2.6.6 毒性試験の概要文

小野薬品工業株式会社

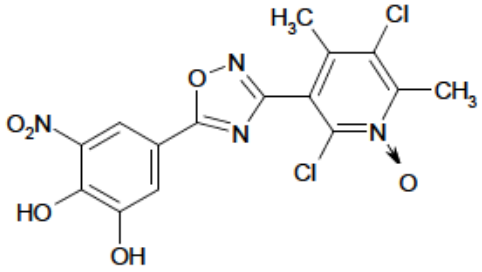
目次

2.6.6 毒性試験の概要文 9
2.6.6.1 まとめ 9
2.6.6.2 単回投与毒性試験 16
2.6.6.3 反復投与毒性試験 18
2.6.6.4 遺伝毒性試験 26
2.6.6.5 がん原性試験 28
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 33
2.6.6.7 局所刺激性試験 38
2.6.6.8 その他の毒性試験 38
2.6.6.9 考察及び結論 50
2.6.6.10 参考文献一覧 60

略号一覧

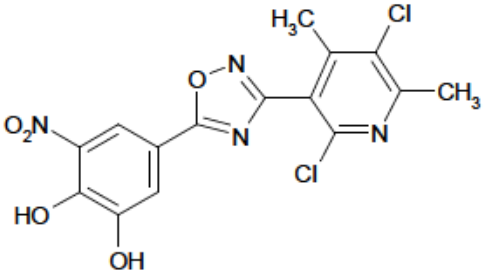
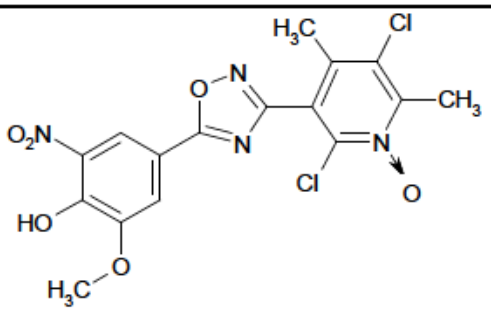
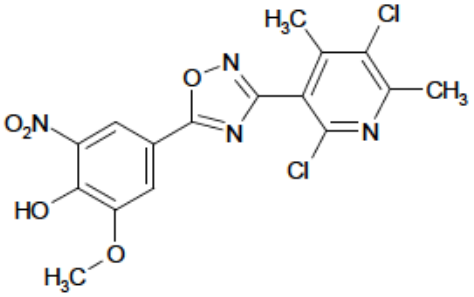
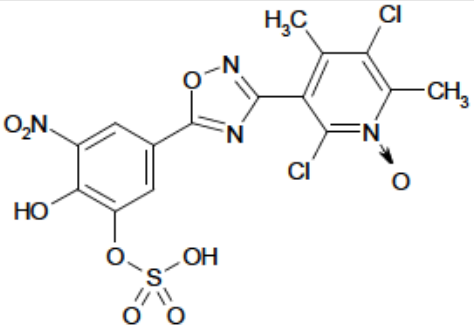
略号	略さない表現又は説明
3-OMD	3-*O*-メチルドパ
A/G 比	アルブミン／グロブリン比
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	アデノシン三リン酸
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
CD	分化抗原群
Cmax	最高血漿中濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
COMT	Catechol-*O*-methyltransferase
DMSO	ジメチルスルホキシド
DNA	デオキシリボ核酸
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPMC	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
LDH	乳酸脱水素酵素
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MFD	投与可能最大量
PIF	光毒性係数
PK	ファーマコキネティクス
S9	組織ホモジネート 9000*g* 上清
SRBC	ヒツジ赤血球
TK	トキシコキネティクス
TP	総蛋白
UVA	紫外線 A 波

関連化合物の一覧

名称	構造	説明及びその他の名称
オピカポン		BIA 9-1067 Opicapone
不純物 O*	[redacted]	オピカポン原薬の不純物

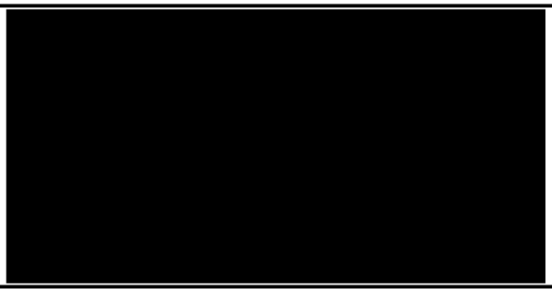
＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.6 毒性試験の概要文
オピカポン

名称	構造	説明及びその他の名称
BIA 9-1079		オピカポンの *N*-オキシド還元体
BIA 9-1100		オピカポンの 3-*O*-メチル化体
BIA 9-1101		BIA 9-1079 の 3-*O*-メチル化体
BIA 9-1103		3-*O*-硫酸抱合体
不純物 P*	[redacted]	オピカポン原薬の不純物

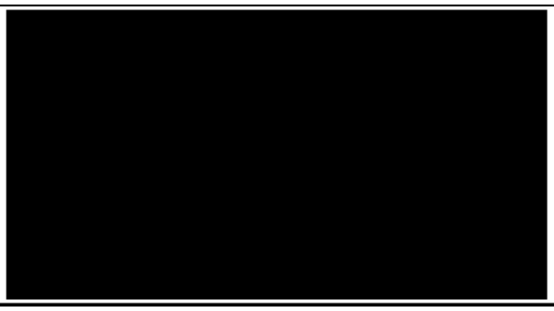
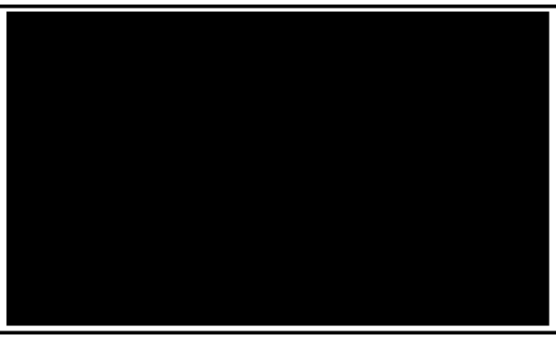
＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.6 毒性試験の概要文
オピカポン

名称	構造	説明及びその他の名称
不純物 Q*		オピカポン原薬の不純物
不純物 R*		オピカポン製剤の不純物
不純物 A*		オピカポン原薬の不純物
不純物 B*		オピカポン原薬の不純物
不純物 C*		オピカポン原薬の不純物

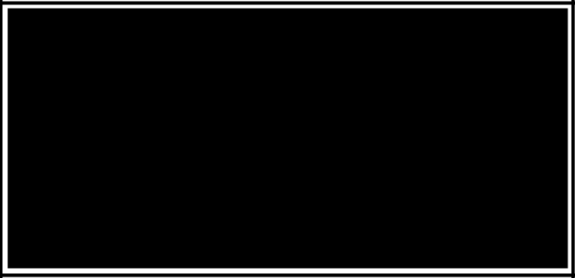
＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.6 毒性試験の概要文
オピカポン

名称	構造	説明及びその他の名称
不純物 D*		オピカポン原薬の不純物
不純物 S*		オピカポン原薬の不純物
不純物 T*		オピカポン原薬の不純物
不純物 E*		オピカポン原薬の不純物
不純物 U*		オピカポン原薬の不純物

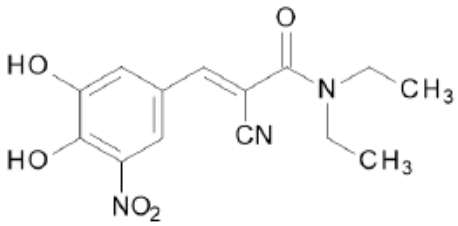
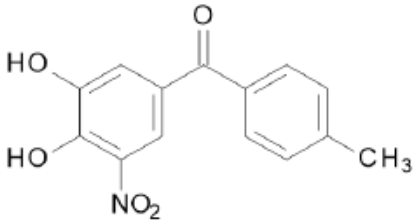
＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.6 毒性試験の概要文
オピカポン

名称	構造	説明及びその他の名称
不純物 V*		オピカポン原薬の不純物
不純物 F*		オピカポン原薬の不純物
不純物 G*		オピカポン原薬の不純物
不純物 H*		オピカポン原薬の不純物
不純物 I*		オピカポン原薬の不純物
不純物 J*		オピカポン原薬の不純物

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.6 毒性試験の概要文
オピカポン

名称	構造	説明及びその他の名称
不純物 K*	[redacted]	オピカポン原薬の不純物
不純物 L*	[redacted]	オピカポン原薬の不純物
不純物 M*	[redacted]	オピカポン原薬の不純物
不純物 N*	[redacted]	オピカポン原薬の不純物
エンタカポン		COMT 阻害剤
トルカポン		COMT 阻害剤

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

オピカポンの単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験及びその他の毒性試験（代謝物の毒性試験，不純物の毒性試験，光毒性試験及び細胞毒性試験）を実施した．また，オピカポンとレボドパ／カルビドパの併用投与による毒性試験を実施した．実施した毒性試験の一覧を表 2.6.6.1-1 に示す．

反復投与毒性試験では，げっ歯類はラットを用いて最長 26 週間，非げっ歯類はサルを用いて最長 52 週間の反復投与を行い，毒性評価を行った．ラット及びサルは，いずれもオピカポンが COMT 阻害作用を示すことが薬理試験で確認されていることから，毒性評価に適した動物種として選択した．なお，イヌ及びミニブタでも反復投与を実施したが，サルと比較してオピカポンの経口投与時の曝露量が低かったため，反復投与毒性試験に使用する非げっ歯類として適さないと判断した．主な毒性試験の投与経路は，静脈内投与で評価した一部の単回投与毒性試験を除き，臨床投与経路と同じ経口投与で評価した．また，免疫毒性評価について，ラットの 4 週間反復投与毒性試験の中で実施した．

上記のうち，重要な毒性試験は，いずれも GLP を遵守して実施した．

表 2.6.6.1-1 毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	被験物質	GLP 適合性	資料番号
単回投与毒性試験					
単回	経口	マウス	オピカポン	適合	4.2.3.1-1
単回	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.1-2
単回*	静脈内急速	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.1-3
単回及び 7 日間*	経口	イヌ	オピカポン	非適合	4.2.3.1-4
単回及び 14 日間*	経口	ミニブタ	オピカポン	非適合	4.2.3.1-5
単回及び 7 日間*	経口	サル	オピカポン	非適合	4.2.3.1-6
反復投与毒性試験					
14 日間*	経口	ラット	オピカポン	非適合	4.2.3.2-1
4 週間	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.2-2
13 週間（4 週間休薬）	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.2-3
13 週間 TK 試験	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.2-4
26 週間（4 週間休薬）	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.2-5
4 週間*	経口	イヌ	オピカポン	適合	4.2.3.2-6
4 週間（2 週間休薬）	経口	サル	オピカポン	適合	4.2.3.2-7
13 週間（4 週間休薬）	経口	サル	オピカポン	適合	4.2.3.2-8
52 週間（8 週間休薬）	経口	サル	オピカポン	適合	4.2.3.2-9
遺伝毒性試験					
復帰突然変異試験	*In vitro*	*S. typhimurium*, *E. coli*	オピカポン	適合	4.2.3.3.1-1
染色体異常試験	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	オピカポン	適合	4.2.3.3.1-2
小核試験	経口	マウス	オピカポン	適合	4.2.3.3.2-1
小核試験の TK 試験	経口	マウス	オピカポン	適合	4.2.3.3.2-2
がん原性試験					
4 週間*	経口	マウス	オピカポン	適合	4.2.3.4.1-1
13 週間（4 週間休薬）*	経口	マウス	オピカポン	適合	4.2.3.4.1-2
104 週間	経口	マウス	オピカポン	適合	4.2.3.4.1-3
104 週間	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.4.1-4
生殖発生毒性試験					
受胎能・初期胚発生試験の用量設定試験*	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.5.1-1
受胎能・初期胚発生試験	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.5.1-2
胚・胎児発生試験の用量設定試験	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.5.2-1
胚・胎児発生試験	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.5.2-2
用量設定試験*	経口	ウサギ	オピカポン	適合	4.2.3.5.2-3
胚・胎児発生試験の用量設定試験	経口	ウサギ	オピカポン	適合	4.2.3.5.2-4
胚・胎児発生試験	経口	ウサギ	オピカポン	適合	4.2.3.5.2-5
出生前後・母動物機能試験	経口	ラット	オピカポン	適合	4.2.3.5.3-1

S. typhimurium: *Salmonella typhimurium*, *E. coli*: *Escherichia coli*
*: 参考資料

表 2.6.6.1-1 毒性試験プログラム（つづき）

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	被験物質	GLP 適合性	資料番号
その他の毒性試験					
代謝物の毒性試験					
単回投与毒性試験					
単回*	経口	マウス	代謝物 BIA 9-1079	適合	4.2.3.7.5-1
単回*	経口	ラット	代謝物 BIA 9-1079	適合	4.2.3.7.5-2
単回*	静脈内急速	ラット	代謝物 BIA 9-1079	適合	4.2.3.7.5-3
遺伝毒性試験					
復帰突然変異試験	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	代謝物 BIA 9-1103	適合	4.2.3.7.5-4
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	代謝物 BIA 9-1079	適合	4.2.3.7.5-5
染色体異常試験	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	代謝物 BIA 9-1103	適合	4.2.3.7.5-6
染色体異常試験*	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	代謝物 BIA 9-1079	適合	4.2.3.7.5-7
小核試験*	経口	マウス	代謝物 BIA 9-1079	適合	4.2.3.7.5-8
不純物の毒性試験					
遺伝毒性試験					
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	8 不純物 [a]	非適合	4.2.3.7.6-1
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	6 不純物 [b]	非適合	4.2.3.7.6-2
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	A*	適合	4.2.3.7.6-3
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	B*	適合	4.2.3.7.6-4
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	C*	適合	4.2.3.7.6-5
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	D *	適合	4.2.3.7.6-6
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	E*	適合	4.2.3.7.6-7
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	F*	適合	4.2.3.7.6-8
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	G*	適合	4.2.3.7.6-9
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	H*	適合	4.2.3.7.6-10
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	I*	適合	4.2.3.7.6-11
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	J*	適合	4.2.3.7.6-12
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	K*	適合	4.2.3.7.6-13
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	L*	適合 適合	4.2.3.7.6-14 4.2.3.7.6-15
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	M*	適合	4.2.3.7.6-16
復帰突然変異試験*	*In vitro*	*S. typhimurium, E. coli*	N*	適合	4.2.3.7.6-17
染色体異常試験*	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	A*	適合	4.2.3.7.6-18
染色体異常試験*	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	B*	適合	4.2.3.7.6-19
染色体異常試験*	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	C*	適合	4.2.3.7.6-20
染色体異常試験*	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	D *	適合	4.2.3.7.6-21
小核試験*	経口	マウス	B*	適合	4.2.3.7.6-22
小核試験*	経口	マウス	D *	適合	4.2.3.7.6-23
小核試験*	経口	マウス	B* + D * 混合	適合	4.2.3.7.6-24
光毒性試験					
光細胞毒性試験	*In vitro*	BALB/c 3T3 細胞	オピカポン	適合	4.2.3.7.7-1
光感作性試験	経皮	モルモット	オピカポン	適合	4.2.3.7.7-2

S. typhimurium: *Salmonella typhimurium*, *E. coli*: *Escherichia coli*
a: A*, B*, C*, D *, S*, T*, U* 及び V*
b: O*, BIA 9-1100, BIA 9-1101, P*, Q* 及び R*
*: 参考資料

表 2.6.6.1-1 毒性試験プログラム（つづき）

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	被験物質	GLP 適合性	資料番号
細胞毒性試験					
細胞毒性試験*	*In vitro*	ヒト肝細胞，HepaRG 細胞	オピカポン，エンタカポン，トルカポン，代謝物 BIA 9-1079，代謝物 BIA 9-1103	非適合	4.2.3.7.7-3
細胞毒性試験*	*In vitro*	ヒト肝細胞	オピカポン，トルカポン，代謝物 BIA 9-1079	非適合	4.2.3.7.7-4
併用毒性試験 13 週間反復投与	経口	ラット	オピカポン/レボドパ/カルビドパ	適合	4.2.3.7.7-5

*: 参考資料

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

オピカポンの単回経口投与において，マウスでは 2000 mg/kg で円背及び立毛が認められたが，投与 4 日までに回復した．ラットでは 2000 mg/kg まで一般状態変化は認められなかった．経口投与による概略の致死量はマウス及びラットともに 2000 mg/kg を超える量であった．ラットにおける単回静脈内投与では 10 mg/kg で虚脱，努力性呼吸及び痙攣を呈して投与直後に死亡したことから，静脈内投与による概略の致死量は 10 mg/kg であった．サルにおける単回経口投与では 1000 mg/kg まで毒性変化は認められず，概略の致死量は 1000 mg/kg を超える量であった．

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

オピカポンの反復投与毒性試験は雌雄のラット及びサルを用い，ラットでは 1 日 1 回の経口投与により最長 26 週間まで反復投与し，サルでは 1 日 1 回の経口投与により最長 52 週間まで反復投与した．

ラットにおける 4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験では，最高投与量の 1000 mg/kg/日まで明らかな毒性変化は認められなかった．ラットにおける 26 週間反復投与毒性試験では，1000 mg/kg/日でプロトロンビン時間の延長並びに投与液の刺激性に起因すると考えられる胃の棘細胞増生，錯角化症及び前胃のびらんなどが認められ，無毒性量は雌雄ともに 500 mg/kg/日と判断した．

サルにおける 4 週間，13 週間及び 52 週間反復投与毒性試験では，最高投与量の 1000 mg/kg/日まで毒性変化は認められず，無毒性量はいずれも雌雄ともに 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

オピカポンは細菌を用いた復帰突然変異試験において陰性を示した．また，オピカポンはヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験で染色体の数的異常を誘発したが，構造異常を誘発せず，マウスを用いた小核試験において陰性を示した．以上のことから，オピカポンは遺伝毒性を有さないと判断した．

2.6.6.1.4 がん原性試験

マウス及びラットにおいて 104 週間反復経口投与によるがん原性試験を実施した．いずれの試験においても最大耐量あるいは投与可能最大量まで投与したが，オピカポン投与に起因すると考えられる腫瘍性病変は認められず，オピカポンはがん原性を示さなかった．

2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験

ラットにおいて受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響を検討した結果，雌雄の受胎能及び初期胚発生に対する影響は認められず，無毒性量は雌雄ともに 1000 mg/kg/日と判断した.

ラット及びウサギにおいて胚・胎児発生に対する影響を検討した結果，ラットでは母動物及び胚・胎児に対する影響は認められず，無毒性量はともに 1000 mg/kg/日と判断した．ウサギでは母動物に対して 175 mg/kg/日以上で体重及び摂餌量の減少が認められたが，胚・胎児に対する影響は認められず，母動物に対する無毒性量は 100 mg/kg/日，胚・胎児に対する無毒性量は 225 mg/kg/日と判断した.

ラットにおいて出生前及び出生後の発生並びに母体機能に対する影響を検討した結果，母動物の機能及び離乳までの出生児に対する影響は認められず，これらに対する無毒性量はともに 1000 mg/kg/日と判断した．一方，1000 mg/kg/日で離乳後の出生児に状態悪化による切迫剖検例が認められたことから，離乳後の出生児に対する無毒性量は 375 mg/kg/日と判断した.

2.6.6.1.6 その他の毒性試験

2.6.6.1.6.1 免疫毒性

ラットの 4 週間反復投与毒性試験において，免疫細胞フェノタイプ及びヒツジ赤血球（SRBC）に対する抗体産生能を評価した結果，オピカポン投与に起因すると考えられる免疫細胞フェノタイプの変動や抗体産生能に及ぼす影響は認められなかった.

2.6.6.1.6.2 代謝物の毒性試験

ヒトの主代謝物である BIA 9-1103 は，ラットの毒性試験において臨床での曝露量を上回って曝露されていたことから，ラットを用いた反復投与毒性，がん原性及び胚・胎児発生毒性において BIA 9-1103 の安全性は評価されていると考えられた．また，BIA 9-1103 は細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験において，遺伝毒性を示さなかった.

2.6.6.1.6.3 不純物の毒性試験

オピカポンの原薬及び製剤の不純物について，ICH Q3A(R2)「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」及び ICH Q3B(R2)「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」の安全性の確認が必要な閾値を超える規格限度値は設定されておらず，不純物の毒性試験は実施していない.

オピカポンの不純物について，ICH M7「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中DNA反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」ガイドラインに基づく *in silico* 構造活性相関による変異原性予測を実施した［3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.P.5.5］．*In silico* での変異原性予測において陽性を示した不純物のうち，[redacted] B*，[redacted] D*，[redacted] E*，[redacted] H*，[redacted] I*，[redacted] M* 及び [redacted] N* は細菌を用いた復帰突然変異試験において陽性であったが，いずれも TTC に基づく許容限度値以下に管理されている［3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.S.3.2（[redacted]）］．

2.6.6.1.6.4 光毒性試験

オピカポンはBalb/c 3T3細胞を用いた光毒性試験において光毒性を示さず，モルモットを用いた皮膚光感作性試験では，皮膚光感作性，皮膚感作性，皮膚光刺激性及び皮膚刺激性を示さなかった．

2.6.6.1.6.5 細胞毒性試験

肝細胞を用いて，オピカポン，エンタカポン及びトルカポンの細胞毒性を比較した．

ヒト肝細胞におけるミトコンドリア膜電位及び ATP 含量の低下作用は，オピカポンに比べて，エンタカポン及びトルカポンで強かった．HepaRG 細胞におけるミトコンドリア膜電位，ATP含量及びグルタチオン濃度の低下作用は，オピカポン，エンタカポンに比べ，トルカポンで強かった．新鮮ヒト肝細胞における細胞形態及び細胞生存率に対し，オピカポンは影響を及ぼさなかったが，トルカポンでは前アポトーシス性の変化及び細胞生存率の低下を示した．

2.6.6.1.6.6 併用毒性試験

オピカポンをレボドパ／カルビドパと併用投与したときの毒性について，ラットにおける13 週間反復投与により検討した．オピカポン 1000 mg/kg/日及びレボドパ／カルビドパとの併用投与群では，レボドパの薬理作用又は毒性に起因すると考えられる虚脱や体重増加抑制，膵臓の腺房細胞の空胞化，耳下腺，顎下腺及び眼窩外涙腺の腺房の肥大並びに眼窩外涙腺に隣接する部位の褐色脂肪の過形成が認められたが，オピカポン併用による新たな毒性変化は認められなかった．また，レボドパ／カルビドパと併用したことによるオピカポンの曝露量への影響も認められなかった．

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 マウスにおける単回経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.1-1］

6～7 週齢の CD-1 系マウスにオピカポンを単回経口投与し，14 日間の観察後に剖検した．250 及び 1000 mg/kg を雌（各 3 例／群）に，2000 mg/kg を雌雄（各 3 例／群）に投与した．オピカポンは 0.5 w/v%CMC 溶液に懸濁し，250 及び 1000 mg/kg 群は 10 mL/kg，2000 mg/kg は 20 mL/kg の投与容量とした．

その結果，投与過誤による死亡の 1 例を除いて死亡は認められなかった．2000 mg/kg の雄で投与後 2 時間より円背及び立毛が認められ，投与 4 日までに回復した．体重及び剖検において投与に起因した変化は認められなかった．

以上より，マウスに単回経口投与したときの概略の致死量は，雌雄とも 2000 mg/kg を超える量であった．

2.6.6.2.2 ラットにおける単回経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.1-2］

7～10 週齢の Crl:CD(SD)系ラットにオピカポンを単回経口投与し，14 日間の観察後に剖検した．250 及び 1000 mg/kg を雌（各 3 例／群）に，2000 mg/kg を雌雄（各 3 例／群）に投与した．オピカポンは 0.5 w/v%CMC 溶液に懸濁し，250 及び 1000 mg/kg 群は 10 mL/kg，2000 mg/kg は 20 mL/kg の投与容量とした．

その結果，2000 mg/kg まで死亡例は認められず，いずれの投与群においても一般状態，体重及び剖検に異常は認められなかった．

以上より，ラットに単回経口投与したときの概略の致死量は，雌雄とも 2000 mg/kg を超える量であった．

2.6.6.2.3 ラットにおける単回静脈内投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.1-3］

7～9 週齢の Crl:CD(SD)系ラットにオピカポンを単回静脈内投与し，14 日間の観察後に剖検した．1 mg/kg を雌 2 例に，5 mg/kg を雌雄各 3 例に，10 mg/kg を雌 1 例に投与した．オピカポンは DMSO に溶解し，投与容量は 0.3 mL/kg とした．

その結果，1 mg/kg 以上で投与後 10 分から 4 時間にかけて自発運動減少，円背，赤色尿及び会陰部汚染が認められた．5 mg/kg の雄では歩行失調，努力性呼吸及び呼吸促迫も認められた．10 mg/kg を投与した雌 1 例は虚脱，努力性呼吸及び痙攣を示し，投与直後に死亡した．体重及び剖検において異常は認められなかった．

以上より，ラットに単回静脈内投与したときの概略の致死量は，10 mg/kg であった．

2.6.6.2.4 イヌにおける単回及び 7 日間反復経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.1-4］

8～9 カ月齢のビーグル犬（雌雄各 1 例）にオピカポンを 100，200，400，600，800 及び 1000 mg/kg の投与量で漸増法により単回経口投与した．更に，雌雄各 2 例に 1000 mg/kg の投与量で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与した．オピカポンはゼラチンカプセルに充填して投与した．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，800 mg/kg 以上の単回投与群及び 1000 mg/kg の 7 日間反復投与群で便色（黄色又は暗赤色）の異常が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，体重及び摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められないことから，毒性学的意義はないと判断した．

その他，心電図（1000 mg/kg の 7 日間反復投与群のみ）及び剖検においてオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

以上より，イヌにおいて 1000 mg/kg/日まで毒性変化は認められず，忍容と判断した．

2.6.6.2.5 ミニブタにおける単回及び 14 日間反復経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.1-5］

5.5～8.5 カ月齢の Gottingen ミニブタ（雌雄各 1 例）にオピカポンを 100，200，400，800 及び 1000 mg/kg の投与量で 1 日 1 回 1～3 日間，漸増法により経口投与した．更に，雌雄各 2 例に 1000 mg/kg の投与量で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v% HPMC 溶液に懸濁し，投与容量は 100 及び 200 mg/kg 群は 5 mL/kg，400 mg/kg 群は 6 mL/kg，800 mg/kg 群は 8 mL/kg，1000 mg/kg 群は 10 mL/kg とした．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，漸増投与群の 1000 mg/kg/日で便色の異常（暗橙色又は黄色），14 日間反復投与群で便色の異常及び軟便が認められたが，いずれも未吸収のオピカポンの糞中への混入による影響あるいは投与液の性状に伴う変化と考えられ，体重及び摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められないことから，毒性学的意義はないと判断した．また，14 日間反復投与群の 1 例で散発的に嘔吐が認められたが，体重及び摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められないことから，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．

その他，14 日間反復投与群において，心電図，血液学的検査，血液化学的検査，器官重量及び剖検を実施したが，いずれもオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

以上より，ミニブタにおいて 1000 mg/kg/日まで明らかな毒性変化は認められず，忍容と判断した．

2.6.6.2.6 サルにおける単回及び 7 日間反復経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.1-6］

2～3 歳のカニクイザル（雌雄各 1 例）にオピカポンを 100，200，400，600 及び 1000 mg/kg の投与量で 1 日 1 回 1～3 日間，漸増法により経口投与した．更に，雌雄各 2 例に 1000 mg/kg の投与量で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，投与容量は 100 及び 200 mg/kg 群は 4 mL/kg，400 及び 600 mg/kg 群は 6 mL/kg，1000 mg/kg 群は 10 mL/kg とした．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，漸増投与群の 200 mg/kg 以上及び 7 日間反復投与群で便色の異常（黄色）が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，体重にオピカポン投与に起因した変化は認められないことから，毒性学的意義はないと判断した．また，漸増投与群の 200 mg/kg の雄で下痢が認められたが，用量に応じた変化ではなく，一回のみの発現であったことから，オピカポン投与による影響ではないと判断した．

その他，7 日間反復投与群において，心電図，血液学的検査，血液化学的検査，器官重量及び剖検を実施したが，いずれもオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

以上より，サルにおいて 1000 mg/kg/日まで毒性変化は認められず，忍容と判断した．

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラットにおける 14 日間反復経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.2-1］

Wistar 系ラット（雌雄各 3 例／群）にオピカポンを 100，500 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，100 mg/kg/日以上の雌で軽度な削痩が認められたが，体重及び摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．また，1000 mg/kg/日で便色の異常（橙色）が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，体重及び摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められないことから，毒性学的意義はないと判断した．

器官重量では，100 mg/kg/日以上で肝臓の体重比重量が低値を示したが，対照群と比べ剖検時体重が高値傾向であったことに起因するものであり，オピカポン投与に起因した変化ではないと判断した．

その他，剖検において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

以上より，オピカポンによる明らかな毒性変化は認められず，1000 mg/kg/日まで忍容と判断した．

2.6.6.3.2 ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-2］

7 週齢の HanRcc:WIST 系ラット（雌雄各 10 例／群）にオピカポンを 100，500 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．TK 測定群として対照群は雌雄各 3 例，オピカポン群は雌雄各 9 例／群（各 3 例／時点）のサテライト動物を設定し，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．また，主試験群の一部動物（雌雄各 6 例／群）で免疫細胞フェノタイプ解析を実施するとともに，雌雄各 6 例／群の免疫検査用動物を設定し，SRBC に対する抗体産生能を検討した．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，500 mg/kg/日以上で便色の異常（橙色），1000 mg/kg/日の雄で軟便が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響あるいは投与液の性状に伴う変化と考えられ，体重及び摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められないこと，消化器に病理組織学的変化はなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．

血液学的検査では，1000 mg/kg/日で MCHC の低値が認められたが，ごく軽度な変化であり，他の赤血球パラメータの明らかな変動を伴わないことから，毒性学的意義はないと判断した．

血液化学的検査では，100 mg/kg/日以上の雄で血中ナトリウムの高値，1000 mg/kg/日の雄で血中リンの高値が認められたが，いずれも施設背景値の範囲内又は範囲をわずかに超える程度の軽度な変動であり，一般状態並びに腎臓及び副腎などの関連器官に異常は認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．

その他，肝臓では 500 mg/kg/日以上の雄で器官重量が低値を示し，投与量に応じて肝細胞のグリコーゲン貯留の発現頻度及び程度が低減する傾向が認められたが，肝逸脱酵素の上昇や傷害性を示唆する病理組織学的変化は認められなかった．1000 mg/kg/日の雄でグルコースの低値が認められたが，施設背景値の範囲内又は範囲をわずかに超える程度の軽度な変動であり，膵臓への影響を示唆する変化は認められず，その他の肝臓への影響を示唆するパラ

メータの変動も認められなかった．したがって，これらの肝臓重量及びグルコースの変動は毒性学的意義の乏しい変化と判断した．

免疫細胞フェノタイプ解析では，各投与群で CD3+細胞及び CD3+/CD4+細胞の増加が認められたが，いずれも施設背景値の範囲内の軽度な変動であった．なお，1000 mg/kg/日では CD45RA+細胞の減少も認められたが，CD3+/CD4+細胞の増加に伴う相対的な変動であり，毒性学的意義はないと判断した．CD3+/CD8+細胞及び CD11b+細胞には変動は認められなかった．SRBC に対する抗体産生能に影響は認められなかった．

その他，眼科学的検査，尿検査及び剖検においてオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン及び BIA 9-1079 の Cmax 及び AUC12h は投与量に応じて増加した．オピカポン及び BIA 9-1079 の曝露量に反復投与による影響はなく，投与期間を通じて明らかな雌雄差は認められなかった．

以上より，オピカポンによる毒性変化は認められず，ラットにおける 4 週間反復投与での無毒性量は雌雄とも 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.3.3 ラットにおける 13 週間反復経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-3］

7 週齢の HanRcc:WIST 系ラット（雌雄各 10 又は 15 例／群）にオピカポンを 100，500 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 13 週間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v% HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．対照群及び 1000 mg/kg/日群の雌雄各 5 例／群を休薬動物とし，4 週間の休薬による回復性を検討した．TK 測定群として対照群は雌雄各 3 例，オピカポン群は雌雄各 9 例／群（各 3 例／時点）のサテライト動物を設定し，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，1000 mg/kg/日で便色の異常（橙色）が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，体重及び摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められないこと，消化器に病理組織学的変化はなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．

血液学的検査では，1000 mg/kg/日の雄で MCHC の低値が認められたが，ごく軽度な変化であり，他の赤血球パラメータの明らかな変動を伴わないことから，毒性学的意義はないと判断した．

血液化学的検査では，500 mg/kg/日以上の雄で血中ナトリウムの高値，1000 mg/kg/日の雄で血中リンの高値が認められたが，いずれも施設背景値の範囲内又は範囲をわずかに超える

程度の軽度な変動であり，一般状態並びに腎臓及び副腎などの関連器官に異常は認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．

その他，肝臓では 1000 mg/kg/日の雄で器官重量が低値を示したが，肝逸脱酵素の上昇や傷害性を示唆する病理組織学的変化は認められなかった．1000 mg/kg/日の雄でグルコースの低値が認められたが，施設背景値の範囲内での軽度な変動であり，膵臓への影響を示唆する変化は認められず，その他の肝臓への影響を示唆するパラメータの変動も認められなかった．したがって，これらの肝臓重量及びグルコースの変動は毒性学的意義の乏しい変化と判断した．

その他，眼科学的検査，尿検査，剖検及び病理組織学的検査においてオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン及び BIA 9-1079 の Cmax 及び AUC12h は投与量に応じて増加した．オピカポン及び BIA 9-1079 の曝露量に反復投与による影響はなく，投与期間を通じて明らかな雌雄差は認められなかった．

以上より，オピカポンによる毒性変化は認められず，ラットにおける 13 週間反復投与での無毒性量は雌雄とも 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.3.4 ラットにおける 13 週間反復経口投与 TK 試験

［評価資料：4.2.3.2-4］

7 週齢の RccHan:WIST 系ラット（対照群は雌雄各 3 例，その他の群は雌雄各 8 例／群）にオピカポンを 500 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 13 週間反復経口投与した．オピカポン並びにその代謝物である BIA 9-1079，BIA 9-1103 及び BIA 9-1106 の血漿中濃度を測定し，血中曝露を評価した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．

その結果，オピカポン，BIA 9-1103 及び BIA 9-1106 の Cmax 及び AUC24h は投与量に応じて増加した．BIA 9-1079 の Cmax 及び AUC24h は 500 及び 1000 mg/kg/日で同程度であった．オピカポン，BIA 9-1079，BIA 9-1103 及び BIA 9-1106 の曝露量に反復投与による影響は認められなかった．オピカポン，BIA 9-1079 及び BIA 9-1106 の曝露量に雌雄差は認められなかったが，BIA 9-1103 では雄に比べて雌で低値を示した．

2.6.6.3.5 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-5］

7 週齢の HanRcc:WIST 系ラット（雌雄各 20 又は 30 例／群）にオピカポンを 100，500 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 26 週間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%

HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．対照群及び 1000 mg/kg/日群の雌雄各 10 例／群を休薬動物とし，4 週間の休薬による回復性を検討した．TK 測定群として対照群は雌雄各 3 例，オピカポン群は雌雄各 9 例／群（各 3 例／時点）のサテライト動物を設定し，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，100 mg/kg/日以上で便色の異常（黄色）が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，体重及び摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められないこと，後述の胃の変化を除き，消化器に病理組織学的変化はなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．

血液学的検査では，26 週間投与後の検査において，1000 mg/kg/日でプロトロンビン時間の延長が認められた．この他，同群の雄で好中球数及び比率の低値，好酸球及びリンパ球比率の高値，雌で好酸球数及び比率の高値が認められたが，骨髄やリンパ節を含む造血系や免疫系器官での病理組織学的変化は認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた．なお，500 mg/kg/日以上の雄で中あるいは高蛍光網赤血球比率の高値，1000 mg/kg/日の雌で MCHC の低値が認められたが，いずれもその他の赤血球パラメータの変動を伴わないごく軽度な変化であり，毒性学的意義はないと判断した．

血液化学的検査では，26 週間投与後の検査において，1000 mg/kg/日の雄で LDH 及びグロブリンの高値並びにグルコース，アルブミン及び A/G 比の低値，同群の雌で総ビリルビン及び TP の高値が認められた．なお，500 mg/kg/日の雄でもアルブミンの低値が認められたが，施設背景値の範囲内の軽度な変動であり，TP などその他の肝機能パラメータの変動を伴わないことから，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．この他，100 mg/kg/日以上で血中ナトリウム及びクロライドの高値，500 mg/kg/日以上で血中カリウム，カルシウム及びリンの高値が認められたが，いずれも施設背景値の範囲内又は範囲をわずかに超える程度の軽度な変動であり，一般状態並びに腎臓及び副腎などの関連器官の病理組織学的検査で異常は認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．

尿検査では，26 週間投与後の検査において，1000 mg/kg/日の雌で尿比重の低値が認められ，同群で尿量が高値傾向であったことに伴う変化と考えられた．また，雄では，13 週間投与後の検査において，100 mg/kg/日以上で尿量の高値，100 及び 500 mg/kg/日で尿比重の低値が認められた．いずれもごく軽度な変動であり，腎臓など関連する器官に病理組織学的変化は認められないこと，雄の変動については 26 週間投与後の検査で回復傾向を示していることから，いずれも毒性学的意義のない変化と判断した．

器官重量では，100 mg/kg/日以上で肝臓重量の低値が認められたが，肝臓の萎縮や傷害性を示唆する病理組織学的変化は認められなかった．なお，500 mg/kg/日以下で認められた肝

臓重量への影響は，肝機能異常を示唆するパラメータの変動を伴わないことから，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．100 mg/kg/日以上の雌及び 1000 mg/kg/日の雄で脾臓重量の低値が認められたが，いずれも軽度な変動であり，脾臓や骨髄を含む造血系や免疫系器官での病理組織学的変化は認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．また，1000 mg/kg/日の雌で副腎重量の低値が認められたが，病理組織学的変化は認められなかった．なお，500 mg/kg/日で認められた副腎重量の低値は，体重に対する相対重量の変動を伴わず，オピカポンの影響ではないと判断した．

病理組織学的検査では，1000 mg/kg/日の雄で胃の棘細胞増生，錯角化症及び前胃のびらんが認められた．

その他，眼科学的検査及び剖検においてオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

4 週間休薬後の検査において，1000 mg/kg/日の雌雄で総ビリルビンの高値が認められた．同群の雌では投与終了時にも総ビリルビンの高値が認められており，回復を示さなかったが，ALT や AST などの肝逸脱酵素の上昇や肝臓及び胆道系への傷害性を示唆する病理組織学的変化を伴わないことから，重篤な毒性を示唆する変化ではないと考えられた．また，同群の雄では投与終了時には認められなかった小葉中心性の肝細胞空胞化の発現頻度及び程度の高値が認められた．これは肝細胞質内への脂質蓄積を示唆する所見であるが，休薬後の雄のみで認められた変化であり，対照群でも認められたことを考慮すると，偶発的に生じた可能性が考えられた．その他，1000 mg/kg/日の雄で血中ナトリウム，クロライド及びカルシウムの高値が認められたが，26 週間投与終了時に比べると低値であり，回復傾向を示した．また，投与終了時と同様に 1000 mg/kg/日の雌で副腎重量の低値が認められたが，休薬後には相対重量の変動を伴わず，病理組織学的変化は認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．その他の変化は，いずれも 4 週間の休薬により回復した．なお，1000 mg/kg/日で網赤血球比率の低値が認められたが，休薬後に認められた変化であり，その他の赤血球パラメータの変動を伴わないごく軽度な変化であったことから，毒性学的意義はないと判断した．1000 mg/kg/日の雄でグロブリンの低値及び A/G 比の高値が認められたが，投与終了時に認められたグロブリンの高値及び A/G 比の低値からの回復を示唆する変化であった．

TK 測定では，オピカポン及び BIA 9-1079 の Cmax 及び AUC24h は投与量に応じて増加した．オピカポン及び BIA 9-1079 の曝露量に反復投与による影響はなく，投与期間を通じて明らかな雌雄差は認められなかった．

以上より，1000 mg/kg/日で総ビリルビン及び LDH の高値並びにプロトロンビン時間の延長や前胃のびらんなどが認められたことから，ラットにおける 26 週間反復投与での無毒性量は雌雄とも 500 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.3.6 イヌにおける 4 週間反復経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.2-6］

5～6 カ月齢のビーグル犬（雌雄各 3 例／群）にオピカポンを 60，200 及び 600 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した．オピカポンはゼラチンカプセルに充填して投与し，対照群には空カプセルを投与した．最大投与量は，4 週間反復投与可能なカプセル数と充填量から 600 mg/kg/日に設定した．また，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，200 mg/kg/日以上で便色の異常（黄色又は赤色）が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，体重及び摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められないこと，消化器に病理組織学的変化はなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．

その他，心電図，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン及び BIA 9-1079 の Cmax 及び AUC24h は投与量に応じて増加し，反復投与後は初回投与時に比べわずかに高かった．オピカポン，BIA 9-1079 ともに明らかな雌雄差は認められなかった．

以上より，オピカポンによる毒性変化は認められず，イヌにおける 4 週間反復投与での無毒性量は雌雄とも 600 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.3.7 サルにおける 4 週間反復経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-7］

2～3 歳のカニクイザル（雌雄各 3 又は 5 例／群）にオピカポンを 100，300 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．対照群及び 1000 mg/kg/日群の雌雄各 2 例／群を休薬動物とし，2 週間の休薬による回復性を検討した．また，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，100 mg/kg/日以上で便色の異常，粥状便及び下痢が認められたが，未吸収のオピカポンの糞中への混入による影響あるいは投与液の性状に伴う変化と考えられ，体重にオピカポン投与に起因した変化は認められないこと，消化器に病理組織学的変化はなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．また，300 mg/kg/日以上で嘔吐が散見されたが，その多くは投与直後に認められたことから，投与操作あるいは投与液の味に起因した変化と考えられ，毒性学的意義はないと判断した．

その他，眼科学的検査，心電図，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン及び BIA9-1079 の Cmax 及び AUC24h は投与量に応じて増加した．オピカポン及び BIA 9-1079 の曝露量に反復投与による影響はなく，明らかな雌雄差は認められなかった．

以上より，オピカポンによる毒性変化は認められず，サルにおける 4 週間反復投与での無毒性量は雌雄とも 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.3.8 サルにおける 13 週間反復経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-8］

3～4 歳のカニクイザル（雌雄各 4 又は 6 例／群）にオピカポンを 100，300 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 13 週間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．対照群及び 1000 mg/kg/日群の雌雄各 2 例／群を休薬動物とし，4 週間の休薬による回復性を検討した．また，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，いずれの投与群においても死亡例は認められなかった．

一般状態では，300 mg/kg/日以上で便色の異常が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，体重にオピカポン投与に起因した変化は認められないこと，消化器に病理組織学的変化はなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．

その他，眼科学的検査，心電図，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン及び BIA9-1079 の Cmax 及び AUC24h は投与量に応じて増加した．オピカポン及び BIA9-1079 の曝露量は初回投与時に比べ反復投与後でわずかに高値を示したが，明らかな雌雄差は認められなかった．

以上より，オピカポンによる毒性変化は認められず，サルにおける 13 週間反復投与での無毒性量は雌雄とも 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.3.9 サルにおける 52 週間反復経口投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.2-9］

2 歳のカニクイザル（雌雄各 4 又は 6 例／群）にオピカポンを 100，300 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 52 週間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．対照群及び 1000 mg/kg/日群の雌雄各 2 例／群を休薬動物とし，8 週間の休薬による回復性を検討した．また，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，300 mg/kg/日の雄 1 例が投与 206 日の投与中に嘔吐し，投与後 2.5 時間に自発運動減少及び呼吸困難の症状を示した後，投与後 4 時間に死亡した．剖検の結果，気管内及び胸腔に白色泡沫状内容物，肺の腫大及び暗赤色化が認められ，投与過誤による死亡と判断した．この 1 例を除き，死亡例は認められなかった．

一般状態では，100 mg/kg/日以上で便色の異常（黄色又は橙色）が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，オピカポン投与に起因した体重増加抑制は認められないこと，消化器に病理組織学的変化はなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．また，100 mg/kg/日以上で嘔吐，300 mg/kg/日以上の雌及び 1000 mg/kg/日の雄で流涎が認められたが，その多くが投与後 15 分以内に認められ，対照群でも認められることから，投与操作あるいは投与液の味に起因した変化と考えられ，いずれも毒性学的意義はないと判断した．

体重では，1000 mg/kg/日の雌で体重及び体重増加量の高値が認められた．本試験では摂餌量の評価を行っておらず，体重増加の原因は明らかでないものの，一般状態，臨床検査値及び病理組織学的検査において体重増加に伴う変化は認められないことから，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．

その他，眼科学的検査，心電図，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン及び BIA 9-1079 の Cmax 及び AUC24h は，投与量に応じて増加し，反復投与による影響は認められなかった．オピカポン，BIA 9-1079 ともに雌雄差は認められなかった．

以上より，オピカポンによる毒性変化は認められず，サルにおける 52 週間反復投与での無毒性量は雌雄とも 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.4 遺伝毒性試験

オピカポンの遺伝毒性試験として，細菌を用いた復帰突然変異試験，ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験を実施した．

2.6.6.4.1 *In vitro* 試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

［評価資料：4.2.3.3.1-1］

Salmonella typhimurium TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び *Escherichia coli* WP2*uvr*A を用い，プレート法並びにプレインキュベーション法により，代謝活性化による場合（S9mix 存在下）及び代謝活性化によらない場合（S9mix 非存在下）について試験を実施した．オピカポンは DMSO に溶解し，濃度範囲は 17～5000 μg/plate とした．

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

以上，オピカポンは遺伝子突然変異誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.4.1.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

［評価資料：4.2.3.3.1-2］

健康成人の末梢血リンパ球を用い，短時間処理（S9mix 存在下又は S9mix 非存在下でオピカポンを 5 時間処理後，培養 29 時間時点で細胞採取）及び連続処理（S9mix 非存在下でオピカポンを 25 時間連続処理後，培養 29 時間又は 53 時間時点で細胞採取）で試験を実施した．オピカポンは DMSO に溶解して培養液に添加し，濃度範囲は短時間処理で 78～313 μg/mL，連続処理で 20～156 μg/mL（培養 29 時間時点で細胞採取）又は 20～78 μg/mL（培養 53 時間時点で細胞採取）とした．

その結果，短時間処理及び連続処理，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの濃度においても染色体構造異常を有する細胞の増加は認められなかった．一方，連続処理の培養 53 時間の条件において，78 μg/mL で倍数体の増加が認められた．

以上，オピカポンは染色体構造異常誘発性を有さないが，数的異常誘発性を有すると判断した．

2.6.6.4.2 *In vivo* 試験

2.6.6.4.2.1 マウスを用いた小核試験

［評価資料：4.2.3.3.2-1，4.2.3.3.2-2］

6～7 週齢の CD-1 系マウス（対照群は雌雄各 5 例，オピカポン 1800 mg/kg/日群は雌雄各 10 例，その他の群は雄 5 例／群）にオピカポンを 450，900 及び 1800 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 2 日間反復経口投与した．なお，用量設定試験において，1600，1800 及び 2000 mg/kg/日を 1 日 1 回 2 日間投与した結果，2000 mg/kg/日の 3/6 例が死亡したことから，1800 mg/kg/日を最高投与量に設定した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照

群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．2 日目投与後 24 時間に骨髄塗抹標本を作製し，各群の雌雄又は雄 5 例について幼若赤血球を観察した．オピカポンの TK 測定群として，1800 mg/kg/日群に雌雄各 9 例（3 例／時点）のサテライト動物を設けた．また，代謝物の TK 試験として，同系統同週齢のマウスの雌雄各 9 例（3 例／時点）にオピカポンを 1800 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回，2 日間反復経口投与した．いずれの TK 測定も 2 回目投与後 0.5，1 及び 2 時間における血漿中濃度を測定した．

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

以上，オピカポンは小核誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 マウスにおける 4 週間反復経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.4.1-1］

7 週齢の Crl:CD-1(ICR)BR 系マウス（雌雄各 10 例／群）にオピカポンを 100，500 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．TK 測定群として対照群は雌雄各 3 例，オピカポン群は雌雄各 9 例／群（各 3 例／時点）のサテライト動物を設定し，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，500 mg/kg/日の雌 1 例，1000 mg/kg/日の雄 3 例及び雌 1 例が死亡した．1000 mg/kg/日の死亡例では，肺周囲に胸膜炎，食道に出血，細胞浸潤などが認められ，雄 1 例を除き，いずれも投与過誤による死亡と判断した．残る 1 例については，頸部皮膚の多巣性潰瘍及び鼻腔内膿瘍が認められ，これら変化により死亡に至ったものと考えられたが，他のいずれの動物においても同様の所見は認められないことから，オピカポン投与に起因した可能性は低いと判断した．500 mg/kg/日の死亡例については，死亡までに何ら一般状態変化は認められず，剖検及び病理組織学的検査においても死因を明らかにできなかった．また，TK 測定群において，1000 mg/kg/日の雌雄各 1 例が死亡あるいは切迫剖検となったが，TK 測定群では病理組織学的検査を実施しなかったため，死因は明らかでなかった．しかし，これらの群では，高粘度の投与液を高容量で反復投与したことから，投与液の胃からの逆流及び誤嚥により死亡あるいは瀕死状態に至った可能性が考えられ，死亡・切迫剖検例がオピカポンの作用に起因して生じた可能性は低いと判断した．

一般状態では，主に 500 mg/kg/日以上で自発運動減少，円背及び粗毛などが認められた．また，1000 mg/kg/日で鼻又は下顎の着色が散見されたが，上述した投与液の逆流に伴う変化と考えられた．

体重では，500 mg/kg/日以上の雄で投与 15 日に体重増加量がわずかに低値であったが，その後は対照群と同等あるいはそれ以上の体重推移を示し，投与終了時の体重に明らかな影響は認められなかった．また，摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

その他，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン及び BIA 9-1079 の Cmax 及び AUC12h は投与量に応じて増加し，反復投与による明らかな影響は認められなかった．投与期間を通じてオピカポンの曝露量は雄に比べ雌で高かったが，BIA 9-1079 の曝露量に明らかな雌雄差は認められなかった．

以上より，500 mg/kg/日以上では投与液の物性によると考えられる死亡・切迫剖検例が認められたが，1000 mg/kg/日までオピカポンの作用による明らかな毒性変化は認められず，マウスにおける 4 週間反復投与での最大耐量は雌雄とも 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.5.2 マウスにおける 13 週間反復経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.4.1-2］

