目次

頁

表一覧 3
略号及び用語の定義 4
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 6
2.6.6.3 反復投与毒性試験 6
2.6.6.4 遺伝毒性試験 6
2.6.6.5 がん原性試験 6
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 6
2.6.6.6.1 出生児（幼若及び新生児動物）への投与あるいは更なる評価を行った試験 6
2.6.6.6.1.1 幼若イヌを用いた用量設定試験（試験番号：TOX 50） 6
2.6.6.6.1.2 幼若イヌを用いた28日間反復投与毒性試験（試験番号：TOX 51） 7
2.6.6.6.1.3 新生児イヌを用いた28日間反復投与毒性試験（試験番号：DA.032.TX.002） [資料4.2.3.5.4.1: DA032TX002] 9
2.6.6.7 局所刺激性試験 11
2.6.6.8 その他の毒性試験 11
2.6.6.8.1 免疫原性／抗原性試験 11
2.6.6.8.2 免疫毒性試験 11
2.6.6.8.3 機序解明試験 11
2.6.6.8.4 依存性試験 11
2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験 11
2.6.6.8.6 不純物の毒性試験 11
2.6.6.8.7 その他の試験 11
2.6.6.8.7.1 ラットを用いた既存製剤の単回 IV 投与による探索的忍容性試験 （試験番号：TT #[redacted]-1200）[資料4.2.3.7.7.1: TT[redacted]1200] 12
2.6.6.8.7.2 ラットを用いた新規スクロース製剤の14日間反復 IV 投与毒性試験（試験番号：TT #[redacted]-1178）[資料4.2.3.7.7.2: TT[redacted]1178] 12
2.6.6.8.7.3 ラットを用いた既存製剤の反復 IV 投与毒性試験（試験番号：TT #[redacted]-1179） [資料4.2.3.7.7.3: TT[redacted]1179] 14
2.6.6.8.7.4 ダプトマイシンの2製剤（既存製剤及び新規スクロース製剤）のヒト血漿中及び血清中における溶血誘発能評価（試験番号：TT #[redacted]-9038）[資料4.2.3.7.7.4: TT[redacted]9038] 15
2.6.6.8.7.5 ダプトマイシンの2製剤（既存製剤及び新規スクロース製剤）のヒト血漿中及び血清中における血液凝集誘発能評価（試験番号：TT #[redacted]-9039）

[資料4.2.3.7.7.5: TT[redacted]9039]..... 15
2.6.6.9 考察及び結論..... 16
2.6.6.10 参考文献..... 18

表一覧

頁

表 2.6.6-1　毒性試験一覧 5
表 2.6.6-2　ダプトマイシンの TK パラメータ：幼若イヌを用いた用量設定試験（試験番号 TOX 50） 7
表 2.6.6-3　ダプトマイシンの TK パラメータ：幼若イヌを用いた28日間反復投与毒性試験 （試験番号 TOX 51） 8
表 2.6.6-4　ダプトマイシンの TK パラメータ：新生児イヌを用いた28日間反復投与毒性試験（試験番号：DA.032.TX.002） 10
表 2.6.6-5　ダプトマイシンの新規スクロース製剤の承認申請のために実施した 毒性試験の一覧 11
表 2.6.6-6　ダプトマイシンの TK パラメータ（平均値±標準誤差）：試験2週（試験番号：TT #[redacted]-1178） 13
表 2.6.6-7　ダプトマイシンの TK パラメータ（平均値±標準誤差）：試験2週（試験番号：TT #[redacted]-1179） 14
表 2.6.6-8　最長1ヵ月間投与における骨格筋及び末梢神経への影響に関する無毒性量及び 曝露量比 16

略号及び用語の定義

略号／頭字語	定義	
AUC	Area Under the Curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{inf}	Area Under the Curve from 0 to infinity	投与開始後0から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t\ hr}$	Area Under the Curve from 0 to t hours	投与開始後0からt時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CL	Total Clearance	全身クリアランス
CLr	Renal Clearance	腎クリアランス
CLcr	Creatinine Clearance	クレアチニンクリアランス
C_{max}	Observed Maximum Concentration	最高血漿中濃度
F	Female	雌
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hr	Hour	時間
IV	Intravenous	静脈内
LLQ	Lower Limit of Quantitation	定量下限
M	Male	雄
NA	Not Applicable	該当なし
NC	Not Calculated	未計算
ND	Not Determined	未決定
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level	無毒性量
OMP	Original Marketed Product	既存製剤
PND	Postnatal Day	生後
qd	Once daily dosing	1日1回投与
RDP	Reformulated Daptomycin Product	新規スクロース製剤
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
$T_{1/2}$	Terminal Half-Life	半減期
T_{max}	Time to reach C_{max}	C_{max}到達時間
V_d	Volume of distribution	分布容積

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ダプトマイシンの非臨床毒性プロファイルは、初回の製造販売承認申請（以下、初回申請）を支持するために実施した包括的な一連の毒性試験により評価され、毒性の標的器官、毒性の回復性及び臨床におけるモニタリング時の重要な観察指標が明らかにされている（[1.13.1.3.1 項] 2.6.6 項）。

本資料では、ダプトマイシンの小児適応を支持するために実施した幼若イヌを用いた試験（2試験）及び新生児イヌを用いた試験（1試験）について記載する[表 2.6.6-1]。幼若イヌを用いた試験（試験番号：TOX 50及び TOX 51）は初回申請時に提出済みである（[1.13.1.3.1 項] 2.6.6 項）。これらに加えて、新生児イヌを用いた試験（試験番号：DA.032.TX.002）を[redacted]年から[redacted]年に実施した。本試験の結果は、すでに医薬品医療機器総合機構に報告のうえ、添付文書にも反映済みである。これら3試験の結果を以下に記載する。

これらの試験は、[redacted]（米国、[redacted]）又は[redacted]（米国、[redacted]）において医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。また、すべての試験においてトキシコキネティクス（TK）評価を実施した。

表 2.6.6-1 毒性試験一覧

Study Type/Duration (GLP Status)	Route	Species	Dose Levels (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	Study No.
Juvenile Toxicity Range-Finding / 14 days (GLP)	IV	Dog/Beagle	0, 5, 25, 75	75	Toxicology Report No. 50 (TOX 50) ([redacted] 00-056)
Juvenile Toxicity / 28 days (GLP)	IV	Dog/Beagle	0, 20, 50, 150	20	Toxicology Report No. 51 (TOX 51) ([redacted] 00-089)
Neonatal Toxicity / 28 days (GLP)[a]	IV	Dog/Beagle	0, 10, 25, 75/50	10	DA.032.TX.002 ([redacted]-339145)

IV: Intravenous; NOAEL: No-Observed-Adverse-Effect Level; GLP: Good Laboratory Practice
a: Toxicokinetic method validation information is included in report title: Quantitation of Daptomycin in Neonatal Beagle Plasma via HPLC with Ultraviolet Detection -[redacted]309.8 [資料4.2.2.1.1:[redacted]3098].

7週齢の幼若イヌを用いて実施した2試験の結果、ダプトマイシンと関連した毒性の標的器官は成熟イヌと同様であることが示された。14日間の静脈内（IV）投与において、無毒性量は75 mg/kg/日（投与した最高用量）であり、28日間の投与での無毒性量は、20 mg/kg/日であった。28日間の投与後に、50及び100 mg/kg/日において、末梢神経及び脊髄にごく軽度の変性が認められた。150 mg/kg/日でのみみられた筋肉への影響は28日の休薬期間で完全な回復性がみられたが、神経系への影響は完全には回復せず、部分的な回復がみられた。

また、新生児イヌを用いた28日間投与試験（生後4日から投与を開始）を実施した結果、新生児イヌでは、筋、神経筋あるいは神経系（末梢及び中枢神経系）への影響が幼若又は成熟イヌと比

較して低い曝露量で認められた。

海外ではダプトマイシンの新規スクロース製剤の製造販売承認を取得しており、その申請を支持するために、複数の試験（ラットを用いた毒性試験又は in vitro 試験）を実施した。新規スクロース製剤の追加承認取得は本邦では予定していない。本承認事項一部変更承認申請（以下、一変申請）において、ダプトマイシンの新規スクロース製剤を用いて実施した試験は重要ではなかったが、参考として今回の一変申請資料に含めた。本資料の考察では、今回申請するダプトマイシンの小児適応に関する安全性評価にこれら試験の結果を加味しなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.5 がん原性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、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、新たに実施していない。

