2.6.6　毒性試験の概要文

目次

1.　まとめ 6
2.　単回投与毒性試験 12
2.1　マウス単回経口投与毒性試験（T17194） 13
2.2　ラット単回経口投与毒性試験（T17193） 13
3.　反復投与毒性試験 13
3.1　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（T16157） 13
3.2　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（T16193） 15
3.3　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（[redacted]-DA0061-0） 18
3.4　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（T16179） 22
3.5　イヌ 13 日間経口投与用量漸増試験（T8420） 25
3.6　イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（T8421） 27
3.7　イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（T8427） 29
3.8　イヌ 14 日間反復経口投与毒性予備試験（T8453） 31
3.9　イヌ 39 週反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（[redacted]-DA009-N0） 32
4.　遺伝毒性試験 38
4.1　In vitro 遺伝毒性試験 38
4.1.1　ネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験（T17192） 38
4.1.2　ほ乳類細胞を用いる in vitro 遺伝子突然変異試験（T17188） 38
4.2　In vivo 遺伝毒性試験 39
4.2.1　ラットを用いる in vivo 小核試験（T17266） 39
5.　癌原性試験 40
6.　生殖発生毒性試験 40
6.1　非妊娠ウサギにおける用量設定試験（参考資料 RF0470） 40
6.2　ウサギにおける胚・胎児発生に関する第 1 回予備試験（RF0480） 41
6.3　ウサギにおける胚・胎児発生に関する第 2 回予備試験（RF5400） 42
7.　局所刺激性試験 43
8.　その他の毒性試験 43
8.1　免疫毒性 43
8.2　代謝物 44
8.2.1　ヒト主要代謝物 MSC2571109A の毒性学的評価 44
8.2.2　主要なヒト代謝物 MSC2571109A の遺伝毒性試験（[redacted]-DA172-N0 及び[redacted]-DA192-N0） 45
8.3　不純物 45
8.3.1　不純物の毒性学的評価 45
8.3.2　不純物の遺伝毒性試験（1892303、8384519、1892302、[redacted]-DA0069-0、1892301、[redacted]-DA0064-0、1892304、8384520、T17453、T17452、参考資料 HX303） 47

8.4 光毒性 49
8.4.1 可視光分析による光毒性試験（参考資料 AN170002） 49
8.4.2 Balb/c 3T3 線維芽細胞を用いる in vitro ニュートラルレッド取り込み光毒性試験（70/484） 49
8.4.3 有色ラットを用いる in vivo 光毒性試験（20017987） 50
8.5 投与液の分析法、均一性、安定性（参考資料 TOX1-1[redacted]、参考資料 TOX1-1[redacted]、参考資料 TOX1-1-[redacted]-HS、参考資料 RF0570、参考資料 RF2410、参考資料[redacted]-DA0159-0） 51
9. 考察及び結論 51
10. 図表 54
11. 参考文献 54

表目次

表 1　テポチニブの毒性試験の概要 7
表 2　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（T16157）での投与 1 日及び 28 日の TK 測定結果 15
表 3　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（T16193）での投与 1 日及び 28 日の TK 測定結果 17
表 4　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（[redacted]-DA0061-0）での投与 1 日及び 28 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果 20
表 5　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（[redacted]-DA0061-0）での投与 1 日及び 28 日の血漿中 MSC2571109A 濃度測定結果 21
表 6　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（[redacted]-DA0061-0）での投与 1 日及び 28 日の血漿中 MSC2571107A 濃度測定結果 21
表 7　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験（T16179）での投与 1、28、91、182 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果 24
表 8　イヌ 13 日間経口投与用量漸増試験（T8420）の試験デザインの概略 25
表 9　イヌ 13 日間経口投与用量漸増試験（T8420）での血漿中テポチニブ濃度測定結果 26
表 10　イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（T8421）での投与 1 日及び 25 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果 28
表 11　イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（T8427）での投与 1、25 及び 88 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果 30
表 12　イヌ 14 日間反復経口投与毒性予備試験（T8453）での投与 1、7 及び 14 日の血漿中テポチニブ濃度 32
表 13　イヌ 39 週反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（[redacted]-DA009-N0）での投与 1、22、85、176 及び 267 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果 34
表 14　イヌ 39 週反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（[redacted]-DA009-N0）での投与 1、85 及び 267 日の血漿中テポチニブ、MSC2571109A 及び MSC2571107A 濃度の測定結果（[redacted]-GR108-V0） 35
表 15　イヌ 39 週反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（[redacted]-DA009-N0）での投与 39 週及び休薬 12 週の胆汁中及び肝臓組織中のテポチニブ、MSC2571109A 及び MSC2571107A 濃度の測定結果（[redacted]-GR019-P0） 37
表 16　ウサギにおける胚・胎児発生に関する第 1 回予備試験（RF0480）での妊娠 6 及び 18 日の血漿中テポチニブ濃度 42
表 17　ウサギにおける胚・胎児発生に関する第 2 回予備試験（RF5400）での妊娠 6 及び 18 日の血漿中テポチニブ濃度 43
表 18　ラット4 週間反復経口投与毒性試験（T16157 及び[redacted]-DA0061-0）のNOAEL から算出される不純物　不純物4*　、　不純物1*、　不純物2*　、　不純物3*　及び　不純物5* の最大許容量 47
表 19　不純物　不純物1*　、　不純物2*　　、　不純物3*　、　不純物4*　及び　不純物5*　の遺伝毒性試験概要 48
表 20　In vitro ニュートラルレッド取り込み光毒性試験（70/484）での細胞毒性のIC_{50} 値及び PFI 値 50
表 21　有色ラットを用いる in vivo 光毒性試験（20017987）での血漿中テポチニブ濃度測定結果 51

略語一覧

A/G	albumin/globulin	アルブミン/グロブリン比
ALB	albumin	アルブミン
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノ基転移酵素
AP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
AST	aspartate transaminase	アスパラギン酸アミノ基転移酵素
AUC	area under the concentration vs time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{24} , AUC_{0-24}	area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour	投与後 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{τ}	area under the concentration vs time curve within the dosing interval	投与後 0 時間から次の投与までの血漿中濃度-時間曲線下面積
CHOL	cholesterol	コレステロール
C_{max}	maximum concentration	血漿中最大濃度
CREA	creatinine	クレアチニン
DBIL	direct bilirubin	直接ビリルビン
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルフォキシド
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
ECG	electrocardiogram, elecrocardiography	心電図、心電図検査
Ex14	exon 14	エクソン 14
F	female	雌
γ-GT	gamma-glutamyl transpeptidase	γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
GLDH	glutamate dehydrogenase	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
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（に関する省令）
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IBIL	indirect bilirubin	間接ビリルビン
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements and Registration of Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限値

M	male	雄
MEC	molar extinction coefficients	モル吸光係数
MET	mesenchymal-epithelial transition factor	間葉上皮転換因子
MET	mesenchymal-epithelial transition factor gene	間葉上皮転換因子の遺伝子
*MET*ex14	exon 14 of *MET* gene	*MET* 遺伝子のエクソン 14 領域
MTD	maximun tolerated dose	最大耐量
N	number of animals	動物数
N.A.	not applicable	非該当
NC	not calculable	算出不能
NMT	not more than	許容上限値
NOAEL	no-observed-adverse-effect-level	無毒性量
NRU	neutral-red uptake	ニュートラルレッド色素の取り込み
NSCLC	non-small cell lung cancer	非小細胞肺癌
PBS	phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
PFI	photo-irritation factor	光毒性係数
SAR	structure-activity relationship	構造活性相関
SDH	sorbitol dehydrogenase	ソルビトール脱水素酵素
TBIL	total bilirubin	総ビリルビン
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
t_{max}	time to reach maximum concentration	最高血漿中濃度到達時間
TP	total protein	総蛋白質
TPPO	triphenylphosphine oxide	トリフェニルホスフィンオキシド
TRIG	triglyceride	トリグリセリド
UREA	urea	尿素
UV	ultraviolet light	紫外光
UV-A	ultraviolet A	紫外光 A 波
UVR	ultraviolet radiation	紫外光照射
UV/Vis	ultraviolet-visible light	紫外可視光

1. まとめ

テポチニブ（開発記号 EMD1214063 又は MSC2156119J）は、高度に選択的な間葉上皮転換因子（mesenchymal-epithelial transition factor; MET）阻害剤であり、MET チロシンキナーゼ受容体エクソン 14（Exon 14 of *MET* gene; *MET*ex14）のスキッピング変異を有する局所進行性又は転移性の非小細胞肺癌（non-small cell lung cancer; NSCLC）患者の治療に、単剤療法で使用される。テポチニブの推奨用量は 500 mg/日であり、フィルムコーティング錠の形で 1 日 1 回投与される。

テポチニブの製造販売承認申請のため、包括的な非臨床毒性試験プログラムを実施した。

本申請資料には、マウス及びラットの単回投与毒性試験、ラット及びイヌの反復投与毒性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、ウサギにおける生殖発生毒性試験、in vitro 及び in vivo 光毒性試験、主要なヒト血漿中代謝物の in vitro 遺伝毒性試験、並びに原薬不純物の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験が含まれる。

毒性試験に使用する動物種として、in vitro 代謝産物のヒトとの類似性に基づき、ラット及びイヌを選択した。動物種選択の妥当性は、その後の in vivo 代謝試験、及び反復投与毒性試験の代謝物の測定結果によっても確認された。特に、ヒトにおいて形成される主要な血漿中代謝物である MSC2571109A は、ラット及びイヌにも存在することが示されている。

重要な毒性試験は、全て GLP（Good Laboratory Practice）基準に準拠し、かつ医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonization of Technical Requirements and Registration of Pharmaceuticals for Human Use; ICH）ガイドライン、特に ICH M3「臨床試験のための非臨床試験の実施時期」、及び ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価」の規定に従って実施した。

治験及び予定の臨床用法に倣って、in vivo 毒性試験は 1 日 1 回の経口投与により実施した。

単回経口投与毒性試験はマウス及びラットを用いて実施した。また、ICH M3 ガイドラインに従い、イヌの急性毒性に関する情報は、短期の用量漸増試験から得た。

反復投与毒性試験として、亜急性毒性試験（4 週間反復経口投与）、亜慢性毒性試験（13 週間反復経口投与）および慢性毒性試験（ラットで 26 週間反復経口投与、及びイヌで 39 週間反復経口投与）を実施し、各試験で TK（toxicokinetics）及び回復性の評価を実施した。ICH S9 及び S7A「安全性薬理試験ガイドライン」に従って、心血管系の安全性薬理学的検査項目を、イヌの反復経口投与毒性試験にも含めて測定、評価した。

生殖及び発生毒性については、テポチニブの胚・胎児毒性を、ウサギにおける胚・胎児発生毒性試験により評価した。テポチニブの想定適応症が進行癌であることから、ICH S9 ガイドラインに基づき、受胎能及び初期胚発生に関する試験、並びに出生前及び出生後の発生並びに母胎の機能に関する試験は実施しなかった。反復投与毒性試験での生殖器官の病理組織学的検査を、テポチニブの受胎能に及ぼす影響の評価に使用した。さらに、ラット 26 週間反復投与毒性試験の投与期間の終わりに、全ての雄ラットについて精子の形態及び運動性の検査を行った。

テポチニブは小児患者への使用を意図していないため、幼若動物での毒性試験は実施していない。

ラットの反復経口投与毒性試験、及びウサギを用いる胚・胎児発生毒性試験では、テポチニブを 0.25%ヒドロキシメチルセルロース水溶液に懸濁して強制経口投与した。イヌの試験では、テポチニブ原末を硬ゼラチンカプセルに充填して、強制経口投与した。

遺伝毒性試験として、複数のネズミチフス菌株及び大腸菌 WP2*uvrA* 株を用いた in vitro 復帰突然変異試験、ほ乳類（マウスリンパ腫）細胞を用いた in vitro 遺伝子突然変異試験、及びラット骨髄細胞を用いた in vivo 小核試験を実施した。

テポチニブは錠剤の形で経口投与されるため、局所刺激性試験は実施しなかった。ラット及びイヌの消化器系への影響については、それぞれの反復経口投与毒性試験の項（3 項）に記載した。

テポチニブの免疫系への影響の有無については、ラット及びイヌの反復投与毒性試験で得られた情報から評価した。

主要なヒト血漿中代謝物 MSC2571109A の遺伝毒性の有無を評価するため、この代謝物を用いて遺伝毒性試験を実施した。

原薬中に存在する可能性のある不純物について、in silico 構造活性相関（structure-activity relationship; SAR）評価（Bringezu 2019）により変異原性を有する可能性を評価し、ICH M7（R1）「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA（deoxyribonucleic acid）反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」に従って、その規格値を設定した。

さらに、原薬及び製剤中に 特定された全ての不純物について、必要な毒性試験を実施し、臨床試験の結果も踏まえてその安全性を検討した。この検討結果は、各々の特定された不純物についての規格値の設定に使用した。

また、テポチニブの光毒性の評価として、テポチニブ原薬の紫外光及び可視光吸収の評価、マウス線維芽細胞（BALB/c 3T3 細胞）を用いた in vitro 光毒性試験、及び有色ラットを用いた in vivo 光毒性試験を実施した。

一連の非臨床毒性試験の中で、幾つかの異なるバッチのテポチニブ原薬を使用した（CTD2.6.7、4 項参照）。直近に実施したイヌを用いた 14 日間投与の経口ブリッジング試験、それに続くイヌ 39 週間反復投与毒性試験、最後のラット 4 週間反復投与毒性試験、有色ラット単回投与光毒性試験、ウサギ胚・胎児発生毒性試験では、微粉化原薬を使用したが、その他の全ての試験では、非微粉化原薬を使用した（表 1）。臨床試験では、微粉化したテポチニブを摂食状態で経口投与すると、曝露量及び生物学的利用能が増加することが示されている（CTD2.7.2、2.1 項参照）。また、非臨床試験で微粉化原薬を経口投与した場合にも、一般に、吸収率が改善されることが示されている（CTD2.6.4、3.4 項参照）。

テポチニブについて実施された毒性試験の一覧を表 1 に示す。

表 1　　テポチニブの毒性試験の概要

Study type and duration	Species, strain/ Test system	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study number
Single-dose toxicity					
Single dose	Mouse, Crl:NMRI BR	Oral, gavage	2000	Yes	T17194
Single dose	Rat, Wistar HsdCpb:WU	Oral, gavage	2000	Yes	T17193

Study type and duration	Species, strain/ Test system	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study number
Repeat-dose toxicity					
4 weeks + 4-week recovery	Rat, Wistar HsdCpb:WU	Oral, gavage, once daily	0, 3, 10, 30, 90	Yes	T16157
4 weeks + 4-week recovery	Rat, Wistar HsdCpb:WU	Oral, gavage, once daily	0,30, 90, 270	Yes	T16193
4 weeks	Rat, Wistar HsdCpb:WU	Oral, gavage, once daily	0, 30, 90, 450 and 2000 (micronized)	Yes	[redacted]-DA0061-0
26 weeks + 8-week recovery	Rat, Crl:WI (Han)	Oral, gavage, once daily	0.15, 45, 135	Yes	T16179
Up to 13 days	Dog, Beagle	Oral capsules, once daily	1, 5, 30, 45, 90, 180	Yes[a]	T 8420
4 weeks + 8-week recovery	Dog, Beagle	Oral, capsules, once daily	0, 2.5, 10, 40	Yes[b]	T8421
13 weeks + 12-week recovery	Dog, Beagle	Oral, capsules; once daily	0, 3, 10, 30	Yes	T8427
14 days	Dog, Beagle	Oral, capsules, once daily	10, 40, 160/120 (micronized)	Yes	T8453
39 weeks + 12-week recovery	Dog, Beagle	Oral, capsules, once daily	0, 3, 10, 30 (micronized)	Yes[c]	[redacted]-DA009-N0
Genotoxicity					
Bacterial mutagenicity assay	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	5.0 to 5000 µg/plate	Yes	T17192
Mammalian cell gene mutation test	L5178Y mouse lymphoma cells	In vitro	0.158 to 50.0 µg/mL	Yes	T17188
Micronucleus test, Single dose	Rat, Wistar HsdCpb:WU	Oral, gavage	667, 1333, 2000	Yes	T17266
Reproductive and developmental toxicity					
13 days	Rabbit, New Zealand White	Oral, gavage, once daily	150, 300, 600	No[c]	RF0470 (参考資料)
Embryo-fetal development study, Gestation days 6 to 18	Rabbit, New Zealand White	Oral, gavage, once daily	0, 50, 150, 450 (micronized)	Yes	RF0480
Embryo-fetal development study, Gestation days 6 to 18	Rabbit, New Zealand White	Oral, gavage, once daily	0, 0.5, 5, 25 (micronized)	Yes	RF5400
Other toxicity studies					
Metabolites (Major circulating human metabolite MSC2571109A)					
Bacterial mutagenicity assay	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	MSC2571109A 2.81 to 1580 µg/plate	Yes	[redacted]-DA172-N0

Study type and duration	Species, strain/ Test system	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study number
Mammalian cell gene mutation test	L5178Y mouse lymphoma cells	In vitro	MSC2571109A 0.889 to 88.9 µg/mL	Yes	[redacted]-DA192-N0
Impurities					
Genotoxicity of 不純物1*					
Bacterial mutagenicity assay	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	不純物1*: 0.3 to 5000 µg/plate	Yes	1892303
Chromosomal aberration	Human lymphocytes	In vitro	不純物1*: 0.5 to 20 µg/mL	Yes	8384519
Genotoxicity of 不純物2*					
Bacterial mutagenicity assay	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	3 to 5000 µg/plate	Yes	1892302
Chromosomal aberration	Human lymphocytes	In vitro	0.975 to 62.5 µg/mL	Yes	[redacted]-DA0069-0
Genotoxicity of 不純物3*					
Bacterial mutagenicity assay	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	不純物3*: 3 to 5000 µg/plate	Yes	1892301
Chromosomal aberration	Human lymphocytes	In vitro	不純物3*: 0.975 to 15.6 µg/mL	Yes	[redacted]-DA0064-0
Genotoxicity of 不純物4*					
Bacterial mutagenicity assay	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	不純物4*: 3 to 5000 µg/plate	Yes	1892304
Chromosomal aberration	Human lymphocytes	In vitro	不純物4*: 0.25 to 30 µg/mL	Yes	8384520
Genotoxicity of 不純物5* (不純物6*)					
Bacterial mutagenicity assay	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	不純物5*: 1.58 to 1580 µg/plate	Yes	T17453
In vitro micronucleus test	V79 Chinese hamster cells	In vitro	不純物5*: 1.58 to 50 µg/mL	Yes	T17452
In vivo Comet assay	Rat, Sprague Dawley	Oral, gavage, once daily for 2 days	不純物5*: 125, 250, 500, 1000	Yes	HX303 (参考資料)
Phototoxicity					
UV/Vis analysis	UV/Vis absorption spectrum	N.A.	N.A.	No[c]	AN170002 (参考資料)
In vitro phototoxicity test	Balb/c 3T3 fibroblasts	In vitro	1 to 100 µg/mL	Yes	70/484
Single dose phototoxicity study	Rat, Crl:LE	Oral, gavage	0, 500, 1000, 1500 (micronized)	Yes	20017987

Study type and duration	Species, strain/ Test system	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study number
Other toxicity studies: Analytical method, homogeneity and stability of formulations					
Analytical method	N.A.	[redacted]	Range of calibration 0.025 – 0.25 mg/mL	Nod	TOX1-1/[redacted] (参考資料)
Analytical method implementation	N.A.	[redacted]	Range of calibration 0.025 – 0.25 mg/mL	Nod	TOX1-1/[redacted] (参考資料)
Homogeneity and Stability	N.A.	[redacted]	0.3, 5.0 and 20.0 mg/mL	Nod	TOX1-1-[redacted] HS (参考資料)
Analytical method validation	N.A.	[redacted]	50 mg/mL	Yes	RF0570 (参考資料)
Homogeneity and Stability	N.A.	[redacted]	0.3 mg/mL to 120 mg/mL	Yes	RF2410 (参考資料)
Homogeneity and Stability	N.A.	[redacted]	200 mg/mL	Yes	[redacted]-DA0159-0 (参考資料)

Source: Study Reports T17193; T17194; T16157; T16193; [redacted]-DA0061-0; T16179; T 8420; T 8421; T8427; T8453; [redacted] DA009 N0; T17192; T17188; T17266; RF0470; RF0480; RF5400; AN170002; 70/484; 20017987; [redacted]-DA172-N0; [redacted]-DA192-N0; T17453; T17452; HX303; 1892304; 8384520; 1892301; [redacted]-DA0064-0; 1892303; 8384519; 1892302; [redacted]-DA0069-0; TOX1-1/[redacted]; TOX1-1/[redacted]; TOX1-1-[redacted] HS; RF0570 and RF2410.

HPLC-UV: High performance liquid chromatography with UV detector; LE: Long Evans; N.A.: Not applicable.

a: Bioanalytical and toxicokinetic analyses were performed as non-GLP evaluations.

b: Exploratory analyses of tepotinib concentrations in kidney, liver and bile were performed as non-GLP evaluations.

c: Statistical analysis of heart rate, ECG parameters, blood pressure were not conducted under GLP, but in accordance with good scientific practices and internal quality standards.

d: Study conducted in accordance with good scientific practices and internal quality standards.

テポチニブのラット及びマウスでの急性毒性は非常に弱く、2000 mg/kg の用量を単回経口投与した後の 15 日間の観察期間中に、死亡は観察されなかった。従って、概略の致死量は、両種とも 2000 mg/kg 超であった。イヌは、短期の用量漸増経口投与毒性試験において、45 mg/kg/日までの用量では良好な忍容性を示したが、90 および 180 mg/kg/日の用量では、摂餌量及び体重の減少を認めた。

ラット及びイヌの反復投与毒性試験では、テポチニブ投与に起因した死亡は観察されなかった。

初期に実施したラットの反復投与毒性試験では、最高で 270 mg/kg/日までの投与量が用いられ、無毒性量（no-observed-adverse-effect-level; NOAEL）は、2 つの 4 週間反復投与毒性試験で 90 mg/kg/日、26 週間反復投与毒性試験においては 45 mg/kg/日であった。この中での最高用量であった 270 mg/kg/日まで明白な毒性徴候は見られず、最大耐量は確認されなかった。病理組織学的検査では、軽度の肝細胞肥大、軽微～軽度の甲状腺濾胞上皮の活性化、及び腸間膜リンパ節でのマクロファージの集簇が、4 週間反復投与毒性試験では 270 mg/kg/日群で、26 週間反復投与毒性試験では 135 mg/kg/日群で認められた。さらに、4 週間反復投与毒性試験の 90 及び 270 mg/kg/日群、並びに 26 週間反復投与毒性試験の 45 及び 135 mg/kg/日群の一部の雌ラットでは、肺胞マクロファージ（泡沫細胞）の集簇が観察された。肺及び腸間膜リンパ節におけるマクロファージ集簇は可逆的であり、いかなる炎症反応も伴っていなかった。従って、この変化は毒性ではなく、反応性の現象と考えられた。ラットの全ての

反復投与毒性試験において、肝酵素値の軽度ながら用量依存的な増加が観察された。雌ラットで観察された甲状腺の活性化を除き、観察された全ての変化について、回復性あるいは回復傾向が確認された。甲状腺の活性化は、生体異物による肝細胞での代謝亢進に関係して起こることが知られている二次的な代償性の現象である。

最大耐量を求める目的で、テポチニブ開発の後期段階に、ラット4週間反復投与毒性試験の追加試験を実施した（報告書番号 [redacted]-DA0061-0）。さらに、この試験では、4 種の原薬不純物（ 不純物1*、不純物2* 、 不純物3* 及び 不純物5* ）の安全性を担保するため、それらの不純物を一定量含んだ原薬を使用した。また、主要なヒト代謝物であるMSC2571109Aの血漿中濃度を測定して、この代謝物がラットで作られているかを調べた。試験する上限である 2000 mg/kg/日の用量ではラットは忍容性を示さず、投与開始後約 1 週間で動物は安楽死させた。2000 mg/kg/日群の動物の剖検では、胃の極端な膨満と、内容物が粘液のみとなった腸が観察された。次に高い投与量であった 450 mg/kg/日では、明白な毒性兆候は認められず、この用量がこの試験の最大耐量（maximun tolerated dose; MTD）と判断された。しかし、450 および 2000 mg/kg/日の両用量で、投与に起因した病理組織学的所見が複数の臓器で認められた。このうち、肺の炎症を伴った肺胞泡沫細胞（マクロファージ）の集簇、肝臓での肝細胞壊死及び単核球の浸潤、並びに大腸での上皮又は粘膜固有層の顆粒球浸潤を伴った単細胞壊死は毒性変化と判断された。肺での肺胞泡沫細胞の集簇は、先に実施したラットの反復投与毒性試験でも認められていたが、この試験では、泡沫マクロファージが見られる領域に、わずかながら炎症反応を示す混合性の炎症性細胞浸潤が認められたことから、この試験の所見は毒性と判断した。しかし、この所見は、比較的高い投与量である 450 mg/kg/日を投与した際の、代謝的過負荷の続発症である可能性が高いと考えられる。先に実施したラットの反復投与毒性試験で観察された所見と同様の、軽微な非有害病変が見られたのみであった 90 mg/kg/日が、この試験の NOAEL と判断された。

イヌの全ての反復投与毒性試験で消化器症状が観察された。すなわち、4 週間反復投与毒性試験では 2.5 mg/kg/日以上の用量で、13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では 3 mg/kg/日以上の用量で消化器症状が発現した。この消化器症状には、用量依存的に頻度と重症度が高まる嘔吐、軟便及び血液の混じった粘液便が含まれ、体重減少及び摂餌量の減少を伴っていた。いずれのイヌの毒性試験においても、肝胆道系が毒性の主要な標的器官であることが示された。イヌの 4 週間及び 39 週間反復投与毒性試験での主な所見は、肝臓における炎症性細胞浸潤を伴った肝・胆道系酵素の上昇、並びに顕著な胆管炎及び胆管周囲炎であった。NOAEL は 4 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では 10 mg/kg/日、13 週間反復投与毒性試験では 30 mg/kg/日と判断された。

テポチニブは、細菌又は哺乳類細胞を用いる 2 つの in vitro 試験、及びラット in vivo 小核試験において遺伝毒性を示さなかった。

本剤の適応は進行癌であることから、ICH S9 ガイドラインに従って、癌原性試験は実施しなかった。

ウサギの胚・胎児発生に関する 2 つの予備試験で、母動物に対する毒性が 50 mg/kg/日以上の用量で見られ、胎児に対しては、用量依存的な骨格異常の数の増加（催奇形性）が 5 mg/kg/日以上の用量で認められた。これらの結果は、テポチニブが催奇形性を有すると結論づけるのに十分であると考えられ、ICH S9 ガイドラインに関する質疑応答集（Step 4、2018）に従って、それ以上の胚・胎児発生に関する試験は実施しなかった。

テポチニブの適応が進行癌であることから、ICH S9 ガイドラインに従って、受胎能及び初期胚発生に関する試験、並びに出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない。

テポチニブの反復投与毒性試験では、生殖器官への有害な影響は見られていないことから、受胎能に障害を及ぼす可能性は示唆されていない。

標準的な血液学的検査及び血液生化学的検査、リンパ系器官（胸腺、脾臓、及び各リンパ節）の絶対及び体重比臓器重量並びに病理組織学的検査を含む、ラット及びイヌの反復投与毒性試験の成績は、テポチニブの免疫毒性を示唆していない。

主要なヒト循環代謝物の一つである MSC2571109A は、キラル代謝物 M506（MSC2569775）の R-鏡像異性体であるが、ラット及びイヌにも認められ、ラット及びイヌがヒトの安全性評価に適切な動物種であることも確認された。ICH S9 ガイドラインではヒト代謝物に関する追加の毒性試験を求めていないが、MSC2571109A を用いた in vitro 安全性薬理試験（CTD2.6.2、4.3 項参照）及び遺伝毒性試験を追加実施した結果、MSC2571109A には非特異的な作用、循環器への影響、或いは遺伝毒性がないことが示された。

原薬中に存在する可能性のある不純物について、in silico SAR 評価（Bringezu 2019）により遺伝毒性を評価し、原薬中に検出される不純物についての規格値を ICH M7（R1）ガイドラインに従って設定した。

実生産用の合成経路で製造されたテポチニブ原薬では、7 種類の有機不純物が検出・同定された。特定された全ての不純物について、変異原性及び DNA 反応性に関する in silico SAR 評価、又はこれら不純物を用いて遺伝毒性試験を実施した結果、これらの不純物はいずれも遺伝毒性を有しないことが示された。さらに、これらの不純物を一定量含んだ原薬を用いて実施した反復投与毒性試験の結果に基づき、これら不純物についての現在の規格値は、毒性学的観点から問題ないと考えられる。

原薬に見られる不純物以外に、製剤には新たな不純物は観察されていない。さらに、本薬に使用されている全ての添加剤は、医薬品に使用された経験が豊富にあるものであり、全て日本薬局方、又は医薬品添加物規格に収載されている。

紫外線吸収帯及びモル吸光係数、並びに in vitro 光毒性試験の結果は、テポチニブの光毒性の可能性を疑わせるものであった。しかし、有色ラットに 1500 mg/kg までの用量でテポチニブを単回経口投与した in vivo 光毒性試験の結果により、テポチニブが光毒性を有しないことが確認された。

2.　単回投与毒性試験

単回経口投与毒性試験をマウス及びラットで実施した。また、ICH M3 ガイドラインに従って、イヌでの急性毒性に関する情報を短期経口投与用量漸増試験（3.5 項）から得た。この結果、45 mg/kg/日の用量はイヌで臨床的な忍容性があったが、90 及び 180 mg/kg/日の用量では摂餌量と体重の減少が認められた。従って、この試験では 45 mg/kg/日がイヌでの MTD と判断された。

2.1 マウス単回経口投与毒性試験（T17194）

概要表 2.6.7、5、添付資料番号：4.2.3.1.1

本 GLP 準拠試験では、6 匹（雌雄各 3 匹）の Crl:NMRI BR マウスに、テポチニブを 2000 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 15 日間観察した。被験物質は、投与直前に媒体である 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（Methocel® K4M Premium）水溶液に懸濁して調製した。

試験期間中に死亡はなく、2000 mg/kg 投与後に毒性症状は観察されなかった。体重にも投与の影響は認められなかった。剖検では臓器の変化は見られなかった。

試験を通して、テポチニブはいかなる毒性も示さず、テポチニブのマウス単回経口投与における概略の致死量は、雌雄共に 2000 mg/kg を超えると考えられた。

2.2 ラット単回経口投与毒性試験（T17193）

概要表 2.6.7、5、添付資料番号：4.2.3.1.2

本 GLP 準拠試験では、6 匹（雌雄各 3 匹）の Wistar HsdCpb: WU ラットに、テポチニブを 2000 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 15 日間観察した。被験物質は、投与直前に媒体である 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液に懸濁して調製した。

試験期間中に死亡はなく、2000 mg/kg 投与後に毒性症状は観察されなかった。体重にも投与の影響は認められなかった。剖検では臓器の変化は見られなかった。

試験を通して、テポチニブはいかなる毒性も示さず、テポチニブのラット単回経口投与における概略の致死量は、雌雄共に 2000 mg/kg を超えると考えられた。

3. 反復投与毒性試験

テポチニブの反復投与毒性試験では、ラットで最大 26 週間、イヌで最大 39 週間、連日 1 日 1 回強制経口投与した。また、イヌの 4 週間反復経口投与毒性試験の用量設定のために、事前にイヌの用量漸増試験を実施した。ラットの試験では、溶媒として 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液を使用した。イヌの試験では、テポチニブ原末を硬ゼラチンカプセルに充填して投与した。

一連の毒性試験を実施する中で、粒子径の異なる複数の原薬バッチのテポチニブを使用した（CTD2.6.7、4 項参照）。イヌ 14 日間反復経口投与ブリッジング試験、イヌ 39 週間反復経口投与試験、及び MTD の特定を目的として最後に実施したラット 4 週間反復経口投与毒性試験では微粉化原薬を使用したが、その他の全ての反復投与毒性試験では非微粉化原薬を使用した。

3.1 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（T16157）

概要表 2.6.7、7A、添付資料番号：4.2.3.2.1

本 GLP 準拠試験では、1 群雌雄各 15 匹の Wistar（HsdCpb:WU）ラットに、テポチニブ（非微粉化）を 0、3、10、30 又は 90 mg/kg/日の用量で 4 週間連日強制経口投与した。このうち 1 群雌雄各 5 匹については、投与期間終了後に 4 週間の休薬期間を設けた。対照群には、溶媒である 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液を投与した。加えて、1 群雌雄各 3 匹のサテライト動物を使用して、TK 評価を行った。

毒性評価は、一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床病理学的検査（免疫細胞表現型検査を含む）、剖検並びに病理組織学的検査の結果に基づいて行った。

30 及び 90 mg/kg/日群のラットの一部で、床敷き材へのもぐり込み行動、及び流涎が見られた。30 mg/kg/日群の雌 1 例が、投与 55 日の採血後に死亡した。この死亡は採血操作によるものであり、テポチニブ投与とは無関係と判断された。いずれのテポチニブ投与群にも、対照群と比較して体重、体重増加量及び摂餌量に有害な影響は見られなかった。眼科学的検査では、毒性学的に意義のある所見は認められなかった。

血液学検査では、投与期間終了時の検査で統計的に有意な変化が散見されたが、それらは全て正常動物の背景データの範囲内であったことから、毒性学的に意義がある変化とは考えられなかった。90 mg/kg/日群の雌では、リンパ球の表現型検査で、B 細胞数の相対的な増加、T 細胞総数、及びヘルパーT 細胞数の相対的な減少が認められた。また、相対的なサプレッサーT 細胞数の増加が 90 mg/kg/日の雄で認められた。これらの変化は、4 週間の休薬期間の後に完全に回復していた。

血液生化学的検査では、毒性学的に意義がある影響は認められなかった。30 及び 90 mg/kg/日群のラットで、血清コレステロール値（cholesterol; CHOL）の低下、血清アラニントランスアミナーゼ（alanine aminotransferase; ALT）及びアルカリホスファターゼ（alkaline phosphatase; AP）値の上昇が認められた。しかし、これらの変化は対照群との比較で統計学的に有意なものではあったが、正常動物の背景データの範囲内であり、休薬期間終了後の検査では完全に回復していた。

尿検査では、90 mg/kg/日群の一部の雌で、尿沈渣に少量の血液が見られた。

剖検では、テポチニブ投与に関連する変化は見られなかった。90 mg/kg/日群の雌で、脾臓の重量及び体重比重量が、対照群に比較して、それぞれ 25.50 及び 21.75%増加した。しかし、病理組織学的検査では、この臓器重量の変化と関連する変化は見られなかった。

病理組織学的検査では、投与と関連した可逆的な変化が主に 90 mg/kg/日群で見られた。この変化には、一部の雌で見られた肺胞の複数の領域での泡沫細胞（マクロファージ）の集簇、及び一部の雌雄で見られた腸間膜リンパ節の傍皮質でのリンパ球減少を伴うマクロファージの増加が含まれた。30 mg/kg/日群でも、肺胞での泡沫細胞の集簇が雄の 1 例で、腸間膜リンパ節の傍皮質でのマクロファージの増加が雌の 1 例で認められた。これらの所見は、休薬期間の後には観察されなかった。

TK 測定結果により、試験期間を通してラットがテポチニブに曝露されていたことが確認された。投与量の増加に伴って、曝露量も増加した。全ての投与量で反復投与後の蓄積性が認められた。雌ラットの曝露量が、3 mg/kg/日群を除いて、同じ投与量の雄ラットより高かった。対照群のラットにテポチニブの曝露は認められなかった。本試験の TK 測定結果を表 2 に示す。

表 2　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（T16157）での投与 1 日及び 28 日の TK 測定結果

Day 1

Parameters	3 mg/kg/day		10 mg/kg/day		30 mg/kg/day		90 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	11.95	14.97	47.97	100.69	131.56	214.01	251.84	421.03
t_{max} (h) [a]	3	3	3	3	3	3	3	3
AUC_{24} (ng·h/mL)	121.8	130.5	357.6	725.4	987.1	1654	2132	5965

Day 28

Parameters	3 mg/kg/day		10 mg/kg/day		30 mg/kg/day		90 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	17.67	27.88	53.81	114.12	183.84	393.78	459.21	833.55
t_{max} (h) [a]	6	1	3	6	3	6	6	6
AUC_{24} (ng·h/mL)	157.5	223.1	468.3	1012	1598	3315	5125	11108

Source: Study Report T16157. AUC_{24}: Area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: For the t_{max}, the median is reported.

