レットヴィモカプセル 40mg
レットヴィモカプセル 80mg

2.6.6　毒性試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.6　毒性試験の概要文 1
2.6.6.1　まとめ 1
2.6.6.2　単回投与毒性試験 3
2.6.6.3　反復投与毒性試験 3
2.6.6.3.1　［予備試験］ラット 4 日間投与毒性試験（GLP 非適用試験） 3
2.6.6.3.2　［予備試験］ラット 14 日間投与毒性試験（GLP 非適用試験） 4
2.6.6.3.3　ラット 28 日間投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適用試験） 6
2.6.6.3.4　ラット 91 日間投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適用試験） 9
2.6.6.3.5　［予備試験］ミニブタ 14 日間投与毒性試験（GLP 非適用試験） 12
2.6.6.3.6　ミニブタ 28 日間投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適用試験） 15
2.6.6.3.7　ミニブタ 91 日間投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適用試験） 16
2.6.6.4　遺伝毒性試験 19
2.6.6.4.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 19
2.6.6.4.1.1　［スクリーニング試験］細菌を用いる復帰突然変異試験（GLP 非適用試験） 19
2.6.6.4.1.2　細菌を用いる復帰突然変異試験（GLP 適用試験） 19
2.6.6.4.2　ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験（GLP 適用試験） 20
2.6.6.4.3　In vivo 小核試験 20
2.6.6.4.3.1　［予備試験］雌雄ラット小核用量設定試験（1 回目）（GLP 非適用試験） 21
2.6.6.4.3.2　［予備試験］雄ラット小核用量設定試験（2 回目）（GLP 適用試験） 21
2.6.6.4.3.3　ラット小核試験（GLP 適用試験） 22
2.6.6.5　がん原性試験 23
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 23
2.6.6.6.1　雄ラット受胎能に関する試験（GLP 適用） 23
2.6.6.6.2　雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（GLP 適用） 25
2.6.6.6.3　［予備試験］ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験（GLP 非適用） 26
2.6.6.7　局所刺激性試験 28
2.6.6.8　その他の毒性試験 28
2.6.6.8.1　免疫毒性試験 28
2.6.6.8.2　依存性試験 28
2.6.6.8.3　代謝物の毒性試験 28
2.6.6.8.4　不純物の毒性試験 29
2.6.6.8.5　光毒性試験 30
2.6.6.8.5.1　モル吸光係数の算出 30
2.6.6.8.5.2　3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験（GLP 適用試験） 31
2.6.6.9　考察及び結論 31
2.6.6.9.1　瀕死状態及び死亡発現について 32
2.6.6.9.2　造血系（ラット及びミニブタ） 32
2.6.6.9.3　リンパ系組織（ラット及びミニブタ） 33
2.6.6.9.4　消化管（ラット及びミニブタ） 34
2.6.6.9.5　膵臓（ラット及びミニブタ） 34
2.6.6.9.6　生殖系（ラット及びミニブタ） 34
2.6.6.9.7　骨端成長板（ラット及びミニブタ） 36
2.6.6.9.8　肝臓（ラットのみ） 37
2.6.6.9.9　組織鉱質沈着（ラットのみ） 37
2.6.6.9.10　切歯（ラットのみ） 38

2.6.6.9.11 ブルンナー腺（ラットのみ） 39
2.6.6.9.12 肺（ラットのみ） 39
2.6.6.9.13 遺伝毒性 39
2.6.6.9.14 胚・胎児発生 39
2.6.6.9.15 代謝物の毒性 40
2.6.6.9.16 結論 40
2.6.6.10 参考文献 43

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

セルペルカチニブ（LOXO-292、LY3527723）は選択的な RET（Rearranged during Transfection、以下、RET）受容体型チロシンキナーゼ阻害剤（RET 阻害剤）である。

毒性試験に用いる動物種は、吸収が良好であること及び in vitro での代謝プロファイルのヒトとの類似性を考慮し、ラット及びミニブタを選択した。なお、非げっ歯類の動物種は、イヌで経口投与後の曝露量のばらつきが大きかったこと（30 mg/kg[1]を経口投与時の AUC_{0-t} の平均値 ± 標準偏差：53100 ± 48700 ng·h/mL：報告書 LOXO-292-DMPK-011）、イヌに代わる非げっ歯類として、カニクイザル及びミニブタに同じ投与量（30 mg/kg）のセルペルカチニブを同じ溶媒を用いて経口投与したときの曝露量（AUC_{0-t}）を比較したところ、ミニブタ（28800 ± 8480 ng·h/mL：報告書 LOXO-292-DMPK-004）の方がサル（3480 ng·h/mL、n=1）よりも高かったこと（第 2.6.4.3.2.1 項）、さらに、セルペルカチニブの in vitro における代謝プロファイルは、ミニブタとヒトで類似していたこと（第 2.6.4.5 項）を総合的に考慮し、ミニブタを選択した。投与頻度は 1 日 1 回とした。ラットでは雌雄に同じ用量を投与時の雄の曝露量が雌より高かったことから（第 2.6.4.3.3.1 項）、ラットの毒性試験では雌に雄より高い用量を投与した。

主要な毒性試験は、米国食品医薬品局（US Food and Drug Administration：FDA）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice：GLP）に従って実施され、経済協力開発機構（Organization for Economic Co-operation and Development：OECD）及び日本の基準にも合致していた。試験デザインは、医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation：ICH）ガイドラインの原則に基づくものである。

セルペルカチニブの主要な反復投与毒性試験として、ラット及びミニブタの 28 日間及び 91 日間試験を実施した。遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験、ラットを用いる小核試験）、雄ラット受胎能に関する試験、雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット胚・胎児発生に関する試験（用量設定試験、GLP 非適用）並びに光毒性試験も実施した。ラットを用いる小核用量設定試験を除くすべての毒性試験において、トキシコキネティクス（toxicokinetic：TK）を評価した。本申請で予定される適応症は難治性の進行がんであることから、ICH S9 を考慮し、がん原性試験は不要と判断した。ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験において顕著な胚・胎児毒性が見られたことから、更なる胚・胎児発生に関する試験、及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は不要と判断した。反復投与毒性試験はいずれも若齢動物を用いており、ラット及びミニブタの 28 日間試験は、それぞれ 6～7 週齢及び 3～4 ヵ月齢（ヒトのおおよそ 12～16 歳に相当）、91 日間試験は、ラットは 10～11 週齢、ミニブタは 5～7 ヵ月齢で投与開始しており、これらの試験から、12 歳以上の小児～青年期の患者への適用を想定した場合においてもサポートする非臨床安全性情報は得られているものと考える（Kim et al. 2017）。

なお、[redacted]への投与を考慮し、[redacted]及び[redacted]を用いた[redacted]試験の実施が計画されており（20[redacted]年開始予定）、これまでに[redacted]試験（[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]のみの評価）が実施された。ま

[1] 媒体には 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム及び 0.02%ドデシル硫酸ナトリウムの水溶液を使用。

た、[redacted]の臨床開発をサポートする目的で、[redacted]を用いた[redacted]試験を実施中である（最終報告書は20[redacted]年[redacted]月完成予定）。これらの試験は本申請資料中には含めなかった。

すべての経口投与毒性試験において、セルペルカチニブ投与液の媒体には 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム及び 0.02%ドデシル硫酸ナトリウムの水溶液を用いた。

本申請における毒性試験一覧を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1. 毒性試験の一覧表

試験の種類	種／系統	GLP 適用	報告書番号
反復投与毒性試験			
ラット 4 日間経口投与・5 日間回復性試験及び TK（用量設定試験）	SD ラット	非適用	LOXO-RET-TOX-006
ラット 14 日間経口投与試験及び TK（用量設定試験）	SD ラット	非適用	LOXO-RET-TOX-007
ラット 28 日間経口投与・28 日間回復性試験及び TK	SD ラット	適用	LOXO-292-TOX-001
ラット 91 日間経口投与・28 日間回復性試験及び TK	SD ラット	適用	LOXO-292-TOX-011
ミニブタ 14 日間経口投与試験及び TK（用量設定試験）	ゲッチンゲンミニブタ	非適用	LOXO-RET-TOX-008
ミニブタ 28 日間経口投与・28 日間回復性試験及び TK	ゲッチンゲンミニブタ	適用	LOXO-292-TOX-002
ミニブタ 91 日間経口投与・28 日間回復性試験及び TK	ゲッチンゲンミニブタ	適用	LOXO-292-TOX-012
遺伝毒性試験			
細菌を用いるスクリーニング復帰突然変異試験	ネズミチフス菌	非適用	LOXO-292-TOX-005
細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌 大腸菌	適用	LOXO-292-TOX-006
小核試験	ヒト末梢血リンパ球	適用	LOXO-292-TOX-007
ラット小核用量設定試験（単回経口投与）	SD ラット （雌雄）	非適用	LOXO-292-TOX-013
ラット小核用量設定試験（単回経口投与）	SD ラット（雄）	適用	LOXO-292-TOX-018
ラット小核試験及び TK（単回経口投与）	SD ラット（雄）	適用	LOXO-292-TOX-021
生殖発生毒性試験			
雄ラット受胎能に関する試験及び TK	SD ラット	適用	LOXO-292-TOX-025
雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験及び TK	SD ラット	適用	LOXO-292-TOX-023
ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験及び TK	SD ラット	非適用	LOXO-292-TOX-009
その他の毒性試験			
不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌 大腸菌	適用	AF82KD.502E.BTL
光毒性試験	BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞	適用	LOXO-292-TOX-004

SD：Sprague-Dawley、TK：トキシコキネティクス

2.6.6.2　単回投与毒性試験

報告書 LOXO-292-TOX-013 (4.2.3.3.2.1)；報告書 LOXO-292-TOX-021 (4.2.3.3.2.3)；報告書 LOXO-RET-TOX-008 (4.2.3.2.5)

ラットにセルペルカチニブを単回投与後の毒性は、ラット小核試験［予備試験（報告書 LOXO-292-TOX-013、第 2.6.6.4.3.1 項）及び本試験（報告書 LOXO-292-TOX-021、第 2.6.6.4.3.3 項）］の結果に基づき評価した。ラット小核試験（予備試験）において、セルペルカチニブを 0（媒体対照）、250、500、1000 又は 2000 mg/kg の用量で雌雄 SD ラット（3 匹/性/群）に単回経口投与した結果、立毛が 500 mg/kg 以上の群の雌雄（Day 2～3）で、体重減少が全投与群の雄（Day 1～3 にかけて約 5～8%の体重減少）及び 500 mg/kg 以上の群の雌（Day 1～3 にかけて約 4～7%の体重減少）で認められた。死亡は見られず、ラットにおける単回投与後の致死量は 2000 mg/kg 超と考えられた。ラット小核試験（本試験）において、セルペルカチニブを 0、37.5、75、150、300 又は 500 mg/kg の用量で雄ラットに単回経口投与したところ、死亡はなかった。300 及び 500 mg/kg 群では体重が減少し、Day 3 の体重は対照群より 13～16%低値であった。150 mg/kg 群の体重も投与後 24 時間で 1.25%減少し、投与後 48 時間には増加に推移した（4.27%の増加）ものの、対照群における増加（10.83%）より少なかった。

ミニブタの単回投与毒性は、14 日間投与試験の初回投与後の成績に基づき評価した（報告書 LOXO-RET-TOX-008、第 2.6.6.3.5 項）。セルペルカチニブを 0（媒体対照）、5、25 又は 65 mg/kg の用量で雌雄ゲッチンゲンミニブタ（3 匹/性/群）に投与したところ、初回投与後に一般状態の変化及び死亡はなく、ミニブタにおける単回投与後の致死量は 65 mg/kg 超と考えられた。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

2.6.6.3.1　［予備試験］ラット 4 日間投与毒性試験（GLP 非適用試験）

報告書 LOXO-RET-TOX-006 (4.2.3.2.1)、表 2.6.7.6.1

セルペルカチニブを雌雄 SD ラットに 1 日 1 回、4 日間経口投与し、その後 5 日間の回復期間をおいたときの毒性（一般状態観察、体重及び摂餌量）及び TK（投与後 1、8 及び 24 時間の 3 ポイント）を評価した。試験デザインを表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2. ラット 4 日間投与毒性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)		動物数 [a]	
	雄	雌	雄	雌
媒体対照	0	0	4	4
低用量	10	30	4	4
中用量	30	100	4	4
高用量	100	300	4	4

投与容量：10 mL/kg
[a] TK 用試料も同じ動物から採取した。

C_{max} 及び AUC_{0-t} は用量とともに増加し、各投与群内において Day 1 と Day 4 で同程度であった。雄ラットにおける AUC_{0-t} は、同じ用量での投与を受けた雌ラットより高かった。TK 結果の要約を表 2.6.6-3 に示す。

表 2.6.6-3. ラット 4 日間投与毒性試験における血漿中 TK パラメータ

パラメータ	用量 (mg/kg)		雄		雌	
	雄	雌	Day 1	Day 4	Day 1	Day 4
C_{max} (ng/mL)	10	30	3050 ± 155	2850 ± 272	9210 ± 4040	7630 ± 2920
	30	100	9360 ± 1150	8270 ± 1470	17300 ± 4950	16300 ± 2800
	100	300	17700 ± 1210	17700 ± 4750	25200 ± 6860	39500 ± 7090
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	10	30	28700 ± 13300	26200 ± 12300	35300 ± 22800	28500 ± 18400
	30	100	136000 ± 10700	122000 ± 14500	198000 ± 106000	179000 ± 55800
	100	300	276000 ± 25200	272000 ± 87300	453000 ± 187000	791000 ± 253000

値は平均値 ± 標準偏差（n=4）

死亡は認められなかった。被験物質関連の一般状態の変化として、削痩、円背位及び立毛が 300 mg/kg 群の雌で、おおむね Day 4 から回復期間終了時（休薬 5 日）まで観察された。体重減少が 300 mg/kg 群の雌で、体重増加抑制が 100 mg/kg 群の雄で見られ、それに関連して摂餌量減少が認められた。

2.6.6.3.2　［予備試験］ラット 14 日間投与毒性試験（GLP 非適用試験）

報告書 LOXO-RET-TOX-007 (4.2.3.2.2)、表 2.6.7.6.2

セルペルカチニブを雌雄 SD ラットに 1 日 1 回、14 日間経口投与したときの毒性及び TK を評価した。試験デザインを表 2.6.6-4 に示す。

表 2.6.6-4. ラット 14 日間投与毒性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)		動物数			
			毒性評価群		TK 群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
媒体対照	0	0	5	5	3	3
低用量	10	20	5	5	6	6
中用量	30	60	5	5	6	6
高用量	100	180	5	5	6	6

投与容量：10 mL/kg

評価項目は、生死、一般状態観察、体重、摂餌量、臨床検査、剖検及び病理組織学的検査並びに TK（Day 1 及び 14）とした。

C_{max} 及び AUC_{0-t} は、雄では 10 及び 30 mg/kg の用量間ではおおむね用量比を上回って増加し、30 及び 100 mg/kg の用量間では用量比を下回って増加した。雌では、検討した用量範囲内において C_{max} は用量比を下回って増加し、AUC_{0-t} は用量比を上回って増加した。雌には雄の約 2 倍の用量を低・中及び高用量群それぞれで設定したが、AUC_{0-t} は雌雄間でほぼ同程度（Day 1）あるいは雄の方が高かった（Day 14）（表 2.6.6-5）。

表 2.6.6-5.ラット 14 日間投与毒性試験における血漿中 TK パラメータ

パラメータ	群	用量 (mg/kg)		雄		雌	
		雄	雌	Day 1	Day 14	Day 1	Day 14
C_{max} (ng/mL)	低用量	10	20	3840 ± 1920	2720 ± 318	5270 ± 276	4870 ± 943
	中用量	30	60	9750 ± 824	10000 ± 696	14900 ± 1520	8030 ± 4140
	高用量	100	180	20000 ± 633	20400 ± 2550	23300 ± 1700	16200 ± 3630
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	低用量	10	20	15200 ± 3060	32400 ± 1560	19800 ± 1210	12200 ± 2070
	中用量	30	60	123000 ± 5950	122000 ± 19000	82500 ± 9650	43800 ± 12800
	高用量	100	180	307000 ± 11000	361000 ± 71400	323000 ± 24400	257000 ± 41500

値は composite 血漿中濃度－時間曲線から求めた［平均値 ± 標準誤差（n=3/採血時点）］。

死亡はなかった。被験物質関連の一般状態の変化は、100 mg/kg 群の雄に見られた削痩、立毛及び粗毛のみであり、忍容性が認められた。高用量群の雄では体重増加抑制が Day 11 まで、体重減少が Day 14 に見られ、毒性変化と考えられたが、摂餌量の変化はなかった。

Day 15 におけるセルペルカチニブ関連の血液学的パラメータの変化として、用量依存的な軽度から中等度の網状赤血球数減少が、すべての用量で雌雄に認められた。この所見に関連する病理組織学的所見として、骨髄細胞数減少が、雄では 30 mg/kg 以上、雌では 60 mg/kg 以上の群で観察された。100 mg/kg 群の雄及び 30 mg/kg 群の雄 1 例で赤血球量（ヘモグロビン、赤血球数及びヘマトクリット）増加が見られ、脱水に関連して生じた可能性が考えられた。好中球数及び単球数の非用量依存的な増加（軽微～軽度）が全用量の雄に見られ、リンパ球数減少（軽度）が 100 mg/kg 群の雄及び 60 mg/kg 以上の群の雌に認められた。血小板数の用量依存的な減少（軽微～軽度）が全用量の雄に見られた。

血液生化学的検査において、雄では、トリグリセリド、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及び無機リンの増加並びにアルブミンの減少（いずれも軽微～軽度）が 30 mg/kg 以上の群で、軽微なコレステロール及び総ビリルビンの増加が 100 mg/kg 群で見られた。アルブミン減少に関連すると考えられる総タンパク、アルブミン：グロブリン比及びカルシウムの減少も見られた。雌では、アルカリホスファターゼ（ALP）及び無機リンの増加（軽微～軽度）並びにアルブミンの減少が 60 mg/kg 以上の群で見られ、コレステロール、トリグリセリド、ALT 及び AST の増加が 180 mg/kg 群で認められた。最終投与（Day 14）の 4 時間後に TK 用動物を用いて測定した無機リンにセルペルカチニブ関連の変化は認められなかった。一方、剖検時（Day 15、最終投与 24 時間後）には、無機リンの増加が、雄では 30 mg/kg 以上、雌では 60 mg/kg 以上の群で認められた。血液凝固検査及び尿検査のパラメータに投与に関連した変化は見られなかった。

高用量群（100 mg/kg）の雄で胸腺及び肝臓重量が減少し、病理組織学的所見として胸腺萎縮が観察された。

病理組織学的検査で見られた主要な標的器官は、大腿骨、胸骨、骨髄、腺胃及び膵臓であり、雄ではさらに胸腺、心臓（冠状血管系）、大動脈及び腎臓にも変化が見られた。変化の重症度は雄の方がより高かった。

大腿骨あるいは胸骨では、骨端軟骨異形成（軽度～極めて重度）が、雄では 30 mg/kg 以上の群、雌では 180 mg/kg 群で観察された。骨髄細胞数減少が、雄では 30 mg/kg 以上の群（30 mg/kg 群で

は軽微、100 mg/kg 群では大腿骨及び胸骨の骨髄にはほとんど細胞が認められない極めて重度の変化）、雌では 60 mg/kg 以上の群（軽度～重度）で認められた。骨髄への影響は赤血球系及び骨髄球系の細胞に生じており、これに関連して血液学的検査で網状赤血球数減少が認められた。腺胃では上皮細胞に鉱質沈着が高用量群（雄：100 mg/kg、雌：180 mg/kg）で見られ、無機リンの増加に関連すると考えられた。膵臓では、単細胞壊死の発現増加が雄の 100 mg/kg 群で見られた。これらの所見はいずれも毒性変化と判断した。

このほか、膵臓ではチモーゲン枯渇が、腎臓、大動脈及び冠状血管系に鉱質沈着が、さらに胸腺に萎縮（雄のみ）が見られたが、いずれも軽微～軽度の変化であり毒性学的意義は低いと判断した。

以上、雄における無毒性量（no-observed-adverse-effect level：NOAEL）は 10 mg/kg、雌における NOAEL は 20 mg/kg と判断された。

2.6.6.3.3　ラット 28 日間投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-001 (4.2.3.2.3)、表 2.6.7.7.1

セルペルカチニブを雌雄 SD ラットに 1 日 1 回 28 日間経口投与したときの毒性及び TK を評価するとともに、一部の動物については休薬 28 日間における毒性の回復性を評価した。試験デザインを表 2.6.6-6 に示す。

表 2.6.6-6. ラット 28 日間投与毒性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)		動物数			
			毒性評価群 [a]		TK 群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
媒体対照	0	0	15	15	3	3
低用量	5	15	15	15	6	6
中用量	20	50	15	15	6	6
高用量	75[b]	150[d]	15	15	6	6
	45[c]	120[e]				

投与容量：10 mL/kg（ただし高用量の雌では Day 16 に 8 mL/kg の容量で投与した）。
[a] 10 匹/性/群を投与終了時剖検群、5 匹/性/群を回復期間終了時剖検群とした。
[b] Day 1～7［Day 8、9 及び 10 に投与しなかった（休薬日）］。
[c] Day 11 以降。
[d] Day 1～15。
[e] Day 16 以降。Day 16 には投与容量 8 mL/kg、Day 17 以降は投与容量 10 mL/kg で投与した［Day 18、19 及び 20 に投与しなかった（休薬日）］。

評価項目は、生死、一般状態観察、体重、体重変化量、摂餌量、眼科学的検査、機能観察総合評価、自発運動量、臨床検査、剖検及び病理組織学的検査並びに TK（Day 1 及び 28）とした。

C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量の増加に伴って増加した。雄における C_{max} 及び AUC_{0-24} はおおむね用量比例的に増加した。雌における C_{max} はおおむね用量比例的に増加したが、AUC_{0-24} はおおむね用量比を上回って増加した。雄では 5 及び 20 mg/kg、雌では 15 及び 50 mg/kg の用量での反復投与後におけるセルペルカチニブの蓄積は認められなかった（高用量群は毒性のため試験途中で減量したため蓄積の評価はできず）。TK パラメータを表 2.6.6-7 に示す。

表 2.6.6-7.ラット 28 日間投与毒性試験における血漿中 TK パラメータ

パラメータ	用量 (mg/kg)		雄		雌	
	雄	雌	Day 1	Day 28	Day 1	Day 28
C_{max} (ng/mL)	5	15	1020	1220	2650	3300
	20	50	5020	4450	11900	8380
	75[a]/45[b]	150[c]/120[d]	16100	11700	12100	19100
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	5	15	10200	14900	8820	9480
	20	50	60200	50800	63500	39100
	75[a]/45[b]	150[c]/120[d]	213000	151000	289000	260000

値は composite 血漿中濃度－時間曲線から求めた［平均値（n=3/採血時点）］。
[a] Day 1～7［Day 8、9 及び 10 に投与しなかった（休薬日）］。
[b] Day 11 以降。
[c] Day 1～15。
[d] Day 16 以降［Day 18、19 及び 20 に投与しなかった（休薬日）が、Day 21 に投与を再開した］。

高用量群（雄：75 mg/kg、雌：150 mg/kg）で重度の毒性が見られたため、同群の雄は Day 8～10 に休薬した後、Day 11 に 45 mg/kg に減量して投与を再開した。雌についても、Day 16 に 120 mg/kg に減量したが、重度の毒性が持続したため Day 18～20 に休薬した後、Day 21 に 120 mg/kg で投与を再開した。

高用量群の雄 2 例で円背位、立毛又は削痩が見られたため、Day 8 に屠殺した。また、高用量群の雌 1 例で円背位、斜視、透明口腔内分泌物、足及び頚部腹側の赤色汚れ並びに口周囲及び頚部腹側の褐色汚れの所見が見られたため、Day 17（120 mg/kg に減量した翌日）に屠殺した。これら 3 例の瀕死状態はセルペルカチニブの投与によるものと考えられた。

一般状態の変化として、高用量で透明口腔内分泌物（雌のみ）、被毛赤色化（雌のみ）、立毛、粗毛（雌のみ）及び白色切歯が観察され、回復期間中には立毛及び粗毛（雌のみ）、不正咬合及び白色切歯に加えて円背位も見られた。回復期間中の一般状態観察において切歯の異常の回復性は確認できなかった。

高用量の雄（75/45 mg/kg群）で体重減少及び体重増加抑制が見られ、投与期間終了時の体重は対照群と比較して 22%低下した。これに伴い摂餌量減少も認められた。高用量の雌（150/120 mg/kg群）では投与期間終了時の体重に明らかな変化はなかったものの、対照群と比較して体重増加抑制が認められ、摂餌量減少も伴っていた。回復期間 1～8 日目には高用量群の雌雄とも体重が減少し、回復期間 8 日目に粉末化飼料を与えた後は体重増加量が回復したものの、回復期間終了時における高用量群の体重及び体重増加量は、雌雄ともに対照群と比較して低値であった。高用量群の雌雄における体重増加抑制は毒性変化と判断した。この体重の変化は一般状態観察で見られた歯の変化（不正咬合又は切歯の脆弱化を示唆する白色切歯）が原因であった可能性がある。

眼科学的検査においてセルペルカチニブに関連する変化はなかった。機能観察総合評価及び自発運動量検査の結果、高用量の雄（75/45 mg/kg 群）及び高用量の雌（150/120 mg/kg 群）において自発運動量の減少が認められた。75/45 mg/kg群の雄では平均前肢握力の有意な低下及び微細運動又は立ち上がりの減少が認められた。いずれも概して可逆的であり、病理組織学的検査で神経

組織に異常はなかったことから、高用量で生じた一般状態の悪化及び体重変化に起因すると考えられ、特異的な神経学的変化ではなかったと考えられた（詳細は第 2.6.2.4.2 項に記載した）。

臨床検査では、高用量群でセルペルカチニブに関連した臨床検査値の変化（骨髄の変化、肝臓及び骨端軟骨の変化の可能性、組織鉱質沈着及び炎症反応の可能性、並びに摂餌量減少及び／又は脱水を示唆する変化）が見られた。計画屠殺例の所見は、おおむね軽微な非毒性変化であり休薬により回復性が示され、一方、高用量群の瀕死屠殺例の臨床検査所見は計画屠殺例とおおむね同様又はより顕著であった。5 及び 20 mg/kg 群の雄及び 50 mg/kg 群の雌の少数例においても臨床検査所見が認められたが、いずれも軽度であった。

20 mg/kg 以上の群の雄で網状赤血球数減少が、5 mg/kg 以上の群の雄で血小板数減少が、20 mg/kg 以上の群の雄及び 50 mg/kg 以上の群の雌で平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビンの増加が認められ、投与終了時まで生存した動物における変化は軽度であった。これらの変化は、病理組織学的検査で高用量の雌雄に見られた大腿骨骨髄細胞数減少（全細胞系列）に一致していた。一方、高用量では、雌で総白血球数、好中球数、単球数及び大型非染色細胞数の増加並びにアルブミン：グロブリン比の減少、雌雄で総タンパク及びアルブミンの減少が認められたことから炎症反応が示唆されたが、病理組織学的検査で炎症性病変は認められなかった。血清タンパクの変化は摂餌量減少も反映している可能性がある。これらの高用量では軽微なカルシウム濃度減少も見られ、アルブミンの減少に関連してタンパク結合画分が減少した可能性が考えられた。

ALT 及び ALP 増加（軽微～軽度）が 20 mg/kg 以上の群の雄及び 50 mg/kg 以上の群の雌に、AST 増加（軽微）が高用量の雌雄に、コレステロール増加（軽微）が 20 mg/kg 以上の群の雄に、それぞれ認められた。これらに加えて、瀕死屠殺例で軽微なγ-グルタミルトランスフェラーゼ活性増加が見られた。これらの変化はいずれも軽度であり、肝臓の病理組織学的変化は認められなかった。また、ALP 増加は、骨端軟骨異形成（骨端軟骨肥大）を反映している可能性も考えられた。

無機リン増加（軽微～軽度）が 20 mg/kg 以上の群の雄及び 50 mg/kg 以上の群の雌に見られ、これに関連する病理組織学的所見として、高用量で複数の組織に鉱質沈着が観察された。

その他の軽微な変化として、ヘモグロビン及びヘマトクリットの増加が 20 mg/kg 以上の群の雄及び 50 mg/kg 以上の群の雌に、グルコース減少が 75/45 mg/kg 群の雄に、尿素窒素増加が 150/120 mg/kg 群の雌に、それぞれ認められた。これらの所見は脱水又は摂餌量減少に関連して生じた可能性がある。

尿検査に変化は認められなかった。

肝臓及び胸腺重量の減少が 75/45 mg/kg の雄に見られたが、休薬により回復した。また、関連する病理組織学的変化は認められなかった。

主要な病理組織学的所見として、骨端軟骨異形成（大腿骨、胸骨）、骨髄細胞数減少（大腿骨）及び複数の組織での鉱質沈着が観察された。骨端軟骨異形成（軟骨細胞帯の肥大／過形成）は、20 mg/kg 以上の群の雄及び 150/120 mg/kg 群の雌に認められた。軟骨病変の重症度は軽微から重度の範囲であり、胸骨よりも大腿骨で重症度が高かった。20 mg/kg 群の雄における骨端軟骨の変化は軽微であり発現頻度も低かったことから毒性ではないと判断した。骨髄細胞数減少（雄では軽微～軽度、雌では軽微）は高用量群のみで見られ、瀕死屠殺例では計画屠殺例と比較して重症度がわずかに高かった。組織鉱質沈着（軽微～重度）は高用量の動物のみで見られ、雄では大動

脈、脳、心臓及び胃に分布していたのに対し、雌の病変は胃に限定され、このうち大動脈及び胃の所見（中等度～重度）は毒性と判断した。

このほか、高用量の雌雄で投与終了時及び回復期間終了時の剖検例に歯の異常（白色の切歯）が観察された。病理組織学的観察では歯の異形成が象牙芽細胞上皮に見られ、象牙質及びエナメル質の不規則性を伴っていた。この切歯の変化は毒性と判断した。チモーゲン顆粒減少を伴う膵腺房細胞の変性／壊死が高用量群の雄で見られ、毒性と考えられた。20 mg/kg 群の雄及び 150/120 mg/kg 群の雌でも膵臓の変化が見られたが、軽微な変化がそれぞれ 1 例に見られたのみであり毒性ではないと判断した。また、高用量群では、ブルンナー腺（十二指腸）の陰窩／導管拡張（軽微）が雄の瀕死屠殺例及び投与終了時剖検例に、舌の上皮萎縮（軽微～軽度）が雌雄の投与終了時剖検例に、肺胞マクロファージの増加（軽度）が雌雄に観察されたが、いずれも毒性ではないと判断した。

回復期間後にすべての病理組織学的所見は回復又は回復傾向が認められた。鉱質沈着は高用量の動物で引き続き見られたが、観察された組織はより少なく、発現頻度は低下していた。骨端軟骨異形成は退縮したが、高用量の動物では一部に軟骨残存（初期の過形成性軟骨細胞帯から）が認められた。切歯の変化には回復傾向が見られた。

以上、本試験の NOAEL は、雄では 20 mg/kg、雌では 50 mg/kg であった。死亡、持続的な一般状態の変化及び体重増加抑制が生じたことから、10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量（severely toxic dose in 10% of animals：STD 10）は雄で 45 mg/kg、雌で 120 mg/kg であった。

2.6.6.3.4　ラット 91 日間投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-011 (4.2.3.2.4)、表 2.6.7.7.2

