238	4.675	7.045	5.458	4.027	4.078*
Lymphocytes (10^9/L)								
Pretreatment	3.395	3.448	3.300	3.298	3.213	2.978	3.097	3.383
Week 2	3.143	3.003	2.745	3.128	2.730	2.920	2.305*	2.558
Week 4	3.317	3.207	2.965	2.915	2.833	2.993	2.770	2.707
Week 13	3.322	3.450	2.798	3.575	3.105	2.880	2.588	3.102
Monocytes (10^9/L)								
Pretreatment	0.707	0.533	0.700	0.513	0.628	0.588	0.610	0.582
Week 2	0.613	0.448	0.488	0.410	0.565	0.520	0.338*	0.268**
Week 4	0.698	0.573	0.470	0.418	0.440	0.473	0.472	0.352
Week 13	0.600	0.412	0.498	0.458	0.518	0.440	0.410	0.447
Eosinophils (10^9/L)								
Pretreatment	0.265	0.180	0.133	0.105	0.445	0.115	0.308	0.205

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (with a 30 Day Recovery) in the Beagle Dog							Attachment Number: 4.2.3.2-4	
Week 2	0.242	0.153	0.158	0.085	0.225	0.128	0.210	0.078
Week 4	0.290	0.187	0.165	0.080*	0.250	0.105	0.180	0.092*
Week 13	0.207	0.170	0.133	0.098	0.238	0.090	0.112	0.098
Basophils (10^9/L)								
Pretreatment	0.135	0.187	0.110	0.098	0.118	0.138	0.107	0.110
Week 2	0.088	0.090	0.068	0.093	0.085	0.073	0.053	0.053#
Week 4	0.117	0.128	0.080	0.100	0.130	0.085	0.047**	0.042***
Week 13	0.102	0.080	0.060*	0.093	0.070	0.060	0.038***	0.045*
Large Unstained Cells (10^9/L)								
Pretreatment	0.072	0.078	0.043	0.060	0.075	0.050	0.055	0.063
Week 2	0.050	0.050	0.028	0.048	0.053	0.045	0.027*	0.033
Week 4	0.055	0.057	0.038	0.043	0.043	0.043	0.035	0.032
Week 13	0.087	0.075	0.038*	0.078	0.068	0.050	0.035**	0.033**
Red blood cell count (10^{12}/L)								
Pretreatment	6.202	6.392	6.145	6.110	6.330	6.503	5.972	5.907
Week 2	6.255	6.035	6.455	6.403	6.238	5.575	5.612	5.793
Week 4	6.533	6.240	6.135	6.323	7.693	6.170	5.067*	5.378
Week 13	6.847	6.377	6.605	6.498	6.258	6.115	5.282***	5.800
Hemoglobin (g/dL)								
Pretreatment	14.32	14.58	14.23	13.80	14.48	15.03	13.83	13.40
Week 2	14.18	13.70	14.88	14.13	14.18	12.70	12.97	12.90
Week 4	14.72	14.02	14.10	14.00	17.13	14.10	11.73*	12.05
Week 13	15.98	15.03	15.70	15.00	14.75	14.68	12.88##	13.62
Hematocrit (%)								
Pretreatment	40.08	41.20	40.40	38.80	40.65	42.33	38.98	37.45
Week 2	40.15	38.42	42.00	40.30	39.83	35.90	36.32	36.17
Week 4	42.27	40.17	40.35	40.23	49.75	40.75	33.37*	34.23
Week 13	44.95	41.40	43.78	41.98	41.25	41.13	36.48***	38.73
Reticulocytes (10^9/L)								
Pretreatment	69.62	73.50	71.30	89.88	51.88	60.18	52.30	72.15
Week 2	55.82	52.67	51.85	61.38	31.48	24.38**	11.72##	12.43***
Week 4	68.57	53.03	43.80	58.98	65.58	58.90	35.45##	44.52

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (with a 30 Day Recovery) in the Beagle Dog							**Attachment Number: 4.2.3.2-4**	
Week 13	47.40	36.72	38.78	55.10*	38.05	32.15	45.35	33.22
Reticulocytes (%)								
Pretreatment	1.12	1.13	1.15	1.50	0.80	0.93	0.88	1.22
Week 2	0.87	0.87	0.80	0.98	0.50*	0.45*	0.20***	0.22***
Week 4	1.08	0.82	0.70	0.95	0.90	0.98	0.72	0.83
Week 13	0.70	0.57	0.58	0.85*	0.58	0.53	0.88	0.57
Number of Animals	**M: 6**	**F: 6**	**M:4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6**	**F: 6**
Serum Chemistry								
Aspartate Aminotransferase (U/L)								
Pretreatment	37.2	38.3	33.3	36.0	32.3	36.8	35.0	38.2
Week 2	33.3	34.5	32.8	35.0	31.0	33.3	47.3*	41.3
Week 4	38.5	38.5	39.8	36.8	40.5	40.0	72.0***	63.2#
Week 13	34.3	33.7	37.3	33.8	36.8	33.8	76.7##	69.3##
Alanine Aminotransferase (U/L)								
Pretreatment	35.5	33.3	27.3	31.5	36.5	36.3	31.5	30.0
Week 2	39.7	44.7	33.8	61.3	30.8	45.3	79.7#	46.2
Week 4	38.7	36.5	33.8	42.3	30.8	47.3	206.5#	139.7##
Week 13	43.3	37.3	40.8	54.3	39.5	52.0	187.3#	176.2##
Alkaline Phosphatase (U/L)								
Pretreatment	104.3	85.7	99.5	106.3	80.0	77.0	113.3	81.0
Week 2	98.8	78.3	96.0	97.5	69.8	71.5	119.3	86.2
Week 4	97.2	77.7	95.5	94.0	71.8	73.0	203.3***	144.3**
Week 13	70.3	49.2	59.8	67.3	61.0	56.8	170.7***	129.0***
Total Bilirubin (mg/dL)								
Pretreatment	0.070	0.065	0.058	0.083	0.075	0.070	0.073	0.078
Week 2	0.053	0.067	0.058	0.070[c]	0.060	0.070	0.095*	0.092
Week 4	0.073	0.070	0.083	0.078	0.070	0.088	0.092	0.107
Week 13	0.082	0.083	0.095	0.095	0.078	0.098	0.115	0.122
Conjugated Bilirubin (mg/dL)								
Pretreatment	0.033[d]	0.042	0.033	0.040[c]	0.038	0.038	0.032	0.040
Week 2	0.033[d]	0.035	0.033[c]	0.043[c]	0.033	0.038	0.042[e]	0.050*
Week 4	0.030[b]	0.034[e]	0.030[a]	0.038	0.035[b]	0.040[c]	0.053	0.072##

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (with a 30 Day Recovery) in the Beagle Dog							**Attachment Number: 4.2.3.2-4**	
Week 13	0.030	0.036[e]	0.033[c]	0.035	0.040[c]	0.038	0.050#	0.052
Triglycerides (mg/dL)								
Pretreatment	32.3	20.5	36.5	26.5	28.0	30.8	24.2	25.0
Week 2	30.7	22.3	27.0	21.0	25.0	21.3	29.7	33.0**
Week 4	33.0	22.8	28.0	23.8	32.3	25.0	34.8	33.5
Week 13	27.2	19.0	29.3	23.3	23.0	25.3	32.0	37.3***
Number of Animals	**M: 6**	**F: 6**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6**	**F: 6**
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Organ Weights (Group mean)								
Liver								
Absolute (g)	276.960	244.020	285.475	232.380	253.228	236.510	298.233	246.083
Relative to Body Weight (%)	2.89905	3.03868	2.96671	3.09949	3.00446	3.30096	3.65995**	3.44655
Thymus								
Absolute (g)	6.2620	6.8840	5.2405	5.9063	6.3643	3.6258	3.0660	4.8550
Relative to Body Weight (%)	0.06569	0.08531	0.05239	0.07830	0.07445	0.05051	0.03711	0.06761
Gross Pathology (number of animals with finding)								
Small Thymus	0	0	1	0	0	0	2	0
Histopathology (n, severity of finding)								
Kidney								
Basophilia: tubular	1+	1+	2+	0	2+/1++	1+	2+	1+
Deposits pigment: tubular	0	0	0	0	0	0	2+/2++	0
Necrosis: single cell	0	0	0	0	1+	0	0	0
Liver								
Deposits: pigment	0	0	0	0	2+	0	1+++/3++++	4+++
Reactive sinusoidal lining cells	0	0	0	0	2+	0	4+++	1++/3+++
Fibrosis	0	0	0	0	0	0	1+/3++	1+
Inflammation	0	0	0	0	0	0	4+	2+/2++
Hematopoiesis: extramedullary	0	0	0	0	0	0	3+	2+
Hyperplasia: bile duct	0	0	0	0	0	1+	0	3+/1++
Vacuolation: hepatocellular	0	0	0	0	0	0	0	2+
Necrosis: single cell	0	0	0	0	0	0	4+	0

Report Title: A 90 Day Oral Gavage Toxicity Study of AC220 (with a 30 Day Recovery) in the Beagle Dog							Attachment Number: 4.2.3.2-4	
Spleen								
Deposits: pigment	0	0	0	0	0	2+	1+	2+
Hematopoiesis/extramedullary: increased	0	0	0	0	0	0	1+	0
Thymus								
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	1++	1++/1+++	0	2++	1++	2++/1+++	1++
Recovery Examinations								
Number of Animals	**M: 2**	**F:2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F:2**
Body Weight	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Food Consumption	-	-					-	-
Clinical Observations	-	-					-	-
Electrocardiography	-	-					-	-
Hematology	-	-					-	-
Serum Chemistry	-	-					-	-
Urinalysis	-	-					-	-
Organ Weights								
Thymus								
Absolute (g)	9.5705	4.0260	NA	NA	NA	NA	6.8530	5.4400
Relative to Body Weight (%)	0.09733	0.05497					0.07484	0.07399
Gross Pathology	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Histopathology (n, severity of finding)								
Kidney								
Basophilia: tubular	1+	0	NA	NA	NA	NA	0	1+
Deposits pigment: tubular	0	0					0	1+
Liver								
Deposits: pigment	0	0	NA	NA	NA	NA	2+++	2+++
Reactive sinusoidal lining cells	0	0					2++	1++/1+++
Inflammation	0	0					2+	1+/1++

$AUC_{0\text{-}24}$: Area under the plasma concentration-time curve up to 24 h; Cmax: Maximum plasma concentration; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; NA: Not applicable; Tmax: Time to reach maximum plasma concentration.
-: no noteworthy findings or changes from controls; +: minimal; ++: slight; +++: moderate; ++++: marked.
*$P \leq 0.05$, **$P \leq 0.01$, ***$P \leq 0.001$: Significantly different from control group (Dunnett test).
#$P \leq 0.05$, ##$P \leq 0.01$: Significantly different from control group (Dunn test).
[a] Only 1 animal was analyzed.

[b] Only 2 animals were analyzed.
[c] Only 3 animals were analyzed.
[d] Only 4 animals were analyzed.
[e] Only 5 animals were analyzed.

2.6.7.7.E. サル 28 日間反復経口投与毒性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Gavage Toxicity Study with a 28-day Recovery Period in the Cynomolgus Monkey							**Attachment Number:** 4.2.3.2-6	
Species/Strain: Cynomolgus Monkey			**Duration of Dosing:** 28 days					
Initial Age: 2-3 years			**Duration of Post-dose:** 28 days					
Date of First Dose: [redacted][a]			**Method of Administration:** Oral gavage					
			Vehicle/Formulation: 5 or 22% HPβCD/Suspension				**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: Toxicokinetics analysis was performed on Days 1 and 28. Blood collection was done 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, and 24 hours after dosing. **No Observed Adverse-Effect Level:** 10 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (control)**		**10**		**30**		**100/60[b]**	
Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Toxicokinetics:								
Analyte: Quizartinib								
Cmax (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	182	180	490	469	819	1030
Day 28			402	365	811	885	1420	1660
Tmax (h)								
Day 1	NA	NA	3	2	3	3	3	3
Day 28			2	2	4	2	4	5
AUC0-24 (h·ng/mL)								
Day 1	NA	NA	1420	1130	3790	4330	7470	9810
Day 28			2870	2600	9210	8880	19,000	21,400
Analyte: AC886								
Cmax (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	763	843	1550	1990	1950	3060
Day 28			853	809	1510	1800	2140	2450
Tmax (h)								
Day 1	NA	NA	4	5	5	6	4	4
Day 28			4	4	5	5	7	6
AUC0-24 (h·ng/mL)								
Day 1	NA	NA	9040	9000	18,000	26,200	24,400	38,500
Day 28			11,400	10,300	23,200	27,400	40,000	44,800
Noteworthy Findings								

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Gavage Toxicity Study with a 28-day Recovery Period in the Cynomolgus Monkey							Attachment Number: 4.2.3.2-6	
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	2	1
Body Weight (kg)								
Day -1	2.7	2.4	2.8	2.3	2.7	2.3	3.1	2.5
Day 7	2.5	2.2	2.6	2.1	2.4	2.0	2.7	2.1
Day 14	2.7	2.4	2.7	2.2	2.6	2.2	2.8	2.2
Day 28	2.8	2.3	2.6	2.3	2.6	2.1	2.6	2.2
Clinical Observations								
Appetite decreased	4	5	5	5	5	5	5	5
Dehydration (skin turgor slow)	-	-	-	-	-	3	4	4
Vomitus	3	3	2	2	2	3	2	-
Hunched back	-	-	-	-	-	1	2	4
Partly closed eyes	-	-	-	-	-	-	2	3
Reduced activity	-	-	-	-	-	-	1	4
Soft, liquid, loose feces	5	5	5	5	5	5	5	5
Thin	-	-	-	-	-	1	1	2
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
White blood cell count (10^9/L)								
Pretreatment	10.56	10.53	13.22	14.79	11.58	9.62	11.72	12.56
Week 3	12.73	12.44	10.06	11.24	9.35	7.67*	7.98c	6.59*c
Week 4	13.88	15.20	9.62	12.32	8.68	7.56	9.76c	12.32c
Lymphocytes (10^9/L)								
Pretreatment	6.61	7.11	7.84	8.41	7.14	4.90	5.96	7.64
Week 3	5.38	6.60	4.57	5.64	3.56**	2.60**	2.79**c	2.45**c
Week 4	8.25	9.28	5.52*	7.41	3.95**	3.51**	1.83**c	2.38**c
Neutrophils (10^9/L)								
Pretreatment	3.14	2.65	4.48	5.49	3.48	4.16	4.95	4.00
Week 3	6.46	5.04	4.99	4.96	5.32	4.77	4.45c	3.52c
Week 4	4.49	4.76	3.47	4.13	3.97	3.66	7.37c	9.47c
Reticulocytes (10^9/L)								
Pretreatment	56.5	53.1	47.8	49.0	47.7	48.2	50.5	49.1