90 mg/kg/日では、臨床病理学的検査で認められた変化が軽度で、ほとんどが正常動物の背景データの範囲内であったこと、病理組織学的検査で認められた所見も軽度であったことから、この用量が本試験の NOAEL であると判断された。観察された変化はいずれも 4 週間の休薬期間の後に完全に回復していた。この用量での血漿中テポチニブ濃度の C_{max} は雄で 459 ng/mL、雌で 834 ng/mL、AUC_{24} は雄で 5125 ng·h/mL、雌で 11108 ng·h/mL であった。

3.2　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（T16193）

概要表 2.6.7、7B、添付資料番号：4.2.3.2.2

本 GLP 準拠試験では、先に実施した報告書番号 T16157 の試験（3.1 項）と同様に、ラットにテポチニブを 4 週間連日反復経口投与した後、4 週間の休薬期間を設けて毒性を検討したが、T16157 の試験と比較して、製造工程のスケールアップの影響で、原薬中の不純物濃度が上昇していた。テポチニブの純度は 98.2%であり、全不純物の合計濃度は 1.7%（内訳として、 不純物7* が 0.65%、不純物4* が 0.60%、 不純物8* が 0.23%、 不純物9* が 0.10%、及び 不純物10* が 0.08%）であった。

1 群雌雄各 15 匹の Wistar（HsdCpb:WU）ラットに、テポチニブ（非微粉化）を 0、30、90、又は 270 mg/kg/日の用量で 4 週間連日強制経口投与した。このうち 1 群雌雄各 5 匹については、投与期間

終了後に 4 週間の休薬期間を設けた。対照群には、溶媒である 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液を投与した。加えて、1 群雌雄各 3 匹のサテライト動物を使用して、TK 評価を行った。

毒性評価は、一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床病理学的検査（免疫細胞表現型検査を含む）、剖検並びに病理組織学的検査の結果に基づいて行った。

270 mg/kg/日群では床敷き材へのもぐり込み行動が見られた。対照群と比較して、体重、体重増加量及び摂餌量に有害な影響は見られなかった。眼科学的検査及び尿検査では、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

血液学的検査で、テポチニブ投与群に軽度ながら統計学的に有意な変化が認められたが、正常動物の背景データの範囲内であった。この変化には、30 及び 270 mg/kg/日群の雌に見られたヘモグロビンの減少、270 mg/kg/日群の雌に見られた赤血球数及び血小板数の減少、網状赤血球数及び網状赤血球の百分率の増加、並びに総白血球数の増加、30 及び 270 mg/kg/日群の雄及び 30 mg/kg/日群の雌に見られた好酸球の百分率の減少、並びに 30 及び 90 mg/kg/日群の雄に見られた大型非染色球数の減少が含まれた。これら全ての変化は、休薬期間終了時には完全に回復していた。いずれも、用量相関性が欠如していること、及び全体的に軽度な影響であることから、毒性学的意義がある変化とは考えられなかった。リンパ球の表現型検査では、毒物学的に意義のある影響を認めなかった。

血液生化学的検査では、全てのテポチニブ投与群で血清 CHOL 及びトリグリセリド（triglyceride; TRIG）が用量相関性のある明確な減少を示し、その値は部分的に正常動物の背景データを逸脱していた。幾つかの血清タンパク質及び肝臓酵素［全総タンパク質（total protein; TP）、アルブミン（albumin; ALB）、AP、ALT、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（aspartate transaminase; AST）］は軽度な変化を示した。さらに、血清ソルビトールデヒドロゲナーゼ（sorbitol dehydrogenase; SDH）、グルコース及びクレアチニン（creatinine; CREA）値にも、軽度な変化が観察された。これらの変化は統計学的に有意であったが、そのほとんどが正常動物の背景値の範囲内であった。休薬期間終了後には、代償性変化がやや過剰となったと考えられる 270 mg/kg/日群の雌に見られた CHOL 上昇、並びに 90 mg/kg/日群の雌に見られた TP 及び ALB の上昇を除いて、テポチニブ投与群と対照群間の統計学的有意差は認められなかった。

剖検では、90 及び 270 mg/kg/日群で、可逆的かつ統計学的に有意な軽微～軽度の臓器重量の増加が認められたが、病理組織学的検査では明確に相関する所見を認めなかった。この変化には、雌で見られた用量相関性を伴った肝臓及び卵巣重量の増加、雌雄で見られた脾臓重量の増加、雌で見られた用量相関性のない副腎重量の増加、並びに 270 mg/kg/日群の雌で見られた胸腺重量の増加が含まれた。

病理組織学的検査では、270 mg/kg/日群の雌の一部で、可逆的かつ軽微な肺胞マクロファージの集簇、並びに 90 及び 270 mg/kg/日群の雌雄で、下顎リンパ節における軽微な組織球の浸潤が認められた。さらに、全てのテポチニブ投与群の雌雄で、腸間膜リンパ節における軽微～中等度の組織球（マクロファージ）浸潤が見られた。休薬期間終了後の観察では、肺胞及び下顎リンパ節の変化は回復しており、腸間膜リンパ節の変化も回復傾向を示した。リンパ節への組織球浸潤は自然発生的にも見られるものであり、本試験では、細胞過負荷及び二次的な炎症性反応は観察されていないことから、認められた細胞浸潤はテポチニブの毒性ではなく、反応性の現象だと考えられた。

テポチニブを投与された TK 評価用の全てのラットは、全ての投与量で、投与後 24 時間を含む全ての採血時点で定量可能な濃度のテポチニブに曝露されていた。対照群のラットにおいては、テポチニブは検出されなかった。本試験での TK 測定結果を表 3 に示す。曝露量は投与量とともに増加した。しかし、曝露量の増加が用量比よりは少なかったことは、吸収に飽和があることを示唆している。

投与初日の曝露量に比べて、投与 28 日の曝露量が最大で約 2 倍に上昇していることから、反復投与後の蓄積性が確認された。また、全ての投与量の全ての採血時点において、雌における曝露量が雄に対して 1.8～2.5 倍高い値であった。本試験でのテポチニブの曝露量は、粒子径のより大きい原薬バッチを使用したことにより、最初に実施したラット 4 週間反復投与毒性試験（報告書番号 T16157）において同じ投与量で測定された値よりも概ね低かった（CTD2.6.4、3.4 項参照）。

表 3　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（T16193）での投与 1 日及び 28 日の TK 測定結果

Day 1

Parameters	30 mg/kg/day		90 mg/kg/day		270 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	63.87	136.97	98.77	193.28	150.25	353.94
t_{max} (h) [a]	3	6	3	3	3	6
AUC_{24}(ng·h/mL)	475.1	1166.1	856.3	1923.4	2155.6	4075.8

Day 28

Parameters	30 mg/kg/day		90 mg/kg/day		270 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	95.12	175.95	178.14	312.86	200.43	541.36
t_{max} (h) [a]	3	6	3	6	3	6
AUC_{24}(ng·h/mL)	831.4	1527.4	1661.8	3745.8	2567.7	5944.7

Source: Study Report T16193. AUC_{24}: Area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: For the t_{max}, the median is reported.

90 mg/kg/日の用量では、観察された臨床病理学的変化は軽度であり、大部分が正常動物の背景データの範囲内であった。観察された病理組織学的変化もまた軽度であり、両者とも 4 週間の休薬期間終了時に回復性が認められた。この結果から、本試験の NOAEL は 90 mg/kg/日であると判断された。270 mg/kg/日の用量での臨床病理学的及び病理組織学的変化はより顕著であり、発生頻度及び程度が背景データの範囲を超えるものがあったため、270 mg/kg/日は毒性用量であると判断した。

最初の 2 つのラット 4 週間反復投与毒性試験（報告書番号 T16157 及び T16193）では、どちらも NOAEL が 90 mg/kg/日であるとの結論が導かれ、高用量で観察された所見は概して同等であった。従って、不純物含有量の増加（ 不純物7* 、 不純物4* 、 不純物8* 、 不純物10* 及び 不純物9* の合計1.7%の不純物）はテポチニブの毒性に影響を及ぼさないと考えられた。

3.3 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（[redacted] DA0061-0）

概要表 2.6.7、7C、添付資料番号：4.2.3.2.3

本GLP 準拠試験の主たる目的は、微粉化したテポチニブを4 週間反復経口投与して毒性を評価し、ラットの最大耐量を特定することであった。この試験ではさらに、ICH Q3A ガイドラインに定められた安全性確認の閾値を超える可能性があると当時考えられていた 4 種類の有機不純物（すなわち不純物1*　、　不純物2*　、　不純物3*　及び　不純物5*　）の安全性を担保することも目的としていた。これらの不純物の毒性評価のために、本試験で使用したテポチニブのバッチに、上記の各不純物をそれぞれ約 0.25%の濃度で添加した。各不純物の含有量の分析結果は、　不純物1*　が0.34%、　不純物2*　が0.26%、　不純物3*　が0.28%、　不純物5*　が0.25%であった。

本試験では、1 群雌雄各 10 匹の Wistar（HsdCpb:WU）ラットに、テポチニブ（微粉化）を 0、30、90、450 又は 2000 mg/kg/日の用量で 4 週間連日強制経口投与した。対照群には、溶媒である 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液を投与した。加えて、1 群雌雄各 4 匹のサテライト動物を各テポチニブ投与群に、雌雄各 2 例のサテライト動物を対照群に使用して、テポチニブ及びヒトにおける主要な代謝物である MSC2571109A、並びにその鏡像異性体である MSC2571107A の血漿中濃度を測定し、TK 評価を行った。

毒性評価は、一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床病理学的検査（免疫細胞表現型検査、並びに血清膵リパーゼ及びアミラーゼの測定を含む）、剖検並びに病理組織学的検査の結果に基づいて行った。

試験 2 日に 2000 mg/kg/日群の雄 1 例で、呼吸音及び喘ぎ呼吸が観察された。この動物は、動物福祉の観点から直ちに安楽死させた。2000 mg/kg/日群のその他の動物は、立毛、全身蒼白、眼及び鼻腔からの分泌物、眼瞼下垂、床敷き材への潜り込み及び便の性状変化等の多数の症状を呈し、体重減少も見られたことから、試験 5 日に安楽死させた。同群のサテライト動物も、削痩、眼及び鼻腔からの分泌物、軟便、流涎、床敷き材への潜り込み等の多数の症状、並びに体重の著しい減少を呈したことから、試験 6 又は 7 日に安楽死させた。こうした症状の発現及び体重減少から、下記の考察にも示すように、ラットはこの用量には忍容性がないと判断した。

450 及び 90 mg/kg/日群で見られた症状は、流涎（ただし 90 mg/kg/日群の雄では見られなかった）及び床敷き材への潜り込みに限られていた。床敷き材への潜り込みは、げっ歯類の経口投与毒性試験でかなり頻繁に見られる所見で、投与液の味が悪いことによるものと推察される。

2000 mg/kg/日群の試験 4 日の平均体重は、毒性評価動物で、投与前値に比較して雄で 2%の減少、雌で 9%の減少であり、個体別では最大 17%の体重減少となる個体も見られた。同用量群のサテライト動物の平均体重は、投与前値に比べて 17%の減少を示した。サテライト動物の雌は試験 5 日に、雄は試験 6 日に安楽死させた。

450 mg/kg/日群の雄では、サテライト群の試験 28 日の平均体重が、対照群に比べて 10%低値を示した。しかし、450 mg/kg/日群の雄の主群では体重減少は見られず、試験 1～3 週の摂餌量が軽度減少したのに伴って、試験 28 日までの体重増加量が対照群に比べて 26%減少していたが、統計学的有意差はなかった。

90 及び 30 mg/kg/日の用量の体重、体重増加量及び摂餌量には、投与の影響は見られなかった。

2000 mg/kg/日群の試験 5 日に安楽死させた動物の血液学的検査では、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、白血球数、及び単球数のわずかな増加、並びに好中球数の中程度の増加が見られた。

これらの変化は、全身状態の悪化によって脱水症状及びストレス症状が現れたものと考えられる。450 mg/kg/日群では、試験 29 日の血液学的検査で雌雄ともに単球数が増加し、雄ではさらに白血球数及びリンパ球数の増加も見られた。同群のリンパ球の表現型検査では、投与の影響は認められなかった。

2000 mg/kg/日群の投与 5 日の血液生化学的検査では、カリウム、無機リン（雌のみ）、尿素（urea; UREA）、ALT、AST、AP が軽微～中程度の増加を示し、ナトリウム、CHOL、TP、ALB が減少を示した。450 mg/kg/日群の血液生化学的検査では、CHOL、ALT、AST、及び AP において、2000 mg/kg/日群と同様の変化がより弱い程度で見られた。いかなる用量でも、膵リパーゼ及びアミラーゼに変化は見られなかった。

2000 mg/kg/日群で安楽死させた動物の剖検では、試験 2 日に安楽死させた動物も含めて、大部分の動物において胃の極端な膨満（内容物として食餌び少量の被験物質を含む）、及び大腸に粘液の含有が認められ、消化管の通過障害が起きたものと推察された。試験 29 日の投与期間終了時の剖検では、450 mg/kg/日群の大腸（雌雄の一部で含有物が粘液のみであった）、肺（ほとんどの雌及び雄の 1 例で限局性の白色点）、精嚢（1 例で大きさが小さい）及び胃（少数の雄で胃底粘膜の赤色化）に投与に関連すると考えられる肉眼所見が認められた。

450 及び 90 mg/kg/日群では、雌雄の脾臓及び副腎、並びに雄の甲状腺に絶対及び相対臓器重量の増加が認められ、これらは、以下に述べる病理組織学的変化と関連すると考えられた。

2000 mg/kg/日群の試験 5 日に安楽死させた動物の病理組織学的検査では、副腎（細胞肥大、空胞の増加、及び束状層での軽微な単細胞壊死）、大動脈（血管周囲の脂肪組織の萎縮）、大腸（上皮細胞の単細胞壊死及び粘膜固有層への軽微な顆粒球浸潤）、肝臓（肝細胞壊死、及び多巣性の単核球浸潤）、肺（肺胞泡沫細胞）、リンパ系（下顎及び腸間膜リンパ節、パイエル板、脾臓並びに胸腺におけるリンパ球壊死を伴った細胞数減少）、乳腺（アポトーシス性の単細胞壊死、及び腺房上皮の萎縮）、膵臓（腺房細胞のチモーゲン含有量の減少）、精嚢（分泌液の減少及び上皮の萎縮）、唾液腺（腺房細胞の多巣性アポトーシス）、皮膚（皮下脂肪組織の萎縮）、胃（腺胃粘膜での多巣性の軽微な潰瘍）に所見が認められた。同群の試験 2 日に安楽死させた雄でも、同様の所見が観察された。さらに、この動物では、気管に壊死性炎症を認めた。胃の膨満による被験物質の食道から気管への局所的逆流が、この気管病変の原因と推察された。

450 mg/kg/日群においても、ほぼ同様の臓器が毒性の標的となっていたが、この群では、大動脈、乳腺、唾液腺、及び皮膚は影響を受けなかった。4 日間しか投与されていない 2000 mg/kg/日群よりも 28 日間の投与を受けた本群の方が、頻度や程度が高まった所見もあった。

観察された所見の中で、450 mg/kg/日群の肺に見られた炎症を伴った肺胞泡沫細胞、2000 及び 450 mg/kg/日群の肝臓での肝細胞壊死及び単核球浸潤、並びに大腸での上皮細胞の単細胞壊死、及び顆粒球浸潤を伴う粘膜固有層細胞の単細胞壊死については、本薬による毒性と考えられた。その他の所見は、ストレス又は異化代謝に関係したものと考えられた。

90 及び 30 mg/kg/日群では、副腎、肝臓、肺、膵臓及び甲状腺で、各 1 例又は数例（最高 4 例）の動物に軽微な所見が認められたが、これらは投与には関係しているが、無害な変化と考えられた。

テポチニブを投与した TK 測定用の全てのラットは、全ての採血時点で定量可能な濃度のテポチニブに曝露されていたが、対照群のラットにはテポチニブは検出されなかった（表 4、表 5、表 6）。全体として、テポチニブ及びその代謝物の C_{max} 及び AUC は、初回投与後、及び反復投与後である投与 28 日ともに、用量の増加に比例した増加を示さなかった。反復投与後の蓄積性は、親化合

物のテポチニブでは観察されたが、いずれの代謝物にも顕著な蓄積性は見られなかった。両代謝物の初回投与後と投与 28 日の曝露量の比は、親化合物のテポチニブの値と同様であった。テポチニブの曝露量では、全般に雌ラットで高い値が観察されることから、性差があると考えられるが、両代謝物については、明らかな性差は認められなかった。血漿中濃度及び曝露量についての比較から、ラットにおける主たる循環分子種はテポチニブであり、続いて平均 AUC_{τ} でテポチニブの 11～37%を示す MSC2571109A、次いで 8～26%を示す MSC2571107A の順であった。

表 4　　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（[redacted]-DA0061-0）での投与 1 日及び 28 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果

Day 1

Parameters	30 mg/kg/day		90 mg/kg/day		450 mg/kg/day		2000 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	4	4	4	4	4	4	4	4
C_{max} (ng/mL)	107	316	213	525	353	747	450	1040
t_{max} (h) [a]	3	3	3	4.5	6	3	15	6
AUC_{τ} (ng·h/mL)	988	2700	1860	4150	4120	9370	8240	18900

Day 28

Parameters	30 mg/kg/day		90 mg/kg/day		450 mg/kg/day		2000 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	4	4	4	4	4	4	4	4
C_{max} (ng/mL)	218	467	257	684	810	1330	N.A.	N.A.
t_{max} (h) [a]	3	3	3	3	6	3	N.A.	N.A.
AUC_{τ} (ng·h/mL)	2110	3630	2460	6570	12700	27200	N.A.	N.A.

Source: Study Report [redacted]-DA0061-0. AUC_t: Area under the concentration vs time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; C_{max}: Maximum concentration; N: Number of animals; N.A.: Not applicable; t_{max}: Time to reach maximum concentration; a: For the t_{max}, the median is reported.

表 5 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（[redacted]-DA0061-0）での投与 1 日及び 28 日の血漿中 MSC2571109A 濃度測定結果

Day 1

Parameters	30 mg/kg/day[b]		90 mg/kg/day[b]		450 mg/kg/day[b]		2000 mg/kg/day[b]	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	4	4	4	4	4	4	4	4
C_{max} (ng/mL)	28.2	28.4	42.6	54.5	142	124	170	211
t_{max} (h) [a]	6	6	6	6	6	6	6	6
AUC_{τ} (ng·h/mL)	278	381	468	693	1580	2100	3100	3980

Day 28

Parameters	30 mg/kg/day[b]		90 mg/kg/day[b]		450 mg/kg/day[b]		2000 mg/kg/day[b]	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	4	4	4	4	4	4	4	4
C_{max} (ng/mL)	40.3	46.7	49.8	76.2	158	171	N.A.	N.A.
t_{max} (h) [a]	6	6	6	4.5	6	6	N.A.	N.A.
AUC_{τ} (ng·h/mL)	357	594	484	964	2300	3070	N.A.	N.A.

Source: Study Report [redacted]-DA0061-0. AUC_t: Area under the concentration vs time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; C_{max}: Maximum concentration; N.A.: Not applicable; N: Number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: For the t_{max}, the median is reported.
b: Refers to the administered compound i.e. tepotinib.

表 6 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（[redacted]-DA0061-0）での投与 1 日及び 28 日の血漿中 MSC2571107A 濃度測定結果

Day 1

Parameters	30 mg/kg/day[b]		90 mg/kg/day[b]		450 mg/kg/day[b]		2000 mg/kg/day[b]	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	4	4	4	4	4	4	4	4
C_{max} (ng/mL)	21.4	14.9	31.7	31.8	84.8	59.6	126	120
t_{max} (h) [a]	6	6	6	6	6	6	24	24
AUC_{τ} (ng·h/mL)	217	213	353	439	1000	1040	2200	1760

Day 28

Parameters	30 mg/kg/day[b]		90 mg/kg/day[b]		450 mg/kg/day[b]		2000 mg/kg/day[b]	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	4	4	4	4	4	4	4	4
C_{max} (ng/mL)	33.2	28.4	38.8	55.3	129	119	N.A.	N.A.
t_{max} (h) [a]	6	6	6	6	6	6	N.A.	N.A.
AUC_{τ} (ng·h/mL)	283	364	384	730	1950	2200	N.A.	N.A.

Source: Study Report [redacted]-DA0061-0. AUC_t: Area under the concentration vs time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; C_{max}: Maximum concentration; N: Number of animals; N.A.: Not available; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: For the t_{max}, the median is reported.
b: Refers to the administered compound i.e. tepotinib.

要約すると、ラットは 2000 mg/kg/日の用量に忍容性がなく、投与開始後約 1 週間の内に全ての動物を安楽死させる結果となった。450 mg/kg/日の用量には忍容性が認められたことから、この用量が本試験の MTD であると判断した。

しかし、複数の臓器がテポチニブ投与の影響を受けたことを示す病理組織学的所見が、2000 及び 450 mg/kg/日群で観察された。このうち、炎症を伴った肺胞泡沫細胞（450 mg/kg/日群のみで見られる）、肝臓での肝細胞壊死及び単核球浸潤、並びに大腸での単細胞壊死及び粘膜固有層への顆粒球浸潤が、有害な影響であると考えられた。

90 mg/kg/日の用量では、ラットの以前の試験で観察されていたような、軽微で無害な所見が見られたのみであったため、この用量を本試験の NOAEL と判断した。また、本試験で認められた所見が、以前の試験での同じテポチニブ投与量における所見と同様のものであったことから、原薬に添加された 4 種類の有機不純物による新規の毒性、或いは毒性の増強は認められなかったことが確認された。

3.4 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（T16179）

概要表 2.6.7、7D、添付資料番号：4.2.3.2.4

本 GLP 準拠試験では、1 群雌雄各 20 匹の Wistar [Crl:WI (Han)] ラットに、テポチニブ（非微粉化）を 0、15、45、又は 135 mg/kg/日の用量で 26 週間連日強制経口投与した。このうち 1 群雌雄各 10 匹については、投与期間終了後に 8 週間の休薬期間を設けた。対照群には、溶媒である 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液を投与した。加えて、1 群雌雄各 3 匹のサテライト動物を使用して、TK 評価を行った。

毒性評価は、一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、臨床病理学的検査（免疫細胞表現型検査を含む）、剖検並びに病理組織学的検査の結果に基づいて行った。また、投与期間終了時の剖検に供した全ての雄ラットについて、精巣上体尾部から精子を採取し、精子の形態及び運動性を検査した。

テポチニブ投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

試験中にテポチニブ投与に関連した死亡は発生しなかった。投与期間中に死亡した 15 mg/kg/日群の雄 1 例、及び 135 mg/kg/日群の雌 2 例を除いて、全てのラットは投与期間終了までの期間生存し

た。3 例の死亡は、投与液の誤嚥、又は臨床病理学的検査のための採血時の麻酔によって起きたもので、テポチニブに関係したものではないと考えられた。

対照群と比較して、体重、体重増加量及び摂餌量に有害な影響は見られなかった。眼科学的検査では、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

血液学的検査の幾つかの項目で、投与期間中に対照群に比較して統計学的に有意な変化が認められた。これら全ての変化は、135 mg/kg/日群の雌における投与期間中の白血球数の軽度増加を除き、時間経過に照らして矛盾した変動を示し、また雌雄間で増減が異なる変動を示していた。また、全ての変化は正常動物における背景データの範囲内であり、休薬期間終了時には完全に回復していた。従って、いずれも毒物学的意義のある変化ではないと考えられた。

血液生化学的検査の幾つかの項目でも、テポチニブ投与群に変化が認められた。135 mg/kg/日群に見られた用量依存的な CHOL の可逆的減少を除き、それらの変化は全て軽度なものであり、大部分は背景データの範囲内であった。前述の CHOL の減少以外では、TRIG、TP 及び ALB のわずかな減少、並びに、一方又は両方の性別での血清酵素 ALT、AST、AP 及びグルタミン酸デヒドロゲナーゼ（glutamate dehydrogenase; GLDH）のわずかな増加が投与期間終了時の検査で観察された。これらの変化は用量依存性が必ずしも明確でなく、8 週間の休薬期間終了時には、135 mg/kg/日群の雄における ALT の 26%の高値及び GLDH の 95%の高値を除き、いずれも完全に回復していた。

尿検査及び精子検査では、投与の影響は認められなかった。

剖検では、テポチニブ投与に関連した変化として、135 mg/kg/日群の雌 1 例で、肺の多巣性の白色化が観察されたのみであった。また、臓器重量の変化が 135 mg/kg/日群の雌のみで観察された。この群では、肝臓が 10%、副腎が 34%、卵巣が 31%、いずれも体重比重量で対照群に比較して増加を示した。これらの臓器重量変化は、毒性ではなく、機能適応的な変化と考えられた。肝重量の増加は軽度な肝細胞肥大と関連付けられた。副腎及び卵巣重量の増加には、関連する病理組織学的な形態変化を見出せなかった。これらの臓器重量の変化及び肝細胞肥大は休薬期間終了時には完全に回復していた。

病理組織学的検査では、45 及び 135 mg/kg/日群の雌ラットの肺に用量依存的な変化を認めた。軽微～軽度の泡沫細胞の集簇が 45 mg/kg/日の 4 例、135 mg/kg/日の 6 例の雌で認められ、雄では対照群の 1 例、45 mg/kg/日群の 1 例、135 mg/kg/日群の 2 例で認められた。この所見は投与に関係したものであると考えられたが、休薬期間終了後の観察で、完全な回復性を示すことが確認された。

腸間膜リンパ節で、対照群を含む全群の全動物で軽度のマクロファージ集簇が観察された。この変化は 135 mg/kg/日群でわずかに程度が強まった。この傾向は回復群の動物にも当てはまった。腸間膜リンパ節においては、この他に、リンパ洞組織球症及び副皮質におけるリンパ球枯渇が 135 mg/kg/日の少数例で観察された。

甲状腺濾胞上皮の軽微～軽度の活性化が、対照群を含む全群の多数の動物で観察された。15 及び 45 mg/kg/日の雄では、変化の程度がわずかに増加したが、発現頻度に変化はなかった。135 mg/kg/日群では、変化の程度（軽微に対して軽度が増加）と頻度が雌雄で増加した。休薬期間終了時、甲状腺濾胞上皮活性化の頻度は、45 mg/kg/日群の雄（程度は軽度が多い）及び 135 mg/kg/日群の雌（程度は軽微が多い）でわずかに高かった。

ラットは試験期間を通してテポチニブに曝露されていた（表 7）。対照群のラットにテポチニブの曝露は見られなかった。曝露量には、多少の個体差が観察された。血漿中テポチニブ濃度の最大値は、多くの動物で投与後 3 時間に観察された（t_{max} 範囲 : 3～6 時間）。投与前の血漿中テポチニブ濃度（ト

ラフ値）は、雌雄で投与 28、91 及び 182 日に定量可能な濃度を示した。全体として曝露量は投与量に応じて増加したが、雌雄とも投与量に比例した値よりは低く、吸収に飽和があることが示唆された。雌ラットの曝露量は、雄ラットの値よりも 1.1～3.1 倍高かった。

表 7　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験（T16179）での投与 1、28、91、182 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果

Day 1

Parameters	15 mg/kg/day		45 mg/kg/day		135 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	38.63	78.59	99.78	124.18	129.87	230.58
t_{max} (h) [a]	6	3	3	6	3	3
AUC_{24} (ng·h/mL)	269.2	580.8	586.2	951.3	1251.0	1855.0

Day 28

Parameters	15 mg/kg/day		45 mg/kg/day		135 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	50.36	110.68	103.69	109.09	124.79	177.74
t_{max} (h) [a]	3	3	3	3	3	3
AUC_{24} (ng·h/mL)	417.2	1036.7	777.3	881.9	1182.6	1898.6

Day 91

Parameters	15 mg/kg/day		45 mg/kg/day		135 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	52.18	82.05	93.12	148.24	101.69	233.91
t_{max} (h) [a]	3	3	3	3	3	3
AUC_{24} (ng·h/mL)	461.7	776.7	666.7	2039.1	1197.1	2950.8

Day 182

Parameters	15 mg/kg/day		45 mg/kg/day		135 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	61.32	66.03	90.12	135.54	101.28	201.90
t_{max} (h) [a]	3	3	3	3	3	3
AUC_{24} (ng·h/mL)	534.8	937.3	809.9	1312.1	1522.7	2909.2

Source: Study Report T16179. AUC_{24}: Area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: For the t_{max}, the median is reported.

135 mg/kg/日の用量では、背景データを逸脱した CHOL の減少が見られ、この用量は毒性を有すると判断された。さらに、副腎、卵巣及び肝臓重量の軽度増加と、軽度な肝細胞肥大、軽微～軽度な甲状腺の活性化、腸間膜リンパ節でのマクロファージ集簇も見られたが、これらの変化は、雌における甲状腺の活性化を除いて、全て完全な回復性又は回復傾向を有するものであることが確認された。

45 mg/kg/日では、認められた臨床病理学的検査値の変化が軽度で、正常動物の背景データの範囲内であったこと、観察された病理組織学的変化もいずれも軽度で、8 週間の休薬期間の後に全般的に回復性を有することが確認されたことから、この用量が本試験の NOAEL であると判断された。

3.5 イヌ 13 日間経口投与用量漸増試験（T8420）

概要表 2.6.7、6、添付資料番号：4.2.3.2.5

本 GLP 準拠試験（TK 測定のみは非 GLP 下）では、2 群（1 群雌雄各 1 匹）のビーグル犬に、硬ゼラチンカプセルに充填したテポチニブを、用量を漸増しながら 1 日 1 回強制経口投与した。用量は 1 mg/kg で開始し、試験 4 日に 90 mg/kg まで漸増した（第 2 群）。第 1 群には、試験 5 日から 45 mg/kg の用量で投与を開始した。MTD までの増量を達成する目的で、試験 9 日から第 2 群では 180 mg/kg に、第 1 群では 90 mg/kg に用量を増量した。試験デザインを表 8 に示す。

表 8 イヌ 13 日間経口投与用量漸増試験（T8420）の試験デザインの概略

Group	Tepotinib dose (mg/kg)								
	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9-13
1	-	-	-	-	45	45	45	45	90
2	1	5	30	90	90	90	90	90	180

Source: Study Report T8420.