本資料では、ダプトマイシンの小児適応を支持するために実施した幼若イヌを用いた試験（2試験）及び新生児イヌを用いた試験（1試験）について記載する。幼若イヌを用いた試験（試験番号：TOX 50及び TOX 51）は初回申請時に提出済みである（[1.13.1.3.1 項] 2.6.6 項）。これらに加えて、[redacted]年から[redacted]年に新生児イヌを用いた試験（試験番号：DA.032.TX.002）を GLP を遵守して実施した。これら3試験の結果を以下に記載する。

2.6.6.6.1 出生児（幼若及び新生児動物）への投与あるいは更なる評価を行った試験

2.6.6.6.1.1 幼若イヌを用いた用量設定試験（試験番号：TOX 50）

本試験では、ダプトマイシンを7週齢の幼若イヌに0、5、25及び75 mg/kg/日の用量で14日間 IV 投与した。ダプトマイシンは0.9%生理食塩液に溶解し、雌雄各2匹からなる3群に1 mL/kg の投与容量で IV ボーラス投与した。

毒性は、死亡、症状観察、体重、血液学的及び血清生化学的検査（血清クレアチンキナーゼ活性の評価を含む）、腎重量並びに病理学的検査（剖検及び病理組織学的検査）により評価した。血

漿中薬物濃度も測定した。

計画外の死亡及び被験物質に関連した変化はみられなかった。

TK 分析では、用量に相関した最高血漿中濃度（C_{max}）及び投与開始後0から24時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24\,hr}$）の増加が認められた。5、25及び75 mg/kg/日の単回投与後の C_{max} はそれぞれ42.7、236.3及び662.0 µg/mL であり、$AUC_{0\text{-}24\,hr}$ はそれぞれ58.5、426.4及び1103.5 µg·hr/mL であった。

最終投与後（試験13日）の半減期及び全身クリアランスはそれぞれ1.8～1.9時間及び52.7～76.7 mL/hr/kg であった[表 2.6.6-2]。

表 2.6.6-2　ダプトマイシンの TK パラメータ：幼若イヌを用いた用量設定試験（試験番号 TOX 50）

Parameter	5 mg/kg/day		25 mg/kg/day		75 mg/kg/day	
	Day 0	Day 13	Day 0	Day 13	Day 0	Day 13
C_{max} (µg/mL)	42.7	50.4	236.3	256.8	662.0	705
$T_{1/2}$ (hr)	1.6	1.8	1.7	1.9	1.8	1.8
$AUC_{0\text{-}24\,hr}$ (µg·hr/mL)	58.5	66.8	426.4	489.3	1103.5	1250.5
AUC_{inf} (µg·hr/mL)	64.7	74.7	429.4	485.2	1088.5	1232.1
CL (mL/hr/kg)	78.0	76.7	58.7	52.7	69.8	61.2
CLr (mL/hr/kg)	ND	27.9	ND	34.5	ND	39.4
Vd (mL/kg)	179.1	ND	142.4	ND	185.3	ND

Data combined for males and females.
Number of animals = 4.
C_{max} = Observed Maximum Concentration; $T_{1/2}$ = Terminal Half-Life; $AUC_{0\text{-}24\,hr}$ = Area Under the Curve from 0 to 24 hours; AUC_{inf} = Area Under the Curve from 0 to infinity; CL = Total Clearance; CLr = Renal Clearance; Vd = Volume of Distribution; ND = Not determined

本試験における無影響量又は無毒性量は75 mg/kg/day（$AUC_{0\text{-}24\,hr}$ = 1250.5 µg·hr/mL、C_{max} = 705 µg/mL）以上であった。

2.6.6.6.1.2　幼若イヌを用いた28日間反復投与毒性試験（試験番号：TOX 51）

本試験では、ダプトマイシンを7週齢の幼若イヌに0、20、50及び150 mg/kg/日の用量で28日間 IV 投与した。ダプトマイシンは0.9%生理食塩液に溶解し、雌雄各4匹からなる3群に2 mL/kg の投与容量で IV 投与した。対照群及び150 mg/kg/日群には、4週間にわたる休薬期間後の所見の回復性を評価するために、雌雄各2匹の回復群を設定した。

毒性は、死亡、症状観察、体重、血液学的及び血清生化学的検査（血清クレアチンキナーゼ活性の評価を含む）、尿検査並びに病理学的検査（剖検及び病理組織学的検査）により評価した。血漿中薬物濃度も測定し、ダプトマイシンの腎クリアランス及びクレアチニンクリアランスを解析

するための尿サンプルを採取した。

150 mg/kg/日群の雌1匹において、被験物質に関連した計画外の死亡が発生した。試験17日に、この雌1匹を、被験物質に関連した重度の筋力低下、側臥位、運動不能及び食欲不振を含む重篤な症状により安楽殺した。

150 mg/kg/日群において被験物質に関連した生前所見がみられた。筋力低下が150 mg/kg/日群の12匹中10匹で観察されたが、この所見は4週間の休薬期間で回復性が認められた。対照群と比較して、摂餌量の減少が雌雄各1匹で観察された。本所見は食欲に対する直接的な影響ではなく、これらの動物でみられた筋力低下及び運動不能による二次的な変化であると考えられた。雌雄のイヌで、被験物質に関連した体重増加量の減少も認められた。体重でみられた変化の回復性は、回復群の動物数が限定的であったため、評価できなかった。

臨床病理学的検査値に、毒性所見はみられなかった。

被験物質に関連した病理所見が、50 mg/kg/日群以上の神経系及び150 mg/kg/日群の骨格筋で認められた。神経系の所見は末梢神経線維及び脊髄のごく軽度の変性であり、剖検前にみられた筋力低下に相関していた。4週間の休薬期間終了時には、本神経所見に関して尺骨神経では完全な回復性が、そして坐骨神経及び脊髄では部分的な回復性が認められた。骨格筋の所見は、ごく軽度から軽度の変性であり、4週間の休薬期間終了時には完全に回復していた。

TK 分析では、投与開始後0から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{inf}）及びC_{max}は用量に比例して増加したが、全身クリアランスは一定であった[表 2.6.6-3]。血漿中曝露量は、単回投与後と比較して反復投与後で高かった。腎クリアランスは、50及び150 mg/kg/日での単回投与においてほかより高かった。各用量間で、薬物動態パラメータ（全身クリアランス、分布容積及び腎クリアランス）に大きな違いはみられなかった。

表 2.6.6-3　ダプトマイシンの TK パラメータ：幼若イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験（試験番号 TOX 51）

Parameter	Group 2 20 mg/kg/day		Group 3 50 mg/kg/day		Group 4 150 mg/kg/day	
	Day 0	Day 27	Day 0	Day 27	Day 0	Day 27
C_{max} (µg/mL)	124.75	155.75	291.75	417.00	725.00	1119.50
$T_{1/2}$ (h)	1.96	1.82	1.85	1.85	2.01	2.10
$AUC_{0\text{-}5\ hr}$ (µg·hr/mL)	266.51	293.20	615.17	722.02	1812.29	2275.36
AUC_{inf} (µg·hr/mL)	321.81	343.31	723.17	848.86	2216.78	2806.63
CL (mL/hr/kg)	62.15	58.26	69.14	58.90	67.67	53.44
Vd (mL/kg)	175.58	153.06	184.38	157.20	196.43	161.88
CLr (mL/hr/kg)	20.57	26.57	33.26	23.91	31.67	26.56
CLcr (mL/hr/kg)	240.7	549.9	444.5	530.4	393.7	735.0

Data combined for males and females C_{max} = Observed Maximum Concentration; $T_{1/2}$ = Terminal Half-Life; $AUC_{0\text{-}5\ hr}$ = Area Under the Curve from 0 to 5 hours; AUC_{inf} = Area Under the Curve from 0 to infinity; CL = Total Clearance; Vd = Volume of Distribution; CLr = Renal Clearance; CLcr = Creatinine Clearance

以上の結果から、本試験の無影響量及び無毒性量は20 mg/kg/日（AUC_{inf} = 343.31 μg·hr/mL、C_{max} = 155.75 μg/mL）であった。

2.6.6.6.1.3 新生児イヌを用いた28日間反復投与毒性試験（試験番号：DA.032.TX.002）[資料4.2.3.5.4.1: DA032TX002]