7 週齢の Crl:CD-1(ICR)BR 系マウス（雌雄各 10 又は 15 例／群）にオピカポンを 100，500 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 13 週間反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v% HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．対照群及び 1000 mg/kg/日群の雌雄各 5 例／群を休薬動物とし，4 週間の休薬による回復性を検討した．TK 測定群として対照群は雌雄各 3 例，オピカポン群は雌雄各 9 例／群（各 3 例／時点）のサテライト動物を設定し，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，100 mg/kg/日の雌 1 例，500 mg/kg/日の雌雄各 1 例，1000 mg/kg/日の雄 1 例及び雌 2 例が死亡あるいは切迫剖検となった．そのうち，4 例については胸膜炎など食道の穿孔を示唆する変化が認められており，投与過誤により死亡あるいは瀕死状態に至ったものと判断した．残る 2 例（500 mg/kg/日の雄 1 例及び 1000 mg/kg/日の雌 1 例）については，死亡までに何ら一般状態変化は認められず，剖検及び病理組織学的検査においても死因を明らかにできなかった．また，TK 測定群において，100 mg/kg/日の雌 3 例及び 1000 mg/kg/日の雌 1 例が死亡あるいは切迫剖検となったが，TK 測定群では病理組織学的検査を実施しなかったため，死因は明らかでなかった．しかし，高粘度の投与液を高容量で反復投与したことで胃からの逆流及び誤嚥により死亡あるいは瀕死状態に至った可能性が考えられ，また死亡・切迫剖検例の発現に明らかな用量依存性が認められないことからも，オピカポンの作用に起因して生じた可能性は低いと判断した．

一般状態では，オピカポン群において自発運動減少，円背，粗毛及び呼吸困難などが散見されたが，いずれの所見もその発現頻度及び程度に明らかな用量依存性は認められなかった．

また，オピカポン群において体重増加量の低値が散見されたが，いずれの時点においても用量依存性は認められなかった．したがって，これらの一般状態及び体重への影響は，上述した投与液の逆流及び誤嚥による変化の可能性が考えられ，オピカポンの作用に起因して生じた変化ではないと判断した．摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

その他，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン及び BIA 9-1079 の Cmax 及び AUC12h は投与量に応じて増加し，反復投与による明らかな影響は認められなかった．投与期間を通じてオピカポンの曝露量は雄に比べ雌で高かったが，BIA 9-1079 の曝露量に明らかな雌雄差は認められなかった．

以上より，100 mg/kg/日以上では投与液の物性によると考えられる死亡・切迫剖検例が認められたが，1000 mg/kg/日までオピカポンの作用による明らかな毒性変化は認められず，マウスにおける 13 週間反復投与での最大耐量は雌雄とも 1000 mg/kg/日と判断した．なお，オピカポン投与液の粘性による調製可能濃度 50 mg/mL 及び反復投与の投与最大容量 20 mL/kg から，1000 mg/kg/日は投与可能最大量（MFD）と考えられた．

2.6.6.5.3 マウスにおけるがん原性試験

［評価資料：4.2.3.4.1-3］

7 週齢の Crl:CD-1(ICR)BR 系マウス（雌雄各 50 例／群）にオピカポンを 100，500 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 104 週間反復経口投与し，がん原性について検討した．オピカポンの投与液は粘性があるため，調製可能な最大濃度は 50 mg/mL であり，反復投与時の最大投与容量は 20 mL/kg であったことから，投与可能最大量（MFD）は 1000 mg/kg/日であった．1000 mg/kg/日は，マウスにおける 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.5.2）において忍容であったことから，最高投与量に設定した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，雌雄各 2 群設定した対照群にはいずれも媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．TK 測定群として対照群は雌雄各 6 例，オピカポン群は雌雄各 15 例／群（各 3 例／時点）のサテライト動物を設け，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．500 及び 1000 mg/kg/日群に死亡例が多発したため，投与 10 週以降は投与量をそれぞれ 375 及び 750 mg/kg/日に減量した（500/375 及び 1000/750 mg/kg/日と表記）．死亡例の増加に伴い，サテライト動物を全例毒性評価群に組み入れた．1000/750 mg/kg/日群では雌雄ともに生存例が 20 例まで低下したことから，雄は投与 84 週及び雌は 93 週に投与を中止し，それぞれ投与 104 週及び 103 週に剖検した．

その結果，500/375 mg/kg/日以上で投与初期に死亡率が高値を示した．投与 1 日から 135 日に用いた原薬は粒子径が大きく，投与液の粘性が高かったために，投与液の胃からの逆流

及び誤嚥により死亡率が増加したと考えられた．そのため，投与 136 日から粒子径の小さい原薬を用いて投与液の調製を行った．試験に使用した原薬の粒子径を表 2.6.6.5.3-1 に示した．その結果，投与 136 日以降の死亡率は，いずれの投与群でも対照群と同程度であり，投与液の粘性が軽減されたため，死亡が回避できたと考えられた．よって，投与 135 日までの死亡率の高値はオピカポンの作用に起因した変化ではないと判断した．

表 2.6.6.5.3-1　　マウスがん原性試験に使用した原薬の粒子径

使用ロット番号	純度（%）	粒子径（μm）*	投与日（日）
[redacted]	97.6	d(90) ≤195.3	1～135
	100	d(90) ≤25	136～182
	100	d(90) ≤19	183～343
	100	d(95) ≤57.14	344～483
	100	d(95) ≤69.92	484～651
	100	d(95) ≤65.36	652～728

*:粒度分布 90%（d(90)）又は 95%（d(95)）の粒子径

500/375 及び 1000/750 mg/kg/日の死亡例に最も多く認められた所見は，消化管の一部又は全体のガスによる膨満であり，死亡前に認められた主な一般状態変化は衰弱，円背，粗毛，呼吸雑音，努力呼吸，腹部膨満，蒼白，体重減少及び体温低下であった．これらの変化は上述の投与液の逆流及び誤嚥によるものと考えられ，オピカポンの曝露による一般状態変化は認められなかった．なお，1000/750 mg/kg/日で便色の異常（黄色）が認められたが，未吸収のオピカポンが排泄されたと考えられ，毒性学的意義はないと判断した．体重は，500/375 及び 1000/750 mg/kg/日で投与初期に対照群に比べ低値を示したが，摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

病理組織学的検査では，いずれの投与群でもオピカポンの曝露に起因すると考えられる腫瘍性変化及び非腫瘍性変化は認められなかった．単発的に認められた稀な腫瘍として，500/375 mg/kg/日の雄 1 例における脳乏突起神経膠腫，対照群の雄 1 例における肥満細胞腫，対照群の雌 1 例における膣扁平上皮癌及び対照群の雄 1 例における腎尿細管細胞癌があったが，いずれもオピカポン投与に関連するものではないと判断した．

血液学的検査及び血液化学的検査では，100 mg/kg/日以上で好酸球比率の高値，1000/750 mg/kg/日でヘモグロビン濃度分布幅，網赤血球数，グルコース及びカリウム濃度の高値が認められ，網赤血球数の高値に関連して低蛍光網赤血球比率の低値及び中／高蛍光網赤血球比率の高値も認められた．この他，卵巣の良性黄体腫が Peto 傾向検定で有意な増加を示したが，当所見が認められたのは 500/375 mg/kg/日群の雌 2 例であり，1000/750 mg/kg/日では認められなかったことから，毒性学的意義はないと考えられた．また，500/375 mg/kg/日の雌 1 例及び 1000/750 mg/kg/日の雌 1 例において，良性褐色脂肪腫が認められ，傾

向検定において陽性であったが，発現率は低く，用量間で同程度であったことから，オピカポン投与との関連性はないと考えられた．なお，上述の投与液の逆流及び誤嚥を反映した変化として，500/375 mg/kg/日以上で鼻腔，咽頭，喉頭，気管及び肺に変性を伴う炎症性変化が認められた．触診，尿検査及び器官重量において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，反復投与後のオピカポン及び BIA 9-1079 の Cmax 及び AUC6h はいずれも投与量に応じて増加した．オピカポンの曝露量は雄に比べ雌で高かったが，BIA 9-1079 の曝露量に明らかな雌雄差は認められなかった．

以上より，オピカポンはマウスにおいて，がん原性を示さないと判断した．

2.6.6.5.4 ラットにおけるがん原性試験

［評価資料：4.2.3.4.1-4］

7 週齢の HanRcc:WIST 系ラット（雌雄各 51 例／群）にオピカポンを 100，500 及び 1000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回，104 週間反復経口投与し，がん原性について検討した．オピカポンの投与液は粘性があるため，調製可能な最大濃度は 50 mg/mL であり，反復投与時の最大投与容量は 20 mL/kg であったことから，投与可能最大量（MFD）は 1000 mg/kg/日であった．1000 mg/kg/日は，ラットにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.3）において忍容であったことから，最高投与量に設定した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，雌雄各 2 群設定した対照群にはいずれも媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．TK 測定群として対照群は雌雄各 3 例，オピカポン群は雌雄各 9 例／群（各 3 例／時点）のサテライト動物を設け，オピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，死亡率は，500 mg/kg/日の雌雄及び 1000 mg/kg/日の雄でわずかに高値を示したが，高粘度の投与液を高容量投与したことから，投与液の胃からの逆流及び誤嚥により死亡率が増加したと考えられ，死亡率の高値はオピカポンの曝露に起因した変化ではないと判断した．

一般状態では，500 mg/kg/日以上で便色の異常（黄色）が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，毒性学的意義はないと判断した．体重は，1000 mg/kg/日の雌で対照群に比べわずかに低値を示したが，摂餌量にオピカポン投与に起因した変化は認められなかった．血液学的検査及び血液化学的検査では，500 mg/kg/日以上の雌でプロトロンビン時間の延長，1000 mg/kg/日の雄で AST の高値，雌で LDH，リン及びアルブミンの高値が認められた．尿検査では，100 mg/kg/日以上の雄で比重の低値が認められた．器官重量では，100 mg/kg/日以上の雌雄で肝臓重量の低値及び雌で脾臓重量の低値が認められた．

病理組織学的検査では，いずれの投与群でもオピカポンの作用に起因すると考えられる腫瘍性変化及び非腫瘍性変化は認められなかった．なお，500 mg/kg/日以上の死亡・切迫剖検例で上述の投与液の逆流及び誤嚥を反映した変化として，鼻腔や喉頭，咽頭の異物，気管及び肺の炎症性変化が認められた．

その他，触診，眼科学的検査及び剖検において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン，BIA 9-1079 ともに，Cmax 及び AUC24h は投与量に応じて増加し，反復投与による影響は認められなかった．オピカポン及び BIA 9-1079 の曝露量はおおよそ雄に比べ雌で低い傾向を示した．

以上より，オピカポンはラットにおいて，がん原性を示さないと判断した．

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の用量設定試験

［参考資料：4.2.3.5.1-1］

オピカポンの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の用量設定を目的として，9～10 週齢の Crl:WI(Han)系ラット（雌雄各 6 例／群）を用い，胚及び胎児の成長に対する影響について検討した．投与量は 100，500 及び 1000 mg/kg/日に設定した．雄は交配開始の 14 日前から交配期間を経て剖検前日まで，雌は交配開始の 14 日前から交配及び妊娠期間を経て授乳 6 日まで反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．

その結果，一般状態，体重，摂餌量，性周期，交尾率，受胎率，妊娠期間，出産率，分娩児数，出生児数，出生児の生存率，剖検及び着床数において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．なお，500 mg/kg/日以上で便色の異常（暗橙色又は暗赤色）及び床敷きの汚染が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，毒性学的意義はないと判断した．

以上より，オピカポンはラットの雌雄の生殖機能，胎児の生存及び成長に対して 1000 mg/kg/日まで影響を示さず，忍容であると判断した．

2.6.6.6.2 ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

［評価資料：4.2.3.5.1-2］

7～11 週齢の Crl:WI(Han)系ラット（雌雄各 20 例／群）を用い，オピカポンの受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響について検討した．投与量は 150，375 及び 1000 mg/kg/日に設定した．雄は交配開始の 28 日前から交配期間を経て剖検前日まで，雌は交配開始の 14 日前から

交配期間を経て妊娠 6 日まで反復経口投与した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．雌は妊娠 13 日に帝王切開し，妊娠状態について観察した．

その結果，一般状態，体重，摂餌量，性周期，交尾率，受胎率，剖検，精巣重量，黄体数，着床数，着床前胚死亡率及び着床後胚死亡率において，オピカポン投与に起因した変化は認められなかった．なお，1000 mg/kg/日の雌の交配前 2 週間において軽度な体重増加量の低値がみられたが，妊娠期間の体重増加量に差は認められず，毒性を示す変化ではないと判断した．また，375 mg/kg/日以上で便色の異常（赤橙色又は赤色）及び床敷きの汚染が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，毒性学的意義はないと判断した．

以上より，オピカポンはラットの雌雄の受胎能及び初期胚発生に対して影響せず，無毒性量は雌雄ともに 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.6.3 ラットにおける胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

［評価資料：4.2.3.5.2-1］

オピカポンの胚・胎児発生に関する試験の用量設定を目的として，交配成立時 9～10 週齢の Crl:WI(Han)系妊娠ラット（5 例／群）を用い，胎児器官形成期である妊娠 6～17 日に 1 日 1 回反復経口投与し，妊娠動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した．投与量は 100，300 及び 1000 mg/kg/日に設定した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．妊娠 20 日に帝王切開し，母動物の剖検及び胎児の観察を行った．また，TK 測定群として 9 例／群（3 例／時点）のサテライト動物を設け，初回（妊娠 6 日）及び最終投与時（妊娠 17 日）のオピカポン及び BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，母動物に対しては，一般状態，体重，摂餌量及び剖検において投与に起因した変化は認められなかった．なお，1000 mg/kg/日で便色の異常（暗橙色）及び床敷きの汚染が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，毒性学的意義はないと判断した．

胚・胎児に対しては，胚・胎児死亡率，生存胎児数，性比，生存胎児体重，胎盤重量及び胎児外表のいずれにおいてもオピカポン投与の影響は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン，BIA 9-1079 ともに Cmax 及び AUC24h は投与量に応じて増加し，反復投与による影響はなかった．また，非妊娠動物（2.6.6.3.2）と比較し，妊娠による明らかな影響は認められなかった．

以上より，オピカポンはラットの妊娠及び胚・胎児発生に対して 1000 mg/kg/日まで影響しなかった．

2.6.6.6.4 ラットにおける胚・胎児発生に関する試験

［評価資料：4.2.3.5.2-2］

交配成立時 9～10 週齢の Crl:WI(Han)系妊娠ラット（20 例／群）を用い，オピカポンを胎児器官形成期である妊娠 6～17 日に 1 日 1 回反復経口投与し，妊娠動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した．投与量は 150，375 及び 1000 mg/kg/日に設定した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．妊娠 20 日に帝王切開し，母動物の剖検及び胎児の観察を行った．

その結果，母動物に対しては，一般状態，体重，摂餌量及び剖検において投与に起因した変化は認められなかった．なお，妊娠 6～7 日の体重増加量の高値が各投与群で認められたが，対照群の値が施設背景値より低値であり，また妊娠 18～20 日の摂餌量の高値が 1000 mg/kg/日群で認められたが，施設背景値の範囲内であったことから，いずれについても偶発的な変動で，投与による影響ではないと判断した．375 mg/kg/日以上で便色の異常（赤色）及び床敷きの汚染が認められたが，未吸収のオピカポンが排泄されたためと考えられ，毒性学的意義はないと判断した．

胚・胎児に対しては，胚・胎児死亡率，生存胎児数，性比，生存胎児体重，胎盤重量及び胎児外表のいずれにおいてもオピカポン投与の影響は認められなかった．内臓観察では 1000 mg/kg/日で左臍動脈遺残が，骨格観察では 375 mg/kg/日以上で 1 つ以上の指節骨の骨化亢進，1000 mg/kg/日で前頭骨の片側性又は両側性の不均一骨化の発現率の高値が認められた．しかし，いずれも施設背景値の範囲内あるいはわずかに上回る値であり，毒性学的意義はないと判断した．

以上より，オピカポンはラットの母動物及び胚・胎児に対して影響せず，母動物及び胚・胎児に対する無毒性量はいずれも 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.6.5 ウサギにおける用量設定試験

［参考資料：4.2.3.5.2-3］

4 カ月齢の HsdlF:NZW 系の非妊娠雌ウサギを用い，オピカポンの反復投与における最大耐用量について検討した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁した．

2 例に，投与量 250 mg/kg/日（投与容量 5 mL/kg）及び 500 mg/kg/日（投与容量 10 mL/kg）の順で 5 日間の休薬期間を置き，3 日間の反復投与を行った．その結果，500 mg/kg/日で体重の減少及び摂餌量の著減が認められたことから，4 日間の休薬期間を置いて，375 mg/kg/

日（投与容量 10 mL/kg）を 3 日間反復投与した．250 及び 375 mg/kg/日でも体重及び摂餌量の減少が認められたが，その程度は 500 mg/kg/日に比べ小さかった．投与終了後の剖検では異常は認められなかった．

次いで 3 例に，425 mg/kg/日（投与容量 10 mL/kg）を 7 日間反復投与した．その結果，体重の減少及び摂餌量の著減又は廃絶が認められたが，一般状態観察では糞便の減少以外に異常は認められなかった．投与終了後の剖検では，摂餌の廃絶に関連すると考えられる所見として，胃内の黄色内容物や被毛，結腸及び回腸のガスによる拡張などが認められ，また腸間膜リンパ節の大型及び暗色化が認められた．

以上より，胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験では，最高用量を 375 mg/kg/日に設定するのが適当であると判断した．

2.6.6.6.6　　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

［評価資料：4.2.3.5.2-4］

オピカポンの胚・胎児発生に関する試験の用量設定を目的として，交配成立時約 4 カ月齢の HsdlF:NZW 系妊娠ウサギ（5 例／群）を用い，胎児器官形成期である妊娠 6～18 日に 1 日 1 回反復経口投与し，妊娠母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した．非妊娠ウサギを用いた用量設定試験（2.6.6.6.5）の結果から，投与量は 150，250 及び 375 mg/kg/日に設定した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 8 mL/kg とした．妊娠 28 日に帝王切開し，母動物の剖検及び胎児の観察を行った．

その結果，母動物に対しては，250 mg/kg/日の 2 例及び 375 mg/kg/日の 4 例で摂餌の廃絶及び体重減少が認められ，切迫剖検した．これらの例では，投与初期から糞便の減少や摂水量の減少がみられ，剖検では肝臓の小葉像明瞭や胃内の黄色内容物（被験物質を含む）などが認められた．一方，この他の体重や摂餌量に影響が認められなかった例では，剖検でも異常は認められなかった．

胚・胎児に対しては，150 及び 250 mg/kg/日では影響は認められなかった．375 mg/kg/日の生存母動物 1 例の生存胎児は 2 例のみであったが，外表異常は認められなかった．

以上より，胚・胎児発生に関する試験では，150 mg/kg/日と 250m g/kg/日の間の投与量を最高用量に設定するのが適当であると判断した．

2.6.6.6.7　　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験

［評価資料：4.2.3.5.2-5］

交配成立時約 4 カ月齢の HsdlF:NZW 系妊娠ウサギ（20 例／群）を用い，胎児器官形成期である妊娠 6～18 日に 1 日 1 回反復経口投与し，妊娠母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影

響を検討した．投与量は 100，175 及び 225 mg/kg/日に設定した．オピカポンは 0.2 w/v% HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 8 mL/kg とした．妊娠 28 日に帝王切開し，母動物の剖検及び胎児の観察を行った．また，TK 測定群として 3 例／群のサテライト動物を設け，初回（妊娠 6 日）及び最終投与時（妊娠 18 日）のオピカポン及びその代謝物である BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，母動物に対しては，175 mg/kg/日以上で投与初期に体重及び摂餌量の減少が認められた．175 mg/kg/日の 1 例及び 225 mg/kg/日の 2 例では，持続的な摂餌の廃絶が認められたため，妊娠 16～20 日に切迫剖検した．これらの群の切迫剖検例及び生存例の一部では，剖検で胸水及び腹水が認められた．なお，225 mg/kg/日では，妊娠 18 日の投与終了後，妊娠 22 日までの摂餌量の高値が認められた．

胚・胎児に対しては，胚・胎児死亡率，生存胎児数，性比，生存胎児体重，胎盤重量，胎児外表，内臓及び骨格観察のいずれにおいてもオピカポンの投与に起因した変化は認められなかった．なお，矮小児が 100，175 及び 225 mg/kg/日に 1，2 及び 1 例認められ，また内臓・骨格検査で異常や変異の発現率が高値を示した所見が認められたが，矮小児の発現率，内臓・骨格の異常・変異の各所見の発現率はいずれも施設背景値の範囲内の値であり，用量との関連も認められないことから，毒性学的意義はないと判断した．

TK 測定では，オピカポン，BIA 9-1079 ともに Cmax 及び AUC24h は投与量に応じて増加し，反復投与による影響はなかった．

以上より，ウサギの母動物に対して 175 mg/kg/日以上で体重及び摂餌量の減少が認められたことから，母動物に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と判断した．一方，オピカポンはウサギの胚・胎児に対して影響せず，胚・胎児に対する無毒性量は 225 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.6.8 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

［評価資料：4.2.3.5.3-1］

Crl:WI(Han)系妊娠ラット（22 例／群）に，オピカポンを着床から離乳までの期間（妊娠 6 日から分娩後 20 日）に 1 日 1 回反復経口投与し，妊娠／授乳期の母動物，受胎産物及び出生児の発生に及ぼす影響を検討した．投与量は 150，375 及び 1000 mg/kg/日に設定した．オピカポンは 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．母動物は自然分娩させ，哺育行動について観察し，出生児は生後 21 日に離乳させ，発育分化の観察，行動検査及び生殖能力検査を行い，生殖能力検査に用いた雌は妊娠 13 日に帝王切開して子宮内を観察した．

その結果，母動物に死亡例は認められなかった．一般状態，体重，摂餌量及び剖検において毒性学的意義のある変化は認められなかった．妊娠期間，出産率，分娩児数，出生児数及

び哺育行動についてもオピカポン投与の影響は認められなかった．なお，150 mg/kg/日以上で便色の異常（赤色）及び床敷きの汚染が認められたが，未吸収のオピカポンが糞中に混入した影響と考えられ，毒性学的意義はないと判断した．また，各投与群で妊娠 6～7 日の体重増加量が対照群に比べ高値であったが，妊娠 9～12 日では逆に低値傾向がみられた．妊娠 6～18 日の体重増加量では差はみられず，また妊娠期間の摂餌量に差は認められなかったことから，偶発的な変動であり，投与による影響ではないと判断した．分娩後，1000 mg/kg/日では哺育 21 日の体重及び哺育 1～21 日の体重増加量が高値であり，哺育 7～14 日の摂餌量も高値であった．

出生児については，1000 mg/kg/日の出生児の雌雄各 20 例のうち雄 2 例を離乳後（生後 34 及び 62 日）に状態悪化により切迫剖検した．生後 34 日の切迫剖検例では下部消化管の食塊及び液状物による膨満が認められた．一方，生後 62 日の切迫剖検例では異常は認められず，2 例に共通の変化は認められなかったが，オピカポン投与との関連性は否定できなかった．雄では，375 mg/kg/日又は 1000 mg/kg/日で体重増加量の高値あるいは低値を示した期間があったが，離乳後 64 日の体重及び 1～64 日の体重増加量には差は認められなかった．また，各投与群で F1 雌の交配前の体重増加量の低値がみられ，妊娠期間には 1000 mg/kg/日で体重増加量の高値がみられたが，交配開始時の体重及び妊娠 13 日の体重には差は認められなかった．これらの体重や摂餌餌量の変化はいずれも一過性の変動であり，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．その他に，性比，出生児の生存率，発育分化，感覚機能，行動，学習及び生殖能力に対してオピカポン投与の影響は認められなかった．なお，375 mg/kg/日以上で生後 15 日の眼瞼開裂の発現率が高かったが，生後 21 日の瞳孔対光反応及びその他の発育分化の項目に影響が認められなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．

以上より，オピカポンはラットの母動物の機能及び離乳までの出生児に対して影響せず，母動物機能及び離乳までの出生児に対する無毒性量は 1000 mg/kg/日と判断した．一方，1000 mg/kg/日で離乳後の出生児に状態悪化による切迫剖検例が認められたことから，離乳後の出生児に対する無毒性量は 375 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.7 局所刺激性試験

実施しなかった．

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

実施しなかった．

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

独立した試験は実施しなかったが，ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2）において，免疫細胞フェノタイプ解析及び SRBC に対する抗体産生能の検討により免疫毒性を評価した．その結果，いずれにおいても，免疫毒性を示唆する変化は認められなかった．

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

実施しなかった．

2.6.6.8.4 依存性試験

実施しなかった．

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

2.6.6.8.5.1 BIA 9-1079 のマウスにおける単回経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.7.5-1］

11 週齢の Crl:CD-1(ICR)系マウスに BIA 9-1079 を単回経口投与し，14 日間の観察後に剖検した．300 及び 1000 mg/kg を雌（各 3 例／群）に，2000 mg/kg を雌雄（各 3 例／群）に投与した．BIA 9-1079 は蒸留水に懸濁し，300 及び 1000 mg/kg 群は 10 mL/kg，2000 mg/kg は 20 mL/kg の投与容量とした．

その結果，2000 mg/kg まで死亡例は認められなかった．2000 mg/kg の雌雄で投与後約 2 時間より呼吸数の増加が認められ，投与 3 日までに回復した．また，2000 mg/kg の雄 1 例で投与後約 2 時間に円背及び立毛が認められた．体重及び剖検において異常は認められなかった．

以上より，マウスに BIA 9-1079 を単回経口投与したときの概略の致死量は，雌雄とも 2000 mg/kg を超える量であった．

2.6.6.8.5.2 BIA 9-1079 のラットにおける単回経口投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.7.5-2］

7～11 週齢の Crl:CD(SD)系ラットに BIA 9-1079 を単回経口投与し，14 日間の観察後に剖検した．300 及び 1000 mg/kg を雌（各 3 例／群）に，2000 mg/kg を雌雄（各 3 例／群）に投与した．BIA 9-1079 は蒸留水に懸濁し，300 及び 1000 mg/kg 群は 10 mL/kg，2000 mg/kg は 20 mL/kg の投与容量とした．

その結果，2000 mg/kg まで死亡例は認められなかった．2000 mg/kg の雌で投与後 45 分から約 4 時間までに自発運動減少及び呼吸数の増加が認められた．体重及び剖検に異常は認められなかった．

以上より，ラットに BIA 9-1079 を単回経口投与したときの概略の致死量は，雌雄とも 2000 mg/kg を超える量であった．

2.6.6.8.5.3 BIA 9-1079 のラットにおける単回静脈内投与毒性試験

［参考資料：4.2.3.7.5-3］

7～9 週齢の Crl:CD(SD)系ラットに BIA 9-1079 を単回静脈内投与し，14 日間の観察後に剖検した．2 mg/kg を雌雄各 3 例に，8 mg/kg を雌 3 例に投与した．BIA 9-1079 は DMSO に溶解し，投与容量は 0.3 mL/kg とした．

その結果，8 mg/kg の雌 1 例が投与直後より自発運動減少を示し，投与後 5 分に死亡した．生存例では，2 mg/kg で赤色尿が，8 mg/kg で自発運動減少，努力性呼吸，鼻からの赤色分泌物及びケージの汚染が認められた．体重及び剖検に異常は認められなかった．

以上より，ラットに BIA 9-1079 を単回静脈内投与したときの概略の致死量は，8 mg/kg であった．

2.6.6.8.5.4 BIA 9-1103 の細菌を用いた復帰突然変異試験

［評価資料：4.2.3.7.5-4］

Salmonella typhimurium TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び *Escherichia coli* WP2*uvr*A を用い，プレート法並びにプレインキュベーション法により，代謝活性化による場合（S9mix 存在下）及び代謝活性化によらない場合（S9mix 非存在下）について試験を実施した．BIA 9-1103 は DMSO に溶解し，濃度範囲は 17～5000 μg/plate とした．

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

以上，BIA 9-1103 は遺伝子突然変異誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.8.5.5 BIA 9-1079 の細菌を用いた復帰突然変異試験

［参考資料：4.2.3.7.5-5］

Salmonella typhimurium TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び *Escherichia coli* WP2*uvr*A を用い，プレート法並びにプレインキュベーション法により，代謝活性化による場合（S9mix 存在下）及び代謝活性化によらない場合（S9mix 非存在下）について試験を実施した．BIA 9-1079 は DMSO に溶解し，濃度範囲は 1.7～500 μg/plate とした．

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

以上，BIA 9-1079 は遺伝子突然変異誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.8.5.6 BIA 9-1103 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

［評価資料：4.2.3.7.5-6］

健康成人の末梢血リンパ球を用い，短時間処理（S9mix 存在下又は S9mix 非存在下で BIA 9-1103 を 5 時間処理後，培養 29 時間時点で細胞採取）及び連続処理（S9mix 非存在下で BIA 9-1103 を 25 時間連続処理後，培養 29 時間又は 53 時間時点で細胞採取）で試験を実施した．BIA 9-1103 は DMSO に溶解して培養液に添加し，濃度範囲は短時間処理で 625～3000 μg/mL，連続処理で 78～625 μg/mL（培養 29 時間時点で細胞採取）又は 156～625 μg/mL（培養 53 時間時点で細胞採取）とした．

その結果，短時間処理及び連続処理，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの濃度においても染色体構造異常を有する細胞の増加は認められなかった．一方，連続処理の培養 53 時間の条件において，625 μg/mL の duplicate で培養したうちの一方で倍数体の増加が認められた．試験に使用した BIA 9-1103 原薬（Batch No.：[redacted]）には，オピカポンが 9%含まれており，オピカポンの染色体異常試験（2.6.6.4.1.2）では，連続処理の培養 53 時間の条件において，78 μg/mL で明らかな倍数体の増加（出現頻度：3.54%及び 2.28%）が認められたことを考慮すると，本試験で認められた倍数体の増加（出現頻度：1.32%）は，BIA 9-1103 原薬に含まれるオピカポン（BIA 9-1103 625 μg/mL 中にオピカポン約 56 μg/mL に相当）に起因した変化と考えられた．

以上，BIA 9-1103 は染色体異常誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.8.5.7 BIA 9-1079 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

［参考資料：4.2.3.7.5-7］

健康成人の末梢血リンパ球を用い，短時間処理（S9mix 存在下又は S9mix 非存在下で BIA 9-1079 を 5 時間処理後，培養 29 時間時点で細胞採取）及び連続処理（S9mix 非存在下で BIA 9-1079 を 25 時間連続処理後，培養 29 時間又は 53 時間時点で細胞採取）で試験を実施した．BIA 9-1079 は DMSO に溶解して培養液に添加し，濃度範囲は，短時間処理で 31～250 μg/mL，連続処理で 8～31 μg/mL とした．

その結果，短時間処理及び連続処理，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの濃度においても染色体構造異常及び数的異常を有する細胞の増加は認められなかった．

以上，BIA 9-1079 は染色体異常誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.8.5.8 BIA 9-1079 のマウスを用いた小核試験

［参考資料：4.2.3.7.5-8］

6～7 週齢の CD-1 系マウス（対照群は雌雄各 5 例，BIA 9-1079 2000 mg/kg/日群は雄 10 例雌 9 例，その他の群は雄 5 例／群）に BIA 9-1079 を 500，1000 及び 2000 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回 2 日間反復経口投与した．なお，用量設定試験において，2000 mg/kg/日を 1 日 1 回 2 日間投与した結果，1/6 例が振戦，円背，呼吸困難などを示して切迫剖検となったが，他の例に異常は認められなかったことから，2000 mg/kg/日を最高投与量に設定した．BIA 9-1079 は 1 w/v%MC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 20 mL/kg とした．2 回目投与後 24 時間に骨髄塗抹標本を作製し，各群の雌雄又は雄 5 例について幼若赤血球を観察した．TK 測定群として 2000 mg/kg/日群に雌雄各 9 例（2～3 例／時点）のサテライト動物を設け，2 回目投与後 0.5，1 及び 2 時間における BIA 9-1079 の血漿中濃度を測定した．

その結果，いずれの投与量においても小核を有する幼若赤血球の出現頻度の増加は認められなかった．なお，500 及び 1000 mg/kg/日群の雄の各 1 例，2000 mg/kg/日群の雌雄各 1 例が死亡した．

以上，BIA 9-1079 は小核誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

不純物について，*in silico* 構造活性相関による定性的な変異原性予測を実施した［3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.P.5.5］．また，予測結果から変異原性リスクが疑われた不純物等について，以下の遺伝毒性試験を実施した．

2.6.6.8.6.1 不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験

［参考資料：4.2.3.7.6-1，4.2.3.7.6-2，4.2.3.7.6-3，4.2.3.7.6-4，4.2.3.7.6-5，4.2.3.7.6-6，4.2.3.7.6-7，4.2.3.7.6-8，4.2.3.7.6-9，4.2.3.7.6-10，4.2.3.7.6-11，4.2.3.7.6-12，4.2.3.7.6-13，4.2.3.7.6-14，4.2.3.7.6-15，4.2.3.7.6-16，4.2.3.7.6-17］

不純物O*，BIA 9-1100，BIA 9-1101，不純物P*，不純物Q*，不純物R*，不純物A*，不純物B*，不純物C*，不純物D*，不純物S*，不純物T*，不純物E*，不純物U*，不純物V*，不純物F*，不純物G*，不純物H*，不純物I*，不純物J*，不純物K*，不純物L*，不純物M* 及び 不純物N* について，*Salmonella typhimurium* TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び *Escherichia coli* WP2*uvr*A を用い，代謝活性化による場合（S9mix 存在下）及び代謝活性化によらない場合（S9mix 非存在下）について復帰突然変異試験を実施した．各不純物は DMSO に溶解して試験を実施した．これに加え，不純物L*

＊新薬承認情報提供時に置換

についてはアセトンに溶解した試験も実施した．濃度範囲及び試験成績を表 2.6.6.8.6.1-1 及び表 2.6.6.8.6.1-2 に示した．

その結果，不純物B*，不純物D*，不純物E*，不純物H*，不純物I*，不純物M*及び不純物N*では復帰変異コロニー数の増加が認められ，遺伝子突然変異誘発性を有すると判断した．この他の不純物については，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められず，遺伝子突然変異誘発性を有さないと判断した．

表 2.6.6.8.6.1-1　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験の成績

不純物	濃度範囲（μg/plate）		結果	資料番号	GLP 適合性
	S9mix 非存在下	S9mix 存在下			
不純物 A*	5～1667	5～1667	陰性	［4.2.3.7.6-1］	非適合
不純物 B*	6.25～200	6.25～200	陽性		
不純物 C*	5～1667	5～1667	陰性		
不純物 D*	5～1667	5～1667	陽性		
不純物 S*	0.3～100	1～333.3	陰性		
不純物 T*	7.5～2500	7.5～2500	陰性		
不純物 U*	3.3～1000	3.3～1000	陰性		
不純物 V*	5～1667	5～1667	陰性		
不純物 O*	17～5000	17～5000	陰性	［4.2.3.7.6-2］	
BIA 9-1100	17～5000	17～5000	陰性		
BIA 9-1101	5～1667	5～1667	陰性		
不純物 P*	17～5000	17～5000	陰性		
不純物 Q*	5～1667	5～1667	陰性		
不純物 R*	17～1000	5～1667	陰性		
不純物 A*	31.25～1000	31.25～1000	陰性	［4.2.3.7.6-3］	適合
不純物 B*	12.5～400	12.5～400	陽性	［4.2.3.7.6-4］	
不純物 C*	17～5000	17～5000	陰性	［4.2.3.7.6-5］	
不純物 D*	3.3～3333.3	10～3333.3	陽性	［4.2.3.7.6-6］	
不純物 E*	5～5000	5～5000	陽性	［4.2.3.7.6-7］	
不純物 F*	5～5000	5～5000	陰性	［4.2.3.7.6-8］	
不純物 G*	5～5000	5～5000	陰性	［4.2.3.7.6-9］	
不純物 H*	5～5000	5～5000	陽性	［4.2.3.7.6-10］	
不純物 I*	5～5000	5～5000	陽性	［4.2.3.7.6-11］	
不純物 J*	5～5000	5～5000	陰性	［4.2.3.7.6-12］	
不純物 K*	5～5000	5～5000	陰性	［4.2.3.7.6-13］	
不純物 L*	5～5000	5～5000	陰性*	［4.2.3.7.6-14］ ［4.2.3.7.6-15］	
不純物 M*	5～5000	5～5000	陽性	［4.2.3.7.6-16］	
不純物 N*	5～5000	5～5000	陽性	［4.2.3.7.6-17］	

*：DMSO を媒体とした場合は陽性を示したが［4.2.3.7.6-14］，アセトンを媒体とした場合は陰性であった［4.2.3.7.6-15］．不純物L*はカルボン酸ハロゲン化物であり，カルボン酸ハロゲン化物は DMSO と反応することで細菌を用いた復帰突然変異試験において偽陽性を示すことが知られていることから[1) 2)]，不純物L*は遺伝子突然変異誘発性を有さないと判断した［3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.S.3.2（[redacted]）］．

表 2.6.6.8.6.1-2　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験における陽性結果の菌株及び条件（非 GLP 試験を除く）

不純物	資料番号	陽性結果の菌株及び条件
不純物 B*	［4.2.3.7.6-4］	*S. typhimurium* TA100：S9mix 非存在下及び存在下
不純物 D*	［4.2.3.7.6-6］	*S. typhimurium* TA100：S9mix 非存在下及び存在下
不純物 E*	［4.2.3.7.6-7］	*S. typhimurium* TA100：S9mix 非存在下及び存在下
不純物 H*	［4.2.3.7.6-10］	*S. typhimurium* 全菌株，*E. coli*：S9mix 非存在下及び存在下
不純物 I*	［4.2.3.7.6-11］	*E. coli*：S9mix 存在下
不純物 M*	［4.2.3.7.6-16］	*S. typhimurium* TA100：S9mix 非存在下及び存在下， *E. coli*：S9mix 存在下
不純物 N*	［4.2.3.7.6-17］	*S. typhimurium* 全菌株，*E. coli*：S9mix 非存在下， *S. typhimurium* TA1535，TA100：S9mix 存在下

S. typhimurium: *Salmonella typhimurium*, *E. coli*: *Escherichia coli*

2.6.6.8.6.2　不純物のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

［参考資料：4.2.3.7.6-18，4.2.3.7.6-19，4.2.3.7.6-20，4.2.3.7.6-21］

不純物A*，不純物B*，不純物C* 及び 不純物D* について，健康成人の末梢血リンパ球を用い，短時間処理（S9mix 存在下又は S9mix 非存在下で 5 時間処理後，培養 29 時間時点で細胞採取）及び連続処理（S9mix 非存在下で 25 時間連続処理後，培養 29 時間又は 53 時間時点で細胞採取）で試験を実施した．各不純物は DMSO に溶解して培養液に添加した．濃度範囲及び試験成績を表 2.6.6.8.6.2-1 に示した．

その結果，不純物A* 及び 不純物C* 及びについては，短時間処理及び連続処理，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの濃度においても染色体構造異常及び数的異常を有する細胞の増加は認められなかったことから，染色体異常誘発性を有さないと判断した．

不純物B* 及び 不純物D* については，短時間処理及び連続処理，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの濃度においても染色体構造異常を有する細胞の増加は認められなかったが，連続処理の培養 53 時間の条件において，不純物B* の 100 μg/mL 以上，不純物D* の 200 μg/mL で倍数体の増加が認められたことから，数的異常誘発性を有すると判断した．

表 2.6.6.8.6.2-1　不純物のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験の成績

不純物	濃度範囲（μg/mL）			結果		資料番号
	短時間処理	連続処理		構造異常	数的異常	
		29 時間	53 時間			
不純物 A*	27～400	27～250	12.5～50	なし	なし	［4.2.3.7.6-18］
不純物 B*	26～208	50～150	50～150	なし	あり	［4.2.3.7.6-19］
不純物 C*	56～446	111～446	111～446	なし	なし	［4.2.3.7.6-20］
不純物 D*	54～250	100～200	100～200	なし	あり	［4.2.3.7.6-21］

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.6.8.6.3 [redacted] B* 及び [redacted] D * のマウスを用いた小核試験

［参考資料：4.2.3.7.6-22，4.2.3.7.6-23］

6～7 週齢の CD-1 系マウスに不純物 [redacted] B* 及び [redacted] D * を 1 日 1 回 2 日間反復経口投与した．[redacted] B* については，対照群は雌雄各 5 例，500 及び 1000 mg/kg/日群は雄各 5 例，2000 mg/kg/日群は雌雄各 8 例とした．[redacted] D * については，対照群は雌雄各 5 例，2000 mg/kg/日群は雌雄各 7 例とした．なお，用量設定試験において，1000 及び 2000 mg/kg/日を 1 日 1 回 2 日間投与した結果（2000 mg/kg/日については 3 クールの投与を実施），BIA 9-2995 の 2000 mg/kg/日の 1/6 例で一過性のあえぎ呼吸が認められた以外に異常は認められなかったことから，[redacted] B* 及び [redacted] D * ともに 2000 mg/kg/日を最高投与量に設定した．いずれも 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は BIA 9-2995 については 20 mL/kg，[redacted] D * については 10 mL/kg とした．2 回目投与後 24 時間に骨髄塗抹標本を作製し，幼若赤血球を観察した．TK 測定群として，2000 mg/kg/日群に雌雄各 9 例（2～3 例／時点）のサテライト動物を設け，2 回目投与後 0.5，1 及び 2 時間における [redacted] B* 及び [redacted] D * の血漿中濃度を測定した．

その結果，[redacted] B* 及び [redacted] D * ともに，いずれの投与量においても小核を有する幼若赤血球の出現頻度の増加は認められなかった．

以上，[redacted] B* 及び [redacted] D * はいずれも小核誘発性を有さないと判断した．

2.6.6.8.6.4 [redacted] B* 及び [redacted] D * の混合物のマウスを用いた小核試験

［参考資料：4.2.3.7.6-24］

6～7 週齢の CD-1 系マウスに不純物 [redacted] B* と [redacted] D * の混合物（以下，[redacted] B* /[redacted] D *）を 1 日 1 回 2 日間反復経口投与した．対照群は雌雄各 5 例，[redacted] B* /[redacted] D * の 0.45/2.7 及び 0.9/5.4 mg/kg/日群は雄各 5 例，1.8/10.8 mg/kg/日群は雌雄各 8 例とした．なお，用量設定試験において，[redacted] B*/[redacted] D * の 1.8/10.8 mg/kg/日を 1 日 1 回 2 日間投与した結果（2 クールの投与を実施），異常は認められなかったことから，1.8/10.8 mg/kg/日を最高投与量に設定した．[redacted] B*/[redacted] D * は 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，対照群には媒体を投与した．投与容量は 10 mL/kg とした．2 回目投与後 24 時間に骨髄塗抹標本を作製し，幼若赤血球を観察した．TK 測定群として，[redacted] B*/[redacted] D * の 1.8/10.8 mg/kg/日群に雌雄各 9 例（3 例／時点）のサテライト動物を設け，2 回目投与後 0.5，1 及び 2 時間の血漿中濃度を測定した．

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

以上の条件で，[redacted] B*/[redacted] D * は小核誘発性を示さなかった．

2.6.6.8.7 光毒性試験

2.6.6.8.7.1 Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験

［評価資料：4.2.3.7.7-1］

Balb/c 3T3 細胞を用いてオピカポンの光毒性試験を実施した．オピカポンは DMSO に溶解し，3.91～500 μg/mL の濃度範囲で試験を実施した．UVA 非照射及び照射の条件下における細胞生存率を比較することにより，光毒性について検討した．

その結果，50%細胞生存率濃度は，非照射で 392.8 μg/mL，照射で 390.2 μg/mL であった．算出された Photo Irritation Factor（PIF）は 1.01，Mean Photo Effect（MPE）は 0.032 であり，いずれも光毒性を陽性と判定する基準値（PIF：2 以上，MPE：0.1 以上）未満であったことから，オピカポンは光毒性を示さないと判断した．

2.6.6.8.7.2 モルモットを用いた皮膚光感作性試験

［評価資料：4.2.3.7.7-2］

7 週齢の HsdPoc:DH 系モルモット（対照群は雌 10 例，オピカポン感作群は雌 20 例／群）を用いてオピカポンの皮膚光感作性を検討した．頚背部に完全フロイントアジュバントと生理食塩液の 1：1 乳化物を 0.1 mL ずつ皮内投与した後に 50 w/w%のオピカポンを経皮投与し，10 J/cm^2 の UVA と 1.8 J/cm^2 の UVB の混合紫外線を照射した．皮内投与以外の操作を 2 週間に 4 回繰り返し，初回感作の 3 週間後に 10，15，25 及び 50 w/w%のオピカポンを経皮投与し，10 J/cm^2 の UVA を照射した．UVA 照射後 24，48 及び 72 時間に皮膚反応を観察した．

その結果，オピカポン感作群のいずれの動物のいずれの惹起部位にも皮膚反応は認められなかった．

以上より，オピカポンは皮膚光感作性，皮膚感作性，皮膚光刺激性及び皮膚刺激性を示さないと判断した．

2.6.6.8.8 細胞毒性試験

2.6.6.8.8.1 培養ヒト肝細胞を用いた細胞毒性試験

［参考資料：4.2.3.7.7-3］

ヒト肝細胞及び HepaRG 細胞を用いて，オピカポン，BIA 9-1103，BIA 9-1079，エンタカポン及びトルカポンの肝細胞に対する細胞毒性を 24 時間培養により検討した．

ヒト肝細胞では，ミトコンドリア膜電位及び ATP 含量について検討した．結果を表 2.6.6.8.8.1-1 に示した．オピカポン，エンタカポン及びトルカポンは，いずれもミトコンドリア膜電位を低下させ，ATP 含量を減少させた．

表 2.6.6.8.8.1-1　ヒト肝細胞におけるミトコンドリア膜電位及び ATP 含量に対する作用

被験物質	IC_{50} 値（μM）	
	ミトコンドリア膜電位	ATP 含量
オピカポン	181	98
エンタカポン	4	45
トルカポン	29	25

HepaRG 細胞では，ミトコンドリア膜電位及び ATP 含量，並びにアポトーシス作用の指標であるカスパーゼ 3 活性及びグルタチオン濃度について検討した．結果を表 2.6.6.8.8.1-2 及び表 2.6.6.8.8.1-3 に示した．

ミトコンドリア膜電位に対しては，オピカポン，エンタカポン，トルカポン及び BIA 9-1079 のいずれも低下を示した．ATP 含量に対しては，オピカポン及びエンタカポンでは 200 μmol/L まで影響は認められなかったが，トルカポン及び BIA 9-1079 では減少した．カスパーゼ 3 活性に対しては，オピカポン，エンタカポン，トルカポンでは 200 μmol/L まで影響は認められなかった．BIA 9-1103 は 100 μmol/L まで影響は認められなかったが，BIA 9-1079 では活性の上昇が認められた．グルタチオン濃度に対しては，オピカポン，エンタカポンでは 200 μmol/L まで影響は認められなかったが，トルカポンでは低下した．BIA 9-1103 及び BIA 9-1079 は 100 μmol/L まで影響は認められなかった．

表 2.6.6.8.8.1-2　HepaRG 細胞におけるミトコンドリア膜電位及び ATP 含量に対する作用

被験物質	ミトコンドリア膜電位 IC50 値（μM）	ATP 含量
オピカポン	500	200 μmol/L まで影響なし
エンタカポン	1000	200 μmol/L まで影響なし
トルカポン	100	200 μmol/L で対照群の 17.7%
BIA 9-1079	50	100 μmol/L で対照群の 65.9%

表 2.6.6.8.8.1-3　HepaRG 細胞におけるカスパーゼ 3 活性及びグルタチオン濃度に対する作用

被験物質	カスパーゼ 3 活性	グルタチオン濃度
オピカポン	200 μmol/L まで影響なし	200 μmol/L まで影響なし
エンタカポン	200 μmol/L まで影響なし	200 μmol/L まで影響なし
トルカポン	200 μmol/L まで影響なし	200 μmol/L で対照群の 28.1%
BIA 9-1103	100 μmol/L まで影響なし	100 μmol/L まで影響なし
BIA 9-1079	30 μmol/L まで影響なし， 100 μmol/L で対照群に対して 1.53 倍	100 μmol/L まで影響なし

以上，ヒト肝細胞では，オピカポンはエンタカポンやトルカポンに比べて，ミトコンドリア膜電位及び ATP 含量の低下作用が最も弱かった．HepaRG 細胞では，ミトコンドリア膜電位，ATP 含量及びグルタチオン濃度の低下作用は，オピカポン，エンタカポンに比べ，トルカポンで強かった．いずれの化合物もカスパーゼ 3 活性に対する影響は認められなかった．代謝物では，BIA 9-1079 は HepaRG 細胞においてミトコンドリア膜電位及び ATP 含量を低下させ，カスパーゼ 3 活性を上昇させた．

2.6.6.8.8.2 新鮮ヒト肝細胞を用いた細胞毒性試験

［参考資料：4.2.3.7.7-4］

新鮮ヒト肝細胞を用いて，オピカポン，BIA9-1079 及びトルカポンの細胞毒性を細胞形態及び細胞生存率を指標に 48 時間培養により検討した．

その結果，オピカポンは細胞形態及び細胞生存率に影響を及ぼさなかった．一方，BIA 9-1079 及びトルカポンでは，いずれも 100 μ mol/L において前アポトーシス性の変化が認められ，細胞生存率は対照群に対して，BIA 9-1079 では 6.94%，トルカポンでは 38.46%と低値であった．

2.6.6.8.9 併用毒性試験

2.6.6.8.9.1 オピカポンとレボドパ／カルビドパのラットにおける経口投与による 13 週間反復併用投与毒性試験

［評価資料：4.2.3.7.7-5］

7 週齢の RccHan:WIST 系ラット（雌雄各 10 例／群）にオピカポン及びレボドパ／カルビドパをそれぞれ 1 日 1 回 13 週間反復経口投与したときの毒性変化について検討した．投与量（オピカポン／レボドパ／カルビドパの順で表記）は，オピカポン単独投与群として 1000/0/0 mg/kg/日，レボドパ／カルビドパ投与群として 0/20/5 mg/kg/日，オピカポン及びレボドパ／カルビドパの併用投与群として 1000/20/5，1000/50/12.5 及び 1000/120/30 mg/kg/日を設定した．群構成を表 2.6.6.8.9.1-1 に示した．

オピカポン及びレボドパ／カルビドパはそれぞれ 0.2 w/v%HPMC 溶液に懸濁し，レボドパ／カルビドパはオピカポンの投与後約 2 時間に投与した．対照群には媒体を投与した．オピカポンの投与容量は 20 mL/kg，レボドパ／カルビドパの投与容量は 10 mL/kg とした．TK 測定群として，対照群は雌雄各 3 例，その他の群は雌雄各 9 例／群（各 3 例／時点）のサテライト動物を設け，初回及び反復投与後のオピカポン，オピカポンの代謝物である BIA 9-1079 及び BIA 9-1106，レボドパ，カルビドパ並びにレボドパの代謝物である 3-OMD の血漿中濃度を測定した．

表 2.6.6.8.9.1-1　オピカポンとレボドパ／カルビドパのラットにおける経口投与による 13 週間反復併用投与毒性試験の群構成

群名	投与量（mg/kg/日）			投与量の表記
	オピカポン	レボドパ	カルビドパ	
対照群	0	0	0	0/0/0
オピカポン単独投与群	1000	0	0	1000/0/0
レボドパ／カルビドパ併用投与群	0	20	5	0/20/5
オピカポン及びレボドパ／カルビドパ併用投与群	1000	20	5	1000/20/5
	1000	50	12.5	1000/50/12.5
	1000	120	30	1000/120/30

その結果，いずれの投与群でもオピカポン投与に起因した死亡例は認められなかった．なお，TK 測定群の 1000/120/30 mg/kg/日の雄 1 例で状態悪化による切迫剖検例が認められたが，齧り切った経口ゾンデが食道に滞留していたことから，オピカポン投与による影響ではないと判断した．

