2.6.6 毒性試験の概要文の目次

2.6.6.1　まとめ..... 3
2.6.6.2　単回投与毒性試験..... 7
2.6.6.2.1　げっ歯類の単回投与毒性試験..... 7
2.6.6.2.2　非げっ歯類の単回投与毒性試験..... 7
2.6.6.3　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）..... 8
2.6.6.3.1　げっ歯類の反復投与毒性..... 8
2.6.6.3.1.1　マウス反復経口投与試験（がん原性試験の用量設定試験）..... 8
2.6.6.3.1.2　ラット2週間回復性評価を含む4週間反復経口投与毒性試験... 8
2.6.6.3.1.3　ラット4週間回復性評価を含む13週間反復経口投与毒性試験. 11
2.6.6.3.1.4　ラット26週間反復経口投与毒性試験..... 13
2.6.6.3.2　非げっ歯類の反復投与毒性..... 14
2.6.6.3.2.1　イヌ2週間回復性評価を含む4週間反復経口投与毒性試験.... 14
2.6.6.3.2.2　イヌ13週間反復経口投与毒性試験..... 15
2.6.6.3.2.3　イヌ39週間反復経口投与毒性試験..... 17
2.6.6.4　遺伝毒性試験..... 18
2.6.6.4.1　*In vitro*遺伝毒性試験..... 18
2.6.6.4.1.1　ネズミチフス菌を用いる復帰突然変異試験..... 18
2.6.6.4.1.2　マウスリンフォーマ $TK^{+/-}$試験..... 18
2.6.6.4.2　*In vivo*遺伝毒性試験..... 19
2.6.6.4.2.1　マウス腹腔内投与後の骨髄小核試験..... 19
2.6.6.4.2.2　ラット4週間反復経口投与後の骨髄小核試験..... 19
2.6.6.4.2.3　マウス腹腔内単回投与後の骨髄細胞染色体異常試験..... 20
2.6.6.4.2.4　ラット4週間反復経口投与後の骨髄細胞染色体異常試験..... 20
2.6.6.4.2.5　ラット経口単回投与後の肝臓不定期DNA合成試験..... 20
2.6.6.4.2.6　ラット4週間反復経口投与後の肝臓不定期DNA合成試験..... 21
2.6.6.5　がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）..... 22
2.6.6.5.1　マウスにおける2年間飲水投与によるがん原性試験..... 22
2.6.6.5.2　ラットにおける2年間反復経口投与によるがん原性試験..... 23
2.6.6.6　生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）..... 24
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..... 24
2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験..... 25
2.6.6.6.2.1　ラットにおける胚・胎児発生毒性試験..... 25

2.6.6.6.2.2　ウサギにおける胚・胎児発生毒性試験 26
2.6.6.6.3　ラットにおける出生前及び出生後の発育及び母体の機能に関する試験 27
2.6.6.7　局所刺激性試験 29
2.6.6.8　その他の毒性試験 29
2.6.6.8.1　原薬中に混入する可能性のある不純物の安全性 29
2.6.6.8.2　3T3 NRU（ニュートラルレッド取り込み）光毒性試験 29
2.6.6.9　考察及び結論 30
2.6.6.10　図表 38
引用文献一覧 38

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

モリデュスタット（BAY 85-3934）〔一般名：molidustat（INN）、そのナトリウム塩；モリデュスタットナトリウム（BAY 1053048）（JAN）〕は、Bayer 社（ドイツ）が開発した経口投与可能な低酸素誘導因子-プロリン水酸化酵素阻害薬（以下、HIF-PH 阻害薬）であり、腎性貧血治療薬として開発されている。

モリデュスタットの毒性学的及びトキシコキネティクスプロファイルを明らかにするため、ICH M3 ガイドラインに従って、一連の毒性試験を実施した。

臨床投与経路が（錠剤）経口であることから、毒性試験の投与経路は経口とした。予定最大臨床用量は 1 日 1 回 200mg（3.3mg/kg/日;ヒト体重を 60kg として換算）であることから、曝露量比較ではヒトに 200mg を反復投与時の定常状態での曝露量を基に、タンパク結合率の種差を考慮し、非結合型曝露量で各々比較した。

ラット及びイヌは共にモリデュスタットの薬理作用に反応すること、イヌにおける代謝プロファイルがヒトに類似することから、両動物種を毒性試験の主要な動物種に選択した。

反復投与毒性試験では被験物質に主としてモリデュスタット又はモリデュスタットナトリウムを用い、ラットでは Solutol HS15®/ethanol/water（4:1:5 v/v/v）を媒体として最長 26 週間まで、イヌでは PEG 400/ethanol（9:1 v/v）を媒体として最長 39 週間まで、各々反復強制経口投与した。また、マウスがん原性試験では約 2 年間飲水投与した。ラットがん原性試験では Ethanol/Kolliphor HS15/Water（1:4:5 v/v/v）に溶解して 104 週間反復強制経口投与した。有効成分はモリデュスタットであることから、いずれの試験もモリデュスタットとしての用量／曝露量に換算して評価した。

ラット及びマウスを用いて単回経口投与毒性試験を実施した。また、イヌ 4 週間反復投与試験の投与初期相から、イヌにおける単回経口投与毒性を評価した。

遺伝毒性試験として、ネズミチフス菌を用いた復帰変異原性試験、マウスリンフォーマ $TK^{+/-}$試験及びマウス腹腔内 2 回投与後の骨髄小核試験（塩酸塩投与）で構成する標準的組合せの遺伝毒性試験を実施した。また、マウスリンフォーマ $TK^{+/-}$試験及びマウス骨髄小核試験の結果を最終評価するため、モリデュスタット単回投与後のマウス骨髄細胞染色体異常試験及びラット肝臓不定期 DNA 合成（UDS）試験を、また、ラット 4 週間反復投与試験で採取した標本より、骨髄の小核試験並びに骨髄細胞の染色体異常試験及び肝臓の UDS 試験をフォローアップ試験として実施した。

生殖発生毒性試験として、ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、並びにラットを用いた出生前及び出生後の発育及び母体の機能に関する試験を実施した。

更に、*in vitro* 光毒性試験を実施した。

主要な毒性試験は GLP 適用試験施設において、GLP に従って実施した。

毒性試験一覧を表 2.6.6.1- 1 及び 2.6.7.1 に示す。

表 2.6.6.1- 1 毒性試験一覧表

Type of Study/ Study Duration	Species and Strain	Method of Administration	Doses [mg/kg]	GLP	Location & Report no.
Single-Dose Toxicity					
Single dose	Mouse, NMRI	Oral, gavage	300, 2000	Yes	4.2.3.1.1 PH-35937
		Intravenous	30, 100		
	Rat, Wistar	Oral, gavage	2000		
Repeat-Dose Toxicity					
2 weeks	Mice. CD-1	Oral, drinking [c]	Male: 0, 3.1, 32.4 Female: 0, 3.9, 38.4	No	4.2.3.2.1 PH-36985
13 weeks	Mice, CD-1	Oral, drinking [c]	Male: 0, 3.2, 10.9, 39.2 Female: 0, 3.1, 10.9, 37.2	Yes	4.2.3.2.2 PH-37097
4 weeks + 2-week rec.	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 5, 15, 50	Yes	4.2.3.2.3 PH-36369
13 weeks + 4-week rec.	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 1.5, 5, 15/10	Yes	4.2.3.2.4 PH-37056
26 weeks	Rat, Wistar	Oral, gavage [c]	0, 0.3, 1, 3	Yes	4.2.3.2.5 PH-37098
4 weeks + 2-week rec.	Dog, Beagle	Oral, gavage	0, 5, 15, 50	Yes	4.2.3.2.6 PH-36352
13 weeks	Dog, Beagle	Oral, gavage	0, 2.5, 7.5, 25	Yes	4.2.3.2.7 PH-36672 &PH-36672A
39 weeks	Dog, Beagle	Oral, gavage [c]	0, 0.5, 1.5, 5	Yes	4.2.3.2.8 PH-37341
Genotoxicity					
In vitro					
Ames Test	Salmonella strains	*In vitro*	16 - 5000 µg/plate (plate) 5 -1581 µg/plate (pre-incubation)	Yes	4.2.3.3.1.1 PH-35906
Mouse lymphoma $TK^{+/-}$ assay	Mouse lymphoma L5178Y cell line	*In vitro*	10 - 175 µg/mL (assay 1) 10 - 50 & 10 -100 µg/mL (assay 2)	Yes	4.2.3.3.1.2 A46413
In vivo					
MNT 1 in bone marrow	Mouse, NMRI	Intraperitoneal [b]	Twice (within 24h), 0, 50, 100, 200	Yes	4.2.3.3.2.1 PH-35182
MNT 2 in bone marrow [a]	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 5, 15, 50 (4-week study)	Yes	4.2.3.2.3 PH-36369
Chromosomal aberration 1 in bone marrow	Mouse, NMRI	Intraperitoneal	0, 50, 100, 200 (Single dose)	Yes	4.2.3.3.2.2 PH-36384
Chromosomal aberration 2 in bone marrow [a]	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 5, 15, 50 (4-week study)	Yes	4.2.3.2.3 PH-36369
UDS test 1 in liver	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 500, 1000 (Single dose)	Yes	4.2.3.3.2.3 PH-36222
UDS test 2 in liver [a]	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 5, 15, 50 (4-week study)	Yes	4.2.3.2.3 PH-36369

(to be continued)

表 2.6.6.1- 1 毒性試験一覧表（続き）

Type of Study/ Study Duration	Species and Strain	Method of Admin.	Doses [mg/kg]	GLP	Location & Report no.
Carcinogenicity					
2 years bioassay	Mouse, CD-1	Oral, drinking [c]	0, 0.5, 1.5, 5	Yes	4.2.3.4.1.1 PH-39298
2 years bioassay	Rat, Wistar	Oral, gavage [c]	0, 0.1, 0.3, 1	Yes	4.2.3.4.1.2 R-13234
Reproductive and Developmental Toxicity					
Fertility & early embryonic development	Rat, Wistar	Oral, gavage (M: PM 4 ws - nec., F: PM 2 ws - G6)	0, 2, 6, 20	Yes	4.2.3.5.1.1 PH-37929
Embryo-fetal toxicity	Rat, Wistar	Oral, gavage (G6 - 17)	0, 3, 10, 30	Yes	4.2.3.5.2.1 PH-38264
	Rabbit, Himalayan	Oral, gavage (G6 - 20) [c]	0, 2, 6, 20	Yes	4.2.3.5.2.2 PH-38267
Pre- & postnatal development	Rat, Wistar (DRF)	Oral, gavage (G6 - L4) [c]	0, 2.8, 9.3, 28	No	4.2.3.5.3.1 R-12718
	Rat, Wistar	Oral, gavage (G6 – L21) [c]	0, 3.7, 7.5, 15	Yes	4.2.3.5.3.2 R-13169
Local tolerance					
Local tolerability	Rabbit, NZW	i.v. & paravenous	0.5, 1.0 mg/animal	Yes	4.2.3.6.1 PH-37928)
Others					
Phototoxicity					
3T3 NRU test	Mouse fibroblasts	*In vitro* (3T3.A31)	0.1 - 500 µg/ml [c]	Yes	4.2.3.7.7.1 PH-36905

[a] included in the 4-week repeat dose toxicity study in rats, [b] as HCl salt of BAY 85-3934 (BAY 85-3593)
[c] as Na-salt of BAY 85-3934 (BAY 1053048)
G: gestation, L: lactation, PM: premating, nec: necropsy, rec. : recovery
MNT: micronucleus test, DRF: dose range finding, NZW: New Zealand White, Admin.: administration
UDS: unscheduled DNA synthesis

毒性試験成績は以下のように要約される。

- 単回経口投与時の概略の致死量はラット及びマウス共に約 2000mg/kg であった。イヌでは 50mg/kg より大きかった。

- ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験で認められた所見は、概して遺伝子組換えヒトエリスロポエチン（rhEPO）製剤の反復投与毒性試験においても同様に観察されているものであり、主薬理作用である赤血球造血亢進による血液濃縮・多血状態の持続に関連した変化であった。

- 持続的な多血状態・高粘度血液は循環障害及び全身諸臓器のうっ血を招き、特にラットでは心臓への負荷の増大（心室拡張、房室弁・心房の血栓症・心筋変性・線維化など）を来たし、各種臓器での血栓・腎臓の糸球体腫大、更に骨髄線維化・過骨症などの毒性所見を惹起した。投与期間の延長に伴って毒性発現用量及び無毒性量は低くなった。また、反復投与試験で観察された所見は一部の線維化や血栓を除き、休薬により回復又は軽減した。一方、臨床ではヘモグロビンを正常範囲に保つようモニターするため、多血状態が持続す

る可能性は低いことから、ヘモグロビン及びヘマトクリット値が正常な健康動物を用いた毒性試験で観察された所見が臨床使用上の明らかなリスクとなるものとは考えられない。造血亢進に直接的あるいは二次的に関連しない毒性所見は認められなかった。

- 一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験の結果、モリデュスタットに遺伝毒性のリスクはないと結論した。

- マウス及びラットを用いた約 2 年間長期投与によるがん原性試験の結果、モリデュスタットにがん原性は認められなかった。

- 生殖発生毒性試験結果から、ラット受胎能試験では雌動物への毒性用量の投与時に着床後死亡数の増加及び生存胎児数の減少がみられたが、雄動物の受胎能に影響は認められなかった。ラット器官形成期投与試験においては、母動物の毒性用量投与時に着床後死亡の増加及び胎児体重の減少が観察された。加えて、モリデュスタットの HIF-PH 阻害作用に関連して胎児に小眼球の発生がみられた。ウサギ器官形成期投与試験では胚・胎児発生への影響は認められなかった。ラット出生前及び出生後の発育及び母体の機能に関する試験では、母動物への毒性用量投与時に着床後死亡の増加、平均生存児数の減少、胃内無乳児及び死産児の増加、出生児の低体重及び機能発達の一部遅延が観察されたが、母動物の一般状態悪化に続発した二次的な影響と考えられた。

- モリデュスタットに光毒性は認められなかった。

以上のように、モリデュスタットの非臨床安全性プロファイルは、rhEPO 製剤投与時のものと同質であり、遺伝毒性及びがん原性リスクも認められなかったことから、長期投与の臨床使用を支持するものである。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 げっ歯類の単回投与毒性試験

参照項目：4.2.3.1.1 PH-35937（参）

各群 3 ないし 6 例の雌性 NMRI マウスに、モリデュスタットの 300 又は 2000mg/kg（PEG400 を媒体として懸濁）を単回強制経口投与した。また、同様に 6 例の雌性 Wistar ラットに 2000mg/kg を単回強制経口投与した。更に、同じ媒体を用いて別の各群 6 例の雌性 NMRI マウスに 30 又は 100mg/kg を単回静脈内投与し、毒性／忍容性を評価した。

試験成績を表 2.6.6.2- 1 及び 2.6.7.5 に示す。マウスに 300mg/kg 経口投与時に一般症状は発現しなかったが、それ以外の用量を経口又は静脈内投与後には非特異的な一般症状（運動性低下、閉眼、努力性呼吸、頻呼吸、立毛、円背又は腹臥位など）が観察され、死亡例がみられた。

以上の成績から、単回経口投与時の概略の致死量は、雌マウス及び雌ラットで 2000mg/kg であり、単回静脈内投与時の概略の致死量は雌マウスで 30mg/kg であった。

表 2.6.6.2- 1 げっ歯類単回投与毒性試験成績

Species	Route of administration	Maximum non-lethal dose	Minimal lethal dose	Clinical symptoms
Mouse	Oral	300	2000	**2000 mg/kg:** 2/6 animals died during the observation period showing unspecific signs of toxicity. **300 mg/kg:** no abnormalities detected.
Mouse	IV	< 30	30	**100 mg/kg:** all animals died during the observation period demonstrating unspecific signs of toxicity **30 mg/kg:** 2/6 animals died during the observation period showing unspecific signs of toxicity
Rat	Oral	< 2000	2000	**2000 mg/kg:** 1/6 animals died during the observation period with unspecific signs of toxicity

Source: 4.2.3.1.1, PH-35937

2.6.6.2.2 非げっ歯類の単回投与毒性試験

独立した非げっ歯類の単回投与毒性試験は実施しなかった。ビーグル犬を用いた 4 週間反復強制経口投与試験（2.6.6.3.2.1；4.2.3.2.6 PH-36352）の投与 1～2 週の試験初期相より、イヌにおける単回投与毒性を考察した。各群雌雄 3～5 例のビーグル犬 4 群に、モリデュスタットを、PEG400/ethanol（9:1）を媒体として 0、5、15 及び 50mg/kg の各用量にて連日強制経口投与した。その結果、死亡例は認められず、良好な忍容性が認められた。最高用量 50mg/kg 群において、流涎の発現率の増加が観察された。

以上の成績から、雌雄イヌ単回経口投与後の概略の致死量は 50mg/kg より大きいと考えられた。

2.6.6.3　　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

ラット及びイヌを用い、ラットでは最長 26 週まで、イヌでは最長 39 週までの反復強制経口投与試験を実施した。また、マウスを用いて、2 及び 13 週間飲水投与によるがん原性試験の用量設定試験を実施した。

2.6.6.3.1　　げっ歯類の反復投与毒性

2.6.6.3.1.1　マウス反復経口投与試験（がん原性試験の用量設定試験）

参照項目：4.2.3.2.1　PH-36985（参）
4.2.3.2.2　　PH-37097

2 週間投与試験では各群雌雄各 15 例の CD-1 マウスにモリデュスタットナトリウムを飲料水中に 15 及び 150ppm の濃度で混じて 2 週間飲水投与した（モリデュスタットとしての投与量；雄 3.3 及び 34.7mg/kg/日、雌 4.2 及び 41.1mg/kg/日）。別に雌雄各 5 例を対照群とした。投与量は、ラット及びイヌ反復投与毒性試験及び類薬の毒性試験情報から、長期投与時の最大耐量（曝露量）は臨床曝露量に近似すると推定されたため、臨床推定曝露量の 1～10 倍相当の曝露となるように設定した。その結果、皮膚の発赤（雌雄高用量群）、軽度な体重増加抑制（雌高用量群）及び軽度な摂水量増加（雄低用量群を除く薬剤投与群）が観察された以外に薬剤投与に関連した影響は認められず、良好な忍容性がみられた（PH-36985）。

13 週間投与試験では各群雌雄各 10 例の CD-1 マウスに、モリデュスタットナトリウムを 0、3、10 及び 30mg/kg の 1 日用量となるように調製して飲水投与した［モリデュスタットとしての用量：0、2.8、9.3 及び 28mg/kg/日（実投与量；雄 0、3.2、10.9 及び 39.2mg/kg/日、雌 0、3.1、10.9 及び 37.2mg/kg/日）］。その結果、雌雄高用量群では雄 7 例及び雌 3 例が 7 週目までに死亡又は切迫殺された（多血状態の持続に関連した循環障害が主体と推定）ため、残りの動物も 8 週目で屠殺した。中間用量群では、皮膚発赤、赤血球数・ヘモグロビン量・ヘマトクリット値の増加、脾臓重量増加、骨髄洞拡張・赤血球造血亢進、肝腎などのうっ血がみられた。低用量群では骨髄での脂肪細胞減少以外に薬剤投与に関連した所見は認められなかった（PH-37097）。

両試験のトキシコキネティクス（TK）を含む成績を 2.6.7.6 に示す。

2.6.6.3.1.2　ラット 2 週間回復性評価を含む 4 週間反復経口投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.3　PH-36369

各群雌雄各 10 例の Wistar ラットに 0、5、15 及び 50mg/kg のモリデュスタットを、Solutol HS15/ethanol/water(4:1:5 v/v/v)を媒体（低用量：溶液、中・高用量：懸濁液）として 4 週間反復強制経口投与した。対照群及び最高用量群には別途各群雌雄各 10 例を回復群に設定し、最終投与後 2 週間休薬して所見の回復性を評価した。更に、別に各群雌雄各 6 例をトキシコキネティクス評価用動物とした。投与量は 2 週間のパイロット試験で 15mg/kg までの用量（ヒト推定有効曝露量の 70 倍）投与時には標的臓器毒性は認められず、また、薬理作用に関連しない毒性所見も認められなかった為、50mg/kg の高用量を設けて、薬理作用以外の毒性発現の有無を検討することにした。

主要な所見を表 2.6.6.3- 1 に、TK 成績を含む詳細を 2.6.7.7A に示す。

表 2.6.6.3- 1 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験 PH-36369 の主要所見

Endpoint	Findings	Sex	Dose [mg/kg]
Mortality	Increased intercurrent mortality (6/20 M + 1/20 F including recovery animals during treatment phase)	M+F	50
Clinical observation	Piloerection, emaciation, accelerated breathing, poor general conditions	M	50
Body weight	Reduced final body weight (~15%) [b]	M	50
Food & water intake	Reduced food intake (~10%) [a]	M+F	50
Hematology	Increase in RBC count (15-32%) [a], hemoglobin concentration (23-47%) [a] and hematocrit (25-48%) [a]	M+F	≥5
	Increase in MCV, MCH (~10%) [a]	M+F	≥5
	Decrease in mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) (~3.5%) [a]	F	50
	Increase in reticulocyte count (~2- to 7-fold) [a]	M+F	≥5
	Macrocytosis [a]	M+F	≥5
	Anisocytosis, anisochromasia	M/F	≥15/50
	Hypochromasia	M+F	50
	Decrease in platelet count (33-56%) [a]	M+F	≥5
	Prolongation of prothrombin time (9-32%) [a]	M/F	≥5/≥15
	Decrease in lymphocyte count (20%) [b]	M	≥15
	Decrease in eosinophil count (37-100%) [a]	M/F	≥15/50
	Increase (3-fold at 5 and 15 mg/kg) and decrease (1.3-1.4 fold at 50 mg/kg) in basophil count [a]	M+F	≥5
	Decrease (~50% at 5 and 15 mg/kg) and increase (~100% at 50 mg/kg) in atypical cells [a]	M+F	≥5
Clinical chemistry [c]	Increase in aspartate aminotransferase (qv) , (AST) (2- to 6-fold) [a] ALT (up to 1.3-fold) [a, c]	M	≥5
	Increase in LDH (7- to 70-fold) [a, c]	M+F	≥5
	Decrease in glucose levels (12-36%) [a]	M+F	≥5
	Decrease in cholesterol (32%) [a, c]	M	50
	Increase in plasma urea (65%) [a, c]	M	50
	Increase in total bilirubin (1.5 to 4-fold) [c]	M	≥15
	Decrease in sodium (1-2 mmol/L) [a]	M+F	≥15
	Decrease in potassium (0.3-0.9 mmol/L) [a]	M+F	≥5
	Increase in chloride (2-4 mmol/L) [a]	M+F	50
Urinalysis	Increase in N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) concentration and excretion (3-fold/1.5-fold) [a]	M	50
	Increase in gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) excretion (2.6-3.1-fold) without dose-relationship [a]	M	≥5
	Increase in LDH excretion (3.8-fold) [a]	F	50
Organ weights	Heart: increase absolute + relative (14-83%) [a]	M+F	≥5
	Spleen: increase absolute + relative (1.4- to 3.4-fold) [a]	M+F	≥15
	Kidneys: increase absolute (12-18%) [b]	F	≥5
	relative (10-22%) [b]	M/F	50/≥15
	Thymus: decrease absolute (34%) + relative (25%) [a]	M	50
	Liver: decrease absolute (13-22%) + relative (8%) [a]	M	≥15
	Epididymides, prostate, seminal vesicles: decrease absolute + relative (~ 23%) [a]	M	50
	Uterus: decrease absolute + relative (24%)	F	50
	Popliteal lymph nodes: decrease absolute (up to 44%, no clear dose-relationship)	M	≥5
Immunotoxicity	Increase in splenic cell count [a]	M+F	50
	Decrease of $CD3^{total}$, $CD4^{+total}$, $CD8^{+total}$, CD4+/CD8+ and CD45RA cells [a]	M+F	50
Necropsy	Spleen: enlarged [a]	M+F	≥15
	Heart: enlarged [a]	M+F	≥5
	Lungs, kidneys, adrenals (M only), ovaries (F only) discoloration [a]	M+F	50
	Liver: distinct lobulation [a]	M+F	≥5

(To be continued)

表 2.6.6.3-1 ラット 4 週間反復投与毒性試験 PH-36369 の主要所見（続き）

Endpoint	Findings	Sex	Dose [mg/kg]
Histopathology	Bone marrow: increased erythropoiesis [a]	M+F	≥5
	myelofibrosis, hyperostosis, emperipolesis increased number and polymorphic megakaryocytes [a]	M+F	50
	Heart: myocardial hypertrophy, degeneration and valvular degeneration, thrombosis and fibrosis [b]	M+F	≥15
	Spleen (≥15 mg/kg) and liver (50 mg/kg): increased extramedullary hematopoiesis [a]	M+F	≥15
	Lungs, bone marrow: thrombosis [a]	M+F	50
	Lungs: alveolar hemorrhage [a]	M+F	M≥15, F≥5
	Kidneys: tubular degeneration [a]	F	≥15
	increased tubular ferruginous pigment [a]	M+F	50
	Mesenteric lymph nodes: erythrophagocytosis [a]	M+F	50
	Stomach: erosions, minimal, mucosa [a]	M+F	≥15
	Atrophy in several organs (e.g., thymus, mammary gland, thyroids, pancreas) due to the poor general condition of the animals [a]	M+F	50

a Fully or partly reversible, b Not reversible
c Due to high hematocrit and subsequently due to low plasma samples and hemolysis, in females, clinical chemistry could not be completed for all parameters
ALT: alanine aminotransferase; CD3: cluster of differentiation 3
T cells; CD4+: helper T cells; CD8+: killer T cells; F: female; M: male;
LDH: lactate dehydrogenase;
MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration;
MCV: mean corpuscular volume; RBC: red blood cell

その結果、主薬理作用に関連して、雌雄 5mg/kg 以上の群で赤血球数・ヘモグロビン量・ヘマトクリット値・網状赤血球数の増加、骨髄での赤血球造血亢進が、雌雄 15mg/kg 以上の群では脾臓における、雌雄 50mg/kg 群では肝臓における髄外造血亢進がみられた。また、全身諸臓器のうっ血が観察された。

雌雄 5mg/kg 以上の群で MCV 及び MCH の増加、血小板数の減少、プロトロンビン時間の延長、LDH の増加と血糖値及びカリウムの減少、心臓重量の増加（腫大例数増加）が、雄 5mg/kg 以上の群で血清 AST 及び ALT、尿中 GGT 排泄の増加が、雌雄 15mg/kg 以上で血清ナトリウム減少、脾臓重量増加（腫大例数増加）及び肝臓重量減少（雄のみ）が、雄 15mg/kg 以上及び雌 50mg/kg 群で好酸球数減少、雄 15mg/kg 以上で血中ビリルビン増加が、雌雄 50mg/kg 群では血清塩素増加がみられると共に、免疫学的検査で脾細胞数増加、$CD3^{total}$、$CD4^{+total}$、$CD8^{+total}$、CD4+/CD8+及び CD45RA+細胞数減少などが観察された。

最高用量 50mg/kg 群では、雄 6 例及び雌 1 例が第 3 週以降に死亡又は切迫殺となった。死因は持続的血液濃縮（高 Ht 高 Hb 血）に関連した循環障害と推定された（ほとんどの例で心臓の房室弁又は心房に血栓又は線維化、複数例に腸の炎症又は血栓、2 例に腎臓尿細管壊死がみられた）。また、摂餌量が減少し、雄で体重増加抑制が認められた。その他の毒性所見として、50mg/kg 群では骨髄線維化、過骨症、多形性巨核球及びエンペリポレシス増加、肺及び骨髄の血栓、腸間膜リンパ節で赤血球貪食の増加がみられた。また、動物の一般状態悪化に二次的に起因して、胸腺・乳腺・甲状腺・膵臓の萎縮が、15mg/kg 以上では心臓の心筋肥大・変性・房室弁の変性・線維化・血栓、腎臓の尿細管変性及び腺胃粘膜の限局性びらん、雌 5mg/kg 以上（雄 15mg/kg 以上）で肺胞出血がみられた。2 週間の休薬後、心臓の房室弁の血栓及び線維化以外の所見には回復性が認められた。

雄では 15mg/kg 以上で、雌では 5mg/kg 以上で毒性所見が認められたことから、無毒性量は雄で 5mg/kg/日、雌では 5mg/kg/日未満と推定された。

2.6.6.3.1.3　ラット 4 週間回復性評価を含む 13 週間反復経口投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.4　PH-37056

各群雌雄各 10 例の Wistar 系ラットにモリデュスタットとして 0、1.5、5 及び 15mg/kg の用量となるように、モリデュスタットを Solutol HS15/ethanol/water (4:1:5 v/v/v)に溶解／懸濁して 13 週間反復強制経口投与した。対照群及び最高用量群には別途雌雄各群 10 例を回復群に設定し、最終投与後 4 週間休薬することによる所見の回復性を評価した。また、別に各群雌雄各 8 例を免疫毒性評価用動物に設定し、13 週間投与後の脾細胞の細胞数・FACS 解析・抗体価・PFC 細胞数を測定／解析して免疫系への影響を評価した。更に、各群雌雄各 6 例（対照群のみ雌雄各 3 例）をトキシコキネティクス評価用動物とした。投与量は先のラット 4 週間反復経口投与試験の成績（2.6.6.3.1.2）を基に設定した。すなわち、4 週間投与試験において 5～50mg/kg の用量では薬理作用に関連しない毒性所見は認められなかったが、50mg/kg 用量群には死亡を含む一般状態への影響が認められ、MTD を超えると考えられた。したがって、13 週間投与では 15mg/kg を高用量に、無毒性量と予想される 1.5mg/kg を低用量に、中間用量を 5mg/kg に設定した。

主要な所見を表 2.6.6.3- 2 に、TK 成績を含む所見の詳細を 2.6.7.7B に示す。

モリデュスタットの主薬理作用に関連して、雌雄 1.5mg/kg 以上の群で赤血球数・ヘモグロビン・ヘマトクリットの増加、骨髄における赤芽球造血亢進がみられた。また、MCV・MCH・MCHC の増加、血小板数・血清鉄減少もみられた。雄 1.5mg/kg 以上及び雌 5mg/kg 以上で脾細胞中の $CD3^{total}$、 CD4+、CD8+及び CD45RA+（雄 1.5mg/kg 群を除く）細胞数の減少がみられた。雌雄 5mg/kg 以上で眼底赤色化、網状赤血球数増加、リンパ球・好酸球・単球減少による白血球数減少、AST 増加、心臓及び脾臓（剖検所見として腫大／腫脹）・腎臓の重量増加、肝臓・腎臓の変色、骨髄の巨核球増多、脾臓の髄外造血亢進が、雄 5mg/kg 以上及び雌 15mg/kg 群で蛋白尿、雄 15mg/kg 群及び雌 5mg/kg 以上で HQuick 時間（プロトロンビン時間）の延長がみられた。また、全身状態の悪化に関連して雌雄 15mg/kg 群では精巣・前立腺・精嚢重量減少、副腎皮質肥大が、また、免疫毒性評価にて脾細胞数の増加がみられた。

雌雄高用量 15mg/kg 群で一般状態の悪化、及び死亡又は切迫殺が生じた。最も早期の死亡は 8 週目に生じ、9 週目より投与量を 15mg/kg から 10mg/kg に減量して投与を継続した。投与終盤には中間用量の雄 5mg/kg 群においても少数例（主試験群 1 例及び TK サテライト群 2 例）が死亡した。更に雄の TK サテライト群では採血によるストレスが加算されて、1 及び 2 例（低及び高用量群の順）の死亡が生じた。死因は持続的な高濃度血液／血液濃縮状態（高 Ht 高 Hb 血）による循環障害（大半の例では心臓の心房又は房室弁における血栓形成主因；その他に 5 例で腎の梗塞巣、各 2 例で肺及び腸間膜血管の血栓などがみられた）によると考えられた。なお、免疫毒性評価用サテライト動物の雌低用量群 1 例の死亡がみられたが、雌中用量群に死亡・切迫殺は認められず、雌低用量の投与終了時計画殺群に病理組織学的検査にて毒性所見が認められなかったことから、この雌低用量群 1 例の死亡は薬剤投与に起因したものではない可能性が高いと考えられた（当該サテライト動物群は剖検及び病理組織学的検査の対象外のため詳細な考察は不可能）。ストレスあるいは一般状態不良に関連した変化として、中・高用量群の少数例に胃のびらん、雌高用量群 1 例にパイエル板の出血・壊死がみられた。その他の毒性所見として、雌雄 15mg/kg 群で大腿骨の骨髄線維化及び過骨症が、雌 15mg/kg 群で腎臓の好塩基性（再生）尿細管及び肝臓で胆管過形成又は肥大がみられた。雄 5mg/kg 以上及び雌 15mg/kg 群で心臓弁の変性・血栓がみられた。雌雄 5mg/kg 以上の群で腎臓糸球体の腫大、心筋肥大及び肺の血管中膜肥厚が、雄 1.5mg/kg 以上及び雌 5mg/kg 以上の群に心臓弁の線維化がみられた。

4 週間の休薬後には多くの所見が回復又は軽減したが、高用量群（少数例）での線維化（心臓・肝臓）及び梗塞巣（心臓・腎臓）など血行動態への過剰なストレスとなった所見は残存した。

雄 1.5mg/kg 以上及び雌 5mg/kg 以上で毒性所見がみられたことから、無毒性量は雄で 1.5mg/kg 未満、雌で 1.5mg/kg/日と推定された。

表 2.6.6.3- 2 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験 PH-37056 の主要所見

Endpoint	Findings	Sex	Dose [mg/kg]
Mortality	Increased intercurrent mortality	M+F	≥5
Clinical observation	Reddened skin	M+F	≥5
	Poor general condition	M+F	15
General investigation	Reddened fundus of the eye	M+F	≥5
	Increased final body weight (9-13%)	F	≥5
Food intake	Decrease in food intake (6-24%)	M	≥5
Hematology	Increase in RBC count (5-33%), hemoglobin concentration (13-76%), hematocrit (10-65%)	M+F	≥1.5
	Increase in MCV, MCH, MCHC	M+F	≥5/≥1.5
	Increase in reticulocyte count (1.4- to 3.8-fold)	M+F	≥5
	Decrease in platelets count (14-66%)	M+F	≥1.5
	Prolongation of HQuick time (up to 1.4-fold)	M/F	15/≥5
	Decrease in leucocyte count (31 - 45%) driven by lymphocyte, eosinophil and monocyte decrease	M+F	≥5
Clinical chemistry[a]	Increase in AST (up to 2.8-fold)	M+F	≥5
	Increase in ALT (up to 1.5-fold)	M	≥5
	Increase in LDH	M	≥1.5
	Decrease in glucose levels (up to 21%)	M	≥1.5
	Decrease in serum iron	M+F	≥5
Urinalysis	Increased protein excretion (~9.1-fold)	M/F	≥5/15
Organ weights	Heart, spleen and kidneys weights increased relative + absolute	M+F	≥5
	Testes, prostate, seminal vesicles: decreased, abs.+ rel.	M	15
Immunotoxicity	Increase in splenic cell count	M+F	15
	Decrease in $CD3^{total}$, CD4+, CD8+ and CD45RA+ cells	M/F	≥1.5/≥5 ≥ 5
Necropsy	Spleen, heart enlarged/swollen	M+F	≥5
	Liver, kidneys, discoloration	M+F	≥5
	Liver: distinct lobulation	M/F	≥1.5/≥5
Histopathology	Bone marrow: increased erythropoiesis, dilated sinuses	M+F	≥1.5
	increased number of megakaryocytes	M+F	≥5
	Femur : myelofibrosis (bone marrow), hyperostosis	M+F	15
	Heart: Myocardial hypertrophy,	M+F	≥5
	Myocardial degeneration and thrombosis	M/F	≥5/15
	valvular fibrosis	M/F	≥1.5/≥5
	Spleen: increased extramedullary hematopoiesis	M+F	≥5
	reduced cellularity, white pulp and marginal zones		15
	Adrenal: cortical hypertrophy	M+F	15
	Lungs: hypertrophy of tunica media of vessels	M+F	≥5
	Liver: bile duct hypertrophy/hyperplasia	F	15
	Kidneys: glomerular enlargement	M+F	≥5
	increased basophilic tubules	F	15
	tubular ferruginous pigment	M	15

ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; CD3: cluster of differentiation 3 T-cells; CD4+: helper T-cells; CD8+: killer T-cells; F: female; M: male; HQuick: Hepato-Quick; LDH: lactate dehydrogenase; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV: mean corpuscular volume; RBC: red blood cell

a The earliest unscheduled death in the high dose group occurred in week 8 of the study. As a consequence the high dose was reduced from 15 mg/kg to 10 mg/kg from week 9 onwards

2.6.6.3.1.4　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.5　PH-37098

各群雌雄各 20 例の Wistar 系ラットにモリデュスタットナトリウムを、Solutol HS15/ethanol/water (4:1:5 v/v/v)を媒体として 0、0.321、1.07 又は 3.21mg/kg となる用量（モリデュスタット量換算で 0、0.3、1.0 及び 3mg/kg）で 26 週間反復強制経口投与した。投与量は先の同系ラット 4 及び 13 週間反復投与試験の成績（2.6.6.3.1.2 及び 2.6.6.3.1.3）を基に設定した。第 1 及び第 25 週目の投与 0.5、1、2、4、7 及び 24 時間後に各群雌雄各 3 例より採血してトキシコキネティクスを評価した。

主要所見を表 2.6.6.3- 3 に、TK 成績を含む詳細を 2.6.7.7C に示す。

表 2.6.6.3- 3　　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験 PH-37098 の主要所見

Endpoint	Findings	Sex	Dose [mg/kg]
Clinical findings	Skin: reddened	M+F	≥0.3
Clinical Pathology	Increase in erythrocyte count (10-31%), hemoglobin concentration (6-60%), hematocrit value (5-47%), MCH, MCV, and prolongation of HQuick time (1.2 to 1.3-fold)	M+F	≥1
	Increase in reticulocytes (62-85%)	M+F	3
	Changes in erythrocyte morphology	M	3
	Decrease in platelet count (15-34%)	M+F	≥1
	Decrease in transferrin concentration	M/F	≥1/≥0.3
	Increase in ALT, AST(1.2- to 1.4-fold)	M+F	3
	Increase in LDH (2.4- to 2.8-fold)	M+F	3
	Increase in ferritin	M+F	3
	Increase in excreted amount of protein (~3-fold)	M+F	3
Organ weight	Increased weights of heart, spleen, kidneys, liver (males only)	M+F	3
Necropsy	Spleen: discoloration	M+F	≥0.3
	Spleen: enlarged or swollen	M+F	3
	Heart: enlarged	M	3
Histopathology	Bone marrow, spleen: increased erythropoiesis	M+F	≥1
	Heart: valvular fibrosis; dilation of heart (males only)	M+F	3
	Lungs: congestion; vascular mineralization (males only)	M+F	3
	Kidneys: glomerular enlargement	M/F	≥1/3
	Increased congestion	M+F	3
	Increased chronic progressive nephropathy	M	3

F: female; M: male; LDH: lactate dehydrogenase; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCV: mean corpuscular volume

モリデュスタットの主薬理作用に関連して、雌雄 0.3mg/kg 以上で皮膚の赤色化、脾臓の変色が、雄 1mg/kg 以上及び雌 0.3mg/kg 以上で血中トランスフェリン濃度の減少が、雌雄 1mg/kg 以上で赤血球数・ヘモグロビン量・ヘマトクリット値・MCV 及び MCH の増加、骨髄及び脾臓での造血亢進、血小板数減少及び HQuick 時間の延長が、雌雄 3mg/kg 群で網状赤血球数増加、血中 ALT 及び AST、LDH、フェリチン及び尿たん白排泄の増加、心・脾（腫脹又は腫大）・腎（うっ血）・肝重量の増加、雄 3mg/kg 群で赤血球形状の変化、心臓腫大（心室拡張）の増加及び肺うっ血がみられた。

毒性所見として、雌雄 3mg/kg 群に心臓弁の線維化、雄 3mg/kg 群で肺の小血管の鉱質化及び慢性腎症発生頻度増加、雄 1mg/kg 以上及び雌 3mg/kg 群で腎臓糸球体腫大がみられた。

なお、投与期間中、対照群を含めて合計 7 例の死亡又は切迫殺（対照 4、中用量 1 及び高用量 2 例）がみられたが、投与過誤あるいは TK 採血に関連したもので、モリデュスタット投与に起因したものではないと判断した。

以上の成績から、無毒性量は雄で 0.3mg/kg/日、雌で 1.0mg/kg/日と推定された。

2.6.6.3.2　非げっ歯類の反復投与毒性

2.6.6.3.2.1　イヌ 2 週間回復性評価を含む 4 週間反復経口投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.6　PH-36352

各群雌雄各 3 例のビーグル犬にモリデュスタット 0、5、15 及び 50mg/kg を、PEG400/エタノール（9:1 v/v）に溶解／懸濁して 4 週間反復強制経口投与した。対照群及び高用量群には別途雌雄各 2 例を回復群に設定し、最終投与後 2 週間の休薬後に屠殺して所見の回復性を評価した。投与量はイヌ 2 週間のパイロット試験にて 20mg/kg までの投与量は主薬理作用である赤血球／網状赤血球増加を含む所見のみが認められた為、MTD を求める目的で 50mg/kg を高用量に設定した。

