KHK7791

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

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

協和キリン株式会社

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
CKD	Chronic kidney disease（慢性腎臓病）
CP	Cyclophosphamide monohydrate（シクロホスファミド一水和物）
DMSO	Dimethylsulfoxide（ジメチルスルホキシド）
ENaC	Epithelial sodium channel（上皮性ナトリウムチャネル）
FDA	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
HPBL	Human Peripheral Blood Lymphocytes（ヒト末梢血リンパ球）
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use（医薬品規制調和国際会議）
IE	Immature erythrocytes（幼若赤血球）
MIE	Micronucleated immature erythrocytes（小核を有する幼若赤血球）
MMC	Mitomycin C（マイトマイシン C）
MTD	Maximum tolerated dose（最大耐量）
NA	Not applicable（適応外）
NHE3	Na^+/H^+ exchanger isoform 3（ナトリウムイオン／プロトン交換輸送体 3）
NMU	N-methyl-N-nitrosourea（N-メチル-N-ニトロソ尿素）
PCE	Polychromatic erythrocytes（多染性赤血球）
QSAR	Quantitative Structure-activity relationship（定量的構造活性相関）
TK	Toxicokinetics（トキシコキネティクス）
Tg	Transgenic（遺伝子導入）

用語の定義

用語	定義
AUC	血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	投与後 t 時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24}$	投与後 24 時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}6}$	投与後 6 時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{last}	最終測定時点までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
BLQ	定量下限未満
C_{max}	最高血漿中薬物濃度
C_{min}	血漿中濃度のトラフ値
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
KHK7791	テナパノル塩酸塩、開発番号
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LLOQ	定量下限
M1	KHK7791 代謝物
t_{max}	最高血漿中薬物濃度到達時間

目次

略号及び用語の定義一覧 2
2.6.6 毒性試験の概要文 9
1 まとめ 9
1.1 結果の要約 13
1.1.1 単回投与毒性試験 13
1.1.2 反復投与毒性試験 13
1.1.3 遺伝毒性試験 14
1.1.4 がん原性試験 14
1.1.5 生殖発生毒性試験 14
1.1.6 幼若動物試験 14
1.1.7 主要代謝物 M1 の毒性試験 15
1.1.8 不純物の安全性確認試験 15
2 単回投与毒性試験 15
2.1 ラットを用いた単回経口投与毒性試験（RDX5791-TX-01）参考資料 4.2.3.1-1 15
3 反復投与毒性試験（TK 評価を含む） 16
3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験 16
3.1.1 マウスを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-08）参考資料 4.2.3.2-1 16
3.1.2 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 14 日間回復性試験（RDX5791-TX-09）評価資料 4.2.3.2-2 16
3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験 17
3.2.1 ラットを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験（RDX5791-TX-02）参考資料 4.2.3.2-3 17
3.2.2 ラットを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-03）参考資料 4.2.3.2-4 18
3.2.3 ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（RDX5791-07）評価資料 4.2.3.2-5 18
3.2.4 ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 14 日間回復性試験（RDX5791-TX-5）評価資料 4.2.3.2-6 19
3.2.5 ラットを用いた 3 ヵ月間反復経口投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 28 日間回復性試験（RDX5791-TX-10）評価資料 4.2.3.2-7 22
3.2.6 ラットを用いた 6 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び雄性ラット授胎能評価試験（[redacted]-775030）評価資料 4.2.3.2-8 22
3.3 イヌを用いた反復投与毒性試験 23
3.3.1 イヌを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-04）参考資料 4.2.3.2-9 23
3.3.2 イヌを用いた 28 日間反復経口投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 14 日間回復性試験（RDX5791-TX-06）評価資料 4.2.3.2-10 24

3.3.3 イヌを用いた 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（RDX5791-TX-11）評価資料 4.2.3.2-11 24
3.3.4 イヌを用いた 9 ヵ月間反復経口投与毒性試験（[redacted]-775031）評価資料 4.2.3.2-12 25
4 遺伝毒性試験 26
4.1 in vitro 試験 26
4.1.1 細菌を用いた in vitro 試験 26
4.1.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（RDX5791-GT-02）評価資料 4.2.3.3.1-1 26
4.1.2 哺乳類培養細胞を用いた in vitro 試験 26
4.1.2.1 哺乳類培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（RDX5791-GT-03）評価資料 4.2.3.3.1-2 26
4.2 in vivo 試験 27
4.2.1 マウスを用いた骨髄小核試験（RDX5791-GT-04）評価資料 4.2.3.3.2-1 27
4.2.2 ラットを用いた静脈内投与最大耐量毒性試験（3570[redacted]）参考資料 4.2.3.3.2-2 27
4.2.3 ラットを用いた骨髄小核試験（3585[redacted]）評価資料 4.2.3.3.2-3 27
5 がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 28
5.1 長期がん原性試験 28
5.1.1 ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験(20049785)評価資料 4.2.3.4.1-1 28
5.2 短期又は中期がん原性試験 30
5.2.1 予備試験 30
5.2.1.1 CByB6F1 ハイブリッドマウスを用いた経口投与最大耐量及び用量設定試験（0976[redacted]）参考資料 4.2.3.4.2-1 30
5.2.1.2 CByB6F1 ハイブリッドマウスを用いた 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（0977[redacted]）評価資料 4.2.3.4.2-2 31
5.2.2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験（RDX5791-TX-16）評価資料 4.2.3.4.2-3 31
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） 32
6.1 受胎能及び初期胚発生 32
6.1.1 マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（0967[redacted]）評価資料 4.2.3.5.1-1 32
6.1.2 ラットを用いた 6 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び雄性ラット授胎能評価試験（[redacted]-775030）評価資料 4.2.3.2-8 33
6.2 胚・胎児発生 34
6.2.1 ラットを用いた試験 34
6.2.1.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-12）評価資料 4.2.3.5.2-1 34
6.2.1.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する反復経口投与試験（RDX5791-TX-14）評価資料 4.2.3.5.2-2 34
6.2.2 ウサギを用いた試験 35
6.2.2.1 非妊娠ウサギを用いた反復経口投与用量設定試験:バイオアナリシス及びトキシコキネティクス評価（0333[redacted]）参考資料 4.2.3.5.2-3 35