一般状態では，オピカポンの 1000 mg/kg/日とレボドパ／カルビドパの 50/12.5 及び 120/30 mg/kg/日を併用投与した群（1000/50/12.5 及び 1000/120/30 mg/kg/日群）において虚脱及び粗毛が認められ，1000/120/30 mg/kg/日の雄では体重増加抑制も認められた．レボドパ／カルビドパの 5 週間反復投与試験 [3)] において，立毛，自発運動抑制などの一般状態変化や体重増加抑制が認められることから，これらのオピカポンとレボドパ／カルビドパの併用投与群で認められた変化はレボドパ／カルビドパの毒性又は薬理作用に基づく変化と考えられた．なお，オピカポンを投与したすべての群で便色の異常（黄色）が認められたが，未吸収のオピカポンが混入した影響と考えられ，毒性学的意義はないと判断した．この他，1000/50/12.5 及び 1000/120/30 mg/kg/日群では流涎が散見され，レボドパの薬理作用に関連した変化と考えられた．摂餌量については，1000/20/5，1000/50/12.5 及び 1000/120/30 mg/kg/日群で増加を示した期間がみられたが，投与期間全体では差は認められず，毒性学的意義はないと判断した．

血液学的検査では MCH，高蛍光網赤血球比率，白血球数，リンパ球数，大型非染色球数及びメトヘモグロビン比率の高値，ヘモグロビン濃度分布幅の低値が，血液化学的検査ではカリウム及びリンの高値，カルシウム，蛋白及びアルブミンの低値が，主に 1000/120/30 mg/kg/日群で認められたが，いずれも軽度な変動であり，骨髄や脾臓，肝臓，腎臓などに病理組織学的変化は認められなかった．したがって，いずれの変動も毒性学的意義はないと判断した．

器官重量では，1000/120/30 mg/kg/日群の雄で胸腺重量の低値が認められたが，臨床検査及び病理組織学的検査において免疫毒性を示唆するような変化は認められなかったことから，

毒性学的意義の乏しい変化と判断した．また，同群の雌で卵巣重量の高値が認められたが，卵巣に病理組織学的変化は認められず，毒性学的意義の乏しい変化と判断した．

剖検では，オピカポンとレボドパ／カルビドパの併用投与群で眼窩外涙腺に隣接する組織が認められ，病理組織学的には褐色脂肪の過形成であった．それに加え，病理組織学的検査では，1000/50/12.5 及び 1000/120/30 mg/kg/日群で耳下腺，顎下腺及び眼窩外涙腺の腺房の肥大が認められ，1000/120/30 mg/kg/日群の雌で膵臓の腺房細胞にアポトーシスと考えられる空胞化が認められた．オピカポン単独投与の毒性試験（2.6.6.3.3）において，これらの外分泌腺や脂肪組織に対する毒性変化は認められていない．一方，レボドパ／カルビドパ製剤の毒性試験において唾液腺の腺房の肥大が認められていることから [4]，併用投与群で認められた外分泌腺の腺房の肥大はレボドパの高曝露に基づく変化と考えられた．また，レボドパ代謝物であるドパミンはラットにおいて膵液分泌を阻害することが報告されていることから [5]，併用投与群で認められた膵臓の腺房細胞の空胞化はレボドパの毒性又は薬理作用に関連した変化と考えられた．褐色脂肪の過形成についても，ドパミンは褐色脂肪組織を活性化しエネルギー調節に寄与することから [6]，レボドパの高曝露に基づく変化と考えられた．

その他，眼科学的検査及び尿検査において，オピカポン又はレボドパ／カルビドパの投与に起因した変化は認められなかった．

TK 測定では，オピカポン並びにオピカポン代謝物である BIA 9-1079 及び BIA 9-1106 の Cmax 及び AUC24h は，レボドパ／カルビドパの併用投与による影響を受けなかった．一方，レボドパの AUC24h はオピカポンの併用投与により 1.4～1.7 倍増加した．レボドパ／カルビドパ投与群（0/20/5 mg/kg/日）では，レボドパの COMT 代謝物である 3-OMD が認められたが，オピカポンの 1000 mg/kg/日を併用投与した群では 3-OMD は検出されなかった．

以上より，オピカポンとレボドパ／カルビドパとの併用投与によるオピカポンの毒性の増強は認められなかった．併用投与群で認められた毒性変化は，いずれもレボドパの薬理作用又は毒性に関連すると考えられた．1000/120/30 mg/kg/日群では，体重増加抑制及び膵臓の腺房細胞の空胞化が認められたことから，無毒性量は 1000/50/12.5 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 急性毒性

オピカポンの経口投与による概略の致死量は，マウス及びラットでは 2000 mg/kg を超える量，サルでは 1000 mg/kg を超える量であった．マウスでは 2000 mg/kg で円背及び立毛が認められたが，投与 4 日までに回復した．ラット及びサルでは毒性変化は認められなかった．ラットにおける単回静脈内投与では 10 mg/kg で虚脱，努力性呼吸及び痙攣を呈し，投与直後に死亡した．静脈内投与による概略の致死量は 10 mg/kg であった．

この他，イヌ及びミニブタにおける経口投与による概略の致死量はともに 1000 mg/kg を超える量であった．

2.6.6.9.2 反復投与毒性

オピカポンの反復投与毒性試験では，ラットにおいて主に消化器及び肝臓に対する影響が認められ，26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）における無毒性量は 500 mg/kg/日であった．一方，サルでは最高投与量の 1000 mg/kg/日まで毒性変化は認められず，52 週間反復投与毒性試験における無毒性量は 1000 mg/kg/日であった．

1） 消化器に対する影響

ラットの 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）において 1000 mg/kg/日の雄で胃の棘細胞増生，錯角化症及び前胃のびらんが認められ，オピカポン投与液の胃粘膜に対する直接的な刺激の可能性が考えられた．これらの変化は 4 週間の休薬により回復した．

なお，ラット及びサルのオピカポン投与群では，便色の異常や軟便，下痢など，便の異常がみられたが，未吸収のオピカポンの糞中への混入あるいは投与液の性状に伴う変化と考えられ，体重増加抑制や摂餌量への影響は認められないこと，上述のラットの前胃の変化以外には消化器に病理組織学的変化はなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．

2） 肝臓に対する影響

ラットの 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）において，1000 mg/kg/日の雌雄で肝重量の低値，同群の雄で LDH の高値，同群の雌で総ビリルビンの高値が認められ，4 週間の休薬後には同群の雌雄で総ビリルビンの高値が認められた．いずれも軽度な変動であり，26 週間までのいずれの反復投与毒性試験においても ALT や AST などの肝逸脱酵素の上昇や肝臓及び胆道系への傷害性を示唆する病理組織学的変化は認められなかったことから，重篤な肝臓への傷害性を示唆する変化ではないと考えられた．

この他，ラットの 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）では，1000 mg/kg/日の雌雄でプロトロンビン時間の延長，同群の雄でグロブリンの高値，アルブミン及び A/G 比の低値，雌で TP の高値が認められたが，いずれも施設背景値の範囲内又は範囲をわずかに超える程度の軽度な変動であり，明らかな肝機能異常を示唆する変化は認められず，出血傾向も認められなかったことから，いずれも重篤な毒性を示唆する変化ではないと考えられた．

3） その他

ラットの 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）では，1000 mg/kg/日の雌でグルコースの低値が認められたが，施設背景値の範囲内又は範囲をわずかに超える程度の軽度な変動であり，膵臓に病理組織学的変化は認められなかった．また，同試験の 1000 mg/kg/日の雌で副腎重量の低値が認められたが，副腎に病理組織学的変化は認められず，毒性学的意義のある血中電解質の変動も認められなかった．以上より，1000 mg/kg/日で認められたグルコースの低値及び副腎重量の低値は，いずれも重篤な毒性を示唆する変化ではないと考えられた．

ラット及びサルにおける無毒性量での曝露量と，ヒトにオピカポンを 25 mg/日で投与したときの曝露量を比較し，その安全域を表 2.6.6.9.2-1 に示した．臨床における曝露量に対して，ラット及びサルの無毒性量での安全域は 6.5 倍以上であった．

表 2.6.6.9.2-1 ラット及びサルの反復投与毒性試験の無毒性量と臨床におけるオピカポンの曝露量の比較

臨床 又は動物種	投与量	AUC（μg･h/mL）[a]		安全域 （倍）
		雄	雌	
臨床	25 mg/日	2.48		
ラット	500 mg/kg/日	59.2	41.6	16.8～23.9
サル	1000 mg/kg/日	20.9	16.2	6.5～8.4

a: ヒト（ONO-2370-01［2.7.1.2.1.3］）は単回投与後の男性被験者の AUClast（AUC24h）を，ラット（2.6.6.3.5）及びサル（2.6.6.3.9）は反復投与後の AUClast を示した．

2.6.6.9.3 遺伝毒性

オピカポンの細菌を用いた復帰突然変異試験（2.6.6.4.1.1）の結果は陰性であった．ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（2.6.6.4.1.2）において，オピカポンは染色体の数的異常を誘発したが，構造異常を誘発せず，マウスに最大耐量である 1800 mg/kg/日を投与した小核試験（2.6.6.4.2.1）の結果は陰性であった．

小核試験及びヒトにオピカポンを 25 mg/日で投与したときの血漿中濃度の比較を表 2.6.6.9.3-1 に示した．マウスにおけるオピカポンの血漿中濃度は，臨床での Cmax と比較して，46.4～76.6 倍であった．

表 2.6.6.9.3-1　　マウス小核試験の最大投与量と臨床におけるオピカポンの曝露量の比較

臨床 又は動物種	投与量	血漿中濃度（μg/mL）[a]		安全域 （倍）
		雄	雌	
臨床	25 mg/日	0.97		
マウス	1800 mg/kg/日	45.03～54.77	50.37～74.33	46.4～76.6

a: ヒト（ONO-2370-01［2.7.1.2.1.3］）は単回投与後の男性被験者の Cmax を，マウス（2.6.6.4.2.1）は 2 回目投与後 0.5～2 時間の血漿中濃度の最小値と最大値の範囲を示した.

2.6.6.9.4　　がん原性

マウス及びラットの 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.5.2，2.6.6.3.3）では，いずれも最高投与量の 1000 mg/kg/日まで毒性変化は認められなかった．オピカポンの投与液は粘性があるため，調製可能な最大濃度は 50 mg/mL であり，反復投与時の最大投与容量は 20 mL/kg であったことから，投与可能最大量（MFD）は 1000 mg/kg/日であった．マウス及びラットの 13 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.5.2，2.6.6.3.3）において 1000 mg/kg/日まで忍容であったことから，マウス，ラットともにがん原性試験の最高投与量を 1000 mg/kg/日に設定したが，マウスでは 500 及び 1000 mg/kg/日で高粘性の投与液の胃からの逆流及び誤嚥によると考えられる死亡例が多発したため，投与 10 週時点でそれぞれ 375 及び 750 mg/kg/日に減量した.

マウスがん原性試験（2.6.6.5.3），ラットがん原性試験（2.6.6.5.4）ともにオピカポンの曝露に関連した非腫瘍性変化及び腫瘍性変化は認められなかった.

マウス及びラットがん原性試験（2.6.6.5.3，2.6.6.5.4）における曝露量と，ヒトにオピカポン 25 mg/日で投与したときの曝露量を比較し，その安全域を表 2.6.6.9.4-1 に示した．マウス及びラットの投与可能最大量での曝露量は，臨床の曝露量を上回った.

以上より，オピカポンはマウス及びラットにおいて，ともにがん原性を示さず，臨床における発がん性の懸念はないものと考えられた.

表 2.6.6.9.4-1　　マウス及びラットのがん原性試験の最高投与量と臨床におけるオピカポンの曝露量の比較

臨床 又は動物種	投与量	時期	AUC （μg･h/mL）[a]		安全域 （倍）
			雄	雌	
臨床	25 mg/日	－	2.48		
マウス	1000/750 mg/kg/日	投与 13 週	14.70	46.20	5.9～18.6
		投与 26 週	9.13	20.40	3.7～8.2
ラット	1000 mg/kg/日	投与 13 週	92.2	31.4	12.7～37.2
		投与 26 週	58.4	86.9	23.5～35.0

a: ヒト（ONO-2370-01［2.7.1.2.1.3］）は単回投与後の男性被験者の AUClast（AUC24h）を，マウス（2.6.6.5.3）及びラット（2.6.6.5.4）は反復投与後の AUClast を示した.

2.6.6.9.5 生殖発生毒性

ラットの受胎能及び初期胚発生に対して，オピカポンは影響を及ぼさず，無毒性量は雌雄ともに 1000 mg/kg/日と判断した．

胚・胎児発生に対して，ラットでは，オピカポンは母動物及び胚・胎児に対して影響を及ぼさず，催奇形性は認められなかった．母動物及び胚・胎児に対する無毒性量はいずれも 1000 mg/kg/日と判断した．ウサギでは，用量設定試験（2.6.6.6.6）において，250 mg/kg/日以上で母動物に摂餌量の顕著な減少又は廃絶及び体重の減少が認められ，切迫剖検例が生じたが，最高投与量の 375 mg/kg/日まで胎児に外表異常は認められなかった．胚・胎児発生に関する試験（2.6.6.6.7）の投与量には，100，175 及び 225 mg/kg/日を設定した．その結果，175 mg/kg/日以上で投与初期に体重及び摂餌量の減少が認められ，一部の例では切迫剖検したが，生存例において胚・胎児に対する影響は認められず，催奇形性は認められなかった．母動物に対する無毒性量は 100 mg/kg/日，胚・胎児に対する無毒性量は 225 mg/kg/日と判断した．

ラット及びウサギの胚・胎児に対する無毒性量での曝露量と，ヒトにオピカポン 25 mg/日で投与したときの曝露量を比較し，その安全域を表 2.6.6.9.5-1 に示した．ラット及びウサギの胚・胎児に対する無毒性量での曝露量における安全域は 35.3 倍及び 1.82 倍であった．

表 2.6.6.9.5-1 ラット及びウサギの胚・胎児に対する無毒性量と臨床におけるオピカポンの曝露量の比較

臨床 又は動物種	投与量	時期	AUC （μg･h/mL）[a]	安全域 （倍）
臨床	25 mg/日		2.48	
ラット	1000 mg/kg/日	妊娠 17 日	87.60	35.3
ウサギ	225 mg/kg/日	妊娠 18 日	4.52	1.82

a: ヒト（ONO-2370-01［2.7.1.2.1.3］）は単回投与後の男性被験者の AUClast（AUC24h）を，ラット（2.6.6.6.3）及びウサギ（2.6.6.6.7）は反復投与後の AUClast を示した．

ラットの母動物の機能及び離乳までの出生児に対して，オピカポンは影響を及ぼさず，無毒性量は最高投与量の 1000 mg/kg/日と判断した．一方，離乳後の出生児の 1000 mg/kg/日の雄 2 例が状態悪化により切迫剖検となった．これら 2 例の生存中又は剖検時にオピカポン投与に起因した変化は認められなかったが，同用量で同性の F1 動物が 2 例が状態悪化したことは偶発的とは断定できず，オピカポン投与との関連性は否定できなかった．F1 動物の学習能力，聴覚及び協調運動能に対する影響は認められず，性成熟及び生殖能力に対する影響もなかった．母動物毒性及び出生児発達に対する無毒性量は 1000 mg/kg/日，離乳後の出生児に対する無毒性量は 375 mg/kg 日と判断した．

ラットにおける 100 及び 500 mg/kg/日群の雌の曝露量と，ヒトにオピカポンを 25 mg/日で投与したときの曝露量を表 2.6.6.9.5-2 に示した．臨床における曝露量に対し，100 mg/kg/日と 500 mg/kg/日との間の投与量である 375 mg/kg/日における曝露量での安全域は 4.5～16.8 倍の間であった．

表 2.6.6.9.5-2　雌ラットにおける 100 及び 500 mg/kg/日と臨床におけるオピカポンの曝露量の比較

臨床 又は動物種	投与量	AUC （μg･h/mL）[a]	安全域 （倍）
臨床	25 mg/日	2.48	
ラット	100 mg/kg/日	11.27	4.5
	500 mg/kg/日	41.61	16.8

a: ヒト（ONO-2370-01［2.7.1.2.1.3］）は単回投与後の男性被験者の AUClast（AUC24h）を，ラット（2.6.6.3.5）は反復投与後の AUClast を示した．

以上より，オピカポンは受胎能及び初期胚発生に対して影響を及ぼさず，催奇形性も認められなかった．母動物の機能及び離乳までの出生児に対して影響を及ぼさなかったが，1000 mg/kg/日で離乳後の出生児に状態悪化による切迫剖検例が認められた．

2.6.6.9.6　局所刺激性

オピカポンは経口投与製剤であることから，局所刺激性試験は実施しなかった．

なお，ラットの 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）において 1000 mg/kg/日の雄でオピカポン投与液の胃粘膜に対する直接的な刺激によると考えられる胃の棘細胞増生，錯角化症及び前胃のびらんが認められたが，これに起因する消化器症状は認められず，他の消化器に病理組織学的な変化は認められなかったこと，また 13 週間以下の投与期間では同様の変化は認められていないことから，重篤な局所刺激性を示唆する変化ではないと考えられた．

2.6.6.9.7　その他の毒性

2.6.6.9.7.1　抗原性

非臨床又は臨床試験において抗原性を示唆する所見が認められていないことから，抗原性試験は実施しなかった．

2.6.6.9.7.2　免疫毒性

ラットの 4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2）において，免疫毒性評価として，免疫細胞フェノタイプ解析及び SRBC に対する抗体産生能を検討した．オピカポンは CD3+細胞及び

CD3+/CD4+細胞をわずかに増加させたが，SRBC に対する一次免疫応答に対する影響は認められず，免疫毒性を示唆する変化ではないと判断した．

2.6.6.9.7.3 依存性

オピカポンの中枢移行性は低く，経口投与されたオピカポンが直接的に中枢神経系に作用して依存性を発現する可能性は低いと考えられた．また，オピカポンは末梢でのレボドパ濃度を持続させ，脳内ドパミン濃度を上昇させる作用を有するが，レボドパの長期間の臨床使用実績 [7] からレボドパによる依存性の懸念はない．したがって，オピカポンの依存性の懸念はなく，依存性試験は実施しなかった．

2.6.6.9.8 代謝物の毒性

2.6.6.9.8.1 代謝物の単回投与毒性試験及び遺伝毒性試験

BIA 9-1079 のマウスにおける単回経口投与では，2000 mg/kg で呼吸数の増加，円背及び立毛が認められ，ラットにおける単回経口投与では，2000 mg/kg で自発運動の減少及び呼吸数の増加が認められた．いずれにおいても死亡例はみられなかったことから，マウス及びラットともに経口投与による概略の致死量は 2000 mg/kg を超える量であり，オピカポンと同じであった．ラットに 8 mg/kg を単回静脈内投与した結果，自発運動の減少や努力性呼吸を呈し，投与後 5 分に死亡した．

BIA 9-1103 及び BIA 9-1079 の細菌を用いた復帰突然変異試験（2.6.6.8.5.4，2.6.6.8.5.5）及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（2.6.6.8.5.6，2.6.6.8.5.7）並びに BIA 9-1079 のマウスを用いた小核試験（2.6.6.8.5.8）において，BIA 9-1103 及び BIA 9-1079 は遺伝毒性を示さなかった．

2.6.6.9.8.2 BIA 9-1103 の臨床における安全性について

ヒトの主代謝物である BIA 9-1103 について，ヒトにオピカポンを 25 mg/日で投与したときの曝露量と各動物種の毒性試験等における曝露量の比較を表 2.6.6.9.8.2-1 に示した．

ラットの 13 週間反復投与 TK 試験（2.6.6.3.4）の 500 又は 1000 mg/kg/日における BIA 9-1103 の曝露量は，臨床における曝露量を上回った．ラットの 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5），がん原性試験（2.6.6.5.4）及び胚・胎児発生に関する用量設定試験（2.6.6.6.3）では血漿中 BIA 9-1103 濃度の測定は行っていないが，これらの試験の 1000 mg/kg/日におけるオピカポンの曝露量から，BIA 9-1103 の曝露量は臨床での曝露量を越える曝露が得られていると推測された．また，ラットの 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5）の無毒性量 500

mg/kg/日における BIA 9-1103 の曝露量は，臨床での曝露量を越えていると推測されることから，BIA 9-1103 が臨床において有害作用を示す可能性は低いと考えられた．

以上より，ヒトの主代謝物である BIA 9-1103 の反復投与毒性，がん原性及び胚・胎児発生毒性について，ラットにおいて毒性の特徴づけに十分な曝露が得られており，安全性の評価が可能であった．なお，BIA 9-1103 はオピカポンの硫酸抱合体であり，一般的にオピカポンに比して毒性が増強する可能性は低いと考えられる．

表 2.6.6.9.8.2-1　臨床及び各動物種の毒性試験等におけるオピカポン及び BIA 9-1103 の曝露量の比較

臨床又は動物種，試験種類		投与量	時期	AUC（μg·h/mL）[a]			
				オピカポン		BIA 9-1103	
				雄	雌	雄	雌
臨床		25 mg/日	10 日	—		10.7	
ラット	13 週間 TK	500 mg/kg/日	13 週	65.40	58.30	72.10	16.70
		1000 mg/kg/日		121.0	122.0	182.0	35.30
	26 週間	500 mg/kg/日*	26 週	59.18	41.61	NE	NE
		1000 mg/kg/日		67.94	65.22	NE	NE
	がん原性	1000 mg/kg/日	26 週	58.40	86.90	NE	NE
	胚・胎児発生用量設定	1000 mg/kg/日*	妊娠 17 日		87.60		NE
サル	単回及び 7 日間	1000 mg/kg/日	7 日	8.33		5.80	
	52 週間	1000 mg/kg/日*	52 週	20.90	16.20	NE	NE

a: ヒト（BIA-91067-126［5.3.3.3-4］）は AUCtau を，各動物種は反復投与後の AUClast を示した．
NE: 測定せず．
*: 反復投与毒性試験における無毒性量，又は胚・胎児発生に関する試験における胚・胎児に対する無毒性量

また，BIA 9-1103 は細菌を用いた復帰突然変異試験（2.6.6.8.5.4）及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（2.6.6.8.5.6）において，遺伝毒性を示さなかった．

以上より，BIA 9-1103 が臨床において有害作用を示す可能性は低いと考えられた．

2.6.6.9.8.3　BIA 9-1079 の臨床における安全性について

動物における活性代謝物である BIA 9-1079 について，ヒトにオピカポンを 25 mg/日で投与したときの曝露量と各動物種の毒性試験における曝露量の比較を表 2.6.6.9.8.3-1 に示した．

BIA 9-1079 は各毒性試験において曝露が確認された．また，BIA 9-1079 は細菌を用いた復帰突然変異試験（2.6.6.8.5.5），ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（2.6.6.8.5.7）及び小核試験（2.6.6.8.5.8）において，遺伝毒性を示さなかった．

ヒトにオピカポンを 25 mg/日で投与したときの BIA 9-1079 の血漿中濃度は多くの時点で定量下限未満であり，動物を用いた毒性試験で安全性が確認された曝露量に対して，十分な安全域があることから，臨床において BIA 9-1079 による安全性の懸念はないと考えられた.

表 2.6.6.9.8.3-1　臨床及び各動物種の毒性試験等におけるオピカポン及び BIA 9-1079 の曝露量の比較

臨床又は動物種，試験種類		投与量	時期	AUC（μg･h/mL）[a]			
				オピカポン		BIA 9-1079	
				雄	雌	雄	雌
臨床		25 mg/日	10 日	－		NC	
ラット	26 週間	500 mg/kg/日*	26 週	59.18	41.61	34.11	19.98
		1000 mg/kg/日		67.94	65.22	46.50	35.03
	がん原性	1000 mg/kg/日	26 週	58.40	86.90	14.70	10.80
	胚・胎児発生用量設定	1000 mg/kg/日*	妊娠 17 日		87.60		43.50
サル	52 週間	1000 mg/kg/日*	52 週	20.90	16.20	36.80	36.10
マウス	がん原性	1000/750 mg/kg/日	26 週	9.13	20.40	1.58	1.60
ウサギ	胚・胎児発生	225 mg/kg/日*	妊娠 18 日		4.52		13.60

a: ヒト（BIA-91067-126［5.3.3.3-4］）は AUCtau を，各動物種は反復投与後の AUClast を示した.
NC: 血漿中濃度が多くの時点で定量下限未満であったことから，AUC は算出できなかった.
*: 反復投与毒性試験における無毒性量，又は胚・胎児発生に関する試験における胚・胎児に対する無毒性量

2.6.6.9.9　　不純物の毒性

オピカポンの 1 日投与量 25 mg に対し，ICH Q3A(R2)「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」の安全性の確認の閾値は 0.15%又は 1 日摂取量 1.0 mg（どちらか低い方）であることから，オピカポンの原薬の不純物について安全性の確認が必要な閾値は 0.15%となる．また，ICH Q3B(R2)「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」の安全性の確認の閾値は 0.5%あるいは 1 日総摂取量 200 μg のいずれか低い方であることから，オピカポンの製剤の不純物について安全性の確認が必要な閾値は 0.5%となる．しかし，オピカポンの不純物の規格限度値において，安全性の確認の閾値（原薬：0.15%，製剤：0.5%）を超える規格限度値は設定されておらず［3.2.S.4.1, 3.2.P.5.1］，これらのガイドラインに基づく不純物の安全性の確認は不要である.

一方，オピカポンの不純物について，ICH M7「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」ガイドラインに基づく *in silico* 構造活性相関による定性的な変異原性予測を実施した［3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.P.5.5］．*In silico* での変異原性予測において陽性を示した不純物のうち，7

不純物（不純物B*，不純物D *，不純物E*，不純物H*，不純物I*，不純物M*，不純物N* ）については細菌を用いた復帰突然変異試験（2.6.6.8.6.1）の結果，陽性であった．また，不純物B* 及び 不純物D * について，ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（2.6.6.8.6.2）及びマウスを用いた小核試験（2.6.6.8.6.3，2.6.6.8.6.4）を実施した結果，不純物B* 及び 不純物D * ともに染色体の数的異常誘発性を示したが，いずれも小核誘発性を示さなかった．

上述の 7 不純物は，ICH M7「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」ガイドラインにおけるハザード評価でクラス 2（発がん性が不明の既知の変異原性物質（細菌を用いる変異原性試験で陽性であり，げっ歯類の発がん性データがない物質））に相当し，許容限度値以下で管理することによって，発がんのリスクを制限することが可能である．同ガイドラインにおける不純物に対する TTC（毒性学的懸念の閾値）に基づく許容 1 日総摂取量は，投与期間が 10 年超から一生涯の場合，個別の不純物に対して 1.5 μg/day である．オピカポンで規格設定された変異原性不純物の規格限度値は，1.5 μg/day 以下で管理されており［3.2.S.3.2（[redacted]），3.2.S.3.2（[redacted]）］，一生涯にわたって毎日曝露されても安全であると考えられる．

以上より，オピカポンの不純物による安全性の懸念はないものと考えられた．

2.6.6.9.10 光毒性

BALB/c 3T3 細胞を用いた *in vitro* 試験（2.6.6.8.7.1）において光毒性作用を誘発せず，モルモットを用いた *in vivo* 試験（2.6.6.8.7.2）において皮膚光感作性，皮膚感作性，皮膚光刺激性及び皮膚刺激性を示さなかったことから，臨床における光毒性の懸念は低いものと考えられた．

2.6.6.9.11 細胞毒性

in vitro において，オピカポンの細胞毒性をエンタカポン及びトルカポンと比較した．

ヒト肝細胞において，オピカポンは，エンタカポンやトルカポンに比べて，ミトコンドリア膜電位及び ATP 含量の低下作用が最も小さかった．HepaRG 細胞において，ミトコンドリア膜電位，ATP 含量及びグルタチオン濃度の低下作用は，オピカポン，エンタカポンに比べ，トルカポンで大きかった．いずれの化合物もアポトーシスの指標となるカスパーゼ 3 活性に対する影響は認められなかった．なお，BIA 9-1079 はミトコンドリア膜電位及び ATP 含量を低下させ，カスパーゼ 3 活性を上昇させたが，ヒト血漿中での存在量が低いため，臨床における安全性への影響はないと考えられた（2.6.6.8.8.1）．ヒト肝細胞の形態及び生存率に対する影響に関する検討では，オピカポンでは 100 μmol/L まで細胞毒性は認められなかっ

たが，トルカポンでは 100 μmol/L において肝細胞の前アポトーシス性変化を引き起こし，細胞生存率の著しい低下を示した（2.6.6.8.8.2）．

以上より，オピカポンの細胞毒性はトルカポンに比べ低いことが示された．

2.6.6.9.12 併用毒性

オピカポンとレボドパ／カルビドパを併用したときの毒性について，ラットにおける 13 週間反復投与により検討した（2.6.6.8.9.1）．投与量（オピカポン／レボドパ／カルビドパの順で表記）は，オピカポン単独投与群として 1000/0/0 mg/kg/日，レボドパ／カルビドパ投与群として 0/20/5 mg/kg/日，オピカポン及びレボドパ／カルビドパの併用投与群として 1000/20/5，1000/50/12.5 及び 1000/120/30 mg/kg/日を設定した．

オピカポン単独投与群，レボドパ／カルビドパ投与群では毒性変化は認められなかった．オピカポン及びレボドパ／カルビドパの併用投与群では，1000/50/12.5 及び 1000/120/30 mg/kg/日群において，虚脱や体重増加抑制，膵臓の腺房細胞の空胞化，耳下腺，顎下腺及び眼窩外涙腺の腺房の肥大並びに眼窩外涙腺に隣接する部位の褐色脂肪の過形成が認められたが，いずれもレボドパの薬理作用又は毒性に起因すると考えられた．オピカポンの毒性の増強や曝露量への影響は認められなかった．

以上の結果から，オピカポンは毒性試験において安全性が確認されており，代謝物や不純物による有害作用の可能性も低いことから，臨床において問題を生じる可能性は低いと結論した．

2.6.6.10 参考文献一覧

1） Amberg A, Braun K, Kauffmann H, Spirkl H, Stammberger I and Czich A. Influence Of Solvents On Ames II Results Of Different Carboxylic Acid Halides. Toxicol Sci 2008 90(1-S): 107.

2） Amberg A, Harvery J, Czich A, Spirkl H-P, Robinson S, White A and Elder DP. Do carboxylic/sulfonic acid halides really present a mutagenic and carcinogenic risk as impurities in final drug products? Org. Process Res. Dev. 2015 19(11): 1495–1506.

3） メネシット®配合錠 100，メネシット®配合錠 250 医薬品インタビューフォーム．非臨床試験に関する項目．MSD 株式会社．2016 年 4 月改訂（第 10 版）

4） Zwickey RE, Peck HM, Bagdon WJ, Bokelman DL, Brown WR, Hite M, et al. Preclinical Toxicological Studies of Carbidopa and Combinations of Carbidopa and Levodopa. Toxicol Appl Pharmacol 1974 29:181-95.

5） Masuda M, Kanai S, Miyasaka K. Inhibitory Effect of Central Dopamine on Basal Pancreatic Secretion in Conscious Rats. Am J Physiol 1998 274:G29-G34.

6） Maxwell GM, Crompton S, Smyth C. The Action of Dopamine upon Glycerol and Fatty Acid Release by Rat Brown Adipose Tissue. Arch Int Pharmacodyn Ther 1987 287:169-76.

7） ドパストン®カプセル 250mg ドパストン®散 98.5％ 医薬品インタビューフォーム．大原薬品工業株式会社．2016 年 4 月改訂（第 9 版）

2.6.7 毒性試験の概要表

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.7 毒性試験の概要表 4
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 17
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 19
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 21
2.6.7.5 単回投与毒性試験 36
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 39
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 40
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 74
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 81
2.6.7.10 がん原性試験 84
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 112
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 116
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 120
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 128
2.6.7.15 新生児を用いた試験 135
2.6.7.16 局所刺激性試験 136
2.6.7.17 その他の試験 137

略号一覧

Abbreviation or specialist term	Explanation
Admin.	Administration
A/G ratio	Albumin/Globulin ratio
ATP	Adenosine Triphosphate
AUC	Area under the concentration-time curve
BLQ	Below the lower limit of quantification
Cmax	Maximum observed plasma concentration
CMC	Carboxymethylcellulose
DMSO	Dimethylsulfoxide
ECD	Equivalent circular diameter
E. coli	*Escherichia coli*
F_0	Parent generation
F_1	Offspring of the parent generation
F_2	The second generation offspring
GD	Gestation day
GLP	Good Laboratory Practice
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose
IC_{50}	Median (50 %) inhibitory concentration
i.v.	intravenous
LD	Lactation day
MMP	Mitochondrial membrane potential
MTD	Maximum tolerated dose
N/A	Not applicable
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
NOEL	No Observed Effect Level
NT	Not Tested
NZW	New Zealand White
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
RRT	Relative retention time
PEG	Polyethylene glycol
S9	Liver supernatant fraction obtained from homogenate after centrifuging at 9000g
SRBC	Sheep Red Blood Cells
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*
TK	Toxicokinetics
UK	United Kingdom
UV	Ultraviolet

2.6.7 毒性試験の概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Single-Dose Toxicity									
Acute oral toxicity	Opicapone	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	1 day	250, 1000, 2000	Yes	[redacted] UK	510730	[4.2.3.1-1]
Acute oral toxicity	Opicapone	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	1 day	250, 1000, 2000	Yes	[redacted] UK	510641	[4.2.3.1-2]
Acute intravenous toxicity	Opicapone	Rat/Crl:CD(SD)	Intravenous (bolus)	1 day	1, 5, 10	Yes	[redacted] UK	510657	[4.2.3.1-3]
Maximum tolerated dose	Opicapone	Dog/Beagle	Oral (capsule)	Phase 1: single dose Phase 2: 7-days	100, 200, 400, 600, 800, 1000 1000	No	[redacted] Switzerland	A73978	[4.2.3.1-4]
Maximum tolerated dose	Opicapone	Mini-pig/ Göttingen	Oral (gavage)	Phase 1: single dose Phase 2: 14-days	100, 200, 400, 800, 1000 1000	No	[redacted] Spain	S04937	[4.2.3.1-5]
Maximum tolerated dose	Opicapone	Monkey/ Cynomolgus	Oral (gavage)	Phase 1: single dose Phase 2: 7-days	100, 200, 400, 600, 1000 1000	No	[redacted] Spain	S03328	[4.2.3.1-6]

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Ttype of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity									
14-day dose range finding	Opicapone	Rat/Wistar	Oral (gavage)	14 days	0, 100, 500, 1000	No	[redacted] Switzerland	A73980	[4.2.3.2-1]
4-week toxicity	Opicapone	Rat/ HanRcc:WIST	Oral (gavage)	28 days	0, 100, 500, 1000	Yes	[redacted] Switzerland	B08144	[4.2.3.2-2]
13-week toxicity	Opicapone	Rat/ HanRcc:WIST	Oral (gavage)	13 weeks (4 weeks treatment-free)	0, 100, 500, 1000	Yes	[redacted] Switzerland	B18382	[4.2.3.2-3]
13-week TK	Opicapone	Rat/ RccHan:WIST	Oral (gavage)	13 weeks	0, 500, 1000	Yes	[redacted] Switzerland	D38007	[4.2.3.2-4]
26-week toxicity	Opicapone	Rat / HanRcc:WIST	Oral (gavage)	26 weeks (4 weeks treatment-free)	0, 100, 500, 1000	Yes	[redacted] Switzerland	C03508	[4.2.3.2-5]
4-week toxicity	Opicapone	Dog/Beagle	Oral (capsule)	4 weeks	0, 60, 200, 600	Yes	[redacted] Switzerland	A73945	[4.2.3.2-6]
4-week toxicity	Opicapone	Monkey/ Cynomolgus	Oral (gavage)	4 weeks (2 weeks treatment-free)	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] Spain	S03352	[4.2.3.2-7]
13-week toxicity	Opicapone	Monkey/ Cynomolgus	Oral (gavage)	13 weeks (4 weeks treatment-free)	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] Spain	S12824	[4.2.3.2-8]
52-week toxicity	Opicapone	Monkey/ Cynomolgus	Oral (gavage)	52 weeks (8 weeks treatment-free)	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] Spain	S13825	[4.2.3.2-9]

a: For repeat-dose toxicity, the NOAEL is underlined.

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Genotoxicity									
In Vitro									
Bacterial reverse mutation assay	Opicapone	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	2-3 days exposure	Initial toxicity-mutation assay: 17-5000 µg/plate (±S9; TA 100) Confirmatory assays: 17-5000 µg/plate (±S9; all strains)	Yes	[redacted] UK	778279	[4.2.3.3.1-1]
Mammalian chromosome aberration assay	Opicapone	Human peripheral lymphocyte cultures	*In vitro*	5 h (±S9)	Test 1: 78-313 µg/mL (5 h (29 h harvest) ±S9)	Yes	[redacted] UK	778263	[4.2.3.3.1-2]
				5 h (+S9) 25 h (-S9)	Test 2: 78-313 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 20-156 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 20-78 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest) -S9)				
In Vivo									
Micronucleus test	Opicapone	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	2 days	Toxicity dose range-finding studies: 1600, 1800, 2000 Main study: Untreated, 0, 450, 900, 1800	Yes	[redacted] UK	783430	[4.2.3.3.2-1]
Supportive TK for micronucleus test	Opicapone	Mouse/ Crl:CD-1	Oral (gavage)	2 days	1800	Yes	[redacted] UK	792471	[4.2.3.3.2-2]

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study		Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Carcinogenicity										
Dose range finding	4-week toxicity	Opicapone	Mouse/Crl:CD-1 (ICR)BR	Oral (gavage)	28 days	0, 100, 500, <u>1000</u>	Yes	[redacted] Switzerland	B18404	[4.2.3.4.1-1]
	13-week toxicity	Opicapone	Mouse/Crl:CD-1 (ICR)BR	Oral (gavage)	13 weeks (4 weeks treatment-free)	0, 100, 500, <u>1000</u>	Yes	[redacted] Switzerland	B18393	[4.2.3.4.1-2]
Long term study	104-week carcino-genicity	Opicapone	Mouse/ Crl:CD-1 (ICR)BR	Oral (gavage)	104 weeks	0, 0, 100, 500/375, 1000/750	Yes	[redacted] Switzerland	C30740	[4.2.3.4.1-3]
		Opicapone	Rat/ HanRcc: WIST	Oral (gavage)	104 weeks	0, 0, 100, 500, 1000	Yes	[redacted] Switzerland	C30751	[4.2.3.4.1-4]

a: For repeat-dose toxicity, the NOAEL is underlined.

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study		Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity										
Fertility and early embryonic development	Dose range finding	Opicapone	Rat/ Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	[b]	0, 100, 500, 1000	Yes	[redacted] UK	FLG0048	[4.2.3.5.1-1]
	Evaluation Study	Opicapone	Rat/ Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	[c]	0, 150, 375, 1000	Yes	[redacted] UK	FLG0052	[4.2.3.5.1-2]
Embryo-foetal development	Dose range finding	Opicapone	Rat/ Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	GD6–GD17	0, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] UK	FLG0044	[4.2.3.5.2-1]
	Evaluation Study	Opicapone	Rat/ Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	GD6–GD17	0, 150, 375, 1000	Yes	[redacted] UK	FLG0045	[4.2.3.5.2-2]
	Maximum tolerated dose	Opicapone	Rabbit/ HsdlF:NZW	Oral (gavage)	3 days 7 days	Phase I: 250, 375, 500 (washout between dose levels) Phase II: 425	Yes	[redacted] UK	FLG0046	[4.2.3.5.2-3]
	Dose range finding	Opicapone	Rabbit/ HsdlF:NZW	Oral (gavage)	GD6–GD18	0, 150, 250, 375	Yes	[redacted] UK	FLG0047	[4.2.3.5.2-4]
	Evaluation Study	Opicapone	Rabbit/ HsdlF:NZW	Oral (gavage)	GD6–GD18	0, 100[d], 175, 225[e]	Yes	[redacted] UK	FLG0049	[4.2.3.5.2-5]
Effects on pre- and post-natal development		Opicapone	Rat/ Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	GD6–LD20	0, 100, 375[f], 1000[g]	Yes	[redacted] UK	FLG0053	[4.2.3.5.3-1]
Studies in Juvenile Animals		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Local Tolerance										
None		-	-	-	-	-	-	-	-	-

a: Unless otherwise specified, For Repeat-Dose Toxicity and Reproductive and Developmental Toxicity, the NOAEL is underlined.
b: Once daily dosing for 2 weeks prior to pairing, throughout 7-day pairing period and until day prior to necropsy for males (necropsy on Day 57) and LD6 or Day 26 post-mating if nor apparently pregnant or having littered.
c: Males: Study days 0-57 (a minimum of 28 days prior to pairing, during pairing and through the day prior to scheduled necropsy which was approximately 2 weeks after female necropsy); Females: Study days 14-57 (a minimum of 14 days prior to pairing, during pairing and until GD6).
d: NOAEL for maternal toxicity.
e: NOAEL for embryofoetal development.
f: NOAEL for F_1 development.
g: NOAEL for maternal toxicity and pup development to Day 21 of age.

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Antigenicity									
None	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunotoxicity									
4-week toxicity	Opicapone	Rat/ HanRcc:WIST	Oral (gavage)	28 days	0, 100, 500, 1000	Yes	[redacted] Switzerland	B08144	[4.2.3.2-2]
Mechanistic									
None	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dependence									
None	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metabolites									
Acute oral toxicity	BIA 9-1079	Mouse/ Crl:CD-1(ICR)	Oral (gavage)	1 day	300, 1000, 2000	Yes	[redacted] UK	511535	[4.2.3.7.5-1]
	BIA 9-1079	Rat/ Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	1 day	300, 1000, 2000	Yes	[redacted] UK	511509	[4.2.3.7.5-2]
Acute intravenous toxicity	BIA 9-1079	Rat/ Crl:CD(SD)	i.v.(bolus)	1 day	2, 8	Yes	[redacted] UK	512607	[4.2.3.7.5-3]
Bacterial reverse mutation assay	BIA 9-1103	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	2-3 days exposure	Initial toxicity-mutation assay: 17-5000 µg/plate (±S9; TA 100) Confirmatory assays: 17-5000 µg/plate (±S9; all strains)	Yes	[redacted] UK	790474	[4.2.3.7.5-4]
	BIA 9-1079	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	2-3 days exposure	Initial toxicity-mutation assay: 17-5000 µg/plate (±S9; TA 100) Confirmatory assays: 1.7-500 µg/plate (±S9; all strains)	Yes	[redacted] UK	779969	[4.2.3.7.5-5]

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Metabolites									
Mammalian chromosome aberration assay	BIA 9-1103	Human peripheral lymphocyte cultures	*In vitro*	5 h (±S9)	Test 1: 625-2500 µg/mL (5 h (29 h harvest) ±S9)	Yes	[redacted] UK	790495	[4.2.3.7.5-6]
				5 h (+S9) 25 h (-S9)	Test 2: 625-3000 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 78-625 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 156-625 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest)-S9)				
	BIA 9-1079	Human peripheral lymphocyte cultures	*In vitro*	5 h (±S9)	Test 1: 31-125 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 63-250 µg/mL (5 h (29 h harvest) -S9)	Yes	[redacted] UK	779953	[4.2.3.7.5-7]
				5 h (+S9) 25 h (-S9)	Test 2: 31-94 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 8-31 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 8-31 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest)-S9)				
Micronucleus test	BIA 9-1079	Mouse/CD-1	Oral (gavage)	2 days	Toxicity dose range-finding studies: 2000 Main study: Untreated, 0, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted] UK	783886	[4.2.3.7.5-8]

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Impurities									
Bacterial reverse mutation assay (Screening)	不純物 A* 不純物 B* 不純物 C* 不純物 D* 不純物 S* 不純物 T* 不純物 U* 不純物 V*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	2 to 3 days exposure	0.3−2500 µg/plate (-S9), 1-2500 µg /plate (+S9): concentrations varied with test article	No	[redacted] UK	789762	[4.2.3.7.6-1]
	不純物 O* BIA 9-1100 BIA 9-1101 不純物 P* 不純物 Q* 不純物 R*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	2 to 3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9): concentrations varied with test article	No	[redacted] UK	790673	[4.2.3.7.6-2]
Bacterial reverse mutation assay	不純物 A*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	1.7-1000 µg/plate (-S9), 1.7-1000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	791462	[4.2.3.7.6-3]
	不純物 B*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	12.5-400 µg/plate (-S9), 12.5-400 µg/plate (-S9)	Yes	[redacted] UK	791420	[4.2.3.7.6-4]
	不純物 C*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	17-5000 µg/plate (-S9), 17-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	791483	[4.2.3.7.6-5]
	不純物 D*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	3.3-3333.3 µg/plate (-S9), 10-3333.3 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	791441	[4.2.3.7.6-6]
	不純物 E*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796743	[4.2.3.7.6-7]
	不純物 F*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796680	[4.2.3.7.6-8]

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Impurities									
Bacterial reverse mutation assay	不純物 G*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796633	[4.2.3.7.6-9]
	不純物 H*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796649	[4.2.3.7.6-10]
	不純物 I*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796675	[4.2.3.7.6-11]
	不純物 J*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796701	[4.2.3.7.6-12]
	不純物 K*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796717	[4.2.3.7.6-13]
	不純物 L*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796722	[4.2.3.7.6-14]
		S. typhimurium, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	798117	[4.2.3.7.6-15]
	不純物 M*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796738	[4.2.3.7.6-16]
	不純物 N*	*S. typhimurium*, *E. coli*	*In vitro*	3 days exposure	5-5000 µg/plate (-S9), 5-5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted] UK	796654	[4.2.3.7.6-17]

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Impurities									
Mammalian chromosome aberration assay	不純物 A*	Human peripheral lymphocyte cultures	*In vitro*	5 h (±S9)	Test 1: 54-215 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 27-215 µg/mL (5 h (29 h harvest) -S9)	Yes	[redacted] UK	791467	[4.2.3.7.6-18]
				5 h (+S9) 25 h (-S9)	Test 2: 50-400 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 25-250 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 12.5-50 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest) -S9)				
	不純物 B*	Human peripheral lymphocyte cultures	*In vitro*	5 h (±S9)	Test 1: 26-104 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 52-208 µg/mL (5 h (29 h harvest) -S9)	Yes	[redacted] UK	791436	[4.2.3.7.6-19]
				5 h (+S9) 25 h (-S9)	Test 2: 150-200 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 50-150 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 50-150 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest) -S9)				
	不純物 C*	Human peripheral lymphocyte cultures	*In vitro*	5 h (±S9)	Test 1 111-446 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 56-446 µg/mL (5 h (29 h harvest) -S9)	Yes	[redacted] UK	791488	[4.2.3.7.6-20]
				5 h (+S9) 25 h (-S9)	Test 2: 111-446 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 111-446 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 111-446 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest) -S9)				
	不純物 D*	Human peripheral lymphocyte cultures	*In vitro*	5 h (±S9)	Test 1: 54-216 µg/mL (5 h (29 h harvest) ±S9)	Yes	[redacted] UK	791446	[4.2.3.7.6-21]
				5 h (+S9) 25 h (-S9)	Test 2: 200-250 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 100-200 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 100-200 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest) -S9)				

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Impurities									
Micronucleus test	不純物 B*	Mouse/Crl:CD-1	Oral (gavage)	2 days	Toxicity dose range-finding study: 1000, 2000 Main study: 0, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted] UK	792838	[4.2.3.7.6-22]
	不純物 D*	Mouse/Crl:CD-1	Oral (gavage)	2 days	Toxicity dose range-finding study: 1000, 2000 Main study: 0, 2000	Yes	[redacted] UK	792822	[4.2.3.7.6-23]
	不純物 B* 不純物 D* (Mixture)	Mouse/Crl:CD-1	Oral (gavage)	2 days	Toxicity dose range-finding study: 1.8/10.8 Main study: 0, 0.45/2.7, 0.9/5.4, 1.8/10.8	Yes	[redacted] UK	792487	[4.2.3.7.6-24]

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Com-pliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Phototoxicity									
Phototoxicity: cytotoxicity	Opicapone	BALB/c 3T3 cells clone 31	*In vitro*	1 h in dark followed by 50 minutes ± irradiation	3.91-500 µg/mL without/with irradiation	Yes	[redacted] Germany	1404800	[4.2.3.7.7-1]
Photoallergenicity (allergenicity, photoirritation, irritation)	Opicapone	Guinea pig/ Dunkin Hartley	Epicutaneous	Induction: test sites (both flanks) exposed to 10 J/cm^2 UV-A irradiation and 1.8 J/cm^2 UV-B; repeated 4 times over 2 week period Challenge: test sites on left flank exposed to 10 J/cm^2 UV-A irradiation; test sites on right flank were not exposed to irradiation	Induction: 50% opicapone (w/w) in PEG 300 Challenge: 10, 15, 25, 50% opicapone (w/w) in PEG 300	Yes	[redacted] Switzerland	D31990	[4.2.3.7.7-2]

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Test Article(s)	Species / Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Cytotoxicity									
Cell viability assays[b]	Opicapone Entacapone Tolcapone BIA 9-1079 BIA 9-1103	Human hepatocytes HepaRG cells	*In vitro*	24 h exposure	1.6 to 200 µM 1.6 to 200 µM 1.6 to 200 µM 6.3 to 100 µM 30 and 100 µM	No	[redacted] Portugal	SROPC [redacted]0105	[4.2.3.7.7-3]
Cell viability assay[c]	Opicapone BIA 9-1079 Tolcapone	Human hepatocytes	*In vitro*	48 h exposure	3, 10, 30 and 100µM 3, 10, 30 and 100µM 3, 10, 30 and 100µM	No	[redacted] UK	783802	[4.2.3.7.7-4]
Combination toxicity									
13-week combination toxicity	Opicapone/ Levodopa/ Carbidopa	Rat/ RccHan:WIST	Oral (gavage)	13 weeks	0/0/0, 1000/0/0, 0/20/5, 1000/20/5, <u>1000/50/12.5</u>, 1000/120/30 (Levodopa/Carbidopa given 2 h after Opicapone)	Yes	[redacted] Switzerland	D55805	[4.2.3.7.7-5]

a: For repeat-dose toxicity, the NOAEL is underlined.
b: Mitochondrial membrane potential, cellular ATP levels, caspase 3 activity and glutathione depletion.
c: Morphology and cell viability using fluorescent dye calcein acetoxymethyl assay.