セルペルカチニブを雌雄 SD ラットに 1 日 1 回 91 日間経口投与したときの毒性及び TK を評価するとともに、一部の動物については休薬 28 日間における毒性の回復性を評価した。試験デザインを表 2.6.6-8 に示す。

表 2.6.6-8. ラット 91 日間投与毒性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)		動物数			
			毒性評価群 [a]		TK 群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
媒体対照	0	0	15	15	3	3
低用量	2	7.5	15	15	6	6
中用量	7.5	25	15	15	6	6
高用量	20	75	15	15	6	6

投与容量：10 mL/kg

[a] 5 匹/性/群を回復期間終了時剖検群とした。

評価項目は、生死、一般状態観察、体重、体重変化量、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、剖検、病理組織学的検査及び精子検査並びに TK（Day 1 及び 91）とした。

雄の C_{max} 及び AUC_{0-24} は同じ用量（7.5 mg/kg）を投与した雌と比較して高く、おおむね 2 倍を上回る差（最大で 10 倍）が見られた。C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄では 2～20 mg/kg の用量範囲で用量の増加に伴っておおむね用量比例的に増加し、雌では 7.5 及び 25 mg/kg の用量間では用量比

を上回って、25 及び 75 mg/kg の用量間ではおおむね用量比例的に増加した。反復投与によるセルペルカチニブの蓄積は雄では認められなかったが、雌では認められた。TK パラメータを表 2.6.6-9 に示す。

表 2.6.6-9.ラット 91 日間投与毒性試験における血漿中 TK パラメータ

パラメータ	用量 (mg/kg)		雄		雌	
	雄	雌	Day 1	Day 91	Day 1	Day 91
C_{max} (ng/mL)	2	7.5	529	508	926	1570
	7.5	25	1990	1490	7360	10700
	20	75	5740	6780	12400	15700
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	2	7.5	4470	6030	1740	3040
	7.5	25	18800	18500	29600	50400
	20	75	56500	80400	59100	149000

値は composite 血漿中濃度－時間曲線から求めた［平均値（n=3/採血時点）］。

対照群の雄 1 例、2 mg/kg 群の雄 1 例及び 25 mg/kg 群の雌 1 例（計 3 例）が死亡又は瀕死屠殺に至った。このうち 2 mg/kg 群の 1 例は、回復期間 28 日目に右後肢が十分に動かず浮腫も見られたことから屠殺したものであり、病理組織学的検査で見られた重度の混合細胞炎症が瀕死の原因と考えられたが、低用量の 1 例のみに発現したことからセルペルカチニブとの関連はないと判断した。25 mg/kg 群の 1 例は Day 91 にケージに引っかかった状態で死亡発見されたものであり、セルペルカチニブとの関連はないと考えられた。対照群の雄 1 例は左眼球突出が見られたため Day 21 に屠殺した。

セルペルカチニブ関連の一般状態の変化として、切歯の異常（不正咬合、白色切歯及び切歯喪失）並びに頭部又は肩部の被毛菲薄化が、高用量群（雄は 20 mg/kg、雌は 75 mg/kg）で雌雄に見られ、頭部の被毛菲薄化は 2 mg/kg 群の雄にも認められた。歯の異常は回復期間を通して持続的に観察された。歯の異常が見られたため、一部の動物には、摂餌量を維持させるために投与期間中及び回復期間中に粉末化飼料を与えた。この歯の異常は毒性と判断した。それ以外の一般状態の変化は軽度かつ低頻度であったため、毒性変化ではないと判断した。

投与期間中の体重増加量は、対照群に比べ高用量群（20 mg/kg）の雄でわずかに低下し、中及び高用量群の雌（25 mg/kg 以上）で増加した。回復期間における体重増加量は、対照群に比べ雄の全用量（2 mg/kg 以上）及び雌の高用量群（75 mg/kg）で低下し、雌の高用量群（75 mg/kg）では回復期間中に体重減少も見られた。これらの体重の変化には一貫性がなかったため、毒性ではないと判断した。投与期間中、25 mg/kg 以上の群の雌で摂餌量が増加した。

眼科学的検査においてセルペルカチニブに関連する変化はなかった。臨床検査において、雄では 7.5 mg/kg 以上の群で網状赤血球数の減少、20 mg/kg 群でヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビンの増加、無機リンの増加並びに尿 pH の増加が見られた。雌では、7.5 mg/kg 以上の群でヘモグロビン又はヘマトクリットの増加、25 mg/kg 以上の群で平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビンの増加並びにアルブミンの低下、75 mg/kg 群で総タンパク及びアルブミン：グロブリン比の低下、無機リンの増加並びに尿 pH の増加が見られた。

これらの臨床検査値の変化はセルペルカチニブ投与によるものと考えられたものの、経時的進行には一貫性が認められず、いずれも軽度であり毒性ではないと判断した。

回復期間 29 日目には、高用量群（75 mg/kg）の雌で平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビンの軽微な増加が認められたものの、他の赤血球パラメータには変化がなかったことから、この増加の毒性学的意義は低いと判断した。その他の臨床検査値の変化はいずれも回復した。

精子検査項目（総精子数、精子濃度、精子運動能及び精子形態）にセルペルカチニブに関連した変化は認められなかった。

投与終了時の病理組織学的検査において、精巣・精巣上体（表 2.6.6-10）、膣（表 2.6.6-11）、骨髄及び肺に変化が観察された。精巣の変化として精細管変性／萎縮が中用量群（7.5 mg/kg）以上で見られ、それに関連して精巣の小型化又は軟化及び精巣重量減少が高用量群（20 mg/kg）で認められた。高用量群（20 mg/kg）では、精巣上体の管腔内細胞残屑及び管腔内精子減少並びに精巣上体重量の減少も見られた。20 mg/kg 群における精巣の変化は発現頻度が高く、精巣上体の変化も伴っていたこと、さらに回復期間中に悪化（重症度が増加）したこと（後述）から、毒性であると判断した。

表 2.6.6-10. 雄性生殖器における病理組織学的所見

組織/所見	重症度	用量（mg/kg）			
		0	**2**	**7.5**	**20**
投与終了時剖検					
	検査例数	9	10	10	10
精巣上体					
管腔内細胞残屑	軽微	0	0	0	5
管腔内精子減少	軽微	0	0	0	1
	軽度	0	0	0	2
精巣					
精細管変性／萎縮	軽微	0	1[a]	2	8
	軽度	0	0	0	2
回復期間終了時剖検					
	検査例数	5	4	5	5
精巣上体					
管腔内細胞残屑	軽微	0	0	1	4
	軽度	0	0	0	1
管腔内精子減少	軽微	0	0	0	1
	軽度	0	0	0	3
	重度	0	0	0	1
精巣					
精細管変性／萎縮	軽微	1[b]	0	1	0
	軽度	0	0	0	1
	中等度	0	0	0	4

[a] 1 例のみに片側性で見られたことから、セルペルカチニブ投与による所見ではないと考えられた。
[b] 対照群で片側性に見られたことから自然発生性所見と考えられた。

雌では、中用量群（25 mg/kg）の 1 例及び高用量群（75 mg/kg）の雌で膣上皮の粘液分泌増加及び性周期の変化（判定不能）が見られた。性周期が判定不能とされた雌では、膣の粘液分泌増加が、また、高用量群の 1 例では軽度の個別細胞角化も見られており、発情前期から発情期への進行遅延又は進行不能が生じた可能性を示していた（Dixon et al. 2014）。なお、性周期ステージ（発情前期、発情期、発情後期及び発情間期）の判定には、膣に加え、他の生殖器官（卵巣、子

宮及び子宮頸部）の形態も考慮した（Westwood 2008）。75 mg/kg 群における膣の変化は、発現頻度が高かったことから毒性と判断した。その他の群（対照群、7.5 及び 25 mg/kg 群）では、性周期判定不能であった中用量群（25 mg/kg）の雌 1 例を除き、性周期は正常であった。

表 2.6.6-11. 雌性生殖器における病理組織学的所見*（投与終了時剖検）

組織/所見	重症度	用量 (mg/kg)			
		0	**7.5**	**25**	**75**
	検査例数	10	10	10	10
膣					
上皮粘液分泌増加	軽微	0	0	1	0
	軽度	0	0	0	1
	中等度	0	0	0	5
上皮個別細胞角化	軽度	0	0	0	1
性周期判定					
判定不能	あり	0	0	1	7
発情前期	あり	3	2	3	1
発情期	あり	1	3	4	0
発情後期	あり	4	2	1	0
発情間期	あり	2	3	1	2

* = 回復期間終了時剖検例には、性周期及び膣上皮の変化は認められなかった。

その他の病理組織学的所見として、骨髄の造血細胞（赤血球系及び骨髄球系細胞）数の相対的減少及び骨髄脂肪細胞の顕在化を主徴とする骨髄細胞数減少が高用量群（20 mg/kg の雄及び 75 mg/kg の雌）で観察されたが、その重症度は軽微であった。臨床検査で 20 mg/kg 群の雄に認められた網状赤血球数減少は骨髄細胞数減少に関連するものと考えられた。肺胞マクロファージ浸潤の発現頻度増加が、高用量（20 mg/kg 群の雄及び 75 mg/kg 群の雌）で観察されたが、その重症度は軽微であり毒性ではないと判断した。

回復期間終了時剖検例において、中用量（7.5 mg/kg）以上の雄で精巣及び精巣上体の所見が引き続き観察され（表 2.6.6-10）、高用量（20 mg/kg）の精巣病変の重症度は、同群の投与終了時剖検例と比較しておおむね高く、肉眼所見の精巣軟化及び精巣重量減少も認められた。精巣上体の所見として、管腔内細胞残屑が中用量（7.5 mg/kg）以上の群で、管腔内精子減少が高用量群（20 mg/kg）で認められた。投与終了時剖検例で認められた他のすべてのセルペルカチニブ関連の病理組織学的所見には回復が見られた。

以上、本試験の NOAEL は雄で 7.5 mg/kg、雌で 25 mg/kg、重篤な毒性が発現しない最大投与量（highest non-severely toxic dose：HNSTD）は雄で 20 mg/kg、雌で 75 mg/kg であった。

2.6.6.3.5　［予備試験］ミニブタ 14 日間投与毒性試験（GLP 非適用試験）

報告書 LOXO-RET-TOX-008 (4.2.3.2.5)、表 2.6.7.6.3

セルペルカチニブを雌雄ゲッチンゲンミニブタに 1 日 1 回 14 日間経口投与したときの毒性及び TK を評価した。試験デザインを表 2.6.6-12 に示す。

表 2.6.6-12.ミニブタ 14 日間投与毒性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	動物数	
		雄	雌
媒体対照	0	3	3
低用量	5	3	3
中用量	25	3	3
高用量	65	3	3

投与容量：5 mL/kg

評価項目は、生死、一般状態観察、摂餌量、臨床検査、剖検及び病理組織学的検査並びに TK（Day 1 及び 14）とした。

セルペルカチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24}）における性差はおおむね 2 倍未満であった。セルペルカチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} は、Day 1 及び 14 とも用量の増加に伴って増加したが、増加の程度はわずかに用量比を下回った。反復投与により蓄積の可能性が認められた。TK パラメータを表 2.6.6-13 に示す。

表 2.6.6-13. ミニブタ 14 日間投与毒性試験における血漿中 TK パラメータ

パラメータ	用量 (mg/kg)	雄		雌		雌雄併合	
		Day 1	Day 14	Day 1	Day 14	Day 1	Day 14
C_{max} (ng/mL)	5	262 ± 62.9	481 ± 107	1110 ± 1100	669 ± 65.5	683 ± 835	575 ± 130
	25	1530 ± 238	1560 ± 386	1240 ± 271	2610[a]	1380 ± 278	1980 ± 634
	65	2620 ± 449	NA	2770[a]	NA	2680 ± 332	NA
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	5	4880 ± 1350	7740 ± 2330	8620 ± 2590	11400 ± 881	6750 ± 2760	9590 ± 2570
	25	21000 ± 3250	28600 ± 2960	22600 ± 1710	47500[a]	21800 ± 2490	36200 ± 10700
	65	40200 ± 10700	NA	52800[a]	NA	45200 ± 11100	NA

値は平均値 ± 標準偏差（n=3/性）
NA：該当せず
[a] 標準偏差は求められず（n=2）。

65 mg/kg で Day 6 に重度の一般状態の変化（活動性低下、摂餌量減少又は無摂餌、直腸温上昇、軟便又は褐色嘔吐物）が見られ、Day 6 に 65 mg/kg 群の全例について休薬したが、その後一般状態が急速に悪化したため、Day 7 にこの群を瀕死屠殺した。瀕死状態の要因は、雌 1 例では敗血症であり、雄 2 例、雌 2 例では骨髄細胞数減少であった。25 mg/kg 群の雌 1 例で Day 11 に骨髄細胞数減少による瀕死状態が認められたため屠殺した。この瀕死屠殺例における生存中の一般状態の変化は、瀕死状態に起因すると考えられる直腸温低下、無摂餌及び活動性低下であった。このほか、25 mg/kg 群では、雄 1 例を除く全例で Day 8 以降に活動性低下も認められ、Day 14 には単発的な嘔吐も見られた。5 mg/kg 群ではセルペルカチニブ関連の一般状態の変化は認められなかった。

瀕死屠殺例の臨床検査では、25 及び 65 mg/kg 群で網状赤血球数減少、白血球数減少（主に好中球数及びリンパ球数の減少：中等度～重度）並びにフィブリノゲン増加（中等度～重度）が観察された。65 mg/kg の一部の動物では、軽度の赤血球量パラメータ減少、雄 1 例で血小板数減少が見られた。血球の変化は骨髄毒性に、フィブリノゲン増加は炎症に一致するものであり、関連する病理組織学的所見として、骨髄細胞数減少及び胃の好中球浸潤が観察された。血液生化学的

所見として、65 mg/kg 群の一部の動物でグルコース及びクロールの減少、アルブミン減少、グロブリンの増加並びにアルブミン：グロブリン比の低下が認められた。また、65 mg/kg 群の雄 1 例では尿素窒素、クレアチニン、コレステロール、トリグリセリド及び無機リンの増加も認められ、病理組織学的検査で腎病変が観察された。これ以外に、消化管所見、全身健康状態悪化、糞便異常又は嘔吐に関連した血液生化学的変化が見られた。

計画屠殺例（5 及び 25 mg/kg 群）の臨床検査では、血液学的所見として網状赤血球数減少及び赤血球量減少（いずれも軽度）が見られ、それに関連して骨髄細胞数減少が認められた。血液生化学的所見として、5 及び 25 mg/kg 群でアルブミン、カルシウム、ナトリウム及びクロールの減少、25 mg/kg 群でグロブリン増加及びアルブミン：グロブリン比低下が、いずれも軽微～軽度に認められた。血清タンパクの変化（アルブミン減少又はグロブリン増加）は炎症性変化を反映した可能性があるが、病理組織学的検査では炎症性変化は認められなかった。カルシウム減少はアルブミン減少に伴うタンパク結合画分の減少に起因した可能性が考えられた。

セルペルカチニブに関連した副腎及び腎臓重量減少が 25 mg/kg 群の雌で見られたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。

65 mg/kg 群（瀕死屠殺例）では病理組織学的病変が複数の組織（骨髄、胸腺、腸管関連リンパ組織／パイエル板、脾臓、胃、空腸、回腸、結腸、盲腸、膵臓、卵巣、肝臓、肺、腎臓及び副腎）で観察された。骨髄ではすべての細胞系列で低細胞性が見られた。胸腺、腸管関連リンパ組織／パイエル板及び脾臓にリンパ球の低細胞性が認められた。前胃では軽度から重度の粘膜壊死、萎縮、好中球浸潤、有糸分裂像増加及び細菌が観察された。小腸では中等度から重度の絨毛鈍化／癒合が、大腸では軽度から中等度の萎縮、壊死、慢性炎症及び細菌が認められた。膵臓では軽微から中等度のアポトーシス増加及び軽度のチモーゲン顆粒減少が見られた。卵巣では萎縮性の変化（中等度から重度の黄体の減少又は欠如、卵胞の数及び大きさの減少並びに間質増殖）が見られた。敗血症を呈した雌では、肝臓の肝細胞壊死、出血及び細菌、肺のフィブリン血栓及び細菌並びに腎臓のうっ血／出血、尿細管拡張、タンパク円柱、変性／壊死及び細菌も観察された。副腎皮質細胞の空胞増加も高頻度に認められた。25 mg/kg 群（瀕死屠殺例）でも大腿骨及び胸骨の骨髄、胸腺、卵巣、膵臓及び副腎に病理組織学的病変（重度～極めて重度の骨髄細胞数減少、胸腺の重度の低細胞性、卵巣の重度の萎縮（黄体数の減少又は枯渇、卵胞の数及び大きさの減少並びに間質増殖）、膵臓のアポトーシスの軽微な増加、副腎皮質細胞に軽度の空胞化）が認められた。

計画屠殺例の病理組織学的所見として、骨髄細胞数減少（軽微～中等度）及び胸腺リンパ球低細胞性（軽微～中等度）が 5 及び 25 mg/kg 群ともに見られ、5 mg/kg 群では変化の程度が軽微から軽度と低かったことから毒性ではないと判断した。25 mg/kg 群では、卵巣萎縮（軽度～中等度）、前胃粘膜好中球浸潤（軽度）及び膵臓チモーゲン顆粒減少（軽微～軽度）も認められた。副腎皮質細胞空胞化が全用量で雌のみに見られたが、軽微から軽度であり明らかな用量反応は認められなかった。

以上、本試験における NOAEL は 5 mg/kg であった。

2.6.6.3.6　ミニブタ 28 日間投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-002 (4.2.3.2.6)、表 2.6.7.7.3

セルペルカチニブを雌雄ゲッチンゲンミニブタに 1 日 1 回、28 日間経口投与したときの毒性及び TK を評価するとともに、一部の動物については休薬 28 日間における毒性の回復性を評価した。試験デザインを表 2.6.6-14 に示す。

表 2.6.6-14.ミニブタ 28 日間投与毒性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	動物数 [a]	
		雄	雌
媒体対照	0	6	6
低用量	2	6	6
中用量	5	6	6
高用量	12	6	6

投与容量：5 mL/kg
[a] 4 匹/性/群を投与終了時剖検群、残りの生存例を回復期間終了時剖検群とした。

評価項目は、生死、一般状態観察、体重、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査、剖検及び病理組織学的検査並びに TK（Day 1 及び 22）とした。

セルペルカチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は、2 及び 5 mg/kg の用量間では用量比をわずかに下回って増加し、5 及び 12 mg/kg の用量間ではおおむね用量比例的に増加した。曝露量の性差は 2 倍未満であった。反復投与によりセルペルカチニブの蓄積の可能性が認められた。TK パラメータを表 2.6.6-15 に示す。

表 2.6.6-15. ミニブタ 28 日間投与毒性試験における血漿中 TK パラメータ

パラメータ	用量 (mg/kg)	雄		雌		雌雄併合	
		Day 1	Day 22	Day 1	Day 22	Day 1	Day 22
C_{max} (ng/mL)	2	150 ± 15.1	246 ± 50.7	184 ± 32.2	297 ± 84.5	167 ± 29.9	271 ± 71.6
	5	294 ± 67.3	528 ± 123	417 ± 114	593 ± 126	355 ± 110	560 ± 123
	12	795 ± 190	875 ± 78.5	1020 ± 212	1360 ± 258	909 ± 226	1120 ± 313
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	2	2730 ± 294	4500 ± 1120	3240 ± 685	5860 ± 1600	2980 ± 570	5180 ± 1500
	5	5410 ± 1270	9530 ± 2260	7120 ± 1490	11500 ± 2110	6270 ± 1590	10500 ± 2320
	12	11600 ± 2550	17000 ± 2190	17800 ± 3170	29300 ± 5280	14700 ± 4250	23200 ± 7480

値は平均値 ± 標準偏差（n=6/性）

全例とも計画屠殺時まで生存した。一般状態観察、体重、眼科学的検査、心電図検査、器官重量及び剖検において、セルペルカチニブ関連の変化は認められなかった。

セルペルカチニブに関連した臨床検査の変化として、5 mg/kg 以上の群で赤血球量増加（軽度）、12 mg/kg 群で尿素窒素増加（軽度、雌のみ）、ALP 増加（軽微）並びにカリウム及び無機リン増加（軽微～軽度）が認められた。いずれも変化の程度が小さく、回復期間後におおむね回復傾向が認められたこと、関連する一般状態の変化及び病理組織学的所見がなかったことから、毒性ではないと判断した。

病理組織学的検査において、舌及び前胃の上皮萎縮が全用量で、下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節のリンパ球低細胞性が 5 mg/kg 以上で観察された。これらの所見は雌雄ともに発現したが、

いずれも重症度が低かった（軽微～軽度）ことから、毒性ではないと判断した。回復期間終了時剖検例において、セルペルカチニブ関連の病理組織学的所見は認められなかった。

以上、本試験における NOAEL は 12 mg/kg であった。

2.6.6.3.7　ミニブタ 91 日間投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（GLP 適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-012 (4.2.3.2.7)、表 2.6.7.7.4

セルペルカチニブを雌雄ゲッチンゲンミニブタに 1 日 1 回、13 週間経口投与したときの毒性及び TK を評価するとともに、一部の動物については休薬 28 日間における毒性の回復性を評価した。試験デザインを表 2.6.6-16 に示す。

表 2.6.6-16.ミニブタ 91 日間投与毒性試験の試験デザイン

群	用量 (mg/kg)	動物数 [a]	
		雄	雌
媒体対照	0	6	6
低用量	2	6	6
中用量	5	6	6
高用量 [b]	15	6	6

投与容量：5 mL/kg
[a] 生存状況に応じて 2 匹/性/群以上を回復期間終了時剖検群とした。
[b] 投与 4 週目に一般状態の変化が見られ瀕死状態となった雄 3 例及び雌 4 例について、Day 26（雌）又は Day 27（雄）に途中屠殺した。同群の生存例についてはこの時点で投与を終了し 4 週間の回復期間の後剖検した。

評価項目は、生死、一般状態観察、体重、体重変化量、定性的摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査、剖検及び病理組織学的検査並びに TK（Day 1 及び 91）とした。

セルペルカチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} における性差は 2 倍未満であった。セルペルカチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24}）はおおむね用量比例的に増加した。2 又は 5 mg/kg 群で反復投与後にセルペルカチニブの蓄積が認められたが 2 倍以内であった。TK パラメータを表 2.6.6-17 に示す。

表 2.6.6-17. ミニブタ 91 日間投与毒性試験における血漿中 TK パラメータ

パラメータ	用量 (mg/kg)	雄		雌		雌雄併合	
		Day 1	Day 91	Day 1	Day 91	Day 1	Day 91
C_{max} (ng/mL)	2	166 ± 32.9	255 ± 57.9	202 ± 46.5	183 ± 61.2	184 ± 42.8	222 ± 67.5
	5	493 ± 56.9	712 ± 172	413 ± 73.2	565 ± 109	453 ± 75.3	639 ± 157
	15	1220 ± 228	NA	1080 ± 189	NA	1150 ± 212	NA
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	2	2780 ± 547	4710 ± 1470	3620 ± 845	3690 ± 922	3200 ± 808	4250 ± 1310
	5	7740 ± 1080	13200 ± 2670	7810 ± 1470	11900 ± 2030	7780 ± 1230	12600 ± 2360
	15	19000 ± 3020	NA	17000 ± 5220	NA	18100 ± 4070	NA

値は平均値 ± 標準偏差（n=6/性）
NA = 該当データなし（投与 4 週目に瀕死屠殺又は投与を終了した）。

高用量（15 mg/kg）で、Day 27 に雄 3 例、Day 26 に雌 4 例をそれぞれ瀕死屠殺した。同群の残りの動物についてはこの時点で投与を終了し、4 週間の回復期間の後剖検した。瀕死屠殺例では、一般状態の変化として、雄 2 例及び雌 4 例（全例）で跛行、起立不同意、横臥位及び緩和できな

い疼痛が、残りの雄 1 例で赤色口腔内分泌物、活動性低下及び食欲不振が観察された。また、病理組織学的検査において前胃粘膜の上皮の萎縮、変性／壊死、びらん／潰瘍及び／又は好中球性炎症が見られ、これらが瀕死状態の主な要因と考えられた。その他、15 mg/kg 群の途中屠殺例では大腿骨［骨端軟骨の肥厚（骨端軟骨異形成）］、精巣（精細管変性／萎縮）、精巣上体（管腔内細胞残屑）、卵巣（黄体減少及び黄体嚢胞）、食道（粘膜萎縮、粘膜変性／壊死、好中球性炎症及び／又は潰瘍／びらん）及び舌（粘膜萎縮）にも病理組織学的所見が認められ、いずれも毒性変化と判断した。瀕死屠殺例の臨床検査において、軽微な ALP 及び無機リンの増加（消化管の炎症並びに骨端軟骨の変化に一致する変化）、尿素窒素、ナトリウム濃度及び尿比重の軽微な増加、並びに尿タンパクの発現頻度及び重症度の軽微な増加（脱水に一致する変化）が見られた。

対照群の雌 1 例及び 2 mg/kg 群の雌 1 例で瀕死状態が見られたため、それぞれ Day 89 及び 90 に屠殺した。2 mg/kg 群の瀕死例では、足蹄の擦過傷及び肢の内出血が見られたため屠殺したものであり、セルペルカチニブとの関連はないと考えられた。

2 及び 5 mg/kg 群では、一般状態の変化、眼科学的所見、体重及び体重変化量にセルペルカチニブ投与の影響は認められなかった。QTc のわずかな延長が 5 mg/kg 群の雌で Day 88 に認められ（対照群及び投与前値と比較しそれぞれ約 12%及び 7%の延長）、セルペルカチニブ投与による影響の可能性が考えられたが、軽度であったことから毒性ではないと判断した（第 2.6.2.4.1.5 項）。

臨床検査において、瀕死屠殺に至らなかった 15 mg/kg 群の動物の Day 26／27 及び回復期間後、並びに、2 及び 5 mg/kg 群の投与期間中及び回復期間後の値に、セルペルカチニブの影響は見られなかった。

2 又は 5 mg/kg 群の投与終了時の病理組織学的検査において、雄では両用量群で精巣（精細管変性／萎縮）及び精巣上体（管腔内細胞残屑）に病変が見られ（表 2.6.6-18）、精巣及び精巣上体重量の減少も見られた。雌では、両用量群で卵巣の黄体嚢胞が観察された（表 2.6.6-19）。

表 2.6.6-18. 雄性生殖器における病理組織学的所見

組織/所見	重症度	用量 (mg/kg)			
		0	2	5	15
途中屠殺					
	検査例数	0	0	0	3
精巣上体					
管腔内細胞残屑	軽微	NA	NA	NA	2
精巣					
精細管変性／萎縮	軽度	NA	NA	NA	3
投与終了時剖検					
	検査例数	4	4	4	0
精巣上体					
管腔内細胞残屑	軽微	0	0	2	NA
	軽度	0	2	2	NA
精巣					
精細管変性／萎縮	軽微	4	1	0	NA
	軽度	0	1	0	NA
	中等度	0	2	1	NA
	重度	0	0	3	NA
回復期間終了時剖検					
	検査例数	2	2	2	3
精巣上体					
管腔内細胞残屑	軽微	0	1	0	2
	軽度	0	1	2	0
精巣					
精細管変性／萎縮	軽微	2	0	0	0
	軽度	0	1	0	0
	中等度	0	0	1	1
	重度	0	1	1	2

NA = 該当検査動物なし

表 2.6.6-19. 雌性生殖器における病理組織学的所見

組織／所見	重症度	用量 (mg/kg)			
		0	2	5	15
途中屠殺					
	検査例数	0	0	0	4
卵巣					
黄体減少	重度	NA	NA	NA	2
黄体嚢胞	あり	NA	NA	NA	2
投与終了時剖検					
	検査例数	3	3	4	0
卵巣					
黄体嚢胞	あり	0	1	2	0
回復期間終了時剖検					
	検査例数	2	2	2	2
卵巣					
黄体嚢胞	あり	0	1	1	0

NA = 該当検査動物なし

回復期間終了時剖検において、雄の全用量で精細管変性／萎縮及びそれに関連する精巣重量減少並びに精巣上体細胞残屑及びそれに関連する精巣上体重量減少が認められ、精巣及び精巣上体の病理組織学的所見に回復性は確認されなかった。また、雌の卵巣における黄体嚢胞は回復期間

終了時にも 2 及び 5 mg/kg 群で 1 例ずつ観察された。胃及び食道の病変が 15 mg/kg 群の回復性試験例で引き続き観察されたものの、回復傾向が見られた。精巣及び精巣上体の病理組織学的所見は、所見の重症度及び 2 mg/kg 以上の群で回復が見られなかったことに基づき、毒性変化と判断した。一方、2 及び 5 mg/kg 群で見られた卵巣の所見は黄体嚢胞のみであり、通常の排卵後に生じる可能性がある所見であることから毒性変化ではないと判断した。

以上、本試験における雄の NOAEL は設定できず、HNSTD は 5 mg/kg であった。雌の NOAEL は 5 mg/kg であった。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

2.6.6.4.1　細菌を用いる復帰突然変異試験

2.6.6.4.1.1　［スクリーニング試験］細菌を用いる復帰突然変異試験（GLP 非適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-005 (4.2.3.3.1.1)、表 2.6.7.8.1

セルペルカチニブの変異原性を、ネズミチフス菌（TA98 及び TA100）を用いた復帰突然変異試験（代謝活性化系の存在下及び非存在下、プレート法）により評価した。用量は 1.5、5.0、15、50、150、500、1500 及び 5000 μg/プレートを用い、溶媒としてジメチルスルホキシド（dimethyl sulfoxide：DMSO）を使用した。毒性が、TA98 の 5000 μg/プレートの用量において、代謝活性化系の非存在下で認められた。いずれの条件下においても 500 μg/プレート以上で析出が見られたが変異コロニーの検出は可能であった。本試験の条件下において、セルペルカチニブは変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.1.2　細菌を用いる復帰突然変異試験（GLP 適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-006 (4.2.3.3.1.2)、表 2.6.7.8.2

セルペルカチニブの変異原性を、ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）並びに大腸菌（WP2 *uvr*A）を用いた復帰突然変異試験（代謝活性化系の存在下及び非存在下、プレート法）により評価した。溶媒として DMSO を使用した。

予備試験（用量：6.67、10.0、33.3、66.7、100、333、667、1000、3333 及び 5000 μg/プレート）において、いずれの条件下においても 667 又は 1000 μg/プレート以上の用量で析出が見られ、このうち変異コロニーの検出を妨げる析出が TA98 の 1000 μg/プレート以上及び TA1537 の 3333 μg/プレート以上で見られた。変異コロニー数の減少を指標とする毒性が、TA1537 の 5000 μg/プレートの用量において、代謝活性化系の存在下で認められた。TA98 及び TA100 において代謝活性化系の存在下で変異コロニー数が最大で対照群のそれぞれ 1.8 倍（667 μg/プレート）及び 1.5 倍（1000 μg/プレート）であった。以上の予備試験結果より、本試験用量設定を、TA98 及び TA100（代謝活性化系の存在下）については 33.3、100、333、500、750、1000、2000、3333 及び 5000 μg/プレート、その他についてはすべて 33.3、100、333、1000、3333 及び 5000 μg/プレートとした。

変異原性の検討においていずれの条件下においても 1000 μg/プレート以上で析出が見られたが、TA98 の 5000 μg/プレート（代謝活性化系の存在下）を除き変異コロニーの検出を妨げる析出はなく、毒性も認められなかった。いずれの菌株においても、代謝活性化系の存在下及び非存在下で変異コロニー数の増加は認められず、変異原性は陰性であった。