毒性評価は、一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、心電図検査（elecrocardiography; ECG）、血圧及び呼吸数測定、臨床病理学的検査、剖検、並びに病理組織学的検査の結果に基づいて行った。また、複数の時点で採血して TK 評価を行った。

試験期間中、死亡は見られなかった。第 2 群では、5 mg/kg/日までの用量のテポチニブ投与後には、一般状態の変化は認められなかった。30 mg/kg/日以上の用量で舌を連続的に動かす行動の増加、90 mg/kg/日以上で繰り返しの嘔吐が見られた。さらに、軟便が散発的に 90 mg/kg/日以上で観察され、下痢が 180 mg/kg/日で見られた。さらに、第 2 群の雌は 180 mg/kg/日の用量のテポチニブを数回投与した後、虚脱状態及び粘液血便を一度示した。

第 1 群では、45 mg/kg/日以上の用量で、雌雄共に、舌を連続的に動かす行動と軟便が見られ、雌では繰り返しの嘔吐、雄では下痢が観察された。

投与期間終了時の体重は、第 2 群では 14%減少し、第 1 群の雌では 7%減少していた。摂餌量は両群ともに 30 mg/kg/日以上の用量から用量依存的に減少し、第 2 群で 180 mg/kg/日を投与した最後の

2 日間には摂餌量が 0 となった。心拍数、動脈血圧、ECG パラメータ（PQ、QRS、QT 間隔）、及び呼吸数は投与に関連した影響を示さなかった。

血液学的検査では、両群の雌の 90 mg/kg/日以上の用量で、赤血球沈降速度の亢進が認められた。血液生化学的検査では、血清中肝酵素の著しい上昇が、第 2 群の雌（ALT、AST、AP）及び第 1 群の雌（ALT）では 90 mg/kg/日以上の用量で、第 2 群の雄（ALT、AST）では 180 mg/kg/日の用量で観察された。第 2 群の雌では、90 mg/kg/日以上の用量でクロライドの軽度低下、並びに CHOL 及び TRIG の軽度～著しい増加が見られ、180 mg/kg/日の用量では、総ビリルビン（total bilirubin; TBIL）の軽度増加、ALB の軽度低下が見られた。

全ての動物は試験期間を通してテポチニブに曝露されていた。TK 測定の結果を表 9 に示す。

表 9　　イヌ 13 日間経口投与用量漸増試験（T8420）での血漿中テポチニブ濃度測定結果

Group	Dose[a] (mg/kg)	Study Day	Sex	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)
1	45	5	M	237	2.00	NC [b)]
			F	154	2.00	NC [b)]
	90	9	M	145	2.00	1840
			F	674	4.00	8910
		12	M	391	2.00	5950
			F	673	2.00	8390
2	90	4	M	336	6.00	4510
			F	533	4.00	7120
	180	9	M	648	4.00	10200
			F	1500	4.00	27800
		12	M	657	4.00	10900
			F	1270	6.00	24600

Source: Study Report T8420. $AUC_{0\text{-}24h}$: Area under the concentration vs time curve; up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; LLOQ: Lower limit of quantification; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: Doses refer to the salt form of tepotinib (MSC2156119J), corresponding to 40.5, 81.0, and 162 mg/kg of the free base EMD 1160879 (refer to Section 2.6.5 / Appendix for more information on compound nomenclature).
b: NC: not calculable as sample value was below the LLOQ (5.00 ng/mL).

剖検及び病理組織学的検査では、テポチニブ投与に関連した所見が肝臓で観察された。第 2 群の雌では、剖検で肝臓の淡色化が見られた。病理組織学的検査では、全ての動物で肝細胞壊死を伴った顕著な胆管炎及び胆管周囲炎が認められた。さらに、全ての動物で胆嚢の粘膜下組織に顕著なリンパ形質細胞の浸潤が観察された。

テポチニブをビーグル犬に経口投与した結果、45 mg/kg/日の用量までは忍容性が認められた。より高い用量段階では、180 mg/kg/日で虚脱状態、粘液血便、食欲廃絶、及び、雌雄での体重減少が観察された。病理組織学的検査では、肝臓及び胆嚢が本薬の毒性の主な標的臓器として同定された。これらの試験成績から、その後の 4 週間反復経口投与毒性試験ではテポチニブの用量が 45 mg/kg/日を超えないように設定した。

3.6　イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（T8421）

概要表 2.6.7、7E、添付資料番号：4.2.3.2.6

本 GLP 準拠試験では、1 群雌雄各 3 匹（40 mg/kg/日群のみ雌雄各 5 匹）のビーグル犬に、硬ゼラチンカプセルに充填したテポチニブを 0、2.5、10、及び 40 mg/kg/日の用量で 4 週間連日経口投与した。40 mg/kg/日群の雌雄各 2 匹は、投与期間終了後 8 週間休薬させ、所見の回復性を検討した。

毒性評価は、一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、ECG、血圧及び呼吸数測定、反射機能検査、臨床病理学的検査、剖検並びに病理組織学的検査の結果に基づいて行った。また、全動物から複数の時点で採血して、TK 評価を行った。さらに、全動物から腎臓皮質、肝臓及び胆汁を採取して、テポチニブの組織内濃度及び胆汁中濃度を非 GLP 下で測定した。

テポチニブの投与に関連して、用量依存的な消化器症状が発現した。2.5 mg/kg/日群では、投与 14 日に雌雄各 1 例で軟便が認められ、その後、その雄と雌全例で、軟便及び粘液便が投与期間中散見された。

10 mg/kg/日群では、雄 1 例が試験 1 日から下痢を繰り返し、試験 2 日からは時折軟便又は粘液便となり、試験 23 日には血液の混入も見られた。この群のその他のイヌでは、嘔吐、軟便又は粘液便、或いは下痢が散見された。

40 mg/kg/日では、試験 1 日以降、2 例の雄で軟便又は粘液便、2 例の雌で時折粘液が混入する下痢が散発的に発現した。さらに、単発的な嘔吐や粘液の排泄が観察された。一部のイヌでは、試験 2 週の終わりから、便や吐物への白色の物質の混入も認められた。雄の 1 例では、試験 3 週に血液が混入した下痢を認めた。

全ての症状は、試験 28 日の最終投与後、速やかに回復した。

40 mg/kg/日群の雌 1 例では、体重の減少（最大 13%の低下）及び摂餌量の低下が投与期間終了まで継続した。同群の別の雌 1 例でも、試験 5、9、及び 29 日に摂餌量の減少を記録した。

眼科学的検査では、変化は見られなかった。心拍数、動脈血圧、ECG パラメータ、呼吸数及び反射機能には、テポチニブ投与の影響は見られなかった。

血液学的検査における変化が、試験 4 週の測定時でのみ認められた。40 mg/kg/日群の雄 2 例で、血小板数が減少し、雌 4 例で網状赤血球数が増加し、雌 1 例で赤血球沈降速度の有意な亢進が見られた。

血液生化学的検査では、肝胆道系の検査項目に変化が認められた。すなわち、試験 2 及び 4 週の検査で、40 mg/kg/日群の数例で GLDH、ALT、AST、AP、直接ビリルビン（direct bilirubin; DBIL）、間接ビリルビン（indirect bilirubin; IBIL）及び TBIL が、明らかな上昇を示した。血液生化学的検査でのこれらの変化は、休薬による回復性を示した。10 mg/kg/日群では、試験 1 週の検査で雄の 3 例中 1 例、投与 2 週及び 4 週の検査では雌の 3 例中 1 例で、GLDH の軽度な上昇が観察された。

テポチニブを投与された全てのイヌが、投与期間を通してテポチニブに曝露されていた。本試験での TK 測定の結果を表 10 に示す。曝露量は、投与量にほぼ比例して増加した。曝露量の個体差が、特に 40 mg/kg/日群で顕著に認められた。テポチニブの最高血漿中濃度は、主に投与後 2 又は 4 時間に見られた。投与初日と 25 日の測定値から、本薬の用量依存的な蓄積が観察された。明らかな性差は見られなかった。

表 10 イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（T8421）での投与 1 日及び 25 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果

Day 1

Parameters	2.5 mg/kg/day		10 mg/kg/day		40 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	5	5
C_{max} (ng/mL)	9.63	14.65	40.60	45.39	133.21	94.71
t_{max} (h) [a]	4	2	4	2	2	2
AUC_{24} (ng·h/mL)	104.8	137.9	413.7	395.8	1336	987.7

Day 25

Parameters	2.5 mg/kg/day		10 mg/kg/day		40 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	5	5
C_{max} (ng/mL)	15.48	22.86	68.50	74.46	382.30	231.65
t_{max} (h) [a]	2	2	4	2	4	4
AUC_{24} (ng·h/mL)	157.4	211.2	720.2	664.0	4053	3299

Source: Study Report T8421. AUC_{24}: Area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: For the t_{max}, the median is reported.

腎臓、肝臓及び胆汁中のテポチニブ濃度の探索的測定により、剖検直前の血漿中濃度と比較して、はるかに高い濃度のテポチニブが検出された（血漿中濃度に対して、腎臓で 100 倍、肝臓で 400 倍、胆汁で 3000 倍）。休薬させた動物の組織中テポチニブ濃度は、投与期間終了時の値よりも大幅に低かった。

剖検では、40 mg/kg/日群の雌 1 例で、拡大した白色の胆管が観察された。テポチニブ投与に関連した統計学的に有意な臓器重量の変化は見られなかった。病理組織学的検査では、主な所見は、大～中サイズの胆管で見られた。

40 mg/kg/日群の雌雄各 1 例において、顕著な胆管炎及び胆管周囲炎が観察された。雌では、これに肝臓での炎症性細胞浸潤、胆管周囲の広範な線維化、胆管増生及び胆管上皮の過形成を伴い、雄では限局性の胆管壊死及び肝細胞壊死を伴っていた。上記の 40 mg/kg/日群の雌では、タンパク質様の物質の蓄積を伴った顕著な胸腺の萎縮が観察されたが、これは二次的な現象と考えられた。また、特に上記の雌では、組織変化と、試験 2 及び 4 週の血液生化学的検査での肝胆道系の検査項目の変化、すなわち TBIL、ALT、AST、AP 及び GLDH の顕著な上昇との関連性が想定された。さらに、この雌の TK 測定における投与 4 週の AUC 値 9000 ng·h/mL は、40 mg/kg/日群の他のイヌの AUC と比較して 2～12 倍高かった。

まとめると、2.5 及び 10 mg/kg/日の用量のテポチニブは、イヌに忍容性を認めた。40 mg/kg/日の用量では、雌の 1 例で摂餌量の有意な減少及び体重減少があったことから、忍容性がないと考えられ

た。さらに、同群の 6 例中 2 例のイヌが、肝臓での炎症性細胞浸潤を伴った顕著な胆管炎及び胆管周囲炎を示した。これらの病理組織学的所見は、休薬により回復することが確認された血液生化学的検査での肝胆道系パラメータの上昇との関連が想定された。40 mg/kg/日群の休薬させたイヌでは、テポチニブ投与に関連した所見は認められなかった。

結論として、本試験での NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。この 10 mg/kg/日群におけるテポチニブの曝露量は、C_{max} の平均値が雄で 68.50 ng/mL、雌で 74.46 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値が雄で 720.2 ng·h/mL、雌で 664.0 ng·h/mL であった。

3.7　イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（T8427）

概要表 2.6.7、7F、添付資料番号：4.2.3.2.7

本 GLP 準拠試験では、1 群雌雄各 6 匹のビーグル犬に、硬ゼラチンカプセルに充填したテポチニブを 0、3、10、及び 30 mg/kg/日の用量で 13 週間連日強制経口投与した。このうち 1 群雌雄各 3 匹については、投与期間終了後に 12 週間の休薬期間を設けた。

毒性評価は、一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、ECG、血圧及び呼吸数測定、反射機能検査、臨床病理学的検査、剖検、並びに病理組織学的検査の結果に基づいて行った。また、全動物から複数の時点で採血して、TK 評価を行った。

テポチニブを投与されたほとんど全てのイヌが、用量依存的な頻度で繰り返し軟便を発現し、一部の動物では、その便中に粘液の混入を認めた。散発的な下痢及び嘔吐も、各テポチニブ投与群の動物に見られた。軟便は休薬期間中も 1 例のイヌに観察されたが、所見の回復傾向は確認された。

血液学的検査では、テポチニブ投与に関連する所見は認められなかった。血液生化学的検査では、わずかであるが統計学的に有意な血清肝酵素濃度の上昇（雄では ALT、AST、GLDH 及び SDH、雌では ALT 及び AST）が認められた。これらの増加は、3 及び 10 mg/kg/日群では散発的に、そして 30 mg/kg/日群ではより頻繁に認められた。これらの血液生化学的な変化は、試験期間中に一過性に認められたものであり、それぞれ 1 例のイヌでのみ発現し、関連が想定される病理組織学的変化は認められなかったことから、有害な変化ではなかった。

眼科学的検査では、テポチニブ投与に関連した影響は認められなかった。心拍数、動脈血圧、ECG の検査項目（PQ、QRS 及び QT 間隔）、呼吸数及び反射機能にも影響は見られなかった。

全ての動物は投与期間を通してテポチニブに曝露されていた。また、対照群の動物には、曝露は検出されなかった。本試験での TK 測定の結果を表 11 に示す。

投与初日、25 及び 88 日ともに、全てのテポチニブ投与群で、投与後 2～4 時間の間にテポチニブの最高血漿中濃度が観察された。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は概ね投与量に比例して増加した。$AUC_{0\text{-}t}$ 値は、投与初日と比較して 25 及び 88 日には約 2～3 倍高いことが見出され、反復投与後の蓄積性を示唆した。全ての投与量で反復投与時の蓄積性が確認されたが、3 mg/kg/日群と比較して、10 及び 30 mg/kg/日群では、その程度がやや高かった。C_{max} 値は、反復投与後に 1.5～3 倍増加したが、その増加の程度に明確な用量依存性の傾向はなかった。曝露量に性差は見られなかった。

表 11 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（T8427）での投与 1、25 及び 88 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果

Day 1

Parameters	3 mg/kg/day		10 mg/kg/day		30 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	6	6	6	6	6	6
C_{max} (ng/mL)	5.69	3.82	14.8	5.99	29.1	35.7
t_{max} (h) [a]	2	2	2	4	4	2
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	58.0	52.7	180	74.5	374	431

Day 25

Parameters	3 mg/kg/day		10 mg/kg/day		30 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	6	6	6	6	6	6
C_{max} (ng/mL)	7.44	5.84	19.7	18.1	58.1	74.6
t_{max} (h)	4	2	4	2	4	2
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	99.7	89.0	356	212	905	1100

Day 88

Parameters	3 mg/kg/day		10 mg/kg/day		30 mg/kg/day	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	6	6	6	6	6	6
C_{max} (ng/mL)	4.41	6.61	30.3	16.6	47.8	49.3
t_{max} (h) [a]	2	4	4	4	4	2
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	43.1	100	427	210	705	704

Source: Study Report T8427. AUC_{0-t}: Area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: For the t_{max}, the median is reported.

臓器重量の測定では、雌での用量依存的な肝臓重量の増加の傾向が、軽度ながら認められた。病理組織学的検査では、全テポチニブ投与群の各 1 例で、大腸（結腸又は盲腸）でのリンパ球浸潤のわずかな増加が観察された。休薬させた動物では、対照群を含む全ての群において各 1 例ずつに、限局性のリンパ球浸潤の増加が観察された。

本試験で認められた用量依存的な血清肝酵素の上昇は、有害なものとは考えられなかったため、本試験の NOAEL は、30 mg/kg/日であると判断した。剖検、臓器重量測定、及び病理組織学的検査では、この血清肝酵素上昇と関連付けられる変化は認められなかった。

3.8　イヌ 14 日間反復経口投与毒性予備試験（T8453）

概要表 2.6.7、6、添付資料番号：4.2.3.2.8

本 GLP 準拠予備試験の主な目的は、1 群雌雄各 1 匹（160 mg/kg/日群のみは雌雄各 2 匹）のビーグル犬に、硬ゼラチンカプセルに充填した微粉化テポチニブ（バッチ番号 : EE11002324）を、10、40 及び 160 mg/kg/日の用量で 14 日間連日経口投与して、毒性及び TK を評価し、非微粉化原薬を用いた以前の試験と TK を使った橋渡しをすることであった。しかし、160 mg/kg/日群は、摂餌量の減少により、試験 4～6 日に投与を中止し、試験 7 日から 120 mg/kg/日に減量して投与を再開した。

毒性評価は、一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、ECG、血圧及び呼吸数測定、反射機能検査、臨床病理学的検査（血清中膵アミラーゼ及びリパーゼの測定を含む）、剖検、並びに病理組織学的検査の結果に基づいて行った。また、全動物から複数の時点で採血して、TK 評価を行った。

投与期間中に死亡は見られなかった。40 mg/kg/日群では、散発的な嘔吐、軟便、粘液又は黄褐色の物質が混和した便又は下痢が観察された。160 mg/kg/日群では、試験 2 及び 3 日に軟便、粘液が混入した下痢、及び繰り返しの嘔吐が見られた。試験 7 日に 120 mg/kg/日の用量で投与を再開した後は、嘔吐、軟便、下痢、及び粘液が混入した便が散発的に観察された。

160 mg/kg/日群では、試験 2 及び 3 日に摂餌量の減少又は摂餌量 0 が各 1 例観察された。120 mg/kg/日の用量で投与を再開した後、雌 2 例で試験 10 日のみに摂餌量の極端な低下が観察された。試験 11 日以降、1 日当たりの給餌時間を当初の 2 時間から 22 時間へと延長した結果、以後試験終了までの期間には摂餌量が正常範囲に維持された。

心拍数、ECG、収縮期、拡張期及び平均動脈血圧、並びに反射機能検査では、テポチニブ投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査では、160 mg/kg/日群の 2 例の雌で、試験 3 日に好中球数及び白血球数の増加、並びにリンパ球の減少が認められた。血液生化学的検査では、40 及び 160/120 mg/kg/日投与群で、血清 ALT、AP、GLDH、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ（gamma-glutamyl transpeptidase; γ-GT）及び血清胆汁酸濃度の顕著な上昇が認められ、肝細胞及び肝胆道系組織での障害が示唆された。

膵臓由来のアミラーゼ及びリパーゼは、いずれの動物でも投与前値と比べて増加を示さなかった。

TK 評価では、全ての動物が全投与期間を通してテポチニブに曝露されていた。各動物の初回投与直前に採取した対照試料に、テポチニブは検出されなかった。TK 測定の結果を表 12 に示す。曝露量は投与量の増加に伴って増加した。T_{max} の平均値は、全ての投与群で投与後 2～6 時間であった。この試験の 10 及び 40 mg/kg/日群の曝露量は、全体的に、最初に実施した 4 週間反復経口投与毒性試験の曝露量に匹敵するか、あるいは上回っていた（3.6 項、報告書番号 T8421）。結論として、微粉化された原薬バッチ EE11002324 を投与した際の曝露量は、最初の 4 週間反復投与毒性試験で投与された原薬バッチ 5 と少なくとも同程度に高いことが示された。

表 12 イヌ 14 日間反復経口投与毒性予備試験（T8453）での投与 1、7 及び 14 日の血漿中テポチニブ濃度

Study Day	Day 1						Day 7	
	10 mg/kg/day		40 mg/kg/day		160 mg/kg/day		120 mg/kg/day	
Parameters	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	1	1	1	1	2	2	2	2
C_{max} (ng/mL)	38.9	83.5	363	358	269	634	162	521
t_{max} (h) [a]	2.00	4.00	4.00	4.00	5.00	5.00	13.00	4.00
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	481	1510	3470	3830	3770	8490	2220	6570

Study Day	Day 14					
	10 mg/kg/day		40 mg/kg/day		120 mg/kg/day	
Parameters	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	1	1	1	1	2	2
C_{max} (ng/mL)	97.9	109	195	992	698	1990
t_{max} (h) [a]	4.00	4.00	2.00	4.00	4.00	4.00
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	721	1230	1640	10800	6790	27200

Source: Study Report T8453. AUC_{0-24}: Area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: For the t_{max}, the median or individual values are reported.

剖検では、160/120 mg/kg/日群の雌 1 例で、肝臓にベージュ色の斑状褪色が観察された。病理組織学的検査では、160/120 mg/kg/日群の全てのイヌの肝臓で胆管周囲炎及び胆管周囲の線維化を伴う胆管の増生、並びに胆嚢で炎症性細胞浸潤が認められた。また、同群の雄 2 例に、小腸絨毛先端部での顆粒球浸潤が見られた。40 mg/kg/日群の雌雄では、肝臓での胆管増生、及び胆嚢での炎症性細胞浸潤が見られ、雌の小腸で陰窩の拡張が認められた。10 mg/kg/day 群の雌では、小腸に軽微な顆粒球浸潤が観察された。

10 mg/kg/日の用量でのテポチニブ投与は、イヌに十分な忍容性があると結論付けられた。観察された症状変化及び病理組織学的所見は、本試験で使用した微粉化原薬が、以前の毒性試験で使用された非微粉化原薬と毒性学的に同等であることを示している。

3.9 イヌ 39 週反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（[redacted]-DA009-N0）

概要表 2.6.7、7G 及び概要表 2.6.5、17A、添付資料番号：4.2.3.2.9、4.2.2.7.2 及び 4.2.2.7.3

本 GLP 準拠ピボタル試験では、各群雌雄各 5 匹のビーグル犬に、硬ゼラチンカプセルに充填した微粉化テポチニブを 0、3、10、又は 30 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 39 週間連日強制経口投与して、テポチニブの慢性毒性を評価した。このうち 1 群雌雄各 2 匹には、投与期間終了後に 12 週間の休薬期間を設けた。

毒性評価は、一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、ECG、血圧及び呼吸数測定、反射機能検査、臨床病理学的検査（膵臓のバイオマーカーである血清中アミラーゼ、リパーゼ及びトリプシン様免疫反応物質の測定を含む）、剖検、並びに病理組織学的検査の結果に基づいて行った。また、全動物から複数の時点で採血して、TK 評価を行った。

さらに、ヒトマスバランス試験（報告書番号 EMR200095 007）でキラル代謝物 M506（MSC2569775）が同定されたことから、本試験の残余の血漿、肝臓、胆汁試料を用いて、鏡像異性体 MSC2571107A 及び MSC2571109A（後者はヒトでの主要代謝物）の探索的 TK 評価を追加実施した。この測定結果は、それぞれ別の報告書（血漿試料の分析結果は報告書番号 14-GR108-V0、並びに肝臓及び胆汁試料の分析結果は報告書番号 15-GR019-P0）にまとめた。結果は後述する。

テポチニブの反復経口投与により、全てのテポチニブ投与群で、散発的な嘔吐（時に白色味、黄色味、又は赤味を帯びた物質が混入した泡状の吐物）、粘液、或いは黄色味又は赤色味を帯びた混和物を伴う軟便、或いは下痢が観察された。さらに、全てのテポチニブ投与群の一部の個体で、粘液、組織、或いは黄色味を帯びた混和物又は血液が混入した、下痢又は直腸からの排泄物が、散発的に認められた。さらに、10 mg/kg/日群の 1 例、及び 30 mg/kg/日群の 4 例で、流涙の増加が繰り返し観察された。これらの症状変化は、発生率及び重症度が用量依存的に増加する傾向を示したが、投与期間終了後は回復性を示した。

投与期間を通しての摂餌量は、10 mg/kg/日の 1 例（91%まで）、及び 30 mg/kg/日群の 1 例（87%まで）で、やや減少した。さらに、投与期間中に、10 mg/kg/日群の 1 例と、30 mg/kg/日群の 5 例に繰り返し摂食の拒絶が見られた。

投与期間を通しての体重の個別値は、10 mg/kg/日群で最大 8%、30 mg/kg/日群で最大 13%減少した。さらに、30 mg/kg/日群の雌 1 例は、投与期間中に一時最大 18%までの体重減少を示した。こうした摂餌量及び体重に対する影響は、休薬期間の終わりには回復した。

心拍数及び心拍数で補正した QT 間隔を含む ECG の検査項目は、投与期間中に投与群間或いは個体別に、テポチニブ投与に関連した変化を示さなかった。平均、収縮期及び拡張期の動脈血圧にも投与に関連した明らかな影響は見られなかった。

眼科学的検査でも、テポチニブの反復投与後に関連した所見は認められなかった。

血液学的検査及び尿検査では、被験物質投与に関連した変化は見られなかった。

血液生化学的検査では、30 mg/kg/日群で、主に肝臓関連のバイオマーカーに変化が認められた。影響を受けた測定項目は、ALT、AST、AP、GLDH、γ-GT、SDH、胆汁酸の分泌量、TBIL、DBIL、IBIL、ALB 及び A/G 比であった。上記検査項目の群平均値は、試験 3 週の検査から変化し始め、試験 5 週～18 週にかけては減衰する傾向を示したが、試験 26 及び 38 週に最高の値を示した。極端な個別値がそれぞれ 1 例のみで見られ（投与前値に比べて、ALT で最大 48 倍、AST で同 22 倍、AP で同 47 倍、GLDH で同 183 倍）、群としての傾向を伴わなかったことから、いずれも個体毎の反応を示すものであると考えられた。休薬期間終了時の試験 52 週には、変化が認められていた全ての検査項目について、完全な回復性が確認された。10 及び 3 mg/kg/日群では、投与に関連した変化は観察されなかった。膵臓の毒性指標（アミラーゼ、リパーゼ及びトリプシン様免疫反応物質）には、テポチニブ投与の影響は見られなかった。

臓器重量の測定では、30 mg/kg/日群の全ての雌で、肝臓重量の軽度な増加（平均体重比重量が約 20%増加）が見られたが、休薬させた動物では投与に関連した臓器重量の変化は観察されなかった。

剖検では、30 mg/kg/日群の雌の 2 例で副腎の灰色化、同群の雄 2 例及び雌 3 例で肝内胆管の門部領域を中心とする白色化が認められた。これらの変化は、休薬期間終了時には回復傾向を示した。

病理組織学的検査では、30 mg/kg/日群で、副腎、肝臓及び胆管の変化を認めた。副腎では、雄 1 例及び雌 3 例で、脂質空胞の減少が見られた。肝臓では、軽微～中程度の小規模の壊死巣を伴った門脈周囲の細胆管の増加（雄 2 例及び雌 3 例）、門脈周囲のヘモシデリン沈着（雄 1 例及び雌 2 例）、及び肝細胆管内の胆汁色素の貯留（雌 1 例）が見られた。胆管では、主に門部に近い領域で、胆管周囲の線維化を伴った中等度の乳頭状過形成（雄 2 例及び雌 3 例）、及びリンパ形質細胞の浸潤（雄 2 例及び雌 2 例）が認められた。休薬期間終了時には、雌雄各 1 例で、胆管周囲の軽度な線維化が見られたが、その他の全ての変化は完全に回復することが確認された。細胞増殖のマーカーである Ki67 及びリン酸化ヒストン H3 の免疫組織化学染色により、全ての動物の肝細胆管及び胆管の増殖活性を評価した。30 mg/kg/日群の動物では、両方のマーカーの染色結果は、門脈周囲の細胆管の数の増加が増殖活性の増加と関連していないことを示していた。過形成を起こしている胆管では、単一から少数（雄 1 例及び雌 2 例）又は多数（雄 1 例）の免疫染色陽性の核が多巣性に見られ、これは、わずか～中程度の有糸分裂活性を示していた。同群の休薬させた動物の胆管では、対照群との間に、免疫染色性の差はなかった。

TK 測定では、対照試料、及びテポチニブ投与群の初回投与前に採取した血漿試料からはテポチニブは検出されず、試料の汚染はなかった。テポチニブを投与された全ての動物は、投与間隔の 24 時間を通してテポチニブへ曝露されていたことが示された。C_{max}、AUC、及び t_{max} の値を表 13 に示す。t_{max} の中央値は、全てのテポチニブ投与動物において 2 又は 4 時間のいずれかで観察された。テポチニブの投与量の増加に伴い、その曝露量も増加した。

表 13　　イヌ 39 週反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（[redacted] DA009-N0）での投与 1、22、85、176 及び 267 日の血漿中テポチニブ濃度測定結果

Dose	3 mg/kg		10 mg/kg		30 mg/kg	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
N	3	3	3	3	3	3
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	20.5	20.2	57.2	57.1	92.1	98.5
AUC_{τ} (ng·h/mL)	205	183	538	485	1020	1110
t_{max} (h) [a]	2.00	4.00	2.00	2.00	4.00	4.00
Day 22						
C_{max} (ng/mL)	16.1	21.6	86.1	61.2	155	261
AUC_{τ} (ng·h/mL)	170	209	770	660	1810	2280
t_{max} (h) [a]	2.00	2.00	4.00	2.00	4.00	2.00
Day 85						
C_{max} (ng/mL)	18.8	18.4	73.3	54.4	195	264
AUC_{τ} (ng·h/mL)	202	164	692	686	2090	3280
t_{max} (h) [a]	2.00	2.00	4.00	4.00	4.00	4.00

Day 176						
C_{max} (ng/mL)	25.3	25.1	79.9	86.2	184	302
AUC_{τ} (ng·h/mL)	281	254	829	901	2580	4240
t_{max} (h) [a]	4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	4.00
Day 267						
C_{max} (ng/mL)	21.8	26.0	76.9	105	254	554
AUC_{τ} (ng·h/mL)	213	267	898	1370	3420	6380
t_{max} (h) [a]	2.00	2.00	2.00	2.00	4.00	4.00

Source: Study Report [redacted]-DA009-N0. AUC_t: Area under the concentration vs time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration
a: For the t_{max}, the median is reported.

本試験の残余の血漿試料を用いて、鏡像異性体 MSC2571107A 及び MSC2571109A を検出する目的で探索的 TK 評価を行った結果、10 mg/kg/日以上の用量で、評価可能な MSC2571107A 及び MSC2571109A の血漿中濃度が定量された（報告書番号 14-GR108-V0）。10 mg/kg/日群では散発的に測定値が得られたのみであった。30 mg/kg/日群では、両代謝物への曝露が、全ての動物で少なくとも投与後 6 時間まで、大部分の動物では投与後 24 時間まで検出された。MSC2571109A と比較して、MSC2571107A は 2～4 倍高い曝露を示した。10 及び 30 mg/kg/日群の t_{max} の中央値は投与後 1～24 時間の範囲にあり、明らかな傾向を示さなかった。MSC2571107A と MSC2571109A の両代謝物の曝露量は、10～30 mg/kg/日の用量では、テポチニブの投与量の増加に比例して増加した。両代謝物への曝露量は、雌雄で概して同等であった。30 mg/kg/日群では血中濃度の蓄積性を認め、これは投与 267 日の値で最も顕著であった。

探索的 TK 評価の結果を表 14 に示す。

表 14　イヌ 39 週反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（[redacted]DA009-N0）での投与 1、85 及び 267 日の血漿中テポチニブ、MSC2571109A 及び MSC2571107A 濃度の測定結果（[redacted]-GR108-V0）

Dose (mg/kg)			**Mean Toxicokinetic Parameters**					
			3		**10**		**30**	
			Males	**Females**	**Males**	**Females**	**Males**	**Females**
N			3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	Day 1	MSC2156119J[a]	20.5	20.2	57.2	57.1	92.1	98.5
		MSC2571107A	-	-	-	0.793	5.62	1.71
		MSC2571109A	-	-	1.22	1.06	1.28	1.76
	Day 85	MSC2156119J[a]	18.8	18.4	73.3	4	195	264
		MSC2571107A	-	0.876	0.875	2.97	9.50	8.73
		MSC2571109A	-	-	1.81	1.37	2.16	3.31
	Day 267	MSC2156119J[a]	21.8	26.0	76.9	105	254	554
		MSC2571107A	0.612	1.51	1.40	9.30	12.4	22.9

Dose (mg/kg)			Mean Toxicokinetic Parameters					
			3		10		30	
			Males	Females	Males	Females	Males	Females
		MSC2571109A	0.832	0.979	2.90	3.18	3.58	6.61
AUC_τ (ng·h/mL)	Day 1	MSC2156119J[a]	205	183	538	485	1020	1110
		MSC2571107A	-	-	-	-	88.3	40.4
		MSC2571109A	-	-	-	-	23.5	18.8
	Day 85	MSC2156119J[a]	202	164	692	686	2090	3280
		MSC2571107A	-	-	-	33.3	167	112
		MSC2571109A	-	-	12.6	7.82	36.4	45.1
	Day 267	MSC2156119J[a]	213	267	898	1370	3420	6380
		MSC2571107A	-	-	21.8	112	244	305
		MSC2571109A	-	-	22.2	30.7	66.2	84.4

Source: Study Reports [redacted]-DA009-N0 and [redacted]-GR108-V0.
a: Tepotinib (MSC2156119J) exposure values from GLP Study 13 DA009 N0 (i.e. no additional analyses of tepotinib were conducted). AUC_t: Area under the concentration vs time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; C_{max}: Maximum concentration. LLOQ: Lower limit of quantification. N: number of animals.
-: no value since result was below the LLOQ (0.500 ng/mL)

本試験の残余の胆汁試料及び肝臓組織試料を用いて、鏡像異性体MSC2571107A及びMSC2571109Aを検出する目的で探索的TK測定を行った（報告書番号15-GR019-P0）結果、39週間の投与期間終了時のイヌの胆汁中には高濃度のテポチニブを、肝臓組織中では低濃度のテポチニブを検出した。代謝物MSC2571107A及びMSC2571109Aの濃度は、同じ試料中のテポチニブ濃度よりも低かった（表15）。30 mg/kg/日群では、胆汁中のMSC2571107A濃度はテポチニブの約0.5～1%であり、MSC2571109A濃度はテポチニブの約4%であった。両代謝物の比較では、30 mg/kg/日群の胆汁試料中では、MSC2571107Aの濃度に比べてMSC2571109Aの濃度が約4～6倍高い値であり、肝臓組織中では、MSC2571107A濃度の方がわずかに高い値であった。胆汁試料中及び肝臓組織試料中の全ての測定物質の濃度は、いずれの性別でも、テポチニブの投与量の増加に伴い増加した。休薬させた動物では、ほとんど全ての胆汁及び肝臓試料で、テポチニブ、MSC2571109A及びMSC2571107Aの濃度が定量下限未満であった。これは、テポチニブとその代謝物が8週間の休薬期間内に排泄されたことを示す証拠である。

胆汁及び肝臓組織における探索的TK評価の結果を表 15に示す。

表 15 イヌ 39 週反復経口投与毒性試験及び 12 週間回復性試験（[redacted] DA009-N0）での投与 39 週及び休薬 12 週の胆汁中及び肝臓組織中のテポチニブ、MSC2571109A 及び MSC2571107A 濃度の測定結果（[redacted] GR019-P0）