本試験は、新生児イヌにダプトマイシンを生後4日から31日（28日間）まで IV 投与したときの全身及び発達毒性並びにトキシコキネティクスプロファイルを評価するために実施した[2.6.7.15.A項]。また、約1ヵ月間（28日間）及び6ヵ月間（168日間）の休薬期間後の回復性も評価した。

ダプトマイシンは0.9%生理食塩液に溶解し、雌雄の新生児イヌからなる3毒性評価群及び3TK群に生後4日から31日に1日1回、2 mL/kg の投与容量で緩徐に IV ボーラス投与（投与時間は少なくとも60秒）した。対照群には、同様の投与法で0.9%生理食塩液を投与した。3投与群の規定投与量はそれぞれ10、25及び75 mg/kg/日であったが、投与液分析の結果、濃度は規定値より高く、実際の投与量はそれぞれ11.5、29及び87 mg/kg/日であった。本資料では投与量として規定値を使用する。ダプトマイシンの毒性により、75 mg/kg/日の投与量を50 mg/kg/日に減量した。本資料では、投与量を75 mg/kg/日から50 mg/kg/日に変更した群を75/50 mg/kg/日と示し、75（TK 群の雌雄各1匹のみ。生後12日に安楽殺）又は50 mg/kg/日のみを投与した群をそれぞれ75又は50 mg/kg/日とした。0、25及び75 mg/kg/日（75/50又は50 mg/kg/日を含む）の毒性評価群には8又は9匹の雄及び8匹の雌を、10 mg/kg/日の毒性評価群には雌雄各4匹を組み入れた。TK 分析のために雌雄それぞれ3又は4匹を各 TK 群に組み入れた。

0、10及び25 mg/kg/日の毒性評価群では、それぞれ雌雄各4匹を28日間投与後の生後32日に安楽殺した。対照群及び25 mg/kg/日の雌雄各2匹を、1ヵ月間及び6ヵ月間の休薬期間終了時（それぞれ生後60日及び200日）に安楽殺した。

0、10及び25 mg/kg/日群において、毒性は死亡／瀕死状態、症状観察、体重、摂餌量、発達指標（開眼及び歯牙萌出）、神経行動学的評価、眼科学的検査、神経伝達評価、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査、血清生化学的検査及び尿検査）並びに病理学的検査（剖検、器官重量及び病理組織学的検査）により評価した。病理組織学的検査は、末梢及び中枢神経組織において重点的に実施した。

75/50及び50 mg/kg/日群でみられた毒性所見及びこれらの投与群で発生した早期の安楽殺により、本投与群の毒性評価は、死亡、症状観察、体重、発達指標（開眼及び歯牙萌出）、剖検並びに末梢神経及び中枢神経組織の広範な病理組織学的検査に限定された。血漿中薬物濃度測定は、対照群及びダプトマイシン投与群で実施した。

ダプトマイシンを、75/50及び50 mg/kg/日で生後4日から新生児イヌに1日1回 IV 投与した結果、

筋攣縮、肢の筋硬直及び機能障害といった重度の症状がみられた。これらの群では、その結果として体重の減少及び体調の悪化が生じたため、生後18日に投与を中止し、一部の動物は生後19日に安楽殺した。その他の動物は、5から11日間の休薬期間を設定した。

25 mg/kg/日群では、ダプトマイシンに関連し、28日間の休薬期間中に回復した軽度の筋攣縮及び肢の筋硬直が雌1匹に一度のみ認められことから、これらの症状には用量増加に伴う急激な増悪傾向が確認された。

剖検及び病理組織学的検査では、すべての用量で、末梢及び中枢神経、骨格筋又は検査した他の組織においてダプトマイシンに関連した所見はみられず、器官重量にも変化はなかった。

発達指標（開眼、歯牙萌出及び神経行動学的な発達）の達成、臨床病理学的パラメータ（血液学的検査、血清生化学的検査及び尿検査値）、電気生理学的評価並びに眼科学的検査において、検査したすべて用量で、ダプトマイシンの影響は認められなかった。

10 mg/kg/日群では、ダプトマイシンに関連した所見は認められなかった。

最長28日間までのダプトマイシンの反復 IV 投与における全身曝露量は、用量に比例して増加した。各用量の TK パラメータを[表 2.6.6-4]に示す。

表 2.6.6-4　ダプトマイシンの TK パラメータ：新生児イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験（試験番号：DA.032.TX.002）

Dose	Age When Samples Collected	Mean AUC_{inf} (µg·hr/mL)	Mean C_{max} (µg/mL)
10 mg/kg/day	PND31	247	62.1
25 mg/kg/day	PND31	717	147
50 mg/kg/day	PND18	1470	321
75 mg/kg/day	PND4	2070	416

AUC_{inf} = Area Under the Curve from 0 to infinity; C_{max} = Observed Maximum Concentration
Data for males and females combined

ダプトマイシンを雌雄の新生児イヌに、最長28日間まで10、25、50及び75 mg/kg/日（実際の投与量はそれぞれ11.5、29、56及び87 mg/kg/日）の用量で緩徐に IV ボーラス投与したときにそれぞれ生後4日（75 mg/kg/日群）、生後18日（50 mg/kg/日群）並びに生後31日（10及び25 mg/kg/日群）に採取したサンプルにおける曝露量（C_{max} 及び AUC_{inf}）はおおむね用量に比例して増加した。すべての投与群で各測定日における C_{max} 及び AUC_{inf} に性差はみられなかった。試験期間を通して、新生児イヌにダプトマイシンを IV 投与したときの全身曝露量には、すべての用量において蓄積は認められなかった。各測定日において、対照群の動物にダプトマイシンの曝露はみられなかった。

25、50及び75/50 mg/kg/日群で認められた臨床症状並びに50及び75/50 mg/kg/日群での体重減少／体重増加量の減少及び計画外の死亡により、本試験の無毒性量は、雌雄ともに10 mg/kg/日（生後31日の C_{max} 及び AUC_{inf} はそれぞれ62.1 µg/mL 及び247 µg·hr/mL）であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 免疫原性／抗原性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.8.3 機序解明試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.8.4 依存性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

新たな試験は実施していない。

2.6.6.8.7 その他の試験

海外ではダプトマイシンの新規スクロース製剤の製造販売承認を取得しており、その申請を支持するために、複数の試験（ラットを用いた毒性試験又は in vitro 試験）を実施した。新規スクロース製剤の追加承認取得は本邦では予定していない。本一変申請においても、これらの試験は重要ではなかったが、参考として今回の一変申請資料に含めた。実施した試験の一覧を[表 2.6.6-5]に、試験デザインについての詳細を[2.6.7.17 項]に示す。試験報告書はモジュール4に格納されている。

表 2.6.6-5 ダプトマイシンの新規スクロース製剤の承認申請のために実施した毒性試験の一覧

Study Type/Duration	Route	Species	Dose Levels (mg/kg)	NOAEL (mg/kg)	Study No. (GLP Status)
Exploratory Tolerability (OMP)	IV	Rat	100, 300	100	TT #[redacted]-1200 (Non-GLP)
14-Day Toxicity & TK (RDP)	IV	Rat	0, 25, 50, 100	25	TT #[redacted]-1178 (GLP)

14-Day Toxicity & TK (OMP)	IV	Rat	0, 25, 50, 100	≥100[a]	TT #[redacted]-1179 (GLP)
Hemolysis (both formulations)	NA	In Vitro (human blood)	50, 100 and 200 µg/ml	Non-hemolytic	TT #[redacted]-9038 (GLP)
Flocculation (both formulations)	NA	In Vitro (human plasma & serum)	50, 100 and 200 µg/ml	No precipitation or pellets	TT #[redacted]-9039 (GLP)

OMP = Original Marketed Product; RDP = Reformulated Daptomycin Product; NA = Not Applicable; GLP: Good Laboratory Practice
a: NOAEL based only on antemortem data (no histopathologic evaluation was conducted)

2.6.6.8.7.1 ラットを用いた既存製剤の単回 IV 投与による探索的忍容性試験（試験番号：TT #[redacted]-1200）[資料4.2.3.7.7.1: TT[redacted]1200]

本試験は、ラットに0.9%生理食塩液で調製したダプトマイシンを単回 IV 投与したときの忍容性を評価するために実施した[2.6.7.17 項]。

雌雄各3匹の Crl:WI(HAN)ラット（約8～9週齢）に0.9%生理食塩液で調製したダプトマイシンを5 mL/kg の投与容量で投与した。雌雄各1匹には300 mg/kg でダプトマイシンを投与したが、急性の症状（投与直後から発現した活動量の減少、腹臥位、後肢のパドリング、呼吸緩慢、喘ぎあるいは努力性呼吸）及び両動物の死亡により、残りの雌雄各2匹への投与量は100 mg/kg に減量した。100 mg/kg で投与した4匹は生存し、投与の約24時間後に剖検した。