主要な所見を表 2.6.6.3- 4 に、TK 成績を含む詳細を 2.6.7.7D に示す。

雌雄 5mg/kg 以上で赤血球数・網状赤血球数の増加、血清カリウム値の軽度増加、骨髄造血亢進及び脾臓の髄外造血亢進・巨核球増多、肝組織中酵素（7-ethoxycoumarin deethylase、aldrine epoxidase 及び epoxide hydrolase）の減少が、雄 5mg/kg 以上及び雌 15mg/kg 以上で剖検所見としての骨髄変色が、雄 5mg/kg 以上及び雌 50mg/kg 群で肝組織中酵素 UDP-GT(uridine 5'-diphospho glucuronyl transferase)減少が、雌雄 15mg/kg 以上で MCH の減少、雌 15mg/kg 以上で胸腺サイズ減少が、雄 50mg/kg 群及び雌 5mg/kg 以上で大動脈内外膜の明瞭化が、雌雄 50mg/kg 群で MCV 減少、剖検で心臓と脾臓（雌）の腫大、肝臓グリコーゲン増加（雄）が観察された（毒性とは判断せず）。また、肝臓・膵臓・十二指腸のうっ血が種々の用量で観察された。MCH 及び MCV の減少は 2 週間の休薬後にも変化が残存したが、その他の所見は完全に回復したか明らかな回復傾向を示した。

雄高用量 50mg/kg 群で軽度な体重増加抑制が認められた。その他の毒性所見として、雌雄 50mg/kg 群で肺の小静脈変化が、雄 50mg/kg 群で腎臓のリピドーシスと十二指腸粘膜びらんが、雌 50mg/kg 群で肺の顆粒球症、脾臓白脾髄の出血、顎下腺の限局性の萎縮及び大腿骨で骨髄線維化がみられた。

無毒性量は雌雄共に 15mg/kg/日と推定された。

表 2.6.6.3- 4 イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験 PH-36352 の主要所見

Endpoint	Findings	Sex	Dose [mg/kg]
Clinical observation	Increased incidence of salivation	M	50
	Slight reduction in body weight gain [b]	M	50
Food + water intake	Slightly reduced food intake	M	50
Hematology	Increase of RBC count, no clear dose-relationship, plateau almost reached with the low dose	M+F	≥5
	Decrease of MCV (1-7%) [a]	M+F	50
	Decrease of MCH (5-11%) [a]	M+F	≥15
	Increase in reticulocytes (2- to 3-fold) [b]	M+F	≥5
Clinical chemistry	Slight increase of potassium values (up to 36%)	M+F	≥5
Liver tissue	Decrease of 7-ethoxycoumarin deethylase, aldrine epoxidase, epoxide hydrolase (up to 70%)	M+F	≥5
	Decrease of uridine 5' -diphospho-glucuronyl transferase (up to 65%)	M/F	≥5/50
	Decrease of glutathione-S-transferase (27%)	F	50
Necropsy	Bone marrow: discoloration	M/F	≥5/≥15
	Heart and spleen: enlargement	M+F	50
	Pancreas: discoloration	M/F	≥15/50
	Thymus: diminished in size	F	≥15
Histopathology	Bone marrow, spleen: increased hematopoiesis, increased number of megakaryocytes [b]	M+F	≥5
	Aorta: prominent vasa vasorum [b]	M/F	50/≥5
	Lungs: basophilic material in the tunica media of the pulmonary veins [b]	M/F	≥5/50
	Increase in granulocytes in lung vessels [b]	M/F	≥5/50
	Liver: increased glycogen storage [b]	M	50

[a] Not reversible during the 2-w recovery period due to the half-life of erythrocytes
[b] Reversible, F: female; M: male; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCV: mean corpuscular volume; RBC: red blood cell

2.6.6.3.2.2 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.7 PH-36672 & PH-36672A

各群雌雄各 4 例のビーグル犬に、モリデュスタット 0、2.5、7.5 及び 25mg/kg を PEG400/エタノール（9:1 v/v）に溶解／懸濁して 13 週間反復強制経口投与した。投与量は先のイヌ 4 週間反復投与試験の成績（2.6.6.3.2.1）を基に設定した。低用量 2.5mg/kg は臨床有効曝露量の約 3 倍で毒性所見は発現せずに薬理作用のみが期待される用量として、高用量 25mg/kg は臨床有効曝露量の約 50 倍で、薬理作用のみでなく何らかの毒性徴候が予想される用量として設定した。中間用量は低及び高用量のおおよその幾何平均値で用量反応関係を評価するのに適した用量として設定した。

認められた主要所見を表 2.6.6.3- 5 に、TK 成績を含む詳細を 2.6.7.7E に示す。

薬剤投与に関連した影響として、雄 7.5mg/kg 以上及び雌 2.5mg/kg 以上の群で、一般症状観察で鼻部赤色化が、雌雄 2.5mg/kg 以上で赤血球数・ヘマトクリット値・ヘモグロビン量の増加、骨髄造血及び脾臓の髄外造血亢進、心臓冠状動脈中膜への好塩基性物質沈着が、雌雄 7.5mg/kg 以上で MCV 及び MCH の減少、GLDH・ALT・カリウムの増加、剖検所見として臓器の変色と脾臓の腫大、脾臓における巨核球増多を伴う髄外造血亢進が、雄 7.5mg/kg 以上及び雌 2.5mg/kg 以上で LDH 値増加が、雄 7.5mg/kg 以上及び雌 25mg/kg 群で肺血管中膜への好塩基性物質沈着が、雄 7.5mg/kg 以上で肝細胞肥大が観察された（毒性所見と判断せず）。

毒性所見として、雌高用量 25mg/kg 群で体重増加抑制（摂餌量の減少傾向を伴う）がみられた。その他の毒性所見として、雌雄 25mg/kg 群に肝臓の小葉中心性変性と線維化、脾臓のコラーゲン線維増加及び膵臓の腺房萎縮が、雌雄 7.5mg/kg 以上で骨髄線維化、大腿骨及び胸骨の過骨症、腎糸球体腫大、肺の血栓症及び胸腺萎縮が、雄 7.5mg/kg 以上で精巣及び前立腺の発育遅延が、雌 7.5mg/kg 以上で卵巣・子宮・膣の発育遅延がみられた。

以上のように、雌雄 7.5mg/kg 以上で毒性所見がみられたことから、無毒性量は雌雄共に 2.5mg/kg/日と推定された。

表 2.6.6.3- 5 イヌ 13 週間反復経口投与試験 PH-36672／A の主要所見

Endpoint	Findings	Sex	Dose [mg/kg]
Body weight	Slight reduction in body weight	F	25
Food intake	Slightly reduced food intake	F	25
Clinical observation	Reddening of snout	M+F	≥7.5/≥2.5
Hematology	Increase of RBC count (28-97%), hematocrit (22-62%), hemoglobin (24-46%)	M+F	≥7.5/≥2.5
	Decrease of MCV & MCH	M+F	≥7.5
Clinical chemistry	increase GLDH (up to7-fold), ALT (up to 3-fold),	M/F	≥7.5/≥2.5
	Increasd ALT (up to 3-fold),	M	≥7.5
	increase alkaline phosphatase (ALP) (~2-fold)	M+F	25
	LDH increase (up to 4-fold)	M+F	≥7.5
	Potassium increase (up to 37%)	M	25
Necropsy	Reddish discoloration of various organs	M+F	≥7.5
	Spleen: enlargement	M+F	≥7.5
	Thymus: diminished in size	M	25
Histopathology	Bone marrow: increased hematopoiesis, increased number of megakaryocytes	M+F	≥2.5
	Bone (femur/sternum) hyperostosis	M+F	≥7.5
	Bone marrow: myelofibrosis	M+F	≥7.5
	Kidneys: glomerular enlargement	M+F	≥7.5
	Heart: basophilic material in the tunica media of the coronary vessels	M/F	≥2.5/≥7.5
	Lungs: basophilic material in the tunica media of the pulmonary vessels	M/F	≥7.5/25
	Liver: hepatocellular hypertrophy	M	≥7.5
	centrilobular degeneration and fibrosis	M+F	25
	Spleen: Increase extramedullary erythropoiesis associated with an increase of megakaryocytes	M+F	≥7.5
	Increased amount of collagen fibers	M+F	25
	Ovary, uterus, vagina: juvenile	F	≥7.5
	Testes, prostate: juvenile	M	≥7.5
	Pancreas: acinar atrophy	M+F	25
	Thymus: atrophy	M+F	≥7.5

ALP: alkaline phosphatase; ALT: alanine aminotransferase; F: female; M: male;
GLDH: glutamate dehydrogenase; LDH: lactate dehydrogenase; MCH: mean corpuscular hemoglobin;
MCV: mean corpuscular volume; RBC: red blood cell

2.6.6.3.2.3　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.8　PH-37341

各群雌雄各 4 例のビーグル犬にモリデュスタットとして 0、0.5、1.5 及び 5mg/kg の用量となるよう、モリデュスタットナトリウムを PEG400/エタノール（9:1 v/v）に溶解／懸濁して 39 週間反復強制経口投与した。投与量は先のイヌ 13 週間反復投与試験の成績（2.6.6.3.2.2）を基に設定した。予定臨床治療量での曝露量の約 20 倍が得られる高用量として 5mg/kg を、その約 2 倍相当の曝露量となる低用量（薬理作用の二次的な影響以外の毒性は出現しないと予測）として 0.5mg/kg を設定した。用量反応関係を検討するための中間用量として 1.5mg/kg を設定した。

認められた主要所見を表 2.6.6.3- 6 に、TK 成績を含む詳細を 2.6.7.7F に示す。

表 2.6.6.3- 6　　イヌ 39 週間反復強制経口投与試験 PH-37341 の主要所見

Endpoint	Findings	Sex	Dose [mg/kg]
Mortality	Mortality secondary to a strong hematocrit increase and subsequent degenerative changes	F	5
Hematology	Increase of RBC count (21-99%), hematocrit (13-67%), hemoglobin (20-56%)	M/F	5/≥1.5
Clinical chemistry	GLDH increase (up to 5.2-fold),	M+F	5
	ALT and LDH increase (up to 2-fold)	M	5
	Iron decrease (~60%)	M+F	5
Necropsy	Bone marrow: discoloration	M+F	5
	Kidneys & Spleen: enlargement/swollen	M+F	5
Histopathology	Increased medullary and extramedullary hematopoiesis	M+F	≥1.5
	Bone marrow fibrosis	M+F	5
	Cerebrum: vacuolation of neuropil	F	5
	Congestion in various organs	M+F	≥0.5
	Minimal vasculopathy in heart, lungs	M+F	≥1.5
	Kidneys: glomerular enlargement, associated with mesangial thickening	M+F	≥1.5
	increase in basophilic tubules	M+F	5
	Liver: prominent/hyperplastic bile ducts	M+F	5
	sporadic necrosis (hypoxic)	M	5
	Spleen: sporadic focal necrosis	M	5
	Heart:arteritis/periarterisis	M	5
	Stomach: sporadic thrombosis	F	5
	Rectum: sporadic thrombosis	F	5
	Immune organs; Spleen & Tonsil: atrophy/involution	F	5
	Thymus: atrophy	M+F	≥1.5
	Sciatic nerve: axonal degeneration	M+F	5

薬剤投与に関連して雌雄 0.5mg/kg 以上で種々の臓器のうっ血、雌 1.5mg/kg 以上及び雄 5mg/kg 群に赤血球数・ヘマトクリット値・ヘモグロビン量の増加、骨髄造血及び髄外造血亢進が、雌雄 5mg/kg 群に血清鉄増加が観察された。

雌高用量 5mg/kg 群は 4 例全例が順次運動性の低下から重度な一般状態の悪化を呈した為に 21～36 週目（146～252 日目）にかけて切迫殺した。一般状態悪化の成因はモリデュスタットの薬理作用である造血亢進による血液濃縮・多血状態の持続に関連した、血液循環障害からの種々の臓器の血栓又は変性性変化と推察された。重度な組織所見として雌 3 例で大脳の急性神経線維網空胞化、雌 1 例で胃及び直腸静脈の多発性血栓がみられた。

その他の毒性所見として、雌雄 5mg/kg 群で骨髄線維化、腎臓好塩基性（再生）尿細管の増加、坐骨神経の軸索変性及び肝内胆管増生（血中 GLDH 及び ALT 増加を伴う）が、雄 5mg/kg 群で心臓の小動脈炎／小動脈周囲炎、脾臓の巣状壊死及び肝臓の壊死（血中 LDH 及び GGT 増加を伴う；酸素欠乏性変化と推察）、雌 5mg/kg 群で脾臓及び扁桃の萎縮がみられた。更に、雌雄 1.5mg/kg 以上で胸腺の萎縮及び腎臓の糸球体腫大（メサンギウム肥厚を伴う）が観察された。

以上から、無毒性量は雌雄共に 0.5mg/kg/日と推定された。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

ネズミチフス菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ TK 試験及びマウス骨髄小核試験より遺伝毒性を評価した。復帰突然変異試験では陰性、マウスリンフォーマ TK 試験で陽性結果がみられ、マウス骨髄小核では明確な結論が得られなかったことから、以下の *in vivo* 試験を追加実施した。すなわち、ラットを用いた 4 週間反復投与試験（2.6.6.3.1.2）の投与終了時の骨髄及び肝臓を用いて、骨髄細胞での染色体異常試験及び小核試験並びに肝臓での UDS 試験を実施した。また、ラット単回経口投与後の肝臓 UDS 試験及びマウス単回腹腔内投与後の骨髄細胞染色体異常試験を実施した。

2.6.6.4.1　*In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1　ネズミチフス菌を用いる復帰突然変異試験

参照項目：4.2.3.3.1.1　PH-35906

ネズミチフス 5 菌種（TA1535、TA100、TA1537、TA98 及び TA102）を用いて、プレート法及びプレインキュベーション法（37℃17 時間）による復帰突然変異試験を実施した。モリデュスタット濃度として、プレート法では 16～5000μg/plate を、プレインキュベーション法では 5～1581μg/plate を用い、いずれも代謝活性化系（S9 mix）の添加時及び非添加時で復帰変異コロニー数を評価した。プレート法及びプレインキュベーション法のいずれにおいても 500 以上又は 1581μg/plate の高濃度では細胞毒性が認められた。

試験条件及び試験成績を 2.6.7.8A に示す。

その結果、いずれの方法・菌種においても、代謝活性化系の添加及び非添加にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加は観察されず、モリデュスタットは遺伝子突然変異を誘発しなかった。一方、陽性対照では復帰変異コロニー数の増加が認められた。

2.6.6.4.1.2　マウスリンフォーマ $TK^{+/-}$ 試験

参照項目：4.2.3.3.1.2　A46413

マウスリンフォーマ L5178Y 細胞を用いて thymidine kinase locus に対するモリデュスタットの突然変異活性を評価した。S9 mix の添加時及び非添加時共に 2 回の独立した試験を実施した。モリデュスタット濃度は 1 回目の試験では 10～175μg/mL、2 回目の試験では 10～50μg/mL（S9 mix 非添加時）ないし 100μg/mL（S9 mix 添加時）とした。

試験条件及び試験成績を 2.6.7.8B に示す。

1回目の試験ではS9 mix非添加時の100μg/mL、S9 mix添加時の25及び50μg/mLで、2回目の試験ではS9 mix非添加時の20～40μg/mL、S9 mix添加時の32μg/mLで突然変異コロニー数の増加傾向が観察され、突然変異誘発能陽性と判定された。

2.6.6.4.2　*In vivo*遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1　マウス腹腔内投与後の骨髄小核試験

参照項目：4.2.3.3.2.1　PH-35182

各群雄5例のNMRI系マウスを用いて、モリデュスタットの0、50、100及び200mg/kgを24時間間隔で2回腹腔内投与後の骨髄細胞中小核誘発能を評価した（モリデュスタット塩酸塩を0.5%Cremophor懸濁液として投与）。陽性対照として別の雄マウス5例にcyclophosphamide 20mg/kgを単回腹腔内投与した。投与量は200及び400mg/kgを2日間に2回腹腔内投与した同系マウスのパイロット試験において、400mg/kgで2/3例の死亡、200mg/kg以上でアパシー、粗毛、体重減少、横臥、けいれん、呼吸困難及び閉眼などの明確な毒性症状が観察され、MTDは200mg/kgと考えられたため、最高用量を200mg/kgに設定した。

試験成績を2.6.7.9Aに示す。

その結果、低用量50mg/kg以上のすべてのモリデュスタット投与群でアパシー、粗毛、痙攣、呼吸困難などの一般症状が最終投与24時間後まで観察された。陰性対照群に一般症状の発現は認められず、これら症状発現からモリデュスタット投与群で十分な全身曝露があったことが示唆された。

高用量200mg/kg群では小核を有する多染性赤血球数の（背景データを上回る）わずかな増加が観察されたが、文献的な多染性赤血球の小核発生率に近く、本試験結果からモリデュスタットの小核誘発作用の有無を結論することはできなかった。

2.6.6.4.2.2　ラット4週間反復経口投与後の骨髄小核試験

参照項目：4.2.3.2.3　PH-36369

モリデュスタットの4週間反復経口投与試験（投与量0、5、15及び50mg/kg；2.6.6.3.1.2）の各群雄5例の計画殺時採取の骨髄標本を用いて小核試験を実施した。

試験成績を2.6.7.9Bに示す。

その結果、高用量50mg/kg群で小核を有する多染性赤血球数の増加傾向（統計学的有意差なし）及び小核を有する正染性赤血球数の増加がみられたが、本試験結果からモリデュスタットの小核誘発作用の有無を結論できなかった。一方、小核を有する正染性赤血球数と網状赤血球数には正の相関関係があった（Figure 2.6.7.9B参照）。すなわち、50mg/kg群で認められた小核を有する正染性赤血球数の増加は、造血刺激によって増加した網状赤血球数に起因するもので、染色体異常誘発を示すものではないことが示唆された。

2.6.6.4.2.3　マウス腹腔内単回投与後の骨髄細胞染色体異常試験

参照項目：4.2.3.3.2.2　PH-36384

各群 5 例の雄性 NMRI 系マウスにモリデュスタットの 0、50、100 及び 200mg/kg を腹腔内単回投与し、投与 24 時間後（全群）及び 48 時間後（0 及び 200mg/kg 群）に骨髄を採取し、分裂中期骨髄細胞の染色体異常細胞数を評価した。陽性対照として、別に 5 例の同系雄マウスに cyclophosphamide 20mg/kg を腹腔内単回投与して投与 24 時間後の骨髄細胞を計測した（全例屠殺 2 時間前に colcemid 4mg/kg を腹腔内単回投与）。投与量は同系統の雌雄マウスのパイロット試験結果から、腹腔内単回投与時の MTD と考えられた 200mg/kg を最高用量に、以下 100 及び 50mg/kg の用量を設定した。

試験成績を 2.6.7.9C に示す。

その結果、24 及び 48 時間後のいずれの用量群においても、ギャップを含む又は含まない染色体異常細胞数の増加は認められず、モリデュスタットに染色体異常誘発性は認められなかった。一方、陽性対照 cyclophosphamide 群では染色体異常細胞数の増加が認められた。

2.6.6.4.2.4　ラット 4 週間反復経口投与後の骨髄細胞染色体異常試験

参照項目：4.2.3.2.3　PH-36369

モリデュスタットのラット 4 週間反復経口投与毒性試験（投与量 0、5、15 及び 50mg/kg；2.6.6.3.1.2）の TK 各群雌 5 例の骨髄標本を用いて、分裂中期骨髄細胞の染色体異常数を評価した。陽性対照として、別に 5 例の雌ラットを用い、cyclophosphamide 20mg/kg を腹腔内単回投与して同様に分裂中期骨髄細胞の染色体異常細胞数を評価した（染色体周期を分裂中期で止めるために全例に屠殺 2.5 時間前に colcemid 2mg/kg を単回腹腔内投与）。

試験成績を 2.6.7.9D に示す。

その結果、15mg/kg 群でギャップを除く染色体異常細胞の出現頻度の軽度な増加がみられたが、用量依存的ではなかったこと、その頻度が背景データ範囲内にあったことから、薬剤投与に起因した変化ではないと判断した。すなわち、モリデュスタットは染色体異常を誘発しなかった。一方、陽性対照 cyclophosphamide 群ではギャップの有無に拘わらず、染色体異常細胞の出現頻度の増加が認められた。

2.6.6.4.2.5　ラット経口単回投与後の肝臓不定期 DNA 合成試験

参照項目：4.2.3.3.2.3　PH-36222

各群 4 例の雄性 Wistar 系ラットにモリデュスタット（ethanol／solutol HS15／water 1:4:5 媒体に懸濁）の 0、500 及び 1000mg/kg を強制単回経口投与し、投与 4 及び 16 時間後に肝臓を採取して不定期 DNA 合成（UDS）を評価した。投与量は雄ラットを用いたパイロット試験で 500、1000 及び 2000mg/kg を経口単回投与した結果、2000mg/kg 群で 2/3 例の死亡、500mg/kg 以上の群でアパシー、運動性低下、粗毛、けいれん、呼吸困難、呼吸促拍及び閉眼などの一般症状が発現し、MTD は 1000mg/kg と推定されたことから、1000 及び 500mg/kg を設定した。陽性対照として 2-acetylaminofluoren 100mg/kg（16 時間後採取）及び N,N'-Dimethylhydrazine 40mg/kg（4 時間後採取）を経口単回投与し、同様に肝臓中の UDS を評価した。

試験成績を 2.6.7.9E に示す。

その結果、投与 4 時間後まで一般症状の発現は認められなかったが、16 時間後肝臓採取動物ではいずれの用量群でもアパシー、粗毛、けいれん及び閉眼などの毒性症状が発現し、十分なモリデュスタットの全身曝露があったことが示された。遺伝毒性評価ではネット核グレイン数及び核グレイン数のいずれにおいても、モリデュスタット投与群で陰性対照群との間に差は認められなかった。すなわち、モリデュスタットに肝臓 UDS 誘発能は認められなかった。一方、陽性対照群では明らかな増加が認められた。

2.6.6.4.2.6　ラット 4 週間反復経口投与後の肝臓不定期 DNA 合成試験

参照項目：4.2.3.2.3　PH-36369

モリデュスタットのラット 4 週間反復経口投与毒性試験（投与量 0、5、15 及び 50mg/kg；2.6.6.3.1.2）の投与終了時の各群雄 3～4 例の肝臓標本を用いて UDS を評価した。陽性対照群として、別に 3 例の雄ラットを用い、屠殺 16 時間前に 2-acetylaminofluorene 100mg/kg を経口単回投与して同様に肝臓の UDS を評価した。

試験成績を 2.6.7.9F に示す。

その結果、15 及び 50mg/kg 投与群の肝臓に腫大（肝臓へのモリデュスタット曝露を示唆する）がみられたが、5mg/kg 群も含めて標識核の増数は認められなかった。すなわち、モリデュスタットに肝臓 UDS 誘発能は認められなかった。一方、陽性対照群ではネット核グレイン数及び複製細胞出現頻度の増加が認められた。

以上の一連の *in vivo* 遺伝毒性試験結果から、モリデュスタットに遺伝毒性はないと結論した。

2.6.6.5　がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.5.1　マウスにおける2年間飲水投与によるがん原性試験

参照項目：4.2.3.4.1.1　PH-39298

各群雌雄各 60 例の CD-1 系マウスにモリデュスタットナトリウムを飲料水に混じて、0、0.54、1.61 及び 5.35mg/kg（モリデュスタットとして 0、0.5、1.5 及び 5mg/kg）の用量で 2 年間飲水投与した。更に各群雌雄 25 例をサテライト動物に割り付け、血液学的検査、血液生化学的検査及び TK（投与初日及び 53 週目の血漿中濃度より評価／72 週目はモニタリングのみ）用の採血を実施する共に、剖検して組織を保存した。投与量は先述の CD-1 系マウスを用いた 13 週間飲水投与による用量設定試験の成績（2.6.6.3.1.1 PH-37097）を基に設定した。マウス 13 週間試験の MTD は 10mg/kg（モリデュスタットナトリウムとして）であったが、一連のラット及びイヌの反復投与試験成績（及び rhEPO 製剤の毒性試験情報）から、投与期間を延長することにより MTD はより小さくなることが予想されたことから、2 年間がん原性試験の最高用量はモリデュスタットとして 5mg/kg を、以下、中及び低用量として 1.5 及び 0.5mg/kg を設定した。なお、本がん原性試験の用量は FDA と協議し合意した。モリデュスタット長期投与後の影響は、臨床検査（生死、一般症状、摂餌量及び摂水量、体重）、臨床病理学的検査（血液学的及び血液生化学的検査）及び病理学的検査（剖検、器官重量及び病理組織学的検査）所見より評価した。

試験成績の詳細を 2.6.7.10.1 に示す。

その結果、モリデュスタット最高用量 5mg/kg までの 2 年間飲水投与時の忍容性は良好で、体重を含めて動物の一般状態、生死、摂餌量及び摂水量、臨床病理学的検査及び器官重量に毒性所見は認められなかった。病理学的検査所見においても、モリデュスタット投与に関連した特定の腫瘍性及び前腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかった。

すなわち、モリデュスタットは雌雄共に最高用量 5mg/kg まで発がん性を示さなかった。

雌雄最高用量 5mg/kg 群において、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の増加が、骨髄造血亢進（雌 5mg/kg 群）又は脾臓における髄外造血亢進（雄 1.5mg/kg 以上及び雌 5mg/kg 群）を伴って観察されたが、モリデュスタットに期待する薬理作用としての赤血球造血作用の結果と考えられた。

TK 評価では Cmax 及び AUC に明らかな性差は観察されず、概ね用量に比例して曝露が増加した。投与初日に比して 378 日目には曝露量が若干減少したが、性差は認められなかった。定常状態（378 日目）の高用量群の C_{max} は雄で 32.7μg/L、雌で 64.6μg/L、AUC は雄で 429μg·h/L、雌で 719μg·h/L であった。

2.6.6.5.2　ラットにおける2年間反復経口投与によるがん原性試験

参照項目：4.2.3.4.1.2　R-13234

各群雌雄各65例（内15例はTKサテライト動物）のWistar系ラットにモリデュスタットナトリウムを、Solutol HS15/ethanol/water(4:1:5 v/v/v)を媒体として、0（媒体投与群及び0.9%生理食塩液投与群）、0.107、0.321及び1.07mg/kgの用量（モリデュスタット量換算で0.1、0.3及び1.0mg/kg）にて104週間（約2年間）反復強制経口投与した。投与量はラット26週間反復強制経口投与試験（2.6.6.3.1.4）において、3mg/kg群では心血管の毒性所見（心臓弁の線維化など）がみられたが、1mg/kg群は造血亢進など軽度な影響に留まってMTDと考えられたことから、1mg/kgを高用量に、以下0.3及び0.1mg/kgを設定した。なお、本がん原性試験の用量はFDAと協議し合意した。モリデュスタットのがん原性は、動物の生死、一般症状、体重、摂餌量、触知可能な腫瘤の有無、病理学的検査成績に基づいて評価した。その他、眼科学的検査、臨床病理学的検査を含めた。投与初日及び第52週（プロファイリング）、並びに第104週（モニタリング）に採血してTKを評価した。

試験成績の詳細を2.6.7.10.2に示す。

薬剤投与に起因した死亡は認められなかった。また、薬剤投与に関連した体重、摂餌量・摂水量、眼科学的検査所見、器官重量、剖検及び病理組織学的検査所見（腫瘍性及び非腫瘍性病変）への影響は認められなかった。雌の中・高用量群で副腎重量増加がみられたが、剖検あるいは病理組織学的検査で関連する異常所見は認められなかった。

第50週（試験348日目）の血液学的検査の結果、雌雄高用量1mg/kg群では、ヘモグロビン及びヘマトクリット値の有意な増加が観察された。また、同群雌雄でAPTTの延長、同群雄で赤血球数増加及び血小板数減少、同群雌でMCV及びMCHの増加がみられた。更に雄の全薬剤投与群で網状赤血球数の増加がみられた。また、雄0.3mg/kg以上及び雌の全薬剤投与群でヘモグロビン粒度分布幅の増加が観察された。

薬剤投与に関連した剖検所見は認められず、薬剤投与に関連する非腫瘍性及び腫瘍性の病理組織学的所見は認められなかった。

腫瘍の発生頻度及び形態に薬剤投与に関連する影響は認められず、モリデュスタットは雌雄共に最高用量1.0mg/kgまで発がん性を示さなかった。

第52週のTK評価の結果、高用量群のC_{max}は雄で225μg/L、雌で293μg/L、AUC_{0-7}は雄で463μg·h/L、雌で627μg·h/Lであった。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

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

参照項目：4.2.3.5.1.1　PH-37929

各群雌雄 24 例の Wistar 系ラットに、モリデュスタットを Solutol HS15/ethanol/water (4:1:5 v/v/v)媒体に懸濁して、0、2、6 及び 20mg/kg の用量にて以下の期間、反復強制経口投与した。雄動物には交配前 4 週間から交配期間中及び剖検前日まで、雌動物には交配前 2 週間から交配期間中及び交尾成立後 7 日目（妊娠 6 日）まで反復強制経口投与した。母動物は交尾成立後 14～16 日目に帝王切開して子宮内検査を実施した。投与量は同系ラット 4 週間反復投与試験成績（2.6.6.3.1.2）を基に設定した。4 週間反復投与試験において、50mg/kg は MTD を超える用量であったことから、20mg/kg（推定臨床曝露量の 30 倍相当）を最高用量に、以下 6 及び 2mg/kg（同 3 倍相当）を設定した。

主要な所見を表 2.6.6.6- 1 に、試験成績の詳細を 2.6.7.12 に示す。

雄動物では 6mg/kg 以上で死亡率が増加した（20mg/kg 群 3 例死亡・4 例切迫殺、6mg/kg 群 1 例死亡）。20mg/kg 群では試験 3～4 週目（22～29 日目）に体重増加量の減少がみられ、最終体重も減少した。また、6 及び 20mg/kg 群では投与初期（試験 1 週目）に摂餌量の減少がみられた。雌動物では 20mg/kg 群で妊娠初期（妊娠 0～7 日目）に摂餌量及び体重増加量の減少がみられた。

剖検時、雌雄 6 及び 20mg/kg 群では全身的な血管拡張を呈し、雄 20mg/kg 群では脾臓及び心臓の腫大がみられた。死亡又は切迫殺された動物では更に諸臓器（胃、腸管の一部、胸腔、肺及び膀胱）に変色・液体貯留などの所見がみられた。

20mg/kg 群で着床後死亡の増加が観察された。また、これに関連して生存胎児数の減少も認められた。6mg/kg 群においても着床後死亡の増加傾向がみられたものの、対照群との差異は軽度で有意な増加ではなかった。

精巣及び卵巣重量、授精率、受胎能、妊娠指数、平均黄体数、平均着床数、発情周期、授精回数、着床前死亡などの生殖パラメータに薬剤投与に関連した影響は認められなかった。

雄授胎能に対しては最高用量 20mg/kg まで影響は認められなかった。

以上の成績から、無毒性量は雌雄動物の一般毒性については 2mg/kg/日、雄授胎能については 20mg/kg 日、雌受胎能及び初期胚発生については 2mg/kg/日と推定された。

表 2.6.6.6- 1 ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験 PH-37929 の主要所見

Endpoint	Findings	Sex	Dose [mg/kg]
	General investigation		
Mortality	3 males of the high dose group and 1 male of the mid dose group were found dead; 4 males of the high dose group sacrificed in moribund condition	M	≥6
Body weight	Decreased body weight gain in the premating period (Day 22-29)	M	20
	Reduced final body weight	M	20
	Reduced body weight gain (day 0-7 p.c.)	F	20
Food intake	Decreased during 1st week of treatment	M	≥6
	Decreased in week 1 p.c.	F	20
Necropsy	Generalized “enlarged” blood vessels	M+F	≥6
	Fertility and gestation		
Postimplantation loss	increased		20
Viable fetus	Decreased corresponding to postimplantation loss		20

F: female; M: male; p.c.: post coitum

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラットにおける胚・胎児発生毒性試験

参照項目：4.2.3.5.2.1 PH-38264

各群 22 例の授精雌 Wistar 系ラットの妊娠 6～17 日目までの器官形成期に、モリデュスタットを Solutol HS15/ethanol/water (4:1:5 v/v/v)媒体に懸濁して、0、3、10 及び 30mg/kg/日の用量にて連日強制経口投与した。投与量はパイロット試験を基に設定した。妊娠 21 日目に帝王切開により胎児を摘出し、被験薬剤投与に対する子宮内発生への影響を検討した。

認められた主要所見を表 2.6.6.6- 2 に、その詳細を 2.6.7.13.1 に示す。

最高用量 30mg/kg 群では母動物の毒性徴候として、平均体重増加量の減少及び一過性の摂餌量減少が観察された。一方、30mg/kg まで補正体重での体重増加量、外見観察、行動、生死及び肉眼観察所見に被験薬剤投与の影響は認められなかった。

子宮内発生に関しては、30mg/kg まで妊娠率に影響は認められなかったが、30mg/kg 群では胎盤の肉眼観察での色調変化及び重量増加が観察された。

非特異的な胎児毒性として、30mg/kg 群に着床後死亡の増加及び胎児体重の減少が観察された。これらの影響は、妊娠母動物及び胎児に対する、モリデュスタットによるヘマトクリット・血液粘度の増加に続発した、胎盤及び臓器中血流の変化という薬理学的作用による二次的な影響と推察される。

モリデュスタットの 30mg/kg は眼の奇形の発生率を増加させた。それらは平坦な眼球原基及びサイズの小さい眼球の発生率の増加及び種々の程度の小眼球症の発生であった。

以上の成績から、母動物の一般毒性学的無毒性量、生殖能に対する無毒性量及び胎児に対する無毒性量はいずれも 10mg/kg/日と推定された。

表 2.6.6.6- 2　ラット胚・胎児発生毒性試験 PH-38264 における主要所見

Endpoint	Findings	Dose [mg/kg]
General investigation		
Body weight	Decreased body weight development	30
Food intake	Transiently decreased	30
Gestation and intrauterine development		
Morphological appearance of placentas	Pale placentas; greenish/yellowish placental border	30
Weight of placentas	Increased	30
Postimplantation loss	Increased	30
Weight of fetuses	Decreased	30
Fetal malformation	Increased incidence of microphthalmia (flat eye rudiments and/or reduced size of eye balls)	30

2.6.6.6.2.2　ウサギにおける胚・胎児発生毒性試験

参照項目： 4.2.3.5.2.2　PH-38267

各群 20 例の授精雌 Himalayan ウサギの妊娠 6～20 日目までの器官形成期に、モリデュスタットを 0.5%aqueous Tylose MH 300 P2（methylhydroxyethylcellulose）に懸濁し、0、2、6 及び 20mg/kg の用量にて反復経口投与した。別途各群 3 例の授精雌ウサギをサテライト動物に設定し、同様に反復経口投与して TK を評価した。投与量は 50、75、100 及び 150mg/kg を連日投与した授精雌ウサギの用量設定忍容性試験において、150mg/kg で母動物の死亡、100mg/kg で母動物の体重減少と全胚吸収が、75mg/kg で母動物の摂餌量及び体重減少と着床後死亡の顕著な増加がみられ、各群 3 例の受精雌ウサギに 0、6、20 及び 60mg/kg を連日投与したパイロット試験では、20 及び 60mg/kg 群に妊娠率の低下（1 例の全胚吸収）、20mg/kg 群で着床後死亡の増加がみられた。したがって、20mg/kg を最高用量に、以下、6 及び 2mg/kg を設定した。妊娠 29 日目に帝王切開により胎児を摘出し、被験薬剤投与による雌動物の一般毒性及び子宮内発生への影響を検討した。

試験成績の詳細を 2.6.7.13.2 に示す。

その結果、最高用量 20mg/kg まで母動物の忍容性及び子宮内発生に影響は認められなかった。

以上の成績から、母動物の一般毒性学的無毒性量、生殖能に対する無毒性量及び胎児に対する無毒性量はいずれも 20mg/kg/日と推定された。

2.6.6.6.3　ラットにおける出生前及び出生後の発育及び母体の機能に関する試験

参照項目：4.2.3.5.3.1　R-12718（参）
4.2.3.5.3.2　R-13169

各群 22 例（4 群）の交尾成立雌性 Wistar ラットに、モリデュスタットナトリウムを、0、4、8 及び 16mg/kg（モリデュスタットとして 0、3.7、7.5 及び 15mg/kg）の用量にて、妊娠 6 日目から授乳 21 日目まで 1 日 1 回連日強制経口投与した（投与期間：約 1 ヵ月）。対照群には媒体としたエタノール／Solutol HS15／精製水（1:4:5 v/v/v）を同様に投与し、投与容量はいずれも 10mL/kg とした。投与量は用量設定試験（2.6.7.11：R-12718）、ラット 4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.2）及びラット胚・胎児発生毒性試験（2.6.6.6.2.1）の結果を参考に、母動物に何らかの毒性発現が予測されるものの、出生児には重度の毒性発現が予測されない高用量として 15mg/kg を、ヒトの予測薬効曝露範囲内の 3.7mg/kg を低用量に、用量反応評価が可能な幾何平均として中間用量に 7.5mg/kg を設定した。

母動物の毒性は一般症状、体重、摂餌量、妊娠率、出産率及び出生児の発育に基づいて評価した。出生児の身体発達は耳介の展開、切歯萌出及び眼瞼開裂により、機能発達は平面立ち直り反応、空中立ち直り反応及び瞳孔反射によって評価した。離乳後 F1 世代に選択した出生児について、性成熟、聴覚性驚愕反応、自発運動及び学習記憶を評価した。F1 出生児の 10 週齢時には各用量群内で F1 交配して交尾結果を評価した。F0 及び F1 世代及び死亡児、Culling による余剰児及び選択児はすべて剖検し、肉眼的異常を記録した。

試験成績の詳細を、2.6.7.14 に示す。

高用量 15mg/kg 群母動物において、授乳 18 日目に 1 例が死亡した（死亡発見）。また、別の 1 例が授乳 2 日目に全児死亡を呈したので安楽殺した。中用量 7.5mg/kg 群母動物において、授乳開始日（分娩日）に 1 例が一般状態悪化により切迫殺に供され、薬剤投与に関連したものと判断した。一方、妊娠 13 日目に別の母動物 1 例の死亡が発見されたが、投与過誤によるもので薬剤投与に関連したものではなかった。

高用量 15mg/kg 群の 1 例が授乳 22 日目に、沈静、肛門～生殖器周辺部の赤色分泌物、半閉眼、努力性呼吸及び立毛を呈した。同群母動物では他にも液状便、沈静、立毛及び背湾姿勢が散発的に観察された。液状便は中間用量 7.5mg/kg 群の 1 例にも観察された。投与 1 時間以降に発現するような一般症状は認められなかった。

平均体重及び体重増加量に薬剤投与による影響は認められなかった。高用量 15mg/kg の摂餌量が、投与開始日（妊娠 6 日目）から投与期間を通して対照群より少なかった。この変化は毒性所見ではないが薬剤投与による影響と考えられた。

1 群 22 例の F0 母動物の内、各群 22、20、17 及び 21 例（対照媒体、3.7、7.5 及び 15mg/kg 群の順）が生存児を出産した。分娩、妊娠期間、生存率及び離乳率に薬剤投与による影響は認められなかった。一方、7.5 及び 15mg/kg 群では平均着床後死亡率の増加が観察され、その結果として平均生存児数の減少（出産日及び生後 4 日目の母動物当たりの生存児数の減少）がみられた。これらは薬剤投与に関連した影響と考えられた。

7.5mg/kg 群母動物 1 例が妊娠期間 24 日の経過後の出産日（授乳 0 日目）に、一般状態の悪化（難産の可能性）により切迫殺された。

7.5 及び 15mg/kg 群では母動物当たりでの死亡児数が増加したため、結果として出生児の生存指数に薬剤投与の影響が認められた。7.5 及び 15mg/kg 投与母動物の出生児には、体温低下（触れると冷たい）、胃内無乳（無授乳）、小型及び虚弱（small & weak）という一般症状が観察さ

れた。また、母動物当たりでの胃内無乳（無授乳）出生児及び死産発現率の増加が観察され、これらは薬剤投与に関連した影響と考えられた。

15mg/kg 群の雌雄出生児の体重は出生日及び 21 日目共に対照群に比して軽かった。7.5mg/kg 群雄出生児においても出生日の平均体重が軽かった。これらも薬剤投与に関連したものと考えられた。15mg/kg 群では離乳日の平面立ち直り反応成功率の減少がみられた（機能発達の遅延と考えられる）が、他の機能発達検査で薬剤投与に関連した影響は認められなかった。

高用量 15mg/kg 投与母動物の最終剖検において、2 例に脾臓腫大が観察された。また、腎臓の暗色調が 15mg/kg 群 10 例及び 7.5mg/kg 群 1 例に観察された。肝臓の暗色調、斑点又は肥厚の発現率増加が 15 及び 7.5mg/kg 群にみられ、薬剤投与に関連した変化と考えられた。

F1 世代に選択した出生児はいずれも最終屠殺時まで生存し、薬剤投与に関連した一般症状の発現は認められなかった。一方、15mg/kg 投与群の出生児は平均体重が軽く、雌出生児では F1 交配後の妊娠初期まで持続した。7.5mg/kg 投与群の雌出生児にも同じく低平均体重が妊娠期まで観察された。これらの影響は薬剤投与に関連したものと考えられた。

出生児 F1 の神経行動評価、交尾行動及び妊娠率に薬剤投与に関連した影響は認められなかった。F1 世代の最終剖検時にも薬剤投与に関連した影響は認められなかった。

以上の成績から、母動物の一般毒性学的無毒性量及び生殖能に対する無毒性量、出生児の無毒性量はいずれも 3.7mg/kg/日と推定された。

2.6.6.7 局所刺激性試験

独立した胃腸管局所刺激性試験は実施しなかった。経口投与による反復投与毒性試験では、ラット（2.6.6.3.1）及びイヌ（2.6.6.3.2）を用い、ラットでは最長 26 週まで、イヌでは最長 39 週まで反復強制経口投与した、一連の反復投与毒性試験における胃腸管の病理組織学的検査所見よりモリデュスタットの胃腸管局所刺激性を評価した。その結果、ラット 4 週間反復投与試験（2.6.6.3.1.2）及び 13 週間反復投与試験（2.6.6.3.1.3）の中及び高用量群の少数例に腺胃粘膜の限局的なびらんがみられたが、前胃に病理所見は認められなかったことから、一般状態不良又はストレスに関連したものであり、局所刺激性を示唆する所見とは考えられなかった。その他の反復投与毒性試験においても、胃腸管粘膜に局所刺激性を示唆する病理組織学的所見は認められず、モリデュスタットは胃腸管に対する局所刺激性はないと結論した。

