ラジカット内用懸濁液 2.1%

製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6　毒性試験の概要文

田辺三菱製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 4
2.6.6　毒性試験の概要文 6
2.6.6.1　まとめ 6
2.6.6.1.1　単回投与毒性試験 10
2.6.6.1.2　反復投与毒性試験 10
2.6.6.1.3　遺伝毒性試験 10
2.6.6.1.4　がん原性試験 10
2.6.6.1.5　生殖発生毒性試験 10
2.6.6.1.6　局所刺激性試験 11
2.6.6.1.7　その他の毒性試験 11
2.6.6.2　単回投与毒性試験 13
2.6.6.3　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 13
2.6.6.3.1　経口投与－ラット 14
2.6.6.3.2　経口投与－イヌ 15
2.6.6.3.3　24 時間持続静注－ラット 16
2.6.6.3.4　24 時間持続静注－イヌ 17
2.6.6.3.5　24 時間持続静注－サル 18
2.6.6.4　遺伝毒性試験 19
2.6.6.5　がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 19
2.6.6.5.1　マウスを用いた 4 週間経口投与試験 19
2.6.6.5.2　マウスを用いた 26 週間がん原性試験 20
2.6.6.5.3　ラットを用いた 13 週間経口投与試験 21
2.6.6.5.4　ラットを用いた 104 週間がん原性試験 22
2.6.6.6　生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 23
2.6.6.7　局所刺激性試験 23
2.6.6.8　その他の毒性試験 23
2.6.6.8.1　抗原性試験 23
2.6.6.8.2　免疫毒性試験 23
2.6.6.8.3　毒性発現の機序に関する試験 23
2.6.6.8.4　依存性試験 29
2.6.6.8.5　代謝物の毒性試験 29
2.6.6.8.6　不純物の毒性試験 30
2.6.6.8.7　その他の毒性試験 32
2.6.6.9　考察及び結論 33

2.6.6.9.1　反復投与毒性試験 33
2.6.6.9.2　がん原性試験 33
2.6.6.9.3　神経毒性試験 33
2.6.6.9.4　結論 35
2.6.6.10　図表 37
2.6.6.11　参考文献 37

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AChE	Acetylcholinesterase	アセチルコリンエステラーゼ
A/G	Albumin/globulin ratio	アルブミン／グロブリン比
AIS	Acute ischemic stroke	脳梗塞急性期
ALS	Amyotrophic lateral sclerosis	筋萎縮性側索硬化症
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
ASA	Active systemic anaphylaxis	能動的全身性アナフィラキシー
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24h}$	Area under the plasma concentration-time curve from zero to 24 hours	投与開始から 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}tlast}$	Area under the (plasma) concentration-time curve from zero to the last quantifiable concentration time point	投与開始から最終測定時点までの（血漿中）濃度-時間曲線下面積
AUC_{1day}	Area under the plasma concentration-time curve from zero to 1 day	投与開始から 1 日後までの血漿中濃度-時間曲線下面積
B[a]P	Benzo[a]pyrene	ベンゾ[a]ピレン
BID	Bis in die (twice daily)	1 日 2 回投与
C_{24h}	Observed plasma concentration at 24 hours post dose	投薬後 24 時間の血漿中濃度
CHL/IU	Fibroblast cells from Chinese hamster lung	チャイニーズ・ハムスター肺由来の線維芽細胞株
C_{max}	Maximum plasma concentration after administration	投与後の最高血漿中濃度
c.n.	The calculated value was negative	算出値は陰性であった.
CSF	Cerebrospinal fluid	脳脊髄液
C_{ss}	Steady state concentration	定常状態における（血漿中）濃度
E. coli	*Escherichia coli*	大腸菌
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
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
グルクロン酸抱合体	Glucuronide conjugate of edaravone	エダラボンのグルクロン酸抱合体
h	Hour(s)	時間
Hb	Hemoglobin	ヘモグロビン
Hetero-PCA	Heterologous passive cutaneous anaphylaxis	異種受身皮膚アナフィラキシー
Homo-PCA	Homologous passive cutaneous anaphylaxis	同種受身皮膚アナフィラキシー
Ht	Hematocrit	ヘマトクリット

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IME	Immature erythrocyte	幼若赤血球
LDH	Lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
MCH	Mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	Mean corpuscular volume	平均赤血球容積
min	Minute(s)	分
MMC	Mitomycin C	マイトマイシン C
MNIME	Micronucleated immature erythrocyte	小核を有する幼若赤血球
NaOH	Sodium hydroxide	水酸化ナトリウム
NCI	National Cancer Institute	米国国立がん研究所
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無影響量
A	Impurity A or Impurity A	不純物 A 又は Impurity A
D	Impurity D or Impurity D	不純物 D 又は Impurity D
B	Impurity B or Impurity B	不純物 B 又は Impurity B
PHA	Passive hemagglutination	間接赤血球凝集反応
Impurity D	Impurity D	Impurity D
RBC	Red blood cells	赤血球
RDW	Red cell distribution width	赤血球分布幅
RDW-SD	Red cell distribution width-standard deviation	赤血球分布幅の標準偏差
S9	Rat liver homogenate 9000 x *g* supernatant	ラット肝ホモジネート 9,000×g 上清
SD	Sprague Dawley	ー
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*	ネズミチフス菌
硫酸抱合体	Sulfate conjugate of edaravone	エダラボンの硫酸抱合体
TK	Toxicokinetic or toxicokinetics	トキシコキネティクス
WBC	White blood cells	白血球

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

エダラボンの内用懸濁液としての毒性評価するための適切な非臨床試験結果を本概要文に示す．主な毒性試験は，医薬品規制調和国際会議（以下，ICH）M3 (R2) ガイドライン（医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験実施についてのガイダンス）及びその他安全性評価に関する ICH ガイドラインに従い，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（以下，GLP）を遵守して実施した．

脳梗塞急性期（AIS）の治療［投与レジメン：30 mg での 30 分間点滴静注で 1 日 2 回投与（BID）］を目的とした日本での製造販売承認をサポートするために実施した主要な毒性試験は，マウス，ラット，モルモット，ウサギ，イヌ及びサルを用いて実施した．それらの試験結果は初回申請（AIS）時に報告済みである．

加えて，AIS の治療薬としてエダラボンが 2001 年に日本で最初に承認された後，欧州において AIS 用の新たな投与レジメンを開発するため，ラット，イヌ及びサルを用いた持続静注による非臨床試験を実施した．イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験で神経系の毒性学的変化がみられたため，サルを用いた 28 日間反復投与毒性試験及びイヌを用いた神経毒性に関する検討試験を，20[redacted] 年 [redacted] 月から 20[redacted] 年 [redacted] 月にかけて実施した．これらの試験結果の概要は研究報告にて報告済みである．

MT-1186 内用懸濁液（以下，本剤）の臨床使用をサポートするため，ラットで最長 26 週間，イヌで最長 39 週間の反復経口投与毒性試験を実施した．また，製剤中に含まれる可能性のある不純物 A，B 及び　　C　　の毒性試験を実施した．

更に，初回申請（AIS）及び一部変更申請［筋萎縮性側索硬化症（ALS）］時には，エダラボンのがん原性に関する情報として，米国国立がん研究所（NCI）が実施したエダラボンの混餌投与によるがん原性試験結果[1)]を報告していたが，本薬注射剤の米国食品医薬品局（FDA）の Postmarketing Requirements の一環として，CB6F1-Tg rasH2 マウスを用いたエダラボンの 26 週間反復経口投与がん原性試験及びラットを用いたエダラボンの 104 週間反復経口投与がん原性試験を実施した．

エダラボンの非臨床毒性試験の一覧を表 2.6.6.1－1 に示し，それら一連の試験の中から，研究報告で試験結果の概要を報告している試験も含め，新規提出する試験結果について，本文書の 2.6.6.2 以降に記載する．今回新たに実施した試験も含め，表 2.6.6.1－1 に記載した試験は，いずれも GLP を遵守して実施した．

表 2.6.6.1－1　エダラボンの毒性試験一覧表（評価資料）

試験項目		動物種又は試験条件	投与（処理）	用量（mg/kg/日）又は処理濃度	試験結果（mg/kg/日）		資料番号（試験番号）
単回投与毒性		マウス	経口 静脈内 皮下	1000～2860 478～700 636～932	50%致死量	雄 1683，雌 1900 雄 588，雌 602 雄 886，雌 691	ニ－1 [a)]
		ラット	経口 静脈内 皮下	1200～3427 530～850 800～1170	50%致死量	雄 1915，雌 2193 雄 631，雌 800 雄 1140，雌 1101	ニ－1 [a)]
		イヌ	静脈内	400，500，600	概略致死量：雄 >600，雌 600		ニ－1 [a)]
反復投与毒性		ラット	経口，2 週	30，100，300，1000	無毒性量	300	4.2.3.2－1（[redacted]0427）
		ラット	経口，26 週	25，75，250	無毒性量	75	4.2.3.2－2（[redacted]0034）
		イヌ	経口，2 週	10，30，100，300	無毒性量	雄 100，雌 30	4.2.3.2－4（[redacted]0428）
		イヌ	経口，39 週	10，30，100 [b)]，300 [b), c)]	無毒性量	30	4.2.3.2－5（[redacted]1033）
		ラット	急速静注，30 日	10，30，100，300	無毒性量	10	ニ－2 [a)]
		ラット	急速静注，26 週	10，30，100	無毒性量	10	ニ－4 [a)]
		イヌ	急速静注，30 日	10，30，100，300	無毒性量	30	ニ－3 [a)]
		イヌ	急速静注，26 週	10，30，100	無毒性量	30	ニ－5 [a)]
		ラット	24 時間静注，28 日	50，100，300，1000	無毒性量	100	4.2.3.2－3（[redacted]39）
		イヌ	24 時間静注，28 日	30，60，120，200	無毒性量	30	4.2.3.2－6（[redacted]62）
		サル	24 時間静注，28 日	20，100，1000	無毒性量	100	4.2.3.2－7（[redacted]95）
遺伝毒性	復帰突然変異	サルモネラ菌 大腸菌	直接法 代謝活性化法	156～5000 μg/plate	陰性 陰性		ニ－13 [a)]
	染色体異常	CHL/IU	直接法 代謝活性化法	50～400 μg/mL 200～1600 μg/mL	陰性 陰性		ニ－13 [a)]
	小核	マウス	腹腔内，単回	82.5，165，330	陰性		ニ－13 [a)]
がん原性	用量設定試験	マウス	経口，4 週	100，300，600	最大耐量	600	4.2.3.4.2－1（[redacted]0057）
	用量設定試験	ラット	経口，13 週	250，500，1000	最大耐量	250≧ [d)]	4.2.3.4.2－2（[redacted]0932）
	本試験	マウス	経口，26 週	100，150，350	がん原性なし		4.2.3.4.1－1（[redacted]0779）
	本試験	ラット	経口，104 週	雄 50，100，200 雌 50，100，250	がん原性なし		4.2.3.4.1－2（[redacted]0275）

表 2.6.6.1－1　エダラボンの毒性試験一覧表（評価資料）（続き）

試験項目		動物種又は試験条件	投与（処理）	用量（mg/kg/日）又は処理濃度	試験結果（mg/kg/日）			資料番号（試験番号）
生殖発生毒性	Seg. I	ラット	静脈内，雄：交配前 63 日 雌：交配前 15 日	3，20，200	無毒性量	親世代 3	次世代 200	ニ－6 [a)]
	Seg. II	ラット	静脈内，器官形成期	3，30，300		3	30	ニ－7 [a)]
		ウサギ		3，20，100		20	20	ニ－8 [a)]
	Seg. III	ラット	静脈内，妊娠 17 日～哺育 21 日	3，20，200		3	3	ニ－9 [a)]
	Seg. III (追加試験)	ラット	静脈内，妊娠 17 日～哺育 21 日	3，20，200		3	200 [e)]	ニ－18 [a)]
抗原性	PHA	ウサギ	皮下	感作：1	陰性			ニ－12 [a)]
	ASA	モルモット	皮下，静脈内	感作：1	陰性			
	Homo-PCA				陰性			
	Schultz-Dale	モルモット	皮下	感作：1	陰性			
	皮膚反応	モルモット	皮下	感作：1	陽性			
			静脈内		陰性			
	Hetero-PCA	マウス ラット	腹腔内	感作：10 μg/匹	陰性			
毒性発現機序関連	神経系への影響検討	イヌ	24 時間静注，14 日	300，1000	（病理組織学的精査）			4.2.3.7.3－1 ([redacted]56)
		イヌ	24 時間静注，5, 10 及び 14 日	60，120，300	無毒性量 5 日間投与：300 10 日間投与：120 14 日間投与：60			4.2.3.7.3－2 ([redacted]93)
		イヌ	24 時間静注，14 日 (休薬期間：13 週)	120	神経毒性所見の回復傾向あり			4.2.3.7.3－3 ([redacted]26)
		イヌ	24 時間静注，5 日 (休薬期間：4 週)	60，120，180，300	無毒性量：120			4.2.3.7.3－4 ([redacted]46)
依存性	身体依存	ラット	混餌	1～12 mg/g food	身体依存性なし			ニ－10 [a)]
	精神依存	サル	静脈内	1，4，8	強化効果なし			ニ－11 [a)]
代謝物の毒性	グルクロン酸抱合体	マウス	静脈内，単回	2000	概略致死量	雄 >2000		ニ－16 [a)]
	硫酸抱合体	マウス	静脈内，単回	439，877		877		ニ－17 [a)]

表 2.6.6.1－1　エダラボンの毒性試験一覧表（評価資料）（続き）

試験項目				動物種又は試験条件	投与（処理）	用量（mg/kg/日）又は処理濃度	試験結果（mg/kg/日）	資料番号（試験番号）
不純物の毒性	A	単回投与毒性		マウス	静脈内，単回	267，400，600	概略致死量：600	ニ－15 a)
		反復投与毒性		ラット	静脈内，2 週	0.1，1	無毒性量：1	4.2.3.7.6－1 ([redacted]35)
		反復投与毒性		ラット	経口，13 週	エダラボン：25，75，250 エダラボン及び A ：25/1.25，75/3.75，250/12.5	エダラボンの毒性に A 併用投与の影響なし	4.2.3.7.6－2 ([redacted]0880)
		遺伝毒性	復帰突然変異	サルモネラ菌大腸菌	直接法 代謝活性化法	313～5000 μg/plate	陰性 陰性	4.2.3.7.6－3 ([redacted]1125)
		遺伝毒性	染色体異常	CHL/IU	直接法 代謝活性化法	825～3300 μg/mL 又は 400～1953 μg/mL 825～3300 μg/mL	陽性 陰性	4.2.3.7.6－4 ([redacted]1126)
		遺伝毒性	小核	マウス	静脈内，2 日	100，160，250	陰性	4.2.3.7.6－5 ([redacted]1127)
	B	遺伝毒性	復帰突然変異	サルモネラ菌大腸菌	直接法 代謝活性化法	313～5000 μg/plate 又は 39.1～2500 μg/plate (TA98 菌株のみ) 313～5000 μg/plate	陰性 陰性	4.2.3.7.6－6 ([redacted]1128)
	C	遺伝毒性	復帰突然変異	サルモネラ菌大腸菌	直接法 代謝活性化法	78～5000 μg/plate	陰性 陰性	4.2.3.7.6－7 ([redacted]001[redacted])
溶血性				ウサギ血液	肉眼的観察 溶血率	エダラボン製剤：5%赤血球浮遊液 =1:1，9:1	陰性	ニ－14 a)

a)　初回申請（AIS）時に提出済み.
b)　症状が認められた動物について投与を中止.
c)　症状が認められなかった 300 mg/kg/日群の動物は 1 週間投与を中止し，雄は 30 日目，雌は 24 日目に，100 mg/kg/日群に再度割付けた.
d)　がん原性試験の適切な高用量として判断.
e)　行動検査なし.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.1.1　単回投与毒性試験

初回申請（AIS）時に，げっ歯類はマウス及びラットの経口投与による試験成績を提出済みである．非げっ歯類は，イヌにおける 2 週間反復経口投与毒性試験内で評価した（2.6.6.3.2.1）．

2.6.6.1.2　反復投与毒性試験

2.6.6.1.2.1　ラット及びイヌにおける反復経口投与毒性試験

ラットで最長 26 週間，イヌで最長 39 週間の反復経口投与毒性試験における無毒性量（NOAEL）は，ラットで 75 mg/kg/日，イヌで 30 mg/kg/日であった．経口投与毒性試験で認められた所見は，静脈内投与毒性試験で認められたものと類似していた．

2.6.6.1.2.2　ラット，イヌ及びサルにおける反復 24 時間持続静注毒性試験

28 日間の 24 時間持続静注試験において，神経毒性が，イヌでは 60 mg/kg/日，サルでは 1000 mg/kg/日の用量で認められた．神経毒性として末梢神経及び脊髄の神経線維変性がみられ，それに関連して四肢動作の限定などの一般状態変化が認められた．ラットの最高用量である 1000 mg/kg/日において，これらの神経毒性所見は認められなかった．120 mg/kg/日以上の投与群のイヌは，状態悪化及び四肢動作の限定のため安楽致死させた．ラット及びサルでは，最高用量の 1000 mg/kg/日まで死亡は認められなかった．NOAEL は，イヌでは 30 mg/kg/日，ラット及びサルでは 100 mg/kg/日と結論づけられた．

2.6.6.1.3　遺伝毒性試験

初回申請（AIS）時に，細菌を用いる復帰突然変異試験，培養哺乳類細胞を用いる染色体異常試験及びマウス骨髄赤血球を用いる小核試験の試験成績を提出済みである．薬食発 1121 第 2 号の別表 2－（1）に従い，経口投与における遺伝毒性試験は実施しなかった．

2.6.6.1.4　がん原性試験

初回申請（AIS）及び一部変更申請（ALS）時には，エダラボンのがん原性に関する情報として，NCI が実施したエダラボンの混餌投与によるがん原性試験結果[1)]を報告したが，本薬注射剤に関する FDA の Postmarketing Requirements の一環として，CB6F1-Tg rasH2 マウスを用いたエダラボンの 26 週間反復経口投与がん原性試験及びラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験を実施した．CB6F1-Tg rasH2 マウスにおいて，エダラボンは最高用量の 350 mg/kg/日までの用量でがん原性を示さなかった．ラットにおいて，エダラボンは最高用量の 200 mg/kg/日（雄），250 mg/kg/日（雌）までの用量でがん原性を示さなかった．

2.6.6.1.5　生殖発生毒性試験

初回申請（AIS）時に，静脈内投与で実施した妊娠前及び妊娠初期投与試験，胎児の器官形成期投与試験及び周産期及び授乳期投与試験の試験成績を提出済みである．いずれの試験についても，親動物に影響が認められる投与量で評価しており，全身に曝露された条件で評価でき

ていると推察されること，臨床及び非臨床の薬物動態試験成績から投与経路の変更による全身曝露の増加及び代謝の違いはないことから（2.7.2.2.2 及び 2.6.4.5.1），経口投与による生殖発生毒性試験は実施しなかった．

2.6.6.1.6　局所刺激性試験

ラット及びイヌにおける反復経口投与毒性試験内で評価したため，本申請に関連する局所刺激性試験は実施しなかった．

2.6.6.1.7　その他の毒性試験

2.6.6.1.7.1　毒性機序に関する試験：神経毒性の検討

20[redacted] 年から 20[redacted] 年に提出した研究報告のとおり，エダラボンを 24 時間持続静注した試験において，イヌでは 60 mg/kg/日以上，サルでは 1000 mg/kg/日の用量で神経毒性が認められた．イヌに経口投与したところ，100 mg/kg/日以上の用量で神経毒性が認められた．ラットに 1000 mg/kg/日以下の用量で 24 時間持続静注及び 250 mg/kg/日以下の用量で経口投与したところ，評価した最高用量においても神経毒性の徴候は認められなかった．また，神経毒性の詳細な検討をするため，イヌを用いて一連の 24 時間持続静注試験を実施した（2.6.6.8.3.1）．

神経組織の病理組織学的検査

イヌの 24 時間持続静注試験において，60 mg/kg/日以上の群で四肢動作の限定が認められた．神経組織の病理組織学的変化は，肋間，橈骨／坐骨，横隔及び脛骨神経並びに腰部脊髄において他の神経組織より重度であった．病変は神経線維のみに限定され，神経細胞体に影響は認められなかった．坐骨神経及び腰部脊髄背索の電子顕微鏡検査で，軸索原形質の構造成分の変性が認められたことから，軸索障害が示唆された．以上の結果に基づき，エダラボンにより誘発される神経病変は軸索変性の結果として発現する神経線維変性であり，坐骨，橈骨及び脛骨神経といった末梢神経並びに腰部脊髄における病変が，四肢動作の限定及び歩行異常といった神経症状に関連すると考えられた．

神経毒性の回復性

イヌの 24 時間持続静注試験の 120 mg/kg/日の用量では，14 日間の投与期間中に投与関連の一般状態の異常は認められなかった．投与期間中の膝蓋腱反射はおおむね正常であったが，休薬開始後 1 週目に 6 例中 1 例に反射の低下，4 例に反射の消失が認められた．休薬 6 週以降，徐々に反射の低下又は反射の消失が認められた個体の数が減少し，休薬 12 週には全例が正常な反射を示すようになった．したがって，エダラボン投与による神経機能的な影響は休薬の初期には悪化する個体もみられたが，その後回復していくことが示唆された．神経組織の病理組織学的検査の結果，14 日間投与後には 6 例中 1 又は 2 例に脊髄（腰部脊髄背索）及び末梢神経（肋間，坐骨，橈骨及び脛骨神経）の神経線維変性が認められた．13 週間の休薬期間終了後には，6 例中 3 例で腰部脊髄背索に神経線維変性が認められ，回復性はみられなかった．一方，6 例中 5 例の末梢神経では神経線維変性が認められず，神経線維変性の修復に関連する貪食細

胞がびまん性に認められた．これらの末梢神経組織の所見から，軽度な初期変化であれば休薬による回復が見込まれた．

神経病変の発現時期と曝露量との関係

イヌを用いて 60，120 及び 300 mg/kg/日の用量で 24 時間持続静注による 5，10 及び 14 日間投与を行った試験において，120 及び 300 mg/kg/日の用量の 14 日間投与群でのみ神経症状が認められた．神経症状の最短発現日は 300 mg/kg/日での投与 12 日目であった．300 mg/kg/日群では投与 11 及び 15 日目，120 mg/kg/日群では投与 15 日目で，病理組織学検査で末梢神経線維変性が認められた．脊髄の神経線維変性は，300 mg/kg/日群の投与 15 日目のみに認められた．60 mg/kg/日群では神経症状及び神経病変は認められなかった．これらの所見により，神経線維変性はまず末梢神経に発現し，その病変が脊髄に拡大した結果，四肢動作の限定に代表される神経症状が発現することが示唆された．これらの試験条件下では，神経毒性に関する NOAEL は，5 日間投与では 300 mg/kg/日，10 日間投与では 120 mg/kg/日，14 日間投与では 60 mg/kg/日であった．

5 日間投与及び 4 週間休薬試験

24 時間持続静注試験の最高用量である 300 mg/kg/日までの用量で，5 日間の投与期間中，一般状態及び神経機能検査で異常を示す動物は認められなかったが，4 週間の休薬期間後に，末梢神経の神経線維変性及び貪食細胞の出現が，180 mg/kg/日群の雌 3 例中 1 例及び 300 mg/kg/日群の雌雄全例に認められた．更に 300 mg/kg/日群の雄 3 例中 1 例には腰部脊髄背索の神経線維変性も認められた．60 及び 120 mg/kg/日の用量では異常は認められなかった．

2.6.6.1.7.2　不純物の毒性試験

Impurity D

分解物である不純物 D（Impurity D，Impurity D）の毒性試験は実施しなかった．ヒトにおける Impurity D 曝露量の妥当性を 5.3.5.3 に示す．

不純物 A

[redacted]不純物 A（Impurity A）の毒性を，マウスを用いた急性毒性試験において，267，400 及び 600 mg/kg の用量で単回静脈内投与により評価した．その結果，雌雄のマウスにおける不純物 A の概略の致死量は 600 mg/kg であった．400 mg/kg では死亡は認められなかった．600 mg/kg の用量では，エダラボン静脈内投与時の 50%致死量（雄で 588 mg/kg，雌で 602 mg/kg）との明らかな違いは認められなかった．ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験では，不純物 A を 0.1 及び 1.0 mg/kg/日の用量で 14 日間反復静脈内投与したところ，1.0 mg/kg/日群において不純物 A の投与に起因する変化は認められなかった．13 週間反復投与毒性試験では，ラットにエダラボン（25，75 及び 250 mg/kg/日）又はエダラボン／不純物 A（25/1.25，75/3.75 及び 250/12.5 mg/kg/日）を強制経口投与した．不純物 A を添加したエダラボンの毒性プロファイルはエダラボン単独での毒性プロファイルと極めて類似していたことから，不純物 A は 12.5 mg/kg/日（エダラボンの 5%）までの用量でエダラボンによ

る毒性学的変化に影響を及ぼさないことが示された.

不純物 A は，細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスを用いる *in vivo* 小核試験において遺伝毒性を示さなかった．*In vitro* 染色体異常試験において，不純物 A は染色体構造異常を有する細胞を増加させたが，現行の ICH S2(R1)ガイドライン（医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス）の推奨最高濃度（1 mmol/L）を超える濃度においてのみであった．したがって，不純物 A がヒトで遺伝毒性を示す懸念はないと結論づけられた.

不純物 B

[redacted]分解物である不純物 B（Impurity B） の毒性を検討するため，細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した．不純物 B により，遺伝子突然変異は誘発されなかった．したがって，不純物 B について安全性上の懸念はないと結論づけられた.

不純物 C

[redacted]分解物である不純物 C ([redacted]）の毒性を検討するため，細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した．不純物 C により，遺伝子突然変異は誘発されなかった．したがって，不純物 C について安全性上の懸念はないと結論づけられた.

2.6.6.1.7.3　新規添加剤の毒性試験

新規添加剤シメチコンエマルションの試験は実施しなかったが，公知情報を基に作成した 4.3－2 MT-1186 内用懸濁液 2.1%におけるシメチコンエマルションの安全性に関する報告に，シメチコンエマルションの安全性について示した．公知情報から，シメチコンエマルションの安全性は担保されていると判断した.

2.6.6.2　単回投与毒性試験

初回申請（AIS）時に提出済み，または反復投与毒性試験内で評価したため，該当資料なし.