6.2.2.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-13）評価資料 4.2.3.5.2-4 35
6.2.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する反復経口投与試験（RDX5791-TX-15）評価資料 4.2.3.5.2-5 36
6.2.3 ゼブラフィッシュを用いた試験 37
6.2.3.1 ゼブラフィッシュを用いた胚発生毒性試験（ZEDTA）（Batch 23）参考資料 4.2.3.5.2-6 37
6.3 出生前・出生後の発生並びに母動物の機能 37
6.3.1 マウスを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する反復経口投与試験（[redacted]-775035）評価資料 4.2.3.5.3-1 37
6.4 幼若動物試験 38
6.4.1 幼若ラットを用いた 21 日間反復経口投与毒性試験（1884[redacted]）参考資料 4.2.3.5.4-1 38
6.4.2 幼若ラットを用いた 20 日間反復経口投与用量設定試験（00775062）参考資料 4.2.3.5.4-2 38
6.4.3 幼若ラットを用いた 21 日間反復経口投与用量設定試験（2050[redacted]）参考資料 4.2.3.5.4-5 40
6.4.4 幼若ラットを用いた 8 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（00775063）評価資料 4.2.3.5.4-3 40
6.4.5 幼若ラットを用いた 60 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（20301378）評価資料 4.2.3.5.4-4 41
7 局所刺激性試験 42
8 その他の毒性試験 42
8.1 代謝物の毒性試験 42
8.1.1 マウスを用いた M1 の単回経口投与毒性試験（RDX5791-M1-01）参考資料 4.2.3.7.5-1 43
8.1.2 ラットを用いた M1 の単回経口投与毒性試験（RDX5791-M1-06）参考資料 4.2.3.7.5-2 43
8.1.3 マウスを用いた M1 の 4 日間反復経口投与毒性試験（RDX5791-M1-03）参考資料 4.2.3.7.5-3 43
8.1.4 マウスを用いた M1 の 14 日間反復経口投与毒性試験（RDX5791-M1-04）参考資料 4.2.3.7.5-4 44
8.1.5 rasH2 マウスを用いた M1 の 28 日間反復経口投与用量設定試験及びトキシコキネティクス試験（[redacted]-775038）評価資料 4.2.3.7.5-5 44
8.1.6 細菌を用いた M1 の復帰突然変異試験（3581[redacted]）評価資料 4.2.3.7.5-6 44
8.1.7 L5178Y 細胞を用いた M1 の in vitro 小核試験（3522[redacted]）評価資料 4.2.3.7.5-7 45
8.1.8 rasH2 マウスを用いた M1 のがん原性試験（RDX5791-TX-16）評価資料 4.2.3.4.2-3 45
8.1.9 ラットを用いた M1 の胚・胎児発生に関する反復経口投与用量設定試験（[redacted]-775033）参考資料 4.2.3.7.5-8 46

8.1.10 ラットを用いた M1 の胚・胎児発生に関する反復経口投与試験（[redacted]-775034）評価資料 4.2.3.7.5-9 46
8.1.11 ゼブラフィッシュを用いた胚発生毒性試験（ZEDTA）（Batch 23）参考資料 4.2.3.5.2-6 47
8.2 不純物の検討 47
8.2.1 Derek Nexus 及び Leadscope を用いたテナパノルの不純物の細菌に対する変異原性の予測（[redacted]002drkls）参考資料 4.2.3.7.6-1 48
8.2.2 テナパノル塩酸塩の毒性試験における不純物の安全性確認（RDX5791-TX-17）参考資料 4.2.3.7.6-2 48
9 考察及び結論 49
9.1 テナパノル塩酸塩の毒性 49
9.1.1 単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験 49
9.1.1.1 消化管に対する影響 49
9.1.1.2 脱水による影響 51
9.1.1.3 白血球及びリンパ組織に対する影響 51
9.1.1.4 全身曝露 51
9.1.1.5 消化管に対する影響の種差 51
9.1.1.6 ヒトにおける安全性の考察 52
9.1.2 遺伝毒性試験 52
9.1.3 がん原性試験 53
9.1.4 生殖発生毒性試験 53
9.1.5 幼若動物試験 53
9.2 M1 の毒性 54
9.3 不純物及び分解物に関する評価 55
10 総括 56
11 参考文献 56
12 図表 57
13 補遺 57