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Gavage Toxicity Study with a 28-day Recovery Period in the Cynomolgus Monkey							Attachment Number: 4.2.3.2-6	
Week 3	81.8	72.4	52.2	45.4	10.3#	23.1**	5.0##[c]	9.5**[c]
Week 4	66.7	66.0	52.2	72.2	57.0	67.7	17.8[c]	12.9[c]
Red blood cell count (10^{12}/L)								
Pretreatment	5.73	5.51	5.84	5.86	5.64	5.56	5.60	5.86
Week 3	5.57	5.38	4.74**	4.96	4.70**	4.30**	4.41**[c]	4.88[c]
Week 4	5.72	5.56	4.81**	4.95*	4.37**	4.16**	4.57**[c]	4.75**[c]
Hemoglobin (g/L)								
Pretreatment	138	129	136	140	135	137	137	139
Week 3	132	125	112**	117	109**	102**	106**[c]	112*[c]
Week 4	133	127	112**	117	100**	98**	107**[c]	107**[c]
Hematocrit (L/L)								
Pretreatment	0.42	0.41	0.42	0.43	0.41	0.42	0.42	0.43
Week 3	0.41	0.40	0.35**	0.37	0.33**	0.31**	0.33**[c]	0.36*[c]
Week 4	0.42	0.41	0.35**	0.38	0.32**	0.31**	0.33**[c]	0.34**[c]
Monocytes (10^9/L)								
Pretreatment	0.38	0.34	0.47	0.46	0.43	0.27	0.44	0.46
Week 3	0.58	0.37	0.28*	0.36	0.23*	0.18	0.35[c]	0.33[c]
Week 4	0.59	0.48	0.32	0.38	0.25	0.20*	0.40[c]	0.26[c]
Basophils (10^9/L)								
Pretreatment	0.14	0.15	0.14	0.19	0.13	0.11	0.15	0.18
Week 3	0.12	0.15	0.07*	0.10	0.06**	0.04**	0.07*[c]	0.08*[c]
Week 4	0.21	0.22	0.08**	0.15	0.06**	0.05**	0.04**[c]	0.06**[c]
Serum Chemistry								
Alanine Aminotransferase (U/L)								
Pretreatment	47	44	44	57	43	71	52	51
Week 3	31	44	45	65*	72**	67**	60*[c]	84**[c]
Week 4	34	46	60	60	72*	61	79**[c]	87**[c]
Aspartate Aminotransferase (U/L)								
Pretreatment	45	40	37	52	39	73	43	39
Week 3	37	41	37	48	41	60	47[c]	44[c]
Week 4	42	45	52	45	45	51	96**[c]	70*[c]
Total protein (g/L)								

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Gavage Toxicity Study with a 28-day Recovery Period in the Cynomolgus Monkey							Attachment Number: 4.2.3.2-6	
Pretreatment	73.4	72.9	75.5	73.4	72.1	73.8	75.0	72.2
Week 3	72.0	72.8	71.7	71.1	62.3**	63.3*	59.2**[c]	63.0*[c]
Week 4	71.4	72.7	68.0	69.7	61.9*	62.3*	57.5**[c]	62.7*[c]
Albumin (g/L)								
Pretreatment	45.5	45.8	47.8	48.1	44.1	47.2	47.5	47.2
Week 3	43.7	45.1	44.0	45.0	38.1**	37.3*	34.4**[c]	37.1*[c]
Week 4	43.3	44.2	42.0	43.8	36.3#	36.1*	32.6#[c]	35.3*[c]
Globulin (g/L)								
Pretreatment	27.9	27.1	27.7	25.2	28.0	26.6	27.5	24.9
Week 3	28.3	27.7	27.6	26.1	24.2	25.9	24.7[c]	25.9[c]
Week 4	28.1	28.4	26.0	26.0	25.6	26.3	24.8[c]	27.4[c]
Alkaline phosphatase (U/L)								
Pretreatment	535	425	575	520	438	478	559	547
Week 3	607	414	499	446	345**	350	290**[c]	342[c]
Week 4	501	370	366**	359	262**	290	253**[c]	331[c]
Cholesterol (mmol/L)								
Pretreatment	3.85	4.93	4.06	3.67	3.80	4.03	3.73	4.48
Week 3	3.36	4.61	3.63	3.16*	2.64	2.62**	2.47[c]	3.90[c]
Week 4	3.20	4.63	3.19	3.01**	2.53	2.63**	1.99[c]	3.05**[c]
Calcium (mmol/L)								
Pretreatment	2.63	2.57	2.62	2.67	2.58	2.65	2.64	2.67
Week 3	2.61	2.56	2.49	2.60	2.44*	2.41	2.41**[c]	2.56[c]
Week 4	2.64	2.59	2.50	2.62	2.51	2.43*	2.28**[c]	2.42*[c]
Phosphorous (mmol/L)								
Pretreatment	2.27	1.87	2.09	2.13	2.23	2.29**	2.16	2.07
Week 3	2.35	1.86	1.95	1.91	1.81	1.73	0.99**[c]	1.17**[c]
Week 4	2.39	1.98	1.79*	2.12	1.61*	1.96	2.08[c]	1.63[c]
Creatinine (µmol/L)								
Pretreatment	58	48	61	55	53	54	62	48
Week 3	55	48	70*	63*	67	61	47[c]	50[c]
Week 4	51	50	64	63	63	56	73*[c]	75*[c]
Urea (µmol/L)								

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Gavage Toxicity Study with a 28-day Recovery Period in the Cynomolgus Monkey							Attachment Number: 4.2.3.2-6	
Pretreatment	9.1	8.8	8.5	9.0	8.8	8.4	8.0	8.4
Week 3	7.6	6.7	8.7	7.5	8.3	9.3**	7.8[c]	8.1[c]
Week 4	8.7	7.9	7.7	7.9	8.3	8.3	11.0[c]	8.9[c]
Organ Weights (%)								
Spleen								
Absolute (g)	5.416	4.225	4.687	2.640	2.156*	2.009*	2.785[d]	2.253*
Relative to Body Weight (%)	0.175	0.169	0.176	0.118	0.089*	0.098	0.098[d]	0.103
Thymus								
Absolute (g)	2.608	2.239	2.038	2.426	1.125	0.735	0.628[d]	0.888
Relative to Body Weight (%)	0.084	0.090	0.081	0.104	0.048	0.035	0.022[d]	0.040
Liver								
Absolute (g)	58.108	54.245	58.966	50.221	59.099	46.764	64.512[d]	55.517
Relative to Body Weight (%)	1.875	2.170	2.196	2.220	2.416	2.261	2.256[d]	2.532
Adrenal								
Absolute (g)	0.415	0.501	0.422	0.448	0.388	0.462	0.495[d]	0.530
Relative to Body Weight (%)	0.013	0.020	0.016	0.020	0.015	0.023	0.018[d]	0.024
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (n, severity of finding)								
Kidney								
Acute tubular degeneration (Degeneration, tubular, medullary)	-	-	-	-	-	-	3+	-
Femur								
Hematopoietic hypocellularity	-	-	2++	1++	1+++/2++++	2++/1++++	3+++/1++++	2+++/2++++
Sternum								
Hematopoietic hypocellularity	-	-	1+/1++	1+	1++/1+++	1+/1+++	3++/1+++	1++/2+++/1+++
Spleen								
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	-	1+	1+	1++/1+++	1+/1+++/1+++	1+/2++/1+++
Thymus								
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	2+	1+	1+/1++/1+++	1+/2+++	2+++/2++++	2++/1+++/1+++
Mandibular lymph node								

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Gavage Toxicity Study with a 28-day Recovery Period in the Cynomolgus Monkey							Attachment Number: 4.2.3.2-6	
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	2+	-	2++/1+++	1+/1+++	1++/2+++/1+++	1+++/2++++
Mesenteric lymph node								
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	2+	-	1+/1+++	1++/1+++	1+/2++/1++++	1++/2+++/1+++
Jejunum, GALT								
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	-	-	1+	1+	1++	1+
Ileum, GALT								
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	-	-	1+	1+/1++	1++	3+/1++
Cecum, GALT								
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	1++	-	1+/2++	1+/1++	1++/1++++	3+++/1++++
Colon, GALT								
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	-	-	1+/2++	1++	1+/1++/2++++	1++/1+++/2+++
Rectum, GALT								
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	1++	-	1+/2++	1+/1++	1+/1++/1+++	1++/2+++/1+++
Heart								
Edema	-	-	-	-	-	-	-	1++
Myocardial degeneration	-	-	-	-	-	-	-	1+
Necrosis of epicardial fat	-	-	-	-	-	-	-	1+
Kidney								
Acute tubular degeneration	-	-	-	-	-	-	3+	-
Stomach								
Erosion/ulceration of glandular mucosa	-	-	-	-	-	-	1+++	-
Acute inflammation of glandular mucosa in pylorus	2++/3+++	4++	2+/1++	1+/2++/2+++	2+/2++/1+++	2++/2+++/1+++	2+/2+++	1+/1++/3+++
Cecum, GALT								
Atrophy/necrosis: lymphoid	-	-	1++	-	1+/2++	1+/1++	1++/1++++	3+++/1++++
Additional Examinations								
Bone Marrow Smears								
Erythroid hypoplasia	0	0	0	0	1+++	1+++	1+++/2++++	1+++/2++++
Granulocytic hyperplasia	0	0	0	0	0	0	3+++	3+++

Report Title: AC220: A 28-Day Oral Gavage Toxicity Study with a 28-day Recovery Period in the Cynomolgus Monkey							Attachment Number: 4.2.3.2-6	
Myeloid/erythroid ratio	0.9	0.9	1.4	0.8	1.7	1.1	8.7	5.1
Postdose Evaluation (recovery animals): Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone Marrow Smears								
Erythroid hyperplasia	0	0	1+++/1++++	1+++/1++++	1+++	2++++	1+++	1++++
Myeloid/erythroid ratio	0.7	0.8	0.4	0.4	0.6	0.3	0.5	0.3
Organ Weights (%), 28-Day Recovery Period								
Thymus								
Absolute (g)	4.093	3.048	2.599	3.913	2.855	1.754	2.943[e]	1.826[e]
Relative to Body Weight (%)	0.164	0.136	0.088	0.165	0.098	0.077	0.109[e]	0.079[e]
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Mandibular lymph node								
Lymphoid atrophy/necrosis	-	-	-	-	-	-		1+

AUC_{0-24}: Area under the plasma concentration-time curve up to 24 h; Cmax: Maximum plasma concentration; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; NA: Not applicable; NC: Not calculated; ND: Not done; Tmax: Time to reach maximum plasma concentrations.
-: no noteworthy findings; (n): indicates the number of animals affected; +: minimal; ++: slight/mild; +++: moderate; ++++: marked/severe.
*$P \leq 0.05$, **$P \leq 0.01$: Significantly different from control group (Dunnett test).
#$P \leq 0.05$, ##$P \leq 0.01$: Significantly different from control group (Dunn test).
[a] Dosing initiated over two days.
[b] The initial dose of 100 mg/kg/day was reduced to 60 mg/kg/day due to mortalities.
[c] Only 4 animals were analyzed.
[d] Only 2 animals were analyzed.
[e] Only 1 animal was analyzed.

2.6.7.7.F. サル 13 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period									**Attachment Number: 4.2.3.2-7**
Species/Strain: Cynomolgus monkeys			**Duration of Dosing:** 13 weeks						
Initial Age: 4.5 to 5 years			**Duration of Post-dose:** 4 weeks						
Date of First Dose: [redacted]			**Method of Administration:** Oral gavage						
			Vehicle/Formulation: 5%HPβCD/Suspension						**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Toxicokinetics analysis was performed on Days 1 and 91. Blood collection was done 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, and 24 hours after dosing. **No Observed Adverse Effect Level:** 3 mg/kg/day									
Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (control)**		**3**		**10/6[a]**		**30/12[a]**	
Number of Animals		**M: 6**	**F:6**	**M: 6**	**F:6**	**M: 6**	**F:6**	**M: 6**	**F:6**
Toxicokinetics									
Analyte: Quizartinib									
Cmax (ng/mL)	Day 1	NA	NA	40.8	71.8	191	220	274	291
	Day 42-48[b]			NA	NA	58.3	43.5	131	158
	Day 59-60[b]			NA	NA	ND	ND	340	618
	Day 91			102	123	305	296	ND	ND
Tmax (h)	Day 1			1	1	1	1	18	2
	Day 42-48[b]			NA	NA	2	2	2	2
	Day 59-60[b]			NA	NA	ND	ND	4	4
	Day 91 [b]			2	2	4	2	ND	ND
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	Day 1			278	332	1660	1570	4630	3650
	Day 42-48[b]			NA	NA	628	364	1580	1600
	Day 59-60[b]			NA	NA	ND	ND	4280	8140
	Day 91 [b]			836	618	4060	2440	ND	ND
Analyte: AC886									
Cmax (ng/mL)	Day 1	NA	NA	177	334	659	794	1410	1530
	Day 42-48[b]			NA	NA	331	219	610	808