2.6.6.3　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

経口投与：エダラボンを SD ラット及びイヌに反復経口投与したときの毒性を評価した．これらの試験には，1% w/v トラガントゴム水溶液を投与する対照群を設定した．これらの試験では，エダラボンを 1% w/v トラガントゴム水溶液と混合して投与液を調製した．毒性評価は，一般状態観察，体重，摂餌量，尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査，器官重量，剖検並びに特定の器官及び組織の病理組織学的検査に基づいて実施した．これらの試験のいずれにおいても，血漿中におけるエダラボン並びにエダラボンの硫酸抱合体（硫酸抱合体）及びエダラボンのグルクロン酸抱合体（グルクロン酸抱合体）を測定し，全身曝露を評価した．これらの結果について，2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 に示す．がん原性試験の用量設定試験の一環として，マウス（100，300 及び 1000/600 mg/kg/日の 1 週間投与並びに 100，300 及び 600 mg/kg/日の 4 週

間投与）及びラット（250，500 及び 1000 mg/kg/日の 13 週間投与）を用いた反復投与毒性試験も実施し，その結果は 2.6.6.5 に要約した．

24 時間持続静注：エダラボンを SD ラット，イヌ及びサルへの持続静注により反復投与したときの毒性を評価した．特に記載しない限り，試験には生理食塩液投与の対照群を設定した．持続静注による反復投与毒性試験では，エダラボンを 1N 水酸化ナトリウム（NaOH）水溶液に溶解させ，生理食塩液で希釈して 5%溶液（pH：約 9.0～9.5）を調製し，更に生理食塩液で希釈して投与液を調製した．毒性評価は，一般状態観察，体重，摂餌量，尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査，器官重量，剖検並びに特定の器官及び組織の病理組織学的検査に基づいて実施した．一部の試験では，血漿中及び/又は脳脊髄液（CSF）中におけるエダラボン並びに硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体を測定し，曝露を評価した．これらの結果について，2.6.6.3.3，2.6.6.3.4 及び 2.6.6.3.5 示す．

2.6.6.3.1　経口投与－ラット

2.6.6.3.1.1　2 週間反復経口投与毒性試験

SD ラットにエダラボンを 0（媒体），30，100，300 又は 1000 mg/kg/日の用量で 2 週間経口投与した（4.2.3.2－1，試験番号 [redacted]0427，2.6.7.7.1）．エダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の反復投与毒性及び血漿中曝露量を評価した．

毒性学的変化は 1000 mg/kg/日群のみで認められた．一般状態観察で，投与後の一過性の流涎が 100 mg/kg/日以上の群の雄及び 300 mg/kg/日以上の群の雌に認められたが，100 及び 300 mg/kg/日で認められたこの変化は，関連する病理組織学的変化がみられなかったことから毒性学的意義はないと判断した．1000 mg/kg/日群において，1 又は 2 日目の投与後に流涙が一過性に雄で認められた．体重増加抑制及び摂餌量減少が雌雄で認められた．血液学的検査では，雌雄ともに赤血球（RBC）数，ヘモグロビン（Hb），ヘマトクリット（Ht）及び平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）の低値がみられ，平均赤血球容積（MCV），網状赤血球の比率及び数，並びに赤血球分布幅（RDW）の高値が認められた．また，雄において，プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長が認められた．血液生化学的検査では，雌雄ともに，総ビリルビン，尿素窒素，総コレステロール及び/又はリン脂質の高値が認められた．

剖検において脾臓の腫大が，器官重量において甲状腺及び脾臓重量の増加が雌雄に認められた．病理組織学的検査では，1000 mg/kg/日群の雌及び/又は雄において以下のエダラボン関連の変化が認められた：脾臓のうっ血及び赤脾髄における色素沈着並びに赤血球系の髄外造血亢進，前胃のびらん，肝臓類洞細胞の色素沈着，顎下腺の腺房細胞肥大並びに甲状腺の濾胞細胞肥大．血液学的検査における RBC パラメータの変動及び脾臓の変化は，貧血及びこれに対応した造血性の変化に関連した変化と考えられた．前胃のびらん及び流涎は，投与液の経口投与による直接刺激に起因する変化，顎下腺の腺房細胞肥大は流涎に関連した変化と考えられた．

300 mg/kg/日以上の雌雄で赤褐色の着色尿が認められたが，この変化は尿中に排泄されたエダラボン又はその代謝物に起因する変化であり，エダラボンの毒性作用に起因したものではな

いと判断した．

エダラボンの全身曝露は，雌雄ともに用量の増加に伴って増加した．エダラボンの全身曝露には，反復投与の明らかな影響及び性差は認められなかった．硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の全身曝露はエダラボンより高かった．

以上の結果より，本試験の NOAEL は 300 mg/kg/日と結論づけられた．

2.6.6.3.1.2　26 週間反復経口投与毒性試験

SD ラットにエダラボンを 0（媒体），25，75 又は 250 mg/kg/日の用量で 26 週間経口投与した（4.2.3.2－2，試験番号 [redacted]0034，2.6.7.7.2）．対照群及び 250 mg/kg/日群については，26 週間投与後に 5 週間の休薬期間を設定した．エダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の反復投与毒性及び血漿中曝露量を評価した．

毒性学的変化は最高用量の 250 mg/kg/日群のみで認められた．流涎が投与直後に雌雄で認められたが，投与 1 時間後までに消失した．体重の低値，体重増加量減少及び摂餌量減少が雌雄で認められた．血液学的検査では，RBC 関連パラメータの減少が雌雄で認められた．尿検査では，潜血及び尿沈渣中 RBC が雄で認められた．病理組織学的検査では，脾臓の赤血球系髄外造血亢進及び顎下腺の腺房細胞肥大が雌雄で認められた．腎乳頭壊死が雄 1 例で認められた．高用量での顎下腺の腺房細胞肥大及び腎乳頭壊死を除くこれらの所見は，先に実施した急速静注毒性試験における所見と類似していた．

エダラボンの全身曝露は，雌雄ともに用量の増加に伴って増加した．エダラボンの全身曝露は反復投与後に増加した．エダラボンの全身曝露に性差は認められなかった．硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の全身曝露はエダラボンより高かった．

以上の結果より，本試験の NOAEL は 75 mg/kg/日と結論づけられた．

2.6.6.3.2　経口投与－イヌ

2.6.6.3.2.1　2 週間反復経口投与毒性試験

イヌに，エダラボンを 0（媒体），10，30，100 又は 300 mg/kg/日の用量で 2 週間経口投与した（4.2.3.2－4，試験番号 [redacted]0428，2.6.7.7.4）．エダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の反復投与毒性及び血漿中曝露量を評価した．

毒性学的変化が，雄では 300 mg/kg/日で，雌では 100 mg/kg/日以上で認められた．尿検査では，300 mg/kg/日群の雄でビリルビンの高値が認められた．血液学的検査では，雌雄ともに 300 mg/kg/日群で RBC 数，Hb，Ht 及び MCHC の低値，並びに MCV，網状赤血球の比率及び数の高値が認められた．また，100 mg/kg/日群の雌 1 例においても，RBC 数，Hb 及び Ht の低値が認められた．更に，300 mg/kg/日群の雄 1 例において，赤血球分布幅の標準偏差（RDW-SD）の高値及び赤血球大小不同が認められた．血液生化学的検査では，雌雄ともに 300 mg/kg/日群において総ビリルビンの高値，雄のみで乳酸脱水素酵素（LDH）の高値が認められた．

剖検において脾臓の腫大が，器官重量において脾臓重量の増加が 300 mg/kg/日群で認められた．病理組織学的検査では，雌雄ともに 300 mg/kg/日群で以下の変化が認められた：脾臓のう

っ血及び赤血球系髄外造血，骨髄（大腿骨及び胸骨）の造血細胞増加及び肝臓の類洞細胞における色素沈着．また，100 mg/kg/日群においても，雌 1 例で脾臓における赤血球系髄外造血亢進が認められた．脾臓及び骨髄で認められた変化は，貧血に関連した造血性変化であると考えられた．

100 mg/kg/日以上の群で赤褐色尿が認められたが，尿中に排泄されたエダラボン及びその代謝物に関連した変化であり，エダラボンの毒性作用に起因したものではないと判断した．

エダラボンの全身曝露は，雌雄ともに用量の増加に伴って増加した．エダラボンの全身曝露には，反復投与による明らかな影響及び性差は認められなかった．硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の全身曝露はエダラボンより高かった．

以上の結果より，本試験の NOAEL は雄では 100 mg/kg/日，雌では 30 mg/kg/日と結論づけられた．

2.6.6.3.2.2　39 週間反復経口投与毒性試験

イヌにエダラボンを 0（媒体），10，30，100 又は 300 mg/kg/日の用量で 39 週間経口投与した（4.2.3.2－5，試験番号[redacted]1033，2.6.7.7.5）．エダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の反復投与毒性及び血漿中曝露量を評価した．

毒性学的変化は 100 及び 300 mg/kg/日群で認められた．300 mg/kg/日群の雄 2 例で，前肢肘関節の表皮剝脱及び持続的起立不能が認められたため，投与開始から 54 日目に人道的理由により安楽致死させた．100 及び 300 mg/kg/日群では，歩行異常，起立不能及び/又は膝蓋腱反射の消失が投与 15 日目以降に認められた．症状が認められた動物の投与を中止したところ，5～14 週間の休薬期間後にすべての所見が消失した．血液学的検査で，RBC 数，Hb 及び Ht の低値が 100 mg/kg/日群の雌 1 例で約 5 週間の休薬期間後にみられたが，更に 4 週間休薬したところ，これらの変化は回復した．これらの所見がすべて回復した後に解剖した動物で，病理組織学的変化が認められた．脊髄白質の背索における空胞化並びに坐骨神経の神経線維の空胞化及び萎縮が，100 mg/kg/日以上で雌雄に認められた．空胞化は神経線維変性の修復に関連すると考えられた．神経線維変性の所見は 24 時間持続静注試験における所見と類似しており，持続的エダラボン曝露に関連すると考えられた．精巣の精子低形成が 100 mg/kg/日以上で雄に認められた．精子低形成を除くこれらの所見は，急速静注又は 24 時間持続静注による反復投与毒性試験における所見と類似していた．

エダラボンの全身曝露は，雌雄ともに用量の増加に伴って増加した．エダラボンの全身曝露には，反復投与の明らかな影響及び性差は認められなかった．硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の全身曝露はエダラボンより高かった．

以上の結果より，本試験の NOAEL は 30 mg/kg/日と結論づけられた．

2.6.6.3.3　24 時間持続静注－ラット

2.6.6.3.3.1　28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験

SD ラットに，エダラボンを 0（媒体），50，100，300 又は 1000 mg/kg/日の用量及び 1～

2 mL/kg/h の一定速度で，大静脈埋込みカテーテルを介して 28 日間持続静注した（4.2.3.2－3，試験番号[redacted]39，2.6.7.7.3）．対照群，300 及び 1000 mg/kg/日群については，28 日間投与後に 14 日間の休薬期間を設定した．28 日間の投与期間の終了時にエダラボンの血漿中曝露量を評価した．

300 mg/kg/日群の雌 1 例が 28 日目に，1000 mg/kg/日群の雄 1 例が 26 日目に，それぞれ死亡した．雌では一般状態の変化は認められなかった．雄では冷感，皮膚蒼白，自発運動量減少，呼吸数減少，努力性呼吸及び赤色液状物質が認められた．いずれの動物においても，死因はエダラボンの影響ではなく，実験処置に関連した注入部位の炎症であった．

生存例では投与関連の一般状態の変化は認められなかった．体重減少，体重増加抑制及び摂餌量減少が，300 mg/kg/日以上の群で認められた．RBC 数，Ht 及び Hb の減少並びに関連する MCV，平均赤血球ヘモグロビン量（MCH），RDW 及び網状赤血球数の増加が，1000 mg/kg/日群で認められた．血清コレステロール，リン脂質及び尿素窒素の増加も 1000 mg/kg/日群で認められた．

1000 mg/kg/日群で発現したその他の変化は，甲状腺腫大，甲状腺及び脾臓の重量増加，甲状腺濾胞細胞肥大／過形成，脾臓及び肝臓の髄外造血亢進及び黄褐色色素沈着並びに骨髄の造血亢進であった．脾臓及び肝臓の黄褐色色素沈着を除くすべての変化は，休薬期間後に回復するか又は回復の徴候を示した．以上の結果から，主要な毒性は，貧血，体重及び摂餌量の抑制並びに甲状腺濾胞細胞肥大／過形成であった．

エダラボンの全身曝露は，投与期間を通して一定に維持された．曝露量は用量の増加に伴って増加した．

以上の結果より，本試験の無影響量（NOEL）は 100 mg/kg/日であり，この用量が NOAEL と判断した．

2.6.6.3.4　24 時間持続静注－イヌ

2.6.6.3.4.1　28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験

イヌに，エダラボンを 0（媒体），30，60，120 又は 200 mg/kg/日の用量及び 0.5～2 mL/kg/h の一定速度で，大静脈埋込みカテーテルを介して最長 28 日間持続静注した（4.2.3.2－6，試験番号[redacted]62，2.6.7.7.6）．対照群及び 120 mg/kg/日群については，28 日間投与後に 14 日間の休薬期間を設定した．28 日間の投与期間終了時にエダラボンの血漿中曝露量を評価した．

200 mg/kg/日群の雄 4 例及び雌 2 例並びに 120 mg/kg/日群の雄 1 例で，重度の四肢動作の限定により状態が悪化したため，22～25 日目に途中安楽致死させた．安楽致死させる前（おおむね投与開始 2 週目以降）に，起立不能，脱水及び最大で約 16%の体重減少が認められた．これらの変化の原因は，坐骨神経及び脊髄で組織学的に認められた顕著な神経学的変化と考えられた．

四肢動作の限定が 60 mg/kg/日以上の群でみられ，関連する脱水並びに体重及び摂餌量の減少が 120 mg/kg/日以上で認められた．脱水に関連すると思われる血清たん白及び RBC パラメータの増加が，それぞれ 120 mg/kg/日以上の群及び 200 mg/kg/日群で認められた．血清コレス

テロール，リン脂質及び総ビリルビンの増加が，200 mg/kg/日群で認められた．神経線維変性が，60 mg/kg/日以上の群で，坐骨神経，皮膚，骨格筋及び脊髄（背索）又は聴覚神経に認められた．神経病変の二次的変化である骨格筋萎縮が，120 mg/kg/日以上の群で認められた．甲状腺濾胞細胞肥大／過形成が 60 mg/kg/日以上の群で，甲状腺重量増加が 120 mg/kg/日以上の群で，甲状腺暗調化が 200 mg/kg/日群で，それぞれ認められた．体重及び摂餌量の変化並びに血液学的検査，血液生化学的検査及び甲状腺で認められた変化は，14 日間の休薬期間中に回復の徴候を示した．しかし，神経系及び骨格系で認められた組織学的変化は引き続き認められた．以上の結果から，主要な毒性は，末梢神経及び脊髄の神経線維変性，関連する症状変化並びに甲状腺の濾胞細胞肥大／過形成であった．

エダラボンの全身曝露は，投与期間を通して一定を維持していた．曝露量は用量の増加に伴って増加した．

以上の結果より，本試験の NOEL は 30 mg/kg/日であり，この用量が NOAEL と判断した．

2.6.6.3.5　24 時間持続静注－サル

2.6.6.3.5.1　28 日間反復持続静注毒性試験

サルに，エダラボンを 0（媒体），20，100 又は 1000 mg/kg/日の用量及び 0.4 又は 2 mL/kg/h の一定速度で，大静脈埋込みカテーテルを介して 28 日間持続静注した（4.2.3.2－7，試験番号 [redacted]95，2.6.7.7.7）．28 日間の投与期間終了時にエダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の血漿中曝露量を評価した．また，CSF 中のエダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の濃度を測定した．

1000 mg/kg/日群の雄 1 例を投与 22 日目に安楽致死させた．安楽致死させる前に，自発運動量減少，四肢動作の限定及び筋緊張低下等の症状変化が認められた．1000 mg/kg/日群の雌 1 例を投与 24 日目に安楽致死させたが，エダラボンと関連性のない偶発変化と推察された腎障害による状態悪化が原因と考えられた．

生存例では，自発運動量減少，四肢動作の限定及び筋緊張低下といった変化が 1000 mg/kg/日群で認められた．1000 mg/kg/日群の多くの動物で，投与期間終了時にプロトロンビン時間が延長した．脊髄及び末梢神経の神経線維変性が，1000 mg/kg/日群の全例で認められた．脊髄障害の主要部位は背索であったが，変化は側索及び腹索にも認められた．変化がまれに背根及び腹根並びに脊髄神経節の神経線維に認められた．脊髄神経節の神経細胞には変化が認められなかった．また，一部の動物では延髄の感覚神経の投射経路である薄束，楔状束及び脊髄小脳路にも神経線維変性が認められた．以上のように，神経線維変性及び関連する症状変化が，1000 mg/kg/日群で発現した．

エダラボン，硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の全身曝露は，雌雄ともに用量の増加に伴って増加した．CSF 中のエダラボン濃度は硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体濃度より高く，エダラボン，硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の CSF 中濃度はいずれも血漿中濃度より低かった．エダラボン，硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の CSF 中濃度は用量の増加に伴って増加した．

以上の結果より，本試験の NOAEL は 100 mg/kg/日と結論づけられた．

2.6.6.4　遺伝毒性試験

初回申請（AIS）時に提出済みのため，該当資料なし．

2.6.6.5　がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

初回申請（AIS）及び一部変更申請（ALS）の時には，エダラボンのがん原性に関する情報として，NCI が実施したエダラボンの混餌投与によるがん原性試験結果[1)]を報告したが，本薬注射剤に関する FDA の Postmarketing Requirements により，CB6F1-Tg rasH2 マウスを用いたエダラボンの 26 週間反復経口投与がん原性試験（4.2.3.4.1－1，試験番号 [redacted]0779，2.6.7.10.1）及びラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験（4.2.3.4.1－2，試験番号 [redacted]0275，2.6.7.10.2）を実施した．用量は，マウス（4 週間試験）及びラット（13 週間試験）を用いた用量設定試験に基づいて設定した．毒性評価は，一般状態観察，体重，摂餌量，尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査，器官重量，剖検並びに特定の器官及び組織の病理組織学的検査に基づいて実施した．がん原性試験ではこれらの評価に加え触診及び眼科学的検査を実施した．マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験を除き，いずれの試験においても，血漿中におけるエダラボン並びに硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体を測定し，全身曝露を評価した．これらの結果について以下に示す．

2.6.6.5.1　マウスを用いた 4 週間経口投与試験

本試験は，26 週間がん原性試験の用量設定のための毒性データを収集する目的で実施した（4.2.3.4.2－1，試験番号 [redacted]0057，2.6.7.10.3）．CB6F1-nonTg rasH2 マウスに，エダラボンを 0（媒体），100，300 及び 600 mg/kg/日の用量で 4 週間強制経口投与した．エダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の反復投与毒性及び血漿中曝露量を評価した．

いずれの動物においても，重度の毒性変化は認められなかった．以下の毒性変化が認められた：300 mg/kg/日以上の群の自発運動量減少，300 mg/kg/日以上の群の雄における RBC 数及び MCHC の減少並びに MCV 及び MCH の増加，600 mg/kg/日群の雄における血小板数減少並びに 600 mg/kg/日群の雄における赤血球大小不同及び好塩基性赤血球．以下の血液学的パラメータの変化は，被験物質関連ではあるが，試験施設の背景データの範囲内であったため，毒性学的意義はないと判断した：100 mg/kg/日以上の群の雄及び 600 mg/kg/日群の雌における RDW-SD の増加，100 mg/kg/日以上の群の雌における RBC 数減少，300 mg/kg/日以上の群の雄における Hb 減少並びに 600 mg/kg/日群の雌における Ht 増加．100 mg/kg/日以上の群の雌における MCV 及び MCH の増加並びに 300 mg/kg/日以上の群の雌における MCHC の減少も認められたが，これに伴う RBC 数，Hb 及び Ht の毒性変化はみられなかったことから，これらの変化には毒性学的意義はないと判断した．以下の変化は貧血状態に対する生物学的反応であり，毒性学的意義はないと判断した：300 mg/kg/日以上の群での網状赤血球数増加，600 mg/kg/日群での

脾臓重量増加，300 mg/kg/日以上の群の雄及び 100 mg/kg/日以上の群の雌での脾臓の赤血球系髄外造血亢進，600 mg/kg/日の雄及び 300 mg/kg/日以上の雌での脾臓の赤脾髄色素沈着並びに 300 mg/kg/日以上の群の雄での骨髄（大腿骨及び/又は胸骨）赤血球系造血細胞増加．以下の変化は，被験物質関連ではあるが，発現頻度が低い又は関連する病理組織学所見がないため，毒性学的意義はないと判断した：300 mg/kg/日以上の群での流涎，600 mg/kg/日群の雄での平均摂餌量減少，300 mg/kg/日以上の群での尿素窒素増加，300 mg/kg/日以上の群の雄及び 600 mg/kg/日群の雌でのトリグリセリド増加，600 mg/kg/日群の雄での総胆汁酸増加，100 及び 600 mg/kg/日群の雌での無機リン減少並びに 300 mg/kg/日以上の群の雄及び 600 mg/kg/日群の雌での胸腺重量減少．

以上の結果から，本試験条件下での最大耐量は，雌雄ともに 600 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.5.2　マウスを用いた 26 週間がん原性試験

本試験は，マウスにおけるエダラボンのがん原性を評価するために実施した（4.2.3.4.1－1，試験番号[redacted]0779，2.6.7.10.1）．1 群雌雄各 25 例の CB6F1-Tg rasH2 マウスに，エダラボンを 0（水対照，注射用水を投与），0（媒体対照，1% w/v トラガントゴム水溶液を投与），100，150 及び 350 mg/kg/日の用量で，26 週間強制経口投与した．高用量は致死量である 1000 mg/kg の約 3 分の 1 に設定し（4.2.3.4.2－3，試験番号[redacted]0981，参考資料），中及び低用量は，血漿中エダラボン曝露量［血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC）］に基づいて用量反応が得られるように設定した（4.2.3.4.2－1，試験番号[redacted]0057，2.6.7.10.3）．陽性対照群（15 例）には，エダラボンの初回投与と同じ日に，N-メチル-N-ニトロソウレアを腹腔内投与した．

エダラボン投与起因の生存率の変化は認められなかった．いずれの用量においても，エダラボン投与起因の死亡及び瀕死状態は認められなかった．150 mg/kg/日以上の群で，投与 1 時間後又はそれ以降に自発運動量減少が認められた．100 mg/kg/日以上の群で流涎が投与直後にみられたが，関連する病理組織学的変化は認められなかった．いずれの用量においても，エダラボン投与起因の触知可能な腫瘤は認められなかった．体重，体重増加量及び摂餌量の低値が，150 mg/kg/日以上の雌雄で投与期間中に認められた．眼科学的検査では，エダラボン投与起因の変化は認められなかった．

血液学的検査では，RBC 数，Hb 及び MCHC の低値並びに MCV 及び網状赤血球数の高値が，350 mg/kg/日群で認められた．これらの変化の一部は 150 mg/kg/日群でも認められた．これらはエダラボン投与による貧血及び代償性変化を示唆した．RBC 数及び Hb には水対照群との差は認められなかった．血液生化学的検査では，リン脂質の低値が 150 mg/kg/日以上の雄及び 350 mg/kg/日の雌でみられ，総コレステロールの低値が 350 mg/kg/日群で認められた．

剖検では，いずれの用量においても，エダラボン投与起因の肉眼所見は認められなかった．病理組織学的検査では，エダラボン投与群において腫瘍性変化の発現頻度増加は認められなかった．脾臓において色素沈着及び赤血球系髄外造血の発現頻度増加がみられたことから，エダラボン投与による貧血及びそれに続く生物学的反応が示唆された．N-メチル-N-ニトロソウレア投与群の結果により，本試験の試験条件の信頼性が示された．

以上より，腫瘍性病変にはエダラボン投与による発現頻度増加がみられなかったことから，CB6F1-Tg rasH2 マウスにおいてエダラボンはがん原性を示さなかったと結論づけられた．

2.6.6.5.3　ラットを用いた 13 週間経口投与試験

本試験は，エダラボンをラットに 13 週間経口投与したときの毒性を検討し，104 週間反復経口投与がん原性試験における用量設定の情報を得るために実施した（4.2.3.4.2－2，試験番号 [redacted]0932，2.6.7.10.4）．1 群雌雄各 10 例の SD ラットに，エダラボンを 0（媒体），250，500 及び 1000 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与した．エダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の反復投与毒性及び血漿中曝露量を評価した．

すべての動物が計画解剖時まで生存した．

本試験において以下の毒性変化が認められた．一般状態観察では，投与後の一過性の流涎がすべての用量で雌雄にみられたが，250 mg/kg/日群の雌で認められたこの変化は，関連する病理組織学的変化が認められなかったことから，毒性学的意義はないと判断した．体重増加抑制及び摂餌量減少が，すべての用量で雌雄に認められた．血液学的検査では，RBC 数，Hb，Ht 及び/又は MCHC の低値並びに/又は MCV 及び MCH の高値が，すべての用量で雌雄に認められた．網状赤血球の比率及び数並びに/又は RDW-SD の高値が，500 mg/kg/日以上の群で認められた．血球形態検査では，有口赤血球がすべての用量で雌雄にみられ，赤血球大小不同，好塩基性赤血球及び/又は標的赤血球が 500 mg/kg/日以上の群で認められた．プロトロンビン時間及び/又は APTT の延長が，500 mg/kg/日以上の群の雄及び 1000 mg/kg/日群の雌で認められた．血液生化学的検査では，尿素窒素の高値が 500 mg/kg/日以上の群の雄で認められた．総コレステロール，リン脂質及び/又はトリグリセリドの高値が 1000 mg/kg/日群で認められた．グロブリン濃度（α1 及び/又は β グロブリン）の低値を伴うアルブミン／グロブリン比（A/G）の高値が，500 mg/kg/日以上の群の雄及び 1000 mg/kg/日群の雌で認められた．

脾臓重量の高値が 1000 mg/kg/日群でみられ，甲状腺重量の高値が 1000 mg/kg/日群の雌で認められた．脾臓の腫大が 1000 mg/kg/日群の雄及び 500 mg/kg/日以上の群の雌で認められた．

病理組織学的検査では，以下の被験物質関連の変化が 250 mg/kg/日以上の群で認められた：雌における脾臓のうっ血，雌雄での脾臓の赤血球系髄外造血亢進及び雄における顎下腺の腺房細胞肥大．以下の被験物質関連の変化が 500 mg/kg/日以上の群で認められた：雄における脾臓のうっ血及び赤脾髄の色素沈着，雌雄での骨髄（胸骨）の赤血球系造血細胞増加，雌における肝臓の類洞細胞色素沈着並びに顎下腺及び耳下腺の腺房細胞肥大並びに雄における腎臓の尿細管再生，硝子円柱，乳頭壊死及び近位尿細管上皮の硝子滴蓄積．以下の被験物質関連の変化が 1000 mg/kg/日群で認められた：脾臓の限局性被膜線維化，骨髄（大腿骨）の赤血球系造血細胞増加，前胃のびらん／潰瘍，腎臓の近位尿細管上皮における色素沈着，甲状腺の濾胞細胞肥大，雌雄での眼の網膜萎縮，雄における肝臓の類洞細胞色素沈着，雌における腎臓の尿細管再生及び硝子円柱並びにハーダー腺の腺拡張．

これらの結果に基づくと，1000 mg/kg/日までの用量で，重度の毒性変化は雌雄のいずれにも認められなかったが，250 mg/kg/日以上で，対照群と比較して雄では 18%以上，雌では 11%以

上の体重増加抑制が認められた．したがって，がん原性試験の高用量は 250 mg/kg/日以下に設定することが適切と判断した．

2.6.6.5.4　ラットを用いた 104 週間がん原性試験

本試験はラットにおけるエダラボンのがん原性を評価するために実施した（4.2.3.4.1－2，試験番号 [redacted]0275，2.6.7.10.2）．1 群雌雄各 60 例の SD ラットに，エダラボンを 0（水対照，注射用水を投与），0（媒体対照，1% w/v トラガントゴム水溶液を投与），100，150 及び 200 mg/kg/日（雄のみ）あるいは 250 mg/kg/日（雌のみ）の用量で，104 週間強制経口投与した．TK 解析用のサテライト群（5 又は 10 匹/性/群）にも同じ用量を 1 回又は 26 週間投与した．用量は，ラット 13 週間経口投与試験（4.2.3.4.2－2，試験番号 [redacted]0932，2.6.7.10.4）における最大耐量に基づき設定した．サテライト群では，初回並びに 26 週間投与（182 日目）及び 182 日目の投与前にエダラボン投与動物から血液を採取し，エダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の TK 解析を実施した．

水対照群の雌の生存数が，投与 92 週後に 60 例中 20 例未満となったため，いずれの群においても雌の投与期間を終了した．エダラボン投与起因の生存率の変化は認められなかった．いずれの用量においても，エダラボン投与起因の死亡及び瀕死状態は認められなかった．

一般状態観察では，100 mg/kg/日以上の群で投与直後に流涎が認められたが，250 mg/kg/日群の雌を除き病理組織学的変化は認められなかった．いずれの用量においても，投与に関連した触知可能な腫瘤は認められなかった．100 mg/kg/日以上の群で体重減少，体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた．眼科学的検査では，エダラボン投与起因の変化は認められなかった．

血液学的検査では，250 mg/kg/日群の雌で赤血球数の低値，MCV 及び MCH の高値が認められた．これらはエダラボン投与による貧血及び代償性反応を示唆した．200 mg/kg/日群の雄で RDW-SD の低値が認められたが，他の赤血球系パラメータに変化が認められなかったことから，毒性学的意義は低いと判断した．血液生化学的検査では，エダラボン投与起因の変化は認められなかった．尿検査では，250 mg/kg/日群の雌でたん白の発現頻度の低値が認められたが，減少傾向が認められたこと，血液生化学的検査において血清総たん白に投与に関連した変化が認められなかったこと及び腎臓に投与に関連した病理組織学的変化が認められなかったことから，毒性学的意義は低いと判断した．すべての投与群の雄及び 100 mg/kg/日群の雌で赤褐色尿が認められたが，エダラボン又は代謝物の排泄に起因する変化と考えられ，毒性学的意義は低いと判断した．

剖検では，エダラボン投与起因の変化は認められなかった．病理組織学的検査では，投与に関連した腫瘍性又は非腫瘍性の増殖性変化の増加は認められなかった．投与に関連した非腫瘍性変化の発現頻度及び/又は重症度の増加が，脾臓，顎下腺及び眼に認められた．脾臓では，200 mg/kg/日群の雄及び 250 mg/kg/日群の雌でうっ血及び褐色色素貪食マクロファージ，250 mg/kg/日群の雌で髄外造血の亢進が認められた．これらの変化は赤血球パラメータの変化に関連すると考えられた．顎下腺では，250 mg/kg/日群の雌で腺房細胞の肥大が認められた．眼では，250 mg/kg/日群の雌で網膜萎縮が認められた．この変化は，光刺激による網膜変化で

ある，網膜後極における網膜外層の萎縮と類似していた．

エダラボン，硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の全身曝露量は，雌雄ともにおおむね用量の増加に伴って増加した．26 週間の反復投与では，Day 182 のエダラボンの全身曝露は，すべての用量レベルで，雌雄ともに Day 1 よりおおむね高曝露であった．Day 182 の硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の全身曝露量は，すべての用量で雌雄とも Day 1 と同程度又はそれ以上であった．雌におけるエダラボン，硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の全身曝露量は，すべての用量で雄と同程度又は高かった．

以上より，エダラボン投与に関連した腫瘍性病変の発現頻度の増加は認められなかったことから，ラットにおいてエダラボンはがん原性を示さなかったと結論づけられた．

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

初回申請（AIS）時に提出済みのため，該当資料なし．

2.6.6.7　局所刺激性試験

本申請に関連する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　抗原性試験

初回申請（AIS）時に提出済みのため，該当資料なし．

2.6.6.8.2　免疫毒性試験

試験は実施しなかった．

2.6.6.8.3　毒性発現の機序に関する試験

2.6.6.8.3.1　神経毒性の検討

エダラボンを 24 時間持続静注した試験において，神経毒性が，イヌでは 60 mg/kg/日以上，サルでは 1000 mg/kg/日の用量で認められた（2.6.6.3.4.1，2.6.6.3.5.1）．経口投与による神経毒性が，イヌにおいて 100 mg/kg/日以上の用量で認められた（2.6.6.3.2.2）．ラットでは，評価した最高用量（24 時間持続静注では 1000 mg/kg/日，経口投与では 250 mg/kg/日）まで，神経毒性の徴候は認められなかった（2.6.6.3.1，2.6.6.3.3.1）．神経毒性について更に検討するため，イヌを用いた一連の試験を実施した．特に記載しない限り，雄のみを試験に使用した．いずれの試験においても，エダラボン（50 mg/mL）を 1 N NaOH 水溶液（pH：9.0～9.5）に溶解させ，生理食塩液で更に希釈して投与液を調製した．エダラボンは 24 時間持続静注により投与した．

これらの試験において，最も共通した一般状態の変化は四肢動作の限定であり，組織学的検

査では中枢神経系及び末梢神経系における神経線維変性が認められた. 神経線維変性は白血球浸潤を伴うものが高頻度に認められ, エダラボン投与初期段階の末梢神経の軽度の変化である場合には，休薬による回復が見込まれた．TK 評価によると，エダラボンは速やかに代謝されてその硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体となり，24 時間までにエダラボン濃度は定常状態に到達する（2.6.7.3）.

2.6.6.8.3.1.1　エダラボンを 2 週間にわたり 24 時間持続静注したときの神経組織の病理組織学的検査

イヌに，エダラボンを 0（媒体），300 又は 1000 mg/kg/日の用量及び 2 mL/kg/h の速度で 2 週間持続静注した（4.2.3.7.3－1，試験番号 [redacted]56，2.6.7.17.1.1）．一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，神経学的検査，剖検，中枢及び末梢神経組織の病理組織学的検査を実施した．血漿及び CSF を採取し，エダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の TK 解析を実施した.

1000 mg/kg/日群の全例を，10 日目以降に認められた四肢動作の限定及び関連する変化のため安楽致死させた．弛緩（筋緊張低下），後肢引っ込め反射消失及び起立不能が認められた．300 mg/kg/日群の 2 例が 13 日目以降に同じ変化を示した．これらの個体のうち 1 例で，四肢動作の限定の前に自発運動量減少及び腹臥位が認められた. 別の個体ではよろめき歩行がみられたが，四肢動作の限定は認められなかった．300 mg/kg/日群の 1 例は四肢動作の限定及び関連する変化により瀕死状態になったため安楽致死させた.

体重の変化は認められなかった. 12 日目に 300 mg/kg/日群の雄 1 例で無摂餌が認められた．RBC 数，Hb 及び Ht が 1000 mg/kg/日の用量での投与後に有意に減少し，300 mg/kg/日群の 2 例で増加した．MCHC 減少及び MCV 増加が 1000 mg/kg/日群で認められた．網状赤血球数増加が 1000 mg/kg/日群でみられたが，統計学的有意差は認められなかった．好中球数，単球数及び WBC 数の増加が 1000 mg/kg/日群の 1 例で認められた．1000 mg/kg/日で ALT が増加し，1000 mg/kg/日群の 1 例で尿素窒素が増加した．AChE 活性には被験物質関連の変化は認められなかった.