以上、本試験の条件下において、セルペルカチニブは変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.2　ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験（GLP 適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-007 (4.2.3.3.1.3)、表 2.6.7.8.3

ヒト末梢血リンパ球におけるセルペルカチニブの小核誘導能を、代謝活性化系の非存在下（4 及び 24 時間処理）並びに存在下（4 時間処理）で評価した。溶媒として DMSO を使用した。

用量は、予備試験（用量範囲：0.05～500 μg/mL）の結果に基づき設定した。予備試験では、細胞毒性（溶媒対照群と比較して細胞質分裂阻害増殖指数が 45%以上低下と規定）が、代謝活性化系の非存在下では、4 時間処理の 500 μg/mL 群並びに 24 時間処理の 15、50 及び 150 μg/mL 群で認められたが、代謝活性化系の存在下では認められなかった。処理期間終了時の肉眼観察で析出が、代謝活性化系の非存在下（4 及び 24 時間処理）の 150 μg/mL 以上の用量並びに代謝活性化系の存在下の 500 μg/mL の用量で見られた。これらの結果に基づき、小核試験の用量は、代謝活性化系の非存在下（4 時間処理）では 1.5～150 μg/mL、代謝活性化系の存在下では 5～500 μg/mL、代謝活性化系の非存在下（24 時間処理）では 1.25～15 μg/mL に設定した。

小核試験では、細胞毒性が代謝活性化系の非存在下（24 時間処理）での 9 μg/mL 以上の用量で、また、処理期間終了時の肉眼観察で析出が、代謝活性化系の非存在下（4 時間処理）の 150 μg/mL 及び代謝活性化系の存在下における 500 μg/mL の用量で認められた。したがって、代謝活性化系の非存在下（4 時間処理）では 15、50 及び 150 μg/mL、代謝活性化系の存在下では 15、50 及び 500 μg/mL、代謝活性化系の非存在下（24 時間処理）では 5、7 及び 9 μg/mL の用量について、小核を有する二核細胞数を計測した。

代謝活性化系の非存在下（4 時間処理）において小核を有する二核細胞数が用量依存的に増加し、150 μg/mL の用量において溶媒対照群と比較し統計学的有意差が認められ、背景データの 95%管理限界の範囲外であったことから陽性の判定基準を満たしていた。しかし、この増加はわずかであり（150 μg/mL 群における小核を有する細胞発現率：1.15%）、背景データの範囲内［代謝活性化系非存在下（4 時間処理）で 0.05～1.43%］であった。また、同処理条件の溶媒対照群の値は背景データの範囲内かつ 95%管理限界の範囲内であったが、本試験の他の処理条件での溶媒対照の値より低かった。このように、代謝活性化系の非存在下（4 時間処理）で見られた小核を有する細胞の増加は、背景データの範囲内のわずかな変化であり、肉眼で析出が観察された濃度で生じたことから、その生物学的意義は低いと判断した。

代謝活性化系存在下処理群及び代謝活性化系非存在下（24 時間処理）では、いずれの用量においても小核を有する細胞の有意な増加はなく、用量依存的な増加も認められなかった。

以上、本試験の条件下において、セルペルカチニブは、小核の誘導に関して陰性であると結論した。

2.6.6.4.3　In vivo 小核試験

セルペルカチニブのラットを用いる小核試験（用量設定試験及び本試験）を実施した。セルペルカチニブの反復投与試験において骨髄は毒性の標的器官であることから、ラット小核試験でも詳細な骨髄毒性の評価（組織学的検査及び細胞学的検査並びに多染性赤血球比率測定）を行った。

2.6.6.4.3.1　［予備試験］雌雄ラット小核用量設定試験（1 回目）（GLP 非適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-013 (4.2.3.3.2.1)、表 2.6.7.9.1

1 群雌雄各 3 匹の SD ラットに、セルペルカチニブを 0（媒体対照）、250、500、1000 又は 2000 mg/kg の用量で単回経口投与し、毒性を評価した。一般状態観察及び体重測定を行うとともに、1 匹当たり 500 個以上の総赤血球について多染性赤血球比率を算出した。

立毛が 500 mg/kg 以上の群の雌雄で、体重減少が全投与群の雄（Day 1～3 にかけて約 6～8%の体重減少）及び 500 mg/kg 以上の群の雌（Day 1～3 にかけて約 4～7%の体重減少）で認められた。全用量の雌雄で多染性赤血球比率が低下し、1000 mg/kg 以上は毒性用量であった（1000 mg/kg 群の雌雄でそれぞれ 42%及び 52%、2000 mg/kg 群の雌雄でそれぞれ 47%及び 51%の低下）。

2.6.6.4.3.2　［予備試験］雄ラット小核用量設定試験（2 回目）（GLP 適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-018 (4.2.3.3.2.2)、表 2.6.7.9.2

雄の SD ラットに、セルペルカチニブを表 2.6.6-20 に示す試験デザインで単回経口投与し、骨髄検体を採取し、骨髄毒性の評価（細胞学的検査、病理組織学的検査並びに多染性赤血球比率の算出）を実施した。セルペルカチニブをラットに投与時の曝露量は雌より雄で高いこと、小核用量設定試験（1 回目）で毒性に明らかな性差は認められなかったことから（第 2.6.6.4.3.1 項）、この用量設定試験（2 回目）では雄のみを用いた。

表 2.6.6-20. セルペルカチニブの in vivo 小核用量設定試験の試験デザイン

用量 (mg/kg)	投与後屠殺時間及び各動物数				
	6 時間 [a]	8 時間 [a]	12 時間 [a]	24 時間 [b]	48 時間 [b]
媒体対照	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
500	3	3	3	3	3
1000	3	3	3	3	3
2000	3	3	3	3	3

投与容量：20 mL/kg
[a] 大腿骨の一方は細胞学的検査に、他方は病理組織学的検査に使用した。
[b] 大腿骨の一方は骨髄の多染性赤血球比率算出に、他方は細胞学的検査に使用し、胸骨は病理組織学的検査に使用した。

すべてのセルペルカチニブ投与群で、Day 3 に立毛及び円背位が、また、Day 1～3 に体重減少（10～12%の減少：用量反応性なし）が見られた。多染性赤血球比率が用量依存的に低下し（1000 及び 2000 mg/kg でそれぞれ 30%及び 20%の低下）、骨髄の病理組織学的変化として、全投与群で造血細胞減少あるいは壊死が見られた。所見の重症度は時間及び用量に依存して増加し、造血細胞減少は 2000 mg/kg 群の 12 時間以降に認められた。細胞学的検査では、赤血球生成障害が 500 mg/kg 以上の群で、骨髄低形成が 1000 mg/kg 以上の群で観察され、赤血球系細胞の変化が最も顕著であった。

以上の結果に基づき、in vivo 小核試験（GLP 適用）の高用量を 500 mg/kg とした（第 2.6.6.4.3.3 項）。

2.6.6.4.3.3　ラット小核試験（GLP 適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-021 (4.2.3.3.2.3)、表 2.6.7.9.3

雄の SD ラットに、セルペルカチニブを単回経口投与し、骨髄の小核発現誘発能、骨髄の病理組織学的検査及び TK を評価した。試験デザインを表 2.6.6-21 に示す。

表 2.6.6-21. ラット小核試験の試験デザイン

用量 (mg/kg)	動物数（毒性及び小核評価）		動物数（TK）
	投与後 24 時間屠殺群	投与後 48 時間屠殺群	
媒体対照	6	6	3
37.5	6	-	6
75	6	-	6
150	6	6	6
300	6	6	6
500	6	6	6

投与容量：20 mL/kg
陽性対照には、シクロフォスファミド 40 mg/kg を雄ラット（n=8）に単回投与した別試験で得られた未染色スライドを使用した。

曝露量は 300 mg/kg の用量まで用量の増加とともに増加したが、300 及び 500 mg/kg 群における曝露量は同程度であったことから（表 2.6.6-22）、限界曝露量に達したことが確認された。

表 2.6.6-22. ラット小核試験における血漿中 TK パラメータ

用量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}48}$ (ng·h/mL)
37.5	9210 ± 437	112000 ± 3610
75	15200 ± 2280	245000 ± 19800
150	21000 ± 809	481000 ± 25300
300	34000[a]	1080000 ± 74300
500	34300 ± 6650	1190000 ± 235000

値は composite 血漿中濃度－時間曲線から求めた［平均値 ± 標準誤差（n=3/採血時点）］。
[a] 標準誤差は求められず（n=1/採血時点）

対照群を含むすべての群で立毛が観察された。75 mg/kg 以下の群では体重に変化はなく、75 mg/kg 群で軽度の体重増加抑制が見られた。150 mg/kg 群の体重は投与後 24 時間で 1.25%減少し、投与後 48 時間には増加に推移した（4.27%の増加）ものの、対照群（10.83%）より少なかった。300 及び 500 mg/kg 群では体重が減少し、Day 3 の体重は対照群より 13～16%低値であった。多染性赤血球比率については、投与後 24 時間では 37.5、75、150、300 及び 500 mg/kg 群でそれぞれ 8%、7%、9%、10%及び 12%低下し、投与後 48 時間では 500 mg/kg 群で 7%低下した。

胸骨の骨髄における病理組織学的所見として、150 mg/kg 以上の群で造血細胞減少及び有糸分裂増加が、300 mg/kg 以上の群で多分葉細胞及び壊死が、用量及び時間に依存して観察された。有糸分裂増加は、150 mg/kg 群では投与後 48 時間のみで軽微に、300 mg/kg 以上の群では軽度に認められ、300 及び 500 mg/kg 群の変化は同程度であった。37.5 及び 75 mg/kg 群（投与後 24 時間のみの観察）においてセルペルカチニブの直接的な作用と考えられる病理組織学的所見は見られなかった。このほかマクロファージ増加及び血管拡張が見られ、セルペルカチニブによる骨髄の変化に伴い生じた二次的変化と考えられた。

300 及び 500 mg/kg 群の投与後 48 時間観察において、小核発現頻度（それぞれ 0.54 ± 0.21%及び 0.59 ± 0.21%）が媒体対照群（0.11 ± 0.02%）と比較して統計学的に有意に増加し、試験施設の背景データの 95%管理限界外であった。150 mg/kg 群の投与後 48 時間観察では統計学的に有意な差はないものの数値がわずかに大きかった（0.13 ± 0.06%）。24 時間観察では、いずれの用量においても小核の発現頻度に有意な増加は見られなかった。陽性対照及び媒体対照の値は許容範囲内であり、陽性対照群では媒体対照群と比較して統計学的に有意な小核発現頻度の増加が認められたことから、試験の妥当性が示された。

以上より、セルペルカチニブのラット小核試験において、300 mg/kg 以上の用量で小核発現頻度が統計学的に有意に増加し、これらの用量では骨髄毒性（壊死）も認められた。また、150 mg/kg 以上の用量で用量依存的な小核の発現頻度増加が見られた。

2.6.6.5　がん原性試験

セルペルカチニブは進行がんを有する患者の治療を目的として承認申請することから、ICH S9 に従い実施しなかった。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

セルペルカチニブの生殖発生毒性試験として、雄ラット受胎能に関する試験、雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（いずれも GLP 適用試験）及びラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（GLP 非適用試験）を実施した。さらに、ラット及びミニブタの反復投与毒性試験において雌雄生殖器の病理組織学的検査、ラット 91 日間試験において精子検査及び性周期評価を実施した。胚・胎児発生に関する予備試験において顕著な胚・胎児毒性が見られたことから、ICH S9 を考慮し、更なる胚・胎児発生に関する試験、及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は不要と判断した。

2.6.6.6.1　雄ラット受胎能に関する試験（GLP 適用）

報告書 LOXO-292-TOX-025 (4.2.3.5.1.1)、表 2.6.7.12.1

セルペルカチニブを雄 SD ラットに、交配前 28 日間及び 2 週間の交配期間を通じて屠殺前日まで（49 日間以上）1 日 1 回経口投与し、無処置雌と交配させたときの交配及び受胎能への影響を評価するとともに TK を評価した。試験デザインを表 2.6.6-23 に示す。

表 2.6.6-23. 雄ラット受胎能に関する試験の試験デザイン

群番号	用量 (mg/kg)	雄動物数		無処置雌数
		毒性評価群	TK 群	
媒体対照	0	22	3	22
低用量	3	22	6	23 [a]
中用量	10	22	6	26 [a]
高用量	30	22	6	23 [a]

投与容量：10 mL/kg

[a] 必要に応じ交配用の無処置雌を追加。

評価項目は、生死、一般状態観察、体重、体重変化量、摂餌量、生殖パラメータ、帝王切開所見［妊娠（GD）13 日］、精子検査、器官重量、剖検、病理組織学的検査及び TK（Day 1 及び 49）とした。

C_{max} 及び AUC_{0-24} は Day 1 及び 49 ともに用量の増加に伴っておおむね用量比例的に増加した。反復投与による曝露量の変化はなかった。TK パラメータを表 2.6.6-24 に示す。

表 2.6.6-24. 雄ラット受胎能に関する試験における血漿中 TK パラメータ

パラメータ	用量 (mg/kg)	雄	
		Day 1	Day 49
C_{max} (ng/mL)	3	703	846
	10	2560	2970
	30	8070	7200
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	3	8180	12100
	10	34000	45700
	30	91600	117000

値は composite 血漿中濃度－時間曲線から求めた［平均値（n=2～3/採血時点）］

10 mg/kg 群の 1 例が Day 26 に死亡し、30 mg/kg 群の 1 例が瀕死状態となり Day 43 に切迫屠殺に至った（いずれも TK 群）。10 mg/kg 群の死亡動物の一般状態に変化はなく、同群の他の動物に死亡や一般状態変化はなかったことから、セルペルカチニブ投与に関連する死亡ではないと考えられた。30 mg/kg 群の瀕死屠殺例は、生存期間中の一般状態変化として口吻部の腫脹、削痩、不正咬合、立毛、被毛の身づくろい不良、異常便、脱水（皮膚の張りに基づく）及び円背位が見られ、Day 29～43 で体重が 147 g 減少した。剖検時の肉眼観察において異常はなかった。この動物の状態悪化とセルペルカチニブとの関連性は明らかではないものの、完全に否定もできなかった。この 2 例を除き死亡／途中屠殺例はなかった。

30 mg/kg 群では、脱水、円背位、粗毛、立毛、眼の褐色／赤色分泌物、削痩が認められ、さらに切歯の所見（折れた歯、不正咬合並びに 1 例で切歯の欠損及び変色）の発現頻度が増加した。30 mg/kg 群では体重及び体重増加量が低下した。

交尾成立までの日数及び交配成績にセルペルカチニブの影響は見られなかった。精子検査では、30 mg/kg 群で精子形態異常の増加及び運動性低下が見られた。精子形態の異常は 30 mg/kg 群の数例で精子頭部離断又は鞭毛の損傷として観察され、これに関連して精巣上体の病理組織学的検査において管腔内に細胞残渣が見られた。また、同群では精子運動率が 55%未満の雄が 4 例認められ、主にこれにより精子運動率の群平均値が低下した。病理組織学的検査において、すべてのセルペルカチニブ群で精巣の変化が認められ、発現頻度及び重症度は用量依存的に増加した。その変化は胚細胞の枯渇（軽微から中等度）及び精子細胞残存（軽微から軽度）であり、精細管における精祖細胞、精母細胞又は円形精子細胞の完全あるいは部分的な欠損を主徴としていた。30 mg/kg 群では、ほとんどの動物において成熟した伸長精子細胞は、精細管の内腔側に付着するか、又はステージ XI から XIV の精細管ではセルトリ細胞による貪食を受けていた。同群では精巣重量が減少した。30 mg/kg 群では精巣上体の管腔内の軽微から中等度の細胞残渣の発現頻度及び重症度も増加し、精子検査で見られた精子形態の異常と関連する変化であった。これらの精巣及び精巣上体の変化は、毒性と考えられた。

以上、本試験において雄の一般毒性に関する NOAEL は 10 mg/kg であった。交尾率及び受胎率に変化はなかったものの、精巣の胚細胞枯渇及び精子細胞の残存が最低用量から認められたことから、雄受胎能に関する NOAEL は設定できなかった。

2.6.6.6.2　雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（GLP 適用）

報告書 LOXO-292-TOX-023 (4.2.3.5.1.2)、表 2.6.7.12.2

セルペルカチニブを雌 SD ラットに、交配前 15 日間及び 2 週間の交配期間を通して GD 7 まで 1 日 1 回経口投与し、性周期、無処置雄と交配させたときの交配及び受胎能並びに初期胚発生への影響を評価するとともに TK を評価した。試験デザインを表 2.6.6-25 に示す。

表 2.6.6-25. 雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験の試験デザイン

群番号	用量 (mg/kg)	雌動物数	
		毒性評価群	TK 群
媒体対照	0	22	3
低用量	7.5	22	6
中用量	25	22	6
高用量	75	22	6

投与容量：10 mL/kg

評価項目は、生死、一般状態観察、体重、体重変化量、摂餌量、性周期、生殖パラメータ、帝王切開所見（GD 13）、剖検及び TK（Day 1 及び GD 7）とした。

C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}8}$ は Day 1 及び GD 7 ともに用量の増加に伴っておおむね用量比例的に増加した。反復投与による曝露量の明らかな変化はなかった。TK パラメータを表 2.6.6-26 に示す。

表 2.6.6-26. 雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験における血漿中 TK パラメータ

パラメータ	用量 (mg/kg)	雌	
		Day 1	GD 7
C_{max} (ng/mL)	7.5	2080	1220
	25	4040	4060
	75	9240	12700
$AUC_{0\text{-}8}$ (ng·h/mL)	7.5	4590	3000
	25	13400	15500
	75	42400	58900
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	7.5	4890	3470
	25	15600	16300
	75	NA[a]	NA[a]

値は composite 血漿中濃度－時間曲線から求めた［平均値（n=3/採血時点）］。
GD = 妊娠日数、NA = 該当データなし。
[a] 最終定量可能時点までの AUC（$AUC_{0\text{-}t}$）と $AUC_{0\text{-}24}$ の差が $AUC_{0\text{-}24}$ の 25%を超えていたことから、$AUC_{0\text{-}24}$ は報告書中に記載せず。

25 mg/kg の 1 例で眼球破裂が見られたためこの動物を Day 11 に安楽殺したが、外傷性の要因と考えられ用量依存性もないことからセルペルカチニブ投与に関連する死亡ではないと判断した。このほかに死亡はなく、セルペルカチニブに関連する一般状態の変化も見られなかった。

75 mg/kg 群では、対照群と比較し交配前期間中（Day 1～15）に体重増加量が 137%増加し、同群では Day 8～GD 10 の体重も 4.8%～8.4%増加し、いずれも有意な変化であった。一方、妊娠期間中の体重は、GD 10～13 の体重増加量が有意に低下し（対照群と比較し 24%減）、その結果、妊娠期間全体（GD 0～13）の体重増加量も有意に低下した（対照群と比較し 19%減）。7.5 及び 25 mg/kg 群では体重及び体重増加量に変化はなかった。摂餌量に変化はなかった。

75 mg/kg 群において 14 日間で観察された性周期の回数（1.8 回）が対照群（2.4 回）と比較し有意に低下し、同群では交尾成立までの日数（4.2 日）も対照群（2.1 日）と比較し有意に増加した。7.5 及び 25 mg/kg 群に変化はなかった。交尾率及び受胎率にセルペルカチニブの影響は見られなかった。

75 mg/kg 群で、全胚死亡を呈した母動物数の増加（対照群：0 例、75 mg/kg 群：10 例）、生存胚を有する母動物数の減少（対照群：19 例、75 mg/kg 群：8 例）、死亡胚数の増加（対照群：1.4、75 mg/kg 群：11.1）、着床後死亡率の増加（対照群：11.96%、75 mg/kg 群：68.96%）、生存胚数の減少（対照群：12.9、75 mg/kg 群：5.8）が見られ、いずれも統計学的に有意であった。

以上、本試験において雌の一般毒性及び受胎能並びに初期胚発生に関する NOAEL はいずれも 25 mg/kg であった。

2.6.6.6.3 ［予備試験］ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験（GLP 非適用）

報告書 LOXO-292-TOX-009 (4.2.3.5.2.1)、表 2.6.7.13.1

セルペルカチニブを雌 SD ラットに 1 日 1 回、GD 6～17 にわたり経口投与した後、GD 21 に帝王切開し、妊娠及び胚・胎児発生に対するセルペルカチニブの影響を予備的に評価するとともに TK を評価した。胎児の形態観察については、外表検査のみ実施した。試験デザインを表 2.6.6-27 に示す。

表 2.6.6-27. ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験の試験デザイン

群番号	用量 (mg/kg)	雌動物数	
		毒性評価群	TK 群
媒体対照	0	8	4
低用量	50	8	8
中用量	100	8	8
高用量	200	8	8

投与容量：10 mL/kg

すべての雌ラットにおいて投与によりセルペルカチニブへの曝露が確認され、C_{max} 及び AUC_{0-t} は用量の増加に伴って増加した。GD 17 の AUC_{0-t} は GD 6 と比べて同程度（50 及び 100 mg/kg 群）又は低下（200 mg/kg 群）し、反復投与による蓄積は認められなかった（表 2.6.6-28）。

表 2.6.6-28. ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験における血漿中 TK パラメータ

性：	雌		
用量 (mg/kg)：	**50**	**100**	**200**
パラメータ（単位）	**GD 6**		
C_{max} (ng/mL)	9260	15700	18400
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	46100	152000	280000
	GD 17		
C_{max} (ng/mL)	9580	14600	23100
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	75800	185000	241000
蓄積比	1.64	1.22	0.859

AUC 及び C_{max} は composite 血漿中濃度－時間曲線から求めた［平均値（n=4/採血時点）］。
GD = 妊娠日数

全例が計画屠殺時まで生存した。一般状態の変化として、200 mg/kg 群で体表面の赤色物（鼻、口、腹側頚部、顔面、前肢及び泌尿生殖部位）が GD 14～21 に、また、100 mg/kg 以上の群で脱毛（顔面、前肢、後肢、背部、左側腹部あるいは右側腹部）の発現頻度増加（100 mg/kg 群では GD 7～21 に、200 mg/kg 群では GD 14～21）がそれぞれ認められた。他に特筆すべき一般状態の変化は見られなかった。

体重増加抑制又は体重減少が、セルペルカチニブの全用量で GD 14 以降剖検日まで継続して認められ、これに伴い GD 15 以降（200 mg/kg 群）又は GD 16 以降（50 及び 100 mg/kg 群）の体重が対照群と比べ低かった。50 及び 100 mg/kg 群では、妊娠子宮重量を除いた GD 21 の体重及び体重増加量に対照群との明らかな差はなかったことから、これらの群の妊娠後期の体重低下は着床後胚死亡（後述）に伴う妊娠子宮重量低下に起因する変化と考えられた。一方、200 mg/kg 群では、妊娠子宮重量を除いた体重及び体重増加量も対照群と比べ軽度に低下していたことから、同群の妊娠後期の体重低下は着床後胚死亡に加え、母動物に対する毒性変化にも起因するものと考えられた。

これらの体重変化に関連して、セルペルカチニブ投与による摂餌量減少が、50 及び 100 mg/kg 群では GD 16 以降、200 mg/kg 群では GD 6 以降のおおむね投与期間を通して、剖検日（GD 21）まで見られた。

帝王切開時剖検において、セルペルカチニブ投与群の母動物に特筆すべき肉眼所見は認められなかった。

100 及び 200 mg/kg 群の全例及び 50 mg/kg 群の 8 例中 6 例で全胚吸収（早期胚吸収率が 100%）が認められ、50 mg/kg 群の残り 2 例もほとんどの胚が早期吸収胚であった（着床後胚・胎児損失率：50、100 及び 200 mg/kg でそれぞれ 96.4%、100%及び 100%）。生存胎児は 50 mg/kg 群で得られた 3 例（2 腹）のみであり、胎児の体重、性比及び形態の評価はこの 3 例について実施した。50 mg/kg 群の胎児の体重（4.9～5.8 g）は、対照群の平均値（雄：6.3 g、雌：6.0 g）と比較して低かった。また、50 mg/kg 群の胎児 3 例中 2 例（同腹児）で短尾が、他の腹の 1 例で鼻小型化及び局所的胎児浮腫が観察された。短尾は対照群の胎児 1 例にも認められた。これらの胚の生存性、子宮内発育及び形態の変化はセルペルカチニブ投与の影響であり、毒性と判断した。

以上、母動物毒性に関する NOAEL は 100 mg/kg であった。胚・胎児発生に関しては、毒性が最低用量（50 mg/kg）で見られたことから NOAEL は設定できなかった。

2.6.6.7　局所刺激性試験

セルペルカチニブの臨床投与経路は経口であるため、局所刺激性試験は実施しなかった。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　免疫毒性試験

免疫毒性については、ラット及びミニブタを用いた反復投与毒性試験において検討した。セルペルカチニブ投与により造血系及びリンパ系組織に変化が認められたが、いずれも可逆的であった（第 2.6.6.9.2 及び 2.6.6.9.3 項）。

2.6.6.8.2　依存性試験

セルペルカチニブの各種受容体、イオンチャネル、モノアミントランスポーターを含む 54 種の標的に対する結合又は阻害活性、2 種の受容体活性化阻害並びに 14 種の酵素阻害活性を、いずれも 1 μM の濃度で評価した（4.2.1.2.7）。評価した標的には、薬物依存性の可能性との関連が知られるオピオイド受容体（μ、δ、κ）、GABA 受容体/ベンゾジアゼピン部位、カンナビノイド（CB1）受容体、PCP 受容体、ドーパミン受容体（D1、D2、D3、D4）及びドーパミントランスポーターなどが含まれた。その結果、5-HT トランスポーター（拮抗型放射性リガンドの結合を 70.2%阻害）及び $a_{2c}(h)$（拮抗型放射性リガンドの結合を 51.7%阻害）を除き、50%以上の結合又は明らかな阻害活性は認められなかった。なお、1 μM は、推奨臨床用量 160 mg BID における日本人患者の血漿中の最高非結合型濃度（$C_{max,\ unbound}$ = 301 nM）の約 3 倍、中枢神経系組織内の推定濃度の約 47 倍（ヒトにおける脳内／血漿中濃度比を 0.07[1]と仮定）に相当する。さらに、ラット及びミニブタを用いた反復投与試験において、休薬期間中に新たに生じた一般状態所見はなかった。

以上より、セルペルカチニブに対する依存性の可能性は低く、依存性試験の実施は不要と判断した。

2.6.6.8.3　代謝物の毒性試験

[^{14}C]セルペルカチニブ［160 mg（約 40 μCi）］の単回経口投与を受けた健康被験者における各代謝物の精密な定量的評価を実施した（第 2.6.4.5.4 項）。その結果、主要循環血中放射性成分は未変化体であり（総放射能の AUC の約 86%）、セルペルカチニブの代謝物はいずれも血漿中総薬物関連物質の曝露量の 10%以下であった。このうち、セルペルカチニブ N-オキシド体（M2）、N-脱アルキル体（M4）及び酸化体（M5）の 3 種類はそれぞれ血漿中総薬物関連物質の曝露量の約 3%、脱メチル体（M3）は 1.7%、さらに 4 種類の微量放射性成分は 0.2～0.5%（構造同定は実施せず）であり、いずれも微量であった。この結果に基づき、毒性試験における代謝物の血漿中濃度の定量は実施せず、また、代謝物についての毒性試験も実施しなかった。

[1] マウスに 300 mg/kg の用量で投与時の脳内／血漿中濃度比（第 2.6.4.4.3 項）

なお、ラット及びミニブタ 28 日間投与試験（報告書 LOXO-292-TOX-001 及び LOXO-292-TOX-002）並びにヒト[1]から得られた血漿検体[2]中の代謝物を同定し、このうちヒト血漿中で同定された 6 種類の代謝物（M2、M3、M4、M5、M6 及び M7）についてピーク面積を動物種間比較（相対比較）した（第 2.6.4.5.3 項）。その結果、M6 及び M7 はヒト血漿中のみで検出された少量代謝物であり、M2、M3、M4 及び M5 はヒト血漿中濃度がラット及びミニブタの血漿中濃度より高かったが、このうち M3 及び M4 は、それぞれラット及びミニブタにおいて十分な曝露量（ヒトの 0.5 倍超）を示した。

2.6.6.8.4　不純物の毒性試験

報告書 AF82KD.502E.BTL (4.2.3.7.7.1)、表 2.6.7.17.1

ICH Q3A で安全性確認の閾値である 0.15%（1 日最大投与量≤2 g）を超えるレベルでセルペルカチニブの原薬中に存在する可能性のある不純物として、3 種類の個別規格設定不純物（＊不純物A：[redacted]%以下、　＊不純物C　：[redacted]%以下、　＊不純物B　：[redacted]%以下）について、不純物を含有する本薬を経口投与したラット及びミニブタの毒性試験の結果に基づき安全性の評価を行った。なお、本薬は、生命を脅かす疾患を有する患者への有効性が期待されることから、評価は、NOAEL ではなく、重篤な毒性が発現しない投与量（NSTD）に基づき行った。その結果、ミニブタの 1 ヵ月間又は 3 ヵ月間試験により、これら 3 種類の不純物の許容されるレベルが確認された（表 2.6.6-29）。

表 2.6.6-29. 反復投与毒性試験から得られた 3 種類の不純物の許容レベル

個別規格設定不純物	毒性試験に使用した原薬		ミニブタにおける NSTD (mg/kg)	許容値 [a] (%)	報告書番号
	Lot No.	不純物濃度 (%)			
＊不純物A	[redacted]	[redacted]	5	[redacted][b]	LOXO-292-TOX-012
＊不純物B	[redacted]	[redacted]	5	[redacted]	LOXO-292-TOX-012
＊不純物C	[redacted]	[redacted]	12[c]	[redacted]	LOXO-292-TOX-002

NSTD = 重篤な毒性が発現しない投与量

[a] 動物試験における NSTD に含まれる不純物量（%）×［NSTD（mg/m²）÷ヒト臨床投与量（mg/m²）（体表面積あたり用量に基づく）］。体表面積あたりの用量（mg/m²）は、体重あたりの用量（mg/kg）に 35（ミニブタ）又は 37（ヒト）を乗じて算出した。

[b] ＊不純物A については、ヒト及び動物における代謝物（M[redacted]）として曝露されたことを考慮し規格値を設定

[c] 12 mg/kg は NSTD かつ NOAEL であった。

不純物の 1 つである＊不純物A はヒト及び動物の血漿中代謝物（M[redacted]）であり、表 2.6.6-29 に示した許容値より高い規格値（[redacted]%）を設定予定である。[^{14}C]で標識した本薬 160 mg をヒトに経口投与したとき、血漿中の本薬関連物質（本薬を含む）の[redacted]%が ＊不純物A （M[redacted]）であった。さらに、[^{14}C]で標識した本薬をヒトに経口投与したとき、投与した本薬の[redacted]%及び [redacted]%が、＊不純物A （M[redacted]）としてそれぞれ尿及び糞中から回収された。このように生体内においてセルペルカチニブが代謝され ＊不純物A （M[redacted]）が生成する。さらに ＊不純物A （M[redacted]）はミニブタにお

[1] ヒトの血漿検体は、セルペルカチニブの 160 mg BID の用量での投与を受けたがん患者から定常状態で採取した。
[2] ラット及びミニブタは投与後 0～24 時間、ヒトは投与後 0～12 時間の各採材時点における血漿試料を時間加重プール法によりプールして使用。