Dose (mg/kg)			Mean toxicokinetic parameters					
			3		10		30	
			Males	Females	Males	Females	Males	Females
Concentration in bile[b] (ng/mL)	Week 39	N	3	3	3	3	3	3
		MSC2156119J[a]	46600	36400	120000	202000	153000	221000
		MSC2571107A	BLOQ	BLOQ	369	1180	1520	1190
		MSC2571109A	957	824	3280	4860	6560	7850
	Week 52	N	2	2	2	2	2	2
		MSC2156119J[a]	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	NR	NR
		MSC2571107A	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ
		MSC2571109A	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ
Concentration in liver[c] homogenate (ng/g)	Week 39	N	3	3	3	3	3	3
		MSC2156119J[a]	2150	2510	6150	8110	18600	32200
		MSC2571107A	BLOQ	BLOQ	BLOQ	57.1	100	BLOQ
		MSC2571109A	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	53.3
	Week 52	N	2	2	2	2	2	2
		MSC2156119J[a]	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ
		MSC2571107A	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ
		MSC2571109A	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ	BLOQ

Source: Study Reports [redacted]-GR019-P0 and [redacted]-DA009-N0.
BLOQ: below limit of quantification; LLOQ: lower limit of quantification; NR: not recorded
a: bile and liver samples taken from 39-week study in dogs (Study Report [redacted] DA009 N0), treated with tepotinib (MSC2156119J)
b: Below Limit of Quantification (BLOQ) - Below the LLOQ, that varied on a sample level, ranging in bile for tepotinib (MSC2156119J) from 10 to 2000 ng/mL, for MSC2571107A and MSC2571109A from 0.5 to 200 ng/mL.
c: BLOQ - Below the LLOQ, that varied on a sample level, ranging in liver homogenate for tepotinib (MSC2156119J) from 100 to 500 ng/g, for MSC2571107A and MSC2571109A from 10 to 50 ng/g

結論として、3 及び 10 mg/kg/日の用量でのテポチニブの 39 週間反復経口投与は、イヌの臓器に明らかな影響を示さず、忍容性が認められた。30 mg/kg/日の用量では、臨床的な忍容性は認められたが、肝臓に著しく有害な組織変化（細胆管数の増加、小規模な壊死、色素沈着、胆管周囲の線維化及びリンパ形質細胞の浸潤を伴う肝内胆管の乳頭状過形成）を誘発した。血液生化学的検査で認められた変化も、病理組織学的検査で 30 mg/kg/日群に認めた肝細胞及び肝胆道系の変化とよく相関していた。従って、肝胆道系がテポチニブの毒性の主要な標的器官であると判断された。

本試験の残余の血漿試料、胆汁試料及び肝臓組織試料を使用した鏡像異性体 MSC2571107A 及び MSC2571109A（後者はヒトでの主要な代謝物）検出のための探索的 TK 測定の結果、10 mg/kg/日以上の用量で、MSC2571107A 及び MSC2571109A の血漿中濃度が定量された。高濃度のテポチニブが胆

汁中に検出され、より低い濃度で肝臓組織中にも検出された。30 mg/kg/日の用量では、胆汁中のMSC2571107A の濃度はテポチニブの約 0.5～1%であり、MSC2571109A の濃度はテポチニブの約 4%であった。胆汁及び肝臓組織中のテポチニブ、MSC2571107A 及び MSC2571109A の濃度は、いずれの性でもテポチニブの用量の増加に伴って増加した。

本試験の NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。この用量での平均曝露量（AUC、投与 267 日）は、雄で 898 ng·h/mL、雌で 1370 ng·h/mL であった。

4. 遺伝毒性試験

4.1 In vitro 遺伝毒性試験

テポチニブの遺伝毒性の有無を、細菌を用いる復帰突然変異（Ames 試験）及び L5178Y 細胞を用いるマウスリンパ腫試験により in vitro で評価した。

4.1.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験（T17192）

概要表 2.6.7、8A、添付資料番号：4.2.3.3.1.1

本 GLP 準拠試験では、ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA102、TA1535 及び TA1537 株、並びに大腸菌 WP2*uvrA* 株を用いて、テポチニブの変異原性の有無を試験した。Aroclor1254 前処理ラットから調製した肝 S9mix の添加あり、及びなしの条件下でプレート法により試験した。2 回の独立した実験を実施し、S9mix を使用する場合には、 1 回目の試験では S9mix 中の S9 濃度を 10%とし、2 回目の試験では 30%とした。

テポチニブはジメチルスルホキシド（dimethyl sulfoxide; DMSO）に溶解し、5.00～5000 µg/plate の濃度範囲で試験した。寒天プレート上での試験物質の沈殿が、500 µg/plate 以上の濃度で認められた。細菌に対する毒性が 158 µg/plate 以上の濃度で観察された。

ダウノマイシン、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン、4-ニトロキノリン N オキシド及びクメンヒドロペルオキシドを、S9mix の非存在下で各株に特異的な陽性対照物質として使用した。2-アミノアントラセン及びベンゾ[a]ピレンは、S9mix による代謝活性化系存在下の陽性対照物質として使用した。陽性対照物質での処理は各菌株の復帰突然変異コロニー数の明らかな増加をもたらし、全ての試験菌株で期待された復帰突然変異の誘発性、及び使用した S9mix による良好な代謝活性化能が確認された。

代謝活性化系である S9mix の添加の有無に関わらず、テポチニブは本試験条件下で変異原性を有しなかった。

4.1.2 ほ乳類細胞を用いる in vitro 遺伝子突然変異試験（T17188）

概要表 2.6.7、8B、添付資料番号：4.2.3.3.1.2

マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いて、*TK*（5 トリフルオロチミジン耐性）遺伝子座におけるテポチニブの突然変異誘発性の有無を、変動プロトコルを使用して試験した。本 GLP 準拠試験は、2 回の独立した試験からなり、それぞれ外因性代謝活性化系（Aroclor1254 で前処置されたラットの肝臓か

ら調製した S9mix）の存在下及び非存在下で試験した。テポチニブの溶媒として DMSO を使用した。曝露時間は、S9mix の非存在下で 3 時間、存在下では 24 時間とした。

S9mix 存在下又は非存在下で、0.158～50.0 µg/mL の濃度範囲のテポチニブを試験した。培地中に被験物質の沈殿は観察されなかった。明らかな細胞傷害性、すなわち試験細胞の相対生存率、及び総増殖率の減少は、S9mix 非存在下ではそれぞれ 15.8 µg/mL 以上、及び 5.00 µg/mL 以上の濃度で、S9mix 存在下ではそれぞれ 1.58 µg/mL 以上、及び 5.00 µg/mL 以上で見られた。細胞の生存率を考慮して試験濃度を選択し、被験物質処理後 2 日の生存率及び変異原性（5-トリフルオロチミジン耐性コロニーの発現頻度増加）の有無を判定した。

S9mix の存在下及び非存在下の試験とも、陰性（溶媒）対照及び陽性対照による処理を含めた。陰性対照での突然変異誘発頻度は背景データの範囲内にあり、突然変異頻度の明らかな増加が陽性対照物質 4 ニトロキノリン N オキシド（S9mix 非存在下）及び 7,12 ジメチルベンズ[a]アントラセン（S9mix 存在下）により誘発された。従って、この試験系は有効であったことが確認された。

S9mix の非存在下及び存在下での 2 回の試験でのテポチニブ処理後に、突然変異頻度の増加は観察されなかった。陽性対照物質は明らかな変異原性を示した。従って、テポチニブは本試験条件下で変異原性を有しないと結論された。

4.2　In vivo 遺伝毒性試験

ラット単回経口投与小核試験を実施し、骨髄細胞でのテポチニブの遺伝毒性の有無を、in vivo で評価した。

4.2.1　ラットを用いる in vivo 小核試験（T17266）

概要表 2.6.7、9、添付資料番号：4.2.3.3.2.1

本 GLP 準拠試験では、各群各標本調製時点につき雄 5 例、計 35 匹のラットに、テポチニブを 0、667、1333 及び 2000 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。対照群には、溶媒である 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液を、被験物質投与群と同様に 10 mL/kg の容量で投与した。陽性対照群は設定しなかったが、本試験でのスライド観察での正確性と遺伝毒性物質に対する感受性を確認する目的で、以前実施した試験（Utesch 2008）でシクロホスファミド 16.5 mg/kg を単回経口投与した動物から作製された陽性対照スライドを交えて観察した。

この試験では TK 評価を実施しなかったが、同じ原薬バッチを用いたラット 4 週間反復経口投与毒性試験のより低い用量で曝露が確認されている（3.1 項、報告書番号 T16157）。薬物曝露があったことは、以下に記述するように、1333 及び 2000 mg/kg 投与群での症状変化（下痢）の発現や体重減少によっても間接的に示されている。

骨髄塗抹標本を各動物の一方の大腿骨から調製し、ギムザ液で染色した。2000 mg/kg 群についてのみ、投与後 24 及び 48 時間の 2 つの時点で標本を調製した。その他の用量群、陽性対照群、及び陰性対照群では、標本は投与後 24 時間のみで調製した。顕微鏡検査では、各動物につき 1 枚のスライドを観察した。各動物当たり 2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球の数を計数した。また、多染性赤血球数に対する正染性赤血球数の比率を、動物 1 匹当たり 1000 個の赤血球を観察して計算した。小核を有する多染性赤血球数は、多染性赤血球数を記録する際に記録した。また、

1000 個の正染性赤血球中の小核を有する正染性赤血球数を、多染性赤血球数と正染性赤血球数の比率を使用して算出した。

1333 及び 2000 mg/kg の用量では、毒性症状（下痢）、及び軽度の体重減少が見られた。多染性赤血球数に対する正染性赤血球数の比率には、被験物質投与に関連した変動は観察されなかった。溶媒対照群では、小核を有する多染性赤血球数の平均値は、試験施設の背景データの範囲内か、あるいは背景データの範囲に極めて近い値かであった。陽性対照（シクロホスファミド）群では、想定通り、小核を有する多染性赤血球数の著しい増加が観察された。

１回目の試験では、2000 mg/kg 群の投与後 24 時間の標本で、軽度ではあるが、統計学的に有意（$p \leq 0.05$）な小核を有する多染性赤血球数の増加が見られた。しかし、2 回目の試験では、いずれの用量のテポチニブ投与群でも、小核を有する多染性赤血球数の増加は観察されなかった。小核を有する正染性赤血球数は増加していなかった。第 1 回の試験で見られた変化には再現性がなく、生物学的な意義を持つ変化ではないと考えられた。

結論として、テポチニブはラット骨髄小核試験において 2000 mg/kg までの用量で遺伝毒性を有しないと判断された。

5. 癌原性試験

本剤の現在の適応症は進行癌であり、ICH S9 ガイドラインに従って、癌原性試験は実施していない。

6. 生殖発生毒性試験

ウサギにおける胚･胎児発生への影響に関する予備試験を 2 試験行った。ウサギは in vitro 代謝データ（CTD2.6.4、5 項参照）に基づいて毒性試験への使用が妥当な動物種と考えられる。この 2 試験で得られた成績は、テポチニブが催奇形性を有すると結論付けるのに十分であり、ICH S9 ガイドラインに関する質疑応答集（Step 4、2018）に従って、それ以上の試験を実施しなかった。

現在想定しているテポチニブの適応症が進行癌であることから、ICH S9 ガイドラインに従って、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育並びに母体機能に関する試験は実施していない。反復投与毒性試験での生殖器官の病理組織学的検査では有害な影響は認められていないことから、テポチニブが受胎能に障害を及ぼす可能性は示唆されていない。

テポチニブは小児患者への使用を意図していないため、幼若動物での毒性試験は実施していない。

6.1 非妊娠ウサギにおける用量設定試験（参考資料 RF0470）

概要表 2.6.7、11A、添付資料番号：4.2.3.5.2.1（参考資料）

この試験は、テポチニブを NZW ウサギに反復経口投与した際の忍容性を予備的に評価し、胚・胎児発生の影響に関する予備試験の投与量を設定することを目的として実施した。本非 GLP 試験では、1 群 3 匹の非妊娠雌 NZW ウサギに、0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液に懸濁したテポチニブを 150、300 及び 600 mg/kg/日の用量で 13 日間反復強制経口投与した。

300 mg/kg/日の用量までは、テポチニブ投与による一般状態の変化は見られなかった。600 mg/kg/日では、試験 10 日に 1 例の死亡が発見され、別の 1 例を試験 8 日に動物愛護の観点から安楽死させた。

死亡した動物では、試験 5 日以降、削痩、低体温及び下痢が観察された。安楽死させた動物は、削痩、下痢、会陰部の尿汚れ及び鼻腔からの分泌物を示した後、瀕死状態に至った。さらに、これらの動物は、初回投与の直後からの摂餌量の減少を伴った体重の著しい減少を示した。一方で、同群の残りの 1 例は、こうした検査項目に変化を示さなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査の項目の変化は、試験 8 日に安楽死させた 600 mg/kg/日群の 1 例のみに認められた。この動物の試験 8 日の検査値では、総白血球数の減少（主にリンパ球の減少による）が認められ、また多くの肝臓及び腎臓関係の検査項目（TRIG、UREA、CREA、AST、ALT、TBIL、グロブリン、ナトリウム、塩化物及び無機リン）で増加が認められ、そのほとんどが明らかに正常範囲を超えた増加であった。剖検では、600 mg/kg/日群の死亡動物及び安楽死させた動物のみで所見が認められた。胃粘膜の暗色領域が両方のウサギで、腎臓及び脾臓の蒼白化が死亡した動物で認められた。

6.2　ウサギにおける胚・胎児発生に関する第 1 回予備試験（RF0480）

概要表 2.6.7、11B、添付資料番号：4.2.3.5.2.2

本 GLP 準拠試験では、1 群 8 匹の NZW ウサギに、0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液に懸濁したテポチニブ（微粉化）を 0、50、150 及び 450 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日～18 日まで連日経口投与した。加えて、 1 群 3 匹のサテライト動物を使用して、TK 評価を実施した。全ての動物について、生死及び一般状態の観察、並びに体重及び摂餌量の測定を行った。ウサギは妊娠 29 日に安楽死させ、帝王切開して、剖検及び胎児検査に供した。胃、肝臓及び腎臓を病理組織学的検査に供した。妊娠の有無、着床数、生存胎児数、死亡胚・胎児数、及び胎児性別を検査し、胎児体重及び胎盤重量を測定した。全ての胎児について、外表検査をした後、剖検し、アリザリンレッド S 染色を施して骨格異常を検査した。また、およそ 3 分の 1 の生存胎児の頭部をブアン液に固定し、自由切片法にて頭部の内臓異常を検査した。

450 mg/kg/日群では、試験期間中に 7 例のウサギの死亡が発見された。150 mg/kg/日群では、2 例が流産し、1 例が死亡した。450 mg/kg/日群では、下痢及び軟便が観察された。平均体重増加量及び平均摂餌量の減少が、150 及び 450 mg/kg/日群で見られたが、50 mg/kg/日群では平均体重増加量の軽度な減少が見られたのみであった。対照群で死亡胎児が 1 例観察されたが、テポチニブ投与群では死亡胎児は観察されなかった。150 mg/kg/日群で、平均胎児体重の低値が認められたが、50 mg/kg/日群の平均胎児体重には対照群との差は観察されなかった。

TK 測定したテポチニブ投与群の全ての動物で、投与期間を通した全身曝露が確認された。本試験での TK 測定の結果を表 16 に示す。

表 16 ウサギにおける胚・胎児発生に関する第 1 回予備試験（RF0480）での妊娠 6 及び 18 日の血漿中テポチニブ濃度

Parameters	50 mg/kg/day		150 mg/kg/day		450 mg/kg/day	
	Day 6	Day 18	Day 6	Day 18	Day 6	Day 18
N	3	3	3	3	3	0
C_{max} (ng/mL)	68.23	305.01	139.67	604.65	807.44	n.e.
t_{max} (h)[a]	6	4	4	6	6	n.e.
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	720	3898	1593	11097	16705	n.e.

Source: Study Report RF0480. AUC_{0-24}: Area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration; n.e. = not evaluable.
a: For the tmax, the median is reported.

胎児骨格検査では、肩胛骨の奇形又は鎖骨・踵骨・距骨の位置異常を伴った前肢・後肢の奇形が観察され、骨格異常を有する胎児の群当たりの発現率が、統計学的に有意かつ用量依存的に増加した。内臓及び外表の異常は観察されなかった。

母体の病理組織学的検査（胃、肝臓及び腎臓のみ）では、腎実質の石灰化、好塩基性尿細管の増加、又は尿細管拡張の重症度や頻度の用量依存的な上昇が、50 及び 150 mg/kg/日で認められた。450 mg/kg/日群では、途中死亡の 1 例を除いて、病理組織学的検査を実施しなかった。

試験した全ての用量で母体毒性が発現し、胎児骨格異常の増加が 50 及び 150 mg/kg/日群で認められた。本試験条件下では、母体及び胎児への影響のいずれについても NOAEL を決定することはできなかった。

6.3 ウサギにおける胚・胎児発生に関する第 2 回予備試験（RF5400）

概要表 2.6.7、11C、添付資料番号：4.2.3.5.2.3

本 GLP 準拠試験では、1 群 8 匹の NZW ウサギに、0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液に懸濁したテポチニブ（微粉化）を 0、0.5、5 及び 25 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 18 日まで連日経口投与した。加えて、1 群 3 匹のサテライト動物を使用して、TK 評価を実施した。全ての動物について、生死、及び一般状態の変化の観察、並びに体重及び摂餌量の測定を行った。ウサギは妊娠 29 日に安楽死させ、帝王切開して、剖検及び胎児検査に供した。腎臓を病理組織学的検査に供した。

妊娠の有無、着床数、生存胎児数、死亡胚・胎児数及び胎児性別を検査し、胎児体重及び胎盤重量を測定した。全ての胎児について、外表検査をした後、剖検し、アリザリンレッド S 染色を施して骨格異常を検査した。また、およそ 3 分の 1 の生存胎児の頭部をブアン液に固定し、自由切片法にて頭部の内臓異常を検査した。

死亡は対照群の 1 例においてのみ観察された。5 mg/kg/日群の 1 例、及び対照群の 2 例（うち 1 例が試験期間終了前に死亡）が流産した。軽度の平均体重の減少が、平均体重増加量の減少、及び摂餌量の減少とともに、全てのテポチニブ投与群で観察されたが、投与期間終了後、妊娠 18 日から 29 日まで間に、全用量で体重は回復した。病理組織学的評価では、いずれの用量でも腎臓に変化は見られなかった。

投与に関連した死亡胎児の増加は観察されなかった。

5 及び 25 mg/kg/日群の各 1 母体で、後肢の回転異常を有する奇形胎児が各 1 例観察された。さらに、右後肢の過伸展（奇形）を示す胎児が、5 及び 25 mg/kg/日群で、それぞれ 5 及び 3 例認められた。0.5 mg/kg/日群では、骨格奇形或いは右後肢過伸展は観察されなかった。後肢の過伸展は、試験施設の背景データには記載されておらず、この異常はテポチニブ投与によって誘発された可能性が高い。

本試験での TK 測定の結果を表 17 に示す。測定したテポチニブ投与群の全ての動物で、投与期間を通した全身曝露が確認された。

表 17　ウサギにおける胚・胎児発生に関する第 2 回予備試験（RF5400）での妊娠 6 及び 18 日の血漿中テポチニブ濃度

Parameters	0.5 mg/kg/day		5 mg/kg/day		25 mg/kg/day	
	Day 6	Day 18	Day 6	Day 18	Day 6	Day 18
N	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	0.50	0.27	3.90[a]	4.64[a]	32.28	34.15
t_{max} (h)	4	5	4	4	4	6
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	6.1	3.1	49.0	56.7	319.8	365.5

Source: Study Report RF5400. AUC_{0-24}: Area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
a: N=1

本試験の結果より、母動物に対する NOAEL は 25 mg/kg/日、胎児に対する NOAEL は 0.5 mg/kg/日と判断された。

7. 局所刺激性試験

テポチニブは錠剤の形で経口投与されるため、局所刺激性試験は実施していない。ラット及びイヌの消化器系への影響については、それぞれの反復経口投与毒性試験の項に記載した。

8. その他の毒性試験

8.1 免疫毒性

テポチニブの免疫系への影響の有無について、ラット及びイヌの反復投与毒性試験で得られた成績から評価した（3 項）。標準的な血液学的検査項目、臓器重量の絶対値及び体重比重量、並びにリンパ器官（胸腺、脾臓及び各リンパ節）の病理組織学的検査を総合した評価において、テポチニブの免疫毒性の可能性は示唆されなかった。さらに、ラット反復経口投与毒性試験の血液学的検査の一部として行った血中免疫細胞のフローサイトメトリーの結果（総 B 細胞、総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞及びナチュラルキラー細胞の数並びにそれらの百分率）に、毒性学的に意義のあるテポチニブの影響は見られなかった。

これらの結果は、化合物の薬理学的作用機序とも符号している（CTD2.6.2）。ICH S8「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」及び ICH S9 ガイドラインに従って、非臨床免疫毒性試験は実施しなかった。

8.2 代謝物

各動物種でのテポチニブの代謝物のパターンは、全体として、ラットとイヌがヒトの安全性評価に妥当な動物種であることを示している（CTD2.6.4、5 項参照）。異種間の代謝物の照合を、in vitro では多数の動物種を用いて、in vivo ではラット、イヌ及びヒトに経口投与して行った結果、ヒトのみにわずかに存在する N-グルクロン酸抱合体 M668 を除いて、全ての同定されたヒト代謝物が毒性試験に使用したラットとイヌにも存在することが示された。

キラル代謝物 M506 は、ヒトマスバランス試験で最初に同定された（CTD2.6.4、5 項参照）。M506 を構成する鏡像異性体 MSC2571107A（S 体）及び MSC2571109A（R 体）を追加測定したところ、MSC2571109A が血漿中の放射能比で親化合物の 64.6%を占め、これが主要なヒト循環代謝物であることが判明した。ICH S9 ガイドラインでは求められていないが、この主要な循環代謝物 MSC2571109A の毒性試験を実施した（8.2.1 項）。

N-グルクロン酸抱合体 M668 はヒトで低濃度（すなわち、血漿中の総放射能の 4.23%及び血漿中の放射能比で親薬物の 10%未満に相当）で検出される（CTD2.6.4、5 項参照）のみであることから、ICH M3 ガイドラインも考慮し、M668 のさらなる毒性試験は実施しなかった。

8.2.1 ヒト主要代謝物 MSC2571109A の毒性学的評価

CTD2.6.2 に示された MSC2571109A の薬理学的データは、テポチニブの有効性に対する主要なヒト代謝産物 MSC2571109A の寄与は無視できることを示している（CTD2.6.2、2.4 項参照）。

M506 を構成する鏡像異性体MSC2571109A とMSC2571107A を、イヌ39 週間反復経口投与毒性試験の血漿試料を用いて探索的に測定した（報告書番号 [redacted]-GR108-V0）。さらに、イヌ39 週間反復経口投与毒性試験の胆汁試料及び肝臓組織試料を用いて、同様に測定した結果、これらの組織中での両鏡像異性体の曝露は、血漿中と比較して高い値を示した（報告書番号[redacted]-GR019-P0）。

ラットでは、微粉化原薬を使用したラット 4 週間反復経口投与毒性試験（3.3 項、報告書番号[redacted]-DA0061-0）で採取された血漿試料から、定量可能な濃度の両鏡像異性体が検出された。

ラット及びイヌの MSC2571109A への曝露量がヒトに比べて低い値であったことは、MSC2571109A が不均衡代謝物（毒性試験に使用した動物種よりも、ヒトでより高い濃度を示す）であるが、ヒト特異的な代謝物ではないことを示している。

ICH S9 ガイドラインに関する質疑応答集（2018）によれば、抗悪性腫瘍薬では不均衡代謝物についての追加試験の実施は一般に必要ない。しかし、MSC2571109A の安全性を確認する目的で、in vitro 安全性薬理試験（CTD2.6.2、4.3 項参照）、並びに、細菌を用いる復帰突然変異試験、及び哺乳類細胞遺伝子突然変異試験の 2 つの遺伝毒性試験（8.2.2 項）を実施した。

8.2.2 主要なヒト代謝物 MSC2571109A の遺伝毒性試験（[redacted]-DA172-N0 及び[redacted]-DA192-N0）

概要表 2.6.7、17A、添付資料番号：4.2.3.7.5.1 及び 4.2.3.7.5.2

主要なヒト代謝物 MSC2571109A の遺伝毒性の有無を、GLP 準拠の 2 つの in vitro 試験、細菌を用いる復帰突然変異試験（報告書番号 [redacted]-DA172-N0）及びマウスリンパ腫細胞L5178Y を用いる遺伝子突然変異試験（報告書番号[redacted]-DA192-N0）により検討した。

細菌を用いる復帰突然変異試験では、S9mix の存在下及び非存在下で、2.81～1580 µg/plate の濃度のテポチニブは、復帰突然変異コロニー数の増加を示さず、MSC2571109A は変異原性を有しないことが示された。

哺乳類細胞での遺伝子突然変異試験では、同時陰性対照を超える突然変異頻度の増加は見られなかった。従って、MSC2571109A は哺乳類細胞の試験系でも、変異原性を有しないと結論された。

8.3 不純物

8.3.1 不純物の毒性学的評価

原薬中に存在する可能性のある潜在的な不純物については、in silico SAR 評価（Bringezu 2019）により変異原性を有する可能性について評価し、ICH M7（R1）ガイドラインに従って、その規格値を設定した。

また、テポチニブ原薬中に 7 種の有機不純物、すなわち 不純物1* 、 不純物2* 、 不純物3* 、 不純物4* 、 不純物5* 、 不純物11* 及びトリフェニルホスフィンオキシド（triphenylphosphine oxide;TPPO）が検出、同定されている。TPPO 以外の不純物は、全てテポチニブの類縁物質である。

不純物TPPO 及び 不純物11* の規格値（許容上限値、not more than; NMT）は、テポチニブの予定臨床用量が 500 mg/日であることを考慮し、ICH Q3A ガイドラインに従って、NMT 0.15%と設定した。不純物 不純物1* 及び 不純物4* では予定の規格値はNMT 0.25%、不純物 不純物2*、不純物3* 及び 不純物5* では予定の規格値はNMT 0.20%であり、これらはICH Q3A ガイドラインの安全性確認の閾値を超えている（CTD3.2.S、4.5 項参照）。

不純物 不純物11* 及びTPPO の規格値を、ICH Q3A ガイドラインにおける安全性確認の閾値である0.15%とすることの根拠として、両不純物の遺伝毒性試験の結果、又は変異原性或いは DNA 反応性についてのSAR 評価の結果がある。

公表データでは、細菌を用いる復帰突然変異試験において、ネズミチフス菌 TA1537、TA98 及び TA100 株において、試験法の上限までの濃度の TPPO が、代謝活性化系の有無に関わらず、陰性の結果を示した（Bercu 2018）。この試験には、DNA 架橋剤或いは酸化剤の変異原性を検出することができる細菌株が含まれていなかったが、最近、TPPO の変異原性及び DNA 反応性が、ICH M7（R1）ガイドラインに沿って 2 つの相補的 SAR モデル、すなわち、規則ベースの DEREK Nexus version 5.02、及び統計ベースの Leadscope Inc. Model Applier version 2.2.1 によって評価されている（Bercu 2018）。こうした入手可能な遺伝毒性試験成績、及び最近の SAR 評価結果で変異原性に関する構造的警告がなかったことから、TPPO は変異原性を有しないと結論付けることが可能であった。

さらに、TPPO の毒性は、ラット及びイヌの 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験で試験されている。その NOAEL はラットの試験で 2 mg/kg/日、イヌの試験で 8 mg/kg/日とされている（Bercu 2018）。慎重

に考えると、NOAEL の中で最も低い値である 2 mg/kg/日が、安全とみなされる投与量である。この用量の TPPO は、患者の体重を 50 kg、テポチニブの臨床用量を 500 mg/日とした場合、20%（又は患者当たり 100 mg/日）の規格値に相当する。安全性が確認された 20%という値は、予定規格値の NMT 0.15%より 100 倍以上高い。さらに、想定される適応症、及びテポチニブが限られた期間にのみ投与されるという事実を考慮すると、TPPO の予定規格値 0.15%について、安全性の懸念はないと考えられる。

不純物　不純物11*　の原薬における予定規格値は　0.15%であるが、この不純物は、健常人志願者にテポチニブを　500　mg　の用量で単回経口投与した臨床試験（報告書番号 [redacted]-GR004-C0）で、代謝物として検出されている。従って、ICH Q3A に適合していると考えられる。臨床試験 [redacted]-GR004-C0 では、尿試料中の不純物11*　量が、テポチニブ投与量の約2.5%（幾何平均）に相当した。テポチニブ（塩酸塩水和物としての分子量が 547.05 g/mol）は、分子量 492.58 g/mol の塩基として尿中に排出される。従って、尿中のテポチニブ塩基の 2.5%に相当する不純物12* 量は、被験者当たり 11.21 mg となる。この 11.21 mg（体重 50 kg のヒトでは 0.22 mg/kg の用量に相当）が、安全性が確認された
不純物12*　の量と考えられた。これは、500 mg のヒト用量を考慮した場合、2.24%の濃度まで安全性が確認されたことになる。臨床試験 [redacted]-GR004-C0 でのヒト代謝物として安全性確認がされた　不純物11*　濃度の2.24%は、原薬中不純物としての予定規格値である0.15%よりも約15 倍高い値である。

ICH S9 ガイドラインでは、テポチニブのような進行癌を適応とした医薬品の不純物の規格値設定にある程度の柔軟性を認めているが、その他の検出、同定された不純物、すなわち　不純物1*　、
不純物2*　、　不純物3*　、　不純物4*　及び　不純物5*　の予定規格値を是認する目的で、ICH Q3A ガイドラインに従って、これらの不純物の安全性評価を行った。不純物　不純物1*　、
不純物2*　、　不純物3*　、　不純物4*　及び　不純物5*　を合成し、点突然変異及び染色体異常の誘発性についてGLP 準拠の in vitro 遺伝毒性試験を実施した。さらに、不純物　不純物5*　については、ラットin vivo コメット試験も実施した（8.3.2 項）。実施した全ての遺伝毒性試験で、遺伝毒性陰性の試験結果が得られた。さらに、ICH Q3A ガイドラインの安全性確認の閾値を超える規格値設定を予定している特定された不純物　不純物1*　、　不純物2*　、　不純物3*、
不純物4*　及び　不純物5*　については、少なくとも 1 つのGLP 準拠のラット又はイヌの反復経口投与毒性試験で使用された原薬中に存在していた（CTD2.6.7、4 項参照）。

これらの不純物をより高濃度（すなわち、0.25%w/w 以上）に含有する 2 つのテポチニブバッチ、すなわち EE103804 及び EE18000982 を使用した毒性試験成績について、ここで考察する。CTD2.6.7、4 項に要約したように、両原薬バッチはラットの GLP 準拠の反復経口投与毒性試験に使用された。バッチ EE103804 は不純物　不純物4*　を 0.60%w/w の濃度で含み、3、10、30 及び 90 mg/kg/日のテポチニブ用量で行われたラット4 週間反復経口投与毒性試験（3.2 項、報告書番号T16193）に使用された。バッチ EE18000982 では、不純物　不純物1*　、　不純物2*　、　不純物3*　及び
不純物5*　を添加して、それぞれ約 0.25%w/w の濃度とした。このバッチは、30、90、450 及び 2000 mg/kg/日のテポチニブ用量を用いたラット 4 週間反復経口投与毒性試験（3.3 項、報告書番号[redacted]-DA0061-0）に使用した。T16193 及び[redacted]-DA0061-0 の両試験とも、NOAEL は90 mg/kg/日と判断された。

この NOAEL（90 mg/kg/日）に基づいて、ここで議論した各不純物について、毒物学的観点から適格と考えられる最大許容量（mg/kg 又は%）を、NOAEL の投与量での不純物の投与量から、ヒト体重を 50 kg、テポチニブの 1 日用量を 500 mg として算出し、表 18 に示した。

表 18 ラット4 週間反復経口投与毒性試験（T16157 及び[redacted]-DA0061-0）のNOAEL から算出される不純物 不純物4* 、 不純物1* 、 不純物2* 、 不純物3* 及び 不純物5* の最大許容量

Batch	Study Number	Specified identified impurity	Contained level % (w/w)	Qualified levels (i.e. mg/kg of impurity co-administered at the NOAEL of 90 mg/kg)	Qualified Levels (% w/w) for a Daily Dose of 500 mg of tepotinib	Proposed specifications % (w/w) for a Daily Dose of 500 mg of tepotinib
EE103804	T16193	不純物4*	0.60[a]	0.54	5.40	NMT 0.25
EE18000982	[redacted]-DA0061-0	不純物1*	0.34	0.306	3.06	NMT 0.25
		不純物2*	0.26	0.234	2.34	NMT 0.20
		不純物3*	0.28	0.252	2.52	NMT 0.20
		不純物5*	0.25	0.225	2.25	NMT 0.20

Source: Study Reports T16193 and [redacted]-DA0061-0.
a: area/area; w/w: weight/weight; NMT: Not more than.