なお、臨床でモリデュスタットのバイオアバイラビリィティを評価する目的で作製された静脈内投与用製剤に関して、ウサギを用いてその局所刺激性を評価した（4.2.3.6.1 PH-37928）。

試験成績の概要を 2.6.7.16 に示す。

雌雄 4 例の NZW 系ウサギを用い、モリデュスタットナトリウム注射用製剤（1mg/mL）を、右側の耳介静脈内へ 0.5mL/動物、右側の伏在静脈辺縁へ 1.0mL/動物の容量で単回投与し、反対側の左耳介静脈内及び左伏在静脈辺縁へは陰性対照として 0.9%生理食塩液を同様に同容量を単回投与して比較した。投与 3 及び 8 日目に動物を屠殺して投与部位の病理検査を実施した。その結果、投与 5 日後までに消失する軽度～中等度の局所刺激性所見がみられたが、陰性対照生理食塩液投与側と同程度の変化であり、本注射用製剤は誤って静脈周囲に漏れた場合でも臨床で問題となる重度な局所刺激性は認められないと結論した。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 原薬中に混入する可能性のある不純物の安全性

最終製剤中に混入する可能性のある遺伝毒性陽性の不純物は認められなかった。遺伝毒性陰性の不純物に関しては安全性確認を必要とされない原薬規格 [redacted]%以下で管理されている（2.3.S.2.4 参照）。

2.6.6.8.2 3T3 NRU（ニュートラルレッド取り込み）光毒性試験

参照項目：4.2.3.7.7.1 PH-36905

モリデュスタットは 290～720nm の範囲で光を吸収を示すことから、*in vitro* 3T3 NRU 光毒性試験を実施した。マウス線維芽細胞 L5178Y 細胞株 3×10^5 細胞当たりモリデュスタットナトリウムを 0.1～500μg/mL の濃度にて処置 3 日目のニュートラルレッド取り込みを評価した。

その結果、光毒性係数（photoirritation factor：PIF）は 1 であった（2.6.7.17.1）。したがって、モリデュスタットに光毒性はないと結論した。

2.6.6.9　考察及び結論

モリデュスタットの毒性を評価するために ICH M3 ガイドラインに従った一連の毒性試験を実施した。

＜単回投与毒性＞

単回経口投与後の概略の致死量はラット及びマウスで約 2000mg/kg、イヌで 50mg/kg より大きく、臨床最大用量 3.3mg/kg（200mg/60kg/日）と比較して十分高かった。

＜反復投与毒性＞

ラット及びイヌを用いた一連の反復投与毒性試験で認められた所見は、概して主薬理作用である造血亢進に基づく多血状態の持続に関連したものであった。また、rhEPO 製剤の反復投与毒性試験（ダルベポエチン　アルファ［ネスプ］[1)] 又はエポエチン　ベータ　ペゴル[ミルセラ][2)]）で観察されているものと同様であった。主要な所見を「薬理作用」及び「毒性変化」に大別して以下にその発現機序を考察する（なお、毒性変化と判断した所見も、概して薬理作用の延長上の変化と考えられる）。

「薬理作用」

① 赤血球造血に関連した変化

【主な所見】赤血球数・ヘモグロビン濃度・ヘマトクリット値及び網状赤血球数の増加、骨髄での造血亢進

【発現機序】モリデュスタットは HIF-PH を阻害することで主として腎臓間質において疑似低酸素状態を生じさせ、内因性のエリスロポエチン産生を誘導して造血を刺激することから、観察されたこれらの変化は本薬の期待された薬理作用と考えられる。

② 過剰な造血亢進による消耗性変化

【主な所見】MCV 及び MCH の変化（ラット：増加、イヌ：減少）、血清鉄の減少

【発現機序】イヌ 4、13 及び 39 週間反復投与試験で観察された MCV 及び MCH 減少は、rhEPO 製剤の反復投与毒性試験で観察されている変化 [1,2)] と同じであった。rhEPO 製剤の毒性試験では赤血球造血による鉄利用の亢進に基づく鉄欠乏状態を反映し、赤血球が小球性低色素性を示したと考察されている [1)]。一方、モリデュスタットのラット反復投与試験ではその発現機序は明らかでないが、MCV 及び MCH は一貫して増加し、4 週間試験ではモリデュスタットと rhEPO 製剤で異なる方向の変化であった。しかしながら、ラット 26 週間試験では rhEPO 製剤の毒性試験 [1)]においてもモリデュスタット試験と同じく MCV 及び MCH の増加していたことから、過剰な多血状態での MCH 及び MCV の一時的変化（ラット 4 週間反復投与時）の差異に大きな毒性学的意義があるとは考えられなかった。ラット 13 週間及びイヌ 39 週間試験においては rhEPO 製剤の反復投与毒性試験と同様に血清鉄の減少が認められたが、モリデュスタットのラット 26 週間試験では血清鉄への影響は認められなかった。

③ 過剰な造血に対する反応性又は適応性変化

【主な所見】肝臓・脾臓における髄外造血亢進、AST・LDH・ビリルビン増加（ラット及びイヌ）、カリウム増加（イヌ）

【発現機序】肝臓・脾臓における髄外造血亢進は rhEPO 製剤の反復投与毒性試験 [1,2]で観察されている変化と同じく、赤血球が過剰に産生されることにより、主たる造血の場である骨髄が飽和したことによる変化と考えられる。多血状態では破壊される赤血球も増加することから、その分解産物であるビリルビン、赤血球中に高濃度に存在する AST、LDH 及びカリウムがいずれも血漿中で増加したと考えられる。

④ 多血状態に直接関連する変化

【主な所見】皮膚（四肢・耳介）の発赤、眼科学的検査での眼底の発赤、各種臓器のうっ血、血糖値の減少、APTT／HQuick 及び PT の延長

【発現機序】rhEPO 製剤の反復投与毒性試験 [1,2]で観察されている変化と同様に、赤血球造血が過剰に亢進して多血状態になり、その後、多血に起因した循環血液量の増加を引き起こし、それにより血液は体内の静脈及び毛細血管床に貯留して、末梢での血液のうっ滞を起こすと考えられる。この状態を示しているのが、四肢・耳介の発赤、並びに各種臓器のうっ血と考えられる。血糖値の減少は、過剰に増加した赤血球の解糖系におけるグルコース消費による変化と考えられる。また、凝固時間の延長は多血状態で著しくヘマトクリット値が増加することによる相対的な血漿量の減少に起因して、必要な抗凝固剤の相対量が血漿に対して過剰になったことによる変化と考えられる。

⑤ 巨核球造血に関連する変化

【主な所見】血小板数の変化（ラット：減少、イヌ 4 週間：増加）、骨髄、脾臓における巨核球造血亢進（ラット及びイヌ）

【発現機序】rhEPO 製剤の反復投与毒性試験 [1,2]で観察されている変化と同様の変化がみられた。巨核球系前駆細胞は EPO 受容体を発現しており、HIF-PH 阻害薬であるモリデュスタット投与により産生された内在性エリスロポエチンを介して分化誘導されると考えられる。血小板は赤血球と共に多能性造血幹細胞から分化・増殖するため、モリデュスタット投与によって増加すると考えられる。一方、その減少は赤芽球性造血が著しく亢進した結果、巨核球増殖の場が失われたためと推察される。

⑥ その他の変化

ラット 4 及び 13 週間投与試験で観察された脾細胞数の増加、$CD3^{total}$、$CD4^{+total}$、$CD8^{+total}$、CD4+/CD8+ 及び CD45RA+細胞数減少の発現機序は明らかではないが、主として（造血亢進又は血液濃縮状態が持続している）高用量群で観察され、脾臓における髄外造血亢進に関連した可能性が推察されるが、休薬により回復又は軽減する可逆的変化であった。

「毒性変化」

① 体重、体重増加量及び摂餌量の減少

体重及び摂餌量の変化は、多血状態が長期間持続すること及び多血状態が急速に進展したことによるストレスの寄与が大きいものと推定している。

② 器質的変化

A) 心臓の血栓、心筋変性、房室弁の血栓・炎症・線維化（ラット：血清カリウム減少を伴う）、小動脈炎／小動脈周囲炎（イヌ）

前述のように、反復投与試験では、過剰な赤血球造血が血流のうっ滞をもたらし、その結果、血栓が生じやすくなり、また、血栓が形成されなくても、低酸素状態などに陥ると考えられる。心臓においては血栓の発生と、それに伴う心筋変性、壊死及び炎症性細胞浸潤が認められたと考えている。ラットでみられた血清カリウム減少は心臓所見に関連した可能性が考えられる。

B) 肝臓の血栓（ラット）、血管周囲線維化（ラット・イヌ）、炎症細胞浸潤・小葉中心性肝細胞変性・壊死（イヌ；時に血中 ALT 増加を伴う）、

肝臓においても過剰な赤血球造血による血流量の低下が生じ、低酸素状態及び血栓形成から肝細胞の変性、壊死が生じたと考えられる。

C) 腎臓の尿細管壊死・梗塞・糸球体腫大（ラット及びイヌで時にメサンギウム肥厚を伴う）、再生尿細管（ラット及びイヌ；時に血中 ALT 増加を伴う）

rhEPO 製剤の反復投与試験（イヌ 13 及び 26 週間）[1)]ではメサンギウム基質の増生が観察されたが、その発現機序として、過剰な赤血球造血による血流のうっ滞、血流のうっ滞による血栓形成、毛細血管の変形（拡張）は腎臓メサンギウム細胞への物理的刺激などをもたらすと考えられている。メサンギウム細胞の物理的刺激は細胞増殖を引き起こしたものと考えられる。同様の所見として、本剤のイヌ 39 週間試験においても軽度なメサンギウムの肥厚を伴う糸球体の腫大がみられたことから、rhEPO 製剤と同様に過剰な造血亢進による血流うっ滞に基づく機序が想定される。

D) 胃（ラット）又は十二指腸（イヌ）のびらん、直腸の血栓（イヌ）、盲腸の血栓・壊死、パイエル板の出血・壊死（ラット）

胃及び十二指腸のびらんは動物の一般状態不良／ストレスに起因した変化と考えられる。また、盲腸・直腸の変化は過剰な赤血球造血が血流のうっ滞をもたらし、粘膜上皮細胞に障害が引き起こされた結果と考えられる。

E) 坐骨神経の（神経線維）変性（イヌ）

イヌの 39 週反復投与試験の 5mg/kg において坐骨神経の変性がみられたが、坐骨神経においても過剰な赤血球造血によって血流がうっ滞していたと考えられることから、坐骨神経の神経線維の変性の原因として低酸素の可能性が考えられる。

F) 唾液腺の腺管萎縮（ラット）、膵臓の腺房萎縮、精巣・前立腺及び卵巣・子宮・膣の成熟不全（イヌ）

これらの変化が認められた動物は高用量群であり、低血糖、摂餌量及び体重の減少が認められていることから低栄養であったことが推察され、この影響で変化が認められたと考えている。

G) 骨髄線維化及び過骨症（ラット及びイヌ）

骨髄の線維化はラット及びイヌの 4 週間以上の反復投与毒性試験で認められた。赤血球増加状態の動物で認められ、rhEPO 製剤投与時及び真性多血症においても認められている [1)]。骨髄枯渇に続発する変化と考えられるが、線維化の原因として、TGF-β1（Transforming growth factor-β1）の上昇が関係するという報告もあることから、巨核球や血小板中に含まれる TGF-β1 や PDGF（Platelet derived growth factor）といった線維増生・骨形成因子が関与している可能性が考えられている [1)]。また、TGF-β1 には、赤芽球系前駆細胞の反応を抑制する作用もあることから、多血状態に対するネガティブフィードバック作用との関連の可能性も考えられている [1)]。

過骨症はラット及びイヌ共に 4 週間以上の反復投与毒性試験で認められ、同様に rhEPO 製剤反復投与時にも認められ、上述の骨髄線維化が亢進した結果、骨新生及び骨梁の増加に至ったものと推察されている [1)]。

＜代謝物の安全性＞

ヒト、ラット及びイヌ肝細胞培養系にてモリデュスタット添加後に同定された唯一の代謝物は、N-グルクロン酸抱合体（M-1）であった（2.6.4.5）。非アシルグルクロン酸抱合体は、一般に解毒物質と考えられ、かつ未変化体と比べてより水溶性であることから、安全性の懸念はないと判断している。

＜遺伝毒性＞

標準的組合せの遺伝毒性試験を実施した結果、サルモネラ菌を用いた復帰変異原性試験は陰性、マウスリンフォーマ $TK^{+/-}$試験は陽性であった。マウスにおける腹腔内 2 回投与後の骨髄小核試験では結論できなかった。雄ラットへの 4 週間反復投与後、正染性赤血球の小核出現頻度は有意な増加を示したが、小核を有する多染性赤血球には有意な増加は認められなかった。血液学的及び病理組織学的検査結果、4 週間反復投与試験での網状赤血球数と小核出現頻度には正の相関が認められたこと（Figure 2.6.7.9B 参照）、並びにラット及びマウスへの単回投与後のエリスロポエチン濃度（2.6.2.2.2.1.1 EPO 誘導 4.2.1.1.3 PH-36103)によって示されたように、単回及び反復投与後に認められた小核誘導は、造血が十分に刺激された条件下で生じた。種々の EPO〔貧血患者尿抽出 EPO（uhEPO）及び rhEPO〕投与後[3,4,5,6,7)]又は出血後[8,9)]に認められているように、造血刺激は骨髄及び末梢血中における小核増加の原因として確立している。更に rhEPO を用いた試験から、小核の増加は構造的染色体異常の誘発によるものではなく、骨髄を用いた遺伝毒性試験では一貫して陰性結果であった [5,7)]。また、遺伝毒性に関する IWGT working group は、造血刺激の亢進状態で生じる小核増加は遺伝毒性を示すものではないと報告している[10)]。モリデュスタットの単回（マウス）及び反復（ラット）投与後の骨髄においても構造異常染色体の増加は認められなかったことから、小核試験及び染色体異常試験で示されたモリデュスタットの *in vivo* 遺伝毒性プロファイルは、上述の EPO による誘発などよく知られた造血刺激下での影響とよく一致している。造血刺激が亢進した条件下での小核誘導の機序として、細胞分裂の正確性の減少が想定されている [3,4,8)]。また、rhEPO 市販製剤では、反復投与毒性試験において、末梢血の小核と形態学的に相関するハウエルジョリー小体の増加が報告されている [1,2)]。モリデュスタット反復

投与後の倍数体出現頻度の増加は、造血亢進による二次的影響と考えられ、結果として有糸分裂中の細胞比率が増加した。高用量 rhEPO 投与による造血刺激後においても、倍数体比率の増加が認められている（2.6.2.2.2.5.1 ラット　4.2.1.1.3 PH-36103）。マウスリンフォーマ $TK^{+/-}$試験で認められたモリデュスタットの遺伝毒性陽性結果は、広範な *in vivo* 試験において確認されなかった。マウス及びラットへの単回及び反復投与後の骨髄に染色体異常誘発は認められなかったこと、また、単回及び反復投与後のラット肝臓を用いた UDS 試験の結果が陰性であったことから、*in vitro* で観察された遺伝毒性は、*in vivo* では意義のない所見であることが確認された。

以上を要約すると、モリデュスタットには生物学的に意義のある遺伝毒性リスクはないと結論できる。

＜がん原性＞

マウスにモリデュスタットとして最高用量 5mg/kg までの 2 年間連日投与時の忍容性は良好で、体重を含めて動物の一般状態、生死、摂餌量及び摂水量、臨床病理学的検査及び器官重量に毒性所見は認められなかった。モリデュスタット投与に関連した特定の腫瘍性及び前腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかった。最高用量 5mg/kg 群において、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の増加が、骨髄造血亢進又は脾臓における髄外造血亢進を伴って観察されたが、期待される薬理作用としての赤血球造血作用の発現と考えられた。最高用量は予定臨床最大用量での曝露量（AUCu）の 0.2／0.3 倍であったが、ヘモグロビン及びヘマトクリット値が平均値比較で対照群の約 1.2 倍高値を維持して 2 年間連日投与された結果、がん原性が認められなかったことは意義があると考えられる。

ラットにおいてはモリデュスタットとして最高用量 1mg/kg までの約 2 年間の連日強制経口投与時の忍容性は良好で、体重を含めて動物の一般状態、生死、摂餌量、摂水量及び器官重量に毒性所見は認められなかった。病理学的検査所見においても、モリデュスタット投与に関連した特定の腫瘍性及び前腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかった。最高用量 1mg/kg 群ではヘモグロビン量及びヘマトクリット値の増加、並びに赤血球数増加傾向が一貫して認められ、当該用量は予定臨床最大用量投与時の曝露量（AUCu）の 0.1／0.2 倍ではあったが、マウス試験と同様に、高ヘモグロビン／高ヘマトクリット状態を維持して 2 年間連日反復投与された結果、がん原性は認められなかった。

＜生殖発生毒性＞

ラット受胎能試験において、雄 6mg/kg 以上で一般状態の不良及び死亡率の増加がみられたが、ヘマトクリット増加に続く臓器血流への二次的影響という薬理学的作用機序に関連したものと考えられた。雌 20mg/kg 群（予定臨床最大用量投与時の曝露量 AUCu の 3.1 倍）の胎児では、着床後死亡の増加とこれに続く生存胎児数減少も認められたが、同様に母動物及び／又は胎盤血流への多血状態の持続的影響に関連した機序が想定される。最高用量 20mg/kg まで雄授胎能への影響は認められなかった。

ラット器官形成期投与試験において、モリデュスタット 30mg/kg（予定臨床最大用量投与時の曝露量 AUCu の 7.3 倍相当）の投与は胎児における眼の奇形を増加させた。胎児の発生過程における HIF 活性上昇に関連した小眼球症の発生が報告されていること[11)]から、この所見はモリデュスタットの薬理学的作用機序に関連したものと考えられる。更に、同じく 30mg/kg 群において母動物に毒性徴候及び非特異的な胎児毒性（着床後死亡・後期吸収胚増加、生存胎児数及び生存児

平均体重減少）が観察され、これらもモリデュスタットによるヘマトクリットの増加、血液粘度の増加の結果に続発する、胎盤及び臓器血流の変化という薬理作用に関連した変化と推定される。10mg/kg（予定臨床最大用量投与時の曝露量 AUCu の 2.0 倍相当）以下の用量では影響は認められなかった。

ウサギ器官形成期投与試験においては、モリデュスタットは最高用量 20mg/kg（予定臨床最大用量投与時の曝露量 AUCu の 2.8 倍相当）まで母動物毒性を誘発せず、子宮内発生にも影響を及ぼさなかった。

ラット出生前及び出生後の発育及び母体の機能に関する試験では、母動物への毒性用量（7.5 及び 15mg/kg；予定臨床最大用量投与時の曝露量 AUCu の 1.2 倍及び 2.3 倍相当）投与時には、着床後死亡の増加、平均生存児数の減少、胃内無乳出生児及び死産児の増加、出生児の低体重、及び機能発達の一部遅延（15mg/kg 群のみ）が観察されたが、母動物の一般状態悪化に続発した二次的な影響と考えられた。3.7mg/kg（予定臨床最大用量投与時の曝露量 AUCu の 0.7 倍相当）投与時には母動物及び出生児共に毒性所見は認められなかった。

＜光毒性＞

モリデュスタットは、290～720nm の範囲でわずかに光を吸収するが、*in vitro* 3T3NRU 試験を実施したところ、PIF は 1 であり、光毒性のリスクは認められなかった。

＜曝露量＞

一連の毒性試験における曝露量と予定臨床最大用量投与時の曝露量との比（MoE）を表 2.6.6.9- 1 に示す。前述のごとく、健康動物へのモリデュスタットの反復連日投与は、高ヘモグロビン・高ヘマトクリット値の多血状態を招き、その持続は rhEPO 製剤の毒性試験においても報告されているように、全身諸臓器に血栓をはじめとする種々の毒性所見を惹起し、投与期間の長期化によってその毒性用量・無毒性量は小さくなった。しかしながら、投与期間が長期化しても認められる毒性所見は短期反復投与時と質的に同様であり、薬理作用（造血亢進）に関連しない影響は認められなかった。

表 2.6.6.9- 1 各種毒性試験における定常状態での曝露量及びその臨床最大曝露量との比（MoE）

Daily dose [mg/kg]	Sex	Total exposure				Unbound exposure			
		C_{max}		AUC(0-24)		$C_{max,u}$		$AUC(0-24)_u$	
		[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE	[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE
13-week repeated-dose toxicity study in mice									
3.2	M	28.5	0.01	289	0.04	14.6	0.02	149	0.1
10.9	M	105	0.04	988	0.2	54.0	0.1	508	0.4
3.1	F	22.3	0.01	335	0.05	11.5	0.02	172	0.1
10.9	F	69.0	0.02	959	0.1	35.5	0.1	493	0.4
4-week repeated-dose toxicity study in rats									
5	M	546	0.2	3014	0.5	187	0.3	1031	1.0
15	M	1848	1.0	9226	1.4	632	1.1	3155	2.4
50	M	6876	2.4	34269	5.3	2352	4.0	11720	8.8
5	F	519	0.2	3502	0.5	177	0.3	1198	1.0
15	F	1612	1.0	9064	1.4	551	0.9	3100	2.3
50	F	8177	2.9	43864	6.8	2797	4.7	15001	11.2
13-week repeated-dose toxicity study in rats (males and females pooled)									
1.5	M+F	200	0.1	979	0.2	68.4	0.1	335	0.2
5	M+F	574	0.2	3140	0.5	196.3	0.3	1074	1.0
15/10	M+F	1020	0.4	5930	1.0	348.8	0.6	2028	1.5
26-week repeated-dose toxicity study in rats									
0.3	M	37.5	0.01	137	0.02	12.8	0.02	46.9	0.03
1	M	141	0.05	476	0.1	48.2	0.1	162.8	0.1
3	M	342	0.1	1590	0.2	117.0	0.2	543.8	0.4
0.3	F	46.5	0.02	146	0.02	15.9	0.03	49.9	0.04
1	F	167	0.06	695	0.1	57.1	0.1	237.7	0.2
3	F	732	0.3	1830	0.3	250.3	0.4	625.9	0.5
4-week repeated-dose toxicity study in dogs (males and females pooled)									
5	M+F	2445	0.9	3240	0.5	982.9	1.7	1302	1.0
15	M+F	8283	2.9	13695	2.1	3329.8	5.6	5505	4.1
50	M+F	40800	14.2	80680	12.5	16401.6	27.6	32433	24.2
13-week repeated-dose toxicity study in dogs (males and females pooled)									
2.5	M+F	934	0.3	1530	0.2	375.5	0.6	615	0.5
7.5	M+F	4400	1.5	6680	1.0	1768.8	3.0	2685	2.0
25	M+F	16800	5.9	30200	4.7	6753.6	11.4	12140	9.1
39-week repeated-dose toxicity study in dogs (males and females pooled)									
0.5	M+F	146	0.05	285	0.04	58.7	0.1	115	0.1
1.5	M+F	491	0.2	821	0.1	197.4	0.3	330	0.2
5	M+F	2450	0.9	3880	1.0	984.9	1.7	1560	1.2
2 years carcinogenicity toxicity study in mice									
0.5	M	5.85	0.002	73.3	0.01	3.0	0.005	37.7	0.03
1.5	M	15.5	0.01	173	0.03	8.0	0.01	88.9	0.07
5.0	M	32.7	0.01	429	0.1	16.8	0.03	221	0.2
0.5	F	5.85	0.002	87.9	0.01	3.0	0.005	45.2	0.03
1.5	F	16.2	0.01	170	0.03	8.3	0.01	87.4	0.07
5.0	F	64.6	0.02	719	0.1	33.2	0.06	370	0.3
2 years carcinogenicity toxicity study in rats									
0.1	M	20.0	0.01	47.7	0.01	6.8	0.01	16.3	0.01
0.3	M	44.0	0.02	153	0.02	15.0	0.03	52.3	0.04
1	M	225	0.1	508	0.1	77.0	0.1	173.7	0.1
0.1	F	30.6	0.01	71.1	0.01	10.5	0.02	24.3	0.02
0.3	F	78.6	0.03	189	0.03	26.9	0.05	64.6	0.05
1	F	293	0.1	689	0.1	100.2	0.2	235.6	0.2
Human exposure[d] at clinical maximal dose									
200 mg [a]		2866		6470		593		1339	

(to be continued)

表 2.6.6.9- 1 各種毒性試験における定常状態での曝露量及びその臨床最大曝露量との比（MoE）（続き）

Daily dose	Sex	Total exposure				Unbound exposure			
		C_{max}		AUC(0-24)		$C_{max,u}$		$AUC(0-24)_u$	
[mg/kg]		[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE	[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE
Fertility and early embryonic developmental study in rats [b]									
2	M	218	0.1	1206	0.2	75	0.1	412	0.3
6	M	655	0.2	3617	0.6	224	0.4	1237	0.9
20	M	2464	0.9	12301	1.9	843	1.4	4207	3.1
2	F	208	0.1	1401	0.2	71	0.1	479	0.4
6	F	623	0.2	4202	0.6	213	0.4	1437	1.1
20	F	2149	0.7	12085	1.9	735	1.2	4133	3.1
Embryo-fetal toxicity study in rats									
3	F	317	0.1	2190	0.3	108	0.2	749	0.6
10	F	1010	0.4	7660	1.2	345	0.6	2620	2.0
30	F	5100	1.8	28700	4.4	1744	2.9	9815	7.3
Embryo-fetal toxicity study in rabbits									
2	F	302	0.1	574	0.1	96	0.2	182	0.1
6	F	1590	0.6	2630	0.4	504	0.8	834	0.6
20	F	10000	3.5	12000	1.9	3170	5.3	3804	2.8
Pre- and postnatal developmental toxicity study in rats [c]									
3.7	F	384	0.1	2591	0.4	131	0.2	886	0.7
7.5	F	806	0.3	4532	0.7	276	0.5	1550	1.2
14.9	F	1612	0.6	9064	1.4	551	0.9	3100	2.3
Human exposure [d] at clinical maximal dose									
200 mg [a]		2866		6470		593		1339	

fu: [%]; human: 20.7, rat: 34.2, mouse: 51.4, dog: 40.2, rabbit: 31.7
NOAELs were shown in bold or underlined.
a : maximal clinical therapeutic dose, MoE: multiple of exposures
b: Exposures in fertility study were extraporated from those obtained from 4-week study in rats (exposure at 2 mg/kg = exposure at 5 mg/kg in 4-week study x 2/5, exposure at 6 mg/kg = exposure at 5 mg/kg in 4-week study x 6/5, exposure at 20 mg/kg = exposure at 15 mg/kg in 4-week study x 20/15).
c: Exposures in PPND study were extraporated from those obtained from 4-week study in rats (exposure at 3.7 mg/kg = exposure at 5 mg/kg in 4-week study x 3.7/5, exposure at 7.5 mg/kg = exposure at 15 mg/kg in 4-week study x 1/2, exposure at 15 mg/kg = exposure at 15 mg/kg in 4-week study in female rats).
d: C_{max} and AUC at 200 mg molidustat were estimated by using mean of the highest C_{max}/D and AUC/D values in 2 or 3 studies in CKD patients.
C_{max}: Study 15557 (dose: 20 mg), 17767 (dose: 75 mg) and 16370 (dose: 80 mg)
AUC: Study 15557 (dose: 20 mg) and 17767 (75 mg)

要約すると、ラット及びイヌへの反復投与後に認められた影響はいずれも、モリデュスタットの薬理作用に関連した二次的なものと考えられ、標的外の毒性は認められなかった。反復投与毒性試験における全身曝露は、非臨床安全性プロファイルの特徴づけを可能にするものであった。モリデュスタットは遺伝毒性リスクを有さず、がん原性も認められなかった。また、光毒性のリスクも認められなかった。一方、ラット器官形成期投与試験成績からモリデュスタットは胎児に眼球奇形を誘発する可能性が示唆された。また、ラット出生前及び出生後の発育及び母体の機能に関する試験では、着床後死亡及び死産児の増加、生存児数の減少、出生児の低体重及び機能発達の一部遅延などが観察された。したがって、妊婦へのモリデュスタット投与は推奨されない。

以上のように、モリデュスタットの非臨床安全性プロファイルは、rhEPO 製剤投与時のものと同質であり、遺伝毒性及びがん原性リスクも認められなかったことから、長期投与の臨床使用を支持するものである。

2.6.6.10　　図表

図表は適切に配置した。

引用文献一覧

1) ネスプ®〔ダルベポエチン　アルファ（遺伝子組換え）〕静注用シリンジ；医薬品医療機器総合機構公開申請資料概要； 6.非臨床概括評価及び11.非臨床概要（4）毒性：2007年4月（キリンファーマ株式会社）

2) ミルセラ®〔エポエチン　ベータ　ペゴル（遺伝子組換え）〕注シリンジ；医薬品医療機器総合機構公開申請資料概要；4. 非臨床に関する概括評価及び8.非臨床概要(3)毒性：2011年4月（中外製薬株式会社）

3) Suzuki Y et al., Environ Mol Mutagen 1989:13:314-318 (4.3.9)

4) Suzuki Y et al., Mutagenesis 1989:4:420-424 (4.3.10)

5) Yajima N et al., Mutagenesis 1993:8:231-236 (4.3.11)

6) Yajima N et al., Mutagenesis 1993:8:237-241 (4.3.12)

7) Yajima N et al., Mutagenesis 1993:8:221-229 (4.3.13)

8) Hirai O et al., Mutat Res 1991:264:109-114 (4.3.14)

9) Steinheider G et al., Cell Biol Toxicol 1985:1:197-211 (4.3.15)

10) Tweats DJ et al., Mutat Res 2007:627:78-91 (4.3.16)

11) Lange CAK et al.,Development.2012:139:2340-2350 (4.3.17)

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表

Test Article: Molidustat (BAY 85-3934)

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Doses /Concentrations	GLP Compliance	Report Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity						
Single dose toxicity	Mouse, NMRI	Oral, gavage & intravenous	300, 2000 mg/kg 30, 100 mg/kg	Yes	PH-35937	4.2.3.1.1
	Rat, Wistar	Oral, gavage	2000 mg/kg			
Repeat-Dose Toxicity						
2-week study (carcinogenicity-DRF)	Mouse, CD-1	Oral, drinking	0, 15, 150 ppm [a] (Male: 0, 3.1, 32.4, Female: 0, 3.9, 38.4 mg/kg)	No	PH-36985	4.2.3.2.1
13-week study (carcinogenicity-DRF)	Mouse, CD-1	Oral, drinking	0, 3, 10, 30 [a] (Male; 0, 3.2, 10.9, 39.2 Female: 0, 3.1, 10.9, 37.2) mg/kg	Yes	PH-37097	4.2.3.2.2
4-week study + 2-week recovery	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 5, 15, 50 mg/kg	Yes	PH-36369	4.2.3.2.3
13-week study + 4-week recovery	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 1.5, 5, 15.0/10 mg/kg	Yes	PH-37056	4.2.3.2.4
26-week (6-month) study	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 0.3, 1, 3 (0, 0.321, 1.07, 3.21) [a] mg/kg	Yes	PH-37098	4.2.3.2.5
4-week study + 2-week recovery	Dog, Beagle	Oral, gavage	0, 5, 15, 50 mg/kg	Yes	PH-36352	4.2.3.2.6
13-week study	Dog, Beagle	Oral, gavage	0, 2.5, 7.5, 25 mg/kg	Yes	PH-36672 & PH-36672A	4.2.3.2.7
39-week study	Dog, Beagle	Oral, gavage	0, 0.5, 1.5, 5 (0, 0.5, 1.6, 5.4) [a] mg/kg	Yes	PH-37341	4.2.3.2.8

Test Article: Molidustat (BAY 85-3934)

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Doses/ Concentrations	GLP Compliance	Report Number	Location in CTD
Genotoxicity						
In vitro						
Ames test (plate & pre-incubation)	Salmonella TA1535, 100, 1537. 98 & 102	*In vitro*	16 - 5000 µg/plate (plate) 5 -1581 µg/plate (pre-incubation)	Yes	PH-35906	4.2.3.3.1.1
Mouse lymphoma $TK^{+/-}$ assay	Mouse lymphoma L5178Y	*In vitro*	10 - 175 µg/mL (assay 1) 10 - 50 & 10 -100 µg/mL (assay 2)	Yes	A46413 [c]	4.2.3.3.1.2
In vivo						
Micronucleus test 1 in bone marrow	Mouse, NMRI	Intraperitoneal	Twice (within 24 h) 0, 50, 100, 200 mg/kg [b]	Yes	PH-35182	4.2.3.3.2.1
Micronucleus test 2 in bone marrow	Rat (M), Wistar	Oral, gavage	0, 5, 15, 50 mg/kg (4-week repeated-dose study)	Yes	PH-36369	4.2.3.2.3
Chromosome aberration test 1 in bone marrow	Mouse (M), NMRI	Intraperitoneal	Single dose; 0, 50, 100, 200 mg/kg	Yes	PH-36384	4.2.3.3.2.2
Chromosome aberration test 2 in bone marrow	Rat (F), Wistar	Oral, gavage	0, 5, 15, 50 mg/kg (4-week repeated-dose study)	Yes	PH-36369	4.2.3.2.3
UDS test 1 in liver	Rat (M), Wistar	Oral, gavage	Single dose; 500, 1000 mg/kg	Yes	PH-36222	4.2.3.3.2.3
UDS test 2 in liver	Rat (M), Wistar	Oral, gavage	0, 5, 15, 50 mg/kg (4-week repeated-dose study)	Yes	PH-36369	4.2.3.2.3
Carcinogenicity						
2 years Carcinogenicity + TK	Mouse, CD1	Oral, drinking	0, 0.5, 1.5, 5 (0, .54, 1.61, 5.35) [a] mg/kg	Yes	PH-39298	4.2.3.4.1.1
2 years Carcinogenicity + TK	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 0.1, 0.3, 1 (0, 0.107 ,0.321, 1.07) [a] mg/kg	Yes	R-13234 [d]	4.2.3.4.1.2

Test Article: Molidustat (BAY 85-3934)

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Doses/ Concentrations	GLP Compliance	Report Number	Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity						
Fertility & early embryonic development	Rat, Wistar	Oral, gavage (M: PM 4 ws - necropsy, F: PM 2 ws - G6)	0, 2, 6, 20 mg/kg	Yes	PH-37929	4.2.3.5.1.1
Embryo-fetal development	Rat, Wistar	Oral, gavage (G6 - 17)	0, 3, 10, 30 mg/kg	Yes	PH-38264	4.2.3.5.2.1
	Rabbit, Himalayan	Oral, gavage (G6 - 20)	0, 2, 6, 20 mg/kg	Yes	PH-38267	4.2.3.5.2.2
Pre-- & postnatal development (PPND-DRF)	Rat, Wistar	Oral, gavage (G6 - L4)	0, 2.8, 9.3, 28 (0, 3, 10, 30)[a] mg/kg	No	R-12718[d]	4.2.3.5.3.1
PPND	Rat, Wistar	Oral, gavage (G6 - L21)	0, 3.7, 7.5, 15 (0, 4, 8, 16)[a] mg/kg	Yes	R-13169[d]	4.2.3.5.3.2
Local Tolerance						
Local tolerability	Rabbit, NZW	i.v. & paravenous	0.5, 1.0 mL/animal[a]	Yes	PH-37928[c]	4.2.3.6.1
Other toxicity studies						
Phototoxicity						
3T3 NRU test	Mouse fibroblasts	*In vitro* (3T3.A31)	0.1 - 500 µg/mL[a]	Yes	PH-36905	4.2.3.7.7.1

DRF: dose range finding, i.v.: intravenous, G: gestation, L: lactation, PM : pre-mating, PPND: pre- and postnatal development, NOAELs were underlined.
a : Administration as sodium salt (BAY 1053048) of BAY 85-3934 [BAY 1053048 x 1/1.07 = BAY 85-3934],
b : Administration as HCl salt (BAY 85-3593) of BAY 85-3934
c : Study was conducted at Bayer AG in Berlin (DE), d : Study was done at [redacted] (UK), Other all studies were done at Bayer AG in Wuppertal (DE).

2.6.7.2 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Molidustat (BAY 85-3934)

Type of Study/ Treatment Duration	Species/ Strain	Method of Administration	Doses [mg/kg]	GLP Compl.	Report Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity						
2 weeks	Mouse, CD-1	Oral, drinking	Male: 0, 3.1, 32.4 (0, 15, 150 ppm) [a1] Female: 0, 3.9, 38.4 (0, 15, 150 ppm) [a1]	No	PH-36985	4.2.3.2.1
13 weeks	Mouse, CD-1	Oral, drinking	Male: 0, 3.2, 10.9, 39.2 (0, 3, 10, 30) [a2] Female: 0, 3.1, 10.9, 37.2 (0, 3, 10, 30) [a2]	Yes	PH-37097	4.2.3.2.2
4 weeks + recovery	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 5, 15, 50	Yes	PH-36369	4.2.3.2.3
13 weeks + recovery	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 1.5, 5, 15/10[b]	Yes	PH-37056	4.2.3.2.4
26 weeks (6 months)	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 0.3, 1, 3 (0. 0.321, 1.07, 3.21) [a2]	Yes	PH-37098	4.2.3.2.5
4 weeks+ recovery	Dog, Beagle	Oral, gavage	0, 5, 15, 50	Yes	PH-36352	4.2.3.2.6
13 weeks	Dog, Beagle	Oral, gavage	0, 2.5, 7.5, 25	Yes	PH-36672 & PH-36672A	4.2.3.2.7
39 weeks	Dog, Beagle	Oral, gavage	0, 0.5, 1.6, 5 (0, 0.54, 1.6, 5.4) [a2]	Yes	PH-37341	4.2.3.2.8
Carcinogenicity						
2-year carcinogenicity	Mouse, CD-1	Oral, drinking	0, 0.5, 1.5, 5.0 (0.54, 1.61, 5.35) [a2]	Yes	PH-39298	4.2.3.4.1.1
2-year carcinogenicity	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 0.1, 0.3, 1 (0.107 ,0.321, 1.07) [a2]	Yes	R-13234	4.2.3.4.1.2
Reproductive and Developmental Toxicity						
Embryo-fetal development	Rat, Wistar	Oral, gavage	0, 3, 10, 30	Yes	PH-38264	4.2.3.5.2.1
Embryo-fetal development	Rabbit, Himalayan	Oral, gavage	0, 2, 6, 20	Yes	PH-38267	4.2.3.5.2.2

a1: Doses as Sodium salt (BAY 1053048) of BAY 85-3934 and ( ) as BAY 1053048,
a2: Doses as Sodium salt (BAY 1053048) of BAY 85-3934 and ( ) as BAY 85-3934
b: The high dose was reduced from 15 mg/kg to 10 mg/kg at week 9 onwords.