ける代謝物でもあり、ミニブタ 28 日間投与試験の NSTD（12 mg/kg）における＊不純物A（M[redacted]）の AUC は、セルペルカチニブを 160 mg BID の用量でヒトに投与したときの定常状態での AUC の[redacted]%である（報告書 LOXO-292-DMPK-030）。したがって、一連の臨床試験での曝露（代謝物 M[redacted] として本薬関連物質の[redacted]%）を通して確立した本薬の安全性プロファイル及びミニブタの毒性試験（ヒトの M[redacted] 曝露量の[redacted]%の曝露）の結果を考慮し、＊不純物A について「[redacted]%」を規格に設定することは妥当と考える。

また、セルペルカチニブのラット小核試験において、統計学的に有意な小核発現頻度の増加が見られなかった投与量（150 mg/kg）に含まれていた各不純物量を、規格値に基づくヒトの最大投与量と比較した結果、このラットの投与量はいずれもヒト最大投与量と同等以上であった（表 2.6.6-30）。

表 2.6.6-30.　ラット小核試験に基づく 3 種類の不純物の安全域

不純物	規格値	規格値に基づくヒトへの不純物投与量(mg/m²)[a]	動物に投与された原薬中の不純物濃度（%）	ラット小核試験で用いた用量[b]に含まれる不純物量(mg/m²)[c]	安全域[d]
＊不純物A	[redacted]%	[redacted]	[redacted]%	[redacted]	1.03 倍
＊不純物B	[redacted]%	[redacted]	[redacted]%	[redacted]	5.05 倍
＊不純物C	[redacted]%	[redacted]	[redacted]%	[redacted]	2.88 倍

[a] ヒトにおけるセルペルカチニブの投与量 = 320 mg/day、197 mg/m² から算出
[b] 統計学的に有意な小核発現頻度の増加の見られなかった投与量
[c] ラットにおいて統計学的に有意な小核発現頻度の増加の見られなかった投与量（150 mg/kg、900 mg/m²）から算出
[d] ラット小核試験で用いた用量に含まれる不純物量÷規格値に基づくヒトへの不純物投与量
ロット番号 : [redacted]

さらに、これらの 3 種類の個別規格設定不純物について、ICH M7 に従い変異原性不純物の評価を実施［＊不純物A については細菌を用いる復帰突然変異試験（報告書 AF82KD.502E.BTL）も実施］した結果、いずれも非変異原性不純物（クラス 5）に分類された（第 2.3.S.2.6.4.5.6 項）。

以上より、これらの 3 種類の不純物について申請規格値は妥当と考える。

2.6.6.8.5　光毒性試験

2.6.6.8.5.1　モル吸光係数の算出

報告書 LOXO-292-TOX-003 (4.2.3.7.7.3)、表 2.6.7.17.2

セルペルカチニブの光吸収スペクトル（290～700 nm）を評価した。セルペルカチニブの光吸収は[redacted] nm の波長で最も高く、メタノール中におけるモル吸光係数は[redacted] L mol^{-1} cm^{-1} であった。この値は更なる評価を必要とする閾値（1000 L mol^{-1} cm^{-1}）を超えていたことから、in vitro 光毒性試験を実施した（第 2.6.6.8.5.2 項）。

2.6.6.8.5.2　3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験（GLP 適用試験）

報告書 LOXO-292-TOX-004 (4.2.3.7.7.2)、表 2.6.7.17.3

セルペルカチニブの in vitro における光毒性の有無を、BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いて評価した。フィルターを装着したキセノンアークソーラーシミュレーターからの紫外線 A 波（5 J/cm^2）及び紫外線 B 波（21～22 mJ/cm^2）の照射下及び非照射下で細胞をセルペルカチニブ（用量：0.18～10 µg/mL）に曝露し、細胞生存率の相対的な減少の有無により光毒性を評価した。陽性対照としてプロメタジン（用量：0.1～178 µg/mL）を使用した。

本試験においてセルペルカチニブは紫外線照射下及び非照射下ともに 50%を超える阻害作用 を示さず、したがって光毒性係数は算出できなかった。また、平均光作用（MPE）は 2 回の試行でそれぞれ 0.005 及び 0.019 であり、「光毒性あり」の基準（MPE>0.15）よりも低かった。

以上の結果から、セルペルカチニブは光毒性を示さないと結論した。本試験の溶媒対照及び陽性対照の値は試験成立基準を満たしており、試験結果の信頼性が示された。

2.6.6.9　考察及び結論

セルペルカチニブのラット及びミニブタを用いた最長 91 日間までの反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験並びに光毒性試験を実施した。主な所見を以下に示す。

- ミニブタはセルペルカチニブ投与による毒性への感受性が高く、ヒトの曝露量を下回る用量で主要な毒性所見並びに瀕死状態及び死亡が生じた。
- ラットとミニブタに共通する毒性標的器官は、造血系（骨髄細胞数減少）、リンパ系（胸腺萎縮、リンパ系組織におけるリンパ球低細胞性）、舌（扁平上皮細胞の萎縮）、膵臓（腺房細胞におけるチモーゲン顆粒減少及び変性／壊死）、骨端成長板（骨端軟骨異形成）及び雄性生殖系（精細管変性並びに精巣上体の管腔内細胞残屑又は管腔内精子減少）であった。精巣の所見を除いて、ラット及びミニブタで生じた毒性は、28 日間の休薬により回復又は回復傾向が見られた。
- 上記に加え、ミニブタでは消化管の全領域（粘膜の萎縮、壊死、びらん、潰瘍及び好中球性炎症）及び卵巣（卵巣萎縮、黄体の減少又は欠如、卵胞の数及び大きさの減少並びに間質増殖）が標的器官であり、消化管病変は 91 日間試験における瀕死状態の主要な原因であった。
- ラットでは、肝臓、切歯、ブルンナー腺、膣及び肺にも変化が認められ、さらに無機リンの増加に伴い複数の組織に鉱質沈着が観察された。
- 一連の遺伝毒性試験において、細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験で陰性であったが、ラットを用いた小核試験において 150 mg/kg 以上の用量で小核の発現頻度が増加した。
- 生殖能に関連する所見として、91 日間の長期投与により雄では精巣及び精巣上体に（ラット及びミニブタ）、雌では膣などの生殖組織の変化（ラット）が認められた。

- ラット受胎能試験において、雌雄のいずれにおいても交尾率及び受胎率にセルペルカチニブの影響は見られなかったが、精子検査において精子運動性の低下及び精子形態の異常が生じた。
- セルペルカチニブはラットにおいて胚・胎児毒性（胚致死作用、子宮内発育抑制及び形態異常）を示した。
- セルペルカチニブは、BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み試験において光毒性を示さなかった。

セルペルカチニブ投与により生じた変化に関する考察を以下の項に示す。このうち、抗RET活性を有する既承認のマルチキナーゼ阻害剤（カボザンチニブ、バンデタニブ、レンバチニブ及びスニチニブなど）でも同様の所見が報告されているものについては、その点も考察に加えた。しかし、既承認のマルチキナーゼ阻害剤はRETキナーゼのみに選択的なわけではないため、セルペルカチニブの毒性所見がRET阻害作用によるものか、あるいは標的外作用を示すものかを判断することはできなかった。また、血管内皮増殖因子（VEGF）及び線維芽細胞増殖因子（FGF）シグナル伝達阻害作用に関連し公表されている毒性所見（骨端成長板肥厚、複数の組織の鉱質沈着及び歯の病変）についても考察に記載した。なお、セルペルカチニブのヒト非RETキナーゼに対する標的外作用として、IC_{50} が線維芽細胞増殖因子受容体（FGFR）1、Fms 様チロシンキナーゼ 4［FLT4；血管内皮増殖因子受容体（VEGFR）3］及び kinase insert domain receptor［KDR（VEGFR2）］でそれぞれ 248 nM、33 nM 及び 683 nM との結果が得られているものの（第 2.6.2.3.1.1 項、表 2.6.2-8）、毒性試験の動物種（ラット及びミニブタ）における RET 及び非 RET キナーゼに対する阻害活性（IC_{50} 値）は算出されていないことから、既承認のマルチキナーゼ阻害剤との毒性の比較にこれらのデータを用いた詳細な考察は困難である。

2.6.6.9.1　瀕死状態及び死亡発現について

ラット及びミニブタのいずれにおいても、瀕死状態及び死亡については急峻な用量反応曲線が認められた。また、ミニブタでは、ラットで瀕死状態が生じた曝露量と比べ約 1/6[1]の曝露量で瀕死状態が生じており、ミニブタはセルペルカチニブに対する感受性がより高いと考えられた。ミニブタに 15 mg/kg の用量（91 日間投与試験）を反復投与することにより瀕死状態となり、この時の曝露量は瀕死状態誘発の閾値を上回ったものと考えられた。一方、12 mg/kg の用量（28 日間投与試験）では瀕死状態は生じなかった。

2.6.6.9.2　造血系（ラット及びミニブタ）

骨髄細胞数減少は両動物種の病理組織学的検査で観察され、おおむね血液学的検査での変化を伴っていた。骨髄細胞数減少の変化は、ラットでは血液学的検査及び病理組織学的検査を実施したすべての反復投与毒性試験で、また、ミニブタでは 14 日間投与試験で認められた。さらに、ラット小核用量設定試験（2000 mg/kg までの用量の単回投与）における病理組織学的検査及び細胞学的検査において骨髄毒性（造血細胞減少あるいは壊死）が見られた。反復投与毒性試験にお

[1] ラット 28 日間投与試験における高用量群（Day 8 に 2 例、Day 17 に 1 例を瀕死屠殺）の $AUC_{0\text{-}24}$（Day 1）は 213000（雄）～289000（雌）ng·h/mL。ミニブタ 14 日間投与試験における 65 mg/kg 群（Day 7 に全例を瀕死屠殺）の $AUC_{0\text{-}24}$（Day 1）は 45200 ng·h/mL。

ける造血系（赤血球系及び骨髄球系細胞）の変化は、高用量でのみ毒性と判断した。骨髄の変化の重症度は用量の減量により明らかに低下した。また、休薬により回復することがラットで確認された。ラット及びミニブタともに、投与期間の延長（最長 13 週間）に伴う変化の進行は示されなかった。

RET は骨髄球系細胞にも発現する（Nakayama et al. 1999）。しかし、小核試験（300 mg/kg 以上）及びラット 14 日間投与毒性試験（高用量は雄：100 mg/kg、雌：180 mg/kg）における C_{max} はそれぞれ 34 μg/mL（65 μM）以上及び 18 μg/mL（35 μM）であり、これらの用量における骨髄毒性は、FLT4（VEGFR3）及び Aurora B に対するセルペルカチニブの活性［セルペルカチニブの FLT4（VEGFR3）及び Aurora B に対する IC_{50} はそれぞれ 11.9 及び 78.8 nM：第 2.6.2.3.1.1 項］に起因した可能性もある。これらの非 RET キナーゼの阻害と骨髄毒性との関連性が報告されている（Wilkinson et al. 2007; Lee and Kim 2014; Fabbro 2015）。なお、マルチキナーゼ阻害剤であるレンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）及びスニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）において骨髄は標的組織であることが報告されている。

2.6.6.9.3　リンパ系組織（ラット及びミニブタ）

ラットではリンパ系組織の軽度の変化が胸腺のみに認められた。14 日間及び 28 日間投与試験では胸腺重量が減少し、14 日間試験の高用量の雄にのみ病理組織学的変化（胸腺萎縮）も観察された。RET は成熟ラットの胸腺に発現するとされるが（Tahira et al. 1988; Tsuzuki et al. 1995）、セルペルカチニブ投与によりラットで見られた胸腺の変化がセルペルカチニブの直接的な作用であるか又はストレスによる二次的変化であるかは不明である。ラット 28 日間投与試験における胸腺重量の減少は、回復期間終了時には認められず、回復性が示された。ラット 91 日間投与試験において、リンパ系組織の変化は認められなかった。

ミニブタの 14 日間投与試験において、リンパ球の低細胞性が 25 mg/kg 以上の群の瀕死屠殺例で複数のリンパ系組織に観察された。これらの動物は衰弱し瀕死状態にあったことから、これが少なくとも部分的にはリンパ系組織の変化に寄与したと考えられる。28 日間投与試験では 5 mg/kg 以上の用量でリンパ節のリンパ球低細胞性が軽度に見られたが、血液学的検査では関連するリンパ球数の変化は認められなかった。回復期間終了時にはリンパ球低細胞性は見られず、回復性が示唆された。ラットと同様に、91 日間投与試験ではリンパ系組織の変化は認められなかった。

RET シグナル伝達は、リンパ系器官であるパイエル板の形成に関与することが示されているが（Veiga-Fernandes et al. 2007）、成人のリンパ系組織における RET の機能的役割は十分には検討されていない。血液及びリンパ系組織におけるヒト T 及び B リンパ球に RET の発現は認められなかったとの報告がある（Gattei et al. 1997）。なお、リンパ系器官は、レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、スニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びカボザンチニブ（FDA, NDA 208692 cabozantinib 2015）の標的として特定されている。

2.6.6.9.4　消化管（ラット及びミニブタ）

ラット及びミニブタともに、舌に扁平上皮細胞の萎縮を主徴とする軽度かつ可逆的な変化が認められた。この所見は、ラットでは28日間投与試験のみで、ミニブタでは28日間及び91日間投与試験において認められた（14日間試験では舌の病理組織学的検査は実施せず）。

ミニブタでは、舌に加え、食道から大腸までのすべての消化管に所見が見られた。前胃の変化はミニブタのすべての反復投与毒性試験で見られた。消化管における所見は舌と同様、上皮又は粘膜の萎縮を主徴とし、より重症度が高い場合には壊死、びらん、潰瘍及び好中球性炎症が観察され、91 日間試験の 15 mg/kg 群で生じた瀕死状態の主な要因であったと考えられた。14 日間試験の瀕死屠殺例では、潰瘍形成部位の細菌及び修復性変化（びらん／潰瘍周囲の上皮における分裂像の増加）も認められた。28 日間試験の高用量（12 mg/kg）における胃の所見は軽度であったことから毒性変化ではないと考えられ、休薬により回復した。91日間試験における食道及び胃における変化は毒性と考えられたが、休薬により回復傾向が見られた。

抗RET活性を有するマルチキナーゼ阻害剤を投与したイヌ及びサルにおいて、消化管病変（びらん、萎縮、炎症等）が報告されている［レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、カボザンチニブ（FDA, NDA 203756 cabozantinib 2012）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びスニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）］。最近のマウスを用いた研究では、成熟げっ歯類の消化管粘膜の様々な細胞で RET が発現し（Ibiza et al. 2016; Perea et al. 2017）、特に消化管の自然免疫細胞に高レベルで発現することが示されており（Ibiza et al. 2016）、これらの粘膜固有層リンパ系細胞又は 3 型自然リンパ球（Group 3 innate lymphoid cells：ILC3）が、腸のホメオスタシス及び宿主防御を調節している可能性が考察されている。したがって、ILC3 における RET シグナル伝達を阻害することにより、消化管の感染及び炎症が誘発される可能性がある。

2.6.6.9.5　膵臓（ラット及びミニブタ）

膵臓における腺房細胞の所見として、チモーゲン顆粒減少（ミニブタ 14 日間試験、ラット 14 日間及び28日間試験）及び変性／壊死（ラット14日間及び28日間試験）が認められた。ラットの膵腺房細胞におけるチモーゲン顆粒の減少及び単細胞壊死の増加は、食欲不振、栄養失調又はストレスといった種々の要因により生じることが知られる（Nolte et al. 2016; Wallig and Sullivan 2013）。セルペルカチニブによる膵臓の毒性変化は、ラットで見られた体重減少（28日間試験の高用量の雄：ヒトAUCの約2倍）及びミニブタで見られた瀕死状態（14日間試験の65 mg/kg群）に関連している可能性が高い。91日間試験ではラット及びミニブタともに膵臓に変化は認められなかった。なお、チモーゲン顆粒減少はレンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）及びスニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）を投与したサルにおいても報告されている。

2.6.6.9.6　生殖系（ラット及びミニブタ）

ラット及びミニブタともに、雌雄生殖器は、セルペルカチニブ投与による標的器官であった。

［雄生殖系］

反復投与試験において、雄では 91 日間投与試験のみで精巣及び精巣上体に変化が認められた。ラットでは、7.5 mg/kg以上の群で肉眼的な精巣の小型化又は軟化及び精巣重量減少が見られ、病理組織学的検査では精細管変性並びに精巣上体の管腔内細胞残屑又は管腔内精子減少が観察された。7.5 mg/kg 群の病理組織学的変化はいずれも軽微な変化が 1 例に見られたのみであり、20 mg/kg 群（ヒト AUC と同程度）で精巣所見の発現頻度及び重症度が高く、精巣上体の変化も伴っていたことを踏まえ、20 mg/kg 群において毒性であったと判断した。雄ラット受胎能試験においても、精巣に用量依存的な胚細胞枯渇及び精子細胞の残存が最低用量から認められた。ミニブタでは、全用量（2 mg/kg 以上、ヒト AUC より低い）で精巣の毒性変化が見られ、15 mg/kg 群で Day 27 に瀕死屠殺した動物に比べ 2 mg/kg を 13 週間投与した動物の精巣所見の重症度は高かった。ラット及びミニブタともに、回復試験例（休薬 28 日間）における精巣病変は、投与終了時剖検例よりおおむね重度であった。精子形成周期はラットで 56 日（Creasy 1997）、ミニブタで約 41 日（Kangawa 2016）であり、精巣毒性が生じた場合の回復期間が 6～8 週間未満では精巣胚細胞枯渇が投与終了時よりも重度になる可能性が報告されている（Creasy 1997）。

RET 遺伝子は精子形成において役割を有することが示されている。RET 遺伝子欠損マウスを用いた研究において、Ret 遺伝子が生後の精子形成に必要であり、欠損により雄性不妊が生じる可能性があることが示された（Naughton et al. 2006）。また、RET 変異遺伝子を導入し RET の細胞内シグナル伝達を喪失させた RET Y1062F ノックインマウスにおいて、生殖細胞産生低下による顕著な精巣萎縮が認められた（Jijiwa et al. 2008）。

ラット 91 日間試験で実施した精子検査（総精子数、精子濃度、精子運動能及び精子形態）では、いずれの投与群においても変化は見られなかった。一方、雄ラット受胎能試験では、高用量群の一部の動物で精子形態異常の増加及び運動性低下が認められ、精巣上体の病理組織学的検査において管腔内に細胞残渣が見られた。精子検査における変化が雄ラット受胎能試験でのみ観察された理由としては、用量が高かったこと（雄ラット受胎能試験：30 mg/kg、91 日間投与試験：20 mg/kg）、及び 1 群あたりの動物数が多かったこと（雄ラット受胎能試験：22 例、91 日間投与試験：10 例）が考えられる。なお、ミニブタでは精子検査は実施しなかった。

［雌生殖系］

反復投与試験において、雌ラットでは 91 日間試験の 25 mg/kg 以上の群で膣の変化（膣上皮の粘液分泌増加）の発現頻度増加が見られた。粘液分泌増加及び個別細胞角化（軽度の変化）により発情前期から発情期への進行遅延又は進行不能が示唆され、これらの動物では性周期ステージの判定ができなかった。対照群及び 7.5 mg/kg 群の雌は全例で、また、25 mg/kg 群でも 1 例を除く全例で正常な性周期のいずれかのステージに判定された。一方、75 mg/kg（ヒト AUC の約 2 倍）の変化は発現頻度が高かったことから毒性と判断した。膣の変化は、回復期間終了時剖検例では見られず、可逆的であることが示された。性周期に対する影響は雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験でも確認された。雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験において、75 mg/kg 群で交尾率及び受胎率に対する影響は認められなかったものの、性周期の回数が減少し、交尾成立までの日数が増加した。

ミニブタでは 14 日間試験において用量依存的な卵巣萎縮、黄体の減少又は欠如、卵胞の数及び大きさの減少並びに間質増殖が観察された。黄体の変化は最短で 7 日間投与後（14 日間試験の 65 mg/kg 群）の瀕死屠殺例で観察された。91 日間試験では黄体減少が瀕死屠殺例のみにおいて、

15 mg/kg 群の 26 日間投与後に観察された。重症度は 14 日間投与試験で見られたものより低く、28 日間の回復期間後に回復した。また、黄体嚢胞が全セルペルカチニブ群で認められ、回復期間後にも低及び中用量群で 1 例ずつ認められたものの、黄体嚢胞は通常の排卵後に生じる可能性がある所見であり、毒性変化ではないと考えられた。

マルチキナーゼ阻害剤は生殖器官を標的とすることが非臨床試験で示されている。レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、スニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びカボザンチニブ（FDA, NDA 208692 cabozantinib 2015）は、膣、卵巣又は精巣に影響を生じることが報告されている。カボザンチニブはラットにおいて雌雄の受胎能も障害した（FDA, NDA 203756 cabozantinib 2012)。バンデタニブでもラットにおいて雌受胎能障害が認められ、それに伴って性周期不規則性の傾向、妊娠率低下及び着床後胚・胎児損失率上昇が見られた。

セルペルカチニブの毒性試験で見られた生殖器官の変化がヒトの受胎能に影響を及ぼすか否かは不明であるが、上述の RET に関する公表情報及びセルペルカチニブの毒性試験結果に基づくと、男性及び女性患者において生殖能に影響が生じるリスクがある。

2.6.6.9.7　骨端成長板（ラット及びミニブタ）

ラット及びミニブタのいずれにおいても、骨端成長板の異常（骨端軟骨異形成）が誘発された。

ラットでは骨端軟骨異形成（大腿骨及び胸骨の骨端軟骨における軟骨細胞帯の肥大／過形成）が 14 日間試験（雄：30 mg/kg 以上の群、雌：180 mg/kg 群）及び 28 日間試験（雄：20 mg/kg 以上の群、雌：150/120 mg/kg 群）で観察された。骨端軟骨異形成の見られたラットに歩行異常の明らかな徴候は見られなかった。ラット 28 日間試験で毒性と判断した用量（雄 75/45 mg/kg 及び雌 150/120 mg/kg）は、ヒト AUC のそれぞれ約 2 倍及び 4 倍に相当する用量であった。骨端軟骨の変化に関連して血清中 ALP 増加が見られた（骨由来 ALP であるかは確認せず）。骨端軟骨における ALP は肥大軟骨の細胞周囲裂孔内に局在し、軟骨の鉱質沈着に役割を果たす（Väänänen 1980）。骨端軟骨異形成を有する動物に見られた血清 ALP の変化は、軟骨から骨への変換の障害を反映したものと考えられる。高用量群（75/45 mg/kg）の雄では、28 日間の回復期間終了時に骨端軟骨異形成の回復傾向が見られた。91 日間試験では骨端軟骨異形成の所見は認められなかった。91 日間試験で用いた雄の高用量（20 mg/kg）は、28 日間試験で骨端軟骨異形成が生じた用量と同じであったが、骨端軟骨に変化が生じなかった。この差の要因として、投与開始時のラットの週齢が 91 日間試験では 10～11 週齢であったのに対し、14 日間及び 28 日間試験では 6～7 週齢であったためである可能性がある。成獣ラットでは長骨の成長が著しく低下するため（Hansson et al. 1972）、ラットの齢が骨端軟骨異形成の発現に影響を及ぼす可能性がある。

ミニブタでは、骨端軟骨異形成は 91 日間試験の瀕死屠殺例（15 mg/kg 群：ヒト AUC より低い）のみに認められた。これらの瀕死屠殺例では、跛行、起立不同意、横臥位及び疼痛が認められた。病理組織学的検査において骨端軟骨異形成は大腿骨のみに見られ、その特徴は軽微から顕著な骨端軟骨肥厚であった。骨端軟骨異形成は 15 mg/kg 群の回復試験群には見られなかった。これは、休薬により回復した可能性がある一方で、投与期間中に生存例の一般状態変化もなかったため、回復期間前に骨端軟骨異形成が生じていたかは不明である。中及び低用量群では骨端軟骨異形成は認められなかった。ミニブタの 14 日間試験では骨端軟骨異形成は認められなかった。

VEGF 及び FGF シグナル伝達阻害作用による骨成長への影響については詳細に報告されており（Hall et al. 2006; Brown et al. 2005; Beebe et al. 2003; Wedge et al. 2000; Gerber et al. 1999）、肥厚帯の拡大により骨端成長板の肥厚が誘発される。これらの変化は骨端成長板の血管侵入遅延に起因すると考えられており、その結果として肥大軟骨細胞でのアポトーシスが低下する。また、骨端軟骨異形成は、スニチニブではラット及びサルで（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）、レンバチニブではラットで（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、それぞれ認められている。セルペルカチニブによる骨端軟骨異形成のヒトでの潜在的安全性リスクは不明である。成人は骨端成長板が閉鎖しているためリスクは低いと推測されるが、骨端成長板が閉じていない若齢層の患者では、骨端成長板に影響が生じるリスクがある。

2.6.6.9.8　肝臓（ラットのみ）

ラットでは、肝臓に関連する臨床検査パラメータ及び肝重量の変化が認められた。ラット 28 日間試験では ALT、AST、ALP 又はγ-グルタミルトランスフェラーゼ活性並びにコレステロール濃度の増加が中～高用量群で認められたが、いずれも変化の程度はわずかであり休薬により回復した。ラット 14 日間及び 28 日間試験では、高用量群の雄で肝重量が減少したが、休薬により完全に回復した。ラット 91 日間試験では同様の変化は見られなかった。さらに、肝臓の病理組織学的所見はいずれのラット反復投与毒性試験にも見られなかった。したがって、セルペルカチニブ投与によりラットで生じた肝臓の変化は意義が低く、毒性ではないと判断した。

2.6.6.9.9　組織鉱質沈着（ラットのみ）

ラット 14 日間及び 28 日間試験の高用量において、無機リン増加に関連して、複数の組織（腎臓、大動脈、冠状血管系、脳及び胃）に鉱質沈着が軽微～重度に認められ、このうち毒性と考えられたのは大動脈及び胃の所見であった。28 日間試験で休薬により回復傾向が見られた。91 日間試験において組織鉱質沈着は見られなかった。セルペルカチニブのラット 28 日間試験における無機リン及び組織鉱質沈着のデータを表 2.6.6-31 に示す。

組織鉱質沈着誘発のメカニズムは完全には解明されていない。しかし、リンの調節機構にはホスファトニン系が関与しており、カルシウム及びリンの代謝において線維芽細胞増殖因子（FGF）23 が役割を果たすこと（Hardcastle and Dittmer 2015）、FGFR シグナル伝達を阻害する薬剤により FGF23 経路が妨害され、動物が高リン血症を発症しやすくなることが示されている（Yanochko et al. 2013）。FGFR チロシンキナーゼ阻害剤の PD176067 は、イヌ及びラットにおいて、高リン酸血症に伴い組織鉱質沈着を誘発した（Brown et al. 2005）。さらに、正常な血中カルシウムの存在下で高リン血症を生じると、組織鉱質沈着が発現することが知られている（Block 2000）。

ラットにおける組織鉱質沈着は、他のキナーゼ阻害剤でも報告されている（Yanochko et al. 2013）。

表 2.6.6-31. セルペルカチニブ関連の無機リン増加と組織鉱質沈着の比較（ラット 28 日間投与毒性試験）

血液生化学的検査						
	対照群の平均値からの差（%）					
	雄			雌		
用量 (mg/kg)	5	20	75/45	15	50	150/120
無機リン (mg/dL)	-	+8	+22	-	+4	+19
病理組織学的検査（組織）						
	組織鉱質沈着の見られた動物の数					
	雄			雌		
用量 (mg/kg)	5	20	75/45	15	50	150/120
脳－髄膜	0	0	1	NE	NE	0
脳－脈絡叢	0	0	3	NE	NE	0
心臓－血管	0	0	5	NE	NE	0
心臓－大動脈	0	0	5	NE	NE	0
胃－腺胃	0	0	9	0	0	4

＋＝増加、-＝変化なし、NE＝検査せず

2.6.6.9.10　切歯（ラットのみ）

切歯の変化は、ラット 28 日間及び 91 日間試験並びに雄受胎能試験の高用量のみで認められた。28 日間試験では、一般状態変化（白色切歯又は不正咬合）及び病理組織学的変化として歯の異形成が象牙芽細胞上皮に見られ、象牙質及びエナメル質の不規則性を伴っていた。91 日間投与試験では不正咬合、白色切歯及び歯喪失が見られたが、病理組織学的検査で変化は見られなかった。雄受胎能試験でも切歯の一般状態所見（折れた歯、不正咬合並びに 1 例で切歯の欠損及び変色）が見られた（病理組織学的検査は実施せず）。歯の一般状態変化が最初に観察されたのは、28 日間試験では投与期間終了時付近、91 日間試験では Day 55、雄受胎能試験では Day 39 であり、28 及び 91 日間投与試験では回復期間中を通じて、また雄受胎能試験では投与期間中を通して持続した。28 日間試験における歯の病理組織学的変化は、休薬により回復傾向が見られた。歯の一般状態変化に関連して 28 及び 91 日間投与試験ともに摂餌量が低下し、28 日間試験では体重への影響も認められたことから、切歯の変化は毒性と判断した。これらの影響は、ヒト AUC と同程度以上の曝露量で観察された。

ラットは、象牙質組成の変化に対する感受性が特に高いことが知られている。ラットの切歯は生涯を通して成長し続けるため（Addison and Appleton 1915）、象牙芽細胞及びエナメル芽細胞に影響を及ぼす化学物質及び薬剤に対する感受性が高い（Fletcher et al. 2010）。

げっ歯類においては、VEGF 及び FGF は切歯の永続的成長に極めて重要であり、VEGF 及び FGF シグナル伝達阻害により歯に病変が生じることが知られる（Fletcher et al. 2010）。げっ歯類における歯の異常は、レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、スニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びカボザンチニブ（FDA, NDA 208692 cabozantinib 2015）においても報告されている。

セルペルカチニブ投与による歯の変化は、特有の生理を有するラットの切歯で生じた所見であり、ミニブタでは同様の歯の異常は生じていないことから、ヒトでラットと同様の影響が歯に生じる可能性は低いと考える。

2.6.6.9.11　ブルンナー腺（ラットのみ）

ラット28日間投与試験において、軽微かつ可逆的なブルンナー腺拡張が、20 mg/kg群の雄（ヒト AUC と同程度の曝露量）で見られた。この所見は長期投与（91 日間試験）では再現されなかった。ブルンナー腺への影響は、マルチキナーゼ阻害剤レンバチニブで変性性及び壊死性の病変が報告されているが（Inomata et al. 2014）、セルペルカチニブで見られた変化はこれよりもはるかに軽度であり毒性ではないと判断しており、ヒトにおいて問題となる可能性は低いと考える。

2.6.6.9.12　肺（ラットのみ）

肺胞マクロファージ浸潤が、ラット 28 日間及び 91 日間投与試験のいずれにおいても観察された。この所見は対照群及び低用量群でも認められており、高用量群ではこれより頻度は高いものの軽度かつ可逆的であり、さらに無処置高齢ラットの背景所見として一般に認められる所見である（Renne et al. 2009）。したがって本所見は毒性ではないと判断しており、この所見がヒトにおいて問題となる可能性は低いと考える。