忍容性は死亡及び症状観察で評価した。死亡動物及び剖検した動物から定型の組織を採取したが、病理組織学的な評価は実施しなかった。

本試験の結果から、以下に記す14日間反復投与毒性試験の高用量を100 mg/kg とした。

2.6.6.8.7.2 ラットを用いた新規スクロース製剤の14日間反復 IV 投与毒性試験（試験番号：TT #[redacted]-1178）[資料4.2.3.7.7.2: TT[redacted]1178]

本試験は、ラットに7.5%スクロース水溶液で調製したダプトマイシンを14日間反復 IV 投与したときの潜在的な毒性及びトキシコキネティクスプロファイルを評価するために実施した[2.6.7.17 項]。

Crl:WI(Han)ラットを1群雌雄各10匹からなる4群に割り付け、ダプトマイシン｛25、50及び100 mg/kg/日［媒体は7.5%(w/v)スクロース水溶液、pH を[redacted]に調整］｝又は媒体を1.9 mL/kg の投与容量で、投与速度は約2 mL/分として緩徐に IV ボーラス投与した。

毒性は、死亡、症状観察、体重、摂餌量、臨床病理学的検査及び病理学的検査により評価した。ダプトマイシン投与群及び対照群の血漿中薬物濃度も測定した。

すべての動物が計画解剖時まで生存した。すべての群で、臨床症状、体重及び摂餌量にダプトマイシンに関連する変化はみられなかった。高用量（100 mg/kg/日）群でダプトマイシンに関連した臨床病理学的検査所見がみられ、それらは対照群の平均値と比較すると、雌ラットでみられた白血球数及びリンパ球数のごく軽度の減少（それぞれ-24%及び-26%）、並びに雄ラットでみられたグルコース濃度のごく軽度の増加（+29%）、そしてトリグリセリド濃度及びカリウム濃度の軽

度の増加（それぞれ+55%及び+16%）であった。さらに、対照群の平均値と比較すると、中用量（50 mg/kg/日）群の雄ラットでは、カリウム濃度のごく軽度の増加（+9%）が、そして低用量（25 mg/kg/日）群の雄ラットではトリグリセリド濃度の軽度の増加（+50%）及びカリウム濃度のごく軽度の増加（+11%）が認められた。これらの臨床病理学的所見は、その程度が軽微であったこと、あるいはダプトマイシンを投与した動物の大部分の個別値が背景値内であり、片性のみでみられ、用量相関性がみられず、さらに関連する病理組織学的所見や生前所見がみられなかったことから、毒性学的意義が低く、臨床への外挿性は低いと考えられた。

50及び25 mg/kg/日群の雌ラットにダプトマイシンに関連した所見は認められなかった。

ダプトマイシンに関連した病理所見は、中用量（50 mg/kg/日）群及び高用量（100 mg/kg/日）群の雌雄ラットの腎でみられた尿細管の空胞化、高用量群の雌雄ラットで観察された坐骨神経及び尺骨神経の軸索変性であった。投与部位の病理組織学的所見はごく軽度であり、投与手技によるものと考えられ、忍容性の高い製剤の IV 投与でよく観察されるものであり、ダプトマイシンによる変化ではなかった。

すべての群で、ダプトマイシンに関連した剖検所見及び器官重量の変化はみられなかった。

本試験のトキシコキネティクスパラメータを[表 2.6.6-6]に示す。

表 2.6.6-6　ダプトマイシンの TK パラメータ（平均値±標準誤差）：試験 2 週
（試験番号：TT #[redacted]-1178）

Dose[a] (mg/kg/day)	Sex	$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μg·hr/mL)	C_{max} (μg/ml)	T_{max} (hr)
25	Female	507 ± 23.5	153 ± 8.58	0.50 ± NC
	Male	615 ± 25.7	192 ± 4.22	0.25 ± NC
	All	560 ± 20.3	172 ± 13.5	0.25 ± NC
50	Female	1040 ± 36.3	351 ± 7.70	0.25 ± NC
	Male	1150 ± 26.6	367 ± 16.3	0.25 ± NC
	All	1100 ± 24.3	359 ± 8.82	0.25 ± NC
100	Female	2270 ± 152	743 ± 94.3	0.25 ± NC
	Male	2420 ± 127	706 ± 27.3	0.25 ± NC
	All	2350 ± 93.4	724 ± 44.7	0.25 ± NC

C_{max} = Observed Maximum Concentration; T_{max} = Time to reach C_{max}; $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ = Area Under the Curve from 0 to 24 hours; NC = Not Calculated.
a Daptomycin concentrations in plasma from all control group animals were below the lower limit of quantitation (LLQ = 3 μg/ml) of the bioanalytical method.

ダプトマイシンの全身曝露量は、用量に相関して増加した。平均 $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ 及び C_{max} は試験2週において3用量間でおおむね用量比例性を示した。

低用量（25 mg/kg/日）群でダプトマイシンに関連した臨床病理学的所見がみられたことから、無影響量は、<25 mg/kg/日であった。

本試験の無毒性量は、50 mg/kg/日で腎尿細管の空胞化がみられたことから、25 mg/kg/日であった。本試験で認められた所見は、初回申請を支持するために実施した試験と類似していた

([1.13.1.3.1 項] 2.6.6 項)。

2.6.6.8.7.3 ラットを用いた既存製剤の反復 IV 投与毒性試験（試験番号：TT #[redacted]-1179）[資料4.2.3.7.7.3: TT[redacted]1179]

本試験は、ラットに0.9%生理食塩液で調製したダプトマイシンを14日間反復 IV 投与したときの潜在的な毒性及びトキシコキネティクスプロファイルを評価し、新規スクロース製剤を14日間投与したときの毒性と比較するために実施した[2.6.7.17 項]。

Crl:WI(Han)ラットを1群雌雄各10匹からなる4群に割り付け、ダプトマイシン｛25、50及び100 mg/kg/日［媒体は0.9% (w/v) 生理食塩液］｝又は媒体を1.9 mL/kg の投与容量で、投与速度は約2 mL/分として比較的緩徐に IV ボーラス投与した。

毒性は、死亡、症状観察、体重、摂餌量、臨床病理学的検査及び剖検により評価した。プロトコールに従って、病理組織学的検査は実施しなかった。ダプトマイシン投与群及び対照群の血漿中薬物濃度も測定した。

すべての動物が計画解剖時まで生存した。すべての群で、症状、体重及び摂餌量にダプトマイシンに関連する変化はみられなかった。

100 mg/kg/日群の雄で、対照群と比較して、グルコース濃度のごく軽度の増加（+29%）が認められた。本所見は、その程度がごく軽度であったこと、片性でのみ認められたこと及び関連する他の生前所見がなかったことから毒性学的意義が低いと考えられた。

50及び25 mg/kg/日群の雄及び全ての雌に、ダプトマイシンに関連した変化はみられなかった。

本試験のトキシコキネティクスパラメータを[表 2.6.6-7]に示す。

表 2.6.6-7 ダプトマイシンの TK パラメータ（平均値±標準誤差）：試験 2 週（試験番号：TT #[redacted]-1179）

Dose (mg/kg/day)	Sex	$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μg·hr/mL)	C_{max} (μg/ml)	T_{max} (hr)
25	Female	441 ± 41.7	185 ± 5.96	0.25 ± NC
	Male	552 ± 76.6	209 ± 13.5	0.25 ± NC
	All	497 ± 41.5	197 ± 8.48	0.25 ± NC
50	Female	1120 ± 54.9	369 ± 17.0	0.25 ± NC
	Male	1190 ± 32.6	378 ± 10.1	0.25 ± NC
	All	1160 ± 32.1	374 ± 9.08	0.25 ± NC
100	Female	2060 ± 210	698 ± 60.1	0.25 ± NC
	Male	2950 ± 112	819 ± 10.9	0.25 ± NC
	All	2500 ± 161	759 ± 38.5	0.25 ± NC

C_{max} = Observed Maximum Concentration; T_{max} = Time to reach C_{max}; $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ = Area Under the Curve from 0 to 24 hours; NC = Not Calculated

a Daptomycin concentrations in plasma from all control group animals were below the lower limit of quantitation (LLQ = 3 μg/mL) of the bioanalytical method.