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period								Attachment Number: 4.2.3.2-7	
	Day 59-60[b]			NA	NA	ND	ND	1260	1320
	Day 91 [b]			347	386	656	657	ND	ND
Tmax (h)	Day 1			4	4	4	4	18	5
	Day 42-48[b]			NA	NA	4	4	6	4
	Day 59-60[b]			NA	NA	ND	ND	6	6
	Day 91 [b]			4	2	4	4	ND	ND
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	Day 1			2290	3540	10,700	10,800	25,900	25,200
	Day 42-48[b]			NA	NA	4580	3150	9510	11,000
	Day 59-60[b]			NA	NA	ND	ND	24,000	25,400
	Day 91 [b]			5010	4950	11,300	10,100	ND	ND
Toxicity Examinations									
Number of Animals		**M: 6**	**F:6**	**M: 6**	**F:6**	**M: 6**	**F:6**	**M: 6**	**F:6**
Noteworthy Findings									
Died or Sacrificed Moribund		**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**2[c]**	**1[d]**	**2[e]**
Clinical Observations									
Reduced appetite		2	6	2	6	6	6	6	6
Decreased activity		-	-	-	-	4	4	6	6
Hunched posture		-	-	-	-	4	3	6	6
Eyes partly closed		-	-	-	-	-	1	2	1
Moderate tosevere uncoordination		-	-	-	-	-	1	1	-
Soft feces		4	6	6	2	6	3	6	6
Liquid feces		4	4	3	2	6	4	4	5
Vomitus mucoid yellow		-	-	-	-	4	-	3	-
Vomitus mucoid white		-	-	-	-	1	1	-	-
Vomitus mucoid clear		-	-	-	-	-	-	1	2
Vomitus liquid yellow		-	-	-	-	2	-	-	-
Vomitus liquid red		-	-	-	-	1	-	-	-

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Vomitus liquid clear	-	-	-	-	3	-	2	-
Vomitus liquid brown	-	-	-	-	-	-	1	-
Vomitus liquid particle brown	-	-	-	-	-	2	-	-
Vomitus foamy particle yellow	-	-	-	-	-	-	2	-
Vomitus foamy particle brown	-	-	-	-	-	-	2	-
Vomitus foamy yellow	-	-	-	-	-	1	1	1
Vomitus foamy white	-	-	-	-	1	2	-	1
Vomitus foamy clear	1	2	-	-	6	-	1	-
Vomitus foamy brown	-	-	-	-	2	-	1	1
Backbone prominent	-	3	-	4	4	5	6	6
Severe dehydration	-	-	-	1	3	4	6	6
Body Weight (kg)[f]								
Week 5	5.33	3.47	5.17	3.25	4.42**	3.04*	4.54*	2.98**
Week 8	5.65	3.48	5.35	3.30	4.90	3.38	4.76	3.12
Week 13	5.57	3.38	5.33	3.13	4.70	3.15	NA[g]	NA[g]
Week 14[a]	NA	NA	NA	NA	4.63	3.23		
Food Consumption	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Water Consumption	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Lymphocyte count (10^9/L)								
Pretreatment	4.748	3.298	4.215	3.125	4.088	3.785	4.838	2.982
Week 2	5.273	4.110	4.178	3.643	4.423	3.065	3.185##	2.767
Week 6	5.735	4.372	4.503	4.125	3.853*	2.648*[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	4.860	3.790[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.968[h]	1.446[h]
Week 13	5.460	3.790	4.393	3.353	3.482	2.725[j]	NA[g]	NA[g]
Neutrophil count (10^9/L)								
Pretreatment	3.917	2.585	3.957	3.188	3.238	2.218	2.548	4.585
Week 2	3.208	3.563	2.548	7.000	2.775	2.385	2.527	2.773

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Week 6	2.913	3.290	2.178	2.855	2.900	2.240[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	4.650	4.730[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.230[h]	5.580[h]
Week 13	4.130	4.078	2.020	3.248	4.407	2.373[j]	NA[g]	NA[g]
Absolute reticulocyte count (10^9/L)								
Pretreatment	34.15	18.00	26.93	19.87	20.57	17.52	31.93	13.85
Week 2	28.13	34.05	11.55	11.17	1.85[###]	1.90[##]	2.82[##]	1.53[##]
Week 6	40.90	22.27	26.50	17.70	17.15	11.68[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	137.43	142.45[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	13.32[h]	19.42[h]
Week 13	21.58	25.48	20.20	22.28	23.33	16.05[j]	NA[g]	NA[g]
Eosinophil count (%)								
Pretreatment	2.13	6.13	3.45	4.03	3.47	4.18	5.58	1.92
Week 2	2.58	5.12	5.75	4.80	2.35	2.22	1.40	0.72[#]
Week 6	2.77	7.33	5.03	5.03	1.90	2.70[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	4.78	4.23[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.74[h]	2.04[h]
Week 13	2.60	5.08	4.50	7.18	1.75	3.18[j]	NA[g]	NA[g]
Hematocrit (%)								
Pretreatment	41.75	40.88	41.45	40.15	40.72	40.42	42.20	40.25
Week 2	42.15	40.13	38.65	35.52	39.10	34.48[*]	39.92	38.43
Week 6	42.85	43.18	38.27[*]	37.32	33.68[***]	30.98[###h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	31.47	32.18[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	34.46[h]	27.58[h]
Week 13	42.93	40.45	37.12[*]	36.33[*]	32.93[***]	33.70[**j]	NA[g]	NA[g]
Hemoglobin (g/dL)								
Pretreatment	12.95	12.73	13.12	12.72	13.17	12.53	13.37	12.43
Week 2	13.17	12.43	12.28	11.20[*]	12.70	10.92[**]	12.87	12.18
Week 6	13.38	13.52	12.18[*]	11.77	11.07[***]	9.92[###h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	10.02	9.80[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	10.62[h]	8.16[h]
Week 13	13.35	12.35	11.58[#]	11.22[*]	10.43[##]	10.13[**j]	NA[g]	NA[g]

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Mean corpuscular volume (fL)								
Pretreatment	67.47	63.52	66.87	66.97	65.17	62.48	67.20	64.00
Week 2	67.47	63.92	67.03	67.27	64.80	60.70	64.72	61.68
Week 6	68.07	63.78	68.37	68.17	64.62	60.90[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	67.22	65.25[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	69.10[h]	67.74[h]
Week 13	66.72	63.82	69.87	70.02**	69.98	68.10[j]	NA[g]	NA[g]
Platelet count (10^9/L)								
Pretreatment	344.2	392.8	344.2	348.0	363.7	355.0	360.2	354.8
Week 2	371.5	394.8	361.7	366.8	407.5	350.2	413.5	393.5
Week 6	335.3	421.5	352.0	351.3	552.7##	535.6*[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	544.8	621.3[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	629.4[h]	608.8[h]
Week 13	344.3	420.5	387.8	376.8	470.3**	487.0[j]	NA[g]	NA[g]
Red blood cell count (10^{12}/L)								
Pretreatment	6.187	6.455	6.200	6.003	6.258	6.470	6.285	6.285
Week 2	6.242	6.285	5.767	5.288*	6.037	5.693	6.172	6.240
Week 6	6.295	6.777	5.597*	5.482***	5.230**	5.096***[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	4.697	4.930[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.998[h]	4.062[h]
Week 13	6.432	6.353	5.320**	5.192**	4.702***	4.945***[j]	NA[g]	NA[g]
Red cell volume distribution width (%)								
Pretreatment	14.33	14.97	14.50	14.30	14.65	14.60	14.98	15.13
Week 2	13.88	14.78	14.47	14.22	14.22	14.22	14.10	14.17
Week 6	13.65	14.25	14.75	14.87	14.53	15.92[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	17.33	17.28[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	17.14[h]	18.58[h]
Week 13	13.67	14.42	15.07	14.48	16.48***	15.73[j]	NA[g]	NA[g]
Serum Chemistry								
Alanine aminotransferase (U/L)								
Pretreatment	49.5	59.0	57.8	53.7	60.2	67.3	46.7	57.8
Week 2	34.2	57.7	35.3	50.5	87.8#	330.5	58.0	103.2

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Week 6	39.7	44.2	35.3	41.8	53.8*[g]	59.6[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	39.0	49.5[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	42.8[h]	55.0[h]
Week 13	24.0	48.0	23.0	40.8	29.2	101.5[j]	NA[g]	NA[g]
Albumin (g/dL)								
Pretreatment	4.63	4.53	4.68	4.52	4.65	4.52	4.63	4.60
Week 2	4.47	4.33	4.50	4.13	4.17	3.97*	3.85**	3.93*
Week 6	4.37	4.25	4.33	4.12	3.90**	3.56***[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	4.03	3.88[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.96[h]	3.46[h]
Week 13	4.52	4.30	4.50	4.20	4.13	4.00[j]	NA[g]	NA[g]
Asparate aminotransferase (U/L)								
Pretreatment	39.8	45.5	39.8	37.2	36.5	43.0	41.8	54.8
Week 2	34.7	43.8	30.3	30.8	63.3	729.0	48.0	75.6[h]
Week 6	34.7	38.5	32.5	29.2	49.7	41.8[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	29.7	32.0[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	60.6[h]	54.4[h]
Week 13	35.7	48.0	39.5	33.8#	41.3	56.5[j]	NA[g]	NA[g]
Chloride (mmol/L)								
Pretreatment	108.5	107.8	109.5	108.5	107.7	108.3	106.8	109.5
Week 2	104.0	105.0	107.8	106.8	107.3	104.8	103.8	104.7
Week 6	104.0	106.3	107.5**	107.2	107.2*	108.0[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	109.0	110.3[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100.6[h]	107.8[h]
Week 13	105.5	107.8	107.3	109.0	107.8	109.8[j]	NA[g]	NA[g]
Creatinine (mg/dL)								
Pretreatment	0.80	0.73	0.87	0.80	0.90	0.80	0.88	0.77
Week 2	0.82	0.77	0.93	0.88	1.05*	0.93	1.17**	1.05##
Week 6	0.87	0.78	0.98	0.87	1.05*	0.92[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	0.82	0.70[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.36[h]	0.82[h]
Week 13	0.85	0.75	1.02	0.88	1.05#	0.93[j]	NA[g]	NA[g]

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Globulin (g/dL)								
Pretreatment	3.32	3.35	3.07	3.43	3.10	3.58	3.23	3.53
Week 2	3.47	3.40	2.92*	3.28	2.87**	3.17	2.93*	2.88**
Week 6	3.13	3.42	2.90	3.12	2.70*	2.82**[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	2.87	3.38[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.72[h]	2.86[h]
Week 13	3.24[h]	3.42	2.70**	3.12	2.62**	3.25[j]	NA[g]	NA[g]
Glucose (mg/dL)								
Pretreatment	76.0	58.8	67.2	59.2	68.0	70.2	73.0	57.0
Week 2	85.7	79.0	69.8	76.2	76.7	85.3	78.5	87.7
Week 6	75.3	67.8	64.7	69.5	67.7	65.6[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	68.3	64.3[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	81.6[h]	54.0[h]
Week 13	82.8	63.0	74.5	69.3	57.5*	68.0[j]	NA[g]	NA[g]
Phosphorus (mg/dL)								
Pretreatment	5.283	4.602	5.800	4.303	5.622	5.035	6.377**	4.463
Week 2	5.658	5.170	6.152	3.903*	4.798	4.395	4.387**[h]	3.170***
Week 6	6.370	5.313	6.530	4.442	4.897**	3.862*[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	3.380	3.515[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5.900[h]	4.924[h]
Week 13	6.138	5.273	6.278	4.588	5.433	3.810*[j]	NA[g]	NA[g]
Potassium (mmol/L)								
Pretreatment	4.952	4.912	5.157	4.978	4.792	5.093	5.127	5.373
Week 2	4.620	4.958	4.782	5.153	5.352**	4.940	5.075*	5.682
Week 6	4.657	5.015	4.758	4.968	5.327**	4.840[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	5.078	4.965[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.372[h]	4.678[h]
Week 13	4.935	4.898	4.908	4.953	4.653	4.965[j]	NA[g]	NA[g]
Sodium (mmol/L)								
Pretreatment	151.5	148.3	152.2	149.8	149.5	150.8	152.3	152.2*
Week 2	147.5	146.0	149.3	146.8	144.5	143.8	144.0*	143.0
Week 6	147.5	146.8	148.5	145.8	146.8	144.8[h]	ND	ND

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	151.2	150.8[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	143.2[h]	146.6[h]
Week 13	150.0	149.0	150.2	148.5	148.3	149.3[j]	NA[g]	NA[g]
Total bilirubin (mg/dL)								
Pretreatment	0.192	0.345	0.188	0.207	0.177	0.200	0.167	0.383
Week 2	0.140	0.133	0.228	0.170	0.178	0.230	0.247	0.442
Week 6	0.237	0.207	0.252	0.157	0.167	0.278[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	0.062	0.075[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.312[h]	0.328[h]
Week 13	0.135	0.185	0.282	0.152	0.282	0.140[j]	NA[g]	NA[g]
Total protein (g/dL)								
Pretreatment	7.95	7.88	7.75	7.95	7.75	8.10	7.87	8.13
Week 2	7.93	7.73	7.42	7.42	7.03**	7.13*	6.78***	6.82***
Week 6	7.50	7.67	7.23	7.23*	6.60***	6.38***[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	6.90	7.25[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.68[h]	6.32[h]
Week 13	7.75	7.72	7.20*	7.32*	6.75***	7.25*[j]	NA[g]	NA[g]
Triglycerides (mg/dL)								
Pretreatment	41.0	66.5	57.3	59.2	43.7	61.8	47.0	49.3
Week 2	43.0	74.3	44.7	45.7	45.5	60.0	78.2	51.7
Week 6	36.7	72.0	38.5	43.5	55.5	59.0[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	81.5	81.0[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	44.2[h]	89.2[h]
Week 13	51.3	70.8	46.8	52.5	43.5	59.0[j]	NA[g]	NA[g]
Urea (mg/dL)								
Pretreatment	15.82	14.80	15.17	14.63	13.50	16.58	13.30	18.82*
Week 2	16.70	16.95	19.70	16.55	18.88	18.97	20.38	24.18**
Week 6	16.68	15.67	19.60	15.77	21.43	20.56[h]	ND	ND
Day 48/46[i]	ND	ND	ND	ND	15.33	18.18[j]	ND	ND
Week 9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	21.78[h]	17.12[h]
Week 13	15.98	14.85	17.90	12.98	18.27	16.75[j]	NA[g]	NA[g]
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Organ Weights (g)								
Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 2**	**M: 5**	**F: 5**
Adrenal								
Absolute (g)	0.78170	0.54040	0.63815	0.55605	0.63963	0.66905	0.75722	0.75716
Relative to Body Weight (%)	0.01477	0.01631	0.01162	0.01800	0.01441	0.02389	0.01691	0.02556
Liver								
Absolute (g)	91.1368	66.6095	98.0408	60.5115	105.6255	68.4905	106.9138	92.8754
Relative to Body Weight (%)	1.70924	1.99125	1.78803	1.95282	2.38160*	2.44609	2.38011	3.09650
Testis								
Absolute (g)	37.6886	NA	29.1965	NA	22.2330*	NA	15.6158	NA
Relative to Body Weight (%)	0.70614	NA	0.53807	NA	0.49704*	NA	0.34487	NA
Ovary								
Absolute (g)	NA	0.64310	NA	0.47618	NA	0.45895	NA	0.41908
Relative to Body Weight (%)	NA	0.02014	NA	0.01548	NA	0.01639	NA	0.01412
Spleen								
Absolute (g)	9.0778	6.7178	6.4633	4.1805	6.8008	3.4920#	4.8200	3.9754
Relative to Body Weight (%)	0.17027	0.19934	0.11626	0.13456	0.15187	0.12471#	0.10560	0.13295
Thymus								
Absolute (g)	2.0948	0.7563	2.2248	1.3955	2.1960	0.3760	0.6292	0.3200
Relative to Body Weight (%)	0.04150	0.02275	0.04077	0.04388	0.04876	0.01343	0.01411	0.01054
Uterus								
Absolute (g)	NA	13.7850	NA	8.3895	NA	5.2060	NA	4.6392
Relative to Body Weight (%)	NA	0.40981	NA	0.27036	NA	0.18593	NA	0.15674
Gross Pathology								
Scheduled euthanasia								
Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 2**	**M: 5**	**F: 5**
Thymus: small	1	0	1	0	1	2	5	5
Adrenal: enlargement	0	0	0	0	0	0	2	1
Spleen: small	0	0	0	0	0	0	0	0
Dead/Unscheduled euthanasia								
Number of Animals	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 2**	**M: 1**	**F: 2**
Thymus: small	0	0	0	0	0	1	1	1