それぞれの特定された不純物について安全性が担保された濃度は、原薬における各不純物の規格値より少なくとも 11 倍高い値であった。

製剤の不純物としては、 不純物4* 及び 不純物11* のみが、特定された分解産物であった。

不純物4* について予定された製剤の不純物としての規格値は、NMT 0.3%である。この値は ICH Q3B ガイドラインが定める製剤中の安全性確認の閾値を超えているが、表 18 に示すように、

不純物4* について安全性が担保されている量は、ヒトの推奨用量 500 mg/日を考慮すると、分解生成物としての規格値の 18 倍に相当する。分解生成物としての 不純物11* について予定された規格値は NMT 0.2%であり、やはり ICH Q3B ガイドラインにより安全性確認が求められる値である。しかし、MSC2489308A は、上述したように、ヒト代謝物でもあり、臨床試験（報告書番号 [redacted]-GR004-C0）で安全性が確認されている曝露量は、分解生成物として予定されている規格値より約 12 倍高い値であった。

結論として、原薬中に存在する可能性のある不純物は、in silico SAR 評価により遺伝毒性が評価され、ICH M7（R1）ガイドラインに従って規格値が設定されている。また、原薬および製剤中に特定された不純物は、十分な非臨床毒性試験又は臨床試験によってその安全性が適切に評価され、この評価結果が、各規格値の設定に使用されている（CTD3.2.S、4.5 項及び 3.2.P、4.4 項参照）。

8.3.2 不純物の遺伝毒性試験（1892303、8384519、1892302、[redacted]-DA0069-0、1892301、[redacted]-DA0064-0、1892304、8384520、T17453、T17452、参考資料 HX303）

概要表 2.6.7、17B、添付資料番号：4.2.3.7.6.1、4.2.3.7.6.2、4.2.3.7.6.3、4.2.3.7.6.4、4.2.3.7.6.5、4.2.3.7.6.6、4.2.3.7.6.7、4.2.3.7.6.8、4.2.3.7.6.9、4.2.3.7.6.10 及び 4.2.3.7.6.11

テポチニブ原薬中に検出、同定された不純物のうち、ICH Q3A ガイドラインの安全性確認の閾値を超える規格値が予定されている 不純物1* 、 不純物2* 、 不純物3* 、 不純物4* 及び 不純物5* を合成して、GLP 準拠の in vitro 遺伝毒性試験を実施し、点突然変異及び染色体異常誘発性の有無を検討した。さらに、不純物 不純物5* については、ラットin vivo コメット試験も実施した。実施した試験の概要と結果を表 19 に示す。

表 19 不純物1* 、 不純物2* 、 不純物3* 、 不純物4* 及び 不純物5* の遺伝毒性試験の概要

Impurity	Type of study	Study Number	Concentrations/ Doses[a]	Treatment duration	Results
不純物1*	Salmonella typhimurium and Escherichia Coli reverse mutation assay	1892303	0.3 to 5000 µg/plate	At least 48 hours	Negative
	In vitro human lymphocyte chromosomal aberration	8384519	0.5 to 5 µg/mL	3 hours + S9; 3 and 20 hours - S9	Negative
不純物2*	Salmonella typhimurium and Escherichia Coli reverse mutation assay	1892302	3 to 5000 µg/plate	At least 48 hours	Negative
	In vitro human lymphocyte chromosomal aberration	[redacted] DA0069-0	0.244 to 250 µg/mL	5 hours + S9; 5 and 29 hours - S9	Negative
不純物3*	Salmonella typhimurium and Escherichia Coli reverse mutation assay	1892301	3 to 5000 µg/plate	At least 48 hours	Negative
	In vitro human lymphocyte chromosomal aberration	[redacted] DA0064-0	0.975 to 15.6 µg/mL	5 hours + S9; 5 and 29 hours - S9	Negative
不純物4*	Salmonella typhimurium and Escherichia Coli reverse mutation assay	1892304	3 to 5000 µg/plate	At least 48 hours	Negative
	In vitro human lymphocyte chromosomal aberration	8384520	0.25 to 30 µg/mL	3 hours + S9; 3 and 24 hours - S9	Negative
不純物5[b]*	Salmonella typhimurium and Escherichia Coli reverse mutation assay	T17453	1.58 to 1580 µg/plate	At least 48 hours	Negative
	In vitro micronucleus assay in V79 Chinese hamster cells	T17452	1.58 to 50 µg/plate	3 hours + S9; 3 and 24 hours - S9	Negative
	In vivo Comet assay in rats	HX303 (参考資料)	0, 125, 250, 500 and 1000 mg/kg	Oral, once daily for 2 consecutive days	Negative

Source: Study Reports 1892303, 8384519, 1892302, [redacted]-DA0069-0, 1892301, [redacted]-DA0064-0, 1892304, 8384520, T17453, T17452 and 参考資料 HX303.
a: Dose levels or range of concentrations used in the main experiments.
b: Identified as EMD 1276610 in the study report.

全ての試験で遺伝毒性は陰性の結果となり、遺伝毒性を有する不純物は認められなかった。

8.4 光毒性

テポチニブの光毒性の可能性について、ICH S10「医薬品の光安全性評価ガイドライン」に従って、最初に 290～700 nm の範囲の UV-可視（ultraviolet-visible light; UV/vis）光吸収スペクトルを調べ、アセトニトリル及び水に溶解したテポチニブのモル吸光係数（molar extinction coefficients; MEC）を求めることによって評価した。次に、マウス 3T3 線維芽細胞を用いる in vitro ニュートラルレッド取り込み（Neutral-Red uptake; NRU）試験を実施し、最後に有色ラット in vivo 単回経口投与光毒性試験を実施して、テポチニブの皮膚及び眼における光毒性の有無を評価した。

8.4.1 可視光分析による光毒性試験（参考資料 AN170002）

概要表 2.6.7、17C、添付資料番号：4.2.3.7.7.1.1（参考資料）

アセトニトリル水（1:1）に溶解したテポチニブの光吸収性を、紫外・可視光領域分光法によって測定し、UV スペクトルについて MEC を計算した。

テポチニブを 1:1 アセトニトリル-水混合物に 2.01 mg/100 mL の濃度で溶解し、さらに 1:2（v:v）に希釈して 0.01005 mg/mL の濃度とした。比較対照には同じ溶媒を使用した。紫外・可視光スペクトルを 2 nm のスペクトル分解能で 190 から 800 nm まで、Varian Cary 100 ダブルビーム分光光度計により、測定した。

1:1 のアセトニトリル水に溶解したテポチニブの紫外・可視光吸収スペクトルには、ICH S10 で要求される評価の範囲外の波長で、215.5 nm（ε=50400 L/mol·cm）及び 265.0 nm（ε=44100 L/mol·cm）の 2 つの吸収帯を認めた。他に 193.5 nm に認めたピークは、この波長で溶媒も吸収を示し、意義があるものとは考えられなかった。365 nm より高い波長では吸収は観察されなかったが、テポチニブの構造からこの波長帯での吸収が予想されないことと一致していた。

290 nm での MEC は 19300 L/mol·cm であり、ICH S10 ガイドラインで判断基準とされる 290-700 nm の波長帯における 1000 L/mol·cm の閾値よりも高い値であった。従って、この試験の結果からは、テポチニブは光反応性を有する可能性があると考えられた。

8.4.2 Balb/c 3T3 線維芽細胞を用いる in vitro ニュートラルレッド取り込み光毒性試験（70/484）

概要表 2.6.7、17C、添付資料番号：4.2.3.7.7.1.2

GLP 準拠の Balb/c3T3 線維芽細胞を用いるニュートラルレッド取り込み試験により、テポチニブの光毒性の可能性について検討した。

96 ウェルマイクロタイタープレートに播種した Balb/c3T3 線維芽細胞を、最高濃度 100 µg/mL（一次溶媒 DMSO 内での溶解限度）のテポチニブ、又は陽性対照（クロルプロマジン、CPZ）で処理した。溶媒対照のウェルは、1%DMSO を含むリン酸緩衝生理食塩液（phosphate buffered saline; PBS）で処理した。PBS で処理した無処置対照のウェル、及びブランクのウェルも各プレートに配置した。

テポチニブの処理により、紫外光 A 波（ultraviolet A; UVA）の非存在下及び存在下の両方において、細胞生存率の減少が見られた。細胞に取り込まれたニュートラルレッド色素の減少によって示される細胞毒性は、UVA の非存在下では、試験した最高濃度と次の濃度（100 及び 31.6 µg/mL）で、UVA 存

在下では、最高濃度以下の 5 濃度（100～1 μg/mL）で観察された。細胞毒性についての IC_{50} 値及び光刺激係数（photo-irritation factor; PFI）を表 20 に示す。

表 20　In vitro ニュートラルレッド取り込み光毒性試験（70/484）での細胞毒性の IC_{50} 値及び PFI 値

Test article	IC_{50} absence of UV-A (μg/mL)	IC_{50} presence of UV-A (μg/mL)	PIF Value
tepotinib	16.375	1.004	16.310
Chlorpromazine	63.165	0.878	71.942*

Source: Study Report 70-484.
UV-A. Ultraviolet-A; PIF: Photo-irritation Factor.
*PIF > 6, therefore positive control response was acceptable. IC_{50}: Half maximal inhibitory concentration.

OECD 毒性試験ガイドライン 432「In vitro 3T3 NRU 光毒性試験」（2004）に従って、溶解度の限界である 100 μg/mL までの濃度で試験した結果、テポチニブはこの in vitro 試験系で光毒性を示すと結論された。

8.4.3　有色ラットを用いる in vivo 光毒性試験（20017987）

概要表 2.6.7、17C、添付資料番号：4.2.3.7.7.1.3

本 GLP 準拠試験では、Crl : LE 有色雌ラットにテポチニブを単回経口投与した後、キセノンランプにより UVB、UVA 及び可視光を照射して、目と皮膚に対するテポチニブの光毒性作用を調べた。

本試験の中で、光毒性試験に先だって実施した忍容性試験の結果に基づき、光毒性試験でのテポチニブの用量を 500、1000 及び 1500 mg/kg と設定した。

1 群雌 5 匹のラットに、溶媒である 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液のみ、テポチニブ又は陽性対照である 8-メトキシソラレン（50 mg/kg の用量で）を単回経口投与した。投与後約 3 時間から、キセノンランプを用いて約 30 分間、紫外線放射（ultraviolet radiation； UVR）の曝露を行った。また、最高用量を 1500 mg/kg とするテポチニブ投与群を同様に構成し、UVR 曝露のみを行わない（UVR 偽曝露）群を設けた。さらに、1 群当たり 3 匹（対照群）又は 5 匹（テポチニブ投与群）のサテライト動物を各群に設けて、TK 分析に使用した。

一般状態の観察、皮膚反応の観察、体重測定、眼科学的検査及び眼の病理組織学的検査を行った。

テポチニブ投与に関連した有害な症状変化は観察されなかった。体重減少が 1000 及び 1500 mg/kg 投与群で認められ、テポチニブによる軽度な毒性作用を示すものと考えられた。

500、1000、又は 1500 mg/kg の用量でのテポチニブ単回経口投与と、それに続く 1 回の UVR 曝露では、光毒性を示す眼科的反応或いは皮膚反応は見られなかった。また、テポチニブ投与群のラットの眼及びハーダー氏腺には、光毒性を示唆する病理組織学的変化は観察されなかった。

陽性対照である 8-メトキシソラレンの投与と、それに続く 1 回の UVR 曝露は、光毒性と考えられる皮膚及び眼の組織の反応を引き起こした。

本試験の TK 測定の結果を表 21 に示す。

表 21 有色ラットを用いる in vivo 光毒性試験（20017987）での血漿中テポチニブ濃度測定結果

Parameters	500 mg/kg/day	1000 mg/kg/day	1500 mg/kg/day
	Female	Female	Female
N	5	5	5
C_{max} (ng/mL)	746	968	1070
t_{max} (h) [a]	6	6	6
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	12900	17300	18200

Source: Study Report 20017987. AUC_{0-24}: Area under the concentration vs time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; N: number of animals; t_{max}: Time to reach maximum concentration.
[a]: For the t_{max}, the median is reported.

被験物質投与前に採取された対照サンプルの血漿濃度は、いずれも定量下限（20.0 ng/mL）未満であった。t_{max} の中央値は、全てのテポチニブ投与群とも投与後 6 時間であった。測定した全てのラットで、投与後 24 時間までテポチニブ曝露が継続していた。AUC 及び C_{max} の値は、投与量の 500 mg/kg から 1500 mg/kg への増加に伴い、わずかしか増加せず、投与量比に比べて明らかに低い増加率を示した。

結論として、本 in vivo 試験条件下では、テポチニブは光毒性を有しないことが示された。

8.5 投与液の分析法、均一性、安定性（参考資料 TOX1-1/[redacted]、参考資料 TOX1-1/[redacted]、参考資料 TOX1-1-[redacted]-HS、参考資料 RF0570、参考資料 RF2410、参考資料 [redacted]-DA0159-0）

概要表 2.6.7、17D、添付資料番号：4.2.3.7.7.2.1、4.2.3.7.7.2.2、4.2.3.7.7.2.3、4.2.3.7.7.2.4、4.2.3.7.7.2.5 及び 4.2.3.7.7.2.6（いずれも参考資料）

毒性試験に使用された投与液の濃度測定方法は適切に確立されており、投与液の均一性及び安定性についても、問題はなかった。

9. 考察及び結論

テポチニブの毒性プロファイルを、マウス及びラットでの単回経口投与毒性試験、ラット及びイヌでの反復経口投与毒性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、ウサギ胚・胎児発生毒性試験、in vitro 及び in vivo 光毒性試験、並びに主要なヒト代謝物の in vitro 遺伝毒性試験により検討した。さらに原薬不純物の毒性を in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験により検討した。

ラット及びマウスでの単回経口投与毒性試験では、2000 mg/kg のテポチニブ投与で毒性は認められなかった。ICH M3 ガイダンスに従って、イヌの急性毒性に関する情報が短期経口投与用量漸増試験から得られ、45 mg/kg/日の用量は耐容性が良好であった一方、90 及び 180 mg/kg/日の用量では摂餌量の減少と体重の減少が認められた。270 mg/kg/日までの用量を用いた初期のラットの反復経口投与毒性試験において、最大耐量は得られなかったが、NOAEL は最初の 2 回の 4 週間経口投与毒性試験では 90 mg/kg/日、26 週間経口投与毒性試験では 45 mg/kg/日と判断された。病理組織学的検査で

は、軽度の肝細胞肥大、軽微から軽度の甲状腺濾胞上皮の活性化、及び腸間膜リンパ節でのマクロファージの集簇が、4 週間投与試験の 270 mg/kg/日、26 週間投与試験の 135 mg/kg/日で認められた。さらに、2 回の 4 週間投与試験の高用量であった 90 及び 270 mg/kg/日、並びに 26 週間投与試験の 45 及び 135 mg/kg/日では、一部の雌性動物で、テポチニブ投与に起因した肺胞マクロファージ（泡沫細胞）の集簇が見られた。この肺及びリンパ節でのマクロファージの集簇は可逆的であり、いかなる炎症性の所見も伴っていなかったことから、毒性ではなく、反応性の現象と考えられた。ラットの全ての反復経口投与毒性試験で、血中肝酵素値（ALT、AST、AP 及び GLDH 等）の軽度な用量依存的上昇が観察された。ラットの反復経口投与毒性試験で認められた全ての変化は、雌性動物における甲状腺活性化を除き、回復性が確認されたか、回復傾向を示した。甲状腺活性化は、生体異物による肝細胞代謝亢進に関係して起こる二次的な代償性変化であることが知られている。

ラット 4 週間反復経口投与毒性試験の追加試験を、MTD を特定するために、2000 mg/kg/日までの投与量で実施した。2000 mg/kg/日では忍容性がなかったが、次に高い用量である 450 mg/kg/日では明白な毒性徴候（投与に関連した臨床症状あるいは体重への影響）は見られなかったことから、MTD は 450 mg/kg/日と判断された。しかし、450 及び 2000 mg/kg/日の両用量で、複数の臓器に薬物投与に関連した病理組織学的所見が見られた。中でも、肺での炎症を伴う肺胞泡沫細胞（マクロファージ）の集簇、肝臓での肝細胞の単細胞壊死及び単核球浸潤、並びに大腸の上皮又は固有層への顆粒球浸潤が有害と見なされた。肺での肺胞泡沫細胞凝集は、先に実施したラットの反復経口投与毒性試験でも観察されたが、この試験では、泡沫細胞が見られる領域に、わずかながら炎症反応を示す混合性の炎症細胞浸潤が認められたことから、この試験の所見は毒性と判断した。しかし、これは比較的高い投与量（450 mg/kg/日）を投与した際の代謝的過負荷の続発症である可能性が高いと考えられた。先に実施したラットの反復経口投与毒性試験での観察結果と同様の軽微な非有害病変が見られた 90 mg/kg/日が、この試験の NOAEL と判断された。

イヌの全ての反復経口投与毒性試験で、すなわち、4 週間反復経口投与毒性試験の 2.5 mg/kg/日以上、13 週間及び 39 週間反復経口投与毒性試験の 3 mg/kg/日以上で、消化器症状が観察された。この消化器症状には、用量依存的に頻度と重症度が高まった嘔吐、軟便及び血液の混じった粘液便が含まれ、体重減少及び摂餌量の減少を伴っていた。消化器症状に関連した病理組織学的変化は見られなかった。イヌのいずれの毒性試験でも、肝胆道系がテポチニブの毒性の主要な標的器官であることが示された。イヌの 4 週間及び 39 週間反復経口投与毒性試験での主な所見は、肝臓での炎症性細胞浸潤を伴った肝・胆道系酵素の上昇並びに顕著な胆管炎及び胆管周囲炎であった。全ての毒性所見は、最大 12 週間の休薬期間の後、回復傾向を示すか、又は完全に回復した。さらに、イヌの反復経口投与毒性試験中に実施された心血管系検査では、心拍数、動脈血圧及び心拍数補正 QT 間隔を含む各心電図パラメータにテポチニブ投与の影響は見られなかった（CTD2.6.2、4.2 項参照）。各試験の NOAEL は、4 週間及び 39 週間反復経口投与毒性試験では 10 mg/kg/日、13 週間反復経口投与毒性試験では 30 mg/kg/日と判断された。

反復経口投与毒性試験内で実施された TK 測定では、全ての動物が投与期間を通してテポチニブに曝露されていたことが示され、また雌性動物での曝露量が雄性動物の曝露量よりも高かった（最大約 3 倍）。テポチニブの投与量増加に伴い、テポチニブへの曝露量は全体的に増加したが、用量に比例した値よりは少ない増加であった。反復投与後のテポチニブの蓄積性はわずかであった（CTD2.6.4、3.4 項参照）。

要約すると、反復経口投与毒性試験で同定されたテポチニブの毒性の標的器官は、ラット及びイヌ共に肝・胆道系であった。さらに、嘔吐や下痢などの消化管症状がイヌで見られたが、関連する病理組織学的所見は認められなかった。

テポチニブは、細菌又は哺乳類細胞を用いた 2 種の in vitro 試験、及びラットを用いた in vivo 小核試験において遺伝毒性を示さなかった。

癌原性試験は、本剤の適応が進行癌であることから、ICH S9 ガイドラインに従って実施しなかった。

ウサギの胚・胎児発生に関する 2 回の予備試験で、母動物に対する毒性が 50 mg/kg/日以上の投与量で見られ、胎児に対しては、用量依存的な骨格異常の数の増加（催奇形性）が 5 mg/kg/日以上の投与量で認められた。これらの結果は、テポチニブが催奇形性を有すると結論付けるのに十分であると考えられ、ICH S9 ガイドラインに従って、それ以上の胚・胎児発生に関する試験は実施していない。50～150 mg/kg/日群のウサギの腎臓では、対照群又は背景データと比較して、軽微～中等度の範囲で、石灰化並びに尿細管の好塩基球症又は尿細管の拡張の頻度及び程度が増加した。ラットとイヌの反復経口投与毒性試験では、慢性期の試験も含めて腎毒性の所見はなく、テポチニブ投与が腎臓の変化と直接関係している可能性は疑わしいことから、これらの所見は、母体の一般状態の変化と関連したものと考えられた。

テポチニブの適応が進行癌であることから、ICH S9 ガイドラインに従って、受胎能及び初期胚発生に関する試験、並びに出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない。反復経口投与毒性試験では、生殖器官への有害な影響は見られていないことから、テポチニブが受胎能に障害を及ぼす可能性は示唆されていない。テポチニブは小児患者への使用を意図していないため、幼若動物での毒性試験は実施していない。

ラット及びイヌの反復経口投与毒性試験での血液学的検査、血液生化学的検査、リンパ系器官（例えば、胸腺、脾臓、リンパ節）の絶対及び相対臓器重量測定並びに病理組織学的検査の結果から、テポチニブの免疫毒性は示唆されなかった。さらに、ラットの反復経口投与毒性試験で行った血中免疫細胞のフローサイトメトリーの結果（総 B 細胞、総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞及びナチュラルキラー細胞の数並びにそれらの百分率）に、毒性学的に意義のある影響は見られなかった。

主要なヒト代謝物の一つである MSC2571109A は、キラル代謝物 M506 の R-鏡像異性体であるが、ヒトマスバランス試験（報告書番号 EMR200095-007）の終了後に最初に同定された。ラット及びイヌの反復経口投与毒性試験の試料の追加分析により、この代謝物が両方の動物種で形成されていることが示され、ラット及びイヌがヒトの安全性評価に適切な動物種であることも確認された。さらに、MSC2571109A の遺伝毒性試験の結果、MSC2571109A には遺伝毒性がないことが確認された。

原薬中の潜在的及び特定された不純物の規格値（許容基準）は、ICH M7（R1）ガイドラインに従って設定した。さらに、ICH Q3 ガイドラインの安全性確認の閾値を超える規格値を設定する特定された不純物について、遺伝毒性試験又は公表データにより、遺伝毒性がないことを確認した。さらに、これらの不純物の規格値は、ラットの 4 週間反復投与毒性試験の NOAEL で安全に投与された各不純物の濃度によって安全性が担保されている。製剤中に特定された不純物（分解生成物）は、

不純物4*　及び　不純物14*　のみであり、これらについて予定している規格値は、非臨床毒性試験又は臨床試験の成績に裏付けられている。結論として、特定された不純物の特性、及び原薬並びに製剤に関して予定しているその規格値の設定について、毒性学的観点からは安全性の懸念はない。

さらに、本剤に使用される全ての添加剤は、豊富な使用経験があるものであり、公定書品質（日本薬局方或いは医薬品添加物規格に収載されている）のものである。

紫外線吸収帯及び吸光係数、並びに in vitro 光毒性試験の結果は、テポチニブの光毒性の可能性を示唆するものであった。しかし、有色ラットに 1500 mg/kg までの投与量でテポチニブを単回経口投与した in vivo 光毒性試験の結果により、テポチニブが光毒性を有しないことが確認された。

毒性試験成績に基づいた結論として、テポチニブは局所進行性または転移性非小細胞肺癌患者の治療薬として許容される非臨床安全性プロファイルを有していると評価される。また、ここに示した非臨床毒性試験の成績のパッケージは、テポチニブの想定される適応症での製造販売承認を申請するに当たって十分なものであると考える。

10. 図表

表は本文中に記載した。

11. 参考文献

Bercu J.P., Galloway S.M., Parris P. et al. Potential impurities in drug substances: Compound-specific toxicology limits for 20 synthetic reagents and by-products, and a class-specific toxicology limit for alkyl bromides. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2018 94: 172-82.

Bringezu F. Evaluation of impurities in tepotinib (MSC2156119J) for mutagenicity / DNA reactivity. 2019 June 18.

Utesch D. 2008 Micronucleus test in rats after intravenous administration, December 9, 2008

2.6.7　毒性試験の概要表

目次

1.　毒性試験：　一覧表 3
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 9
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 10
4.　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 16
5.　単回投与毒性試験 20
6.　反復投与毒性試験：　重要な試験以外の試験 21
7.　反復投与毒性試験：　重要な試験 23
7A　反復投与毒性試験：　重要な試験（T16157） 23
7B　反復投与毒性試験：　重要な試験（T16193） 27
7C　反復投与毒性試験：　重要な試験（[redacted]-DA0061-0） 32
7D　反復投与毒性試験：　重要な試験（T16179） 47
7E　反復投与毒性試験：　重要な試験（T 8421） 52
7F　反復投与毒性試験：　重要な試験（T 8427） 57
7G　反復投与毒性試験：　重要な試験（[redacted]-DA009-N0） 61
8.　In Vitro 遺伝毒性試験 68
8A　In Vitro 遺伝毒性試験（T17192） 68
8B　In Vitro 遺伝毒性試験（T17188） 73
9.　In Vivo 遺伝毒性試験 75
10.　癌原性試験 76
11.　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験 77
11A　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験（RF0470） 77
11B　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験（RF0480） 78
11C　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験（RF5400） 81
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 84
13.　生殖発生毒性試験：　胚・胎児発生に関する試験 85
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 86
15.　新生児を用いた試験 87
16.　局所刺激性試験 88
17.　その他の毒性試験 89
17A　その他の毒性試験：　代謝物 89
17B　その他の毒性試験：　不純物 90

17C その他の毒性試験： 光毒性.....92
17D その他の毒性試験： 投与液の分析法、均一性及び安定性.....93

1. 毒性試験： 一覧表

Test Article: tepotinib[a]

Study Type	Species, strain/ Test system	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[b])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location CTD Section
Single-dose toxicity	Mouse, Crl:NMRI BR	Oral by gavage	Single dose	2000	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T17194	4.2.3.1.1
	Rat, Wistar HsdCpb: WU	Oral by gavage	Single dose	2000	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T17193	4.2.3.1.2
Repeat-dose toxicity	Rat, Wistar HsdCpb: WU	Oral by gavage (once daily dosing)	4 weeks	0, 3, 10, 30, 90	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T16157	4.2.3.2.1
	Rat, Wistar HsdCpb: WU	Oral by gavage (once daily dosing)	4 weeks	0, 30, 90, 270	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T16193	4.2.3.2.2
	Rat, Wistar HsdCpb: WU	Oral by gavage (once daily dosing)	4 weeks	0, 30, 90, 450, 2000	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	[redacted]-DA0061-0	4.2.3.2.3
	Rat, Crl:WI (Han)	Oral by gavage (once daily dosing)	26 weeks	0, 15, 45, 135	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T16179	4.2.3.2.4
	Dog, Beagle	Oral, capsules (once daily at escalating dose level)	up to 13 days	1, 5, 30, 45, 90, 180	Yes[c]	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T8420	4.2.3.2.5
	Dog, Beagle	Oral, capsules (once daily dosing)	4 weeks	0, 2.5, 10, 40	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T8421	4.2.3.2.6
	Dog, Beagle	Oral, capsules (once daily dosing)	13 weeks	0, 3, 10, 30	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T8427	4.2.3.2.7

1. 毒性試験： 一覧表（つづき）

Test Article: tepotinib[a]

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[b])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location CTD Section
Repeat-dose toxicity	Dog, Beagle	Oral, capsules (once daily dosing)	14 days	10, 40, 160/120 (micronized)	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T8453	4.2.3.2.8
	Dog, Beagle	Oral, capsules (once daily dosing)	39 weeks	0, 3, 10, 30 (micronized)	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	[redacted]-DA009-N0	4.2.3.2.9
Genotoxicity	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	2 to 3 days	5.00 to 5000 µg/plate	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T17192	4.2.3.3.1.1
	L5178Y mouse lymphoma cells	In vitro	3 and 24 hours	0.158 to 50.0 µg/mL	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T17188	4.2.3.3.1.2
	Rat, Wistar HsdCpb: WU	Oral by gavage	1 day	667, 1333, 2000	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T17266	4.2.3.3.2.1
Carcinogenicity: No studies conducted								
Reproductive and developmental toxicity	New Zealand White rabbits	Oral by gavage (once daily dosing)	Daily for 13 days	150, 300, 600	No	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Italy	RF0470	4.2.3.5.2.1 (参考資料)
	New Zealand White rabbits	Oral by gavage (once daily dosing)	Gestation Day 6 to Day 18	0, 50, 150, 450 (micronized)	Yes	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Italy	RF0480	4.2.3.5.2.2
	New Zealand White rabbits	Oral by gavage (once daily dosing)	Gestation Day 6 to Day 18	0, 0.5[d], 5, 25[e] (micronized)	Yes	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Italy	RF5400	4.2.3.5.2.3

1. 毒性試験： 一覧表（つづき）

Test Article: tepotinib[a]

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[b])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location CTD Section
Local tolerance: No studies conducted								
Other toxicity studies								
Metabolites								
Genotoxicity of major human metabolite MSC2571109A	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	2 to 3 days	2.81 to 1580 µg/plate	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	[redacted]-DA172-N0	4.2.3.7.5.1
	L5178Y mouse lymphoma cells	In vitro	3 and 24 hours	0.889 to 88.9 µg/mL	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	[redacted]-DA192-N0	4.2.3.7.5.2
Impurities								
Genotoxicity: 不純物1*	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	At least 48 hours	0.3 to 5000 µg/plate	Yes	Envigo CRS GmbH, Germany	1892303	4.2.3.7.6.1
	Human lymphocytes	In vitro	3 hours + S9; 3 and 20 hours - S9	0.5 to 20 µg/mL	Yes	Covance Laboratories Ltd., England	8384519	4.2.3.7.6.2
Genotoxicity: 不純物2*	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	At least 48 hours	3 to 5000 µg/plate	Yes	Envigo CRS GmbH, Germany	1892302	4.2.3.7.6.3
	Human lymphocytes	In vitro	5 hours + S9; 5 and 29 hours - S9	0.244 to 250 µg/mL	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	[redacted]-DA0069-0	4.2.3.7.6.4

1. 毒性試験： 一覧表（つづき）

Test Article: tepotinib[a]

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[b])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location CTD Section
Impurities (continued)								
Genotoxicity: 不純物3*	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	At least 48 hours	3 to 5000 µg/plate	Yes	Envigo CRS GmbH, Germany	1892301	4.2.3.7.6.5
	Human lymphocytes	In vitro	5 hours + S9; 5 and 29 hours - S9	0.975 to 15.6 µg/mL	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	[redacted]-DA0064-0	4.2.3.7.6.6
Genotoxicity: 不純物4*	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	At least 48 hours	3 to 5000 µg/plate	Yes	Envigo CRS GmbH, Germany	1892304	4.2.3.7.6.7
	Human lymphocytes	In vitro	3 hours + S9; 3 and 20 hours - S9	0.25 to 30 µg/mL	Yes	Covance Laboratories Ltd., England	8384520	4.2.3.7.6.8
Genotoxicity: 不純物5*	Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	2 to 3 days	1.58 to 1580 µg/plate	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T17453	4.2.3.7.6.9
	V79 Chinese hamster cells	In vitro	3 and 24 hours	1.58 to 50 µg/ml	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	T17452	4.2.3.7.6.10
	Rat: Sprague Dawley	In vivo	Once daily on 2 consecutive days	0, 125, 250, 500, and 1000 mg/kg	Yes	[redacted] USA	HX303	4.2.3.7.6.11 (参考資料)

1. 毒性試験： 一覧表（つづき）

Test Article: tepotinib[a]

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[b])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location CTD Section
Photosafety								
Photosafety	UV/Vis absorption spectrum	N.A.	N.A.	0.01005 mg/mL	No	Merck KGaA Darmstadt, Germany	AN170002	4.2.3.7.7.1.1 (参考資料)
	Balb/c 3T3 fibroblasts	In vitro	1 hour	0.0316 to100 µg/mL	Yes	Covance Laboratories Ltd., England	70/484	4.2.3.7.7.1.2
	Rat, Crl:LE	Oral by gavage	Single dose	0, 500, 1000, 1500	Yes	[redacted], USA	20017987	4.2.3.7.7.1.3
Analytical method, homogeneity and stability of formulations								
Analytical method (description)	[redacted]	N.A.	N.A.	Range of calibration 0.025 – 0.25 mg/mL	No	Merck KGaA Darmstadt, Germany	TOX1-1/[redacted]	4.2.3.7.7.2.1 (参考資料)
Analytical method (implementation)	[redacted]	N.A.	N.A.	Range of calibration 0.025 – 0.25 mg/mL	No	Merck KGaA Darmstadt, Germany	TOX1-1/[redacted]	4.2.3.7.7.2.2 (参考資料)
Homogeneity and stability	[redacted]	N.A.	N.A.	0.3, 5.0 and 20.0 mg/mL	No	Merck KGaA Darmstadt, Germany	TOX1-1/[redacted] HS	4.2.3.7.7.2.3 (参考資料)
Validation of analytical method	[redacted]	N.A.	N.A.	50 mg/mL	No	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Italy	RF0570	4.2.3.7.7.2.4 (参考資料)

1. 毒性試験： 一覧表（つづき）

Test Article: tepotinib[a]

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg[b])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location CTD Section
Analytical method, homogeneity and stability of formulations (continued)								
Homogeneity and stability	[redacted]	N.A.	N.A.	0.3 mg/mL to 120 mg/mL	Yes	RBM, Istituto di Ricerche Biomediche, Italy	RF2410	4.2.3.7.7.2.5 (参考資料)
Homogeneity and stability	[redacted]	N.A.	N.A.	200 mg/mL	Yes	Merck KGaA Darmstadt, Germany	[redacted]-DA0159-0	4.2.3.7.7.2.6 (参考資料)

a: tepotinib is also identified as EMD 1214063 or MSC2156119J.

b: Unless otherwise specified. For repeat-dose toxicity, the highest No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) is underlined.

c: Toxicokinetic analyses were performed as non-GLP evaluations.

d: NOAEL in fetuses.

e: NOAEL in mothers.

[redacted]; N.A.: Not applicable.

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: tepotinib

Type of study	Test system	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study number	Location CTD Section
4-week oral toxicity study	Rat	Oral by gavage	0, 3, 10, 30, 90	Yes	T16157	4.2.3.2.1
4-week oral toxicity study	Rat	Oral by gavage	0, 30, 90, 270	Yes	T16193	4.2.3.2.2
4-week oral toxicity study	Rat	Oral by gavage	0, 30, 90, 450, 2000	Yes	[redacted]-DA0061-0	4.2.3.2.3
26-week oral toxicity study	Rat	Oral by gavage	0, 15, 45, 135	Yes	T16179	4.2.3.2.4
13-day oral escalation study[a]	Dog	Oral, capsules	Escalating 1, 5, 30, 45, 90, 180	No	T8420	4.2.3.2.5
4-week oral toxicity study	Dog	Oral, capsules	0, 2.5, 10, 40	Yes	T8421	4.2.3.2.6
13-week oral toxicity study	Dog	Oral, capsules	0, 3, 10, 30	Yes	T8427	4.2.3.2.7
14-day bridging oral toxicity study	Dog	Oral, capsules	0, 10, 40, 160/120	Yes	T8453	4.2.3.2.8
39-week oral toxicity study	Dog	Oral, capsules	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]-DA009-N0	4.2.3.2.9
Embryo-fetal toxicity	Rabbit	Oral by gavage	0, 50, 150, 450	Yes	RF0480	4.2.3.5.2.2
Embryo-fetal toxicity	Rabbit	Oral by gavage	0, 0.5, 5, 25	Yes	RF5400	4.2.3.5.2.3

a: Toxicokinetic data available for doses of 45, 90 and 180 mg/kg.