剖検所見及び器官重量にダプトマイシンに関連した変化はみられなかった。

以上、片性に限局したグルコース濃度のごく軽度の増加により、無影響量は雄で50 mg/kg/日、雌で≥100 mg/kg/日であった。生前所見における無毒性量は≥100 mg/kg/日であった。

2.6.6.8.7.4 ダプトマイシンの2製剤（既存製剤及び新規スクロース製剤）のヒト血漿中及び血清中における溶血誘発能評価

（試験番号：TT #[redacted]-9038）[資料4.2.3.7.7.4: TT[redacted]9038]

本試験は、ダプトマイシンの2製剤（既存製剤及び新規スクロース製剤）のヒト血液に対する溶血誘発能を評価するために実施した[2.6.7.17 項]。

生理食塩液を用いて、採取した血液の連続希釈液を作製した。各希釈液から0.04 ml を採取し、2 mL の脱イオン水に添加した。調製した検体を37 ± 2°C で10分間培養し、その後室温下で約10分間、およそ100 g で遠心分離した。上清の吸光度が540 nm で0.8から1.2となった希釈液を分析に使用することとした（血液基質として利用）。ダプトマイシン（既存製剤及び新規スクロース製剤、それぞれ50、100及び200 µg/mL）、7.5%スクロースプラセボ溶液［ダプトマイシンの新規スクロース製剤希釈液（3用量）と同様の割合で生理食塩液で希釈したもの］、生理食塩液又は注射用滅菌水を、ドナーから採取後希釈した全血（血液基質）と混合した。チューブをボルテックスで優しく混和し、37 ± 2°C で1時間、攪拌せずに培養した。培養後、チューブを室温下（15°C～30°C）で10分間、100 g で遠心分離した。その後、各検体から1 mL を採取し、1 mL のキュベットに加えたのち、分光光度計にて540 nm で分析した。

ドナー血液の連続希釈液（1:2、1:3、1:4、1:5及び1:10）を、生理食塩液を用いて作製した。希釈液を滅菌水に加えたとき、1:3に希釈したドナー血液サンプルの吸光度が540 nm で1.025となったため、主試験には1:3の希釈液を用いた。

血液基質をスクロースプラセボ溶液の3サンプル［新規スクロース製剤希釈液（3用量）と同様の割合で生理食塩液で希釈したもの］と共に培養したときに、顕著な溶血はみられなかった（<10%）。50、100及び200 µg/mL の新規スクロース製剤希釈液と同様に希釈した媒体の溶血率（%）は、それぞれ0.3%、0.2%及び0.2%であった。

ヒトの血液基質をダプトマイシンの新規スクロース製剤希釈液（50、100及び200 µg/mL に希釈）と共に培養したときの溶血率はそれぞれ0.3%、0%及び0.3%であり、有意なものではなかった。

ダプトマイシンの既存製剤希釈液（50、100及び200 µg/mL に希釈）においても有意な溶血性はみられず、溶血率はそれぞれ0%、0%及び0.4%であった。

以上、ダプトマイシンの既存製剤及び新規スクロース製剤は200 µg/ml までの濃度において、溶血誘発能を示さなかった。

2.6.6.8.7.5 ダプトマイシンの2製剤（既存製剤及び新規スクロース製剤）のヒト血漿中及び血清中における血液凝集誘発能評価

（試験番号：TT #[redacted]-9039）[資料4.2.3.7.7.5: TT[redacted]9039]

本試験は、ダプトマイシンの2製剤（既存製剤及び新規スクロース製剤）のヒト血漿及び血清中

での適合性を評価するため実施した[2.6.7.17 項]。

ダプトマイシンの2製剤（各3用量、100、200及び400 µg/mL）、7.5%スクロースプラセボ溶液［ダプトマイシンの新規スクロース製剤希釈液（3用量）と同様の割合で生理食塩液で希釈したもの］及び生理食塩液を1 mL 採取し、等量の血漿又は血清と混和した。検体を室温で30分間培養した。培養後、培養チューブを肉眼及び顕微鏡下で観察し、沈渣や凝集物の有無を評価した。各培養チューブから一定量の検体を採取し、微量遠心器を用いて10分間、14,000 rpm で遠心分離した。遠心分離後の各チューブにおいて、ペレットの有無を確認した。

生理食塩液及び3用量のスクロースプラセボ溶液において、沈渣やペレットはみられなかった。

最終濃度が50、100又は200 µg/mL のダプトマイシンの2製剤（既存製剤及び新規スクロース製剤）においても、肉眼又は顕微鏡下でヒト血漿若しくは血清中に沈渣は認められなかった。すべてのダプトマイシンの検体を遠心分離した結果、ペレットは観察されなかった。

本試験の結果から、ダプトマイシンの既存製剤及び新規スクロース製剤は200 µg/ml の濃度まで、ヒト血漿及び血清に適合することが確認された。

2.6.6.9 考察及び結論

ダプトマイシンの非臨床毒性プロファイルは、初回申請を支持するために実施した包括的な一連の毒性試験により評価され、毒性の標的器官、毒性の回復性及び臨床におけるモニタリング時の重要な観察指標が明らかにされている。

ダプトマイシンの小児適応を支持するために、幼若イヌ（投与開始時に7週齢）を用いた14日間反復投与用量設定試験（試験番号：TOX 50）及び28日間反復投与毒性試験（試験番号：TOX 51）並びに新生児イヌを用いた28日間反復投与（生後4日から31日まで投与）毒性試験（試験番号：DA.032.TX.002）を実施した。幼若イヌを用いた2試験（TOX 50及び51）は、初回申請時に提出済みである。

ダプトマイシンに関連した骨格筋又は末梢神経への影響における無毒性量は、動物において毒性学的に意義のある所見が認められなかった用量である。骨格筋及び末梢神経への影響がみられた用量における曝露量の算出は、臨床での投与期間を反映した短期間投与試験（14日から1ヵ月間投与）を基にした[表 2.6.6-8]。

表 2.6.6-8 最長 1 ヵ月間投与における骨格筋及び末梢神経への影響に関する無毒性量及び曝露量比

	Dose (qd)[a] mg/kg	C_{max} µg/mL	Approx. multiple of human C_{max}[b]	AUC µg·hr/mL	Approx. multiple of human AUC[b]
Adult dog 1-month[c]					
NOAEL muscle/nerve	25	560	8.1	1196[d]	1.9

Juvenile dog 14 days					
NOAEL muscle/nerve	75	705	10	1251[e]	2.0
Juvenile dog 28 days					
NOAEL nerve	20	156	2.3	343[d]	0.6
NOAEL muscle	50	417	6.0	849[d]	1.4
Neonatal dog study 28 days					
NOAEL nerve/ muscle	10	62	0.9	247[d]	0.4
Human[f]	6	69	NA	619[e]	NA

qd = once daily dosing; NA = not applicable; IV = intravenous; NOAEL = No-observed-adverse-effect level; C_{max} = Observed Maximum Concentration; $AUC_{0\text{-}24\,hr}$ = Area Under the Curve from 0 to 24 hours; AUC_{inf} = Area Under the Curve from 0 to infinity.

a: Route of administration was IV bolus in dogs and ~30 minute IV in man.
b: The exposure in pediatric patients receiving the appropriate pediatric regimens for the indications in this application is comparable to adult patients receiving a 4 or 6 mg/kg dose. These calculations were based on exposure in adult patients receiving 6 mg/kg (the highest dose).
c: The exposure values of adult dogs are based on the data in the repeated-dose toxicity study (TOX 14).
d: AUC_{inf}
e: $AUC_{0\text{-}24\,hr}$
f: From the clinical study submitted for the original application (Study number: P002)（[1.13.1.3.1 項] 2.6.6.10.7 項）