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Adrenal: enlargement	0	0	0	0	0	0	0	2
Spleen: small	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology (n, severity of finding)								
Scheduled euthanasia								
Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 2**	**M: 5**	**F: 5**
Bone marrow								
Hypocellularity: hematopoietic	-	-	-	4+	2+/1+++	1+/1+++	2+/1++/1+++	3+/2++
Thymus								
Atrophy: lymphoid	1+/1++	2+	2+	1+	1+/1+++	1+/1++	3++/1+++	1++/2+++/2+++ +
Lymph node: mesenteric								
Atrophy: lymphoid	-	-	-	1++	1+/1++/1+++	2+++	3+/2++	3++/1+++
Lymph node: mandibular								
Atrophy: lymphoid	-	-	-	-	2+/1++	1++	5+	1+++
Spleen								
Atrophy: lymphoid	-	-	-	1++	-	1+	1+	2+
Testis								
Depletion: germ cell	-	NA	-	NA	1+/3++	NA	1++/4+++	NA
Epididymis								
Oligo/Aspermial	-	NA	-	NA	-	NA	5+++++	NA
Uterus								
Atrophy	NA	-	NA	-	NA	1+	NA	5+++
Ovary								
Atrophy	NA	-	NA	-	NA	1++	NA	3++
Vagina								
Atrophy	NA	-	NA	-	NA	1+	NA	1+/1++
Esophagus								
Degeneration/Atrophy: epithelium	-	-	-	-	1+/1++/1+++	2+++	2++/2+++	1+/1+++/2++++
Tongue								
Degeneration/Atrophy: epithelium	-	-	-	-	1+/1++	1+/1++	2+/3++	2++/1+++

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Liver								
Cytoplasmic rarefaction	-	-	-	-	1++/1+++/1++++	-	1+/2++	1++/2+++
Single cell necrosis	-	-	-	-	-	1+	-	-
Centrilobular necrosis	-	-	-	-	-	-	1+	-
Hepatocellular vacuolation	-	-	-	-	-	1+	-	-
Colon								
Inflammation: chronic	-	-	-	-	1+	-	1+	-
Cecum								
Inflammation: chronic	1+	1+	-	-	1++	-	1+/1++/1+++	-
Heart								
Atrophy: fat	-	-	-	-	-	1++	-	1+
Adrenal								
Hyperplasia: cortical	1+	-	-	-	2+	1+	3+	1++
Dead/Unscheduled euthanasia								
Number of Animals	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 2**	**M: 1**	**F: 2**
Bone marrow								
Hypocellularity: hematopoietic	NA	NA	NA	NA	NA	1+/1++	1+++	1++++
Thymus								
Atrophy: lymphoid	NA	NA	NA	NA	NA	1++/1++++	1++++	1++
Lymph node: mesenteric								
Atrophy: lymphoid	NA	NA	NA	NA	NA	2++	1+	1++/1+++
Lymph node: mandibular								
Atrophy: lymphoid	NA	NA	NA	NA	NA	1+	1++++	1+++
Spleen								
Atrophy: lymphoid	NA	NA	NA	NA	NA	2++	-	1++
Testis								
Depletion: germ cell	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1+++++	NA
Epididymis								
Oligo/Aspermial	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1+++++	NA
Uterus								
Atrophy	NA	NA	NA	NA	NA	1+++	NA	-

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Ovary								
Atrophy	NA	NA	NA	NA	NA	1++	NA	-
Vagina								
Atrophy	NA	NA	NA	NA	NA	1++	NA	1+++
Esophagus								
Degeneration/Atrophy: epithelium	NA	NA	NA	NA	NA	1+/1++	1+	1++
Tongue								
Degeneration/Atrophy: epithelium	NA	NA	NA	NA	NA	-	1+	-
Liver								
Cytoplasmic rarefaction	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	1++
Single cell necrosis	NA	NA	NA	NA	NA	1+	-	-
Hepatocellular vacuolation	NA	NA	NA	NA	NA	2+	-	-
Cecum								
Inflammation: chronic	NA	NA	NA	NA	NA	-	1+	-
Heart								
Atrophy: fat	NA	NA	NA	NA	NA	1++/1+++	1+++	1+/1+++
Adrenal								
Hyperplasia: cortical	NA	NA	NA	NA	NA	1+	-	2++
Recovery Period								
Number of Animals	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**
Body Weight (kg) [f]	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Red blood cell count (10^{12}/L)	6.560	6.190	5.620	5.485	5.525	5.475	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)	13.75	12.45	13.20	12.05	11.50	11.90		
Hematocrit (%)	45.00	40.50	41.10	39.25	38.15	37.85		
Serum Chemistry								
Albumin (g/dL)	4.75	4.40	4.65	4.20	3.95	3.95	NA	NA
Total protein (g/dL)	7.70	7.70	7.50	7.45	6.75	7.15		
Organ Weights (g)	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Histopathology								

Report Title: A 13 Week Oral Gavage Toxicity Study of AC220 in the Cynomolgus Monkey With a 4 Week Recovery Period							Attachment Number: 4.2.3.2-7	
Bone marrow								
Hypocellularity: hematopoietic	-	-	-	-	-	1+	NA	NA

AUC_{0-24}: Area under the plasma concentration-time curve up to 24 h; Cmax: Maximum plasma concentration; NA: Not applicable; ND: Not done; Tmax: Time to reach maximum plasma concentration.
-: no noteworthy findings.
*$P \leq 0.05$, **$P \leq 0.01$, ***$P \leq 0.001$: Significantly different from control group (Dunnett test).
#$P \leq 0.05$, ##$P \leq 0.01$, ###$P \leq 0.001$: Significantly different from control group (Dunn test).
[a] The dose levels for Groups 3 (10 mg/kg/day group) and 4 (30 mg/kg/day group) were reduced following the exhibition of severe adverse clinical signs. Group 3 started at the reduced dose level (6 mg/kg/day) on Day 48 for males and Day 46 for females. Group 4 started at the reduced dose level (12 mg/kg/day) on Day 43 for males and Day 42 for females. Groups 3 and 4 were given a 10-day long dosing free period before starting the revised dose. Group 3 was dosed for an additional period of 10 days at the end of the study to complete a total of 13 weeks of dosing (the end of dosing is denoted Week 14). All animals in Group 4 were sent to necropsy on Day 61 for males and Day 60 for females, due to deteriorating condition. The animal numbers were reduced after starting the revised dose from 6 to 4 at the dose of 6 mg/kg/day for female, and from 6 to 5 at the dose of 12 mg/kg/day for both gender.
[b] TK parameters for Group 3, at the middle dose (6 mg/kg/day) were calculated on Day 1 (the corresponding Day 48 for males and Day 46 for females) and Day 45 (the corresponding Day 91), for Group 4, at the highest dose (12 mg/kg/day) were calculated on Day 1 (the corresponding Day 43 for males and Day 42 for females) and Day 17 (the corresponding Day 60 for males and Day 59 for females) after starting the revised dose.
[c] Animal Nos. 352 and 353 in the 10/6 mg/kg/day group were found dead on Day 31 and euthanized on Day 36, respectively.
[d] Animal No. 407 in the 30/12 mg/kg/day group was found dead on Day 32.
[e] Animal No. 451 and 452 in the 30/12 mg/kg/day group were euthanized on Day 6 and Day 25, respectively. Animal No. 451 was replaced by Animal No. 457.
[f] Body weight is mean; Week 5 is approximately 2 weeks before animals in Groups 3 and 4 were switched to lower doses (6 and 12 mg/kg/day, respectively).
[g] All animals in Group 4, including those originally assigned to the recovery study, were sent to necropsy on Day 61 for males and Day 60 for females (after Week 8 data points), due to deteriorating condition. There is no recovery data for these animals.
[h] Only 5 animals were analyzed.
[i] Revised dose given, Day 48 for males and Day 46 for females.
[j] Only 4 animals were analyzed.

2.6.7.8. In vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.A. 細菌を用いた復帰突然変異試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: AC010220 Bacterial Mutation Test		**Attachment Number: 4.2.3.3.1-1**
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 2	
Strains: *S. typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) and *E. coli* WP2*uvrA)*	**No. of Replicate Cultures:** 3	
Metabolizing System: PB and 5,6-BF-induced rat liver S9 fraction, 7.1% vol/vol		
Vehicle for Test Article: 22% HPβCD	**Vehicle for Positive Controls:** DMSO and sterile water for irrigation USP	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation method		**Date of Treatment:** [redacted]
Cytotoxic Effects: Exposure to quizartinib in the presence of S9 mix caused partial absence of the background lawn of non-revertant bacteria at the highest levels tested.		
Genotoxic Effects: Increase in revertant colony counts with TA98 and TA100 following exposure to quizartinib.		

Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Assay #1 (Initial Test) – Revertant Colony Counts (Mean)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvrA***
Without Activation	22% HPβCD	-	28	137	27	9	44
	Quizartinib	1.58	33	NA	NA	NA	NA
		5.0	37	NA	NA	NA	NA
		15.8	42	NA	NA	NA	NA
		50	95	134	20	10	51
		158	209	141	17	14	54
		500	423	134	21	12	40
		1581	607	122	20	8	38
		5000	458	126	20	8	38
	NaAz	0.5	NA	420	223	NA	NA
	9AC	50	NA	NA	NA	284	NA
	2NF	1	153	NA	NA	NA	NA
	NQO	1.5	NA	NA	NA	NA	975
With Activation	22% HPβCD	-	46	149	20	15	48

Report Title: AC010220 Bacterial Mutation Test						**Attachment Number: 4.2.3.3.1-1**	
	Quizartinib	1.58	57	170	NA	NA	NA
		5.0	168	147	NA	17	NA
		15.8	215	164	NA	13	NA
		50	328	157	18	20	60
		158	724	186	15	17	56
		500	1569	242	17	24	62
		1581	-	282	16	-	52
		5000	-	275	15	-	52
	2AA	5	NA	NA	469	NA	NA
		15	NA	NA	NA	NA	359
	BaP	5	349	1234	NA	95	NA
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Assay #2 (Confirmatory Test) – Revertant Colony Counts (Mean)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvrA***
Without Activation	22% HPβCD	-	38	167	30	15	59
	Quizartinib	1.58	32	NA	NA	NA	NA
		5.0	36	NA	NA	NA	NA
		15.8	38	NA	NA	NA	NA
		50	41	141	21	17	49
		158	90	142	19	16	53
		500	168	157	24	16	48
		1581	229	164	27	16	53
		5000	381	138	19	12	51
	NaAz	0.5	NA	455	300	NA	NA
	9AC	50	NA	NA	NA	334	NA
	2NF	1	118	NA	NA	NA	NA
	NQO	1.5	NA	NA	NA	NA	1086

Report Title: AC010220 Bacterial Mutation Test						Attachment Number: 4.2.3.3.1-1	
With Activation	22% HPβCD	-	47	160	30	22	64
	Quizartinib	1.58	61	166	NA	NA	NA
		5.0	71	163	NA	NA	NA
		15.8	142	136	NA	NA	NA
		50	506	190	21	22	76
		158	1440	240	22	26	59
		500	1663	265	30	37	60
		1581	2242	315	22	41	62
		5000	2931	386	17	33	74
	2AA	5	NA	NA	337	NA	NA
		15	NA	NA	NA	NA	188
	BaP	5	463	1177	NA	122	NA

BaP: Benzo[a]pyrene; BF: Benzoflavone; DMSO: dimethyl sulfoxide; GLP: Good Laboratory Practices; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; NA: Not applicable; NaAz: Sodium azide; PB: Phenobarbital; NQO: 4-nitroquinoline N-oxide; USP: United States Pharmacopeia; 9AC: 9-aminoacridine; 2NF: 2-nitrofluorene; 2AA: 2-aminoanthracene.
-: not reported due to precipitate and incomplete lawn.