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

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	Rat		Dog		Rabbit	Human
	M	F	M	F	F	
	Mean C_{max} (ng/mL)					
0.5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	0.27 [a]	N.A.
2.5	N.A.	N.A.	15.48 [b]	22.86 [b]	N.A.	N.A.
3	17.67 [c]	27.88 [c]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
3	N.A.	N.A.	4.41 [d]	6.61 [d]	N.A.	N.A.
3	N.A.	N.A.	21.8 [e]	26.0 [e]	N.A.	N.A.
5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	4.64 [a]	N.A.
10	53.81 [c]	114.12 [c]	68.50 [b]	74.46 [b]	N.A.	N.A.
10	N.A.	N.A.	30.3 [d]	16.6 [d]	N.A.	N.A.
10	N.A.	N.A.	97.9 [f]	109 [f]	N.A.	N.A.
10	N.A.	N.A.	76.9 [e]	105 [e]	N.A.	N.A.
15	61.32 [g]	66.03 [g]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	34.15 [a]	N.A.
30	183.84 [c]	393.78 [c]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
30	N.A.	N.A.	47.8 [d]	49.3 [d]	N.A.	N.A.
30	95.12 [h]	175.95 [h]	254 [e]	554 [e]	N.A.	N.A.
30	218 [i]	467 [i]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
40	N.A.	N.A.	382.30 [b]	231.65 [b]	N.A.	N.A.
40	N.A.	N.A.	195 [f]	992 [f]	N.A.	N.A.
45	90.12 [g]	135.54 [g]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
45	N.A.	N.A.	237 [l]	154 [l]	N.A.	N.A.

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（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	Rat		Dog		Rabbit	Human
	M	F	M	F	F	
	Mean C_{max} (ng/mL)					
50	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	305.01 [m]	N.A.
90	459.21 [c]	833.55 [c]	391 [l]	673 [l]	N.A.	N.A.
90	178.14 [h]	312.86 [h]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
90	257 [i]	684 [i]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
135	101.28 [g]	201.90 [g]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
150	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	604.65 [m]	N.A.
160/120	N.A.	N.A.	698 [f]	1990 [f]	N.A.	N.A.
180	N.A.	N.A.	657 [l]	1270 [l]	N.A.	N.A.
270	200.43 [h]	541.36 [h]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
450	810 [i]	1330 [i]	N.A.	N.A.	807.44 [m]	N.A.
2000	450 [i]	1040 [i]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
500 mg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	1291 [l]
	Mean AUC (ng·h/mL)					
0.5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	3.1 [a]	N.A.
2.5	N.A.	N.A.	157.4 [b]	211.2 [b]	N.A.	N.A.
3	157.5 [c]	223.1 [c]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
3	N.A.	N.A.	43.1 [d]	100 [d]	N.A.	N.A.
3	N.A.	N.A.	213 [e]	267 [e]	N.A.	N.A.
5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	56.7 [a]	N.A.

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（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	Rat		Dog		Rabbit	Human
	M	F	M	F	F	
	Mean AUC (ng·h/mL)					
10	468.3 [c]	1012 [c]	720.2 [b]	664.0 [b]	N.A.	N.A.
10	N.A.	N.A.	427 [d]	210 [d]	N.A.	N.A.
10	N.A.	N.A.	721 [f]	1230 [f]	N.A.	N.A.
10	N.A.	N.A.	898 [e]	1370 [e]	N.A.	N.A.
15	534.8 [g]	937.3 [g]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	365.5 [a]	N.A.
30	1598 [c]	3315 [c]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
30	N.A.	N.A.	705 [d]	704 [d]	N.A.	N.A.
30	831.4 [h]	1527.4 [h]	3420 [e]	6380 [e]	N.A.	N.A.
30	2110 [i]	3630 [i]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
40	N.A.	N.A.	4053 [b]	3299 [b]	N.A.	N.A.
40	N.A.	N.A.	1640 [f]	10800 [f]	N.A.	N.A.
45	809.9 [g]	1312.1 [g]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
45	N.A.	N.A.	N.C. [l]	N.C. [l]	N.A.	N.A.
50	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	3898 [m]	N.A.
90	5125 [c]	11108 [c]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
90	N.A.	N.A.	5950 [l]	8390 [l]	N.A.	N.A.
90	1661.8 [h]	3745.8 [h]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
90	2460 [i]	6570 [i]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

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（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	Rat		Dog		Rabbit	Human
	M	F	M	F	F	
	Mean AUC (ng·h/mL)					
135	1522.7 [g]	2909.2 [g]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
150	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	11097 [m]	N.A.
160/120	N.A.	N.A.	6790 [f]	27200 [f]	N.A.	N.A.
180	N.A.	N.A.	10900 [l]	24600 [l]	N.A.	N.A.
270	2567.7 [h]	5944.7 [h]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
450	12700 [i]	27200 [i]	N.A.	N.A.	16705 [m]	N.A.
2000	8240 [i]	18900 [i]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
500 mg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	27438 [l]
	Median t_{max} (h)					
0.5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	5 [a]	N.A.
2.5	N.A.	N.A.	2 [b]	2 [b]	N.A.	N.A.
3	6 [c]	1 [c]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
3	N.A.	N.A.	2 [d]	4 [d]	N.A.	N.A.
3	N.A.	N.A.	2 [e]	2 [e]	N.A.	N.A.
5	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	4 [a]	N.A.
10	3 [c]	6 [c]	4 [b]	2 [b]	N.A.	N.A.
10	N.A.	N.A.	4 [d]	4 [d]	N.A.	N.A.
10	N.A.	N.A.	4 [f]	4 [f]	N.A.	N.A.
10	N.A.	N.A.	2 [e]	2 [e]	N.A.	N.A.
15	3 [g]	3 [g]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

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（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	Rat		Dog		Rabbit	Human
	M	F	M	F	F	
	Median t_{max} (h)					
25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	6 [a]	N.A.
30	3 [c]	6 [c]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
30	N.A.	N.A.	4 [d]	2 [d]	N.A.	N.A.
30	3 [h]	6 [h]	4 [e]	4 [e]	N.A.	N.A.
30	3 [i]	3 [i]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
40	N.A.	N.A.	4 [b]	4 [b]	N.A.	N.A.
40	N.A.	N.A.	2 [f]	4 [f]	N.A.	N.A.
45	3 [g]	3 [g]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
45	N.A.	N.A.	2 [l]	2 [l]	N.A.	N.A.
50	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	4 [k]	N.A.
90	6 [c]	6 [c]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
90	N.A.	N.A.	2 [l]	2 [l]	N.A.	N.A.
90	3 [h]	6 [h]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
90	3 [i]	3 [i]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
135	3 [g]	3 [g]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
150	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	6 [k]	N.A.
160/120	N.A.	N.A.	4 [f]	4 [f]	N.A.	N.A.
180	N.A.	N.A.	4 [l]	6 [l]	N.A.	N.A.
270	3 [h]	6 [h]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
450	6 [i]	3 [i]	N.A.	N.A.	6 [k]	N.A.

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（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	Rat		Dog		Rabbit	Human
	M	F	M	F	F	
	Median t_{max} (h)					
2000	15 [i]	6 [i]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
500 mg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	8 [l]

a: Study RF5400 (Day 18 of gestation)
b: Study T 8421 (Day 25)
c: Study T16157 (Day 28)
d: Study T 8427 (Day 88)
e: Study [redacted]-DA009-N0 (Day 267)
f: Study T8453 (Day 14) T_{max} were either means or individual values.
g: Study T16179 (Day 182)
h: Study T16193 (Day 28)
i: Study [redacted]-DA0061-0 (Day 28 for 30, 90 and 450 mg/kg and Day 1 for 2000 mg/kg)
j: Study T 8420 (Day 5 for 45 mg/kg and Day 12 for 90 and 180 mg/kg)
k: Study RF0480 (Day 6 of gestation for 450 mg/kg and Day 18 of gestation for 50 and 150 mg/kg)
l: PK Parameters obtained from Study EMR200095-001, following multiple dose administration of tepotinib with Tablet Formulation 1 (TF1) to late stage cancer subjects.
AUC: Area under the concentration vs. time curve; C_{max}: Maximum concentration; F: female; LLOQ: Lower limit of quantification; M: male; N.C.: not calculable as sample value < LLOQ; t_{max}: Time to reach maximum concentration.

4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: tepotinib

Batch No.	Purity (%)	Specified impurities	Impurity level	Study number	Type of study[a]
Proposed specification of drug substance:	Assay (hydrochloride salt) % [redacted]	不純物4* 不純物5* 不純物6* 不純物1* 不純物3* 不純物2* Triphenylphosphine oxide (TPPO)	Acceptance Criterion (%) NMT 0.25 NMT 0.20 NMT 0.15 NMT 0.25 NMT 0.20 NMT 0.20 NMT 0.15		
[redacted]	[redacted]	Not reported	Not reported	T8420 T17188	Oral tolerance study in dogs In vitro mammalian gene mutation test
[redacted]	[redacted]	不純物7* 不純物6* 不純物8*	0.48% ≤ 0.05%[b] 0.48%	T17193 T17194 T16157 T8421 T17192 70/484	Single oral dose toxicity in rats Single oral dose toxicity in mice 4-week oral toxicity study in rats 4-week oral toxicity study in dogs Bacterial Mutagenicity Assay In vitro phototoxicity on Balb/c 3T3 fibroblasts

4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（つづき）

Test Article: tepotinib

Batch No.	Purity (%)	Specified impurities	Impurity level	Study number	Type of study
[redacted]	[redacted]	不純物7* 不純物8*	0.54%[d] 0.43%	T17266	Micronucleus test in rats
[redacted]	[redacted]	不純物7*	0.60%	T16193	4-week oral toxicity study in rats
[redacted]	[redacted]	不純物7*	0.26%	T16179 T8427	26-week oral toxicity study in rats 13-week oral toxicity study in dogs
[redacted]	[redacted]	不純物7*	0.33%	T16179 RF0470	26-week oral toxicity study in rats Oral tolerance study in non-pregnant rabbits
[redacted]	[redacted]	不純物4*	0.59%	RF0480	Preliminary oral embryo-fetal development study in rabbits
[redacted]	[redacted]	不純物4*	0.23%	20017987 T8453 RF5400	Single dose oral phototoxicity in rats Oral pilot (bridging) 14-day study in dogs Preliminary oral embryo-fetal development study in rabbits

4. 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（つづき）

Test Article: tepotinib

Batch No.	Purity (%)	Specified impurities	Impurity level	Study number	Type of study
[redacted]	[redacted]	不純物4*	0.06%	[redacted]-DA009-N0	39-week oral toxicity study in dogs
		不純物5*	≤0.05%[e]		
		不純物6*	≤0.05%[e]		
		不純物9*	0.23%		
		TPPO	≤0.05%[e]		
[redacted]	[redacted]	不純物4*	0.06%	[redacted]-DA009-N0	39-week oral toxicity study in dogs
		不純物5*	≤0.05%[e]		
		不純物6*	≤0.05%[e]		
		不純物9*	0.23%		
		TPPO	≤0.05%[e]		
[redacted]	[redacted]	不純物4*	0.06%	[redacted]-DA009-N0	39-week oral toxicity study in dogs
		不純物5*	≤0.05%[e]		
		不純物6*	≤0.05%[e]		
		不純物9*	0.23%		
		TPPO	≤0.05%[e]		
[redacted]	[redacted]	不純物4*	0.08%	[redacted]-DA0061-0	4-week oral toxicity study in rats
		不純物6*	≤0.05%[e]		
		不純物5*	0.25%		
		不純物1*	0.34%		
		不純物3*	0.28%		
		不純物2*	0.26%		

a: Reported as EMD1213984.

b: The value of 1.47 % of Impurity 不純物6* , also identified as EMD 1195688, in the initial analysis is considered as an analytical artefact occurring during sample preparation under oxidative conditions. In the reanalysis using an optimized analytical method, this impurity was determined below reporting threshold of 0.05% (see also section S.4.4). c: Reported as EMD 1205409.
d: Differences observed in impurity values at the re-analysis of the same batch are considered within analytical variability.
e: Below reporting threshold of 0.05%.

5. 単回投与毒性試験

Test Article: tepotinib

Species/ strain	Method of administration (vehicle/formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per group	Observed maximum non-lethal dose (mg/kg)	Approximate lethal dose (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number
Mouse/ Crl:NMRI BR[a]	Oral by gavage Vehicle: 0.25% aqueous hydroxypropyl-methylcellulose (Methocel® K4M Premium))	2000	3 males + 3 females	2000	> 2000	No findings	T17194
Rat/ Wistar HsdCpb: WU[b]	Oral by gavage Vehicle: 0.25% aqueous hydroxypropyl-methylcellulose (Methocel® K4M Premium))	2000	3 males + 3 females	2000	> 2000	No findings	T17193

a: Age range at start of treatment: 6 – 7 weeks.
b: Age range at start of treatment: 7 – 9 weeks.

6. 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験

Test Article: tepotinib

Species/ strain	Method of administration (vehicle/formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number
Dog/ Beagle	Oral, (hard gelatine capsules)	Escalating doses			Not applicable	At ≥ 30 mg/kg increased continuous tongue movements; At ≥ 45 mg/kg soft stool, vomiting, diarrhea; At 180 mg/kg: subdued behavior and mucous-bloody stool Lower body weights up to -14% at the end of escalating dosing period, accompanied by decreased food intake starting at 30 mg/kg.or anorexia at 180 mg/kg. At ≥ 90 mg/kg, clinical chemistry and histopathology revealed liver and gall bladder as targets of toxicity: increased ALT, AST, AP, CHOL and TRIG, cholangitis, liver cell necrosis, lymphoplasmacellular infiltrates in gall bladder. No clinical signs at ≤ 5 mg/kg. At the end of dosing (Day12), the mean $AUC_{0\text{-}24h}$ were 5950 (M) or 8390 (F) ng·h/mL and 10900 (M) or 24600 (F) ng·h/mL at doses of 90 and 180 mg/kg, respectively.	T8420
		Group 1:		1 M + 1 F			
		Day 5 - 8	45				
		Day 9 - 13	90				
		Group 2:					
		Day 1	1	1 M + 1 F			
		Day 2	5				
		Day 3	30				
		Day 4 - 8	90				
		Day 9 - 13	180				

ALT: Alanine aminotransferase; AP: Alkaline phosphatase; AST: Aspartate aminotransferase; CHOL: Cholesterol; NOAEL: No-observed-adverse-effect-level; TRIG: triglycerides.

6. 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（つづき）

Test Article: tepotinib

Species/ strain	Method of administration (vehicle/formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number
Dog/ Beagle	Oral, (micronized tepotinib in hard gelatine capsules)	**Group 1:** 14 Days	10	1M + 1F	Not applicable	At 10 mg/kg: minimal granulocytic infiltrates in the small intestines in the female animal	T8453
		Group 2: 14 Days	40	1M + 1F		At 40 mg/kg: sporadic vomiting, soft stool, stool with mucous or orange-brownish admixtures or diarrhea, increased serum ALT, AP, GLDH, γ-GT and BA levels. Microscopically, bile ducts proliferation, inflammatory infiltrates in gall bladder in both dogs, and dilation of crypts in the small intestines (the female only)	
		Group 3: Day 1 – 3 (160 mg/kg) Day 4-6 (dose-free) Day 7 -14 (120 mg/kg)	160/120	2M + 2F		At 160/120 mg/kg: soft stool, diarrhea with mucous admixtures and vomiting, decreased food consumption or anorexia (160 mg/kg), increased neutrophils/WBC, and serum ALT, AP, GLDH, γ-GT and BA levels. Microscopically, proliferation of bile ducts with pericholangitis and pericholangiolar fibrosis in the liver and inflammatory infiltrates in the gall bladder in all dogs, and granulocytic infiltrates in the tips of the villi in small intestines (males only).	

ALT: Alanine aminotransferase; AP: Alkaline phosphatase; AST: aspartate aminotransferase; BA: Bile acids; F: female; GLDH: Glutamate dehydrogenase; ɣ-GT: Gamma glutamyl transferase; M: Male. NOAEL: No observed adverse effect level; WBC: White blood cells.

7. 反復投与毒性試験： 重要な試験

7A 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16157）

Report Title: EMD 1214063 – 4-week oral toxicity study in rats plus a 4-week recovery period Test Article: tepotinib

Species/strain: Wistar rat/ HsdCpb:WU	Duration of dosing: 4 weeks	Study no.: T16157
Initial age: 9 to 10 weeks	Duration of postdose: 4 weeks	
Date of first dose: [redacted]	Method of administration: oral by gavage (once daily dosing)	Location CTD Section: 4.2.3.2.1
	Vehicle/formulation: 0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose (Methocel® K4M Premium).	GLP compliance: Yes
Special features:	3 additional satellite rats/sex/group were used for toxicokinetics; Immune cell phenotyping in Weeks 4 and 8.	
No observed adverse effect level:	90 mg/kg/day	

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**		**90**	
Number of animals (main kill + recovery kill + satellite animals)		M: 18 (10+5+3)	F: 18 (10+5+3)	M: 18 (10+5+3)	F: 18 (10+5+3)	M: 18 (10+5+3)	F: 18 (10+5+3)	M: 18 (10+5+3)	F: 18 (10+5+3)	M: 18 (10+5+3)	F: 18 (10+5+3)
Toxicokinetics:											
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
C_{max} (ng/mL)	Day 1	/	/	11.95	14.97	47.97	100.69	131.56	214.01	251.84	421.03
	Day 28	/	/	17.67	27.88	53.81	114.12	183.84	393.78	459.21	833.55
AUC_{24} (ng·h/mL)	Day 1	/	/	121.8	130.5	357.6	725.4	987.1	1654	2132	5965
	Day 28	/	/	157.5	223.1	468.3	1012	1598	3315	5125	11108
Noteworthy findings											
Treatment period											
Number of animals		M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	0	1[a]	0	0

7A 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16157）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30		90	
Clinical observations										
Rooting in bedding material	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0
Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Week 4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Immune cell phenotyping (Week 4)										
Number of animals	M:14	F:15	M:14	F:14	M:15	F:14	M:15	F:15	M:14	F:15
B-Cells (%)	22.71	19.49	26.04	18.99	24.74	20.47	25.21	22.35	25.94	26.65***
T-Cells (%)	62.96	72.05	61.60	70.04	64.31	68.11	63.09	67.39	64.71	59.59***
Th-Cells (%)	38.38	43.35	36.12	42.40	38.61	38.45*	35.71	42.12	36.60	37.03**
Ts-Cells (%)	15.75	19.36	19.26	18.52	17.78	19.39	18.08	17.61	20.16**	18.63
Serum chemistry (Week 4)										
Number of animals	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
CHOL (mmol/L)	1.75	1.57	1.54	1.65	1.54	1.46	1.38**	1.16**	1.16***	0.79***
ALT (U/L)	27	27	28	24	27	26	32**	34**	40***	42***
AP (U/L)	133	81	144	87	131	100	157*	141***	175***	159***

7A 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16157）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30		90	
Urinalysis (Week 4)										
Number of animals	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
RBC-U[b]										
Grade 0 (negative / trace)	12	15	12	14	11	12	10	10	11	9
Grade 1 (small)	3	0	3	1	4	3	4	5	4	1
Grade 2 (moderate)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3
Grade 3 (large)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Terminal sacrifice										
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Organ weights % [c] (Week 5)										
Spleen										
Absolute weight	0.70 g	0.51 g	+7	+6	-6	+8	-6	+4	0	+25***
Relative weight	0.18%	0.23%	+11.1	+4.3	0	+8.7	0	0	+5.6	+21.7***
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (Week 5)										
Lung										
Alveolar, macrophages, focal, mild	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1
Foam cells, multifocal, mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Lymph node mesenteric										
Para-cortex, macrophages, numerous, focal, mild	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3

7A 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16157）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30		90	
Noteworthy findings										
Postdose evaluation										
Number of animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Clinical observations (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Immune cell phenotyping (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-[d]
Organ weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology (Week 9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (Week 9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

/: All plasma concentrations were below the lower limit of quantification (LLOQ) of 0.20 ng/mL with the exception of a few spot values which were slightly above (up to 0.40 ng/mL) the LLOQ.

-: No noteworthy findings; * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$.

a: Found dead on Day 55 after blood sampling; the death was not considered treatment related.

b: The numbers refer to the number of animals affected with various grades.

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

d: Mild traces of blood in the urinary sediment of some animals.

AUC_{24}: Area under the concentration vs. time curve up to the sampling time 24 hour; ALT: Alanine aminotransferase; AP: Alkaline phosphatase; C_{max}: Maximum concentration; CHOL: cholesterol; F: female; M: male; N: Number of animals; RBC-U: Red blood cell in urine.

7B 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16193）

Report Title: EMD 1214063 – 4-week oral toxicity study in rats plus a 4-week recovery period Test Article: tepotinib

Species/strain: Wistar rat/HsdCpb:WU
Initial age: 10 weeks
Date of first dose: [redacted]

Duration of dosing: 4 weeks
Duration of postdose: 4 weeks
Method of administration: oral by gavage (once daily dosing)
Vehicle/formulation: 0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose (Methocel® K4M Premium).

Study no.: T16193
Location CTD Section: 4.2.3.2.2
GLP compliance: Yes

Special features:
Three additional satellite rats/sex/group were used for toxicokinetics;
Impurity content 1.7% including EMD 1271391/MSC2266114A at 0.23%, EMD 1213984/ 不純物4* at 0.60%, EMD 1205103/ MSC2199793A at 0.65%, EMD 1279354/ MSC2273657B at 0.08% and impurity RRT 1.51 at 0.1%.
Immune cell phenotyping in Weeks 4 and 8.

No observed adverse effect level: 90 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**30**		**90**		**270**	
Number of animals (main kill + recovery kill + satellite animals)		M: 18 (10+5+3)	F: 18 (10+5+3)	M: 18 (10+5+3)	F: 18 (10+5+3)	M: 18 (10+5+3)	F: 18 (10+5+3)	M: 18 (10+5+3)	F: 18 (10+5+3)
Toxicokinetics									
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
C_{max} (ng/mL)	Day 1	/	/	63.87	136.97	98.77	193.28	150.25	353.94
	Day 28	/	/	95.12	175.95	178.14	312.86	200.43	541.36
AUC_{24} (ng·h/mL)	Day 1	/	/	475.1	1166.1	856.3	1923.4	2155.6	4075.8
	Day 28	/	/	831.4	1527.4	1661.8	3745.8	2567.7	5944.7
Noteworthy findings									
Treatment period									
Number of animals		M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	0	0

7B 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16193）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**90**		**270**	
Clinical observations								
Rooting in bedding material	0	0	0	0	0	0	7	14
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Week 4)								
Number of animals	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:14
RBC (/pL)	8.82	9.08	8.66	8.91	8.84	8.96	8.92	8.76*
HGB (g/dL)	15.1	15.1	15.1	14.7*	15.0	14.9	15.1	14.4**
PLT (/nL)	1250	1284	1266	1281	1258	1254	1235	1150*
RET (%)	1.8	1.6	1.7	1.8	1.9	1.7	1.9	2.2***
RET ABS (/nL)	159.8	142.5	149.0	157.7	166.2	152.8	166.7	192.8**
WBC (/nL)	10.2	7.4	11.4	8.4	12.1	8.6	11.4	10.2**
EOS (%)	1.7	2.0	1.4*	1.5**	1.5	1.7	1.1***	1.6
LUC (%)	1.3	1.1	1.0*	1.0	1.1**	0.9	1.1	0.8
Serum chemistry (Week 4)								
Number of animals	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
GLUC (mmol/L)	6.4	5.9	6.1	5.9	7.2*	6.2	6.5	6.9*
CREA (µmol/L)	15	25	17	26	16	27	20***	26
CHOL (mmol/L)	1.60	1.81	1.33*	1.34***	1.34*	1.16***	1.12***	1.02***
TRIG (mmol/L)	0.67	0.59	0.49*	0.43**	0.51*	0.42**	0.47*	0.43**
TP (g/L)	60.9	63.1	58.1**	59.1**	59.7	59.5**	59.1	60.2**
ALB (g/L)	37.8	40.3	36.2**	37.4**	36.9	37.6**	36.7	37.5***

7B 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16193）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		270	
ALT (U/L)	35	28	35	35***	37	37***	48***	52***
AST (U/L)	92	80	96	96**	84	94**	89	93**
SDH (U/L)	4.0	3.6	4.5	3.6	5.9*	4.0	6.3*	5.1
AP (U/L)	131	76	147*	106***	167***	117***	178***	162***
Urinalysis (Week 4)	-	-	-	-	-	-	-	-
Terminal sacrifice								
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Organ weights %[a] (Week 5)								
Liver	15. 9 g	8.0 g	-4.4	+12.5	-1.9	+13.8*	0.0	+23.8***
Ovary	N.A.	0.078 g	N.A.	+16.7	N.A.	+17.9*	N.A.	+25.6**
Spleen	0.69 g	0.45 g	+1.4	+11.1	+14.5*	+17.8**	+15.9**	+26.7***
Adrenal Gland	0.063 g	0.068 g	0.0	+16.2	-9.5	+30.9***	+3.2	+27.9***
Thymus	0.42 g	0.31 g	+7.1	+9.7	+31.0*	+6.5	0.0	+22.6*
Gross pathology (Week 5)	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (Week 5)								
Lung								
Aggregates, alveolar macrophage	3	0	2	0	4	2	6	10
Lymph node, mesenteric								
Infiltrates, histiocytes	0	0	3	0	3	6	10	9
Lymph node, mandibular								
Infiltrates, histiocytes	0	0	0	0	1	1	3	1

7B 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16193）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		270	
Additional examinations								
Number of animals	M:15	F:15	M:14	F:15	M:14	F:15	M:11	F:14
Immune cell phenotyping (Week 4)	-	-	-	-	-	-	-	-
Noteworthy findings								
Postdose evaluation								
Number of animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Hematology (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry (Week 8)								
CHOL (mmol/L)	2.23	1.86	2.13	1.76	2.10	1.77	1.94	2.31*
TP (g/L)	63.5	61.3	60.1	63.0	61.7	65.1*	62.2	62.1
ALB (g/L)	38.2	38.2	37.0	39.0	37.6	41.3*	38.2	38.3
Urinalysis (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights (Week 9)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology (Week 9)	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (Week 9)								
Lymph node, mesenteric								
Infiltrates, histiocytes, minimal	1	0	0	1	2	1	2	2
Lung, liver	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional examinations								
Immune cell phenotyping (Week 8)	-	-	-	-	-	-	-	-

/: All samples from control group animals were below the lower limit of quantification (LLOQ) i.e. below 0.20 ng/mL.

-: No noteworthy findings.

* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$; Wilcoxon test for hematology and serum chemistry; Dunnett`s test for body weight Dunnett's test for body weight and food consumption.

a: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
Abs: Absolute; ALB: Albumin; ALT: Alanine aminotransferase; AP: Alkaline phosphatase; AST: Aspartate aminotransferase; AUC_{24}: Area under the concentration vs. time curve up to the sampling time 24 hour; CHOL: Cholesterol; C_{max}: Maximum concentration; CREA: Creatine, EOS: Eosinophil, F: female; GLUC: Glucose, HGB: Hemoglobin; LUC: Large Unstained Cells; M: male; N.A.: not applicable; PLT: Platelets; RBC: Red blood cells; RET: Reticulocytes; SDH: Sorbitol dehydrogenase; TP: Total protein;
TRIG: Triglyceride; WBC: White blood cells.

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）

Report Title: Tepotinib (MSC2156119J) - 4-week oral toxicity study in rats Test Article: tepotinib

Species/strain: Rat, HsdCpb:WU	Duration of dosing: 4 weeks, once daily	Study No.: [redacted]-DA0061-0
Initial age: 8 weeks	Duration of postdose: N.A.	Location CTD Section: 4.2.3.2.3
Date of first dose: [redacted]	Method of administration: oral by gavage (once daily dosing)	
	Vehicle/formulation: 0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose (Methocel® K4M Premium)	GLP compliance: Yes
Special features:	Four additional satellite rats/sex/group were used for toxicokinetic assessment of tepotinib, the major human metabolite MSC2571109A and its enantiomer MSC2571107A. Immune cell phenotyping: Day 5 (2000 mg/kg), Day 29 (0, 30, 90, 450 mg/kg). Tepotinib was spiked with impurities 不純物1* at 0.34%, 不純物2* at 0.26%, 不純物3* at 0.28%, and 不純物5* at 0.25%.	
No observed adverse effect level:	90 mg/kg	
Maximum tolerated dose:	450 mg/kg	

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Toxicokinetics[a]									
Dose (mg/kg)	**Sex**	**Number of animals**	**Day**	**C_{max} (ng/mL)**			**AUC_{τ} (ng·h/mL)**		
				Tepotinib	**Major human metabolite**	**Enantiomer of MSC2571109A**	**Tepotinib**	**Major human metabolite**	**Enantiomer of MSC2571109A**
				MSC2156119J	**MSC2571109A**	**MSC2571107A**	**MSC2156119J**	**MSC2571109A**	**MSC2571107A**
30	Male	4	1	107	28.2	21.4	988	278	217
			28	218	40.3	33.2	2110	357	283
	Female	4	1	316	28.4	14.9	2700	381	213
			28	467	46.7	28.4	3630	594	364
90	Male	4	1	213	42.6	31.7	1860	468	353
			28	257	49.8	38.8	2460	484	384
	Female	4	1	525	54.5	31.8	4150	693	439
			28	684	76.2	55.3	6570	964	730
450	Male	4	1	353	142	84.8	4120	1580	1000
			28	810	158	129	12700	2300	1950
	Female	4	1	747	124	59.6	9370	2100	1040
			28	1330	171	119	27200	3070	2200
2000	Male	4	1	450	170	126	8240	3100	2200
	Female	4	1	1040	211	120	18900	3980	1760

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		450		2000	
Number of animals (main kill + satellite animals)	M: 12 (10 +2)	F: 12 (10+2)	M:14 (10+4)	F: 14 (10+4)	M:14 (10+4)	F: 14 (10+4)	M:14 (10+4)	F: 14 (10+4)	M:14 (10+4)	F: 14 (10+4)
Noteworthy findings										
Treatment period										
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	14 [b]	14 [b]
Body weight (%) [c]										
Day 4	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	-12	-9
Day 28	349.9 g	-	-	-	-	-	-3	-	N.A.	N.A.
Body weight gain (%) – Day 28 [c]	67.3 g	21.4 g	-	-	-	-	-26	+20	N.A.	N.A.
Food consumption (%) [d]										
Day 21	25.31 g/day	16.25 g/day	-	-	-	-	-8	-10**	N.A.	N.A.
Clinical observations [e]										
Number of animals	M: 12	F: 12	M:14	F: 14	M:14	F: 14	M:14	F: 14	M:14	F: 14
Coat, piloerection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Skin, pale	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Sunken flanks	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4
Discharge eye	0	0	0	1	0	0	0	0	0	4
Discharge nostril	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6
Eyelid, incomplete closure	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6
Faeces consistency, mucous	0	0	0	0	0	0	3	2	8	10
Faeces soft	0	0	0	0	0	0	0	0	8	4
Respiratory sounds, present	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Respiratory gasping	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		450		2000	
Salivation	0	0	0	0	0	4	5	9	2	2
Rooting in the bedding material	0	0	0	0	12	14	13	12	8	11
Ophthalmoscopy (Week 4)	-	-	-	-	-	-	-	-	N.A.	N.A.
Hematology and Coagulation Day 5										
Number of animals	M:10 (Day 29)	F:10 (Day 29)	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	M:9	F:10
RBC (10^6/μL)	9.24	8.71	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	9.37	9.31
HGB (g/dL)	15.5	14.8	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	17.2	17.4
HCT (%)	46.1	43.6	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	50.8	50.1
WBC (10^3/μL)	9.96	8.16	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	13.80	11.25
MONO (10^3/μL)	0.12	0.09	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	0.59	0.58
NEU (10^3/μL)	0.52	0.37	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	6.37	5.32
Day 29										
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	N.A.	N.A.
MONO (10^3/μL)	0.12	0.09	0.14	0.08	0.21	0.15	0.41**	0.28**	N.A.	N.A.
WBC (10^3/μL)	9.96	8.16	10.89	6.86	13.00	9.60	16.33**	11.29	N.A.	N.A.
LYM (10^3/μL)	9.06	7.54	10.00	6.15	11.70	8.74	13.95*	9.81	N.A.	N.A.
Immune cell phenotyping [f]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum chemistry (Day 5)										
Number of animals	M:10 (Day 29)	F:10 (Day 29)	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	M:9	F:10
K (mmol/L)	4.97	4.97	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	5.37	5.51

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		450		2000	
IP (mmol/L)	2.60	2.20	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	-	2.92
UREA (mmol/L)	5.4	5.4	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	7.8	8.8
ALT (U/L)	32	26	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	98	156
AST (U/L)	101	121	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	169	232
AP (U/L)	156	88	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	251	214
NA (mmol/L)	141.4	141.5	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	137.9	139.5
CHOL (mmol/L)	1.79	1.51	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	0.63	0.51
TP (g/L)	59.5	56.6	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	54.4	51.8
ALB (g/L)	38.0	38.2	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	33.8	32.9
Day 29										
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	N.A.	N.A.
CHOL (mmol/L)	1.79	1.51	1.74	1.36	1.23**	1.00**	0.71**	0.81**	N.A.	N.A.
ALT (U/L)	32	26	36	33	41	37*	67**	73**	N.A.	N.A.
AST (U/L)	101	121	112	115	116	103	151**	174**	N.A.	N.A.
AP (U/L)	156	88	174	149*	191*	186**	311**	300**	N.A.	N.A.
Urinalysis [f]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights [g] (%) - (Day 29)										
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	N.A.	N.A.
Liver	10.1 g	6.2 g	+6	+8	+4	+24*	+11	+32**	N.A.	N.A.
Spleen	0.65 g	0.46 g	+9	+11	+14	+20**	+12	+30**	N.A.	N.A.
Adrenals	0.050 g	0.078 g	+6	-3	+6	+5	+34**	+5	N.A.	N.A.
Thyroids	0.0152 g	0.0142 g	+6	-19**	-1	-13*	+25**	-16**	N.A.	N.A.