これらの試験の結果から、幼若イヌにおけるダプトマイシンと関連した毒性の標的器官は、成熟イヌと同様に、骨格筋及び末梢神経であることが示された。末梢神経への影響の無毒性量は20 mg/kg/日（AUC_{inf} = 343 µg·hr/mL）であった。50 mg/kg/日及び150 mg/kg/日の28日間投与後に、末梢神経及び脊髄でごく軽度の変性がみられた。骨格筋への影響（ごく軽度から軽度の骨格筋の変性）の無毒性量は50 mg/kg/日（AUC_{inf} = 849 µg·hr/mL）であり、投与終了後28日で完全に回復した。一方で、神経への影響は、投与終了後28日では完全には回復しなかった。[表 2.6.6-8]に示すとおり、成熟イヌに1ヵ月間反復投与したときの神経への影響に関する無毒性量において、その曝露量の臨床曝露量との比は、幼若イヌと比較してわずかに高かった（成熟イヌでは1.9倍、幼若イヌでは0.6倍）ことから、幼若イヌの神経への影響に対する感受性は、成熟イヌよりわずかに高いことが示唆された。しかしながら、全体的な毒性プロファイルは同様であり、短期間の治療における安全域に大きな違いがあるとは考えられない。

より低年齢の小児に対するダプトマイシンの毒性を予測するため、投与開始時に4日齢である新生児イヌを用いた28日間反復投与毒性試験［10、25及び75（ダプトマイシンの毒性により、試験途中で50 mg/kg/日に変更した）mg/kg/日で1日1回 IV 投与］を GLP に準拠して実施した。本試験の投与期間に該当するイヌの日齢（生後4日～31日）は、ヒトの新生児期から12ヵ月齢未満の乳幼児期に相当する。

50 mg/kg/日（AUC_{inf} = 1470 µg·hr/mL）以上の投与では、筋攣縮並びに肢の筋硬直及び機能障害からなる重度の臨床症状がみられ、これらの症状による体重減少及び体調の悪化が認められたた

め、一部の動物を生後19日に安楽殺した。

25 mg/kg/日（AUC_{inf} = 717 µg·hr/mL）の投与では、体重減少を伴わない筋攣縮及び筋硬直からなる軽度の臨床症状がみられたが、これらの所見は28日間の休薬期間後には回復した。以上より、新生児イヌにおいて、軽度と重度の臨床症状がみられた用量における曝露量の差は小さかった（約2倍）。病理組織学的検査では、すべての用量において、末梢及び中枢神経系、骨格筋又は他の組織に、ダプトマイシンに関連した所見はみられなかった。本試験の無毒性量は10 mg/kg/日（AUC_{inf} = 247 µg·hr/mL）であった。

結論として、ヒトでは1歳未満の乳幼児に相当する日齢の新生児イヌにおいて、骨格筋あるいは神経への影響（中枢神経系又は末梢神経系）に起因する可能性のある臨床症状が、幼若イヌ又は成熟イヌと比較してより低い投与量及び曝露量で認められた。これらの臨床症状は、幼若イヌ又は成熟イヌでみられた所見とは異なっていた。このように非臨床毒性試験では、新生児イヌにおいて、筋、神経筋あるいは神経系（末梢若しくは中枢神経系）に毒性所見（重度の臨床症状及び一般状態の悪化を含む）が、幼若又は成熟イヌより低い曝露でみられた。これらのデータ及び瀕死状態が認められなかった最高用量、すなわち25 mg/kg/日における曝露量比が狭かった（推定臨床用量における曝露量の1.2倍）ことから、1歳未満の乳児へのダプトマイシンの投与は推奨されない。

以上、幼若イヌ及び新生児イヌにおけるダプトマイシンの毒性プロファイルによって、今回申請するダプトマイシンの小児適応において1歳以上の患者にダプトマイシンを投与する際の安全性が支持される。

2.6.6.10 参考文献

該当なし。

目次

頁

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary 2
2.6.7.1 Toxicology: Overview 2
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies 4
2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data in Juvenile or Neonatal Dogs 5
2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance 7
2.6.7.5 Single-Dose Toxicity 8
2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Non-Pivotal Studies 8
2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies 8
2.6.7.8 Genotoxicity – In Vitro 8
2.6.7.9 Genotoxicity – In Vivo 8
2.6.7.10 Carcinogenicity 8
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Non-Pivotal Studies 8
2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity –Fertility and Early Embryonic Development to Implantation 9
2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development 9
2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function 9
2.6.7.15 Reproductive and Developmental Toxicity – Studies in Which the Offspring (Neonatal Animals) are Dosed and/or Further Evaluated 10
2.6.7.15.A A 28-Day Intravenous (Slow-Push) Injection Toxicity and Toxicokinetic Study of Daptomycin in Post Natal Day 4 Neonatal Beagle Dogs With a 1-Month or 6-Month Recovery Period 10
2.6.7.16 Local Tolerance 13
2.6.7.17 Other Toxicity Studies 14

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test Article: Daptomycin

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Studies in Juvenile Animals								
	Neonatal Dog/Beagle	IV	PND 4-31(with 1- or 6-Mo Recovery)	0, 10, 25, 75/50	Yes	[redacted]	DA-032.TX.002 ([redacted]-339145)	[資料4.2.3.5.4.1: DA032TX002]
Other Toxicity Studies -Other Studies								
	Rat/ Crl:WI(HAN)	IV	1 day	100, 300 (OMP)	No	MRL-WP	TT #[redacted]-1200	[資料4.2.3.7.7.1: TT[redacted]1200]
	Rat/ Crl:WI(HAN)	IV	14 days	0, 25, 50, 100 (RDP)	Yes	MRL-WP	TT #[redacted]-1178	[資料4.2.3.7.7.2: TT[redacted]1178]
	Rat/ Crl:WI(HAN)	IV	14 days	0, 25, 50, 100 (OMP)	Yes	MRL- WP	TT #[redacted]-1179	[資料4.2.3.7.7.3: TT[redacted]1179]

2.6.7.1 Toxicology: Overview (Continued)

Test Article: Daptomycin

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Other Toxicity Studies -Other Studies								
Hemolysis	In Vitro (human blood)	In Vitro	NA	50, 100, 200 µg/ml	Yes	[redacted]	TT #[redacted]-9038	[資料4.2.3.7.7.4: TT[redacted]9038]
Flocculation	In Vitro (human plasma & serum)	In Vitro	NA	50, 100, 200 µg/ml	Yes	[redacted]	TT #[redacted]-9039	[資料4.2.3.7.7.5: TT[redacted]9039]

GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; PND = Post natal day; NA = Not applicable; OMP = Original marketed product; RDP = Reformulated daptomycin product; MRL-WP = Merck Research Laboratories, West Point, PA, U.S.A.; [redacted] = [redacted], U.S.A

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Test Article: Daptomycin

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Studies in Juvenile Animals						
Neonatal Toxicity[a]	Dog/Beagle	IV	0, 10, 25, 75/50	Yes	DA-032.TX.002 [redacted]-339145	[資料4.2.3.5.4.1: DA032TX002]

GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous

a: Toxicokinetic method validation information is included in Report Title: Quantitation of Daptomycin in Neonatal Beagle Plasma via HPLC with Ultraviolet Detection - [redacted] 309.8 [資料4.2.2.1.1: [redacted]3098].

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data in Juvenile or Neonatal Dogs

Test Article: Daptomycin

Daptomycin	**AUC (µg·hr/mL)**								
Daily Dose	**Day 0**		**Day13**		**Day 27**		**PND4**	**PND18**	**PND31**
Juvenile Toxicity[c]	F	M	F	M	F	M		F/M Combined	
5	56.4[a]	60.6[a]	68.5[a]	65.0 [a]					
20	302[b]	342[b]			339[b]	350[b]			
25	416[a]	437[a]	564[a]	415[a]					
50	724[b]	730[b]			872[b]	826[b]			
75	1178[a]	1029[a]	1281[a]	1220[a]					
150	2076[b]	2369[b]			2804[b]	2796[b]			
Neonatal Toxicity									
10							255[b]		247[b]
25							702[b]		717[b]
50							1040[b]	1470[b]	
75							2070[b]		

F = Female; M = Male; PND = Post natal day; AUC = Area Under the Curve; $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ = Area under the curve from time 0 to 24 hours; AUC_{inf} = Area under the curve from 0 to infinity
a: $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (µg·hr/mL)
b: AUC_{inf} (µg·hr/mL)
c: These values are based on Tox 50 and 51 studies（[1.13.1.3.1項] 2.6.7.15項参照）
The exposure in pediatric patients receiving the appropriate pediatric regimens for the indications in this application is comparable to adult patients receiving a 4 or 6 mg/kg dose. Human $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (µg·hr/mL) = 619 µg·hr/mL in adults at 6 mg/kg.