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

Test Article: Molidustat (BAY 85-3934)

Daily dose	Unit	Sex	Total exposure				Unbound exposure				Location in CTD Report No.
			C_{max}		AUC_{0-24}		$C_{max,u}$		$AUC_{0-24,u}$		
[mg/kg]			[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE	[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE	
Mouse											
2-week DRF study with drinking in mice (day 14)											
3.1	mg/kg	M	24.7	0.01	333	0.1	12.7	0.02	171	0.1	4.2.3.2.1
3.9	mg/kg	F	33.1	0.01	461	0.1	17.0	0.03	237	0.2	PH-36985
32.4	mg/kg	M	361	0.1	4730	0.7	185.6	0.3	2431	1.8	
38.4	mg/kg	F	811	0.3	13000	2.0	416.9	0.7	6682	5.0	
13-week DRF study with drinking in mice (day 66/67)											
3.2	mg/kg	M	28.5	0.01	289	0.04	14.6	0.02	149	0.1	4.2.3.2.2
3.1	mg/kg	F	22.3	0.01	335	0.05	11.5	0.02	172	0.1	PH-37097
10.9	mg/kg	M	105	0.04	988	0.2	54.0	0.1	508	0.4	
10.9	mg/kg	F	69.0	0.02	959	0.1	35.5	0.1	493	0.4	
2 years carcinogenicity study with drinking in mice (day 378)											
0.5	mg/kg	M	5.85	0.002	73.3	0.01	3.0	0.01	37.7	0.03	4.2.3.4.1.1
0.5	mg/kg	F	5.85	0.002	87.9	0.01	3.0	0.01	45.2	0.03	PH-39298
1.5	mg/kg	M	15.5	0.01	173	0.03	8.0	0.01	88.9	0.07	
1.5	mg/kg	F	16.2	0.01	170	0.03	8.3	0.01	87.4	0.07	
5.0	mg/kg	M	32.7	0.01	429	0.1	16.8	0.03	221	0.2	
5.0	mg/kg	F	64.6	0.02	719	0.1	33.2	0.06	370	0.3	
Rat											
4-week toxicity study with gavage in rats (day 22)											
5	mg/kg	M	546	0.2	3014	0.5	187	0.3	1031	1.0	4.2.3.2.3
5	mg/kg	F	519	0.2	3502	0.5	177	0.3	1198	1.0	PH-36369
15	mg/kg	M	1848	1.0	9226	1.4	632	1.1	3155	2.4	
15	mg/kg	F	1612	1.0	9064	1.4	551	0.9	3100	2.3	
50	mg/kg	M	6876	2.4	34269	5.3	2352	4.0	11720	8.8	
50	mg/kg	F	8177	2.9	43864	6.8	2797	4.7	15001	11.2	

Test Article: Molidustat (BAY 85-3934)

Daily dose	Unit	Sex	Total exposure				Unbound exposure				Location in CTD Report No.
			C_{max}		AUC_{0-24}		$C_{max,u}$		$AUC_{0-24,u}$		
[mg/kg]			[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE	[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE	
Rat (continued)											
13-week toxicity study with gavage in rats (day 71)											
1.5	mg/kg	M+F	200	0.1	979	0.2	68.4	0.1	335	0.2	4.2.3.2.4
5	mg/kg	M+F	574	0.2	3140	0.5	196.3	0.3	1074	1.0	(PH-37056)
10[a]	mg/kg	M+F	1020	0.4	5930	1.0	348.8	0.6	2028	1.5	
26-week toxicity study with gavage in rats (day 170)											
0.3	mg/kg	M	37.5	0.01	137	0.02	12.8	0.02	46.9	0.03	4.2.3.2.5
0.3	mg/kg	F	46.5	0.02	146	0.02	15.9	0.03	49.9	0.04	(PH-37098)
1	mg/kg	M	141	0.05	476	0.1	48.2	0.1	162.8	0.1	
1	mg/kg	F	167	0.06	695	0.1	57.1	0.1	237.7	0.2	
3	mg/kg	M	342	0.1	1590	0.2	117.0	0.2	543.8	0.4	
3	mg/kg	F	732	0.3	1830	0.3	250.3	0.4	625.9	0.5	
2 years carcinogenicity study with gavage in rats (week 52)											
0.1	mg/kg	M	20.0	0.01	47.7	0.01	6.8	0.01	16.3	0.01	4.2.3.4.1.2
0.1	mg/kg	F	30.6	0.01	71.1	0.01	10.5	0.02	24.3	0.02	(R-13234)
0.3	mg/kg	M	44.0	0.02	153	0.02	15.0	0.03	52.3	0.04	
0.3	mg/kg	F	78.6	0.03	189	0.03	26.9	0.05	64.6	0.05	
1	mg/kg	M	225	0.1	508	0.1	77.0	0.1	173.7	0.1	
1	mg/kg	F	293	0.1	689	0.1	100.2	0.2	235.6	0.2	
Dog											
4-week toxicity study with gavage in dogs (week 4)											
5	mg/kg	M+F	2445	0.9	3240	0.5	982.9	1.7	1302	1.0	4.2.3.2.6
15	mg/kg	M+F	8283	2.9	13695	2.1	3329.8	5.6	5505	4.1	(PH-36352)
50	mg/kg	M+F	40800	14.2	80680	12.5	16401.6	27.6	32433	24.2	
13-week toxicity study with gavage in dogs (day 88)											
2.5	mg/kg	M+F	934	0.3	1530	0.2	375.5	0.6	615	0.5	4.2.3.2.7
7.5	mg/kg	M+F	4400	1.5	6680	1.0	1768.8	3.0	2685	2.0	(PH-36672 &
25	mg/kg	M+F	16800	5.9	30200	4.7	6753.6	11.4/	12140	9.1	PH-36672A)

Test Article: Molidustat (BAY 85-3934)

Daily dose	Unit	Sex	Total exposure				Unbound exposure				Location in CTD Report No.
			C_{max}		AUC_{0-24}		$C_{max,u}$		$AUC_{0-24,u}$		
	[mg/kg]		[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE	[µg/L]	MoE	[µg·h/L]	MoE	
Dog (continued)											
39-week toxicity study with gavage in dogs (week 39)											
0.5	mg/kg	M+F	146	0.05	285	0.04	58.7	0.1	115	0.1	4.2.3.2.8
1.5	mg/kg	M+F	491	0.2	821	0.1	197.4	0.3	330	0.2	(PH-37341)
5	mg/kg	M+F	2450	0.9	3880	1.0	984.9	1.7	1560	1.2	
Reproductive and developmental study											
Embryo-fetal developmental study with gavage in rats											
3	mg/kg	F	317	0.1	2190	0.3	108	0.2	749	0.6	4.2.3.5.2.1
10	mg/kg	F	1010	0.4	7660	1.2	345	0.6	2620	2.0	(PH-38264)
30	mg/kg	F	5100	1.8	28700	4.4	1744	2.9	9815	7.3	
Embryo-fetal developmental study with gavage in rabbits											
2	mg/kg	F	302	0.1	574	0.1	96	0.2	182	0.1	4.2.3.5.2.2
6	mg/kg	F	1590	0.6	2630	0.4	504	0.8	834	0.6	(PH-38267)
20	mg/kg	F	10000	3.5	12000	1.9	3170	5.3	3804	2.8	
Human (patients)											
200[b]	mg/day		2866		6470		593		1339		

a Due to increased mortality the high dose was decreased from 15 to 10 mg/kg from day 58.
fu: [%]: human: 20.7, rat: 34.2, mouse: 51.4, dog: 40.2
b: maximal human dose, MoE: multiple of exposure
Human exposure : C_{max} and AUC at 200 mg molidustat were estimated by using mean of the highest C_{max}/D and AUC/D values in 2 or 3 studies in CKD patients.
C_{max}: Study 15557 (dose: 20 mg), 17767 (dose: 75 mg) and 16370 (dose: 80 mg), AUC: Study 15557 (dose: 20 mg) and 17767 (75 mg)

2.6.7.4　毒性試験：　被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article:　Molidustat (BAY 85-3934)

Proposed Specification Batch No.	Purity [%]	Specified Impurities 類縁物質A* [%]	Specified Impurities 類縁物質B* [%]	Specified Impurities Sum of all organic impurities [%]	Residual Solvents [redacted] [%]	Type of Study	Location in CTD (Report No.)
BXR3PTP [a]	[redacted]					Micronucleus test in mice	4.2.3.3.2.1 (PH-35182)
BXR42UE [b]						4w-rat repeat, gavage	4.2.3.2.3 (PH-36369)
BXR48BK [b]						4w-rat repeat, gavage	4.2.3.2.3 (PH-36369)
						4w-dog repeat, gavage	4.2.3.2.6 (PH-36352)
						Single-dose studies	4.2.3.1.1 (PH-35937)
						Salmonella/Microsome *in vitro*	4.2.3.3.1.1 (PH-35906)
						Mouse lymphoma $TK^{+/-}$ assay	4.2.3.3.1.2 (A46413)
						Bone marrow cytotogenicity in mice	4.2.3.3.2.2 (PH-36384)
						UDS test in rat liver	4.2.3.3.2.3 (PH-36222)

＊新薬承認情報提供時に置換

Test Article:　Molidustat (BAY 85-3934)

Proposed Specification Batch No.	Purity [%]	Specified Impurities: 類縁物質A* [%]	Specified Impurities: 類縁物質B* [%]	Specified Impurities: Sum of all organic impurities [%]	Residual Solvents [%]	Type of Study	Location in CTD (Report No.)
BXR4L3U [b]	[redacted]					13w-rat repeat, gavage	4.2.3.2.4 (PH-37056)
						13w-dog repeat, gavage	4.2.3.2.7 (PH-36672/-A)
						Fertility study in rats	4.2.3.5.1.1 (PH-37929)
						Embryo-fetal toxicity in rats	4.2.3.5.2.1 (PH-38264)
						Embryo-fetal toxicity in rabbits	4.2.3.5.2.2 (PH-38267)
BXR4PJA [c]						6m-rat repeat, gavage	4.2.3.2.5 (PH-37098)
						39w-dog repeat, gavage	4.2.3.2.8 (PH-37341)
						3T3 phototoxicity, *in vitro*	4.2.3.7.7.1 (PH-36905)
BXR5TC8 [c]						Carcinogenicity in mice	4.2.3.4.1.1 (PH-39298)
BXR5T1D [c]						Carcinogenicity in rats	4.2.3.4.1.2 (R-13234)
85210490 [c]						PPND study in rats	4.2.3.5.3.2 (R-13169)

n.t.: not tested
PPND: pre- and postnatal developmental
a: HCL salt of BAY 85-3934
b: BAY 85-3934
c: Sodium salt of BAY 85-3934

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: Molidustat (BAY 85-3934) Location in CTD: 4.2.3.1.1 GLP Compliance: Yes

Species/ Strain	Method of Admini. (Vehicle/ Formulation)	Doses [mg/kg]	Gender and No. per Group	Maximum Non-Lethal Dose [mg/kg]	Approx. Lethal Dose [a] [mg/kg]	Noteworthy findings	Report No. (Study Number)
Mouse/ NMRI	Oral PEG 400, 10 ml/kg	300, 2000	6 F	300	2000	2000: 2/6F died, decreased motility, narrowed palpebral fissure, piloerection, uncoordinated gait, hunched posture, sunken flanks, high legged gait, decreased food and water intake, poor general condition, tachypnea, labored breathing and closed eyelids. 300: no death & no clinical abnormalities observed.	PH-35937 (T5080656)
Mouse/ NMRI	Intravenous PEG 400, 10 ml/kg	30, 100	3F or 6F	< 30	30	100: 3/3F died. Before death, clonical cramps and labored breathing were observed 30: 2/6F died, abdominal position, palmospasm, clonical cramps, tachypnea, labored breathing, decreased motility, temporary tremor, narrowed palpebral fissure, blue colored and lost tail were observed.	(T6080657)
Rat/ Wistar	Oral PEG 400, 10 ml/kg	2000	6F	< 2000	2000	2000: 1/6F died. piloerection, blood-crusted snout, decreased motility, spasmodic state, high legged gait, sunken flanks, decreased food and/or water intake, tachypnea, emaciation, poor general condition, hunched posture, staggering gait and narrowed palpebral fissure, and significant loss of body weight were observed	(T4080655)

a : Minimal lethal dose

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験

Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing, Doses	Gender (No. per Group)	NOAEL	Noteworthy findings	Location in CTD (Report Number)
Mice/ CD-1	Oral (Drinking Water)	2 weeks; Doses: 0, 15 or 150 ppm BAY 1053048 [a] resulting in 3.3 and 34.7 mg/kg in males and 4.2 and 41.1 mg /kg in females	M//F (Treatment groups: 15/15; Control groups: 5/5)	Males: 34.7 mg/kg (150 ppm); Females: 4.2 mg/kg (15 ppm)	Mortality: not observed Clinical findings: reddening of skin at 34.7/41.1 mg/kg (150 ppm), Body weight: slightly retarded in females at 41.1 mg/kg (150 ppm), Food intake: no effect. Water intake: slightly increased at 34.7/41.1 mg/kg (150 ppm); females: slightly increased starting at 4.2 mg/kg (15 ppm) TK: (day 14) Dose (mg/kg) / C_{max} [µg/L] / AUC [µg·h/L] 3.3 (M) / 24.7 / 333 4.2 (F) / 33.1 / 461 34.7 (M) / 361 / 4730 41.1 (F) / 811 / 13000	4.2.3.2.1 (PH-36985)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing, Doses	Gender (No. per Group)	NOAEL	Noteworthy findings	Location in CTD (Report Number)
Mice/ CD-1	Oral (Drinking Water)	13 weeks; 0, 3.21, 10.7, 32.1 [a] (intended dose; mg/kg) Actual doses; Male; 3.2, 10.9, 39.2 mg/kg/day, Female: 3.1, 10.9, 37.2 mg/kg/day of molidustat	10M/10F	M & F:10.9 mg/kg/day	M 32.1/F 37.2; 10M/10F all died/sacrificed in moribund condition up to end of week 8. Decreased motility, uncoordinated gait, skin reddening, Heart/Lung/Adrenal/Brain: congestion, Kidney: increased incidence of basophilic tubules, enlarged glomeruli, Liver: condensed cytoplasm, Spleen & Bone marrow: increased erythropoiesis, Spinal cord/Sciatic nerve: degeneration, Skeletal muscle: nerve degeneration & atrophic myofivers (F) M/F 10.9-; Skin reddening, increased RBC, HB, HCT, increased splenic weight, Bone marrow: dilated sinus, increased erythropoiesis, Kidney/Liver : congestion F 3.1-; Bone marrow: reduced adipocytes TK: (day 66/67) Dose / C_{max} [µg/L] / AUC [µg·h/L] 3.2(M) / 28.5 / 289 3.1(F) / 22.3 / 335 10.9(M) / 105 / 988 10.9(F) / 69.0 / 959	4.2.3.2.2 (PH-37097)

M: male, F: female, TK: toxicokinetics
a: Doses are as Sodium salt of BAY 85-3934

2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験

2.6.7.7A 4-Week Repeated-Dose Toxicity Study in Rats

Report Title:	BAY 85-3934; Subacute Toxicity Study in Wistar Rats (4 Weeks Administration by Gavage and 2 Weeks Recovery Including Genotoxicity Investigation)
Report No.:	PH-36369
Location in CTD:	4.2.3.2.3
Test Article:	BAY 85-3934 (Molidustat)

Species/Strain:	Rat/ Wistar (Hsd Cpb:WU)	Study No.:	T3080131
Initial age:	Ca. 6 weeks	GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing:	4 weeks	Date of 1st dose:	[redacted]-20[redacted]
Duration of Postdose:	2 weeks		
Method of Administration:	orally by gavage		
Vehicle/Formulation:	Ethanol / Solutol HS15 / tap water (1:4:5 (v/v/v) [low dose: solution, middle & high doses: suspension]		
Special features:	Cytogenicity assay conducted in Satellite Toxicokinetic females, UDS test in liver conducted in Satellite Toxicokinetic males and micronucleous test in bone marrow in main group in males (additional 3 males of the positive control of UDS received a single oral dose with 100 mg/kg 2-Acetylaminofluorene, plus additional 5 males received single oral dose of cyclophosphamide at 20 mg/kg as positive control for micronucleus test). See 2.6.7.9B, 2.6.7.9D & 2.6.7.9F		
NOAEL	Males : 5 mg/kg/day; Female: < 5 mg/kg/day		

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-36369**

Daily Dose [mg/kg]		**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender		**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	(Main)	10	10	10	10	10	10	10	10
	(Recovery)	10	N/A	N/A	10	10	N/A	N/A	10
	(Satellite Toxicokinetics)	6	6	6	6	6	6	6	6
Toxicokinetics (Day 22)									
AUC (µg·h/L)		N/A	3014	9226	34269	N/A	3502	9064	43864
C_{max} (µg/L)		N/A	546	1848	6876	N/A	519	1612	8177
Noteworthy Findings									
Died/Sacrificed Moribund		0	0	0	6 (2+R4)	0	0	0	1

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 85-3934 (Molidustat)			Report No.:	PH-36369		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Body Weight (%[a])d29	331 g	+2.4	-4.8	-13.9**↓	219 g	+3.2	+7.8	-0.9
(recovery group)d43	366 g	N/A	N/A	-10.7*↓	234 g	N/A	N/A	+3.8
Food Consumption (%[a]) d1-28	24.4 g/animal/day	+16.0	-5.3	-13.9(↓)	17.4 g/animal/day	+2.3	+8.6	-8.0
Water Consumption (%[a]) d1-28	34.1 g/animal/day	+/-0	+0.3	-5.9	28.8 g/animal/day	-5.9	-1.4	-5.2
Clinical Observations								
N (dosing phase)	20	10	10	20	20	10	10	20
Piloerection	-	-	-	5	-	-	-	-
Sunken flanks	-	-	-	4	-	-	-	1
Apathy	-	-	-	1	-	-	-	-
Redused motility	-	-	-	2	-	-	-	-
Flaccidity	-	-	-	1	-	-	-	-
Accelerated breathing	-	-	-	4	-	-	-	1
Laboured breathing	-	-	-	4	-	-	-	-
Breathing sounds	-	-	-	1	-	-	-	-
Bloody muzzle	-	-	-	2	-	-	-	-
Poor general condition	-	-	-	4	-	-	-	-
Emaciation	-	-	-	2	-	-	-	-
Sluggish, minimal movement	-	-	-	1	-	-	-	-
Staggering gait	-	-	-	1	-	-	-	-
High-stepping gait	-	-	-	1	-	-	-	-
Soft feces	-	-	-	2	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology								
Terminal < d28/29>								
ERY ($10E^{12}$/L)	8.25	9.89**	10.20**	9.47**	8.34	10.25**	10.60**	11.03**
HB (g/L)	152	207**	213**	187**	152	216**	223**	217**
HCT (L/L)	0.503	0.672**	0.676**	0.629**	0.494	0.703**	0.726**	0.731**

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 85-3934 (Molidustat)			Report No.:	PH-36369	
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
MCV (fL)	61.0	68.0**	66.3**	67.0**	59.2	68.7**	68.6**	66.5**
MCH (pg)	18.5	21.0**	20.9**	19.9**	18.2	21.1**	21.1**	19.7**
MCHC (g/ERY)	303	309	315*	297	308	307	308	297**
RETI (o/oo)	20	46**	71**	117**	18	45**	64**	118**
THRO ($10E^9$/L)	1361	915**	852**	687**	1347	730**	593**	714**
HQUICK (sec)	37.9	42.5**	44.4**	49.9**	35.1	37.6	38.4*	42.5**
Lymphocytes ($10E^9$//L)	10.62	9.77	8.48*	8.51*	8.19	7.05	6.90	8.33
Eosinophils ($10E^9$//L)	0.08	0.06	0.05*	0.00**	0.09	0.08	0.06	0.04
Basophils ($10E^9$/L)	0.07	0.18**	0.18**	0.00**	0.06	0.16**	0.22**	0.00**
Atypical cells ($10E^9$/L)	0.12	0.07**	0.06**	0.27**	0.07	0.05*	0.04**	0.17*
Recovery <d42>								
ERY ($10E^{12}$/L)	8.57	N/A	N/A	9.41	8.31	N/A	N/A	11.24**
HB (g/L)	155	N/A	N/A	174	153	N/A	N/A	209**
HCT (L/L)	0.497	N/A	N/A	0.574*	0.475	N/A	N/A	0.659**
MCV (fL)	58.0	N/A	N/A	60.9*	57.2	N/A	N/A	59.0
MCHC (g/L ERY)	311	N/A	N/A	303	322	N/A	N/A	317*
RETI (o/oo)	17	N/A	N/A	24*	17	N/A	N/A	2**
THRO ($10E^9$/L)	1255	N/A	N/A	985*	1198	N/A	N/A	612**
HQUICK (sec)	35.7	N/A	N/A	40.1*	33.2	N/A	N/A	36.5
Lymphocytes ($10E^9$/L)	11.08	N/A	N/A	8.74*	8.08	N/A	N/A	7.63
Basophils ($10E^9$/L)	0.09	N/A	N/A	0.16**	0.07	N/A	N/A	0.21**
Blood Chemistry								
Terminal <d28/29>								
AST (U/L)	62.4	113.7**	170.9**	349.6**	63.0	68.6nc	ndp	ndp
ALT (U/L)	74.4	92.6**	95.7**	93.7*	84.4	56.8nc	ndp	ndp
LDH (U/L)	90	629**	1075nc	6445	88	581**	807**	ndp
ALP (U/L)	241	281*	305*	270	184	207**	ndp	ndp
CK (U/L)	128	185*	168nc	284	204	317nc	ndp	ndp
Glucose (mmol/L)	6.43	5.60**	5.65**	4.13**	5.36	4.36**	4.50**	3.61**
Chol (mmol/L)	1.93	1.73	1.64	1.31**	1.99	210nc	ndp	ndp

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 85-3934 (Molidustat)			Report No.:	PH-36369		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Urea (mmol/L)	7.66	7.46	8.20	12.60*	7.75	8.21	ndp	ndp
Bilirubin-t (µmol/L)	1.2	1.2	1.7**	4.9**	1.6	5.6**	1.6nc	ndp
Creatinine (µmol/L)	64	67	64	65	61	72	53nc	ndp
Protein (g/L)	70.5	71.8	71.2	72.0	70.4	74.2*	ndp	ndp
Na (mmol/L)	144	145	143**	143	144	144	142**	142*
K (mmol/L)	6.7	6.4*	6.2*	6.0**	6.6	5.9**	5.8**	5.7**
Ca (mmol/L)	2.95	2.95	2.98	2.91	2.91	2.92	3.01	3.08**
Cl (mmol/L)	96	94*	96	100**	97	95*	97	99**
P (mmol/L)	3.66	3.61	3.53nc	3.31*	3.19	3.87nc	ndp	ndp
T3 (nmol/L)	1.63	1.34nc	1.47nc	0.72nc	1.33	1.43nc	1.57nc	1.27nc
T4 (nmol/L)	88	77	67nc	37**	70	77	64nc	65nc
TSH (µg/L)	3.76	5.50	6.14	2.71	2.02	3.03	2.50	3.10nc
Recovery <d42>								
AST (U/L)	86.5	N/A	N/A	123.4	92.4	N/A	N/A	116.6*
ALP (U/L)	181	N/A	N/A	190	125	N/A	N/A	159**
LDH (U/L)	174	N/A	N/A	854*	117	N/A	N/A	915**
GLDH (U/L)	6.8	N/A	N/A	26.4	5.8	N/A	N/A	4.0*
Creatinine (µmol/L)	65	N/A	N/A	60*	64	N/A	N/A	58**
Urea (mmol/L)	8.02	N/A	N/A	8.33	8.47	N/A	N/A	7.54**
Bilirubin-t (µmol/L)	0.7	N/A	N/A	1.7**	1.1	N/A	N/A	2.0**
Protein (g/L)	69.9	N/A	N/A	65.6*	71.6	N/A	N/A	69.2
Ca (mmol/L)	2.85	N/A	N/A	2.87	2.95	N/A	N/A	2.83**
Cl (mmol/L)	98	N/A	N/A	96*	100	N/A	N/A	99
TSH (µg/L)	5.09	N/A	N/A	3.75	2.70	N/A	N/A	3.92*
Urinalysis								
Terminal <d24/25>								
Volume (mL)	16.7	12.0	13.6	10.5	6.9	8.1	10.0	15.2
Density (g/L)	1013	1024	1019	1029*	1026	1024	1023	1017
NAG (U/L)	9.77	23.26	12.69	28.99*	23.31	18.77	14.97	10.52
GGT (U/L)	1049	3204**	2742**	2739**	1005	1059	929	401

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 85-3934 (Molidustat)			Report No.:	PH-36369		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
LDH (U/L)	10	26*	13	48**	11	12	13	23(↑)
GGT/CREA (U/mmol)	306.42	449.11**	600.12**	472.83**	148.15	187.81	184.51	200.43
m-GST (µg/L)	10.8	11.0	10.6	19.4	2.9	2.8	5.6	9.4*
RPA (U/L)	1524.6	1915.0	1442.7	1106.2	3553.8	3151.7	2468.6	1637.2**
α-GST/CREA (µg/mmol)	49.85	46.66	57.80	32.86	3.40	4.30	4.09	7.60*
RPA/CREA (U/mol)	447.38	311.22	324.05	203.03*	631.85	640.16	515.54	698.61
Recovery <d39>								
GGT (U/L)	2645	N/A	N/A	3277	838	N/A	N/A	1715*
LDH (U/L)	15	N/A	N/A	21	9	N/A	N/A	24*
GGT*VOL (U)	28.45	N/A	N/A	25.94	5.81	N/A	N/A	9.79**
LDH*VOL (mU)	159	N/A	N/A	184	51	N/A	N/A	133**
GGT/CREA (U/mmol)	407.10	N/A	N/A	423.30	147.94	N/A	N/A	220.45*
LDH/CREA (U/mmol)	2.30	N/A	N/A	3.01	1.34	N/A	N/A	3.00**
m-GST (µg/L)	8.5	N/A	N/A	8.8	2.4	N/A	N/A	5.1*
α-GST (µg/L)	283.7	N/A	N/A	340.3	27.7	N/A	N/A	89.2**
Liver tissues (metabolic enzymes)								
Terminal (d 30-32)								
N-DEM (mU/g)	110.6	115.5	137.1*	100.4	65.0	55.0*	54.1*	46.3**
P450 (mmol/g)	39.2	36.6	38.9	29.3**	31.8	28.5*	29.2	23.2**
Triglyceride (µmol/g)	6.08	7.27	7.36	9.07(↑)	12.75	13.62	8.07(↓)	5.60(↓)
ECOD (nmol/g x min)	7.5	7.0	7.8	5.4*	4.0	2.9	2.8**	3.1*
EROD (nmol/g x min)	0.42	0.44	0.52	0.36	0.37	0.39	0.25*	0.31
ALD (nmol/g x min)	137.2	142.1	142.6	54.4**	33.6	29.7	29.3	28.9
CAT (nmol/g x min)	68	78	76	94**	226	209	209	218
EH (nmol/g x min)	595	570	478	337**	373	331	345	235
GLU-T (nmol/g x min)	987	950	845	469**	733	657	706	601
Recovery (d 44/45)								
N-DEM (mU/g)	142.0	N/A	N/A	98.8**	58.3	N/A	N/A	56.5
O-DEM (mU/g)	11.1	N/A	N/A	9.0**	9.1	N/A	N/A	8.3
P450 (mmol/g)	38.0	N/A	N/A	28.6**	33.7	N/A	N/A	29.0**
EROD (nmol/g x min)	0.49	N/A	N/A	0.28*	0.26	N/A	N/A	0.26

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 85-3934 (Molidustat)			Report No.:	PH-36369		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
ALD (nmol/g x min)	120.4	N/A	N/A	74.2*	19.6	N/A	N/A	21.1
CAT (nmol/g x min)	32	N/A	N/A	34	132	N/A	N/A	88*
EH (nmol/g x min)	485	N/A	N/A	305*	202	N/A	N/A	261
Immunotoxicity								
Terminal <n>	5	5	5	5	5	5	5	5
Spleen cell count (x10^6)	527.1	432.2	661.1	897.4*	386.9	268.4*	496.1	863.3*
FACSC (%)								
CD3(T)	30.1	23.8	27.0	19.1*	31.4	29.7	28.0	24.1*
CD4+(helper T)	19.8	15.6	17.7	13.0*	19.7	16.5	17.8	16.6*
CD8+(cytotoxic T)	9.2	7.1	8.6	5.4*	10.4	11.8	9.3	6.7*
CD45RA+(B)	27.2	23.7	14.3*	12.0*	28.7	22.8	19.3*	14.0*
Antibody titers								
Ig G (µg/mL)	1076	1119	973	1005	3079	2351	1022*	1167*
Recovery <n>	5	0	0	5	5	0	0	5
Antibody titers								
Ig A (µg/mL)	65.7	N/A	N/A	46.5	54.7	N/A	N/A	27.0*
Organ Weights (mg/100g BW)								
Terminal								
BW (g)	341	347	325	291**	226	236	244	221
Brain	588	573	584	677**	825	797	752*	820
Heart	368	436	527**	664**	389	444	495**	712**
Liver	4632	4644	4247**	4240*	4559	4682	4664	4615
Spleen	193	208	327**	659**	266	252	384**	869**
Thymus	185	181	187	141**	217	235	209	201
Kidneys	658	715	719	804**	702	751	770*	811**
Seminal vesicle	325	289	321	249*	N/A	N/A	N/A	N/A
Recovery								
BW (g)	374	N/A	N/A	336*	241	N/A	N/A	251
Heart	346	N/A	N/A	478**	412	N/A	N/A	503**

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 85-3934 (Molidustat)			Report No.:	PH-36369	
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Spleen	186	N/A	N/A	351**	259	N/A	N/A	340**
Kidneys	645	N/A	N/A	750*	656	N/A	N/A	775**
Gross Pathology								
Terminal <Number examined>	10	10	10	10	1	10	10	10
Heart								
Enlarged	0	1	5	81	0	1	2	7
Liver								
Distinct lobulation	0	2	3	3	0	3	4	1
Kidneys								
Discoloration/s	0	0	0	4	0	0	1	4
Lung								
Slightly collapsed	0	2	0	4	0	0	1	2
Discoloration/s	0	0	0	2	0	0	1	1
Adrenal glands								
Discoloration/s	0	0	0	6	0	0	0	0
Spleen								
Enlarged	0	0	1	7	0	0	0	10
Swollen	0	0	4	3	0	0	3	0
Ovaries								
Discoloration/s	N/A	N/A	N/A	N/A	0	0	0	2
Recovery <Number examined>	10	0	0	6	10	0	0	10
Heart								
Enlarged	0			1	0			5
Spleen								
Enlarged	0			3	0			1
Swollen	0			2	0			4
Liver								
Distinct lobulation	0			0	0			2

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 85-3934 (Molidustat)			Report No.:	PH-36369		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Histopathology								
Number examined								
Brain	10	0	10	10	10	0	10	10
Congest. Vasculature(++)	-		-	-	-		-	1
Heart	10	10	10	10	10	10	10	10
Congestion/Inc.blood (+)	-	-	1	-	-	-	-	-
(++)	1	2	-	4	1	3	1	5
(+++)	-	-	-	4	-	-	-	2
(++++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Ventric. Dilatation (+)	-	-	1	-	-	-	-	-
(++)	-	-	-	2	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	1
Myocard. Degener. (+)	-	-	-	2	-	-	-	-
(++)	-	-	-	2	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Myocard. Hypertro. (+)	-	-	3	-	-	-	4	-
(++)	-	-	5	2	-	-	-	3
(+++)	-	-	-	8	-	-	-	6
(++++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Thrombosis Atrial (+++)	-	-	-	1	-	-	-	2
(++++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Thrombosis Valve (++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	3	-	-	-	4
(++++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Valv.Inflamm. Erosio. (+)	-	-	-	2	-	-	-	-
(++)	-	-	-	4	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	4
Valvular Hemorrhage (+)	-	-	-	3	-	-	2	2
(++)	-	-	-	1	-	-	1	1

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-36369**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	5	15	50	0 (Control)	5	15	50
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Valvular Fibrosis (+)	-		1	1	1	-	3	-
(++)	-	-	-	1	-	-	1	2
(+++)	-	-	-	5	-	-	-	3
(++++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Valv. Vascularization (+)	-	-	2	4	-	-	4	4
Lungs	10	10	10	10	10	10	10	10
Alveolar Edema/prot. (+)	-	-	-	-	-	-	-	3
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Alveolar Hemorrhage (+)	2	3	-	4	-	3	3	-
(++)	-	-	1	2	-	2	2	2
(+++)	-	-	1	1	-	-	2	2
Alveolar Macrophages (+)	-	1	4	5	-	2	3	2
(++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	1
Congestion (+)	-	-	-	-	-	-	-	1
(++)	-	-	-	-	-	-	1	1
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	2
(++++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Intrav. Fibrin/Throm. (+)	-	-	1	-	-	-	-	-
(++)	-	-	-	-	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Vascular mineralize. (+)	-	-	4	2	-	-	-	1
Stomach	10	0	10	10	10	0	10	9
Erosion/s (+)	-		2	1	1		1	3
(++)	-		-	-	-		1	-
Duodenum	10	0	10	10	10	0	10	9
Congestion (+++)	-		-	1	-		-	-
Jejunum	10	0	10	10	10	0	10	9
Inflammation (++++)	-		-	1	-		-	-
Ileum	10	0	10	10	10	0	10	9
Congestion (++)	-		-	1	-		-	-

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-36369**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Cecum	10	0	10	10	10	0	10	9
Inflammation (+)	-		1	-	-		-	-
(+++)	-		-	2	-		-	-
Edema (+++)	-		-	1	-		-	-
Necrosis (+++)	-		-	1	-		-	-
Thrombosis (+++)	-		-	1	-		-	-
Liver	10	10	10	10	10	10	10	10
Erythropoiesis (+)	-	-	-	3	-	-	1	4
(++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Condensed Cytoplasm (+)	1	-	2	3	3	1	3	2
(++)	-	-	-	2	-	-	1	3
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	2
Centril. Hypertrophy (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
Congestion (++)	-	-	-	1	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Pancreas	10	10	10	10	10	10	10	10
Diff. Atrophy Acin. (+)	-	-	-	1	-	-	-	4
(++)	-	-	-	2	-	-	-	1
Focal Atrophy Acin. (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
(++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Kidneys	10	10	10	10	10	10	10	10
Congestion (+)	-	-	-	-	-	-	1	2
(++)	-	-	-	-	-	-	1	1
Desquamat. Tub. Ep.(+)	-	-	-	-	-	-	-	7
Tubular Necrosis (++++)	-	-	-	1	-	-	-	1
Tubular Change (+)	-	-	-	-	-	-	1	1
(++)	-	-	-	-	-	-	-	2
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	6
(++++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Pigment deposits (+)	-	-	-	2	-	-	-	2
(++)	-	-	-	3	-	-	-	-

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-36369**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Thyroid gland	10	10	10	10	10	10	10	10
Flat Follic. Epith. (+)	-	-	-	1	-	-	-	1
(++)	-	-	-	1	-	-	-	2
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Adrenal glands	10	10	10	10	10	10	10	10
Congestion (+)	-	1	1	2	-	-	1	-
(++)	-	-	-	-	-	-	1	4
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Spleen	10	10	10	10	10	10	10	10
Incr. Erythropoiesis (+)	-	-	3	-	3	2	1	-
(++)	-	-	7	-	1	1	6	-
(+++)	-	-	-	6	-	-	3	5
(++++)	-	-	-	4	-	-	-	5
Red Cellul. Wh. Pulp (+)	-	-	-	4	-	-	1	2
(++)	-	-	-	2	-	-	-	2
Thymus	10	10	10	10	10	10	10	10
Atrophy (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	1
(++++)	-	-	-	3	-	-	-	1
Congestion/Ext. Blood(+++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Bone marrow/Sternum	10	10	10	10	10	10	10	10
Incr. Erythropoiesis (+)	1	6	9	-	-	-	5	8
(++)	-	-	1	9	-	-	-	2
Incr. Megakaryocytes (+)	-	-	2	2	-	-	-	1
(++)	-	-	-	2	-	-	-	4
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Emperipolesis	-	-	-	10	-	-	-	2
Myelofibrosis (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
(++)	-	-	-	-	-	-	-	2
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Inc. Myelopoiesis (++)	-	-	-	1	-	-	-	-

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-36369**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Bone marrow/Femur	10	10	10	10	10	10	10	10
Incr.Erythropoiesis (+)	-	1	-	-	-	2	-	-
(++)	-	9	10	1	-	8	10	-
(+++)	-	-	-	9	-	-	-	10
Incr. Megakaryocytes (+)	-	-	-	4	-	-	-	2
(++)	-	-	-	4	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Emperipolesis	-	-	-	10	-	-	-	3
Myelofibrosis (++)	-	-	-	1	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	3	-	-	-	2
Prom. Blood vessels (+)	-	-	-	4	-	-	-	2
Thrombosis (+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Incr. Myelopoiesis (++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Mesenteric Lymph node	10	9	10	10	10	10	9	9
Erythrophagocytosis (+)	-	-	2	3	-	-	1	2
(++)	-	-	-	2	-	-	-	2
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	-
(++++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Popliteal Lymph node	10	0	10	10	10	0	10	10
Congestion (++)	-		-	-	-		-	1
Parotid Glands	10	10	10	10	10	10	10	10
Hypertrophy Acin. C. (+)	-	-	-	-	-	-	-	2
(++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Salivary (Submandibular) Gl.	10	10	10	10	10	10	10	10
Ductal Atrophy (+)	-	-	-	1	3	4	3	1
(++)	-	-	-	-	-	-	-	9
Hypertrophy Acin. C. (++)	-	-	-	-	-	-	-	3
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Hemorrhage (++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Pigment. Macropha. (+++)	-	-	-	-	-	-	-	1

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-36369**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Secretion Excr. Duct. (+)	-	-	-	-	-	-	1	1
(++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Harderian gland.	10	10	10	10	10	10	10	10
Incr. Secretion (+)	-	-	-	-	2	2	2	3
(++)	-	-	-	1	-	-	-	2
(+++)	-	-	-	-	-	1	-	-
Bone/Femur	10	10	10	10	10	10	10	10
Hyperostosis (+)	-	-	-	-	-	-	-	1
(++)	-	-	-	2	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Osteochondrosis (++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Mammary gland	10	10	10	9	10	10	10	10
Basoph. Small Ducts (+)	-	-	-	2	-	-	-	-
(++)	1	2	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	5	-	-	-	-
Testes	10	10	10	10	N/A	N/A	N/A	N/A
Apoptot. Spermat. (+)	-	-	-	1				
(++)	-	-	-	1				
Epididymides	10	10	10	10	N/A	N/A	N/A	N/A
Oligospermia (+)	-	-	-	1				
Cellular Debris (+)	-	-	1	4				
(++)	-	1	-	1				
(+++)	-	-	-	1				
Prostate gland	10	0	10	10	N/A	N/A	N/A	N/A
Reduced Secretion (++)	-		-	1				
Seminal vesicles	10	0	10	10	N/A	N/A	N/A	N/A
Reduced Secretion (++)	-		-	2				
Vagina	N/A	N/A	N/A	N/A	10	10	10	10
Atrophy					-	1	-	4

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-36369**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Postdose Evaluation[b]								
Number Evaluated	10	0	0	6	10	0	0	10
Heart								
Congestion/Inc.Blood (++)	-			2	-			3
Myocard.Degeneration (+)	-			1	-			-
(++)	-			1	-			-
Myocard.Hypertrophy(++)	-			2	-			5
(+++)	-			1	-			1
Thrombosis Atrial (+++)	-			1	-			-
Thrombosis Valve (++)	-			1	-			-
(+++)	-			1	-			1
Valv. Vascularizat. (+)					-			3
Valvular fibrosis (+++)	-			3	-			1
(++++)	-			1	-			1
Valvular Hemorrhage (++)	-			1	-			-
Vasc.Hypertr.Basoph. (+)	-			1	-			2
(++)	-			-	-			1
(+++)	-			-	-			1
Liver								
Thrombus (+++)	-			1	-			-
Kidneys								
Tubular Necrosis (+++)	-			-	-			1
(++++)	-			1	-			-
Pigment Deposits (++)	-			-	-			1
Spleen								
Incr. Erythropoiesis (+)	6			-	-			-
(++)	1			-	10			-
(++++)	-			1	-			-
Incr. Cellul. Red pulp (+)	-			-	-			2
(++)	-			2	-			7
(+++)	-			2	-			1

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-36369**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Bone Marrow, Sternum								
Incr. Myelopoiesis (+)	-			-	-			-
(++)	-			1	-			3
(+++)	-			3	-			4
Incr. Erythropoiesis (+++)	-			1	-			-
Bone Marrow, Femur								
Hypocellularity (+)	-			-	-			5
(++)	-			1	-			2
Incr. Erythropoiesis (+++)	-			1	-			-
Incr. Myelopoiesis (+)	-			1	-			1
(++)	-			-	-			3
(+++)	-			2	-			4
Bone, Femur								
Hyperostosis (++)	-			-	-			1
Mesenteric Lymph Node								
Erythrophagocytosis (+)	-			2	-			1
Epididymides					N/A			N/A
Cellular Debris (+)	1			1				
(++)	-			1				
Oligospermia (+)	-			1				
(++)	-			1				

4-Week Repeat-Dose Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-36369**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**

- No noteworthy finding + Minimum ++ Slight +++ Moderate ++++ Marked N/A not applicable

* p < 0.05, ** p < 0.01; Dunnett exact homogenous test; Bonferroni/Mann-Whitney U-test; Studentt-testt;

R: recovery, d: day, ↓:decrease, n: number

CK: creatine kinase, GLDH: glutamate dehydrogenase, GGT: gamma glutamyltransferase, m-GST: rat mycro gluthathione-S- transferase

RPA: renal papillary antigen 1, α-GST: alfa glutathione-S-transferase, N-DEM: aminopyrine-N-demethylase, ECOD: 7-ethoxycoumarin deethylase,

EROD: 7-ethoxyresorfin deethylase, ALD: aldrin epoxidase, CAT: carnitine acetyltransferase, EH: epoxidehydrase, GLU-T: UDP-glucuronyltransferase,

FACSC: flowcytometric analysis,

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 the percent differences)

b Noteworthy findings during the treatment period, which were not listed under 'Postdose Evaluation' were fully reversible

nc : number of individual values to low for calculating test statistic

ndp: no determination possible, due high hematocrit and subsequently to low plasma samples and hemolysis, in females, clinical chemistry could not be completed for all parameters

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity – 13 Week- Repeated Dose Toxicity Study in Rats

Report Title:	Repeated Dose Toxicity Study in Wistar Rats (13-Weeks Daily Administration by Gavage Followed by a 4-Weeks Recovery Period)
Report No.:	PH-37056
Location in CTD:	4.2.3.2.4
Test Article:	BAY 85-3934 (Molidustat)

Species/Strain:	Rat/ Wistar (Hsd Cpb:WU)	Study No.:	T4080853
Initial age:	Ca. 6 weeks	GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing:	13 Weeks	Date of 1st dose:	[redacted]-20[redacted]
Duration of Postdose:	4 Weeks		
Method of Administration:	orally by gavage		
Vehicle/Formulation:	Ethanol / Solutol HS15 / tap Water; (1:4:5 (v/v/v) [low and middle doses: solition, high dose: suspension]		
Special features:	-		
NOAEL	Males: < 1.5 mg/kg/day, Female: 1.5 mg/kg/day		

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article:** **BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.:** **PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]		**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender		**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	(Main)	10	10	10	10	10	10	10	10
	(Recovery)	10	0	0	10	10	0	0	10
	(for immunotoxicity:Satellite)	8	8	8	8	8	8	8	8
	(Toxicokinetics(TK))	3	6	6	6	3	6	6	6
Toxicokinetics (Day 71) males and females pooled									
No. of Animals/Time Point		3M+3F	3M+3F	3M+3F	3M+3F				
AUC (µg·h/L)			979	3140	5930				
C_{max} (µg/L)			200	574	1020				
Noteworthy Findings									
Died/Sacrificed Moribund									
	(Main+Recovery)	0	0	1	5+6(R)	0	0	0	2+3(R)
	(Satellite: immunotox.)	0	0	0	0	0	1 [d]	0	0
	(Satellite: TK)	0	1 [d]	2	0	0	0	0	0