2.6.6.9.13　遺伝毒性

細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験において、セルペルカチニブに遺伝毒性は認められなかったが、ラット小核試験では 150 mg/kg（ヒト C_{max} の約 5 倍、表 2.6.6-32 参照）以上の用量で小核の発現頻度が用量依存的に増加し、300 mg/kg（ヒト C_{max} の約 8 倍）以上の用量で統計学的に有意であった。キナーゼ阻害剤は遺伝毒性を有する可能性があることが報告されている（Fabbro 2015; Olaharski et al. 2009）。いくつかのキナーゼ阻害剤では、in vitro 遺伝毒性試験（in vitro 小核試験を含む）で陰性であるものの、in vivo で骨髄において小核を有する多染性赤血球の発現頻度を増加させるが（Tweats et al. 2007）、これは薬剤により生じた重度の骨髄毒性（Olaharski et al. 2010）に関連する可能性がある。セルペルカチニブのラット小核試験では、骨髄毒性が生じた高用量（300 mg/kg 以上の群）において小核発現頻度が統計学的に有意に増加した。一方、150 mg/kg の用量では骨髄に軽微な変化が見られたが、小核発現頻度の統計学的に有意な増加は認められなかった。小核発現頻度の増加はヒトと比較し十分高い曝露量で生じたことから、推奨臨床用量を投与されたヒトにおいてセルペルカチニブが遺伝毒性を生じる可能性は低いと考える。

2.6.6.9.14　胚・胎児発生

セルペルカチニブの胚・胎児発生に対する毒性（胚致死作用を含む）が複数の試験で示された。

ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験において、セルペルカチニブによる母動物毒性（一般状態の変化及び体重減少）が 200 mg/kg 群で認められ、母動物毒性に関する NOAEL は 100 mg/kg であった。100 及び 200 mg/kg 群の全例及び 50 mg/kg 群の 8 例中 6 例で全胚吸収（早期胚吸収率が 100%）が認められ、50 mg/kg 群の残り 2 例もほとんどが早期胚吸収であった。生存胎児は 50 mg/kg 群で得られた 3 例のみであり、胎児体重の減少が見られた。また、50 mg/kg 群の胎児3例中2例（同腹児）で短尾が、他の腹の1例で鼻小型化及び局所的胎児浮腫が観察された。これらの子宮内発育及び生存並びに胎児形態の変化は、セルペルカチニブ投与による毒性と考え

られ、最低用量の 50 mg/kg（ヒト AUC と同程度）で見られたことから胚・胎児発生に関する NOAEL は設定できなかった。雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験においても、75 mg/kg 群で全胚死亡を呈した母動物数の増加、生存胚を有する母動物数の減少及び死亡胚数の増加が見られ、雌の一般毒性及び受胎能並びに初期胚発生に関する NOAEL はいずれも中間用量の 25 mg/kg（ヒト AUC より低い）であった。

RET キナーゼ阻害作用に関連して、ラット及びウサギにおける胚致死増加、成長遅滞、腎臓及び尿管の無発生を特徴とする泌尿生殖系の異常並びに心血管系異常といった発生毒性が報告されている（Clemens et al. 2009）。また、レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びカボザンチニブ（FDA, NDA 203756 cabozantinib 2012）にも胚毒性／胚致死性が認められている。さらに、*c-ret* 遺伝子は、種々の神経細胞系統の増殖、遊走、分化又は生存並びに腎臓の器官形成時における誘導的相互作用に関与する因子の受容体をコードしている可能性があることが報告されており（Pachnis et al. 1993）、*c-ret* 変異をホモ接合で有するマウスは、妊娠末期まで発生するが腎無形成又は重度の発育不全を示し、出生直後に死亡する（Schuchardt et al. 1994）。

2.6.6.9.15　代謝物の毒性

[^{14}C]セルペルカチニブの単回経口投与を受けたヒトにおける主要循環血中放射性成分は未変化体であり、セルペルカチニブの代謝物はいずれも血漿中総薬物関連物質の曝露量の 10%以下であった。この結果に基づき、毒性試験における代謝物の血漿中濃度の定量は実施せず、また、代謝物についての毒性試験も実施しなかった。

2.6.6.9.16　結論

動物及びヒトにおける全身曝露量の比較

動物及びヒトにおける全身曝露量（AUC_{0-24}、C_{max}）の比較を表 2.6.6-32 に示す。セルペルカチニブを患者に 160 mg BID（198 mg/m^2/日）の用量で投与したときの定常状態における血漿中 C_{max} 及び AUC を用いて、曝露倍数を算出した。

表 2.6.6-32. セルペルカチニブを成獣ラット、妊娠ラット、ミニブタ及びヒトに経口投与したときのセルペルカチニブへの全身曝露量の比較

動物種	セルペルカチニブ (mg/kg)	血漿中曝露量			
		C_{max}[a] (ng/mL)	C_{max} 曝露量比 [a, b]	AUC_{0-24}[a] (ng·h/mL)	AUC 曝露量比 [a, c]
ラット 28 日間投与毒性試験（報告書 LOXO-292-TOX-001）					
雄	20（無毒性量）	4450	1	50800	0.7
雌	50（無毒性量）	8380	2	39100	0.5
雄	45（STD 10）	11700	3	151000	2
雌	120（STD 10）	19100	5	260000	4
ラット 91 日間投与毒性試験（報告書 LOXO-292-TOX-011）					
雄	7.5（無毒性量）	1490	0.4	18500	0.2
雌	25（無毒性量）	10700	3	50400	0.7
雄	20（HNSTD）	6780	2	80400	1
雌	75（HNSTD）	15700	4	149000	2
ミニブタ 28 日間投与毒性試験（報告書 LOXO-292-TOX-002）					
雌雄	12（無毒性量）	1120	0.3	23200	0.3
ミニブタ 91 日間投与毒性試験（報告書 LOXO-292-TOX-012）					
雄	5（HNSTD）	712	0.2	13200	0.2
雌	5（無毒性量）	565	0.1	11900	0.2
ラットーIn vivo 小核試験（報告書 LOXO-292-TOX-021）					
雄	37.5（陰性）	9210	2	112000	2
	75（陰性）	15200	4	245000	3
	150（陰性*）	21000	5	481000	6
	300（陽性）	34000	8	1080000	15
	500（陽性）	34300	8	1190000	16
ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（報告書 LOXO-292-TOX-025、LOXO-292-TOX-023）					
雄ラット	3（雄受胎能に関する最小毒性量）	846	0.2	12100	0.2
雌ラット	25（雌受胎能及び初期胚発生に関する無毒性量）	4060	1	16300	0.2
ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験（報告書 LOXO-292-TOX-009）					
妊娠ラット	50（胚・胎児発生に関する最小毒性量）	9580	2	75800	1
ヒト（報告書 LOXO-RET-17001）					
ヒト	160 mg BID	4060[d]	N/A	74200[d]	N/A

[a] AUC_{0-24} 及び C_{max} は平均総血漿中濃度を示す。

[b] C_{max} 曝露量比は、反復投与後の $C_{max,animal}/C_{max,human}$ として算出した。

[c] AUC 曝露量比は、反復投与後の $AUC_{0-24,animal}/AUC_{0-24,human}$ として算出した。

[d] $C_{max,human}$ 及び $AUC_{0-24,human}$ は、日本人患者（58 例）に 160 mg BID の用量で投与した臨床試験 LOXO-RET-17001 からの定常状態値（8 日目）であった（来院カットオフ：2020 年 3 月 30 日）。

N/A = 該当せず、STD 10 = 10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量、HNSTD = 重篤な毒性が発現しない最大投与量

* 報告書では陰性としていたが、[redacted]、用量依存的な小核発現頻度の増加を考慮し最終的に陽性と判断した。

臨床試験（n=746）で比較的よく（10%以上）見られた治験薬との因果関係を否定できない TEAE（treatment-emergent adverse event、基本語）は、口内乾燥、ALT 増加、AST 増加、高血圧、下痢、疲労、末梢性浮腫、心電図 QT 延長、便秘、血中クレアチニン増加、発疹、血小板減少症及び悪心であった（第 2.7.4.2.1.1 項）。これらの一部は、毒性試験において見られた所見と類似していた。

ラット及びミニブタにおいて雌雄の生殖器官に変化が見られ、ヒトの受胎能に影響が生じる可能性があることから、市販に際して適切に注意喚起する予定である。セルペルカチニブはラットにおいて胚・胎児毒性を示したことから、患者には潜在的リスクを説明するとともに、適切な避妊の指導をするよう添付文書に記載予定である。ラット及びミニブタともに骨端軟骨異形成が見られ、骨端成長板が閉じていない若齢層の患者では骨端成長板に影響が生じるリスクがあることから、この毒性所見について添付文書に記載する予定である。

以上の一連の毒性試験における毒性試験結果を踏まえ、予定される適応症の患者へのセルペルカチニブの臨床推奨用量での投与は可能と考える。

2.6.6.10 参考文献

Addison WHF, Appleton JL. The Structure and Growth of the Incisor Teeth of the Albino Rat. *J. Morphol*. 1915;26(1):43-96.

Beebe JS, Jani JP, Kanuth E, Goodwin P, Higdon C, Rossi AM, et al. Pharmacological Characterization of CP-547,632, a Novel Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Tyrosine Kinase Inhibitor for Cancer Therapy. *Cancer Research*. 2003;63:7301-9.

Block GA. Prevalence and Clinical Consequences of Elevated Ca X P Product in Hemodialysis Patients. *Clin Nephrol*. 2000;54:318-24.

Brown AP, Courtney CL, King LM, Groom SC, Graziano MJ. Cartilage Dysplasia and Tissue Mineralization in the Rat Following Administration of a FGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitory. *Toxicol Pathol.* 2005;33:449-455.

Clemens GR, Schroeder RE, Magness SH, Weaver EV, Lech JW, Taylor VC, et al. Developmental Toxicity Associated with Receptor Tyrosine Kinase Ret Inhibition in Reproductive Toxicity Testing. *Birth Defects Research (Part A)*. 2009;85:130-6.

Creasy D. Evaluation of testicular toxicity in safety evaluation studies: the appropriate use of spermatogenic staging. *Toxicol Pathol.* 1997;25(2):119-31.

Dixon D, Alison R, Bach U. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse female reproductive system. *Toxicol Pathol*. 2014;27(3-4 Suppl):1S-107S.

Fabbro D. 25 Years of Small Molecular Weight Kinase Inhibitors: Potentials and Limitations. *Mol. Pharm*. 2015;87:766-75.

Fletcher AM, Bregman CL, Woicke J, Salcedo TW, Zidell RH, Janke HE, et al. Incisor Degeneration in Rats Induced by Vascular Endothelial Growth Factor/Fibroblast Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibition. *Toxicol Pathol*. 2010:38;267-79.

Gattei V, Celetti A, Cerrato A, Degan M, De luliis A, Rossi FM, et al. Expression of the *RET* Receptor Tyrosine Kinase and GDNFR- α in Normal and Leukemic Human Hematopoietic Cells and Stromal Cells of the Bone Marrow Microenvironment. *Blood*. 1997;89(8):2925-37.

Gerber H-P, Vu TH, Ryan AM, Kowalki J, Web Z, Ferrara N. VEGF Couples Hypertrophic Cartilage Remodeling, Ossification and Angiogenesis during Endochondral Bone Formation. *Nature Medicine*. 1999;5(6):623-8.

Hall AP, Westwood FR, Wadsworth PF. Review of the effects of anti-angiogenic compounds on the epiphyseal growth plate. *Toxicol Pathol*. 2006;34:131-47.

Hansson LI, Menander-Sellman K, Stenstrom A, Throngren K-G. Rate of Normal Longitudinal Bone Growth in the Rat. *Calc. Tiss. Res.* 1972;10:238-51.

Hardcastle MR, Dittmer KE. Review. Fibroblast Growth Factor 23: A New Dimension to Diseases of Calcium-Phosphorus Metabolism. *Vet Pathol*. 2015;52:770-84.

Ibiza S, Garcia-Cassani B, Ribeiro H, Carvalho T, Almeida L, Marques R, et al. Glial-Cell-Derived Neuroregulators Control Type 3 Innate Lymphoid Cells and Gut Defence. *Nature*. 2016;535(7612):440-3.

Inomata A, Nakano-Ito K, Fukikaw Y, Sonoda J, Hayakaw K, Ohta E, et al. Brunner's Gland Lesions in Rats Induced by a Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Inhibitor. *Tox Path*. 2014;42:1267-74.

Jijiwa M, Kawai K, Fukihara J, Nakamura A, Hasegawa M, Suzuki C, et al. GDNF-mediated signalling via RET tyrosine 1062 is essential for maintenance of spermatogonial stem cells. *Genes to Cells*. 2008;13:365-74.

Kangawa A, Otake M, Enya S, Yoshida T, Kangawa Y, Shibata M. Spermatogenesis in the Microminipig. *Toxicol Pathol*. 2016;44(7):974-86.

Kim NN, Parker RM, Weinbauer GF, Remick AK, Steinbach T. Points to consider in designing and conducting juvenile toxicology studies. *Int J Toxicol*. 2017;36(4):325-39.

Lee IY, Kim HJ. (Lymph) angiogenic Influences on Hematopoietic Cells in Acute Myeloid Leukemia. *Experimental & Molecular Medicine*. 2014;46:1-10.

Nakayama S, Iida K-I, Tsuzuki T, Iwashita T, Murakami H, Asai N. Implication of Expression of GDNF/Ret Signalling Components in Differentiation of Bone Marrow Haemopoietic Cells. *British journal of Haematology*. 1999;105:50-7.

Naughton CK, Jain S, Strickland AM, Gupta A, Milbrandt J. Glial Cell-Line Derived Neurotrophic Factor-Mediated RET Signaling Regulates Spermatogonial Stem Cell Fate. *Biology of Reproduction*. 2006;74:314-20.

NDA 021968 sunitinib (2006)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2006/021938_S000_Sutent_PharmR.pdf

NDA 206947 lenvatinib (2014)

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/206947Orig1s000PharmR.pdf
NDA 203756 cabozantinib (2012)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2012/203756Orig1s000PharmR.pdf#search='cobazontinib+FDA+Pharmacology'
NDA 208692 cabozantinib (2015)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2016/208692Orig1s000PharmR.pdf
NDA 22405 vandetanib (2011)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/022405Orig1s000PharmR.pdf
Nolte T, Brander-Weber P, Dangler C, Deschl U, Elwell M, Greaves P, et al. Non-proliferative and Proliferative Lesions of the Gastrointestinal Tract, Pancreas and Salivary Glands of the Rat and Mouse. *Toxicol Pathol*. 2016;29 (1 Suppl):1S-124S.
Olaharski A, Gonzaludo N, Bitter H, Goldstein D, Kirchner S, Uppal H, et al. Identification of a kinase profile that predicts chromosome damage induced by small molecule kinase inhibitors. *Computational Biol.* 2009;5(7):1-10.
Olaharski A, Bitter H, Gonzaludo N, Kondru R, Goldstein M, Zabka T, et al. Modeling bone marrow toxicity using kinase structural motifs and the inhibition profiles of small molecular kinase inhibitors. *Toxicol. Sci*. 2010;118(1):266-75.
Pachnis V, Mankoo BS, Costantini F. Expression of the c-ret proto-oncogene during mouse embryogenesis. *Development.* 1993;119:1005-17.
Patyna S, Arrigoni C, Terron A, Kim T, Heward JK, Vonderfecht SL, et al. Nonclinical Safety Evaluation of Sunitinib: A potent Inhibitor of VEGF, PDGGF, KIT, FLT3 and RET Receptors. *Toxicol Pathol.* 2008;36:905-16.
Perea D, Guiu J, Hudry B, Konstantinidou C, Milona A, Hadjieconomou D, et al. Ret Receptor Tyrosine Kinase Sustains Proliferation and Tissue Maturation in Intestinal Epithelia. *The EMBO Journal*. 2017;36:3029-45.
Renne R, Brix A, Harkema J. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse male reproductive system. *Toxicol Pathol*. 2009;37:5S-73S.
Schuchardt A, D'Agati V, Larsson-Blombert L, Constantini F, Pachnis V. Defects in the kidney and enteric nervous system of mice lacking the tyrosine kinase receptor Ret. *Nature.* 1994;367:380-3.
Tahira T, Ishizaka Y, Sugimura T, Nagao M. Expression of proto-ret mRNA in embryonic and adult rat tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1988;153(3):1290-5.
Tsuzuki T, Takahashi M, Asai N, Iwashita T, Matsuyama M, Asai J. Spatial and temporal expression of the ret proto-oncogene product in embryonic, infant and adult rat tissues. *Oncogene*. 1995;10(1):191-198.
Tweats D, Blakely D, Heflich R, Jacobs A, Jacobsen S, Morita T, et al. Report of the IWGT working group on strategies and interpretation of regulatory *in vivo* tests II. Identification of *in vivo*-only positive compounds in the bone marrow micronucleus test. *Mutat. Res*. 2007;627:92-105.
Väänänen HK. Immunohistochemical Localization of Alkaline Phosphatase in the Chicken Epiphyseal Growth Cartilage. *Histochemistry.* 1980;65:143-8.
Veiga-Fernandes H, Coles MC, Foste KE, Patel A, Williams A, Natarjan D, et al. Tyrosine Kinase Receptor RET is a Key Regulator of Peyer's Patch Organogenesis. *Nature Letters*. 2007;446:547-551.
Wallig MA, Sullivan JM. Exocrine pancreas. In: Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. 3rd ed. Amsterdam: Academic Press; 2013:p2361-91.
Wedge SF, Ogilvie DJ, Dukes M, Kendre J, Curwen JO, Huin LJ, et al. ZD4190: An Orally Active Inhibitor of Vascular Endothelial Growth Factor Signaling with Broad-Spectrum Antitumor Efficacy. *Cancer Research*. 2000;60:970-5.
Westwood FR. The female rat reproductive cycle: A practical histological guide to staging. *Toxicol Pathol*. 2008;36:375-84.
Wilkinson RW, Odedra R, Heaton SP, Wedge SR, Keen NJ, Crafter C, et al. AZD1152, a Selective Inhibitor of Aurora B Kinase, Inibits Human Tumor Xenograft Growth by Inducing Apoptosis. *Clin Cancer Res*. 2007;13(12):3682-8.
Yanochko GM, Vitsky A, Heyen JR, Hirakawa B, Lam JL, May F, et al. Pan-FGFR Inhibition Leads to Blockade of FGF23 Signaling, Soft Tissue Mineralization, and Cardiovascular Dysfunction. *Tox. Sci*. 2013;135(2):451-64.

レットヴィモカプセル 40mg
レットヴィモカプセル 80mg

2.6.7　毒性試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary 1
2.6.7.1 Toxicology: Overview 1
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies 5
2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data 6
2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance 8
2.6.7.5 Single-Dose Toxicity (Not Applicable) 10
2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity (Nonpivotal Studies) 11
2.6.7.6.1 4-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Nonpivotal Studies) 11
2.6.7.6.2 14-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Nonpivotal Studies) 12
2.6.7.6.3 14-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipig (Nonpivotal Studies) 14
2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity (Pivotal Studies) 17
2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) 17
2.6.7.7.2 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) 28
2.6.7.7.3 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies) 36
2.6.7.7.4 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies) 39
2.6.7.8 Genotoxicity: In Vitro 45
2.6.7.8.1 Bacterial Reverse Mutation Assay (Screening assay) 45
2.6.7.8.2 Bacterial Reverse Mutation Assay 46
2.6.7.8.3 In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL) 48
2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo 50
2.6.7.9.1 Micronucleus Dose Range Finder Assay in Rats (1st study) 50
2.6.7.9.2 Micronucleus Dose Range Finder Assay in Rats (2nd study) 51
2.6.7.9.3 Micronucleus Assay in Rats 52
2.6.7.10 Carcinogenicity (Not applicable) 54
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies (Not applicable) 54
2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Effect on Fertility and Early Embryonic Development (Pivotal) 55
2.6.7.12.1 Male Fertility in Rats 55
2.6.7.12.2 Female Fertility and Early Embryonic Development in Rats 59
2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity: Effect on Embryofetal Development (Pivotal) 61
2.6.7.13.1 Embryofetal Development in Rats 61
2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Not applicable) 64
2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals (Not applicable) 64
2.6.7.16 Local Tolerance (Not applicable) 64
2.6.7.17 Other Toxicity Studies 65
2.6.7.17.1 Impurities: In Vitro: Bacterial Mutation 65
2.6.7.17.2 Molar Extinction Coefficient Determination 66
2.6.7.17.3 In Vitro Phototoxicity Assay 67

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test Article: Selpercatinib

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[1]	GLP[2]	Testing Facility	Study Number Location in CTD
Repeated-Dose Toxicity						
Rat/ Sprague Dawley (SD)	Oral gavage	4 days	10, 30, and 100 for males 30, 100, and 300 for females	No	[redacted] USA	LOXO-RET-TOX-006[3] 4.2.3.2.1
Rat/ SD	Oral gavage	14 days	10, 30 and 100 for males 20, 60 and 180 for females	No	[redacted] USA	LOXO-RET-TOX-007 4.2.3.2.2
Rat/ SD	Oral gavage	28 days	5, 20 and 75[4]/**45**[5] for males 15, 50 and 150[6]/**120**[7] for females	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-001 4.2.3.2.3
Rat/ SD	Oral gavage	91 days	2, 7.5 and *20* for males 7.5, 25, and *75* for females	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-011 4.2.3.2.4
Minipig/ Göttingen	Oral gavage	14 days	5, 25 and 65	No	[redacted] USA	LOXO-RET-TOX-008 4.2.3.2.5
Minipig/ Göttingen	Oral gavage	28 days	2, 5 and 12	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-002 4.2.3.2.6
Minipig/ Göttingen	Oral gavage	91 days	2, 5[8] and 15[9]	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-012 4.2.3.2.7

(Continued)

2.6.7.1 Toxicology: Overview (Contd)

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[1]	GLP[2]	Testing Facility	Study Number Location in CTD
Genotoxicity						
Bacterial reverse mutation assay –*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100)	In vitro	N/A	Mutagenicity Assay: 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500 and 5000 µg per plate (+S9) 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500 and 5000 µg per plate (-S9)	No	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-005 4.2.3.3.1.1
Bacterial reverse mutation assay –*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) and *Escherichia coli* (WP2 *uvr*A)	In vitro	N/A	Mutagenicity Assay: 33.3, 100, 333, 1000, 3333, and 5000 µg per plate (-S9) 33.3, 100, 333, 1000, 3333, and 5000 µg per plate (TA1535, TA1537, WP2 *uvrA*); 33.3, 100, 333, 500, 750, 1000, 2000, 3333, and 5000 (TA98 and TA100) (+S9)	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-006 4.2.3.3.1.2
In vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Human Lymphocytes	In vitro	N/A	Micronucleus Assay: +S9 - 4 hour treatment time: 5, 15, 50, 150 and 500 µg/mL -S9 - 4 hour treatment time: 5, 15, 50, and 150 µg/mL -S9 - 24 hour treatment time: 1.25, 2.5, 5, 7, 9, 11, 13, and 15 µg/mL	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-007 4.2.3.3.1.3
In vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Dose Range Finding Assay – Rats/ SD	Oral gavage	1 day	250, 500, 1000, and 2000[10]	No	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-013 4.2.3.3.2.1
In vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Dose Range Finding Assay – Rats/ SD	Oral gavage	1 day	500, 1000, and 2000	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-018 4.2.3.3.2.2
In vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Assay –Rats/ SD	Oral gavage	1 day	37.5, 75, 150, 300 and 500	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-021 4.2.3.3.2.3

(Continued)

2.6.7.1 Toxicology: Overview (Contd)

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)[1]	GLP[2]	Testing Facility	Study Number Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity						
Male fertility study –Rats/ SD	Oral gavage	28 days prior to mating, through mating, and up to day prior to termination	3[11], 10, and 30	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-025 4.2.3.5.1.1
Female fertility and early embryonic development study –Rats/ SD	Oral gavage	15 days prior to mating, through mating, and up to including GD 7	7.5, 25[12], and 75	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-023 4.2.3.5.1.2
Embryo-fetal development dose range finding study – Rats/ SD	Oral gavage	GD 6-17	50, 100[13], and 200	No	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-009 4.2.3.5.2.1
Other Toxicity Studies						
Impurity study (bacterial reverse mutation assay)	In vitro	N/A	1.5 ~ 5000 µg per plate	Yes	[redacted] USA	AF82KD.502E.BTL 4.2.3.7.7.1
Molar extinction coefficient determination	In vitro	N/A	Approximately 0.014 mg/mL	No	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-003 4.2.3.7.7.3
Phototoxicity	In vitro	N/A	0.18, 0.32, 0.56, 1.00, 1.78, 3.16, 5.62 and 10 µg/mL	Yes	[redacted] USA	LOXO-292-TOX-004 4.2.3.7.7.2

(Continued)

2.6.7.1 Toxicology: Overview (Contd)

[1] Unless otherwise specified. For Repeated-Dose Toxicity, the highest No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) is underlined and the Severely Toxic Dose in 10% of animals (STD 10) is in bold, Highest Non-Severely Toxic Dose (HNSTD) is in italics.

[2] Indicates study includes a GLP Compliance statement

[3] No NOAEL established as dose range finding study for 14-day repeat-dose study (LOXO-RET-TOX-007)

[4] Applicable from Day 1 through Day 10 of the dosing phase (males in this group were not dosed [dosing holiday] on Days 8, 9, or 10).

[5] Applicable beginning on Day 11 of the dosing phase.

[6] Applicable from Day 1 through Day 15 of the dosing phase.

[7] Applicable beginning on Day 16 of the dosing phase. On Day 16, animals were dosed at a volume of 8 mL/kg to achieve the dose level of 120 mg/kg/day; dosing at a volume of 10 mL/kg resumed on Day 17 with the 12 mg/mL formulation (females in this group were not dosed [dosing holiday] on Days 18, 19, or 20).

[8] NOAEL for females and HNSTD for males

[9] Due to clinical observations, moribund animals were sacrificed on Day 26 (females) or 27 (males) of the dosing phase and remaining animals in this group admitted to 4 weeks of recovery.

[10] A dose of 2000 mg/kg was determined to be the MTD

[11] LOAEL for microscopic effects on male reproductive tissues

[12] NOAEL for maternal and developmental toxicity

[13] NOAEL for maternal toxicity

GLP = Good Laboratory Practices; N/A = not applicable; SD = Sprague Dawley; MTD = Maximum Tolerated Dose; GD = Gestation Day

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Test Article: Selpercatinib

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP[1]	Study Number
Repeated-dose rat toxicity (4 days)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	10, 30 and 100 (males) 30, 100 and 300 (females)	No	LOXO-RET-TOX-006
Repeated-dose rat toxicity (14 days)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	10, 30 and 100 (males) 20, 60 and 180 (females)	No	LOXO-RET-TOX-007
Repeated-dose rat toxicity (28 days)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	5, 20 and 75/45 (males) 15, 50 and 150/120 (females)	Yes	LOXO-292-TOX-001
Repeated-dose rat toxicity (91days)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	2, 7.5 and 20 (males) 7.5, 25 and 75 (females)	Yes	LOXO-292-TOX-011
Male Fertility study	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	3, 10 and 30	Yes	LOXO-292-TOX-025
Female Fertility and early embryonic development study	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	7.5, 25 and 75	Yes	LOXO-292-TOX-023
Embryo-fetal development (GD6-GD17)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	50, 100 and 200	No	LOXO-292-TOX-009
Repeated-dose minipig toxicity (14 days)	Minipig/ Göttingen	Oral gavage	5, 25 and 65	No	LOXO-RET-TOX-008
Repeated-dose minipig toxicity (28 days)	Minipig/ Göttingen	Oral gavage	2, 5 and 12	Yes	LOXO-292-TOX-002
Repeated-dose minipig toxicity (91 days)	Minipig/ Göttingen	Oral gavage	2, 5 and 15	Yes	LOXO-292-TOX-012

[1] Indicates study includes a GLP Compliance statement

GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practices

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data

Test Article: Selpercatinib

	Steady State AUC_{0-t} (ng·h/mL)			
Species	Rat	Rat	Minipig	Minipig
Method of Administration	Oral	Oral	Oral	Oral
Gender (M/F)	M	F	M	F
Dose (mg/kg/day)				
2	6030[e]	-	4500[h], 4710[i]	5860[h], 3690[i]
3	12100[c]	-	-	-
5	14900[d]	-	7740[g], 9530[h], 13200[i]	11400[g], 11500[h], 11900[i]
7.5	18500[e]	3040[e], 3470 (GD7)[f]	-	-
10	26200[a], 32400[b], 45700[c]	-	-	-
12	-	-	17000[h]	29300[h]
15	-	9480[d]	-	-
20	50800[d], 80400[e]	12200[b]	-	-
25	-	50400[e], 16300 (GD7)[f]	28600[g]	47500[g]
30	122000[a], 122000[b],117000[c]	28500[a]	-	-
45	151000[d]	-	-	-
50	-	39100[d], 75800 (GD17)[j]	-	-
60	-	43800[b]	-	-
75	-	149000[e]，58900(GD7)[f]	-	-
100	272000[a], 361000[b]	179000[a], 185000 (GD17)[j]	-	-
120	-	260000[d]	-	-
180	-	257000[b]	-	-
200	-	241000 (GD17)[j]	-	-
300	-	791000[a]	-	-

(Continued)

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data (Contd)

[a] LOXO-RET-TOX-006 (rat, DRF; n=4/sex/time point)
[b] LOXO-RET-TOX-007 (rat, 14-day; n=3/sex/time point)
[c] LOXO-292-TOX-025 (rat, male fertility, n=6/time point)
[d] LOXO-292-TOX-001 (rat, 28-day; n=3/sex/time point
[e] LOXO-292-TOX-011 (rat, 91-day; n=3/sex/time point)
[f] LOXO-292-TOX-023 (rat, female fertility and early embryonic development, n=6/time point)
[g] LOXO-RET-TOX-008 (minipig, 14-day; n=3/sex)
[h] LOXO-292-TOX-002 (minipig, 28-day; n=6/sex)
[i] LOXO-292-TOX-012 (minipig, 91-day; n=6/sex)
[j] LOXO-292-TOX-009 (rat, EFD; n=4 /time point)

AUC_{0-t} = area under the curve from time 0 to the last measurable concentration; M = male; F = female; GD = gestation day; EFD = embryo-fetal development; DRF = dose-range finding

2.6.7.4　Toxicology: Drug Substance

Test Article: Selpercatinib

Batch No.	Purity (%)	Impurities						Study Number	Type of Study[1]
		*不純物A	*不純物B	*不純物C	*不純物D	*不純物E	*不純物F		
Selpercatinib Lot [redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	LOXO-292-TOX-001	28-day study with 28-recovery in SD rat
								LOXO-292-TOX-002	28-day study with 28-recovery in Göttingen minipig
								LOXO-292-TOX-004	In vitro phototoxicity study
								LOXO-292-SPHARM-003	In vitro hERG assay
								LOXO-292-SPHARM-002	In vivo cardiovascular study in telemetry-instrumented conscious Göttingen minipig
								LOXO-292-SPHARM-004	In vivo respiratory function study in SD rat

(Continued)

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance (Contd)

Batch No.	Purity (%)	Impurities						Study Number	Type of Study[1]
		*不純物A	*不純物B	*不純物C	*不純物D	*不純物E	*不純物F		
Selpercatinib Lot [redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]	[redacted]	[redacted]	LOXO-292-TOX-011	91-day study with 28-recovery in SD rat
								LOXO-292-TOX-012	91-day study with 28-recovery in Göttingen minipig
								LOXO-292-TOX-021	In vivo micronucleus assay
								LOXO-292-TOX-023	Female Fertility and early embryonic development study
								LOXO-292-TOX-025	Male Fertility study
Selpercatinib [redacted]	[redacted]%	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	LOXO-292-TOX-006	In vitro bacterial reverse mutation assay
								LOXO-292-TOX-007	In vitro micronucleus assay with HPBL
								LOXO-292-TOX-018	In vivo dose range finding micronucleus assay

[1] All studies listed were conducted under GLPs.