2.6.7.8.B. 哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: AC010220 Mammalian Cell Mutation Test							**Attachment Number: 4.2.3.3.1-2**
Test for Induction of: Gene mutation in mammalian cells				**No. of Independent Assays:** 1			
Strains: Mouse lymphoma L5178Y TK$^{+/-}$ (clone 3.7.2) cells				**No. of Replicate Cultures:** Test article: 2; Vehicle and positive controls: 4			
Metabolizing System: 10% vol/vol phenobarbitol/5,6-benzoflavone induced rat liver S9 fraction							
Vehicle for Test Article: 22% HPβCD				**Vehicle for Positive Controls:** DMSO			**GLP Compliance:** Yes[a]
Treatment: 3 hours (with and without activation); 24 hours (without activation)							
Cytotoxic Effects: Cytotoxicity was observed at the high doses for 24-hour treatment.				**Date of Treatment:** [redacted]			
Genotoxic Effects: None							
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/mL)**	**% PE Viability**	**% RTG**	**Mutant Frequency**		
					SC	**LC**	**Total**
3-hour Treatment Without Activation	22% HPβCD[a]	-	75	100	16	39	55
	Quizartinib	1.84	68	90	11	36	47
		5.83	67	76	22	47	69
		18.4	61	52	20	33	53
		23.0	71	39	19	32	51
		28.8	41	14	25	27	52
	NQO	0.40	50	45	174	111	284[b]
3-hour Treatment With Activation	22% HPβCD	-	83	100	17	42	59
	Quizartinib	3.32	75	96	7	51	59
		6.63	63	60	24	43	67
		8.29	71	58	27	26	53
		10.4	65	54	21	29	50
		13.0	70	45	16	24	40
		16.2	68	43	27	60	87
		20.2	45	19	58	67	125
	BaP	1.2	39	24	178	232	410[b]

Report Title: AC010220 Mammalian Cell Mutation Test						Attachment Number: 4.2.3.3.1-2	
24-hour Treatment Without Activation	22% HPβCD	-	81	100	28	57	85
	Quizartinib	0.00894	76	87	34	49	82
		0.0179	87	84	30	74	103
		0.0358	101	77	37	61	98
		0.0506	77	52	46	50	96
		0.101	50	8.5[c]	43	71	114
		0.143	51	3[c]	66	65	131
	NQO	0.14	32	4	574	299	873[b]

BaP: Benzo[a]pyrene; DMSO: Dimethyl sulfoxide; GLP: Good Laboratory Practices; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; LC: Large colony; MF: Mutation frequency; NQO: 4-nitroquinoline N-oxide; PE: Plating efficiency; RTG: Relative total growth; SC: Small colony.
[a] Results from one replicate culture not included in the analysis as they were out of acceptance criteria.
[b] Positive response; substantial increase in mutation frequency over the concurrent vehicle control.
[c] Results demonstrate that even for this toxic dose level, no substantial increase in the mutation frequency over the concurrent vehicle control was obtained.

2.6.7.8.C. 染色体異常試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: AC010220 Chromosome Aberration Test			**Attachment Number:** 4.2.3.3.1-3	
Test for Induction of: Chromosome aberration			**No. of Independent Assays:** 1	
Strains: Human peripheral bood lymphocytes			**No. of Replicate Cultures:** 2	
Metabolizing System: 10% vol/vol phenobarbitol/5,6-benzoflavone induced rat liver S9 fraction			**No. of Cells Analyzed/Culture:** 100	
Vehicle for Test Article: 22% HPβCD	**Vehicle for Positive Controls:** Purified water		**GLP Compliance:** Yes	
Treatment: 4 hours (with and without activation); 21 hours (without activation)			**Date of Treatment:** [redacted]	
Cytotoxic Effects: A substantial reduction in the absolute number of analyzable metaphases was observed at the high dose for the 4-hour treatments.				
Genotoxic Effects: None				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/mL)**	**RMI (%)**	**% Aberrant**
4-hour Treatment Without Activation	22% HPβCD	-	100	0.5
	Quizartinib	40.0	65	1.0
		80.0	68	1.0
		160	59	0.0
		320	34	NA
	Mitomycin C	0.10	89	5.5*
4-hour Treatment With Activation	22% HPβCD	-	100	1.0
	Quizartinib	160	97	0.0
		320	102	0.5
		640[a]	81	0.0
		1280[a]	9	NA
	Cyclophosphamide	8.0	94	17.5**
21-hour Treatment Without Activation	22% HPβCD	-	100	0.5
	Quizartinib	5.00	72	1.0
		10.0	56	0.0
		20.0	44	1.0

Report Title: AC010220 Chromosome Aberration Test			Attachment Number: 4.2.3.3.1-3	
	Mitomycin C	0.10	50	11.5**

GLP: Good Laboratory Practices; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; NA: not assessable; RMI: relative mitotic index.
[a] Precipitate visible in culture medium.
*$P \leq 0.01$, **$P \leq 0.001$. Significantly different from control group (one-tailed Fisher's exact test).

2.6.7.9. In vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9.A. キザルチニブ単回投与後のラット骨髄を用いた小核試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: AC010220 Rat Micronucleus Test		**Attachment Number:** 4.2.3.3.2-1
Test for Induction of: Chromosome damage (micronucleated immature erythrocytes)	**Treatment Schedule:** Single dose	
Species/Strain: Rat/SD	**Sampling Time:** 24 or 48 hours after treatment	
Age: Males - 7 weeks; Females - 8 weeks	Method of Administration: Oral (gavage)	**GLP Compliance:** Yes
Cells Evaluated: Micronucleated immature and mature erythrocytes, and proportion of immature erythrocytes		**Vehicle/Formulation:** 5% HPβCD
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000		**Date of Dosing:** NR
Special Features: None		
Toxic/Cytotoxic Effects: Quizartinib administered at 100 mg/kg caused no significant clinical signs or mortalities. Bone marrow toxicity at the 48-hour sampling time was observed.		
Genotoxic Effects: None.		
Evidence of Exposure: Quizartinib showed a marginal but statistically significant decrease in the proportion of immature erythrocytes at the 48-hour sampling time for animals in the high dose group.		

Group Mean Micronucleus Test Results: Sampling Time - 24 Hours

Test Article	Dose (mg/kg)	Number of Animals	% IE/(IE + ME) (M)	% IE/(IE + ME) (F)	% IE/(IE + ME) (M+F)
Vehicle	0	5M/5F	47.0	44.6	45.8
Quizartinib	15	5M/5F	48.6	44.2	46.4
	50	5M/5F	52.9	45.6	49.2
	100	5M/5F	50.0	42.2	46.1
Cyclophosphamide	20	3M/3F	45.8	37.7	41.7

Test Article	Dose (mg/kg)	Number of Animals	Incidence MIE (M)	Incidence MIE (F)	Incidence MIE (M+F)	Incidence MME (M+F)
Vehicle	0	5M/5F	2.4	2.2	2.3	0.0
Quizartinib	15	5M/5F	2.8	2.2	2.5	0.0
	50	5M/5F	2.4	2.4	2.4	0.0
	100	5M/5F	1.8	1.6	1.7	0.0

Report Title: AC010220 Rat Micronucleus Test					**Attachment Number: 4.2.3.3.2-1**	
Cyclophosphamide	20	3M/3F	55.7[a, b]	23.3[b]	39.5	0.0

Group Mean Micronucleus Test Results: Sampling Time - 48 Hours					
Test Article	**Dose (mg/kg)**	**Number of Animals**	**% IE/(IE + ME) (M)**	**% IE/(IE + ME) (F)**	**% IE/(IE + ME) (M+F)**
Vehicle	0	5M/5F	51.0	44.8	47.9
Quizartinib	100	5M/5F	48.6	37.5	43.1[c, d]

Test Article	**Dose (mg/kg)**	**Number of Animals**	**Incidence MIE (M)**	**Incidence MIE (F)**	**Incidence MIE (M+F)**	**Incidence MME (M+F)**
Vehicle	0	5M/5F	3.2	2.2	2.7	0.3
Quizartinib	100	5M/5F	3.2	2.2	2.7	0.6

Group Mean Hematology Noteworthy Findings - Sampling Time 24 Hours								
Dose (mg/kg)	**0**		**15**		**50**		**100**	
Number of Animals	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Hematology								
% Reticulocyte	6.04	2.52	5.22	1.52	3.74	1.96	4.26	2.02
Reticulocyte count (10^9/L)	384.84	174.36	335.58	106.56	245.22	138.40	269.32	145.78

Group Mean Hematology Noteworthy Findings - Sampling Time 48 Hours				
Dose (mg/kg)	**0**		**100**	
Number of Animals	5/M	4/F	5/M	4/F
Hematology				
% Reticulocyte	5.74	2.68	2.68	1.35
Reticulocyte count (10^9/L)	370.34	185.53	139.72	62.68

F: Female; GLP; Good Laboratory Practices; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; IE: Immature erythrocyte; M: Male; ME: Mature erythrocyte; MIE: Micronucleated immature erythrocyte; MME: Micronucleated mature erythrocyte; NR: Not reported; SD: Sprague-Dawley.

[a] Analysis done using the following transformation: SQRT(N*V + 0.5), where N is the number of cells examined and where V is the proportion of MIEs.

[b] $P \leq 0.001$: Significantly different from negative control group value (one-sided probabilities test).

[c] Analysis done using rank transformation data.

[d] $P \leq 0.01$: Significantly different from negative control group value (one-sided probabilities test).

2.6.7.9.B. キザルチニブ 28 日間反復投与後のラット骨髄を用いた小核試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: Micronucleus Test Component of the Rat 28-Day Oral Toxicity Study					**Attachment Number: 4.2.3.3.2-2**	
Test for Induction of: Chromosome damage (micronucleated immature erythrocytes)			**Treatment Schedule:** Once daily for 28 days			
Species/Strain: Rat/SD			**Sampling Time:** 18 - 24 hours after last dose			
Age: 9-10 weeks			**Method of Administration:** Oral (gavage)		**GLP Compliance:** Yes	
Cells Evaluated: Micronucleated immature and mature erythrocytes, and proportion of immature erythrocytes			**Vehicle/Formulation:** 22% HPβCD			
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000				**Date of Dosing:** [redacted]		
Special Features: None						
Toxic/Cytotoxic Effects: None						
Genotoxic Effects: AC010220 showed a slight but statistically significant increase in the incidence of micronucleated immature erythrocytes. However, none of the individual values or the group means fell outside the historical control range. Therefore, genotoxicity of AC010220 is considered equivocal.						
Evidence of Exposure: NR						
Test Article	**Dose (mg/kg/day)**	**Number of Animals**	**% IE/(IE + ME)**	**Incidence MIE (M)**	**Incidence MIE (F)**	**Incidence MIE (M + F)**	**Incidence MME (M + F)**
Vehicle	0	5M/5F	40	1.4	1.6	1.5[a]	0.0
Quizartinib	5	5M/5F	44	2.0	1.0	1.5[a]	0.0
	15	5M/5F	37	4.0	5.2	4.6[a]	0.0
	60/30[b]	-	-	-	-	-	-
Cyclophosphamide	20	3M/3F	44	38.0[a]	19.0[a]	28.5	0.0

F: Female; GLP: Good Laboratory Practices; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; IE: Immature erythrocyte; M: Male; ME: Mature erythrocyte; MIE: Micronucleated immature erythrocytes; MME: Micronucleated mature erythrocytes; NR: Not reported; SD: Sprague-Dawley.
-: No result due to early termination.
[a] $P \leq 0.001$: Significantly dose-related increase (one-side probability test).
[b] The 60 mg/kg/day dose was reduced to 30 mg/kg/day due to mortalities. All surviving animals were terminated early due to mortalities and severe clinical signs at 30 mg/kg/day. Bone marrow samples were not available from this group for the micronucleus test.

2.6.7.10. がん原性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy findings (mg/kg/day)	Attachment Number
Rat/SD	Oral gavage (5% HPβCD/Suspension)	GD 6 to GD 17 (inclusive)	0, 1, 3, 10, and 20	3 - 5	Dam 10: Decreased body weight gains and lower food consumption 20: Adverse clinical findings Fetus 10: Increased post-implantation loss, fetal malformations, and lower fetal weights. 20: Total resorption	4.2.3.5.2-1

GD: Gestation day; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; SD: Sprague-Dawley.

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

該当する試験は実施していない。

2.6.7.13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: An Oral Embryo Fetal Development Toxicity Study of AC220 in the Rat				**Attachment Number: 4.2.3.5.2-2**	
Design similar to ICH S5(R2) 4.1.3: Yes		**Duration of Dosing:** 12 days (GD 6 to GD 17)		**GLP Compliance:** Yes	
Species/Strain: Rat/SD		**Day of Mating:** GD 0			
Initial Age: ≥10 weeks		**Day of C-section:** GD 21			
Date of First Dose: [redacted]		**Method of Administration:** Oral (gavage)			
		Vehicle/Formulation: 5% HPβCD/Suspension			
Special Features: Toxicokinetics study was done on GD 6 and GD17. Blood collection was done 1, 2, 4, 6, 8, and 24 h after dosing. **No Observed Adverse Effect Level:** Dams general toxicity and reproduction: 6 mg/kg/day Embryofetal development: 2 mg/kg/day					
Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (vehicle)**	**0.6**	**2**	**6**
Dams	**Toxicokinetics, Quizartinib:**				
	Number of animals	3	3	3	3
	Cmax (ng/mL)				
	GD 6	NA	56.3	224	1160
	GD 17		64.5	294	1770
	Tmax (h)				
	GD 6	NA	4	2	6
	GD 17		4	2	6
	AUC_{0-t} (ng·h/mL)				
	GD 6	NA	726	3290	17,200
	GD 17		993	4390	28,000
	Toxicokinetics, AC886:				
	Number of animals	3	3	3	3
	Cmax (ng/mL)				
	GD 6	NA	43.9	172	478
	GD 17		49.5	202	551
	Tmax (h)				
	GD 6	NA	2	4	6
	GD 17		6	4	6
	AUC_{0-t} (ng·h/mL)				
	GD 6	NA	601	2550	7160