300 mg/kg/日以上の用量での神経学的検査において，四肢動作の限定の前又は同じ時点で，膝蓋腱反射，三頭筋反射及び屈筋反射の部分的又は全面的な消失が認められた．また，300 mg/kg/日群の 2 例は，半側歩行及び半側起立において自重を支えることができなかった.

剖検では変化は認められなかった．300 mg/kg/日以上の群で三叉神経の脊髄路，脊髄，脊髄神経節，神経根及び末梢神経に神経線維変性が認められた．神経線維変性に伴って，神経根，脊髄神経節及び末梢神経における白血球浸潤又はシュワン細胞の有糸分裂／増殖が高頻度に認められた．この変化は，他の神経組織と比較して，橈骨，坐骨及び脛骨神経並びに腰部脊髄でより重度であり，神経線維に限定して認められた．また，神経線維萎縮が脊髄神経節及び神経根に認められた．更に，主に影響が認められたのは感覚神経（三叉神経の脊髄路及び脊髄の背索）であった．腰部脊髄の背索及び坐骨神経では，電子顕微鏡検査で軸索原形質の構造成分の変性が認められ，主な初期の障害部位は軸索であることが示された.

エダラボンの全身曝露を評価した（表 2.6.6.8－1）．エダラボンの血漿中濃度（表 2.6.6.8－2）及び CSF 中濃度（表 2.6.6.8－3）は，用量に伴って増加した．最終測定時の 1000 mg/kg/日群におけるグルクロン酸抱合体濃度を除いて，血漿中のエダラボンの代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）濃度は，いずれもエダラボン濃度より高かった．しかし，両抱合体の CSF 中濃度は，エダラボン濃度より低かった．

表 2.6.6.8－1　エダラボンをイヌに 2 週間にわたり 24 時間持続静注した後のエダラボンの全身曝露

用量（mg/kg/日）	C_{ss} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ [a)] (μg·h/mL)
300	4416.76	86.74
1000	12725.89	313.14

a)　$AUC_{0\text{-}24h}$ は $AUC_{0\text{-}tlast}$/日数として算出した．

表 2.6.6.8－2　エダラボンをイヌに 24 時間持続静注開始の 168 時間後（1 週目）及び終了時（2 週目）のエダラボン及びその代謝物の血漿中濃度

用量（mg/kg/日）	エダラボン（ng/mL）	硫酸抱合体（ng/mL）	グルクロン酸抱合体（ng/mL）
168 時間後（1 週目）			
300	2799.54	40382.06	9334.59
1000	9443.57	55961.57	42717.28
終了時（2 週目）			
300	3654.24	27802.42	15092.30
1000	13847.88	32101.38	14575.92

表 2.6.6.8－3　エダラボンをイヌに 2 週間にわたり 24 時間持続静注した後のエダラボン及びその代謝物の CSF 中濃度

用量（mg/kg/日）	エダラボン（ng/mL）	硫酸抱合体（ng/mL）	グルクロン酸抱合体（ng/mL）
300	2393.04	71.17	418.93
1000	9040.01	2006.55	396.64

2.6.6.8.3.1.2　エダラボンの最長 14 日間の 24 時間持続静注により誘発されたイヌの神経病変の発現時間と曝露量との関連性

雌雄のイヌに，エダラボンを 0（媒体），60，120 又は 300 mg/kg/日の用量及び 1 又は 2 mL/kg/h の速度で 5，10 又は 14 日間持続静注した（4.2.3.7.3－2，試験番号 [redacted]93，2.6.7.17.1.1）．毒性評価は一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，神経学的検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査により実施した．血漿を採取してエダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の TK 解析を実施した．

300 mg/kg/日群の雄 1 例及び雌 1 例を，それぞれ 13 及び 14 日目に安楽致死させた．いずれの動物も後肢の動作限定を示したが，これは中枢神経系及び末梢神経系の病理組織学的変化に

起因するものであった．雌では軽度の血清アルブミン（及び A/G）減少及び総ビリルビン増加が認められた．

生存例では，120 mg/kg/日以上の用量での 14 日間投与による一般状態の変化として，軽度から重度の後肢の動作限定及び後肢筋緊張低下が，12 日目以降に認められた．自発運動量減少及び運動失調並びに軽度から中等度の脱水は，後／前肢の動作限定が原因であった．軽度（投与前値の 6%以下）の体重減少が，120 mg/kg/日以上での 14 日間投与により認められた．これらの体重減少は，投与 2 週目に散見されたこれらの動物での摂餌減少（又は無摂餌）が原因と考えられた．摂餌量減少は，これらの動物で投与に関連して認められた一般状態の毒性変化による可能性があると考えられた．血液学的パラメータ，剖検及び器官重量においては変化が認められなかった．6 日目及び 11 日目の血液生化学的パラメータには，投与関連の変化は認められなかった．15 日目に 300 mg/kg/日群の雄で総コレステロール及びリン脂質の増加が認められた．

頭蓋神経の神経学的検査で異常は認められなかった．神経線維変性が末梢神経において 300 mg/kg/日群で 11 及び 15 日目に，120 mg/kg/日群で 15 日目にみられ，中枢神経系（腰部脊髄の背索）において 300 mg/kg/日群で 15 日目に認められた．甲状腺の濾胞細胞肥大が 120 mg/kg/日以上の群で 11 及び 15 日目に認められた．

エダラボン及びその代謝物の全身曝露を評価した（表 2.6.6.8－4）．おおむね投与開始 24 時間後までに，エダラボンの 120 mg/kg/日以下の用量では定常状態に到達した．300 mg/kg/日の用量での最終採血時におけるエダラボン血漿中濃度は，24 時間時点での血漿中濃度と比較しておおむね増加していた．これは，300 mg/kg/日の用量での最終採血時における硫酸抱合体の血漿中濃度が，この群における 24 時間時点での値と比較して減少していたことと一致していた．300 mg/kg/日の用量では，グルクロン酸抱合体はおおむね投与開始 24 時間後までに定常状態に到達したと考えられた．エダラボンの血漿中濃度は，おおむね代謝物より低かった．

表 2.6.6.8－4　エダラボンをイヌに最長 14 日間にわたり 24 時間持続静注した後のエダラボン並びに硫酸抱合及びグルクロン酸抱合代謝物の全身曝露

用量（mg/kg/日）	C_{24h} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ [a)] (μg·h/mL)	
	雄	雌	雄	雌
エダラボン				
60	0.355	0.327	9.63	8.89
120	1.09	0.886	28.6	26.0
300	3.80	3.30	99.0	88.8
硫酸抱合体				
60	8.95	9.97	208	210
120	17.8	18.5	393	398
300	32.1	31.0	541	544
グルクロン酸抱合体				
60	2.64	2.81	50.4	63.0
120	5.55	3.98	101	112
300	15.2	16.1	368	420

a)　データは 6，11 及び 15 日目に測定された TK データの全体平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ である．$AUC_{0\text{-}24h}$ は $AUC_{0\text{-}tlast}$/日数として算出した．

以上より，エダラボンに関連した主な所見として，末梢神経の神経線維変性が 120 mg/kg/日以上の群で認められ，この変化は 10 日間投与後に最初に出現し，14 日間投与後により徐々に明確になった．この変化の一般状態の変化は四肢動作の限定であった．したがって，神経毒性に関する NOEL は，10 日間までは 120 mg/kg/日であり，14 日間までは 60 mg/kg/日であった．また，この用量は NOAEL でもあると判断した．

2.6.6.8.3.1.3　イヌにエダラボンを 2 週間の 24 時間持続静注及び 13 週間休薬後の神経毒性の回復性

イヌに，エダラボンを 0（媒体）又は 120 mg/kg/日の用量及び 2 mL/kg/h の速度で 2 週間持続静注した（4.2.3.7.3－3，試験番号 [redacted]26，2.6.7.17.1.1）．媒体又はエダラボンを投与したイヌの半数を 2 週間後に安楽致死させ，残りの半数は 13 週間の休薬期間後に安楽致死させた．毒性評価は，一般状態観察，体重，摂餌量，神経学的検査，剖検及び病理組織学的検査により実施した．1 及び 10 日目に血漿を採取して，エダラボンの TK 評価を実施した．

一般状態観察，体重，摂餌量及び剖検では変化は認められなかった．

1 例で膝蓋腱反射がみられなかったため 13 日目に安楽致死させた．別の 1 例では 12～14 日目に膝蓋腱反射が減弱したため 14 日目に投与を中止した．休薬期間の 1 週目に 6 例中 4 例で膝蓋腱反射が消失し，それに伴って 4 及び 6 週目に三頭筋反射が認められなかった．休薬期間中，膝蓋腱反射が認められない動物の数はしだいに減少し，全例とも 12 週目に反射が回復した．

2 週間投与後の解剖時に，神経線維変性が，1 例で腰部脊髄の背索に，1 又は 2 例で腰部脊髄神経節，腰部背根神経並びに肋間，坐骨及び脛骨神経に，それぞれ認められた．腰部脊髄神経節の神経線維萎縮が 1 例に認められた．他の組織では，甲状腺の濾胞上皮細胞肥大が全例に認められた．13 週間の休薬期間後に，6 例中 3 例で，神経線維変性が腰部脊髄の背索に認められた．末梢神経の神経線維変性は認められなかった．数例の動物で，びまん性の貪食細胞出現が，肋間，横隔，橈骨，坐骨及び脛骨神経並びに腓腹筋の筋肉間神経束に認められ，変性した神経線維の吸収が示された．

エダラボン血漿中濃度は，1 日目の投与開始 24 時間後に定常状態に到達した．定常状態における（血漿中）濃度（C_{ss}）及び投与開始から 1 日後までの血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC_{1day}）に基づく投与期間中の曝露量は，2 週間の投与期間後の計画解剖群と 13 週間の休薬期間後の計画解剖群で同じであった（表 2.6.6.8－5）．

以上より，神経学的変化及び病理学組織的変化によると，エダラボンは神経毒性変化を誘発し，変化は休薬期間初期に悪化した後，13 週間の休薬期間の残りの期間中に改善した．

表 2.6.6.8－5　エダラボンをイヌに 2 週間持続静注した後のエダラボンの全身曝露

群	用量（mg/kg/日）	24 時間時点の血漿中濃度（ng/mL）	C_{ss} (ng/mL)	AUC_{1day} a) (μg·h/mL)
2 週間の投与期間後の計画解剖	120	827.36	934.95	21.71
13 週間の休薬期間後の計画解剖	120	795.61	844.20	19.69

a)　AUC_{1day} は $AUC_{0\text{-}tlast}$/日数として算出した.

2.6.6.8.3.1.4　イヌを用いた 5 日間の 24 時間持続静注による神経毒性試験及び 4 週間の休薬期間

雌雄のイヌにエダラボンを 0（媒体），60，120，180 又は 300 mg/kg/日の用量及び 1 又は 2 mL/kg/h の速度で 5 日間持続静注した後，4 週間の休薬期間を設定した（4.2.3.7.3－4，試験番号 [redacted]46，2.6.7.17.1.1）. 毒性評価は，一般状態観察，体重，摂餌量，脊髄反射（膝蓋腱反射），聴覚検査，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検及び病理組織学的検査により実施した．血漿を採取して，エダラボン及びその代謝物（硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体）の TK 評価を実施した.

一般状態観察，体重，摂餌量，脊髄反射，聴覚検査，血液学的検査，血液生化学的検査及び剖検において変化は認められなかった.

神経線維変性又は貪食細胞の出現（神経線維変性後の修復を示すと考えられる）が，腰部脊髄，肋間（第 6～8），横隔，橈骨，坐骨及び脛骨神経において，180 mg/kg/日以上の用量で，休薬期間終了時に認められた. 腰部脊髄において, 背索の神経線維変性が同じ時点で認められた.

エダラボンの全身曝露を評価した（表 2.6.6.8－6）．おおむね投与開始 3 時間後までに，エダラボンの定常状態に到達した（表 2.6.6.8－7）．エダラボンは速やかに硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体へ代謝された．代謝物のうち，特に硫酸抱合体の血漿中濃度は，エダラボンよりも高かった（表 2.6.6.8－8）．投与終了後のエダラボンの血漿中濃度は速やかに低下した（表 2.6.6.8－7）．エダラボンの全身曝露は，雌雄ともにほぼ用量に比例し増加した．エダラボンの曝露量には明らかな性差は認められなかった（表 2.6.6.8－6 及び表 2.6.6.8－7）.

以上より，主要な毒性所見は神経線維変性であり，NOAEL は 120 mg/kg/日であった.

表 2.6.6.8－6　エダラボンをイヌに 5 日間にわたり 24 時間持続静注した後のエダラボンの全身曝露

用量（mg/kg/日）	C_{ss} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ a) (μg·h/mL)	
	雄	雌	雄	雌
60	0.4773	0.3798	7.6507	7.0692
120	0.8165	0.7525	16.1004	17.6450
180	1.4736	1.4994	28.2155	29.3695
300	2.6721	2.6714	58.3057	54.9373

a)　$AUC_{0\text{-}24h}$ は $AUC_{0\text{-}tlast}$/日数として算出した.

表 2.6.6.8－7　エダラボンをイヌに 5 日間にわたり 24 時間持続静注した後のエダラボンの血漿中濃度

用量（mg/kg/日）	エダラボン濃度（μg/mL）					
	投与期間				休薬期間	
	3 時間	6 時間	24 時間	120 時間	3 時間	6 時間
雄						
60	0.9443	0.3540	0.2657	0.3449	0.0270	0.0134
120	0.9821	1.0150	0.6669	0.6017	0.0409	0.0224
180	1.8929	1.7858	1.1456	1.0698	0.0551	0.0201
300	3.1464	2.6928	2.3400	2.5090	0.1574	0.0674
雌						
60	0.5919	0.3557	0.2735	0.3197	0.0198	0.0117
120	0.7629	0.7688	0.5988	0.7229	0.0493	0.0267
180	1.9638	1.6711	1.1109	1.2518	0.0536	0.0227
300	3.0113	3.2532	2.1417	2.2796	0.1216	0.0515

表 2.6.6.8－8　エダラボンをイヌに 5 日間にわたり 24 時間持続静注した後のエダラボン及びその抱合代謝物の血漿中濃度

用量（mg/kg/日）	エダラボン及びその代謝物濃度（μg/mL）					
	2 日目 – 24 時間			6 日目 – 120 時間		
	エダラボン	硫酸抱合体	グルクロン酸抱合体	エダラボン	硫酸抱合体	グルクロン酸抱合体
雄						
60	0.2657	10.7149	1.9933	0.3449	10.2393	2.3253
120	0.6669	18.1030	2.0484	0.6017	16.6323	4.4188
180	1.1456	26.9719	4.0067	1.0698	23.2382	5.5806
300	2.3400	40.6675	16.1288	2.5090	32.8543	22.4898
雌						
60	0.2735	15.2454	1.3232	0.3197	12.1070	c n.
120	0.5988	23.9874	c.n.	0.7229	29.7519	c n.
180	1.1109	38.3534	1.6671	1.2518	39.1251	5.8089
300	2.1417	58.5557	4.3334	2.2796	60.5691	11.9082

2.6.6.8.4　依存性試験

初回申請（AIS）時に提出済みのため，該当資料なし．ただし，サルを用いた静脈内自己投与試験について，初回申請（AIS）時には，本薬に強化効果があることが示唆されたもののその強さは弱いと判断していたが，結果の再解析を行った結果，4.3－32 ABUSE LIABILITY OF EDARAVONE に示したとおり，本薬に強化効果はないと判断した．この結果を[redacted]の本薬注射剤申請時に[redacted]へ提出し，本薬は承認された．

2.6.6.8.5　代謝物の毒性試験

初回申請（AIS）時に提出済みのため，該当資料なし．

2.6.6.8.6　不純物の毒性試験

2.6.6.8.6.1　不純物D（Impurity D）

不純物 D（Impurity D） の試験を実施しなかった．ヒトにおける Impurity D 曝露量レベルの妥当性を 5.3.5.3 に示す．

2.6.6.8.6.2　不純物A　の毒性

不純物 A は，[redacted]主要分解物である（[redacted]）．不純物 A の毒性を，マウスへの単回急速静注に加えラットへの 2 週間反復急速静注により評価した．更に，不純物 A を添加したエダラボンの毒性を，ラットを用いた 13 週間反復強制経口投与毒性試験により評価した．標準的な一連の遺伝毒性試験（すなわち，細菌を用いる *in vitro* 復帰突然変異試験，哺乳類細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験及びマウスを用いる *in vivo* 小核試験）を実施した．

2.6.6.8.6.2.1　不純物 A のラットを用いた 2 週間反復静脈内投与毒性試験

SD ラットに，不純物 A を 0（pH 4 に調整した生理食塩液），0.1 又は 1 mg/kg/日の用量，2 mL/kg の投与容量及び 2 mL/min の速度で 2 週間静脈内投与した（4.2.3.7.6－1，試験番号[redacted]35，2.6.7.17.2.1.1）．毒性評価は，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査，骨髄像，器官重量，剖検及び病理組織学的検査により実施した．

いずれの指標においても毒性の徴候は認められなかった．

2.6.6.8.6.2.2　不純物 A を添加したエダラボンのラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験

Impurity A （不純物A）を添加したエダラボンのラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験を実施し，エダラボンの毒性を不純物 A 添加エダラボンの毒性と比較評価した（4.2.3.7.6－2，試験番号[redacted]0880，2.6.7.17.2.1.2）．不純物 A を添加又は非添加のエダラボンを，SD ラットに，0（媒体），25，75 及び 250 mg/kg/日（エダラボン）又は 25/1.25，75/3.75 及び 250/12.5 mg/kg/日（エダラボン／不純物A）の用量で 13 週間強制経口投与した．毒性の評価及び比較は，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査，摂水量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検及び病理組織学的検査により実施した．

不純物 A を添加したエダラボンの毒性プロファイルは，エダラボン単独での毒性プロファイルと極めて類似していた．これらの結果により，不純物 A は 12.5 mg/kg（エダラボンの 5%）までの用量で，エダラボンによる毒性変化に影響を及ぼさないことが示された．

2.6.6.8.6.2.3　不純物 A の細菌を用いる復帰突然変異試験

不純物 P1 の変異原性を，ネズミチフス菌（*S. typhimurium*）の 4 つの菌株（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）及び大腸菌（*E. coli*）株 WP2*uvrA* を用いて，ラット肝ホモジネート 9,000

×g 上清（S9）存在下及び非存在下でプレインキュベーション法により評価した（4.2.3.7.6－3，試験番号[redacted]1125，2.6.7.17.2.1.3）．予備試験では，不純物 A の濃度範囲（1.22～5000 μg/プレート，S9 存在下及び非存在下）で，菌毒性，沈殿及び復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．

主試験及び確認試験を，313，625，1250，2500 又は 5000 μg/plate の濃度（S9 存在下及び非存在下）で実施した．いずれの条件下においても，復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．以上より，不純物 A は細菌において変異原性を示さなかった．

2.6.6.8.6.2.4　不純物 A の培養哺乳類細胞を用いる染色体異常試験

不純物 A の染色体異常誘導能を，CHL/IU 細胞を用いて，S9 非存在下での 24 時間連続処理及び S9 存在下及び非存在下での 6 時間処理後の 18 時間回復により評価した（4.2.3.7.6－4，試験番号[redacted]1126，2.6.7.17.2.1.4）．予備試験を不純物 A の濃度範囲 6.4～3300 μg/mL で実施したところ，細胞増殖抑制率はいずれの条件下においても 50%以下であった．このため，主試験での不純物 A の濃度は，0（生理食塩液），0［陽性対照：マイトマイシン C（MMC，S9 非存在下）及びベンゾ[a]ピレン（B[a]P，S9 存在下）］，413，825，1650 又は 3300 μg/mL とした．

6 時間処理アッセイ（S9 存在下及び非存在下）では，不純物 A のすべての処理群において，細胞増殖指数及び相対分裂指数は 50%超であった．このため，染色体異常誘導能は 825 μg/mL 以上の濃度で評価した．構造異常及び数的異常の発現頻度増加は認められなかった．

24 時間連続処理アッセイ（S9 非存在下）における相対分裂指数はすべての濃度で 50%未満であったことから，更に 2 回の検討を実施し，顕微鏡検査用の濃度として 400，684，1155 及び 1953 μg/mL を選択した．不純物 A は，現行のガイドライン ICH S2(R1)の最高推奨濃度（1 mmol/L）を超える濃度，すなわち 1155 μg/mL 以上の濃度のみで，染色体構造異常を有する細胞の発現頻度を増加させた．

2.6.6.8.6.2.5　不純物 A のマウス骨髄赤血球を用いる小核試験

不純物 A の *in vivo* 染色体異常誘導能を検討するため，雄の ICR マウスに，不純物 A を，0（生理食塩液），60，100，160 又は 250 mg/kg の用量で 2 日間急速静注した（4.2.3.7.6－5，試験番号[redacted]1127，2.6.7.17.2.1.5）．陽性対照動物にはシクロホスファミド一水和物を単回腹腔内投与した．

死亡は認められなかった．呼吸困難，強直性痙攣又は歩行異常が 250 mg/kg で発現した．100 mg/kg 群の動物では自発運動量減少が，160 mg/kg 群の動物では自発運動量増加が，それぞれ軽度に認められた．100 mg/kg 以上の投与群並びに陰性及び陽性対照群の全例から骨髄標本を作製した．各動物あたり 2000 個の幼若赤血球（IME）について，小核を有する幼若赤血球（MNIME）の数を算定した．

陰性対照群と比較して，MNIME 数の有意な増加はみられず，総赤血球中の IME の比率に有意差は認められなかった．陽性対照群では MNIME 数が有意に増加した．以上より，不純物 A は小核を有する赤血球数の増加を誘導しなかった．

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.8.6.3　不純物 B　の毒性

不純物 B　の *in vitro* 復帰突然変異試験を実施した.

2.6.6.8.6.3.1　不純物 B　の細菌を用いる復帰突然変異試験

不純物 B　の変異原性を, *S. typhimurium* の 4 つの菌株 (TA98, TA100, TA1535 及び TA1537) 及び *E. coli* 菌株 WP2*uvrA* を用いて, S9 存在下及び非存在下でプレインキュベーション法により評価した (4.2.3.7.6－6, 試験番号 [redacted]1128, 2.6.7.17.2.2.1). 濃度範囲 1.22～5000 μg/プレートでの予備試験では, TA98 において S9 非存在下での 1250 μg/プレート以上の濃度で菌毒性が認められた. いずれの条件下においても, 沈殿及び復帰変異コロニー数の増加は認められなかった.

主試験及び確認試験を, S9 存在下及び非存在下の 4 菌株 (TA100, TA1535, TA1537 及び WP2*uvrA*) 並びに S9 存在下の TA98 については 0 (陰性対照), 0 (陽性対照), 313, 625, 1250, 2500 又は 5000 μg/プレート, S9 非存在下の TA98 については 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 又は 2500 μg/プレートの濃度で実施した. いずれの条件下においても, 復帰変異コロニー数の増加は認められなかった. 以上より, 不純物 B　は細菌において変異原性を示さなかった.

2.6.6.8.6.4　不純物　　C　　の毒性

不純物　　C　　の *in vitro* 復帰突然変異試験を実施した.

2.6.6.8.6.4.1　不純物　　C　　の細菌を用いる復帰突然変異試験

不純物　　C　　の変異原性を, *S. typhimurium* の 4 つの菌株 (TA98, TA100, TA1535 及び TA1537) 及び *E. coli* 菌株 WP2*uvrA* を用いて, S9 存在下及び非存在下でプレインキュベーション法により評価した (4.2.3.7.6－7, 試験番号 [redacted]001[redacted], 2.6.7.17.2.3.1).

濃度範囲 1.5～5000 μg/プレートでの予備試験では, いずれの条件下においても, 沈殿及び復帰変異コロニー数の増加は認められなかった. 確認試験は, 78, 156, 313, 625, 1250, 2500 又は 5000 μg/プレートの濃度で実施した. いずれの条件下においても, 復帰変異コロニー数の増加は認められなかった. 以上より, 不純物　　C　　は細菌において変異原性を示さなかった.

2.6.6.8.7　その他の毒性試験

2.6.6.8.7.1　溶血性試験

初回申請 (AIS) 時に提出済みのため, 該当資料なし.

2.6.6.8.7.2　新規添加剤の毒性試験

本剤には本邦での使用実績のない新規添加剤シメチコンエマルションが含まれる. 毒性試験は実施しなかったが, シメチコンエマルションの安全性について, 公知情報を基に作成した, 4.3－2 MT-1186 内用懸濁液 2.1%におけるシメチコンエマルションの安全性に関する報告に示

＊新薬承認情報提供時に置き換え

した．公知情報から，シメチコンエマルションの安全性は担保されていると判断した．

2.6.6.9　考察及び結論

研究報告で試験結果の概要を報告している試験も含め新規提出する試験について試験項目ごとに考察した後に，総合的な結論を述べる．

2.6.6.9.1　反復投与毒性試験

ラットで最長 26 週間，イヌで最長 39 週間の反復経口投与毒性試験における NOAEL は，ラットで 75 mg/kg/日，イヌで 30 mg/kg/日であった．経口投与後の毒性所見は静脈内投与試験でみられたものと類似していた．静脈内投与で認められなかった毒性変化については，いずれも十分な安全域があった（表 2.6.6.9－2）．

最長 28 日間の 24 時間持続静注毒性試験において，神経毒性がイヌでは 60 mg/kg/日，サルでは 1000 mg/kg/日の用量で認められた．神経毒性として，末梢神経及び脊髄の神経線維変性並びに関連する四肢動作の限定といった一般状態変化が認められた．ラットを用いた 24 時間持続静注試験での最高用量では，これらの所見は認められなかった．

2.6.6.9.2　がん原性試験

CB6F1-Tg rasH2 マウスを用いたエダラボンの 26 週間反復経口投与がん原性試験（4.2.3.4.1－1，試験番号 [redacted]0779，2.6.7.10.1）及びラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験（4.2.3.4.1－2，試験番号 [redacted]0275，2.6.7.10.2）を実施した．CB6F1-Tg rasH2 マウスでは，最高用量の 350 mg/kg/日まで，エダラボンのがん原性は認められなかった．ラットでは，雄では最高用量の 200 mg/kg/日まで，雌では最高用量の 250 mg/kg/日まで，エダラボンのがん原性は認められなかった．

2.6.6.9.3　神経毒性試験

エダラボンを 24 時間持続静注した試験において，神経毒性が，イヌでは 60 mg/kg/日以上，サルでは 1000 mg/kg/日の用量で認められた．経口投与による神経毒性が，イヌにおいて 100 mg/kg/日以上の用量で認められた．ラットでは，評価した最高用量である 1000 mg/kg/日以下の用量での 24 時間持続静注及び 250 mg/kg/日以下の用量での経口投与において，神経毒性の徴候は認められなかった．また，イヌを用いた 24 時間持続静注による神経毒性を検討する一連の試験を実施した．

ラット及びイヌを用いた 24 時間持続静注による 28 日間反復投与毒性試験を実施した．イヌ（用量：30，60，120 及び 200 mg/kg/日）では，末梢神経及び脊髄の神経線維変性並びに四肢動作の限定といった関連する一般状態の変化が，60 mg/kg/日以上の群で認められた．ラットでは，これらの所見は最高用量の 1000 mg/kg/日まで認められなかった．臨床使用における安全性を検討する観点において，神経毒性所見の詳細な評価が重要であると結論づけられたため，イヌを用いた追加試験を実施した．

24 時間持続静注試験において，神経組織の病理組織学的変化を注意深く評価し，曝露量と典型的な神経組織病変の発現時期との関連性を評価した. 脊髄及び脳の感覚神経路には変化がみられたが，運動神経の変化は認められなかった．また，病変は神経線維に限局しており，神経細胞体には変化が認められなかった. 同じ用量での神経線維変性は，末梢神経の方が脊髄よりも速やかに発現し，より高い用量ではより早期に発現した．したがって，イヌにおける神経線維変性はまず末梢神経に発現して，その後脊髄に拡大し，その結果，四肢動作の限定に代表される神経症状が発現すると推測された．また，神経病変の発現とエダラボンの総曝露量との間に関連性があるとの結論も得られた.

24 時間持続静注試験において，休薬による回復性を神経機能及び病理組織学的評価の両面から評価した．休薬の初期段階では個々の動物で神経機能が悪化した場合もあったが，そのような動物は 13 週間の休薬後にはみられなかったことから，休薬により変化が消失したと結論づけられた. 投与終了時にみられた腰部脊髄の神経線維変性は，13 週間の休薬後に悪化せず，回復も認められなかった．一方，休薬後に末梢神経線維変性はみられず，神経線維変性修復過程を示す貪食細胞の出現が認められた．したがって，エダラボンの投与により誘発される神経毒性変化は，初期段階の末梢神経の変化が軽度であれば休薬により回復すると予想される.

また，イヌに連続 5 日間投与した後，4 週間の休薬を行ったときの神経組織の病理組織学的検査を実施した. いずれの動物においても，観察期間中に一般状態及び神経機能検査の異常はみられなかったが，神経線維変性及び貪食細胞が，180 mg/kg/日群の雌及び 300 mg/kg/日群で認められた．これらの条件下において，60 及び 120 mg/kg/日の用量では，神経組織の異常は認められなかった．したがって，300 mg/kg/日群においてさえも，連続 5 日間のエダラボン投与終了直後には異常が認められなかったが，投与終了後の 4 週間の休薬後に神経線維変性が明確にみられることが確認された.

更に，サルの 28 日間反復投与毒性試験（用量 : 20，100 及び 1000 mg/kg/日）において，エダラボンを 24 時間持続静注したところ，四肢動作の限定，筋緊張低下及び自発運動量減少といった変化が，1000 mg/kg/日で認められた．また，神経線維変性が脊髄及び主要な末梢神経に認められた. したがって, イヌで認められた変化と同様の神経毒性がサルにおいて 1000 mg/kg/日の用量で発現すると結論づけられた．サルの神経毒性において，イヌで認められた神経毒性を上回る危険性は示唆されなかった.

イヌを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験（用量 : 10，30，100 及び 300 mg/kg/日）において, 末梢神経及び脊髄の神経線維変性所見並びに四肢動作の限定といった関連する一般状態変化が，100 mg/kg/日以上で認められた．これらの所見は，ラットの最高用量である 250 mg/kg/日では認められなかった．神経線維変性の所見はイヌの 24 時間持続静注試験でみられた所見と類似しており，持続的エダラボン曝露に関連すると考えられた.