表

Table 1-1 毒性試験の一覧 10
Table 1-2 M1 の毒性試験の一覧 12
Table 3.2.4-1 投与終了後剖検時（雄は 18 日目、雌は 15 日目）における病理組織学的所見の発現例数 21
Table 4.2.1-1 マウスを用いた骨髄小核試験における薬物動態パラメータ 27
Table 4.2.3-1 雄性ラットにテナパノル塩酸塩を 10 mg/kg/day で静脈内投与したときの血漿中濃度 28
Table 5.1.1-1 各投与群における評価動物の死亡の内訳のまとめ 29
Table 5.1.1-2 途中死亡動物の死因に関連しうる所見 29
Table 6.1.1-1 雌マウスの交配成績及び受胎能 33
Table 6.1.1-2 雌マウスの交配成績及び受胎能指数 33
Table 8.2.1-1 In silico 解析により ICH M7 のクラス 1～4 に分類されたテナパノル関連物質 48
Table 9.1.1.1-1 反復経口投与毒性試験の病理組織学的検査で認められた腸管における主な所見 50
Table 9.3-1 安全性評価を実施した不純物及び分解物における規格値 55

補遺

補遺 1 ラットを用いた 28 日間反復経口（混餌）投与毒性試験（試験番号[redacted]-775029） 57
補遺 2 細菌を用いた簡易復帰突然変異試験（試験番号 RDX5791-GT-01） 57
補遺 3 細菌を用いた M1 の復帰突然変異試験（試験番号[redacted]00031） 57

2.6.6 毒性試験の概要文

1 まとめ

KHK7791（一般名：テナパノル塩酸塩）は、主に腸管上皮細胞の頂端膜に発現する Na^+/H^+交換輸送体である NHE3 に対する選択的阻害薬であり、腸管からのリン吸収低下作用を有するとともに、腸管からのナトリウムイオンの吸収低下に伴い、腸管における水分吸収低下作用も併せ持つ。

テナパノル塩酸塩の毒性を評価するために、単回投与毒性試験（ラット）、反復投与毒性試験（マウス：最長 1 ヵ月、ラット：最長 6 ヵ月、イヌ：最長 9 ヵ月）、遺伝毒性試験、がん原性試験（Tg rasH2 マウス：6 ヵ月、ラット：2 年）、生殖発生毒性試験（マウス、ラット、ウサギ、ゼブラフィッシュ）、幼若毒性試験（ラット：生後 5～61 日目及び生後 21～80 日目）を実施した。その他の毒性試験として、不純物の安全性を確認した。臨床投与経路が経口であるため、局所刺激性試験は実施しなかった。

毒性試験の一覧を Table 1-1 に示した。

Table 1-1 毒性試験の一覧

試験の種類 及び期間	投与経路	動物種／系統 （動物数）	報告書番号	GLP
単回投与毒性				
単回	経口	ラット/Sprague Dawley （雌、n=3/群）	RDX5791-TX-01	非適用
反復投与毒性				
7 日（用量設定）	経口	マウス/CD-1(ICR) （n=5/性/群）	RDX5791-TX-08	非適用
28 日	経口	マウス/CD-1(ICR) （n=20/性/群）	RDX5791-TX-09*	適用
7 日	経口	ラット/Sprague Dawley （n=5/性/群）	RDX5791-TX-02	非適用
7 日（用量設定）	経口	ラット/Sprague Dawley （n=5/性/群）	RDX5791-TX-03	非適用
14 日	経口	ラット/Sprague Dawley （n=15/性/群）	RDX5791-07	適用
28 日	経口	ラット/Sprague Dawley （n=15/性/群）	RDX5791-TX-5*	適用
3 ヵ月	経口	ラット/Sprague Dawley （n=10～15/性/群）	RDX5791-TX-10*	適用
6 ヵ月	経口	ラット/Sprague Dawley （n=雄 20/群、雌 15/群）	[redacted]-775030	適用
7 日（用量設定）	経口（カプセル）	イヌ/ビーグル （n=1/性/群）	RDX5791-TX-04	非適用
28 日	経口（カプセル）	イヌ/ビーグル （n=3～5/性/群）	RDX5791-TX-06*	適用
3 ヵ月	経口（カプセル）	イヌ/ビーグル （n=4～6/性/群）	RDX5791-TX-11*	適用
9 ヵ月	経口（カプセル）	イヌ/ビーグル （n=4/性/群）	[redacted]-775031	適用