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

2.6.7.2.1 オピカポンのトキシコキネティクス試験

被験物質：オピカポン

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study No.	Location in CTD
Micronucleus test	CD-1 mice	Oral (gavage)	1800	Yes	783430	[4.2.3.3.2-1]
Supportive TK for micronucleus test	Crl:CD-1 mice	Oral (gavage)	1800	Yes	792471	[4.2.3.3.2-2]
4-week toxicity	Crl:CD-1 (ICR) BR mice	Oral (gavage)	0, 100, 500, 1000	Yes	B18404	[4.2.3.4.1-1]
13-week toxicity	Crl:CD-1 (ICR) BR mice	Oral (gavage)	0, 100, 500, 1000	Yes	B18393	[4.2.3.4.1-2]
104-week carcinogenicity	Crl:CD-1 (ICR) BR mice	Oral (gavage)	0, 100, 500/375, 1000/750	Yes	C30740	[4.2.3.4.1-3]
4-week toxicity	HanRcc:WIST rats	Oral (gavage)	0, 100, 500, 1000	Yes	B08144	[4.2.3.2-2]
13-week toxicity	HanRcc:WIST rats	Oral (gavage)	0, 100, 500, 1000	Yes	B18382	[4.2.3.2-3]
13-week TK	RccHan:WIST rats	Oral (gavage)	0, 500, 1000	Yes	D38007	[4.2.3.2-4]
13-week combination toxicity	RccHan:WIST rats	Oral (gavage)	0, 1000[a]	Yes	D55805	[4.2.3.7.7-5]
26-week toxicity	HanRcc:WIST rats	Oral (gavage)	0, 100, 500, 1000	Yes	C03508	[4.2.3.2-5]
Embryo-foetal development dose range finding	Crl:WI(Han) rats	Oral (gavage)	0, 100, 300, 1000	Yes	FLG0044	[4.2.3.5.2-1]
104-week carcinogenicity	HanRcc:WIST rats	Oral (gavage)	0, 100, 500, 1000	Yes	C30751	[4.2.3.4.1-4]
Maximum tolerated dose	HsdlF:NZW rabbits	Oral (gavage)	Phase II: 425	Yes	FLG0046	[4.2.3.5.2-3]
Embryo-foetal development	HsdlF:NZW rabbits	Oral (gavage)	0, 100, 175, 225	Yes	FLG0049	[4.2.3.5.2-5]
4-week toxicity	Beagle dogs	Oral (capsule)	0, 60, 200, 600	Yes	A73945	[4.2.3.2-6]
Maximum tolerated dose	Cynomolgus monkeys	Oral (gavage)	1000	No	S03328 SRAL[redacted]0509	[4.2.3.1-6] [4.2.2.4-5]
4-week toxicity	Cynomolgus monkeys	Oral (gavage)	0, 100, 300, 1000	Yes	S03352	[4.2.3.2-7]
13-week toxicity	Cynomolgus monkeys	Oral (gavage)	0, 100, 300, 1000	Yes	S12824	[4.2.3.2-8]
52-week toxicity	Cynomolgus monkeys	Oral (gavage)	0, 100, 300, 1000	Yes	S13825	[4.2.3.2-9]

a: Opicapone alone or with Levodopa/Carbidopa in combination at 20/5, 50/12.5, 120/30 mg/kg/day, respectively given 2 h after Opicapone.

2.6.7.2.2 代謝物及び不純物のトキシコキネティクス試験

Test Article	Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study No.	Location in CTD
BIA 9-1079	Micronucleus test	CD-1 mice	Oral (gavage)	2000	Yes	783886	[4.2.3.7.5-8]
不純物 B*	Micronucleus test	CD-1 mice	Oral (gavage)	2000	Yes	792838	[4.2.3.7.6-22]
不純物 D*	Micronucleus test	CD-1 mice	Oral (gavage)	2000	Yes	792822	[4.2.3.7.6-23]
不純物 B* and 不純物 D*	Micronucleus test	CD-1 mice	Oral (gavage)	不純物 B* : 1.8 不純物 D* : 10.8	Yes	792487	[4.2.3.7.6-24]

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

2.6.7.3.1 動物における無毒性量又は最高投与量及びヒトにおける臨床用量での最高血漿中濃度（Cmax）の比較

Species	Type of Study	Study No.	Location in CTD	Time Point	Dose (mg/kg/day)	Cmax (µg/mL)							
						Opicapone		BIA 9-1079		BIA 9-1103		BIA 9-1106	
						Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Mice	13-week toxicity	B18393	[4.2.3.4.1-2]	Day 92	1000	8.15	22.60	1.00	1.14	-	-	-	-
	104-week carcinogenicity	C30740	[4.2.3.4.1-3]	Week 26	1000/750	2.37	6.83	0.35	0.44	-	-	-	-
Rats	13-week TK	D38007	[4.2.3.2-4]	Week 13	1000	28.60	42.00	0.59	0.85	11.50	3.11	9.84	23.10
	13-week combination toxicity	D55805	[4.2.3.7.7-5]	Week 13	1000/120/30[a]	22.47	36.90	1.72	1.69	-	-	11.25	19.60
	26-week toxicity	C03508	[4.2.3.2-5]	Week 26	500	19.47	27.13	2.64	2.45	-	-	-	-
					1000	19.73	23.33	4.05	3.66	-	-	-	-
	104-week carcinogenicity	C30751	[4.2.3.4.1-4]	Week 26	1000	14.70	28.70	0.65	0.84	-	-	-	-
	Embryo-foetal dose range finding	FLG0044	[4.2.3.5.2-1]	GD17	1000[b]		25.30		3.50		-		-
Monkey	Maximum tolerated dose	S03328 SRAI[redacted]0509	[4.2.3.1-6] [4.2.2.4-5]	Day 7	1000	2.09		1.76		1.08		1.13	
	52-week toxicity	S13825	[4.2.3.2-9]	Week 52	1000	4.44	2.92	2.31	2.42	-	-	-	-
Rabbits	Embryo-foetal development	FLG0049	[4.2.3.5.2-5]	GD18	100[c]		0.37		1.07		-		-
					225[d]		0.81		1.25		-		-
Dogs	4-week toxicity	A73945	[4.2.3.2-6]	Week 4	600	1.01	0.73	1.32	1.14	-	-	-	-
Human	Phase1 Clinical Study	ONO-2370-01	[2.7.1.2.1.3]	Day 1	25 mg/day	0.97		-		-		-	
		BIA-91067-126	[5.3.3.3-4]	Day 10	25 mg/day	0.96		Not Calculated[e]		0.54		0.059	

For repeat-dose toxicity and reproductive and developmental toxicity, the NOAEL is underlined.
a: Opicapone/Levodopa/Carbidopa dose
b: NOAEL for maternal toxicity and embryofoetal development
c: NOAEL for maternal toxicity, d:NOAEL for embryofoetal development
e: Plasma concentration were found to be BLQ for the majority of the timepoints. Thus, Cmax can not be calculated.

2.6.7.3.2 動物における無毒性量又は最高投与量及びヒトにおける臨床用量での全身曝露量（AUC）の比較

Spices	Type of Study	Study No.	Location in CTD	Time Point	Time (h)[a]	Dose (mg/kg/day)	AUC (μg•hr/mL)							
							Opicapone		BIA 9-1079		BIA 9-1103		BIA 9-1106	
							M	F	M	F	M	F	M	F
Mice	13-week toxicity	B18393	[4.2.3.4.1-2]	Day 92	12	1000	28.53	56.86	7.60	6.11	-	-	-	-
	104-week carcinogenicity	C30740	[4.2.3.4.1-3]	Week 26	6	1000/750	9.13	20.40	1.58	1.60	-	-	-	-
Rats	13-week TK	D38007	[4.2.3.2-4]	Week 13	24	1000	121.00	122.00	11.80	12.90	182.00	35.30	45.60	63.40
	13-week combination toxicity	D55805	[4.2.3.7.7-5]	Week 13	24	1000/120/30[b]	98.06	81.02	20.21	18.81	-	-	36.40	45.25
	26-week toxicity	C03508	[4.2.3.2-5]	Week 26	24	500	59.18	41.61	34.11	19.98	-	-	-	-
						1000	67.94	65.22	46.50	35.03	-	-	-	-
	104-week carcinogenicity	C30751	[4.2.3.4.1-4]	Week 26	24	1000	58.40	86.90	14.70	10.80	-	-	-	-
	Embryo-foetal dose range finding	FLG0044	[4.2.3.5.2-1]	GD17	24	1000[c]		87.60		43.50		-		-
Monkey	Maximum tolerated dose	S03328 SRAL[redacted]0509	[4.2.3.1-6] [4.2.2.4-5]	Day 7	12	1000	8.33		15.1		5.80		4.54	
	52-week toxicity	S13825	[4.2.3.2-9]	Week 52	24	1000	20.90	16.20	36.80	36.10	-	-	-	-
Rabbits	Embryo-foetal development	FLG0049	[4.2.3.5.2-5]	GD18	24	100[d]		1.02		7.07		-		-
						225[e]		4.52		13.60		-		-
Dogs	4-week toxicity	A73945	[4.2.3.2-6]	Week 4	24	600	6.33	4.54	18.77	16.73	-	-	-	-
Human	Phase1 Clinical Study	ONO-2370-01	[2.7.1.2.1.3]	Day 1	24	25 mg/day	2.48		-		-		-	
		BIA-91067-126	[5.3.3.3-4]	Day 10	24	25 mg/day	2.24		Not Calculated[f]		10.7		0.14	

For repeat-dose toxicity and reproductive and developmental toxicity, the NOAEL is underlined.
a: Last sample time point
b: Opicapone/Levodopa/Carbidopa dose
c: NOAEL for maternal toxicity and embryofoetal development
d: NOAEL for maternal toxicity
e: NOAEL for embryofoetal development
f: Plasma concentration were found to be BLQ for the majority of the timepoints. Thus, AUC can not be calculated.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

2.6.7.4.1 オピカポンの使用ロット

被験物質：オピカポン

Batch No. Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	Opicapone Purity (%; HPLC)	Specified Impurities				Total Organic Impurities	Particle Size (ECD; µm)	Study No.	Type of Study
		不純物T*	BIA 9-1079	Each Other Known Impurity	Single Unknown Impurity				
	Proposed Specification:								
	≥99.0%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤1.0%	d10 ≥4 d50 10-40 d95 ≤80		
[redacted] Bial [redacted]	96.8	Not tested	3.1	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	510730	Acute oral toxicity in mice
								510641	Acute oral toxicity in rats
								510657	Acute intravenous toxicity in rats
								778279	Bacterial reverse mutation assay
								778263	Mammalian chromosome aberrations assay
[redacted] Bial [redacted]	97.4	Not tested	2.6	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	A73945	4-week toxicity in dogs
[redacted] Bial [redacted]	97.27	Not tested	2.73	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	A73978	Maximum tolerated dose in dogs
								A73945	4-week toxicity in dogs
								B08144[a]	4-week toxicity in rats
								A73980[a,b]	14-day dose range-finding study in rats
[redacted] Bial [redacted]	97.5	Not tested	2.5	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	A73945	4-week toxicity in dogs

Bial: Bial-Portela & Cª, S.A., Portugal
a: No certificate of analysis provided in final report.
b: Not stated in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.1 オピカポンの使用ロット（続き） 被験物質：オピカポン

Batch No. Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	Opicapone Purity (%; HPLC)	Specified Impurities				Total Organic Impurities	Particle Size (ECD; µm)	Study No.	Type of Study
		不純物 T*	BIA 9-1079	Each Other Known Impurity	Single Unknown Impurity				
	Proposed Specification:								
	≥99.0%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤1.0%	d10 ≥4 d50 10-40 d95 ≤80		
[redacted] Bial [redacted] ([redacted])	98.86	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	1.14	Not tested	783430	Micronucleus test in mice
[redacted] Bial [redacted] (Not provided)	98.4 (HPLC dried substance)	Not tested	1.56	Not tested	<0.1	1.6	Not tested	B08144[a]	4-week toxicity in rats
[redacted] [redacted] ([redacted])	98.0	Not tested	2.00	Not tested	<0.05	2.0	Not tested	B18404[a]	4-week toxicity in mice
								B18393[a]	13-week toxicity in mice
								S04937	Maximum tolerated dose in mini-pig
								S03328	Maximum tolerated dose in monkey
								B18382[a]	13-week toxicity in rats
[redacted] [redacted] ([redacted])	97.8	Not tested	2.17	Not tested	<0.05	2.2	Not tested	S13825	52-week toxicity in monkeys

Bial: Bial-Portela & Cª, S.A., Portugal, [redacted] Hungary
a: No certificate of analysis provided in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.1 オピカポンの使用ロット（続き） 被験物質：オピカポン

Batch No. Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	Opicapone Purity (%; HPLC)	Specified Impurities				Total Organic Impurities	Particle Size (ECD; µm)	Study No.	Type of Study
		不純物 T*	BIA 9-1079	Each Other Known Impurity	Single Unknown Impurity				
	Proposed Specification:								
	≥99.0%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤1.0%	d10 ≥4 d50 10-40 d95 ≤80		
[redacted] 20 ([redacted] 20[redacted])	97.6	Not tested	2.41	Not tested	<0.05	2.4	d(90) ≤195.3	C30740	104 week carcinogenicity in mice
[redacted] 20 ([redacted] 20[redacted])	97.9	Not tested	2.14	Not tested	<0.05	2.1	Not tested	C03508[a]	26-week toxicity in rats
								FLG0053	Effects on pre- and post natal development in rats
[redacted] 20 ([redacted] 20[redacted])	97.5	Not tested	2.49	Not tested	<0.05	2.5	Not tested	FLG0044	Embryo-foetal development, dose range finding in rats
								FLG0046	Maximum tolerated dose in rabbits
								S03352	4-week toxicity in monkeys
								S12824	13-week toxicity in monkeys
[redacted] 20 ([redacted] 20[redacted])	97.6	Not tested	2.45	Not tested	<0.05	2.5	Not tested	FLG0048	Fertility and early embryonic development, dose range finding in rats
								FLG0052	Fertility and early embryonic development in rats
								FLG0045	Embryo-foetal development in rats
								FLG0047	Embryo-foetal development, dose range finding in rabbits

[redacted] Hungary

a: No certificate of analysis provided in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.1 オピカポンの使用ロット（続き） 被験物質：オピカポン

Batch No. Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	Opicapone Purity (%; HPLC)	Specified Impurities				Total Organic Impurities	Particle Size (ECD; µm)	Study No.	Type of Study
		不純物 T*	BIA 9-1079	Each Other Known Impurity	Single Unknown Impurity				
	Proposed Specification:								
	≥99.0%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤1.0%	d10 ≥4 d50 10-40 d95 ≤80		
[redacted] 20[redacted] 20[redacted]	97.7	Not tested	2.29	Not tested	<0.05	2.3	Not tested	S13825	52-week toxicity in monkeys
[redacted] 20[redacted] 20[redacted]	99.9	Not tested	0.06	Not tested	<0.05	0.06	Not tested	783802	Cell viability assays
[redacted] 20[redacted] 20[redacted]	100.0	Not tested	0.05	Not tested	<0.05	0.1	d(90) ≤ 25	C30740	104 week carcinogenicity in mice
								C30751	104-week carcinogenicity in rats
[redacted] 20[redacted] 20[redacted]	100.0	Not tested	0.05	Not tested	<0.05	0.1	d(90) ≤ 19	C30740	104-week carcinogenicity in mice
								C30751	104-week carcinogenicity in rats

[redacted]Hungary

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.1 オピカポンの使用ロット（続き） 被験物質：オピカポン

Batch No. Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	Opicapone Purity (%; HPLC)	Specified Impurities				Total Organic Impurities	Particle Size (ECD; µm)	Study No.	Type of Study
		不純物 T*	BIA 9-1079	Each Other Known Impurity	Single Unknown Impurity				
	Proposed Specification:								
	≥99.0%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤1.0%	d10 ≥4 d50 10-40 d95 ≤80		
[redacted]	100.0	Not tested	0.05	Not tested	<0.05	<0.1	Not tested	792471	Supportive TK for micronucleus test in mice
[redacted] 20 [redacted] 20 [redacted] 20 [redacted]								SROPC [redacted] 0105[a]	Cell viability assays
[redacted]	100.0	Not tested	<0.05	Not tested	<0.05	<0.05	d(95) ≤ 57.14	C30740	104-week carcinogenicity in mice
[redacted] 20 [redacted] 20 [redacted] 20 [redacted]								C30751	104-week carcinogenicity in rats
[redacted]	100.0	Not tested	<0.05	Not tested	<0.05	<0.05 (<0.1 [redacted] 20[redacted]	d(95) ≤ 69.92	C30740	104 week carcinogenicity in mice
[redacted] 20 [redacted] 20 [redacted] 20 [redacted]								C30751	104-week carcinogenicity rats

[redacted] Hungary

a: No certificate of analysis provided in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.1 オピカポンの使用ロット（続き） 被験物質：オピカポン

Batch No. Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	Opicapone Purity (%; HPLC)	Specified Impurities				Total Organic Impurities	Particle Size (ECD; µm)	Study No.	Type of Study
		不純物 T*	BIA 9-1079	Each Other Known Impurity	Single Unknown Impurity				
	Proposed Specification:								
	≥99.0%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤0.10%	≤1.0%	d10 ≥4 d50 10-40 d95 ≤80		
[redacted]	100.0	Not tested	<0.05	Not tested	<0.05	<0.05 (<0.1 [redacted]	d(95) ≤ 65.36	C30740	104-week carcinogenicity n mice
								C30751	104-week carcinogenicity in rats
								D55805	13-week combination toxicity in rats
								1404800[a]	Phototoxicity: cytotoxicity
								D31990[a]	Photoallergenicity in guinea pigs
								D38007	13-week TK in rats
[redacted]	100.0	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.1	Not tested	792471	Supportive TK for micronucleus test in mice

[redacted] Hungary

a: No certificate of analysis provided in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.2 BIA 9-1103 の使用ロット

被験物質：BIA 9-1103

Batch No. **Manufacturer** **Date of Manuf.** **(Certificate of Analysis Date)**	**BIA 9-1103 Purity (%)**	**Opicapone**	**RRT=1.19**	**RRT=1.76**	**RRT=1.95**	**RRT=2.70**	**Study No.**	**Type of Study**
[redacted] Bial [redacted]	89.9	9.0%	0.34%	0.10%	0.13%	0.52%	790495	Mammalian chromosome aberration assay
							790474	Bacterial reverse mutation assay
[redacted] Bial [redacted]	86.3	13.0%	0.73%	Not tested	Not tested	Not tested	SROPC[redacted]0105[a]	Cell viability assay

Bial: Bial-Portela & C[a], S.A., Portugal
a: No certificate of analysis provided in final report.

2.6.7.4.3 BIA 9-1079 の使用ロット

被験物質：BIA 9-1079

Batch No. **Manufacturer** **Date of Manuf.** **(Certificate of Analysis Date)**	**BIA 9-1079 Purity (%)**	**Opicapone**	**RRT=0.30**	**RRT=0.44**	**RRT=0.74**	**RRT=1.15**	**Total Impurities**	**Study No.**	**Type of Study**
[redacted] Bial [redacted]	100	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	783886	Micronucleus test
[redacted] Bial [redacted]	>99.9	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	Not tested	Not detected	779953	Mammalian chromosome aberration assay
								779969	Bacterial reverse mutation assay
								511535	Acute oral toxicity in mice
								511509	Acute oral toxicity in rats
								512607	Acute intravenous toxicity in rats
[redacted] Bial [redacted]	99.9	<0.05%	<0.05%	<0.05%	<0.05%	0.12%	Not stated	783802	Cell viability assays
								SROPC[redacted]0105[a]	Cell viability assays

Bial: Bial-Portela & Cª, S.A., Portugal
a: No certificate of analysis provided in final report.

2.6.7.4.4 **不純物の使用ロット**

2.6.7.4.4A 不純物 A* **の使用ロット**

被験物質：不純物A*

Batch No. **Manufacturer** **Date of Manuf.** **(Certificate of Analysis Date)**	不純物 A* **Purity (%)**	**RRT=0.87**	**RRT=0.90**	**RRT=0.92**	**RRT=0.93**	**RRT=0.96**	**RRT=0.97**	**Study No.**	**Type of Study**
[redacted] Bial [redacted]	94.4	0.11%	0.30%	0.06%	4.5%	0.47%	0.11%	789762[a]	Bacterial reverse mutation assay (Screening)
[redacted] Bial [redacted]	98.6	0.16%	0.32%	0.11%	0.28%	0.55%	Not tested	791467	Mammalian chromosome aberration assay
								791462	Bacterial reverse mutation assay

Bial: Bial-Portela & Cª, S.A., Portugal
a: No certificate of analysis provided in final report.

2.6.7.4.4B　　不純物 B* の使用ロット　　被験物質：不純物B*

Batch No. Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	不純物 B* Purity (%)	RRT=0.57	RRT=1.02	Study No.	Type of Study
[redacted] Bial [redacted] 20[redacted]	No data available	-	-	789762[a]	Bacterial reverse mutation assay (Screening)
[redacted] Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	99.9	0.06%		791436	Mammalian chromosome aberration assay
[redacted] Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	99.9		0.06%	792838	Micronucleus test in mice
[redacted] Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	100.0			791436 791420	Mammalian chromosome aberrations assay Bacterial reverse mutation assay
[redacted] Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	100.0			792838 792487	Micronucleus test in mice Micronucleus test in mice

Bial: Bial-Portela & Cª, S.A., Portugal
a: No certificate of analysis provided in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.4C　　不純物 C* **の使用ロット**　　**被験物質**：不純物C*

Batch No. **Manufacturer** **Date of Manuf.** **(Certificate of Analysis Date)**	不純物 C* **Purity (%)**	**RRT**														**Study No.**	**Type of Study**
		0.46	**0.75**	**0.82**	**0.86**	**0.89**	**0.91**	**0.97**	**1.03**	**1.06**	**1.07**	**1.08**	**1.10**	**1.14**	**1.15**	**1.20**	
[redacted] Bial [redacted]	89.7	0.10 %	7.3 %	0.14 %	0.07 %	0.11 %	0.19 %	0.07 %	0.70 %	0.06 %	0.22 %	0.09 %	0.19 %	0.38 %	0.71 %	0.06 %	789762[a]	Bacterial reverse mutation assay (Screening)
[redacted] Bial [redacted]	98.7		0.11 %						0.45 %		0.24 %			0.08 %	0.23 %	0.17 %	791488	Mammalian chromosome aberration assay
																	791483	Bacterial mutation assay

Bial: Bial-Portela & Cª, S.A., Portugal
a: No certificate of analysis provided in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.4D　　不純物 D* **の使用ロット**　　**被験物質**：不純物D *

Batch No. **Manufacturer** **Date of Manuf.** **(Certificate of Analysis Date)**	不純物D * **Purity (%)**	**RRT=0.51**	**RRT=0.71**	**RTT=0.88**	**RRT=1.02**	**RRT=1.09**	**RRT=1.12**	**RRT=1.20**	**Study No.**	**Type of Study**
[redacted] Bial [redacted]	99.5				0.09%	0.05%	0.23%	0.13%	789762[a]	Bacterial reverse mutation assay (Screening)
[redacted] Bial [redacted]	99.5		0.22%				0.22%	0.06%	791446	Mammalian chromosome aberration assay
									791441	Bacterial reverse mutation assay
[redacted] Bial [redacted]	99.8	0.09%		0.09%					792822	Micronucleus test in mice
									792487	Micronucleus test in mice
[redacted] Bial [redacted]	98.6		1.4%					0.05%	792822	Micronucleus test in mice

Bial: Bial-Portela & C[a], S.A., Portugal
a: No certificate of analysis provided in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.4E　　その他の不純物の使用ロット

Impurities	Batch No.	Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	Purity (%)	Analytical results		Study No.	Type of Study
不純物 O*	[redacted]	[redacted]	99.4	Vanillic: acid: <0.1% Acetic acid: <0.1% RRT=1.51: 0.5%	Largest unknown impurities: <0.1% Sum of total impurities: 0.6%	790673	Bacterial reverse mutation assay (Screening)
BIA 9-1100	[redacted]	[redacted]	98.9	BALI-6: 0.09% 不純物P*: <0.1% 6-Cl-BALI-7: 0.01% 不純物D *: Not detected 不純物C*: Not detected	Cl-Impurities each max. 0.14% area: conforming BALI-9 (for inf.): 0.7% Unknown Impurities (≧0.05%): conforming		
BIA 9-1101	[redacted]	Bial [redacted]	99.4	RRT=0.95: 0.61%			
不純物 P*	[redacted]	Bial [redacted]	93.4	RRT=0.54: 0.21% RRT=1.06: 5.5% 不純物Q*: 0.84%			
不純物 Q*	[redacted]	Bial [redacted]	95.4	RRT=0.82: 0.71% RRT=1.06: 3.9%			
不純物 R*	[redacted]	Bial [redacted]	99.2	RRT=0.46: 0.73% RRT=1.28: 0.11%			
不純物 S*	[redacted]	Bial [redacted]	97.9	RRT=0.29: 0.08% RRT=0.62: 0.07% RRT=0.98: 0.36% RRT=1.02: 0.12%	RRT=1.03: 0.07% RRT=1.04: 0.40% RRT=1.05: 0.97%	789762[a]	Bacterial reverse mutation assay (Screening)
不純物 T*	[redacted]	Bial [redacted]	No data available	-			

Bial: Bial-Portela & C[a], S.A., Portugal, [redacted]
a: No certificate of analysis provided in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.4E　　その他の不純物の使用ロット（続き）

Impurities	Batch No.	Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	Purity (%)	Analytical results	Study No.	Type of Study
不純物 E*	[redacted]	Bial [redacted]	99.9	RRT=0.89: 0.10%	796743	Bacterial reverse mutation assay
不純物 U*	[redacted]	Bial [redacted]	98.4	RRT=0.88: 1.2% RRT=0.98: 0.15% RRT=1.01: 0.24%	789762[a]	Bacterial reverse mutation assay (Screening)
不純物 V*	[redacted]	Bial [redacted]	94.9	RRT=0.26: 0.07% RRT=0.57: 0.14% RRT=0.68: 0.64% RRT=0.74: 0.06% RRT=0.87: 0.06% RRT=0.92: 0.16% RRT=0.94: 0.11% RRT=1.04: 0.64% RRT=1.11: 0.16% RRT=1.25: 0.05% RRT=1.33: 3.0% RRT=1.35: 0.08%		
不純物 F*	[redacted]	[redacted]	99.7	Carboxamid(RRT=1.48): <0.1% Bali-4: n.d. Total further impurities: 0.3%	796680	Bacterial reverse mutation assay
不純物 G*	[redacted]	Bial [redacted]	100.0	-	796633	Bacterial reverse mutation assay
不純物 H*	[redacted]	Bial [redacted]	87.7	RRT=0.75: 0.84% RRT=0.77: 0.94% RRT=0.94: 1.1% RRT=0.95: 0.11% RRT=1.03: 1.8% RRT=1.06: 0.96% RRT=1.08: 0.23% RRT=1.13: 6.1% RRT=1.22: 0.20%	796649	Bacterial reverse mutation assay
不純物 I*	[redacted]	Bial [redacted]	97.1	RRT=1.41: 0.60% RRT=3.39: 0.15% RRT=3.64: 2.2%	796675	Bacterial reverse mutation assay

Bial: Bial-Portela & Cª, S.A., Portugal, [redacted]
a: No certificate of analysis provided in final report.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.4.4E　　その他の不純物の使用ロット（続き）

Impurities	Batch No.	Manufacturer Date of Manuf. (Certificate of Analysis Date)	Purity (%)	Analytical results		Study No.	Type of Study
不純物 J*	[redacted]	Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	89.6	RRT=1.50: 4.2% RRT=5.03: 6.2%		796701	Bacterial reverse mutation assay
不純物 K*	[redacted]	Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	93.5	RRT=0.78: 0.12% RRT=0.97: 2.1% RRT=1.08: 0.11%	RRT=1.57: 0.54% RRT=1.62: 3.6% RRT=1.63: 0.06%	796717	Bacterial reverse mutation assay
不純物 L*	[redacted]	Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	92.0	RRT=1.94: 8.0%		796722	Bacterial reverse mutation assay
	[redacted]	Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	99.5	RRT=0.81: 0.14% RRT=1.79: 0.19% RRT=2.95: 0.14%	RRT=3.24: 0.08%	798117	Bacterial reverse mutation assay
不純物 M*	[redacted]	Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	96.4	RRT=1.94: 3.6%		796738	Bacterial reverse mutation assay
不純物 N*	[redacted]	Bial [redacted] 20[redacted] ([redacted] 20[redacted])	99.2	RRT=0.72: 0.44% RRT=0.82: 0.36%		796654	Bacterial reverse mutation assay

Bial: Bial-Portela & Cª, S.A

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.5 単回投与毒性試験 被験物質：オピカポン

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No. Location in CTD
Mouse/ CD-1	Oral (gavage) (0.5% CMC)	250 1000 2000	3F 3F 3M+3F	2000	>2000	250 mg/kg: None. 1000 mg/kg: None. 2000 mg/kg: One female died on Day 2; subdued behaviour, hunched appearance and increased breathing rate observed prior to death. Necropsy findings, including a damaged oesophagus, indicated that death was due to a procedural error and was not treatment-related. Hunched appearance and piloerection observed in 2 males approximately 2 h after dosing with recovery by Day 4	510730 [4.2.3.1-1]
Rat/ Crl:CD(SD)	Oral (gavage) (0.5% CMC)	250 1000 2000	3F 3F 3M+3F	2000	>2000	250 mg/kg: None. 1000 mg/kg: None. 2000 mg/kg: None.	510641 [4.2.3.1-2]
Rat/ Crl:CD(SD)	i.v. (bolus) (DMSO)	1 5 10	2F 3M+3F 1F	5	10	1 mg/kg: Subdued behaviour, hunched appearance and red staining in urine and around vaginal area 15 min after dosing. 5 mg/kg: Laboured breathing, staggering, subdued behaviour and increased breathing rate in all males with red staining on bedding 1.25 h after dosing. Red staining in urine and around vaginal area in females 10 min after dosing. 10 mg/kg: The animal died immediately after dosing; convulsions, prostration and laboured breathing observed prior to death.	510657 [4.2.3.1-3]

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き） 被験物質：オピカポン

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study No. Location in CTD
Dog / Beagle	Oral (capsule)	Phase 1: single dose Phase 2: 7 days	Phase 1: 100, 200, 400, 600, 800, 1000 Phase 2: 1000	Phase 1: M 1; F 1 (each animal received each ascending dose) Phase 2: M 2, F 2	Phase 1 100 mg/kg/day: None. 200 mg/kg/day: None. 400 mg/kg/day: None. 600 mg/kg/day: None. 800 mg/kg/day: Yellow coloured faeces or yellow particles in the faeces in both animals. 1000 mg/kg/day: Red coloured faeces with red particles in the faeces of the male animal. Phase 2 1000 mg/kg/day: Yellow, red or dark faeces occasionally with yellow or red particles in all animals.	A73978 [4.2.3.1-4]
Mini-pig / Göttingen	Oral (gavage) (0.2% HPMC)	Phase 1: 1 dose 2 doses 2 doses 2 doses 3 doses Phase 2: 14 days	Phase 1: 100 200 400 800 1000 Phase 2: 1000	Phase 1: M 1; F 1 (each animal received each ascending dose) Phase 2: M 2, F 2	Phase 1 100 mg/kg/day: None. 200 mg/kg/day: None. 400 mg/kg/day: None. 800 mg/kg/day: None. 1000 mg/kg/day: Dark orange faeces and yellowish substance in the faeces in both animals after the 2nd and 3rd dose and throughout washout period. Phase 2 1000 mg/kg/day: Soft faeces in 3 animals on Days 6 to 13 and in 1 animal on Days 2, 3 and 14. Vomiting occurred in one animal on Days 12 and 14. All animals showed dark orange faeces (on Day 1 in 1 animal, on Day 2 in 3 animals and on Days 3 to 14 in all animals) and a yellowish substance in the faeces (on Days 2 and 3 in 1 animal and on Days 4 to 14 in all animals).	S04937 [4.2.3.1-5]

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き） 被験物質：オピカポン

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study No. Location in CTD
Monkey / Cynomolgus	Oral (gavage) (0.2% HPMC)	Phase 1: 1 dose 3 doses 2 doses 2 doses 3 doses Phase 2: 7 days	Phase 1: 100 200 400 600 1000 Phase 2: 1000	Phase 1: M 1; F 1 (each animal received all doses with a washout of 2-7 days between each dose level) Phase 2: M 2, F 2	Phase 1 100 mg/kg/day: None. 200 mg/kg/day: The male animal had diarrhoea on one occasion. Traces of yellow substance in the faeces after two administrations in the female. 400 mg/kg/day: None. 600 mg/kg/day: Traces of yellow substance in the faeces on the second day of dosing. 1000 mg/kg/day: Traces of yellow substance in the faeces throughout the dosing period. Phase 2 1000 mg/kg/day: Traces of yellow substance in the faeces throughout the dosing period.	S03328 [4.2.3.1-6]

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 被験物質：オピカポン

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL	Noteworthy Findings	Study No. Location in CTD
Rat / Wistar	Oral (gavage) (0.2% HPMC)	14 days	0, 100, 500, 1000	M 3; F 3	N/A	0 mg/kg/day: None. 100 mg/kg/day: Slight emaciation in 1 female on Day 14. Mean liver to body weight ratio was decreased ($p<0.01$) in males; this was attributed to higher mean body weights in treated animals when compared to control animals. 500 mg/kg/day: Slight emaciation in 1 female on Days 9-13. Mean liver to body weight ratio was decreased ($p<0.01$) in males; this was attributed to higher mean body weights in treated animals when compared to control animals. 1000 mg/kg/day: Slight emaciation in 1 female on Days 9 to 13. Orange faeces in all animals on Days 5 to 15. Mean liver to body weight ratio was decreased ($p<0.01$) in males; this was attributed to higher mean body weights in treated animals when compared to control animals.	A73980 [4.2.3.2-1]

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067 28-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the Wistar Rat						**Test Article:**	Opicapone	
Species/Strain:	Rat/HanRcc:WIST	**Duration of Dosing:**	28 days			**Study No:**	B08144	
Age at the start of Administration:	7 weeks	**Duration of Post-Dose:**	None			**Location in CTD:**	[4.2.3.2-2]	
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)					
Vehicle/Formulation:	0.2% HPMC		**GLP Compliance:**		Yes			
Special Features:	Immunotoxicological investigations incorporated into study design							
No Observed Adverse-Effect Level:	1000 mg/kg/day							
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Toxicokinetics:								
Gender/No. of Animals for Toxicokinetics:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	0	0	0
Opicapone								
Day 1 Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	4.71	3.61	15.20	13.49	18.47	19.60
Day 1 AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	19.67	11.57	59.98	45.50	96.33	67.03
Day 29 Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	14.97	11.98	22.33	23.87	29.33	28.93
Day 29 AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	24.56	16.83	68.36	51.26	104.39	100.62
BIA 9-1079								
Day 1 Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.56	1.49	2.81	2.51	3.61	3.24
Day 1 AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	14.93	12.68	26.08	22.26	33.33	27.64
Day 29 Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	2.67	2.27	3.97	3.96	5.96	4.95
Day 29 AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	17.71	13.32	30.91	27.47	45.08	40.94

2.6.7.7A　　ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

28-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** B08144				**Location in CTD:** [4.2.3.2-2]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Immune response (SRBC) Gender/No. of Animals:	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[a]:								
Orange faeces	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	45->95% (27)	5->95% (27)	75->95% (28)	55->95% (28)
Soft faeces	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	15-35% (21)	0(0)
Body Weight (%; Day 28)[b]:	316 g	202 g	+6*	+2	+1	+1	+2	0
Body Weight Gain (%):								
Day 22	50.9	30.9	56.4*	32.8	51.5	32.6	52.0	28.5
Day 28	60.6	37.6	68.4*	37.3	60.7	37.6	62.5	34.6
Food Consumption (%)[b]:								
Days 1-8	21.2 g/animal/day	14.9 g/animal/day	+3	+3	0	-2	-4	-7*
Days 1-28	22.5 g/animal/day	15.8 g/animal/day	+6	+4	+2	+3	+3	-1
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (mmol/L)	23.92	24.07	24.13	24.19	23.99	24.00	23.53*	23.60*

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals comprising main study, immunological animals and toxicokinetic animals (number of days with observation).

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

2.6.7.7A　　ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

28-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** B08144				**Location in CTD:** [4.2.3.2-2]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: cont.								
Serum Chemistry:	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose (mmol/L)	5.21	4.78	5.25	5.08	4.92	5.31	4.24*	4.66
Sodium (mmol/L)	142.8	146.1	146.7**	144.2	147.1**	149.3	147.2**	151.2
Phosphorus (mmol/L)	2.24	1.72	2.37	1.99*	2.28	2.12**	2.48*	1.82
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights:								
Liver								
Absolute (%)[a]	12.01 g	6.16 g	+3	0	-9	-1	-12*	-9
Relative (% body weight)	3.93	3.27	3.79	3.16	3.50**	3.17	3.56*	3.03
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:								
Liver - Glycogen Storage								
Total affected	10	0	10	0	9	0	9	0
Mean severity	3.2	N/A	2.6	N/A	2.1	N/A	1.9	N/A
Additional Examinations:								
Immune response (SRBC) Gender/No. of Animals Examined:	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
Primary Immune Response to SRBC	-	-	-	-	-	-	-	-
Main Study Gender/No. of Animals (first 6 animals per group and sex):	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**
$CD3^+$ cells	54.0±6.8		60.8±4.9***		60.6±3.4***		62.5 ±4.8***	
$CD3^+/CD4^+$ cells	40.3±5.0		45.0±4.3**		44.4±2.7**		47.3±5.4**	
$CD45RA^+$ population	21.0±3.6		18.4±4. 4		19.4±2.9		14.7±4.0***	
$CD3^+/CD8^+$ cells	-		-		-		-	
$CD11b^+$ cells	-		-		-		-	
Post-Dose Evaluation:	Not evaluated in this study							

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001
-: No Noteworthy findings
Severity: Grade 1: minimal/very few/very small; Grade 2: slight/few/small; Grade 3: moderate/moderate number/moderate size; Grade 4: marked/many/large
a: Percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percent differences).

2.6.7.7B　　ラットにおける 13 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067 90-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the Wistar Rat						**Test Article:**		Opicapone	
Species/Strain:		Rat/HanRcc:WIST	**Duration of Dosing:**		13 weeks		**Study No:**		B18382
Age at the start of Administration:		7 weeks	**Duration of Post-Dose:**		4 weeks		**Location in CTD:**		[4.2.3.2-3]
Date of First Dose:		[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**		Oral (gavage)				
Vehicle/Formulation:		0.2% HPMC			**GLP Compliance:**		Yes		
Special Features:			None						
No Observed Adverse-Effect Level:			1000 mg/kg/day						
Daily Dose (mg/kg):			**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**
Toxicokinetics:									
Gender/No. of Animals for Toxicokinetics:			**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Died or Sacrificed Moribund:			0	0	0	0	0	0	0	0
Opicapone										
Day 1	Cmax (µg/mL)		N/A	N/A	1.75	1.32	6.60	7.87	18.70	10.62
	AUC0-12 h (µg•h/mL)		N/A	N/A	6.87	3.46	25.77	18.28	39.41	28.96
Day 92	Cmax (µg/mL)		N/A	N/A	3.64	1.74	9.63	6.00	6.38	6.17
	AUC0-12 h (µg•h/mL)		N/A	N/A	9.80	4.56	29.34	22.21	29.01	27.13
BIA 9-1079										
Day 1	Cmax (µg/mL)		N/A	N/A	0.91	0.76	2.19	1.86	2.11	1.72
	AUC0-12 h (µg•h/mL)		N/A	N/A	6.26	5.25	15.28	14.26	18.37	16.62
Day 92	Cmax (µg/mL)		N/A	N/A	0.81	0.57	1.35	2.16	1.64	1.52
	AUC0-12 h (µg•h/mL)		N/A	N/A	6.10	4.53	11.99	14.47	13.46	14.86

2.6.7.7B　　ラットにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

90-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** B18382				**Location in CTD:** [4.2.3.2-3]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 5**	**F: 5**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy findings: Treatment Phase								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[a]:								
Orange faeces	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	100% (87)	100% (87)
Body Weight (%; Day 91)[b]:	425.9 g	251.0 g	-3	+2	+1	-1	-1	-2
Body Weight Gain (%; Day 91):								
Day 15	40.3	27.8	39.8	26.1	39.5	23.9*	39.5	24.9
Day 91	117.9	71.6	115.9	68.8	118.4	66.4	117.3	67.5
Food Consumption (%)[b]:								
Days 64-71	21.4 g/animal/day	16.7 g/animal/day	+4	-3	+9*	-1	+8*	+7
Days 71-78	21.3 g/animal/day	16.2 g/animal/day	+1	+2	+6	-1	+9*	+1
Days 1-91	21.9 g/animal/day	16.4 g/animal/day	+1	+1	+6	0	+5	+2

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals comprising main study, post-dose study and toxicokinetic animals (number of days with observation in administration period).

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

2.6.7.7B　　ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

90-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** B18382				**Location in CTD:** [4.2.3.2-3]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: Treatment Phase								
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (mmol/L)	22.28	23.37	22.33	23.44	21.93	23.35	21.95*	23.08
Serum Chemistry:	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose (mmol/L)	6.13	5.22	6.43	5.58	6.62	5.79	5.52*	5.65
Sodium (mmol/L)	144.1	143.1	145.1	143.0	145.3*	142.7	145.8**	143.2
Phosphorus (mmol/L)	1.70	1.69	1.72	1.49*	1.76	1.68	1.92**	1.57
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights:								
Liver								
Absolute (%)[a]	10.03 g	6.40 g	-4	-1	-5	-4	-14**	-7
Relative (% body weight)	2.45	2.72	2.43	2.59	2.32	2.63	2.20*	2.68
Gross pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations:	Not evaluated in this study							

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

-: No noteworthy findings

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

2.6.7.7B　　ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

90-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** B18382				**Location in CTD:** [4.2.3.2-3]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Post-Dose Evaluation: After 4-Week Treatment-Free Period								
Post-Dose Gender / Number of Animals:	**M: 5**	**F: 5**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	0	0
Clinical Observations[a]:								
Orange faces	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	100% (4)	100% (4)
Body Weight (%; Day 28)[b]:	449.5 g	264.2g	N/A	N/A	N/A	N/A	0	+1
Body Weight Gain (%; Day 28):	128.4	74.5	N/A	N/A	N/A	N/A	132.2	82.2
Food Consumption (%; Days 3-28)[b]:	21.4 g/animal/day	17.6 g/animal/day	N/A	N/A	N/A	N/A	+6	-1
Ophthalmoscopy:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Haematology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Serum Chemistry:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Urinalysis:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Organ Weights (%):	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Gross Pathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Histopathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of recovery animals (number of days with observation).

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

2.6.7.7C　　ラットにおける 13 週間反復経口投与 TK 試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067: 13-Week Oral (Gavage) Toxicokinetic Study in the Wistar Rat						**Test Article:**	Opicapone
Species/Strain:	Rat/RccHan:WIST	**Duration of Dosing:**		13 weeks		**Study No:**	D38007
Age at the start of Administration:	7 weeks	**Duration of Post-Dose:**		None		**Location in CTD:**	[4.2.3.2-4]
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**		Oral (gavage)			
Vehicle/Formulation:	0.2% HPMC			**GLP Compliance:**		Yes	
Special Features:		None					
Daily Dose (mg/kg):		**0 (Control)**		**500**		**1000**	
Toxicokinetics:							
Gender/No. of Animals:		**M: 3**	**F: 3**	**M: 8**	**F: 8**	**M: 8**	**F: 8**
Opicapone							
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	23.10	25.90	34.20	43.80
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	70.60	53.20	126.00	106.00
Week 4	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	20.10	22.60	20.20	31.30
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	47.70	47.60	83.60	94.00
Week 8	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	29.10	21.10	24.30	41.20
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	73.50	50.10	108.00	110.00
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	18.10	23.20	28.60	42.00
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	65.40	58.30	121.00	122.00
BIA 9-1079							
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.33	0.97	1.10	0.64
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	16.50	11.90	15.40	11.40
Week 4	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.69	0.51	0.57	0.51
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	8.53	7.31	9.11	8.69
Week 8	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.61	0.51	0.66	0.58
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	11.60	7.66	12.40	10.30
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.51	0.63	0.59	0.85
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	9.15	11.60	11.80	12.90

2.6.7.7C　　ラットにおける 13 週間反復経口投与 TK 試験（続き）　　被験物質：オピカポン

13-Week Oral (Gavage) Toxicokinetic Study in the Wistar Rat continued				**Study No.:** D38007		**Location in CTD:** [4.2.3.2-4]	
Daily Dose (mg/kg):		**0 (Control)**		**500**		**1000**	
Toxicokinetics: cont./ Gender:		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
BIA 9-1103							
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	5.73	1.33	10.60	3.26
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	43.20	9.41	90.90	18.40
Week 4	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	6.74	1.24	8.62	3.01
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	43.50	8.94	74.70	19.40
Week 8	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	14.90	1.71	13.20	3.43
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	74.00	12.50	163.00	30.70
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	8.18	1.95	11.50	3.11
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	72.10	16.70	182.00	35.30
BIA 9-1106							
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	8.13	8.94	14.80	12.50
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	24.20	17.80	48.60	36.60
Week 4	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	7.56	5.63	7.82	12.40
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	14.70	13.10	24.00	31.70
Week 8	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	8.95	8.71	8.13	23.20
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	21.90	18.30	35.80	51.90
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	5.87	8.30	9.84	23.10
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	19.60	22.00	45.60	63.40

2.6.7.7C　　ラットにおける 13 週間反復経口投与 TK 試験（続き）　　被験物質：オピカポン

13-Week Oral (Gavage) Toxicokinetic Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** D38007		**Location in CTD:** [4.2.3.2-4]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**500**		**1000**	
Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 8**	**F: 8**	**M: 8**	**F: 8**
Noteworthy findings:						
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[a]:						
Stained/discoloured red faeces	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	50-100% (14)	100% (13)
Body Weight (%; Day 91)[b]:	435.72 g	254.49 g	0	-3	-3	-1
Body Weight Gain (%; Day 91):	131.11	67.55	133.51	65.54	132.53	69.64
Food Consumption (%)[b]:						
Days 64-71	25.1 g/animal/day	14.0 g/animal/day	+3	+22*	-4	+23*
Days 71-78	24.4 g/animal/day	13.9 g/animal/day	+6	+21*	0	+19*
Days 85-91	23.7 g/animal/day	14.4 g/animal/day	+4	+14*	-2	+14*
Days 1-91	24.2 g/animal/day	15.8 g/animal/day	+6	+8	+1	+9
Organ Weights:	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05
-: No noteworthy findings
a: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals (number of days with observation).
b: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percent differences).

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067 26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat						**Test Article:**		Opicapone	
Species/Strain:		Rat/HanRcc:WIST		**Duration of Dosing:**		26 weeks		**Study No:**	C03508
Age at the start of Administration:		7 weeks		**Duration of Post-Dose:**		4 weeks		**Location in CTD:**	[4.2.3.2-5]
Date of First Dose:		[redacted] 20[redacted]		**Method of Administration:**		Oral (gavage)			
Vehicle/Formulation:		0.2% HPMC				**GLP Compliance:**		Yes	
Special Features:				None					
No Observed Adverse-Effect Level:				500 mg/kg/day					
Daily Dose (mg/kg):		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Toxicokinetics:									
Gender/No. of Animals for Toxicokinetics:		**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Opicapone									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	4.14	4.29	8.28	10.50	16.47	23.37
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	17.47	14.02	33.63	31.45	50.62	49.31
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	8.82	10.80	16.73	26.83	18.80	31.40
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	15.01	12.41	38.60	53.42	54.04	62.54
Week 26	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	7.19	7.66	19.47	27.13	19.73	23.33
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	14.95	11.27	59.18	41.61	67.94	65.22
BIA 9-1079									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.86	1.45	2.12	2.30	3.07	2.54
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	19.73	11.95	25.58	19.80	40.08	31.93
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.20	1.05	3.05	3.12	4.47	4.15
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	16.35	7.53	28.62	28.20	47.52	37.86
Week 26	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.14	0.97	2.64	2.45	4.05	3.66
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	15.12	7.58	34.11	19.98	46.50	35.03

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Toxicokinetics Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: Treatment Phase								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[a]:								
Stained/discoloured yellow faeces	0 (0)	0 (0)	10-19% (14)	0 (0)	100% (120)	100% (121)	80-100% (179)	100% (180)
Nodules and Masses:	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)[b]:								
Day 127	470.9 g	264.0 g	+3	-2	+1	-5*	+3	-3
Day 148	480.5 g	266.2 g	+2	-1	-1	-6**	+3	-2
Day 155	484.9 g	269.4 g	+2	-1	0	-5*	+3	-2
Day 162	498.9 g	277.4 g	+2	-1	0	-5*	+4	-2
Day 169	496.5 g	274.9 g	+2	-1	-1	-6*	+3	-3
Day 176	507.7 g	281.2 g	+2	-2	0	-6**	+3	-4*
Body Weight Gain (%; Day 91):								
Day 15	37.2	23.8	35.6	19.6	35.6	18.9	39.1	18.8*
Day 22	57.2	36.4	58.8	33.9	59.0	30.8**	60.4	33.2
Day 29	68.9	42.0	71.6	41.0	70.9	36.9**	73.7	39.4
Day 36	77.4	46.6	81.6	46.0	80.3	42.1*	82.1	44.6
Day 43	85.1	51.3	89.0	49.9	87.8	46.0*	90.6	48.4

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals comprising main study, recovery and toxicokinetic animals (number of days with observation).

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

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Toxicokinetics Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: Treatment Phase cont.								
Body Weight Gain (%; Day 91): cont.								
Day 50	91.5	54.7	96.6	52.3	94.3	48.8*	98.4	51.0
Day 57	97.5	60.2	103.7	57.6	100.1	53.8**	105.7*	55.9
Day 64	103.1	63.6	109.1	61.1	105.4	56.6**	111.4	59.0
Day 71	109.1	67.3	115.1	64.5	110.6	60.1*	117.2	61.2*
Day 78	111.9	65.6	117.1	63.4	114.4	58.2**	120.8	60.4
Day 85	118.4	70.1	122.7	67.7	120.8	62.4**	126.9	64.8
Day 93	119.4	64.8	124.5	60.8	122.1	57.5*	127.9	60.8
Day 99	123.4	70.7	130.6	69.9	127.3	63.2*	134.9*	65.6
Day 106	126.5	71.3	132.9	68.8	130.5	62.9**	138.4*	65.6
Day 113	135.0	75.4	138.8	73.8	137.1	67.3*	146.6*	70.5
Day 120	138.7	78.9	144.2	76.2	140.8	69.8**	149.2	71.8*
Day 127	140.9	79.1	148.3	73.9	144.9	67.8**	153.2*	70.0*
Day 134	143.3	79.2	146.4	76.3	144.6	69.1**	155.1*	74.1
Day 141	142.8	80.3	147.0	76.2	146.9	70.8**	155.4*	74.6
Day 148	145.8	80.5	151.0	76.9	146.4	66.7**	157.0	73.5*
Day 155	148.1	82.8	151.9	78.1	150.5	71.7**	159.6	75.3*
Day 162	155.3	88.3	159.3	83.7	157.7	76.9**	168.8*	80.5*
Day 169	154.0	86.4	158.2	81.6	153.5	73.6**	165.3	77.2*
Day 176	159.8	90.7	164.0	84.0	162.4	76.7**	171.1	79.2**

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Toxicokinetics Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: Treatment Phase cont.								
Food Consumption (%)[a]:								
Days 8-15	22.5 g/animal/day	15.7 g/animal/day	+5	+1	+5	+1	+6*	+1
Days 15-22	22.2 g/animal/day	15.3 g/animal/day	+1	-5	+1	+1	+7*	+7**
Days 22-29	22.5 g/animal/day	16.4 g/animal/day	+6	+1	+8*	+5	+7*	+8*
Days 99-106	20.8 g/animal/day	15.4 g/animal/day	+8	-1	+1	+1	+11*	+1
Days 106-113	23.0 g/animal/day	16.4 g/animal/day	+4	+4	+3	+5	+7*	+7
Days 120-127	22.4 g/animal/day	15.8 g/animal/day	+6	-3	+4	+3	+8*	+2
Days 127-134	20.6 g/animal/day	15.4 g/animal/day	+11*	-1	+10*	+5	+16**	-1
Days 148-155	21.4 g/animal/day	15.9 g/animal/day	+3	-1	+4	+7	+7*	+8
Days 155-162	22.8 g/animal/day	17.3 g/animal/day	+5	+2	+5	+4	+9*	+3
Days 162-169	21.7 g/animal/day	16.9 g/animal/day	+7	-3	+4	-1	+5	-1
Days 1-180	22.0 g/animal/day	16.1 g/animal/day	+5	+1	+4	+2	+6	+3

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01
a: Percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percent differences).