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data in Juvenile or Neonatal Dogs (Continued)

Test Article: Daptomycin

Daptomycin	**C_{max} (µg/mL)**								
Daily Dose	**Day 0**		**Day13**		**Day 27**		**PND4**	**PND18**	**PND31**
Juvenile Toxicity[a]	F	M	F	M	F	M		F/M Combined	
5	41.6	43.8	47.4	53.5					
20	133	117			156	156			
25	234	239	235	279					
50	302	282			424	411			
75	750	574	692	718					
150	667	783			1240	999			
Neonatal Toxicity									
10							55.8		62.1
25							119		147
50							227	321	
75							416		

F = Female; M = Male; PND = Post natal day; C_{max} = Maximum observed concentration
a: These values are based on Tox 50 and 51 studies ([1.13.1.3.1項] 2.6.7.15項参照)
The exposure in pediatric patients receiving the appropriate pediatric regimens for the indications in this application is comparable to adult patients receiving a 4 or 6 mg/kg dose. Human C_{max} = 69 µg/mL in adults at 6 mg/kg.

2.6.7.4　Toxicology: Drug Substance

Test Article: Daptomycin

Lot No.[a]	Purity (%)[b]	Specified Impurities[c]				Study Number	Type of Study
		A	B	C	Other		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted][d]	DA.032.TX.002	Repeated-dose Toxicity study in neonatal dogs

a: Materials included in evaluation were lyophilize drug product vials.
b: Purity (%) = Total (100%) – total related substances (%) (i.e. purity is not equivalent to potency)
c: Specified impurities are as follows: A = 不純物A＊ ; B = 不純物B＊ ; C = 不純物C＊
d: 不純物D＊

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 Single-Dose Toxicity

Not applicable to this application.

2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Non-Pivotal Studies

Not applicable to this application.

2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies

Not applicable to this application.

2.6.7.8 Genotoxicity – In Vitro

Not applicable to this application.

2.6.7.9 Genotoxicity – In Vivo

Not applicable to this application.

2.6.7.10 Carcinogenicity

Not applicable to this application.

2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity: Non-Pivotal Studies

Not applicable to this application.

2.6.7.12　Reproductive and Developmental Toxicity –Fertility and Early Embryonic Development to Implantation

Not applicable to this application.

2.6.7.13　Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development

Not applicable to this application.

2.6.7.14　Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function

Not applicable to this application.

2.6.7.15 Reproductive and Developmental Toxicity – Studies in Which the Offspring (Neonatal Animals) are Dosed and/or Further Evaluated

2.6.7.15.A A 28-Day Intravenous (Slow-Push) Injection Toxicity and Toxicokinetic Study of Daptomycin in Post Natal Day 4 Neonatal Beagle Dogs With a 1-Month or 6-Month Recovery Period

Test Article: Daptomycin

Species/Strain: Dog/Beagle
Method of Administration: IV (slow-push) injection
Study Number: DA.032.TX.002

Age at Study Start: PND 4
Dosing Volume: 2 mL/kg
Location in CTD: [資料4.2.3.5.4.1: DA032TX002]

Date of First Dose: [redacted]
Vehicle/Formulation: Saline/Solution
GLP Compliance: Yes

Treatment Interval: PND 4-31 (0, 10, and 25 mg/kg/day) or PND 4-18 (50, 50/75, and 75 mg/kg/day)
Treatment-Free Interval: The 1-month recovery, and 6-month recovery periods were PND 32 to 60, and PND 32 to PND 200, respectively, for the 10 and 25 mg/kg/day dose groups
Special Features: NA
No-Observed-Adverse-Effect Level: 10 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0	10	25	50	75
Number of Animals[c]	6	6	6	6	6
Toxicokinetics: AUC_{inf} (µg·hr/mL)					
PND 4	NA	255[a]	702[a]	1040[b]	2070
PND 18	NA	NA	NA	1470	NA
PND 31	NA	247	717	NA	NA
Toxicokinetics: C_{max} (µg/mL)					
PND 4	NA	55.8	119	227[b]	416
PND 18	NA	NA	NA	321	NA
PND 31	NA	62.1	147	NA	NA

Note: Intended doses were 10, 25, and 75 mg/kg/day; however actual dose levels were 11.5, 29, and 87 mg/kg/day based on dose formulation analysis.
PND = Post natal day; NA = Not applicable; IV = Intravenous; AUC_{inf} = Area under the curve from 0 to infinity; C_{max} = Maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice
a: These data are based on the samples from 3 males and 2 females. One datum from one female was not included in mean calculation due to AUC_{inf} extrapolated area >20% or r^2<0.80.
b: These data are based on the samples from one male and one female.
c: 3 males and 3 females

C Confidential

2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals (Continued)

Study No.: DA.032.TX.002

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		25		50		75/50		75	
Sex:Number of Toxicology Animals	M:9	F:8	M:4	F:4	M:8	F:8	M:4	F:4	M:4	F:4	M:0	F:0
Sex:Number of Toxicokinetic Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:1	F:1	M:2	F:2	M:1	F:1
Noteworthy Findings												
Early Termination on PND 19 (Toxicology Groups)	0	0	0	0	0	0	0	0	[4]	[4]	NA	NA
Early Termination on PND 19 (Toxicokinetic Groups)	0	0	0	0	0	0	[1]	[1]	[2]	[2]	0	0
Found Dead/Euthanized *in extremis* (Toxicology Groups)	2	0	0	0	0	0	[4][b]	[4][b]	0	0	NA	NA
Found Dead/Euthanized *in extremis* (Toxicokinetic Groups)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	[1][c]	[1][c]
Clinical Observations[a]												
Impaired use of left forelimb	-	-	-	-	-	-	[2]	[2]	-	-	-	-
Impaired use of left hindlimb	1	-	-	-	-	-	[5]	[4]	[2]	[1]	[1]	[1]
Impaired use of right forelimb	-	-	-	-	-	-	[2]	[2]	-	-	-	-
Impaired use of right hindlimb	-	-	-	-	-	-	[5]	[4]	[2]	[1]	[1]	[1]
Rigid muscle tone	-	-	-	-	-	[1]	[5]	[5]	[5]	[6]	[1]	[1]
Twitching	1	1	-	-	[11]	[11]	[5]	[5]	[6]	[6]	[1]	[1]
Muscle rigidity hindlimbs	-	-	-	-	-	-	[1]	[1]	-	-	[1]	[1]

M = Male; F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings; [ ] = Test article-related clinical observation; PND = Post natal day

a: Includes animals in the toxicology and toxicokinetic groups. Total number of animals affected presented.

b: Includes one male euthanized *in extremis* on PND 19 and remaining animals euthanized *in extremis* between PND 23 to 29 due to twitching, rigid muscle tone in the limbs, impaired use of the hindlimbs, unkempt appearance, and/or swollen left hindlimb.

c: Euthanized *in extremis* in PND 12 due to twitching, rigid muscle tone, muscle rigidity in the hindlimbs, impaired use of the hindlimbs, vocalization, and/or a body that was cool to the touch.

2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals (Continued)

Study No.: DA.032.TX.002

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		25		50		50/75		75	
Sex:Number of Toxicology Animals	M:9	F:8	M:4	F:4	M:8	F:8	M:4	F:4	M:4	F:4	M:0	F:0
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Nerve Conduction Assessment	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Body Weight (%) [a]												
PND 18	1152 g	1134 g	-4.7	-15.8	-2.3	-10.9	-24.8	-23.8	-39.2	-36.9	NA	NA
PND 31	1802 g	1724 g	-5.0	-14.0	-0.8	-7.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Food Consumption	-	-	NA	NA	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Eye Opening	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Incisor Eruption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Neurobehavioral Assessment	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Hematology	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Histopathology [b]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings; PND = Post natal day

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

b: Includes animals in the toxicology and toxicokinetic groups

2.6.7.16　Local Tolerance

Not applicable to this application.