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Body Weight (%[a]) (main group) d92	425.8 g	+3.9	+3.1	-4.1↓	257.9 g	+4.3	+9.4**↑	+13.4**↑
(recovery group) d92	435.4 g			-12.4*↓	262.9 g			+9.7*↑
Food Consumption (%[a]) d71	24.0 g/animal/day	+1.7	-6.2	-23.5(↓)	16.8 g/animal/day	+6.3	+0.6	+0.7
Water Consumption (%[a])d71	34.4 g/animal/day	+6.1	+16.3	+2.6	25.5 g/animal/day	-0.8	+14.1	+21.6(↑)
Clinical Observations								
N (dosing phase)	20	10	10	20	20	10	10	20
Hindlimbs dragging	-	-	1	2	-	-	-	-
Paralysis	-	-	1	1	-	-	-	2
Increased salivation	-	-	1	3	-	-	1	2
Skin reddened	-	-	10	20	-	-	10	19
Wound	1	-	-	1	-	-	-	2
Decreased motility	-	-	-	2	-	1	-	3
High-stepping gait	-	-	-	1	-	-	1	1
Uncoordinated gait	-	-	-	-	-	-	-	1
Changed feces consistency	-	-	-	10	1	1	-	3
Changed feces color	-	-	-	1	-	-	-	-
Changed urine color	-	-	-	1	-	-	-	-
Narrowed eyelids	-	-	-	1	-	-	-	-
Bloody nose	-	-	1	1	-	1	-	2
Bloody muzzle	-	-	-	1	-	-	-	2
Loss of hair	-	-	-	-	-	-	2	2
Discolored skin	-	-	-	1	-	-	-	1
Skin changes	-	-	-	-	-	-	-	1
Accelerated breathing	-	-	-	3	-	-	-	-
Labored breathing	-	-	-	1	-	-	-	1
Wound on hairless area	-	-	-	1	-	-	-	-
Poor general condition	-	-	-	1	-	-	-	1
Piloerection	-	-	-	1	-	-	-	2
Apathy	-	-	-	-	-	-	-	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Bloody/reddish discharge	-	-	-	-	-	-	-	1
Abdominal position	-	-	-	-	-	-	-	1
Blood in bedding material	-	-	-	-	-	-	-	3
N (recovery phase)	10	0	0	4	10	0	0	7
Skin reddened	-			4	-			7
Wound	-			-	-			1
High-stepping gait	-			-	-			1
Uncoordinated gait	-			1	-			-
Changed feces consistency	-			4	-			-
Accelerated breathing	-			1	-			-
Piloerection	-			1	-			-
FOB [number of present/examined]								
Auricle and paws reddened	0/10	1/10	10/10*	6/6*	0/10	0/10	10/10*	8/8*
Motor Activity Assessment	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy [number of present/examined]								
Fundus partially reddened								
(Dosing phase :d73)	0/10	0/10	10/10	5/6	0/10	0/10	7/10	8/8
(Recovery :d21)	0/10	N/A	N/A	4/4	0/10	N/A	N/A	5/7
Haematology								
Terminal < d86/87>								
ERY (T/L)	9.185	10.998**	11.827**	11.002**	8.347	8.768	10.898**	11.080**
HB (g/L)	148.1	186.5**	244.0**	222.2**	142.9	161.5**	242.1**	251.5**
HCT (L/L)	0.4918	0.6135**	0.7540**	0.7202**	0.4634	0.5117*	0.7000**	0.7650**
MCH (pg)	16.12	16.95	20.64**	20.66**	17.14	18.44**	22.28**	22.71**
MCHC (g/L ERY)	301.2	303.9	323.7**	307.6	308.3	316.1	346.3**	328.4**
MCV (fL)	53.55	55.71	63.80**	67.22**	55.58	58.36*	64.31**	69.24**
RETI (o/o)	1.93	1.81	3.34**	7.30**	2.27	2.08	3.17**	4.03**

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
THRO (10E9/L)	1170.9	819.0**	643.0**	396.0**	1179.2	1009.4*	655.4**	502.8**
HQUICK (sec)	38.40	41.27	40.39	53.38**	34.90	36.61	41.95**	43.80**
Leucocytes (10E9/L)	13.491	11.571	7.522**	7.424**	9.902	9.218	6.873**	6.366**
Lymphocytes (10E9/L)	11.625	10.006	6.153**	5.926**	8.104	7.780	5.850**	4.984**
Eosinophil(10E9/L)	0.190	0.163	0.106	0.052**	0.102	0.125	0.068	0.064
Recovery <d92>								
ERY (T/L)	9.320	N/A	N/A	10.065	8.893	N/A	N/A	9327
HB (g/L)	150.2	N/A	N/A	188.3**	150.9	N/A	N/A	191.0**
HCT (L/L)	0.4952	N/A	N/A	0.5886**	0.4963	N/A	N/A	0.5886**
MCH (pg)	16.132	N/A	N/A	18.83**	17.01	N/A	N/A	20.44**
MCHC (g/L ERY)	303.7	N/A	N/A	322.3**	304.2	N/A	N/A	324.1**
MCV (fL)	53.13	N/A	N/A	58.38**	55.85	N/A	N/A	63.00**
RETI (o/o)	1.59	N/A	N/A	0.10**	1.60	N/A	N/A	0.26**
THRO (10E9/L)	1242.0	N/A	N/A	792.5**	1291.7	N/A	N/A	601.7**
HQUICK (sec)	41.15	N/A	N/A	47.10	35.82	N/A	N/A	39.41*
Leucocytes (10E9/L)	10.078	N/A	N/A	9.628	7.490	N/A	N/A	8.156
Lymphocytes (10E9/L)	8.457	N/A	N/A	8.523	6.392	N/A	N/A	6.944
Eosinophil(10E9/L)	0.184	N/A	N/A	0.183	0.113	N/A	N/A	0.119
Blood Chemistry (plasma)								
Terminal <d86/87>								
ALT (U/L)	65.51	77.54	101.43*	98.20**	84.80	81.89	105.24	84.40np
AST (U/L)	66.54	72.77	107.07**	186.00*	76.22	77.52	133.96(↑)	138.20np(↑)
LDH (U/L)	71.0	166.0*	np	np	88.8	126.2	np	np
CK (U/L)	207.4	414.0	343.0**	369.9**	238.9	230.2	467.6	327.0np
Glucose (mmol/L)	4.154	3.507**	3.296**	3.358**	3.778	3.973	3.272*	3.458
TG (mmol/L)	1.049	1.069	1.117	0.732	1.240	1.017	0.908	0.5070np
Protein (gl/L)	68.03	67.92	66.07	62.76*	70.08	68.60	68.60	64.90np
K (mmol/L)	7.47	6.41**	np	np	7.77	7.27	np	np
Cl (mmol/L)	94.1	93.7	89.8*	96.8	94.4	95.7	89.0**	88.8**
Fe (µmol/L)	36.02	34.63	21.30**	17.20**	77.89	82.18	54.60*	36.30np

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Thyroid hormones	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery <d92>								
LDH (U/L)	124.1	N/A	N/A	185.8	72.1	N/A	N/A	163.9**
CK (U/L)	555.0	N/A	N/A	291.5	147.4	N/A	N/A	192.4*
Glucose (mmol/L)	4.654	N/A	N/A	4.090**	4.329	N/A	N/A	3.766
Fe (µmol/L)	32.64	N/A	N/A	68.03**	78.82	N/A	N/A	73.56
Urinalysis								
Terminal <d80/81>								
VOL (mL)	6.22	4.82	7.16	9.52	5.38	4.07	6.56	10.54*
Protein (g/L)	2.937	5.194	7.760*	5.790	0.289	0.416	1.378**	1.025*
PROT*VOL (mg)	17.09	23.33	53.09*	38.68	1.18	1.55	6.34	10.75*
PROT/CREA (mg/mmol)	254.5	367.8	729.6*	570.8	30.7	41.8	150.7	216.8*
Recovery <d80>								
Protein (g/L)	1.786	N/A	N/A	3.475	0.233	N/A	N/A	1.563**
Immunotoxicity <N>	10	10	9	5	10	10	10	8
Spleen cell count (x10^6)	543.0	419.5	552.3	764.8(↑)	307.9	308.8	313.9	558.3*
FACSC								
CD3(T)	48.0	39.3*	26.9*	31.9*	40.6	38.1	26.7*	22.0*
CD4+(helper T)	29.8	24.6*	16.3*	20.6*	24.4	23.6	15.4*	13.4*
CD8+(cytotoxic T)	16.5	13.0*	9.2*	10.3*	13.6	12.1	9.6*	7.5*
CD161+(NK)	7.2	6.8	7.0	6.8	5.9	6.2	6.0	4.1*
CD45RA+(PanB)	31.6	32.4	23.7*	25.1*	28.3	25.3	18.2*	14.5*
Antibody titers								
Ig A	28.9	26.2	35.0	41.0	53.5	33.4*	29.9*	48.9*
Ig M	105.8	130.4	145.2*	143.8*	135.1	134.9	132.0	140.3
Ig G	2102	1864	1640	1690	7018	4356*	3384*	3378*
PFC	-	-	-	-	-	-	-	-

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Organ Weights (BW Relative %)								
Terminal BW (g)	430.2	447.1	442.2	413.2	260.4	272.2	285.7**	296.9**
Brain	0.4762	0.4668	0.4756	0.4887	0.7278	0.7107	0.6711*	0.6637**
Heart	0.3489	0.3621	0.4387*	0.4461*	0.4101	0.3680	0.4623	0.5006**
Liver	4.1491	4.0845	4.6118*	4.2127	3.8845	3.8364	4.0985	4.3067**
Kidneys	0.6537	0.6584	0.8108**	0.8419**	0.6630	0.6941	0.7624**	0.8088**
Spleen	0.1889	0.1792	0.2632**	0.5816**	0.2022	0.2093	0.2792**	0.5018**
Testes	0.8456	0.8052	0.7881	0.7624*	N/A	N/A	N/A	N/A
Prostate	0.2668	0.2367	0.2157	0.1971*	N/A	N/A	N/A	N/A
Recovery BW (g)	459.5	N/A	N/A	398.5	265.9	N/A	N/A	277.7
Heart	0.3412	N/A	N/A	0.4274*	0.3891	N/A	N/A	0.5487**
Kidneys	0.5999	N/A	N/A	0.7123**	0.6543	N/A	N/A	0.7404*
Spleen	0.1638	N/A	N/A	0.2730**	0.2123	N/A	N/A	0.4025**
Gross Pathology								
Terminal <Number examined>	10	10	10	10	10	10	10	10
General observations								
Dilatation/s	0	0	9	9	0	0	4	9
Heart								
Enlarged	0	0	3	1	0	0	1	2
Liver								
Discoloration/s	0	0	8	4	0	0	3	8
Distinct lobulation	0	2	1	2	0	0	1	4
Pancreas								
Discoloration/s	0	0	3	1	0	0	0	5
Edematous	0	0	0	1	0	0	0	0
Kidneys								
Discoloration/s	0	0	9	5	0	0	8	7
Enlarged	0	0	0	1	0	0	0	0
Area/s	0	0	0	0	0	0	0	1
Deformation	0	0	0	1	0	0	0	1
Surface-change/s	0	0	0	0	0	0	0	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Lung								
Area/s	0	0	0	1	0	0	0	0
Stomach								
Area/s	0	0	0	1	0	0	0	0
Small intestine								
Change-in-contents	0	0	0	0	0	0	0	1
Large intestine								
Change-in-contents	0	0	0	0	0	0	0	1
Urinary bladder								
Change-in-contents	0	0	0	2	0	0	0	0
Dilatation/s	0	0	0	1	0	0	0	0
Thyroid gland								
Discoloration/s	0	0	2	0	0	0	1	2
Adrenal glands								
Area/s	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen								
Deformation	0	0	0	1	0	0	0	0
Discoloration/s	0	0	0	1	0	0	0	0
Enlarged	0	0	0	6	0	0	0	8
Swollen	0	0	6	2	0	0	5	2
Thymus								
Diminished in size	0	0	0	1	0	0	0	0
Discoloration/s	0	0	1	1	0	0	0	0
Eyes								
Discoloration/s	0	0	0	1	0	0	0	0
Ovaries	N/A	N/A	N/A	N/A				
Discoloration/s					0	0	0	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Recovery <Number examined>	10	0	0	4	10	0	0	7
Heart								
Enlarged	0			1	0			3
Dilatation/s	0			0	0			1
Nodule/s	0			0	0			1
Liver								
Deformation	0			1	0			1
Distinct lobulation	1			1	0			0
Enlarged	0			0	0			1
Retraction/s	0			0	0			1
Surface-change/s	0			2	0			0
Swollen	0			2	0			1
Pancreas								
Edematous	0			0	0			1
Kidneys								
Deformation	0			0	0			1
Spleen								
Area/s	0			0	0			2
Discoloration/s	0			0	0			6
Enlarged	0			0	0			2
Surface-change/s	0			1	0			0
Swollen	0			1	0			5
Histopathology								
Terminal <Number examined>								
Brain	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Congestion /Inc.blood (+)	1	2	-	1	-	1	0	5
(++)	-	1	9	6	-	-	4	5
(+++)	-	-	1	2	-	-	-	-
Focal necrosis (++)	-	-	-	-	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Sciatic nerve	<9>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Inflamm. infiltr. (+)	-		1	1	-		1	-
Vasc. hypertrophy (++)	-		-	1	-		-	-
Heart	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-	2	1	-	-	-	-	2
(++)	-	1	3	-	-	-	1	1
(+++)	-	-	1	3	-	-	-	-
Dilation (+)	-	-	-	-	-	-	1	2
(++)	-	-	5	3	-	-	-	2
(+++)	-	-	3	-	-	-	-	-
Inflamm. Infiltr. (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Myocard. Degener. (++)	-	-	1	-	-	-	-	3
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Myocard. Hypertro. (+)	-	-	-	-	-	-	1	-
(++)	-	-	5	2	-	-	6	5
(+++)	-	-	5	7	-	-	3	4
Thrombosis Atrial (+)	-	-	-	-	-	-	-	1
(++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Thrombosis Valve (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
(++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	3	-	-	-	1
(++++)	-	-	1	2	-	-	-	-
Valv.Inflamm. Erosio. (++)	-	-	-	3	-	-	-	1
(+++)	-	-	1	3	-	-	-	-
Valv. Vascularization (+)	-	1	1	2	-	-	-	-
(++)	-	-	-	2	-	-	-	-

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Valvular Fibrosis (+)	-	3	1	-	-	-	1	3
(++)	-	-	5	3	-	-	3	2
(+++)	-	-	2	3	-	-	2	2
(++++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Valvular Hemorrhage (+)	-	-	-	2	-	-	-	-
(++)	-	-	1	-	-	-	-	-
(+++)	-	-	1	-	-	-	-	-
Vasculopathy (+)	-	-	4	1	-	-	-	4
(++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Carotid Body	<10>	<0>	<9>	<5>	<10>	<0>	<10>	<8>
Congestion/Inc.blood (+)	-		7	3	-		2	6
(++)	-		-	1	-		-	-
Thrombosis (++)	-		-	1	-		-	-
Larynx	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Inflammat. Infiltr. (+)	-		-	-	-		-	1
(++)	-		1	-	-		-	1
Lungs	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Alveolar Macrophage (+)	-	-	-	1	-	-	-	1
(++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Congestion/Inc.blood (+)	-	-	2	2	-	-	1	-
(++)	-	-	-	1	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(++++)	-	-	1	2	-	-	-	-
Erythroc. Extravasat. (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
Focal fibrosis (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
Hypertr. Media Vasc. (+)	-	-	1	2	-	-	1	1
(++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Thrombus Mineraliz.(++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Vascular mineralizat. (+)	1	2	7	5	1	3	8	5
(++)	-	-	1	-	-	-	1	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Stomach	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-		2	-	-		-	-
(++)	-		-	1	-		-	-
Erosion/s (+)	-		1	-	1		1	2
(++)	-		1	1	-		-	-
Duodenum	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-		3	2	-		1	1
(++)	-		2	-	-		-	-
(+++)	-		-	1	-		-	-
Jejunum	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-		2	-	-		-	-
(++)	-		-	-	-		-	1
(+++)	-		-	1	-		-	-
Ileum	<10>	<0>	<10>	<8>	<10>	<0>	<10>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-		2	-	-		-	-
(++)	-		-	1	-		-	-
(+++++)	-		-	-	-		-	1
Cecum	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-		1	-	-		-	3
(+++)	-		-	1	-		-	-
Edema (+)	-		-	1	-		-	-
Colon	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<9>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-		1	-	-		1	-
(+++)	-		-	1	-		-	-
Rectum	<10>	<0>	<9>	<8>	<10>	<0>	<10>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-		1	1	-		-	1
(+++)	-		-	1	-		-	-
Payer's Patches	<10>	<0>	<10>	<7>	<10>	<0>	<10>	<10>
Congestion/In-blood(+++)	-		-	-	-		-	1
Hemorrhage (+++)	-		-	-	-		-	1
Necrosis (++)	-		-	-	-		-	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Liver	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Activ. Kupffer cells (+)	-	-	-	1	-	-	2	4
(++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Congestion/Inc.blood (+)	-	-	-	1	-	-	-	2
(++)	-	-	1	2	-	-	-	-
(+++)	-	-	1	2	-	-	-	-
Perivasc. Fibrosis (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
Thrombus (+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Biliary hypertr./hyperpl.(+)	-	-	-	-	-	-	-	2
Oval cells (++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Pigment Deposits (+)	-	-	-	-	-	-	2	1
(++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Regenerat. Hepatoc. F. (+)	-	-	-	1	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Pancreas	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-		1	1	-		-	1
(++)	-		1	2	-		-	1
(+++)	-		1	2	-		-	-
Diff. Atrophy Acin. (++)	-		-	2	-		-	-
(+++)	-		-	1	-		-	-
Focal Atrophy Acin. (+)	1		-	-	-		-	-
(++)	-		-	1	-		-	1
Kidneys	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Congestion/Inc.blood (+)	-	-	-	-	-	-	3	-
(++)	-	-	4	1	-	-	6	3
(+++)	-	-	5	4	-	-	-	4
(++++)	-	-	1	3	-	-	-	-
Basoph.Tubules (+)	4	4	2	1	4	3	6	8
(++)	5	6	5	7	-	-	-	-
(+++)	-	-	3	1	-	-	-	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Glom. Enlargement (+)	-	-	3	1	-	-	6	3
(++)	-	-	7	5	-	-	-	7
(+++)	-	-	-	3	-	-	-	-
Infarction/Necrosis (++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	1
(++++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Tubular dilatation (++)	-	-	1	-	-	-	-	1
Hyperpl.Trans.C. Pel. (++)	-	-	-	-	-	-	1	-
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Pigment deposits (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
(++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Ureters	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Dilatation (+)	-		-	1	-		-	-
(++)	-		-	3	-		-	-
Inflammation (++)	-		-	-	-		-	1
Urinary Bladder	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Congestion/Inc.Blood (+)	-		-	1	-		-	-
Hyperpl.Trans.C. (+)	-		-	-	-		1	-
(++)	-		-	-	-		-	1
Inflammation (+)	-		-	-	-		1	-
(++)	-		-	-	-		-	1
Pituitary gland	<10>	<9>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>-	<10>
Conges./Inc.Blood (+)	-	7	-	1	2	7	1	0
(++)	-	-	10	4	-	-	7	7
(+++)	-	-	-	4	-	-	2	3
Hemorrhage (++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Thyroid gland	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Conges./Inc.Blood (+)	-	1	3	3	-	-	5	5
(++)	-	-	6	4	-	-	4	4
(+++)	-	-	1	2	-	-	-	-

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Adrenal glands	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Hypertrophy cortex C.(+)	-	-	-	2	-	1	-	2
(++)	-	-	-	-	-	-	-	2
(+++)	1	-	-	1	-	-	-	-
(++++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Conges./Inc.Blood (+)	1	5	1	2	-	5	4	1
(++)	1	3	3	3	-	1	5	5
(+++)	-	-	6	2	-	-	1	2
(++++)	-	-	-	-	-	-	-	1
(+++++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Spleen	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Conges./Inc.Blood (+)	-	-	2	-	-	-	-	-
(++)	1	-	3	2	-	-	3	6
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	1
(++++)	-	-	-	2	-	-	-	-
Incr.Erythropoiesis (+)	9	1	1	-	4	4	2	-
(++)	1	-	5	1	6	5	6	-
(+++)	-	-	4	4	-	-	2	7
(++++)	-	-	-	4	-	-	-	3
Red. Cellul.Marg.Z. (+)	-	-	-	-	-	-	-	2
(++)	-	-	1	3	-	-	-	2
(+++)	-	-	-	4	-	-	-	1
Red. Cellul.Wh. Pulp (++)	-	-	-	3	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Lymphocytolysis (+)	-	-	-	-	-	-	-	1
Bone marrow/Sternum	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Dilated Sinuses/Con. (+)	-	-	6	1	-	-	4	3
(++)	-	-	1	3	-	-	1	-
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Incr.Erythropoiesis (+)	1	6	-	-	2	1	4	1
(++)	-	-	8	2	-	-	6	9
(+++)	-	-	2	7	-	-	-	-
Incr. Megakaryocytes (+)	2	2	5	6	-	-	4	6
(++)	-	-	-	3	-	-	-	2
Bone marrow/Femur	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<9>
Dilated Sinuses/Con. (+)	-	4	-	1	-	2	-	1
(++)	-	-	7	3	-	-	6	1
(+++)	-	-	2	4	-	-	3	5
(++++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Incr.Erythropoiesis (+)	3	4	-	-	3	6	-	-
(++)	-	-	-	-	-	-	1	-
(+++)	-	-	9	2	-	-	9	2
(++++)	-	-	1	7	-	-	-	7
Incr. Megakaryocytes (+)	-	-	-	2	-	1	-	3
(++)	-	-	-	4	-	-	-	-
Emperipolesis	-	-	-	1	-	-	-	-
Focal necrosis (++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(++++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Myelofibrosis (+)	-	-	-	3	-	-	-	1
(++)	-	-	-	-	-	-	-	1
(+++)	-	-	1	-	-	-	-	1
(++++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Thymus	<10>	<0>	<10>	<8>	<10>	<0>	<10>	<10>
Atrophy (++)	-		-	1	-		-	-
(+++)	-		-	-	-		-	1
Conges./IExt.Blood (+)	-		1	1	-		1	2
(+++)	-		-	1	-		-	-
(++++)	-		1	1	-		-	-

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Starry Sky Macrop. (+)	-		-	-	-		1	-
(+++)	-		-	1	-		-	1
(++++)	-		-	-	-		-	1
Mesenteric Lymph node	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Conges./Ext.Blood (+)	-	-	1	1	-	-	-	-
(++)	-	-	-	2	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(++++)	-	-	-	1	-	-	-	1
Erythrophagocytosis (+)	-	-	-	1	-	-	-	1
(++)	-	-	-	4	-	-	-	1
Fibrosis (+)	-	-	-	2	-	-	-	-
(++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Lymphoid Atrophy (+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Plexiform change (+)	1	1	2	3	-	-	1	-
(++)	-	-	1	1	-	1	-	-
(+++)	-	1	-	-	-	-	-	-
Popliteal LN.	<10>	<1>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Conges./Inc.Blood (+)	-	-	-	1	-		-	-
(+++)	-	-	-	2	-		-	-
(++++)	-	-	-	1	-		-	-
Parotid Glands	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Hypertrophy Acin. C. (+)	-	-	-	4	-	-	-	-
(++)	-	-	-	2	2	-	1	-
Mandibular Glands	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<10>
Focal Atrophy (+)	-	-	-	1	-	-	-	-
(++)	-	-	-	1	-	-	-	1
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Hypertrophy Acin. C. (+)	1	-	-	3	-	-	-	-
(++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Incr. Interst. Cells (+)	-	-	-	1	-	-	-	-

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Focal Necrosis (++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(++++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Pigment Deposits (++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Exorbital Lacr. Glds.	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Focal Atrophy (+)	-		-	1	-		-	-
Hypertrophy Acin. C. (++)	-		-	1	-		-	-
Bone/Femur	<10>	<10>	<10>	<9>	<10>	<10>	<10>	<9>
Hyperostosis (+)	-	-	-	1	-	-	-	1
(++)	-	-	1	2	-	-	-	3
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Focal Necrosis B/BM (++)	-	-	-	1	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Thrombosiss (++)	-	-	-	-	-	-	-	1
Skin/ subcutis	<10>	<0>	<10>	<9>	<10>	<0>	<10>	<10>
Inflammation (+)	-		-	-	-		-	1
(++)	-		-	-	-		-	1
Reactive hyperplasia (+)	-		-	-	-		-	1
(++)	-		-	-	-		-	1
Testes	<10>	<10>	<10>	<9>	N/A	N/A	N/A	N/A
Conges./Inc.Blood (++)	-	-	1	3				
Epididymides	<10>	<10>	<10>	<9>	N/A	N/A	N/A	N/A
Conges./Inc.Blood (+)	-	-	1	1				
(++)	-	-	-	2				
Inflammat. Infiltr. (+)	-	2	1	2				
Cellular Debris (+)	-	1	2	4				
Sperm Granuloma/s (+++)	-	-	-	1				
Sperm Stasis (+)	-	-	-	1				
Prostate gland	<10>	<0>	<10>	<9>	N/A	N/A	N/A	N/A
Conges./Inc.Blood (+)	-		7	4				
(++)	-		-	2				

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**	**0 (Control)**	**1.5**	**5**	**15/10 [a]**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Seminal vesicles	<10>	<0>	<10>	<9>	N/A	N/A	N/A	N/A
Conges./Inc.Blood (+)	-		-	2				
Ovaries	N/A	N/A	N/A	N/A	<10>	<10>	<10>	<10>
Conges./Inc.Blood (+)					-	1	2	1
(++)					-	-	8	7
(+++)					-	-	-	2
Uterus	N/A	N/A	N/A	N/A	<10>	<10>	<10>	<10>
Conges./Inc.Blood (+)					-	-	8	4
(++)					-	-	-	6
Cervix	N/A	N/A	N/A	N/A	<10>	<10>	<10>	<10>
Conges./Inc.Blood (+)					-	-	-	3
Vagina	N/A	N/A	N/A	N/A	<10>	<10>	<10>	<10>
Conges./Inc.Blood (+)					-		-	1
(++)					-		-	5
Postdose Evaluation [c]								
Number Evaluated	<10>	<0>	<0>	<4>	<10>	<0>	<0>	<7>
Heart								
Congestion/Inc.Blood (++)	-			-	-			1
Infarction (++)	-			-	-			1
Myocardial fibrosis (+)	-			-	2			-
(+++)	-			-	-			1
Thrombosis atrial (++)	-			-	-			1
Valvular fibrosis (+)	-			-	-			1
(++++)	-			-	-			1
Lung								
Congestion/Inc.Blood (+)	-			-	-			2
Liver	<1>			<3>	<0>			<4>
Focal fibrosis. (+)	-			-				1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 85-3934 (Molidustat)** **Report No.: PH-37056**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]	0 (Control)	1.5	5	15/10 [a]
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Kidneys								
Basophilic tubules (+)	4			2	1			5
(++)	4			2	-			2
(+++)	1			-	-			-
Infarction/Necrosis (++)	-			-	-			1
Spleen								
Caps. Mineral./Fibro. (+)	-			-	2			1
(++)	-			-	-			4
Congestion/Inc.Blood (++)	-			-	1			1
Incr. Erythropoiesis (+)	7			-	3			3
(++)	-			-	7			-
Incr. Red pulp (+)	-			-	1			3
(++)	-			-	-			2
(+++)	-			-	1			1
Bone Marrow, Femur								
Incr. Erythropoiesis (+)	-			-	-			2
(++)	-			1	-			-
Thymus								
Congestion/IExt.Blood (+)	-			1	-			-
Mesenteric LN	<10>			<4>	<9.>			<7>
Erythrophagocytosis (+)	-			-	-			1
Lymphoid Atrophy (+++)	-			-	-			1

- No noteworthy finding + Minimum ++ Slight +++ Moderate ++++ Marked +++++ Massive

* p < 0.05, ** p < 0.01; Dunnett exact homogenous test; Bonferroni/Mann-Whitney U-test; Dunnett exact heterogeneous test; N: number

N/A: not applicable, FOB: Functional Observation Battery

a The earliest unscheduled death in the high dose group occurred in week 8 of the study. As a consequence the high dose was reduced from 15 mg/kg to 10 mg/kg from week 9 onwards

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

c Noteworthy findings during the treatment period, which were not listed under 'Postdose Evaluation' were fully reversible

d Suspected non treatment-related death.

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity – 26 Weeks (6 Months) -Toxicity Study in Rats

Report Title:	Repeated Dose Toxicity Study in Wistar Rats (6-Month Daily Administration by Gavage)
Report No.:	PH-37098
Location in CTD:	4.2.3.2.5
Test Article:	BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)

Species/Strain:	Rat/ Wistar (Hsd Cpb:WU)	Study No.:	T3082111
Initial age:	6-7 weeks	GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing:	26 weeks (6 months)	Date of 1st dose:	[redacted]-20[redacted]
Duration of Postdose:	N/A		
Method of Administration:	orally by gavage		
Vehicle/Formulation:	ethanol / Solutol HS15 / tap Water; (1:4:5 (v/v/v))		
Special features:	-		
NOAEL	Males: 0.3 mg/kg/day, Female: 1.0 mg/kg/day		

Repeat-Dose Toxicity - 26-Week Toxicity Study in Rats **Test Article:** **BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)** **Report No.:** **PH-37098**

Daily Dose [mg/kg] as Na salt	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**
As dose for molidustat	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	20	20	20	20	20	20	20	20
Toxicokinetics (Day 170)								
No. of Animals/Time Point	3	3	3	3	3	3	3	3
AUC (µg·h/L)	N/A	137	476	1590	N/A	146	695	1830
C_{max} (µg/L)	N/A	37.5	141	342	N/A	46.5	167	732
Noteworthy Findings								
Died/Sacrificed Moribund	3 c	0	1 c	2 c	1 c	0	0	0
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Water Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations								
skin reddening (on auricles and paws)	0	6	19	20	0	0	11	20

Repeat-Dose Toxicity - 26-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)** **Report No.: PH-37098**

Daily Dose [mg/kg] as Na salt	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**
As dose for molidustat	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**
Gender	M	M	M	M	**F**	**F**	**F**	**F**
Ophthalmoscopy								
Vessels of fundus: strongly perfused	-	-	-	14	-	-	-	6
Haematology (day 178/177)								
ERY ($10E^{12}$/L) (1)	9.254	9.358	10.177**	12.112**	8.726	8.813	9.005	11.214**
HB (g/L) (1)	156.2	158.2	180.4**	250.0**	155.8	158.3	165.2*	236.8**
HCT (L/L) (1)	0.5066	0.5042	0.5840**	0.7434**	0.5039	0.5099	0.5302*	0.7280**
MCH (pg) (1)	16.88	16.92	17.76**	20.63**	17.87	17.98	18.35	21.13**
MCHC (g/L ERY) (1)	308.1	313.7*	309.4	336.0**	309.3	310.4	311.7	325.2**
MCV (fL) (1)	54.77	53.89	57.38**	61.38**	57.79	57.92	58.93	64.95**
RETI (o/o) (2)	1.36	1.21	1.69*	2.52**	1.49	1.67	1.55	2.42**
HQUICK (sec) (2)	48.36	49.79	54.30	62.54*	35.21	34.49	37.35	42.99**
THRO ($10E^{9}$/L) (1)	1180.8	1149.6	828.2**	785.0**	1089.8	1083.5	931.3**	890.8**
Anisochromasia	-	-	-	present	-	-	-	-
Hyperchromasia	-	-	-	present	-	-	-	-
Macrocytosis	-	-	-	present	-	-	-	-
BASO ($10E^{9}$/L) (2)	0.049	0.050	0.060	0.122**	0.023	0.026	0.028	0.079**
ATYP ($10E^{9}$/L) (2)	0.048	0.060	0.060	0.010**	0.028	0.031	0.028	0.016
Blood Chemistry (plasma) (day 178/177)								
AST (U/L) (3)	100.13	94.89	115.92	123.83	86.55	112.05	96.76	124.70*
LDH (U/L) (3)	207.1	168.8	227.0	491.0*	117.9	195.5	163.9	327.4**
Cl (mmol/L) (1)	98.4	97.8	97.6	92.0**	99.6	99.5	99.8	97.9
P (mmol/L) (3)	3.074	2.854	2.905	3.445*	2.697	2.649	2.509	2.583
Transferrin (g/L) (2)	3.094	2.719	2.497*	2.015**	4.192	3.650*	3.232**	3.131**
Ferritin (µg/L) (2)	380.14	452.80	745.50	1395.00**	646.20	1009.30*	830.50	1461.40**
Urinalysis (day 178/177)								
PROT*VOL (mg) (3)	45.18	38.67	24.74	73.17	3.94	4.80	4.70	11.77

Repeat-Dose Toxicity - 26-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)** **Report No.: PH-37098**

Daily Dose [mg/kg] as Na salt	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**
As dose for molidustat	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**
Gender	M	M	M	M	**F**	**F**	**F**	**F**
PROT/CREA (mg/mmol) (3)	559.7	494.6	338.4	900.5	83.9	114.7	120.4	225.6
Blood	-	-	-	present	-	-	-	-
Organ Weights[a, b] (%)								
Heart (1)	1487.1 mg	+6	+3	+29**	1093.8 mg	-3	+1	+12**
Spleen (1)	762.3 mg	+1	+1	+30**	515.4 mg	+6	+5	+32**
Kidneys (1)	2968.2 mg	+1	-2	+13**	1986.4 mg	+1	0	+16**
Liver (1)	17892.0 mg	+2	-3	+8	10472.3 mg	+4	0	+8*
Seminal vesicles (1)	1816.8 mg	-8	-8	-20**	N/A	N/A	N/A	N/A
Prostate (1)	1315.8 mg	-7	-5	-17**	N/A	N/A	N/A	N/A
Gross Pathology								
<Number examined: N>	<20>	<20>	<20>	<20>	<20>	<20>	<20>	<20>
General observations								
Discoloration/s	0	0	0	18	0	0	0	17
Heart								
Enlarged	0	1	0	5	0	0	0	0
Spleen								
Discoloration/s	0	4	6	4	0	2	2	4
Enlarged	0	0	0	6	0	0	0	1
Swollen	0	0	0	2	0	0	0	1
Histopathology								
Brain <N>	<20>	<0>	<0>	<19>	<20>	<0>	<0>	<20>
Congestion (+)	2			12	-			2
Heart <N>	<20>	<20>	<20>	<20>	<20>	<20>	<20>	<20>
Valvular fibrosis (+)	-	-	-	1	-	-	-	3
(++)	-	-	-	1	-	-	-	-

Repeat-Dose Toxicity - 26-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)** **Report No.: PH-37098**

Daily Dose [mg/kg] as Na salt	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**
As dose for molidustat	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**
Gender	M	M	M	M	**F**	**F**	**F**	**F**
Congestion/dilation (+)	-	1	-	-	-	-	1	1
(++)	1	-	-	5	-	-	-	-
(+++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Lungs <N>	<20>	<20>	<20>	<19>	<20>	<20>	<20>	<20>
Vascular mineralization(+)	5	4	8	16	3	5	3	6
(++)	1	-	1	1	-	-	-	1
Congestion (+)	-	-	1	15	1	1	-	7
(++)	1	-	-	-	-	-	-	-
(+++)	1	-	-	-	-	-	-	-
(++++)	1	-	-	-	-	-	-	-
Kidneys <N>	<20>	<20>	<20>	<19>	<20>	<20>	<20>	<20>
Congestion (+)	1	1	2	-	4	3	8	4
(++)	-	-	-	4	-	2	-	13
(+++)	3	-	-	14	-	-	-	2
(++++)	-	-	-	1	-	-	-	-
Enlarged glomeruli (+)	1	-	8	-	-	-	-	10
(++)	-	-	1	9	-	-	-	9
(+++)	-	-	-	10	-	-	-	1
Basoph.tubules (in animals without finding of CPN)								
(+)	13	9	9	3	7	7	5	10
(++)	3	3	6	3	-	-	-	1
Proteinaceous casts (in animals without finding of CPN) (+)	9	5	7	-	3	3	2	3
(++)	-	-	-	-	-	-	1	3
CPN (+)	2	5	-	8	-	-	-	-
(++)	-	1	-	5	-	-	-	-

Repeat-Dose Toxicity - 26-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)** **Report No.: PH-37098**

Daily Dose [mg/kg] as Na salt		**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**
As dose for molidustat		**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**
Gender		M	M	M	M	**F**	**F**	**F**	**F**
Pituitary gland	<N>	<20>	<0>	<0>	<19>	<20>	<0>	<0>	<20>
Congestion (+)		2			4	-			5
(++)		1			15	-			14
(+++)		-			-	-			1
Adrenal glands	<N>	<20>	<0>	<0>	<19>	<20>	<0>	<1>	<20>
Congestion (+)		2			2	1		1	7
(++)		1			13	2		-	11
(+++)		-			-	-		-	1
Spleen	<N>	<20>	<20>	<20>	<19>	<20>	<18>	<20>	<20>
Congestion (+)		1	3	1	-	-	1	-	-
(++)		1	-	1	9	-	-	-	1
(+++)		-	-	-	9	-	-	-	-
Incr.erythropoiesis (+)		1	4	1	2	-	3	2	5
(++)		-	-	-	15	2	1	-	6
(+++)		-	-	-	1	1	1	-	-
Bone marrow/sternum	<N>	<20>	<20>	<20>	<19>	<20>	<20>	<20>	<20>
Adipocytes (+)		11	7	11	3	4	5	3	5
(++)		6	10	7	-	12	12	12	1
(+++)		1	2	1	-	2	2	4	-
Incr.erythropoiesis (+)		-	-	4	-	-	3	8	-
(++)		1	-	8	-	-	-	5	2
(+++)		-	-	-	19	-	-	-	18
Incr.megakaryocytes (+)		-	-	-	7	4	1	-	7
(++)		1	-	-	-	-	-	-	3
Congestion/dil.Sinuses (+)		3	2	9	8	5	-	1	5
(++)		1	-	2	11	-	1	-	10
(+++)		1	-	-	-	-	-	-	2

Repeat-Dose Toxicity - 26-Week Toxicity Study in Rats **Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)** **Report No.: PH-37098**

Daily Dose [mg/kg] as Na salt	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**	**Control**	**0.321**	**1.07**	**3.21**
As dose for molidustat	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**	**0**	**0.3**	**1.0**	**3.0**
Gender	M	M	M	M	**F**	**F**	**F**	**F**
Bone marrow/femur <N>	<20>	<20>	<20>	<19>	<20>	<20>	<20>	<20>
Adipocytes (+)	-	-	-	13	3	1	2	13
(++)	10	5	10	6	13	11	13	-
(+++)	10	15	10	-	3	7	5	-
Incr.erythropoiesis (+)	-	-	7	-	-	-	5	-
(++)	-	-	2	-	-	-	-	-
(+++)	-	-	1	19	-	1	-	20
Incr.megakaryocytes (+)	-	-	-	-	-	-	-	4
(++)	1	-	-	1	-	-	-	-
Congestion/dil.sinuses (+)	1	-	6	12	2	4	3	15
(++)	1	-	1	7	-	-	-	5
(+++)	-	-	1	-	--	-	-	-

- No noteworthy finding + Minimal ++ Slight +++ Moderate ++++ Marked

Statistical analysis: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; (1) Dunnett exact homogenous test; (2) Bonferroni/Mann-Whitney U-test; (3) Dunnett exact heterogeneous test;

CPN: chronic progressive nephropathy

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

b Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicate percent difference for the absolute organ weights

c Suspected non treatment-releated death

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity - 4-Week Toxicity Study in Beagle Dogs

Report Title:	Repeated Dose Systemic Toxicity Study in Beagle Dogs (4 Weeks Daily Administration by Gavage with 2 Weeks Recovery Period)
Report No.:	PH-36352
Location in CTD:	4.2.3.2.6
Test Article:	BAY 85-3934

Species/Strain:	Beagle Dog	Study No.:	T7080441
Initial age:	23-27 weeks	GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing:	4 weeks (28-29 days)	Date of 1st dose:	[redacted]-20[redacted]
Duration of Postdose:	2 weeks (15 days)		
Method of Administration:	Oral (gavage)		
Vehicle/Formulation:	PEG400/Ethanol (90/10); 2 ml/kg body weight		
Special features:	-		
NOAEL	15 mg/kg/day		

Repeat-Dose Toxicity - 4-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-36352**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals (terminal)	3	3	3	3	3	3	3	3
(recovery)	2	0	0	2	2	0	0	2
Toxicokinetics (Week 4); males and females pooled								
No. of Animals/Time Point		3M+3F	3M+3F	3M+3F				
AUC (µg·h/L)		3240	13695	80680				
C_{max} (µg/L)		2445	8283	40800				
Noteworthy Findings								
Died/Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight [a] (cf. control %)	9.4kg	-2.1	-6.4	-8.5	7.9kg	±0	-1.3	-5.1
Food Intake (qualitative)	-	-	-	reduced	-	-	-	-
Clinical Observations (d1-30) [number of finding observed/number of animal with finding]				All animals of terminal and recovery groups				
Salivation	0/0	0/0	0/0	12/2	2/1	3/1	2/2	5/3
Liquid vomited (yellowish)	8/4	6/3	3/2	25/4	0/0	6/2	6/2	6/3
Liquid vomited (watery)	1/1	0/0	0/0	7/4	2/2	0/0	0/0	0/0