上述のように，エダラボン投与の結果として生じた神経毒性は，(1) 四肢動作の限定，歩行異常を含む一般状態変化並びに末梢神経及び脊髄の神経線維変性で構成され（神経細胞体の病変は認められず，主な変化は軸索変性で，中枢神経系障害はほぼ感覚神経に限定された），(2) イヌ及びサルで発現したがラットでは発現せず，(3) 変化がエダラボン投与初期段階の末梢神

経の軽度の変化である場合には，休薬により回復が見込まれる．

経口投与毒性試験で得られた曝露量に基づくと，ヒト曝露量に対する神経毒性の安全域は，投与開始から 24 時間後までの血漿中濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）については 13～14 倍，投与後の最高血漿中濃度（C_{max}）値については 10～15 倍であった（表 2.6.6.9－1）．持続静注による神経毒性の安全域は，イヌ（$AUC_{0\text{-}24h}$ については 12～13 倍，C_{ss} については 0.46 倍）とサル（$AUC_{0\text{-}24h}$ については 26～28 倍，C_{ss} については 1.5～1.6 倍）で同程度であった（表 2.6.6.9－1）．

神経毒性が認められたのは毒性試験においてエダラボンを高用量で持続曝露した後のみであり，ヒトへの経口投与後の曝露量と比較すると，良好な安全域が得られた（表 2.6.6.9－1）．更に，20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日までに，AIS 及び ALS 患者において，エダラボン投与による神経毒性を示唆する症例は認められていない．したがって，添付文書（案）に従って使用した場合に神経毒性が誘発される可能性は低いと考える．

表 2.6.6.9－1　神経毒性の NOAEL における曝露量に基づく安全域

動物種	投与期間	神経毒性の NOAEL			神経毒性の安全域	
		用量（mg/kg/日）	C_{max} 又は C_{ss} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	C_{max} 又は C_{ss}[a)]	$AUC_{0\text{-}24h}$[a)]
イヌ	28 日間	30 [b)]（24 時間持続静注）	雄：0.13 [c)] (0.064) 雌：0.13 [c)] (0.064)	雄：3.46 (1.71) 雌：3.72 (1.84)	雄：0.46 [c)] 雌：0.46 [c)]	雄：12 雌：13
サル	28 日間	100 [b)]（24 時間持続静注）	雄：1.85 (0.215) 雌：1.93 (0.224)	雄：32.5 (3.77) 雌：35.6 (4.13)	雄：1.5 雌：1.6	雄：26 雌：28
イヌ	39 週間	30 [b)]（経口）	雄：3.72 (2.05) 雌：2.52 (1.39)	雄：3.58 (1.97) 雌：3.72 (2.05)	雄：15 雌：10	雄：13 雌：14
ヒト	単回	105 mg/man/日（内用懸濁液）	1.656 [d)] (0.139)	1.735 [d)] (0.146)	-	-

注：ヒトにおける 105 mg/man/日の用量での曝露量も表中に示す．括弧内の値は，当該動物種のたん白結合率（2.6.4.4.1）に基づいて算出した非結合型の曝露量を示す．エダラボンの非結合型曝露量の算出には，*in vitro* 血清たん白結合試験で評価したエダラボン濃度と最も近い濃度でのたん白結合率を使用した；イヌ：44.9%（30 mg/kg/日 経口）又は 50.4%（30 mg/kg/日 24 時間持続静注），サル：88.4%，ヒト：91.6%.

a)　値は非結合型のデータに基づいて算出した．
b)　毒性試験における神経毒性の NOAEL.
c)　このデータは C_{ss} である．
d)　このデータは MT-1186-J03 試験で得られた（2.7.2.2.2）．

2.6.6.9.4　結論

非臨床経口投与毒性試験の NOAEL におけるエダラボンの曝露量及びヒト曝露量に対する安全域を表 2.6.6.9－2 に示す．エダラボンをヒトに 105 mg/man/日の用量で単回投与したとき

の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ はそれぞれ 1.656 μg/mL（非結合型：0.139 μg/mL）及び 1.735 μg·h/mL（非結合型：0.146 μg·h/mL）であった（2.7.2.2.2，MT-1186-J03 試験）．ラット及びイヌのエダラボンの血漿中曝露に対する安全域は，C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ のいずれにおいても 10 倍以上であった．また，主要代謝物である硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の血漿中曝露に対する安全域も 10 倍以上であった．

表 2.6.6.9－2　NOAEL での曝露量に基づく安全域

動物種	投与期間	NOAEL			安全域	
		用量（mg/kg/日）	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	C_{max} [a)]	$AUC_{0\text{-}24h}$ [a)]
エダラボン						
ラット	26 週間	75 [b)]（経口）	雄：15.6 (2.98) 雌：19.7 (3.77)	雄：10.7 (2.04) 雌：12.6 (2.40)	雄：21 雌：27	雄：14 雌：16
イヌ	39 週間	30 [b)]（経口）	雄：3.72 (2.05) 雌：2.52 (1.39)	雄：3.58 (1.97) 雌：3.72 (2.05)	雄：15 雌：10	雄：13 雌：14
ヒト	単回	105 mg/man/日（内用懸濁液）	1.656 [c)] (0.139)	1.735 [c)] (0.146)	-	-
硫酸抱合体						
ラット	26 週間	75 [b)]（経口）	雄：48.8 (1.17) 雌：70.9 (1.70)	雄：121 (2.89) 雌：167 (4.00)	雄：16 雌：23	雄：15 雌：20
イヌ	39 週間	30 [b)]（経口）	雄：44.0 (0.924) 雌：46.9 (0.985)	雄：141 (2.96) 雌：161 (3.39)	雄：13 雌：14	雄：15 雌：17
ヒト	単回	105 mg/man/日（内用懸濁液）	7.291[c)] (0.0729)	19.837 [c)] (0.198)	-	-
グルクロン酸抱合体						
ラット	26 週間	75 [b)]（経口）	雄：24.2 (17.9) 雌：25.1 (18.5)	雄：36.5 (26.9) 雌：33.9 (25.0)	雄：13 雌：13	雄：11 雌：10
イヌ	39 週間	30 [b)]（経口）	雄：40.5 (32.5) 雌：43.1 (34.6)	雄：101 (81.2) 雌：104 (83.7)	雄：23 雌：25	雄：33 雌：34
ヒト	単回	105 mg/man/日（内用懸濁液）	2.237 [c)] (1.40)	3.917 [c)] (2.46)	-	-

注：ヒトにおける 105 mg/man/日の用量での曝露量も表中に示す．括弧内の値は，当該動物種のたん白結合率（2.6.4.4.1）に基づいて算出した非結合型の曝露量を示す．エダラボンの非結合型曝露量の算出には，*in vitro* 血清たん白結合試験で評価したエダラボン濃度と最も近い濃度でのたん白結合率を使用した．硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体の非結合型曝露量の算出には，*in vitro* 血清たん白結合試験で得られたたん白結合率の平均値を使用した．使用したたん白結合率は以下のとおり；

エダラボン：ラット：80.9%，イヌ：44.9%，ヒト：91.6%
硫酸抱合体：ラット：97.6%，イヌ：97.9%，ヒト：99.0%
グルクロン酸抱合体：ラット：26.2%，イヌ：19.6%，ヒト：37.2%.

a)　値は非結合型のデータに基づいて算出した．
b)　毒性試験における NOAEL.
c)　このデータは MT-1186-J03 試験で得られた（2.7.2.2.2）．

以上より，エダラボンを経口投与したときの一般毒性に関する NOAEL は，ラットで 75 mg/kg/日，イヌで 30 mg/kg/日であった．反復経口投与毒性試験における所見は，静脈内投与毒性試験でみられたものと類似していた．毒性試験で認められた主な所見は回復性があり，

臨床モニタリングが可能である．初回申請（AIS）時に示したとおり，エダラボンには遺伝毒性及び催奇形性は認められておらず，また 2.6.6.5 に示したとおり発がん性もない．

本剤は，添付文書（案）に従って想定臨床用量で ALS 患者に安全に使用することができ，重篤な副作用を起こす可能性は低いと結論づけられた．

2.6.6.10　図表

表及び図は本文に組み込まれている．

2.6.6.11　参考文献

1) National Toxicology Program. Bioassay of 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone for possible carcinogenicity. Natl Cancer Inst Carcinog Tech Rep Ser. 1978;141:1-100.　（資料番号：4.3－1）

ラジカット内用懸濁液 2.1%
製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.7　毒性試験概要表

田辺三菱製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 4
2.6.7　毒性試験概要表 6
2.6.7.1　毒性試験 6
2.6.7.2　トキシコキネティクス 11
2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 13
2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与 13
2.6.7.3.2　トキシコキネティクス：28 日間（ラット，イヌ，サル）24 時間持続静注 25
2.6.7.3.3　トキシコキネティクス：28 日間（サル）24 時間持続静注 28
2.6.7.3.4　トキシコキネティクス：神経毒性試験 31
2.6.7.3.5　トキシコキネティクス：CSF 中エダラボン濃度 38
2.6.7.3.6　トキシコキネティクス：CSF 中硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体濃度 39
2.6.7.4　毒性試験：被験物質一覧 40
2.6.7.5　単回投与毒性試験 42
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 42
2.6.7.7　反復投与毒性試験 43
2.6.7.7.1　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験 43
2.6.7.7.2　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験 48
2.6.7.7.3　ラット 28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験 55
2.6.7.7.4　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験 58
2.6.7.7.5　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験 63
2.6.7.7.6　イヌ 28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験 73
2.6.7.7.7　サル 28 日間反復持続静注毒性試験 78
2.6.7.8　In Vitro 遺伝毒性試験 82
2.6.7.9　In Vivo 遺伝毒性試験 82
2.6.7.10　がん原性試験 83
2.6.7.10.1　マウス 26 週間がん原性試験 83
2.6.7.10.2　ラット 104 週間がん原性試験 86
2.6.7.10.3　マウス 4 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験） 92
2.6.7.10.4　ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験） 97
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 104

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験.....104
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験.....104
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験
.....104
2.6.7.15　新生児を用いた試験.....104
2.6.7.16　局所刺激性試験.....104
2.6.7.17　その他の毒性試験.....105
2.6.7.17.1　毒性発現の機序に関する試験.....105
2.6.7.17.2　不純物の毒性試験.....109

略語・略号一覧

Abbreviation	Definition
↓	Decrease
2-AA	2-aminoanthracene
2-NF	2-nitrofluorene
9-AA	9-aminoacridine
AF-2	2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide
A/G	Albumin/Globulin ratio
AIS	Acute ischemic stroke
ALB	Albumin
APTT	Activated partial thromboplastin time
AUC	Area under the plasma concentration-time curve
$AUC_{0\text{-}120h}$	Area under the plasma concentration-time curve from zero to 120 hour
$AUC_{0\text{-}Final}$	Area under the plasma concentration-time curve over the total treatment period, estimated by the linear trapezoidal rule
$AUC_{0\text{-}tlast}$	Area under the concentration-time curve from time zero to time t, where t is the time of the last quantifiable value calculated by linear trapezoidal method
AUC_{1day}	Area under the plasma concentration-time curve for a day
$AUC_{0\text{-}24h}$	Area under the plasma concentration-time curve from zero to 24 hour
B[a]P	Benzo[a]pyrene
BUN	Blood urine nitrogen
C_{24h}	Observed plasma concentration at 24h post dose
CHL	Chinese hamster lung
C_{max}	Maximum plasma concentration after administration
CP	Cyclophosphamide
CSF	Cerebrospinal fluid
C_{ss}	Mean plasma concentrations from the beginning of the apparent steady state to the last sampling time point
DMSO	Dimethyl sulfoxide
E. coli	*Escherichia coli*
F	Female
GLO	Globulin
GLP	Good Laboratory Practice
Glucuronide	Glucuronide conjugate of edaravone
HCl	Hydrochloric acid
h	Hour(s)
ICR	Institute of Cancer Research
IMEs	Immature erythrocytes
IP	Intraperitoneal(ly)
IV	Intravenous(ly)

Abbreviation	Definition
K	Potassium
LC-MS/MS	Liquid chromatography–mass spectrometry
LDH	Lactate dehydrogenase
M	Male
MCH	Mean corpuscular hemoglobin
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration
MCI-186	Edaravone or MT-1186
MCV	Mean corpuscular volume
MEs	Mature erythrocytes
min	Minute(s)
MM	Methyl methanesulfonate
MMC	Mitomycin C
MNIMEs	Micronucleated IMEs
NA	Not applicable
NaN_3	Sodium azide
NaOH	Sodium hydroxide
NE	Not examined
No.	Number
NOAEL	No observed adverse effect level
NOEL	No observed effect level
NR	Not reportable
NT	Not tested
A	Impurity A , Impurity A or Impurity A
B	Impurity B or Impurity B
PLT	Platelet
PT	Prothrombin time
RDW	Red blood cell distribution width
S9	Rat liver homogenate 9000 x *g* supernatant
SD	Sprague Dawley
S.D.	Standard deviation
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*
Sulfate	Sulfate conjugate of edaravone
T-BIL	Total bilirubin
TK	Toxicokinetic
Impurity C	Impurity C or [redacted]

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験

一覧表

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Repeated dose toxicity study	Rat, SD	Oral (gavage)	2 weeks	0, 30, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] Japan	[redacted]0427	4.2.3.2－1
	Rat, SD	Oral (gavage)	26 weeks	0, 25, 75, 250	Yes	[redacted] Japan	[redacted]0034	4.2.3.2－2
	Rat, SD	24h continuous infusion	28 days	0, 50, 100, 300, 1000	Yes	[redacted] Canada	[redacted]39	4.2.3.2－3
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	2 weeks	0, 10, 30 [b], 100 [b], 300	Yes	[redacted] Japan	[redacted]0428	4.2.3.2－4
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	39 weeks	0, 10, 30, 100, 300	Yes	[redacted] Japan	[redacted]1033	4.2.3.2－5
	Dog, Beagle	24h continuous infusion	28 days	0, 30, 60, 120, 200	Yes	[redacted] Canada	[redacted]62	4.2.3.2－6

[a] Unless otherwise specified, the highest NOAEL for repeated dose toxicity is underlined.

[b] NOAEL: 100 mg/kg/day for males and 30 mg/kg/day for females.

2.6.7.1　毒性試験（続き）

一覧表（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day [a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Repeated dose toxicity study	Monkey, Cynomolgus	24h continuous infusion	28 days	0, 20, 100, 1000	Yes	[redacted] Canada	[redacted]95	4.2.3.2－7
Carcinogenicity study	Mouse, CB6F1-Tg rasH2	Oral (gavage)	26 weeks	0, 100, 150, 350	Yes	[redacted] Japan	[redacted]0779	4.2.3.4.1－1
	Rat, SD	Oral (gavage)	104 weeks	0, 50, 100, 200 (M), 250 (F)	Yes	[redacted], Japan	[redacted]0275	4.2.3.4.1－2
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2	Oral (gavage)	4 weeks	0, 100, 300, 600 [b]	Yes	[redacted], Japan	[redacted]0057	4.2.3.4.2－1
	Rat, SD	Oral (gavage)	13 weeks	0, 250, 500, 1000 [b]	Yes	[redacted], Japan	[redacted]0932	4.2.3.4.2－2
Other toxicity study: Neurotoxicity	Dog, Beagle	24h continuous infusion	2 weeks	0, 300, 1000	Yes	Mitsubishi Pharma Corporation, Chiba, Japan [c]	[redacted]56	4.2.3.7.3－1

[a] Unless otherwise specified, the highest NOAEL for repeated dose toxicity is underlined.

[b] Dose finding study for carcinogenicity study

[c] The former name of the Sponsor.

2.6.7.1　毒性試験（続き）

一覧表（続き）

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
Other toxicity study: Neurotoxicity	Dog, Beagle	24h continuous infusion	5, 10, 14 days	0, 60, 120, 300	Yes	[redacted] Canada	[redacted]93	4.2.3.7.3－2
	Dog, Beagle	24h continuous infusion	14 days and 13 weeks withdrawal	0, 120	Yes	Mitsubishi Pharma Corporation, Chiba, Japan [a]	[redacted]26	4.2.3.7.3－3
	Dog, Beagle	24h continuous infusion	5 days and 4 weeks withdrawal	0, 60, 120, 180, 300	Yes	Mitsubishi Pharma Corporation, Chiba, Japan [a]	[redacted]46	4.2.3.7.3－4
Other toxicity study: Impurity A	Rat, SD	IV bolus	14 days	0, 0.1, 1	Yes	Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, Chiba, Japan	[redacted]35	4.2.3.7.6－1
	Rat, SD	Oral (gavage)	13 weeks	0, 25, 75, 250 (edaravone), 25/1.25, 75/3.75, 250/12.5 (edaravone/A)	Yes	[redacted] Japan	[redacted]0880	4.2.3.7.6－2
	S. typhimurium *E. coli*	*In vitro*	48 h	0 (vehicle control) 0 (positive control), 313, 625, 1250, 2500, 5000 μg/plate ±S9 [b]	Yes	[redacted] Japan	[redacted]1125	4.2.3.7.6－3

[a] The former name of the Sponsor.

[b] Concentrations shown were those evaluated in the main mutagenicity tests in all assays.

2.6.7.1　毒性試験（続き）

一覧表（続き）

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
Other toxicity study: Impurity A	CHL cells	*In vitro*	6 and 24h	6h assays: 0 (vehicle control), 0 (positive control), 825, 1650, 3300 µg/mL ±S9 [a] 24h assay: 0 (vehicle control), 0 (positive control), 400, 684, 1155, 1953 µg/mL -S9 [a]	Yes	[redacted] Japan	[redacted]1126	4.2.3.7.6－4
	Mouse, ICR bone marrow erythrocytes	IV bolus	Once daily on 2 consecutive days	0, 100, 160, 250	Yes	[redacted] Japan	[redacted]1127	4.2.3.7.6－5
Other toxicity study: Impurity B	*S. typhimurium* *E. coli*	*In vitro*	48 h	-S9: 0 (vehicle control), 0 (positive control), 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate [a] (WP2*uvrA*, TA1535, TA1537 and TA100) and 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500 µg/plate (TA98) [a] +S9 (all tester strains): 0 (vehicle control), 0 (positive control), 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate [a]	Yes	[redacted] apan	[redacted]1128	4.2.3.7.6－6

[a] Concentrations shown were those evaluated in the main mutagenicity tests in all assays.

2.6.7.1　毒性試験（続き）

一覧表（続き）

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
Other toxicity study: Impurity C	*S. typhimurium* *E. coli*	*In vitro*	48-72 h	0 (vehicle control), 0 (positive control), 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate ±S9 [a]	Yes	[redacted] USA	[redacted] 01	4.2.3.7.6－7

[a] Concentrations shown were those evaluated in the main mutagenicity tests in all assays.

2.6.7.2　トキシコキネティクス

トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Edaravone

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Repeated dose toxicity study						
2-week repeated dose toxicity study	Rat, SD	Oral (gavage)	30, 100, 300, 1000	Yes	[redacted]0427	4.2.3.2－1
26-week repeated dose toxicity study	Rat, SD	Oral (gavage)	25, 75, 250	Yes	[redacted]0034	4.2.3.2－2
28-day repeated dose toxicity study	Rat, SD	24h continuous infusion	50, 100, 300, 1000	Yes	[redacted]39	4.2.3.2－3
2-week repeated dose toxicity study	Dog, Beagle	Oral (gavage)	10, 30, 100, 300	Yes	[redacted]0428	4.2.3.2－4
39-week repeated dose toxicity study	Dog, Beagle	Oral (gavage)	10, 30, 100, 300	Yes	[redacted]1033	4.2.3.2－5
28-day repeated dose toxicity study	Dog, Beagle	24h continuous infusion	30, 60, 120, 200	Yes	[redacted]62	4.2.3.2－6
28-day repeated dose toxicity study	Monkey, Cynomolgus	24h continuous infusion	20, 100, 1000	Yes	[redacted]95	4.2.3.2－7
Carcinogenicity study						
104-week carcinogenicity study	Rat, SD	Oral (gavage)	50, 100, 200 (M), 250 (F)	Yes	[redacted]0275	4.2.3.4.1－2
4-week dose range finding study	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2	Oral (gavage)	100, 300, 600	Yes	[redacted]0057	4.2.3.4.2－1
13-week dose range finding study	Rat, SD	Oral (gavage)	250, 500, 1000	Yes	[redacted]0932	4.2.3.4.2－2
Other toxicity study						
Investigational studies for neurotoxicity	Dog, Beagle	24h continuous infusion	300, 1000	Yes	[redacted]56	4.2.3.7.3－1

2.6.7.2　トキシコキネティクス（続き）

トキシコキネティクス試験の一覧表（続き）

Test Article: Edaravone

Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Administration**	**Doses (mg/kg)**	**GLP Compliance**	**Study Number**	**Location in CTD**
Investigational studies for neurotoxicity	Dog, Beagle	24h continuous infusion	60, 120, 300	Yes	[redacted]93	4.2.3.7.3－2
	Dog, Beagle	24h continuous infusion	120	Yes	[redacted]26	4.2.3.7.3－3
	Dog, Beagle	24h continuous infusion	60, 120, 180, 300	Yes	[redacted]46	4.2.3.7.3－4

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean $C_{max,}$ (μg/mL) for edaravone in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
105[a]							1.656[b]	
10					0.3923	0.4568		[redacted]0428
10					0.5088	0.3110		[redacted]1033
25			4.141	3.475				[redacted]0034
30			1.708	4.942				[redacted]0427
30					3.170	3.722		[redacted]0428
30					3.722	2.521		[redacted]1033
50			17.59	28.60				[redacted]0275
75			15.62	19.74				[redacted]0034
100	13.07	18.72						[redacted]0057
100			15.31	28.15				[redacted]0427
100					17.66	20.20		[redacted]0428
100					36.77	[c]		[redacted]1033
100			33.33	49.19				[redacted]0275
200			46.97					[redacted]0275
250			26.21	47.31				[redacted]0932
250			45.70	70.59				[redacted]0034
250				88.15				[redacted]0275

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean $C_{max,}$ (μg/mL) for edaravone in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
300	52.17	62.83						[redacted]0057
300			36.04	44.93				[redacted]0427
300					67.12	68.73		[redacted]0428
300					[a]	[a]		[redacted]1033
500			39.01	65.79				[redacted]0932
600	113.5	127.6						[redacted]0057
1000			67.34	100.1				[redacted]0427
1000			100.8	79.03				[redacted]0932

[a] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg•h/mL) for edaravone in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
105[a]							1.735[b]	
10					0.7239	0.8713		[redacted]0428
10					0.626	0.6177		[redacted]1033
25			2.241	2.223				[redacted]0034
30			1.342	2.600				[redacted]0427
30					3.546	3.609		[redacted]0428
30					3.578	3.719		[redacted]1033
50			10.07	12.80				[redacted]0275
75			10.67	12.59				[redacted]0034
100	4.756	5.694						[redacted]0057
100			9.756	15.87				[redacted]0427
100					20.67	23.27		[redacted]0428
100					31.45	[c]		[redacted]1033
100			24.58	28.71				[redacted]0275
200			53.02					[redacted]0275
250			32.47	54.74				[redacted]0932
250			71.60	119.2				[redacted]0034
250				91.28				[redacted]0275

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg•h/mL) for edaravone in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
300	93.42	113.8						[redacted]0057
300			39.43	52.38				[redacted]0427
300					117.6	126.6		[redacted]0428
300					[a]	[a]		[redacted]1033
500			110.1	102.2				[redacted]0932
600	149.4	165.1						[redacted]0057
1000			291.9	309.9				[redacted]0427
1000			322.6	278.8				[redacted]0932

[a] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean C_{max}, (μg/mL) for sulfate in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
105[a]							7.291[b]	
10					26.90	32.94		[redacted]0428
10					33.46	34.58		[redacted]1033
25			35.53	53.21				[redacted]0034
30			38.46	45.94				[redacted]0427
30					60.60	66.90		[redacted]0428
30					44.01	46.91		[redacted]1033
50			42.94	53.59				[redacted]0275
75			48.81	70.87				[redacted]0034
100	32.44	69.22						[redacted]0057
100			45.17	51.11				[redacted]0427
100					66.59	85.25		[redacted]0428
100					57.48	[c]		[redacted]1033
100			35.38	83.16				[redacted]0275
200			44.16					[redacted]0275
250			48.67	64.96				[redacted]0932
250			43.72	86.16				[redacted]0034
250				83.15				[redacted]0275

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean C_{max}, (μg/mL) for sulfate in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
300	50.78	92.97						[redacted]0057
300			62.71	74.56				[redacted]0427
300					90.27	69.61		[redacted]0428
300					[a]	[a]		[redacted]1033
500			39.88	71.04				[redacted]0932
600	45.27	89.55						[redacted]0057
1000			40.24	69.05				[redacted]0427
1000			35.16	61.31				[redacted]0932

[a] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean $AUC_{0\text{-}24h}$, (μg•h/mL) for sulfate in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
105[a]							19.837[b]	
10					53.38	78.08		[redacted]0428
10					67.00	79.74		[redacted]1033
25			34.01	45.78				[redacted]0034
30			36.68	36.27				[redacted]0427
30					161.4	170.9		[redacted]0428
30					140.8	161.3		[redacted]1033
50			74.66	86.98				[redacted]0275
75			120.5	166.5				[redacted]0034
100	25.31	44.93						[redacted]0057
100			135.3	122.8				[redacted]0427
100					387.9	441.6		[redacted]0428
100					239.0	[c]		[redacted]1033
100			102.4	240.1				[redacted]0275
200			231.8					[redacted]0275
250			284.9	381.3				[redacted]0932
250			292.5	431.6				[redacted]0034
250				498.7				[redacted]0275

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean $AUC_{0\text{-}24h}$, (μg•h/mL) for sulfate in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
300	113.1	186.8						[redacted]0057
300			349.0	420.2				[redacted]0427
300					739.2	639.4		[redacted]0428
300					[a]	[a]		[redacted]1033
500			269.1	492.8				[redacted]0932
600	160.2	270.6						[redacted]0057
1000			320.9	586.2				[redacted]0427
1000			288.3	597.2				[redacted]0932

[a] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean C_{max}, (μg/mL) for glucuronide in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
105[a]							2.237[b]	
10					10.20	7.790		[redacted]0428
10					13.38	11.12		[redacted]1033
25			16.77	9.924				[redacted]0034
30			9.750	13.25				[redacted]0427
30					50.99	44.59		[redacted]0428
30					40.47	43.07		[redacted]1033
50			19.81	21.82				[redacted]0275
75			24.19	25.09				[redacted]0034
100	85.22	65.06						[redacted]0057
100			21.88	26.15				[redacted]0427
100					158.6	174.1		[redacted]0428
100					152.5	[c]		[redacted]1033
100			30.09	38.33				[redacted]0275
200			42.46					[redacted]0275
250			29.59	41.95				[redacted]0932
250			39.46	76.97				[redacted]0034
250				56.43				[redacted]0275

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean C_{max}, (μg/mL) for glucuronide in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
300	246.4	229.4						[redacted]0057
300			33.04	48.29				[redacted]0427
300					296.5	368.7		[redacted]0428
300					[a]	[a]		[redacted]1033
500			40.42	75.21				[redacted]0932
600	290.1	215.1						[redacted]0057
1000			79.28	88.84				[redacted]0427
1000			95.41	90.80				[redacted]0932

[a] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean $AUC_{0\text{-}24h}$, (μg•h/mL) for glucuronide in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
105[a]							3.917[b]	
10					23.42	17.59		[redacted]0428
10					29.65	26.56		[redacted]1033
25			11.66	8.054				[redacted]0034
30			7.958	8.090				[redacted]0427
30					109.4	98.13		[redacted]0428
30					101.0	104.1		[redacted]1033
50			23.00	20.04				[redacted]0275
75			36.45	33.94				[redacted]0034
100	47.54	26.46						[redacted]0057
100			33.55	34.40				[redacted]0427
100					455.5	438.5		[redacted]0428
100					405.1	[c]		[redacted]1033
100			58.87	58.74				[redacted]0275
200			118.0					[redacted]0275
250			112.6	114.0				[redacted]0932
250			184.4	217.3				[redacted]0034
250				155.3				[redacted]0275

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.1　トキシコキネティクス：2 週間（ラット，イヌ），4 週間（マウス），13 週間（ラット），26 週間（ラット）または 39 週間（イヌ）反復経口投与（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Mean $AUC_{0\text{-}24h}$, (μg•h/mL) for glucuronide in plasma							Study Number
	Mouse, CB6F1-nonTg rasH2		Rat, SD		Dog, Beagle		Human	
	M	F	M	F	M	F		
300	434.2	388.8						[redacted]0057
300			117.0	140.1				[redacted]0427
300					1395	1566		[redacted]0428
300					[a]	[a]		[redacted]1033
500			276.3	267.7				[redacted]0932
600	584.5	419.7						[redacted]0057
1000			592.7	858.4				[redacted]0932
1000			674.5	827.1				[redacted]0427

[a] There were no steady state toxicokinetic data at the last dose in females in the 100 mg/kg group and males and females in the 300 mg/kg group because administration at the target dose was not continued until the last dose. See 2.6.7.7.5 for additional TK data during the dosing period.

2.6.7.3.2　トキシコキネティクス：28 日間（ラット，イヌ，サル）24 時間持続静注

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Parameter	Mean C_{max}, C_{24h}, or C_{ss} (μg/mL) for edaravone in plasma							Study Number
		Rat, Wistar		Dog, Beagle		Monkey, Cynomolgus		Human	
		M	F	M	F	M	F		
105[a]	C_{max}[b]							1.656	
20	C_{max}					0.274	0.459		[redacted]95
20	C_{24h}					0.135	0.291		[redacted]95
20	C_{ss}[c]					NR	NR		[redacted]95
30	C_{ss}[c]			0.13	0.13				[redacted]62
50	C_{ss}[c]	0.73	0.54						[redacted]39[d]
60	C_{ss}[c]			0.28	0.31				[redacted]62
100	C_{ss}[c]	1.28	1.29						[redacted]39[d]
100	C_{max}					1.85	1.93		[redacted]95
100	C_{24h}					1.05	1.19		[redacted]95
100	C_{ss}[c]					NR	NR		[redacted]95
120	C_{ss}[c]			0.62	0.82				[redacted]62
200	C_{ss}[c]			1.67	1.61				[redacted]62
300	C_{ss}[c]	3.80	4.43						[redacted]39[d]
1000	C_{ss}[c]	13.59	16.23						[redacted]39[d]
1000	C_{max}					33.4	35.5		[redacted]95
1000	C_{24h}					19.9	20.8		[redacted]95
1000	C_{ss}[c]					NR	NR		[redacted]95

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] Css: mean of steady state values per animal.

[d] Sprague Dawley albino rats used for this study.