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		450		2000	
Gross pathology (Main kill + Premature sacrifice) [h]										
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Intestine, large, cecum										
Contents; mucous	0	0	0	0	0	0	3	5	10	9
Intestine, large, colon										
Contents; mucous	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0
Intestine, large, rectum										
Contents; mucous	0	0	0	0	0	0	2	1	3	5
Lung										
Focus/foci; white, focal	0	0	0	0	0	0	2	7	0	0
Repro organs, male, seminal vesicle										
Size, decrease	0	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	2	N.A.	0	N.A.
Spleen										
Size, decrease	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Stomach										
Discoloration(s); fundus, mucosa; dark red, focal	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
Contents; increased, marked	0	0	0	0	0	0	0	0	10	6
Thymus										
Size, decrease	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		450		2000	
Histopathology (Main kill + Premature sacrifice) [h]										
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Adrenals										
Hypertrophy, zona fasciculata										
minimal	0	0	0	0	0	0	3	4	1	0
mild	0	2	0	0	0	2	3	5	8	0
Vacuolation, cytoplasmic, zona fasciculata, increased										
minimal	0	0	0	0	0	0	3	4	1	0
mild	0	0	0	0	0	0	5	1	7	4
Necrosis, single cell, zona fasciculata										
minimal	2	0	0	0	0	0	4	0	3	1
Aorta										
Atrophy, fat tissue, perivascular										
Present no grade	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Intestine, large, cecum										
Necrosis, single cell, epithelial, lamina propria										
minimal	0	0	0	0	0	0	4	6	3	1
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		450		2000	
Intestine, large, cecum (continued)										
Necrosis, single cell, lamina propria										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	5	1
Erosion, mucosa, focal										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Infiltrates, mixed, submucosal										
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Intestine, large, colon										
Necrosis, single cell, lamina propria										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Necrosis, single cell, lamina propria, epithelial										
minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Intestine, large, rectum										
Necrosis, single cell, lamina propria										
minimal	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Necrosis, single cell, lamina propria, epithelial										
minimal	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0
moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		450		2000	
Intestine, large, rectum (continued)										
Infiltrates, granulocytic, lamina propria, multifocal										
minimal	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
Infiltrates, mixed, submucosal										
mild	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Liver										
Infiltrates, mononuclear, multifocal										
minimal	1	0	4	2	2	2	6	5	2	3
Vacuolation, cytoplasmic, hepatocellular										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Necrosis, hepatocellular, multifocal										
minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Necrosis, hepatocellular, subcapsular focal										
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hypertrophy, hepatocellular, centrilobular										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hypertrophy, epithelial, bile duct										
mild	0	0	0	0	0	0	6	8	0	0

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		450		2000	
Lung										
Foam cells, alveolar, multifocal										
minimal	0	0	1	0	0	1	3	0	2	2
mild	0	0	0	0	0	0	6	8	0	0
moderate	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
Infiltrates, mixed, alveolar, multifocal										
minimal	0	0	0	0	0	0	6	10	0	0
Infiltrates, mixed, alveolar, focal										
minimal	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0
Lymph node, mandibular										
Cellularity decreased										
mild	0	0	0	0	0	0	1	4	1	4
moderate	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Lymph node, mesenteric										
Cellularity decreased										
mild	0	0	0	0	0	0	3	5	6	5
moderate	0	0	0	0	0	0	5	3	0	5
marked	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0
Necrosis, lymphoid										
minimal	0	0	0	0	0	0	1	2	5	0

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		450		2000	
Lymph node, mesenteric (continued)										
Macrophage aggregates										
mild	0	0	0	0	0	0	7	4	3	0
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0
Mammary gland										
Single cell necrosis, apoptotic, epithelium, acinar, multifocal										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Atrophy, epithelium, acinar										
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Pancreas										
Zymogen, acinar, decreased										
mild	0	4	0	1	0	0	0	0	8	2
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
Autophagic vacuoles, acinar, increased										
minimal	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
mild	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0
Peyers patches										
Necrosis, lymphoid										
minimal	0	0	0	0	0	0	3	4	0	0
mild	0	0	0	0	0	0	0	3	7	9

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (control)		30		90		450		2000	
Repro organs, male, seminal vesicles										
Secretion reduced										
mild	0	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	2	N.A.	10	N.A.
Atrophy, epithelial										
mild	0	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	0	N.A.	10	N.A.
Salivary gland, parotis										
Apoptosis, acinar, parotis, multifocal										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4
Skin										
Atrophy, fat tissue, subcutis										
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Spleen										
Cellularity decreased, white pulp										
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Necrosis lymphoid, white pulp										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	3	0	9
Infiltrates, granulocytic, multifocal										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1
Vacuolation, macrophages, red pulp, increased										
minimal	0	0	0	0	0	0	5	5	0	0

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (control)		30		90		450		2000	
Stomach										
Ulceration, glandular stomach, mucosa, multifocal										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5
Ulceration, non-glandular, mucosa, focal										
mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Thymus										
Tingible body macrophages, cortex, increased										
mild	0	0	0	0	0	0	7	9	2	4
Cellularity decreased, cortex										
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
marked	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
Necrosis, lymphoid, cortex										
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
marked	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
Infiltrates, granulocytic, multifocal										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0

7C 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA0061-0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (control)		30		90		450		2000	
Thyroid gland										
Hypertrophy, epithelial										
minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
mild	0	0	0	0	2	2	1	2	0	0
moderate	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Trachea										
Inflammation, necrotizing										
present no grade	0	0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	0	0	1	0
Infiltrates, mixed, focal										
minimal	0	0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1	0	0	0

Dunnett's Test: * - 5% significance level, ** - 1% significance level.
-: No noteworthy findings;
a: All plasma concentrations in control animals (2 rats per sex) were below the lower limit of quantification (LLOQ) i.e. below 5.00 ng/mL for tepotinib, below 0.500 ng/mL for MSC2571109A and below 0.20 ng/mL for MSC2571107A.
b: One main group male (No. 45) dosed at 2000 mg/kg with respiratory symptoms on study Day 2 was euthanized for animal welfare reasons, the other main group males and females at 2000 mg/kg were prematurely sacrificed on study Day 5 due to numerous clinical signs and a mean body weight loss (-9 to -12%). The satellite animals at 2000 mg/kg were prematurely sacrificed on study Day 6 (females) or Day 7 (males) due to severe mean body weight loss (-17%) and numerous clinical signs.
c: Day 4: percent difference of mean body weight of main group compared to Day 1 (305.6 g males and 171.3 g females). Day 28: for controls, group means body weight or body weight gain are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
d: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
e: Satellite toxicokinetic animals included.
f: Day 5 for main group dosed at 2000 mg/kg or Day 29 for main group dosed at 0, 30, 90, 450 mg kg.
g: Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights. No terminal body and organ weights were determined from the 2000 mg/kg rats.
h: Main kill at the end of treatment period (0, 30, 90, 450 mg/kg). Premature sacrifice of animals dosed at 2000 mg/kg on Days 2 or 5.

ALT: Alanine aminotransferase; ALB: Albumin; AP: Alkaline phosphatase; AST: Aspartate aminotransferase; AUC_t: area under the plasma concentration time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; Cmax: Observed peak plasma concentrations (ng/mL); CHOL: Cholesterol; F: female(s); GLP: Good Laboratory Practice; HCT: Hematocrit; HGB: Hemoglobin; IP: Inorganic phosphate; K: Potassium; LYM: Lymphocytes; M: male(s); MONO: Monocytes; NA: Sodium; N.A.: not applicable; NEU: Neutrophilic Granulocytes; N: Number of animals; N.E.: not examined; RBC: Erythrocytes; TP: Total protein; UREA: Urea; WBC: White blood cells.

7D 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16179）

Report title: EMD 1214063 – 26-week oral toxicity study in rats plus an 8-week recovery period Test Article: tepotinib

Species/strain: Wistar rat/Crl:WI (Han)	Duration of dosing: 26 weeks	Study no.: T16179
Initial age: 8 weeks	Duration of postdose: 8 weeks	
Date of first dose: [redacted]	Method of administration: oral by gavage (once daily dosing)	Location CTD Section: 4.2.3.2.4
	Vehicle/formulation: 0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose (Methocel® K4M Premium).	GLP compliance: Yes
Special features:	Additional 3 rats/sex/group were used for toxicokinetics; Immune cell phenotyping in Weeks 5, 13, 26, and 34 Sperm analysis in Week 27	
No observed adverse effect level:	45 mg/kg/day	

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**15**		**45**		**135**	
Number of animals (main kill + recovery kill + satellite animals)		M: 23 (10+10+3)	F: 23 (10+10+3)	M: 23 (10+10+3)	F: 23 (10+10+3)	M: 23 (10+10+3)	F: 23 (10+10+3)	M: 23 (10+10+3)	F: 23 (10+10+3)
Toxicokinetics:									
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
C_{max} (ng/mL)	Day 1	/	/	38.63	78.59	99.78	124.18	129.87	230.58
	Day 28	/	/	50.36	110.68	103.69	109.09	124.79	177.74
	Day 91	/	/	52.18	82.05	93.12	148.24	101.69	233.91
	Day 182	/	/	61.32	66.03	90.12	135.54	101.28	201.90
AUC_{24} (ng·h/mL)	Day 1	/	/	269.2	580.8	586.2	951.3	1251.0	1855.0
	Day 28	/	/	417.2	1036.7	777.3	881.9	1182.6	1898.6
	Day 91	/	/	461.7	776.7	666.7	2039.1	1197.1	2950.8
	Day 182	/	/	534.8	937.3	809.9	1312.1	1522.7	2909.2

7D 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16179）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		15		45		135	
Noteworthy findings								
Treatment period								
Number of animals	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
Died or sacrificed moribund	0	0	1	0	0	0	0	2
Body weight (%[a])	472.7 g	256.2 g	+5.4	+1.5	+4.0	+1.9	-2.5	+1.6
Food consumption (%[a])	20.5 g/day	14.3 g/day	+1.5	+3.5	-1.5	+5.6	-4.9**	+11.9***
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of animals	M: 20	F: 20	M: 20	F: 19	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20
Hematology (Week 5)								
WBC (/nL)	5.6	3.6	6.1	3.3	5.9	3.4	6.4	5.0**
Number of animals	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 19
Hematology (Week 13)								
WBC (/nL)	5.5	3.2	5.3	3.1	5.4	3.2	6.0	4.6**
Number of animals	M:16	F:20	M:20	F:20	M:20	F:20	M:18	F:19
Hematology (Week 26)								
WBC (/nL)	4.8	3.2	5.3	3.1	4.8	2.9	5.0	4.4**
Number of animals	M:20	F:20	M:20	F:20	M:20	F:20	M:20	F:19
Serum chemistry (Week 26)[b]								
CHOL (mmol/L)	1.54	1.45	1.53	1.33	1.41	1.13*	1.20**	0.75***
TRIG (mmol/L)	0.65	0.43	0.82	0.44	0.58	0.40	0.51*	0.31***
TP (gl/L)	63.0	67.8	61.3*	65.2*	59.9**	63.9***	59.8**	63.4***
ALB (g/L)	38.7	43.0	37.5*	41.2**	36.4***	39.8***	36.6***	39.1***

7D 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16179）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		15		45		135	
Serum chemistry (Week 26, cont.)[b]								
ALT (U/L)	35	32	40	35	39	37*	43***	41***
AST (U/L)	76	80	78	82	76	86	87*	89**
AP (U/L)	78	33	97*	37	90	36	100**	53***
GLDH (U/L)	8.9	15.0	10.5	11.4	10.4	13.2	11.7	8.4
Urinalysis (Week 26)	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights[a] % (Week 27)								
Number of animals	M:10	F:10	M:9	F:10	M:10	F:10	M:10	F:9
Liver	12.7 g	7.4 g	+7.1	+1.4	+2.4	+9.5	-3.1	+17.6**
Ovaries	N.A.	0.084 g	N.A.	-2.4	N.A.	+11.9	N.A.	+41.7**
Adrenal Gland	0.053 g	0.070 g	-3.8	+11.4	+3.8	+10.0	-1.9	+41.4***
Gross pathology (Week 27)								
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Lung								
Discoloration, white, multifocal	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology (Week 27)								
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Lung								
Aggregates, alveolar macrophage	1	0	0	0	1	4	2	6
Liver								
Hypertrophy, centrilobular	0	0	0	0	0	0	0	3

7D 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16179）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		15		45		135	
Histopathology (Week 27, cont.)								
Lymph node, mesenteric								
Sinus histiocytosis	0	0	0	1	0	0	1	4
Aggregates, macrophage								
mild	0	2	0	1	2	2	6	4
moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Thyroid								
Activation, follicular cell								
minimal	4	1	2	0	1	1	1	6
mild	2	1	4	0	5	0	7	2
Additional examinations								
Immune cell phenotyping (Week 5)	-	-	-	-	-	-	-	-
Immune cell phenotyping (Week 13)	-	-	-	-	-	-	-	-
Immune cell phenotyping (Week 26)								
Number of animals	M:6	F:7	M:10	F:9	M:9	F:9	M:8	F:10
Th-Cells (%)	23.3	39.1	24.3	29.1*	23.4	32.1	26.9	33.4
Sperm analysis (Week 27)	-	N.A.	-	N.A.	-	N.A.	-	N.A.
Noteworthy findings								
Postdose evaluation (Week 34)								
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-

7D 反復投与毒性試験： 重要な試験（T16179）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		15		45		135	
Postdose evaluation (Week 34, cont.)								
Clinical chemistry								
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:9
ALT (U/L)	34	33	39	31	37	31	43*	28
GLDH (U/L)	8.2	9.9	10.9	10.4	10.5	15.3	16.0*	13.6
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Lymph node, mesenteric								
Aggregates, macrophage (mild)	2	2	4	0	3	1	5	4
Thyroid								
Activation, follicular cell								
minimal	1	0	0	0	1	1	1	3
mild	3	1	2	0	5	1	2	1
Additional examinations								
Immune cell phenotyping (Week 34)	-	-	-	-	-	-	-	-

/: All plasma concentrations were below the lower limit of quantification (LLOQ) i.e. below 0.20 ng/mL. - No noteworthy findings.

* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; Wilcoxon test for hematology and serum chemistry; Dunnett`s test for body weight and food consumption.

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

b: Several slight serum chemistry changes were seen also on Week 5 and Week 13. However, these changes were all of mild degree and mostly within the normal laboratory control range. Only noteworthy changes observed in Week 26 are reported here.

ALT: Alanine aminotransferase; AUC_{24}: Area under the concentration vs. time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; F: female; GLDH: Glutamate dehydrogenase; M: male; N.A.: not applicable; N: number of animals.

7E 反復投与毒性試験： 重要な試験（T 8421）

Report Title: EMD 1214063 – 4-week oral toxicity study in Beagle dogs with an 8-week recovery period Test Article: tepotinib

Species/strain: Dog/Marshall:Beagle	Duration of dosing: 4 weeks	Study no.: T 8421
Initial age: 11 to 12 months	Duration of postdose: 8 weeks	
Date of first dose: [redacted]	Method of administration: oral (once daily dosing)	Location CTD Section: 4.2.3.2.6
	Vehicle/formulation: hard gelatine capsules	GLP compliance: Yes
Special features:	2 males and 2 females at 40 mg/kg for treatment-free recovery period; Cardiovascular measurements: ECG and arterial blood pressure in Weeks -2, 3, and 12 Respiratory rate and reflexes evaluated in Weeks -2, 3, and 12 Additional measurements of ALT, AST, AP, GLDH, DBIL, TBIL, IBIL and BA in Weeks 1 and 2	
No observed adverse effect level:	10 mg/kg	

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**2.5**		**10**		**40**	
Number of animals (main kill + recovery kill)		M:3 (3)	F:3 (3)	M:3 (3)	F:3 (3)	M:3 (3)	F:3 (3)	M:5 (3+2)	F:5 (3+2)
Toxicokinetics:									
Number of animals		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5
C_{max} (ng/mL)	Day 1	/	/	9.63	14.65	40.60	45.39	133.21	94.71
	Day 25	/	/	15.48	22.86	68.50	74.46	382.30	231.65
AUC_{24} (ng·h/mL)	Day 1	/	/	104.8	137.9	413.7	395.8	1336	987.7
	Day 25	/	/	157.4	211.2	720.2	664.0	4053	3299
Noteworthy findings									
Treatment period									
Number of animals		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (%[a])		9.0 kg	7.1 kg	+1	-1	+2	-1	+6	-10

7E 反復投与毒性試験： 重要な試験（T 8421）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		2.5		10		40	
Food consumption (%[a])	0.267 kg/day	0.227 kg/day	+8	-12	+6	+7	-2	-21
Clinical observations								
Soft stool / mucosal discharge / diarrhea	0	0	3	1	3	2	5	5
1st Day symptom observed	N.A.	N.A.	Day 14	Day 14	Day 1	Day 3	Day 1	Day 1
Vomiting	0	0	0	0	1	0	3	3
1st Day symptom observed	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	Day 24	N.A.	Day 8	Day 5
Ophthalmoscopy (pre-dose + Week 3)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Week 4)								
PLT (/nL)	293	341	272	372	282	273	203 (D+)	281
RET absolute (/nL)	85.2	51.2	77.6	45.2	73.3	75.8	127.5 (I+)	129.5 (I+)
ESR (mm/h)	1	1	1	1	2	1	2	5 (I++)
Serum chemistry (Week 4)								
GLDH (U/L)	5.1	4.7	5.3	4.8	6.8	11.3	11.8 (I+)	55 (I++)
ALT (U/L)	35	32	30	26	55	61	127 (I++)	189 (I++)
AST (U/L)	34	39	31	28	35	38	43	58 (I+)
AP (U/L)	120	107	106	103	104	196	113	934 (I+++)
TBIL (µmol/L)	0.4	0.7	0.3	0.3	0.8	0.4	0.7	1.4 (I+++)
DBIL (µmol/L)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3 (I+)
IBIL (µmol/L)	0.4	0.7	0.3	0.3	0.8	0.4	0.7	1.0 (I++)
Urinalysis (Week 4)	-	-	-	-	-	-	-	-

7E 反復投与毒性試験： 重要な試験（T 8421）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		2.5		10		40	
Terminal sacrifice								
Number of animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Organ weights[a] % (Week 5)								
Liver	250 g	221 g	+22	+7	+17	+3	+18	+5
Gross pathology (Week 5)								
Liver								
Enlarged white bile ducts	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology (Week 5)								
Liver								
Bile ducts								
Pericholangitis, lymphoplasmacellular, moderate to massive	0	0	0	0	0	0	1	1
Fibrosis, periportal, massive	0	0	0	0	0	0	0	1
Necrosis, bile duct, focal	0	0	0	0	0	0	1	0
Papillary hyperplasia of bile duct epithelium, massive	0	0	0	0	0	0	0	1
Proliferation, bile ducts, moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Swollen bile duct epithelia	0	0	0	0	0	1	0	0
Liver								
Edema, periportal	0	0	0	0	0	0	1	1
Infiltrates, mixed, periportal	0	0	0	0	0	0	1	1
Necrosis, periportal, hepatocytes	0	0	0	0	0	0	1	0

7E 反復投与毒性試験： 重要な試験（T 8421）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		2.5		10		40	
Histopathology (Week 5) (continued)								
Gall bladder								
Infiltrates, lymphoplasmacellular, diffuse, mininal to moderate	2	1	3	0	2	2	0	0
Hyperplasia, lymphoid follicular	0	0	1	0	0	0	0	0
Lymphangiectasia, massive	0	0	0	0	0	0	0	1
Thymus								
Cortical and medullary atrophy, massive, deposition of proteineous material	0	0	0	0	0	0	0	1
Additional examinations								
Number of animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5
Electrocardiography, blood pressure (Week 3)	-	-	-	-	-	-	-	-
Respiratory rate, reflexes[b] (Week 3)	-	-	-	-	-	-	-	-
Postdose evaluation (Week 12)								
Number of animals	0	0	0	0	0	0	2	2
Ophthalmology	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	-
Hematology	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	-
Clinical chemistry	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	-
Organ weights (%)	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	-
Gross pathology	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	-
Histopathology	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	-

7E 反復投与毒性試験： 重要な試験（T 8421）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		2.5		10		40	
Postdose evaluation (Week 12) (continued)								
Additional examinations								
Electrocardiography, blood pressure	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	-
Respiratory rate, reflexes[b]	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	-	-

/: All plasma concentrations were below the lower limit of quantification (LLOQ) i.e. below 0.20 ng/mL.
No noteworthy findings. + Mild, ++ Moderate, +++ Marked, D: decrease, I: increase.
a: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
b: Pupillary light, lid, patellar, flexor and anal reflexes were tested.
ALT: Alanine aminotransferase; AP: Alkaline phosphatase; AST: Aspartate aminotransferase; AUC_{24}: Area under the plasma concentration time curve up to the sampling time 24 hour; C_{max}: Maximum concentration; DBIL: direct bilirubin; ECG: Electrocardiography; ESR: erythrocyte sedimentation rate; F: female; GLDH: Glutamate dehydrogenase; IBIL: indirect bilirubin; M: male; N.A.: not applicable; PLT: platelets; RET: reticulocytes; TBIL: total bilirubin.

7F 反復投与毒性試験： 重要な試験（T 8427）

Report Title: EMD 1214063 (MSC2156119J) – 13-week oral toxicity study in Beagle dogs with a 12-week recovery period

Test Article: tepotinib

Species/strain: Dog/Beagle

Initial age: 14 to 15 months

Date of first dose: [redacted]

Special features:

Duration of dosing: 13 weeks

Duration of postdose: 12 weeks

Method of administration: oral (once daily dosing)

Vehicle/formulation: hard gelatine capsules

Cardiovascular measurements: ECG and arterial blood pressure were determined in Weeks -3, 11, and 24; respiratory rate was evaluated in Weeks -3, 11, and 24; reflex testing in Weeks -3, 11, and 24

Hematology and coagulation measurements in Weeks -2, 4, 8, 13, 25; clinical chemistry measurements in Weeks -2, 1, 2, 3, 4, 8, 13, 20, 25; bone marrow smear evaluation in Weeks 14 and 26

Study no.: T 8427

Location CTD Section: 4.2.3.2.7

GLP compliance: Yes

No observed adverse effect level: 30 mg/kg

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of animals (main kill + recovery kill)		M:6 (3+3)	F:6 (3+3)	M:6 (3+3)	F:6 (3+3)	M:6 (3+3)	F:6 (3+3)	M:6 (3+3)	F:6 (3+3)
Toxicokinetics:									
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
C_{max} (ng/mL)	Day 1	/	/	5.69	3.82	14.8	5.99	29.1	35.7
	Day 25	/	/	7.44	5.84	19.7	18.1	58.1	74.6
	Day 88	/	/	4.41	6.61	30.3	16.6	47.8	49.3
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	Day 1	/	/	58.0	52.7	180	74.5	374	431
	Day 25	/	/	99.7	89.0	356	212	905	1100
	Day 88	/	/	43.1	100	427	210	705	704

7F 反復投与毒性試験： 重要な試験（T 8427）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Noteworthy findings								
Treatment period								
Number of animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (%[b])	9.7	6.6	-2.1	+4.5	-3.1	+1.5	+1.0	+10.6
Food consumption (%[b])	0.294	0.201	-1.0	+22.9	-1.4	+13.9	-5.1	+35.8**
Clinical observations	-	-	Soft stool, mucous admixtures	Soft stool, mucous admixtures, sporadic vomiting, diarrhea	Soft stool, mucous admixtures, sporadic vomiting, diarrhea	Soft stool, mucous admixtures, sporadic vomiting, diarrhea	Soft stool, mucous admixtures, sporadic vomiting, diarrhea	Soft stool, mucous admixtures, sporadic vomiting, diarrhea
Ophthalmoscopy (Week 12)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Weeks 4, 8, 13)	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum chemistry (Week 4)								
ALT (U/L)	38	31	55	37	46	46	92*	56*
AST (U/L)	34	26	42	34	36	35	54**	43*
GLDH (U/L)	4.9	4.8	6.7	5.6	7.0*	6.0	17.0*	9.4
SDH (U/L)	6.1	6.5	6.8	10.7	8.3	9.2	18.0**	12.8
Serum chemistry (Week 8)								
ALT (U/L)	31	28	46*	37	43*	40	73*	51*
AST (U/L)	35	30	44*	36	41	40	50**	51*
GLDH (U/L)	4.5	5.4	5.3	7.2	6.5**	7.1	13.3**	11.0
SDH (U/L)	6.6	11.6	8.2	11.7	8.0	12.1	17.7*	15.9

7F 反復投与毒性試験： 重要な試験（T 8427）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Serum chemistry (Week 13)								
GLUC (mmol/L)	4.8	5.8	5.1	5.1*	5.4	5.1	5.5*	5.3
UREA (mmol/L)	4.7	4.7	4.6	5.9	4.8	5.8	6.7**	6.4
ALB (g/L)	32.8	33.5	31.2	31.2	29.0*	30.2*	27.8**	30.4
A/G ratio	1.35	1.39	1.21	1.30	1.18	1.30	1.02**	1.17**
ALT (U/L)	32	29	44	33	50	37	62	52*
AST (U/L)	35	30	42	34	40	39	43	48
GLDH (U/L)	4.3	5.6	5.2	6.2	6.6**	5.7	8.3*	11.1
SDH (U/L)	3.4	5.6	6.2	9.9	7.7	8.2	11.1*	9.9
Urinalysis (Week13)	-	-	-	-	-	-	-	-
Terminal sacrifice								
Number of animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Organ weights[a] % (Week 14)								
Liver								
Absolute weight	252 g	164 g	+11.1	+16.5	+2.0	+33.5	+14.3	+36.0
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Large intestine								
Cecum, infiltrates	0	0	1	0	2	0	1	1
Colon, infiltrates	0	0	0	0	1	0	1	2
Liver								
Pigmentation, Kupffer cell	0	0	0	0	0	0	0	1

7F 反復投与毒性試験： 重要な試験（T 8427）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Additional examinations								
Electrocardiography + blood pressure (Weeks 3 + 11)	-	-	-	-	-	-	-	-
Respiratory rate (Weeks 3 + 11)	-	-	-	-	-	-	-	-
Reflexes[b] (Week 11)	-	-	-	-	-	-	-	-
Postdose evaluation								
Number of animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Ophthalmoscopy (Week 24)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Week 25)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry (Weeks 20 + 25)	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis (Week 25)	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional examinations								
Electrocardiography, blood pressure, respiratory rate, reflexes[c] (Week 24)	-	-	-	-	-	-	-	-

/: Plasma concentrations were below the lower limit of quantification (LLOQ) of 0.207 ng/mL on all occasions.
- No noteworthy findings.
* - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, Wilcoxon test for serum chemistry.
a: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
b: Pupillary light, lid, patellar, flexor and anal reflexes were tested.
A/G ratio Albumin/Globulin ratio; ALB: Albumin; ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; AUC_{0-t}: Area under the plasma concentration vs. time curve up to the last quantifiable time point; C_{max}: Maximum concentration; ECG: Electrocardiography; F: female; GLDH: Glutamate dehydrogenase; GLP: Good Laboratory Practice; GLUC: Glucose; M: male; SDH: Sorbitol dehydrogenase.

7G 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA009-N0）

Report Title: MSC2156119J - 39-week oral toxicity study in Beagle dogs with a 12-week recovery period

Test Article: tepotinib

Species/strain: Dog/Beagle

Initial age: 10 to 10.5 months

Date of first dose: [redacted]

Duration of dosing: 39 weeks, once daily

Duration of postdose: 12 weeks

Method of administration: oral (once daily dosing)

Vehicle/formulation: hard gelatin capsules

Special features: Cardiovascular measurements: Heart rate, ECG and arterial blood pressure were determined in Weeks -3, 3, 17, 36 and 51; Liver and pancreas biomarkers: Venous blood samples were taken from all dogs in Weeks -3, 1, 2, 3, 5, 7, 11, 18, 26/27, 38, 52; Proliferation marker investigations (Ki-67 and PHH3) in bile ducts; Metabolite evaluation: plasma samples from Day 1, 85 and 276 were investigated (Study Report 14-GR108-V0), liver and bile samples were taken from all dogs at necropsy at the end of the treatment or recovery period and investigated (Study Report 15-GR019-P0).

Study No.: [redacted]-DA009-N0

Location CTD Section: 4.2.3.2.9

GLP compliance: Yes[a]

No observed adverse effect level: 10 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Number of animals (main kill + recovery kill)		M:5 (3+2)	F:5 (3+2)	M:5 (3+2)	F:5 (3+2)	M:5 (3+2)	F:5 (3+2)	M:5 (3+2)	F:5 (3+2)
Toxicokinetics									
Number of animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
C_{max} (ng/mL)	Day 1	/	/	20.5	20.2	57.2	57.1	92.1	98.5
	Day 22	/	/	16.1	21.6	86.1	61.2	155	261
	Day 85	/	/	18.8	18.4	73.3	54.5	195	264
	Day 176	/	/	25.3	25.1	79.9	86.2	184	302
	Day 267	/	/	21.8	26.0	76.9	105	254	554
AUC_{τ} (ng·h/mL)	Day 1	/	/	205	183	538	485	1020	1110
	Day 22	/	/	170	209	770	660	1810	2280
	Day 85	/	/	202	164	692	686	2090	3280

7G 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA009-N0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)		0 (Control)		3		10		30	
Toxicokinetics (continued)									
AUC_τ (ng·h/mL)	Day 176	/	/	281	254	829	901	2580	4240
	Day 267	/	/	213	267	898	1370	3420	6380
Noteworthy findings									
Treatment period									
Number of animals		M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (%[b]) (Week 39)		9.6 kg	7.0 kg	-6.3	0	-5.2	+1.4	-14.6	-7.1
						Incidentally decreased up to -8%		Incidentally decreased up to -13% (one female -18% during treatment period)	
Food consumption (%[b]) (Day 273)		271.6 g	151.2 g	-8.2	+34.7	+0.1	-10.3	-13.0	+27.0
						Incidental moderately decreased in single dogs up to -91% (isolated cases of repeated refusal of diet in 1 dog)		Incidental moderately decreased in single dogs up to -87% (isolated cases of repeated refusal of diet in 5 dogs)	
Clinical observations									
Lacrimation increased		0	0	0	0	0	1	1	3
Gastrointestinal symptoms									
Diarrhea / soft stool with/without admixtures		1 Incidental	1 Incidental	5 Incidental	2 Incidental	5 Repeated	3 Repeated	5 Marked	5 Marked
1st time point symptom observed		Week 1	Week 10	Week 6	Week 4	Week 2	Week 2	Week 1	Week 1
Vomiting		0	1 Incidental	3 Incidental	2 Incidental	5 Repeated	3 Repeated	5 Repeated	5 Repeated

7G 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA009-N0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Vomiting (continued)								
1st time point symptom observed	N.A.	Week 4	Week 2	Week 13	Week 11	Week 6	Week 1	Week 1
Ophthalmoscopy (Weeks 12, 24, 37)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Weeks 5, 7, 11, 18, 26/27, 38)	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum chemistry[c] (weeks 1, 2, 3, 5, 7, 11, 18, 26/27, 38):								
ALT (U/L)								
Week 3	37	33	55	42	53	38	91*	229
Week 26	41	33	45	39	56	38	215	386*
Week 38	38	38	50	42	54	40	547*	410**
AST (U/L)								
Week 26	35	30	46	39	42	34	58	74**
Week 38	35	31	47	42	43	36	170	60*
AP (U/L)								
Week 26	102	106	111	137	111	105	130	590
Week 38	83	76	112	129	103	90	594	2563
A/G Ratio								
Week 26	1.43	1.52	1.37	1.35	1.32	1.46	1.01**	1.10**
Week 38	1.46	1.64	1.30	1.41	1.29	1.48	0.91**	1.02**
GLDH (U/L)								
Week 3	5.0	6.5	6.2	6.7	7.1	7.1	19.3	76.8
Week 26	5.3	5.7	6.1	5.4	6.2	6.1	22.9	64.4*
Week 38	4.2	5.2	5.6	5.0	5.7	4.9	183.1	48.5*

7G 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA009-N0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Serum chemistry[c] (continued)								
GGT (U/L)								
Week 26	0	1	1	2	0	1	1	6
Week 38	0	0	1	1	0	1	7	11*
SDH (U/L)								
Week 3	5.9	8.1	8.4	9.4	7.4	10.2	10.9*	21.1
Week 26	8.6	9.9	14.1	12.9	11.0	11.8	16.1	32.0**
Week 38	6.2	10.5	11.0	12.9	9.6	10.6	93.3	12.2
ALB (g/L)								
Week 3	31.1	32.4	29.0	29.4*	28.5*	30.7	26.0**	27.8**
Week 26	32.5	32.7	29.0	30.2	29.9	32.1	26.3**	27.5*
Week 38	32.1	32.0	28.4	29.5	29.4	31.9	24.4**	25.5*
TBIL (µmol/L)								
Week 38	0.8	1.2	0.8	1.4	1.2	1.5	0.8	2.2
DBIL (µmol/L)								
Week 38	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	1.3
BA (µmol/L)								
Week 26	17.0	20.5	20.7	22.6	19.9	19.0	23.0	41.1*
Week 38	23.0	18.5	17.4	20.5	21.5	22.9	20.5	43.9
Urinalysis (Weeks 5, 7, 11, 18, 26/27, 38)	-	-	-	-	-	-	-	-

7G 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA009-N0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Terminal sacrifice (Week 40)								
Number of animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Organ weights [b] %								
Liver								
Relative weight	3.15%	2.91%	-0.6	+6.5	-10.2	+2.1	+4.8	+20.3
Gross pathology								
Adrenal								
Discoloration grey	0	0	0	0	0	0	0	2
Liver bile ducts								
Discoloration white	0	0	0	0	0	0	2	3
Histopathology								
Adrenal								
Vacuolation cortex decreased	0	0	0	0	0	0	1	3
Liver								
Proliferation cholangiols	0	0	0	0	0	0	2	3
Necrosis, small	0	0	0	0	0	0	2	3
Pigmentation, hemosiderin	0	0	0	0	0	0	1	2
Pigmentation, bile	0	0	0	0	0	0	0	1
Activation, kupffer cells	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver bile ducts								
Hyperplasia, papillary	0	0	0	0	0	0	2	3
Infiltrates, lymphoplasmacellular	0	0	0	0	0	1	2	2
Fibrosis, periductular	0	0	0	0	0	0	2	3

7G 反復投与毒性試験： 重要な試験（[redacted] DA009-N0）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		30	
Additional examinations:								
Ki-67, PHH3 immunohistochemistry on bile ducts	-	-	-	-	-	Hyperplasia of the bile duct mucosa showed a minimal to moderate mitotic/proliferative cell activity		
Coagulation (Weeks 5, 7, 11, 18, 26/27, 38)	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver and pancreas biomarkers (Weeks 1, 2, 3, 5, 7, 11, 18, 26/27, 38)	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography and blood pressure (Weeks -3, 3, 17, 36)	-	-	-	-	-	-	-	-
Postdose evaluation								
Number of animals	M:2	F:2	M:2	F:2	M:2	F:2	M:2	F:2
Organ weights (Week 53)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology (Week 53)								
Liver bile ducts								
Discoloration white	0	0	0	0	0	0	1	0
Histopathology								
Liver bile ducts								
Fibrosis, periductular	0	0	0	0	0	0	1	1
Additional examinations:								
Ki-67, PHH3 immunohistochemistry on bile ducts (Week 53)	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation (Week 52)	-	-	-	-	-	-	-	-
Liver and pancreas biomarkers (Week 52)	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography and blood pressure (Week 52)	-	-	-	-	-	-	-	-

/: All plasma concentrations were below the lower limit of quantification (LLOQ) i.e. below 0.207 ng/mL.
a: Statistical analysis of heart rate, ECG parameters, blood pressure were not conducted under GLP, but in accordance with good scientific practices and internal quality standards
b: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
c: Clinical chemistry at 30 mg/kg: increase of ALT, AST, AP, GLDH, GGT, SDH values up to 183-fold; increased bile acid, total bilirubin, direct bilirubin and indirect bilirubin values up to 14-fold; decreased albumin concentration and A/G ratio up to 1.8-fold; in individual animals only.
: No noteworthy findings; *: 5% significance level (Dunnett's test); **: 1% significance level (Dunnett's test).
ALT: Alanine aminotransferase, AP: Alkaline phosphatase; AST: Aspartate aminotransferase BA: Bile acids; C_{max}: Maximum concentration; DBIL: Direct bilirubin; TBIL: Total bilirubin; A/G ratio: Albumin/Globulin ratio; GGT: Gamma-glutamyl transpeptidase; AUC_{τ}: Area under the plasma concentration time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; ECG: Electrocardiography; F: female; GLDH: Glutamate dehydrogenase; M: male; N.A.: not applicable; PHH3: phosphohistone H3; SDH: Sorbitol dehydrogenase; TK: Toxicokinetics.