Report Title: An Oral Embryo Fetal Development Toxicity Study of AC220 in the Rat					Attachment Number: 4.2.3.5.2-2
	GD 17		741	2710	9070
	No. of Pregnant	25	25	25	25
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	No. Aborted or With Total Resorption of Litter	1	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight (g) GD 18 [a]	399.3 [b]	393.8	394.7	389.9
	Body Weight Gain (g) GD 15 to GD 18 [a]	44.3 [b]	43.7	40.2	36.7*
	Food Consumption (g) GD 15 to GD 18 [a]	107.4 [b]	104.9	100.5	94.3**
	No. Litters Evaluated	25	25	25	25
	No. Corpora Lutea	16.0 [c]	15.9	16.4	16.6
	No. Implantations	13.4 [c]	13.8	13.9	14.3
	% Preimplantation Loss	15.30 [c]	12.33	14.55	13.72
Litters	**No. Litters Evaluated**	25	25	25	25
	No. Live Fetuses	12.6 [c]	12.8	13.2	13.2
	No. Resorptions	0.8 [c]	1.0	0.7	1.0
	No. Dead Fetuses	0.0 [c]	0.0	0.0	0.0
	No. of Litters with Dead Fetuses	0 [c]	0	0	0
	% Postimplantation Loss	8.32 [c]	7.16	5.22	7.00
	Fetal Body Weight (g)	5.887 [b]	5.937	5.694	5.146**
	Fetal Sex Ratios (% Males)	49.03 [b]	48.08	46.91	49.96
	No. Fetuses/Litters Examined (External)	316/24	320/25	330/25	331/25
	No. Fetuses/Litters Examined (Visceral)	158/24	161/25	165/25	165/25
	No. Fetuses/Litters Examined (Skeletal)	158/24	159/25	165/25	165/25
	Fetal Anomalies, No. of Fetuses (Litters)				
	Major Malformations	3 (3)	0 (0)	2 (2)	58 ### (11 #)
	Gross, subcutaneous edema over entire body (anasarca)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	58 ### (11 ###)
	Head, exencephaly	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	Palate, cleft palate	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Face, lower jaw reduced (mandibular micrognathia)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Face, upper jaw reduced (maxillary micrognathia)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Eye(s), eye(s) open	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)

Report Title: An Oral Embryo Fetal Development Toxicity Study of AC220 in the Rat					Attachment Number: 4.2.3.5.2-2
	Abdomen, abdominal organs eventrated (gastroschisis)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	Minor External and Visceral Anomalies	2 (2)	1 (1)	1 (1)	218 ### (23 ###)
	Face, protruding tongue	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Heart, innominate artery reduced	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	Heart, innominate artery absent	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
	Heart, malpositioned subclavian	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	Thorax, edema ventral cervical region	0 (0)	0 (0)	0 (0)	35 ### (9 ##)
	Ureter(s), ureter(s) dilated	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Limb(s), edema top of hindpaw(s)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	217 ### (23 ###)
	Minor Skeletal Anomalies	51 (19)	55 (23)	52 (21)	34 # (17)
	Skull, parietal bone(s): incomplete ossification	5 (5)	6 (5)	4 (2)	5 (2)
	Skull, parietal bone(s): absent	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Skull, frontal bone(s): incomplete ossification	1 (1)	0 (0)	2 (2)	9 # (7 #)
	Skull, interparietal bone: incomplete ossification	25 (12)	30 (13)	19 (9)	9 ##(6)
	Skull, supraoccipital bone: incomplete ossification	0 (0)	2 (2)	3 (2)	0 (0)
	Skull, supraoccipital bone: absent	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Skull, hyoid bone: unossified	2 (2)	2 (1)	0 (0)	0 (0)
	Skull, hyoid bone: incomplete ossification	7 (6)	21 ## (10)	12 (6)	3 (3)
	Skull, nasal bone and incisivum: shortened	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Skull, temporal bone(s): incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	Vertebral column, extra presacral vertebrae	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Vertebral column, lumbar centrum semi-bipartite	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (4)
	Vertebral column, ossification center on 1st lumbar or 14th thoracic vertebrae	26 (13)	17 (11)	29 (15)	9 ## (8)
	Vertebral column, thoracic vertebrae displaced left of mid line	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	Ribs, notched	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	Ribs, absent	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	Ribs, incomplete ossification	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Ribs, ossification center on 7th cervical vertebra	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
	Ribs, rudimentary 14th rib(s)	2 (2)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
	Ribs, Extra 14th rib(s)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Report Title: An Oral Embryo Fetal Development Toxicity Study of AC220 in the Rat					Attachment Number: 4.2.3.5.2-2
	Ribs, rudimentary 14th rib with contralateral ossification center	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	Limbs, femur: incomplete ossification	0 (0)	3 (3)	1 (1)	0 (0)

AUC_{0-t}: Area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time; Cmax: Maximum plasma concentration; GD: Gestation day; NA: not applicable; No.: Number; Tmax: Time to reach maximum plasma concentration; SD: Sprague-Dawley.
-: No toxicologically significant findings.
*$P \leq 0.01$, **$P \leq 0.001$: Significantly different from the control group (Dunnett test).
#$P \leq 0.05$, ##$P \leq 0.01$, ###P ≤ 0.001: Significantly different from the control group (Fisher's exact test).
[a] At the end of dosing period.
[b] Excluding animals with total resorption.
[c] Including animals with total resorption.

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

該当する試験は実施していない。

2.6.7.15. 新生児を用いた試験

2.6.7.15.A. 重要な試験以外の試験

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy findings (mg/kg/day)	Attachment Number
Rat/SD	Oral gavage (5% HPβCD/Suspension)	PND 10 to PND 28	0, 0.3, 1, and 3	8M 8F	No mortality ≥1: Decreased body weight, thymus and testis weights 3: Decreased food consumption (female), decreased WBC, RBC, HGB, and HCT; increased MCV and MCH	4.2.3.5.4-1

F: Female; HCT: Hematocrit; HGB: Hemoglobin; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M: Male; MCH: Mean corpuscular hemoglobin; MCV: Mean corpuscular volume; PND: postnatal day; RBC: Red blood cell; SD: Sprague-Dawley; WBC: White blood cell.

2.6.7.15.B. 幼若ラットを用いた 9 週間反復投与毒性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.5.4-2	
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)			**Duration of Dosing:** 9 weeks (from PND 10 to 70)					
Initial Age: PND 10			**Duration of Post-dose:** 6 weeks (from PND 71 to PND 112 ± 1)					
Date of First Dose: [redacted]			**Method of Administration:** Oral gavage					
			Vehicle/Formulation: 5% HPβCD/Suspension				**GLP Compliance:** Yes	
Special Features: Toxicokinetics analysis was performed on PND 10, 21, 56, and 70 (on PND 56 and 70, analysis was not performed in 10 mg/kg/day group due to their early termination). Blood collection was done 0 (not performed on PND 10), 2, 4, 8, and 24 h after dosing. Post dose recovery period (6 weeks) was set for Subset 2. **No Observed Adverse-Effect Level:** 0.3 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (vehicle)**		**0.3**		**3**		**10**	
Toxicokinetics								
Number of Animals	**M: 12**	**F: 12**	**M: 48**	**F: 48**	**M: 48**	**F: 48**	**M: 48**	**F: 48**
Analyte: Quizartinib								
Cmax (ng/mL)								
PND 10	NA	NA	33.8	29.0	340	386	1630	1490
PND 21	NA	NA	39.5	38.2	755	706	4450	4750
PND 56	NA	NA	34.4	602	481	557	NA	NA
PND 70	NA	NA	42.0	46.7	604	672	NA	NA
Tmax (h)								
PND 10	NA	NA	4	4	4	8	4	4
PND 21	NA	NA	8	2	2	2	8	4
PND 56	NA	NA	4	2	2	4	NA	NA
PND 70	NA	NA	4	2	4	2	NA	NA
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)								
PND 10	NA	NA	509	554	6970	7230	30,300	29,400
PND 21	NA	NA	605	501	8390	7870	79,800	66,800
PND 56	NA	NA	434	1600	5620	6700	NA	NA
PND 70	NA	NA	566	607	7910	8990	NA	NA
Analyte: AC886								
Cmax (ng/mL)								
PND 10	NA	NA	20.4	31.0	433	449	1380	1210
PND 21	NA	NA	36.1	28.3	477	405	2290	2530

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.5.4-2	
PND 56	NA	NA	20.5	295	281	290	NA	NA
PND 70	NA	NA	21.0	26.2	338	323	NA	NA
Tmax (h)								
PND 10	NA	NA	24	24	24	24	24	24
PND 21	NA	NA	8	4	2	2	8	4
PND 56	NA	NA	4	2	2	4	NA	NA
PND 70	NA	NA	4	4	4	4	NA	NA
AUC_{0-t} (ng·h/mL)								
PND 10	NA	NA	264	471	5920	6110	18,500	16,900
PND 21	NA	NA	577	159	5010	4780	51,100	45,300
PND 56	NA	NA	135	706	4240	4390	NA	NA
PND 70	NA	NA	307	364	4900	4390	NA	NA
Toxicity Examinations								
Number of Animals[a]	**M: 20/10/20**	**F: 20/10/20**	**M: 20/10/20**	**F: 20/10/20**	**M: 20/10/20**	**F: 20/10/20**	**M: 20/10/20**	**F: 20/10/20**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	1[b]	0	2[c]	0	1[d]	1[e]	25[f]	21[f]
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	f	f
Body Weight (g) [n]								
Subset 1: PND 70	417.8 [19]	255.2	444.8*	253.6	413.1	243.5 [19]	NA	NA
Subset 2: PND 70	436.4	251.0	477.1*	245.2	469.4*	255.0	NA	NA
PND 112 ± 1	563.1	294.8	609.3	287.0	595.9	280.2	NA	NA
Subset 3: PND 70	442.0	252.4	438.0	246.3	428.6	248.2	NA	NA
PND 98 or GD 13	560.8	341.4 [19]	561.6	327.8 [19]	541.2	336.6	NA	NA
Food Consumption (g/day) [n]								
Subset 1: PND 28 to 70	26.3	20.9	28.9**	19.4	25.3	19.2*	NA	NA
Subset 2: PND 28 to 70	28.2	19.6	30.4	19.2	29.2	20.3	NA	NA
PND 70 to 112	35.8	20.3	39.9**	21.0	32.3	18.8*	NA	NA
Subset 3: PND 28 to 70	29.5	20.2	28.3	20.3	28.4	21.9	NA	NA
GD 0 to 12	NA	28.2 [19]	NA	25.3 [19]	NA	26.6 [19]	NA	NA
Preweaning Developmental Observations (PND)								
Eye opening	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Acoustic startle	-	-	-	-	-	-	NA	NA

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							Attachment Number: 4.2.3.5.4-2	
Air righting reflex	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Pupil constriction	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Crown Rump Length (cm) [n]								
Subset 1: PND 21	9.0	8.9	8.8	8.8	8.5*	8.4**	NA	NA
PND 70	21.2 [19]	18.4	21.4	18.3	21.0	17.6** [19]	NA	NA
Subset 2: PND 21	8.8	9.0	9.0	8.6	8.6	8.6	NA	NA
PND 70	21.8	18.2	21.8	17.9	20.2**	17.4**	NA	NA
PND 112 ± 1	22.7	18.9	22.5	18.5	23.5	19.8*	NA	NA
Right Femur Length (mm) [n]								
PND 71	36.56 [19]	33.56 [18]	37.37	33.40	35.99 [18]	33.20 [17]	NA	NA
PND 112 ± 1	40.67	34.50	40.61	35.07 [9]	40.28 [6]	35.14 [9]	NA	NA
Sexual Maturation (PND)								
Preputial separation	-		-		-		NA	
Vaginal patency		-		-		-		NA
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Functional Observational Battery	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Motor Activity	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Acoustic Startle Habituation	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Morris Water Maze	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Estrous Cycle								
Estrous stages/14 days	NA	3.1	NA	3.2	NA	3.6	NA	NA
Mating and Fertility								
Days in cohabitation	3.4	3.4	3.5	3.5	2.2	2.2	NA	NA
No. rats mated (%)	19 (95.0)	19 (95.0)	20 (100.0)	20 (100.0)	20 (100.0)	20 (100.0)	NA	NA
No. rats pregnancies/mated	19/19	19/19	19/20	19/20	20/20	20/20	NA	NA
Fertility index (%)	100.0	100.0	95.0	95.0	100.0	100.0	NA	NA
No. rats pregnant/cohabitation (%)	19/20 (95.0)	19/20 (95.0)	19/20 (95.0)	19/20 (95.0)	20/20 (100.0)	20/20 (100.0)	NA	NA
Ovarian and Uterine Examinations								
No. pregnant (%)	NA	19 (95.0)	NA	19 (95.0)	NA	20 (100.0)	NA	NA
Mean No. corpora lutea	NA	18.0	NA	17.0	NA	18.3	NA	NA
Mean No. implantations	NA	17.2	NA	15.6	NA	17.0	NA	NA
Mean % preimplantation loss	NA	4.6	NA	7.9	NA	6.4	NA	NA

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.5.4-2	
Mean No. viable embryos	NA	16.8	NA	15.0*	NA	16.4	NA	NA
Maen No. nonviable embryos	NA	0.4	NA	0.6	NA	0.6	NA	NA
Mean % postimplantation loss	NA	2.6	NA	4.3	NA	3.6	NA	NA
No. dams with any nonviable embryos (%)	NA	6 (31.6)	NA	10 (52.6)	NA	9 (45.0)	NA	NA
No. dams with all nonviable embryos (%)	NA	0 (0.0)	NA	0 (0.0)	NA	0 (0.0)	NA	NA
No. dams with viable embryos (%)	NA	19 (100.0)	NA	19 (100.0)	NA	20 (100.0)	NA	NA
No. placentae appeared normal (%)	NA	19 (100.0)	NA	19 (100.0)	NA	20 (100.0)	NA	NA
Sperm Analysis [n]								
Motile%	86.7	NA	88.2	NA	90.7 [19]	NA	NA	NA
Sperm density (10^6 sperm/mL)	1623.97	NA	1716.34	NA	1563.26	NA	NA	NA
% abnormal	4.1	NA	3.2*	NA	2.8**	NA	NA	NA
Bone Densitometry [n]								
Bone mineral density (g/cm^2), Right femur								
PND 71	0.2047 [19]	0.2096 [18]	NE	NE	0.2016 [18]	0.2050 [17]	NA	NA
PND 112 ± 1	0.2809	0.2549	NE	NE	0.2780 [7]	0.2512 [9]	NA	NA
Immunophenotyping [n]								
PND 71								
Total T lymphocytes (CD3+)								
Absolute count (cells/µL)	6746.848 [18]	5465.866	6967.944 [18]	6576.821	5925.623 [19]	6176.486 [18]	NA	NA
Relative%	58.129 [18]	56.407	57.584 [18]	61.395*	63.655** [19]	62.746** [18]	NA	NA
Helper T lymphocytes (CD3+/CD4+)								
Absolute count (cells/µL)	5014.773 [18]	4234.091	5256.888 [18]	5178.500	4318.938 [19]	4798.798 [18]	NA	NA
Relative%	43.214 [18]	43.565	43.367 [18]	48.074*	46.199 [19]	48.092* [18]	NA	NA
Cytotoxic T lymphocytes (CD3+/CD8a+)								
Absolute count (cells/µL)	1956.601 [18]	1414.489	1998.383 [18]	1629.568	1898.093 [19]	1715.404 [18]	NA	NA
Relative%	16.846 [18]	14.762	16.588 [18]	15.553	20.557** [19]	17.904* [18]	NA	NA
B lymphocytes (CD3−/CD45RA+)								
Absolute count (cells/µL)	3766.633 [18]	3357.062	3988.402 [18]	3202.193	2569.027** [19]	2985.843 [18]	NA	NA
Relative%	31.922 [18]	34.198	32.564 [18]	30.084	27.859 [19]	29.113* [18]	NA	NA