2.6.7.3.2　トキシコキネティクス：28 日間（ラット，イヌ，サル）24 時間持続静注（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Parameter	Mean AUC (μg·h/mL) for edaravone in plasma							Study Number
		Rat, Wistar		Dog, Beagle		Monkey, Cynomolgus		Human	
		M	F	M	F	M	F		
105[a]	$AUC_{0\text{-}24h}$[b]							1.735	
20	$AUC_{0\text{-}24h}$ [c]					4.39	6.55		[redacted]95
20	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [d]					123	183		[redacted]95
30	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]			3.46	3.72				[redacted]62
30	AUC_{28days} [f]			97	104				[redacted]62
50	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]	16.87	12.52						[redacted]39 [g]
50	AUC_{28days} [f]	472	351						[redacted]39 [g]
60	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]			7.19	7.92				[redacted]62
60	AUC_{28days} [f]			201	222				[redacted]62
100	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]	29.14	29.46						[redacted]39 [g]
100	AUC_{28days} [f]	816	825						[redacted]39 [g]
100	$AUC_{0\text{-}24h}$ [c]					32.5	35.6		[redacted]95
100	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [d]					910	997		[redacted]95
120	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]			15.24	20.72				[redacted]62
120	AUC_{28days} [f]			404	589				[redacted]62
200	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]			40.45	39.64				[redacted]62
200	AUC_{28days} [f]			908	1034				[redacted]62
300	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]	83.86	102.75						[redacted]39 [g]
300	AUC_{28days} [f]	2348	2877						[redacted]39 [g]
1000	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]	315.11	387.33						[redacted]39 [g]
1000	AUC_{28days} [f]	8823	10845						[redacted]39 [g]
1000	$AUC_{0\text{-}24h}$ [c]					492	558		[redacted]95
1000	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [d]					13144	14937		[redacted]95

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] These values were calculated by $AUC_{0\text{-}tlast}$/28 days to approximate the AUC in a 24h period.
[d] Last time point was approximately 30 minutes prior to the end of infusion on Day 29.
[e] These values were estimated by the linear trapezoidal rule and were calculated as AUC_{28days}/28.
[f] These values were estimated by the linear trapezoidal rule. It was assumed that the plasma MCI-186 concentrations predose (0 days) were zero on Day 1.
[g] Sprague Dawley albino rats used for this study.

2.6.7.3.3　トキシコキネティクス：28 日間（サル）24 時間持続静注

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Parameter/Conjugate	Mean C_{max}, C_{24h}, or C_{ss} (μg/mL) for the sulfate [a] and glucuronide [b] in plasma			Study Number
		Monkey, Cynomolgus		Human	
		M	F		
105[c]	C_{max} [d]/Sulfate			7.291	
105[c]	C_{max} [d]/Glucuronide			2.237	
20	C_{max}/Sulfate	2.56	3.29		[redacted]95
20	C_{24h}/Sulfate	2.07	2.29		[redacted]95
20	C_{ss} [e]/Sulfate	2.17	2.40		[redacted]95
20	C_{max}/Glucuronide	3.04	4.02		[redacted]95
20	C_{24h}/Glucuronide	1.39	1.82		[redacted]95
20	C_{ss} [e]/Glucuronide	NR	NR		[redacted]95
100	C_{max}/Sulfate	14.3	9.95		[redacted]95
100	C_{24h}/Sulfate	9.50	8.79		[redacted]95
100	C_{ss} [e]/Sulfate	10.8	8.16		[redacted]95
100	C_{max}/Glucuronide	13.3	11.2		[redacted]95
100	C_{24h}/Glucuronide	7.39	5.22		[redacted]95
100	C_{ss} [e]/Glucuronide	8.27	6.96		[redacted]95
1000	C_{max}/Sulfate	43.8	37.4		[redacted]95
1000	C_{24h}/Sulfate	37.6	19.7		[redacted]95
1000	C_{ss} [e]/Sulfate	30.8	24.3		[redacted]95
1000	C_{max}/Glucuronide	78.2	75.9		[redacted]95
1000	C_{24h}/Glucuronide	14.3	26.7		[redacted]95
1000	C_{ss} [e]/Glucuronide	NR	NR		[redacted]95

[a] Plasma concentration of the sulfate alone were calculated by subtraction of the MCI-186 plasma from the MCI-186 plus sulfate (MCI-186/S) plasma concentrations.

[b] Plasma concentrations of the glucuronide alone were calculated by subtraction of the MCI-186 plus sulfate (MCI-186/S) from the MCI-186 plus both sulfate and glucuronide (MCI-186/S/G), except for the plasma concentration in humans.

[c] mg/subject (oral suspension)

[d] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[e] $C_{ss:}$ mean of steady state values per animal.

2.6.7.3.3　トキシコキネティクス：28 日間（サル）24 時間持続静注（続き）

Test Article: Edaravone

Daily Dose (mg/kg/day)	Parameter/Conjugate	Mean AUC (μg·h/mL) for the sulfate [a] and glucuronide [b] in plasma			Study Number
		Monkey, Cynomolgus		Human	
		M	F		
105[c]	$AUC_{0\text{-}24h}$ [d]/Sulfate			19.837	
105[c]	$AUC_{0\text{-}24h}$ [d]/Glucuronide			3.917	
20	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]/Sulfate	52.1	57.5		[redacted]95
20	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]/Glucuronide	40.8	51.5		[redacted]95
20	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [f]/Sulfate	1598	1610		[redacted]95
20	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [f]/Glucuronide	1326	1443		[redacted]95
100	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]/Sulfate	265	198		[redacted]95
100	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]/Glucuronide	193	164		[redacted]95
100	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [f]/Sulfate	7417	5558		[redacted]95
100	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [f]/Glucuronide	5406	4603		[redacted]95
1000	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]/Sulfate	706	657		[redacted]95
1000	$AUC_{0\text{-}24h}$ [e]/Glucuronide	1165	1068		[redacted]95
1000	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [f]/Sulfate	18681	17736		[redacted]95
1000	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [f]/Glucuronide	31037	35082		[redacted]95

[a] Plasma concentration of the sulfate alone were calculated by subtraction of the MCI-186 plasma from the MCI-186 plus sulfate (MCI-186/S) plasma concentrations.

[b] Plasma concentrations of the glucuronide alone were calculated by subtraction of the MCI-186 plus sulfate (MCI-186/S) from the MCI-186 plus both sulfate and glucuronide (MCI-186/S/G).

[c] mg/subject (oral suspension)

[d] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[e] These values were calculated as $AUC_{0\text{-}tlast}$/28 days to approximate the AUC in a 24h period.

[f] Last time point was approximately 30 minutes prior to the end of infusion on Day29.

2.6.7.3.4　トキシコキネティクス：神経毒性試験

Test Article: Edaravone

24-Hour Continuous IV Infusion					
Daily Dose (mg/kg/day)	**Parameter**	**Mean C_{max}, C_{24h}, or C_{ss} (μg/mL) for edaravone in plasma**			**Study Number**
		Dog, Beagle		**Human**	
		M	**F**		
105[a]	C_{max} [b]			1.656	
60	C_{max} [c]	0.569	0.529		[redacted]93
60	C_{24h} [c]	0.355	0.327		[redacted]93
60	C_{ss} [d]	0.4773	0.3798		[redacted]46
120	C_{ss} [e]	0.93495			[redacted]26
120	C_{ss} [e]	0.8442			[redacted]26
120	C_{ss} [d]	0.8165	0.7525		[redacted]46
120	C_{max} [c]	1.51	1.48		[redacted]93
120	C_{24h} [c]	1.09	0.886		[redacted]93
180	C_{ss} [d]	1.4736	1.4994		[redacted]46
300	C_{ss} [d]	2.6721	2.6714		[redacted]46
300	C_{ss} [f]	4.41676			[redacted]56
300	C_{max} [c]	5.46	4.80		[redacted]93
300	C_{24h} [c]	3.80	3.30		[redacted]93
1000	C_{ss} [f]	12.72589			[redacted]56

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] Study No. [redacted]93 euthanized animals on Days 6, 11, and 15. The data are overall mean values from the data of 5, 10, and 14 days.

[d] C_{ss}: mean of measurement values from 3h to 120h in each dog.

[e] C_{ss}: mean of measurement values of 6 males, from 24h to the final day of dosing.

[f] $C_{ss:}$ mean of measurement values from 3h to the final day in each dog.

2.6.7.3.4　トキシコキネティクス：神経毒性試験（続き）

Test Article: Edaravone

24-Hour Continuous IV Infusion					
Daily Dose (mg/kg/day)	**Parameter**	**Mean $AUC_{0\text{-}tlast}$, $AUC_{0\text{-}24h}$, $AUC_{0\text{-}120h}$, AUC_{1day}, or $AUC_{0\text{-}Final}$ (μg·h/mL) for edaravone in plasma**			**Study Number**
		Dog, Beagle		**Human**	
		M	**F**		
105[a]	$AUC_{0\text{-}24h}$[b]			1.735	
60	AUC_{1day}[c]	7.6507	7.0692		[redacted]46
60	$AUC_{0\text{-}120h}$[d]	38.2534	35.3460		[redacted]46
60	$AUC_{0\text{-}24h}$[e]	9.63	8.89		[redacted]93
60	$AUC_{0\text{-}tlast}$[f]	89.8	78.2		[redacted]93
120	AUC_{1day}[c]	16.1004	17.6450		[redacted]46
120	$AUC_{0\text{-}120h}$[d]	80.5021	88.2248		[redacted]46
120	AUC_{1day}[g]	21.71			[redacted]26
120	AUC_{1day}[g]	19.69			[redacted]26
120	$AUC_{0\text{-}Final}$[h]	195.40			[redacted]26
120	$AUC_{0\text{-}Final}$[h]	177.24			[redacted]26
120	$AUC_{0\text{-}24h}$[e]	28.6	26.0		[redacted]93
120	$AUC_{0\text{-}tlast}$[f]	252	237		[redacted]93
180	AUC_{1day}[c]	28.2155	29.3695		[redacted]46
180	$AUC_{0\text{-}120h}$[d]	141.0778	146.8474		[redacted]46
300	AUC_{1day}[c]	58.3057	54.9373		[redacted]46
300	$AUC_{0\text{-}120h}$[d]	291.5288	274.6866		[redacted]46
300	AUC_{1day}[i]	86.74			[redacted]56
300	$AUC_{0\text{-}Final}$[j]	1185.22			[redacted]56
300	$AUC_{0\text{-}24h}$[e]	99.0	88.8		[redacted]93
300	$AUC_{0\text{-}tlast}$[f]	911	817		[redacted]93
1000	AUC_{1day}[i]	313.14			[redacted]56
1000	$AUC_{0\text{-}Final}$[j]	3037.73			[redacted]56

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)
[c] AUC_{1day} was calculated as $AUC_{0\text{-}120h}$/5 days. Values are group means (3 animals per sex per dose group).
[d] $AUC_{0\text{-}120h}$ was the area under the concentration-time curve from the start of infusion to the end of infusion (120h).
[e] Study No. [redacted]93 euthanized animals on Days 6, 11, and 15. The data presented in this table is the overall mean $AUC_{0\text{-}24h}$ of the toxicokinetic data determined on these 3 days. $AUC_{0\text{-}24h}$ was calculated as $AUC_{0\text{-}tlast}$/number of days.
[f] Study No. [redacted]93 euthanized animals on Days 6, 11, and 15. The data presented in this table is the overall mean $AUC_{0\text{-}tlast}$ of the toxicokinetic data determined on these 3 days.
[g] AUC_{1day} was calculated as $AUC_{0\text{-}Final}$/(9 days of infusion). Values are group means of 6 males that completed dosing period.
[h] $AUC_{0\text{-}Final}$: values are group means of 6 males that completed dosing period. It was assumed that the plasma concentration at predose was zero on Day 1.
[i] AUC_{1day} was calculated as $AUC_{0\text{-}Final}$/total infusion days. Values are group means (3 per dose group). Groups received infusion treatment for various terms, ranging from 9 to 15 days.
[j] $AUC_{0\text{-}Final}$: It was assumed that the plasma concentration at predose was zero on Day 1.

2.6.7.3.4　トキシコキネティクス：神経毒性試験（続き）

Test Article: Edaravone

24-Hour Continuous IV Infusion					
Daily Dose (mg/kg/day)	Parameter/Conjugate [a]	Mean C_{max} or C_{24h} (μg/mL) for the sulfate and glucuronide in plasma			Study Number
		Dog, Beagle		Human	
		M	F		
105[b]	C_{max} [c]/Sulfate			7.291	
105[b]	C_{max} [c]/Glucuronide			2.237	
60	C_{max}/Sulfate	14.6	10.6		[redacted]93
60	C_{max}/Glucuronide	4.63	4.98		[redacted]93
60	C_{24h}/Sulfate	8.95	9.97		[redacted]93
60	C_{24h}/Glucuronide	2.64	2.81		[redacted]93
120	C_{max}/Sulfate	19.5	19.7		[redacted]93
120	C_{max}/Glucuronide	9.40	9.25		[redacted]93
120	C_{24h}/Sulfate	17.8	18.5		[redacted]93
120	C_{24h}/Glucuronide	5.55	3.98		[redacted]93
300	C_{max}/Sulfate	37.1	42.2		[redacted]93
300	C_{max}/Glucuronide	26.6	25.9		[redacted]93
300	C_{24h}/Sulfate	32.1	31.0		[redacted]93
300	C_{24h}/Glucuronide	15.2	16.1		[redacted]93

[a] Study No. [redacted]93 euthanized animals on Days 6, 11, and 15. The data are overall mean values from the data of 5, 10, and 14 days.

[b] mg/subject (oral suspension)

[c] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

2.6.7.3.4　トキシコキネティクス：神経毒性試験（続き）

Test Article: Edaravone

24-Hour Continuous IV Infusion					
Daily Dose (mg/kg/day)	**Parameter/Conjugate**	**Mean $AUC_{0\text{-}tlast}$ or $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL) for the sulfate and glucuronide in plasma**			**Study Number**
		Dog, Beagle		**Human**	
		M	**F**		
105[a]	$AUC_{0\text{-}24h}$ [b]/Sulfate			19.837	
105[a]	$AUC_{0\text{-}24h}$ [b]/Glucuronide			3.917	
60	$AUC_{0\text{-}24h}$ [c]/Sulfate	208	210		[redacted]93
60	$AUC_{0\text{-}24h}$ [c]/Glucuronide	50.4	63.0		[redacted]93
60	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [d]/Sulfate	1878	1955		[redacted]93
60	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [d]/Glucuronide	369	417		[redacted]93
120	$AUC_{0\text{-}24h}$ [c]/Sulfate	393	398		[redacted]93
120	$AUC_{0\text{-}24h}$ [c]/Glucuronide	101	112		[redacted]93
120	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [d]/Sulfate	3641	3249		[redacted]93
120	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [d]/Glucuronide	579	791		[redacted]93
300	$AUC_{0\text{-}24h}$ [c]/Sulfate	541	544		[redacted]93
300	$AUC_{0\text{-}24h}$ [c]/Glucuronide	368	420		[redacted]93
300	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [d]/Sulfate	5077	4949		[redacted]93
300	$AUC_{0\text{-}tlast}$ [d]/Glucuronide	3265	3959		[redacted]93

[a] mg/subject (oral suspension)

[b] The data obtained from Study MT-1186-J03. (Please see 2.7.2.)

[c] Study No. [redacted]93 euthanized animals on Days 6, 11, and 15. The data presented in this table is the overall mean $AUC_{0\text{-}24h}$ of the toxicokinetic data determined on these 3 days. $AUC_{0\text{-}24h}$ was calculated as $AUC_{0\text{-}tlast}$/number of days.

[d] Study No. [redacted]93 euthanized animals on Days 6, 11, and 15. The data presented in this table is the overall mean $AUC_{0\text{-}tlast}$ of the toxicokinetic data determined on these 3 days.

2.6.7.3.4　トキシコキネティクス：神経毒性試験（続き）

Test Article: Edaravone

24-Hour Continuous IV Infusion				
Daily Dose (mg/kg/day)	Sampling Time/Conjugate	Mean concentration (μg/mL) of sulfate and glucuronide in plasma		Study Number
		Dog, Beagle		
		M	F	
60	Day 2 -24 h/Sulfate [a]	10.7149	15.2454 [b]	[redacted]46
60	Day 2 - 24 h/Glucuronide [c]	1.9933	1.3232	[redacted]46
60	Day 6 - 120 h/Sulfate [a]	10.2393	12.1070	[redacted]46
60	Day 6 - 120 h/Glucuronide [c]	2.3253	[d]	[redacted]46
120	Day 2 - 24 h/Sulfate [a]	18.1030	23.9874	[redacted]46
120	Day 2 - 24 h/Glucuronide [c]	2.0484	[d]	[redacted]46
120	Day 6 - 120 h/Sulfate [a]	16.6323	29.7519	[redacted]46
120	Day 6 - 120 h/Glucuronide [c]	4.4188	[d]	[redacted]46
180	Day 2 - 24 h/Sulfate [a]	26.9719	38.3534	[redacted]46
180	Day 2 - 24 h/Glucuronide [c]	4.0067	1.6671	[redacted]46
180	Day 6 - 120 h/Sulfate [a]	23.2382	39.1251	[redacted]46
180	Day 6 - 120 h/Glucuronide [c]	5.5806	5.8089 [b]	[redacted]46
300	Day 2 - 24 h/Sulfate [a]	40.6675	58.5557	[redacted]46
300	Day 2 - 24 h/Glucuronide [c]	16.1288	4.3334	[redacted]46
300	Day 6 - 120 h/Sulfate [a]	32.8543	60.5691	[redacted]46
300	Day 6 - 120 h/Glucuronide [c]	22.4898	11.9082	[redacted]46
300	168 h/Sulfate	40.38206		[redacted]56 [e]
300	168 h/Glucuronide	9.33459		[redacted]56 [e]
300	Final [f]/Sulfate	27.80242		[redacted]56 [e]
300	Final [f]/Glucuronide	15.09230		[redacted]56 [e]
1000	168 h/Sulfate	55.96157		[redacted]56 [e]
1000	168 h/Glucuronide	42.71728		[redacted]56 [e]
1000	Final [f]/Sulfate	32.10138		[redacted]56 [e]
1000	Final [f]/Glucuronide	14.57592		[redacted]56 [e]

[a] Conversion factor: 1.46 = M.W. of sulfate (254.27)/M.W. of unchanged (174.20).
[b] Mean value of 2 of 3 animals.
[c] Conversion factor: 2.01 = M.W. of glucuronide (350.32)/M.W. of unchanged (174.20).
[d] The calculated value was negative.
[e] Sulfate and glucuronide in plasma were assayed using the indirect method. After hydrolysis by acid-treatment of plasma samples, MCI-186 was distinguished from the conjugates by the same LC- MS/MS method.
[f] Animals received infusion treatment for various terms, ranging from 9 to 15 days.

2.6.7.3.5　トキシコキネティクス：CSF 中エダラボン濃度

Test Article: Edaravone

24-Hour Continuous IV Infusion for 9 to 15 Days (Dog) and 28 Days (Monkey)						
Daily Dose (mg/kg/day)	Sampling Time	Mean concentration (μg/mL) of edaravone in CSF				Study Number
		Dog, Beagle		Monkey, Cynomolgus		
		M	F	M	F	
20	Day 29			0.0645	0.0726	[redacted]95
100	Day 29			0.397	0.371	[redacted]95
300	[a]	2.39304				[redacted]56
1000	[b]	9.04001				[redacted]56
1000	Day 29			10.6	10.8	[redacted]95

[a] Sample collection times for each animal ranged from 13 to 16 days.

[b] Sample collection times for each animal ranged from 10 to 11 days.

2.6.7.3.6　トキシコキネティクス：CSF 中硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体濃度

Test Article: Edaravone

24-Hour Continuous IV Infusion for 9 to 15 Days (Dogs) and 28 Days (Monkey)						
Daily Dose (mg/kg/day)	Sampling Time/ Conjugate	Mean concentration (μg/mL) of sulfate and glucuronide in CSF				Study Number
		Dog, Beagle		Monkey, Cynomolgus		
		M	F	M	F	
20	Day 29 Sulfate [a]			0.00795	0.0134	[redacted]95
20	Day 29 Glucuronide [b]			0.0108	0.00392	[redacted]95
100	Day 29 Sulfate [a]			0.0156	0.126	[redacted]95
100	Day 29 Glucuronide [b]			0.0462	0.0338	[redacted]95
300	Sulfate [c,d]	0.07117				[redacted]56
300	Glucuronide [c,d]	0.41893				[redacted]56
1000	Sulfate [d,e]	2.00655				[redacted]56
1000	Glucuronide [d,e]	0.39664				[redacted]56
1000	Day 29 Sulfate [a]			0.705	0.959	[redacted]95
1000	Day 29 Glucuronide [b]			0.929	1.55	[redacted]95

[a] The concentrations of the sulfate were calculated by subtraction of the MCI-186 concentrations from the MCI-186 plus sulfate (MCI-186/S) concentrations.

[b] The concentrations of the glucuronide were calculated by the subtraction of MCI-186 plus sulfate (MCI-186/S) concentrations from the MCI-186 plus both sulfate and glucuronide (MCI-186/S/G) concentrations.

[c] Sample collection times for each animal ranged from 13 to 16 days.

[d] Sulfate and glucuronide in CSF were assayed using the indirect method. After hydrolysis by acid-treatment of plasma samples, MCI-186 was distinguished from the conjugates by the same LC-MS/MS method.

[e] Sample collection times for each animal ranged from 10 to 11 days.

2.6.7.4　毒性試験：被験物質一覧

Lot No.	Purity (%)	Specified Impurities	Study Number	Type of Study
99002	99.9	–	[redacted]39	28-day 24h continuous infusion study in rats
			[redacted]62	28-day 24h continuous infusion study in dogs
			[redacted]56, [redacted]93	Investigational study for neurotoxicity in dogs
02001	99.9	–	[redacted]95	28-day 24h continuous infusion study in monkeys
			[redacted]26	Investigational study for neurotoxicity in dogs
J002ED	99.9	–	[redacted]46	Investigational study for neurotoxicity in dogs
240030	100.0	–	[redacted]0427	2-week oral repeated dose toxicity study in rats
			[redacted]0428	2-week oral repeated dose toxicity study in dogs
			[redacted]0932	13-week oral repeated dose range finding study in rats
U032ED	100.1	–	[redacted]0057	4-week oral repeated dose range finding study in mice
			[redacted]0034	26-week oral repeated dose toxicity study in rats
			[redacted]1033	39-week oral repeated dose toxicity study in dogs
			[redacted]0779	26-week oral repeated dose carcinogenicity study in mice
			[redacted]0275	104-week oral repeated dose carcinogenicity study in rats
			[redacted]0880	13-week oral repeated dose study with impurity (P1) in rats
AT-081006-1	98.6	–	[redacted]1125	Impurity ([redacted]A[redacted]): Bacterial reverse mutation study
			[redacted]1126	Impurity ([redacted]A[redacted]): Chromosomal aberration study
			[redacted]1127	Impurity ([redacted]A[redacted]): Micronucleus test
			[redacted]35	Impurity ([redacted]A[redacted]): 2-week intravenous repeated dose study in rats
M0438040A	99.69	–	[redacted]0880	Impurity ([redacted]A[redacted]): 13-week oral repeated dose study in rats
AT-081002-1	100.0	–	[redacted]35	Impurity [redacted]B[redacted]): 2-week intravenous repeated dose study in rats
			[redacted]1128	Impurity ([redacted]B[redacted]): Bacterial reverse mutation study
B	99.6	–	[redacted]001[redacted]	Impurity ([redacted]C[redacted]): Bacterial reverse mutation study

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Note: – = No information in the study report. These batches were not used to establish specification limits for clinical batches.

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当資料なし.（初回申請/承認（AIS）時に提出済み.）

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし.

2.6.7.7　反復投与毒性試験

2.6.7.7.1　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験

Study title: A 2-week oral repeated dose toxicity study of MCI-186 in rats
Species/strain: Rat/SD　　Duration of dosing: 2 weeks
Initial age: 6 weeks　　Duration of postdose: None
Date of first dose: [redacted] (Male) and [redacted] (Female), 20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage)
Vehicle/formulation: 1% w/v tragacanth gum aqueous solution
NOAEL: 300 mg/kg/day

Test Article: Edaravone
Study No.: [redacted]0427
Location in CTD: 4.2.3.2－1

GLP compliance: Yes
Special feature: None

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300		1000	
Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:										
Edaravone										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	1.040	2.253	10.00	13.68	69.44	79.08	319.6	470.2
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	1.281	3.588	17.37	23.05	56.25	50.16	77.63	107.8
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	1.0
Day 14										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	1.342	2.600	9.756	15.87	39.43	52.38	291.9	309.9
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	1.708	4.942	15.31	28.15	36.04	44.93	67.34	100.1
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

2.6.7.7.1　　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300		1000	
Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:										
Sulfate										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	37.07	45.58	122.1	136.0	321.1	379.8	394.8	428.0
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	42.94	51.22	58.91	59.66	66.51	73.01	67.36	61.90
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5	0.4	0.5	0.8
Day 14										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	36.68	36.27	135.3	122.8	349.0	420.2	320.9	586.2
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	38.46	45.94	45.17	51.11	62.71	74.56	40.24	69.05
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.8	0.4	0.6
Glucuronide										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	8.772	10.61	40.14	38.88	181.6	184.0	568.8	692.0
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	11.91	16.71	37.09	39.25	53.14	51.10	70.32	83.63
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	1.4	0.9
Day 14										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	7.958	8.090	33.55	34.40	117.0	140.1	674.5	827.1
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	9.750	13.25	21.88	26.15	33.04	48.29	79.28	88.84
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.6	0.5	0.5

2.6.7.7.1　　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300		1000	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings:										
Died or sacrificed in moribundity[a]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observation: [a]										
Lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Salivation	0	0	0	0	1[b]	0	7[b]	8[b]	10	8
Body weight (%)[c]	-	-	-	-	-	-	-	-	89**	94
Food consumption (%)[c]	-	-	-	-	-	-	-	-	81**	89**
Urinalysis: [d, e]										
Urine color, Reddish brown	0	0	0	0	0	0	2[f]	2[f]	6[f]	5[f]

Note: *: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test). -: No noteworthy findings.

[a] Number of animals affected.

[b] Not considered to be toxicologically significant because there were no histopathological changes in the salivary glands.

[c] For the test article-treated groups, percent of the control is shown.

[d] Examined on Day 8 to 9.

[e] N=6.

[f] Not considered to be toxicologically significant because it was considered to be attributable to excretion of unchanged edaravone or its metabolites.

2.6.7.7.1　　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300		1000	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Hematology: [a, b]										
Red blood cell count (10^6/μL)	6.932	7.061	7.004	7.034	6.895	7.201	7.040	6.968	6.326**	5.602**
Hemoglobin conc. (g/dL)	14.63	14.72	14.84	14.56	14.79	14.72	14.84	14.50	13.58**	11.90**
Hematocrit (%)	41.36	39.95	41.87	39.67	41.56	39.87	41.64	39.26	39.58*	34.79**
MCV (fL)	59.70	56.64	59.82	56.40	60.36	55.43	59.19	56.45	62.67*	62.26**
MCHC (g/dL)	35.38	36.84	35.45	36.72	35.59	36.93	35.64	36.93	34.32**	34.20**
Reticulocyte ratio (%)	6.611	3.666	6.367	3.358	6.171	3.396	5.911	3.772	10.618**	13.333**
Reticulocyte count (10^9/L)	456.85	257.07	444.77	237.02	424.09	243.51	415.51	260.64	669.67**	740.87**
RDW-SD (fL)	29.64	25.88	30.08	26.33	29.77	25.70	28.97	26.67	35.39**	34.09**
PT (sec)	11.10	8.05	12.09	7.93	12.48	8.23	15.01	7.99	27.70**	8.51* [c]
APTT (sec)	17.94	12.86	18.55	12.30	18.35	13.10	20.86* [c]	12.98	30.34**	14.57
Blood biochemistry: [a, b]										
Total bilirubin (mg/dL)	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.04	0.06	0.04	0.11*	0.11*
Urea nitrogen (mg/dL)	12.77	17.41	12.53	17.13	13.20	16.37	13.33	16.04	15.36*	19.84
Total cholesterol (mg/dL)	89.0	70.3	79.1	71.0	72.3	71.8	80.4	73.3	97.7	90.6*
Phospholipid (mg/dL)	127.6	120.6	115.3	123.5	111.3	125.7	120.4	125.9	160.2**	161.6**
Organ weight: [a, b]										
Thyroids (mg)	27.18	17.86	25.96	19.33	26.61	17.10	26.39	20.00	29.42	25.31**
Thyroids (10^{-3}%)	9.91	9.42	9.73	10.21	9.92	8.97	10.09	10.60	12.38*	14.17**
Spleen (g)	0.739	0.442	0.667	0.470	0.708	0.443	0.682	0.442	0.979**	0.744**
Spleen (%)	0.270	0.233	0.247	0.249	0.261	0.232	0.260	0.233	0.411**	0.417**

Note: *: $p<0.05$, **: $p<0.01$ (Dunnett's test).

[a] At the end of the dosing period.

[b] Group means are shown.

[c] Not considered to be test article-related because individual values were within the normal range of the historical control values.

2.6.7.7.1　　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300		1000	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Gross pathology: [a, b]										
Spleen, Enlargement	0	0	0	0	0	0	0	0	7	10
Histopathology: [a, b]										
Spleen, Congestion ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	8	6
Spleen, Increase, extramedullary hematopoiesis, erythrocytic... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
... mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Spleen, Pigment deposition, red pulp ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	5	6
... mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Stomach, Erosion, forestomach, focal ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	3	5
... mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Liver, Pigment deposition, sinusoidal cell ... minimal	0	0	NE	0	NE	0	0[c]	0	0	4
Submandibular gland, Hypertrophy, acinar cell, bilateral ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5
Thyroid gland, Hypertrophy, follicular cell, bilateral ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3

[a] Number of animals affected.

[b] At the end of the dosing period.

[c] N=1.

2.6.7.7.2　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験

Study title: A 26-week oral repeated dose toxicity study of edaravone in rats followed by a 5-week recovery period　　Test Article: Edaravone
Species/strain: Rat/SD　　Duration of dosing: 26 weeks　　Study No.: [redacted]0034
Initial age: 6 weeks　　Duration of postdose: 5 weeks　　Location in CTD: 4.2.3.2－2
Date of first dose: [redacted] (Male) and [redacted](Female), 20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage)　　GLP compliance: Yes
Vehicle/formulation: 1% w/v tragacanth gum aqueous solution　　Special feature: 5-Week Recovery
NOAEL: 75 mg/kg/day

Study period	**Dosing period**							
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250	
Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:								
Edaravone								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	0.5710	1.136	4.293	6.739	22.60	29.81
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	0.6215	1.722	8.685	12.58	23.06	35.23
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Day 182								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	2.241	2.223	10.67	12.59	71.60	119.2
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	4.141	3.475	15.62	19.74	45.70	70.59
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

2.6.7.7.2　　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Dosing period**							
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250	
Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:								
Sulfate								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	23.32	25.08	65.54	68.88	299.0	312.3
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	26.32	32.06	40.28	40.85	61.20	66.59
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4
Day 182								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	34.01	45.78	120.5	166.5	292.5	431.6
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	35.53	53.21	48.81	70.87	43.72	86.16
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.4	0.3	0.5	0.5
Glucuronide								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	7.166	6.113	24.37	20.51	101.5	106.8
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	9.053	8.908	28.48	22.77	37.60	52.95
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4
Day 182								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	11.66	8.054	36.45	33.94	184.4	217.3
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	16.77	9.924	24.19	25.09	39.46	76.97
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.4	0.3	0.6	0.8

2.6.7.7.2　　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Dosing period**							
Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250	
Number of Animals	M:18	F:18	M:12	F:12	M:12	F:12	M:18	F:18
Noteworthy Findings:								
Died or sacrificed in moribundity[a]	0[b]	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observation: [a] Salivation	0	0	0	0	3[c]	7[c]	18	18
Body weight (g)[d, e] Body weight (%)[f]	648.74	356.15	634.01 98	367.56 103	626.75 97	346.29 97	541.71** 84	320.23** 90
Food consumption (g)[d, e] Food consumption (%)[f]	28.58	21.89	30.12 105	21.27 97	29.65 104	19.65**, g 90	26.38** 92	19.96** 91

Note: **: p<0.01 (Dunnett's test).