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: Treatment Phase cont.								
Ophthalmoscopy:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Haematology:								
Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (mmol/L)								
Week 13	24.25	24.01	24.43	24.07	24.09	23.65*	23.94*	23.65*
Week 26	21.91	22.04	21.94	21.96	21.85	21.75	21.76	21.72*
Reticulocytes (relative)								
Week 13	0.020	0.025	0.020	0.026	0.019	0.025	0.020	0.026
Week 26	0.017	0.017	0.016	0.016	0.018	0.016	0.015	0.017
Reticulocytes (absolute; 10^9/L)								
Week 13	172	199	171	199	166	189	169	196
Week 26	141	134	143	126	154	132	134	135
Reticulocytes Maturity Index Low (relative)								
Week 13	0.682	0.631	0.652	0.599	0.659	0.613	0.615**	0.593
Week 26	0.585	0.555	0.582	0.596	0.556	0.583	0.569	0.562
Reticulocytes Maturity Index Medium (relative)								
Week 13	0.285	0.337	0.301	0.361	0.298	0.344	0.323**	0.354
Week 26	0.347	0.361	0.341	0.339	0.358*	0.348	0.331	0.344
Reticulocytes Maturity Index High (relative)								
Week 13	0.036	0.040	0.044	0.041	0.048	0.041	0.058**	0.055
Week 26	0.070	0.086	0.073	0.058*	0.080	0.070	0.094**	0.098
Neutrophils (relative)								
Week 13	0.236	0.255	0.240	0.271	0.219	0.241	0.171**	0.197*
Week 26	0.245	0.232	0.245	0.251	0.226	0.253	0.204**	0.240

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: Treatment Phase cont.								
Haematology: cont.								
Neutrophils (absolute; 10^9/L)								
Week 13	1.27	0.77	1.28	0.85	1.18	0.72	0.87**	0.71
Week 26	1.33	0.73	1.25	0.70	1.22	0.68	0.96*	0.77
Eosinophils (relative)								
Week 13	0.015	0.015	0.016	0.017	0.018	0.015	0.017	0.021*
Week 26	0.015	0.017	0.017	0.018	0.017	0.021	0.018**	0.025**
Eosinophils (absolute; 10^9/L)								
Week 13	0.08	0.05	0.09	0.06	0.09	0.05	0.09	0.09**
Week 26	0.07	0.06	0.09	0.06	0.10	0.07	0.09	0.09**
Lymphocytes (relative)								
Week 13	0.718	0.696	0.707	0.686	0.733	0.713	0.791**	0.752*
Week 26	0.705	0.715	0.712	0.701	0.722	0.679	0.747**	0.701
Prothrombin Time (s)								
Week 13	0.86	0.84	0.86	0.88	0.87	0.87	0.89*	0.91**
Week 26	0.84	0.86	0.83	0.87	0.86	0.86	0.88*	0.89**
Serum Chemistry:								
Total Bilirubin (µmol/L)								
Week 13	1.39	1.78	1.44	1.86	1.43	1.96	1.61**	2.47**
Week 26	1.59	1.94	1.54	2.06	1.40	2.29	1.45	2.22*
Glucose (mmol/L)								
Week 13	5.75	5.21	6.57**	5.68	5.84	5.80*	5.12**	4.83
Week 26	5.46	5.12	6.25**	5.85**	5.63	5.56	4.99**	4.70
Lactate dehydrogenase (U/L)								
Week 13	194.6	177.0	185.3	154.8	175.1	230.1	204.8	209.3
Week 26	102.9	125.5	112.8	139.3	118.3	140.5	136.4*	130.6

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: Treatment Phase cont.								
Serum Chemistry: cont.								
Sodium (mmol/L)								
Week 13	144.3	142.0	144.8	143.2**	146.2**	143.9**	147.5**	145.5**
Week 26	146.8	144.8	148.8*	145.1	150.9**	148.3**	152.5**	149.3**
Potassium (mmol/L)								
Week 13	3.70	3.23	3.70	3.29	3.75	3.35	3.84*	3.49**
Week 26	3.71	3.33	3.75	3.33	3.92**	3.46	3.94**	3.72**
Chloride (mmol/L)								
Week 13	101.1	100.1	101.7	100.8	102.0**	100.9	102.2**	101.1**
Week 26	106.6	106.2	108.2*	106.3	109.2**	108.5**	109.6**	109.0**
Calcium (mmol/L)								
Week 13	2.55	2.59	2.62*	2.66**	2.63*	2.63	2.66**	2.70**
Week 26	2.72	2.72	2.72	2.76	2.75	2.80**	2.80**	2.86**
Phosphorus (mmol/L)								
Week 13	1.48	1.08	1.48	1.28**	1.53	1.26**	1.73**	1.37**
Week 26	1.52	1.26	1.58	1.26	1.84**	1.30	1.78**	1.34
Total Protein (g/L)								
Week 13	70.04	74.97	69.74	75.99*	69.59	75.29	70.35	77.06
Week 26	75.59	78.97	75.10	79.33	74.79	81.63	75.82	81.92*
Albumin (g/L)								
Week 13	42.22	49.80	41.93	51.67	41.67	49.88	40.92**	50.32
Week 26	45.10	52.74	44.18	53.94	43.13*	57.36**	43.29**	55.57
Globulin (g/L)								
Week 13	27.82	25.17	27.82	24.32	27.92	25.41	29.43**	26.74**
Week 26	30.49	26.23	30.92	25.39	31.66	24.27	32.53*	26.35

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: Treatment Phase cont.								
Serum Chemistry: cont.								
A/G ratio								
Week 13	1.51	1.99	1.48	2.11**	1.50	1.97	1.40**	1.86
Week 26	1.42	1.89	1.38	2.06	1.38	2.12	1.33**	1.96
Urinalysis:								
Volume/18 h (mL)								
Week 13	8.9	9.9	13.0*	9.6	14.6*	8.5	16.1**	11.2
Week 26	8.4	5.7	8.1	6.0	12.8	7.7	8.9	10.2
Relative density								
Week 13	1.031	1.022	1.021**	1.023	1.020**	1.022	1.025	1.018
Week 26	1.038	1.037	1.037	1.033	1.026*	1.026	1.032	1.022**
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Organ Weights:								
Liver								
Absolute (%)[a]	11.82 g	7.89 g	-15**	-15**	-14**	-15**	-9**	-11**
Relative (% body weight)	2.37	2.90	2.06**	2.54**	2.08**	2.70*	2.13**	2.74
Adrenals								
Absolute (%)[a]	0.058 g	0.083 g	0	-4	+3	-16**	-2	-18**
Relative (% body weight)	0.012	0.031	0.012	0.030	0.012	0.028	0.011	0.027*
Spleen								
Absolute (%)[a]	0.81 g	0.65 g	-6	-18**	-6	-20**	-11*	-15*
Relative (% body weight)	0.16	0.24	0.16	0.20**	0.16	0.21	0.14**	0.21
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

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

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Noteworthy findings: Treatment Phase cont.								
Histopathology:								
Number of Animals Examined	20	20	20	20	20	20	20	20
Stomach								
Acanthosis								
Total affected	0	0	0	0	0	0	1	0
Mean severity	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1.0	N/A
Parakeratosis								
Total affected	0	0	0	0	0	0	5	0
Mean severity	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1.4	N/A
Forestomach erosion								
Total affected	0	0	0	0	0	0	1	0
Mean severity	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1.0	N/A
Additional Examinations:	Not evaluated in this study							

Severity: Grade 1: minimal/very few/very small; Grade 2: slight/few/small; Grade 3: moderate/moderate number/moderate size; Grade 4: marked/many/large

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Post-Dose Evaluation: After 4-Week Treatment-Free Period								
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Post-Dose Gender / Number of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	0	0
Clinical Observations[a]:								
Stained/discoloured yellow faeces	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	100% (6)	100% (6)
Body Weight (%; Day 22)[b]:	515.4 g	278.0 g	N/A	N/A	N/A	N/A	+1	-2
Body Weight Gain (%):								
Day 15	3.1	2.2	N/A	N/A	N/A	N/A	2.2*	3.1
Day 22	3.5	3.1	N/A	N/A	N/A	N/A	2.9	1.7
Food Consumption (%; Days 3-26)[b]:	21.9 g/animal/day	16.9 g/animal/day	N/A	N/A	N/A	N/A	+6	-2
Ophthalmoscopy:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Haematology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Reticulocytes (relative)								
Week 30	0.016	0.019	N/A	N/A	N/A	N/A	0.013**	0.016*
Reticulocytes (absolute; 10^9/L)								
Week 30	151	156	N/A	N/A	N/A	N/A	110*	130*
Prothrombin time								
Week 30	0.81	0.87	N/A	N/A	N/A	N/A	0.82	0.80**

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of recovery animals (number of days with observation).

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

2.6.7.7D　　ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

26-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Wistar Rat continued			**Study No.:** C03508				**Location in CTD:** [4.2.3.2-5]	
Post-Dose Evaluation: After 4-Week Treatment-Free Period								
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Post-Dose Gender / Number of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: cont.								
Serum Chemistry: cont.								
Total Bilirubin (µmol/L)								
Week 30	2.00	2.65	N/A	N/A	N/A	N/A	2.55**	3.65**
Sodium (mmol/L)								
Week 30	145.1	144.8	N/A	N/A	N/A	N/A	146.5**	145.7
Chloride (mmol/L)								
Week 30	103.9	104.6	N/A	N/A	N/A	N/A	105.7**	105.2
Calcium (mmol/L)								
Week 30	2.77	2.81	N/A	N/A	N/A	N/A	2.82*	2.84
Globulin (g/L)								
Week 30	31.30	28.23	N/A	N/A	N/A	N/A	28.29**	27.69
A/G ratio								
Week 30	1.39	1.87	N/A	N/A	N/A	N/A	1.57*	1.90
Urinalysis:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Organ Weights (%):								
Adrenals - Absolute	0.061 g	0.081 g	N/A	N/A	N/A	N/A	-5	-15*
Gross Pathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Histopathology:							-	-
Number of Animals Examined								
Liver - Centrilobular vacuolation								
Total affected	1	1	N/A	N/A	N/A	N/A	7	1
Mean severity	1.0	1.0	N/A	N/A	N/A	N/A	1.6	1.0

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01
-: No noteworthy findings
Severity: Grade 1: minimal/very few/very small; Grade 2: slight/few/small; Grade 3: moderate/moderate number/moderate size; Grade 4: marked/many/large

2.6.7.7E　　イヌにおける 4 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067 4-Week Oral (Capsule) Toxicity Study in the Beagle Dog							**Test Article:**	Opicapone	
Species/Strain:		Dog/Beagle		**Duration of Dosing:**	4 weeks		**Study No:**	A73945	
Age at the start of Administration:		5-6 months		**Duration of Post-Dose:**	None		**Location in CTD:**	[4.2.3.2-6]	
Date of First Dose:		[redacted] 20[redacted]		**Method of Administration:**	Oral (capsule)				
Vehicle/Formulation:		Gelatin capsules			**GLP Compliance:**		Yes		
Special Features:			None						
No Observed Adverse-Effect Level:			600 mg/kg/day						
Daily Dose (mg/kg/day):			**0 (Control)**		**60**		**200**		**600**
Toxicokinetics:									
Gender/No. of Animals:			**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Opicapone									
Day 1	Cmax (µg/mL)		N/A	N/A	0.26	0.24	0.58	0.76	0.77	0.68
	AUC0-24 h (µg•h/mL)		N/A	N/A	0.53	0.61	2.85	1.96	6.11	4.00
Day 28	Cmax (µg/mL)		N/A	N/A	0.11	0.31	0.69	0.63	1.01	0.73
	AUC0-24 h (µg•h/mL)		N/A	N/A	0.33	0.58	3.80	2.54	6.33	4.54
BIA 9-1079									
Day 1	Cmax (µg/mL)		N/A	N/A	0.26	0.36	1.06	0.78	1.35	1.48
	AUC0-24 h (µg•h/mL)		N/A	N/A	3.61	4.44	15.20	10.68	20.52	20.94
Day 28	Cmax (µg/mL)		N/A	N/A	0.38	0.58	1.02	1.17	1.32	1.14
	AUC0-24 h (µg•h/mL)		N/A	N/A	5.64	6.96	14.52	13.93	18.77	16.73

2.6.7.7E　　イヌにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

4-Week Oral (Capsule) Toxicity Study in the Beagle Dog continued			**Study No.:** A73945				**Location in CTD:** [4.2.3.2-6]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**60**		**200**		**600**	
Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[a]:								
Faeces with yellow particles	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	1 (3)	3 (6)	2 (6)
Faeces with red particles	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (2)
Discoloured faeces	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)
Body Weight (%; Day 29/Day 30)[b]:	9.2 kg	8.1 kg	-11	-14	-4	-12	-7	-6
Food Consumption (%; Days 1-29)[b]:	350 g/animal/day	337 g/animal/day	-8	-14	-3	-11	-5	-10
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography:	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry:	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights:	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Post-Dose Evaluation:	Not evaluated in this study							

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of animals with observation (number of days with observation).

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

2.6.7.7F　　サルにおける 4 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067: 4-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey with a 2-Week Recovery Period							**Test Article:**	Opicapone	
Species/Strain:	Monkey / Cynomolgus	**Duration of Dosing:**	4 weeks				**Study No:**	S03352	
Age at the start of Administration:	2-3 years	**Duration of Post-Dose:**	2 weeks				**Location in CTD:**	[4.2.3.2-7]	
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)						
Vehicle/Formulation:	0.2% HPMC		**GLP Compliance:**				Yes		
Special Features:		None							
No Observed Adverse-Effect Level:		1000 mg/kg/day							
Daily Dose (mg/kg):		**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:		**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Post-Dose Gender/No. of Animals:		**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Toxicokinetics:									
Opicapone									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.96	1.17	2.58	1.06	8.26	2.53
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	2.32	1.76	3.92	2.48	27.97	11.29
Week 4	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.83	0.84	1.36	1.24	6.85	4.29
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	1.31	1.04	2.32	2.30	22.49	18.01
BIA 9-1079									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.57	1.26	1.94	1.60	2.47	1.97
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	8.71	6.20	14.76	13.89	28.35	28.43
Week 4	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.12	0.99	1.63	1.58	2.26	2.07
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	6.06	5.49	11.66	10.28	28.23	26.33

2.6.7.7F　　サルにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

4-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey continued					**Study No.:** S03352		**Location in CTD:** [4.2.3.2-7]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Noteworthy findings: Treatment Phase								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[a]:								
Faeces with product remains	0 (0)	0 (0)	0 (0)	25-35% (2)	25->95% (17)	25-75% (12)	25->95% (14)	15-85% (11)
Pasty faeces	0 (0)	0 (0)	25-35% (3)	25-75% (9)	25->95% (20)	25-75 (4)	15-65% (7)	15-65% (6)
Diarrhoea	0 (0)	0 (0)	0 (0)	25-75% (5)	25-75% (10)	0 (0)	15-25% (3)	15-25% (1)
Discolouration in faeces	0 (0)	0 (0)	25-35% (1)	25-35% (2)	25->95% (10)	25-75% (4)	55->95% (28)	15->95% (28)
Vomiting of test item	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	25-35% (1)	15-25% (1)	15-45% (6)
Body Weight (%; Day 28)[b]:	2.52 kg	2.62 kg	+9	-4	+12*	-3	+2	-3
Body Weight Gain (%):								
Day 15	-4.07	-0.83	-2.66	-1.68	-0.52	1.53	0.57*	0.87
Day 28	-0.25	0.96	4.37	0.27	6.69**	3.46	4.05*	2.85
Food Consumption:	Not evaluated in this study							
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography:	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry:	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Organ Weights:	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals comprising main study and recovery animals (number of days with observation).

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

2.6.7.7F　　サルにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

4-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey continued			**Study No.:** S03352		**Location in CTD:** [4.2.3.2-7]			
Post-Dose Evaluation: After 2-Week Treatment-Free Period								
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	0	0
Clinical Observations[a]:								
Faeces with product remains	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	45-55% (1)	45-55% (1)
Pasty faeces	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	45-55% (2)	0 (0)
Diarrhoea	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	45-55% (1)	0 (0)
Discolouration in faeces	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	45->95% (2)	45->95% (3)
Body Weight (%; Day 14)[b]:	2.52 kg	2.53 kg	N/A	N/A	N/A	N/A	-4	-1
Body Weight Gain (%; Day 14):	-4.67	-0.30	N/A	N/A	N/A	N/A	1.05	-1.03
Food Consumption:	Not evaluated in this study							
Ophthalmoscopy:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Electrocardiography:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Haematology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Serum Chemistry:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Urinalysis:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Organ Weights:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Gross Pathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Histopathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of recovery animals (number of days with observation).

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

2.6.7.7G　　サルにおける 13 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067: 13-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey with a 4-Week Recovery Period							**Test Article:**	Opicapone	
Species/Strain:	Monkey / Cynomolgus	**Duration of Dosing:**	13 weeks				**Study No:**	S12824	
Age at the start of Administration:	3-4 years	**Duration of Post-Dose:**	4 weeks				**Location in CTD:**	[4.2.3.2-8]	
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)						
Vehicle/Formulation:	0.2% HPMC	**Special Features:**	None				**GLP Compliance:**	Yes	
No Observed Adverse-Effect Level:		1000 mg/kg/day							
Daily Dose (mg/kg):		**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:		**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Post-Dose Gender/No. of Animals:		**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Toxicokinetics:									
Opicapone									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.17	1.04	3.22	4.34	5.02	5.54
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	1.31	1.26	7.26	7.58	16.73	24.80
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.08	2.50	3.52	4.01	5.41	6.17
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	1.84	3.55	7.20	9.08	23.16	33.64
BIA 9-1079									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.72	0.92	1.95	1.90	1.76	2.64
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	3.12	4.19	20.00	14.82	23.19	36.54
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.44	1.59	2.23	2.43	2.15	2.35
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	10.20	9.74	21.06	23.95	28.07	37.78

2.6.7.7G　　サルにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

13-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey continued					**Study No.:** S12824		**Location in CTD:** [4.2.3.2-8]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[a]:								
Faeces with product remains	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	25-35% (5)	25-35% (4)	15-85% (64)	15-85% (43)
Discolouration in faeces	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	25->95% (47)	25-85% (29)	25->95% (90)	15->95% (91)
Body Weight (%; Day 91)[b]:	3.30 kg	2.63 kg	+12	+5	-13	+3	+5	+7
Body Weight Gain (%):								
Day 8	1.32	1.57	1.63	0.96	4.49**	2.55	2.14	4.06
Day 36	5.00	5.32	7.02	5.54	9.87*	5.80	8.16	8.56*
Day 91	10.76	8.10	12.10	8.17	13.60	9.30	13.32	13.40
Food Consumption:	Not evaluated in this study							
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography:	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry:	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Organ Weights:	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals comprising main study or recovery animals (number of days with observation).

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

2.6.7.7G　　サルにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

13-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey continued					**Study No.:** S12824		**Location in CTD:** [4.2.3.2-8]	
Post-Dose Evaluation: After 4-Week Treatment-Free Period								
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	0	0
Clinical Observations[a]:								
Faeces with product remains	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	0 (0)	0 (0)
Discolouration in faeces	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	45->95% (3)	>95% (3)
Body Weight (%; Day 28)[b]:	3.45 kg	2.66 kg	N/A	N/A	N/A	N/A	+6	-4
Body Weight Gain (%; Day 28):	11.68	10.59	N/A	N/A	N/A	N/A	13.78	4.24
Food Consumption:	Not evaluated in this study							
Ophthalmoscopy:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Electrocardiography:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Haematology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Serum Chemistry:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Urinalysis:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Organ Weights:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Gross Pathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Histopathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of recovery animals (number of days with observation).

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

2.6.7.7H　　サルにおける 52 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067 52-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey with a 8-Week Recovery Period							**Test Article:**	Opicapone	
Species/Strain:	Monkey / Cynomolgus	**Duration of Dosing:**	52 weeks				**Study No:**	S13825	
Age at the start of Administration:	2 years	**Duration of Post-Dose:**	8 weeks				**Location in CTD:**	[4.2.3.2-9]	
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)						
Vehicle/Formulation:	0.2% HPMC		**GLP Compliance:**		Yes				
Special Features:	None								
No Observed Adverse-Effect Level:	1000 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**		
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**	
Toxicokinetics:									
Opicapone									
Week 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.08	1.21	2.26	1.61	9.42	8.80
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	1.39	1.33	2.97	3.62	32.10	34.40
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.50	0.75	1.46	1.07	6.99	5.22
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	0.65	0.83	2.45	1.89	30.00	15.30
Week 26	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.53	0.67	1.13	1.03	3.72	3.42
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	0.80	1.18	2.69	2.71	21.60	17.80
Week 52	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.04	1.26	1.21	1.11	4.44	2.92
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	1.65	2.27	2.62	3.40	20.90	16.20

2.6.7.7H　　サルにおける 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

52-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey continued				**Study No.:** S13825				**Location in CTD:** [4.2.3.2-9]	
Daily Dose (mg/kg/day):		**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:		**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Post-Dose Gender/No. of Animals:		**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Toxicokinetics: cont.									
BIA 9-1079									
Week 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.85	0.72	0.87	1.14	2.22	2.57
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	4.04	3.32	5.79	9.31	27.10	30.00
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.91	0.77	1.18	1.32	2.39	2.86
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	4.17	2.84	8.42	10.60	35.70	36.40
Week 26	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.91	0.82	1.31	1.41	2.85	3.46
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	5.30	3.54	13.20	11.50	41.30	57.10
Week 52	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.36	1.21	1.44	1.42	2.31	2.42
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	6.42	6.47	11.40	13.90	36.80	36.10

2.6.7.7H　　サルにおける 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

52-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey continued					**Study No.:** S13825		**Location in CTD:** [4.2.3.2-9]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	1[a]	0	0	0
Clinical Observations[b]:								
Vomiting (including feed or test item)	15-25% (13)	15-25% (5)	25-55% (24)	25-55% (22)	25-35% (23)	25-55% (12)	15-55% (23)	15-55% (87)
Salivation	15-25% (3)	15-25% (2)	25-35% (3)	25-35% (8)	25-35% (6)	25-55% (76)	15-85% (141)	15-85% (111)
Yellow faeces	0 (0)	0 (0)	>95% (7)	>95% (8)	65->95% (11)	25->95% (37)	15->95% (312)	25->95% (281)
Orange faeces	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	45->95% (72)	25->95% (69)
Body Weight (%)[c]:								
Day 258	3.04 kg	2.84 kg	+3	+4	-9	+1	-3	+13*
Day 265	3.09 kg	2.88 kg	+3	+2	-10	-2	-3	+13*
Day 286	3.11 kg	2.88 kg	+3	+1	-8	0	-2	+15*
Day 293	3.18 kg	2.90 kg	+3	+4	-11	-1	-3	+15*
Day 300	3.19 kg	2.91 kg	+3	+3	-11	0	-3	+16*
Day 307	3.19 kg	2.90 kg	+3	+2	-12	-1	-3	+14*
Day 329	3.28 kg	2.97 kg	+2	+2	-13	-1	-3	+15*

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05

a: One male at 300 mg/kg/day died on Day 206. This animal started to show decreased activity and dyspnea approximately 2.5 h after the administration, and died approximately 4 h after administration. Necropsy showed whitish foamy content in trachea and thoracic cavity. Additionally, the lungs were enlarged and the right caudal lobe showed dark red coloration. For above findings, that death was due to a procedural error and was not treatment-related.

b: Data expressed as number of animals with observation as percentage of total animals comprising main study or recovery animals (number of days with observation).

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

2.6.7.7H　　サルにおける 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

52-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey continued					**Study No.:** S13825		**Location in CTD:** [4.2.3.2-9]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Noteworthy findings: cont.								
Body Weight (%)[a]:								
Day 356	3.29 kg	3.00 kg	+5	+3	-12	-3	-1	+17*
Day 364	3.35 kg	3.00 kg	+3	+3	-14	-3	-3	+16
Body Weight Gain (%; Day 364):	56.13	35.69	57.20	48.64	30.74*	36.89	49.20	56.98**
Food Consumption:	Not evaluated in this study							
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography:	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry:	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Organ Weights:	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05

-: No noteworthy findings

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

2.6.7.7H　　サルにおける 52 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

52-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey continued			**Study No.:** S13825				**Location in CTD:** [4.2.3.2-9]	
Post-Dose Evaluation: After 8-Week Treatment-Free Period								
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	0	0
Clinical Observations[a]:								
Yellow faeces	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	0 (0)	45-55% (1)
Body Weight (%; Day 56)[b]:	3.21 kg	2.97 kg	N/A	N/A	N/A	N/A	+12	+31
Body Weight Gain (%; Day 56):	52.73	43.33	N/A	N/A	N/A	N/A	58.19	72.99
Food Consumption:	Not evaluated in this study							
Ophthalmoscopy:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Electrocardiography:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Haematology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Serum Chemistry:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Urinalysis:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Organ Weights:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Gross Pathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Histopathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of recovery animals (number of days with observation).

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

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8A 細菌を用いた復帰突然変異試験

被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067 Testing for Mutagenic Activity with *Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 100, TA 1537 and TA 98 and *Escherichia coli* WP2*uvr*A				**Test Article:**	Opicapone
Test for Induction of:	Reverse mutation	**No of Independent Assays:**	2 (plus toxicity test in TA 100 at 17-5000 µg/plate ±S9)	**Study No:**	778279
Strains:	*Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 *Escherichia coli* WP2*uvr*A	**No of Replicate Cultures:**	3	**Location in CTD:**	[4.2.3.3.1-1]
Metabolising System:	Aroclor-1254 induced male Fischer rat liver S9 mix	**No of Cells Analysed/Culture:**	N/A	**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle: Test Article:	DMSO	**Vehicle: Positive Controls:**	DMSO (2-AAN, 2-NF, ENNG, 9-AA) water (NaN_3)		
Treatment:	Direct plate method and pre-incubation method		**Date of First Treatment:**	[redacted] 20	
Cytotoxic Effects:	Cytotoxicity was generally observed at 5000 µg/plate (thinning of the background lawn of microcolonies and reduction in number of revertant colonies per plate).				
Genotoxic Effects:	No genotoxic activity was observed.				

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Direct Plate Method - Mean Revertants Per Plate ± SD**				
			TA 1535	**TA 1537**	**TA 98**	**TA 100**	**WP2*uvr*A**
Without Activation	Vehicle (DMSO)	0	17.0±5.3	15.3±2.5	19.7±2.1	89.0±8.9	6.7±2.1
	Opicapone	17	20.3±3.5	12.7±2.3	17.7±2.5	89.7±15.0	6.3±4.2
		50	21.0±5.6	18.3±0.6	13.0±2.0	102.3±7.0	6.3±2.5
		167	19.3±0.6	18.0±1.0	15.3±1.5	98.7±4.9	9.3±1.2
		500	21.3±5.1	16.0±5.6	17.7±6.1	102.0±14.9	5.7±2.1
		1667	25.3±2.9	16.7±2.3	14.7±2.1	94.0±10.5	5.7±4.5
		5000	18.0±2.6	6.3±4.2	7.3±3.1	10.7±4.5	9.3±3.1
	NaN_3	1	500.0±26.9	NT	NT	1120.3±57.5	NT
	9-AA	80	NT	5815.0±352.7	NT	NT	NT
	2-NF	1	NT	NT	601.3±58.0	NT	NT
	ENNG	2	NT	NT	NT	NT	571.0±78.6

9-AA: 9-Aminoacridine; 2-AAN: 2-aminioanthracene; ENNG: N-Ethyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanadine; NaN_3: Sodium azide; 2-NF: 2-Nitrofluorene
SD: Standard Deviation

2.6.7.8A 細菌を用いた復帰突然変異試験（続き） 被験物質：オピカポン

Opicapone Bacterial Reverse Mutation Assay continued			**Study No.:** 778279			**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-1]	
Metabolic Activation	**Test Article (Vehicle)**	**Concentration (µg/plate)**	**Direct Plate Method - Mean Revertants Per Plate ± SD**				
			TA 1535	**TA 1537**	**TA 98**	**TA 100**	**WP2*uvr*A**
With Activation	Vehicle (DMSO)	0	21.7±5.5	7.0±3.5	31.3±0.6	115.0±5.6	11.7±6.7
	Opicapone	17	21.3±5.7	8.0±2.0	22.3±5.5	110.0±5.0	9.3±1.2
		50	19.3±4.0	10.3±7.1	18.7±1.5	95.3±3.8	8.0±4.4
		167	20.0±5.6	9.7±5.0	29.3±1.5	90.7±9.9	12.7±2.5
		500	26.3±2.5	11.0±3.6	25.7±4.9	105.3±10.5	5.0±2.6
		1667	14.0±3.6	6.7±2.1	17.0±6.1	99.0±16.5	4.3±1.5
		5000	11.7±2.9	4.3±3.5	6.7±2.1	14.7±8.1	1.3±1.5
	2-AAN	0.5	NT	NT	408.0±21.7	1009.3±54.9	NT
	2-AAN	2	508.0±12.0	226.3±25.7	NT	NT	NT
	2-AAN	20	NT	NT	NT	NT	837.3±11.2

2-AAN: 2-aminioanthracene
SD: Standard Deviation

2.6.7.8A 細菌を用いた復帰突然変異試験（続き） 被験物質：オピカポン

Opicapone Bacterial Reverse Mutation Assay continued			Study No.: 778279			Location in CTD: [4.2.3.3.1-1]	
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Pre-Incubation Method - Mean Revertants Per Plate ± SD**				
			TA 1535	**TA 1537**	**TA 98[a]**	**TA 100**	**WP2*uvr*A**
Without Activation	Vehicle (DMSO)	0	21.3±5.0	11.3±1.5	38.3±1.5	89.3±15.4	12.7±6.5
	Opicapone	17	25.3±9.2	14.7±0.6	30.0±8.7	84.3±5.7	12.0±1.7
		50	31.3±7.2	12.0 ±1.7	33.0±4.6	107.3±8.3	11.3±4.6
		167	27.0±7.9	9.3±0.6	27.0±10.8	105.0±6.2	10.7±6.0
		500	28.0±5.2	14.0±3.0	25.0±7.9	111.7±6.0	17.0±2.6
		1667	19.7±5.7	18.3±4.5	18.7±8.0	99.7±11.5	7.7±3.5
		5000	8.3±1.5	4.7±1.2	10.3±3.5	61.7±4.2	2.7±1.5
	NaN_3	1	589.0±28.0	NT	NT	1149.3±66.5	NT
	9-AA	80	NT	3824.0±84.8	NT	NT	NT
	2-NF	1	NT	NT	1381.0±70.3	NT	NT
	ENNG	2	NT	NT	NT	NT	265.3±52.5
With Activation	Vehicle (DMSO)	0	24.0±5.0	16.7±3.5	42.0±1.7	125.7±9.5	15.3±6.1
	Opicapone	17	21.3±3.1	21.3±2.1	41.3±2.9	119.3±15.4	14.7±6.7
		50	25.7±4.7	15.7±4.9	35.3±14.0	116.7±11.0	20.3±11.0
		167	27.7±4.7	18.7±9.6	30.3±3.8	115.0±9.5	12.0±6.6
		500	27.7±9.0	19.0±3.6	38.0±5.2	115.7±10.0	6.3±1.5
		1667	17.3±3.8	13.0±4.0	18.0±7.2	102.0±6.2	6.7±5.5
		5000	13.7±2.5	2.0±2.0	1.0±1.0	44.7±24.1	0.7±0.6
	2-AAN	0.5	NT	NT	460.3±95.8	688.3±42.0	NT
	2-AAN	2	468.7±41.7	229.3±16.7	NT	NT	NT
	2-AAN	20	NT	NT	NT	NT	888.3±34.5

9-AA: 9 Aminoacridine; 2-AAN: 2-aminioanthracene; ENNG: N-Ethyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanadine; NaN_3: Sodium azide; 2-NF: 2 Nitrofluorene
SD: Standard Deviation
a: The assay for TA 98 in the absence of metabolic activation was rerun as the first assay was subject to a dosing error with respect to the bacterial culture; values from the second successful assay are presented.

2.6.7.8B　　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067 Chromosomal Aberrations Assay With Human Peripheral Lymphocyte Cultures *In Vitro*					**Test Article:**	Opicapone
Test for Induction of:	Chromosome aberrations	**No of Independent Assays:**	2		**Study No:**	778263
Strains:	Human peripheral lymphocyte cultures		**No of Replicate Cultures:**	2	**Location in CTD:**	[4.2.3.3.1-2]
Metabolising System:	Aroclor-1254 induced male Fischer rat liver S9 mix	**No of Cells Analysed/Culture:**	100		**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle: Test Article:	DMSO	**Vehicle: Positive Controls:**	DMSO (cyclophosphamide, mitomycin C)			
Treatment:	5 h treatment with metabolic activation and 5 h or 25 h in the absence of metabolic activation. Cultures were harvested at 29 h or 53 h (Test 2, absence metabolic activation) after treatment.		**Date of First Treatment:**		[redacted] 20[redacted]	
Cytotoxic Effects:	In Test 1 the highest concentration tested was 5000 µg/mL. In the presence of S9 mix, reduced mitotic indices (below 50% of vehicle control cultures) and culture observations were observed at 313 µg/mL and above and no metaphase cells were available for assessment in cultures at 625 µg/mL and above. In the absence of S9 mix, toxicity was noted in cultures at 156 µg/mL and above. No metaphase cells were available for assessment in cultures at 625 µg/mL and above. Both cultures treated with 156 µg/mL and one culture treated with 313 µg/mL were deemed toxic from culture observations only. The duplicate culture treated with 313 µg/mL also had a reduced mitotic index. In Test 2 the highest concentration tested was 625 µg/mL. In the presence of S9 mix, reduced mitotic indices were noted in both cultures at 313 µg/mL and there were no metaphase cells for assessment in cultures at 469 µg/mL and above. One of the cultures treated with 156 µg/mL also had a reduced mitotic index, but this was not confirmed in the duplicate culture or in cultures treated with 234 µg/mL. In the absence of S9 mix, 29 h harvest, reduced mitotic indices were noted in cultures treated with 156 µg/mL and above. In addition, one of the cultures treated with 78 µg/mL was judged toxic from a reduced mitotic index and the duplicate culture also had a lowered mitotic index (53% of vehicle control). Insufficient metaphase cells were available for assessment in cultures treated with 234 µg/mL and above. In the absence of S9 mix, 53 h harvest, reduced mitotic indices were noted in cultures treated with 78 µg/mL and above. No metaphase cells were available for assessment in cultures treated with 156 µg/mL and above.					
Genotoxic Effects:	No evidence of clastogenic effect. An increase in the number of polyploidy cells was observed at the 53 h harvest time.					

2.6.7.8B　　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Chromosome Aberrations Assay continued				**Study No.:** 778263					**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-2]
Metabolic Activation	**Test 1: 5 h Treatment, 29 h Harvest**								
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**Total Cells Examined**	**Aberration Frequency**		**Aberrant Cell Frequency**			**Numerical Aberrations**
						Including Gaps		**Excluding Gaps**	**% Aneuploid Cells**
				Lesions/Cell	**Judge**	**%**	**Judge**	**%**	**Judge**
With Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-
			100	0.01	-	1	-	1	-
	Opicapone	78	100	0.01	-	1	-	0	-
			100	0.00	-	0	-	0	-
		156	100	0.02	-	2	-	0	-
			100	0.04	-	3	-	1	-
		313	100	0.05	+-	4	+-	3	+-
			100	0.04	-	4	+-	3	+-
	Cyclophosphamide	10	100	0.12	+	10	+	8	+
		30	100	0.19	+	14	+	13	+
Without Activation	DMSO	1%	100	0.01	-	1	-	0	-
			100	0.00	-	0	-	0	-
	Opicapone	78	100	0.01	-	1	-	0	-
			100	0.00	-	0	-	0	-
		156	100	0.00	-	0	-	0	-
			100	0.00	-	0	-	0	-
		313	100	0.03	-	2	-	2	-
			100	0.00	-	0	-	0	-
	Mitomycin C	0.6	100	0.14	+	10	+	8	+
		0.8	100	0.18	+	14	+	11	+

Judge: +: Positive aberration frequency, +-: Suspicious aberration frequency, -: Negative aberration frequency

2.6.7.8B　　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Chromosome Aberrations Assay continued				**Study No.:** 778263						**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-2]
Metabolic Activation	**Test 2: 5 h Treatment, 29 h Harvest**									
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**Total Cells Examined**	**Aberration Frequency**		**Aberrant Cell Frequency**				**Numerical Aberrations**
						Including Gaps		**Excluding Gaps**		**% Aneuploid Cells**
				Lesions/Cell	**Judge**	**%**	**Judge**	**%**	**Judge**	
With Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.02	-	2	-	0	-	0
	Opicapone	78	100	0.01	-	1	-	1	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		234	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		313	100	0.01	-	1	-	0	-	0
			100	0.02	-	1	-	1	-	1
	Cyclophosphamide	20	100	0.39	+	20	+	19	+	0
		40	100	0.23	+	15	+	13	+	3
	Test 2: 25 h Treatment, 29 h Harvest									
Without Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.01	-	1	-	1	-	0
	Opicapone	20	100	0.03	-	2	-	2	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		39	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		78	100	0.02	-	2	-	2	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		156	34[a]	0.00	-	0	-	0	-	0
			30[a]	0.00	-	0	-	0	-	0
	Mitomycin C	0.2	100	0.28	+	17	+	13	+	0
		0.5	75[a]	0.39	+	25	+	23	+	0

Judge: +: Positive aberration frequency, -: Negative aberration frequency
a: Reduced number of cells scored due to toxicity.

2.6.7.8B　　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Chromosome Aberrations Assay continued			**Study No.:** 778263						**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-2]
Metabolic Activation	**Test 2: 25 h Treatment, 53 h Harvest**								
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**Total Cells Examined**	**Aberration Frequency**		**Aberrant Cell Frequency**			**Numerical Aberrations**
						Including Gaps		**Excluding Gaps**	**% Aneuploid Cells**
				Lesions/Cell	**Judge**	**%**	**Judge**	**%**	**Judge**
Without Activation	DMSO	1%	100	0.02	-	2	-	0	-	1
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	Opicapone	20	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		39	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		78	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.01	-	1	-	1	-	1
	Mitomycin C	0.15	100	0.41	+	21	+	19	+	1
		0.2	75[a]	0.25	+	13	+	12	+	1

Metabolic Activation	**Test 2: 25 h Treatment, 53 h Harvest**						
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**No. of Diploid Cells**	**No. of Polyploid Cells**		**Frequency of Polyploid Cells**	**Judge**
				Normal	**Endoploid**		
Without Activation	DMSO	1%	300	0	1	0.33	-
			300	1	0	0.33	-
	Opicapone	20	300	1	0	0.33	-
			300	0	0	0	-
		39	300	1	1	0.66	-
			300	1	0	0.33	-
		78	300	7	4	3.54	+
			300	3	4	2.28	+

Judge: +: Positive aberration frequency, -: Negative aberration frequency
a: Reduced number of cells scored due to toxicity.

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9A マウスを用いた小核試験

被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067: Micronucleus Test in Bone Marrow Cells of CD-1 Mice: 0 h+24 h Oral Dosing and 48 h Sampling With Toxicokinetic Blood Sampling					**Test Article:**	Opicapone
Test for Induction of:	Micronuclei	**Treatment Schedule:**	Dosing at 0 and 24 h		**Study No:**	783430
Species/Strain:	Mouse/CD-1	**Sampling Time:**	48 h after 1st dose (24 h after 2nd dose)		**Location in CTD:**	[4.2.3.3.2-1]
Age:	6-7 weeks at commencement of dosing		**Method of Administration:**	Oral (gavage)	**GLP Compliance:**	Yes
Cells Evaluated:	Bone marrow erythrocytes	**Vehicle/Formulation:**	0.2% HPMC for opicapone; distilled water for cyclophosphamide			
No of Cells Analysed/Animal:	At least 2000		**Date of Dosing:**		[redacted] 20[redacted]	
Feeding Condition:	Fasted *ca* 2-4 h prior to dosing and 1-2 h after dosing.					
Toxic/Cytotoxic Effects:	Two dose ranging toxicity studies conducted. In Study 1, mice of both sexes received oral dose of 2000 mg/kg opicapone at 0 and 24 h. One death occurred and 2 animals were sacrificed moribund; these animals exhibited hunched posture, laboured breathing, staggering, subdued behaviour, piloerection, gasping, soft swelling (left flank) and eyes half-closed. In Study 2, mice of both sexes received an oral dose of 1600 or 1800 mg/kg opicapone at 0 and 24 h. There were no adverse effects following dosing.					
Genotoxic Effects:	No significant increase in micronuclei.					
Evidence of Exposure:	TK were conducted in satellite animals orally dosed at 1800 mg/kg opicapone at 0 and 24 h. Samples were taken 0.5 h, 1 h and 2 h after the second dose. Plasma concentrations of opicapone and BIA 9-1079 are given below. The presence of opicapone and its metabolite BIA 9-1079 in plasma demonstrates proof of animal exposure to the test article.					

Gender / Sample Time	**Plasma Concentration (µg/mL)**					
	Opicapone			**BIA 9-1079**		
	24 h+0.5 h	**24 h+1 h**	**24 h+2 h**	**24 h+0.5 h**	**24 h+1 h**	**24 h+2 h**
Male	45.17	54.77	45.03	0.68	1.01	0.83
Female	74.33	57.70	50.37	0.68	0.94	0.49

2.6.7.9A　　マウスを用いた小核試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Micronucleus Test continued					**Study No.:** 783430		**Location in CTD:** [4.2.3.3.2-1]		
Test Article	**Dose (mg/kg/day)**	**Time of Dosing (h)**	**Gender**	**No. of Rats Scored**	**Erythrocytes**				
					Normochromatic Cells (NCE)	**Polychromatic Cells (PCE)**			**PCE/NCE Mean ± SD**
					No. of MN-NCE	**PCE Analysed**	**No. of MN-PCE**	**% MN-PCE**	
0.2% HPMC (10 mL/kg)	-	0, 24	M	5	5	10010	3	0.03	0.72±0.09
			F	5	1	10015	2	0.02	0.81±0.14
			M/F	10	6	20025	5	0.02	0.77±0.12
Opicapone	450	0, 24	M	5	5	10006	2	0.02	0.68±0.08
	900	0, 24	M	5	2	10005	4	0.04	0.74±0.16
	1800	0, 24	M	5	2	10009	3	0.03	0.75±0.13
			F	5	4	10008	2	0.02	0.87±0.07
			M/F	10	6	20017	5	0.02	0.81±0.12
Cyclophosphamide	50	0, 24	M	5	28[a]	10006	80[b]	0.80	0.70±0.15
Untreated	-	0, 24	M	3	6	6003	1	0.02	0.70±0.12
			F	3	0	6004	0	0.00	0.91±0.12
			M/F	6	6	12007	1	0.01	0.81±0.15

MN: Micronucleated; NCE: Normochromatic erythrocytes; PCE: Polychromatic erythrocytes; PCE/NCE: Ratio of polychromatic erythrocytes to normochromatic erythrocytes; SD: Standard Deviation

a: Evident response in NCE

b: Positive response in PCE

2.6.7.9B　　マウスを用いた小核試験の TK 試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067: Mouse Plasma Analysis to Support Micronucleus Test: 0 hand 24 h Oral Dosing and Toxicokinetic Blood Sampling				**Test Article:**	Opicapone
Treatment Schedule:	Dosing at 0 and 24 h			**Study No:**	792471
Species/Strain:	Mouse/Crl:CD-1	**Sampling Time:**	0.5 h, 1 h and 2 h after 2nd dose	**Location in CTD:**	[4.2.3.3.2-2]
Age:	6-7 weeks at commencement of dosing	**Method of Administration:**	Oral (gavage)	**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle/Formulation:	0.2% HPMC				
Date of Dosing:	[redacted] 20[redacted]				
Feeding Condition:	Fasted for a brief period before and after dosing to maintain consistency with Study No.783430 [4.2.3.3.2-1].				
Number of Animals:	3/sex/time point				
Dose (mg/kg/day):	1800				

Results: Plasma concentrations of opicapone and BIA 9-1079, BIA 9-1103 and BIA 9-1106 are given below. The presence of opicapone and its metabolites in plasma demonstrates proof of animal exposure.

Gender / Sample Time	**Plasma Concentration (µg/mL)**					
	Opicapone			**BIA 9-1079**		
	24 h+0.5 h	**24 h+1 h**	**24 h+2 h**	**24 h+0.5 h**	**24 h+1 h**	**24 h+2 h**
Male	15.90	13.30	8.29	0.10	0.14	0.25
Female	13.35	28.53	16.00	0.05	0.10	0.11

Gender / Sample Time	**Plasma Concentration (µg/mL)**					
	BIA 9-1103			**BIA 9-1106**		
	24 h+0.5 h	**24 h+1 h**	**24 h+2 h**	**24 h+0.5 h**	**24 h+1 h**	**24 h+2 h**
Male	0.14	0.18	0.11	21.23	11.94	8.73
Female	0.30	1.14	0.52	5.70	13.24	4.63

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10A マウスにおける 4 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067 28-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the CD-1 Mouse							**Test Article:**	Opicapone	
Species/Strain:	Mouse/Crl:CD-1 (ICR) BR	**Duration of Dosing:**		28 (Females) days/29 days (Males)			**Study No:**	B18404	
Age at the start of Administration:	7 weeks	**Duration of Post-Dose:**		None			**Location in CTD:**	[4.2.3.4.1-1]	
Date of First Dose:	[redacted]20[redacted]	**Method of Administration:**		Oral (gavage)					
Vehicle/Formulation:	0.2% HPMC	**GLP Compliance:**		Yes			**Special Features:**	None	
No Observed Adverse-Effect Level:		1000 mg/kg/day							
Daily Dose (mg/kg):		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Toxicokinetics:									
Gender/No. of Animals for Toxicokinetics:		**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Opicapone									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.03	3.11	5.22	12.77	9.74	13.37
	AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	2.12	6.74	7.64	16.29	21.50	42.72
Day 28	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	2.17	6.20	4.76	10.85	12.31	26.87
	AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	3.99	8.21	10.86	30.30	35.07	62.76
BIA 9-1079									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.50	0.47	0.94	1.05	1.05	0.95
	AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	2.34	3.10	2.67	3.04	6.37	6.48
Day 28	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.50	0.48	0.88	0.92	1.40	1.69
	AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	3.87	3.53	6.43	7.33	13.41	8.96

2.6.7.10A　　マウスにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

28-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the CD-1 Mouse continued			**Study No.:** B18404				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-1]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender / Number of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics Gender / Number of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	1[a]	4[b]	2[c]
Clinical Observations[d]:								
Decreased activity	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	0 (0)	50-59% (4)	30-39% (4)	1-49% (16)	1-69% (21)
Shivering	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	0 (0)	1-9% (2)	0 (0)	0 (0)	1-9% (1)
Weakened condition	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	0 (0)	1-9% (2)	0 (0)	0 (0)	1-9% (1)
Hunched posture	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	0 (0)	1-39% (9)	30-39% (4)	1-49% (21)	1-69% (21)
Visible weight loss	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-19% (17)	1-29% (17)
Ruffled fur	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	0 (0)	1-19% (14)	20-39% (9)	1-49% (27)	1-69% (26)
Stained/discoloured orange nose	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	10-19% (9)
Stained/discoloured yellow nose	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	1-19% (2)
Stained/discoloured upper mandible	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	10-19% (9)
Stained/discoloured lower mandible	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	10-19% (9)

a: One main study animal found dead on Day 1; no clinical observations reported and cause of death not determined.
b: Three main study animals found dead on Days 1 (no clinical observations reported), 15 and 30; dosing error considered to be cause of death in 2 animals; in the remaining animal multifocal ulceration in skin on back of neck and pus in lumen of nasal cavity observed. One TK animal was killed in extremis on Day 21; no microscopic investigations and blood sampling procedure considered to be cause of death.
c: One main study animal found dead on Day 1; no clinical observations reported and dosing error considered to be cause of death. One TK animal found dead on Day 4; no microscopic investigations and blood sampling procedure considered to be cause of death.
d: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals comprising main study and toxicokinetic animals (number of days with observation).

2.6.7.10A　　マウスにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

28-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the CD-1 Mouse continued			**Study No.:** B18404				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-1]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender / Number of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics Gender / Number of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Noteworthy Findings: cont.								
Body Weight (%)[a]:	33.0 g	27.6 g	-2	+2	-5	0	-1	-3
Body Weight Gain (%):								
Day 15	6.8	6.5	3.6	4.2	1.8**	5.3	1.5**	4.7
Day 27	8.1	9.9	6.3	9.0	3.8	10.0	5.8	8.6
Food Consumption (%; Days 1-27)[b]:	5.6 g/animal/day	5.2 g/animal/day	-2	+2	-2	+4	-2	-2
Ophthalmoscopy:	Not evaluated in this study							
Main Study Gender / Number of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Haematology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry:	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights:	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations:	Not evaluated in this study							
Post-Dose Evaluation:	Not conducted in this study							

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: **p<0.01

-: No noteworthy findings

a: At end of Dosing period (Day 27). For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percent differences).

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

2.6.7.10B　　マウスにおける 13 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067 90-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the CD-1 Mouse							**Test Article:**	Opicapone	
Species/Strain:		Mouse/Crl:CD-1 (ICR) BR	**Duration of Dosing:**	90 days			**Study No:**	B18393	
Age at the start of Administration:		7 weeks	**Duration of Post-Dose:**	4 weeks			**Location in CTD:**	[4.2.3.4.1-2]	
Date of First Dose:		[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)					
Vehicle/Formulation:		0.2% HPMC		**GLP Compliance:**			Yes		
Special Features:		None							
No Observed Adverse-Effect Level:		1000 mg/kg/day							
Daily Dose (mg/kg):		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Toxicokinetics:									
Gender/No. of Animals for Toxicokinetics:		**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Opicapone									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	1.89	1.71	3.68	7.61	10.79	11.22
	AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	3.54	5.69	15.13	23.54	29.25	60.65
Day 92	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	2.08	2.83	5.32	12.62	8.15	22.60
	AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	5.75	7.48	16.34	29.65	28.53	56.86
BIA 9-1079									
Day 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.36	0.30	1.11	1.06	1.36	1.04
	AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	3.09	2.39	5.99	6.63	7.84	8.31
Day 92	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	0.42	0.33	1.04	0.73	1.00	1.14
	AUC0-12 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	3.23	2.56	5.77	4.58	7.60	6.11

2.6.7.10B　　マウスにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

90-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the CD-1 Mouse continued			**Study No.:** B18393				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-2]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 5**	**F: 5**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Noteworthy findings: Treatment Phase								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	4[a]	1[b]	1[c]	1[d]	3[e]
Clinical Observations[f]:								
Decreased activity	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10-19% (1)	0 (0)	1-9% (1)	1-9% (1)	1-9% (30)
Weakened condition	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	1-9% (2)	1-9% (1)	1-9% (1)	1-9% (2)
Hunched posture	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	1-9% (2)	0 (0)	1-9% (2)	1-9% (10)
Sedation	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (14)	0 (0)
Dyspnea	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (1)	0 (0)	1-9% (1)	1-9% (15)	1-9% (30)
Visible weight loss	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (3)
Ruffled fur	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-19% (2)	1-9% (63)	1-9% (1)	1-19% (23)	1-9% (48)
Enlarged abdomen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-9% (2)	0 (0)	1-9% (2)	0 (0)

a: Three TK animals died or were sacrificed *in extremis*; cause of deaths could not be established as TK animals were not examined by the pathologist. One main study animal sacrificed on Day 2; cause of death pericarditis probably due to perforation of oesophagus.
b: One main study animal found dead on Day 7; cause of death not determined.
c: One main study animal sacrificed on Day 3; cause of death due to perforation of oesophagus.
d: One main study animal sacrificed on Day 40; cause of death due to perforation of oesophagus.
e: One TK animal died or was sacrificed *in extremis*; cause of death could not be established as TK animals were not examined by the pathologist. Main study: one animal sacrificed on Day 2 (cause of death pericarditis probably due to perforation of oesophagus); one animal found dead on Day 61 (recovery group); cause of death not determined.
f: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals comprising main study, recovery and toxicokinetic animals (number of days with observation).