Repeat-Dose Toxicity - 4-Week in Dogs		**Test Article:**	**BAY 85-3934**		**Report No.:**	**PH-36352**		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals (terminal)	3	3	3	3	3	3	3	3
(recovery)	2	0	0	2	2	0	0	2
Body temperature, Reflex	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography & BP	-	-	-	-	-	-	-	-
Nutritional status	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology								
(Terminal; week 4)								
Erythrocytes ($10E^{12}$/L)	6.59	8.41(↑)	9.06↑	9.11↑	6.41	8.52 (↑)	8.81 ↑	8.78 (↑)
MCH (pg)	21.9	22.3	20.8 (↓)	19.5 ↓	22.4	21.6	20.3 (↓)	20.5 (↓)
MCV (fL)	65.7	68.8	65.6	61.8 (↓)	67.0	67.0	64.3	66.4
Reticulocyte (o/oo)	11	17↑	25↑	23 (↑)	11	20↑	23 ↑	29 ↑
Thrombocytes ($10E^{9}$/L)	429	510	382	736 ↑	383	552	591	504
Anisochromasia (mean N)	0	2	3	3	0	3	3	3
Hypochromasia (mean N)	0	0	2	2	0	0	2	2
(Recovery: week 6)								
Erythrocytes ($10E^{12}$/L)	6.64	N/A	N/A	9.45 ↑	6.78	N/A	N/A	9.38 ↑
MCH (pg)	22.3	N/A	N/A	17.7 ↓	22.74	N/A	N/A	17.5 ↓
MCV (fL)	67.9	N/A	N/A	58.6 ↓	68.6	N/A	N/A	58.5 ↓
Hypochromasia (mean N)	0	N/A	N/A	2	0	N/A	N/A	2
Blood Chemistry								
K (mmol/lL (week 4) serum	5.0	5.7	6.0	6.1↑	4.7	5.9	6.2	6.4↑
O-Dem (mU/g) (week 5) plasma	13.4	12.1↓	11.1	7.2↓	17.2	13.5	14.1	12.1
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Homogenized Liver Enzymes								
(Terminal; week 4)								
ECOD (nmol/g*min)	15.2	11.5	8.7↓	4.9↓	19.9	14.9	13.5	5.4↓
ALD (nmol/g*min)	12.1	9.0	6.8 ↓	3.7 ↓	11.3	9.1	8.4 ↓	4.4 ↓

Repeat-Dose Toxicity - 4-Week in Dogs		**Test Article:**	**BAY 85-3934**		**Report No.:**	**PH-36352**		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals (terminal)	3	3	3	3	3	3	3	3
(recovery)	2	0	0	2	2	0	0	2
EH (nmol/g*min)	1511	1232	1006 ↓	536 ↓	1737	1484	1214	591 ↓
GLU-T (nmol/g*min)	2772	1964	1361 ↓	1002 ↓	1978	1926	1997	1022 ↓
(Recovery; week 6)								
ECOD (nmol/g*min)	22.4	N/A	N/A	14.8	19.3	N/A	N/A	15.4
ALD (nmol/g*min)	15.8	N/A	N/A	12.6	14.1	N/A	N/A	12.7
EH (nmol/g*min)	1407	N/A	N/A	1271	1290	N/A	N/A	995
GLU-T (nmol/g*min)	2105	N/A	N/A	1996	2109	N/A	N/A	1716
Organ Weights (% of BW) (terminal)								
Liver	3.30	3.64	3.62	3.72(↑)	3.34	3.30	3.54	4.11↑
Spleen	0.28	0.38	0.52↑	0.58↑	0.33	0.33	0.60↑	0.69↑
Lung	0.87	0.94	1.01	1.00	0.87	0.90	0.97	1.13↑
Thymus	0.133	0.116	0.084↓	0.080↓	0.163	0.097	0.118	0.102
Gross Pathology (terminal)								
Number examined	3	3	3	3	3	3	3	3
General Observation								
Discoloration/s	0	0	0	0	0	0	0	1
Heart								
Enlarged	0	0	0	1	0	0	0	1
Clotted blood	0	0	0	1	0	0	0	2
Change-in-contents	0	0	0	1	0	0	0	2
Pancreas								
Discoloration/s	0	0	1	1	0	0	0	1
Stomach								
Area/s	0	0	0	1	0	0	0	0
Discoloration/s	0	0	0	0	0	0	0	1
Duodenum								
Discoloration/s	0	0	1	1	0	0	0	0

Repeat-Dose Toxicity - 4-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-36352**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals (terminal)	3	3	3	3	3	3	3	3
(recovery)	2	0	0	2	2	0	0	2
Intestine								
Discoloration/s	0	0	0	0	0	0	0	1
Cecum								
Consistency-change/s	0	0	0	0	0	0	0	1
Bone marrow								
Discoloration/s	0	2	3	3	0	0	1	2
Skeletal muscle								
Discoloration/s	0	0	0	0	0	0	1	1
Thymus								
Diminished in size	0	0	0	0	0	0	1	1
Discoloration/s	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen								
Enlarged	0	0	0	0	0	0	1	1
Histopathology[b] (terminal)								
Aorta								
Prom.Vasa Vasorum (+)	0	0	0	2	0	1	2	2
Lung								
Venous change (+)	0	1	0	1	0	0	0	1
(++)	0	0	0	2	0	0	0	2
Granulocytosis (+)	0	1	1	1	0	0	0	0
(++)	0	1	1	0	0	0	0	2
Liver								
Congestion (+)	0	1	1	1	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
Inc. glycogen content (+)	0	1	1	3	0	0	1	0
Pancreas								
Congestion/inc. blood (+)	0	0	1	0	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	0

Repeat-Dose Toxicity - 4-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-36352**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals (terminal)	3	3	3	3	3	3	3	3
(recovery)	2	0	0	2	2	0	0	2
Spleen								
Incr. erythropo./Megak. (+)	0	1	1	0	0	3	1	0
(++)	0	1	0	1	0	0	1	0
(+++)	0	0	2	1	0	0	1	0
(++++)	0	0	0	1	0	0	0	3
Megakaryoc. in Wh.P.(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Wh.Pulp hemorrhage(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Submandibular glands								
Focal atrophy (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
Sublingual glands								
Inflammat. infiltr. (++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Duodenum								
Congestion (+)	0	0	1	0	0	0	0	0
(++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Erosion (+)	0	0	0	1	0	0	0	0
Dilatation Br.glands(++)	0	0	0	2	0	0	0	0
Femur								
Myelofibrosis (++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Incr.erythropoiesis (+)	0	0	0	0	1	0	0	0
(++)	0	2	0	0	0	1	0	0
(+++)	0	0	2	2	0	2	2	0
(++++)	0	1	1	1	0	0	1	3
Sternum								
Incr. erythropoiesis (++)	0	0	0	0	2	0	0	0
(+++)	0	2	2	1	0	3	3	1
(++++)	0	1	1	2	0	0	0	2
Incr. megakaryocytes (+)	0	1	3	1	0	0	2	0
(++)	0	0	0	2	0	0	0	2

Repeat-Dose Toxicity - 4-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-36352**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**	**0 (Control)**	**5**	**15**	**50**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals (terminal)	3	3	3	3	3	3	3	3
(recovery)	2	0	0	2	2	0	0	2
Bone M.cast/smear								
Incr. eythropoiesis (+)	0	0	0	0	0	0	1	0
(++)	0	0	0	0	0	0	0	0
(+++)	0	3	3	0	1	0	1	0
(++++)	0	0	0	3	0	3	1	3
Incr. megakaryocytes (+)	0	1	0	0	0	1	0	0
(++)	0	0	2	0	0	1	2	1
(+++)	0	0	1	3	1	0	0	2
Incr. immat. Hemop.C (+)	0	1	0	0	0	0	0	0
(++)	0	2	1	0	1	3	2	3
(+++)	0	0	2	3	0	0	0	0
Postdose Evaluation								
Bone M.cast/smear								
Incr. adipocytes (+)	0			0	0			1
(++)	0			2	0			0
Red. erythropoiesis (++)	0			2	0			1
Femur								
Incr. erythropoiesis (+)	0			2	0			1
(++)	0			0	0			1
Sternum								
Incr. adipocytes (++)	0			2	0			0

- No noteworthy finding + Minimum ++ Slight +++ Moderate ++++ Marked

N: number of animals

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

b Noteworthy findings during the treatment period, which were not listed under 'Postdose Evaluation' were fully reversible

2.6.7.7E Repeat-Dose Toxicity - 13-Week Toxicity Study in Beagle Dogs

Report Title:	Repeated Dose Systemic Toxicity Study in Beagle Dogs (13-Weeks Daily Administration by Gavage)
Report No.:	PH-36672 & PH-36672A
Location in CTD:	4.2.3.2.7
Test Article:	BAY 85-3934

Species/Strain:	Beagle Dog	Study No.:	T8081469
Initial age:	21-24 weeks	GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing:	13 weeks	Date of 1st dose:	[redacted]-20[redacted]
Duration of Postdose:	N/A		
Method of Administration:	Oral (gavage)		
Vehicle/Formulation:	PEG400/Ethanol (90/10)		
Special features:	N/A		
NOAEL	2.5 mg/kg/day		

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934 micronized** **Report No.: PH-36672 & PH-36672A**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Toxicokinetics (Week 13); males and females pooled								
No. of Animals/Time Point		4M+4F	4M+4F	4M+4F				
AUC (µg·h/L) mean 4M+4F		1530	6680	30200				
Cmax (µg/L) mean 4M+4F		934	4400	16800				
Noteworthy Findings								
Died/Sacrificed Moribund	-	-	-	-	(1) [b]	-	-	-
Body Weight [a]	10.6 kg	-0.9	-1.9	-2.8	9.6 kg	-5.2	-7.3	-14.6 ↓
Body weight gain (-1 to 13w) (kg)	(+3.2)	(+3.2)	(+3.3)	(+3.0)	(+3.2)	(+2.8)	(+2.7)	(+2.0)
Food Intake:	-	-	-	-	-	-	-	reduced

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs	**Test Article:**	**BAY 85-3934 micronized**			**Report No.:**	**PH-36672 & PH-36672A**		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Clinical Observations (number of finding/number of animals with finding)								
Reddening of snout	0/0	0/0)	24/2	24/2	0/0	3/1	24/2	32/2
Preserves left paw	0/0	0/0)	0/0	9/1	0/0	0/0	0/0	0/0
Liquid feces	0/0	32/4)	7/4	3/2	0/0	0/0	2/2	2/2
Reddish feces	0/0	0/0)	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	3/2
Salivation	0/0	0/0)	0/0	3/2	0/0	0/0	0/0	1/1
Apathy	0/0	0/0)	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0
Body temperature, Reflex	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography & BP	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology (day 86)								
Erythrocytes ($10E^{12}$/L)	6.4	8.2	12.4 ↑	12.6 ↑	6.7	9.8 ↑	12.1 ↑	12.0 ↑
Hemoglobin (g/L)	147	180	215 ↑	203 ↑	154	206 ↑	215 ↑	207 ↑
Hematocrit (L/L)	0.45	0.56	0.72 ↑	0.73 ↑	0.47	0.66 ↑	0.72 ↑	0.72 ↑
MCH (pg)	23.0	21.9	17.5 ↓	16.1 ↓	22.8	21.1	17.8 ↓	17.3 ↓
MCHC (g/L ERY)	327	320	301 ↓	278 ↓	329	314	299 ↓	287 ↓
MCV (fL)	70.3	68.5	58.0 ↓	57.8 ↓	69.1	67.0	59.4 ↓	60.4 ↓
PT (sec)	8.2	8.2	9.1 ↑	9.3 ↑	8.0	8.7	9.0	9.2 ↑
Basophils ($10E^{9}$/L)	0.08	0.118	0.293 ↑	0.223 ↑	0.073	0.135	0.263 ↑	0.270 ↑
Blood Chemistry (day 86)								
ALT (U/L)	42	41	84 ↑	116 ↑	39	60	61	55
AST (U/L)	33	30	49 ↑	54 ↑	36	40	42	40
ALP (U/L)	139	127	149	232 ↑	107	102	152	142 ↑
GLDH (U/L)	6.1	7.4	30.7 ↑	41.4 ↑	5.0	17.4 ↑	32.5 ↑	21.7 ↑
LDH (U/L)	39	42	82 ↑	125 ↑	49	50	90 ↑	166 ↑
Total bilirubin (µmol/L)	0.3	0.3	0.4	0.6	0.3	0.4	0.2	1.1 ↑
K (mmol/l) serum	4.6	4.8	5.9	6.3 ↑	4.4	4.9	5.9	5.8

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs		Test Article:	BAY 85-3934 micronized		Report No.:	PH-36672 & PH-36672A		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (in % of BW)								
Spleen	0.37	0.32	0.38	0.62	0.37	0.33	0.46	0.96
Kidneys	0.50	0.51	0.59	0.75	0.46	0.53	0.62	0.71
Lung	0.86	0.84	0.94	0.93	1.20	0.90	0.94	1.01
Thymus	0.082	0.108	0.072	0.073	0.130	0.067	0.064	0.079
Testes	0.169	0.153	0.146	0.094	N/A	N/A	N/A	N/A
Epididymides	0.033	0.030	0.031	0.019	N/A	N/A	N/A	N/A
Prostate	0.059	0.041	0.032	0.016	N/A	N/A	N/A	N/A
Gross Pathology n								
General Observation								
Red discolorations	0	0	2	2	0	0	0	0
Brain								
Congestion/hyperemia	0	0	2	3	0	0	0	0
Heart								
Clotted blood	0	0	0	3	0	0	0	0
Oral cavity								
Red discolorations	0	0	1	2	0	0	0	0
Duodenum								
Red discolorations	0	0	1	1	0	0	0	1
Jejunum								
Red discolorations	0	0	0	1	0	0	1	2
Ileum								
Red discolorations	0	0	0	0	0	0	0	1
Cecum								
Red discolorations	0	0	0	0	0	0	0	1
Bone marrow								
Red discolorations	0	1	3	4	0	0	2	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934 micronized** **Report No.: PH-36672 & PH-36672A**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Mesenteric Lymph node								
Red discolorations	0	0	3	4	0	0	0	0
Thymus								
Diminished in size	0	0	0	2	0	0	0	0
Spleen								
Enlarged	0	0	1	2	0	0	1	1
Histopathology n								
Heart								
Vascular change (+)	0	2	0	2	0	1	1	0
(++)	0	0	3	2	0	1	0	0
Lung								
Vascular change (+)	0	0	1	2	0	0	0	2
(+)	0	0	0	0	0	0	0	1
Megakaryocytes (+)	0	1	3	4	0	0	2	1
Alveol. Histiocytosis (+)	0	1	0	0	0	0	0	1
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Regeneration, focal (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
Kidneys								
Congestion (+)	0	0	1	0	0	2	1	1
(++)	0	0	3	3	0	0	2	2
(+++)	0	0	0	0	0	0	1	0
Basophilic tubules (+)	1	0	3	1	0	1	2	0
(++)	0	1	1	2	0	0	1	0
(+++)	0	0	0	0	0	0	1	1
Glom.Enlargement (+)	0	0	0	0	0	0	1	0
(++)	0	1	3	1	0	0	2	3
(+++)	0	0	1	3	0	0	1	1
Inc. Glom.Fib. (+)	0	1	2	0	0	0	2	4
(++)	0	0	0	3	0	0	1	0

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs	Test Article:	BAY 85-3934 micronized		Report No.:	PH-36672 & PH-36672A		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Urinary bladder								
Congestion (+)	0	0	3	1	0	1	2	1
(++)	0	0	0	1	0	1	0	3
Testis					N/A	N/A	N/A	N/A
Congestion (+)	0	0	1	2				
(++)	0	0	2	0				
Juvenile (+)	0	0	1	0				
(++)	0	0	0	1				
(+++)	0	0	0	1				
Diffuse Degeneration (++)	0	0	0	1				
Epididymides					N/A	N/A	N/A	N/A
Aspermia	0	0	0	2				
Prostate					N/A	N/A	N/A	N/A
Congestion (++)	0	0	0	2				
Flattend epithelium (++)	0	0	0	3				
(+++)	0	0	2	1				
Ovary	N/A	N/A	N/A	N/A				
Juvenile (+)					3	2	1	0
(++)					1	2	3	1
(+++)					0	0	0	3
Uterus	N/A	N/A	N/A	N/A				
Juvenile (+)					3	3	2	0
(++)					1	1	1	0
(+++)					0	0	1	4
Vagina	N/A	N/A	N/A	N/A	<4>	<4>	<4>	<3>
Juvenile (+)					2	2	0	0
(++)					2	2	2	1
(+++)					0	0	2	2

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934 micronized** **Report No.: PH-36672 & PH-36672A**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Pituitary								
Congestion (+)	0	0	1	0	0	1	2	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
Thyroid								
Congestion (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Red. Foll.D./Solid A. (+)	2	1	2	1	0	0	0	2
(++)	0	0	1	1	0	0	3	1
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Parathyroid gland	<4>	<4>	<4>	<3>	<3>	<3>	<3>	<4>
Congestion (++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Adrenal Glands								
Congestion (+)	0	0	3	2	0	1	2	3
(++)	0	0	1	2	0	0	0	1
decreased size of medullary cells (+)	0	0	0	1	0	0	0	3
(++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Liver								
Extram. Erythropoiesis(+)	0	0	1	0	0	0	0	1
(++)	0	0	0	2	0	0	0	0
Condensed cytoplasm (+)	2	2	2	1	2	4	1	1
(++)	1	0	2	1	0	0	1	0
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Congestion (+)	1	1	1	1	0	3	2	0
(++)	0	0	1	1	0	0	0	3
Inc. fibers PP (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
Fibrosis (++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Incr. Glycogen/CC (++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Extravas. Blood (++)	0	0	0	1	0	0	0	0

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934 micronized** **Report No.: PH-36672 & PH-36672A**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Centrilob.degenerat. (++)	0	0	0	0	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Hypertr./Cyto. change (+)	0	0	3	0	0	0	1	0
(++)	0	0	0	4	0	0	0	0
Inc. Lipid content (+)	0	1	1	1	0	1	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
Inflamm. Infiltr. (++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Pancreas	<4>	<4>	<4>	<4>	<3>	<4>	<4>	<4>
Acinar atrophy (+)	0	1	0	1	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	2
Spleen								
Erythropoiesis (+)	0	0	2	1	0	0	2	0
(++)	0	0	0	1	0	0	1	1
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	3
Dens Marg.zone (+)	0	0	0	2	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
Inc. Fibrosis Azan (+)	0	0	0	1	0	0	0	2
Inc./Pleo.Megakaryo. (+)	1	1	3	0	0	0	2	0
(++)	0	0	1	3	0	0	2	3
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	1
Thymus	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<3>
Congestion (+)	0	0	2	1	0	1	2	0
(++)	0	0	0	1	0	0	1	1
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Atrophy/Involution (+)	0	0	0	2	0	0	1	1
(++)	0	0	1	0	0	0	1	1
(+++)	0	0	0	1	0	1	0	0

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934 micronized** **Report No.: PH-36672 & PH-36672A**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	2.5	7.5	25	0 (Control)	2.5	7.5	25
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Tonsils								
Congestion (+)	0	0	3	1	0	1	2	1
(++)	0	0	1	3	0	0	2	3
Mineralization (+)	3	2	0	0	1	0	1	0
Lymph node mandibular	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<2>	<4>
Erythrophagocytosis (++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymph node mesenteric								
Erythrophagocytosis (+)	1	2	1	1	0	1	3	3
(++)	0	1	1	3	2	1	0	0
Parotid gland	<4>	<4>	<3>	<4>	<3>	<4>	<3>	<3>
Congestion (+)	0	0	0	1	0	0	1	1
Lymph node popliteal								
Erythrophagocytosis (+)	0	1	1	0	1	0	0	0
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Mesentery								
Congestion (+)	0	0	0	1	0	0	0	0
Brain								
Congestion (+)	0	0	3	3	2	0	2	1
Eye								
Congestion (+)	0	0	4	2	0	4	2	2
(++)	0	0	0	2	0	0	2	2
Sublingual glands	<4>	<4>	<4>	<3>	<3>	<2>	<3>	<4>
Mineralization/s (+)	1	1	0	0	0	0	0	2
Tongue								
Congestion (+)	0	0	0	1	0	0	0	0
Stomach								
Congestion (+)	0	0	3	0	0	0	1	0
(++)	0	0	0	1	0	1	0	1
Mineralization/s (+)	0	0	0	0	0	0	0	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs	Test Article:	BAY 85-3934 micronized		Report No.:	PH-36672 & PH-36672A		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Duodenum								
Congestion (+)	0	0	0	1	0	0	1	1
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Jejunum								
Congestion (+)	0	0	1	0	0	0	0	0
Ileum								
Congestion (+)	0	0	1	1	0	0	2	0
Cecum								
Congestion (+)	0	0	0	1	0	1	0	3
Colon								
Congestion (+)	0	0	2	2	1	1	2	3
Rectum								
Congestion (+)	0	0	0	1	1	0	2	3
Femur Bone Marrow								
Hyperostosis (+)	0	0	1	0	0	0	3	0
(++)	0	0	1	2	0	0	1	1
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	2
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Dilated Sinuses (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Myelofibrosis (+)	0	0	2	0	0	0	2	0
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	3
Incr. Erythropoiesis (+)	0	3	0	0	0	1	0	0
(++)	0	1	0	0	0	3	0	0
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	3
(++++)	0	0	4	3	0	0	4	1
Inc./Pleo. Megakaryo. (+)	0	2	0	0	0	0	0	0
(++)	0	0	4	4	0	0	4	4

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs		Test Article:	BAY 85-3934 micronized		Report No.:	PH-36672 & PH-36672A		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**	**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**25**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Sternum Bone Marrow								
Dilated Sinuses (+)	0	0	0	1	0	0	0	0
Myelofibrosis (+)	0	0	1	0	0	0	1	0
(++)	0	0	0	2	0	0	1	3
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	1
Incr. Erythropoiesis (+)	0	1	0	0	0	0	0	0
(++)	0	3	0	2	0	0	2	0
(+++)	0	0	4	1	0	1	0	4
Incr. Fib. Sil. St (+)	0	0	2	1	0	0	2	1
(++)	0	0	1	1	0	0	1	1
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	2
Incr. Fibers Azan St (+)	0	0	0	1	0	0	2	0
(++)	0	0	1	1	0	0	1	3
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	1
Hyperostosis (++)	0	0	0	0	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	3
Incr/Pleo. Megakaryo. (+)	2	1	1	0	0	1	1	0
(++)	0	0	3	4	0	0	3	4
Bone Marrow								
Dilated Sinuses (++)	0	0	1	0	0	0	1	0
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	2
Myelofibrosis (++)	0	0	1	1	0	0	1	1
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	2
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Incr. Erythropoiesis (+)	0	1	0	0	0	3	0	1
(++)	0	0	0	2	0	0	0	1
(+++)	0	0	1	1	0	0	4	1
(++++)	0	0	3	1	0	0	0	1

Repeat-Dose Toxicity - 13-Week in Dogs **Test Article: BAY 85-3934 micronized** **Report No.: PH-36672 & PH-36672A**

Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	2.5	7.5	25	0 (Control)	2.5	7.5	25
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Incr/Pleo. Megakaryo. (+)	0	0	2	2	0	0	1	1
(++)	0	0	1	2	0	0	2	2
(+++)	0	0	1	0	0	0	1	1
Sternum Bone								
Hyperostosis (+)	0	0	2	1	0	0	2	0
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	2
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Femur Bone								
Hyperostosis (+)	0	0	1	1	0	0	1	0
(++)	0	0	0	3	0	0	0	3
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	1

- No noteworthy finding + Minimal ++ Slight +++ Moderate ++++ Marked

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

b The animal was sacrificed prematurely in week 11 due to an erroneous intra-tracheal administration.

N/A: not applicable, n : number of animals with finiding

2.6.7.7F Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Beagle Dogs

Report Title:	Repeated Dose Systemic: Toxicity Study in Beagle Dogs (39-Weeks Daily Administration by Gavage)
Report No.:	PH-37341
Location in CTD:	4.2.3.2.8
Test Article:	BAY 1053048 (Na-salt of molidustat: BAY 85-3934)

Species/Strain:	Beagle Dog	Study No.:	T0082433
Initial age:	22-24 weeks	GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing:	39 weeks	Date of 1st dose:	[redacted]-20[redacted]
Duration of Postdose:	N/A		
Method of Administration:	Oral (gavage)	Vehicle/Formulation:	PEG400/Ethanol (9:1)
Special features:	N/A		
NOAEL	0.5 mg/kg/day		

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs **Test Article:** **BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)** **Report No.:** **PH-37341**

Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Toxicokinetics (Week 39); males and females pooled								
No. of Animals/Time Point		4M+4F	4M+4F	4M+4F				
AUC (µg·h/L)		285	821	3880				
C_{max} (µg/L)		146	491	2450				
Noteworthy Findings								
Died/Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	4
Body Weight: Weight gain	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption: reduced	-	-	-	-	-	-	-	1/4
Clinical Observations								
Reddening of snout	-	-	-	3/4	-	-	-	1/4
Uncoordinated gait	-	-	-	1/4	-	-	-	1/4
Decreased motility, poor condition	-	-	-	-	-	-	-	3/4

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs			**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)**			**Report No.:**	**PH-37341**
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
BP, Reflex, Body temperature	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology (day 86)								
Erythrocytes ($10E^{12}$/L)	6.4	6.4	6.9	11.3 ↑	6.9	6.9	8.0 ↑	11.9 ↑
Hemoglobin (g/L)	149	149	159	215 ↑	159	160	182	229 ↑
Hematocrit (L/L)	0.45	0.44	0.47	0.67 ↑	0.48	0.48	0.54 ↑	0.72 ↑
MCH (pg)	23.2	23.2	23.0	18.9 ↓	23.0	23.4	22.9	19.2 ↓
MCV (fL)	69.8	68.9	68.1	58.9 ↓	68.7	69.7	67.8	60.1 ↓
Met-Hemoglobin (%)	0.60	0.25 ↓	0.00 ↓	0.15 ↓	0.48	0.25 ↓	0.00 ↓	0.15 ↓
Basophils ($10E^{9}$/L)	0.058	0.060	0.060	0.113 ↑	0.055	0.060	0.088	0.108 ↑
Fibrinogen (g/L)	2.39	2.25	2.21	1.73 ↓	1.77	1.77	1.88	1.56 ↓
APTT (sec)	11.8	11.7	11.6	12.3 ↑	11.9	12.0	12.1	12.9 ↑
PT (sec)	7.3	7.4	7.2	8.0 ↑	9.2	7.6	7.5	9.8 ↑
Blood Chemistry (day 214)								
ALT (U/L)	62	52	51	108 ↑	42	48	38	48
GLDH (U/L)	7.1	4.9	5.4	25.1 ↑	5.2	5.4	4.1	26.8 ↑
LDH (U/L)	38	42	33	77 ↑	38	35	39	97 ↑
Total bilirubin (µmol/L)	0.7	1.3	0.6	1.4 ↑	1.1	1.3	1.0	2.3 ↑
K (mmol/L) serum	4.4	4.4	4.3	5.7 ↑	4.4	4.2	4.8	6.3 ↑
Fe (µmol/L) serum	48	48	43	27 ↓	55	54	46	23 ↓
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs			**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)**		**Report No.:**	**PH-37341**	
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Organ Weights (in % of Terminal Body weight)								
Adrenals	0.0112	0.0101	0.0113 ↑	0.0129 ↑	0.0148	0.0161	0.0183 ↑	0.0257 ↑
Kidneys	0.4537	0.4772	0.5336	0.7220 ↑	0.4464	0.4606	0.5130 ↑	0.8256 ↑
Thyroids with parathyroids	0.0091	0.0090	0.0088	0.0102	0.0082	0.0099 ↑	0.0109 ↑	0.0119 ↑
Gross Pathology n								
General Obeservations								
Discolorations	0	0	0	3	0	0	0	3
Kidneys								
Enlarged/Swollen	0	0	0	2	0	0	0	1
Spleen								
Enlarged/Swollen	0	0	0	2	0	0	0	1
Consistency-Change/s	0	0	0	2	0	0	0	0
Histopathology n								
Heart								
Arteritis/ Periarteritis (+)	0	0	0	0	0	0	0	0
(++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Congestion (+)	0	0	0	2	0	0	1	0
(++)	0	0	0	1	0	0	1	3
Lung								
Megakaryocytes (+)	0	0	0	3	0	0	0	3
Kidneys								
Congestion (+)	0	2	2	0	1	2	1	0
(++)	0	0	1	1	0	0	3	0
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	4
(++++)	0	0	0	1	0	0	0	0

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs	Test Article:	BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)	Report No.:	PH-37341			
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Basophilic tubules (+)	0	0	0	1	0	0	0	0
(++)	0	0	0	1	0	0	0	2
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	2
Glom.Enlargement (+)	0	0	1	0	0	0	3	0
(++)	0	0	1	1	0	0	1	0
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	1
(++++)	0	0	0	2	0	0	0	3
Ureters								
Congestion (+)	0	0	0	1	0	0	1	0
(++)	0	0	0	2	0	0	0	0
Urinary bladder								
Congestion (+)	0	0	1	3	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	1	3	1
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Epididymides					N/A	N/A	N/A	N/A
Arteritis/Periarteritis (+)	0	0	0	1				
(+++)	0	0	0	1				
Prostate grand					N/A	N/A	N/A	N/A
Congestion (+)	0	0	0	1				
(++)	0	0	0	1				
Ovaries	N/A	N/A	N/A	N/A	4	4	4	4
Congestion (+)					0	0	0	1
(++)					0	0	1	1
Oviducts	N/A	N/A	N/A	N/A	4	4	4	4
Thrombosis (++)					0	0	0	1
Uterus	N/A	N/A	N/A	N/A	4	4	4	4
Congestion (+)					0	0	0	4
Cervix	N/A	N/A	N/A	N/A	4	4	4	2
Congestion (++)					0	0	0	2

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs	Test Article:	BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)			Report No.:	PH-37341		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Vagina	N/A	N/A	N/A	N/A				
Congestion (+)					0	0	1	0
(++)					0	0	0	4
Pituitary								
Congestion (++)	0	0	0	2	0	0	0	0
(+++)	0	0	0	2	0	0	0	2
Adrenal Glands								
Congestion (+)	0	0	0	1	0	0	1	1
(++)	0	0	0	3	0	0	0	3
Liver								
Condensed cytoplasm (+)	0	1	1	0	1	0	1	0
(++)	0	0	0	3	0	1	1	1
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	2
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Congestion (+)	0	0	0	2	1	0	2	0
(++)	0	0	0	1	1	0	0	1
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	3
Prominent/hyperplastic bile ducts (+)	0	0	0	1	0	0	0	3
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Lobar necrosis/Fibr. (+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Centrilob. necrosis (+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Pancreas								
Congestion (+)	0	0	0	2	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	2
Thymus	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<3>
Atrophy (++)	0	0	1	0	0	0	0	0
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	3
(++++)	0	0	0	0	0	0	1	0

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs	Test Article:	BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)		Report No.:	PH-37341		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Starry sky macroph. (++)	0	0	0	0	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	2
Spleen								
Atrophy white Pulp (+++)	0	0	0	0	0	0	0	2
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Erythropoiesis (+)	0	0	2	1	0	0	2	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	2
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	1
Focal Necrosis (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
(++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Tonsils								
Congestion (+)	0	2	3	1	0	0	2	0
(++)	0	0	0	2	0	0	0	2
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	2
Atrophy/involution (++)	0	0	0	0	0	0	0	2
Parotid gland	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<3>
Congestion (+)	0	0	1	1	0	0	2	0
(++)	0	0	0	2	0	0	0	2
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
Mandibular grands								
Congestion (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
(++)	0	0	0	3	0	0	0	3
Sublingual grands	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<3>
Congestion (+)	0	0	0	0	0	0	1	1
(++)	0	0	0	3	0	0	0	2
Lymph node mandibular								
Red.Cellul.Cortex (++)	0	0	0	0	0	0	0	3
Granulocytosis (+)	0	1	0	1	0	0	0	0
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	1

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs	Test Article:	BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)			Report No.:	PH-37341		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Lymph node mesenteric								
Red.Cellul.Cortex (++)	0	0	0	0	0	0	0	2
Lymph node popliteal								
Red.Cellul.Cortex (++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Granulocytosis (+)	1	0	0	1	0	1	0	1
(++)	0	0	0	0	0	0	1	1
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Cerebrum								
Vacuolation of neuropil (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	2
Congestion (+)	0	0	1	4	0	0	0	0
Cerebellum	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<2>
Congestion (+)	0	0	0	3	0	0	0	2
Brain stem/Midbrain	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<3>
Congestion (+)	0	0	0	4	0	0	1	3
Medula oblongata	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<3>
Congestion (+)	0	0	0	4	0	0	1	2
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Spinal cord								
Congestion (+)	0	0	0	4	0	0	0	1
Sciatic nerve								
Degeneration (+)	0	0	0	0	0	0	0	2
(++)	0	0	0	3	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Skin	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<3>
Congestion (+)	0	0	0	2	0	0	0	0
Eyes								
Congestion (+)	0	0	0	0	0	0	0	3

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs	Test Article:	BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)		Report No.:	PH-37341		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Stomach								
Congestion (+)	0	0	0	1	0	0	0	0
(++)	0	0	0	3	0	0	0	4
Thrombosis (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
Duodenum								
Congestion (+)	0	0	2	0	0	0	0	3
(++)	0	0	0	3	1	0	0	0
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Jejunum								
Congestion (+)	0	0	0	1	0	0	1	1
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Ileum	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<3>
Congestion (+)	0	0	0	1	0	0	0	1
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Cecum	<4>	<3>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>	<4>
Congestion (+)	0	0	1	1	0	0	0	2
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Colon								
Congestion (+)	0	0	0	3	0	0	0	2
(++)	0	0	0	0	0	0	0	2
Rectum								
Congestion (+)	0	0	0	2	0	0	0	3
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Thrombosis (+)	0	0	0	0	0	0	0	1
Sternum Bone/Marrow								
Dilated Sinuses (+)	0	0	1	1	0	0	1	0
(++)	0	0	0	3	0	0	0	0
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	3
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	1

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs	Test Article:	BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)			Report No.:	PH-37341		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Myelofibrosis (+)	0	0	0	1	0	0	0	2
(++)	0	0	0	1	0	0	0	2
Incr. Erythropoiesis (+)	0	0	2	1	0	0	0	0
(++)	0	0	1	0	0	0	3	0
(+++)	0	0	0	3	0	0	1	0
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	4
Incr. Megakaryocytes (+)	0	0	0	1	0	0	1	2
(++)	0	0	0	0	0	0	1	0
Femur Bone/Marrow								
Dilated Sinuses (++)	0	0	0	3	0	0	0	2
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	2
Myelofibrosis (+)	0	0	0	2	0	0	0	0
(++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Incr. Erythropoiesis (+)	0	0	0	0	0	0	2	0
(++)	0	0	0	1	0	0	2	0
(+++)	0	0	0	3	0	0	0	0
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	4
Incr. Megakaryocytes (+)	0	0	0	1	0	0	0	0
(++)	0	0	0	0	0	0	0	3
Pleomorphic Megakaryocytes	0	0	0	0	0	0	0	2
Bone Marrow Cast								
Dilated Sinuses (+)	0	0	0	1	0	0	2	0
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	2
(++++)	0	0	0	0	0	0	0	1
Myelofibrosis (+)	0	0	0	1	0	0	0	0
(++)	0	0	0	1	0	0	0	1
(+++)	0	0	0	0	0	0	0	1
(++++)	0	0	0	1	0	0	0	1

Repeat-Dose Toxicity - 39-Week Toxicity Study in Dogs	**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na-salt of molidustat)**			**Report No.:**	**PH-37341**		
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.6**	**5.4**
as molidustat	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Incr. Erythropoiesis (+)	0	0	4	0	0	0	1	0
(++)	0	0	0	1	0	0	3	0
(+++)	0	0	0	1	0	0	0	0
(++++)	0	0	0	2	0	0	0	4
Incr. Megakaryocytes (+)	0	0	0	1	0	0	0	0
(++)	0	0	0	0	0	0	0	4
Pleomorphic Megakaryocytes	0	0	0	2	0	0	0	2

- No noteworthy finding + Minimal ++ Slight +++ Moderate ++++ Marked
N/A: not applicable n: number of animals with finding

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8A Genotoxicity *in vitro* – Ames Test (Salmonella Microsome Assay)

Report Title:	BAY 85-3934: SALMONELLA/MICROSOME TEST; PLATE INCORPORATION AND PREINCUBATION METHOD
Report No.:	PH-35906
Location in CTD:	4.2.3.3.1.1
Test Article:	BAY 85-3934

Test for Induction of:	Reverse mutations in bacteria	Study No.:	T1080094
Strains:	S. typhimurium TA1535, TA100, TA1537, TA98 and TA102	GLP Compliance:	Yes
No. of Independent Assays:	2 (Plate incorporation + Preincubation)	Date of Treatment:	[redacted]20[redacted]
No. of Replicate Cultures:	3	No. of Cells Analyzed/Culture:	$> 10^8$
Metabolizing System:	Aroclor 1254-induced male rat liver S9	Vehicle for test compound:	DMSO
Vehicle for Positive Controls:	deionized water		
Treatment:	Direct plate incorporation test and pre-incubation test: 17 hours incubation		
Cytotoxic Effects:	None		
Genotoxic Effects	Negative		

Genotoxicity *in vitro* - Salmonella microsome assay **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-35906**

Activation	Test Article	Concentration [µg/plate]	Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98	TA 102
Plate incorporation	DMSO	0 (0.1mL/plate)	7 ± 2	98 ± 9	6 ± 1	16 ± 3	205 ± 22
Without Activation	BAY 85-3934	16	6 ± 1	122 ± 20	6 ± 2	16 ± 1	211 ± 17
	(Molidustat)	50	7 ± 1	121 ± 7	6 ± 1	15 ± 1	240 ± 22
		158	5 ± 1	112 ± 9	4 ± 1	12 ± 3	115 ± 23
		500	4 ± 2	100 ± 10	2 ± 1	19 ± 5	105 ± 45
		1581	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		5000	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Sodium azide	10	896 ± 64*	-	-	-	-
	NF	0.2	-	314 ± 25*	-	-	-
	4-NPDA	10	-	-	42 ± 5*	-	-
		0.5	-	-	-	81 ± 11*	-
	MMC	0.2	-	-	-	-	834 ± 39*
With Activation	DMSO	0 (0.1mL/plate)	9 ± 1	196 ± 22	8 ± 3	39 ± 7	303 ± 42
	BAY 85-3934	16	9 ± 1	200 ± 17	7 ± 2	35 ± 5	328 ± 39
	(Molidustat)	50	10 ± 2	183 ± 14	8 ± 3	39 ± 7	287 ± 8
		158	10 ± 1	167 ± 10	7 ± 2	28 ± 8	270 ± 24
		500	9 ± 3	167 ± 4	6 ± 4	25 ± 7	239 ± 25
		1581	3 ± 2	42 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	41 ± 18
		5000	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2-AA	3	104 ± 28*	2731 ± 120**	281 ± 33*	1902 ± 86*	686 ± 12*

MMC	Mitomycin C	NF	Nitrofurantoin
4-NPDA	4-Nitro-1,2-phenylenediamine	2-AA	2-Aminoanthracene-
*	Mutagenic effect	**	Bacteriotoxic effect
-	Not tested		

Genotoxicity *in vitro* - Salmonella microsome assay **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-35906**

Activation	Test Article	Concentration [µg/plate]	Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 98	TA 102
Preincubation	DMSO	0 (0.1mL/plate)	7 ± 1	123 ± 5	5 ± 1	22 ± 2	226 ± 34
Without Activation	BAY 85-3934	5	6 ± 1	114 ± 15	6 ± 1	17 ± 1	251± 22
	(Molidustat)	16	7 ± 1	116 ± 17	5 ± 1	24 ± 2	248 ± 28
		50	8 ± 2	123 ± 14	6 ± 1	18 ± 8	195 ± 21
		158	6 ± 1	127 ± 15	6 ± 2	23 ± 3	204 ± 14
		500	8 ± 0	111 ± 4	6 ± 2	25 ± 1	178 ± 16
		1581	1 ± 1	28 ± 17	0 ± 0	2 ± 3**	29 ± 9
	Sodium azide	10	918 ± 43*	-	-	-	-
	NF	0.2	-	465 ± 58	-	-	-
	4-NPDA	10	-	-	37 ± 6*	-	-
		0.5	-	-	-	71 ±7*	-
	Cumene	50	-	-	-	-	405 ± 9*
With Activation	DMSO	0 (0.1mL/plate)	13 ± 4	180 ± 23	10 ±2	32 ± 7	292 ± 44
	BAY 85-3934	5	11 ± 3	161 ± 8	8 ± 2	34 ± 6	315 ± 17
	(Molidustat)	16	11 ± 4	170 ± 13	9 ± 2	31 ± 8	317 ± 8
		50	10 ± 2	171 ± 16	10 ± 1	32 ± 7	281 ± 8
		158	9 ± 1	162 ± 35	9 ± 1	28 ± 5	271 ± 4
		500	8 ± 3	143 ± 6	7 ± 3	24 ± 2	230 ± 35
		1581	4 ± 3	42 ± 10	0 ± 0B	3** ± 3	152 ± 11
	2-AA	3	92 ± 13*	2515 ± 140*	303 ± 39*	1786 ± 319*	553 ± 32*

Cumene	cumene hydroperoxide	NF	Nitrofurantoin
4-NPDA	4-Nitro-1,2-phenylenediamine	2-AA	2-Aminoanthracene-
*	Mutagenic effect	**	Bacteriotoxic effect
-	Not tested		

2.6.7.8B Genotoxicity *in vitro* – Mouse Lymnphoma TK$^{+/-}$ Assay

Report Title: Forward cell mutation assay with BAY 85-3934 at the thymidine kinase locus (TK$^{+/-}$) in mouse lymphoma L5178Y cells
Report No. A46413
Location in CTD: 4.2.3.3.1.2
Test Article: BAY 85-3934

Test for Induction of:	Gene mutations	Study No.:	TOXT2080347
Cells:	Mouse lymphoma L5178Y/TK$^{+/-}$	GLP Compliance:	Yes
Metabolizing System:	Aroclor 1254-induced male rat liver S9	Date of Treatment:	[redacted]20[redacted]
No. of Independent Assays:	2	No. of Replicate Cultures:	2
No. of Cells Analyzed/Culture:	Totally approx. 8 x 10^6 cells (in 4 replicates)	Vehicles	Dimethyl sulfoxide (DMSO)
Treatment:	1st assay: Pulse treatment for 3 hours without or with S9 mix; 2nd assay: Continuous treatment for 24 hours without S9 mix; Pulse treatment for 3 hours with S9 mix		
Cytotoxic Effects:	Cytotoxic effects observed in the experiments without metabolic activation starting at 100 µg/mLand 30 µg/mL. In the experiments with S9 mix cytotoxic effects occurred from 32 µg/mL		
Genotoxic Effects:	Positive		

Genotoxicity *in vitro* - Mouse lymphoma TK$^{+/-}$ assay **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: A46413**

<Assay 1> **Metabolic Activation**	**Test article**	**Treatment period**	**Concentration (µg/mL)**	**Relative total growth [a] (%)**	**Mutant colonies per 10^6 cells[a]**
Without S9 mix	Dimethyl sulfoxide	3 hours	1% (v/v)	100	107
	BAY 85-3934		10	103	84
	(Molidustat)		25	83	97
			50	97	87
			100	48	207
			175	40	186
	4-Nitroquinoline 1-oxide		0.1	73	806
With S9 mix	Dimethyl sulfoxide	3 hours	1% (v/v)	100	93
	BAY 85-3934		10	105	119
	(Molidustat)		25	69	328
			50	51	303
			100	50	189
			175	42	190
	3-Methylcholanthrene		2	83	493

[a] Mean value of 2 replicate cultures

Genotoxicity *in vitro* - Mouse lymphoma assay		**Test Article:**	**BAY 85-3934**	**Report No.:**	**A46413**
<Assay 2> **Metabolic Activation**	**Test article**	**Treatment period**	**Concentration (µg/mL)**	**Relative total growth [a] (%)**	**Mutant colonies per 10^6 cells[a]**
Without S9 mix	Dimethyl sulfoxide	24 hours	1% (v/v)	100	89
	BAY 85-3934		10	83	98
	(Molidustat)		20	65	396
			30	23	1315
			40	10	1318
			50	toxic	toxic
	4-Nitroquinoline 1-oxide		0.025	88	284
With S9 mix	Dimethyl sulfoxide	3 hours	1% (v/v)	100	73
	BAY 85-3934		10	84	52
	(Molidustat)		16	85	70
			32	57	254
			64	42	158
			100	33	165
	3-Methylcholanthrene		2	62	512

[a] Mean value of 2 replicate cultures

2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9A Genotoxicity *in vivo* – Micronucleus test 1

Report Title : BAY 85-3593: MICRONUCLEUS-TEST ON THE MALE MOUSE
Report No: PH-35182
Location in CTD: 4.2.3.3.2.1
Test Article: BAY 85-3593 (HCl salt of molidustat)

Test for Induction of:	Micronucleus test in bone-marrow cells	Study No.:	T2077783
Treatment schedule:	Twice (24 hours interval)	GLP Compliance:	Yes
Species/Strain/Sex:	Mice/NMRI/male	Date of Dosing:	[redacted]20[redacted]
Age:	Ca. 6-12 weeks	Sampling time:	24 hours after treatment
Method of Administration:	intraperitoneal	Cells Evaluated:	bone-marrow cells
No of Cells Analyzed /Animal:	2000 polychromatic erythrocytes per animal	Vehicle/Formulation:	0.5% aqueous Cremophor emulsion
Special Features	Positive control; cyclophosphamide single intraperitoneal administration		
Toxic/Cytotoxic Effects	Treatment-related symptoms: apathy, roughened fur, spasm, periodically stretching of body and difficulty in breathing were observed until sacrifice at the dose from 50 mg/kg.		
Genotoxic Effects:	inconclusive		
Evidence of Exposure:	Animals treated twice with BAY 85-3593 in doses up to 200 mg/kg showed symptoms of toxicity after administration, starting at 50 mg/kg. These symptoms demonstrate relevant systemic exposure of animals.		