[a] Number of animals affected.

[b] In the TK satellite group, 1 male in the control group was found dead on Day 156; however, a precise reason for death was unclear.

[c] Not considered to be toxicologically significant because it was extremely low in frequency and there were no histopathological changes in the salivary gland.

[d] At the end of the dosing period.

[e] Group means are shown.

[f] For the test article-treated groups, percent of the control is shown.

[g] Not considered to be toxicologically significant because it was a slight change and there were no statistical differences in their body weight.

2.6.7.7.2　　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Dosing period**							
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250	
Number of Animals	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
Water intake (g)[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmologic examination[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis: [a]								
Occult blood (1+)[c]	0	0	0	0	0	0	1	0
Urine sediment[c]								
Red blood cell (1+)	0	0	0	0	0	0	2	0
Urine color[c]								
Reddish brown	0	0	0	0	0	0	5[d]	2[d]
Na (mmol)[e]	1.828	1.319	1.940	1.560	1.815	1.383	1.122[**, f]	1.122
K (mmol)[e]	3.644	2.557	3.589	3.040	3.537	2.762	2.264[**, f]	2.174
Cl (mmol)[e]	2.605	1.854	2.696	2.334	2.675	2.125	1.878[**, f]	1.753

Note: **: p<0.01 (Dunnett's test). -: No noteworthy findings.

[a] Examined on Day 177 to 178.

[b] Examined on Day 176.

[c] Number of animals affected.

[d] Not considered to be toxicologically significant because it was considered to be attributable to excretion of unchanged edaravone or its metabolites.

[e] Group means are shown.

[f] Not considered to be toxicologically significant because they were slight changes and there were no statistical differences in serum electrolytes.

2.6.7.7.2　　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Dosing period**							
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250	
Number of Animals	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12
Hematology: [a, b]								
Red blood cell count (10^6/μL)	8.613	7.498	8.353	7.251	8.452	7.616	7.912**	6.772**
Hemoglobin conc. (g/dL)	15.58	14.74	15.03	14.27	15.33	14.72	14.99	13.68**
Hematocrit (%)	40.87	38.88	39.33	37.44	40.19	38.58	40.15	36.57**
MCV (fL)	47.52	51.88	47.11	51.72	47.59	50.66	50.80**	54.03*
MCH (pg)	18.11	19.66	18.02	19.71	18.13	19.33	18.97**	20.19
MCHC (g/dL)	38.12	37.93	38.24	38.11	38.13	38.14	37.33**	37.39*
Reticulocyte ratio (%)	2.613	2.503	2.842	2.494	2.744	2.598	3.775**	3.744**
Reticulocyte count (10^9/L)	224.93	187.44	237.06	180.21	231.09	197.92	297.08**	254.29**
Blood chemistry[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weight[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology: [a, c]								
Spleen Increase, extramedullary hematopoiesis, erythrocytic ... minimal	0	0	0	0	0	0	1	2
Submandibular gland Hypertrophy, acinar cell ... minimal	0	0	0	0	0	0	1	2
Kidney Necrosis, papilla　... minimal	0	0	0	NE	0	NE	1	0

Note: *: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test). -: No noteworthy findings.

[a] At the end of the dosing period.

[b] Group means are shown.

[c] Number of animals affected.

2.6.7.7.2　　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Recovery period**							
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250	
Number of Animals	M:6	F:6	M:0	F:0	M:0	F:0	M:6	F:6
Died or sacrificed in moribundity[a]	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
Clinical observation	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Body weight (g)[b, c]	685.36	382.19	NA	NA	NA	NA	614.01[#]	342.04
Body weight (%)[d]			NA	NA	NA	NA	90	89
Cumulative body weight gain (g)[b, c]	490.31	210.28	NA	NA	NA	NA	424.42[#]	172.12
Cumulative body weight gain (%)[d]			NA	NA	NA	NA	87	82
Food consumption (g)[b, c]	28.16	20.98	NA	NA	NA	NA	28.01	19.69[#]
Food consumption (%)[d]			NA	NA	NA	NA	99	94
Water intake (g)[e]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Ophthalmologic examination[f]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Urinalysis[e]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Hematology[b]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Blood chemistry[b]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Organ weight[b]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

Note: #: $p<0.05$ (Student's t-test). -: No noteworthy findings.

[a] Number of animals affected.

[b] At the end of the recovery period.

[c] Group means are shown.

[d] For the test article-treated group, percent of the control is shown.

[e] Examined on Day 212 to 213.

[f] Examined on Day 213 (males) or Day 211 (females).

2.6.7.7.2　　ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Recovery period**							
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250	
Number of Animals	M:6	F:6	M:0	F:0	M:0	F:0	M:6	F:6
Gross pathology [a]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Histopathology: [a, b]								
Spleen Increase, extramedullary hematopoiesis, erythrocytic	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
Submandibular gland Hypertrophy, acinar cell	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
Kidney Necrosis, papilla	0	NE	NA	NA	NA	NA	0	NE

Note: -: No noteworthy findings.

[a] At the end of the recovery period.

[b] Number of animals affected.

2.6.7.7.3　ラット 28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験

Study title: A 28-day intravenous infusion toxicity study of MCI-186 in the albino rat with a 14-day recovery period　Test Article: Edaravone
Species/strain: Rat/SD　Duration of dosing: 28 days　Study No.: [redacted]39
Initial age: 10 weeks　Duration of postdose: 14 days　Location in CTD: 4.2.3.2－3
Date of first dose: [redacted], 20[redacted]　Method of administration: 24-hour continuous IV infusion　GLP compliance: Yes
Vehicle/formulation: Saline, 1N-NaOH, 0.5N-HCl, water for injection　Special feature: 14-Day Recovery
NOAEL: 100 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		50		100		300		1000	
Number of animals	M: 14	F: 14	M: 14	F: 14	M: 14	F: 14	M: 14	F: 15	M: 15	F: 14
Toxicokinetics: C_{ss} (μg/mL)			0.73	0.54	1.28	1.29	3.80	4.43	13.59	16.23
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)			16.87	12.52	29.14	29.46	83.86	102.75	315.11	387.33
Noteworthy findings:										
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	1 [a]	1 [a]	0
Clinical observations	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Body weight (%[b])	–	–	–	–	–	–	–	94.2*	88.2$^{\#\#\#}$	91.2***
Food consumption (%[b])	–	–	–	–	–	–	–	88.0**	87.5**	92.0**
Ophthalmology	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Urinalysis	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Note: Significantly different from control group value by Dunnett's method, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001. Significantly different from control group value by Dunn method, ### p<0.001. – = no noteworthy findings; + = present.

[a] The death was determined to have been caused by the surgical procedure.

[b] Week 4.

2.6.7.7.3　　ラット 28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		50		100		300		1000	
Number of animals	M: 14	F: 14	M: 14	F: 14	M: 14	F: 14	M: 14	F: 15	M: 15	F: 14
Hematology:										
Red blood cell ($\times 10^6/\mu L$)	8.44	8.09	8.42	8.13	8.32	8.29	8.60	8.13	7.13***	6.61***
Hematocrit (%)	45.1	45.2	46.3	45.1	45.6	46.1	47.3	44.7	44.3	39.8***
Hemoglobin (g/dL)	14.9	15.1	15.3	15.0	15.0	15.2	15.6*	15.0	14.2*	12.9***
MCV (fL)	53.4	56.0	55.0	55.6	54.8	55.7	55.0	54.9	62.1###	60.4#
MCH (pg)	17.7	18.7	18.2	18.4	18.0	18.4	18.1	18.5	20.0***	19.6
MCHC (g/dL)	33.1	33.4	33.1	33.2	33.0	33.1	33.0	33.6	32.2**	32.5***
RDW (%)	12.4	11.9	12.5	11.8	12.8	12.1	12.3	11.6	13.5***	12.8**
Reticulocytes (%)	2.21	2.44	2.44	2.34	2.22	2.51	2.19	2.03	5.28***	5.74###
Blood biochemistry:										
BUN (mg/dL)	19.2	20.9	19.0	20.3	21.6	20.3	20.4	19.4	24.8	25.8**
Cholesterol (mg/dL)	54.6	63.7	56.6	57.9	54.7	62.0	56.1	64.1	77.2***	77.4*
Phospholipid (mg/dL)	86.5	116	90.9	110	87.9	116	86.6	121	112###	131
Organ weight:										
Thyroid gland (g)	0.023	0.021	0.023	0.019	0.024	0.021	0.025	0.020	0.037***	0.027***
Spleen (g)	0.824	0.550	0.767	0.601	0.839	0.583	0.750	0.524	0.973	0.771**
Gross pathology:										
Thyroid gland, enlargement	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

Note: Significantly different from control group value by Dunnett's method, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. Significantly different from control group value by Dunn method, # $p<0.05$, ### $p<0.001$.

2.6.7.7.3　　ラット 28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		50		100		300		1000	
Number of animals	M: 14	F: 14	M: 14	F: 14	M: 14	F: 14	M: 14	F: 15	M: 15	F: 14
Histopathology:										
Thyroid, follicular cell hypertrophy/hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	14	13
Spleen, increased extramedullary hematopoiesis	1	0	3	1	4	1	2	2	15	13
pigment deposits	0	1	0	0	1	1	0	0	13	13
Bone marrow, increased hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Liver, extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
pigment deposits	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Postdose evaluation:										
Number of animals	M: 7	F: 7	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 7	F: 6	M: 6	F: 7
Hematology:										
Red blood cell ($\times 10^6/\mu L$)	8.45	8.21	NT	NT	NT	NT	8.27	7.95	7.87**	7.60**
MCV (fL)	54.2	54.5	NT	NT	NT	NT	53.8	56.5*	58.9***	59.9***
MCH (pg)	17.9	18.1	NT	NT	NT	NT	17.6	18.8	18.8**	19.5##
Histopathology:										
Spleen, increased extramedullary hematopoiesis	1	1	NT	NT	NT	NT	6	0	3	1
pigment deposits	0	5	NT	NT	NT	NT	0	3	6	7
Liver, pigment deposits	0	0	NT	NT	NT	NT	0	0	1	3

Note: Significantly different from control group value by Dunnett's method, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. Significantly different from control group value by Dunn method, ## $p<0.01$.

2.6.7.7.4　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験

Study title: A 2-week oral repeated dose toxicity study of MCI-186 in dogs
Species/strain: Dog/Beagle　　Duration of dosing: 2 weeks
Initial age: 6 to 7 months　　Duration of postdose: None
Date of first dose [redacted] (Male) and [redacted] (Female), 20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage)
Vehicle/formulation: 1% w/v tragacanth gum aqueous solution
NOAEL: 100 mg/kg/day for males and 30 mg/kg/day for females

Test Article: Edaravone
Study No.: [redacted]0428
Location in CTD: 4.2.3.2－4

GLP compliance: Yes
Special feature: None

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics:										
Edaravone										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	0.5967	0.7190	2.882	2.848	20.52	17.45	112.3	182.2
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	0.4217	0.5639	3.928	3.718	20.57	13.91	56.14	97.74
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.6	0.8	0.8
Day 14										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	0.7239	0.8713	3.546	3.609	20.67	23.27	117.6	126.6
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	0.3923	0.4568	3.170	3.722	17.66	20.20	67.12	68.73
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.8	0.5
Sulfate										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	59.62	87.59	157.6	187.7	528.8	667.7	1083	916.7
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	29.17	37.88	56.02	66.01	95.18	118.6	136.1	118.4
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.3	0.5	0.4	0.8	0.8	1.7	1.0
Day 14										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	53.38	78.08	161.4	170.9	387.9	441.6	739.2	639.4
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	26.90	32.94	60.60	66.90	66.59	85.25	90.27	69.61
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.3	0.5	0.5	0.8	0.8	1.0	1.7

2.6.7.7.4　　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics: Glucuronide Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	24.39	21.58	114.7	105.2	487.2	417.0	1277	1298
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	11.18	10.54	49.00	46.96	142.7	140.9	287.1	285.1
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.5	0.7	0.6	1.0	1.0	2.3	1.7
Day 14										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	23.42	17.59	109.4	98.13	455.5	438.5	1395	1566
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	10.20	7.790	50.99	44.59	158.6	174.1	296.5	368.7
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.4	0.5	0.5	1.0	1.0	1.7	1.7
Noteworthy Findings:										
Died or sacrificed in moribundity[a]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patella reflex	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis: [a, b]										
Bilirubin, 2+	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Color, Reddish brown	0	0	0	0	0	0	3[c]	2[c]	3[c]	3[c]

Note: -: No noteworthy findings.

[a] Number of animals affected.

[b] Examined on Day 8 to 9.

[c] Not considered to be toxicologically significant because it was considered to be attributable to excretion of unchanged edaravone or its metabolites.

2.6.7.7.4　　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Hematology: [a, b]										
Red blood cell count (10^6/μL)	6.647	7.130	6.760	6.783	6.560	6.717	6.013	6.180 (5.37)[c]	4.463 (3.75, 4.48, 5.16)[c]	5.420 (4.66, 5.49, 6.11)[c]
Hemoglobin conc. (g/dL)	14.73	16.57	15.80	15.53	15.27	16.10	13.77	13.97 (12.0)[c]	10.87 (9.1, 10.6, 12.9)[c]	12.83 (11.1, 13.3, 14.1)[c]
Hematocrit (%)	40.87	46.83	44.03	43.83	43.30	46.03	39.33	40.57 (35.5)[c]	33.93 (30.0, 32.6)[c]	39.30 (34.3, 40.6)[c]
MCV (fL)	61.53	65.70	65.27	64.87	66.00	68.47	65.40	65.70	76.27 (72.8, 76.0, 80.0)[c]	72.67 (70.4, 73.6, 74.0)[c]
MCHC (g/dL)	36.03	35.40	35.87	35.40	35.23	35.00	35.03	34.37	31.90 (30.3, 32.5, 32.9)[c]	32.67 (32.4, 32.8, 32.8)[c]

[a] Examined on Day 13.

[b] Group means are shown.

[c] Individual value considered to be toxicologically significant.

2.6.7.7.4　　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Reticulocyte ratio (%)	0.767	1.170	0.600	0.720	0.700	1.110	1.243	1.213	4.890 (2.41, 3.71, 8.55)[a]	3.270 (1.85, 2.94, 5.02)[a]
Reticulocyte count (10^9/L)	50.93	83.53	41.67	48.40	46.13	75.47	74.27	73.93	206.67 (108.0, 191.4, 320.6)[a]	175.20 (113.0, 137.0, 275.6)[a]
RDW-SD (fL)	32.77	35.87	35.17	35.27	35.40	36.43	33.53	33.30	38.83 (43.6)[a]	38.27
Anisocytosis[b]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Blood biochemistry: [c, d]										
LDH (U/L)	58.3	50.0	94.7	56.0	57.0	50.0	55.7	41.7	124.7 (118, 127, 129)[a]	61.0
Total bilirubin (mg/dL)	0.00	0.07	0.00	0.10	0.03	0.10	0.10	0.10	0.20 (0.2, 0.2, 0.2)[a]	0.20 (0.2, 0.3)[a]

[a] Individual value considered to be toxicologically significant.

[b] Number of animals affected.

[c] Examined on Day 13.

[d] Group means are shown.

2.6.7.7.4　　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Organ weight:[a, b]										
Spleen (g)	15.22	19.11	18.81	17.25	20.55	22.45	19.13	20.96	48.23 (46.1, 73.6)[c]	40.27 (30.6, 69.9)[c]
Spleen (%)	0.1968	0.2465	0.2427	0.2348	0.2549	0.3032	0.2437	0.2818	0.6061 (0.574, 0.890)[c]	0.5154 (0.405, 0.857)[c]
Gross pathology: [b, d]										
Spleen, Enlargement	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Histopathology: [b, d]										
Spleen, Congestion ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
... mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
... moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen, Extramedullary hematopoiesis, erythrocytic ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
... mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Bone marrow (femur), Increase, hematopoietic cell ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Bone marrow (sternum), Increase, hematopoietic cell ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
Liver, Pigment deposition, sinusoidal cell ... minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2

[a] Group means are shown.

[b] At the end of the dosing period.

[c] Individual value considered to be toxicologically significant.

[d] Number of animals affected.

2.6.7.7.5　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験

Study title: A 39-week oral repeated dose toxicity study of edaravone in dogs followed by a 5-week recovery period　　Test Article: Edaravone

Species/strain: Dog/Beagle　　Duration of dosing: 39 weeks　　Study No.: [redacted]1033

Initial age: 6 to 7 months　　Duration of postdose: 5 weeks　　Location in CTD: 4.2.3.2－5

Date of first dose: [redacted] (Male) and [redacted] (Female), 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)　　GLP compliance: Yes

Vehicle/formulation: 1% w/v tragacanth gum aqueous solution　　Special feature: 5-Week Recovery

NOAEL: 30 mg/kg/day

Study period	**Dosing period**									
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:5	F:6	M:5	F:4
Toxicokinetics: Edaravone										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	0.5249	0.5047	2.745	2.933	20.29[a]	31.80[a]	160.6[b]	175.1[b]
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	0.3779	0.3147	4.133	4.496	16.75[a]	34.14[a]	92.14[b]	105.3[b]
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5[a]	0.4[a]	0.8[b]	0.8[b]
Day 20[c] or 22[d]										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	0.6721	0.6616	2.941	2.662	16.76[a]	21.21[a]	110.5	117.7[e]
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	0.3234	0.2488	4.015	2.700	15.59[a]	18.56[a]	62.05	80.84[e]
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4[a]	0.6[a]	0.7	0.8[e]
Day 91										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	0.6617	0.6167	3.348	2.946	17.27[f]	NA	NA	NA
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	0.4491	0.3177	4.736	3.120	21.82[f]	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.25[f]	NA	NA	NA

[a] N=4.
[b] N=6.
[c] Female.
[d] Male.
[e] N=2.
[f] N=1.

2.6.7.7.5　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Dosing period**									
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:5	F:6	M:5	F:4
Toxicokinetics:										
Edaravone										
Day 182										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	0.7144	0.8031	3.695	3.392	25.88[a]	NA	NA	NA
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	0.3747	0.2915	4.254	3.562	26.98[a]	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.4	0.3	0.3	0.5[a]	NA	NA	NA
Day 273										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	0.6260	0.6177	3.578	3.719	31.45[a]	NA	NA	NA
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	0.5088	0.3110	3.722	2.521	36.77[a]	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.6	0.25[a]	NA	NA	NA
Sulfate										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	74.62	72.47	165.2	156.7	409.3[b]	380.4[b]	598.7[c]	745.9[c]
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	27.06	28.72	43.90	44.49	82.01[b]	72.03[b]	85.55[c]	100.9[c]
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.4	0.6	0.8	0.9[b]	0.9[b]	1.0[c]	1.0[c]
Day 20[d] or 22[e]										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	99.88	93.95	181.2	166.5	398.6[b]	445.5[b]	652.8	749.2[f]
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	39.64	37.69	50.05	44.63	76.08[b]	85.80[b]	79.22	91.78[f]
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.4	0.5	0.6	0.9[b]	1.0[b]	1.0	1.0[f]

[a] N=1.
[b] N=4.
[c] N=6.
[d] Female.
[e] Male.
[f] N=2.

2.6.7.7.5　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Dosing period**									
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:5	F:6	M:5	F:4
Toxicokinetics:										
Sulfate										
Day 91										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	79.43	81.84	167.5	167.4	368.5[a]	NA	NA	NA
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	32.83	34.62	54.90	54.43	77.39[a]	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5[a]	NA	NA	NA
Day 182										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	71.70	84.81	151.0	149.9	306.0[a]	NA	NA	NA
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	30.83	34.36	47.99	47.23	79.50[a]	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.6	0.5	0.6	0.5[a]	NA	NA	NA
Day 273										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	67.00	79.74	140.8	161.3	239.0[a]	NA	NA	NA
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	33.46	34.58	44.01	46.91	57.48[a]	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.4	0.6	0.6	0.5[a]	NA	NA	NA
Glucuronide										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	29.29	22.35	98.05	98.01	404.8[b]	341.1[b]	1272[c]	1321[c]
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	10.80	9.744	40.34	44.28	136.6[b]	121.3[b]	286.6[c]	276.9[c]
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.4	0.5	0.5	1.0[b]	1.0[b]	2.0[c]	2.7[c]

[a] N=1.
[b] N=4.
[c] N=6.

2.6.7.7.5　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Dosing period**									
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:5	F:6	M:5	F:4
Toxicokinetics: Glucuronide Day 20[a] or 22[b]										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	29.87	27.86	114.6	106.8	465.2[c]	423.1[c]	1266	1158[d]
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	11.47	10.81	44.54	43.96	148.9[c]	164.3[c]	278.2	296.7[d]
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.4	0.5	0.6	1.0[c]	1.0[c]	1.8	1.0[d]
Day 91										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	25.73	24.20	94.86	91.60	334.1[e]	NA	NA	NA
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	10.23	10.51	41.10	41.11	119.4[e]	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.4	0.5	0.4	1[e]	NA	NA	NA
Day 182										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	27.59	26.36	119.0	128.6	488.4[e]	NA	NA	NA
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	11.87	98.68	54.80	58.96	157.7[e]	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	NA	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5[e]	NA	NA	NA
Day 273										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	29.65	26.56	101.0	104.1	405.1[e]	NA	NA	NA
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	13.38	11.12	40.47	43.07	152.5[e]	NA	NA	NA
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.4	0.8	0.8	0.5[e]	NA	NA	NA

[a] Female.
[b] Male.
[c] N=4.
[d] N=2.
[e] N=1.

2.6.7.7.5　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**Dosing period**									
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		100		300	
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:5	F:6	M:5	F:4
Noteworthy Findings:										
Died or sacrificed in moribundity[a]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observation: [a]										
Ananastasia	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Abnormal gait[b]	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
Flush	0	0	0	0	0	0	2[c, d]	1[c, d]	1[d]	1[d]
Patella reflex: [a]										
No response[b]	0	0	0	0	0	0	4	6	4	1
Body weight[e]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Food consumption[e]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:4	M:4	F:4	M:1	F:0	M:0	F:0
Electrocardiography[f]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Ophthalmological examination[g]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Urinalysis[h]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Hematology[g]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Blood chemistry[g]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Organ weight[e]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Gross pathology[e]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Histopathology[e]	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA	NA

Note: -: No noteworthy findings.

[a] Number of animals affected.

[b] These findings resolved after discontinuation of administration for 3 weeks or more except for the animals euthanized for humane reasons.

[c] In 1 male and 1 female, the finding was observed at 300 mg/kg/day.

[d] Not considered to be toxicologically significant because it was a transient change at the beginning of dosing and there were no other changes directly related to this change.

[e] At the end of the dosing period.

[f] Examined on Days 83, 174, and 265 (male) and Days 79, 170, and 261 (female).

[g] Examined on Days 90, 181, and 272.

[h] Examined on Days 78 to 79, 169 to 170, and 260 to 261 (male) and Days 86 to 87, 177 to 178, and 268 to 269 (female).

2.6.7.7.5　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**After discontinuation of administration[a]**			
Dose Level (mg/kg/day)	100		300	
Number of Animals	M:4	F:6	M:5	F:4
Died or sacrificed in moribundity[b]	0	0	0	0
Euthanized for humane reasons[b]	0	0	2[c]	0
Clinical observation: [b]				
Ananastasia[d]	0	0	3	0
Abnormal gait[d]	1	0	2	4
Purpura, forelimb	0	0	1[e]	0
Excoriation, forelimb	0	0	2[e]	0
Patella reflex: [b]				
No response[d]	4	6	5	4
Body weight (kg)	-	-	-[e, f]	-
Food consumption (g)	-	-	-[e, g]	-

Note: Administration was discontinued because abnormal gait, ananastasia, and/or loss of patella reflex suspected to be test article related were noted. These animals except 2 males were sacrificed after recovery from all these findings. -: No noteworthy findings.

[a] In 4 males and 6 females at 100 mg/kg/day and 5 males and 4 females at 300 mg/kg/day, administration was discontinued because abnormal gait, ananastasia, and/or loss of patella reflex were noted.

[b] Number of animals affected.

[c] Euthanized for humane reasons on Day 54 because excoriation and/or purpura at the elbow joint of the forelimb were observed from Day 48 in addition to continuous ananastasia from Day 22 or 23.

[d] These findings resolved after discontinuation of administration for 3 weeks or more except for the animals euthanized for humane reasons.

[e] Considered secondary to continuous ananastasia.

[f] In 1 male (No. 10503) euthanized for humane reasons, a slight decrease in body weight (−6.9% to −8.0% compared to the individual value on Day 1) was noted on Days 43 and 50.

[g] In 1 male (No. 10503) euthanized for humane reasons, slightly low food consumption was noted between Days 25 and 48.

2.6.7.7.5　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period	**After discontinuation of administration[a]**			
Dose Level (mg/kg/day)	100		300	
Number of Animals	M:4	F:6	M:3	F:4
Electrocardiography[b]	-	-	-	-
Ophthalmologic examination[c]	-	-	-	-
Urinalysis[d]	-	-	-	-
Hematology: [e]				
Red blood cell count (10^6/μL)	6.993	5.868[f, g]	6.780	6.448
Hemoglobin conc. (g/dL)	16.40	13.90[f, g]	16.00	14.93
Hematocrit (%)	44.10	37.97[f, g]	42.40	40.48
Blood chemistry[e]	-	-	-	-
Organ weight[h]	-	-	-	-

Note: Administration was discontinued because abnormal gait, ananastasia, and/or loss of patella reflex suspected to be test article related were noted. These animals except 2 males were sacrificed after recovery from all these findings. -: No noteworthy findings.

[a] In 4 males and 6 females at 100 mg/kg/day and 5 males and 4 females at 300 mg/kg/day, administration was discontinued because abnormal gait, ananastasia, and/or loss of patella reflex were noted.

[b] Examined on Day 83 (male) and Day 79 (female).

[c] Examined on Day 90.

[d] Examined on Day 78 to 79 (male) and Day 86 to 87 (female).

[e] Examined on Day 90 and day of sacrifice.

[f] Low values of red blood cell count (4.91×10^6/μL), hemoglobin concentration (11.3 g/dL), and hematocrit (31.2%) were noted in 1 female on Day 90.

[g] These changes resolved after an additional 4 weeks of discontinuation.

[h] Day of sacrifice.

2.6.7.7.5　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Study period		**After discontinuation of administration**[a]			
Dose Level (mg/kg/day)		100		300	
Number of Animals		M:4	F:6	M:3	F:4
Gross pathology[b]		-	-	-	-
Histopathology: [b, c]					
Spinal cord					
Vacuolation, white matter, dorsal funicle	... minimal	1	1	2	3
Sciatic nerve					
Vacuolation	... minimal	4	6	3	4
Atrophy, nerve fiber	... minimal	1	5	2	4
Testis					
Hypospermatogenesis	... minimal	2	NA	1	NA
	... mild	0		1	

Note: Administration was discontinued because abnormal gait, ananastasia, and/or loss of patella reflex suspected to be test article related were noted. These animals except 2 males were sacrificed after recovery from all these findings. -: No noteworthy findings.

[a] In 4 males and 6 females at 100 mg/kg/day and 5 males and 4 females at 300 mg/kg/day, administration was discontinued because abnormal gait, ananastasia, and/or loss of patella reflex were noted.

[b] Day of sacrifice.

[c] Number of animals affected.

2.6.7.7.5　　イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験及び 5 週間回復性試験（続き）

Findings of animals euthanized for humane reasons:			
Dose Level (mg/kg/day)		300	
Number of Animals		M:2	F:0
Hematology[a]		-	NA
Blood chemistry[a]		-	NA
Organ weight[a]		-	NA
Gross pathology: [a, b]			
Skin			
Loss of fur, focal		2[c]	NA
Histopathology: [a, b]			
Spinal cord			
Vacuolation, white matter, dorsal funicle	... minimal	2	NA
Sciatic nerve			
Vacuolation	... moderate	2	NA
Atrophy, nerve fiber	... minimal	2	NA
Femoral muscle			
Atrophy, muscle fiber	... mild	2	NA
Skin			
Thickening, epidermis	... mild	2[c]	NA
Infiltrate, inflammatory cell, perifollicle	... mild	1[c]	NA
Liver			
Pigment deposition, Kupffer cell	... minimal	2	NA

Note: -: No noteworthy findings.

[a] Day of sacrifice.

[b] Number of animals affected.

[c] Considered secondary to continuous ananastasia.

2.6.7.7.6　イヌ 28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験

Study title: A 28-day intravenous infusion toxicity study of MCI-186 in the beagle dog with a 14-day recovery period　　Test Article: Edaravone
Species/strain: Dog/Beagle　　Duration of dosing: 28 days　　Study No.: [redacted]62
Initial age: 6 months　　Duration of postdose: 14 days　　Location in CTD: 4.2.3.2－6
Date of first dose: [redacted], 20[redacted]　　Method of administration: 24-hour continuous IV infusion　　GLP compliance: Yes
Vehicle/formulation: Saline, 1N-NaOH, 0.5N-HCl, water for injection　　Special feature:[a] 14-Day Recovery
NOAEL: 30 mg/kg/day

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		30		60		120		200	
Number of animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 5	F: 4	M: 6	F: 6
Toxicokinetics: C_{ss} (μg/mL)			0.13	0.13	0.28	0.31	0.62	0.82	1.67	1.61
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)			3.46	3.72	7.19	7.92	15.24	20.72	40.45	39.64
Noteworthy findings:										
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	1	0	4	2
Clinical observations:										
Limited use of limbs	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
Abnormal gait	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
Dehydration	–	–	–	–	–	–	+	–	+	+
Lying on side	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
Thin	–	–	–	–	–	–	–	+	–	+
Decreased body temperature	–	–	–	–	–	–	–	+	–	+
Redness of the eyes	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–
Body weight (%[b])	–	–	–	–	–	–	94.5	95.6	94.5	84.7**
Food consumption [b]	–	–	–	–	–	–	↓	↓	↓	↓

Note: Significantly different from control group value by Dunnett's method, ** $p<0.01$. – = no noteworthy findings; + = present.
[a] Samples from liver and kidney were collected from all animals (main study and recovery) for possible evaluation by electron microscopy. This evaluation was not conducted based on the study results.
[b] Week 4.