GLP = Good Laboratory Practice; SD = Sprague-Dawley; hERG = human ether-à-go-go-related gene; [redacted]; [redacted]; HPBL = human peripheral blood lymphocytes

2.6.7.5　Single-Dose Toxicity (Not Applicable)

2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity (Nonpivotal Studies)

2.6.7.6.1 4-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Nonpivotal Studies)

Test Article: Selpercatinib

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number Location in CTD
Rat/ SD	Oral Gavage (1% carboxymethyl-cellulose, 0.02% sodium dodecyl sulfate (aq) in deionized water)	4 days	Males: 10, 30, and 100 Females: 30, 100 and 300	M4/F4	N/A	**Clinical Observations:** Thinness, hunched posture and erected fur in females at 300 mg/kg/day only from approximately Day 4 through recovery (Day 9). **Body Weight:** Males at 100 mg/kg/day (61% less than controls) had decreased body weight gain from Day 4 through 7. Females at 300 mg/kg/day had body weight loss from Days 4 to 7. **Food Consumption:** Decrease in females given 300 mg/kg/day from Days 2 to 8 (78%, less than controls on Day 4). Decrease in males given 100 mg/kg/day between Days 2 to 6 (range of 9 to 25% less than controls)	LOXO-RET-TOX-006 4.2.3.2.1

N/A: No NOAEL established as dose range finding study for 14-day repeat-dose study (LOXO-RET-TOX-007)

SD = Sprague Dawley; M = male; F = female.

2.6.7.6.2 14-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Nonpivotal Studies)

Test Article: Selpercatinib

Report Title: A 14-Day Dose Range Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of AR00494192 in Sprague-Dawley Rats					**Study No.** LOXO-RET-TOX-007	
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle / Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Dose (mg/kg/day)**	**Gender and No. per Group**	**No Observed Adverse Effect Level**	**Study Number Location in CTD**
Rat/ SD	Oral Gavage (1% carboxymethyl-cellulose, 0.02% sodium dodecyl sulfate (aq) in deionized water)	14 days	Males: 10, 30 and 100 Females: 20, 60 and 180	M5/F5	Males: 10 mg/kg/day Females: 20 mg/kg/day	LOXO-RET-TOX-007 4.2.3.2.2

Noteworthy Findings

Clinical Observations: Thinness, ungroomed fur, and piloerections in males at 100 mg/kg/day.
Body Weight: Decrease in body weight gain in males at 100 mg/kg/day up to Day 11 (67% less than controls on Day 11). Bodyweight loss from Days 11-14 in males given 100 mg/kg/day.
Hematology (Day 15): Dose-dependent mild to moderate decrease in reticulocytes in males and females at ≥10 mg/kg/day and ≥20 mg/kg/day, respectively.
Minimal increase in red blood cell mass indices (hemoglobin, red blood cell count and hematocrit) in males at 100 mg/kg/day and in one male at 30 mg/kg/day. A non-dose dependent minimal to mild increase in neutrophils and monocytes in males at ≥10 mg/kg/day and mildly decreased lymphocytes in males and females at 100 mg/kg/day and ≥60 mg/kg/day, respectively. A dose-dependent minimal to mild decrease in platelets in males at ≥10 mg/kg/day and in one female at 60 mg/kg/day.
Clinical Chemistry (Day 15): Increase in triglycerides, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and phosphorus and decrease in albumin in males at ≥30 mg/kg/day. Minimal increase in cholesterol and total bilirubin in males at 100 mg/kg/day.
Minimal to mild increase in alkaline phosphatase and phosphorus and decrease in albumin in females at ≥60 mg/kg/day. Increase in cholesterol, triglycerides, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in females at 180 mg/kg/day.

(Continued)

2.6.7.6.2 14-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Nonpivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 14-Day Dose Range Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of AR00494192 in Sprague-Dawley Rats	**Study No.** LOXO-RET-TOX-007

Organ weights: Decrease in thymus and liver (absolute and relative) in males at 100 mg/kg/day.
Microscopic findings: Mild to severe physeal dysplasia in femur and/or sternum of males at ≥30 mg/kg/day and females at 180 mg/kg/day.

Hypocellularity of bone marrow at 30 and ≥60 mg/kg/day of males and females, respectively (change in 30 mg/kg/day of males were minimal and not adverse). Erythroid and myeloid lineage affected.

Mineralization of glandular epithelium of stomach in males and females at 100 and 180 mg/kg/day, respectively.
Depletion of pancreatic zymogen granules in all selpercatinib dose groups. Minimally to mildly increased numbers of necrotic acinar epithelial cells in males at 100 mg/kg/day.

Minimal to mild atrophy of the thymus in males at 100 mg/kg/day.
Minimal to mild mineralization of kidney in males at 100 mg/kg/day.
Mild mineralization of tunica media of aorta in one male at 100 mg/kg/day.
Minimal multifocal mineralization of blood vessels of the heart in one male at 100 mg/kg/day.

SD = Sprague-Dawley; M = male; F = female

2.6.7.6.3 14-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipig (Nonpivotal Studies)

Test Article: Selpercatinib

Report Title: A 14-Day Daily Repeat Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of a RET inhibitor, AR00494192, in Göttingen Minipigs						**Study No.** LOXO-RET-TOX-008
Species / Strain	**Method of Administration (Vehicle / Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Dose (mg/kg/day)**	**Gender and No. per Group**	**No Observed Adverse Effect Level**	**Study Number Location in CTD**
Minipig/ Göttingen	Oral gavage (1% carboxymethyl-cellulose sodium, 0.02% sodium *n*-dodecyl sulfate in deionized water)	14 days	5, 25, 65	M3/F3	5 mg/kg/day	LOXO-RET-TOX-008 4.2.3.2.5

Noteworthy Findings

Sacrificed Moribund or Unscheduled Sacrifices: All animals given 65 mg/kg/day sacrificed on Day 7 due to bone marrow hypocellularity for 2 males and 2 females and septicemia for 1 female.
One female given 25 mg/kg/day was sacrificed on Day 11 in moribund condition and caused of death due to bone marrow hypocellularity.

Clinical Observations:
65 mg/kg/day: Beginning on Day 6 - hypoactivity, decreased and/or no food consumption, high rectal temperatures, non-formed feces, and/or brown vomitus.
25 mg/kg/day: Hypoactivity noted in all animals but 1 male on Days 8 and 9. Hypoactivity noted sporadically in this group to Day 14. One incidence of vomitus on Day 14 for one female. Hypoactivity persisted from Day 8 to Day 11 for one female which was in moribund condition on Day 11. Other clinical signs in this animal included: low rectal temperature, no food consumption.

Clinical Pathology:
Unscheduled Sacrifices (65 mg/kg/day and 1 female at 25 mg/kg/day): Clinical pathology changes consistent with inflammation and bone marrow toxicity.
All animals had moderately to markedly decreased reticulocyte count and minimally to mildly decreased chloride concentration.

For animals at 65 mg/kg/day only:
Moderately to markedly decreased white blood cell count due to decreased neutrophil and lymphocyte counts, and a generalized decrease in other leukocytes associated with moderately to markedly increased fibrinogen. One male had decreased platelet count. Clinical chemistry findings included mildly decreased glucose and mildly increased globulin and decreased albumin:globulin (A:G) ratio. One male had mildly decreased red cell mass (i.e., red blood cell count, hemoglobin, and hematocrit); mildly decreased albumin; moderately increased urea nitrogen and creatinine; and mildly increased cholesterol, triglycerides, and inorganic phosphorus. One male had mildly decreased red cell mass and one female had mildly decreased albumin concentration.

(Continued)

2.6.7.6.3 14-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipig (Nonpivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 14-Day Daily Repeat Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of a RET inhibitor, AR00494192, in Göttingen Minipigs	**Study No.** LOXO-RET-TOX-008

Scheduled Sacrifices (25 and 5 mg/kg/day):
Hematology (Day 15): Mildly decreased reticulocyte count in males at 5 mg/kg/day and females at 25 mg/kg/day and mildly decreased red cell mass in one male at 5 mg/kg/day and one female at 25 mg/kg/day.

Clinical Chemistry: Minimally to mildly decreased albumin in males at 5 or 25 mg/kg/day and in females at 25 mg/kg/day, minimally decreased calcium in males at 5 or 25 mg/kg/day, and minimally decreased sodium and chloride in animals at 5 or 25 mg/kg/day.
Mildly increased globulin was observed on Day 8 in females at 25 mg/kg/day, which also may have resulted in decreased A:G ratio in these animals on Days 8 and 15.

Macroscopic Findings (unscheduled sacrifices): Dark red kidney in one animal at 65 mg/kg/day and discolored cecum, colon, and liver in one animal at 65 mg/kg/day.

Organ Weights: Decreased adrenal and kidney weight parameters in females at 25 mg/kg/day.

(Continued)

2.6.7.6.3 14-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipig (Nonpivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 14-Day Daily Repeat Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of a RET inhibitor, AR00494192, in Göttingen Minipigs	**Study No.** LOXO-RET-TOX-008

Microscopic Findings:

Unscheduled sacrifice (65 mg/kg/day):
Bone marrow: Decreased cellularity of all bone marrow cell lineages.
Lymphoid Organs: Decreased cellularity of lymphocytes in the cortex of the thymus, in the GALT/Peyer's patch, and white pulp of the spleen.
Gastrointestinal Tract Mucosa: Degeneration/necrosis or atrophy the nonglandular gastric mucosa; neutrophilic infiltration, increased mitotic figures, and presence of bacteria in the stomach; villi blunting/fusion of the ileum and jejunum; atrophy (attenuation of the epithelium) or necrosis of the colon mucosa; atrophy (attenuation of the epithelium) or necrosis of the cecum; chronic inflammation in the submucosa and presence of bacteria in the cecum.
Pancreas: Increased apoptosis in acinar cells and zymogen depletion.
Ovary: Atrophy - moderate to marked decreased or absent corpora lutea, reduced number and size of follicles and stromal proliferation.
Liver: Necrosis, hemorrhage, and bacteria.
Lung: Fibrin thrombi and bacteria within the thrombi.
Kidney: Congestion/hemorrhage, tubular dilatation, proteinaceous cast, tubular degeneration/necrosis, and bacteria
Adrenal Gland: Vacuolation of the zona fasciculata in the adrenal gland.
Findings in the liver and lung were considered related to septicemia in one female.

Unscheduled sacrifice (1 female at 25 mg/kg/day):
Bone marrow: Markedly to severely decreased cellularity.
Thymus: Markedly decreased cellularity.
Ovary: Marked atrophy - reduced number or absence of corpora lutea and reduced number and size of follicles and stromal proliferation.
Pancreas: Minimally increased apoptosis.
Adrenal gland: Slight vacuolation of the zona fasciculata of cortex.

Scheduled Sacrifice (25 or 5 mg/kg/day):
Bone marrow: Minimally to moderately decreased cellularity (erythroid, myeloid, and megakaryocytic) at ≥5 mg/kg/day.
Thymus: Minimally to moderately decreased cellularity of cortex at ≥5 mg/kg/day.
Ovary: Slight to moderate atrophy (reduced number or absence of corpora lutea, reduced number and size of follicles, and stromal proliferation) in females at 25 mg/kg/day.
Stomach: Slight infiltration of neutrophils in the nonglandular mucosa of 1 animal at 25 mg/kg/day.
Pancreas: Minimal to slight zymogen granule depletion at 25 mg/kg/day.
Adrenal gland: Vacuolation of cortex at ≥5 mg/kg/day.

M = male; F = female; A:G = albumin to globulin ratio

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity (Pivotal Studies)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies)

Test Article: Selpercatinib

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase		**Study No.** LOXO-292-TOX-001 **Location in CTD:** 4.2.3.2.3
Species / Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD(SD))	**Duration of Dosing**: 28 days	
Initial Age: 6 to 7 weeks	**Duration of Recovery:** 28 days	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral Gavage	
Vehicle / Formulation: 1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium (medium viscosity; 400 to 800 cP), 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate in deionized water		
Special Features: Functional observational battery tests, locomotor activity assessments		
No Observed Adverse Effect Level: 20 mg/kg in males and 50 mg/kg in females		
Severely Toxic Dose in 10 % of Animals: 45 mg/kg for males and 120 mg/kg for females		

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Number of Toxicokinetic Animals (3 animals /timepoint/sex)	3	6	6	6	3	6	6	6
Dosing Phase								
Composite Toxicokinetics:								
Day 1								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	BLQ	10200	60200	213000	BLQ	8820	63500	289000
C_{max} (ng/mL)	BLQ	1020	5020	16100	BLQ	2650	11900	21200
T_{max} (h)	-	1.0	2.0	4.0	-	1.0	1.0	1.0
$T_{1/2}$ (h)	-	4.97	3.21	NC	-	3.26	2.07	5.00
Day 28								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	BLQ	14900	50800	151000	BLQ	9480	39100	260000
C_{max} (ng/mL)	BLQ	1220	4450	11700	BLQ	3300	8380	19100
T_{max} (h)	-	4.0	4.0	4.0	-	1.0	1.0	2.0
$T_{1/2}$ (h)	-	NC	NC	NC	-	NC	4.39	3.23

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-001	
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Noteworthy Findings:								
Dosing Phase								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	2[3,9]	0	0	0	1[4,9]
Clinical Observations								
Appearance								
Discolored, teeth, white	0	0	0	2	0	0	0	2
Discharge								
Oral, clear	-	-	-	-	0	0	0	7
Skin and Pelage								
Discolored haircoat, front feet, red	-	-	-	-	0	0	0	7
Discolored haircoat, front legs, red	-	-	-	-	0	0	0	2
Discolored haircoat, left inguinal, red	-	-	-	-	0	0	0	1
Discolored haircoat, midline lumbar, red	-	-	-	-	0	0	0	1
Discolored haircoat, perineal, red	-	-	-	-	0	0	0	3
Discolored haircoat, perioral, red	-	-	-	-	0	0	0	5
Discolored haircoat, periorbital, red	-	-	-	-	0	0	0	2
Discolored haircoat, right shoulder, red	-	-	-	-	0	0	0	1
Discolored haircoat, ventral cervical, red	-	-	-	-	0	0	0	3
Piloerection	0	0	0	13	0	0	0	7
Rough haircoat	-	-	-	-	0	0	0	4
Ophthalmic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)[5]								
Day 4	237 g	-0.8	+0.8	-9.7*	-	-	-	-
Day 15	325 g	-2.5	+0.6	-18.5*	-	-	-	-
Day 28	402 g	-3.0	+0.2	-22.1*	-	-	-	-

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase					**Study No.** LOXO-292-TOX-001			
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase (Continued)								
Body Weight Change (%)[5]								
Days 1- 4	26 g	-3.8	+3.8	-80.8*	-	-	-	-
Days 4 - 8	32 g	-6.3	+6.3	-90.6*	-	-	-	-
Days 25 - 28	16 g	-6.3	-12.5	-75.0*	-	-	-	-
Days 1 - 28	191 g	-5.8	0.0	-45.5*	68 g	+5.9	+1.5	-13.2
Food Consumption (%)[5]								
Days 1 - 4	28 g/day	-7.1	-3.6	-28.6*	17 g/day	+5.9	+5.9	-5.9
Days 11 - 15	28 g/day	-3.6	+3.6	-17.9*	18 g/day	0.0	0.0	-11.1*
Days 25 - 28	28 g/day	-7.1	+3.6	-28.6*	18 g/day	0.0	+5.6	-16.7
Functional Observation Battery								
Mean forelimb grip strength (g)	1624	1648	1762	1286*	-	-	-	-
Locomotor activity, arena, low	1	1	1	2	1	1	0	3
Locomotor Activity								
Basic movement								
(0-2 minutes)	641	617	642	404*	-	-	-	-
(10-12 minutes)	285	304	276	165*	-	-	-	-
(20-22 minutes)	153	151	205	79	-	-	-	-
(30-32 minutes)	167	191	117	65*	-	-	-	-
X+Y ambulation								
(0-2 minutes)	277	248	213	165*	-	-	-	-
(10-12 minutes)	76	71	72	30	-	-	-	-
(20-22 minutes)	21	28	42	10	-	-	-	-
(30-32 minutes)	32	43	20	4	-	-	-	-

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase					**Study No.** LOXO-292-TOX-001			
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase (Continued)								
Hematology								
Day 29								
Absolute reticulocyte count (E3/µL)	245.4	234.2	199.6	170.1*	-	-	-	-
% Reticulocytes	3.0	2.8	2.4*	2.1*	-	-	-	-
Platelet count (E3/µL)	1184	1042*	925*	946*	-	-	-	-
Mean corpuscular volume (fL)	60.0	59.4	62.4*	64.6*	56.8	57.3	58.2	60.0*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	18.7	18.6	19.7*	20.2*	18.3	18.5	18.9*	19.3*
Total white blood cell count (E3/µL)	-	-	-	-	7.83	7.42	9.03	11.00*
Absolute neutrophil count (E3/µL)	-	-	-	-	0.98	1.09	1.24	2.63*
Absolute monocyte count (E3/µL)	-	-	-	-	0.20	0.22	0.26	0.36*
Large unstained cell count (E3/µL)	-	-	-	-	0.10	0.12	0.11	0.19*
Hemoglobin concentration (g/dL)	15.4	15.8	16.5*	16.7*	15.6	15.9	16.2*	16.2*
Hematocrit (%)	49.2	50.5	52.3*	53.6*	48.6	49.4	50.1	50.6*
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry								
Day 29								
Alanine aminotransferase activity (U/L)	34	38	45*	73*	31	31	38*	68*
Alkaline phosphatase activity (U/L)	182	198	267*	323*	84	94	138*	172*
Aspartate aminotransferase activity (U/L)	96	102	111	133*	93	92	98	129*
Cholesterol (mg/dL)	79	92	96*	123*	-	-	-	-
Inorganic phosphorus (mg/dL)	8.7	8.9	9.4*	10.6*	7.8	7.8	8.1	9.3*
Total protein (g/dL)	6.5	6.5	6.3	5.8*	7.3	7.3	7.1	6.3*
Albumin (g/dL)	4.3	4.4	4.2	3.8*	5.1	5.1	4.9	4.1*
Albumin:globulin ratio	-	-	-	-	2.4	2.3	2.2	1.9*
Calcium (mg/dL)	12.1	11.9	11.9	11.7*	12.4	12.4	12.2	11.9*
Glucose (mg/dL)	91	83	86	76*	-	-	-	-
Urea nitrogen (mg/dL)	-	-	-	-	13	14	14	15*
Triglyceride (mg/dL)	89	91	127*	152*	45	48	59	88*

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase					**Study No.** LOXO-292-TOX-001			
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase (Continued)								
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights								
Liver								
Absolute Organ Weight (%)[5]	11.8166 g	-10.1	-8.7	-35.1*	-	-	-	-
Organ to Body Weight (%)	3.0910	2.9445	2.7873	2.6617*	-	-	-	-
Organ to Brain Weight (%)	558.4658	511.3872	515.3317	370.9704*	-	-	-	-
Thymus								
Absolute Organ Weight (%)[5]	0.6476 g	-13.7	-18.4*	-44.5*	-	-	-	-
Organ to Body Weight (%)	0.1701	0.1552	0.1362*	0.1250*	-	-	-	-
Organ to Brain Weight (%)	30.6602	27.0022	25.2496	17.3844*	-	-	-	-
Macroscopic Observations								
Tooth								
Discolored	0	0	0	2	0	0	0	2
Histopathology								
Number of Animals Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Brain								
Number Examined	10	10	10	10	10	0	0	10
Mineralization, choroid plexus								
Minimal	0	0	0	3	0	NE	NE	0
Mineralization, meninges								
Minimal	0	0	0	1	0	NE	NE	0
Heart								
Number Examined	10	10	10	10	10	0	0	10
Mineralization, vessel								
Minimal	0	0	0	5	0	NE	NE	0

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase					**Study No.** LOXO-292-TOX-001			
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase (Continued)								
Aorta								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Mineralization, media								
Minimal	0	0	0	2	0	NE	NE	0
Slight	0	0	0	1	0	NE	NE	0
Moderate	0	0	0	1	0	NE	NE	0
Marked	0	0	0	1	0	NE	NE	0
Tongue								
Atrophy, epithelium								
Minimal	0	0	0	3	0	0	0	3
Slight	0	0	0	2	0	0	0	2
Lung								
Infiltrate, macrophages, alveolus								
Minimal	2	0	1	6	0	0	1	7
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Stomach, glandular								
Mineralization, mucosa								
Minimal	0	0	0	3	0	0	0	3
Slight	0	0	0	5	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Duodenum								
Ectasia, crypt/gland, Brunner’s gland								
Minimal	0	0	0	2	0	NE	NE	0

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase					**Study No.** LOXO-292-TOX-001			
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase (Continued)								
Pancreas								
Zymogen granules, decreased								
Minimal	0	0	0	5	0	0	0	0
Degeneration/necrosis, acinar cell								
Minimal	0	0	1	2	0	0	0	1
Slight	0	0	0	2	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	2	0	0	0	0
Femur								
Hypertrophy/hyperplasia, chondrocyte zone, physis								
Minimal	0	0	4	0	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	7	0	0	0	9
Marked	0	0	0	3	0	0	0	1
Femur, marrow								
Hypocellularity								
Minimal	0	0	0	4	0	0	0	6
Slight	0	0	0	2	0	0	0	0
Sternum								
Hypertrophy/hyperplasia, chondrocyte zone, physis								
Minimal	0	0	0	6	0	NE	NE	1
Slight	0	0	0	1	0	NE	NE	0

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-001	
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase (Continued)								
Tooth, other[7]								
Number Examined	0	0	0	2	0	0	0	2
Dysplasia[8]								
Minimal	NE	NE	NE	0	NE	NE	NE	1
Slight	NE	NE	NE	1	NE	NE	NE	1
Moderate	NE	NE	NE	1	NE	NE	NE	0
Recovery Phase								
Number of Toxicity Animals in Recovery	5	5	5	3	5	5	5	4
Clinical Observations								
Appearance								
Discolored, teeth, white	0	0	0	3	0	0	0	1
Hunched	0	0	0	1	0	0	0	2
Malocclusion	0	0	0	2	0	0	0	4
Thin	0	0	0	0	0	0	0	1
Skin and pelage								
Piloerection	0	0	0	3	0	0	0	3
Rough haircoat	-	-	-	-	0	0	0	2

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase						**Study No.** LOXO-292-TOX-001		
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Recovery Phase (Continued)								
Number of Toxicity Animals in Recovery	5	5	5	3	5	5	5	4
Body Weight (%)[5]								
Day 1	378 g	+0.3	-6.3	-22.0*	238 g	0	-4.2	-5.5
Day 8[6]	425 g	-2.1	-7.5	-33.6*	261 g	-0.4	-5.0	-21.5*
Day 15	466 g	-3.6	-8.4	-25.5*	279 g	-1.1	-5.7	-12.9
Day 22	498 g	-4.6	-8.8	-30.9*	288 g	+0.3	-6.6	-12.8
Day 28	512 g	-3.5	-8.4	-25.2*	287 g	+1.4	-3.8	-9.1
Body Weight Change (%)[5]								
Days 1 - 8	47 g	-19.1	-19.1	-127.7	23 g	0.0	-13.0	-187.0*
Days 1 - 28	133 g	-13.5	-13.5	-33.8*	49 g	+10.2	-2.0	-26.5
Macroscopic Observations								
Number Examined	5	5	5	3	5	5	5	4
Tooth, left lower, incisor, discolored	0	0	0	3	0	0	0	1
Tooth, left upper, incisor, discolored	0	0	0	3	0	0	0	2
Tooth, right lower, incisor, discolored	0	0	0	3	0	0	0	2
Tooth, right upper, incisor, discolored	0	0	0	1	0	0	0	2
Histopathology								
Brain								
Number Examined	5	5	5	3	5	0	0	4
Mineralization, choroid plexus								
Minimal	0	0	0	2	0	NE	NE	0
Heart								
Number Examined	5	0	0	3	5	5	5	4
Mineralization, vessel								
Minimal	0	NE	NE	0	0	0	0	1

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Rats with a 28-Day Recovery Phase					**Study No.** LOXO-292-TOX-001			
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5 (Low)	20 (Mid)	75/45 (High)[1]	0 (Control)	15 (Low)	50 (Mid)	150/120 (High)[2]
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Recovery Phase (Continued)								
Number of Toxicity Animals in Recovery	5	5	5	3	5	5	5	4
Aorta								
Number Examined	5	5	5	3	5	0	0	4
Mineralization, media								
Moderate	0	0	0	1	0	NE	NE	0
Stomach, glandular								
Number Examined	5	5	5	3	5	5	5	4
Mineralization, mucosa								
Minimal	0	0	0	2	0	0	0	1
Femur								
Number Examined	5	5	5	3	5	4	5	4
Cartilage retention								
Minimal	0	0	0	1	0	0	1	2
Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Hypoplasia, chondrocyte zone, physis								
Minimal	0	0	0	2	0	0	0	0
Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Tooth, other[7]								
Number Examined	0	0	0	3	0	0	0	2
Dysplasia[8]								
Minimal	NE	NE	NE	1	NE	NE	NE	0
Slight	NE	NE	NE	2	NE	NE	NE	2

(Continued)

2.6.7.7.1 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

* = Statistically significant ($p \leq 0.05$, Dunnett's t test) based on actual data (not on percent difference).

- = No noteworthy findings; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; GLP = Good Laboratory Practices; NC = Not calculated (criteria for calculating elimination half-live could not be met); NE = Not examined; BLQ = Below the lower limit of quantitation (<10.0 ng/mL); SD = Sprague-Dawley; T_{max} = Time of maximum observed concentration; $T_{1/2}$ = Terminal phase half-life; hr = hour; E3 = 10^3

1 Beginning on Day 11 of the dosing phase, dose was reduced from 75 mg/kg/day to 45 mg/kg/day.

2 Beginning on Day 16 of the dosing phase, dose was reduced from 150 mg/kg/day to 120 mg/kg/day.

3 Two toxicity males administered the high dose of 75 mg/kg/day was sacrificed in a moribund condition on Day 8 of the dosing phase; determined to be test article-related due to body weight loss and clinical observations of hunched posture and piloerection.

4 One toxicity female administered the high dose of 150/120 mg/kg/day was sacrificed in a moribund condition on Day 17 of the dosing phase (one day after dose was lowered to 120 mg/kg/day); determined to be test article-related due to clinical observations of clear oral discharge, red staining of feet and ventral cervical region, hypoactivity, hunched posture, squinted eyes, and brown staining of the perioral and ventral cervical regions.

5 For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

6 The powdered meal form of the diet was offered to the animals staring on Day 8 of the recovery phase.

7 Teeth (incisors) with macroscopic lesions were examined.

8 Includes odontoblast, dentin and enamel layers.

9 A specific cause of death could not be determined. However, several selpercatinib-related microscopic findings were detected and included mineralization of various tissues, atrophy of the epithelium of the dorsum of the tongue, in the male pancreas, degeneration/necrosis of acinar cells and slight decrease in zymogen granules, hypertrophy/hyperplasia of the chondrocyte zone involving the physis of the femur and sternum, and hypocellularity of marrow adjacent to the physis of the femur. Minimal infiltrate of alveolar macrophages was present in the lung of the one female (Animal R0701) and minimal ectasia of the crypt/glands of Brunner's gland was present in one male (Animal R0309).