8. In Vitro 遺伝毒性試験

8A In Vitro 遺伝毒性試験（T17192）

Report Title: EMD 1214063 - Bacterial mutagenicity assay, Salmonella typhimurium and Escherichia coli

Test Article: tepotinib

Test for induction of: Reverse mutation in bacterial cells		No. of independent assays: 2		Study No. T17192
Strains: TA 98, TA 100, TA 102, TA 1535, TA 1537, WP2uvrA		No. of replicate cultures: 3		Location CTD Section: 4.2.3.3.1.1
Metabolizing system: Aroclor-induced rat liver S9		No. of cells analyzed/culture: N.A.		
Vehicles:	For test article: DMSO	For positive controls:	Distilled water: DAUN, NaN3 Ethanole: 9-AA, DMSO: CUM, 2-AA, B(a)P, NQO	GLP compliance: Yes
Treatment:	Plate incubation for 2 to 3 days (depending on the strain of the bacteria)			Date of treatment: [redacted], [redacted]
Cytotoxic effects:	For test article: ≥158 µg/plate	For positive controls:	None	
Genotoxic effects:	For test article:	not mutagenic (no increase in the number of revertants of any bacterial strain)		
	For positive controls:	clearly mutagenic (clear increases in the number of revertants of all bacterial strains)		

8A In Vitro 遺伝毒性試験（T17192）（つづき）

Test Article: tepotinib

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Assay #1 Revertant colony counts (mean ± SD)					
			TA 98	**TA 100**	**TA102**	**TA 1535**	**TA 1537**	**WP2uvrA**
Without activation	DMSO		17 ± 4	141 ±19	321 ± 32	19 ± 5	8 ± 2	36± 7
	Tepotinib	5.00	14 ± 5	123 ±10	326 ± 31	22 ± 7	10 ± 4	34 ± 12
		15.8	14 ± 3	123 ± 14	327 ± 16	24 ± 11	8 ± 1	34 ± 4
		50.0	15 ± 2	119 ± 4	334 ± 30	26 ± 5	7 ± 3	33 ± 6
		158	15 ± 5[T]	90 ± 12[T]	303 ± 33	16 ± 7[T]	5 ± 2[T]	35 ± 8
		500	TB	TB	TB	TB	TB	45 ± 4 [B]
		1580	TB	TB	TB	TB	TB	23 ± 7 [B]
		5000	TB	TB	TB	TB	TB	TB
	DAUN	1.00	376 ± 110					
	NaN3	2.00		823 ± 32		603 ± 47		
	CUM	200			1299 ± 108			
	9-AA	50.0					855 ± 401	
	NQO	2.00						1071 ± 15

8A In Vitro 遺伝毒性試験（T17192）（つづき）

Test Article: tepotinib

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Assay #1 Revertant colony counts (mean ± SD)					
			TA 98	TA 100	TA102	TA 1535	TA 1537	WP2uvrA
With activation	DMSO		30 ± 6	137 ± 13	394 ± 27	24 ± 5	11 ± 3	42 ± 6
	Tepotinib	5.00	20 ± 5	137 ± 2	428 ± 11	30 ± 8	9 ± 4	46 ± 11
		15.8	19 ± 2	144 ± 9	418 ± 29	28 ± 15	12 ± 1	39 ± 5
		50.0	23 ± 6	152 ± 5	415 ± 3	21 ± 1	7 ± 5	39 ± 6
		158	18 ± 4	128 ± 12	415 ± 39	21 ± 5	10 ± 7	49 ± 6
		500	TB	TB	TB	TB	TB	42 ± 5 [B]
		1580	TB	TB	TB	TB	TB	TB
		5000	TB	TB	TB	TB	TB	TB
	2-AA	2.00	258 ± 40	396 ± 33		196 ± 19		
		5.00					127 ± 15	
		10.0						393 ± 150
	B(a)P	10.0			2400 ± 119			

8A In Vitro 遺伝毒性試験（T17192）（つづき）

Test Article: tepotinib

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Assay #2 Revertant colony counts (mean ± SD)					
			TA 98	**TA 100**	**TA102**	**TA 1535**	**TA 1537**	**WP2uvrA**
Without activation	DMSO		12 ± 1	164 ±12	313 ± 23	15 ± 3	8 ± 4	31± 6
	Tepotinib	1.58	13 ± 4	165 ±8	305 ± 34	17 ± 4	10 ± 4	30 ± 2
		5.00	15 ± 1	159 ± 4	344 ± 40	19 ± 5	13 ± 10	39 ± 5
		15.8	14 ± 5	156 ± 8	340 ± 45	21 ± 3	11 ± 2	27 ± 5
		50.0	16 ± 4	145 ± 5	331 ± 14	21 ± 2	7 ± 3	33 ± 3
		158	9 ± 3[T]	101 ± 7[T]	223 ± 32	18 ± 4[T]	8 ± 4[T]	33 ± 2
		500	[TB]	[TB]	[TB]	[TB]	[TB]	37 ± 5[B]
	DAUN	1.00	842 ± 133					
	NaN3	2.00		936 ± 51		720 ± 28		
	CUM	200			1339 ± 8			
	9-AA	50.0					414 ± 120	
	NQO	2.00						1317 ± 133

8A In Vitro 遺伝毒性試験（T17192）（つづき）

Test Article: tepotinib

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Assay #2 Revertant colony counts (mean ± SD)					
			TA 98	**TA 100**	**TA102**	**TA 1535**	**TA 1537**	**WP2uvrA**
With activation	DMSO		28 ± 5	145 ± 15	368 ± 65	24 ± 4	12 ± 5	37 ± 6
	Tepotinib	1.58	29 ± 3	144 ± 16	337 ± 18	20 ± 3	18 ± 7	41 ± 9
		5.00	33 ± 4	142 ± 12	351 ± 24	23 ± 3	12 ± 4	45 ± 16
		15.8	23 ± 6	159 ± 19	410 ± 64	20 ± 5	15 ± 4	33 ± 2
		50.0	31 ± 7	120 ± 28	420 ± 35	20 ± 3	15 ± 8	42 ± 10
		158	31 ± 4	103 ± 5[T]	296 ± 12	13 ± 8	11 ± 6	44 ± 3
		500	**TB**	TB	TB	TB	TB	46 ± 7[B]
	2-AA	2.00	119 ± 24			109 ± 9		
		5.00		381 ± 29				
		10.0					121 ± 26[C]	248 ± 46
	B(a)P	10.0			1253 ± 162			

T: Toxicity = red bacterial background lawn
B: Precipitation at beginning of experiment
C: Contaminated
DMSO: Dimethyl sulphoxide; NaN3 Sodium Azide; 2-AA: 2-Aminoanthracene; CUM: Cumene hydroperoxide; B(a)P: Benzo[a]pyrene; 9-AA: 9-Aminoacridine; DAUN: Daunomycin; N.A.: Not applicable, NQO: 4-Nitroquinoline-N-oxide; SD: Standard Deviation.

8B In Vitro 遺伝毒性試験（T17188）

Test Article: tepotinib

Test for induction of: Mutation in mammmalian cells (tk locus) No. of independent assays: 2 (-S9, +S9) Study No. T17188

Strains: L5178Y / TK $^{+/-}$ Mouse lymphoma cells No. of replicate cultures: 2 Location CTD Section: 4.2.3.3.1.2

Metabolizing system: Aroclor-induced rat liver S9 No. of cells analyzed/culture: -

Vehicles: For test article: DMSO For positive controls: DMSO GLP compliance: Yes

Treatment: 3h and 24h (without S9 mix), 3h (with S9 mix) Date of treatment: [redacted]

Cytotoxic effects: For test article: ≥ 1.58 µg/mL in the absence of S9 mix, ≥ 5 µg/mL in presence of S9 mix

Genotoxic effects: For test article: not mutagenic (no increase in mutant frequency)

For positive controls: clearly mutagenic (clear increases in mutant frequencies)

Test article concentration or dose level (µg/mL) 0.158, 0.5, 1.58, 5, 15.8, 50 µg/mL without and with metabolic activation

Metabolic activation	**1st Experimental series (Exposure time: 24 h) EZ 2173**				**2nd Experimental series (Exposure time: 3 h) EZ 2189**			
	Test article [µg/mL]	**RS [%]**	**RTG [%]**	**MF**	**Test article [µg/mL]**	**RS [%]**	**RTG [%]**	**MF**
Without activation	Solvent	100	100	167	Solvent	100	100	169
	Tepotinib				Tepotinib			
	0.158	95.0	92.2	153	0.158	108	77.4	225
	0.500	61.1	73.4	155	0.500	97.7	94.4	180
	1.58	69.8	35.8	200	1.58	94.2	102	142
	5.00	-[t]	-[t]	-[t]	5.00	31.0	6.86	147
	15.8	-[t]	-[t]	-[t]	15.8	-[t]	-[t]	-[t]
	50.0	-[t]	-[t]	-[t]				
	NQO				NQO			
	0.10	91.2	57.5	844	0.10	68.9	87.4	510
	0.20	64.5	23.5	1670	0.20	57.7	56.5	700

8B In Vitro 遺伝毒性試験（T17188）（つづき）

Test Article: tepotinib

Metabolic activation	1st Experimental series (Exposure time: 3 h; S9 concentration: 3%) EZ 2174				2nd Experimental series (Exposure time: 3h; S9 concentration: 1%) EZ 2202			
	Test article [µg/mL]	RS [%]	RTG [%]	MF	Test article [µg/mL]	RS [%]	RTG [%]	MF
With activation	Solvent	100	100	192	Solvent	100	100	154
	Tepotinib				Tepotinib			
	0.158	112	99.8	199	0.158	121	62.8	237
	0.500	119	104	204	0.500	123	59.0	247
	1.58	106	74.7	248	1.58	105	50.5	317
	5.00	98.6	68.6	207	5.00	39.6	9.27	235
	15.8	21.8	23.8	163	15.8	-t	-t	-t
	50.0	-t	-t	-t				
	DMBA				DMBA			
	1.00	51.3	65.6	939	0.50	112	75.6	427
	2.00	4.50	7.17	3260	1.00	106	45.7	1400

-t : Lost due to cytotoxicity of test material or not plated for selection of mutants.
DMSO: Dimethyl sulphoxide; DMBA: 7, 12-Dimethylbenz[a]anthracene; EZ: Internal experiment number; MF: 5-TFT mutant frequency per 106 viable cells; NQO: 4-Nitroquinolone N-oxide; RS: Relative survival (Cloning Efficiency of cells after treatment); RTG: Relative total growth.

9. In Vivo 遺伝毒性試験

Report Title: EMD 1214063 – Micronucleus test in rats after oral administration

Test Article: tepotinib

Test for induction of: Bone marrow micronuclei

Treatment schedule: single dose

Study No. T17266

Species/strains: Male Rats, HsdCpd:WU

Sampling time: 24 and 48 hours after dosing

Location CTD Section: 4.2.3.3.2.1

Age: 6 – 10 weeks

Method of administration: oral (by gavage)

Cells evaluated: poly- and normo-chromatic erythrocytes

Vehicle/formulation: 0.25 % aqueous methocel solution

GLP compliance: Yes

No. of cells analyzed/animal: 2000

Date of dosing: [redacted]

Special features: None

Toxic/cytotoxic effects: No relevant treatment-related variation of the ratio normochromatic to polychromatic erythrocytes was observed indicating the absence of bone marrow toxicity.

Genotoxic effects: Test article: not mutagenic (no biologically relevant increase in number of polychromatic erythrocytes with micronuclei)
Positive control: clearly mutagenic (statistically significant **increase in number of polychromatic erythrocytes with micronuclei)

Evidence of exposure: Clinical signs of toxicity and weak decrease in body weight

Test article	**Dose (mg/kg)**	**No. of animals (males)**	**Preparation Time [h] (b)**	**MN-PCE [‰] (1st experiment)**	**MN-PCE [‰] (2nd experiment)**
Vehicle	0	5	24	2.10	2.90
EMD 1214063	667	5	24	NT	3.50
	1333	5	24	NT	1.80
	2000	5	24	5.00* (c)	2.70
	2000	5	48	2.40	NT
Cyclophosphamide(a)	16.5	5	24	43.40**	57.70**

(a): No animals were treated in the current experiment with the positive control. However, positive control slides from a previous study were coded together with the slides of the current study in order to check accurate slide reading and sensitivity of the test system towards genotoxic agents.
(b): Sampling time (hours after treatment).
(c): Method of statistical analysis: Mann-Whitney test: *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$.
NT: not tested; MN-PCE: Number of micronuclei-containing polychromatic erythrocytes.

10. 癌原性試験

本申請の適応症は進行癌患者の治療を目的としているので、抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン（ICH S9）に基づき、テポチニブの癌原性試験は実施していない。

11. 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験

11A 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験（RF0470）

Report Title: EMD 1214063: Dose range finding study in non-pregnant rabbits by oral route Test Article: tepotinib

Species/strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Dosing period	Doses mg/kg	No. per group	Noteworthy findings	Study No.
New Zealand White female rabbits (SPF)	Oral by gavage (aqueous suspension in Methocel® K4M Premium, hydroxypropyl-methylcellulose)	13 days	150, 300, 600. Once daily	3	Dose range finding study in non-pregnant rabbits: Mortality at 600 mg/kg - 1 animal was humanely sacrificed on Day 8, and 1 animal was found dead on Day 10, these 2 animals had shown severe body weight and food consumption reduction. Dark areas in the gastric mucosa were seen in both rabbits, while kidney and spleen paleness occurred in the animal which died on Day 10; The observed maximum tolerated dose was 300 mg/kg.	RF0470

SPF. Specific pathogen free.

11B 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験（RF0480）

Report Title: MSC2156119J: Preliminary embryo-fetal development study by oral route in rabbits Test Article: tepotinib

Design similar to ICH 4.1.3? Yes
Duration of dosing: from Day 6 to Day 18 of pregnancy
Study no. RF0480
Species/strain: Rabbit/New Zealand White (KBL)
Day of mating: Day 0
Initial age: 14-18 weeks
Day of C-section: Day 29 of pregnancy
Location CTD Section 4.2.3.5.2.2
Date of first dose: [redacted]
Method of administration: oral (once daily dosing)
Special features: Histopathology, Toxicokinetics evaluation
Vehicle/formulation: 0.25% aqueous Hydroxypropyl methylcellulose (Methocel ® K4M Premium solution)
GLP compliance: Yes
No observed adverse effect level:
F_0 females: Not established
F_1 litters: Not established

Daily dose (mg/kg/day)		0 (Control)	50	150	450
Number of females per group (main/satellite)		8/3	8/3	8/3	8/3
Toxicokinetics					
Day 6 of pregnancy					
F_0 females	Number of females	3	3	3	3
	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	0	720 ± 393	1593 ± 343	16705 ± 615
	C_{max} (ng/mL)	0	68.23 ± 42.91	139.67 ± 43.35	807.44 ± 56.24
Day 18 of pregnancy					
F_0 females	Number of females	3	3	3	0
	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	0	3898 ± 1373	11097 ± 5630	N.A.
	C_{max} (ng/mL)	0	305.01 ± 119.16	604.65 ± 179.56	N.A.

11B 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験（RF0480）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	450
Reproduction parameters				
Number of females	8	8	8	8
No. pregnant	7	6	7	4
No. died or sacrificed moribund	0	0	1	4
No. aborted or with total resorptions of litter	0	0	2	0
Clinical observations (thinness)	2	2	2	b
Necropsy observations	-	-	-	b
Body weight (%[a])	3.67 kg	+3.54	-3.54	b
Food consumption (%[a])	148.57 g	+14.93	-44.19	b
Mean No. corpora lutea	10.43	11.00	12.83	b
Mean No. implantations	8.43	8.67	11.00	b
Mean % pre-implantation loss	19.15	21.04	13.89	b
Histopathology				
Number of pregnant females examined	7	6	6	1
Kidney, mineralization	4	3	3	1
Kidney, tubular basophilia	0	2	2	0
Kidney, tubular dilatation	0	3	5	1
Kidney, tubules(s), proteinuria	0	0	1	1
Number of non-pregnant females examined	1	2	1	0
Kidney, mineralization	1	2	1	N.A.
Kidney, tubular basophilia	0	1	1	N.A.
Kidney, tubular dilatation	1	1	1	N.A.

11B 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験（RF0480）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	450
F_1 litters				
No. litters evaluated	7	6	4	b
No. live fetuses	57	47	42	b
Mean No. resorptions	0.14	0.83*	0	b
No. of litters with dead fetuses	1	0	0	b
Mean % post-implantation loss	2.60	10.53	33.33	b
Mean fetal body weight (g)	41.58	43.02	38.41	b
Fetal sex ratios (% of males)	42.11	48.94	54.76	b
Fetal observations:				b
Gross external malformations/fetuses	0/57	0/47	0/42	b
Gross visceral malformations/fetuses	0/57	0/47	0/42	b
Visceral malformations of fixed heads/fetuses	0/18	0/14	0/14	b
Skeletal malformations/fetuses [c]	1[d]/57	7[e]/47*	42[f]/42***	b
Total affected fetuses (litters)	1 (1)	7 (1)	42 (4)	b

- No noteworthy findings.

* - $p < 0.05$; p*** < 0.001.

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

b: 4/8 animals of the 450 mg/kg/day group were found dead and the remaining animals of the group were withdrawn from the study for humane reason. For this reason, some parameters could not be registered for the 450 mg/kg/day treated group and therefore are not reported in the table.

c: Including fetuses whose heads were subjected to fixed visceral examination.

d: Hemivertebra, second lumbar centrum, right.

e: Fore paw, malrotation bilateral.

f: Malrotation of fore and/or hind paws with concomitant misshapen scapula and/or malpositioned clavicle and/or calcaneous and/or talus.

AUC_{0-24}: Area under the plasma concentration vs. time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; C_{max}: Maximum concentration; N.A.: Not applicable.

11C 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験（RF5400）

Report Title: MSC2156119J: Preliminary embryo-fetal development study by oral route in rabbits Test Article: tepotinib

Design similar to ICH 4.1.3? Yes
Duration of dosing: from Day 6 to Day 18 of pregnancy
Study no. RF5400
Species/strain: Rabbit/New Zealand White (SPF)
Day of mating: Day 0
Initial age: 14-18 weeks
Day of C-section: Day 29 of pregnancy
Location in CTD: Vol. Section 4.2.3.5.2.3
Date of first dose: [redacted]
Method of administration: oral by gavage (once daily dosing)
Special features: Histopathology, Toxicokinetics
Vehicle/formulation: 0.25% aqueous Hydroxypropyl methylcellulose (Methocel ® K4M Premium solution)
GLP compliance: Yes

No observed adverse effect level:

F_0 females: 25 mg/kg/day

F_1 litters < 5 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg/day)		0.5	5	25
Toxicokinetics				
Day 6 of pregnancy				
F_0 females	Number of females	3	1	3
	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	6.1 ± 1.8	49.0	319.8 ± 4.7
	C_{max} (ng/mL)	0.50 ± 0.16	3.90	32.28 ± 5.08
Day 18 of pregnancy				
F_0 females	Number of females	3	1	3
	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	3.1 ± 2.9	56.7	365.5 ± 143.0
	C_{max} (ng/mL)	0.27 ± 0.25	4.64	34.15 ± 13.72

11C 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験（RF5400）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	0.5	5	25
Reproduction parameters				
Number of females	8	8	8	8
No. pregnant	8	8	8	8
No. died or sacrificed moribund	1[b]	0	0	0
No. aborted or with total resorptions of litter	2[b]	0	1	0
Clinical observations (thinness)	1	2	3	5
Necropsy observations	-	-	-	-
Body weight (%[a])	4.13	-5.08	-4.36	-7.51
Mean body weight gain Day 6-18 of pregnancy (treatment period)	162.86 ± 162.143	85.00 ± 203.119	106.25 ± 87.331	-38.75 ± 148.462
Food consumption (%[a])	149.29	-23.85	-36.49	-34.65
Mean No. corpora lutea	10.86 ± 1.574	11.25 ± 1.832	11.88 ± 3.227	11.88 ± 1.959
Mean No. implantations	10.14 ± 1.676	9.38 ± 1.923	8.75 ± 4.200	9.50 ± 2.268
Mean % pre-implantation loss	6.35 ± 10.108	16.42 ± 12.117	26.64 ± 26.960	20.30 ± 13.688
Histopathology	-	-	-	-
F_1 litters				
No. litters evaluated	6	8	7	8
No. live fetuses	58	70	62	70
Mean No. resorptions	0.29 ± 0.488	0.50 ± 0.535	0.25 ± 0.463	0.38 ± 0.518
No. of litters with dead fetuses	1	1	2	2
Mean % post-implantation loss	19.98 ± 37.047	6.01 ± 6.655	15.21 ± 34.635	7.05 ± 6.367
Mean fetal body weight (g)	38.10 ± 3.083	40.68 ± 5.557	41.79 ± 7.996	39.10 ± 5.712

11C 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験（RF5400）（つづき）

Test Article: tepotinib

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	0.5	5	25
F_1 litters (continued)				
Fetal sex ratios (% of males)	50	52.86	48.39	54.29
Fetal observations:				
Gross external malformations /fetuses	0/58	1/70	1/62	0/70
Gross visceral malformations/fetuses	0/58	0/70	0/62	0/70
Visceral malformations of fixed heads/fetuses	0/19	0/23	0/21	0/22
Skeletal malformations/fetuses [b]	0/58	0/70	1/62	1/70
Total malformed fetuses (litters)	0 (0)	1 (1)	2 (2)	1 (1)
Hind limb hyperextension, right (anomaly)/fetuses	0/58	0/70	5/62*	3/70

- No noteworthy findings.

* - $p < 0.05$

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

b: Including fetuses whose heads were subjected to fixed visceral examination.

AUC_{0-24}: Area under the concentration vs. time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; C_{max}: Maximum concentration.

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

本申請の適応症は進行癌患者の治療を目的としているので、抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン（ICH S9）に基づき、テポチニブの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施していない。テポチニブの受胎能に及ぼす影響は、反復投与毒性試験の生殖器官の病理組織学的検査結果から評価した。

13. 生殖発生毒性試験： 胚・胎児発生に関する試験

テポチニブのウサギを用いた胚・胎児発生に関する予備試験で催奇形性が確認された（11B 項及び 11C 項参照）。本申請の適応症は進行癌患者の治療を目的としているので、抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン（ICH S9）に基づき、テポチニブの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する更なる試験は実施していない。

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

本申請の適応症は進行癌患者の治療を目的としているので、抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン（ICH S9）に基づき、テポチニブの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない。

15. 新生児を用いた試験

本申請の適応症は小児患者への治療を目的としていないので、テポチニブの新生児を用いた試験は実施していない。

16. 局所刺激性試験

テポチニブは錠剤として経口投与されることから、局所刺激性試験は実施していない。テポチニブの消化管への影響は、ラット及びイヌの反復投与毒性試験で評価した（7 項）。

17. その他の毒性試験

17A その他の毒性試験： 代謝物

Metabolite	Test system	Test for induction of	Concentrations	Noteworthy findings	Study No.
MSC2571109A	S. typhimurium and E. coli	Reverse mutation in bacterial cells	2.81 to 1580 µg/plate	Not mutagenic: no relevant increase in the number of revertant colonies of any bacterial strain including concentrations at which precipitate in the plates was observed.	[redacted]-DA172-N0
MSC2571109A	L5178Y / *TK* +/- Mouse lymphoma cells	Mutation in mammalian cells (*tk* locus)	0.889 to 88.9 µg/mL	Not mutagenic: no relevant increase in mutation frequency including concentrations at the limit of solubility.	[redacted]-DA192-N0

17B その他の毒性試験： 不純物

Impurity	Test system	Test for induction of	Doses (mg/kg)[a]	Noteworthy findings	Study No.
不純物1*	*Salmonella . typhimurium* and *Escherichia coli*	Reverse mutation in bacterial cells	0.3 to 5000 µg/plate	Not mutagenic: no relevant increase in the number of revertant colonies of any bacterial strain when tested up to concentrations at which precipitate in the plates or cytotoxicity was observed	1892303
不純物1*	Human lymphocytes	Chromosomal aberration in mammalian cells	0.5 to 20 µg/mL	Not genotoxic: no relevant increases in structural chromosome aberrations when tested up to toxic or precipitating concentrations.	8384519
不純物2*	*Salmonella . typhimurium* and *Escherichia coli*	Reverse mutation in bacterial cells	3 to 5000 µg/plate	Not mutagenic: no relevant increase in the number of revertant colonies of any bacterial strain when tested up to concentrations at which precipitate in the plates or minor cytotoxicity was observed	1892302
不純物2*	Human lymphocytes	Chromosomal aberration in mammalian cells	0.244 to 250 µg/mL	Not genotoxic: no relevant increase in structural chromosome aberrations when tested up to precipitating and/or toxic concentrations.	[redacted]-DA0069-0
不純物3*	*Salmonella . typhimurium* and *Escherichia coli*	Reverse mutation in bacterial cells	3 to 5000 µg/plate	Not mutagenic: no relevant increase in the number of revertant colonies of any bacterial strain when tested up to concentrations at which precipitate in the plates and/or cytotoxicity was observed.	1892301
不純物3*	Human lymphocytes	In vitro	0.975 to 15.6 µg/mL	Not genotoxic: no relevant increase in structural chromosome aberrations when tested up to precipitating and/or toxic concentrations.	[redacted]-DA0064-0
不純物4*	*Salmonella . typhimurium* and *Escherichia coli*	Reverse mutation in bacterial cells	3 to 5000 µg/plate	Not mutagenic: no relevant increase in the number of revertant colonies of any bacterial strain when tested up to concentrations at which precipitate in the plates and/or cytotoxicity was observed.	1892304
不純物4*	Human lymphocytes	Chromosomal aberration in mammalian cells	0.25 to 30 µg/mL	Not genotoxic: no relevant increase in structural chromosome aberrations when tested up to precipitating and/or toxic concentrations.	8384520

17B その他の毒性試験： 不純物（つづき）

Impurity	Test system	Test for induction of	Doses (mg/kg)[a]	Noteworthy findings	Study No.
不純物10*	*Salmonella . typhimurium* and *Escherichia coli*	Reverse mutation in bacterial cells	1.58 to 1580 µg/plate	Not mutagenic: no relevant increase in the number of revertant colonies of any bacterial strain when tested up to concentrations at which precipitate in the plates was observed.	T17453
不純物10*	V79 Chinese Hamster cells	Micronuclei in mammalian cells	1.58 to 50 µg/mL	Not genotoxic: no increase in micronuclei frequency when tested up to concentrations at which precipitate in the culture medium was observed.	T17452
不純物10*	Sprague Dawley Rats	DNA damage (Comet assay)	0, 125, 250, 500, and 1000 mg/kg administered orally once on 2 consecutive days (20±0.5 hours apart)	Not genotoxic: no evidence of DNA damage in any evaluated organ i.e liver, duodenum and glandular stomach	HX303

a: Dose levels or range of concentrations used in the main experiments.
b: Identified in the original study report as EMD1276610.

17C その他の毒性試験： 光毒性

Test item	Test system	Type of Study	Doses (mg/kg)[a]	Noteworthy findings	Study No.
MSC2156119J	UV-VIS spectrum from 190 to 800 nm with a spectral resolution of 2nm	Measurement of UV-absorption and determination of extinction coefficient	2.01 mg tepotinib per 100 mL acetonitrile water 1:1 mixture, further diluted 1.2 (v:v) yielding a concentration of 0.01005 mg/mL	Two absorption bands at 215.5 nm with ε = 50400 L mol-1cm-1 and 265.0 nm with ε = 44100 L mol-1 cm-1 The extinction coefficients were higher than the threshold of 10 L mol-1 cm-1 in the spectral range of 290 – 700 nm, therefore tepotinib was considered to have photoactive potential.	AN170002
MSC2156119J	Balb/c 3T3 fibroblasts	In vitro 3T3 Neutral Red Uptake (NRU) phototoxicity test	0.0316, to 100 µg/mL in absence or presence of UV-A	PIF: 16.31. MSC2156119J is considered phototoxic in vitro (PIF >5).	70/484
MSC2156119J	Crl:LE (Long-Evans) pigmented rat [a]	In vivo phototoxicity study (administration was followed by exposure to radiation from a xenon lamp radiation from a xenon lamp (Ultra Violet Radiation) [a]	0, 500, 1000, 1500[b] mg/kg (single oral dose)	No ocular or skin reactions and no microscopic changes in the eyes indicative of phototoxicity. Toxicokinetics assessment on satellite animals showed that all rats were exposed to tepotinib until 24 hours post dosing: 500 mg/kg: C_{max} = 746 ng/mL and AUC_{0-24} = 12900 ng·h/mL 1000 mg/kg: C_{max} = 968 ng/mL and AUC_{0-24} = 17300 ng·h/mL 1500 mg/kg: C_{max} = 1070 ng/mL and AUC_{0-24} = 18200 ng·h/mL.	20017987

a: Only females were used, because in various repeat dose studies female rats resulted more exposed to the test article than males.

b: One additional group of rats receiving the high dose (i.e 1500 mg/kg) was not exposed to UVR (Sham exposure) following administration.

PIF: Photo-irritation Factor (PIF) determined as IC50 in the absence of UV-A divided by IC_{50} in the presence of UV-A.

AUC_{0-24}: Area under the concentration vs time curve within the dosing interval from 0 to 24 hours; C_{max}: Maximum concentration.

17D その他の毒性試験： 投与液の分析法、均一性及び安定性

Test Article: tepotinib

Study Type	Method	Vehicle	Concentrations	Noteworthy findings	Study No.
Analytical method (description)	[redacted]	0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose	N.A.	Experimental conditions have been set including limit of detection and limit of quantification	TOX1-1/[redacted]
Analytical method (implementation)	[redacted]	0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose	Working range: 0.025 – 0.25 mg/mL	The analytical method was implemented and all pre-specified acceptance criteria for linearity, repeatability, accuracy and selectivity were met.	TOX1-1/[redacted]
Homogeneity and stability in 0.25% HPMC	[redacted]	0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose	0.3, 5.0 and 20.0 mg/mL	The formulations were found to be homogeneous and stable after storage at room temperature for 14 days and at -18±5 °C for 6 weeks.	TOX1-1/[redacted] HS
Validation of analytical method	[redacted]	0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose (Methocel® K4M Premium solution)	50 mg/mL	The analytical method was successfully validated by testing specificity, linearity, accuracy and precision.	RF0570
Homogeneity and stability in 0.25% HPMC	[redacted]	0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose (Methocel® K4M Premium solution)	0.3 and 120 mg/mL	The dose formulations were homogeneous and stable for 14 days at room temperature and for 6 weeks at -20°C.	RF2410
Homogeneity and stability in 0.25% HPMC	[redacted]	0.25% aqueous hydroxypropyl methylcellulose [a] (Methocel® K4M Premium solution)	200 mg/mL	The dose formulations were homogeneous and stable for at least 8 days at room temperature and 3 weeks at -20°C.	[redacted]-DA0159-0

[redacted] HPMC: hydroxypropyl methylcellulose; N.A.: Not applicable.