2.6.7.7.6　　イヌ 28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		30		60		120		200	
Number of animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 5	F: 4	M: 6	F: 6
Urinalysis	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ophthalmology	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Electrocardiography	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology:										
Red blood cell ($\times 10^6/\mu L$)	6.065	6.478	6.128	6.813	6.133	6.483	6.158	6.743	7.000*	7.067
Hematocrit (%)	39.00	40.90	38.90	42.45	38.78	41.38	38.48	42.63	43.40	45.53
Hemoglobin (g/dL)	13.02	13.72	13.00	14.15	13.10	13.88	13.02	14.35	14.73	15.17
Blood biochemistry:										
Total protein (g/dL)	5.35	5.47	5.70	5.65	5.60	5.78	5.84	5.98##	6.07**	5.87#
ALB (g/dL)	3.20	3.30	3.38	3.43	3.20	3.35	3.06	3.50	3.60*	3.45
GLO (g/dL)	2.15	2.17	2.33	2.23	2.40	2.43	2.78##	2.48	2.47##	2.42
T-BIL (mg/dL)	0.100	0.100	0.113	0.098	0.103	0.180	0.103	0.147	0.155	0.167
Cholesterol (mg/dL)	177.2	154.0	157.5	172.3	163.0	191.5	180.8	186.2	218.5	226.0
Phospholipid (mg/dL)	370.5	335.3	336.3	374.5	332.3	400.3	363.0	379.7	420.8	424.3
Organ weight:										
Thyroid gland (g)	0.574	0.525	0.719	0.525	0.663	0.547	0.781	0.611	0.885	0.892**
Thymus (g)	8.082	6.859	6.062	7.464	5.883	6.415	5.366	6.555	4.431	3.315
Gross pathology:										
Thyroid gland, darkening	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

Note: Significantly different from control group value by Dunnett's method, * $p<0.05$, ** $p<0.01$. Significantly different from control group value by Dunn method, # $p<0.05$, ## $p<0.01$.
– = no noteworthy findings.

2.6.7.7.6　　イヌ 28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		30		60		120		200	
Number of animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4[a]	F: 4	M: 6	F: 6
Histopathology:										
Brain, Vestibulocochlear nerve, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Skeletal muscle, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	1	3	2	6	5
myofiber atrophy of muscle fiber	0	0	0	0	0	0	1	1	2	6
Sciatic nerve, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	1	1	4	4	6	6
inflammation	0	0	0	0	1	1	3	4	4	6
angionecrosis	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Cervical spinal cord, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	1	0	1	4
Thoracic spinal cord, nerve fiber degeneration [b]	0	0	0	0	0	0	0	1	4	6
Lumbar spinal cord, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	1	1	3	4	6	6
Skin, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	4	3	6	5
Thyroid gland, follicular cell hypertrophy/hyperplasia	0	0	0	0	1	0	3	1	6	5
Thymus, lymphoid atrophy [c]	1	0	1	0	2	0	2	2	4	6

[a] Only the thyroid findings were included for 1 male animal from 120 mg/kg/day which was euthanized on Day 10.

[b] Slight, localized degeneration of nerve fibers in the cervical part of the spinal cord (excluding the dorsal funiculus) was observed as a spontaneous change in all treatment groups, including the control group, and therefore was not included in the number of occurrences.

[c] Lymphoid atrophy of the thymus is not a rare observation under the normal rearing conditions. It was determined to be secondary changes caused by stress from 24-hour continuous infusion or from neural symptoms.

2.6.7.7.6　　イヌ 28 日間反復持続静注毒性試験及び 14 日間回復性試験（続き）

Postdose evaluation:										
Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		30		60		120		200	
Number of animals	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 1	F: 2	M: 0	F: 0
Histopathology:										
Brain: Vestibulocochlear nerve, nerve fiber degeneration	0	0	NT	NT	NT	NT	0	0	NT	NT
Skeletal muscle, nerve fiber degeneration	0	0	NT	NT	NT	NT	1	1	NT	NT
myofiber atrophy of muscle fiber	0	0	NT	NT	NT	NT	0	2	NT	NT
Sciatic nerve, nerve fiber degeneration	0	0	NT	NT	NT	NT	1	2	NT	NT
inflammation	0	0	NT	NT	NT	NT	1	2	NT	NT
angionecrosis	0	0	NT	NT	NT	NT	0	0	NT	NT
Cervical spinal cord, nerve fiber degeneration	0	0	NT	NT	NT	NT	0	0	NT	NT
Thoracic spinal cord, nerve fiber degeneration [a]	0	0	NT	NT	NT	NT	0	2	NT	NT
Lumbar spinal cord, nerve fiber degeneration	0	0	NT	NT	NT	NT	0	2	NT	NT
Skin, nerve fiber degeneration	0	0	NT	NT	NT	NT	1	1	NT	NT
Thyroid gland, follicular cell hypertrophy/hyperplasia	0	0	NT	NT	NT	NT	0	0	NT	NT
Thymus, lymphoid atrophy [b]	0	0	NT	NT	NT	NT	1	0	NT	NT

[a] Slight, localized degeneration of nerve fibers in the cervical part of the spinal cord (excluding the dorsal funiculus) was observed as a spontaneous change in all treatment groups, including the control group, and therefore was not included in the number of occurrences.

[b] Lymphoid atrophy of the thymus is not a rare observation under the normal rearing conditions. It was determined to be secondary changes caused by stress from 24-hour continuous

infusion or from neural symptoms.

2.6.7.7.7　サル 28 日間反復持続静注毒性試験

Study title: A 28-day intravenous infusion toxicity study of MCI-186 in the cynomolgus monkey
Species/strain: Monkey/Cynomolgus　　Duration of dosing: 28 days
Initial age: 22 to 26 months　　Duration of postdose: None
Date of first dose: [redacted], 20[redacted]　　Method of administration: 24-hour continuous IV infusion
Vehicle/formulation: Saline, 1N-NaOH, 0.5N-HCl, water for injection
NOAEL: 100 mg/kg/day

Test Article: Edaravone
Study No.: [redacted]95
Location in CTD: 4.2.3.2－7
GLP compliance: Yes
Special feature: None

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		20		100		1000	
Number of animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Toxicokinetics:[a]								
Edaravone								
C_{max} (μg/mL)			0.274	0.459	1.85	1.93	33.4	35.5
C_{ss}[b] (μg/mL)			NR	NR	NR	NR	NR	NR
$AUC_{0\text{-}24h}$[c] (μg·h/mL)			4.39	6.55	32.5	35.6	492	558
Sulfate								
C_{max} (μg/mL)			2.56	3.29	14.3	9.95	43.8	37.4
C_{ss}[b] (μg/mL)			2.17	2.40	10.8	8.16	30.8	24.3
$AUC_{0\text{-}24h}$[c] (μg·h/mL)			52.1	57.5	265	198	706	657
Glucuronide								
C_{max} (μg/mL)			3.04	4.02	13.3	11.2	78.2	75.9
C_{ss}[b] (μg/mL)			NR	NR	8.27	6.96	NR	NR
$AUC_{0\text{-}24h}$[c] (μg·h/mL)			40.8	51.5	193	164	1165	1068

[a] The toxicokinetics for edaravone in plasma are provided in this table. Concentrations of edaravone and the sulfate and glucuronide in CSF are presented in 2.6.7.3.5 and 2.6.7.3.6.
[b] $C_{ss:}$ mean of steady state values per animal.
[c] These values were calculated by $AUC_{0\text{-}tlast}$/28 days to approximate the AUC in a 24h period.

2.6.7.7.7　　サル 28 日間反復持続静注毒性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		20		100		1000	
Number of animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Noteworthy findings:								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	1	1
Clinical observations:								
Reduced activity	–	–	–	–	–	–	+	+
Limited use of limbs	–	–	–	–	–	–	+	+
Reduced muscle tone	–	–	–	–	–	–	+	+
Body weight	–	–	–	–	–	–	–	–
Food consumption	–	–	–	–	–	–	–	–
Urinalysis	–	–	–	–	–	–	–	–
Ophthalmology	–	–	–	–	–	–	–	–
Electrocardiography	–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology								
PT (sec)	10.63	10.38	10.50	10.75	10.58	10.95	11.48*	15.28##
Blood biochemistry	–	–	–	–	–	–	–	–
Organ weight	–	–	–	–	–	–	–	–
Gross pathology	–	–	–	–	–	–	–	–

Note: – = no noteworthy findings; + = present. Significantly different from control group value by Dunnett's method, * $p<0.05$. Significantly different from control group value by Dunn method, ## $p<0.01$.

2.6.7.7.7　　サル 28 日間反復持続静注毒性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		20		100		1000	
Number of animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Histopathology:								
Brain, Spinocerebellar tract, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	1	0
Brain, Fasciculus gracilis, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	3	2
Brain, Fasciculus cutaneatus, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	1	2
Brain, Midbrain, gliosis	0	0	0	0	0	0	0	1
Cervical dorsal root, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	0	1
Cervical dorsal root ganglion, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	2	1
Lumbar dorsal root, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	3	2
Lumbar dorsal root ganglion, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	1	2
Lumbar ventral root, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	0	2
Muscle skeletal adductor, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	0	1
Intercostal nerve, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	3	3
Phrenic nerve, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	2	3
Radial nerve, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	3	4
Sciatic nerve, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	4	3
Sural nerve, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	3	3

2.6.7.7.7　　サル 28 日間反復持続静注毒性試験（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		20		100		1000	
Number of animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Tibial nerve, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	4	3
Vestibulocochlear nerve, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	1	0
Cervical spinal cord, Dorsal funiculus, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	4	4
Cervical spinal cord, Lateral funiculus, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	1	1
Thoracic spinal cord, Dorsal funiculus, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	4	4
Thoracic spinal cord, Lateral funiculus, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	3	2
Thoracic spinal cord, Ventral funiculus, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	1	0
Lumbar spinal cord, Dorsal funiculus, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	3	3
Lumbar spinal cord, Lateral funiculus, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	2	3
Lumbar spinal cord, Ventral funiculus, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	1	0
Lumbar spinal cord, Cauda equina, nerve fiber degeneration	0	0	0	0	0	0	3	3

2.6.7.8　In Vitro 遺伝毒性試験

該当資料なし.（初回申請/承認（AIS）時に提出済み.）

2.6.7.9　In Vivo 遺伝毒性試験

該当資料なし.（初回申請/承認（AIS）時に提出済み.）

2.6.7.10　がん原性試験

2.6.7.10.1　マウス 26 週間がん原性試験

Study title: A 26-week oral repeated dose carcinogenicity study of edaravone in CB6F1-Tg rasH2 mice　　Test Article: Edaravone
Species/strain: Mouse/CB6F1-Tg rasH2　　Duration of dosing: 26 weeks　　Study No.: [redacted]0779
Initial age: 7 weeks　　Duration of postdose: None　　Location in CTD: 4.2.3.4.1－1
Date of first dose: [redacted] (Male) and [redacted] (Female), 20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage)　　GLP compliance: Yes
Vehicle/formulation: 1% w/v tragacanth gum aqueous solution/suspension　　Special feature: None

Dose level (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		100		150		350	
Number of animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Died or sacrificed in moribundity [a]	1	1	1	0	2	0	2	1	0	0
Survival rate (%)	96	96	96	100	92	100	92	96	100	100
Toxicokinetics	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done
Noteworthy findings:										
Clinical signs: [a]										
Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	2 [d]	0	7	3	25	24
Salivation	0	0	0	0	13 [e]	15 [e]	20 [e]	23 [e]	24 [e]	24 [e]
Palpable Mass: [a]										
Abdominal region	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (Day 182, g) [b, c]	27.90	23.15	29.11	23.45	27.66 * [f]	23.05	26.98 **	22.55 **	26.19 **	22.31 **

Note: *: p≤0.05, **: p≤0.01 (comparison to the vehicle control group, Dunnett's test). -: No noteworthy findings.
[a] Number of animals affected.
[b] At the end of the dosing period.
[c] Group means are shown.
[d] Not considered to be edaravone-related because it was observed just before death due to spontaneous urethral obstruction or hemangiosarcoma.
[e] Low in frequency without histopathological changes in the salivary gland.
[f] Not considered to be toxicologically significant because statistical deference was not observed and the changes in values were minimal as compared to the water control group.

2.6.7.10.1　　マウス 26 週間がん原性試験（続き）

Dose level (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		100		150		350	
Number of animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Food consumption (Day 181 to 182, g) [a, b]	3.73	3.76	4.13	4.03	3.83	3.49 ** [c]	3.84 [d]	3.63 **	3.66 **	3.47 **
Ophthalmoscopy [a]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology: [a, b]										
Red blood cell count (10^6/μL)	10.171	9.773	10.219	9.603	10.100	9.727	9.883 ** [e]	9.611	9.487 ** [e]	9.230 ** [e]
Hemoglobin concentration (g/dL)	15.30	14.98	15.39	14.88	15.18	14.93	15.01 ** [e]	14.79	14.64 ** [e]	14.20 ** [e]
Hematocrit (%)	45.96	44.30	46.30	43.96	45.66	44.47	45.31 ** [e]	44.18	45.44 * [e]	43.56
MCV (fL)	45.22	45.35	45.32	45.80	45.21	45.72	45.87	45.98	47.92 ** [e]	47.21 ** [e]
MCH (pg)	15.04	15.33	15.07	15.50	15.03	15.36	15.20	15.39	15.43 ** [e]	15.40
MCHC (g/dL)	33.28	33.81	33.24	33.84	33.24	33.58	33.13	33.48 ** [e]	32.22 ** [e]	32.60 ** [e]
Reticulocyte count (10^9/L)	384.81	373.89	375.03	378.91	395.94	398.79	426.19 ** [e]	412.35	575.48 ** [e]	568.93 ** [e]
RDW-SD (fL)	28.80	26.98	28.61	27.32	28.61	27.47	28.71	27.37	28.99	28.22 ** [e]
Blood chemistry: [a, b]										
Total cholesterol (mg/dL)	68.8	52.8	70.3	53.9	66.4	53.4	63.5 ** [f]	50.0 * [f]	57.9 **	46.4 **
Phospholipid (mg/dL)	146.3	94.6	143.8	97.7	134.9	97.1	129.8 **	91.5 * [f]	113.4 **	83.2 **
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Note: *: p≤0.05, **: p≤0.01 (comparison to the vehicle control group, Dunnett's test). -: No noteworthy findings.

[a] At the end of the dosing period.

[b] Group means are shown.

[c] Not considered to be toxicologically significant because fluctuation of the mean food consumption was almost within the range of the water control group.

[d] Statistically significant low value was frequently observed during the dosing period.

[e] Considered to be edaravone-related anemic change and biological reaction to it. Red blood cell count and hemoglobin concentration were being maintained within the range of the water control group.

[f] Not considered to be toxicologically significant because individual values were almost within the values in the water and vehicle control groups.

2.6.7.10.1　　マウス 26 週間がん原性試験（続き）

Dose level (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		100		150		350	
Number. of animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Histopathology: [a]										
Neoplastic lesions: [b]										
Multicentric tumor										
Hemangiosarcoma	4	1	1	0	1	0	3	1	2	0
Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Malignant lymphoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Stomach										
Squamous cell papilloma	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0
Lungs (and bronchus)										
Bronchiolar-alveolar carcinoma	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
Bronchiolar-alveolar adenoma	0	0	1	0	2	1	1	0	1	2
Harderian gland										
Adenoma, acinar cell	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Liver										
Hepatocellular adenoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Non-neoplastic lesions: [a]										
Spleen										
Increase of extramedullary Hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	0	0	4 [c]	13 [c]
Pigment	1	2	5	3	5	7	9	9	25 [c]	25 [c]

Note: -: No noteworthy findings.

[a] Number of animals affected.

[b] All neoplastic lesions were considered to be spontaneous and not related to edaravone treatment because dose-dependent increase in incidence was not observed.

[c] Considered to be biological reaction to anemia.

2.6.7.10.2　ラット 104 週間がん原性試験

Study title: A 104-week oral repeated dose carcinogenicity study of edaravone in rats
Test Article: Edaravone
Species/strain: Rat/SD
Duration of dosing: 104 weeks (male) and 92 weeks (female)
Study No.: [redacted]0275
Initial age: 6 weeks
Duration of postdose: None
Location in CTD: 4.2.3.4.1－2
Date of first dose: [redacted] (Male) and [redacted] (Female), 20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage)
GLP compliance: Yes
Vehicle/formulation: 1% w/v tragacanth gum aqueous solution/suspension
Special feature: The dosing period for females of all groups was terminated in Week 92 since the survival numbers in females of the water control group was less than 20 out of 60.

Study period	Dosing period									
Dose level (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		50		100		200	250
Number of animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:										
Edaravone										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	NA	NA	2.608	5.533	7.860	18.70	19.08	44.09
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	NA	NA	2.226	10.29	10.65	33.93	13.17	42.52
t_{max} (h)	NA	NA	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Day 182										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	NA	NA	10.07	12.80	24.58	28.71	53.02	91.28
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	NA	NA	17.59	28.60	33.33	49.19	46.97	88.15
t_{max} (h)	NA	NA	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

2.6.7.10.2　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study period	Dosing period									
Dose level (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		50		100		200	250
Number of animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:										
Sulfate										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	NA	NA	54.56	57.37	99.41	109.1	254.5	309.4
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	NA	NA	40.70	47.15	43.20	58.13	51.37	64.50
t_{max} (h)	NA	NA	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4
Day 182										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	NA	NA	74.66	86.98	102.4	240.1	231.8	498.7
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	NA	NA	42.94	53.59	35.38	83.16	44.16	83.15
t_{max} (h)	NA	NA	NA	NA	0.5	0.4	0.9	0.6	0.5	0.4
Glucuronide										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	NA	NA	14.34	14.22	35.80	33.27	84.29	89.11
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	NA	NA	11.23	19.04	32.20	33.28	31.90	34.36
t_{max} (h)	NA	NA	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Day 182										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	NA	NA	23.00	20.04	58.87	58.74	118.0	155.3
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	NA	NA	19.81	21.82	30.09	38.33	42.46	56.43
t_{max} (h)	NA	NA	NA	NA	0.3	0.3	0.6	0.4	0.5	0.4

2.6.7.10.2　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study period	Dosing period									
Dose level (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		50		100		200	250
Number of animals	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60
Number of animals:										
At start	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Died or sacrificed in moribundity[a]	41	42	31	38	35	38	27	36	24	29
Terminal sacrifice	19	18	29	22	25	22	33	24	36	31
Survival rate (%)[b, c]	31.7	30.0	48.3	36.7	41.7	36.7	55.0[$, c]	40.0	60.0[$$, c]	51.7[$, c]
Noteworthy findings:										
Clinical observations: [d]										
Salivation	0	0	0	0	0	0	41	53	57	60
Palpable mass	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight (g)[e, f, g]	840.54	509.87	848.90	505.34	799.82	474.26	780.59[#]	412.82[**, ##]	677.51[**, ##]	386.70[**, ##]
Body weight gain (g)[e, f, g]	637.69	344.04	644.27	338.04	597.45	308.63	576.32[#]	246.26[**, ##]	473.91[**, ##]	219.60[**, ##]
Food consumption (g/animal/day)[e, f, h]	27.07	21.95	27.77	21.83	26.82	18.44[**, ##]	27.49	19.81	23.72[#]	18.71[**, ##]

Note: -: No noteworthy findings. $: p<0.05, $$: p<0.01 (comparison to the water control group, log-rank test). *: p<0.05, **: p<0.01 (comparison to the water control group, Dunnett's test). #: p<0.05, ##: p<0.01 (comparison to the vehicle control group, Dunnett's test).

[a] There were no accidental deaths.

[b] A statistically significant dose-related increase compared with the water control group: males and females (Tarone method).

[c] Not considered to be treatment related because no statistically significant difference compared with the vehicle control group was observed in these parameters.

[d] Number of animals affected.

[e] At the end of the dosing period.

[f] Group means are shown.

[g] Days 729 (male) and 649 (female).

[h] Days 723 to 728 (male) and 637 to 644 (female).

2.6.7.10.2　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study period		Dosing period									
Dose Level (mg/kg/day)		0 (water control)		0 (vehicle control)		50		100		200	250
Number of Animals		M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60
Ophthalmological examination: [a]		<20/9[b]> -	<20/11[b]> -	<20/12[b]> -	<19/12[b]> -	<19/5[b]> -	<19/12[b]> -	<20/12[b]> -	<20/9[b]> -	<20/10[b]> -	<18/12[b]> -
Urinalysis: [c, d]		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Protein	–	0	0	0	2	2[‡, e]	2	1[‡, e]	4[††, f]	1[‡‡, e]	8[††, ‡‡, g]
	±	1	3	0	2	1[‡, e]	3	0[‡, e]	3[††, f]	3[‡‡, e]	1[††, ‡‡, g]
	+1	3	1	0	3	2[‡, e]	2	6[‡, e]	2[††, f]	2[‡‡, e]	1[††, ‡‡, g]
	+2	4	3	5	3	3[‡, e]	2	1[‡, e]	1[††, f]	4[‡‡, e]	0[††, ‡‡, g]
	+3	2	3	5	0	2[‡, e]	1	2[‡, e]	0[††, f]	0[‡‡, e]	0[††, ‡‡, g]
Urine color											
Reddish brown		0	0	0	0	1[h]	0	4[h]	2[h]	3[h]	0

Note: -: No noteworthy findings. < >: Number of animals examined. †: <0.05, ††: p<0.01 (comparison to the water control group, Wilcoxon test). ‡: <0.05, ‡‡: p<0.01 (comparison to the vehicle control group, Wilcoxon test).

[a] Examined in Weeks 52 (male and female), 88 (female), and 104 (male).

[b] Number of animals examined in Week 52/Week 88 or 104.

[c] Examined in Week 88 (female) and Week 104 (male).

[d] Number of animals affected.

[e] Not considered to be treatment related because statistically significant difference compared with the vehicle control group was not observed.

[f] Not considered to be treatment related because statistically significant difference compared with the water control group was not observed.

[g] Not considered to be toxicologically significant because this was decreasing change, there were no treatment-related changes in serum total protein at blood chemistry, or there were no treatment-related histopathological changes in the kidneys.

[h] Not considered to be toxicologically significant because it was considered to be attributable to excretion of unchanged edaravone or its metabolites.

2.6.7.10.2　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study period	Dosing period									
Dose Level (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		50		100		200	250
Number of Animals	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60
Hematology: [a, b]	<19>	<18>	<29>	<22>	<25>	<22>	<33>	<23>	<36>	<31>
Red blood cell count (10^6/μL)	7.517	6.830	7.367	6.555	7.333	6.310	7.238	6.185	7.313	5.811[**, #]
MCV (fL)	52.06	54.12	52.59	55.87	51.43	56.71	53.25	58.27	53.59	60.54[**, #]
MCH (pg)	18.21	19.77	18.59	20.17	18.07	20.43	18.62	20.69[*, c]	18.98	21.33[**, ##]
RDW-SD (fL)	34.23	29.87	32.60	30.55	32.78[d]	31.13	33.48	31.29	29.57[**, #, e]	30.20
Blood chemistry[a]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Note: -: No noteworthy findings. < >: Number of animals examined. *: p<0.05, **: p<0.01 (comparison to the water control group, Dunnett's test). #: p<0.05, ##: p<0.01 (comparison to the vehicle control group, Dunnett's test).

[a] At the end of the dosing period.

[b] Group means are shown.

[c] Not considered to be treatment related because statistically significant difference compared with the vehicle control group was not observed.

[d] N=24.

[e] Not considered to be toxicologically significant because there were no changes in other erythrocyte parameters.

2.6.7.10.2　　ラット 104 週間がん原性試験（続き）

Study period	Dosing period									
Dose Level (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		50		100		200	250
Number of Animals	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60	M:60	F:60
Necropsy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology: [a]										
Neoplastic changes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Non-neoplastic changes:										
Spleen	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>
Congestion	1	3	2	1	4	0	1	1	9[b]	11[b]
Extramedullary hematopoiesis	47	53	52	49	51	50	50	53	57	57[b]
Pigment, macrophage	45	51	44	56	42	57	44	57	55[b]	56[b]
Submandibular gland	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<59>	<60>	<60>	<60>
Hypertrophy, acinar cell	1	4	2	1	1	4	2	0	3	15[b]
Eye	<60>	<60>	<60>	<60>	<60>	<59>	<59>	<60>	<60>	<60>
Atrophy, retina	2	2	2	3	0	1	1	0	1	16[b]

Note: -: No noteworthy findings. < >: Number of animals examined.

[a] Number of animals affected,

[b] Considered to be treatment related because of increased incidence and/or severity of change.

2.6.7.10.3 マウス 4 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）

Study title: A 4-week oral repeated dose toxicity study of edaravone in nonTg rasH2 mice
Species/strain: Mouse/CB6F1-nonTg rasH2　Duration of dosing: 4 weeks
Initial age: 7 weeks　Duration of postdose: None
Date of first dose: [redacted] (Male) and [redacted] (Female), 20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage)
Vehicle/formulation: 1% w/v tragacanth gum aqueous solution/suspension

Test Article: Edaravone
Study No.: [redacted]0057
Location in CTD: 4.2.3.4.2－1

GLP compliance: Yes
Special feature: None

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		100		300		600	
Number of Animals [a]	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics:								
Edaravone								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	4.130	9.337	138.8	168.2	377.9	418.8
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	11.15	14.55	77.37	93.48	151.1	265.6
t_{max} (h)	NA	NA	0.25	0.25	1	1	0.25	0.25
Day 28								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	4.756	5.694	93.42	113.8	149.4	165.1
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	13.07	18.72	52.17	62.83	113.5	127.6
t_{max} (h)	NA	NA	0.25	0.25	1	1	0.25	0.25

[a] Number of animals per blood sampling point

2.6.7.10.3　　マウス 4 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		100		300		600	
Number of Animals [a]	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetics:								
Sulfate								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	27.70	55.57	106.7	152.7	188.8	314.9
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	35.03	68.51	54.51	76.31	64.73	100.3
t_{max} (h)	NA	NA	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.25
Day 28								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	25.31	44.93	113.1	186.8	160.2	270.6
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	32.44	69.22	50.78	92.97	45.27	89.55
t_{max} (h)	NA	NA	0.25	0.25	1	1	0.25	0.25
Glucuronide								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	42.78	45.66	422.9	370.7	921.5	610.6
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	80.37	68.20	240.9	218.8	194.1	153.5
t_{max} (h)	NA	NA	0.25	0.5	1	1	1	1
Day 28								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	47.54	26.46	434.2	388.8	584.5	419.7
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	85.22	65.06	246.4	229.4	290.1	215.1
t_{max} (h)	NA	NA	0.25	0.25	1	1	1	1

[a] Number of animals per blood sampling point

2.6.7.10.3　　マウス 4 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		100		300		600	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings:								
Died or sacrificed in moribundity [a]	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observation: [a]								
Decrease in locomotor activity [b]	0	0	0	0	3	2	7	5
Salivation [b, c]	0	0	0	0	0	1	1	1
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption (g) [d, e, f]	4.62	-	4.44	-	4.28	-	3.96**	-

Note: –: No notable findings. **: p≤ 0.01 (Dunnett's test).

[a] Number of animals affected.

[b] The clinical sign was also observed in both sexes at ≥300 mg/kg/day in the TK satellite group.

[c] Not considered to be toxicologically significant because it was transient and there was no microscopic correlate.

[d] Group means are shown.

[e] The results on Day 1 are shown.

[f] Not considered to be toxicologically significant because it was transient and there were no clear changes in mean body weights.

2.6.7.10.3　マウス 4 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		100		300		600	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Hematology: [a]								
Red blood cell count (10^6/μL)	9.868	9.875	10.006	9.549*, [b]	9.169**	9.574*, [b]	8.735**	9.332**, [b]
Hemoglobin conc. (g/dL) [b]	15.27	-	15.41	-	14.52**	-	14.32**	-
Hematocrit (%) [b]	-	46.36	-	45.92	-	47.09	-	47.83**
MCV (fL)	46.48	46.97	46.30	48.11*, [c]	48.83**	49.21**, [c]	51.62**	51.26**, [c]
MCH (pg)	15.47	15.75	15.41	15.97*, [c]	15.85**	16.14**, [c]	16.41**	16.63**, [c]
MCHC (g/dL)	33.31	33.52	33.28	33.17	32.44**	32.79**, [c]	31.76**	32.45**, [c]
PLT (10^3/μL)	1371.3	-	1403.3	-	1374.9	-	1273.6*	-
Reticulocyte (10^9/L) [d]	392.20	435.37	430.80	431.49	540.65**	513.18*	749.51**	589.36**
RDW-SD (fL) [b]	26.99	28.09	27.70*	28.54	28.36**	28.66	29.00**	28.81*
Anisocytosis [e]	0	0	0	0	0	0	3	0
Basophilic erythrocyte [e]	0	0	0	0	0	0	2	0
Blood biochemistry: [a]								
Total bile acid (μmol/L) [f]	0.93	-	0.55	-	1.29	-	2.25*	-
Urea nitrogen (mg/dL) [f]	16.63	17.61	17.83	18.47	25.10**	21.84*	23.46**	22.28*
Triglyceride (mg/dL) [f]	43.4	31.6	52.5	38.5	64.2**	43.8	70.8**	53.5**
Inorganic phosphorus (mg/dL) [f]	-	7.15	-	6.27*	-	6.42	-	5.41**

Note: –: No notable findings. *: p≤ 0.05, **: p≤ 0.01 (Dunnett's test).

[a] Group means are shown.

[b] Not considered to be toxicologically significant because it was within the normal range of the historical control values of the test facility.

[c] Not considered to be toxicologically significant because it was not accompanied by any toxic change in red blood cell count, hemoglobin conc, or hematocrit.

[d] Not considered to be toxicologically significant because it was a biological reaction related to anemic changes.

[e] Number of animals affected.

[f] Not considered to be toxicologically significant because there was no microscopic correlate.

2.6.7.10.3　　マウス 4 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		100		300		600	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Organ weight: [a]								
Thymus (mg) [b]	45.40	55.29	40.80	53.57	37.10*	51.52	36.02**	45.62**
Thymus ($\times 10^{-3}$%) [b]	170.41	254.69	155.50	242.41	143.96*	238.26	138.99*	210.86**
Spleen (g) [c]	0.0622	0.0681	0.0613	0.0753	0.0641	0.0717	0.0742**	0.0777*
Spleen (%) [c]	0.2343	0.3129	0.2324	0.3400	0.2491	0.3323	0.2860**	0.3583**
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology: [d]								
Spleen, Increase, extramedullary hematopoiesis, erythrocytic [c]								
... minimal	0	0	0	2	7	3	0	5
... mild	0	0	0	0	2	0	10	4
Spleen, Pigment deposition, red pulp [c]								
... minimal	0	0	0	0	0	8	9	10
Bone marrow (femur), Increase, hematopoietic cell, erythrocytic [c]								
... minimal	0	-	0	NE	5	NE	10	-
Bone marrow (sternum), Increase, hematopoietic cell, erythrocytic [c]								
... minimal	0	-	0	NE	0	NE	4	-

Note: –: No notable findings. *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

[a] Group means are shown.

[b] Not considered to be toxicologically significant because there was no microscopic correlate.

[c] Not considered to be toxicologically significant because it was a biological reaction related to anemic changes.

[d] Number of animals affected.