Table 1-1 毒性試験の一覧（続き）

試験の種類 及び期間	投与経路	動物種／系統 （動物数）	報告書番号	GLP
遺伝毒性				
復帰突然変異 （Ames 試験）	in vitro	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、 TA1537、 大腸菌 WP2 *uvrA*/pKM101	RDX5791-GT-02	適用
哺乳類培養細胞を用いた染色体異常	in vitro	ヒト末梢血リンパ球	RDX5791-GT-03	適用
小核	経口	マウス/CD-1(ICR) （n=5/性/群）	RDX5791-GT-04	適用
5～7 日 （用量設定）	静脈内	ラット/Wistar Han （雄、n=1～3/群）	3570[redacted]	非適用
小核	静脈内	ラット/Wistar Han （雄、n=7/群）	3585[redacted]	適用
がん原性				
104 週	経口	ラット/Sprague Dawley （n=60/性/群）	20049785	適用
1 日 （最大耐量） 7 日 （用量設定）	経口	マウス/CByB6F1 ハイブリッド （n=2～6/性/群）	0976[redacted]	非適用
1 ヵ月 （用量設定）	経口	マウス/CByB6F1 ハイブリッド（n=10/性/群）	0977[redacted]	適用
26 週	経口	マウス/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic （n=25/性/群）	RDX5791-TX-16	適用
生殖発生毒性				
受胎能及び初期胚発生	交配 14 日前から交配 6 日後、経口	マウス/CD-1(ICR) （雌、n=24/群）	0967[redacted]	適用
授胎能	経口	ラット/Sprague Dawley （雄、n=20/群）	[redacted]-775030	適用
胚・胎児発生 （用量設定）	妊娠 6～17 日目に経口	ラット/Sprague Dawley （妊娠雌、n=8/群）	RDX5791-TX-12	適用
胚・胎児発生	妊娠 6～17 日目に経口	ラット/Sprague Dawley （妊娠雌、n=25/群）	RDX5791-TX-14*	適用
胚・胎児発生 （曝露確認）	経口	ウサギ/ニュージーランド白色種（雌、n=3/群）	0333[redacted]	非適用
胚・胎児発生 （用量設定）	妊娠 7～20 日目に経口	ウサギ/ニュージーランド白色種（妊娠雌、n=6/群）	RDX5791-TX-13	適用
胚・胎児発生	妊娠 7～20 日目に経口	ウサギ/ニュージーランド白色種（妊娠雌、n=22/群）	RDX5791-TX-15*	適用
胚発生	in vivo	ゼブラフィッシュ	Batch 23	非適用
出生前及び出生後の発生並びに母体機能	妊娠 6 日目から授乳 20 日目まで経口	マウス/CD-1(ICR) （n=25/群）	[redacted]-775035	適用
幼若毒性 （予備忍容性）	生後 5～26 日目に経口	ラット/Sprague Dawley （n=10/性/群）	1884[redacted]	非適用
幼若毒性 （用量設定）	生後 5～24 日目に経口	ラット/Sprague Dawley （n=10/性/群）	00775062	非適用

Table 1-1 毒性試験の一覧（続き）

試験の種類 及び期間	投与経路	動物種／系統 （動物数）	報告書番号	GLP
生殖発生毒性（続き）				
幼若毒性 （用量設定）	生後 21～41 日目に経口	ラット/Sprague Dawley （n=6/性/群）	2050[redacted]	非適用
幼若毒性	生後 5～61 日目に経口	ラット/Sprague Dawley （n=40/性/群）	00775063	適用
幼若毒性	生後 21～80 日目に経口	ラット/Sprague Dawley （n=20/性/群）	20301378	適用
その他の毒性試験：不純物				
Derek Nexus 及び Leadscope を用いた変異原性の予測（QSAR）	in silico	NA	[redacted]002drkls	非適用
不純物及び分解物の安全性確認	NA	NA	RDX5791-TX-17	非適用

* 当該試験において、血漿中濃度測定（テナパノル塩酸塩として算出）に使用した標準物質の純度について、試験結果報告時に使用した分析値は分析法が確立されていない初期の分析結果（96.3%）であり、試験終了後に追加分析に基づき純度が更新された（86.8%）。純度の更新に伴い、真の血漿中薬物濃度は、テナパノル塩酸塩換算で、報告値の 1.1 倍となる。報告値と真の薬物濃度の乖離（10%）は、本邦の分析法バリデーションに関するガイドライン（厚生労働省ガイドライン「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」薬食審査発 0711 第 1 号平成 25 年 7 月 11 日）で定められている真度の許容基準（理論値の±15%以内）内であり、薬物濃度から算出される全身曝露や本剤の薬物動態及び安全性プロファイルの解釈に与える影響は顕著でない。

主要代謝物 M1 の毒性を評価するために、単回投与毒性試験（マウス、ラット）、反復投与毒性試験（マウス：最長 1 ヵ月）、遺伝毒性試験、がん原性試験（rasH2 トランスジェニックマウス：6 ヵ月）、生殖発生毒性試験（ゼブラフィッシュ、ラット）を実施した。テナパノル塩酸塩の毒性及び TK を評価した多くの試験では M1 の TK データも示した。M1 の毒性試験の一覧を Table 1-2 に示した。

Table 1-2 M1 の毒性試験の一覧

試験の種類及び期間	投与経路	動物種／系統 （動物数）	報告書番号	GLP
単回投与毒性				
単回	経口	マウス/ C57BL/6 （雄、n=3~4/群）	RDX5791-M1-01	非適用
単回	経口	ラット/Sprague Dawley （n=3/性/群）	RDX5791-M1-06	非適用
反復投与毒性				
4 日	経口	マウス/C57BL/6 （n=3/性/群）	RDX5791-M1-03	非適用
14 日	経口	マウス/CByB6Fl/J （n=6/性/群）	RDX5791-M1-04	非適用
28 日	経口	マウス/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic （n=10/性/群）	[redacted]-775038	適用
遺伝毒性				
復帰突然変異	in vitro	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、 TA1537、 大腸菌 WP2 *uvrA*/pKM101	3581[redacted]	適用
in vitro 小核	in vitro	L5178Y 細胞	3522[redacted]	適用