2.6.7.10B　　マウスにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

90-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the CD-1 Mouse continued	**Study No.:** B18393				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-2]			
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 5**	**F: 5**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Noteworthy findings: Treatment Phase cont.								
Body Weight (%)[a]:								
Day 29	34.32 g	28.35 g	-6*	-2	-4	-4	-4	-5
Day 36	34.57 g	27.89 g	-6*	+1	-3	0	-3	0
Day 91	37.29 g	30.48 g	-3	0	+1	0	-2	-1
Body Weight Gain (%):								
Day 8	12.02	9.57	7.85*	7.37	9.84	4.85*	11.75	8.73
Day 15	13.19	12.82	8.89*	10.79	10.76	6.68**	10.90	10.94
Day 22	18.35	17.68	11.62**	15.53	14.63	10.77*	14.19	13.32
Day 29	20.83	21.97	12.35**	17.54	14.45**	13.98*	15.46*	13.42**
Day 36	21.72	19.93	12.23**	18.59	16.95	16.64	17.79	17.39
Day 43	23.79	22.96	16.72**	19.10	21.10	16.72*	19.60	17.72
Day 57	26.30	26.25	19.10*	22.74	23.29	19.99	21.93	22.59
Day 64	28.73	27.48	22.75*	25.24	26.70	22.39	25.78	23.59
Day 71	29.19	29.28	22.86*	24.48	26.85	22.28	25.56	23.15
Day 78	29.27	30.36	22.66*	26.62	28.56	24.21	26.25	24.61
Day 85	30.85	32.07	24.27*	28.46	29.02	25.57	27.10	25.78
Day 91	31.42	31.15	26.01	28.99	30.74	26.59	28.14	26.36
Food Consumption (%; Days 1-91)[a]:	5.60 g/animal/day	5.34 g/animal/day	+5	0	+7	+5	+1	+3
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-

-: No noteworthy findings
Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01
a: Percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percent differences).

2.6.7.10B　　マウスにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

90-Day Oral Toxicity (Gavage) Study in the CD-1 Mouse continued			**Study No.:** B18393		**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-2]			
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 5**	**F: 5**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 5**	**F: 5**
Haematology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry:	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Organ Weights:	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology:	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations:	Not evaluated in this study							
Post-Dose Evaluation: After 4-Week Treatment-Free Period								
Post-Dose Gender/No. of Animals:	**M: 5**	**F: 5**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 5**	**F: 5**
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	0	0
Clinical Observations:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Body Weight (%; Day 28)[a]:	38.15 g	32.55 g	N/A	N/A	N/A	N/A	+4	+5
Body Weight Gain (%; Day 28):	5.18	2.18	N/A	N/A	N/A	N/A	5.36	1.86
Food Consumption (%; Days 2-28)[a]:	5.62 g/animal/day	6.43 g/animal/day	N/A	N/A	N/A	N/A	-3	-10
Ophthalmoscopy:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Haematology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Serum Chemistry:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Urinalysis:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Organ Weights:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Gross Pathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Histopathology:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-

-: No noteworthy findings
a: Percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percent differences).

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067: 104-Week Oncogenicity (Gavage) Study in the CD1-Mouse									**Test Article:**	Opicapone	
Species/Strain:		Mouse/Crl:CD-1 (ICR) BR		**Duration of Dosing:**		104 weeks			**Study No:**	C30740	
Age at the start of Administration:		7 weeks		**Method of Administration:**		Oral (gavage)			**Location in CTD:**	[4.2.3.4.1-3]	
Date of First Dose:		[redacted]20[redacted]		**Vehicle/Formulation:**		0.2% HPMC			**GLP Compliance:**	Yes	
Treatment Controls:		0.2% HPMC				**Special Features:**			None		
Group **Daily Dose (mg/kg):**		**Group 1** **0 (Control)**		**Group 2** **0 (Control)**		**Group 3** **100**		**Group 4** **500/375**		**Group 5** **1000/750**	
Gender:		**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Toxicokinetics:											
Number of Animals:		6[a]	6	0	0	15	15	15	15	15	15
Opicapone											
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	1.75	4.72	4.72	6.01	3.63	15.30
	AUC0-6 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	3.65	8.12	11.70	14.40	14.70	46.20
Week 26	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	1.15	2.77	2.46	2.75	2.37	6.83
	AUC0-6 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	2.34	6.28	8.22	9.68	9.13	20.40
BIA 9-1079											
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	0.63	0.61	1.09	0.85	1.74	1.44
	AUC0-6 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	2.91	2.92	5.40	4.30	7.51	6.63
Week 26	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	0.18	0.15	0.23	0.16	0.35	0.44
	AUC0-6 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	0.63	0.58	1.14	0.68	1.58	1.60

a: The 1 h post-dose sample in one male animal in Week 13 contained 0.34 µg/mL opicapone.

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued			**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Main Study Number of Animals:	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Toxicokinetics Number of Animals:	**6**	**6**	**0**	**0**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Noteworthy findings:										
Died/Sacrificed Moribund:	15(17)[a]	33	18	23(24)[b]	24	43	40	40	48	50
Terminal Sacrifice:	41	23	32	27	41	22	25	25	17	15
Survival (%):	73	41	64	54	63	34	38	38	26	23
Clinical Observations[c, d]:										
Stained/discoloured yellow faeces	0	0	0	0	0	0	0	1-9% (14 weeks)	90-100% (82 weeks)	90-100% (93 weeks)
Nodules and Masses	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: No noteworthy findings
a: Includes 2 animal that died following trauma.
b: Includes 1 animal that died following trauma.
c: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals comprising main study and toxicokinetic animals (number of weeks with observation).
d: The major clinical signs noted before death were weakness, hunched posture, ruffled fur, breathing noises, laboured breathing, swelling of abdomen, pallor, visible weight loss and reduced body temperature. However, similar or the same clinical signs were transiently noted in several animals, mainly in animals treated with 1000/750 or 500/375 mg/kg/day before the opicapone batch was changed. Oesophageal reflux during application was noted in many animals treated with 1000/750 or 500/375 mg/kg/day and few animals treated with 100 mg/kg/day especially in the first 9 weeks of the study (before reduction of the dose levels) but also later during treatment.

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued			**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals (Main Study+TK):	**56**	**56**	**50**	**50**	**65**	**65**	**65**	**65**	**65**	**65**
Mortality to Day 63										
No. of early deaths	0	0	0	0	0	0	4	5	11	18
Spontaneous deaths (%)	0	0	0	0	0	0	3	3	9	13
Killed *in extremis* (%)	0	0	0	0	0	0	1	2	2	5
Mortality rate (%)	0	0	0	0	0	0	6	8	17	28
Mortality to Day 135										
No. of early deaths	0	0	0	1 (2)[#]	0	1	7	8	22	22
Spontaneous deaths (%)	0	0	0	0	0	1	6	5	19	16
Killed *in extremis* (%)	0	0	0	1	0	0	1	3	3	6
Mortality rate (%)	0	0	0	2 (4)[#]	0	2	11	12	34	34
Mortality after Day 135										
No. of early deaths	15 (17)[##]	33	18	22	24	42	33	32	26	28
Spontaneous deaths (%)	6	12	7	10	16	17	17	15	16	12
Killed *in extremis* (%)	9	21	11	12	8	25	16	17	10	16
Mortality rate (%)	27 (30)[##]	59	36	44	37	65	51	49	40	43

#: 1 animal died following trauma
##: 2 animals died following trauma

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued			**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Main Study Number of Animals:	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Toxicokinetics Number of Animals:	**6**	**6**	**0**	**0**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Noteworthy findings: cont.										
Body Weight (%)[a]										
Day 78(M), Day 85(F)	34.44 g	30.38 g	+3	-2	-1	-3	-5**	-4*	-5**	-6**
Day 708	40.68 g	34.13 g	+4	+2	-4	+3	-11**	0	+6	+9
Body Weight Gain (%)										
Day 85	16.96	26.67	18.81	21.67*	15.27	22.64*	11.19**	19.47**	11.73**	16.98**
Day 708	40.07	41.00	43.24	42.73	34.38	44.07	21.66**	41.67	46.05	51.64
Food Consumption (%)[a], Mean of Means over Treatment Period:	5.0 g/animal/day	5.0 g/animal/day	0	0	-4	+2	-4	+2	-2	0
Haematology[b]:										
Haemoglobin concentration distribution width (mmol/L)	1.24	1.37	1.32	1.33	1.23	1.40	1.27	1.41	1.49	1.70
Reticulocytes - relative	0.022	0.025	0.018	0.019	0.022	0.022	0.017	0.030	0.029	0.024
Reticulocytes - absolute (10^9/L)	206	223	202	176	223	195	205	286	283	308
Low fluorescence reticulocytes - relative	0.992	0.985	0.992	0.992	0.994	0.988	0.990	0.972*	0.650	0.711
Medium fluorescence reticulocytes - relative	0.006	0.011	0.007	0.007	0.006	0.011	0.006	0.026*	0.321	0.258
High fluorescence reticulocytes - relative	0.001	0.002	0.001	0.002	0.001	0.001	0.002	0.002	0.035	0.037
Eosinophils - relative	0.018	0.026	0.027	0.029	0.032*	0.030	0.032	0.014	0.041	0.042
Eosinophils - absolute (10^9/L)	0.12	0.08	0.21	0.08	0.16	0.13	0.26	0.07	0.26	0.18

*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; Statistical analysis conducted using Dunnett's test, Steel test, Fisher's Exact test (one-sided), Armitage/Cochran Trend test or Peto test

a: For control Group 1 means are shown. For Group 2 and treated groups (Groups 3-5), percent difference from control is shown. Statistical significance is based on actual data (not the percent differences).

b: Groups 1-4 at Week 104 versus Group 5 at end of treatment (in Week 85 for males and after Week 93 in females).

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued			**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Main Study Number of Animals:	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Toxicokinetics Number of Animals:	**6**	**6**	**0**	**0**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Noteworthy findings: cont.										
Serum Chemistry[a]:										
Glucose (mmol/L)	2.28	2.51	3.26	3.32	2.75	3.18	2.57	2.41	4.43	4.94
Potassium (mmol/L)	3.97	3.93	4.42*	3.87	4.27	3.85	4.22	4.27	4.61	4.62
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Treatment-Related Neoplastic Lesions:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues)[b]:										
Systemic Neoplasms/No. of Animals Examined	12	22	10	15	7	21	7	24	5	8
Lymphoma: malignant	11	15	10	13	7	17	7	19	5	4
Histiocytic sarcoma	0	5	0	2	0	4	0	5	0	4
Mast cell tumour: malignant	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver/No. of Animals Examined	56	56	50	50	65	65	65	65	65	65
Haemangioma	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1
Haemangiosarcoma	1	1	3	0	2	1	1	0	1	1
Hepatocellular adenoma	4	0	4	1	4	1	4	1	3	0
Hepatocellular carcinoma	4	0	3	0	7	1	4	0	0	0
Metastatic sarcoma	2	0	2	1	0	0	1	0	0	0

*: p ≤0.05; Statistical analysis conducted using Dunnett's test, Steel test, Fisher’s Exact test (one-sided), Armitage/Cochran Trend test or Peto test

-: No noteworthy findings

a: Groups 1-4 at Week 104 versus Group 5 at end of treatment (in Week 85 for males and after Week 93 in females).

b: The overall incidence of tumors was decreased in Groups 4 and 5 due to the low number of animals of these groups that survived until the terminal sacrifice. It was particularly evident for the incidence of malignant lymphomas and lungs tumors in males.

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued			**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Main Study Number of Animals:	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Toxicokinetics Number of Animals:	**6**	**6**	**0**	**0**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues): cont.										
Spleen/No. of Animals Examined	56	56	50	50	65	65	65	65	64	64
Metastatic sarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Haemangioma	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0
Haemangiosarcoma	1	0	3	1	1	1	2	0	0	0
Mesenteric lymph node/No. of Animals Examined	52	47	47	45	62	57	51	54	57	51
Haemangioma	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1
Kidneys/No. of Animals Examined	56	56	50	50	65	65	65	65	65	65
Tubular cell carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Stomach/No. of Animals Examined	56	56	50	50	65	65	63	62	64	63
Squamous papilloma	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Jejunum /No. of Animals Examined	56	56	50	50	65	64	65	65	65	65
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lung/No. of Animals Examined	55	56	50	50	65	65	65	65	65	65
Metastatic sarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Alveolar/bronchial carcinoma	7	3	4	2	6	3	5	3	2	0
Alveolar/bronchial adenoma	14	5	12	4	5	4	6	4	6	1
Thymus/No. of Animals Examined	50	53	44	46	57	55	54	59	61	62
Thymoma: benign	1	0	0	2	0	0	0	1	0	0
Thymoma: malignant	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued			**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Main Study Number of Animals:	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Toxicokinetics Number of Animals:	**6**	**6**	**0**	**0**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues): cont.										
Ovaries/No. of Animals Examined	N/A	56	N/A	49	N/A	64	N/A	61	N/A	60
Haemangioma	N/A	0	N/A	0	N/A	2	N/A	1	N/A	2
Luteoma: benign	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	2	N/A	0
Tubulostromal adenoma	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Adenocarcinoma	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0
Leiomyoma	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1
Pancreas/No. of Animals Examined	56	56	49	49	65	63	61	62	62	62
Islet cell adenoma	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Thyroid gland/No. of Animals Examined	56	56	50	50	64	65	62	60	62	59
C-cell carcinoma	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Adrenal cortices/No. of Animals Examined	56	56	50	50	64	64	65	65	65	64
Adrenal cell adenoma	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0
Adrenal cell carcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Adenoma	3	0	0	0	2	0	1	1	0	0
Adenocarcinoma	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Adrenal medullas/No. of Animals Examined	56	55	49	49	62	63	62	65	60	63
Pheochromocytoma: benign	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1
Skin/No. of Animals Examined	56	56	49	50	65	65	62	62	62	60
Fibrosarcoma	1	2	1	0	0	1	0	0	0	0
Haemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued			**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Main Study Number of Animals:	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Toxicokinetics Number of Animals:	**6**	**6**	**0**	**0**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues): cont.										
Harderian glands/No. of Animals Examined	56	56	50	50	65	65	62	61	62	61
Adenoma	4	2	4	0	3	0	3	0	3	1
Adenocarcinoma	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0
Brain/No. of Animals Examined	56	56	50	50	65	65	62	61	62	61
Oligodendroglioma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Tongue/No. of Animals Examined	55	56	50	50	65	65	61	61	62	61
Squamous papilloma	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Uterus/No. of Animals Examined	N/A	56	N/A	50	N/A	65	N/A	61	N/A	61
Adenomatous polyp	N/A	7	N/A	8	N/A	13	N/A	2	N/A	0
Adenocarcinoma	N/A	2	N/A	1	N/A	0	N/A	2	N/A	0
Leiomyoma	N/A	2	N/A	5	N/A	5	N/A	4	N/A	2
Leiomyosarcoma	N/A	2	N/A	1	N/A	1	N/A	2	N/A	1
Haemangiosarcoma	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1
Haemangioma	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1
Vagina/No. of Animals Examined	N/A	55	N/A	50	N/A	65	N/A	61	N/A	61
Fibrosarcoma	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Squamous carcinoma	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Bone marrow, femur/No. of Animals Examined	54	56	49	50	65	65	62	61	61	60
Metastatic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued			**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Main Study Number of Animals:	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Toxicokinetics Number of Animals:	**6**	**6**	**0**	**0**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues): cont.										
Gallbladder/No. of Animals Examined	54	55	49	49	61	64	62	61	57	55
Papilloma	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Pituitary gland/No. of Animals Examined	55	56	48	49	63	62	61	60	62	61
P. distalis adenoma	0	2	0	2	0	0	0	3	0	0
Testes/No. of Animals Examined	56	N/A	50	N/A	65	N/A	62	N/A	62	N/A
Leydig cell tumour: benign	0	N/A	1	N/A	2	N/A	0	N/A	0	N/A
Bone, sternum/No. of Animals Examined	53	56	50	50	65	65	61	60	62	61
Haemagioma	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Haemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Bone, femur/No. of Animals Examined	56	56	50	50	65	65	62	61	62	59
Haemagioma	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Haemangiosarcoma	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Nasal cavities/No. of Animals Examined	56	56	50	50	65	65	60	61	62	61
Adenoma	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Haemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Body cavities/No. of Animals Examined	5	9	5	10	5	10	8	14	3	10
Haemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Contact metastasis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued				**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):		**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:		**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Main Study Number of Animals:		**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Toxicokinetics Number of Animals:		**6**	**6**	**0**	**0**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Noteworthy Gross Pathology:											
Stomach:	Distended with gas	0	0	0	0	1	0	5	5	21**	22**
Duodenum:	Distended with gas	0	0	0	0	0	0	0	4	10**	18**
Jejunum:	Distended with gas	0	0	0	1	0	0	4	6*	19**	22**
Ileum:	Distended with gas	0	0	0	0	0	1	5	5	17**	19**
Caecum:	Distended with gas	0	0	0	0	0	0	1	4	7*	16**
Colon:	Distended with gas	0	0	0	0	0	0	1	3	6*	13**
Rectum:	Distended with gas	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Organ Weights:		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Non-Neoplastic Lesions (No. of animals with finding):											
Pharynx											
Erosion		1	1	1	1	0	1	1	1	10**	10**
Plug in lumen		2	5	2	2	6	4	7	5	6	11
Inflammation		0	1	0	1	0	1	0	1	4	7*
Larynx											
Erosion		5	2	3	3	6	5	15**	10*	27**	17**
Inflammation		4	0	1	0	2	3	1	0	2	7*
Trachea											
Erosion		0	2	1	4	5*	2	11**	9*	12**	9*
Inflammation		1	2	0	0	0	1	3	0	0	3
Lungs											
Alveolar oedema		0	3	1	1	2	0	3	3	1	3
Alveolar haemorrhage		1	6	2	3	6	5	8*	9	11**	13

*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; Statistical analysis conducted using Dunnett's test, Steel test, Fisher's Exact test (one-sided), Armitage/Cochran Trend test or Peto test
-: No noteworthy findings

2.6.7.10C　　マウスにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Mice continued			**Study No.:** C30740				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-3]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500/375**		**1000/750**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Main Study Number of Animals:	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Toxicokinetics Number of Animals:	**6**	**6**	**0**	**0**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Noteworthy findings: cont.										
Non-Neoplastic Lesions (No. of animals with finding): cont.										
Lungs										
Alveolar emphysema	0	1	1	1	2	3	5	5	6*	2
Bronchopneumonia	0	1	0	0	0	5	0	0	1	2
Bronchi amorphous material	0	5	1	2	2	6	9**	10	13**	15*
Inflammation	0	0	0	0	0	0	3	2	5*	9**
Nasal Cavity										
Erosion	4	0	0	4	3	1	10	9**	33**	28**
Inflammation	6	2	6	1	11	4	33**	27**	39**	33**
Plug	17	9	23	15	30	8	35**	24*	50**	41**
Mucosal hyperplasia	0	0	0	0	5*	2	15**	5*	7**	5*
Oesophagus										
Perforation	0	0	0	0	0	0	3	2	1	4
Inflammation	3	2	0	0	1	2	4	4	4	5
Traumatic lesion	0	1	1	1	4	0	2	2	6*	5
Amorphous material	0	1	1	4	1	2	1	7*	7*	11**
Duodenum: Dilation	0	0	0	0	0	0	0	2	6*	10**
Jejunum: Dilation	0	0	1	0	1	0	0	3	6*	12**
Ileum: Dilation	0	0	1	0	0	0	0	3	8**	11**
Caecum: Dilation	0	0	1	0	0	0	0	1	0	7**
Colon: Dilation	0	0	1	0	0	0	0	2	6*	8**
Rectum: Dilation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; Statistical analysis conducted using Dunnett's test, Steel test, Fisher's Exact test (one-sided), Armitage/Cochran Trend test or Peto test

2.6.7.10D　　ラットにおけるがん原性試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: BIA 9-1067: 104-Week Oncogenicity (Gavage) Study in the Wistar Rat									Test Article: Opicapone	
Species/Strain:		Rat/HanRcc:WIST		Duration of Dosing:		104 weeks			Study No:	C30751
Age at the start of Administration:		7 weeks		Method of Administration:		Oral (gavage)			Location in CTD:	[4.2.3.4.1-4]
Date of First Dose:		[redacted] 20[redacted]		Vehicle/Formulation:		0.2% HPMC			GLP Compliance:	Yes
Treatment Controls:		0.2% HPMC				Special Features:			None	
Group Daily Dose (mg/kg):		Group 1 0 (Control)		Group 2 0 (Control)		Group 3 100		Group 4 500		Group 5 1000	
Gender:		M:	F:	M:	F:	M:	F:	M:	F:	M:	F:
Toxicokinetics:											
Number of Animals:		3	3	0	0	9	9	9	9	9	9
Opicapone											
Week 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	2.34	1.55	8.11	8.64	12.30	13.80
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	8.83	4.50	23.00	20.40	61.90	30.40
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	5.06	4.27	12.20	12.70	11.40	9.57
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	15.80	8.70	55.00	40.80	92.20	31.40
Week 26	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	4.41	3.27	11.60	9.60	14.70	28.70
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	13.90	8.12	43.30	33.10	58.40	86.90
BIA 9-1079											
Week 1	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	0.59	0.34	0.59	0.35	0.55	0.65
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	5.99	2.98	6.19	3.70	7.73	7.06
Week 13	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	0.81	0.25	0.48	0.36	1.03	1.29
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	8.02	2.87	8.56	5.71	20.70	13.00
Week 26	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	0.40	0.21	0.43	0.39	0.65	0.84
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	N/A	N/A	5.22	2.65	7.15	4.51	14.70	10.80

2.6.7.10D ラットにおけるがん原性試験（続き） 被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Rats continued			**Study No.:** C30751					**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-4]		
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals:	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**
Noteworthy findings:										
Died/Sacrificed Moribund:	16	17	13	14	17	15	27	20	28	17
Terminal Sacrifice:	35	34	38	37	34	36	24	31	23	34
Survival (%):	69	67	75	73	67	71	47	61	45	67
Clinical Observations[a]:										
Stained/discoloured yellow faeces	0	0	0	0	0	0	30-39% (1 week) 90-100% (98 weeks, 3 days)	20-29% (6 weeks) 30-39% (13 weeks) 90-100% (73 weeks, 4 days)	20-29% (1 week, 5 days) 40-49% (3 weeks) 50-59% (1 week) 90-100% (99 weeks, 2 days)	90-100% (105 weeks, 1 day)
Body Weight (%)[b], Day 708:	702.9 g	400.4 g	-1	+2	-1	0	-4	-3	-3	-6
Body Weight Gain (%), Day 708:	261.0	164.9	255.8	174.7	256.8	163.9	251.7	162.6	249.0	153.6
Food Consumption (%)[b], Mean of Means over Treatment Period:	22.4 g/animal/day	16.2 g/animal/day	0	0	-1	-1	0	0	+4	-1
Ophthalmoscopy:	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Haematology:										
Prothrombin Time - relative	0.90	0.86	0.89	0.93	0.88	0.88	0.87	0.92*	0.89	0.97**

*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; Statistical analysis conducted using Dunnett's test, Steel test, Fisher's Exact test (one-sided), Armitage/Cochran Trend test or Peto test

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of total main study animals (number of weeks/days with observation).

b: For control Group 1 means are shown. For Group 2 and treated groups (Groups 3-5), percent difference from control is shown. Statistical significance is based on actual data (not the percent differences).

2.6.7.10D　　ラットにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Rats continued			**Study No.:** C30751				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-4]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals:	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**
Noteworthy findings: cont.										
Serum Chemistry:										
Aspartate aminotransferase (U/L)	75.5	97.6	80.3	82.7	89.5	110.9	99.7	104.6	106.6*	135.6
Lactate dehydrogenase (U/L)	222.2	195.5	220.3	220.7	226.3	263.9	239.3	227.0	211.7	334.0**
Phosphorus (mmol/L)	1.42	1.13	1.42	1.23	1.43	1.22	1.47	1.15	1.66	1.33*
Albumin (g/L)	39.43	46.25	37.28	46.71	40.59	47.44	40.69	47.47	39.68	49.27*
Urinalysis:										
Specific gravity - relative	1.021	1.021	1.023	1.020	1.017**	1.019	1.017**	1.019	1.016**	1.021
Treatment-Related Neoplastic Lesions:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues):										
Heart/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	51	50	51
Endoc. Schwannoma: malignant	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Liver/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	52	51	51
Metastatic sarcoma	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Hepatocellular adenoma	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0
Hepatocellular carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	52	51	51
Haemangioma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Stromal carcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Haemolymphoret. System/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
Lymphoma (Not otherwise specified) malignant	2	1	3	1	1	0	1	0	1	0
Histiocytic sarcoma	2	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Lymphoma (mononuclear cell lymphoma)	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0

*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; Statistical analysis conducted using Dunnett's test, Steel test, Fisher's Exact test (one-sided), Armitage/Cochran Trend test or Peto test
-: No noteworthy findings

2.6.7.10D　　ラットにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Rats continued			**Study No.:** C30751				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-4]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals:	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues):										
Mesenteric Lymph Nodes/No. of Animals Examined	51	50	50	49	51	51	50	51	51	50
Haemangioma	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Haemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Metastatic sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidneys/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	52	51	51
Haemangiosarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Stomach/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
Squamous papilloma	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Jejunum/Peyer’s Patch/No. of Animals Examined	51	51	51	50	51	51	51	52	51	51
Leiomyoma	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
Leiomyosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Adenoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Adenocarcinoma	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Ileum/Peyer’s Patch/No. of Animals Examined	51	51	51	50	51	51	51	51	51	51
Leiomyoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Caecum/No. of Animals Examined	51	51	51	50	51	51	51	52	51	51
Leiomyoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lung/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
Metastatic carcinoma	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
Metastatic sarcoma	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0

2.6.7.10D　　ラットにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Rats continued			**Study No.:** C30751				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-4]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals:	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues):										
Thymus/No. of Animals Examined	51	50	49	50	50	51	49	49	47	49
Thyoma: benign	2	7	0	5	1	3	2	2	3	2
Thyoma: malignant	0	1	2	0	0	1	0	1	0	0
Metastatic sarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Testes/No. of Animals Examined	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A
Leydig cell tumour: benign	1	N/A	3	N/A	2	N/A	0	N/A	0	N/A
Epididymides/No. of Animals Examined	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A
Metastatic sarcoma	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A
Ovaries/No. of Animals Examined	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51
Stromal cell tumour: benign	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A	1	N/A	0
Granulosa cell tumour: benign	N/A	0	N/A	2	N/A	1	N/A	1	N/A	1
Granulosa cell tumour: malignant	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Thecoma: benign	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Mandibular Glands/No. of Animals Examined	51	50	49	51	51	51	51	49	48	50
Metastatic carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Pancreas/No. of Animals Examined	51	51	51	50	50	51	49	51	51	51
Islet cell adenoma	1	2	0	2	3	2	3	1	0	0
Islet cell carcinoma	0	0	1	1	1	0	0	0	3	0
Acinar cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Metastatic sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10D　　ラットにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Rats continued			**Study No.:** C30751				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-4]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals:	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues):										
Mandibular Lymph Nodes/No. of Animals Examined	51	50	50	51	51	51	50	49	47	50
Metastatic carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Thyroid Gland/No. of Animals Examined	51	51	49	51	51	51	51	49	49	50
C-cell adenoma	4	4	5	5	3	2	3	3	3	6
C-cell carcinoma	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0
Follicular cell adenoma	2	0	1	1	0	2	0	0	0	1
Follicular cell carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Adrenal Cortices/No. of Animals Examined	51	51	51	50	51	51	51	52	51	51
Cortical adenoma	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1
Adrenal Medullas/No. of Animals Examined	50	51	51	50	51	51	51	52	51	51
Pheochromocytoma: benign	0	0	4	1	1	1	2	0	0	0
Pheochromocytoma: malignant	1	0	2	0	2	0	0	1	0	0
Skin/Subcutis/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	50	51	51
Squamous papilloma	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Squamous carcinoma	0	2	0	2	1	1	0	0	0	0
Keratoacanthoma	6	0	6	0	5	0	4	0	2	0
Lipoma	1	0	4	1	3	0	1	0	1	0
Hibernoma: benign	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibroma	0	0	1	0	2	2	1	2	1	0
Fibrosarcoma	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Sarcoma (Not otherwise specified)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10D　　ラットにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Rats continued			**Study No.:** C30751				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-4]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals:	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues):										
Skin/Subcutis/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	50	51	51
Basal cell tumour: benign	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Basal cell carcinoma	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Sebaceous adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Sebaceous squamous carcinoma	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
Trichoepithelioma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Schwannoma: malignant	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Haemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Osteoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Mammary Gland Area/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
Fibroadenoma	1	17	0	22	0	17	1	16	0	16
Adenoma	0	2	0	0	0	2	0	1	0	0
Adenocarcinoma	0	7	0	7	0	3	0	5	0	3
Harderian Glands/No. of Animals Examined	50	51	49	51	51	51	51	50	49	50
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Cerebrum/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
Granular cell tumour	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Oligodendroglioma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Astrocytoma	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Metastatic carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Cerebellum/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
Granular cell tumour	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.10D　　ラットにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Rats continued			**Study No.:** C30751				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-4]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals:	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues):										
Tongue/No. of Animals Examined	51	51	50	50	51	51	51	51	48	50
Contact metastasis	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Prostate Gland/No. of Animals Examined	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A
Lipoma	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A
Adenocarcinoma	1	N/A	0	N/A	0	N/A	2	N/A	0	N/A
Leiomyosarcoma	0	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A
Seminal Vesicles/No. of Animals Examined	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A
Leiomyosarcoma	1	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A
Uterus/No. of Animals Examined	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51	N/A	51
Stromal Polyp	N/A	3	N/A	2	N/A	9*	N/A	6	N/A	3
Adenomatous Polyp	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Adenoma	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Leiomyoma	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A	0
Deciduoma	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A	0
Cervix/No. of Animals Examined	N/A	51	N/A	50	N/A	51	N/A	51	N/A	51
Leiomyoma	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Stromal Cell Sarcoma	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Vagina/No. of Animals Examined	N/A	51	N/A	50	N/A	51	N/A	51	N/A	51
Stromal Polyp	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Contact Metastasis	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0

*: p ≤0.05; Statistical analysis conducted using Dunnett's test, Steel test, Fisher’s Exact test (one-sided), Armitage/Cochran Trend test or Peto test

2.6.7.10D　　ラットにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Rats continued			**Study No.:** C30751				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-4]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals:	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**
Noteworthy findings: cont.										
Other Neoplastic Lesions (protocol tissues):										
Pituitary Gland/No. of Animals Examined	51	51	50	51	51	50	51	51	50	51
P. Distalis Adenoma	12	31	14	27	20	30	17	26	13	30
P. Intermedia Adenoma	0	1	1	0	1	2	0	0	2	1
P. Distalis Carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
Nasal Cavity II/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
Squamous Carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Nasal Cavity III/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
Contact Metastasis	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Nasal Cavity IV/No. of Animals Examined	51	50	51	51	51	51	51	51	51	51
Osteochondroma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Contact Metastasis	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Oral Cavity/No. of Animals Examined	1	3	0	3	0	1	1	0	0	1
Squamous Carcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Pharynx/No. of Animals Examined	51	51	51	51	51	50	51	51	51	51
Squamous papilloma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Body Cavities/No. of Animals Examined	3	8	1	7	2	11	5	2	2	7
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lipoma	0	1	0	0	1	0	3	0	0	0
Hibernoma: benign	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Contact Metastasis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Osteoma rib	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10D　　ラットにおけるがん原性試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Opicapone Carcinogenicity in Rats continued			**Study No.:** C30751				**Location in CTD:** [4.2.3.4.1-4]			
Daily Dose (mg/kg):	**0 (Control)**		**0 (Control)**		**100**		**500**		**1000**	
Gender:	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**	**M:**	**F:**
Number of Animals:	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**	**51**
Noteworthy findings: cont.										
Bone/No. of Animals Examined	0	4	2	0	0	2	1	1	0	1
Osteosarcoma	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Fibrosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Squamous carcinoma	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
Noteworthy Gross Pathology:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights:										
Liver - absolute (%)[a]	16.58 g	10.21 g	-4	+2	-16**	-16**	-22**	-15*	-19**	-9
Liver - relative (% body weight)	2.49	2.66	2.41	2.67	2.16**	2.35**	2.10**	2.35**	2.09**	2.59
Spleen - absolute (%)[a]	1.51 g	1.08 g	-1	-10	-9	-17*	-17*	-25**	-14	-29**
Spleen - relative (% body weight)	0.23	0.29	0.23	0.25	0.22	0.25	0.20	0.22**	0.20	0.22**
Non-Neoplastic Lesions (No. of animals with finding):	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$; Statistical analysis conducted using Dunnett's test, Steel test, Fisher's Exact test (one-sided), Armitage/Cochran Trend test or Peto test

-: No noteworthy findings

a: For control Group 1 means are shown. For Group 2 and treated groups (Group3-5), percent difference from control is shown. Statistical significance is based on actual data (not the percent differences).

2.6.7.11　　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.11A　　ラットにおける受胎能及び初期胚発生に関する試験の用量設定試験　　被験物質：オピカポン

Species / Strain	Method of Admin. (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Rat / Crl:WI(Han)	Oral (gavage) (0.2% HPMC)	Once daily dosing for 2 weeks prior to pairing, throughout pairing period and until day prior to necropsy for males (necropsy on Day 57) and LD6 or Day 26 post-mating if nor apparently pregnant or having littered	0, 100, 500, 1000	6M, 6F	0 mg/kg/day: None. 100 mg/kg/day: None. 500 mg/kg/day: Dark/orange or dark/red faeces in females from Day 3 and in males from Day 5. Yellow stained bedding from approximately Day 11 in majority of animals. 1000 mg/kg/day: Dark/orange or dark/red faeces in both sexes from Day 2. Yellow stained bedding from approximately Day 11 in majority of animals. MTD=1000 mg/kg/day for paternal toxicity, general reproductive performance and F_1 generation survival and growth.	FLG0048 [4.2.3.5.1-1]

2.6.7.11B　　ラットにおける胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験　　被験物質：オピカポン

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Admin.
(Vehicle/Formulation)</th><th>Dosing Period</th><th>Doses (mg/kg/day)</th><th>No. per Group</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No.
Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Rat /
Crl:WI(Han)</td><td>Oral (gavage)
(0.2% HPMC)</td><td>GD6-17</td><td>0, 100, 300, 1000</td><td>Main Study:
5F
TK Study:
3F (vehicle) or 9F (treated)</td><td><u>0 mg/kg/day:</u> None.
<u>100 mg/kg/day:</u> None
<u>300 mg/kg/day:</u> None.
<u>1000 mg/kg/day:</u> Dark orange faeces from GD7 and yellow stained bedding/nesting material from GD12; these observations were recorded for the remainder of the study period.

MTD=1000 mg/kg/day for maternal toxicity and embryo-foetal development.</td><td>FLG0044
[4.2.3.5.2-1]</td></tr>
</table>

Toxicokinetics:

Daily Dose (mg/kg):		100	300	1000
Opicapone				
GD6	Cmax (µg/mL)	4.09	9.53	36.20
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	10.10	31.20	98.50
GD17	Cmax (µg/mL)	5.90	14.20	25.30
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	15.10	33.80	87.60
BIA 9-1079				
GD6	Cmax (µg/mL)	1.74	2.31	4.13
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	15.40	24.30	42.50
GD17	Cmax (µg/mL)	1.29	2.25	3.50
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	10.90	24.20	43.50

2.6.7.11C　　ウサギにおける用量設定試験　　被験物質：オピカポン

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Admin. (Vehicle/Formulation)</th><th>Dosing Period</th><th>Doses (mg/kg/day)</th><th>No. per Group</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Rabbit/
HsdlF:NZW</td><td>Oral (gavage)
(0.2% HPMC)</td><td>3 days</td><td>Phase I: 250, 375, 500[a]</td><td>2F in total</td><td><u>250 mg/kg/day:</u> Slight body weight loss or body weight stasis and initial marginally lower food intake.
<u>375 mg/kg/day:</u> Slight body weight loss or body weight stasis and initial marginally lower food intake.
<u>500 mg/kg/day:</u> Treatment-related body weight loss and a marked reduction in food consumption. This dose level was considered to exceed MTD.</td><td>FLG0046
[4.2.3.5.2-3]</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>7 days</td><td>Phase II: 425</td><td>3F</td><td><u>425 mg/kg/day:</u> Reduced faecal output seen from the second day of dosing. Body weight loss and marked reduction in food consumption in all animals. Necropsy findings related to near absence of food consumption. These included presence of yellow material and hair in the stomach, and distended colon or ileum with presence of gas. Large mesenteric lymph nodes of dark colouration in one animal.
Toxicokinetics:
<table>
<tr><td colspan="2">Daily Dose (mg/kg):</td><td>425</td></tr>
<tr><td colspan="3">Opicapone</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Day 1</td><td>Cmax (µg/mL)</td><td>0.74</td></tr>
<tr><td>AUC0-24 h (µg•h/mL)</td><td>5.81</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Day 7</td><td>Cmax (µg/mL)</td><td>1.51</td></tr>
<tr><td>AUC0-24 h (µg•h/mL)</td><td>14.30</td></tr>
<tr><td colspan="3">BIA 9-1079</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Day 1</td><td>Cmax (µg/mL)</td><td>1.65</td></tr>
<tr><td>AUC0-24 h (µg•h/mL)</td><td>14.70</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Day 7</td><td>Cmax (µg/mL)</td><td>1.66</td></tr>
<tr><td>AUC0-24 h (µg•h/mL)</td><td>24.20</td></tr>
</table>
375 mg/kg/day was selected as high dose level in dose ranging study.</td><td></td></tr>
</table>

a: Initial dose level of 250 mg/kg/day for 3 days with washout of 5 days. Dose increased to 500 mg/kg/day for 3 days followed by 4 days washout. Dose decreased to 375 mg/kg/day for 3 days followed by sacrifice and necropsy.

2.6.7.11D　　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験　　被験物質：オピカポン

Species / Strain	Method of Admin. (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Rabbit/ HsdlF:NZW	Oral (gavage) (0.2% HPMC)	GD6-18	0, 150, 250, 375	5F	0 mg/kg/day: None. 150 mg/kg/day: None. 250 mg/kg/day: Two animals showed sustained absence of food intake and associated body weight loss leading to euthanasia. Reduced faecal output and lower water consumption. Accentuated lobular pattern of liver, yellow material (test article) in stomach, dry stomach content and/or reduced food material in gastrointestinal tract. No effect on food consumption and body weight for animals surviving to scheduled necropsy. 375 mg/kg/day: Four animals showed sustained absence of food intake and associated body weight loss leading to euthanasia. Reduced faecal output and lower water consumption. Accentuated lobular pattern of liver, yellow material (test article) in stomach, dry stomach content and/or reduced food material in gastrointestinal tract. No effect on food consumption and body weight for animal surviving to scheduled necropsy. No examination of pregnancy status or foetal parameters in the one animal surviving to schedules necropsy as there were only two surviving fetuses. There were no external abnormalities for foetuses. 150-250 mg/kg/day was selected as high dose level in evaluation study.	FLG0047 [4.2.3.5.2-4]

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 被験物質：オピカポン

Report Title: Fertility and Early Embryonic Development Study in the Rat		**Test Article:**	Opicapone
Duration of Dosing:	M: Study days 0-57 (a minimum of 28 days prior to pairing, during pairing and through the day prior to scheduled necropsy which was approximately 2 weeks after female necropsy) F: Study days 14-57 (a minimum of 14 days prior to pairing, during pairing and until GD6)	**Study No:**	FLG0052
		Location in CTD:	[4.2.3.5.1-2]
		GLP Compliance:	Yes
Species/Strain:	Rat/Crl:WI (Han)	**Day of Mating:**	Day 0
Age at the start of Administration:	7-10 weeks	**Day of Caesarean Section:**	GD13
Date of First Dose:	M: [redacted] 20[redacted] F: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)
Special Features:	None	**Vehicle/Formulation:**	0.2% HPMC
No Observed Adverse-Effect Level:			
F_0 Males:	1000 mg/kg/day		
F_0 Females:	1000 mg/kg/day		
F_1 Litters:	1000 mg/kg/day		
Toxicokinetics:	Not evaluated in this study		

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き） 被験物質：オピカポン

Fertility and early embryonic development to implantation continued		**Study No.:** FLG0052		**Location in CTD:** [4.2.3.5.1-2]
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
Treated Males:				
No. Evaluated:	**20**	**20**	**20**	**20**
No. Died or Sacrificed Moribund:	1[a]	1[b]	0	0
Clinical Observations[c]:				
Yellow stained nesting material (Days 2-57)	-	-	20	20
Red faeces (Days 2, 16-23, 41-57)	-	-	20	-
Red/orange faeces (Days 3-8)	-	-	20	-
Necropsy Observations:	-	-	-	-
Body Weight (%; Day 57)[d]:	377.4 g	+2	-2	-3
Body Weight Change (%; Days 29 to 36)[d]:	14.4 g	-56**	-47**	-60**
Body Weight Change (%; Days 50 to 57)[d]:	20.6 g	-49*	-40*	-56***
Body Weight Change (%; Days 1 to 57)[d]:	146.8 g	+3	-2	-7
Food Consumption (%; Days 22 to 29)[d]:	25.3 g/rat/day	-1	+1	0
No. of Males that Mated:	20	20	19	20
No. of Fertile Males:	20	20	18	20
Copulation Index (%):	100.0	100.0	95.0	100.0
Fertility Index (%):	100.0	100.0	94.7	100.0

Statistical analysis using Analysis of Variance and Williams' test (body weight gains, organ weights): *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

-: No noteworthy findings

a: Animal sacrificed on Day 37 due to poor clinical condition; clinical signs prior to euthanasia included laboured breathing, hunched posture, piloerection and decreased activity. Necropsy findings consistent with dosing trauma.

b: Animal found dead on Day 39. Necropsy findings consistent with dosing trauma.

c: Data expressed as number of animals with observation.

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

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き） 被験物質：オピカポン

Fertility and early embryonic development to implantation continued		**Study No.:** FLG0052		**Location in CTD:** [4.2.3.5.1-2]
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
Organ Weights				
Testes (%)[a]	3.49 g	+1	+4	+3
Body weight-related testes weight (%)	0.93	0.92	0.99*	1.00*
Treated Females:				
No. Evaluated:	**20**	**20**	**20**	**20**
No. Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0
Clinical Observations[b]:				
Yellow stained nesting material (pre-pairing Day 2 to GD13)	-	-	20	20
Red faeces	-	-	20[c]	20[d]
Necropsy Observations:	-	-	-	-
Premating Body Weight (%; Day 15)[a]	202.8 g	-2	0	-2
Gestation Body Weight (%; GD13)[a]	254.6 g	-5	-2	-3
Premating Body Weight Change (%; Days 8 to 15)[a]	9.7 g	+3	-18	-37**
Premating Body Weight Change (%; Days 1 to 15)[a]	19.0 g	+21	-1	-12
Gestation Body Weight Change (%; GD0 to GD13)[a]	48.1 g	-9	-8	-1
Premating Food Consumption (%; Days 8 to 15)[a]	18.0 g/rat/day	+3	0	-4
Gestation Food Consumption (%; GD7 to GD13)[a]	24.0 g/rat/day	0	0	+4
Mean No. Oestrous Cycles During Pre-Mating Period:	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.0	1.9 ± 0.4	1.8 ± 0.5
Mean No. Days Prior to Mating:	2.9 ± 1.1	2.7 ± 0.9	3.3 ± 2.2	2.6 ± 0.9
Mean No. of Sperm Plugs After Mating:	3.9	3.7	3.5	4.1

Statistical analysis using Analysis of Variance and Williams' Test (body weight gains, organ weights): *p<0.05, **p<0.01

-: No noteworthy findings

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

b: Data expressed as number of animals with observation.

c: pre-pairing Day 9 to GD13

d: pre-pairing Day 2 to GD13

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き） 被験物質：オピカポン

Fertility and early embryonic development to implantation continued		**Study No.:** FLG0052		**Location in CTD:** [4.2.3.5.1-2]
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
Treated Females:				
No. of Pregnant Females:	**20**	**20**	**19**	**20**
Copulation Index (%):	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility Index (%):	100.0	100.0	95.0	100.0
No. of Pregnant Females with Total Resorptions:	0	0	0	0
No. of Pregnant Females with Live Fetuses at Scheduled Necropsy:	20	20	19	20
No. Evaluated:	20	20	19	20
Mean No. Corpora Lutea:	13.9	14.1	13.5	13.1
Mean No. Implantations:	12.7	12.6	12.3	11.8
Mean % Pre-implantation Loss:	9.1	9.7	9.6	10.0
Mean No. Live Embryos:	12.0	11.8	11.3	11.2
No. Early Embryo/Foetal Deaths:	13	17	19	11
No. Dead Embryos:	0	0	0	0
Mean % Post-implantation Loss:	5.1	6.7	8.8	4.6

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13A ラットにおける胚・胎児発生に関する試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: Oral (Gavage) Developmental Toxicity Study in the Rat				**Test Article:**	Opicapone
Duration of Dosing:	GD6-17			**Study No:**	FLG0045
Species/Strain:	Rat/Crl:WI (Han)	**Day of Mating:**	Day 0	**Location in CTD:**	[4.2.3.5.2-2]
Age at mating:	9-10 weeks	**Day of Caesarean Section:**	GD20	**GLP Compliance:**	Yes
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)		
Special Features:	None	**Vehicle/Formulation:**	0.2% HPMC		
No Observed Adverse-Effect Level:					
F_0 Females:	1000 mg/kg/day				
F_1 Litters:	1000 mg/kg/day				
Toxicokinetics:	Not evaluated in this study				

Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
F_0 Females:				
Number of Animals:	**20**	**20**	**20**	**20**
No. Pregnant Animals:	19	19	19	18
No. Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0
No. Aborted:	0	0	0	0
No. of Pregnant Females with Total Resorptions:	0	0	0	0
No. of Pregnant Females with Live Fetuses at Scheduled Necropsy:	19	19	19	18

2.6.7.13A　　ラットにおける胚・胎児発生に関する試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Effects on embryo-foetal development in rats continued	**Study No.:** FLG0045		**Location in CTD:** [4.2.3.5.2-2]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
F_0 Females cont.:				
Number of Animals:	**20**	**20**	**20**	**20**
No. Pregnant Animals:	**19**	**19**	**19**	**18**
Clinical Observations[a]:				
Yellow stained nesting material	-	-	20	20
Red faeces	-	-	20	20
Necropsy Observations:	-	-	-	-
Body Weight (%; GD20)[b]:	289.8 g	+4	+1	0
Body Weight Change (%; GD6 to GD7)[b, c]:	0.6 g	+700***	+783***	+733***
Body Weight Change (%; GD6 to GD18)[b]:	58.0 g	+11	+13	-4
Food Consumption (%; GD18 to GD20)[b, d]:	22.8 g/rat/day	+7	+5	+10*

Statistical analysis using Analysis of Variance and Williams' test: *$p<0.05$, ***$p<0.001$

-: No noteworthy findings

a: Data expressed as number of animals with observation.

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

c: Statistically significantly higher body weight gains in opicapone treated animals between GD6 and GD7 when compared with the Controls. Control values were below the background Control data for this age and strain of rat at the facility.

d: After the cessation of treatment a statistically significant higher group mean food consumption was evident for animals receiving 1000 mg/kg/day (Group 4) over GD18 to GD20 when compared with the Controls. Group mean food consumption for animals receiving 1000 mg/kg/day was, however, within the background Control data for this age and strain of rat at these laboratories; this finding is, therefore, considered to be incidental and not related to treatment.

2.6.7.13A　　ラットにおける胚・胎児発生に関する試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Effects on embryo-foetal development in rats continued	**Study No.:** FLG0045		**Location in CTD:** [4.2.3.5.2-2]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
F_0 Females cont.:				
Number of Animals:	**20**	**20**	**20**	**20**
No. Pregnant Animals:	**19**	**19**	**19**	**18**
Mean No. Corpora Lutea:	11.5	12.4	12.1	12.1
Mean No. Implantations:	10.0	11.1	10.7	11.2
Mean % of Implantations:	92.3	91.6	94.2	92.2
Mean % Pre-implantation Loss:	13.9	10.4	10.9	7.1
No. of Early Embryo/Foetal Deaths:	14	17	11	17
No. of Late Embryo/Foetal Deaths:	1	0	1	0
Litters:				
No. of Litters Evaluated:	**19**	**19**	**19**	**18**
Mean No. of Live Fetuses:	9.2	10.2	10.1	10.3
No of Litters with Dead Fetuses:	0	0	0	0
Mean % Post-implantation Loss:	7.7	8.4	5.8	7.8
Mean Male Foetal Body Weight (g):	3.72	3.64	3.75	3.56
Mean Female Foetal Body Weight (g):	3.52 <18>	3.41	3.60 <18>	3.41
Mean Combined Foetal Body Weight (g):	3.61	3.53	3.67	3.48
Mean Placental Weight (g)	0.55	0.59	0.52	0.54
Foetal Sex Ratios (% males)	50.3	47.9	56.5	46.3

< >: N, where different from original

2.6.7.13A　　ラットにおける胚・胎児発生に関する試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Effects on embryo-foetal development in rats continued	**Study No.:** FLG0045		**Location in CTD:** [4.2.3.5.2-2]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
Litters cont.:				
No. of Litters Evaluated:	**19**	**19**	**19**	**18**
Foetal Anomalies:				
No. of Fetuses (Litters) Available for Morphological Evaluation	175 (19)	193 (19)	192 (19)	185 (18)
Major Abnormalities[a]	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
Minor Abnormalities[a]	39 (16)	58 (18)	39 (18)	30 (16)
Variations[a]	106 (19)	115 (19)	113 (19)	121 (18)
Gross External	-	-	-	-
Visceral Anomalies[b]				
Abdominal Cavity; Umbilical artery: left sided (variant)	14 (17.5)	14 (13.7)	11 (10.9)	22 (24.3)*
Skeletal Anomalies[b]				
Skull; frontal- uni- or bilateral: uneven ossification (minor)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (3.5)**
Forelimb; one or more digit: phalanges ossified (variant)	21 (25.4)	31 (28.7)	38 (34.5)*	39 (40.0)*

Statistical analysis using Cochran Armitage Trend test: *p<0.05, **p<0.01
-: No noteworthy findings
a: Expressed as number of fetuses (number of litters) with observation.
b: Expressed as number of fetuses (group mean %) with observation.