2.6.7.10.4　ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）

Study title: A 13-week oral repeated dose range-finding toxicity study of MCI-186 in rats
Species/strain: Rat/SD
Initial age: 6 weeks
Date of first dose: [redacted] (Male) and [redacted] (Female), 20[redacted]
Method of administration: Oral (gavage)
Vehicle/formulation: 1% w/v tragacanth gum aqueous solution/suspension
Duration of dosing: 13 weeks
Duration of postdose: None
Test Article: Edaravone
Study No.: [redacted]0932
Location in CTD: 4.2.3.4.2－2
GLP compliance: Yes
Special feature: None

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		250		500		1000	
Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:								
Edaravone								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	27.45	36.35	71.88	105.0	272.8	397.7
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	31.21	35.04	43.02	51.79	73.12	91.97
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4
Day 91								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	32.47	54.74	110.1	102.2	322.6	278.8
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	26.21	47.31	39.01	65.79	100.8	79.03
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3

2.6.7.10.4　　ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		250		500		1000	
Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:								
Sulfate								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	260.8	334.4	333.3	384.5	365.4	510.7
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	66.78	84.72	64.75	64.07	60.91	64.78
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.4	0.4	0.6	0.5	0.6
Day 91								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	284.9	381.3	269.1	492.8	288.3	597.2
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	48.67	64.96	39.88	71.04	35.16	61.31
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.8	0.4	0.5	0.4	0.6
Glucuronide								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	125.1	126.6	287.7	290.3	624.5	699.9
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	50.40	55.19	66.14	58.74	93.78	98.16
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.4	0.5	0.6	0.8	0.8
Day 91								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	112.6	114.0	276.3	267.7	592.7	858.4
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	29.59	41.95	40.42	75.21	95.41	90.80
t_{max} (h)	NA	NA	0.4	0.8	0.8	0.6	0.8	0.6

2.6.7.10.4　　ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		250		500		1000	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy Findings:								
Died or sacrificed in moribundity[a]	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observation: [a] Salivation	0	0	10	10[b]	10	10	10	10
Body weight (g)[c, d]	555.00	287.72	491.75*	270.89	462.89**	252.14**	381.20**	235.77**
Body weight (%)[e]	-	-	89	94	83	88	69	82
Food consumption (g)[c, d]	29.80	18.71	26.91**	18.94	27.11**	17.48*	23.91**	17.78
Food consumption (%)[e]	-	-	90	101	91	93	80	95

Note: *: p< 0.05, **: p< 0.01 (Dunnett's test).

[a] Number of animals affected.

[b] Not considered to be toxicologically significant because there were no histopathological changes in the salivary glands.

[c] At the end of the dosing period.

[d] Group means are shown.

[e] For the test article-treated groups, percent of the control is shown.

2.6.7.10.4　　ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		250		500		1000	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Hematology: [b, c]								
Red blood cell count (10^6/μL)	8.514	7.663	7.981*	7.073**	7.205**	6.381**	6.303**	5.347**
Hemoglobin conc. (g/dL)	15.68	14.68	14.97**	14.11	14.56**	13.06**	13.83**	11.94**
Hematocrit (%)	42.10	38.96	39.85**	38.19	40.40**	36.24**	40.50*	34.26**
MCV (fL)	49.52	50.91	50.01	54.00**	56.34**	56.82**	64.45**	64.08**
MCH (pg)	18.45	19.18	18.79	19.95*	20.28**	20.48**	21.99**	22.33**
MCHC (g/dL)	37.24	37.67	37.57	36.96*	36.05**	36.03**	34.16**	34.86**
Reticulocyte ratio (%)	2.957	2.356	3.359	3.560	6.455**	5.534**	10.789**	10.135**
Reticulocyte count (10^9/L)	250.48	179.66	267.44	251.16	461.69**	351.26**	675.03**	544.46**
RDW-SD (fL)	29.24	25.55	28.26	26.65	31.08**	27.06	32.84**	31.87**
PT (sec)	15.08	7.68	16.56	7.80	25.03**	8.24	28.53**	8.92**
APTT (sec)	20.16	14.92	21.30	14.27	25.77**	14.99	26.39**	16.23
Anisocytosis[a]	0	0	0	0	0	1	10	10
Basophilic erythrocyte[a]	0	0	0	0	0	1	10	10
Stomatocyte[a]	0	0	2	2	9	10	10	10
Codocyte[a]	0	0	0	0	0	3	0	6

Note: *: p< 0.05, **: p< 0.01 (Dunnett's test).

[a] Number of animals affected.

[b] At the end of the dosing period.

[c] Group means are shown.

2.6.7.10.4　　ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		250		500		1000	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Blood biochemistry: [a, b]								
Urea nitrogen (mg/dL)	11.12	16.85	13.83** [c]	17.77	14.72**	19.06	14.93**	20.10
Total cholesterol (mg/dL)	71.5	78.0	68.5	75.0	75.6	78.1	82.4	96.8*
Phospholipid (mg/dL)	108.1	142.9	103.6	135.5	124.2	142.4	143.7**	177.1*
Triglyceride (mg/dL)	45.1	19.2	37.3	16.5	54.1	18.3	68.8	33.5**
A/G	0.941	1.255	1.009	1.335	1.088**	1.363	1.151**	1.438**
Alpha1 globulin (%)	21.05	15.35	19.25	14.90	17.73**	13.94	16.76**	12.24**
Alpha1 globulin (g/dL)	1.56	1.23	1.36* [c]	1.15	1.25**	1.08	1.12**	0.99*
Beta globulin (%)	14.85	13.14	14.49	13.23	14.59	12.80	13.34*	12.91
Beta globulin (g/dL)	1.10	1.05	1.02	1.01	1.03	0.99	0.89**	1.03
Organ weight: [a, b]								
Thyroids (mg)	30.65	21.59	31.94	24.36	37.58	25.82	36.83	31.43**
Thyroids ($\times 10^{-3}$%)	5.91	7.95	7.43* [d]	9.68* [d]	8.83** [d]	11.03** [d]	10.45** [d]	14.58**
Spleen (g)	0.764	0.483	0.644	0.500	0.892	0.575	1.303**	0.826**
Spleen (%)	0.147	0.179	0.154	0.199	0.212* [d]	0.244* [d]	0.373**	0.386**
Gross pathology: [a, e]								
Spleen, Enlargement	0	0	0	0	0	1	7	7

Note: *: p< 0.05, **: p< 0.01 (Dunnett's test).

[a] At the end of the dosing period.

[b] Group means are shown.

[c] Not considered to be test article-related because individual values were within the normal range of the historical control values.

[d] Not considered to be test article-related because they were not accompanied by any change in it absolute weight.

[e] Number of animals affected.

2.6.7.10.4　　ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		250		500		1000	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Histopathology: [a, b]								
Spleen, Congestion ... minimal	0	0	0	1	9	9	10	10
Spleen, Fibrosis, capsule, focal ... minimal	0	0	0	0	0	0	5	2
Spleen, Increase, extramedullary hematopoiesis, erythrocytic ... minimal	0	0	2	6	9	9	10	10
Spleen, Pigment deposition, red pulp ... minimal	0	0	0	0	6	0	5	0
Bone marrow (femur), Increase, hematopoietic cell, erythrocytic ... minimal	0	0	0	0	0	0	9	8
Bone marrow (sternum), Increase, hematopoietic cell, erythrocytic ... minimal	0	0	0	0	1	1	9	10
Stomach, Erosion/ulcer, forestomach, focal								
... minimal	0	1[c]	0	0	1[c]	2[c]	6	5
... mild	0	0	0	0	0	0	2	1
Liver, Pigment deposition, sinusoidal cell ... minimal	0	0	0	0	0	1	7	10
Submandibular gland, Hypertrophy, acinar cell								
... minimal	0	0	1	0	6	7	4	6
... mild	0	0	0	0	0	1	3	4

[a] Number of animals affected.

[b] At the end of the dosing period.

[c] Considered to be incidental because it may occur spontaneously in rats of this strain and age.

2.6.7.10.4　　ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		250		500		1000	
Number of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Parotid gland, Hypertrophy, acinar cell ... minimal	0	0	NE	0	NE	1	0	1
Kidney, Cast, hyaline ... minimal	0	0	0	0	1	0	4	2
Kidney, Pigment deposition, proximal tubular epithelium ... minimal	0	0	0	0	0	0	7	7
Kidney, Accumulation, hyaline droplets, proximal tubular epithelium ... minimal	0	0	0	0	4	0	7	0
Kidney, Necrosis, papillary ... minimal	0	0	0	0	1	0	3	0
Kidney, Regeneration, tubule								
... minimal	5[a]	1[a]	1[a]	3[a]	3[a]	4[a]	3[a]	5[a]
... mild	0	0	0	0	3	0	7	3
Thyroid gland, Hypertrophy, follicular cell ... minimal	0	0	0	0	0	0	6	4
Eye, Atrophy, retina ... minimal	0	0	0	0	0	0	2	2
Harderian gland, Dilation, gland ... minimal	0	0	NE	0	NE	0	0	3

[a] Considered to be incidental because it may occur spontaneously in rats of this strain and age.

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし.（初回申請/承認（AIS）時に提出済み.）

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当資料なし.（初回申請/承認（AIS）時に提出済み.）

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当資料なし.（初回申請/承認（AIS）時に提出済み.）

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

該当資料なし.（初回申請/承認（AIS）時に提出済み.）

2.6.7.15　新生児を用いた試験

該当資料なし

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当資料なし

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.1　毒性発現の機序に関する試験

2.6.7.17.1.1　神経毒性試験

Test Article: Edaravone

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Dog/ Beagle	24h continuous infusion (Saline)	2 weeks	0, 300, 1000	3 M	≥300 mg/kg/day Limited use of limbs, flaccidity (loss of muscle tone), loss of withdrawal reflex in the hindlimb, ananastasia, degeneration of nerve fibers (brain, spinal cord, spinal ganglions, nerve roots, peripheral nerves diaphragm, femoral muscle, gastrocnemial muscle), unscheduled euthanasia (Days 10, 11 or 13) Toxicokinetics for edaravone in plasma, concentrations of the sulfate and glucuronide conjugates in plasma, and concentrations of edaravone and the sulfate and glucuronide conjugates in CSF are presented in2.6.7.3.5 and 2.6.7.3.6.	Yes	[redacted]56	4.2.3.7.3－1

2.6.7.17.1.1　神経毒性試験（続き）

Test Article: Edaravone

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Dog/ Beagle	24h continuous infusion (Saline)	5, 10, 14 days	0, 60, 120, 300	4 M, 4 F	≥120 mg/kg/day Limited use of limbs, flaccidity (loss of muscle tone), degeneration of nerve fibers 300 mg/kg/day Unscheduled euthanasia (Days 13 or 14) The toxicokinetics for edaravone and the sulfate and glucuronide conjugates in plasma are presented in 2.6.7.3.4. NOEL (NOAEL): 5-day treatment = 300 mg/kg/day 10-day treatment = 120 mg/kg/day 14-day treatment = 60 mg/kg/day	Yes	[redacted]93	4.2.3.7.3－2

2.6.7.17.1.1　神経毒性試験（続き）

Test Article: Edaravone

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Dog/ Beagle	24h continuous infusion (Saline)	14 days and 13 weeks withdrawal	0, 120	0: 6 M; 120: 12 M	Unscheduled euthanasia (Day 13) Patellar reflex No response was observed in 4 of 6 animals from Recovery Week 1. The number of animals with no response gradually decreased over the course of the recovery period, and the reflex in all animals completely returned to normal in Recovery Week 12. Histopathology (End of 14-day dosing) Spinal cord: degeneration of nerve fibers Spinal ganglions: degeneration of nerve fibers, atrophy of nerve fibers Nerve roots, peripheral nerves: degeneration of nerve fibers (13-week recovery) Spinal cord: degeneration of nerve fibers Peripheral nerves: appearance of phagocytes Toxicokinetics for edaravone in plasma and concentrations are presented in 2.6.7.3.4.	Yes	[redacted]26	4.2.3.7.3－3

2.6.7.17.1.1　神経毒性試験（続き）

Test Article: Edaravone

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Dog/ Beagle	24h continuous infusion (Saline)	5 days and 4 weeks withdrawal	0, 60, 120, 180, 300	3 M, 3 F	≥180 mg/kg/day Peripheral nerves: degeneration of nerve fibers, appearance of phagocytes ≥300 mg/kg/day Spinal cord: degeneration of nerve fibers Toxicokinetics for edaravone in plasma and concentrations of the sulfate and glucuronide conjugates in plasma are presented in 2.6.7.3.4. NOAEL: 120 mg/kg/day	Yes	[redacted]46	4.2.3.7.3－4

2.6.7.17.2 不純物の毒性試験

2.6.7.17.2.1 不純物Aの毒性試験

2.6.7.17.2.1.1 不純物Aのラットを用いた２週間反復静脈内投与毒性試験

Study title: A 2-week Intravenous Repeated Dose Toxicity Study of Impurity B and Impurity A, Impurities in MCI-186 Product, in Rats

Test Article: Impurity A and B

Species/strain: Rat/SD
Initial age: 6 weeks
Date of first dose: [redacted], 20[redacted]
Vehicle/formulation: Saline (pH was adjusted to 4.0 by 1N-HCl)
NOAEL: 1 mg/kg/day

Duration of dosing: 2 weeks
Duration of postdose: None
Method of administration: IV bolus

Study No.: [redacted]35
Location in CTD: 4.2.3.7.6－1
GLP compliance: Yes
Special feature: None

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control, saline)		0.1		1	
Number of animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Toxicokinetics	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done
Noteworthy findings:						
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0
Clinical observations	–	–	–	–	–	–
Body weight	–	–	–	–	–	–
Food consumption	–	–	–	–	–	–
Water consumption	–	–	–	–	–	–
Ophthalmology	–	–	–	–	–	–
Hematology	–	–	–	–	–	–
Blood biochemistry	–	–	–	–	–	–
Organ weight	–	–	–	–	–	–
Gross pathology	–	–	–	–	–	–
Histopathology	–	–	–	–	–	–

Note: – = no noteworthy findings.

2.6.7.17.2.1.2 不純物A を添加したエダラボンのラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験

Study title: A 13-week oral repeated dose toxicity study of edaravone with impurity Impurity A in rats

Test Article: Edaravone and impurity A

Species/strain: Rat/SD　　Duration of dosing: 13 weeks　　Study No.: [redacted]0880

Initial age: 6 weeks　　Duration of postdose: None　　Location in CTD: 4.2.3.7.6－2

Date of first dose: [redacted] (Male) and [redacted] (Female), 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)　　GLP compliance: Yes

Vehicle/formulation: 1% w/v tragacanth gum aqueous solution/ Suspension　　Special feature: None

Conclusion: The co-administration with impurity Impurity A up to 12.5 mg/kg/day (5% of edaravone) did not affect the toxicological effect of edaravone.

Test article/Impurity	Vehicle		Edaravone						Edaravone/Impurity A					
Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250		25/1.25[a]		75/3.75[a]		250/12.5[a]	
Number of animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics: Edaravone Day 1														
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	0.8705	1.185	4.134	7.408	35.68	48.61	0.6885	1.043	4.197	6.269	28.19	28.75
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	0.9370	1.402	6.476	15.04	41.42	66.15	0.8131	1.132	7.440	11.46	35.56	26.98
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Day 91														
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	2.092	2.815	11.97	22.01	43.23	62.40	1.672	3.613	10.40	15.20	63.27	54.17
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	4.013	5.913	21.90	42.66	39.35	55.55	2.302	7.255	16.77	29.75	50.57	42.87
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

[a] Edaravone/Impurity A

2.6.7.17.2.1.2 不純物 A を添加したエダラボンのラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Test article/Impurity	Vehicle		Edaravone						Edaravone/Impurity A					
Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250		25/1.25[a]		75/3.75[a]		250/12.5[a]	
Number of animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:														
Sulfate														
Day 1														
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	24.43	28.36	72.12	63.24	265.0	266.8	20.94	23.01	55.51	87.37	248.9	258.1
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	28.66	30.64	39.93	41.33	53.43	62.68	25.97	24.75	40.15	48.65	57.90	50.92
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5	0.3
Day 91														
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	32.88	41.96	83.36	149.7	290.1	388.6	35.50	41.95	93.22	119.1	272.4	473.5
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	41.17	61.40	41.74	67.57	46.22	65.57	35.17	49.21	38.51	58.64	44.92	71.02
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.6	0.4	0.6	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4
Glucuronide														
Day 1														
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	6.426	7.237	21.85	20.64	110.3	80.77	6.120	6.030	24.36	27.43	117.0	107.0
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	8.883	8.927	18.03	24.17	40.76	46.15	8.036	7.921	28.13	31.10	48.86	46.59
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Day 91														
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	NA	NA	8.435	8.610	27.62	35.09	129.0	150.2	8.405	8.853	28.21	31.27	115.0	135.0
C_{max} (μg/mL)	NA	NA	10.57	15.13	20.84	29.84	28.18	48.70	8.264	12.36	17.42	28.24	34.34	41.50
t_{max} (h)	NA	NA	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	0.6	0.4

[a] Edaravone/Impurity A

2.6.7.17.2.1.2 不純物 A を添加したエダラボンのラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

Test article/Impurity	Vehicle		Edaravone						Edaravone/Impurity A					
Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		250		25/1.25[a]		75/3.75[a]		250/12.5[a]	
Number of animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Noteworthy findings:														
Died or sacrificed in moribundity[b]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observation: [b]														
Salivation	0	0	0	0	2[c]	4[c]	10	10	0	0	0	5[c]	10	10
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Water intake[d]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmologic examination[e]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis:[b, d]														
Urine color														
Reddish brown	0	0	0	0	0	0	2[f]	1[f]	0	0	0	0	2[f]	0
Hematology[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood chemistry[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weight[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic examination[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic examination:[b, g]														
Submandibular gland														
Hypertrophy, acinar cell														
... minimal	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	1	2

Note: -: No noteworthy findings or no apparent differences between edaravone alone and edaravone + impurity groups.

[a] Edaravone/Impurity A

[b] Number of animals affected.

[c] Not considered to be toxicologically significant because it was extremely low in frequency and there were no histopathological changes in the salivary gland.

[d] Examined on Day 85 to 86.

[e] Examined on Day 87 or 90.

[f] Not considered to be toxicologically significant because it was considered to be attributable to excretion of unchanged edaravone or its metabolites.

[g] At the end of the dosing period.

2.6.7.17.2.1.3 不純物 A の細菌を用いる復帰突然変異試験

Study title: Bacterial reverse mutation study of Impurity A
Test for induction of: Reverse gene mutation
Strains: *S. typhimurium*, *E. coli*
Metabolizing system: Rat liver S9
Vehicles: Saline (pH 7)
Treatment: Preincubation (20 min at 37°C), 48h incubation
Cytotoxic effects: Non cytotoxic

No. of independent assays: 2
No. of replicate cultures: 3

Date of treatment: [redacted] 20[redacted]

Genotoxic effects: Non genotoxic

Test Article: Impurity A
Study No.: [redacted]1125
Location in CTD: 4.2.3.7.6－3
GLP compliance: Yes

First main test

Strain:		WP2*uvr*A		TA100		TA1535		TA98		TA1537	
S9:		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Dose (μg/plate):	Negative control	28	33	116	123	9	13	22	29	10	19
	313	25	41	113	151	11	13	24	33	12	17
	625	31	43	105	139	11	12	22	30	12	16
	1250	27	52	113	154	11	12	23	38	12	18
	2500	31	41	109	159	10	12	21	29	11	16
	5000	24	38	116	167	11	14	22	34	12	17
	Positive control (Dose, μg/plate)	AF-2 (0.01)	2-AA (10)	AF-2 (0.01)	2-AA (1)	NaN_3 (0.5)	2-AA (2)	AF-2 (0.1)	2-AA (0.5)	9-AA (80)	2-AA (2)
		193	1413	810	1569	574	300	734	307	477	190

Note: Negative control: Saline (pH 7). Results are presented as the mean colony numbers per dose group. – = without S9; + = with S9.

2.6.7.17.2.1.3 不純物 A の細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Second main test

Strain:		WP2*uvr*A		TA100		TA1535		TA98		TA1537	
S9:		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Dose (µg/plate):	Negative control	30	32	119	124	12	10	19	27	14	18
	313	24	36	118	161	11	12	19	31	14	17
	625	25	37	107	160	10	13	21	27	14	19
	1250	30	43	116	155	10	11	20	33	13	17
	2500	24	39	119	167	10	11	19	28	14	20
	5000	24	39	113	186	11	11	20	29	15	19
	Positive control (Dose, µg/plate)	AF-2 (0.01)	2-AA (10)	AF-2 (0.01)	2-AA (1)	NaN_3 (0.5)	2-AA (2)	AF-2 (0.1)	2-AA (0.5)	9-AA (80)	2-AA (2)
		190	1595	828	1614	575	266	732	329	350	222

Note: Negative control: Saline (pH 7). Results are presented as the mean colony numbers per dose group. – = without S9; + = with S9.

2.6.7.17.2.1.4　不純物 A　の培養哺乳類細胞を用いる染色体異常試験

Study title: Chromosomal aberration study of Impurity A in cultured mammalian cells
Test for induction of: Chromosomal aberration
Cell type: Cultured fibroblast cells from Chinese hamster lung (CHL cells)
Metabolizing system: Rat liver S9
Vehicles: Saline (pH 7)
No. of independent assays: 1
No. of replicate cultures: 2
No. of cells analyzed/culture: 200
Date of treatment: [redacted] 20[redacted]-[redacted] 20[redacted]
Test Article: Impurity A
Study No.: [redacted]1126
Location in CTD: 4.2.3.7.6－4
GLP compliance: Yes

Treatment: 6-hour treatment with and without S9 followed by 18-hour recovery, and 24-hour continuous treatment without S9
Cytotoxic effects: The cell growth index was more than 50% in all treatments, but the relative mitotic index in the 24-hour treatment decreased almost dose-dependently and was less than 35% at 2538 μg/mL or higher.
Genotoxic effects: Increase of structural aberrations in the 24-hour assay

Metabolic Activation	Exposure-Recovery time (h)	Test substance	Concentration (μg/mL)	Cell growth index (%)	Relative mitotic index (%)	Structurally aberrant cells (%)	Numerically aberrant cells (%)
Without S9	6-18	Negative control [Saline (pH 7)]	0	100.0	100.0	0.0	0.0
		Impurity A	413	80.6	102.1	NE	NE
			825	79.4	104.2	2.0	0.0
			1650	81.3	120.8	0.0	0.0
			3300	89.2	110.4	0.0	0.0
		Positive control (MMC)	0.1	NA	NA	28.5*	0.0
With S9	6-18	Negative control [Saline (pH 7)]	0	100.0	100.0	0.0	0.0
		Impurity A	413	101.5	98.6	NE	NE
			825	95.8	93.2	0.0	0.0
			1650	96.7	117.6	0.0	0.0
			3300	86.1	83.8	0.0	0.0
		Positive control (B[a]P)	20	NA	NA	82.0*	0.0

Note: *: A significant increase was detected using Fisher's exact probability test ($p<0.05$). In the test article treatment group, a dose-dependent increase of structural aberrations was detected using Cochran-Armitage test ($p<0.05$).

2.6.7.17.2.1.4　不純物 A　の培養哺乳類細胞を用いる染色体異常試験（続き）

Metabolic Activation	Exposure-Recovery time (h)	Test substance	Concentration (μg/mL)	Cell growth index (%)	Relative mitotic index (%)	Structurally aberrant cells (%)	Numerically aberrant cells (%)
Without S9	24-0	Negative control [Saline (pH 7)]	0	100.0	100.0	0.0	0.0
		Impurity A	50	107.5	73.5	NE	NE
			100	102.0	95.9	NE	NE
			200	96.2	98.0	NE	NE
			300	89.1	89.8	NE	NE
			400	92.1	67.3	1.0	0.0
			526	86.2	81.6	NE	NE
			684	78.1	65.3	2.0	0.0
			889	79.8	65.3	NE	NE
			1155	71.7	49.0	6.5*	0.0
			1502	72.1	55.1	NE	NE
			1953	72.2	44.9	10.0*	0.5
			2538	71.6	34.7	NE	NE
			3300	70.6	18.4	NE	NE
		Positive control (MMC)	0.05	NA	NA	68.5*	0.0

Note: *: A significant increase was detected using Fisher's exact probability test ($p<0.05$). In the test article treatment group, a dose-dependent increase of structural aberrations was detected using Cochran-Armitage test ($p<0.05$).

2.6.7.17.2.1.5 不純物A のマウス骨髄赤血球を用いる小核試験

Study title: Micronucleus test of Impurity A using mice
Test for induction of: Micronuclei
Species/strain: Mouse, ICR
Age: 7 weeks
Cells evaluated: Bone marrow
Date of dosing: [redacted] 20[redacted]
Special features: None
Toxic/cytotoxic effects: Dyspnea, tonic convulsion or abnormal gait was observed at 250 mg/kg. In the 100 and 160 mg/kg groups, slight decrease in locomotor activity and increase in locomotor activity were noted, respectively.
Genotoxic effects: Non clastogenic
Evidence of exposure: No data

Treatment schedule: Once daily on 2 consecutive days
Sampling time: 24h after the final dosing
Method of administration: IV bolus
Vehicle/formulation: Saline (pH was adjusted to 4.0 by 1N-HCl)
No. of cells analyzed per animal: 2000

Test Article: Impurity A
Study No.: [redacted]1127
Location in CTD: 4.2.3.7.6－5
GLP compliance: Yes

Test substance	Dose (mg/kg)	No. of animals	MNIMEs		IMEs/(IMEs+MEs) (%) Mean±S.D.
			Number Total	Incidence (%) Mean±S.D.	
Negative control [Saline (pH 4)]	0	6 M	12	0.10±0.04	54.7±3.3
Impurity A	100	6 M	9	0.08±0.04	53.9±2.6
	160	6 M	11	0.09±0.06	53.9±3.0
	250	6 M	9	0.08±0.05	54.1±2.8
Positive control (CP) [a]	40	6 M	260##	2.17±0.63	53.2±1.4

Note: ##: Significantly ($p \leq 0.01$) different from the negative control by Kastenbaum & Bowman's method.
[a] Administered once IP at the same time of the second dosing in other groups.

2.6.7.17.2.2 不純物 B の毒性試験

2.6.7.17.2.2.1 不純物 B の細菌を用いる復帰突然変異試験

Study title: Bacterial reverse mutation study of Impurity B
Test for induction of: Reverse gene mutation
Strains: *S. typhimurium*, *E. coli*
Metabolizing system: Rat liver S9
Vehicles: Saline (pH 7)
Treatment: Preincubation (20 min at 37°C), 48h incubation
Cytotoxic effects: Microbial toxicity was observed at 1250 µg/plate and higher in the absence of S9 for TA98.
Genotoxic effects: Non genotoxic

No. of independent assays: 2
No. of replicate cultures: 3
Date of treatment: [redacted] 20[redacted]

Test Article: Impurity B
Study No.: [redacted]1128
Location in CTD: 4.2.3.7.6－6
GLP compliance: Yes

First main test											
Strain:		WP2*uvrA*		TA100		TA1535		TA98		TA1537	
S9:		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Dose (µg/plate):	Negative control	29	36	113	123	9	12	22	29	13	19
	39.1	NE	NE	NE	NE	NE	NE	25	NE	NE	NE
	78.1	NE	NE	NE	NE	NE	NE	24	NE	NE	NE
	156	NE	NE	NE	NE	NE	NE	26	NE	NE	NE
	313	31	39	109	152	13	14	23	33	11	18
	625	31	34	116	164	11	13	24	29	11	18
	1250	32	34	103	141	11	14	11 [a]	31	13	22
	2500	27	40	112	157	11	13	7 [a]	29	14	19
	5000	24	40	122	193	10	12	NE	28	12	20
	Positive control (Dose, µg/plate)	AF-2 (0.01)	2-AA (10)	AF-2 (0.01)	2-AA (1)	NaN_3 (0.5)	2-AA (2)	AF-2 (0.1)	2-AA (0.5)	9-AA (80)	2-AA (2)
		186	1473	870	1621	597	283	715	333	364	197

Note: Negative control: Saline (pH 7). – = without S9; + = with S9. Results are presented as the mean colony numbers per dose group.
[a] Microbial toxicity was observed.

2.6.7.17.2.2.1　不純物 B の細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Second main test											
Strain:		WP2*uvrA*		TA100		TA1535		TA98		TA1537	
S9:		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Dose (μg/plate):	Negative control	35	37	121	133	10	12	19	24	13	19
	39.1	NE	NE	NE	NE	NE	NE	18	NE	NE	NE
	78.1	NE	NE	NE	NE	NE	NE	20	NE	NE	NE
	156	NE	NE	NE	NE	NE	NE	23	NE	NE	NE
	313	38	38	112	159	12	13	22	29	12	18
	625	34	44	134	175	11	13	21	28	12	17
	1250	36	49	123	183	10	16	11 [a]	28	13	19
	2500	37	50	126	173	14	14	9 [a]	28	16	21
	5000	37	41	128	191	11	12	NE	28	12	21
	Positive control (Dose, μg/plate)	AF-2 (0.01)	2-AA (10)	AF-2 (0.01)	2-AA (1)	NaN_3 (0.5)	2-AA (2)	AF-2 (0.1)	2-AA (0.5)	9-AA (80)	2-AA (2)
		213	1688	769	1579	580	268	842	300	362	233

Note: Negative control: Saline (pH 7). – = without S9; + = with S9. Results are presented as the mean colony numbers per dose group.

[a] Microbial toxicity was observed.

2.6.7.17.2.3 不純物　C　の毒性試験

2.6.7.17.2.3.1 不純物　C　の細菌を用いる復帰突然変異試験

Study title: Impurity C : Bacterial Reverse Mutation Assay
Test for induction of: Reverse gene mutation
Strains: *S. typhimurium*, *E. coli*
Metabolizing system: Rat liver S9
Vehicles: DMSO
Treatment: Preincubation (20 min at 37°C), 48-72h incubation
Cytotoxic effects: Microbial toxicity was not observed.

Test Article: Impurity C
No. of independent assays: 1
No. of replicate cultures: 3
Date of treatment: [redacted] 20[redacted]
Genotoxic effects: Non genotoxic

Study No.: [redacted]001[redacted]
Location in CTD: 4.2.3.7.6－7
GLP compliance: Yes

Strain:		WP2*uvrA*		TA100		TA1535		TA98		TA1537	
S9:		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Dose (μg/plate):	Negative control	13	19	129	172	21	16	19	25	5	9
	78	11	14	120	131	19	17	17	30	4	6
	156	13	13	122	167	21	15	16	30	7	7
	313	13	11	137	193	20	14	16	28	6	6
	625	10	21	133	200	23	20	13	37	5	10
	1250	13	17	122	181	17	14	16	33	5	6
	2500	17	14	128	173	21	13	13	35	6	8
	5000	11	19	117	165	14	20	19	28	5	6
	Positive control (Dose, μg/plate)	MM (1000)	2-AA (10)	NaN_3 (1.0)	2-AA (1.0)	NaN_3 (1.0)	2-AA (1.0)	2-NF (1.0)	2-AA (1.0)	9-AA (75)	2-AA (1.0)
		247	433	562	1229	407	177	178	1193	731	168

Note: Negative control: DMSO. – = without S9; + = with S9. Results are presented as the mean colony numbers per dose group.
[a] Precipitation.