Table 1-2 M1 の毒性試験の一覧（続き）

試験の種類及び期間	投与経路	動物種／系統 （動物数）	報告書番号	GLP
がん原性				
26 週	経口	マウス/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic （n=25/性/群）	RDX5791-TX-16	適用
生殖発生毒性				
胚・胎児発生 （用量設定）	経口	ラット/Sprague Dawley （妊娠雌、n=8/群）	[redacted]-775033	適用
胚・胎児発生	経口	ラット/Sprague Dawley （妊娠雌、n=25/群）	[redacted]-775034	適用
胚発生	in vivo	WIK ゼブラフィッシュ	Batch 23	非適用

1.1 結果の要約

1.1.1 単回投与毒性試験

ラットに 300 mg/kg の用量でテナパノル塩酸塩を単回経口投与した結果、薬理作用に基づく下痢及び摂餌量の減少、飲水量の増加が認められたが、一般状態の悪化や瀕死・死亡例は認められなかった。このため、単回投与の MTD は 300 mg/kg を超える用量と判断した。

1.1.2 反復投与毒性試験

テナパノル塩酸塩の反復経口投与毒性試験は、マウス、ラット及びイヌを用いて実施した。

マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験では、薬理作用に基づく軟便、体重の増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。10 mg/kg/day 投与群の雄及び 50 mg/kg/day 以上の投与群の雌雄で直腸粘膜の炎症細胞浸潤、200 mg/kg/day 投与群の雌雄で腸管の陰窩細胞の壊死、雌で直腸の杯細胞の減少が認められた。上記変化は休薬により回復性が認められた。

ラットを用いた反復経口投与毒性試験では、薬理作用に基づく軟便、下痢、体重の増加抑制又は減少、摂餌量の減少、飲水量の増加が認められた。14 日間反復経口投与毒性試験では、0.1 mg/kg/day 以上の投与群の雌雄で大腸の炎症及び杯細胞の減少が認められた。28 日間反復経口投与毒性試験では､30 mg/kg/day 以上の投与群で消化管毒性による途中死亡例が認められた。生存例では、30 mg/kg/day 以上の投与群で小腸又は大腸で炎症細胞浸潤、粘膜上皮のびらん、萎縮、腺上皮の壊死又は杯細胞の減少が認められたほか、リンパ節、脾臓、胸腺、骨髄のリンパ球又は細胞の減少、腎臓の硝子円柱及び尿細管の変性/再生が認められた。30 mg/kg/day 以上の投与群の雄では、凝固腺及び精嚢の分泌物の減少も認められた。3 ヵ月間反復経口投与毒性試験では、5 mg/kg/day 投与群まで毒性学的意義のある変化は認められなかった。6 ヵ月間反復経口投与毒性試験では、10 mg/kg/day 投与群の雄 2 例で、消化管毒性による死亡が認められた。

イヌを用いた反復経口投与毒性試験では、薬理作用に基づく軟便及び／又は下痢がすべての投与群（50～1000 mg/kg/day）で認められたが、最長 9 ヵ月間、最高用量の 1000 mg/kg/day まで毒性学的意義のある変化は認められなかった。

マウス、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験においては、軟便及び下痢に基づく一般状態の悪化や瀕死及び死亡、並びに病理学的検査における細胞壊死の所見を除き、薬理作用に基づく作用については毒性と判断しなかった。最長の投与期間における無毒性量は、マウスに

おいて 50 mg/kg/day、ラットにおいて雄は 3 mg/kg/day、雌は 10 mg/kg/day、イヌにおいて 1000 mg/kg/day であった。

1.1.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro の染色体異常試験、マウス及びラットを用いた小核試験で遺伝毒性を評価し、テナパノル塩酸塩は遺伝毒性を示さないと判断した。

1.1.4 がん原性試験

ラット及び rasH2 マウスを用いたがん原性試験によりがん原性を評価し、テナパノル塩酸塩はがん原性を示さないと判断した。

1.1.5 生殖発生毒性試験

マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット反復経口投与毒性試験で実施した授胎能評価、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、ゼブラフィッシュを用いた胚発生毒性試験並びにマウスを用いた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により生殖発生毒性を評価した。

CD-1 マウスにテナパノル塩酸塩を 50 mg/kg/day まで反復経口投与した結果、雌の受胎能、交配能、妊娠能及び初期胚発生に影響は認められなかった。また、雄 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 10 mg/kg/day まで反復経口投与して、無処置雌と交配したときに、雄の生殖能（交配能、授胎能及び交尾能）、胚の子宮内生存率にテナパノル塩酸塩投与に関連した影響は認められなかった。

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、母動物に薬理作用に基づく軟便及び下痢等が認められたが、いずれの動物種も、評価可能な最高用量（ラット：1 mg/kg/day、ウサギ：45 mg/kg/day）まで、子宮重量、胎児の発育及び生存、胎児の外表異常、内臓及び骨格の異常や変異は認められなかった。ゼブラフィッシュを用いた胚発生毒性試験では、100 μmol/L まで催奇形性を誘発しなかった。