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.5.4-2	
NK cells (CD3−/CD161a+)								
Absolute count (cells/μL)	402.486 [18]	323.291	460.077 [18]	326.167	239.984** [19]	209.237** [18]	NA	NA
Relative%	3.567 [18]	3.290	3.928 [18]	3.142	2.615* [19]	2.104** [18]	NA	NA
PND 112 ± 1								
Total T lymphocytes (CD3+)								
Absolute count (cells/μL)	5912.968	4832.834 [9]	5165.059	4887.383 [8]	3782.832**	4280.238	NA	NA
Relative%	57.964	63.296 [9]	56.523	60.879 [8]	54.403	57.499	NA	NA
Helper T lymphocytes (CD3+/CD4+)								
Absolute count (cells/μL)	4052.868	3525.093 [9]	3579.726	3555.156 [8]	2771.394**	3170.818	NA	NA
Relative%	39.627	46.168 [9]	39.134	44.330 [8]	39.935	42.545	NA	NA
Cytotoxic T lymphocytes (CD3+/CD8a+)								
Absolute count (cells/μL)	2083.762 [9]	1364.731 [8]	1845.878	1486.345 [8]	1149.986**	1223.886	NA	NA
Relative%	20.861 [9]	18.995 [8]	19.930	18.351 [8]	16.431**	16.442	NA	NA
B lymphocytes (CD3−/CD45RA+)								
Absolute count (cells/μL)	3288.673	2255.722 [9]	2969.148	2717.161 [8]	2556.355	2643.118	NA	NA
Relative%	32.318	28.764 [9]	31.890	31.445 [8]	36.414	34.870	NA	NA
NK cells (CD3−/CD161a+)								
Absolute count (cells/μL)	320.356 [9]	206.774 [8]	399.012	200.534 [8]	283.559	198.439	NA	NA
Relative%	3.257 [9]	2.940 [8]	5.072	2.654 [8]	4.137	2.727	NA	NA
Hematology [n]								
PND 71								
Red blood cell count (10^6/μL)	7.50 [19]	6.87	7.39	6.96	6.42**	6.23** [19]	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)	14.21 [19]	13.21	14.66	13.64	13.87	12.82 [19]	NA	NA
Hematocrit (%)	43.41 [19]	39.00	44.53	40.39	42.03	38.10 [19]	NA	NA
Mean corpuscular volume (fL)	57.93 [19]	56.79	60.23**	58.09*	65.47**	61.16** [19]	NA	NA
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	18.97 [19]	19.23	19.81**	19.62*	21.60**	20.57** [19]	NA	NA
Reticulocytes (10^9/L)	177.52 [19]	134.28	169.70	123.96	152.52#	111.77 [19]	NA	NA
White blood cell count (10^3/μL)	14.71 [19]	11.88	14.05	12.60	10.90**	11.23 [19]	NA	NA
Neutrophils (10^3/μL)	2.37 [19]	1.53	1.67*	1.35	1.18**	0.83# [19]	NA	NA
Lymphocytes (10^3/μL)	11.53 [19]	9.73	11.67	10.66	9.24**	9.95 [19]	NA	NA
PND 112 ± 1								

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.5.4-2	
Red blood cell count (10^6/μL)	8.06	6.52	7.80	7.22##	7.83	7.22##	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)	13.98	12.13	13.86	13.27#	14.30	13.54##	NA	NA
Hematocrit (%)	42.75	36.01	42.24	39.53	42.79	40.00#	NA	NA
Mean corpuscular volume (fL)	53.04	55.25	54.18	54.72	54.67	55.44	NA	NA
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.33	18.64	17.81	18.37	18.26**	18.75	NA	NA
Reticulocytes (10^9/L)	190.37	133.49	174.19	155.62	179.55	144.20	NA	NA
White blood cell count (10^3/μL)	14.79	10.27	14.29	10.46	9.72**	9.37	NA	NA
Neutrophils (10^3/μL)	3.87	2.24	4.48	1.85	2.20	1.39	NA	NA
Lymphocytes (10^3/μL)	10.21	7.67	9.13	8.18	6.98**	7.49	NA	NA
Coagulation								
PND 71	-	-	-	-	-	-	NA	NA
PND 112 ± 1	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Serum Chemistry [n]								
PND 71								
Blood urea nitrogen (mg/dL)	14.00 [19]	14.45	14.25	14.30	15.60*	17.42** [19]	NA	NA
Creatinine (mg/dL)	0.23 [19]	0.30	0.23	0.29	0.28**	0.31 [19]	NA	NA
PND 112 ± 1								
Blood urea nitrogen (mg/dL)	13.90	16.50	15.90	17.80	14.50	18.10	NA	NA
Creatinine (mg/dL)	0.27	0.35	0.30	0.35	0.31#	0.36	NA	NA
Urinalysis								
PND 71	-	-	-	-	-	-	NA	NA
PND 112 ± 1	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Organ Weight [number of animals examined]								
PND 71								
Absolute testis weight, Left (g)	1.78 [19]	NA	1.78	NA	1.66	NA	NA	NA
Relative testis weight, Left (%)	0.438 [19]	NA	0.410	NA	0.417	NA	NA	NA
Absolute testis weight, Right (g)	1.78 [19]	NA	1.75	NA	1.49**	NA	NA	NA
Relative testis weight, Right (%)	0.440 [19]	NA	0.405*	NA	0.374*	NA	NA	NA
Absolute epididymis weight, Left (g)	0.55 [19]	NA	0.50**	NA	0.40**	NA	NA	NA
Relative epididymis weight, Left (%)	0.135 [19]	NA	0.115**	NA	0.100**	NA	NA	NA
Absolute epididymis weight, Right (g)	0.56 [19]	NA	0.51*	NA	0.40**	NA	NA	NA

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							Attachment Number: 4.2.3.5.4-2	
Relative epididymis weight, Right (%)	0.138 [19]	NA	0.117**	NA	0.102**	NA	NA	NA
PND 112 ± 1								
Absolute testis weight, Left (g)	1.87	NA	1.97	NA	1.80	NA	NA	NA
Relative testis weight, Left (%)	0.333	NA	0.325	NA	0.304	NA	NA	NA
Absolute testis weight, Right (g)	1.91	NA	1.97	NA	1.80	NA	NA	NA
Relative testis weight, Right (%)	0.338	NA	0.325	NA	0.304	NA	NA	NA
Absolute epididymis weight, Left (g)	0.80	NA	0.80	NA	0.73*	NA	NA	NA
Relative epididymis weight, Left (%)	0.141	NA	0.130	NA	0.124*	NA	NA	NA
Absolute epididymis weight, Right (g)	0.78	NA	0.78	NA	0.73	NA	NA	NA
Relative epididymis weight, Right (%)	0.138	NA	0.128	NA	0.124	NA	NA	NA
Gross Pathology								
PND 71								
No. examined	19	NA	20	NA	20	NA	NA	NA
Testis, left, small/enlargement	0/0	NA	0/0	NA	4/3	NA	NA	NA
Testis, right, small/enlargement	0/0	NA	0/0	NA	2/1	NA	NA	NA
Epididymis, left, small	0	NA	0	NA	4	NA	NA	NA
Epididymis, right, small	0	NA	0	NA	4	NA	NA	NA
PND 112 ± 1								
No. examined	10	NA	10	NA	10	NA	NA	NA
Testis	-	NA	-	NA	-	NA	NA	NA
Epididymis	-	NA	-	NA	-	NA	NA	NA
Histopathology								
PND 71								
No. examined	19	20	20	20	20	19	NA	NA
Bone marrow, decreased cellularity	0	0	0	0	8+/2++	5+	NA	NA
Testis, left, degeneration/atrophy, tubular	0	NA	0	NA	2+/1++/4+++ /1+++++	NA	NA	NA
Testis, left, giant cells, multinucleated	0	NA	0	NA	3++	NA	NA	NA
Testis, left, dilatation, tubular	0	NA	0	NA	1+/3++	NA	NA	NA

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.5.4-2	
Testis, right, degeneration/atrophy, tubular	0	NA	0	NA	2+/1+++/2++ ++/1+++++	NA	NA	NA
Testis, right, giant cells, multinucleated	0	NA	0	NA	3++	NA	NA	NA
Testis, right, dilatation, tubular	0	NA	0	NA	1++	NA	NA	NA
Epididymis, left, reduced sperm, luminal	0	NA	0	NA	4++/3+++++	NA	NA	NA
Epididymis, right, reduced sperm, luminal	0	NA	0	NA	1++++ /3+++++	NA	NA	NA
PND 112 ± 1								
No. examined	10	10	10	9	10	10	NA	NA
Bone marrow, decreased cellularity	0	0	1+/1++	0	4+	0	NA	NA
Testis	-	NA	-	NA	-	NA	NA	NA
Epididymis	-	NA	-	NA	-	NA	NA	NA
Hematology (Group 4 Early Terminated)[g] [number of animals examined]								
Red blood cell count (10^6/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.45 [7] /1.28/2.57	1.57/1.03 /2.87
Hemoglobin (g/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.3 [7] /3.8/7.3	4.8/3.2 [4] /8.6
Hematocrit (%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	14.9 [7] /13.2/26.2	16.3/11.1 [4] /29.3
Mean corpuscular volume (fL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	102.8 [7] /101.8/102.4	103.1/100.0 /102.2
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	29.6 [7] /29.5/28.3	30.3/29.4 [4] /30.0
Mean corpuscular hemoglobin concentrartion (g/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	28.8 [7] /29.0/27.6	29.4/29.3 [4] /29.3
Reticulocytes (10^9/L)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	365.4 [7] /311.5/559.1	373.0/256.1 /590.9
Platelets (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	887 [7] /929/1616	902/649/1338
White blood cell count (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.98 [7] /1.97/4.13	2.64/2.66 /4.21
Neutrophils (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.18 [7] /0.23/0.18	0.18/0.15 /0.20
Lymphocytes (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.75 [7] /1.67/3.84	2.40/2.44 /3.85

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							**Attachment Number:** 4.2.3.5.4-2	
Monocytes (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.03 [7] /0.04/0.06	0.03/0.03 /0.09
Eosinophils (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.00 [7] /0.00/0.01	0.01/0.01 /0.01
Basophils (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.00 [7] /0.00/0.02	0.01/0.00 /0.01
Large unstained cells (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.01 [7] /0.02/0.03	0.02/0.03 /0.04
Coagulation (Group 4 Early Terminated)[g] [n]								
Activated partial thromboplastin time (sec)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12.7 [7] /12.8 [4] /17.1	13.2 [8] /12.8/15.5
Fibrinogen (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	220 [7] /233 [4] /234	243 [8] /241/250
Prothrombin time (sec)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	18.2 [7] /19.2 [4] /18.9	18.1 [8] /18.2/17.5
Serum Chemistry (Group 4 Early Terminated)[g] [n]								
Aspartate aminotransferase (U/L)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	116 [7] /114/124	120/108/109
Alanine aminotransferase (U/L)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	42 [7] /47/43	38/57/41
Alkaline phosphatase (U/L)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	493 [7] /425/376	396/424/411
Creatine kinase (U/L)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	190 [7] /251/441	275/207/465
Total bilirubin (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.18 [7] /0.11/0.15	0.18/0.23 /0.15
Blood urea nitrogen (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	19 [7] /29/14	19/38/18
Creatinine (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.1 [7] /0.2/0.2	0.2/0.2/0.2
Glucose (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	130 [7] /132/101	114/132/104
Total cholesterol (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	70 [7] /67/88	74/72/90
Triglycerides (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	90 [7] /193/139	102/306/98

Report Title: A 9-Week Oral Gavage Toxicity Study of Quizartinib with a 6-Week Recovery Period in Juvenile Rats							Attachment Number: 4.2.3.5.4-2	
Total protein (g/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.1 [7] /3.9/4.3	4.1/4.0/4.5
Albumin (g/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.6 [7] /2.4/2.7	2.6/2.5/2.8
Globulin (g/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.5 [7] /1.6/1.6	1.6/1.6/1.7
Albumin/globulin ratio	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.7 [7] /1.6/1.7	1.7/1.6/1.6
Calcium (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.3 [7] /9.4/9.6	9.5/9.6/9.8
Phosphorus (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.7 [7] /8.9/10.2	9.0/8.5/9.9
Sodium (mEq/L)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	137 [7] /137/138	137/136/137
Potassium (mEq/L)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.7 [7] /4.6/5.1	4.6/4.6/4.7
Chloride (mEq/L)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	104 [7] /104/101	104/104/100
Gross Pathology (Group 4 Died or Sacrificed Moribund by PND 32)								
No. examined	NA	NA	NA	NA	NA	NA	13	11
Thymus, small	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1
Histopathology (Group 4 Died or Sacrificed Moribund by PND 32)								
No. examined	NA	NA	NA	NA	NA	NA	13	11
Bone marrow, decreased cellularity	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1++++ /12+++++	11+++++
Testis, left, degeneration/atrophy, tubular	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1++	NA
Testis, left, giant cells, multinucleated	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1+	NA
Thymus, depletion, lymphoid	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4++	4++ [8]

AUC_{0-t}: Area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time (24 h); Cmax: Maximum plasma concentration; F: Female; GD: Gestational day; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M: Male; NA: Not applicable; NE: Not examined; PND: Postnatal day; SD: Sprague-Dawley; Tmax: Time to reach maximum plasma concentration.
-: No toxicologically significant findings; +: Minimal; ++: Mild; +++: Moderate; ++++: Marked; +++++: Severe.
[a]: Subset 1 (main) /Subset 2 (recovery) /Subset 3 (reproductive).
[b]: Found dead on PND 65. This animal had no adverse clinical observations and gained weight through PND 65. There were no histological findings to clarify the cause of death.
[c]: One animal was euthanized on PND 13 due to adverse clinical observations and was replaced. This animal had a swollen chest and neck on PND 13, probably secondary to an intubation accident. The other animal was found dead on PND 12. This animal had no adverse clinical observations and was gaining weight until PND 12.
[d]: Found dead on PND 17. The animal had no adverse clinical observations and was gaining weight until PND 16.
[e]: Found dead on PND 27. Necropsy revealed spongy lungs. The death was attributed to thrombosis in the heart with multiple septic emboli (abscess, thrombi, bacteria) in multiple

organs.
[f]: A total of 21 male and 18 female rats were found dead and 4 male and 3 female rats were euthanized due to adverse clinical observations. Prior to death, these rats generally had dehydration and/or hunched posture and may also have had one or more of the following: decreased motor activity, impaired (or lost) righting reflex, pale extremities, ataxia, urine-stained abdominal fur, cold to touch, abdominal distension, labored breathing, ungroomed coat, tip of tale black, ptosis and soft or liquid feces. The early mortality and moribundity of the Group 4 (10 mg/kg/day) animals was attributed to bone marrow toxicity manifested microscopically by marked to severely decreased cellularity. The early termination of the surviving Group 4 animals was considered to be test article-related.
[g]: Examined on PND 28 (8 rats)/30 (5 rats)/35 (4 rats) for males and on PND 29 (9 rats)/31 (5 rats)/36 (5 rats) for females.
* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$: Significantly different from control group (Dunnett test).
# $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$: Significantly different from control group (Dunn test).