2.6.7.7.2 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies)

Test Article: Selpercatinib

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Rats with a 4-Week Recovery Phase		**Study No.** LOXO-292-TOX-011
Species/Strain: Rat / Crl:CD(SD)	**Duration of Dosing**: 13 weeks	**Location in CTD**: 4.2.3.2.4
Initial Age: 10 to 11 weeks	**Duration of Recovery**: 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Method of Administration**: Oral gavage	
	Vehicle / Formulation: 1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium (medium viscosity; 400-800 cP, 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate (SDS; synonymous with sodium lauryl sulfate in deionized water.	**GLP Compliance**: Yes
Special Features: Male Reproductive Assessment (sperm total count, density, motility, morphology)		
No Observed Adverse Effect Level: 7.5 mg/kg/day for males, 25 mg/kg/day for females		
Highest Non-Severely Toxic Dose Level: 20 mg/kg/day for males, 75 mg/kg/day for females		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2.0 (Low)**	**7.5 (Low)**	**7.5 (Mid)**	**25 (Mid)**	**20 (High)**	**75 (High)**
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Number of Toxicokinetic Animals (3 animals /timepoint/sex)	3	3	6	6	6	6	6	6
Dosing Phase								
Composite Toxicokinetics:								
Day 1								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	NC	NC	4470	1740	18800	29600	56500	59100
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	529	926	1990	7360	5740	12400
T_{max} (h)	-	-	4.0	0.5	2.0	1.0	2.0	0.5
$T_{1/2}$ (h)	-	-	NC	1.32	4.14	2.93	4.48	2.91
Day 91								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	NC	NC	6030	3040	18500	50400	80400	149000
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	508	1570	1490	10700	6780	15700
T_{max} (h)	-	-	4.0	0.5	4.0	2.0	2.0	1.0
$T_{1/2}$ (h)	-	-	NC	1.24	NC	2.25	NC	3.92

(Continued)

2.6.7.7.2 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Rats with a 4-Week Recovery Phase						**Study No.** LOXO-292-TOX-011		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2.0 (Low)**	**7.5 (Low)**	**7.5 (Mid)**	**25 (Mid)**	**20 (High)**	**75 (High)**
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase								
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund								
Toxicity group[a]	1	0	1	0	0	1	0	0
Clinical Observations								
Malocclusion	0	0	0	0	0	0	1	4
Teeth, white	0	-	0	-	0	-	1	-
Thin	0	-	0	-	0	-	1	-
Cold to touch	0	-	0	-	0	-	1	-
Thinning hair coat, left side head	2	0	5	1	2	5	5	2
Thinning hair coat, right side head	3	1	8	0	1	4	4	3
Body Weight (%)[b, e]								
Day 11	-	280 g	-	0.7	-	2.5	-	5.7*
Day 60	-	333 g	-	1.5	-	6.0*	-	15.0*
Day 91	-	355 g	-	2.5	-	7.3*	-	13.5*
Body Weight Change (%)[b]								
Days 1 to 91	289 g	97 g	0.3	10.3	-4.2	24.7*	-5.9	46.4*
Food Consumption (%)[b]								
Days 60 to 64	-	20 g/day	-	5.0	-	45*	-	30*
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-

(Continued)

2.6.7.7.2 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Rats with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-011	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2.0 (Low)**	**7.5 (Low)**	**7.5 (Mid)**	**25 (Mid)**	**20 (High)**	**75 (High)**
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase (Continued)								
Hematology								
Day 42								
Red blood cells (E6/uL)	8.81	8.72	8.82	8.83	9.27	8.74	9.16	8.60
Hemoglobin (g/dL)	15.8	-	15.9	-	16.6	-	16.9*	-
Hematocrit (%)	50.8	-	51.3	-	53.4	-	54.1*	-
Reticulocyte (E3/uL)	253.7	-	232.4	-	219.5	-	192.5*	-
Mean corpuscular volume (fL)	57.8	57.6	58.2	57.5	57.7	58.4	59.1	59.7*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.9	18.2	18.0	18.1	17.9	18.5	18.4	19.0*
Day 92								
Red blood cells (E6/uL)	9.10	8.64	9.19	8.83	9.45	8.81	9.36	8.42
Hemoglobin (g/dL)	15.5	15.5	15.9	16.1*	16.2	16.4*	16.7*	16.0*
Hematocrit (%)	49.4	48.3	50.4	49.9	52.0	50.9*	53.2*	50.5
Reticulocyte (E3/uL)	218.9	-	192.0	-	164.3*	-	149.7*	-
Mean corpuscular volume (fL)	54.4	55.9	54.8	56.5	55.1	57.7*	56.8*	60.0*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.0	17.9	17.3	18.3	17.1	18.6	17.9*	19.1*
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry								
Day 42								
Albumin (g/dL)	-	5.9	-	5.8	-	5.6	-	5.1*
Total protein (g/dL)	-	7.8	-	7.6	-	7.6	-	7.1*
Albumin:globulin	-	3.0	-	3.1	-	2.8	-	2.7*
Phosphorus (mg/dL)	7.6	6.2	7.4	6.1	7.7	6.4	8.1*	6.7
Day 92								
Albumin (g/dL)	-	6.2	-	6.0	-	5.8*	-	5.1*
Total protein (g/dL)	-	8.6	-	8.5	-	8.3	-	7.6*
Albumin:globulin	-	2.6	-	2.4	-	2.4	-	2.0*
Phosphorus (mg/dL)	6.3	4.8	6.0	4.7	6.5	4.9	7.2*	5.8*

(Continued)

2.6.7.7.2 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Rats with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-011	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2.0 (Low)**	**7.5 (Low)**	**7.5 (Mid)**	**25 (Mid)**	**20 (High)**	**75 (High)**
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase (Continued)								
Urinalysis								
Day 92								
Urine pH	7.0	6.7	6.9	6.8	7.1	6.9	7.3*	7.1
Organ Weights								
Testis								
Absolute Organ Weight (%)[b]	4.1734 g	NA	-7.6	NA	-7.2	NA	-28.0*	NA
Organ to Body Weight (%)	0.6931	NA	0.6372	NA	0.6355	NA	0.4914*	NA
Organ to Brain Weight (%)	176.3259	NA	167.5008	NA	163.8994	NA	128.5143*	NA
Macroscopic Observations								
Number of Animals Examined	9	10	10	10	10	10	10	10
Testis								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Soft	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Male Reproductive Assessment	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Histopathology								
Number of Animals Examined	9	10	10	10	10	10	10	10
Testis								
Degeneration/atrophy, tubular								
Minimal	0	NA	1[c]	NA	2	NA	8	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Epididymis								
Cell debris, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	5	NA
Reduced sperm, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA

(Continued)

2.6.7.7.2 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Rats with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-011	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2.0 (Low)**	**7.5 (Low)**	**7.5 (Mid)**	**25 (Mid)**	**20 (High)**	**75 (High)**
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Dosing Phase (Continued)								
Vagina								
Mucification, increased, epithelium								
Minimal	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Slight	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Moderate	NA	0	NA	0	NA	0	NA	5
Cornification, individual cell, epithelium								
Slight	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Unstageable								
Present	NA	0	NA	0	NA	1	NA	7
Proestrus								
Present	NA	3	NA	2	NA	3	NA	1
Estrus								
Present	NA	1	NA	3	NA	4	NA	0
Metestrus								
Present	NA	4	NA	2	NA	1	NA	0
Diestrus								
Present	NA	2	NA	3	NA	1	NA	2
Marrow, femur								
Cellularity, decreased								
Minimal	0	0	0	0	0	0	4	6
Marrow, sternum								
Cellularity, decreased								
Minimal	0	0	0	0	0	0	4	6
Lung								
Infiltrate, macrophages, alveolus								
Minimal	3	2	3	1	3	5	8	8

(Continued)

2.6.7.7.2 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Rats with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-011	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2.0 (Low)**	**7.5 (Low)**	**7.5 (Mid)**	**25 (Mid)**	**20 (High)**	**75 (High)**
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Recovery Phase								
Number of Animals in Recovery	5	5	5	5	5	5	5	5
Died or Sacrificed Moribund								
Toxicity[a]	0	0	1	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Malocclusion	0	0	0	0	0	0	1	4
White teeth	0	0	0	0	0	0	1	1
Missing teeth	-	0	-	0	-	0	-	2
Thin	0	-	0	-	0	-	1	-
Thinning haircoat, left side head	1	-	1	-	2	-	2	-
Thinning haircoat, right side head	1	-	1	-	2	-	2	-
Body Weight (%)[b]								
Day 28	730 g	378 g	-3.2	1.6	-8.8	11.6	-14.2*	-2.1
Body Weight Change (%)[b]								
Days 1 to 28	52 g	32 g	-34.6	-9.4	-23.1	0.0	-28.8	-103.1*
Food Consumption (%)[b]								
Days 15 to 22	-	22 g/day	-	-9.1	-	4.5	-	-18.2
Hematology								
Day 29								
Mean corpuscular volume (fL)	-	57.9	-	58.3	-	58.7	-	60.8*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	-	18.1	-	18.4	-	18.7	-	19.1*
Organ Weights								
Testis								
Absolute Organ Weight (%)[b]	3.7981 g	NA	2.7	NA	3.6	NA	-30.4*	NA
Organ to Body Weight (%)	0.5518	NA	0.5786	NA	0.6244	NA	0.4484*	NA
Organ to Brain Weight (%)	163.6164	NA	163.1244	NA	164.7544	NA	113.7890*	NA
Epididymis								
Absolute Organ Weight (%)[b]	1.5603 g	NA	14.5	NA	7.7	NA	-21.0*	NA
Organ to Body Weight (%)	0.2272	NA	0.2653	NA	0.2668	NA	0.2103	NA
Organ to Brain Weight (%)	67.2274	NA	74.9285	NA	70.0999	NA	53.0499*	NA

(Continued)

2.6.7.7.2 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Rats with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-011	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2.0 (Low)**	**7.5 (Low)**	**7.5 (Mid)**	**25 (Mid)**	**20 (High)**	**75 (High)**
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Recovery Phase (Continued)								
Number of Animals in Recovery	5	5	5	5	5	5	5	5
Macroscopic Observations								
Number of Animals Examined	5	NA	4	NA	5	NA	5	NA
Testis								
Soft	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Histopathology								
Number of Animals Examined	5	NA	4	NA	5	NA	5	NA
Testis								
Degeneration/atrophy, tubular								
Minimal	1[d]	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA
Epididymis								
Cell debris, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	4	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Reduced sperm, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Marked	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA

(Continued)

2.6.7.7.2 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Rats (Pivotal Studies) (Contd)

- = No noteworthy findings; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration ; BLQ = Below the lower limit of quantitation (<10.0 ng/mL); NC = Not calculated; GLP = Good Laboratory Practices; NA = Not applicable; T_{max} = Time of maximum observed concentration; $T_{1/2}$ = Terminal phase half-life.

* = Statistically significant ($p \leq 0.05$, Dunnett's t test) based on actual data (not on percent difference).

[a] No test-article related deaths occurred. One female administered 25 mg/kg/day (Animal R0611) was found dead on Day 91 of the dosing phase; this animal was found caught in its cage. One male administered 2.0 mg/kg/day (Animal R0114) was sacrificed on Day 28 of the recovery phase due to a swollen right hind leg and limited use of the leg. Clinical pathology findings of minimally lower albumin:globulin ratio and phosphorus concentration were likely associated with moribund condition. A macroscopic observation of swollen right hind foot was noted at necropsy, and this correlated microscopically with marked mixed cell inflammation. The foot inflammation was considered the cause of the moribund condition and was not selpercatinib related because of the lack of a dose relationship and the absence of similar findings in scheduled sacrifice animals. One control male (Animal R0012) was sacrificed on Day 21 of the dosing phase due to a protruding left eye.

[b] For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

[c] Tubular degeneration/atrophy that occurred in one male was considered not LOXO-292 related.

[d] Unilateral tubular degeneration/atrophy in one control male was considered a background finding.

[e] Powdered meal form was offered starting on Day 55 of the dosing phase for several males administered 20 mg/kg/day and for several females administered 75 mg/kg/day (starting on Days 77, 79 or 91 of the dosing phase). For animals that continued into the recovery phase, offering of powdered meal form continued throughout the recovery phase.

2.6.7.7.3 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies)

Test Article: Selpercatinib

Report Title: 4-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Göttingen Minipigs with a 4-Week Recovery Phase					**Study No.** LOXO-292-TOX-002 **Location in CTD:** 4.2.3.2.6			
Species / Strain: Minipig/Göttingen	**Duration of Dosing**: 4 weeks							
Initial Age: 3 to 4 months	**Duration of Recovery:** 4 weeks				**GLP Compliance:** Yes			
Date of First Dose: [redacted]20[redacted](males) [redacted]20[redacted](females)	**Method of Administration:** Oral Gavage							
Vehicle / Formulation: 1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium (medium viscosity; 400-800 cP), 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate in deionized water								
Special Features: Electrocardiograms pre-dose, on Day 3 and on Week 4 of dosing.								
No Observed Adverse Effect Level: 12 mg/kg/day								
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	2 (Low)	5 (Mid)	12 (High)	0 (Control)	2 (Low)	5 (Mid)	12 (High)
Number of Animals at Study Start	6	6	6	6	6	6	6	6
Dosing Phase								
Mean Toxicokinetics:								
Day 1								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	BLQ	2730	5410	11600	BLQ	3240	7120	17800
C_{max} (ng/mL)	BLQ	150	294	795	BLQ	184	417	1020
T_{max} (h)	-	4.7	8.0	3.7	-	6.7	6.0	5.3
Day 22								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	BLQ	4500	9530	17000	BLQ	5860	11500	29300
C_{max} (ng/mL)	BLQ	246	528	875	BLQ	297	593	1360
T_{max} (h)	-	4.7	3.3	6.0	-	3.3	3.5	5.7

(Continued)

2.6.7.7.3 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 4-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Göttingen Minipigs with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-002	
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	2 (Low)	5 (Mid)	12 (High)	0 (Control)	2 (Low)	5 (Mid)	12 (High)
Number of Animals at Study Start	6	6	6	6	6	6	6	6
Noteworthy Findings:								
Dosing Phase								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Day 29 of the dosing phase								
Red blood cell count ($E^6/\mu L$)	8.44	8.85	9.81*	10.57*	9.19	9.38	9.14	9.30
Hemoglobin concentration (g/dL)	14.1	14.9	15.7	16.2	14.9	14.1	15.4	15.9
Hematocrit (%)	44.8	46.9	49.8	53.5	46.7	45.1	48.9	50.2
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry								
Day 29 of the dosing phase								
Alkaline phosphatase (U/L)	174	173	188	257*	154	147	163	254*
Phosphorus (mg/dL)	7.6	7.8	7.9	8.9*	7.9	7.6	8.3	8.8*
Potassium (mmol/L)	6.1	6.3	6.5	7.3*	6.6	6.6	6.4	7.0
Urea nitrogen (mg/dL)	-	-	-	-	8	10	10	12*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number of Animals Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Lymph Node, Mandibular								
Depletion, lymphocytes								
Minimal	0	0	2	0	0	0	0	1
Slight	0	0	0	1	0	0	0	0

(Continued)

2.6.7.7.3 28-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: 4-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-292 in Göttingen Minipigs with a 4-Week Recovery Phase					**Study No.** LOXO-292-TOX-002			
Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	2 (Low)	5 (Mid)	12 (High)	0 (Control)	2 (Low)	5 (Mid)	12 (High)
Number of Animals at Study Start	6	6	6	6	6	6	6	6
Dosing Phase (Continued)								
Lymph Node, Mesenteric								
Number Examined	4	3	4	4	4	4	4	4
Depletion, lymphocytes								
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	2
Stomach								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Atrophy, epithelium, forestomach, mucosa								
Minimal	0	1	2	4	0	0	0	4
Tongue								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Atrophy, epithelium, mucosa								
Minimal	0	0	4	4	0	2	2	4
Recovery Phase								
Number of Toxicity Animals in Recovery	2	2	2	2	2	2	2	2
No noteworthy findings in recovery phase								

* = Statistically significant ($p \leq 0.05$, Dunnett's t test) based on actual data (not on percent difference)

- = No noteworthy findings; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = Maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practices; BLQ = Below the limit of quantitation (<10.0 ng/mL); T_{max} = Time of maximum observed concentration; $E^6 = 10^6$

2.6.7.7.4 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies)

Test Article: Selpercatinib

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Gottingen Minipigs with a 4-Week Recovery Phase		**Study No.** LOXO-292-TOX-012
Species/Strain: Minipig / Gottingen	**Duration of Dosing**: 13 weeks[a]	**Location in CTD**: 4.2.3.2.7
Initial Age: 5 to 7 months	**Duration of Recovery**: 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted]20[redacted](males) [redacted]20[redacted](females)	**Method of Administration**: Oral gavage	
	Vehicle / Formulation: 1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium (medium viscosity; 400-800 cP), 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate in deionized water	**GLP Compliance**: Yes
Special Features: Electrocardiograms		
Highest Non-Severely Toxic Dose: 5 mg/kg/day for males **No Observed Adverse Effect Level:** 5 mg/kg/day for females; not determined for males		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (Low)**		**5 (Mid)**		**15 (High)[a]**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Animals at Study Start	6	6	6	6	6	6	6	6
Dosing Phase								
Mean Toxicokinetics:								
Day 1								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	NC	NC	2780	3620	7740	7810	19000	17000
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	166	202	493	413	1220	1080
T_{max} (h)[b]	-	-	4.0	8.0	4.0	8.0	4.0	16.0
Day 91								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	NC	NC	4710	3690	13200	11900	NA	NA
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	255	183	712	565	NA	NA
T_{max} (h) [b]	-	-	6.0	8.0	4.0	4.0	NA	NA
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	1[c]	0	1[c]	0	0	3[d]	4[d]
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic Examinations	Detailed data is shown in 2.6.6.3.7.							

(Continued)

2.6.7.7.4 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Gottingen Minipigs with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-012	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (Low)**		**5 (Mid)**		**15 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Animals at Study Start	6	6	6	6	6	6	6	6
Dosing Phase (Continued)								
Hematology[e]								
Neutrophil ($10^3/\mu L$)	1.90	2.13	-	-	-	-	3.28	3.84
Coagulation [e]								
Fibrinogen (mg/dL)	216	187	-	-	-	-	>424	285
Clinical Chemistry [e]								
Albumin (g/dL)	5.0	4.9	-	-	-	-	4.4	4.4
Globulin (g/dL)	1.4	1.7	-	-	-	-	1.4	1.8
Albumin:Globulin ratio	3.6	3.0	-	-	-	-	3.4	2.7
Chloride (mmol/L)	98	100	-	-	-	-	99	99
Sodium (mmol/L)	142	146	-	-	-	-	147	148
Phosphorus (mg/dL)	7.6	8.0	-	-	-	-	8.1	8.7
Urea nitrogen (mg/dL)	7	8	-	-	-	-	11	13
Alkaline phosphatase U/L	150	146	-	-	-	-	233	265
Glucose (mg/dL)	84	80	-	-	-	-	85	68
Urinalysis								
Specific gravity	1.010	1.012	-	-	-	-	1.031	1.027
Organ Weights								
Testis								
Absolute Organ Weight (%)[f]	46.270 g	NA	-19.2	NA	-44.4*	NA	NA	NA
Organ to Body Weight (%)	0.2566	NA	0.2066	NA	0.1393*	NA	NA	NA
Organ to Brain Weight (%)	71.6092	NA	60.0159	NA	39.9698*	NA	NA	NA
Epididymis								
Absolute Organ Weight (%)[f]	31.564 g	NA	-16.2	NA	-28.7	NA	NA	NA
Organ to Body Weight (%)	0.1768	NA	0.1437	NA	0.1209	NA	NA	NA
Organ to Brain Weight (%)	48.6858	NA	41.9704	NA	34.9930	NA	NA	NA
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

(Continued)

2.6.7.7.4 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Gottingen Minipigs with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-012	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (Low)**		**5 (Mid)**		**15 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Animals at Study Start	6	6	6	6	6	6	6	6
Dosing Phase (Continued)								
Histopathology								
Number of Animals Examined	4	3	4	3	4	4	3[g]	4[g]
Stomach								
Atrophy, epithelium								
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	3
Marked	0	0	0	0	0	0	1	1
Degeneration/necrosis, mucosa, nonglandular								
Slight	0	0	0	0	0	0	3	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Erosion/ulcer								
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	3
Inflammation, neutrophils								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	2
Esophagus								
Atrophy, mucosa								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Degeneration/necrosis, mucosa								
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Erosion/ulcer								
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation, neutrophils								
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1

(Continued)

2.6.7.7.4 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Gottingen Minipigs with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-012	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (Low)**		**5 (Mid)**		**15 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Number of Animals at Study Start	6	6	6	6	6	6	6	6
Dosing Phase (Continued)								
Femur								
Increased thickness, physis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Marked	0	0	0	0	0	0	0	2
Testis								
Degeneration/Atrophy, tubular								
Minimal	4	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Slight	0	NA	1	NA	0	NA	3	NA
Moderate	0	NA	2	NA	1	NA	0	NA
Marked	0	NA	0	NA	3	NA	0	NA
Epididymis								
Debris, cellular, lumen								
Minimal	0	NA	0	NA	2	NA	2	NA
Slight	0	NA	2	NA	2	NA	0	NA
Ovary								
Corpora lutea, decreased								
Marked	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
Cyst, corpus luteum								
Present	NA	0	NA	1	NA	2	NA	2
Tongue								
Atrophy, mucosa								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0

(Continued)

2.6.7.7.4 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Gottingen Minipigs with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-012	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (Low)**		**5 (Mid)**		**15 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Recovery Phase						0		
Number of Animals in Recovery	2	2	2	2	2	2	3	2
Organ Weights								
Testis								
Absolute Organ Weight (%)[f]	43.232 g	NA	-24.4	NA	-31.1	NA	-48.7	NA
Organ to Body Weight (%)	0.2005	NA	0.1742	NA	0.1518	NA	0.1407	NA
Organ to Brain Weight (%)	67.8551	NA	53.4674	NA	43.5392	NA	34.3273	NA
Epididymis								
Absolute Organ Weight (%)[f]	25.185 g	NA	-9.1	NA	-15.7	NA	-3.7	NA
Organ to Body Weight (%)	0.1172	NA	0.1243	NA	0.1073	NA	0.1539	NA
Organ to Brain Weight (%)	39.6027	NA	37.3104	NA	30.9289	NA	37.6195	NA
Histopathology								
Number of Animals Examined	2	2	2	2	2	2	3	2
Testis								
Degeneration/Atrophy, tubular								
Minimal	2	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Slight	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Moderate	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
Marked	0	NA	1	NA	1	NA	2	NA
Epididymis								
Debris, cellular, lumen								
Minimal	0	NA	1	NA	0	NA	2	NA
Slight	0	NA	1	NA	2	NA	0	NA
Ovary								
Cyst, corpus luteum								
Present	NA	0	NA	1	NA	1	NA	0

(Continued)

2.6.7.7.4 91-Day Repeated-Dose Toxicity in Minipigs (Pivotal Studies) (Contd)

Report Title: A 13-Week Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-292 in Gottingen Minipigs with a 4-Week Recovery Phase							**Study No.** LOXO-292-TOX-012	
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (Low)**		**5 (Mid)**		**15 (High)**	
Sex	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
Recovery Phase (Continued)						0		
Number of Animals in Recovery	2	2	2	2	2	2	3	2
Stomach								
Atrophy, epithelium								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Esophagus								
Atrophy, mucosa								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0

- = No noteworthy findings; AUC_{0-24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; BLQ = Below the lower limit of quantitation (<10.0 ng/mL); GLP = Good Laboratory Practices; NA = Not applicable; NC = Not calculated; T_{max} = Time of maximum observed concentration; * = Statistically significant ($p \leq 0.05$, Dunnett's t test) based on actual data (not on percent difference).

a Dosing was discontinued on Days 26 (females) or 27 (males) of the dosing phase for animals administered 15 mg/kg/day, due to clinical observations and unscheduled sacrifices during Week 4 of the dosing phase, and all surviving animals administered 15 mg/kg/day were admitted to 4 weeks of recovery.

b Median is reported for T_{max}.

c One control female and one female administered 2 mg/kg/day were sacrificed in a moribund condition on Day 89 or 90 of the dosing phase, respectively. The animal given 2 mg/kg/day was sacrificed due to humane reasons based on excoriations/abrasions on the hoof/pad and bruising on the limb. These deaths were considered not test-article related.

d Animals were sacrificed in a moribund condition on Day 27 (males) or 26 (females) of the dosing phase due to adverse clinical observations including lameness, reluctance to rise, lateral recumbency, hypoactivity, and anorexia. Upon veterinary examination, additional observations included shivering or tremors; standing with feet underneath, which appeared painful; ataxia when standing; lying down soon after standing; and knuckling down to knee first. These deaths were considered selpercatinib related.

e Group means are shown. Day 40 values for controls and Day 27 (males) or 26 (females) values for high dose animals.

f For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

g Animals (three males and four females) sacrificed at unscheduled interval.

2.6.7.8 Genotoxicity: In Vitro

2.6.7.8.1 Bacterial Reverse Mutation Assay (Screening assay)

Test Article: Selpercatinib

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		**Study No.** LOXO-292-TOX-005
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 1	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1.1
Strains: *S. typhimurium* TA98, TA100	**No. of Replicate Cultures:** 2	**GLP Compliance:** No
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Cultured:** TA98 = 1.3 x 10^8; TA100 = 1.1 x 10^8	
Vehicles: Test Article: DMSO **Positive Controls:** Deionized (DI) Water (sodium azide only); DMSO (all other positive controls)		
Treatment: Plate incorporation for 48 to 72 hr	**Date of Assay:** [redacted]20[redacted] – [redacted]20[redacted]	
Cytotoxic Effects: Yes		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	Dose (µg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD) Strain TA98	Strain TA100	Strain TA98	Strain TA100
		Without Metabolic Activation		With Metabolic Activation	
DMSO	50 µL	16 ± 6 [a]	89 ± 13 [a]	18 ± 0 [a]	99 ± 15 [a]
Selpercatinib	1.50	12 ± 4 [a]	87 ± 8 [a]	16 ± 5 [a]	90 ± 2 [a]
	5.00	10 ± 6 [a]	77 ± 11 [a]	12 ± 5 [a]	94 ± 4 [a]
	15.0	12 ± 2 [a]	74 ± 5 [a]	15 ± 6 [a]	89 ± 22 [a]
	50.0	12 ± 2 [a]	100 ± 13 [a]	20 ± 3 [a]	83 ± 2 [a]
	150	11 ± 6 [a]	87 ± 6 [a]	23 ± 0 [a]	96 ± 9 [a]
	500	9 ± 1 [a b]	91 ± 19 [a b]	23 ± 1 [a b]	123 ± 23 [a b]
	1500	13 ± 6 [a b]	90 ± 4 [a b]	22 ± 3 [a b]	113 ± 21 [a b]
	5000	7 ± 1 [a b]	91 ± 4 [a b]	12 ± 3 [a b]	92 ± 14 [a b]
2-nitrofluorene	1.0	157 ± 33 [a ##]	-	-	-
sodium azide	1.0	-	440 ± 2 [a ##]	-	-
2-aminoanthracene	2.0	-	-	470 ± 46 [a ##]	484 ± 33 [a ##]

[a] = Normal background; [b] = Non-interfering precipitate; [##] = greater than or equal to 3.0 times the vehicle control

GLP = Good Laboratory Practice; DMSO = dimethylsulfoxide; DI = deionized; hr = hour; SD = Standard Deviation

2.6.7.8.2 Bacterial Reverse Mutation Assay

Test Article: Selpercatinib

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		**Study No.** LOXO-292-TOX-006
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 2	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1.2
Strains: *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537; *E. coli* WP2 *uvr*A	**No. of Replicate Cultures:** 3	**GLP Compliance:** Yes
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Cultured:** 1.7 to 3.3 x 10^8 cells per plate	
Vehicles: Test Article: DMSO **Positive Controls:** DMSO, except sterile water for sodium azide		
Treatment: Plate incorporation for 48 to 72 hr	**Date of Assay:** [redacted]20[redacted]	
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

Treatment	Dose (µg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD) Strain				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA
Without Activation						
DMSO	200 µL/plate	13 ± 3	78 ± 7	15 ± 1	8 ± 4	29 ± 9
Selpercatinib	33.3	13 ± 3	83 ± 14	14 ± 5	6 ± 2	21 ± 3
	100	17 ± 4	94 ± 8	10 ± 1	7 ± 4	18 ± 5
	333	14 ± 3	81 ± 14	10 ± 1	6 ± 3	18 ± 0
	1000 P	13 ± 3	93 ± 20	13 ± 6	6 ± 2	23 ± 6
	3333 P	12 ± 3	95 ± 9	9 ± 2	7 ± 2	20 ± 3
	5000 P	14 ± 2	82 ± 8	11 ± 2	7 ± 1	29 ± 8
2-nitrofluorene	1.00	110 ± 21	-	-	-	-
sodium azide	1.00	-	569 ± 22	508 ± 29	-	-
9-aminoacridine	75.0	-	-	-	439 ± 76	-
methyl methanesulfonate	1000	-	-	-	-	388 ± 14

(Continued)

2.6.7.8.2 Bacterial Reverse Mutation Assay (Contd)

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay					**Study No.** LOXO-292-TOX-006	
Treatment	**Dose (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean ± SD) Strain**				
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 uvrA**
With Activation						
DMSO	200 µL/plate	24 ± 6	116 ± 8	9 ± 2	8 ± 1	20 ± 5
Selpercatinib	33.3	20 ± 6	129 ± 7	13 ± 4	6 ± 2	25 ± 5
	100	21 ± 8	127 ± 8	10 ± 3	8 ± 3	23 ± 11
	333	25 ± 6	120 ± 13	10 ± 2	9 ± 2	19 ± 6
	500	20 ± 2	109 ± 7	-	-	-
	750	23 ± 5	132 ± 14	-	-	-
	1000 P	20 ± 3	111 ± 4	9 ± 3	9 ± 6	20 ± 7
	2000 P	25 ± 8	111 ± 9	-	-	-
	3333 P	21 ± 3	101 ± 5	12 ± 3	6 ± 2	25 ± 2
	5000 P	20 ± 4	102 ± 1	13 ± 2	8 ± 1	19 ± 2
2-aminoanthracene	1.00	232 ± 21	-	104 ± 13	-	-
2-aminoanthracene	2.00	-	715 ± 41	-	81 ± 38	-
2-aminoanthracene	15.0	-	-	-	-	413 ± 3

P = precipitate

GLP = Good Laboratory Practice; DMSO = dimethylsulfoxide; hr = hour; SD = Standard Deviation

2.6.7.8.3 In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)

Test Article: Selpercatinib

Report Title:	*In Vitro* Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)			**Study No.:**	LOXO-292-TOX-007
Test for Induction of:	Micronuclei	**No. of Independent Assays:**	2	**Location in CTD:**	4.2.3.3.1.3
Strains:	Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)	**No. of Replicate Cultures:**			
Metabolizing System:	Aroclor 1254-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	1000		
Vehicles: **For Test Article:**	DMSO	**For Positive Controls:**	Water (CP, VB)	**GLP Compliance:**	Yes
Treatment:	24 hr without S9; 4 hr with 20 hr recovery period with and without S9	**Date of Treatment:**	[redacted]20[redacted] (Micronucleus Assay)		

Cytotoxic Effects:	In the micronucleus assay, cytotoxicity (≥45% CBPI relative to the vehicle control) was not observed at any dose in the non-activated and S9-activated 4-hour exposure groups. In the non-activated 24-hour exposure group, cytotoxicity was observed at doses ≥9 µg/mL.
Genotoxic Effects:	In the non-activated 4-hour exposure group, a small statistically significant and dose-dependent increase in micronuclei induction (1.15%) was observed at 150 µg/mL ($p \leq 0.01$; Fisher's Exact test and $p \leq 0.05$, Cochran-Armitage test). In addition, a visible precipitate was observed at the concentration of 150 µg/mL. Even though this effect was outside the 95% control limits and met the criteria for a positive result, it was within the observed historical control range (0.05-1.43% micronucleated cells 4 hour without metabolic activation). While the data for the concurrent vehicle control of the 4-hour treatment was within the historic range and within the 95% control limits, it was lower than the data obtained for the vehicle controls of the other two treatment conditions in the assay. The effect at 150 µg/mL selpercatinib in the 4-hour treatment without metabolic activation may not have been statistically significant compared to the other vehicle controls (0.70% 4-hour with metabolic activation; 0.85% 24-hour without metabolic activation). Based upon the fact that only a small increase in micronucleated cells was observed that was within the historical range, and only at a precipitating concentration, the effect can be concluded as biologically not relevant, the weight of evidence for this type of effect indicates a lack of genotoxic potential.

(Continued)

2.6.7.8.3 In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL) (Contd)

Report Title:	*In Vitro* Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)	**Study No.:**	LOXO-292-TOX-007

Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose µg/mL**	**CBPI[a]**	**Cytotoxicity[b] (% of Control)**	**Percentage of MNBN[c] Cells Per Total BN[d] Cells Counted**
24-hr Continuous Treatment Without Activation	DMSO	NA	1.692	NA	0.85
	Selpercatinib	5	1.614	11	1.10
	Selpercatinib	7	1.523	24	0.90
	Selpercatinib	9	1.345	50	1.30
	VB	10 ng/mL	1.318	54	3.60**
4-hr Treatment With 20 hr Recovery Without Activation	DMSO	NA	1.695	NA	0.40
	Selpercatinib	15	1.700	-1	0.45
	Selpercatinib	50	1.691	1	0.65
	Selpercatinib	150 p	1.677	3	1.15**
4-hr Treatment With 20 hr Recovery With Activation	DMSO	NA	1.673	NA	0.70
	Selpercatinib	15	1.695	-3	0.60
	Selpercatinib	50	1.663	1	0.45
	Selpercatinib	500 p	1.644	4	0.95
	CP	7.5	1.336	50	1.55**

DMSO = Dimethyl sulfoxide; CP = Cyclophosphamide; VB = Vinblastine; NA = Not Applicable; Fisher's Exact Test: ** p≤0.01; p = Visible precipitate was observed in the treatment medium at the conclusion of the treatment period

a. CBPI = cytokinesis-blocked proliferation index
b. Relative to vehicle control
c. MNBN = micronucleated binucleated
d. BN = binucleated

2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo

2.6.7.9.1 Micronucleus Dose Range Finder Assay in Rats (1st study)

Test Article: Selpercatinib

Report Title: *In Vivo* Mammalian Erythrocyte Micronucleus Dose Range Finder Assay in Rats		**Study No.** LOXO-292-TOX-013 **Location in CTD:** 4.2.3.3.2.1
Test for: Reduced %PCE in bone marrow		**Treatment Schedule:** Single dose
Species / Strain: Rat / Hsd:SD	**Sampling Time:** approximately 45 to 48 h post-dose	**GLP Compliance:** No
Initial Age: 6 weeks	**Method of Administration:** Oral Gavage	**Dose volume:** 20 mL/kg
No. of Cells Evaluated / Animal: Bone marrow cells [polychromatic erythrocytes plus normochromatic erythrocytes (at least 500 total erythrocytes/animal)]	**Vehicle / Formulation:** 1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium (medium viscosity; 400-800 cP, 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate (SDS; synonymous with sodium lauryl sulfate in deionized water.	**Date of Treatment:** [redacted]20[redacted]
Special Features: Clinical toxicity was assessed based on survival, clinical observations, and body weights		
Toxicity: No mortality; piloerection at ≥500 mg/kg in males and females; moderate weight loss in males at ≥250 mg/kg and in females at ≥500 mg/kg		
Cytotoxic Effects: None. Females at 1000 and 2000 mg/kg had 52 and 51% toxicity, respectively, which was within the range (50 to 80%) for MFD.		