マウスを用いた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では、テナパノル塩酸塩投与による母動物の妊娠期間、分娩状態、着床数、着床後死亡への影響は認められなかった。60 及び 200 mg/kg/day 投与群では、授乳期間中の F_1 児において、体重の低値及び体重増加抑制に一過性の影響が認められたが、離乳後の F_1 生存率、F_1 体重増加及び F_1 生殖能又は F_2 出生後生存率にテナパノル塩酸塩の影響は認められなかった。母動物の全身毒性に対する無毒性量は 200 mg/kg/day、F_1 新生児の発生毒性に関する無毒性量は 20 mg/kg/day、F_1 親動物に対する全身及び生殖毒性並びに F_2 新生児に関する無毒性量は 200 mg/kg/day と判断した。

1.1.6 幼若動物試験

幼若ラット（生後 5～61 日齢）を用いたテナパノル塩酸塩の反復経口投与試験では、0.3 mg/kg/day 投与群で瀕死／死亡が認められた。生存例では、最高用量の 0.3 mg/kg/day まで幼若ラットの発育分化、機能発達及び生殖能に対する影響は認められなかった。成体ラットでも認められている肛門性器周辺の褐色物質沈着並びに体重増加量及び摂餌量の減少が 0.3 mg/kg/day 投与群で認められた。幼若ラット（生後 21～80 日齢）を用いたテナパノル塩酸塩の反復経口投与試験では、最高用量（雄：0.7 mg/kg/day、雌：1.0 mg/kg/day）までテナパノル塩酸塩投与に起因した瀕死／死亡例は認められなかった。成体ラットでも認められている軟便や

水様便、体重減少及び体重増加抑制が 0.3 mg/kg/day 投与群で認められた。ラットの幼若動物に対する無毒性量は、生後 5～61 日齢及び生後 21～80 日齢のいずれの投与群においても、雌雄ともに 0.1 mg/kg/day と判断した。

1.1.7 主要代謝物 M1 の毒性試験

主要代謝物 M1 のマウス単回経口投与毒性試験の結果、1000 mg/kg 投与群で自発運動低下、嗜眠、振戦、接触時冷感及び努力性呼吸が認められ 4 例中 2 例を切迫安楽死させた。ラット単回経口投与毒性試験では、1000 mg/kg まで毒性所見は認められなかった。

反復投与毒性試験の結果、C57BL/6 マウスの 4 日間反復経口投与毒性試験では、100 mg/kg/day まで忍容性が認められた。CByB6Fl/J マウスの 14 日間反復経口投与毒性試験で 1000 mg/kg/day を投与した雌雄各 6 例及び 500 mg/kg/day を投与した雌雄各 3 例が、3～9 日目に死亡発見又は切迫安楽死された。死亡前には、嗜眠、呼吸困難、振戦、流涎、円背姿勢、体温低下、立毛及び瀕死が認められた。rasH2 マウスの 28 日間反復経口投与毒性試験では、250 mg/kg/day まで毒性学的意義のある変化は認められなかった。

細菌を用いた復帰突然変異試験、マウス L5178Y 細胞を用いた in vitro 小核試験で遺伝毒性を評価し、M1 は遺伝毒性を示さないと判断した。

rasH2 マウスを用いたがん原性試験でがん原性を評価し、M1 はがん原性を示さないと判断した。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の結果、M1 の 400 mg/kg 投与群の 1 例で妊娠 17 日目に瀕死が認められた。400 mg/kg 投与群で母動物の体重減少、体重増加抑制、摂餌量の減少が認められた。400 mg/kg 投与群で、生存胎児数の減少、胎児の平均体重の減少、形態異常（局所又は全身性の浮腫及び骨格異常）及び変異（脾臓の淡色化及び小型化、骨格変異、骨化不全）の増加が認められた。したがって、M1 は催奇形性を有すると判断した。

1.1.8 不純物の安全性確認試験

テナパノル関連物質の全 39 構造について、Derek Nexus 及び Leadscope を用いた in silico 解析により変異原性を予測した結果、テナパノル及び M1 を含む 32 構造がクラス 5 に、7 構造がクラス 4 以上に分類された。クラス 1 の塩化ベンジルは許容摂取量 40.6 μg/日が提案された。

安全性評価対象として特定された全 10 種類の不純物及び分解物について、イヌの反復経口投与毒性試験、遺伝毒性試験並びに Derek Nexus 及び Leadscope を用いた変異原性の in silico 解析の結果に基づいて安全性を確認した。イヌの無毒性量における各不純物及び分解物の存在量は、ヒトにおける一日最大投与量に対して十分な安全域を有することを確認した。In silico 解析による変異原性予測では、10 種類すべての不純物及び分解物がクラス 5 に分類された。

2 単回投与毒性試験

2.1 ラットを用いた単回経口投与毒性試験（RDX5791-TX-01）参考資料 4.2.3.1-1

雌の Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 300 mg/kg の用量で単回経口投与した（3 例／群）。試験期間は投与後約 48 時間までとし、検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定を実施した。

試験終了時まで死亡例は認められなかった。一般状態観察では、投与後 6～16 時間に認められた下痢を除いて、異常は認められなかった。テナパノル塩酸塩投与群では摂餌量が有意に減少し、飲水量が有意に増加した。

以上より、ラットにおける単回経口投与による MTD は 300 mg/kg を超える用量と判断した。

3 反復投与毒性試験（TK 評価を含む）

3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験

3.1.1 マウスを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-08）参考資料 4.2.3.2-1

マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験の用量設定を目的として、雌雄の CD-1 マウスに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与した（5 例／性／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、血液学的検査、剖検及び器官重量測定を実施した。