2.6.7.13B　　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験　　被験物質：オピカポン

Report Title: Oral (Gavage) Developmental Toxicity Study in the Rabbit						**Test Article:**	Opicapone
Duration of Dosing:	GD6-18					**Study No:**	FLG0049
Species/Strain:	Rabbit/HsdlF:NZW		**Day of Mating:**	Day 0		**Location in CTD:**	[4.2.3.5.2-5]
Age at mating:	Approximately 4 months		**Day of Caesarean Section:**	GD28		**GLP Compliance:**	Yes
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]		**Method of Administration:**	Oral (gavage)			
Special Features:	None		**Vehicle/Formulation:**	0.2% HPMC			
No Observed Adverse-Effect Level:							
F_0 Females:	100 mg/kg/day						
F_1 Litters:	225 mg/kg/day						

Daily Dose (mg/kg/day):		**0 (Control)**	**100**	**175**	**225**
F_0 Females:					
Toxicokinetics:					
Number of Animals:		**3**	**3**	**3**	**3**
Opicapone					
GD6	Cmax (µg/mL)	N/A	0.20	0.31	0.66
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	0.71	1.03	2.61
GD18	Cmax (µg/mL)	N/A	0.37	0.26	0.81
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	1.02	0.79	4.52
BIA 9-1079					
GD6	Cmax (µg/mL)	N/A	1.50	1.69	2.13
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	7.30	10.20	14.00
GD18	Cmax (µg/mL)	N/A	1.07	1.34	1.25
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	7.07	8.85	13.60

2.6.7.13B　　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Effects on embryo-foetal development in rabbits continued	**Study No.:** FLG0049		**Location in CTD:** [4.2.3.5.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**100**	**175**	**225**
F_0 Females cont.:				
Number of Animals:	**20**	**20**	**20**	**20**
No. Pregnant Animals:	**19**	**18**	**20**	**18**
No. Died or Sacrificed Moribund:	0	0	1[a]	3[b]
No. of Pregnant Females with Total Resorptions:	1	0	0	0
No. of Pregnant Females with Live Fetuses at Scheduled Necropsy:	18	18	19	15
Clinical Observations:	-	-	-	-
Necropsy Observations[c]:				
Clear or straw coloured fluid in abdominal and thoracic cavities	-	-	0 (1)	1 (1)
Body Weight (%; GD28)[d]:	3.975 kg	+2	-2	0
Body Weight Change (kg;GD7 to GD8):	-0.002	-0.006	-0.023	-0.042*
Body Weight Change (%; GD6 to GD19)[d]:	0.178 kg	-3	-42	+6
Food Consumption (%; GD6 to GD8)[d]:	143.1 g/rabbit/day	-12	-27**	-31**
Food Consumption (%; GD8 to GD10)[d]:	137.4 g/rabbit/day	-7	-37*	-34*
Food Consumption (%; GD18 to GD20)[d]:	127.8 g/rabbit/day	+15	-17	+29*
Food Consumption (%; GD20 to GD22)[d]:	133.9 g/rabbit/day	+10	0	+21**
Food Consumption (%; GD26 to GD28)[d]:	118.1 g/rabbit/day	-3	+3	+3

Statistical analysis using Analysis of Variance and Williams' test: *p<0.05, **p<0.01

-: No noteworthy findings

a: Euthanised on GD20 due to persistent near absence of food consumption.

b: Two animals euthanised on GD16 and GD17 due to persistent near absence of food consumption. The third animal was euthanized on GD27 for welfare reasons. Prior to euthanasia red hair staining of urogenital area and red stained bedding was observed. At necropsy, findings included a twisted right horn of the uterus and 10 late resorptions. This death was considered not to be related to treatment with opicapone.

c: Data expressed as number of animals (early decedents) with observation.

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

2.6.7.13B　　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Effects on embryo-foetal development in rabbits continued	**Study No.:** FLG0049		**Location in CTD:** [4.2.3.5.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**100**	**175**	**225**
F_0 Females cont.:				
Number of Animals:	**20**	**20**	**20**	**20**
No. Pregnant Animals:	**19**	**18**	**20**	**18**
No. of Animals with Implantations at GD28:	19	18	19	15
Mean No. Corpora Lutea:	10.2	9.6	11.0	10.0
Mean No. Implantations:	8.0	7.2	9.4	8.1
Mean % of Implantations:	90.4	95.8	86.1	91.6
Mean % Pre-implantation Loss:	20.3	23.2	14.0	17.5
No. of Early Embryo/Foetal Deaths:	7	4	21	8
No. of Late Embryo/Foetal Deaths:	2	4	4	2
Litters:				
No. of Litters Evaluated:	**18**	**18**	**19**	**15**
No. of Females with Live Fetuses at GD28:	18	18	19	15
Mean No. of Live Fetuses:	7.9	6.8	8.1	7.5
No of Litters with Dead Fetuses:	0	0	0	0
Mean % Post-implantation Loss:	9.6	4.2	13.9	8.4
Mean Male Foetal Body Weight (g):	39.7	41.5	39.0	40.7 <14>
Mean Female Foetal Body Weight (g):	41.0	39.5 <17>	38.8	39.9
Mean Combined Foetal Body Weight (g):	40.4	40.7	38.7	40.6
Mean Placental Weight (g)	4.13	4.59	4.17	4.57
Foetal Sex Ratios (% males)	55.1	48.1	46.6	46.8

< >: N, where different from original

2.6.7.13B　　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験（続き）　　被験物質：オピカポン

Effects on embryo-foetal development in rabbits continued	**Study No.:** FLG0049		**Location in CTD:** [4.2.3.5.2-5]	
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**100**	**175**	**225**
Litters cont.:				
Foetal Anomalies:				
No. of Fetuses (Litters) Available for Morphological Evaluation	143 (18)	122 (18)	153 (19)	112 (15)
Major Abnormalities[a]	2 (2)	6 (4)	4 (4)	5 (4)
Minor Abnormalities[a]	36 (15)	41 (16)	59 (18)**	44 (15)**
Runted foetus	0 (0)	1 (1)	2 (2)	1 (1)
Variations[a]	134 (17)	116 (18)	148 (19)	109 (15)
Gross External	-	-	-	-
Visceral Anomalies[b]				
Thoracic cavity; common carotid artery- uni- or bilateral: arising from innominate artery (variant)	6 (3.9)	6 (5.5)	17 (10.7)*	10 (7.8)*
No. of Fetuses (Litters) Available for Morphological Evaluation	143 (18)	122 (18)	153 (19)	112 (15)
Skeletal Anomalies[b]				
Skull; maxilla- uni- or bilateral: incomplete ossification (minor)	11 (14.7)	15 (22.1)	18 (24.1)	17 (25.4)*
Skull; hyoid: cornua bent (minor)	0 (0.0)	3 (6.7)	2 (2.6)	4 (6.1)*
Vertebra; number of presacral vertebra: 27 (minor)	6 (5.7)	9 (6.6)	22 (16.1)*	9 (11.4)*
Thoracic vertebra; number of vertebra: 13 (variant)	37 (27.7)	48 (42.7)*	56 (39.2)*	49 (46.7)**
Lumbar vertebra; number of vertebra: 6 (variant)	32 (22.7)	42 (38.5)	36 (24.2)	42 (37.0)*
Rib; 13th- uni- or bilateral: extra (variant)	37 (27.7)	48 (42.7)*	56 (39.2)*	49 (46.7)**
Sternum; one or more sternebra: mis-shapen or misaligned (minor)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (2.1)*	2 (1.9)*
Forelimb; one or more digit: phalanges incomplete ossification (variant)	9 (8.4)	16 (16.0)*	25 (18.0)*	13 (13.0)*

Statistical analysis using Cochran Armitage Trend test: *p<0.05, **p<0.01
-: No noteworthy findings
a: Expressed as number of fetuses (number of litters) with observation.
b: Expressed as number of fetuses (group mean %) with observation.

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

Report Title: Oral (Gavage) Pre- and Post-natal Developmental Toxicity Study in the Rat				**Test Article:**	Opicapone
Duration of Dosing:	GD6-LD20			**Study No.:**	FLG0053
Species/Strain:	Rat/Crl:WI (Han)	**Day of Mating:**	Day 0	**Location in CTD:**	[4.2.3.5.3-1]
Initial Age:	Females mated in sexually mature time delivered to facility by GD4; acclimatisation of at least 2 days			**GLP Compliance:**	Yes
				Method of Administration:	Oral (gavage)
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:**	0.2% HPMC		
Special Features:	None	**Litters Culled/Not Culled:**	Culled		
No Observed Adverse-Effect Level:					
F_0 Females:	1000 mg/kg/day				
F_1 Pup Development to Day 21:	1000 mg/kg/day				
F_1 Development:	375 mg/kg/day				
Toxicokinetics:	Not evaluated in this study				
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**	
F_0 Females:					
Number of Animals:	**22**	**22**	**22**	**22**	
No. Pregnant:	**18**	**21**	**20**	**19**	
No. Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	
Clinical Observations[a]:					
Yellow stained nesting material	-	2	22	22	
Red faeces	-	-	22	22	

a: Data expressed as number of animals with observation.

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き） 被験物質：オピカポン

Effects on pre- and post-natal development continued		**Study No.:** FLG0053		**Location in CTD:** [4.2.3.5.3-1]
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
F_0 Females cont.:				
Number of Animals:	**22**	**22**	**22**	**22**
No. Pregnant:	**18**	**21**	**20**	**19**
Necropsy Observations:	-	-	-	-
Gestation Body Weight (%; GD20)[a]:	286.0 g	+3	+2	+1
Body Weight Change (%;GD6 to GD7)[a]:	1.6 g	+194**	+169**	+300***
Body Weight Change (%;GD9 to GD12)[a]:	12.1 g	-3	-7	-31**
Body Weight Change (%;GD6 to GD18)[a]:	59.8 g	+8	-1	-6
Lactation Body Weight (%; LD21)[a]:	255.9 g	+4	+3	+6*
Body Weight Change (%;LD1 to LD21)[a]:	35.8 g	-6	0	+27**
Gestation Food Consumption (%; GD15 to GD20)[a]:	22.3 g/rat/day	+11	+6	-1
Lactation Food Consumption (%; LD7 to LD14)[a]:	50 g/rat/day	-2	+2	+12*
Gestation Index (%):	100.0	100.0	100.0	95.0 <20[b]>
Mean Duration of Gestation (days):	22.2	22.4	22.5	22.5
Abnormal Parturition:	-	-	-	-

Statistical analysis using Analysis of Variance and Williams' test: *p<0.05, **p<0.01, ***<p<0.001

-: No noteworthy findings, < >: N, where different from original

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

b: One female not littered to have an early resorption.

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き） 被験物質：オピカポン

Effects on pre- and post-natal development continued		**Study No.:** FLG0053		**Location in CTD:** [4.2.3.5.3-1]
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
F_1 Litters (Preweaning):				
No. Litters Evaluated:	**18**	**21**	**20**	**19**
Mean No. Pups/Litter:	9.7	9.0	9.1	10.2
Mean Live Birth Index:	99.4	99.5	100.0	99.6
No. of Pups Found Dead/Sacrificed Prematurely:	5	4	2	3
No. of Pups Missing (presumed cannibalised):	0	1	1	0
Mean Viability Index on LD4:	98.3	100.0	99.5	98.0
Mean Lactation Index:	99.3	98.8	100.0	99.3
Mean Cumulative Survival Index to LD21:	97.1	98.3	99.5	96.9
Mean No. Implantation Scars:	10.6	9.5	10.0	10.7
Pup Sex Ratios (% males):	49.1	56.8	54.8	49.9
Pup Clinical Signs:	-	-	-	-
Pup Necropsy Observations:	-	-	-	-
% with Ears Open on Day 3:	39.4	44.7	45.1	37.7
% with Righting Reflex on Day 5:	92.4	96.7	87.5	90.8
% with Startle Response on Day 15:	100.0	100.0	95.5	100.0
% with Eyes Open on Day 15:	78.3	83.5	92.5**	94.1**
% with Pupillary Light Reflex on Day 21:	100.0	100.0	100.0	100.0

Statistical analysis using Jonckheere-Terpstra test: **p<0.01
-: No noteworthy findings

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き） 被験物質：オピカポン

Effects on pre- and post-natal development continued		**Study No.:** FLG0053		**Location in CTD:** [4.2.3.5.3-1]
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
F_1 Litters (Preweaning) cont.:				
Body Weight - Males (%; LD21)[a]:	45.5 g	+3	+1	+4
Body Weight Change – Males (%; LD1 to LD21)[a]:	39.1 g	+2	0	+4
Body Weight - Females (%; LD21)[a]:	44.7 g	+2	+2	+4
Body Weight Change – Females (%; LD1 to LD21)[a]:	38.5 g	+3	+2	+4
F_1 Males (Postweaning):				
No. of Evaluated Postweaning per Litter:	20	20	20	20
No. of Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	2[b]
Clinical Observations:	-	-	-	-
Necropsy Observations:	-	-	-	-
Body Weight (%; Day 64)[a]:	357.7 g	0	-2	-1
Body Weight Change (%; Days 1 to 8)[a]:	45.2 g	-3	-7	-13**
Body Weight Change (%; Days 50 to 57)[a]:	14.0 g	+16	+30*	+39*
Body Weight Change (%; Days 57 to 64)[a]:	17.3 g	+1	-7	-37***
Body Weight Change (%; Days 1 to 64)[a]:	292.8 g	0	-3	-1

Statistical analysis using Analysis of Variance and Williams' test: *p<0.05, **p<0.01, ***<p<0.001

-: No noteworthy findings

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

b: There were 2 early decedents from the F1 generation. One male was sacrificed on Day 8 (day 34 of age) due to a decline in clinical condition with findings of distended abdomen and brown perianal staining. At necropsy the caecum, ileum and jejunum were distended with food, the colon was distended with green fluid, and the mesenteric lymph nodes were enlarged. Other one male was sacrificed on Day 37 (day 62 of age) due to a decline in clinical condition with findings of impaired mobility, hunched posture and rapid breathing but there were no findings at necropsy.

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き） 被験物質：オピカポン

Effects on pre- and post-natal development continued		**Study No.:** FLG0053		**Location in CTD:** [4.2.3.5.3-1]
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
F_1 Males (Postweaning) cont.:				
No. of Evaluated Postweaning per Litter:	**20**	**20**	**20**	**20**
Preputial Separation:	-	-	-	-
Auditory Function:	-	-	-	-
Locomotor Activity:	-	-	-	-
Learning and Memory (E-maze):	-	-	-	-
No. of Males Paired:	20	20	20	18
No. of Males that Mated:	19	20	20	18
Mean No. Days Prior to Mating:	2.6	2.3	2.4	3.0
Mean No. Sperm Plugs After Mating:	1.9	2.4	2.0	2.0
No. of Fertile Males:	19	19	20	18
Copulation Index:	95.0	100.0	100.0	100.0
Fertility Index:	100.0	95.0	100.0	100.0
F_1 Females (Postweaning):				
No. of Evaluated Postweaning:	20	20	20	20
No. of Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0
Clinical Observations:	-	-	-	-
Necropsy Observations:	-	-	-	-

-: No noteworthy findings

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き） 被験物質：オピカポン

Effects on pre- and post-natal development continued		**Study No.:** FLG0053		**Location in CTD:** [4.2.3.5.3-1]
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
F_1 Females (Postweaning) cont.:				
No Evaluated Postweaning:	**20**	**20**	**20**	**20**
Premating Body Weight (%; Day 43)[a]:	196.2 g	+2	-1	-1
Premating Body Weight Change (%; Days 22 to 29)[a]:	20.4 g	-15*	-11*	-12*
Premating Body Weight Change (%; Days 1 to 43)[a]:	134.2 g	+4	-2	-2
Gestation Body Weight (%; GD13)[a]:	249.6 g	+1	-2	0
Gestation Body Weight Change (%; GD0 to GD7)[a]:	23.6 g	+11	+4	+23**
Gestation Body Weight Change (%; GD0 to GD13)[a]:	49.6 g	+1	-2	+9*
Mean Age of Vaginal Patency (days):	-	-	-	-
Auditory Function:	-	-	-	-
Locomotor Activity:	-	-	-	-
Learning and Memory (E-maze):	-	-	-	-
No. of Females Paired:	20	20	20	20
No. of Females Mated:	19	20	20	20
No. of Pregnant Females:	19	19	20	19
Copulation Index:	95.0	100.0	100.0	100.0
Fertility Index:	100.0	95.0	100.0	95.0

Statistical analysis using Analysis of Variance and Williams' test: *p<0.05, **p<0.01

-: No noteworthy findings

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

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き） 被験物質：オピカポン

Effects on pre- and post-natal development continued		**Study No.:** FLG0053		**Location in CTD:** [4.2.3.5.3-1]
Daily Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**	**150**	**375**	**1000**
F_1 Females (Postweaning) cont.:				
No Evaluated Postweaning:	**20**	**20**	**20**	**20**
No. of Females with Live Fetuses at Necropsy:	**19**	**19**	**20**	**19**
Mean No. Females with Implantations at Necropsy:	19	19	20	19
No. of Pregnant Females:	19	19	20	19
Mean No. Corpora Lutea:	12.4	12.1	11.7	12.7
Mean No. of Implantations:	11.5	11.1	11.1	11.4
Mean % Pre-implantation Loss:	8.1	8.1	5.7	9.8
F_2 Litters:				
Mean No. Live Embryo/Litter:	10.4	10.7	10.4	10.7
No. of Early Embryo/Foetal Deaths:	20	8	14	14
No. of Litters with Dead Embryos:	0	0	0	0
Mean % of Implantations:	91.5	95.7	93.5	92.4
Mean % Post-implantation Loss:	8.5	4.3	6.5	7.6

2.6.7.15 新生児を用いた試験

No studies in juvenile animals were conducted.

2.6.7.16 局所刺激性試験

No local tolerance studies were conducted.

2.6.7.17 その他の試験

2.6.7.17.1 抗原性試験

No antigenicity studies were conducted.

2.6.7.17.2 免疫毒性試験

Immunotoxicological assessments (analysis of primary immune response to SRBC and analysis of leukocyte populations in the blood) were conducted in the 4-week toxicity study in rats (Study No. B18144 [4.2.3.2-2]). There were no effects caused Opicapone on primary immune response and the leukocyte populations. As such, it was not considered necessary to conduct any additional specific immunotoxicity studies.

2.6.7.17.3 毒性発現の機序に関する試験

No mechanistic studies were conducted.

2.6.7.17.4 依存性試験

No dependence studies were conducted.

2.6.7.17.5 代謝物の毒性試験

2.6.7.17.5A BIA 9-1079 の単回投与毒性試験 被験物質：BIA 9-1079

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Mouse/ Crl:CD-1(ICR)	Oral (gavage) (water)	300 1000 2000	3F 3F 3M+3F	2000	>2000	300 mg/kg: None. 1000 mg/kg: None. 2000 mg/kg: Increased breathing rate in females from approximately 2.25 h after dosing and on Day 2. Hunched appearance and piloerection in 1 male 1.75 h after dosing. Increased breathing rate in all males from 1.75 h post-dose and also on Days 2 and 3.	511535 [4.2.3.7.5-1]
Rat/ Crl:CD(SD)	Oral (gavage) (water)	300 1000 2000	3F 3F 3M+3F	2000	>2000	300 mg/kg: None. 1000 mg/kg: None. 2000 mg/kg: Subdued behaviour and increased breathing rate in females from approximately 0.75 h until 4.25 h after dosing.	511509 [4.2.3.7.5-2]
Rat/ Crl:CD(SD)	Intranenous (bolus) (DMSO)	2 8	3M+3F 3F	2	8	2 mg/kg: Red liquid in urine seen in females 0.5 h after dosing and in males 20-50 min after dosing. 8 mg/kg: One female was found dead approximately 5 min after dosing; subdued behaviour observed immediately after dosing. Subdued behaviour in surviving animals 5-30 min after dosing. Laboured breathing in surviving animals 5-10 min after dosing. Red staining in cage 30-50 min after dosing. Red discharge from nose in 1 animal approximately 30 min after dosing.	512607 [4.2.3.7.5-3]

2.6.7.17.5B　　BIA 9-1103 の細菌を用いた復帰突然変異　　被験物質：BIA 9-1103

Report Title: BIA 9-1103: Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 100, TA 1537 and TA 98 and *Escherichia coli* WP2*uvr*A (OECD 471)				**Test Article:**	BIA 9-1103
Test for Induction of:	Reverse mutation	**No of Independent Assays:**	2 (plus toxicity test in TA 100 at 17-5000 µg/plate ±S9)	**Study No:**	790474
Strains:	*Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 *Escherichia coli* WP2*uvr*A	**No of Replicate Cultures:**	3	**Location in CTD:**	[4.2.3.7.5-4]
Metabolising System:	Aroclor-1254 induced male Fischer rat liver S9 mix	**No of Cells Analysed/Culture:**	N/A	**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle: Test Article:	DMSO	**Vehicle: Positive Controls:**	DMSO (2-AAN, 9-AA, 2-NF, ENNG) water (NaN_3)		
Treatment:	Direct plate method and pre-incubation method		**Experimental start date:**	[redacted] 20[redacted]	
Cytotoxic Effects:	Cytotoxicity was observed at the highest concentration in the pre-incubation test in the absence of metabolic activation as a thinning of the background lawn of microcolonies				
Genotoxic Effects:	No genotoxic activity was observed.				

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Direct Plate Incorporation Method - Mean Revertants Per Plate ± SD**				
			TA 1535	**TA 1537**	**TA 98**	**TA 100**	**WP2*uvr*A**
Without Activation	Vehicle (DMSO)	0	11.7±1.2	11.0±1.0	24.3±5.7	98.3±5.7	11.3±1.5
	BIA 9-1103	17	15.3±3.1	4.3±0.6	22.7±5.7	88.7±10.8	11.7±1.5
		50	12.7±3.1	12.7±2.1	26.3±7.0	90.7±12.0	11.0±4.0
		167	13.3±4.2	14.7±1.5	21.3±7.1	89.3±18.2	15.0±2.6
		500	17.3±3.2	11.7 ±1.2	23.3±4.6	77.3±11.0	15.3±6.0
		1667	12.0±6.1	12.0±6.1	21.0±4.4	78.0±6.1	8.3±2.1
		5000	13.7±4.0	10.7±4.5	26.0±7.5	77.3±5.9	11.0±1.0
	NaN_3	1	442.3±12.7	NT	NT	1023.0±34.9	NT
	9-AA	80	NT	4300.7±497.2	NT	NT	NT
	2-NF	1	NT	NT	574.3±98.9	NT	NT
	ENNG	2	NT	NT	NT	NT	112.3±10.1

9-AA: 9-Aminoacridine; 2-AAN: 2-Aminioanthracene; ENNG: N-Ethyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine; NaN_3: Sodium azide; 2-NF: 2-Nitrofluorene; SD: Standard Deviation

2.6.7.17.5B　　BIA 9-1103 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）　　被験物質：BIA 9-1103

BIA 9-1103 Bacterial Reverse Mutation Assay continued			**Study No.:** 790474			**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-4]	
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Direct Plate Incorporation Method - Mean Revertants Per Plate ± SD**				
			TA 1535	**TA 1537**	**TA 98**	**TA 100**	**WP2*uvr*A**
With Activation	Vehicle (DMSO)	0	10.0±3.0	11.3±5.5	29.7±8.6	88.3±16.6	13.3±1.5
	BIA 9-1103	17	8.3±8.5	11.3±4.5	32.7±5.0	87.7±8.1	16.0±3.5
		50	8.0±6.1	14.7±4.9	34.0±2.6	98.3±5.0	15.0±3.5
		167	13.0±5.3	9.3±2.5	25.3±2.1	84.3±16.7	11.7±2.3
		500	11.0±3.5	7.0±2.0	28.0±3.6	96.7±10.1	14.7±7.1
		1667	12.7±2.5	11.0±1.7	34.0±6.1	71.0±1.7	12.7±5.8
		5000	12.0±2.6	14.7±5.5	27.3±8.5	81.3±8.1	4.7±2.5
	2-AAN	0.5	NT	NT	457.7±54.0	632.3±152.2	NT
	2-AAN	2	347.7±17.0	270.7±34.2	NT	NT	NT
	2-AAN	20	NT	NT	NT	NT	624.3±22.2

2-AAN: 2-Aminioanthracene; SD: Standard Deviation

2.6.7.17.5B　　BIA 9-1103 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）　　被験物質：BIA 9-1103

BIA 9-1103 Bacterial Reverse Mutation Assay continued			**Study No.:** 790474			**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-4]	
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Pre-Incubation Method - Mean Revertants Per Plate ± SD**				
			TA 1535	**TA 1537**	**TA 98**	**TA 100**	**WP2*uvr*A**
Without Activation	Vehicle (DMSO)	0	12.7±5.5	18.3±2.9	27.7±7.0	75.3±8.0	13.0±1.7
	BIA 9-1103	17	13.7±3.2	13.3±3.8	29.3±4.7	77.3±3.2	10.3±1.5
		50	17.3±0.6	15.7 ±3.2	25.7±4.0	89.0±3.0	11.0±4.0
		167	14.0±1.7	11.7±0.6	21.0±1.0	80.0±8.5	7.7±2.1
		500	13.3±2.5	15.7±5.1	24.0±13.0	76.7±3.2	13.0±2.0
		1667	14.0±2.6	11.7±3.1	21.3±3.8	73.7 ±7.5	9.7±2.5
		5000	11.7 ±0.6	9.3±3.5	27.0±0.0	65.0±13.1	11.3±4.0
	NaN_3	1	487.0±26.0	NT	NT	1074.3±36.3	NT
	9-AA	80	NT	3178.3±438.0	NT	NT	NT
	2-NF	1	NT	NT	573.3±50.6	NT	NT
	ENNG	2	NT	NT	NT	NT	183.0±20.0
With Activation	Vehicle (DMSO)	0	11.7±5.1	18.3±6.7	36.3±13.0	89.0±11.5	13.0±4.0
	BIA 9-1103	17	10.7±0.6	17.3±5.0	33.7±1.2	80.0±12.5	12.0±4.4
		50	11.7±1.5	12.3±4.2	34.3±8.1	86.0 ±4.0	12.0±5.6
		167	14.0±2.6	11.7±5.0	29.3±2.3	86.0±15.1	13.7±4.0
		500	15.3±4.6	12.7±2.1	35.3±4.5	94.3±3.2	17.0±1.0
		1667	11.3±1.5	13.3±4.2	30.7±4.0	69.7±2.9	10.0±5.0
		5000	12.3±1.2	15.0 ±3.5	28.7±0.6	79.0±9.8	10.0±4.6
	2-AAN	0.5	NT	NT	488.3±37.7	774.7±21.1	NT
	2-AAN	2	309.0±8.2	309.7±40.2	NT	NT	NT
	2-AAN	20	NT	NT	NT	NT	610.3±14.4

9-AA: 9-Aminoacridine; 2-AAN: 2-Aminioanthracene; ENNG: N-Ethyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine; NaN_3: Sodium azide; 2-NF: 2-Nitrofluorene;
SD: Standard Deviation

2.6.7.17.5C　　BIA 9-1079 の細菌を用いた復帰突然変異試験　　被験物質：BIA 9-1079

Report Title: BIA 9-1079: Testing for Mutagenic Activity with *Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 100, TA 1537 and TA 98 and *Escherichia coli* WP2*uvr*A				**Test Article:**	BIA 9-1079
Test for Induction of:	Reverse mutation	**No of Independent Assays:**	2 (plus toxicity test in TA 100 at 17-5000 µg/plate ±S9)[a]	**Study No:**	779969
Strains:	*Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 *Escherichia coli* WP2*uvr*A		**No of Replicate Cultures:** 3	**Location in CTD:**	[4.2.3.7.5-5]
Metabolising System:	Aroclor-1254 induced male Fischer rat liver S9 mix	**No of Cells Analysed/Culture:**	N/A	**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle: Test Article:	DMSO	**Vehicle: Positive Controls:**	DMSO (2-AAN, 9-AA, 2-NF, ENNG) water (NaN_3)		
Treatment:	Direct plate method and pre-incubation method		**Experimental start date:** [redacted] 20[redacted]		
Cytotoxic Effects:	Cytotoxicity was generally observed at the highest concentrations as a thinning of the background lawn of microcolonies.				
Genotoxic Effects:	No genotoxic activity was observed.				

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Direct Plate Method - Mean Revertants Per Plate ± SD**				
			TA 1535	**TA 1537**	**TA 98**	**TA 100**	**WP2*uvr*A**
Without Activation	Vehicle (DMSO)	0	13.7±1.2	11.0±1.0	16.3±0.6	89.0±10.4	5.7±2.9
	BIA 9-1079	1.7	19.0±4.6	7.3±3.2	23.0±2.6	76.0±13.9	9.3±2.9
		5	18.0±4.4	9.0±6.1	20.7±6.4	87.0±9.5	12.3±4.9
		17	21.3±4.6	9.7±3.2	21.3±4.5	81.7±8.7	8.7±1.5
		50	15.0±3.0	8.0±7.5	11.0±2.0	74.7±16.8	6.0±1.7
		167	16.7±4.7	3.7±1.5	8.0±1.7	46.7±11.2	10.3±1.2
		500	14.3±3.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	4.7±2.5
	NaN_3	1	222.3±26.7	NT	NT	663.0±58.6	NT
	9-AA	80	NT	2908.0±549.1	NT	NT	NT
	2-NF	1	NT	NT	1040.0±101.3	NT	NT
	ENNG	2	NT	NT	NT	NT	206.7±23.5

a: In the toxicity test without metabolic activation very thin lawn at 1667 µg/plate and lawn absent and not possible to enumerate revertant colonies due to precipitation at 5000 µg/plate, in the presence of metabolic activation thin lawn at 1667 µg/plate and very thin lawn with precipitation at 5000 µg/plate.

9-AA: 9-Aminoacridine; 2-AAN: 2-Aminioanthracene; ENNG: N-Ethyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine; NaN_3: Sodium azide; 2-NF: 2-Nitrofluorene;
SD: Standard Deviation

2.6.7.17.5C　　BIA 9-1079 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）　　被験物質：BIA 9-1079

BIA 9-1079 Bacterial Reverse Mutation Assay continued			**Study No.:** 779969				**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-5]
Metabolic Activation	**Test Article (Vehicle)**	**Concentration (µg/plate)**	**Direct Plate Method - Mean Revertants Per Plate ± SD**				
			TA 1535	**TA 1537**	**TA 98**	**TA 100**	**WP2*uvr*A**
With Activation	Vehicle (DMSO)	0	16.0±1.0	9.7±4.0	15.7±4.5	99.0±8.7	3.7±1.5
	BIA 9-1079	1.7	20.0±8.2	7.0±2.6	15.7±8.1	85.3±4.0	4.0±2.0
		5	12.3±6.0	7.0±0.0	22.3±5.9	84.3±10.1	5.3±0.6
		17	11.3±8.4	8.0±2.6	16.0±2.6	82.7±9.5	8.0±3.6
		50	16.0±8.9	8.7±1.5	15.0±5.0	80.3±6.8	7.7±2.1
		167	14.7±1.5	3.7±3.2	14.3±4.9	75.7±15.2	1.7±0.6
		500	9.7±3.1	1.7±2.1	1.0±0.0	3.3±2.3	0.0±0.0
	2-AAN	0.5	NT	NT	654.7±91.6	794.3±11.2	NT
	2-AAN	2	475.7±39.7	491.7±23.8	NT	NT	NT
	2-AAN	20	NT	NT	NT	NT	838.3±25.9

2-AAN: 2-Aminioanthracene; SD: Standard Deviation

2.6.7.17.5C　　BIA 9-1079 の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）　　被験物質：BIA 9-1079

BIA 9-1079 Bacterial Reverse Mutation Assay continued			**Study No.:** 779969			**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-5]	
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Pre-Incubation Method - Mean Revertants Per Plate ± SD**				
			TA 1535	**TA 1537**	**TA 98**	**TA 100**	**WP2*uvr*A**
Without Activation	Vehicle (DMSO)	0	21.0±7.2	10.7±3.8	28.0±3.6	89.0 ±16.5	7.7±1.2
	BIA 9-1079	1.7	19.7±2.3	12.7±2.1	23.7±5.0	94.7±10.0	10.3±2.1
		5	16.3±3.5	12.7 ±2.1	20.0±1.0	80.3±16.5	11.0±3.5
		17	16.0±3.6	11.7±4.5	19.7±5.0	68.7±2.3	8.3±6.1
		50	15.7±0.6	6.0±2.6	17.7±6.7	76.7±19.7	11.7±0.6
		167	15.0±1.7	9.3±2.3	17.3±5.1	92.0±13.5	7.3±2.1
		500	10.7±3.8	0.0±0.0	R	R	7.7±5.9
	NaN_3	1	449.3±22.2	NT	NT	1129.3±40.3	NT
	9-AA	80	NT	4149.0±69.9	NT	NT	NT
	2-NF	1	NT	NT	820.7±72.2	NT	NT
	ENNG	2	NT	NT	NT	NT	318.7±55.0
With Activation	Vehicle (DMSO)	0	17.7±2.3	21.7±7.8	32.0±12.8	89.3±13.9	8.0±1.0
	BIA 9-1079	1.7	24.0±3.6	13.3±10.5	39.3±9.3	98.3±9.7	7.3±3.5
		5	10.0±11.3	19.3±4.0	31.3±6.4	97.7±15.5	7.3±2.1
		17	17.0±7.2	23.3±2.9	29.3±2.3	92.3±10.0	5.3±2.3
		50	21.3±5.1	15.3±2.9	33.3±7.1	84.0±2.0	4.7±4.5
		167	19.0±2.6	5.0±0.0	32.0±3.6	82.3±12.4	1.3±1.5
		500	14.3±4.9	R	0.0±0.0	33.0±9.2	2.0±2.6
	2-AAN	0.5	NT	NT	471.0±8.5	394.3±20.1	NT
	2-AAN	2	338.7±6.0	261.7±30.7	NT	NT	NT
	2-AAN	20	NT	NT	NT	NT	873.3±6.1

9-AA: 9-Aminoacridine; 2-AAN: 2-Aminioanthracene; ENNG: N-Ethyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine; NaN_3: Sodium azide; 2-NF: 2-Nitrofluorene;
R: Not counted due to resistant colonies; SD: Standard Deviation

2.6.7.17.5D　　BIA 9-1103 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　　被験物質：BIA 9-1103

Report Title: BIA 9-1103: *In Vitro* Mammalian Chromosomal Aberration Test in Human Peripheral Lymphocyte Cultures					**Test Article:**	BIA 9-1103
Test for Induction of:	Chromosome aberrations	**No of Independent Assays:**	2		**Study No:**	790495
Strains:	Human peripheral lymphocyte cultures		**No of Replicate Cultures:**	2	**Location in CTD:**	[4.2.3.7.5-6]
Metabolising System:	Aroclor-1254 induced male Fischer rat liver S9 mix	**No of Cells Analysed/Culture:**	100		**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle: Test Article:	DMSO	**Vehicle: Positive Controls:**	DMSO (cyclophosphamide, mitomycin C)			
Treatment:	5 h treatment with metabolic activation and 5 h or 25 h in the absence of metabolic activation. Cultures were harvested at 29 h or 53 h (Test 2, absence metabolic activation) after treatment.		**Experimenalt start date:**		[redacted] 20[redacted]	
Cytotoxic Effects:	In Test 1, presence of S9 mix, toxicity was observed at 2500 µg/mL and above. There were no metaphase cells for assessment in the cultures treated at 5000 µg/mL. In the absence of S9 mix, toxicity in the form of reduced mitotic indices (< 50% of the vehicle control cultures) was observed in the cultures treated with 2500 µg/mL and above. There were no metaphase cells for assessment in the cultures treated with 5000 µg/mL. In Test 2, in the presence of S9 mix, toxicity in the form of reduced mitotic indices was observed in the cultures treated with 2500 µg/mL and above. There were no metaphase cells for assessment in the cultures treated with 5000 µg/mL. In the absence of S9 mix, 29 h harvest, toxicity in the form of reduced mitotic indices was observed in one of the duplicate cultures treated with 313 µg/mL and in all cultures treated with 625 µg/mL and above. The duplicate culture treated with 313 µg/mL had a lowered mitotic index of 51% of the vehicle control cultures. There were no metaphase cells for assessment in the cultures treated with 1250 µg/mL and above. In the 53 h harvest, toxicity from slide observations was noted in the cultures treated with 313 and 625 µg/mL. There were no metaphases for assessment in the cultures treated with 1250 µg/mL and above.					
Genotoxic Effects:	No evidence of clastogenic effect. An increase in the number of polyploidy cells was observed at the 53 h harvest time.					

2.6.7.17.5D　BIA 9-1103 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）　被験物質：BIA 9-1103

BIA 9-1103 Chromosome Aberrations Assay continued			**Study No.:** 790495				**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-6]		
Metabolic Activation	**Test 1: 5 h Treatment, 29 h Harvest**								
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**Total Cells Examined**	**Aberration Frequency**		**Aberrant Cell Frequency**			**Numerical Aberrations**
						Including Gaps		**Excluding Gaps**	**% Aneuploid Cells**
				Lesions/Cell	**Judge**	**%**	**Judge**	**%**	**Judge**
With Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.01	-	1	-	1	-	0
	BIA 9-1103	625	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		1250	100	0.01	-	1	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		2500	100	0.03	-	1	-	1	-	0
			100	0.05	+-	2	-	2	-	0
	Cyclophosphamide	20	100	0.11	+	7	+	5	+	0
		40	100	0.10	+	9	+	6	+	0
Without Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	BIA 9-1103	625	100	0.01	-	1	-	1	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		1250	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		2500	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.01	-	1	-	1	-	0
	Mitomycin C	0.6	100	0.14	+	9	+	9	+	2
		0.8	100	0.16	+	10	+	9	+	0

Judge: +: Positive aberration frequency, +-: Suspicious aberration frequency, -: Negative aberration frequency

2.6.7.17.5D　　BIA 9-1103 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）　　被験物質：BIA 9-1103

BIA 9-1103 Chromosome Aberrations Assay continued				**Study No.:** 790495						**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-6]
Metabolic Activation	**Test 2: 5 h Treatment, 29 h Harvest**									
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**Total Cells Examined**	**Aberration Frequency**		**Aberrant Cell Frequency**				**Numerical Aberrations**
						Including Gaps		**Excluding Gaps**		**% Aneuploid Cells**
				Lesions/Cell	**Judge**	**%**	**Judge**	**%**	**Judge**	
With Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	BIA 9-1103	625	100	0.00	-	0	-	0	-	2
			100	0.00	-	0	-	0	-	1
		1250	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.03	-	2	-	2	-	0
		2500	100	0.07	+	4	+-	2	-	1
			100	0.03	-	3	-	2	-	0
		3000	49[a]	0.37	+	12	+	10	+	0
			41[a]	0.56	+	24	+	24	+	0
	Cyclophosphamide	20	100	0.05	+-	4	+-	3	+-	0
		30	100	0.13	+	10	+	8	+	0
	Test 2: 25 h Treatment, 29 h Harvest									
Without Activation	DMSO	1%	100	0.01	-	1	-	1	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	BIA 9-1103	78	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		156	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		313	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		625	51[a]	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	Mitomycin C	0.15	100	0.02	-	1	-	1	-	0
		0.5	100	0.19	+	10	+	10	+	0

a: Reduced number of cells scored due to toxicity.
Judge: +: Positive aberration frequency, +-: Suspicious aberration frequency, -: Negative aberration frequency

BIA 9-1103 Chromosome Aberrations Assay continued			**Study No.:** 790495						**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-6]
Metabolic Activation	**Test 2: 25 h Treatment, 53 h Harvest**								
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**Total Cells Examined**	**Aberration Frequency**		**Aberrant Cell Frequency**			**Numerical Aberrations**
						Including Gaps		**Excluding Gaps**	**% Aneuploid Cells**
				Lesions/Cell	**Judge**	**%**	**Judge**	**%**	**Judge**
Without Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-
			100	0.00	-	0	-	0	-
	BIA 9-1103	156	100	0.00	-	0	-	0	-
			100	0.00	-	0	-	0	-
		313	100	0.00	-	0	-	0	-
			100	0.01	-	1	-	0	-
		625	100	0.00	-	0	-	0	-
			100	0.00	-	0	-	0	-
	Mitomycin C	0.15	100	0.07	+	5	+-	3	+-
		0.2	100	0.11	+	7	+	6	+

Metabolic Activation	**Test 2: 25 h Treatment, 53 h Harvest**						
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**No. of Diploid Cells**	**No. of Polyploid Cells**		**Frequency of Polyploid Cells**	**Judge**
				Normal	**Endoploid**		
Without Activation	DMSO	1%	300	0	1	0.33	-
			300	0	1	0.33	-
	BIA 9-1103	156	300	0	0	0	-
			300	0	2	0.66	-
		313	300	1	1	0.66	-
			300	0	1	0.33	-
		625	300	2	2	1.32	+
			300	0	1	0.33	-

Judge: +: Positive aberration frequency, +-: Suspicious aberration frequency, -: Negative aberration frequency

2.6.7.17.5E　　BIA 9-1079 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験　　被験物質：BIA 9-1079

Report Title: BIA 9-1079 Chromosomal Aberrations Assay With Human Peripheral Lymphocyte Cultures *In Vitro*					**Test Article:**	BIA 9-1079
Test for Induction of:	Chromosome aberrations	**No of Independent Assays:**	2		**Study No:**	779953
Strains:	Human peripheral lymphocyte cultures		**No of Replicate Cultures:**	2	**Location in CTD:**	[4.2.3.7.5-7]
Metabolising System:	Aroclor-1254 induced male Fischer rat liver S9 mix	**No of Cells Analysed/Culture:**	100		**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle: Test Article:	DMSO	**Vehicle: Positive Controls:**	DMSO (cyclophosphamide, mitomycin C)			
Treatment:	5 h treatment with metabolic activation and 5 h or 25 h in the absence of metabolic activation. Cultures were harvested at 29 h or 53 h (Test 2, absence metabolic activation) after treatment.		**Experimental start date:**		[redacted] 20[redacted]	
Cytotoxic Effects:	In Test 1 the highest concentration tested was 4000 µg/mL. In the presence of S9 mix, reduced mitotic indices (below 50% of the vehicle control cultures) noted in one culture treated with 125 µg/mL. The duplicate culture treated with 125 µg/mL had a lowered mitotic index (53% of the vehicle control). There were insufficient metaphases for assessment in cultures at 250 µg/mL and above. In the absence of S9 mix, reduced mitotic indices and culture observations were seen at 250 µg/mL. There were no metaphase cells available for assessment in cultures treated with 500 µg/mL and above. In Test 2 the highest concentration tested was 250 µg/mL. In the presence of S9 mix, reduced mitotic indices noted in one culture treated with 94 µg/mL. The duplicate culture treated with 94 µg/mL had a lowered mitotic index (50% of the vehicle control). There were insufficient metaphases for assessment in cultures at 125 µg/mL and above. In the absence of S9 mix, 29 h harvest, reduced mitotic indices were noted in the cultures at 31 µg/mL. There were insufficient metaphases for assessment in cultures treated with 63 µg/mL and above. In the absence of S9 mix, 53 h harvest, there were no metaphase cells for assessment in cultures treated with 63 µg/mL and above.					
Genotoxic Effects:	No evidence of clastogenic effect.					

2.6.7.17.5E　BIA 9-1079 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）　被験物質：BIA 9-1079

BIA 9-1079 Chromosome Aberrations Assay continued				**Study No.:** 779953						**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-7]
Metabolic Activation	**Test 1: 5 h Treatment, 29 h Harvest**									
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**Total Cells Examined**	**Aberration Frequency**		**Aberrant Cell Frequency**				**Numerical Aberrations**
						Including Gaps		**Excluding Gaps**		**% Aneuploid Cells**
				Lesions/Cell	**Judge**	**%**	**Judge**	**%**	**Judge**	
With Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-	3
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	BIA 9-1079	31	100	0.00	-	0	-	0	-	1
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		63	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.02	-	2	-	2	-	0
		125	100	0.02	-	2	-	0	-	2
			100	0.03	-	3	-	2	-	5
	Cyclophosphamide	20	100	0.25	+	16	+	11	+	6
		40	100	0.29	+	16	+	10	+	6
Without Activation	DMSO	1%	100	0.01	-	1	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	BIA 9-1079	63	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.01	-	1	-	1	-	0
		125	100	0.03	-	2	-	2	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		250	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.01	-	1	-	1	-	0
	Mitomycin C	0.7	100	0.31	+	22	+	19	+	0
		0.8	100	0.22	+	13	+	12	+	0

Judge: +: Positive aberration frequency, -: Negative aberration frequency

2.6.7.17.5E　BIA 9-1079 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）　被験物質：BIA 9-1079

BIA 9-1079 Chromosome Aberrations Assay continued				**Study No.:** 779953						**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-7]
Metabolic Activation	**Test 2: 5 h Treatment, 29 h Harvest**									
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**Total Cells Examined**	**Aberration Frequency**		**Aberrant Cell Frequency**				**Numerical Aberrations**
						Including Gaps		**Excluding Gaps**		**% Aneuploid Cells**
				Lesions/Cell	**Judge**	**%**	**Judge**	**%**	**Judge**	
With Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	BIA 9-1079	31	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	1
		63	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.01	-	1	-	0	-	1
		94	100	0.00	-	0	-	0	-	1
			100	0.03	-	3	-	1	-	0
	Cyclophosphamide	20	100	0.15	+	11	+	7	+	0
		40	53	0.19	+	11	+	11	+	2
	Test 2: 25 h Treatment, 29 h Harvest									
Without Activation	DMSO	1%	100	0.01	-	1	-	1	-	1
			100	0.00	-	0	-	0	-	1
	BIA 9-1079	8	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		16	100	0.01	-	1	-	1	-	1
			100	0.01	-	1	-	1	-	0
		31	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.01	-	1	-	1	-	2
	Mitomycin C	0.15	100	0.06	+-	4	+-	3	+-	1
		0.5	100	0.18	+	11	+	9	+	0

Judge: +: Positive aberration frequency, +-: Suspicious aberration frequency, -: Negative aberration frequency

2.6.7.17.5E　BIA 9-1079 のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）　被験物質：BIA 9-1079

BIA 9-1079 Chromosome Aberrations Assay continued				**Study No.:** 779953						**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-7]
Metabolic Activation	**Test 2: 25 h Treatment, 53 h Harvest**									
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**Total Cells Examined**	**Aberration Frequency**		**Aberrant Cell Frequency**				**Numerical Aberrations**
						Including Gaps		**Excluding Gaps**		**% Aneuploid Cells**
				Lesions/Cell	**Judge**	**%**	**Judge**	**%**	**Judge**	
Without Activation	DMSO	1%	100	0.00	-	0	-	0	-	1
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	BIA 9-1079	8	100	0.00	-	0	-	0	-	1
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		16	100	0.00	-	0	-	0	-	0
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
		31	100	0.00	-	0	-	0	-	1
			100	0.00	-	0	-	0	-	0
	Mitomycin C	0.1	100	0.09	+	5	+-	4	+-	0
		0.15	100	0.31	+	15	+	14	+	0

Metabolic Activation	**Test 2: 25 h Treatment, 53 h Harvest**						
	Test Article	**Concentration (µg/mL)**	**No. of Diploid Cells**	**No. of Polyploid Cells**		**Frequency of Polyploid Cells**	**Judge**
				Normal	**Endoploid**		
Without Activation	DMSO	1%	300	1	0	0.33	-
			300	2	0	0.66	-
	BIA 9-1079	8	300	0	0	0	-
			300	1	0	0.33	-
		16	300	2	0	0.66	-
			300	2	1	0.99	+-
		31	300	0	0	0	-
			300	1	0	0.33	-

Judge: +: Positive aberration frequency, +-: Suspicious aberration frequency, -: Negative aberration frequency

2.6.7.17.5F　　BIA 9-1079 のマウスを用いた小核試験　　**被験物質**：BIA 9-1079

Report Title: BIA 9-1079: Micronucleus Test in Bone Marrow Cells of CD-1 Mice: 0 h + 24 h Oral Dosing and 48 h Sampling With Toxicokinetic Blood Sampling					**Test Article:**	BIA 9-1079
Test for Induction of:	Micronuclei	**Treatment Schedule:**	Dosing at 0 and 24 h		**Study No:**	783886
Species/Strain:	Mouse/CD-1	**Sampling Time:**	24 h after 2nd dose / 48 h after 1st dose		**Location in CTD:**	[4.2.3.7.5-8]
Age:	6-7 weeks at commencement of dosing		**Method of Administration:**	Oral (gavage)	**GLP Compliance:**	Yes
Cells Evaluated:	Bone marrow erythrocytes	**Vehicle/Formulation:**	1% methylcellulose for BIA 9-1079; distilled water for cyclophosphamide			
No of Cells Analysed/Animal:	At least 2000		**Date of Dosing:**		[redacted] 20[redacted]	
Feeding Condition:	Fasted *ca* 2-4 h prior to dosing and 1-2 h after dosing.					
Toxic/Cytotoxic Effects:	One dose ranging toxicity study conducted. Mice of both sexes received a single oral dose of 2000 mg/kg BIA 9-1079. One female was sacrificed moribund; this animal exhibited tremors, hunched posture, laboured breathing, staggering, subdued behaviour, piloerection, right eye closed, thinness, increased breathing rate and paleness.					
Genotoxic Effects:	No significant increase in micronuclei.					
Evidence of Exposure:	TK were conducted in satellite animals orally dosed at 2000 mg/kg BIA 9-1079 at 0 and 24 h. Samples were taken 0.5 h, 1 h and 2 h after the second dose. Plasma concentrations of BIA 901079 are given below. The presence of BIA 9-1079 in plasma demonstrates proof of animal exposure to the test article.					

Gender / Sample Time	**Plasma Concentration (µg/mL)**		
	BIA 9-1079		
	24 h + 0.5 h	**24 h + 1 h**	**24 h + 2 h**
Male	74.80	44.97	26.20
Female	62.47	36.20	60.65

2.6.7.17.5F　　BIA 9-1079 のマウスを用いた小核試験（続き）　　被験物質：BIA 9-1079

BIA 9-1079 Micronucleus Test continued				**Study No.:** 783886			**Location in CTD:** [4.2.3.7.5-8]		
Test Article	**Dose (mg/kg/day)**	**Time of Dosing (h)**	**Gender**	**No. of Rats Scored**	**Erythrocytes**				
					Normochromatic Cells (NCE)	**Polychromatic Cells (PCE)**			**PCE/NCE Mean ± SD**
					No. of MN-NCE	**PCE Analysed**	**No. of MN-PCE**	**% MN-PCE**	
1% Methylcellulose (20 mL/kg)	-	0, 24	M	5	5	10011	1	0.01	0.87±0.13
			F	5	4	10005	3	0.03	0.90±0.10
			M/F	10	9	20016	4	0.02	0.89±0.11
BIA 9-1079	500	0, 24	M	4[a]	3	8002	1	0.01	0.80±0.04
	1000	0, 24	M	4[a]	3	8004	1	0.01	0.74±0.13
	2000[b]	0, 24	M	5	6	10005	2	0.02	0.82±0.06
			F	5	2	10006	3	0.03	0.83±0.07
			M/F	10	8	20011	5	0.02	0.82±0.06
Cyclophosphamide	50	0, 24	M	5	36[c]	10003	88[d]	0.88	0.73±0.07

MN: Micronucleated; NCE: Normochromatic erythrocytes; PCE: Polychromatic erythrocytes; PCE/NCE: Ratio of polychromatic erythrocytes to normochromatic erythrocytes; SD: Standard Deviation

a: One animal found dead.

b: Two animals found dead and were replaced.

c: Evident response in NCE.

d: Positive response in PCE.