Genotoxicity *in vivo* – Micronucleus test 1 Test Article: BAY 85-3593 (HCl salt of BAY 85-3934) Report No.: PH-35182

Test Article	Dose [mg/kg]	Times of treatment	No. of Animals	Number of evaluated PCE	Number of NCE per 2000 PCE (Mean ± SD)	MNNCE per 2000 NCE (Mean ± SD)	MNPCE per 2000 PCE (Mean ± SD)
Vehicle (10 ml/kg)	0	2	5M	10,000	1967 ± 607	6.6 ± 4.4	4.4 ± 3.6
BAY 85-3593	50	2	5M	10,000	3418 ± 898	5.1 ± 2.8	6.8 ± 1.5
(HCl salt of Molidustat)	100	2	5M	10,000	2878 ± 338	5.9 ± 2.3	6.4 ± 3.5
	200	2	5M	10,000	4036* ± 854	4.8 ± 3.0	8.2#± 4.1
Cyclophosphamide	20	1	5M	10,000	2450 ± 619	5.2 ± 1.6	25.8* ± 13.3

*: P< 0.01 in nonparametric Wilcoxon ranking test #: exceeds all-time historical negative controls
PCE polychromatic erythrocytes NCE normochromatic erythrocytes MNNCE micronucleated NCE MNPCE micronucleated PCE

2.6.7.9B Genotoxicity *in vivo* – Micronucleus test 2 (Investigation in 4 week repeated-dose study in rats)

Report Title :	BAY 85-3934; Subacute Toxicity Study in Wistar Rats (4 Weeks Administration by Gavage and 2 Weeks Recovery Including Genotoxicity Investigation)
Report No:	PH-36369
Location in CTD:	4.2.3.2.3
Test Article:	BAY 85-3934

Test for Induction of:	Micronucleus test in bone-marrow cells	Study No.:	T3080131
Treatment schedule:	Daily for 4 weeks	GLP Compliance:	Yes
Species/Strain/Sex:	Rat/ Wistar (Hsd Cpb:WU)/male	Date of 1st dose:	[redacted]-20[redacted]
Initial Age:	Ca. 6 weeks	Sampling time:	24 hours after the last administration
Method of Administration:	orally by gavage	Cells Evaluated:	Femoral bone-marrow cells
No of Cells Analyzed /Animal:	2000 polychromatic erythrocytes per animal	Vehicle/Formulation:	Ethanol / Solutol HS15 / tap Water; (1:4:5 (v/v/v))
Special Features	Positive control; cyclophosphamide single oral administration		
Toxic/Cytotoxic Effects	Dose of 50 mg/kg: beyond MTD, 5 mg/kg : NOAEL (See 2.6.7.7A)		
Genotoxic Effects:	Inconclusive *(the increase of micronuclei is not considered to indicate a genotoxic potential of BA Y 85-3934)*		
Evidence of Exposure:	Toxicokinetic analysis conducted (group mean C_{max} and AUC values were shown in 2.6.7.7A).		

Genotoxicity *in vivo* – Micronucleus test 2 **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-36369**

Test Article	Dose [mg/kg]	Treatment (p.o. gavage)	No. of Animals	Number of evaluated PCE	Number of NCE per 2000 PCE (Mean ± SD)	MNNCE per 2000 NCE (Mean ± SD)	MNPCE per 2000 PCE (Mean ± SD)
Vehicle (10 ml/kg)	0	4 weeks	5M	10,000	2368 ± 661	0.9 ± 0.3	3.2 ± 2.3
BAY 85-3934	5	4 weeks	5M	10,000	5601 ± 1129	1.6 ± 1.2	3.6 ± 1.5
(Molidustat)	15	4 weeks	5M	10,000	6786 ± 1411	2.6 ± 0.9	6.0 ± 4.1
	50	4 weeks	5M	10,000	8841 ± 4323	5.6* ± 2.2	6.6 ± 1.7
Cyclophosphamide	20	Single	5M	10,000	8657* ± 1208	3.4 ± 1.7	25.8* ± 10.0

*: P< 0.01 in non-parametric Wilcoxon ranking test

PCE polychromatic erythrocytes NCE normochromatic erythrocytes MNNCE micronucleated NCE
MNPCE micronucleated PCE SD standard deviation

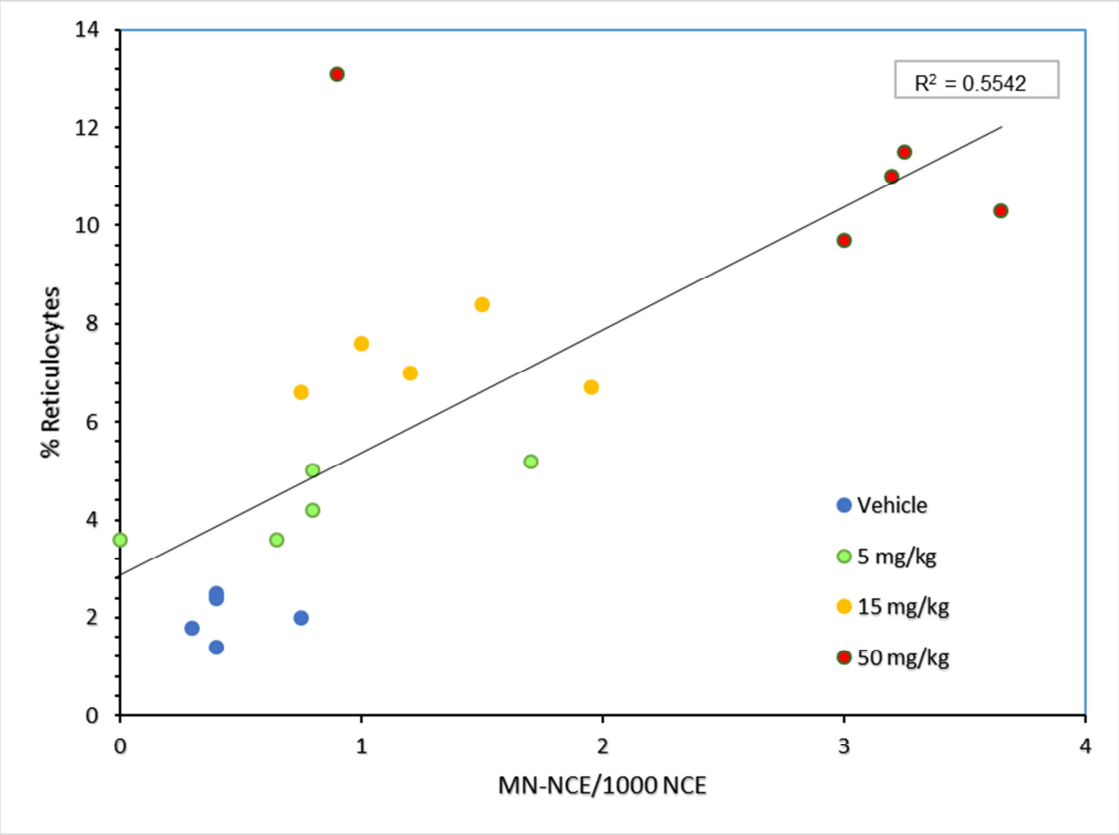


Figure 2.6.7.9B　　Correlation between micronucleus (MN) frequency in normochromatic erythrocyte (NCE) and reticulocyte count

With regard to MNNCE on an individual animal level, a clear correlation with reticulocyte counts was seen, suggesting that the slightly increased MN PCE frequency is associated with a pronounced stimulation of erythropoiesis, similar to effects described for high doses of EPO.

2.6.7.9C Genotoxicity *in vivo* – Chromosome aberration test 1

Report Title :	BAY 85-3934: IN VIVO BONE MARROW CYTOGENETIC STUDY ON THE MALE MOUSE
Report No:	PH-36384
Location in CTD:	4.2.3.3.2.2
Test Article:	BAY 85-3934

Test for Induction of:	chromosome aberration in bone-marrow cells	Study No.:	T6080549
Treatment schedule:	Single dose	GLP Compliance:	Yes
Species/Strain/Sex:	Mice/NMRI/male	Date of Dosing:	[redacted]20[redacted]
Age:	Ca. 6-12 weeks	Sampling time:	24 and 48 hours after treatment
Method of Administration:	intraperitoneal	Cells Evaluated:	bone-marrow cells
No of Cells Analyzed /Animal:	1000 cells per animal	Vehicle/Formulation:	0.5% aqueous Cremophor emulsion
Special Features	None		
Toxic/Cytotoxic Effects	Apathy, roughened fur, loss of weight, sternal recumbency, spasm, periodically stretching of body, difficulty in breathing and slitted eyes were observed from the low dose up to sacrifice		
Genotoxic Effects:	Negative		
Evidence of Exposure:	The animals treated with BAY 85-3934 showed symptoms of toxicity after administration, starting from the low dose. These symptoms demonstrate relevant systemic exposure of males to BAY 85-3934		

Genotoxicity *in vivo* – Chromosomal Aberration 1 **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-36384**

Test Article	Dose [mg/kg]	Sampling time	No. of Animals	Metaphase with aberrations (%) Including gaps (Mean ± SD)	Excluding gaps (Mean ± SD)	Only with exchanges (Mean ± SD)
Vehicle (10 ml/kg)	0	24h	5M	1.8 ± 1.1	1.4 ± 1.1	0.2 ± 0.4
BAY 85-3934	50	24h	5M	2.4 ± 1.7	2.0 ± 1.2	0 ± 0
(Molidustat)	100	24h	5M	2.4 ± 1.1	1.8 ± 0.4	0 ± 0
	200	24h	5M	2.6 ± 1.1	2.0 ± 0.7	0± 0
Cyclophosphamide	20	24h	5M	45.4*± 5.6	44.4* ± 4.9	12.0* ± 5.3
Vehicle (10 ml/kg)	0	48h	5M	2.6 ± 1.8	2.4 ± 1.8	0± 0
BAY 85-3934 (Molidustat)	200	48h	5M	3.6 ± 2.4	2.6 ± 2.5	0.2± 0.4

* $p < 0.01$ in one-sided corrected chi^2 test

2.6.7.9D Genotoxicity *in vivo* – Chromosome aberration test 2 (Investigation in 4-week repeated-dose study in rats)

Report Title :	BAY 85-3934; Subacute Toxicity Study in Wistar Rats (4 Weeks Administration by Gavage and 2 Weeks Recovery Including Genotoxicity Investigation)
Report No:	PH-36369
Location in CTD:	4.2.3.2.3
Test Article:	BAY 85-3934

Test for Induction of:	Chromosomal aberration in bone-marrow cells	Study No.:	T3080131
Treatment schedule:	Daily for 4 weeks	GLP Compliance:	Yes
Species/Strain/Sex:	Rat/ Wistar (Hsd Cpb:WU)/females	Date of 1st dose:	[redacted]-20[redacted]
Initial Age:	6-7 weeks	Sampling time:	24hours after the last administration
Method of Administration:	orally by gavage	Cells Evaluated:	Femoral bone-marrow cells
No of Cells Analyzed /Animal:	1000 cells	Vehicle/Formulation:	10% Ethanol/40% SolutolHS/50% Water
Special Features	Positive control; cyclophosphamide single intraperitoneal administration		
Toxic/Cytotoxic Effects	Dose of 50 mg/kg: beyond MTD, 5 mg/kg : NOAEL (See 2.6.7.7A)		
Genotoxic Effects:	Negative		
Evidence of Exposure:	Toxicokinetic analysis conducted (group mean C_{max} and AUC values were sown in 2.6.7.7A).		

Genotoxicity *in vivo* – Chromosomal Aberration 2 **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-36369**

Test Article	Dose [mg/kg]	Treatment (oral gavage)	No. of Animals	Metaphase with aberrations (%) Including gaps (Mean ± SD)	Metaphase with aberrations (%) Excluding gaps (Mean ± SD)
Vehicle (10 ml/kg)	0	4 weeks	5F	1.4 ± 1.1	0.2 ± 0.4
BAY 85-3934	5	4 weeks	5F	1.4 ± 1.1	0.6 ± 0.5
(Molidustat)	15	4 weeks	5F	2.2 ± 2.0	1.4* ± 1.3
	50	4 weeks	5F	1.8 ± 0.8	1.2 ± 1.1
Cyclophosphamide	20	Single i.p.	5F	19.6**± 3.0	19.4** ± 3.0

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ in one-sided corrected chi^2 test MTD: Maximal Tolerated Dose, NOAEL: No Observed Adverse Effect Level

2.6.7.9E Genotoxicity *in vivo* - UDS test 1

Report Title :	BAY 85-3934: UNSCHEDULED DNA SYNTHESIS TEST WITH MALE RAT LIVER CELLS IN VIVO
Report No:	PH-36222
Location in CTD:	4.2.3.3.2.3
Test Article:	BAY 85-3934

Test for Induction of:	UDS test in liver in rats	Study No.:	T2080112
Treatment schedule:	Single dose	GLP Compliance:	Yes
Species/Strain/Sex:	Rat/Wistar/male	Date of Dosing:	[redacted]20[redacted]
Age:	Ca. 6-10 weeks		
Method of Administration:	Oral (gavage)	Sampling time:	4, 16 hours after treatment
Cells Evaluated:	Liver cells	No of Cells Analyzed /Animal:	three slides and 50 cells per slide / animal
Vehicle/Formulation:	Ethanol/Solutol HS15/ Tap water (1:4:5; v/v/v)		
Special Features	None		
Toxic/Cytotoxic Effects	After single oral administrations of 500 and 1000 mg/kg, BAY 85-3934 treated animals showed no symptoms for the 4 hours interval. However, for the 16 hours interval the following symptoms were recorded: apathy, roughened fur, spasm and slitted eyes. One of four treated animals of 1000 mg/kg died during the test period (replaced by another animal)		
Genotoxic Effects:	Negative		
Evidence of Exposure:	Male rats treated with BAY 85-3934 showed symptoms of toxicity after administration, starting at 500 mg/kg		

Genotoxicity *in vivo* – UDS Test 1 **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-36222**

Test Article	Dose [mg/kg]	Sampling time	No. of Animals	NNG (Mean ± SD)	NG (Mean ± SD)	CG (Mean ± SD)
Vehicle (10 ml/kg)	0	16h	4M	-2.09 ± 0.31	2.47 ± 0.44	4.56 ± 0.54
BAY 85-3934	500	16h	4M	-1.48 ± 0.32	3.99 ± 0.97	5.46 ± 1.09
(Molidustat)	1000	16h	4M	-1.30 ± 0.17	3.31 ± 0.74	4.61 ± 0.85
2-AAF	100	16h	4M	4.65#± 0.37	7.93 ± 1.19	3.28 ± 0.86
Vehicle (10 ml/kg)	0	4h	4M	-1.44 ± 0.25	2.23 ± 0.62	3.66 ± 0.86
BAY 85-3934	500	4h	4M	-0.80 ± 0.12	4.06 ± 1.64	4.86 ± 1.75
(Molidustat)	1000	4h	4M	-0.68 ± 0.13	3.13 ± 1.16	3.80 ± 1.27
DMH	40	4h	4M	6.26*± 0.68	11.34# ± 1.74	5.08 ± 1.71

NNG: nuclear net grains NG: nuclear grains CG: cytoplasmic grains
2-AAF: 2-Acetylaminofluoren DMH: N,N'-Dimethylhydrazine
* : P<0.05 in Wilcoxon ranking test #: biologically relevant increase

2.6.7.9F Genotoxicity *in vivo* - UDS test 2 (Investigation in 4-week repeated-dose study in rats)

Report Title :	BAY 85-3934; Subacute Toxicity Study in Wistar Rats (4 Weeks Administration by Gavage and 2 Weeks Recovery Including Genotoxicity Investigation)
Report No:	PH-36369
Location in CTD:	4.2.3.2.3
Test Article:	BAY 85-3934

Test for Induction of:	UDS test in liver in rats	Study No.:	T3080131
Treatment schedule:	Daily for 4 weeks [a]	GLP Compliance:	Yes
Species/Strain/Sex:	Rat/ Wistar (Hsd Cpb:WU)/males	Date of the 1st Dosing:	[redacted]-20[redacted]
Age:	Ca. 6 weeks	Sampling time:	22 ± 2 hours after the last administration, 16 hours after treatment for positive control group
Method of Administration:	orally by gavage	No of Cells Analyzed /Animal:	three slides and 50 cells per slide / animal
Cells Evaluated:	Liver cells	Vehicle/Formulation:	10% Ethanol/ 40% SolutolHS/ tap water (1:4:5 (v/v/v))
Special Features	Positive control: 2-AAF 100 mg/kg Single oral administration		
Toxic/Cytotoxic Effects	Dose of 50 mg/kg: beyond MTD, 5 mg/kg : NOAEL (See 2.6.7.7A)		
Genotoxic Effects:	Negative		
Evidence of Exposure:	Toxicokinetic analysis conducted (group mean Cmax and AUC values were sown in 2.6.7.7A).		

Genotoxicity *in vivo* – UDS test 2 **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-36369**

Test Article	Dose [mg/kg]	Treatment (p.o. gavage)	No. of Animals	NNG (Mean ± SD)	NG (Mean ± SD)	CG (Mean ± SD)
Vehicle (10 ml/kg)	0	4 weeks [a]	3M	-1.38 ± 0.19	2.19 ± 0.12	3.57 ± 0.09
BAY 85-3934	5	4 weeks [a]	4M	-1.20 ± 0.33	1.93 ± 0.45	3.13 ± 0.50
(Molidustat)	15	4 weeks [aa]	4M	-1.34 ± 0.17	2.05 ± 0.10	3.39 ± 0.13
	50	4 weeks	4M	-1.31 ± 0.23	2.59 ± 0.69	3.90 ± 0.91
2-AAF	100	Single	3M	4.29# ± 0.04	8.37# ± 0.98	3.45 ± 0.98

NNG: nuclear net grains NG: nuclear grains CG: cytoplasmic grains
2-AAF: 2-Acetylaminofluoren #: biologically relevant increase a 22 to 28 days
SD Standard Deviation

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 Carcinogenicity study in mice

Report Title:	2 Years Carcinogenicity Study in CD-1 Mice (Daily Administration by Drinking Water with Dose Adjustment)
Report No.:	PH-39298
Location in CTD:	4.2.3.4.1.1
Test Article:	BAY1053048 (Na salt of BAY 85-3934 (Molidustat))

Species/Strain:	Mice / Crl:CD-1(ICR)BR	Study No.:	T101150-8
Initial age:	5-6 weeks	GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing:	728 - 736 days (Main Groups) 736 - 739 days (Satellite Groups)	Date of 1st dose:	[redacted]20[redacted]
Method of Administration:	Orally via the drinking water		
Vehicle/Formulation:	100 mM ph-adjusted sodium hydrogen carbonate / L buffered demineralized water (solution)		
Special features:	N/A		

2 Years Carcinogenicity Study in Mice **Test Article: BAY 1053048** **Report No.: PH-39298**

Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals (Main)	60	60	60	60	60	60	60	60
(Satellite Toxicokinetics)	25	25	25	25	25	25	25	25
Toxicokinetics (Day 378)								
AUC (µg·h/L)	N/A	73.3	173	429	N/A	87.9	170	719
C_{max} (µg/L)	N/A	5.85	15.5	32.7	N/A	5.85	16.2	64.6
Died/Sacrificed Moribund								
Main Groups	36	37	38	36	39	36	42	39
Mortality Survival (%)	60.0	61.7	63.3	60.0	65.0	60.0	70.0	65.0
Satellite Groups	15	15	17	18	16	20	17	17
Mortality Survival (%)	60.0	60.0	68.0	72.0	64.0	80.0	68.0	68.0
Body weight (%)[a]								
Day 722	45.50 g	+8.0	+6.8	+2.0	38.50 g	+10.4	+4.4	+3.3
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Water consumption								

2 Years Carcinogenicity Study in Mice			**Test Article:**	**BAY 1053048**		**Report No.:**	**PH-39298**	
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat **Gender**	**0 (Control)** **M**	**0.5** **M**	**1.5** **M**	**5.0** **M**	**0 (Control)** **F**	**0.5** **F**	**1.5** **F**	**5.0** **F**
Clinical observation	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Survey of Neoplasms (Main Groups incl. Death)								
Animals with neoplasms	44	43	40	44	42	41	40	43
Animals with more than one primary neoplasm	23	20	20	21	23	21	17	19
Animals with benign neoplasms	26	27	20	30	29	29	22	27
Animals with malignant neoplasms	36	23	33	30	27	24	29	29
Animals with metastases	1	2	3	0	1	2	0	4
No. of primary neoplasms	82	70	69	76	75	73	63	66
No. of benign neoplasm	32	42	26	40	35	41	31	31
No. of malignant neoplasms	50	28	43	36	40	32	32	35
Noteworthy Findings								
Hematology								
Erythrocytes ($10E^{12}$/L)								
Day 184/183	9.540	9.522	9.063	10.443	9.177	9.090	9.105	10.017**
Day 359/358	9.018	9.195	8.937	9.843**	8.925	8.994	8.808	10.167**
Day 542/541	8.890	9.363	8.979	9.852**	8.524	8.706	8.523	9.861**
Day 702/701	8.571	9.210	9.063	9.866*	8.447	8.970	8.426	9.998**
Hemoglobin (g/L)								
Day 184/183	143.4	144.6	141.0	163.8*	143.7	141.3	141.0	156.9**
Day 359/358	137.1	137.4	132.9	153.0**	134.4	141.0	137.7	157.5**
Day 542/541	136.3	139.2	132.6	150.9**	129.9	134.4	132.3	150.9**
Day 702/701	130.5	136.3	137.4	152.6**	127.3	140.0	127.5	155.3**
Hematocrit (L/L)								
Day 184/183	0.4674	0.4644	0.4479	0.5208*	0.4776	0.4704	0.4620	0.5196**
Day 359/358	0.4473	0.4503	0.4395	0.4944**	0.4488	0.4662	0.4536	0.5199**
Day 542/541	0.4527	0.4629	0.4458	0.5013**	0.4264	0.4413	0.4269	0.4947**
Day 702/701	0.4191	0.4333	0.4317	0.4838**	0.4103	0.4430	0.4103	0.4924**

2 Years Carcinogenicity Study in Mice				**Test Article:**	**BAY 1053048**		**Report No.:**	**PH-39298**	
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat		**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender		**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Gross Pathology		-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	<n>								
Spleen		<59>	<60>	<59>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Extramedullary Hematopoiesis									
	total	33	34	44*	46*	44	37	37	38
	+	15	16	25	14	15	14	9	9
	++	10	12	11	18	15	13	15	13
	+++	8	4	8	10	10	8	11	9
	++++	-	2	-	4	4	2	2	7
Bone Marrow, Sternum		<60>	<59>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Erythropoiesis Increased	total	8	3	1*	6	6	12	8	20**
	+	5	1	-	2	2	7	4	4
	++	3	2	1	4	4	5	3	12
	+++	-	-	-	-	-	-	1	4
Bone Marrow, Femur		<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<59>
Erythropoiesis Increased	total	7	3	1*	7	7	12	10	18*
	+	4	1	-	2	3	8	5	2
	++	3	2	1	5	3	4	3	13
	+++	-	-	-	-	1	-	2	3
Bone Marrow, Vertebrae		<58>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Erythropoiesis Increased									
	+	3	1	-	3	3	6	7	4
	++	4	2	1	2	3	5	1	12
	+++								
Neoplastic and Hyperplastic Lesions									
Cardiovascular System									
Bone marrow, femur / vertebra		<60/58>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<59/60>
Hemangioma		1	0	1	0	0	1	0	0
Hemangiosarcoma		0	1	0	0	0	0	0	0
Extremities		<0>	<0>	<2>	<0>	<0>	<0>	<1>	<0>
Hemangiosarcoma				1				0	

2 Years Carcinogenicity Study in Mice			**Test Article:**	**BAY 1053048**		**Report No.:**	**PH-39298**	
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Iliac lymph node	<46>	<53>	<54>	<56>	<55>	<60>	<58>	<57>
Lymphangiosarcome	0	0	1	0	0	0	0	0
Liver	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Angiomatous hyperplasia	0	4	0	1	1	0	0	0
Hemangioma	0	3	0	3	2	2	2	2
Hemangiosarcoma	3	1	0	1	2	2	0	1
Lymph nodes, other	<2>	<2>	<3>	<2>	<6>	<3>	<9>	<3>
Hemangioma	0	0	1	0	0	0	0	0
Mesentery	<51>	<57>	<57>	<53>	<58>	<59>	<59>	<58>
Hemangioma	0	0	0	1	0	1	0	0
Mesenteric lymph node	<54>	<57>	<58>	<60>	<57>	<58>	<55>	<58>
Hemangioma	1	0	0	0	2	0	1	0
Spleen	<59>	<59>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Hemangioma	1	1	0	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	1	1	1	1	2	0	2
Skin/Subcutis	<10>	<10>	<14>	<14>	<10>	<8>	<11>	<10>
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Tail	<3>	<1>	<2>	<1>	<6>	<1>	<0>	<0>
Hemangioma	1	0	0	0	0	0		
Ovaries	N/A	N/A	N/A	N/A	<56>	<58>	<57>	<58>
Hemangioma					0	0	0	1
Uterus	N/A	N/A	N/A	N/A	<60>	<60>	<60>	<59>
Hemangioma					3	0	4	1
Hemangiosarcoma					2	0	0	0
Respiratory system								
Lung	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Bronchioloalveolar hyperplasia	3	6	2	1	3	0	3	1
Bronchioloalveolar adenoma	6	2	7	7	3	2	3	3

2 Years Carcinogenicity Study in Mice			**Test Article:**	**BAY 1053048**		**Report No.:**	**PH-39298**	
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat **Gender**	**0 (Control)** **M**	**0.5** **M**	**1.5** **M**	**5.0** **M**	**0 (Control)** **F**	**0.5** **F**	**1.5** **F**	**5.0** **F**
Bronchioloalveolar carcinoma	8	6	10	9	2	3	1	6
Gastrointestinal Tract with Associated Salivary Glands, Pancreas and Liver								
Stomach	<59>	<60>	<60>	<60>	<59>	<60>	<60>	<60>
Diffuse mucosal hyperplasia	34	34	41	30	21	22	28	23
Focal mucosal hyperplasia*a(M)	6	3	6	1	3	0	3	0
Adenoma	0	0	2	0	0	0	0	0
Papilloma; Squamous cell	1	0	0	0	0	0	0	0
Duodenum	<55>	<58>	<59>	<56>	<59>	<60>	<59>	<57>
Avillous hyperplasia	1	5	0	2	11	10	7	15
Duodenum/ Jejunum/ Ileum#	<55/58/57>	<58/58/56>	<59/59/59>	<56/60/59>	<59/59/59>	<60/60/60>	<59/60/57>	<57/58/58>
Adenoma	0	1	1	0	1	0	1	0
Adenocarcinoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Cecum/Colon/ Rectum#	<58/59/57>	<58/60/56>	<58/60/59>	<60/60/56>	<59/59/58>	<60/60/59>	<59/60/60>	<58/58/58>
Adenocarcinoma	0	0	0	1	0	0	0	1
Liver	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Diffuse basophilic focus*b(F)	2	5	7	7	0	0	2	3
Clear cell focus	2	1	1	4	0	1	1	1
Eosinophilic focus	1	2	2	4	0	0	1	2
Adenoma hepatocellular	3	10*	4	5	2	4	1	0
Carcinoma hepatocellular	15	7*	14	9	2	0	1	2
Gall bladder	<56>	<55>	<58	<59>	<59>	<59>	<59>	<60>
Hyperplasia	2	0	1	3	1	4	1	1
Adenoma; Papillary	0	1	1	1	0	1	0	0
Pancreas	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Acinar cell hyperplasia	3	3	2	1	1	1	0	1

2 Years Carcinogenicity Study in Mice			**Test Article:**	**BAY 1053048**		**Report No.:**	**PH-39298**	
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Hyperplasia: islet cell	5	9	10	11	7	2	3	4
Islet cell adenoma	2	1	0	1	0	1	3	0
Urinary Tract								
Kidneys	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Hyperplasia cortical tubules	6	6	5	8	6	4	9	9
Adenoma tubular cell	1	0	0	2	0	0	0	0
Carcinoma tubular cell	0	0	0	1	0	0	0	0
Urinary bladder	<58>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Hyperplasia transitional cell	2	1	1	4	0	1	0	0
Mesenchymal proliferative lesion	0	0	0	0	0	1	0	1
Male Genital Organs								
Testes	<60>	<60>	<60>	<59>	N/A	N/A	N/A	N/A
Hyperplasia rete testis	6	5	3	6				
Hyperplasia Leydig cell diffuse	13	8	7	15				
Hyperplasia Leydig cell focal	1	4	4	3				
Adenoma Leydig cell	0	2	0	2				
Prostate/Coagulating gland/Seminal vesicles	<60/57/60>	<60/57/60>	<59/58/60>	<60/59/60>	N/A	N/A	N/A	N/A
Adenoma	1	1	2	1				
Female Genital Organs								
Ovaries	N/A	N/A	N/A	N/A	<56>	<58>	<57>	<58>
Cystic papillary hyperplasia					4	3	2	4
Sertoli cell hyperplasia					2	1	0	0
Sex cord stromal hyperplasia					4	3	6	3

2 Years Carcinogenicity Study in Mice			**Test Article:**	**BAY 1053048**		**Report No.:**	**PH-39298**	
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Tubulostromal cell hyperplasia					2	1	2	2
Cystadenoma					0	1	0	1
Adenoma tubulostromal					1	0	0	0
Luteoma benign					0	1	0	0
Tumor sex cord stromal benign					0	0	1	0
Oviduct	N/A	N/A	N/A	N/A	<55>	<57>	<56>	<57>
Epithelial hyperplasia					15	12	11	16
Uterus	N/A	N/A	N/A	N/A	<60>	<60>	<60>	<59>
Adenomyosis**[b]					3	0	2	5
Myometrial hyperplasia					1	1	0	0
Glandular cystic hyperplasia					56	47*	48*	51
Uterus/Uterine cervix	N/A	N/A	N/A	N/A	<59>	<60>	<59>	<58>
Polyp endometrial stromal					7	7	6	6
Sarcoma endometrial stromal					2	2	0	4
Leiomyoma**[b]					0	1	0	5
Leiomyosarcoma					1	1	0	1
Vagina	N/A	N/A	N/A	N/A	<60>	<59>	<58>	<59>
Hyperplasia epithelial diffuse					9	6	5	7
Hyperplasia focal squamous cell *[b]					2	0	0	4
Carcinoma squamous cell					1	0	0	1
EndocrineOrgans								
Pituitary	<53>	<58>	<57>	<58>	<59>	<60>	<60>	<60>
Hyperplasia focal, pars distalis	1	4	2	1	3	5	3	1
Adenoma pars distalis	1	1	1	0	6	4	3	2

2 Years Carcinogenicity Study in Mice			**Test Article:**	**BAY 1053048**		**Report No.:**	**PH-39298**	
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Thyroid gland	<58>	<60>	<59>	<57>	<58>	<58>	<59>	<59>
Hyperplasia follicular cell	0	1	0	0	3	6	6	1
Adenoma follicular cell	1	1	0	0	0	0	0	0
Adrenal gland	<59>	<60>	<57>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Hyperplasia subcapsular cell focal type A	14	11	19	11	2	0	1	3
Hyperplasia cortical focal	16	18	19	23	4	4	2	2
Hyperplasia medullary	0	0	0	1	5	5	8	4
Adenoma subcapsular cell	3	5	2	5	1	2	2	1
Adenoma cortical	1	0	0	0	0	0	0	0
Lympho-Hematopoietic Organs								
Spleen	<59>	<59>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Hyperplasia white pulp	2	2	3	5	4	7	5	4
Thymus	<54>	<55>	<48>	<52>	<55>	<58>	<58>	<59>
Hyperplasia lymphoid	5	8	6	8	12	21	16	15
Hyperplasia epithelial (males), cords and tubules (females)	0	0	1	0	2	0	2	2
Thymoma benign*[a(F)]	0	2	0	0	2	3	0	0
Thymoma malignant	1	1	1	0	0	0	0	0
Mesenteric lymph node	<54>	<58>	<57>	<55>	<57>	<60>	<58>	<58>
Hyperplasia lymphoid *[b(M)]	2	1	2	5	1	1	2	4
Mandibular lymph node	<57>	<56>	<52>	<58>	<58>	<57>	<59>	<59>
Hyperplasia lymphoid	7	8	3	7	3	1	5	3
Iliac lymph node	<46>	<53>	<54>	<56>	<55>	<60>	<58>	<57>
Hyperplasia lymphoid	3	1	1	5	5	3	0*	7
Systemic tumors	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Histiocytic sarcoma	2	0	3	2	6	3	7	6
Lymphoma	12	4*	4*	6	8	8	11	5
Myeloid leukemia*[a(F)]	3	4	1	1	7	4	4	1*

2 Years Carcinogenicity Study in Mice			**Test Article:**	**BAY 1053048**		**Report No.:**	**PH-39298**	
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**
Eyes, Exorbital Lacrimal, Harderian & Zymbal's Glands								
Harderian Gland	<59>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Hyperplasia focal*a(M)	6	3	4	1	1	3	1	1
Adenoma*b(M)	5	5	1	11	3	5	0	3
Adenocarcinoma	1	0	2	1	2	0	0	0
Mammary Gland and Bones								
Mammary gland	<57>	<58>	<59>	<59>	<60>	<58>	<60>	<60>
Hyperplasia diffuse	0	0	0	0	9	4	2*	8
Hyperplasia foca	0	0	0	0	0	0	1	0
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	2	1
Bone, sternum	<60>	<60>	<60>	<60>	<59>	<60>	<60>	<60>
Fibroosseous lesion	0	1	2	3	19	16	15	16
Bone, femur	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Fibroosseous lesion	0	1	2	1	19	15	15	20
Bone, vertebrum	<58>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Fibroosseous lesion	2	1	1	1	14	11	12	17
Bone (all localizations), extremities	<60/0>	<60/0>	<60/2>	<60/0>	<60/0>	<60/0>	<60/1>	<60/0>
Osteoma	1	0	0	1	0	1	1	1
Osteosarcoma	1	0	0	0	1	0	1	2
Sarcoma NOS	1	0	1	0	0	0	0	0

BAY 1053048 was administered at doses of 0, 0.54, 1.61, and 5.35 mg/kg (corresponding to 0, 0.5, 1.5, and 5 mg BAY 85-3934/kg).

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 the percent differences).

- = No noteworthy findings; Statistical analysis: *p <0.05 or ** p <0.01

*a : Significant negative trend, *b or **b: Significant positive trend (*p <0.05 or ** p <0.01)

+ : minimum ++: slight +++: moderate ++++: marked

tumors in duodenum, jejunum, ileum and cecum, colon, rectum were shown summarize.

2.6.7.10.2 Carcinogenicity study in rats

Report Title:	BAY 1053048: 104 Week Oral (Gavage) Administration Carcinogenicity Study in the Rat
Report No.:	R-13234
Location in CTD:	4.2.3.4.1.2
Test Article:	BAY1053048 (Na salt of BAY 85-3934 (Molidustat))

Species/Strain:	Rat/ RccHan:Wistar	Study No.:	8299724/T101265-5
Initial age:	6-8 weeks	GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing:	104 weeks	Date of 1st dose:	[redacted]20[redacted]
Method of Administration:	Oral (gavage)		
Vehicle/Formulation:	Ethanol/Kolliphor HS15/water (10/40/50 v/v/v)		
Special features:	As 2nd control group, treatment of saline (0.9% NaCl solution) control was set.		