その結果、試験期間を通してテナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。

一般状態観察では、100 及び／又は 300 mg/kg/day 投与群の雌雄で軟便及び／又は粘液便が認められた。100 及び 300 mg/kg/day 投与群の雄では、肛門周囲の被毛の汚れが認められた。更に、300 mg/kg/day 投与群の雌雄では、体重増加抑制、摂餌量及び飲水量の減少も認められた。

血液学的検査、器官重量測定及び剖検では、いずれも毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

以上より、マウスにテナパノル塩酸塩を 7 日間反復経口投与した結果、一般状態の悪化につながる変化は認められなかったことから、本試験における MTD は評価した最高用量である 300 mg/kg/day と判断した。

3.1.2 マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 14 日間回復性試験（RDX5791-TX-09）評価資料 4.2.3.2-2

雌雄の CD-1 マウスに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、10、50 及び 200 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した。投与 28 日間時点での解剖群（10 例／性／群）に加えて回復群（10 例／性／群）を設け、14 日間の休薬期間後の回復性を評価した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（36 例／性／群、媒体投与群のみ 6 例／性／群）。

その結果、媒体投与群の 2 例、50 mg/kg/day 投与群の 2 例、200 mg/kg/day 投与群の 5 例（サテライト群の 1 例を含む）において瀕死又は死亡が認められた。媒体投与群の 1 例及び 200 mg/kg/day 投与群の 4 例では投与過誤を示唆する病理所見が認められた。その他の媒体投与群の 1 例、50 mg/kg/day 投与群の 2 例及び 200 mg/kg/day 投与群の 1 例（サテライト群）では、瀕死又は死亡の前日まで一般症状に明らかな変化が認められていないことから、本試験で認められた瀕死又は死亡はテナパノル塩酸塩投与による影響ではないと判断した。

一般状態観察では、50 及び 200 mg/kg/day 投与群の雄で軟便及び肛門周囲の被毛の汚れが認められた。また、50 及び／又は 200 mg/kg/day 投与群の雌雄では体重増加抑制と摂餌量の減少が認められ、いずれも軟便に起因する変化と考えられた。

飲水量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び剖検ではテナパノル塩酸塩投与に関連した所見は認められなかった。

器官重量では、200 mg/kg/day 投与群の雌で心臓及び脾臓の絶対重量及び対体重比重量の軽度の減少が認められたが、関連する病理組織学的所見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。

病理組織学的検査では、200 mg/kg/day 投与群の死亡例のうち 3 例で腸管（十二指腸、空腸、回腸及び／又は盲腸）の陰窩細胞に壊死が認められ、同群の雌 1 例では直腸粘膜の杯細胞の減少が認められた。また、10、50 及び 200 mg/kg/day 投与群の雄並びに 50 及び 200 mg/kg/day 投与群の雌では、直腸粘膜に炎症細胞浸潤が認められた。回復群において、いずれの病理組織学的変化も、14 日間の休薬後に回復性が確認された。

サテライト群の薬物動態パラメータを 2.6.7-7.1.1 項に示した。テナパノルの全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）はおおむね用量の増加に伴って上昇したが、雄については 0 日目の C_{max} は 50 mg/kg/day 投与群の方が 200 mg/kg/day 投与群に比べて高く、27 日目では 10 mg/kg/day と 50 mg/kg/day 投与群で同等であった。雌については、27 日目の C_{max} は 50 と 200 mg/kg/day 投与群で同等であった。両性及びすべての投与量群について、27 日目の全身曝露量は 0 日目に比べて高い傾向を示し、蓄積性は雌の方が雄に比べて大きかった。0 日目の全身曝露量は雄の方が雌に比べて高く、27 日目では雌の方が雄に比べて高かった。

以上より、マウスにテナパノル塩酸塩を 28 日間反復経口投与した結果、テナパノル塩酸塩投与による一般状態の悪化や瀕死・死亡は認められなかったが、200 mg/kg/day 投与群で腸管の陰窩細胞に壊死が認められたことから、無毒性量は 50 mg/kg/day と判断した。

3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験

3.2.1 ラットを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験（RDX5791-TX-02）参考資料 4.2.3.2-3

雌雄の Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）及び 30 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与した（5 例／性／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、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を実施した。

その結果、試験期間を通してテナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。

一般状態観察、体重測定及び飲水量測定では、テナパノル塩酸塩投与群の雌雄ともに下痢や肛門周囲の被毛の汚れ、体重増加量の減少及び飲水量の増加が認められた。テナパノル塩酸塩投与群の雌では摂餌量の減少も認められた。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、テナパノル塩酸塩投与群の雄において、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の高値、リンパ球数の低値を伴う白血球数の低値、血清カリウム、リン及びコ　ステロールの有意な高値並びに血清重炭酸塩及びグルコースの低値が認められた。テナパノル塩酸塩投与群の雌では、血中尿素窒素／クレアチニン比の高値が認められた。これらの血液学的検査及び血液生化学的検査の変化は、いずれも下痢や軟便に伴う脱水に起因した変化と考えられた。