2.6.7.17 Other Toxicity Studies

Other Studies

Test Article: Daptomycin

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Doses(mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat Crl:WI(HAN)	IV (OMP)	100, 300	100 mg/kg: 2 M/2 F 300 mg/kg: 1 M/1 F	100	300	100 mg/kg: None 300 mg/kg: 1 male/1 female found dead Study Day 1 approximately 5 minutes after dosing. Clinical signs: Decreased activity, sternally recumbent, hind limb paddling, slow respiration, gasping,and/or labored breathing beginning immediately after dosing	TT #[redacted]-1200 [資料4.2.3.7.7.1: TT[redacted]1200]

IV = Intravenous; F = Female; M = Male; OMP = Original marketed product

2.6.7.17 Other Toxicity Studies (Continued)

Other Studies (Continued)

Report title: Fourteen-Day Intravenous Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-1178)

Test Article: Daptomycin

Species/Strain: Rat, Crl:WI(Han)

Duration of Dosing: 14 days

Study Number: TT #[redacted]-1178

Initial Age: 8 weeks

Duration of Postdose: NA

Location in CTD: [資料4.2.3.7.7.2: TT[redacted]1178]

Date of First Dose: [redacted]

Method of Administration: IV (slow bolus)

GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: Diluent for MK-3009 formulation (used for high-dose group): Sterile Water for Injection, U.S.P. Vehicle (used for mid-dose and low-dose groups) and Control Article: 7.5% (w/v) Sucrose in Sterile Water for Injection, pH[redacted]

Dose Volume: 1.9 mL/kg

Special Features: Reformulated daptomycin product was tested.

No-Observed-Adverse-Effect Level: 25 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		25		50		100	
Number of Animals	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10
Toxicokinetics – Study Week 2	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3
$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (µg·hr/mL)	NA	NA	507 ± 23.5	615 ± 25.7	1040 ± 36.3	1150 ± 26.6	2270 ± 152	2420 ± 127
C_{max} (µg/mL)	NA	NA	153 ± 8.58	192 ± 4.22	351 ± 7.70	367 ± 16.3	743 ± 94.3	706 ± 27.3
T_{max} (hr)	NA	NA	0.50 ± NC	0.25 ± NC	0.25 ± NC	0.25 ± NC	0.25 ± NC	0.25 ± NC
Noteworthy Findings								
Mortality (No. of Animals)	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)[b]	183.9 g	303.4 g	+1.4	-7.3	+3.3	-7.4	+1	-5.3
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.17 Other Toxicity Studies (Continued)

Other Studies (Continued)

Report title: Fourteen-Day Intravenous Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-1178) (Continued)			**Test Article**: Daptomycin					
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		25		50		100	
Number of Animals	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10
Hematology								
Total WBCs, (10^3/μL) decreased	4.87	6.25	4.51	7.00	4.24	7.11	[3.72]	7.28
Lymphocyte Counts, (10^3/μL) decreased	4.07	5.24	3.77	6.01	3.54	5.93	[3.02]	6.19
Serum Biochemistry[c]								
Glucose, (mg/dL) increased	137	112	135	134	138	129	137	[145]
Triglycerides, (mg/dL) increased	32	60	27	[90]	23	69	29	[93]
Potassium, (mmol/L) increased	4.2	4.5	4.1	[5.0]	4.3	[4.9]	3.9	[5.2]
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.17 Other Toxicity Studies (Continued)

Other Studies (Continued)

Report title: Fourteen-Day Intravenous Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-1178) (Continued) **Test Article**: Daptomycin

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		25		50		100	
Number of Animals	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10
Organ weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology (Incidence)	-	-	-	-	-	-	-	-
Histomorphology (Incidence)								
Kidney, tubular vacuolation, Minimal	0/10	0/10	0/10	0/10	[6/10]	[7/10]	[7/10]	[10/10]
Sciatic Nerve, degeneration, axonal, Minimal	0/10	0/10	NE	NE	0/10	0/10	[2/10]	[10/10]
Ulnar Nerve, degeneration, axonal, Minimal	0/10	0/10	NE	NE	0/10	0/10	[1/10]	[6/10]

F = Female; M = Male; NA = Not applicable; NC = Not calculated; NE = Not examined; IV = Intravenous; [ ] = Test article-related change; - = No noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ = Area under the curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = Maximum observed concentration; T_{max} = Time to maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice

a: MK-3009 concentrations in plasma from all control animals were below the LLQ of 3 µg/mL of the bioanalytical method.

b: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For dose groups, percent differences from controls are shown.

c: Control and treatment group values are mean absolute values. Clinical pathology findings were not considered toxicologically significant or clinically relevant due to the minimal magnitude of the change and/or majority of individual values in daptomycin-treated animals being within the range of historical control values, occurrence in only one sex, absence of a dose response, and the lack of histomorphologic and antemortem correlations.

2.6.7.17 Other Toxicity Studies (Continued)

Other Studies (Continued)

Report title: Fourteen-Day Intravenous Toxicity Study in Rat (TT #[redacted]-1179) **Test Article**: Daptomycin

Species/Strain: Rat, Crl:WI(Han) **Duration of Dosing**: 14 days **Study Number**: TT #[redacted]-1179

Initial Age: 8 to 9 weeks **Duration of Postdose**: NA **Location in CTD**: [資料4.2.3.7.7.3: TT[redacted]1179]

Date of First Dose: [redacted] **Method of Administration**: IV (slow bolus) **GLP Compliance**: Yes

Dose Volume: 1.9 mL/kg **Vehicle/Formulation:** 0.9% Sodium Chloride for Injection, U.S.P.

Special Features: Original marketed product of daptomycin was tested.

No-Observed-Adverse-Effect Level: 100 mg/kg/day (based only on antemortem, necropsy and organ weight data; no histopathologic evaluation was conducted)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		25		50		100	
Number of Animals	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10
Toxicokinetics – Study Week 2	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3
$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (µg·hr/mL)	NA	NA	441 ± 41.7	552 ± 76.6	1120 ± 54.9	1190 ± 32.6	2060 ± 210	2950 ± 112
C_{max} (µg/mL)	NA	NA	185 ± 5.96	209 ± 13.5	369 ± 17.0	378 ± 10.1	698 ± 60.1	819 ± 10.9
T_{max} (hr)	NA	NA	0.25 ± NC	0.25 ± NC	0.25 ± NC	0.25 ± NC	0.25 ± NC	0.25 ± NC
Noteworthy Findings								
Mortality (No. of Animals)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Body Weight (%)[b]	195.6 g	268.1 g	-1.7	-3.9	+1.2	+0.6	+0.2	-4.4
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.17 Other Toxicity Studies (Continued)

Other Studies (Continued)

Report title: Fourteen-Day Intravenous Toxicity Study in Rat (TT #[redacted]-1179) (Continued) **Test Article**: Daptomycin

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		25		50		100	
Number of Animals	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Biochemistry[c]								
Glucose, (mg/dL) increased	103	99	128	115	115	124	114	[128]
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology (Incidence)	-	-	-	-	-	-	-	-
Histomorphology (Incidence)	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE

IV = Intravenous; F = Female; M = Male; [ ] = Test article-related change; NA = Not applicable; NC = Not calculated; NE = Group not examined; - = No noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24\ hr}$ = Area under the curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = Maximum observed concentration; T_{max} = Time to maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice

a: MK-3009 concentrations in plasma from all control animals were below the LLQ of 3 µg/mL of the bioanalytical method.

b: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For dose groups, percent differences from controls are shown.

c: Control and treatment group values are mean absolute values. Serum biochemistry change was not considered toxicologically significant based on the minimal magnitude of the change, observation in only one sex, and the lack of antemortem correlations.

2.6.7.17 Other Toxicity Studies (Continued)

Other Studies (Continued)

Test Article: Daptomycin

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
In vitro hemolysis (both OMP and RDP)	In vitro	NA	50, 100, 200 µg/ml	NA	Incubation of the human blood substrate with RDP at concentrations of 50, 100 and 200 µg/ml resulted in 0.3%, 0%, and 0.3% hemolysis, respectively, which was insignificant. Daptomycin (OMP) at dosing concentrations of 50, 100 and 200 µg/ml did not cause any significant hemolysis. The percent hemolysis for the daptomycin OMP at 50, 100 and 200 µg/ml was calculated to be 0%, 0% and 0.4%, respectively.	TT #[redacted]-9038 [資料4.2.3.7.7.4: TT[redacted]9038]
In vitro flocculation (both OMP and RDP)	In vitro	NA	50, 100, 200 µg/ml	NA	No precipitation or pellet was noted in the saline or three sucrose placebo concentrations (equivalent dilution ratios as the three sucrose (RDP) formulations). No precipitation was observed macroscopically or microscopically in the human plasma or serum when mixed with the OMP or the RDP (final concentrations of 50, 100 or 200 µg/ml). When all daptomycin samples of the OMP or RDP were centrifuged, no pellets were observed.	TT #[redacted]-9039 [資料4.2.3.7.7.5: TT[redacted]9039]

OMP =Original marketed product; RDP = Reformulated daptomycin product; NA = Not applicable