2.6.7.16. 局所刺激性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.17. その他の毒性試験
2.6.7.17.A. 抗原性試験

Species/ Strain	Method of Administration	Doses	Number per Group and Gender	Noteworthy Findings	Attachment Number
Guinea pig/Hartley	Dermal, Once per week, for 3 consecutive weeks	100% (0.3 g/site)	10M 10F	Challenging with 100% quizartinib, no dermal reactions occurred. The dermal scores were limited to 0.	4.2.3.7.1-1

2.6.7.17.B. 不純物の毒性試験：ラット 28 日間反復経口投与毒性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: A 28-DAY ORAL GAVAGE TOXICITY STUDY OF AC220 IMPURITIES IN RATS					**Attachment Number:** 4.2.3.7.6-1			
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)			**Duration of Dosing:** 28 days					
Initial Age: 6 weeks			**Duration of Postdose:** None					
Date of First Dose: [redacted]			**Method of Administration:** Oral gavage					
			Vehicle/Formulation: 5% HPβCD/Suspension		**GLP Compliance:** Yes			
Special Features: Impurities included [redacted] A*, [redacted] B*, [redacted] C*, [redacted] D*, and [redacted] E*.								
Daily Dose (mg/kg/day) Quizartinib + Impurities	**0 + 0 (control)**		**5 + [redacted]**		**5 + [redacted]**		**5 + 0**	
Number of Animals	**M: 10**	**F:10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Red blood cell count (10^{12}/L)	8.461	8.153	7.460**	7.769*	7.501**	7.565**, ##	7.514**	8.022
Hemoglobin (g/dL)	15.90	15.89	15.40	15.57#	15.68	15.10**, ##	15.25	16.22
Hematocrit (%)	51.54	50.12	49.66	48.82#	50.16	47.59**, ##	48.45*	50.81
Reticulocytes (10^9/L)	182.24	145.00	149.48*	132.20	140.92**	116.75	144.16*	121.07
Mean corpuscular volume (fL)	60.94	61.48	66.62**, #	62.88	66.94**, ##	62.93	64.51**	63.37
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	18.80	19.49	20.66**	20.02	20.94**	19.99	20.31**	20.25
Neutrophils (10^9/L)	1.933	1.039	1.403	1.057	1.362*	0.840	1.297*	0.906
Eosinophils (10^9/L)	0.143	0.130	0.055**	0.091**	0.057**	0.070**	0.060**	0.082**
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspartate aminotransferase (U/L)	73.1	87.0	76.7	83.0	91.7**,##	103.8	76.5	85.8
Alkaline aminotransferase (U/L)	36.5	37.2	42.9	46.9	48.0**,#	65.1**	38.6	46.1
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights								
Spleen								
Absolute (g)	0.696	0.490	0.591	0.407**	0.568*, #	0.386**	0.697	0.430

Relative to Body Weight (%)	0.1901	0.2274	0.1573*	0.1917*	0.1514**, #	0.1780**	0.1816	0.2019
Testis								
Absolute (g)	3.485	NA	3.155**	NA	3.206*	NA	3.340	NA
Relative to Body Weight (%)	0.9484	NA	0.8436*	NA	0.8549*	NA	0.8748	NA
Thymus								
Absolute (g)	0.494	0.533	0.486	0.473	0.485	0.416	0.514	0.510
Relative to Body Weight (%)	0.1351	0.2465	0.1297	0.2207	0.1292	0.1920*	0.1335	0.2391
Histopathology								
Bone marrow, femur								
Cellularity, decreased	0	0	7+	6+	3+	7+/1++	4+	5+
Bone marrow, sternum								
Cellularity, decreased	0	0	10+	8+	4+/4++	6+/3++	5+/3++	9+

F: Female; HPβCD: 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M: Male; NA: not applicable.
*$P \leq 0.05$, **$P \leq 0.01$: Significantly different from the 0 + 0 group (Dunnett test).
#$P \leq 0.05$, ##$P \leq 0.01$: Significantly different from the 5 + 0 group (Dunnett test).
+: Minimal; ++: Mild.
-: No noteworthy findings.

2.6.7.17.C. 光毒性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of AC220 in Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts				**Attachment Number**: 4.2.3.7.7-1		
Strain: BALB/3T3 mouse fibroblasts (clone A31)		**No. of Independent Assays:** 3		**GLP Compliance:** Yes		
Cell Exposure: Approximately 2.5-hour exposure including incubation, UVA exposure, and other processing		**No. of Replicate Cultures:** Dose range finding: 75, Definitive: 77		**Vehicle:** 1% DMSO in DPBS		
UV irradiation: UVA: 5 J/cm^2, UVB: 18 mJ/cm^2		**Positive Control:** CPZ				
Special Features: Photo-Irradiation System: 6500W xenon arc solar simulator equipped with a 1 mm thick Schott WG 320 filter						
Conclusion: While the MPE for quizartinib was characterized as equivocal, an estimate of PIF was suggestive of a phototoxic potential according to the applicable guideline (OECD TG432) at that time. However, based on the criteria of the current applicable ICHS10 guideline, quizartinib was eventually concluded not to be phototoxic.						
Dose range findings study						
	Doses (mg/L)	**IC_{50} (−UVA cytotoxicity)**	**IC_{50} (+UVA phototoxicity)**	**PIF**	**MPE**	**Phototoxic potential[b]**
CPZ	0.1, 0.2, 1.0, 2.0, 10.0, 20.0, 40.0, 120.0	21.97 mg/L	0.9036 mg/L	24.34	0.354	Phototoxic
Quizartinib	0.00332, 0.0105, 0.0332, 0.105, 0.332, 1.05, 3.32, 10.5	not achieved	3.171 mg/L	>3.313 [a]	0.138	Probably phototoxic
Definitive study						
	Doses (mg/L)	**IC_{50} (-UVA cytotoxicity)**	**IC_{50} (+UVA phototoxicity)**	**PIF**	**MPE**	**Phototoxic potential[b]**
CPZ	0.1, 0.2, 1.0, 2.0, 10.0, 20.0, 40.0, 120.0	53.761 mg/L	1.151 mg/L	46.722	0.532	Phototoxic
Quizartinib Assay 1	0.18, 0.32, 0.56, 1.0, 1.78, 3.17, 5.64, 10.05	not achieved	6.041 mg/L	>1.664[a]	0.118	Phototoxic potential
Quizartinib Assay 2	0.18, 0.32, 0.56, 1.0, 1.78, 3.17, 5.64, 10.05	not achieved	6.766 mg/L	>1.489[a]	0.126	

CPZ: Chlorpromazine; DMSO: Dimethyl sulfoxide; DPBS: Dulbecco's phosphate buffered saline with Ca^+ and Mg^{2+}; PIF: Photo irritancy factor; MPE: Mean photo effect; UVA: Ultra violet A; UVB: Ultra violet B.
IC_{50}: Inhibitory Concentration; Criteria are 7.0 to 90.0 mg/L and 0.1 to 2.0 mg/L for cytotoxicity and phototoxicity, respectively.
[a]: As the IC_{50} (−UVA) for quizartinib was not achieved, >PIF index was calculated using the highest concentration tested in the assay.
[b]: Judgment per OECD TG432: non-phototoxic: MPE < 0.1, PIF ≤ 2; probably phototoxic: 0.1 < MPE < 0.15, 2 < PIF < 5; phototoxic: MPE > 0.15, PIF > 5.

2.6.7.17.D. 眼刺激性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

Report Title: An Acute Irritation Study of AC220 by Ocular Administration in Rabbits		**Attachment Number: 4.2.3.7.7-2**
Species/Strain: Rabbit/NZW	**Method of Administration:** Ocular, single	**GLP Compliance:** Yes
Initial Age: Approximately 20 weeks	**Number/Group/Gender:** 3/Females	**Dose:** 0.0354 g/eye
Special Features: The eyes were macroscopically examined for signs of irritation at 1, 24, 48, and 72 hours after dosing. Following macroscopic observations at the 24 hours scoring interval, the fluorescein examination was conducted.		

Animal ID	Scoring interval	Cornea			Iris		Conjunctivae				Total	Fluorescein examination	EEC criteria	Mean Ocular Score: 1 hour: 8.00 24 hours: 2.67 48 hours: 1.33 72 hours: 0.00 Kay and Calandra criteria: Mild irritant (2.50 ≤ Maximum mean score ≤ 14.99) EEC Ocular Evaluation criteria: Nonirritant (0.00 ≤ Conjunctival redness ≤ 2.49) FDA criteria: Equivocal (1 to 2 animals with a positive reaction)
		O	A	O×A×5	I	I×5	R	S	D	(R+S+D) ×2			Conjunctival redness	
No. 1	1 hour	0	0	0	0	0	2	2	2	12	12	NE	1.33	
	24 hours	0	0	0	0	0	2*	0	0	4	4	Negative		
	48 hours	0	0	0	0	0	2*	0	0	4	4	NE		
	72 hours	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NE		
No. 2	1 hour	0	0	0	0	0	2	0	2	8	8	NE	0.33	
	24 hours	0	0	0	0	0	1	0	0	2	2	Negative		
	48 hours	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NE		
	72 hours	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NE		
No. 3	1 hour	0	0	0	0	0	2	0	0	4	4	NE	0.33	
	24 hours	0	0	0	0	0	1	0	0	2	2	Negative		
	48 hours	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NE		
	72 hours	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NE		

A: Area involved; D: Discharge; I: Iritis; NE: Not examined; NZW: New Zealand White; O: Opacity; R: Redness; S: Swelling.
Kay and Calandra evaluation: The ocular irritation score for each parameter was multiplied by the appropriate factor and the totals added for each animal/interval. The group mean irritation score was then calculated for each scoring interval based on the number of animals initially dosed in each group.
EEC ocular evaluation: The total ocular irritation score for the 24, 48, and 72 hours intervals was individually added for corneal opacity, iris lesion, conjunctival redness, and conjunctival edema. The calculated mean scores were expressed individually.
FDA evaluation: An animal considered as exhibiting a positive reaction if the test article produced at any of the 24, 48, and 72 hours readings a positive effect (*).

2.6.7.17.E. 皮膚刺激性試験

Test Article: Quizartinib dihydrochloride

<table>
<tr><td colspan="7">Report Title: An Acute Skin Irritation Study of AC220 by Dermal Administration in Rabbits</td><td>Attachment Number: 4.2.3.7.7-3</td></tr>
<tr><td colspan="4">Species/Strain: Rabbit/NZW</td><td colspan="3">Method of Administration: Dermal, single</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="4">Initial Age: Approximately 20 weeks</td><td colspan="3">Dose: 0.57 g/site</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="4">Number/Group/Gender: 3/Males</td><td colspan="3">Duration of Exposure: 4 hours</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="8">Special Features: Quizartinib was moistened with an appropriate amount of RODI water (approximately 0.5 mL) and applied to a small area of intact skin on each test animal (approximately 1 inch × 1 inch). Scoring intervals were 1 hour after patch removal and 24, 48, and 72 hours after patch application.</td></tr>
<tr><td rowspan="4">Scoring Interval</td><td colspan="6">Dermal Irritation Score</td><td rowspan="5">EPA-FIFRA classification: PII: 0.83
0.00: Nonirritant

<u>0.01-1.99: Slight irritant</u>
2.00-5.00: Moderate irritant
5.01-8.00: Severe irritant

FDA-CPSC criteria:
<u>0.00-4.99: Nonirritant</u>
≥5.00: Primary irritant</td></tr>
<tr><td colspan="3">Erythema</td><td colspan="3">Edema</td></tr>
<tr><td colspan="3">Animal ID</td><td colspan="3">Animal ID</td></tr>
<tr><td>No. 1</td><td>No. 2</td><td>No. 3</td><td>No. 1</td><td>No. 2</td><td>No. 3</td></tr>
<tr><td>1-hour</td><td>2</td><td>2</td><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td></td></tr>
<tr><td>24-hour</td><td>1</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td></td></tr>
<tr><td>48-hour</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td></td></tr>
<tr><td>72-hour</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td></td></tr>
<tr><td>EEC Dermal Evaluation Criteria
Individual mean score</td><td>0.33</td><td>0.67</td><td>0.33</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td><u>0.00-1.99: Nonirritant</u>
2.00-4.00: Irritant</td></tr>
</table>

NZW: New Zealand White; PII: Primary irritation index; RODI: Reverse osmosis deionized.
EPA-FIFRA dermal irritation descriptive classification: The 1, 24, 48, and 72 hours erythema and edema scores for all animals were added and the total divided by the number of test sites × 4 to yield the PII.
FDA-CPSC dermal irritation evaluation: The 1- and 48-hour erythema and edema scores for both the intact and abraded test sites for all animals were added and the total divided by the number of test sites × 2 to yield the PII.
EEC dermal evaluation criteria: The 24, 48, and 72 hours scores were added separately for erythema and edema. For a group of 3 animals, the calculated mean scores were expressed individually.