2.6.7.17.6 **不純物の毒性試験**

2.6.7.17.6A **不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験**

Type of Study	Species / Strain	Test Article	Method of Admin.	Concentration (µg/plate)	Duration of Dosing	No. of Tests	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Bacterial reverse mutation assay (Screening)	*S. typhimurium* and *E. coli*[a]	不純物 A*	*In vitro*	0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 A* considered to be negative for mutagenic activity.	789762 [4.2.3.7.6-1]
		不純物 B*	*In vitro*	0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	Mutagenic activity was detected in TA 100 in the presence of S9 mix at 100 µg/plate (1.6-fold increase) and 200 µg/plate (1.6-fold increase). These concentrations extended into the toxic range. A confirmatory test was conducted with TA 100 in the presence of S9 mix. Mutagenic activity was detected from 50 µg/plate (1.7-fold increase) to 200 µg/plate (2.5-fold increase).	
		不純物 C*	*In vitro*	0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 C* considered to be negative for mutagenic activity.	
		不純物 D*	*In vitro*	0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	Mutagenic activity was detected in TA 100 in the absence and presence of S9 mix. The response ranged from 1.5-fold at 50 µg/plate in the presence of S9 mix, to 4.9-fold at 1667 µg/plate in the presence of S9 mix. Mutagenic activity was detected in the presence of S9 mix with TA 1537: 2.0-fold at 500 µg/plate and 2.3-fold at 1667 µg/plate. The responses with TA 100 at 1667 µg/plate in the absence of S9 mix and with TA 1537 at 1667 µg/plate in the presence of S9 mix were obtained at toxic concentrations.	

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1537) and *Escherichia coli* WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in TA 1537 and TA 98 and *E. coli* WP2*uvr*A. With higher spontaneous values, a 1.5-fold increase was considered evidence of activity in strain TA 100.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6A　　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Type of Study	Species / Strain	Test Article	Method of Admin.	Concentration (µg/plate)	Duration of Dosing	No. of Tests	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Bacterial reverse mutation assay (Screening)	*S. typhimurium* and *E. coli*[a]	不純物 S*	*In vitro*	S9 Mix: 0, 0.3, 1, 3.3, 10, 33.3, 100 +S9 Mix: 0, 1, 3.3, 10, 33.3, 100, 333.3	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 S* considered to be negative for mutagenic activity.	789762 [4.2.3.7.6-1]
		不純物 T*	*In vitro*	0, 7.5, 25, 75, 250, 750, 2500	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 T* considered to be negative for mutagenic activity.	
		不純物 U*	*In vitro*	0, 3.3, 10, 33.3, 100, 333.3, 1000	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 U* considered to be negative for mutagenic activity.	
		不純物 V*	*In vitro*	0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 V* considered to be negative for mutagenic activity.	
		不純物 O*	*In vitro*	0, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 O* considered to be negative for mutagenic activity.	790673 [4.2.3.7.6-2]
		BIA 9-1100	*In vitro*	0, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; BIA 9-1100 considered to be negative for mutagenic activity.	
		BIA 9-1101	*In vitro*	0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; BIA 9-1101 considered to be negative for mutagenic activity.	
		不純物 P*	*In vitro*	0, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 P* considered to be negative for mutagenic activity.	
		不純物 Q*	*In vitro*	0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 Q* considered to be negative for mutagenic activity.	
		不純物 R*	*In vitro*	-S9 Mix: 0, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000 +S9 Mix: 0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667	2 to 3 days exposure	1 test (in duplicate)	None; 不純物 R* considered to be negative for mutagenic activity.	

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1537) and *Escherichia coli* WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in TA 1537 and TA 98 and *E. coli* WP2*uvr*A. With higher spontaneous values, a 1.5-fold increase was considered evidence of activity in strain TA 100.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6A　　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

<table>
<tr><th>Type of Study</th><th>Species / Strain</th><th>Test Article</th><th>Method of Admin.</th><th>Concen-tration (µg/plate)</th><th>Duration of Dosing</th><th>No. of Tests</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td rowspan="3">Bacterial reverse mutation assay</td><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物A*</td><td>In vitro</td><td>1st: 0, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000
2nd: 1.7, 5, 17, 50, 167, 500</td><td>3 days exposure</td><td>2 tests (in triplicate)</td><td>None;　不純物A*　considered to be negative for mutagenic activity.</td><td>791462
[4.2.3.7.6-3]</td></tr>
<tr><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物B*</td><td>In vitro</td><td>0, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400</td><td>3 days exposure</td><td>2 tests (in triplicate)</td><td>Mutagenic response observed in TA 100 in the absence and presence of S9 mix.
Result of mutation test in TA 100:
<table>
<tr><th></th><th colspan="6">Ratio in revertants: Treated/Solvent</th></tr>
<tr><th></th><th colspan="2">1st test</th><th colspan="2">2nd test</th><th colspan="2">Repeated test[a]</th></tr>
<tr><th>Conc.</th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th><th>+S9</th></tr>
<tr><td>12.5</td><td>1.0</td><td>1.3</td><td>1.4</td><td>1.1</td><td>0.8</td><td>1.0</td></tr>
<tr><td>25</td><td>1.2</td><td>1.6</td><td>1.5</td><td>1.3</td><td>0.5</td><td>1.0</td></tr>
<tr><td>50</td><td>1.4</td><td>2.0</td><td>1.9</td><td>1.8</td><td>0.7</td><td>0.9</td></tr>
<tr><td>100</td><td>1.7</td><td>2.1</td><td>2.3</td><td>2.0</td><td>0.6</td><td>1.1</td></tr>
<tr><td>200</td><td>2.1</td><td>2.6</td><td>2.3</td><td>2.4</td><td>0.8</td><td>1.2</td></tr>
<tr><td>400</td><td>2.6</td><td>3.8</td><td>-</td><td>3.2</td><td>0.6</td><td>1.6</td></tr>
</table>
Conc.: Concentration (µg/plate)
-S9: absence of S9 mix, +S9: presence of S9 mix
a: Mutation test in TA 1535</td><td>791420
[4.2.3.7.6-4]</td></tr>
<tr><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物C*</td><td>In vitro</td><td>0, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000</td><td>3 days exposure</td><td>2 tests (in triplicate)</td><td>None;　不純物C*　considered to be negative for mutagenic activity.</td><td>791483
[4.2.3.7.6-5]</td></tr>
</table>

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) and *Escherichia* coli WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in TA 1535, TA 1537 and TA 98 and *E. coli* WP2*uvr*A. With higher spontaneous values, a 1.5-fold increase was considered evidence of activity in strain TA 100.

2.6.7.17.6A　　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

<table>
<tr><th>Type of Study</th><th>Species / Strain</th><th>Test Article</th><th>Method of Admin.</th><th>Concen-tration (µg/plate)</th><th>Duration of Dosing</th><th>No. of Tests</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Bacterial reverse mutation assay</td><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物 D*</td><td>In vitro</td><td>0, 3.3, 10, 33.3, 100, 333.3, 1000, 3333.3</td><td>3 days exposure</td><td>2 tests (in triplicate)</td><td>Mutagenic response observed in TA 100 in the absence and presence of S9 mix.
Result of mutation test in TA 100:
<table>
<tr><th rowspan="2">Conc.</th><th colspan="4">Ratio in revertants: Treated/Solvent</th></tr>
<tr><th colspan="2">1st test</th><th colspan="2">2nd test</th></tr>
<tr><th></th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th><th>+S9</th></tr>
<tr><td>3.3</td><td>1.3</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td></tr>
<tr><td>10</td><td>1.2</td><td>1.2</td><td>1.3</td><td>1.1</td></tr>
<tr><td>33.3</td><td>1.5</td><td>1.4</td><td>1.6</td><td>1.5</td></tr>
<tr><td>100</td><td>2.3</td><td>1.9</td><td>2.2</td><td>2.0</td></tr>
<tr><td>333.3</td><td>2.6</td><td>3.2</td><td>3.1</td><td>3.3</td></tr>
<tr><td>1000</td><td>4.1</td><td>4.1</td><td>4.1</td><td>4.5</td></tr>
<tr><td>3333.3</td><td>-</td><td>4.5</td><td>2.7</td><td>5.0</td></tr>
</table>
Conc.: Concentration (µg/plate)
-S9: absence of S9 mix, +S9: presence of S9 mix</td><td>791441 [4.2.3.7.6-6]</td></tr>
</table>

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) and *Escherichia* coli WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in TA 1535, TA 1537 and TA 98 and *E. coli* WP2*uvr*A. With higher spontaneous values, a 1.5-fold increase was considered evidence of activity in strain TA 100.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6A　　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

<table>
<tr><th>Type of Study</th><th>Species / Strain</th><th>Test Article</th><th>Method of Admin.</th><th>Concen-tration (µg/plate)</th><th>Duration of Dosing</th><th>No. of Tests</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td rowspan="3">Bacterial reverse mutation assay</td><td>S. typhimurium and E. coli [a]</td><td>不純物E*</td><td>In vitro</td><td>0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000</td><td>3 days exposure</td><td>1 tests (in triplicate)</td><td>Mutagenic response observed in TA 100 in the absence and presence of S9 mix.
Result of mutation test in TA 100:
<table>
<tr><th></th><th colspan="2">Ratio in revertants: Treated/Solvent</th></tr>
<tr><th>Conc.</th><th>-S9</th><th>+S9</th></tr>
<tr><td>5</td><td>1.1</td><td>1.0</td></tr>
<tr><td>17</td><td>1.1</td><td>1.1</td></tr>
<tr><td>50</td><td>1.4</td><td>1.1</td></tr>
<tr><td>167</td><td>1.7</td><td>1.5</td></tr>
<tr><td>500</td><td>3.0</td><td>1.8</td></tr>
<tr><td>1667</td><td>4.7</td><td>2.8</td></tr>
<tr><td>5000</td><td>4.9</td><td>2.7</td></tr>
</table>
Conc.: Concentration (µg/plate)
-S9: absence of S9 mix, +S9: presence of S9 mix</td><td>796743 [4.2.3.7.6-7]</td></tr>
<tr><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物F*</td><td>In vitro</td><td>0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000</td><td>3 days exposure</td><td>1 tests (in triplicate)</td><td>None;　不純物F*　considered to be negative for mutagenic activity.</td><td>796680 [4.2.3.7.6-8]</td></tr>
<tr><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物G*</td><td>In vitro</td><td>0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000</td><td>3 days exposure</td><td>1 tests (in triplicate)</td><td>None;　不純物G*　considered to be negative for mutagenic activity.</td><td>796633 [4.2.3.7.6-9]</td></tr>
</table>

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) and *Escherichia* coli WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in all strains.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6A　　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

<table>
<tr><th>Type of Study</th><th>Species / Strain</th><th>Test Article</th><th>Method of Admin.</th><th>Concen-tration (µg/plate)</th><th>Duration of Dosing</th><th>No. of Tests</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Bacterial reverse mutation assay</td><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物 H*</td><td>In vitro</td><td>0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000</td><td>3 days exposure</td><td>1 tests (in triplicate)</td><td>Mutagenic response observed in all strains in the absence and presence of S9 mix.
Result of mutation test:
<table>
<tr><th></th><th colspan="6">Ratio in revertants: Treated/Solvent</th></tr>
<tr><th></th><th colspan="2">TA 98</th><th colspan="2">TA 100</th><th colspan="2">TA 1535</th></tr>
<tr><th>Conc.</th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th><th>+S9</th></tr>
<tr><td>5</td><td>1.1</td><td>1.2</td><td>1.3</td><td>0.9</td><td>1.0</td><td>0.8</td></tr>
<tr><td>17</td><td>1.4</td><td>1.1</td><td>1.4</td><td>1.0</td><td>0.8</td><td>1.1</td></tr>
<tr><td>50</td><td>3.0</td><td>1.6</td><td>2.8</td><td>1.5</td><td>1.4</td><td>1.1</td></tr>
<tr><td>167</td><td>9.0</td><td>3.0</td><td>9.9</td><td>4.4</td><td>2.2</td><td>2.4</td></tr>
<tr><td>500</td><td>21.5</td><td>8.6</td><td>26.0</td><td>11.8</td><td>6.9</td><td>5.5</td></tr>
<tr><td>1667</td><td>40.5</td><td>23.3</td><td>47.8</td><td>28.7</td><td>8.6</td><td>10.0</td></tr>
<tr><td>5000</td><td>52.8</td><td>38.7</td><td>4.2</td><td>12.0</td><td>13.9</td><td>15.5</td></tr>
</table>
<table>
<tr><th></th><th colspan="4">Ratio in revertants: Treated/Solvent</th></tr>
<tr><th></th><th colspan="2">TA 1537</th><th colspan="2">WP2uvrA</th></tr>
<tr><th>Conc.</th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th><th>+S9</th></tr>
<tr><td>5</td><td>1.1</td><td>1.2</td><td>1.1</td><td>1.6</td></tr>
<tr><td>17</td><td>1.9</td><td>0.9</td><td>1.1</td><td>1.3</td></tr>
<tr><td>50</td><td>3.6</td><td>1.0</td><td>1.4</td><td>0.8</td></tr>
<tr><td>167</td><td>12.5</td><td>2.7</td><td>1.5</td><td>1.4</td></tr>
<tr><td>500</td><td>28.2</td><td>9.5</td><td>2.5</td><td>2.0</td></tr>
<tr><td>1667</td><td>37.2</td><td>19.5</td><td>2.9</td><td>2.3</td></tr>
<tr><td>5000</td><td>7.6</td><td>1.3</td><td>6.4</td><td>4.6</td></tr>
</table>
Conc.: Concentration (µg/plate), -S9: absence of S9 mix, +S9: presence of S9 mix</td><td>796649 [4.2.3.7.6-10]</td></tr>
</table>

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) and *Escherichia* coli WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in all strains.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6A　　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

Type of Study	Species / Strain	Test Article	Method of Admin.	Concen-tration (µg/plate)	Duration of Dosing	No. of Tests	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Bacterial reverse mutation assay	*S. typhimurium* and *E. coli*[a]	不純物I*	*In vitro*	0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000	3 days exposure	1 tests (in triplicate)	Mutagenic response observed in WP2*uvr*A in the presence of S9 mix. Result of mutation test in WP2*uvr*A: Ratio in revertants: Treated/Solvent Conc. / +S9 5 / 1.2 17 / 1.8 50 / 2.4 167 / 2.9 500 / 2.1 1667 / 1.1 5000 / 1.7 Conc.: Concentration (µg/plate) +S9: presence of S9 mix	796675 [4.2.3.7.6-11]
	S. typhimurium and *E. coli*[a]	不純物J*	*In vitro*	0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000	3 days exposure	1 tests (in triplicate)	None; 不純物J* considered to be negative for mutagenic activity.	796701 [4.2.3.7.6-12]
	S. typhimurium and *E. coli*[a]	不純物K*	*In vitro*	0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000	3 days exposure	1 tests (in triplicate)	None; 不純物K* considered to be negative for mutagenic activity.	796717 [4.2.3.7.6-13]

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) and *Escherichia* coli WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in all strains.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6A　　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

<table>
<tr><th>Type of Study</th><th>Species / Strain</th><th>Test Article</th><th>Method of Admin.</th><th>Concen-tration (µg/plate)</th><th>Duration of Dosing</th><th>No. of Tests</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Bacterial reverse mutation assay</td><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物L*</td><td>In vitro</td><td>0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000</td><td>3 days exposure</td><td>1 tests (in triplicate)</td><td>Mutagenic response observed in TA 98, TA 100, TA 1537 in the abesence of S9 mix, and TA 98 and TA 100 in the presence of S9 mix.
Result of mutation test:
<table>
<tr><th></th><th colspan="5">Ratio in revertants: Treated/Solvent</th></tr>
<tr><th></th><th colspan="2">TA 98</th><th colspan="2">TA 100</th><th>TA 1537</th></tr>
<tr><th>Conc.</th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th></tr>
<tr><td>5</td><td>1.2</td><td>1.1</td><td>0.9</td><td>0.9</td><td>1.0</td></tr>
<tr><td>17</td><td>1.1</td><td>0.8</td><td>1.0</td><td>0.9</td><td>0.7</td></tr>
<tr><td>50</td><td>1.3</td><td>1.3</td><td>1.0</td><td>1.1</td><td>1.1</td></tr>
<tr><td>167</td><td>2.0</td><td>1.2</td><td>1.2</td><td>1.1</td><td>1.9</td></tr>
<tr><td>500</td><td>2.8</td><td>1.3</td><td>1.9</td><td>1.8</td><td>2.0</td></tr>
<tr><td>1667</td><td>4.5</td><td>2.2</td><td>4.0</td><td>3.8</td><td>2.8</td></tr>
<tr><td>5000</td><td>0.1</td><td>0.0</td><td>0.0</td><td>0.0</td><td>0.3</td></tr>
</table>
Conc.: Concentration (µg/plate)
-S9: absence of S9 mix, +S9: presence of S9 mix</td><td>796722 [4.2.3.7.6-14]</td></tr>
<tr><td></td><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物L*</td><td>In vitro</td><td>0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000</td><td>3 days exposure</td><td>1 tests (in triplicate)</td><td>None;　不純物L*　considered to be negative for mutagenic activity.

In bacterial reverse mutation assay, positive result was showed in previous study (Study No.796722 [4.2.3.7.6-14], solvent: DMSO). On the other hand, negative result was indicated in this study using acetone as solvent.
It is considered that false positive for mutagenicity was caused by chemical reaction with　不純物L*　as carboxylic acid halide and DMSO ([3.2.S.3.2 （[redacted]）, 3.2.S.3.2 （[redacted]）]).</td><td>798117 [4.2.3.7.6-15]</td></tr>
</table>

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) and *Escherichia* coli WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in all strains.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6A　　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

<table>
<tr><th>Type of Study</th><th>Species / Strain</th><th>Test Article</th><th>Method of Admin.</th><th>Concen-tration (µg/plate)</th><th>Duration of Dosing</th><th>No. of Tests</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Bacterial reverse mutation assay</td><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物 M*</td><td>In vitro</td><td>0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000</td><td>3 days exposure</td><td>1 tests (in triplicate)</td><td>Mutagenic response observed in TA 100 in the abesence and presence of S9 mix., and WP2uvrA in the presence of S9 mix.
Result of mutation test:
<table>
<tr><th></th><th colspan="3">Ratio in revertants: Treated/Solvent</th></tr>
<tr><th></th><th colspan="2">TA 100</th><th>WP2uvrA</th></tr>
<tr><th>Conc.</th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th></tr>
<tr><td>5</td><td>1.0</td><td>1.1</td><td>-</td></tr>
<tr><td>17</td><td>1.3</td><td>1.0</td><td>1.0</td></tr>
<tr><td>50</td><td>1.7</td><td>1.3</td><td>1.4</td></tr>
<tr><td>167</td><td>3.2</td><td>2.2</td><td>0.6</td></tr>
<tr><td>500</td><td>3.0</td><td>4.7</td><td>0.6</td></tr>
<tr><td>1667</td><td>4.5</td><td>4.0</td><td>1.0</td></tr>
<tr><td>5000</td><td>0.0</td><td>0.0</td><td>0.0</td></tr>
</table>
Conc.: Concentration (µg/plate)
-S9: absence of S9 mix, +S9: presence of S9 mix</td><td>796738 [4.2.3.7.6-16]</td></tr>
</table>

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) and *Escherichia* coli WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in all strains.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6A　　不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

<table>
<tr><th>Type of Study</th><th>Species / Strain</th><th>Test Article</th><th>Method of Admin.</th><th>Concen-tration (µg/plate)</th><th>Duration of Dosing</th><th>No. of Tests</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Bacterial reverse mutation assay</td><td>S. typhimurium and E. coli[a]</td><td>不純物 N*</td><td>In vitro</td><td>0, 5, 17, 50, 167, 500, 1667, 5000</td><td>3 days exposure</td><td>1 tests (in triplicate)</td><td>Mutagenic response observed in TA 100 and TA 1535 in the abesence and presence of S9 mix., and TA 98, TA 1537 and WP2uvrA in the presence of S9 mix.
Result of mutation test:
<table>
<tr><th></th><th colspan="4">Ratio in revertants: Treated/Solvent</th></tr>
<tr><th></th><th colspan="2">TA 100</th><th colspan="2">TA 1535</th></tr>
<tr><th>Conc.</th><th>-S9</th><th>+S9</th><th>-S9</th><th>+S9</th></tr>
<tr><td>5</td><td>1.3</td><td>1.0</td><td>1.2</td><td>1.0</td></tr>
<tr><td>17</td><td>1.3</td><td>1.0</td><td>1.4</td><td>0.9</td></tr>
<tr><td>50</td><td>1.8</td><td>1.1</td><td>2.0</td><td>0.7</td></tr>
<tr><td>167</td><td>2.8</td><td>1.7</td><td>1.8</td><td>1.4</td></tr>
<tr><td>500</td><td>4.9</td><td>2.6</td><td>3.0</td><td>1.2</td></tr>
<tr><td>1667</td><td>10.1</td><td>5.5</td><td>3.7</td><td>2.1</td></tr>
<tr><td>5000</td><td>1.8</td><td>0.0</td><td>4.1</td><td>2.8</td></tr>
</table>
<table>
<tr><th></th><th colspan="3">Ratio in revertants: Treated/Solvent</th></tr>
<tr><th></th><th>TA 98</th><th>TA 1537</th><th>WP2uvrA</th></tr>
<tr><th>Conc.</th><th>-S9</th><th>-S9</th><th>-S9</th></tr>
<tr><td>5</td><td>1.0</td><td>0.9</td><td>1.2</td></tr>
<tr><td>17</td><td>1.2</td><td>1.3</td><td>1.0</td></tr>
<tr><td>50</td><td>1.4</td><td>1.2</td><td>0.8</td></tr>
<tr><td>167</td><td>2.2</td><td>2.6</td><td>1.5</td></tr>
<tr><td>500</td><td>2.5</td><td>3.1</td><td>1.1</td></tr>
<tr><td>1667</td><td>3.9</td><td>3.4</td><td>2.4</td></tr>
<tr><td>5000</td><td>0.0</td><td>0.2</td><td>2.2</td></tr>
</table>
Conc.: Concentration (µg/plate)
-S9: absence of S9 mix, +S9: presence of S9 mix</td><td>796654 [4.2.3.7.6-17]</td></tr>
</table>

a: *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) and *Escherichia* coli WP2*uvr*A. A doubling in the vehicle control mean value was considered evidence of mutagenic activity in all strains.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6B　　不純物のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

Type of Study	Species / Strain	Test Article	Method of Admin.	Concentration (µg/mL)	Duration of Dosing	No. of Tests	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Chromosome Aberration Assay	Human peripheral lymphocyte cultures	不純物A*	*In vitro*	Test 1: 54-215 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 27-215 µg/mL (5 h (29 h harvest) -S9) Test 2: 50-400 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 25-250 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 12.5-50 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest) -S9)	5 h (±S9) 5 h (+S9) 25 h (-S9)	2 tests	None; 不純物A* was not clastogenic when tested with human peripheral lymphocyte cells *in vitro*.	791467 [4.2.3.7.6-18]
	Human peripheral lymphocyte cultures	不純物B*	*In vitro*	Test 1: 26-104 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 52-208 µg/mL (5 h (29 h harvest) -S9) Test 2: 150-200 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 50-150 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 50-150 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest) -S9)	5 h (±S9) 5 h (+S9) 25 h (-S9)	2 tests	None; 不純物B* was not clastogenic when tested with human peripheral lymphocyte cells *in vitro*, but induced an increase in polyploidy in the absence of S9 mix in cultures harvested 53 h post treatment.	791436 [4.2.3.7.6-19]
	Human peripheral lymphocyte cultures	不純物C*	*In vitro*	Test 1: 111-446 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 56-446 µg/mL (5 h (29 h harvest) -S9) Test 2: 111-446 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 111-446 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 111-446 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest) -S9)	5 h (±S9) 5 h (+S9) 25 h (-S9)	2 tests	None; 不純物C* was not clastogenic when tested with human peripheral lymphocyte cells *in vitro*.	791488 [4.2.3.7.6-20]
	Human peripheral lymphocyte cultures	不純物D*	*In vitro*	Test 1: 54-216 µg/mL (5 h (29 h harvest) ±S9) Test 2: 200-250 µg/mL (5 h (29 h harvest) +S9) 100-200 µg/mL (25 h (29 h harvest) -S9) 100-200 µg/mL (25 h (29 h and 53 h harvest) -S9)	5h(±S9) 5 h (+S9) 25 h (-S9)	2 tests	None; 不純物D* was not clastogenic when tested with human peripheral lymphocyte cells *in vitro*. One of the duplicate cultures treated with 200 µg/mL in the absence of S9 mix in cultures harvested 53 h post treatment, had an increase in polyploidy.	791446 [4.2.3.7.6-21]

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6C　　不純物のマウスを用いた小核試験

<table>
<tr><th>Type of Study</th><th>Species / Strain</th><th>Test Article</th><th>Method of Admin.</th><th>Dose (mg/kg)</th><th>Duration of Dosing</th><th>No. of Tests</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Micronucleus test</td><td>Mouse, Crl:CD-1</td><td>不純物B*</td><td>Oral (gavage)</td><td>Toxicity dose range-finding study: 1000, 2000

Main study: 0, 500, 1000, 2000</td><td>2 days (0 and 24 h)</td><td>1</td><td>None; 不純物B* did not induce micronuclei in bone marrow cells.
Gasping was observed in one female at 2000 mg/kg in the dose range finding tests. No abnormal clinical signs were observed in main study.
Satellite groups of animals were dosed with 不純物B* to determine plasma concentrations; the presence of 不純物B* in the plasma demonstrated proof of exposure to the test article.
Toxicokinetics at 2000 mg/kg:
<table>
<tr><td>Gender / Sample Time</td><td>24 h +0.5 h</td><td>24 h +1 h</td><td>24 h +2 h</td></tr>
<tr><td colspan="4">不純物B* (μg/mL)</td></tr>
<tr><td>Male</td><td>15.17</td><td>11.77</td><td>12.00</td></tr>
<tr><td>Female</td><td>16.80</td><td>13.33</td><td>12.70</td></tr>
</table></td><td>792838 [4.2.3.7.6-22]</td></tr>
<tr><td></td><td>Mouse, Crl:CD-1</td><td>不純物D*</td><td>Oral (gavage)</td><td>Toxicity dose range-finding study: 1000, 2000

Main study: 0, 2000</td><td>2 days (0 and 24 h)</td><td>1</td><td>None; 不純物D* did not induce micronuclei in bone marrow cells.
No abnormal clinical signs were observed.
Satellite groups of animals were dosed with 不純物D* to determine plasma concentrations; the presence of 不純物D* in the plasma demonstrated proof of exposure to the test article.
Toxicokinetics at 2000 mg/kg:
<table>
<tr><td>Gender / Sample Time</td><td>24 h +0.5 h</td><td>24 h +1 h</td><td>24 h +2 h</td></tr>
<tr><td colspan="4">不純物D* (μg/mL)</td></tr>
<tr><td>Male</td><td>6.13</td><td>16.37</td><td>11.29</td></tr>
<tr><td>Female</td><td>12.15</td><td>24.35</td><td>14.07</td></tr>
</table></td><td>792822 [4.2.3.7.6-23]</td></tr>
</table>

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.6C　　不純物のマウスを用いた小核試験（続き）

Type of Study	Species / Strain	Test Article	Method of Admin.	Dose (mg/kg)	Duration of Dosing	No. of Tests	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Micronucleus test	Mouse, Crl:CD-1	Mixture of 不純物B* and 不純物D*	Oral (gavage)	Toxicity dose range-finding study: 不純物B*/不純物D* at 1.8/10.8 Main study: 0, 不純物B*/不純物D* at 0.45/2.7, 0.9/5.4 and 1.8/10.8	2 days (0 and 24 h)	1	None; the mixture of 不純物B* and 不純物D* did not induce micronuclei in bone marrow cells. No abnormal clinical signs were observed. Satellite groups of animals were dosed with 不純物B* and 不純物D* to determine plasma concentrations; the presence of 不純物B* and 不純物D* in the plasma demonstrated proof of exposure to the test articles. Toxicokinetics at 1.8/10.8 mg/kg:	792487 [4.2.3.7.6-24]

Gender / Sample Time	24 h +0.5 h	24 h +1 h	24 h +2 h
不純物B* (µg/mL)			
Male	0.03	0.03	0.03
Female	0.12	0.06	0.02
不純物D* (µg/mL)			
Male	2.06	1.50	0.88
Female	8.14	4.29	1.27

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17.7　　光毒性試験　　被験物質：オピカポン

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Admin.</th><th>Duration of Dosing</th><th>Doses (mg/kg)</th><th>Gender and No per Group</th><th>Noteworthy findings</th><th>Study No. Location in CTD</th></tr>
<tr><td>BALB/c 3T3 cells</td><td>In vitro</td><td>1 h in dark followed by 50 minutes ± irradiation</td><td>Opicapone: 3.91-500 µg/mL with and without irradiation

Chlorpromazine (positive control): 0.125-4 µg/mL with irradiation, 6.25-200 µg/mL without irradiation</td><td>N/A</td><td>None; opicapone did not have any phototoxic effects. Chlorpromazine induced phototoxicity in the expected range after irradiation with artificial sunlight.
Summary of Results:
<table>
<tr><th>Test Article</th><th>ED50 (+UV) (µg/mL)</th><th>ED50 (-UV) (µg/mL)</th><th>PIF</th><th>MPE</th><th>Viability (%)</th></tr>
<tr><td>Opicapone</td><td>390.2</td><td>392.8</td><td>1.01</td><td>0.032</td><td>85.6</td></tr>
<tr><td>Chlorpromazine</td><td>0.68</td><td>17.9</td><td>26.34</td><td>0.553</td><td>82.6</td></tr>
</table>
ED50: median (50%) effective dose, MPE: mean phototoxic effect;, PIF: Photo-irritation-factor, Viability: Solvent Control of Irradiated versus Non-irradiated Plate</td><td>1404800 [4.2.3.7.7-1]</td></tr>
<tr><td>Guinea pig / Dunkin Hartley</td><td>Epi-cutaneous</td><td>Induction: test sites (both flanks) exposed to 10 J/cm^2 UV-A irradiation and 1.8 J/cm^2 UV-B; repeated 4 times over 2 week period
Challenge: test sites on left flank exposed to 10 J/cm^2 UV-A irradiation; test sites on right flank were not exposed to irradiation</td><td>Induction: 50% opicapone (w/w) in PEG 300

Challenge: 10, 15, 25, 50% opicapone (w/w) in PEG 300</td><td>Control: F10
Opicapone: F20</td><td>None; opicapone did not exhibit photoallergenic, allergenic, photoirritant and irritant potency.</td><td>D31990 [4.2.3.7.7-2]</td></tr>
</table>

2.6.7.17.8 細胞毒性試験 被験物質：オピカポン

Systems Evaluated	Test System No. per Group	Method of Admin.	Test Article Concentration Duration of Exposure	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Mitochondrial membrane potential and ATP levels	Human hepatocytes N=8	*In vitro*	Opicapone: 1.6, 3.1, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 and 200 µM Entacapone: 1.6, 3.1, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 and 200 µM Tolcapone: 1.6, 3.1, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 and 200 µM 24 h exposure	Dose dependent decrease in MMP with IC_{50} values of 181 µM (74.8 µg/mL) for opicapone, 4 µM (1.2 µg/mL) for entacapone and 29 µM (7.9 µg/mL) for tolcapone. Cellular ATP was also decreased in a dose dependent manner, with IC_{50} values of 98 µM (40.5 µg/mL) for opicapone, 45 µM (13.7 µg/mL) for entacapone and 25 µM (6.8µg/mL) for tolcapone.	SROPC[redacted]0105 [4.2.3.7.7-3]
Mitochondrial membrane potential and ATP levels	HepaRG cells N=5-8	*In vitro*	Opicapone: 1.6, 3.1, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 and 200 µM Entacapone: 1.6, 3.1, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 and 200 µM Tolcapone: 1.6, 3.1, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 and 200 µM BIA 9-1079: 6.3, 25 and 100 µM 24 h exposure	Dose dependent decrease in MMP with IC_{50} values of 500 µM (206.59 µg/mL) for opicapone, 1000 µM (305.29 µg/mL) for entacapone, 100 µM (27.33 µg/mL) for tolcapone and 50 µM (19.86 mg/mL) for BIA 9-1079. No significant effects on ATP were found after opicapone or entacapone exposure. At 200 µM (54.65 µg/mL) tolcapone decreased ATP to 17.7% of control level. At 100 µM (39.71 mg/mL) BIA 9-1079 decreased ATP levels to 65.9% of control level.	
Caspase 3 activity	HepaRG cells N=8-16	*In vitro*	Opicapone: 30, 100 and 200 µM Entacapone: 30, 100 and 200 µM Tolcapone: 30, 100 and 200 µM BIA 9-1079: 30 and 100 µM BIA 9-1103: 30 and 100 µM Staurosporine: 2.1 µM 24 h exposure	Opicapone, entacapone, tolcapone and BIA 9-1103 had no effect on caspase 3 activation at any of the tested concentrations. BIA 9-1079 at 100 µM (39.71 µg/mL) increased caspase 3 activity while at 30 µM (11.92 µg/mL) had no effect. The positive control, staurosporine, markedly increased caspase 3 activity.	

N: number

2.6.7.17.8 細胞毒性試験（続き） 被験物質：オピカポン

Systems Evaluated	Test System No. per Group	Method of Admin.	Test Article Concentration Duration of Exposure	Noteworthy findings	Study No. Location in CTD
Glutathione depletion	HepaRG cells N=6-16	*In vitro*	Opicapone: 30, 100 and 200 µM Entacapone: 30, 100 and 200 µM Tolcapone: 30, 100 and 200 µM BIA 9-1079: 30 and 100 µM BIA 9-1103: 30 and 100 µM Acetaminophen: 20 mM 24 h exposure	There was no depletion in the cellular levels of glutathione in HepaRG cells with opicapone, entacapone, BIA 9-1103 or BIA 9-1079. Tolcapone, at 200 µM only, significantly decreased glutathione levels. The positive control, acetaminophen, depleted glutathione.	SROPC[redacted]0105 [4.2.3.7.7-3]
Cell viability	Human hepatocytes N=8	*In vitro*	Opicapone: 3, 10, 30 and 100 µM BIA 9-1079: 3, 10, 30 and 100 µM Tolcapone: 3, 10, 30 and 100 µM Tamoxifen: 500 µM 48 h exposure	Opicapone: No effects on human hepatocyte morphology or viability. BIA 9-1079: Only the highest concentration (100 µM or 39.7 µg/mL) caused pre-apoptotic changes and decrease in cell viability to 6.94% compared to vehicle control. Tolcapone: At 100 µM (27.3 µg/mL) tolcapone caused membrane blebbing and decreased cell viability to 38.46% compared to the vehicle control. This concentration is 4.3 times higher than the Cmax (6.3 µg/mL) at the therapeutic dose of 200 mg tolcapone. Tamoxifen, cytotoxic agent, caused apoptosis as expected.	783802 [4.2.3.7.7-4]

N: number

2.6.7.17.9 併用毒性試験

2.6.7.17.9A ラットにおける 13 週間反復併用投与毒性試験　　被験物質：オピカポン／レボドパ／カルビドパ

Report Title: Opicapone (BIA 9-1067): 13-Week Oral (Gavage) Combination Toxicity Study in the Wistar Rat with Levodopa and Carbidopa										**Test Article:**	Opicapone
Species/Strain:		Rat/RccHan:WIST		**Duration of Dosing:**		13 weeks				**Study No:**	D55805
Age at the start of Administration:		7 weeks		**Duration of Post-Dose:**		None				**Location in CTD:**	[4.2.3.7.7-5]
Date of First Dose:		[redacted] 20[redacted]		**Method of Administration:**		Oral (gavage)					
Vehicle/Formulation:		0.2% HPMC				**GLP Compliance:**				Yes	
Special Features:		Opicapone given approximately 2 h before the combination of Levodopa/Carbidopa. Group 1 (Control) animals were treated with the vehicle, HPMC (0.2%) only. Group 3 animals were treated with HPMC (0.2%) during the first application per day. Group 2 animals were treated with HPMC (0.2%) during the second application per day.									
No Observed Adverse-Effect Level:		1000 mg/kg/day Opicapone and 50 mg/kg/day Levodopa + 12.5 mg/kg/day Carbidopa									
Daily Dose (mg/kg): Opicapone/ Levodopa/ Carbidopa		**Group 2 1000/ 0/ 0**		**Group 3 0/ 20/ 5**		**Group 4 1000/ 20/ 5**		**Group 5 1000/ 50/ 12.5**		**Group 6 1000/ 120/ 30**	
Toxicokinetics:											
Gender/No. of Animals:		**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Died or Sacrificed Moribund:		0	0	0	0	0	0	0	0	1[a]	0
Opicapone											
Day 1/2	Cmax (µg/mL)	30.67	33.73	N/A	N/A	26.50	44.40	35.70	32.83	28.43	34.53
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	103.95	85.66	N/A	N/A	91.60	113.27	140.83	94.90	138.86	158.70
Day 92/93	Cmax (µg/mL)	30.40	35.13	N/A	N/A	37.83	38.47	28.80	34.50	22.47	36.90
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	104.66	108.04	N/A	N/A	121.19	109.22	122.30	124.31	98.06	81.02
Levodopa											
Day 1/2	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	4.51	~	6.24	3.26	14.04	12.55	37.82	36.38
Day 92/93	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	6.09	3.09	9.22	5.37	29.08	16.59	31.17	24.80

a: Sacrificed in extremis on Day 90 because the animal had bitten off the gavage tube which found in the oesophagus at necropsy. Weakened condition, laboured breathing, breathing noises and reddish nasal secretion were also observed in this animal.

~: Not reported given that only one levodopa (or carbidopa) concentration was obtained.

2.6.7.17.9A　　ラットにおける 13 週間反復併用投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン／レボドパ／カルビドパ

13-Week Oral (Gavage) Combination Study in the Wistar Rat continued						**Study No.:** D55805			**Location in CTD:** [4.2.3.7.7-5]		
Daily Dose (mg/kg): Opicapone/ Levodopa/ Carbidopa		**Group 2 1000/ 0/ 0**		**Group 3 0/ 20/ 5**		**Group 4 1000/ 20/ 5**		**Group 5 1000/ 50 /12.5**		**Group 6 1000/ 120/ 30**	
Toxicokinetics: cont.											
Gender/No. of Animals:		**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Carbidopa											
Day 1/2	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	~	~	~	~	0.65	0.76	1.58	2.31
Day 92/93	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	~	~	0.38	0.47	0.98	0.97	0.90	1.78
3-O-methyl-L-dopa											
Day 1/2	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	2.38	1.76	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	30.70	25.65	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Day 92/93	Cmax (µg/mL)	N/A	N/A	4.84	3.88	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	N/A	N/A	72.78	65.39	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
BIA 9-1079											
Day 1/2	Cmax (µg/mL)	1.04	0.96	N/A	N/A	1.35	0.96	1.16	1.28	1.44	1.41
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	16.71	10.09	N/A	N/A	17.99	11.68	18.31	14.81	18.47	18.89
Day 92/93	Cmax (µg/mL)	0.95	0.89	N/A	N/A	1.15	1.33	0.78	1.68	1.72	1.69
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	14.87	12.66	N/A	N/A	15.43	19.23	13.73	25.11	20.21	18.81
BIA 9-1106											
Day 1/2	Cmax (µg/mL)	18.10	15.80	N/A	N/A	17.15	18.30	18.77	15.37	13.93	15.90
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	53.35	40.06	N/A	N/A	48.58	48.84	63.71	47.76	66.25	71.55
Day 92/93	Cmax (µg/mL)	8.74	15.40	N/A	N/A	14.17	21.50	10.94	20.20	11.25	19.60
	AUC0-24 h (µg•h/mL)	27.58	48.94	N/A	N/A	40.91	61.55	40.03	64.71	36.40	45.25

~: Not reported given that only one Levodopa (or Carbidopa) concentration was obtained.

2.6.7.17.9A　　ラットにおける 13 週間反復併用投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン／レボドパ／カルビドパ

13-Week Oral (Gavage) Combination Study in the Wistar Rat continued					**Study No.:** D55805				**Location in CTD:** [4.2.3.7.7-5]			
Daily Dose (mg/kg/day): Opicapone/ Levodopa/ Carbidopa	**Group 1 (Control) 0/ 0 /0**		**Group 2 1000/ 0/ 0**		**Group 3 0/ 20/ 5**		**Group 4 1000/ 20/ 5**		**Group 5 1000/ 50/ 12.5**		**Group 6 1000/ 120/ 30**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Noteworthy findings:												
Died or Sacrificed Moribund:	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[a]:												
Stained/discoloured yellow faeces	0 (0)	0 (0)	100% (91)	100% (91)	0 (0)	0 (0)	100% (91)	100% (91)	100% (91)	100% (91)	100% (91)	100% (91)
Ruffled fur	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-100% (74)	60-69% (3)	10-100% (90)	100% (89)	100% (93)	100% (93)
Salivation	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-19% (11)	0 (0)	20-89% (60)	1-19% (8)
Visible weight loss	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1-19% (68)	0 (0)	1-19% (16)	0 (0)	10-29% (16)	1-29% (17)
Prostration	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	100% (91)	100% (91)	80-100% (91)	100% (91)
Body Weight (%)[b]:												
Day 8	251.8 g	179.5 g	+1	+1	+1	+2	+2	+6**	+1	+2	-3	+2
Day 50	380.1 g	242.4 g	+4	-5	+3	-2	+1	0	+3	-2	-8*	-4
Day 64	402.5 g	250.1 g	+3	-3	+4	0	+1	+1	+2	-1	-9*	-3
Day 78	424.6 g	266.7 g	+4	-5	+4	-2	+2	-1	+2	-4	-11**	-6*
Day 85	426.4 g	261.5 g	+5	-3	+5	0	+3	+1	+2	-2	-10*	-3
Day 90	437.3 g	268.3 g	+4	-5	+4	-2	+3	0	+2	-3	-12**	-4

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

a: Data expressed as number of affected animals as percentage of total animals comprising main study and toxicokinetic animals (number of days with observation).

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

13-Week Oral (Gavage) Combination Study in the Wistar Rat continued					**Study No.:** D55805				**Location in CTD:** [4.2.3.7.7-5]			
Daily Dose (mg/kg/day): Opicapone/ Levodopa/ Carbidopa	**Group 1 (Control) 0/ 0 /0**		**Group 2 1000/ 0/ 0**		**Group 3 0/ 20/ 5**		**Group 4 1000/ 20/ 5**		**Group 5 1000/ 50/ 12.5**		**Group 6 1000/ 120/ 30**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics Gender/No. of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Noteworthy findings: cont.												
Body Weight Gain (%):												
Day 50	79.0	48.8	85.8	41.0**	82.4	42.6*	78.3	43.5	83.9	44.9	66.4*	39.2**
Day 57	83.4	50.3	90.9	44.7*	89.1	46.4	84.1	46.2	89.2	48.0	72.9	43.9*
Day 64	89.6	53.6	95.5	48.4	95.3	50.6	89.4	49.2	93.3	50.5	75.2*	45.5**
Day 71	88.9	55.0	97.2	46.5**	96.3	50.1	91.7	49.6	94.6	50.8	76.3*	45.9**
Day 78	100.0	63.8	109.0	54.2**	106.0	57.1	101.8	55.5*	102.8	55.7*	80.2**	49.8**
Day 85	100.9	60.6	111.3	54.3	107.9	57.3	105.1	55.6	104.8	56.2	84.0**	51.2**
Day 90	106.0	64.8	114.5	55.7**	111.4	58.2	110.0	58.2	108.5	58.9	84.1**	53.5**
Food Consumption (%)[a]:												
Days 22-29	24.1 g/ animal/ day	18.5 g/ animal/ day	+17*	+4	+13	+1	+10	+9	+17*	+3	+15*	+8
Days 29-36	24.3 g/ animal/ day	17.5 g/ animal/ day	+5	-1	-1	-1	+2	+11*	+11	+5	+4	+10
Days 43-50	25.0 g/ animal/ day	17.8 g/ animal/ day	+4	-3	-1	-2	0	+6	+10	0	+7	+11*
Days 50-57	24.9 g/ animal/ day	17.7 g/ animal/ day	+4	+1	0	+1	0	+6	+7	+1	+10	+13*
Days 1-90	25.7 g/ animal/ day	18.4 g/ animal/ day	+4	-1	0	-1	0	+6	+8	+1	+7	+8

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01

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

13-Week Oral (Gavage) Combination Study in the Wistar Rat continued					**Study No.:** D55805				**Location in CTD:** [4.2.3.7.7-5]			
Daily Dose (mg/kg/day): Opicapone/ Levodopa/ Carbidopa	**Group 1 (Control) 0/ 0 /0**		**Group 2 1000/ 0/ 0**		**Group 3 0/ 20/ 5**		**Group 4 1000/ 20/ 5**		**Group 5 1000/ 50/ 12.5**		**Group 6 1000/ 120/ 30**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: cont.												
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology:												
Haemoglobin concentration distribution width (mmol/L)	1.75	1.45	1.80	1.51	1.75	1.46	1.77	1.47	1.74	1.49	1.61**	1.50
Mean corpuscular haemoglobin (fmol)	1.12	1.18	1.10	1.17	1.13	1.18	1.15	1.19	1.11	1.19	1.19*	1.17
Reticulocytes Maturity Index High (relative)	0.048	0.015	0.043	0.029	0.056	0.037*	0.063	0.033	0.087*	0.027	0.065	0.031*
Leucocytes (10^9/L)	4.78	2.55	4.82	2.96	4.63	2.70	5.33	3.53*	4.26	3.18	4.75	3.81**
Lymphocytes (10^9/L)	3.41	1.90	3.64	2.16	3.25	2.05	4.05	2.49	3.27	2.44	3.50	2.92**
Large unstained cells (10^9/L)	0.04	0.03	0.05	0.04	0.04	0.04	0.06*	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05*
Methaemoglobin (relative)	0.006	0.012	0.008*	0.011	0.009**	0.012	0.010**	0.013	0.011**	0.013	0.011**	0.013
Serum Chemistry:												
Potassium (mmol/L)	3.55	3.08	3.67	3.23	3.69	3.06	3.56	3.35*	3.69	3.35	3.67	3.36*
Calcium (mmol/L)	2.74	2.73	2.72	2.73	2.70	2.73	2.72	2.76	2.72	2.80	2.61**	2.75
Phosphorus (mmol/L)	1.66	1.42	1.86**	1.44	1.70	1.30	1.78	1.50	1.78	1.48	1.93**	1.70**
Protein (g/L)	68.36	70.78	67.14	71.21	67.11	72.55	68.34	73.44	65.47*	74.39	65.47*	69.70
Albumin (g/L)	43.60	48.85	41.10**	48.76	43.24	52.88*	41.63*	52.38*	41.59*	50.56	41.52**	47.81
Urinalysis:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: *p<0.05, **p<0.01
-: No noteworthy findings

2.6.7.17.9A　　ラットにおける 13 週間反復併用投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン／レボドパ／カルビドパ

13-Week Oral (Gavage) Combination Study in the Wistar Rat continued					**Study No.:** D55805				**Location in CTD:** [4.2.3.7.7-5]			
Daily Dose (mg/kg/day): Opicapone/ Levodopa/ Carbidopa	**Group 1 (Control) 0/ 0 /0**		**Group 2 1000/ 0/ 0**		**Group 3 0/ 20/ 5**		**Group 4 1000/ 20/ 5**		**Group 5 1000/ 50/ 12.5**		**Group 6 1000/ 120/ 30**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: cont.												
Organ Weights:												
Thymus												
Absolute (%)[a]	0.307 g	0.276 g	+1	-10	-6	+8	-2	-7	-6	+4	-48**	-18
Relative (% body weight)	0.074	0.108	0.072	0.108	0.067	0.119	0.074	0.104	0.070	0.114	0.044**	0.093
Ovaries												
Absolute (%)[a]	N/A	0.108 g	N/A	-3	N/A	-2	N/A	-4	N/A	-1	N/A	+30**
Relative (% body weight)	N/A	0.043	N/A	0.046	N/A	0.042	N/A	0.042	N/A	0.043	N/A	0.059**
Gross Pathology:												
Exorbital lacrimal gland, dark red discoloured[b]	0	0	0	0	0	0	3	0	3	1	7[##]	2
Histopathology (total affected/mean severity):												
Mandibular gland												
Hypertrophy, acinar	0	0	0	0	0	0	0	0	7/1.3	5/1.0	10/1.8	9/1.6
Parotid gland												
Hypertrophy, acinar	0	0	0	0	0	0	2/1.0	0	3/1.3	4/1.5	4/2.0	6/2.2

Statistical analysis using Dunnett's test based on pooled variance: **p<0.01

Statistical analysis using Fischer's exact test: [##]p<0.01

Severity: Grade 1: minimal/very few/very small; Grade 2: slight/few/small; Grade 3: moderate/moderate number/moderate size; Grade 4: marked/many/large

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

b: The finding was placed at adjacent to the exorbital lacrimal gland and was of an ellipsoid shape. Histologically, the correlate consisted of a nodular hyperplastic brown fat tissue.

2.6.7.17.9A　　ラットにおける 13 週間反復併用投与毒性試験（続き）　　被験物質：オピカポン／レボドパ／カルビドパ

13-Week Oral (Gavage) Combination Study in the Wistar Rat continued					**Study No.:** D55805				**Location in CTD:** [4.2.3.7.7-5]			
Daily Dose (mg/kg/day): Opicapone/ Levodopa/ Carbidopa	**Group 1 (Control) 0/ 0 /0**		**Group 2 1000/ 0/ 0**		**Group 3 0/ 20/ 5**		**Group 4 1000/ 20/ 5**		**Group 5 1000/ 50/ 12.5**		**Group 6 1000/ 120/ 30**	
Main Study Gender/No. of Animals:	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Noteworthy findings: cont.												
Histopathology (total affected/mean severity): continued												
Exorbital gland												
Hypertrophy, acinar	0	0	0	0	0	0	0	0	3/1.0	0	2/2.5	0
Acinar vacuolation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/1.0	0
Nodular brown fat	0	0	0	0	0	0	3/3.0	0	3/3.0	1/3.0	6/3.0	2/3.0
Mammary gland												
Glandular hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/2.0	0
Pancreas												
Acinar cell vacuolation	0	0	1/2.0	0	0	1/1.0	0	0	0	1/1.0	0	5/1.8
Additional Examinations:	Not evaluated in this study											
Post-Dose Evaluation:	Not evaluated in this study											

Severity: Grade 1: minimal/very few/very small; Grade 2: slight/few/small; Grade 3: moderate/moderate number/moderate size; Grade 4: marked/many/large