2 Years Carcinogenicity Study in Rats **Test Article: BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)** **Report No.: R-13234**

Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Animals (Main)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
(Satellite Toxicokinetics)	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Toxicokinetics (Day 378)										
AUC (µg·h/L)	N/A	N/A	47.7	153	508	N/A	N/A	71.1	189	689
Cmax (µg/L)	N/A	N/A	20.0	44.0	225	N/A	N/A	30.6	78.6	293
Died/Sacrificed Moribund (Main group)	16	8	23	12	14	21	19	14	13	19
Survival										
Main Groups	34	42	27	38	36	29	31	36	37	31
Survival (%)	68	84	54	76	72	58	62	72	74	62
Satellite Groups	12	11	14	10	13	13	10	10	9	7
Survival (%)	80	73.3	93.3	66.7	86.7	86.7	66.7	66.7	60	46.7
Body weight										
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Water Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2 Years Carcinogenicity Study in Rats		**Test Article:**		**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**			**Report No.:**	**R-13234**		
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Necropsy/ Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Noteworthy Findings										
Hematology										
Erythrocytes ($10E^{12}$/L)										
Day 180	9.54	9.16*	9.90	9.66	11.25***	8.48	8.35	8.23	8.48	9.60***
Day 348	9.27	9.18	9.65*	9.63	12.04***	8.53	8.67	8.01	8.28	9.22
Hemoglobin (g/dL)										
Day 180	16.8	16.5	16.9	16.9	21.5***	16.2	15.3**	15.4*	15.8	18.9***
Day 348	16.5	16.8	16.8	16.9	23.6***	16.3	16.1	15.0**	15.9	18.8**
Hematocrit (%)										
Day 180	50.3	49.5	52.4***	51.8*	6.3***	47.8	46.7	47.3	48.4	58.1***
Day 348	49.9	50.6	50.3	50.5	69.0***	49.0	48.0	45.4***	47.1**	56.2*
MCV (fL)										
Day 180	52.8	54.1	52.9	53.7	58.2***	56.4	56.0	57.5	57.1	60.5***
Day 348	53.9	55.1	52.1*	52.6	57.6	57.5	55.3	56.9	56.9	61.0**
MCH (pg)										
Day 180	17.7	18.0	17.1	17.6	19.2**	19.1	18.3*	18.8	18.6	19.7*
Day 348	17.8	18.3	17.4	17.6	19.7	19.1	18.6	18.8	19.2	20.4**
Reticulocytes (%)										
Day 180	1.9	2.1	1.6*	1.7	2.3*	2.4	2.6	2.2	2.0*	2.4
Day 348	1.6	1.5	1.8**	1.9**	2.4***	2.5	1.9	3.1	2.3	2.9
Hemoglobin distribution width (g/dL)										
Day 180	2.58	2.54	2.40	2.52	2.86**	2.16	2.09	1.96***	2.07	2.12
Day 348	2.37	2.26	2.39	2.48*	2.94**	2.03	2.00	2.17*	2.21*	2.18*
Platelet crit (%)										
Day 180	0.65	0.70	0.60	0.68	0.49***	0.70	0.74	0.67	0.60*	0.63
Day 348	0.70	0.61*	0.71	0.74	0.49**	0.68	0.66	0.69	0.71	0.63

2 Years Carcinogenicity Study in Rats	**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**				**Report No.:**	**R-13234**			
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
APTT(sec)										
Day 180	17.5	19.3	20.7*	21.9**	27.0***	17.8	17.5	21.8***	19.1	22.6***
Day 348	20.4	16.6***	17.8*	18.1*	23.3**	17.9	17.0	16.9	19.2	19.9*
Microscopic findings – neoplastic & pre-neoplastic lesions										
Nerve, Optic	(49)					(49)				
Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Harderian Gland										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hypertrophy/hyperplasia, epithlium	5	2	4	4	3	1	2	1	3	3
Lacrimal Gland										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hyperplasia, epithelium, acinar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Skin/Subcutis										
Lipoma	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0
Benign hair follicle tumour	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Keratoacanthoma	3	1	2	0	1	0	0	0	0	0
Benign basal cell tumour	0	1	1	2	1	0	0	0	0	0
Fibroma	2	1	0	1	1	0	2	1	1	0
Squamous cell carcinoma	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0
Hyperplasia, squamous cell	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Hyperplasia, adnexal	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0
Malignant schwannoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Mammary Gland	(22)	(22)	(20)	(16)	(21)		(49)			(49)
Adenoma	0	0	0	0	0	2	3	3	3	4
Fibroadenoma	0	0	0	0	0	13	18	11	13	16
Benign mixed tumour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

2 Years Carcinogenicity Study in Rats		**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**			**Report No.:**	**R-13234**		
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	5	3	3	1	4
Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hyperplasia, lobuloalveolar	0	2	0	1	1	27	34	34	31	22
Hyperplasia, fibroadenomatous	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Muscle, Quadriceps										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Femur + Marrow										
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	1	2	0	0	0	1
Sternum + Marrow										
Haemangioma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	2	0	0	0	1
Nerve, Sciatic										
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver										
Hepatocellular adenoma	2	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Cholangioma	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Hepatocellular carcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	1	2	1	0	0	2
Focus of cellular alteration (FCA), basophilic	6	10	4	2	10	7	4	6	6	8
FCA, basophilic, tigroid	5	10	15	13	11	29	37	32	37	33
FCA, eosinophilic	1	2	0	0	0	2	1	1	0	3
FCA, clear cell	23	28	23	27	22	4	5	4	2	4
FCA, mixed	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Hyperplasia, bile duct	2	2	0	3	4	16	13	19	21	17
Spleen										
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2
Hyperplasia, lymphocytes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hyperplasia, angiomatous	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

2 Years Carcinogenicity Study in Rats			**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**			**Report No.:**	**R-13234**		
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Pancreas										
Acinar cell adenoma	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Islet cell adenoma	3	3	0	4	6	1	0	1	1	1
Islet cell carcinoma	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1
Locally invasive tumour	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Focus, basophilic, acinar cell	4	3	2	4	6	1	2	2	3	1
Hyperplasia, acinar cell	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Hyperplasia, islet cell	3	2	2	1	1	0	1	1	0	0
Hyperplasia, ductal epithelium	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Lymph Node, Mesenteric										
Haemangioma	1	2	1	4	1	0	2	1	1	2
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	1	1	1	0	0	1
Hyperplasia, angiomatous	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Stomach										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Locally invasive tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Hyperplasia, squamous epithelium	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hyperplasia, basal cell	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Duodenum										
Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Locally invasive tumour	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Jejunum										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Ileum										
Adenoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	2	0	0	0	1

2 Years Carcinogenicity Study in Rats		**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**			**Report No.:**	**R-13234**		
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Caecum										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Colon										
Sarcoma-NOS	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Rectum										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
Adrenal										
Cortical adenoma	0	0	1	0	0	1	1	0	0	2
Benign phaeochromocytoma	4	3	1	0	0	0	1	0	0	1
Benign ganglioneuroma	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Malignant phaeochromocytoma	2	1	1	1	0	0	0	0	0	1
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Locally invasive tumour	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hyperplasia, cortical	9	14	5	9	14	8	11	14	14	17
Hyperplasia, medullary	3	9	2	4	13	4	1	2	1	3
Ureter		(49)	(49)	(49)	(49)			(49)		
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Kidney										
Renal mesenchymal tumour	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Carcinoma, transitional cell	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1
Hyperplasia, transitional epithelium	1	1	2	0	2	3	5	3	7	2

2 Years Carcinogenicity Study in Rats **Test Article: BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)** **Report No.: R-13234**

Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Testis						N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Leydig cell adenoma	3	2	1	0	1					
Malignant mesothelioma	1	0	0	0	0					
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0					
Hyperplasia, Leydig cell	3	1	0	0	1					
Hyperplasia, mesothelium	0	0	0	0	1					
Epididymis						N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0					
Locally invasive tumour	1	0	0	0	0					
Hyperplasia, mesothelium	0	0	0	1	0					
Prostate						N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Adenoma	0	0	0	1	0					
Adenocarcinoma	0	0	0	0	1					
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0					
Hyperplasia, epithelium, acinar	2	3	3	3	1					
Ovary	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A		(49)			
Benign granulosa cell tumour						1	1	1	1	1
Benign luteoma						0	0	0	1	0
Benign thecoma						0	1	0	0	0
Benign mixed sex cord stromal tumor						0	0	0	1	0
Cystadenoma						1	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour						1	0	0	0	1
Hyperplasia, granulosa cell						0	0	1	0	3
Hyperplasia, sex cord stromal						6	7	8	2	8
Hyperplasia, theca cell						0	1	1	1	0
Hyperplasia, cystic/papillary						0	1	2	3	6
Oviduct	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A		(49)			
Haemolymphoreticular tumour						1	0	0	0	1

2 Years Carcinogenicity Study in Rats		**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**			**Report No.:**	**R-13234**		
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Uterus	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A					
Adenoma						1	1	0	0	0
Stromal polyp						7	5	4	7	5
Adenocarcinoma						0	1	0	1	1
Leiomyosarcoma						1	0	0	0	0
Malignant schwannoma						1	0	1	0	1
Stromal sarcoma						0	0	0	2	0
Haemolymphoreticular tumour						1	0	0	0	1
Hyperplasia, glandular, cystic						10	10	9	10	9
Hyperplasia, endometrial						2	2	4	1	3
Hyperplasia, stroma						1	1	3	2	0
Vagina	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A					
Haemolymphoreticular tumour						1	0	0	0	1
Urinary Bladder			(49)		(49)	(49)			(48)	
Papilloma, transitional cell	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Locally invasive tumour	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hyperplasia, focal, transitional cell	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Hyperplasia, diffuse, papillary, transitional cell	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Mandibular, Salivary Gland										
Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hyperplasia, ductular	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Sublingual, Salivary Gland	(49)									
Hyperplasia	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Parotid Salivary Gland										
Adenoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hyperplasia, ductal	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0

2 Years Carcinogenicity Study in Rats		**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**			**Report No.:**	**R-13234**			
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Lymph Node, Mandibular					(49)					
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Thymus						(49)				
Benign thymoma	1	2	1	2	1	5	4	3	4	3
Haemangioma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Schwannoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	1	2	0	0	1	1
Hyperplasia, epithelial	0	0	0	0	3	0	0	2	1	0
Lung										
Bronchiolo alveolar adenoma	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
Bronchiolo alveolar carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	1	1	0	0	0	2
Metastatic tumour	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0
Hyperplasia, bronchiolo alveolar	0	1	0	2	0	0	1	1	2	0
Heart										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Aorta		(49)								
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Trachea										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
Tongue										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Thyroid										
Follicular cell adenoma	6	2	1	1	0	2	3	0	1	1
C cell adenoma	7	5	4	7	4	3	3	6	6	6
Follicular cell carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
C cell carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1

2 Years Carcinogenicity Study in Rats		**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**			**Report No.:**	**R-13234**		
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Hyperplasia, epithelium, follicular	2	6	5	4	0	2	1	0	1	4
Hyperplasia, C cell, focal	10	15	7	20	8	12	3	4	6	7
Hyperplasia, C cell, diffuse	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0
Parathyroid	(49)	(49)		(48)		(44)	(46)	(47)	(47)	(48)
Adenoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hyperplasia, focal	1	0	2	2	4	0	0	0	1	1
Larynx										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Locally invasive tumour	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Pituitary							(49)			
Adenoma	16	17	14	17	20	24	30	30	28	24
Carcinoma	0	2	1	1	1	3	1	0	1	0
Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hyperplasia, focal, pars distalis	12	12	6	14	10	14	8	13	11	8
Hyperplasia, diffuse, pars distalis	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
Hyperplasia, focal, pars intermedia	1	2	0	0	0	0	1	2	0	1
Hyperplasia, diffuse pars intermedia	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Hyperplasia/hypertrophy	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Brain										
Benign granular cell tumour	0	1	0	0	1	0	2	0	0	1
Malignant granular cell tumour	0	2	0	3	0	0	0	0	0	0
Malignant astrocytoma	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Locally invasive tumour	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0

2 Years Carcinogenicity Study in Rats		**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**			**Report No.:**	**R-13234**		
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Preputial/Clitoral GLand	(49)			(48)	(49)	(49)				(49)
Granular cell tumour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Squamous cell papilloma	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Squamous cell carcinoma	0	1	1	3	0	0	0	0	0	1
Haemolymphoreticular tumour	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Locally invasive tumour	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hyperplasia, squamous cell	0	1	0	3	1	3	1	4	2	1
Hyperplasia, granular cell	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0
Zymbal Gland	(49)		(46)	(47)	(48)	(49)	(49)			(49)
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nasal Cavity										
Haemolymphoreticular tumour	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Haemolymphoreticular System										
Malignant lymphoma lymphocytic	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Malignant lymphoma lymphocytic leukemia	1	0	0	0	0	2	0	0	0	2
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Malignant lymphoma lymphoblastic	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymph Node, Iliac	(5)	(2)	(5)	(2)	(3)	(2)	(3)	(4)	(1)	(1)
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1
Lymph Node, Mediastinal	(12)	(6)	(9)	(9)	(6)	(4)	(6)	(2)	(7)	(5)
Haemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Haemolymphoreticular tumour	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymph Node, Popliteal	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Haemolymphoreticular tumour	2									
Lymph Node	(1)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Haemolymphoreticular tumour	1			0						

2 Years Carcinogenicity Study in Rats		**Test Article:**	**BAY 1053048 (Na salt of Molidustat)**			**Report No.:**	**R-13234**		
Daily Dose [mg/kg] as Molidustat	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**	**0 (Vehicle)**	**0 (Saline)**	**0.1**	**0.3**	**1.0**
Gender	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of animals	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Muscle, Diaphragm	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Sarcoma NOS				1						
Abdominal Cavity	(2)	(0)	(2)	(2)	(3)	(1)	(1)	(0)	(1)	(0)
Malignant mesothelioma	0		0	0	1	0	0		0	
Malignant schwannoma	1		1	0	0	0	0		0	
Haemolymphoreticular tumour	0		0	0	1	0	0		0	
Methothelial hyperplasia	0		1	1	1	0	0		0	
Tail	(2)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(0)	(0)
Haemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0		
Hyperplasia, adnexed	1	0	0	0	0	0	0	0		
Bone, Other	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
Osteosarcoma							1			
Connective Tissue	(0)	(1)	(3)	(4)	(1)	(1)	(3)	(1)	(3)	(4)
Lipoma		1	0	0	0	0	1	0	0	1
Fibroma		0	1	0	0	0	0	0	0	0
Haemangioma		0	0	0	1	0	0	0	0	0
Adipose, White	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Lipoma				1						
Blood	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(1)
Haemolymphoreticular tumour	0									1

BAY 1053048 was administered at doses of 0, 0.107, 0.321 and 1.07 mg/kg (corresponding to 0, 0.1, 0.3 and 1.0 mg BAY 85-3934/kg).
- = No noteworthy findings; AUClast = AUC up to the last measurable concentration
*: p ≤ 0..5, **: p ≤ 0.01, ***: p ≤ 0.0001

2.6.7.11 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験

Test Article:BAY 85-3934 (Molidustat)

Species/ Strain	Method of administration	Dosing period	Doses (mg/kg/day)	No. per group	Noteworthy findings	Report No.	Location in CTD
Rat/ Wistar (DRF for PPND)	Oral, gavage	G6 to L4	0, 2.8, 9.3, 28 (0, 0, 3, 10, 30)[a]	8F	28: Mortality/moribund sacrifice (3F/8F), Lower mean body weights, body weight gain, and food consumption were noted during gestation and lactation. An increased incidence of in utero and postnatal litter losses, and lower pup body weights. Live birth index and litter size was lower for litters and increased post-implantation loss was noted. Enlarged spleens for 7 of 8F. 9.3: Lower body weight gain was also observed for dams but lesser degree when compared to 30 mg/kg group. Slightly lower mean body weights of pup was noted. Enlarged spleens for 2 of 8F. 2.8: No treatment-related effect. Recommended doses for the pivotal PPND study; 4, 8, 16 mg/kg/day	R-12718	4.2.3.5.3.1

G: gestation, L: lactation, DRF: Dose Range Finding
PPND: Pre- and postnatal development
a: administered of sodium molidustat (BAY 1053048)

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

Report Title:	Study of Fertility and Early Embryonic Development in Rats after Oral Administration by Gavage
Report No.:	PH-37929
Location in CTD:	4.2.3.5.1.1
Test Article:	BAY 85-3934

Design Similar to ICH 4.1.1?	Yes	Study No.:	T3080618
Duration of Dosing (M)/(F):	M: 4 weeks prior to mating, during mating period, and up to the day before necropsy. F: 2 weeks prior to mating and during mating period to day 7 after success mating (G6)	GLP Compliance:	Yes
Species/Strain:	Rat Wistar (Hsd Cpb: WU)	Date of First Dose:	[redacted]-20[redacted]
Initial Age:	13-14 weeks		
Day of Mating:	Day 0		
Day of C-Section:	Between days 14-16 after success mating		
Method of Administration:	Orally by gavage		
Vehicle/Formulation:	Ethanol/Solutol HS15/Tap water (1:4:5; v/v/v); suspension		
Special Features:			

No Observed Adverse Effect Level (NOAEL):	Systemic tolerability:	2 mg/kg/day
	Male fertility:	20 mg/kg/day
	Fertility in females and early embryonic development:	2 mg/kg/day

Fertility and Early Embryonic Development in Rat **Test Article: BAY 85-3934** **Report No.: PH-37929**

Males Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	2	6	20
No. Evaluated	24	24	24	24
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1	7
Clinical Observations				
- sunken flanks	0	0	0	2
- hypoactivity	0	0	0	3
- high-stepping-gait	0	0	0	2
- respiratory sounds	0	0	0	1
- increased respiratory rate	0	0	0	2
- piloerection	0	0	0	1
- piloerection after administration	0	0	0	1
- soft feces	7	8	10	12
- reduced amount of feces	0	0	0	1
- reddish substance at the nose	0	0	0	3
- reddish substance at the nose and mouth	0	0	0	2
Necropsy Observations				
Body as a whole				
no examination, autolysis	0	0	1	1
all blood vessels enlarged	0	0	9	20
Intestinal tract				
filled with dark brown mass	0	0	0	1
Stomach				
contents soft	0	0	0	1
filled with dark brown mass	0	0	0	2
Small intestine				
contents fluid yellowish disdolored	0	0	0	1
contents gaseous	0	0	0	1
Caecum				
filled with dark brown mass	0	0	0	1

Fertility and Early Embryonic Development in Rat	Test Article: BAY 85-3934		Report No.: PH-37929	
Males				
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Large intestine				
contents fluid	0	0	0	1
contents gaseous	0	0	0	1
Spleen				
enlarged in size	0	0	0	13
Urinary bladder				
filled with red fluid	0	0	0	1
Thoracic cavity				
filled with clear fluid	0	0	0	1
dark reddish mass	0	0	0	1
Lung				
partly dark reddish discolored	0	0	0	2
Heart				
enlarged in size	0	0	0	8
No remarkable observations	24	24	14	0
Body Weight Gain (%) [a]				
Day 1 - 8	16.1 g	-8.1	-8.1	-47.2
Day 8 - 15	11.0 g	-45.5	-1.8	-13.6
Day 15 - 22	11.7 g	-14.5	-19.7	-29.9
Day 22 - 29	13.2 g	-12.9	-34.8	-43.2*
Day 1 - 29	51.9 g	-18.3	-16.0	-32.8**
Food Consumption (g/animal/day)				
Week 1	24.4	23.8	23.0*	22.4**
Week 2	24.0	23.9	23.6	23.4
Week 3	24.3	24.2	24.1	23.7
Week 4	24.3	23.9	23.8	23.1
Mean No. Days Prior to Mating	2.3	2.5	3.0	3.1
No. of Males that Inseminated	24	24	24	24
No. of Fertile Males (Producing Implantation Sites)	21	21	21	23

Fertility and Early Embryonic Development in Rat	**Test Article: BA 85-3934**		**Report No.: PH-37929**	
Females **Daily Dose [mg/kg]**	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
No. Evaluated	24	24	24	24
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations				
premating and mating				
- no remarkable clinical observation	20	14	9	13
- encrusted wound(s)	0	0	0	1
- piloerection after administration	0	1	0	0
- salivation after administration	4	10	15	11
gestation				
- no remarkable clinical observation	13	13	12	15
- encrusted wound(s)	0	0	0	2
- salivation after administration	11	10	11	7
Necropsy Observations				
Body as a whole				
all blood vessels enlarged	0	0	9	24
No remarkable observations	24	24	15	0
Premating Body Weight Gain (%) [a]				
Day 1 – 8	6.1 g	+41.0	+114.8**	+145.9**
Day 8 – 15	9.1 g	-19.8	-22.0	-3.3
Gestation Body Weight Gain (%) [a]				
Day 0 – 7	30.9 g	-14.6*	25.6**	-16.2**
Day 7 - 14	28.9 g	±0	27.9	-11.1
Premating Food Consumption (g/animal/day)				
Week 1	18.3	18.4	18.2	17.6
Week 2	18.3	18.5	18.2	18.3
Gestation Food Consumption (g/animal/day)				
Day 0 – 7	22.0	21.6	21.2	20.0**
Day 7 - 14	24.4	23.9	24.3	23.6

Fertility and Early Embryonic Development in Rat **Test Article: BAY 853934** **Report No.: PH-37929**

Females Daily Dose [mg/kg]	0 (Control)	2	6	20
Mean No. Estrous Cycles/14 days	3.5	2.9	3.6	2.8
Mean No. Days Prior to Mating	2.3	2.5	3.0	3.1
No. of Females Sperm-Positive	24	23	23	24
No. of Pregnant Females (with implantation sites)	21	21	21	23
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Mean No. Corpora Lutea	13.6	14.6	14.2	13.5
Mean No. Implantations	12.7	13.8	13.1	12.1
Mean % Preimplantation Loss [b]	7.0	5.9	7.4	10.3
Mean No. Live Conceptuses	12.2	12.8	11.2	6.3**
Mean % Postimplantation Loss [b]	3.4 (0.4)	7.3 (1.0)	14.9 (2.0)	48.4 (5.9**)

G = gestation day Male: Male F: Female

Statistical test 1 (Dunnett's test) * p < 0.05, ** p < 0.01, Statistical test 2 (Kruskal-Wallis test); + - 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 the percent differences).

b Statistics refer to absolute values of mean pre- and post-implantation loss

( ) :mean values per female

2.6.7.13 生殖発生毒性試験： 胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 Embryo-Fetal Development Study in Rats

Report Title:	Prenatal Developmental Toxicity Study in Rats after Administration by Gavage (including toxicokinetics)
Report No.:	PH-38264
Location in CTD:	4.2.3.5.2.1
Test Article:	BAY 85-3934

Design similar to ICH 4.1.3?	Yes	Study No.:	T1082803
Species/Strain:	Wistar (Hsd Cpb:WU)	GLP Compliance:	Yes
Initial Age:	11-15 weeks	Date of First Dose	[redacted]-20[redacted]
Duration of Dosing:	G 6-17		
Day of Success Mating:	G 0		
Day of C-Section:	G 21		
Method of Administration:	Orally by gavage		
Vehicle/Formulation:	ethanol/SolutolHS 15/demineralized water (1:4:5 v/v/v); Suspension		
Special Features:			
No Observed Adverse Effect Level (NOAEL):	Maternal toxicity: 10 mg/kg/day Developmental toxicity: 10 mg/kg/day		

Embryo-Fetal Development Study in Rats	**Test Article:**	**BA 85-3934**	**Report No.:**	**PH-38264**
Dams/ Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Toxicokinetics:(day 17 p.c.)				
AUC (µg*·h/L)	N/A	2190	7760	28700
C_{max} (µg/L)	N/A	317	1010	5100
Number of animals evaluated	22	22	22	22
No. Pregnant (with implantation sites)	22	22	19	22
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations				
- no remarkable clinical observations	21	10	6	13
- salivation after administration	1	11	16	9
- reddish substance at the nose	0	1	0	0
- increased water consumption	0	1	0	0
Necropsy Observations				
Intestinal Tract				
Intestinal Worms	3	5	2	4
Body Weight Gain, Gestation Period, g (%)[a]	128.8	141.5 (+9.9)	132.9 (+3.2)	110.5** (-14.2)
Body Weight Gain, Treatment Period, g (%)[a]	52.5	60.1 (+14.5)	58.2 (+10.9)	43.3* (-17.5)
Food Consumption, Treatment Period (g/animal/day)				
days 6 - 9 p.c.	20.3	21.3	18.9	18.0**
days 9 - 12 p.c.	22.3	23.7	20.9	20.3*
days 12 - 15 p.c.	22.6	23.7	21.4	20.2**
days 15 - 18 p.c.	25.2	25.6	23.6	20.5**

Embryo-Fetal Development Study in Rats	**Test Article:**	**BA 85-3934**	**Report No.:**	**PH-38264**
Dams/ Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Mean No. Corpora Lutea	13.0	14.0	14.0	13.8
Mean No. Implantations	12.7	13.5	13.8	13.2
Mean % Preimplantation Loss[b]	0.3	0.5	0.2	0.6
Litters				
No. Live Fetuses	272	289	247	216
Mean No. Live Fetuses	12.4	13.1	13.0	9.8**
Mean No. Early Resorptions in Females with Implantation Sites	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean No. Early Resorptions in Females with Live Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean No. Late Resorptions in Females with Implantation Sites	2.5	2.7	5.7	25.5**
Mean No. Late Resorptions in Females with Live Fetuses	2.5	2.7	5.7	25.5**
No. of Litters with Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean Postimplantation Loss in Females with Implantation Sites per Females [c]	0.3	0.4	0.8	3.4**
Mean Postimplantation Loss in Females with Live Fetuses per Females [c]	0.3	0.4	0.8	3.4**
Mean Fetal Body Weight (g)	5.04	5.13	5.10	4.46**
Fetal Sex Ratios (% Males)	46.3	49.1	49.4	48.1

Embryo-Fetal Development Study in Rats **Test Article:**	**BA 85-3934**		**Report No.:**	**PH-38264**
Dams/ Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Fetal Malformations Fetuses (Litters) Evaluated	272 (22)	289 (22)	235 (19)	216 (22)
Gross External				
EYE RUDIMENT FLAT (confirmed as malformation)	0	0	2 (2)	7** (5)
No. Fetuses (%)	0.0	0.0	0.9	3.2
No. Litters (%)	0.0	0.0	11.5	22.7
Visceral Malformations				
Number of Fetuses (Litters) Evaluated	130 (22)	140 (22)	121 (19)	108 (22)
EYE BALL REDUCED IN SIZE	2 (2)	1	2 (2)	16** (8)
No. Fetuses (%)	01.5	0.7	1.7	14.8
No. Litters (%)	9.1	4.5	10.5	36.4
EYEHOLE REDUCED IN SIZE	0	1	0	0
No. Fetuses (%)	0.0	0.7	0.0	0.0
No. Litters (%)	0.0	4.5	0.0	0.0
EYE BALL MISSING	0	0	0	3 (3)
No. Fetuses (%)	0.0	0.0	0.0	2.8
No. Litters (%)	0.0	0.0	0.0	13.6
RETINA FOLDED	0	0	0	1
No. Fetuses (%)	0.0	0.0	0.0	0.9
No. Litters (%)	0.0	0.0	0.0	4.5
DILATION OF BRAIN VENTRICLE(S)	0	0	1	0
No. Fetuses (%)	0.0	0.0	0.8	0.0
No. Litters (%)	0.0	0.0	5.3	0.0
THYROID GLAND MISSING	1	0	0	0
No. Fetuses (%)	0.8	0.0	0.0	0.0
No. Litters (%)	4.5	0.0	0.0	0.0
ATRIAL SEPTAL DEFECT OF THE HEART	1	0	1	1
No. Fetuses (%)	0.8	0.0	0.8	0.9
No. Litters (%)	4.5	0.0	5.3	4.5

Embryo-Fetal Development Study in Rats **Test Article:**		**BA 85-3934**		**Report No.: PH-38264**
Dams/ Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Skeletal Malformations				
Number of Fetuses (Litters) Evaluated	142 (22)	149 (22)	126 (19)	108 (22)
1ST SACRAL VERTEBRAL ARCH HAS THE SHAPE OF LUMBAR VERTEBRAL ARCH, LEFT; PELVIS SHIFT TO CAUDAL, LEFT	1	0	0	0
No. Fetuses (%)	0.7	0.0	0.0	0.0
No. Litters (%)	4.5	0.0	0.0	0.0
Total Affected Fetuses (Litters)	5 (5)	2 (2)	4 (4)	19** (10)

N/A Not Applicable, G = Gestation day p.c: post coitum

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

b Statistical significance is based on actual data (not on the % differences). Statistics refer to absolute values of mean preimplantation loss.

c Statistical significance are based on actual data (not on the % differences). Statistics refer to absolute values of mean postimplantation loss.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Dunnnet's test / Fisher's Exact test)

2.6.7.13.2 Embryo-Fetal Development Study in Rabbits

Report Title:	Prenatal Developmental Toxicity Study in Rabbits after Administration by Gavage
Report No.:	PH-38267
Location in CTD:	4.2.3.5.2.2
Test Article:	BAY 85-3934

Design similar to ICH 4.1.3?	Yes	Study No.:	T2081977
Species/Strain:	Rabbit, Himalayan (CRL:CHBB:HM)	GLP Compliance:	Yes
Initial Age:	119-210 days	Date of First Dose	[redacted]-20[redacted]
Duration of Dosing:	G 6-20		
Day of Success Mating:	G 0		
Day of C-Section:	G 29 (main groups) G 21 (satellite groups)		
Method of Administration:	Orraly by gavage		
Vehicle/Formulation:	0.5 % aqueous Tylose MH 300 P2 (methylhydroxyethylcellulose); Suspension		
Special Features:			
No Observed Adverse Effect Level (NOAEL):	Maternal toxicity	20 mg/kg bw/day	
	Interauterine	20 mg/kg bw/day	

Embryo-Fetal Developmental Study in Rabbits	**Test Article:**	**BAY 85-3934**	**Report No.:**	**PH-38267**
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Toxicokinetics:(day 20 p.c.)				
AUC (µg*·h/L)	N/A	574	2630	12000
C_{max} (µg/L)	N/A	302	1590	10000
Number of animals evaluated	20	20	20	20
No. Pregnant (with implantation sites)	18	19	19	20
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	2	0	1	0
Clinical Observations - Treatment Period				
- killed because of abortion	2	0	0	0
- reduced amount of feces	6	6	10	10
- increased urination	5	11	12	11
- increased water consumption	5	9	12	10

Embryo-Fetal Developmental Study in Rabbits	**Test Article:**	**BAY 85-3934**	**Report No.:**	**PH-38267**
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Gain, Gestation Period, g (%)[a]	178.8	263.6 (+47.4)	196.4 (+9.8)	153.1 (-14.4)
Body Weight Gain, Treatment Period, g (%)[a]	45.0	84.1 (+86.9)	27.5 (-38.9)	26.6 (-40.9)
Food Consumption, Treatment Period (g/animal/day)				
days 6 - 9 p.c.	87.5	99.3	90.0	76.3
days 9 - 12 p.c.	90.3	92.9	85.9	68.2*
days 12 - 15 p.c.	74.0	83.8	70.2	56.3
days 15 - 18 p.c.	82.3	85.6	73.2	58.6
days 18 - 20 p.c.	79.6	87.5	81.3	70.9
Mean No. Corpora Lutea	8.8	8.4	8.7	9.3
Mean No. Implantations	8.2	7.8	7.6	8.6
Mean % Preimplantation Loss[b]	0.6	0.5	1.5	0.6
Litters				
No. Live Fetuses	118	137	128	157
Mean No Live Fetuses	7.4	7.2	7.1	7.8
Mean No. Early Resorptions in Females with Implantation Sites	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean No. Early Resorptions in Females with Live Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean No. Late Resorptions in Females with Implantation Sites	9.9	8.1	6.6	9.2
Mean No. Late Resorptions in Females with Live Fetuses	9.9	8.1	5.9	9.2
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean Postimplantation Loss in Females with Implantation Sites per Females	0.8	0.6	0.5	0.8
Mean Postimplantation Loss in Females with Live Fetuses per Females	0.8	0.6	0.4	0.8
Mean Fetal Body Weight (g)	39.00	39.99	38.51	37.90
Fetal Sex Ratios (% Males)	50.0	50.4	46.1	40.1

Embryo-Fetal Developmental Study in Rabbits	Test Article:	BAY 85-3934	Report No.:	PH-38267
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Fetal Malformations Fetuses (Litters)	118 (16)	137 (19)	128 (18)	157 (20)
Gross External				
malposition of forelimb(s)				
ventral flexure at the region of the wrist	0	8* (3)	3 (2)	3 (3)
No. Fetuses (%)	0.0	5.8	2.3	1.9
No. Litters (%)	0.0	15.8	11.1	15.0
Visceral Malformations				
cardiac ventricular septal defect	2 (2)	0	0	1
No. Fetuses (%)	1.7	0.0	0.0	0.6
No. Litters (%)	12.5	0.0	0.0	5.0
cardiac ventricular septal defect, ascending aorta enlarged	0	0	0	1
No. Fetuses (%)	0.0	0.0	0.0	0.6
No. Litters (%)	0.0	0.0	0.0	5.0
Skeletal Malformations				
4th to 5th ribs right are fused and slightly shortened	0	0	1	0
No. Fetuses (%)	0.0	0.0	0.8	0.0
No. Litters (%)	0.0	0.0	5.6	0.0
3rd to 4th cervical vertebral bodies are fused	1	0	0	0
No. Fetuses (%)	0.8	0.0	0.0	0.0
No. Litters (%)	6.3	0.0	0.0	0.0
3rd to 4th ribs right are fused (in cartilaginous part of the ribs)	0	0	1	1
No. Fetuses (%)	0.0	0.0	0.8	0.6
No. Litters (%)	0.0	0.0	5.6	5.0
4th to 5th ribs left are fused (in cartilaginous part of the ribs)	1	1	0	0
No. Fetuses (%)	0.8	0.7	0.0	0.0
No. Litters (%)	6.3	5.3	0.0	0.0
4th to 5th ribs right are fused (in cartilaginous part of the ribs)	1	0	1	0
No. Fetuses (%)	0.8	0.0	0.8	0.0
No. Litters (%)	6.3	0.0	5.6	0.0
1st to 2nd ribs left are fused (in cartilaginous part of the ribs)	0	1	0	0
No. Fetuses (%)	0.0	0.7	0.0	0.0
No. Litters (%)	0.0	5.3	0.0	0.0

Embryo-Fetal Developmental Study in Rabbits	Test Article:	BAY 85-3934	Report No.:	PH-38267
Daily Dose [mg/kg]	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
6th to 7th ribs left are fused (in cartilaginous part of the ribs)	1	0	0	0
No. Fetuses (%)	0.8	0.0	0.0	0.0
No. Litters (%)	6.3	0.0	0.0	0.0
5th to 6th ribs left are fused (in cartilaginous part of the ribs)	1	0	0	0
No. Fetuses (%)	0.8	0.0	0.0	0.0
No. Litters (%)	6.3	0.0	0.0	0.0
one supernumerary presacral vertebra	0	1	0	1
No. Fetuses (%)	0.0	0.7	0.0	0.6
No. Litters (%)	0.0	5.3	0.0	5.0
fusion caudal vertebral body(ies)	2	3	2	1
No. Fetuses (%)	1.7	2.2	1.6	0.6
No. Litters (%)	12.5	15.8	11.1	5.0
Total Affected Fetuses (Litters)	9 (6)	13 (7)	8 (6)	8 (6)

- No noteworthy finding, G = Gestation day, N/A: Not Applicable, p.c.: post coitum

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 the percent differences)

b Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). Statistics refer to absolute values of mean preimplantation loss.

c Statistical significance are based on actual data (not on the percent differences). Statistics refer to absolute values of mean postimplantation loss.

* - $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Dunnett's test)

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

Report Title: Once Daily Oral (Gavage) Study of Pre- and Postnatal Development in the Rat
Report No.: R-13169
Location in CTD: 4.2.3.5.3.2
Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of Molidustat)

Design similar to ICH 4.1.2?: Yes
Species/Strain: Rat/Crl:WI(Han)
Initial Age: 8 to 10 weeks
Duration of Dosing: GD 6 – LD 21.
Method of Administration: oral - gavage
Vehicle/Formulation: Solution in Ethanol / Solutol HS15 / purified water (1:4:5 v/v/v)
Litters Culled/Not Culled: Culled to 8 pups/litter on PND 4 (4 pups/sex/litter where possible)
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level (NOAEL): F0 Females: 3.7 mg/kg/day
F1 Males & Females: 3.7 mg/kg/day

Study No.: 8379716
GLP Compliance Yes
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]
Day of Success Mating: day 0 p.c (GD0)

Pre- and Postnatal Development in Rat	Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of Molidustat)			Report No.: R-13169
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	4	8	16
as molidustat	0	3.7	7.5	15
F0 Females:				
Number of animals evaluated	22	22	22	22
No. Pregnant	22	21	18	21
No. Died or Sacrificed moribond	0	0	2	2
No. with no visible fetuses	0	1	0	0
Clinical observation	-	-	Liquid feces were noted on GD 21 for one female	One female was subdued, with red discharge from the ano-genital region, semi-closed eyes, labored respiration, and raised hair on LD 22. Isolated instances of liquid feces, subdued behavior, raised hair, and hunched posture were noted.

Pre- and Postnatal Development in Rat	Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of Molidustat)			Report No.: R-13169
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	4	8	16
as molidustat	0	3.7	7.5	15
F0 Females (Continued):				
Postdose Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	2F in high dose group had enlarged spleens. Dark kidneys noted for 10 F in high dose and 1F in middle dose groups. Incidences of dark, mottled, and thick livers were evident inhigh dose, with findings extending to a few females in middle dose groups	
Body Weight Gain (%) [a]				
GD 6 to 20	91.4 g	+6.3	-5.1	-8.0
LD 1 to 21	27.9 g	-8.6	+4.3	+9.3
Food Consumption (%) [a]				
GD 6 to 20	20.8 g/animal/day	+0.2	-7.3	-11.5
LD 1 to 21	48.6 g/animal/day	-0.4	-3.2	-12.4
Mean Duration of Gestation (days)	23.0	22.9	22.9	22.9
Abnormal Parturition	-	-	-	-
F1 Litters (Preweaning):				
No. Litters Evaluated	22	20	17	21
Mean No. of Implantation Sites	11.45	11.10	11.17	11.33
Mean No. Pups Born	10.50	10.95	9.59	9.48
Mean No. Pups Alive Day 1	10.50	10.75	9.00*	8.86*
Mean No. Pups Alive Day 4 (Before Cull)	10.45	10.75	8.94*	9.00
Mean No. Pups Alive Day 4 (After Cull)	7.82	7.70	7.81	7.40
Mean No. Pups Alive Day 21	7.82	7.70	7.81	7.32
No. Died or killed during lactation	0	0	1	2
Pup Body Weights (%) [a]				
Males				
PND 1	7.33 g	+3.5	-4.8	-13.0**
PND 21	51.26 g	+2.7	-2.4	-9.4*
Females				
PND 1	7.06 g	-0.7	-5.9	-13.5**
PND 21	50.28 g	+1.3	-2.2	-10.1**

Pre- and Postnatal Development in Rat	Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of Molidustat)			Report No. : R-13169
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	4	8	16
as molidustat	0	3.7	7.5	15
F1 Litters (Preweaning, Continued):				
Mean % Male Pups Day 1	49	54	53	44
Pup Clinical Observations	-	-	Cold to the touch, unfed, and small were also observed for pups	Cold to the touch, no milk in the stomach (unfed), small, and weak.
Pup Landmark Development	-	-	-	The percentage of pups successfully completing surface righting on PND 1 was lower (66%), cf.control (83%).
Pup Necropsy Observations	-	-	Iincreased incidence of pups with no milk in the stomach (unfed) was noted for litters exposed to mid and high dose groups, compared with controls. Five and three stillborn pups were recorded for litters maternally exposed to mid dose or high dose groups, respectively	
F1 Males (Postweaning):				
No. Evaluated Postweaning	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Gain (%) [a]				
PND 22 to 36	92.1 g	+0.2	-3.1	-5.1
PND 22 to 71	270.4 g	-2.5	-4.1	-2.7
Mean Age of Balano Preputial Separation (days)	48	47	49	49
Motor Activity	-	-	-	-
Learning and Memory	-	-	-	-
Acoustic Startle	-	-	-	-
Mean No. Days Prior to Mating	2.7	2.4	2.4	2.8
No. of Males that Mated	20	20	20	20
No. of Fertile Males	20	19	20	19

Pre- and Postnatal Development in Rat	**Test Article: BAY 1053048 (Na-salt of Molidustat)**			**Report No. : R-13169**
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	4	8	16
as molidustat	0	3.7	7.5	15
F1 Females (Postweaning):				
No. Evaluated Postweaning	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Gain (%)[a]				
PND 22 to 36	72.9 g	-3.7	-5.8	-5.1
PND 22 to 71	151.6 g	-2.1	-5.5	-0.1
GD 0 to 13	43.8 g	+1.4	-11.6	0.0
Mean Age of Vaginal opening (days)	35	35	35	37
Motor Activity	-	-	-	-
Learning and Memory	-	-	-	-
Acoustic Startle	-	-	-	-
Mean No. Days Prior to Mating	2.7	2.4	2.4	2.8
No. of Females with Confirmation of Mating	20	20	20	20
No. of Pregnant Females	20	19	20	19
No. with No Viable Embryos	1	0	1	0
Mean No. Corpora Lutea [b]	14	13	12	13
Mean No. Implantation Sites [b]	12	11	11	12
Mean % Pre-implantation Loss [b]	13.4	11.5	9.1	9.0
F2 Litters				
Mean No. Early Resorptions [b]	0	0	1	1
Mean No. Late Resorptions [b]	0	0	0	0
Mean % Post-implantation Loss [b]	8.6	3.7	11.9	4.7
Mean No. Live Embryos [b]	11	11	10	11

- : No noteworthy findings; GD: Gestation day; PND: Postnatal day; LD: Lactation day, *: $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; Wilcoxon Rank Sum Test/Dunnett's Test

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 the percent differences).

b: Including females with no viable embryos, c: One dam and litter was sacrificed on LD 0; 16 litters were evaluated from LD 1 onwards.

d: One dam was sacrificed on LD 2 following total litter loss; 20 litters were evaluated from LD 3 to 18. One dam and litter was sacrificed on LD 18; 19 litters were evaluated from LD 19 to 21.

2.6.7.15　新生児を用いた試験

Not applicable

2.6.7.16 局所刺激性試験

Test Article: BAY 1053048 [sodium salt of BAY 85-3934 (Molidustat)]
Report Title: Local tolerance study in the rabbit after single intravenous administration in the uncongested ear vein and after single paravenous administration at the hind leg

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing, Doses	Gender (No. per Group & Day of sacrifice)	GLP compliance	Noteworthy findings	Location in CTD (Report Number)
Rabbit/ NZW	IV (ear vein) & PV (V. Saphena)	Single administration, IV: 0.5 mL/animal, PV: 1.0 mL/animal R: saline, L: BAY 1053048	2M+2F (Day 3), 2M+2F (Day 8)	Yes	Overall, there was no indication of drug-induced changes. Histopathologically, non-specific trauma findings associated with the administration procedure were observed. They comprised for IV injection a mixed cell infiltration, perivascular hemorrhage and minimal-slight congested and dilated vessels and for PV injection minimal to slight bleeding, inflammatory reactions, including formation of granulation tissues.	4.2.3.6.1 (PH-37928)

NZW: New Zealand White, IV: intravenous, PV: paravenous, R: right, L: left

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 Phototocicity

Report Title: In vitro 3T3 NRU (neutral red uptake) phototoxicity assay
Test Article: BAY 1053048 [Sodium salt of BAY 85-3934 (Molidustat)]

Study type	Species/ Strain	Method of Admin.	Doses (Concentration)	GLP compli.	Noteworthy findings	Location in CTD (Report Number)
3T3-NRU phototoxicity test	Mouse fibroblasts (Balb/c 3T3.A31)	*In vitro*	0.1 to 500 µg/mL for BAY 1053048. 0.01 to 100 µg/mL for Chlorpromazine (positive control)	Yes	BAY 1053048 was identified as a non-phototoxic compound with a PIF of 1. In comparison, for chlorpromazine hydrochloride as a positive control a PIF of 27 was observed.	4.2.3.7.7.1 (PH-36905)

	PIF				Evaluation
	Assay1	Assay2	Assay3	Average	
BAY 1053048	1.119	0.923	1.055	1.032	Non-phototoxic
Chlorpro-mazine	29.999	25.476	26.752	27.409	phototoxic

Admi.: administration, compli.: compliance, PIF: Photo-Irritation Factor