Summary of Bone Marrow PCE/NCE Analysis Following a Single Oral Administration of Selpercatinib **in SD rats**

Treatment/Doses (mg/kg)	Sex	Time (h)	Number of Animals	%PCE (Mean ± SD)	Cytotoxicity (%)
Vehicle Control	M	48	3	53.9 ± 1.6	NA
	F	48	3	53.4 ± 1.1	NA
Selpercatinib/ 250	M	48	3	50.7 ± 1.1	-6
	F	48	3	52.7 ± 0.8	-1
Selpercatinib/ 500	M	48	3	48.3 ± 3.1	-10
	F	48	3	46.3 ± 4.0	-13
Selpercatinib/ 1000	M	48	3	31.4 ± 6.1	-42
	F	48	3	25.7 ± 6.3	-52
Selpercatinib/ 2000	M	48	3	28.6 ± 2.1	-47
	F	48	3	26.3 ± 3.7	-51

M = male; F = female; h = hour
GLP = Good Laboratory Practice; %PCE = % polychromatic erythrocytes; SD = Standard Deviation; MFD = Maximum feasible dose

2.6.7.9.2 Micronucleus Dose Range Finder Assay in Rats (2nd study)

Test Article: Selpercatinib

Study Title: *In Vivo* Mammalian Erythrocyte Micronucleus Dose Range Finder Assay in Rats		**Study No.** LOXO-292-TOX-018 **Location in CTD:** 4.2.3.3.2.2
Test for: Assessment of toxicity (clinical signs, body weights and PCE/NCE analysis) and bone marrow toxicity by histopathology and cytology assessment and determination of maximum tolerated dose (MTD)		**Treatment Schedule:** Single dose
Species / Strain: Rat	**Sampling Time:** 24 - 48 h post-dose	**GLP Compliance:** Yes
Initial Age: 7 weeks	**Method of Administration:** Oral Gavage	**Dose volume:** 20 mL/kg
No. of Cells Evaluated / Animal: Bone marrow cells [polychromatic erythrocytes plus normochromatic erythrocytes (at least 500 total erythrocytes/animal)]	**Vehicle / Formulation:** 1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium (medium viscosity; 400-800 cP), 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate (SDS; synonymous with sodium lauryl sulfate) in deionized water.	**Date of Treatment:** [redacted]20[redacted]
Special Features: Histopathology and cytology of bone marrow		
Toxicity: No mortality; piloerection and hunched position at ≥500 mg/kg on Day 3; non-dose-responsive moderate weight loss (10-12%) at ≥500 mg/kg		
Cytotoxic Effects: A dose-dependent reduction in the %PCE was observed in the test article groups compared to the vehicle control group, with 30% toxicity observed at 1000 mg/kg and 20% at 2000 mg/kg.		
Cytology: Bone marrow cytological abnormalities noted at all doses consistent with dyserythropoiesis at ≥500 mg/kg and bone marrow hypoplasia at ≥1000 mg/kg.		
Histopathology: Decreased hematopoietic cells and/or necrosis at all dose groups; the findings increased in severity in a time and dose-dependent manner. Decreased hematopoietic cells was observed starting at the 12-hour/2000 mg/kg group.		

Summary of Bone Marrow PCE/NCE Analysis Following a Single Oral Administration of Selpercatinib in SD rats

Selpercatinib (mg/kg)	Sex	Time (h)	Number of Animals	%PCE (Mean ± SD)	Cytotoxicity (%)
0	M	24	3	72.5 ± 1.7	NA
500	M	24	3	71.3 ± 3.5	-2
1000	M	24	3	72.2 ± 4.7	0
2000	M	24	3	79.7 ± 3.7	10
0	M	48	3	62.7 ± 7.2	NA
500	M	48	3	68.9 ± 4.1	10
1000	M	48	3	44.1 ± 13.6	-30
2000	M	48	3	49.9 ± 13.3	-20

M = male; h = hour; GLP = Good Laboratory Practice; %PCE = % polychromatic erythrocytes; SD = Standard Deviation
Nominal dose concentration for 500, 1000 and 2000 mg/kg groups are 25, 50 and 100 mg/mL, respectively. Dose concentration analysis was conducted on the primary and back up samples of the 25, 50, and 100 mg/mL samples and though they did not meet acceptance criteria this did not impact the outcome of the assay since bone marrow toxicity was noted at all doses. Measured concentrations based on the results from the primary sample analysis were 19.2 mg/mL, 37.3 mg/mL and 79.2 mg/mL, respectively. Nominal doses are presented.

2.6.7.9.3 Micronucleus Assay in Rats

Study Title: In Vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Assay in Rats				**Test Article:** Selpercatinib **Study No.:** LOXO-292-TOX-021 **Location in CTD:** 4.2.3.3.2.3	
Test for Induction of:	Bone marrow micronuclei	**Treatment Schedule:**	Single dose	**GLP Compliance:** Yes	
Species/Strain/Sex:	Sprague-Dawley (Hsd:SD) male rats	**Sampling Times:**	24, 48 hours post-dose		
Initial Age:	7 weeks	**Route of Administration:**	Oral gavage	**Dose volume:**	20 mL/kg
Cells Evaluated:	Polychromatic erythrocytes (PCE)	**Vehicle for the Test Article Formulation:**		1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium (medium viscosity; 400-800 cP) and 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate in deionized water	
		Positive control:		Cyclophosphamide (CP)[a]	
No. of Cells Analyzed/Animal:	4000 PCE/animal	**Feeding Condition:**	*Ad libitum*	**Date of Dosing:**	[redacted]20[redacted]
Special Features:	Bioanalysis, Toxicokinetic Analysis and Histopathology				
Toxic/Cytotoxic Effects:	No mortality occurred at any dose level during the course of the assay. Piloerection was observed in all animals and ruffled fur was also observed at 300 mg/kg/dose. No appreciable reductions in the %PCE were observed with the test article groups compared to the vehicle control groups.				
Histopathology Results:	Selpercatinib-related microscopic findings in the bone marrow (sternum) of male rats included necrosis and multilobulated cells (only at ≥300 mg/kg), decreased hematopoietic cells and increased mitoses at ≥150 mg/kg in a dose and time dependent manner. Mitoses were not present at 150 mg/kg at 24 hours post-dose and were minimal at 48 hours post-dose. At ≥300 mg/kg increases were mild and equivalent at both doses. There were no direct microscopic findings at the 37.5 mg/kg and 75 mg/kg groups at 24 hours.				
Genotoxic Effects:	At 24 hours, no statistically significant increase in the incidence of MnPCEs was observed in the test article treated groups relative to the vehicle control group. At 48 hours, 300 and 500 mg/kg were statistically significant increased relative to the vehicle control group.				
Evidence of Exposure:	Measurable concentrations of selpercatinib were detected in the plasma samples of test article treated groups. Plasma samples from the vehicle control group showed no quantifiable levels of selpercatrinib. At 150 mg/kg: C_{max} = 21000 ng/mL and AUC_{last} = 481000 ng·h/mL and AUC_{0-24} = 364000 ng·h/mL.				

[a] Scoring positive control slides (fixed and unstained), generated from BioReliance Study No. AF27JM.125M012.BTL, were included to verify scoring.

(Continued)

2.6.7.9.3 Micronucleus Assay in Rats (Contd)

Study Title: In Vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Assay in Rats					**Study No.:** LOXO-292-TOX-021		
Summary of Bone Marrow Micronucleus Analysis Following a Single Oral Administration of LOXO-292 in SD rats							
Treatment/Doses (mg/kg	**Sex**	**Time (h)**	**Number of Animals**	**%PCE (Mean ± SD)**	**Cytotoxicity (%)**	**%MnPCE (Mean ± SD)**	**Number MnPCE/PCE scored**
Vehicle Control / 0	M	24	6	53.9 ± 6.4	NA	0.11 ± 0.02	25 / 24000
Selpercatinib / 37.5	M	24	6	49.7 ± 2.4	-8	0.08 ± 0.02	18 / 24000
Selpercatinib / 75	M	24	6	50.1 ± 4.8	-7	0.08 ± 0.02	18 / 24000
Selpercatinib / 150	M	24	6	48.9 ± 4.6	-9	0.11 ± 0.05	27 / 24000
Selpercatinib / 300	M	24	6	48.6 ± 6.3	-10	0.12 ± 0.05	28 / 24000
Selpercatinib / 500	M	24	6	47.5 ± 8.5	-12	0.11 ± 0.03	26 / 24000
CP / 40	M	24	8	47.1 ± 11.6	-13	2.59 ± 0.50**	828 / 32000
Vehicle Control / 0	M	48	6	51.3 ± 3.8	NA	0.09 ± 0.01	20 / 24000
Selpercatinib / 150	M	48	6	57.4 ± 6.8	12	0.13 ± 0.06	31 / 24000
Selpercatinib / 300	M	48	6	55.3 ± 3.0	8	0.54 ± 0.21**	129 / 24000
Selpercatinib / 500	M	48	6	47.8 ± 13.9	-7	0.59 ± 0.21**	141 / 24000

M = male; h = hour; GLP = Good Laboratory Practice; %PCE = % polychromatic erythrocytes; SD = Standard Deviation; PCE = Polychromatic Erythrocytes; MnPCE = Micronucleated Polychromatic Erythrocytes; CP = Cyclophosphamide

**p<0.01, One-Way ANOVA with Post-Hoc Dunnett's Test or T-Test for 24 hours

Noninal dose concentration for 37.5, 75, 150, 300 and 500 mg/kg groups are 1.88, 3.75, 7.5, 15 and 25 mg/mL, respectively, Dose concentration analysis was conducted on the primary samples. All primary analytical results met acceptance criteria, with the exception of the primary 1.88 mg/mL samples. When backup 1.88 mg/mL samples were analyzed, they met acceptance criteria.

2.6.7.10　Carcinogenicity (Not applicable)

2.6.7.11　Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Studies (Not applicable)

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Effect on Fertility and Early Embryonic Development (Pivotal)

2.6.7.12.1 Male Fertility in Rats

Report Title: A Fertility and General Reproduction Study of LOXO-292 Administered by Oral (Gavage) in Male Rats					**Test Article: Selpercatinib**
Design similar to ICH 4.1.1? Yes **Species/Strain:** Rat/Sprague Dawley (Crl:CD(SD)) **Initial Age:** Approximately 60 days		**Duration of Dosing:** Males: 28 days prior to mating through the day prior to euthanasia (Day 1-49)			**Study No.** LOXO-292-TOX-025 **Location in CTD:** 4.2.3.5.1.1
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]		**Day of Mating:** GD 0			
Special Features: Toxicokinetic Evaluation		**Day of C-Section:** GD 13 (Untreated Females)			
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Males- General Toxicity:** 10 mg/kg/day **F_0 Males- Reproductive Toxicity:** Not determined		**Method of Administration: Oral** Gavage **Vehicle/Formulation:** 1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium (medium viscosity; 400 to 800 cP), 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate in Reverse Osmosis (R.O.) deionized water.			**GLP Compliance:** Yes
Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Males	Composite Toxicokinetics: No. Evaluated (3 animals/timepoint)	3	6	6	6
	Day 1 AUC_{0-24} (ng·h/mL)	BLQ	8180	34000	91600
	Day 49 AUC_{0-24} (ng·h/mL)	BLQ	12100	45700	117000
	No. Evaluated	22	22	22	22
	No. Died or Sacrificed Moribund[a]	0	0	0	0
	Clinical Observations:				
	Dehydration	0	0	0	9
	Hunched Posture	0	0	0	10
	Ungroomed fur	0	0	1	8
	Erect fur	0	0	0	7
	Eye discharge, red or brown	0	0	0	3
	Thin body condition	0	0	0	5
	Broken teeth	0	0	0	17
	Malocclusion	0	1	0	3
	Missing Teeth	0	0	0	1
	Discolored Teeth	0	0	0	1
	Necropsy Observations	-	-	-	-

(Continued)

2.6.7.12.1 Male Fertility in Rats (Contd)

Report Title: A Fertility and General Reproduction Study of LOXO-292 Administered by Oral (Gavage) in Male Rats				**Study No.** LOXO-292-TOX-025	
Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Males	Body Weight Day 29 (%)[b]	496.4 g	-0.3	+1.3	-1.0
	Food Consumption Day 1-28 (%)[b]	30.6 g/ day	-2.2	+0.1	-1.8
	Histopathology				
	Testis				
	Depletion; germ cell				
	Minimal	0	2	9	11
	Mild	0	0	0	8
	Moderate	0	0	0	3
	Spermatid retention				
	Minimal	0	3	3	9
	Mild	0	0	0	7
	Degeneration/atrophy; seminiferous tubule				
	Minimal	2	1	2	3
	Mild	1	0	0	2
	Moderate	0	1	0	0
	Marked	1	0	0	0
	Epididymis				
	Cellular debris; lumen				
	Minimal	5	1	1	6
	Mild	0	0	0	2
	Moderate	0	0	0	1
	Decreased cellularity; lumen				
	Minimal	0	1	0	1
	Mild	0	0	0	1
	Severe	1	0	0	0
	Organ Weights[b]				
	Epididymis, Left				
	Absolute value	0.773 g	+6.70	-1.66	-8.42
	% of body weight	0.134%	+6.53	-1.70	+2.24
	Epididymis, Right				
	Absolute value	0.929 g	-9.72	-14.65	-21.56
	% of body weight	0.157%	-8.55	-13.33	-10.63

(Continued)

2.6.7.12.1 Male Fertility in Rats (Contd)

Report Title: A Fertility and General Reproduction Study of LOXO-292 Administered by Oral (Gavage) in Male Rats					**Study No.** LOXO-292-TOX-025
Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Males	Organ Weights[b] (Continued)				
	Seminal Vesicle				
	Absolute value	2.51 g	+0.43	-4.98	-20.65**
	% of body weight	0.433%	+1.14	-5.64	-12.72
	Testis, Left				
	Absolute value	1.77 g	+8.29*	+2.07	-16.16**
	% of body weight	0.305%	+8.50	+1.93	-5.82
	Testis, Right				
	Absolute value	1.83 g	+3.47	-1.37	-20.69**
	% of body weight	0.316%	+3.12	-1.86	-11.42**
	Sperm Evaluations				
	Sperm Morphology				
	Percent Abnormal (%)	4.5	4.1	5.0	9.5
	Detached Head (%)	2.5	2.4	2.9	5.1
	No Head (%)	1.8	1.5	1.8	3.8
	Broken Flagellum (%)	0.2	0.2	0.5×	0.8×
	Sperm Motility				
	Motility (%)	79.7	78.5	77.8	69.0
	Sperm concentration	-	-	-	-

(Continued)

2.6.7.12.1 Male Fertility in Rats (Contd)

Report Title: A Fertility and General Reproduction Study of LOXO-292 Administered by Oral (Gavage) in Male Rats				**Study No.** LOXO-292-TOX-025	
Daily Dose (Males) (mg/kg)		**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Untreated Females	No. Evaluated	22	22	22	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Mean No. Days Prior to Mating	2.9	3.0	2.8	2.5
	No. of Females Sperm Positive	22	22	22	22
	No. of Pregnant Females	19	21	22	22
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Mean No. Corpora Lutea	17.1	17.8	16.5	16.6
	Mean No. Implantations	16.0	16.7	15.2	15.4
	Mean % Preimplantation Loss	5.98	5.37	8.67	7.10
	Mean No. Live Conceptuses	14.8	16.3	14.2	14.3
	Mean No. Dead Conceptuses	1.2	0.4	1.0	1.1
	Mean % Postimplantation Loss	7.23	2.54	6.43	7.37

- = No noteworthy findings; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practices
Tests for Statistical Significance: Anova & Dunnett's Test: * = $p \leq 0.05$, ** = $p \leq 0.01$
Dunn's Test: ˣ = $p \leq 0.05$, ˣˣ = $p \leq 0.01$

a. One TK male administered in 10 mg/kg/day dose group was found dead on Day 26 and one TK male in the 30 mg/kg/day dose group was euthanized on Day 43. The relationship of the unscheduled death of the male given 10 mg/kg/day with the administration of selpercatinib seemed unlikely based on the very low incidence of mortalities during the course of this study and on the absence of clinical signs in this animals and other animals in this dose group. For the male given 30 mg/kg/day, clinical signs for this rat included a swollen muzzle, thin body condition and a malocclusion, erect fur, ungroomed fur, abnormal feces, slight to severe dehydration (based on skin turgor), and hunched posture. This rat lost 147 g of body weight from Day 29 to 43. No abnormalities were noted at necropsy examination. This death could not be clearly attributed to test article since there were no other deaths in this dose group; however, based on the clinical signs and body weight loss noted in this animal, a relationship to test article cannot be completely ruled out.

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

2.6.7.12.2 Female Fertility and Early Embryonic Development in Rats

Report Title: A Fertility and Early Embryonic Development Study of LOXO-292 Administered by Oral (Gavage) in Female Rats		**Test Article: Selpercatinib**
Design similar to ICH 4.1.1? Yes **Species/Strain:** Rat/Sprague-Dawley (Crl:CD(SD)) **Initial Age:** approximately 60 days	**Duration of Dosing:** 15 days prior to cohabitation through GD 7	**Study No.** LOXO-292-TOX-023 **Location in CTD:** 4.2.3.5.1.2
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Day of Mating:** GD 0	
Special Features: Toxicokinetic Evaluation	**Day of C-Section:** GD 13	
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Females:** 25 mg/kg/day **F_1 Litters:** 25 mg/kg/day	**Method of Administration: Oral** Gavage **Vehicle/Formulation:** 1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium (medium viscosity; 400-800 cP), 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate in R.O. deionized water.	**GLP Compliance:** Yes

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**7.5**	**25**	**75**
Dams:	Composite Toxicokinetics: No. Evaluated (3 animals/timepoint)	3	6	6	6
	Day 1 AUC_{0-8} (ng·h/mL)	BQL	4590	13400	42400
	GD 7 AUC_{0-8} (ng·h/mL)	BQL	3000	15500	58900
	Day 1 AUC_{0-24} (ng·h/mL)	BQL	4890	15600	NA[a]
	GD 7 AUC_{0-24} (ng·h/mL)	BQL	3470	16300	NA[a]
	Main Study (No. Evaluated)	(22)	(22)	(22)	(22)
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[b]	0
	No. with All Nonviable Conceptuses	0	0	0	10**
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight Day 15 (%)[c]	273.1 g	+0.2	+1.9	+8.4**
	Gestation Body Weight GD 13 (%)[c]	342.4 g	+1.3	+0.1	+3.0
	Premating Food Consumption Day 1-15 (%)[c]	19.5 g/day	-10.4××	-7.4×	+2.4
	Gestation Food Consumption GD 0-13 (%)[c]	23.48 g/day	-9.32	-9.47	-9.77

(Continued)

2.6.7.12.2 Female Fertility and Early Embryonic Development in Rats (Contd)

Report Title: A Fertility and Early Embryonic Development Study of LOXO-292 Administered by Oral (Gavage) in Female Rats					**Study No.** LOXO-292-TOX-023
Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**7.5**	**25**	**75**
Dams:	Mean No. Estrous Cycles/14 days	2.4	2.2	2.3	1.8^{xx}
	Mean No. Days Prior to Mating	2.1	3.0	2.4	4.2^{xx}
	No. of Females Sperm Positive	20	20	21	21
	No. of Pregnant Females	19	22	20	20
	Mean No. Corpora Lutea	16.2	17.5	17.2	18.8^{xx}
	Mean No. Implantations	14.3	15.7	16.0	16.8^{xx}
	Mean % Preimplantation Loss	12.27	9.37	6.34	9.05
	Mean No. Live Conceptuses	12.9	15.0	14.9	5.8^{x}
	Mean No. Dead Conceptuses	1.4	0.7	1.1	11.1^{xx}
	Mean % Postimplantation Loss	11.96	4.24	7.03	68.96^{xx}

- = No noteworthy findings; BQL = Below the Lower Limit of Quantitation (<10.0 ng/mL); GD = Gestation Day

Statistical Tests for Significance:
Anova & Dunnett's Test: ** = p≤0.01
Kruskal-Wallis & Dunn's Test: ^{x} = p≤0.05, ^{xx}= p≤0.01
Fisher's Exact Test: ** = p≤0.01

[a] - AUC_{0-24} not reported due to the percent of AUC_{0-24} extrapolated from T_{last} to 24 hours greater than 25%.

[b] - One female in the 25 mg/kg/day dose group was euthanized due to ruptured left eye on Day 11. This mortality was not considered selpercatinib-related.

[c] - At end of premating or gestation 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).

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity: Effect on Embryofetal Development (Pivotal)

2.6.7.13.1 Embryofetal Development in Rats

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of LOXO-292 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Test Article: Selpercatinib**	
Design similar to ICH 4.1.3 ? No		**Duration of Dosing:** GD 6-17		**Study No.** LOXO-292-TOX-009	
		Day of Mating/Insemination: GD 0			
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)		**Day of Laparohysterectomy:** GD 21		**Location in CTD:** 4.2.3.5.2.1	
Initial Age: 10 to 11 weeks		**Method of Administration:** Oral Gavage			
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]		**Vehicle/Formulation:** 1% (w/v) carboxymethylcellulose sodium, 0.02% (w/v) sodium dodecyl sulfate in deionized water/suspension		**GLP Compliance: No**	
Special Features: Toxicokinetic Evaluation					
Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**50**	**100**	**200**
Dams:	Composite Toxicokinetics				
	No. of Animals (4 animals /timepoint)	4	8	8	8
	GD 6				
	C_{max} (ng/mL)	BQL	9260	15,700	18,400
	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	BQL	46,100	152,000	280,000
	T_{max} (h)	-	2	4	2
	$T_{1/2}$ (h)	-	NC	NC	7.13
	GD 17				
	C_{max} (ng/mL)	BQL	9580	14,600	23,100
	AUC_{0-t} (ng•h/mL)	BQL	75,800	185,000	241,000
	T_{max} (h)	-	2	2	4
	$T_{1/2}$ (h)	-	1.73	1.89	NC
	Main study				
	No. Evaluated	8	8	8	8
	No. Pregnant	8	8	8	8
	No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	6	8	8

(Continued)

2.6.7.13.1 Embryofetal Development in Rats (Contd)

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of LOXO-292 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Study No.** LOXO-292-TOX-009	
Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**50**	**100**	**200**
Dams:	Clinical Observations [a]				
	Daily Examinations				
	Dried red material around nose	0/0	0/0	1/1	8/5
	Dried red material facial area	0/0	0/0	0/0	5/1
	Dried red material forelimbs	0/0	0/0	0/0	18/6
	Dried red material ventral neck	0/0	0/0	0/0	7/2
	Dried red material urogenital area	0/0	0/0	0/0	7/4
	Wet red material urogenital area	0/0	0/0	0/0	3/3
	Wet red material around mouth	0/0	0/0	0/0	3/3
	Dried red material around mouth	0/0	0/0	0/0	6/5
	Hair Loss forelimbs	0/0	0/0	13/2	18/5
	Hair Loss dorsal trunk	0/0	3/1	0/0	0/0
	Hair Loss ventral trunk	0/0	0/0	3/1	0/0
	Hair loss lateral trunk	0/0	4/1	0/0	0/0
	Hair Loss facial area	0/0	1/1	0/0	0/0
	Hair Loss hindlimbs	0/0	0/0	1/1	0/0
	2 Hours Postdose				
	Dried red material around nose	0/0	0/0	0/0	3/3
	Body Weight, g (%) [b]				
	GD 18	340	297 (-12.6)**	291 (-14.4)**	267 (-21.5)**
	GD 21	394	293 (-25.6)**	290 (-26.4)**	278 (-29.4)**
	Body Weight Changed, g				
	GD 6-9	19	22	18	15
	GD 9-12	20	17	17	16
	GD 12-18	61	23**	16**	-4**
	GD 18-21	54	-5**	-1**	11**
	GD 6-18	100	62**	51**	27**
	Net Body Weight [c], g	295	289	289	277
	Net Body Weight Changed [d], g	86.6	79.4	80.6	66.5**
	Food Consumption, g/animal/day				
	GD 6-9	20	19	18	16
	GD 9-12	21	20	20	18
	GD 12-18	22	21	20	15**
	GD 6-18	21	20	19	16**

(Continued)

2.6.7.13.1 Embryofetal Development in Rats (Contd)

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of LOXO-292 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Study No.** LOXO-292-TOX-009	
Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**50**	**100**	**200**
Dams:	Gravid Uterine weight, g	98.5	4.2**	0.8**	0.9**
	Necropsy Observations	-	-	-	-
Litters:	No. Litters Evaluated	8	8	8	8
	Mean No. of Corpora Lutea	13.4	12.6	17.6**	13.8
	Mean No. of Implantations	13.0	11.8	12.5	12.4
	Mean % Preimplantation Loss	2.8	7.0	26.3	9.7
	Mean No. of Viable Fetuses	12.0	0.4**	0.0**	0.0**
	Mean No. Resorptions	1.0	11.4	12.5	12.4
	Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean % Postimplantation Loss	7.4	96.4+	100.0++	100.0++
	Mean % Viable Fetuses	92.6	3.6+	0.0++	0.0++
	Mean Fetal Body Weight, g (%) [b]	6.1	5.5 (-9.8)	NA	NA
	Mean Sex Ratio (% Males per Litter)	55.1	75.0	NA	NA
	Fetal Anomalies				
	Gross External Anomalies				
	Short Tail	1	2	A	A
	Fetal Localized Edema	0	1	A	A
	Snout - Small	0	1	A	A

A = No viable fetuses available for evaluation; - = No noteworthy findings; BQL= Below quantitation limit (<10.0 ng/mL); GD = Gestation day; NA = Not applicable; NC = Not calculable

Dunnett's Test ** = $p<0.01$ Proportional (%) data compared using Dunn's Test + = $p<0.05$, ++ = $p<0.01$

[a] Presented as the total occurrence/number of animals.

[b] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] Body weight on GD 21 – gravid uterine weight

[d] Body Weight Changed GD 0-21 - gravid uterine weight

2.6.7.14　Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development (Not applicable)

2.6.7.15　Studies in Juvenile Animals (Not applicable)

2.6.7.16　Local Tolerance (Not applicable)

2.6.7.17 Other Toxicity Studies

2.6.7.17.1 Impurities: In Vitro: Bacterial Mutation

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay　**Study No.:** AF82KD.502E.BTL　**Location in CTD: 4.2.3.7.7.1**

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells　**Number of Independent Assays:** 1
Strains: *S. typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, and TA100); *E. coli* (WP2 *uvrA*)　**Number of Replicate Cultures:** 3
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9
Treatment: Plate incorporation for 48 to 72 hours
Vehicles for Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO)
Vehicles for Positive Controls: Deionized (DI) Water (sodium azide only); DMSO (all other positive controls)

Test article	Dose (μg/plate)	Results		GLP compliance
		With S9	Without S9	
*不純物A	1.5, 5, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000	negative	negative	Yes

GLP = Good Laboratory Practice

2.6.7.17.2 Molar Extinction Coefficient Determination

Test Article: Selpercatinib

Report Title: LOXO-292 Molar Extinction Coefficient Determination			**Study No.** LOXO-292-TOX-003
Test for: Determination of molar extinction coefficient (MEC) to assess photoreactive potential			**Location in CTD**: 4.2.3.7.7.3
Selpercatinib Lot No. [redacted]	**Diluent:** MeOH	**Dilution ratio:** 1:25	**GLP Compliance:** No
Selpercatinib Stock Concentration: 0.35 mg/mL		**Selpercatinib Final Concentration:** 0.014 mg/mL	**Date of Assay:** [redacted]20[redacted]
UV Range Analyzed: 190 – 900 nm		**Number of UV Maxima between 290 and 700 nm:** 1 **Wavelength at UV Maxima:** [redacted]nm	**MEC =** [redacted] L mol^{-1} cm^{-1}

Selpercatinib Spectrum from 190 to 900 nM (MeOH)

[redacted]

Selpercatinib MEC Calculation

[redacted]

Conclusion: The UV spectrum shows one maximum between 290 nm and 700 nm and that maximum is [redacted] nm. The MEC, or € calculated for this wavelength is [redacted] L mol^{-1} cm^{-1}.

GLP = Good Laboratory Practices; MEC or € = Molar Extinction Coefficient; MeOH = CH3OH or Methanol; nm = nanometer; UV = ultra violet; MW = molecular weight; PF = purity factor; DF = dilution factor

2.6.7.17.3 In Vitro Phototoxicity Assay

Test Article: Selpercatinib

Report Title: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of LOXO-292 in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts	**Study No.** LOXO-292-TOX-004 **Location in CTD:** 4.2.3.7.7.2
Test to evaluate the phototoxic potential of selpercatinib: By measuring the relative reduction in viability of BALB/c 3T3 mouse fibroblasts exposed to the test article and ultraviolet radiation (+UVR) as compared with the viability of fibroblasts exposed to the test article in the absence of ultraviolet radiation (-UVR).	
Cells: BALB/c 3T3 mouse fibroblasts	**GLP Compliance:** Yes
No. of Definitive Assays: 2	
Method of definitive assay: In the definitive assays, the cells were exposed to 5 J/cm^2 of UVA and 21-22 mJ/cm^2 of UVB from a xenon arc solar simulator equipped with a Schott WG 320 filter.	
Vehicle: 1% Dimethylsulfoxide Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+} ions at a pH of 7.0-7.3	
Positive control: promethazine	
Conclusion: Selpercatinib did not demonstrate phototoxic potential in this assay.	

Definitive Assays Concentrations (µg/mL):

Test Material	Definitive Assays 1 and 2							
Promethazine	0.100	0.316	1.00	3.16	10.0	31.6	100	178
Selpercatinib	0.18	0.32	0.56	1.00	1.78	3.16	5.62	10

Based on the solubility, pH and range-finding assay results, the selpercatinib concentrations for the definitive assays were selected. Solubility evaluation revealed a solubility limit of 10.02 µg/mL for selpercatinib in 1% dimethylsulfoxide in Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+} ions at a pH of 7.0-7.3. The range-finding phototoxicity IC_{50} was 4.250 µg/mL and an IC_{50} was not achieved for cytotoxicity.

(Continued)

2.6.7.17.3 In Vitro Phototoxicity Assay (Contd)

Report Title: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of LOXO-292 in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts | **Study No.** LOXO-292-TOX-004

Definitive Assays Results:

Test Material	IC_{50} (µg/mL) –UVR	IC_{50} (µg/mL) +UVR	PIF	MPE	Phototoxic Potential	UVR Percent Survival	OD_{540}
Promethazine	-	8.893	>PIF 20.021	0.363	YES	85	0.882
Selpercatinib (Assay 1)	-	-	*1	0.005	NO	86	0.886
Selpercatinib (Assay 2)	-	-	*1	0.019	NO	83	0.820

+UVR: Phototoxicity: with UVR exposure.

– UVR: Cytotoxicity: without UVR exposure.

–: IC_{50} not achieved.

PIF: Photoirritancy Factor: The criterion for "phototoxic" is PIF>5.

MPE: Mean Photo Effect: The criterion for "phototoxic" is MPE>0.15.

UVR Percent Survival: The criterion is >80%.

OD_{540}: The criterion is ≥0.400.

PIF =*1: Both IC_{50}(-UVR) and IC_{50}(+UVR) could not be calculated (test article did not show cytotoxicity or phototoxicity), this indicates a lack of phototoxic potential. In this case, a formal PIF = *1 is used to characterize the result.

UVR = ultraviolet radiation; UVA = long wave ultraviolet A; UVB = short wave ultraviolet B; J = joule; mJ = millijoule; Ca = calcium; Mg = magnesium; IC_{50} = half maximal inhibitory concentration; OD = optical density