剖検では、テナパノル塩酸塩投与群の雌雄ともに水溶性内容物の貯留を伴う小腸、盲腸及び結腸の拡張が認められた。

病理組織学的検査では、テナパノル塩酸塩の投与に関連した所見は認められなかった。

以上より、ラットにテナパノル塩酸塩を 30 mg/kg/day の用量で投与した結果、下痢や体重増加抑制、摂餌量の減少及び飲水量の増加が認められたが、瀕死や死亡は認められなかったため、忍容性ありと判断した。

3.2.2 ラットを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-03）参考資料 4.2.3.2-4

ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験の用量設定を目的として、雌雄の Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与した（5 例／性／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、各群雄 2 例から採血し、全身曝露を評価した。

その結果、テナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。

一般状態観察では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で軟便、下痢及び肛門周囲の被毛の汚れが認められた。更に、同群の雌雄で、投与初期の摂餌量の減少及び試験期間を通した体重増加量の減少が認められた。

血液学的検査では、テナパノル塩酸塩の投与に関連した変化は認められなかった。血液生化学的検査では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌で血清リンの高値が認められた。その他、300 及び 1000 mg/kg/day 投与群の雄で尿素窒素、アルブミン及び総タンパクの高値、ナトリウム及びクロライドの低値が認められた。

300 mg/kg/day 投与群の雌で盲腸に褐色の液体貯留を伴う拡張が認められた。

器官重量では、テナパノル塩酸塩の投与に関連した明らかな変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で盲腸における杯細胞の減少、1000 mg/kg/day 投与群の雌では盲腸及び直腸における炎症細胞浸潤が認められた。

以上より、ラットにテナパノル塩酸塩を 7 日間反復経口投与した結果、最高用量の 1000 mg/kg/day まで一般状態の悪化や瀕死・死亡が認められなかったことから、ラットを用いたテナパノル塩酸塩の 28 日間反復経口投与毒性試験の高用量は 1000 mg/kg/day が妥当と判断した。また、本試験において 100 mg/kg/day から体重増加量の減少が認められたことから、低用量は 100 mg/kg/day 未満が妥当と判断した。

3.2.3 ラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（RDX5791-07）評価資料 4.2.3.2-5

雌雄の Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、0.1、1 及び 10 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与した（15 例／性／群）。投与 14 日間時点での解剖群（10 例／性／群）に加えて回復群（5 例／性／群）を設け、14 日間の休薬期間後の回復性を評価した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

その結果、試験期間を通してテナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。

一般状態観察では、1 及び 10 mg/kg/day 投与群で軟便及び下痢並びにそれらに伴う肛門周囲の被毛の汚れが認められた。

体重、摂餌量及び飲水量測定では、10 mg/kg/day 投与群の雄において投与期間中の体重増加量の減少及び投与初期に摂餌量の減少が認められた。また、10 mg/kg/day 投与群の雌雄で飲水量の増加が認められた。

眼科学的検査及び尿検査では、テナパノル塩酸塩の投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査では、10 mg/kg/day 投与群の雌で白血球数及びリンパ球数の低値が認められた。テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌では、好酸球数の低値が認められた。

血液生化学的検査では、10 mg/kg/day 投与群の雄で総タンパク、リン及びカリウムの高値、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雄で血清グルコース値の低値が認められた。これらの血液学的検査及び血液生化学的検査の変化は、休薬後に回復性が認められ、関連する病理組織学的変化を伴っていなかったことから、毒性学的意義は低いと判断した。

剖検では、テナパノル塩酸塩投与群の全群において盲腸の拡張及び褐色の水溶性内容物の貯留が認められた。

器官重量では、10 mg/kg/day 投与群の雄において、投与期間終了時に脾臓及び甲状腺／副甲状腺の絶対及び相対重量の減少が認められた。

病理組織学的検査では、テナパノル塩酸塩投与群の全群で盲腸、結腸及び直腸に杯細胞減少及び炎症細胞浸潤が認められた。器官重量測定及び病理組織学的検査で認められた所見は休薬後に回復性が認められ、かつ、軽微又は軽度の変化であったことから、いずれも毒性学的意義は低いと判断した。

以上より、ラットにテナパノル塩酸塩を 14 日間反復経口投与した結果、一般状態の悪化や瀕死・死亡例は認められず、毒性学的に意義のある変化が認められなかったことから、無毒性量は評価した最高用量である 10 mg/kg/day と判断した。

3.2.4 ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 14 日間回復性試験（RDX5791-TX-5）評価資料 4.2.3.2-6

雌雄の Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、30、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、雄は 18 日間、雌は 15 日間反復経口投与した。本試験では、投与 28 日間時点での解剖群（10 例／性／群）に加えて回復群（5 例／性／群）を設け、14 日間の休薬期間後の回復性を評価する予定であった。しかしながら、投与 12 日目以降にテナパノル塩酸塩投与群の全群で死亡例や一般状態の悪化が認められたため、雄は投与 18 日間、雌は投与 15 日間で投与を終了し、解剖を実施した。回復群の動物については 14 日間で投与を終了し、14 日間の休薬期間後に剖検を実施した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、眼科的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（6 例／性／群：媒体投与群のみ 3 例／性／群）。

その結果、投与 12 日目以降、サテライト群の動物を含め 11 例（30 mg/kg/day 投与群の雌 1 例、100 mg/kg/day 投与群の雌 3 例、300 mg/kg/day 投与群の雄 1 例及び雌 2 例、1000 mg/kg/day 投与群の雌 4 例）でテナパノル塩酸塩投与による死亡が認められた。雄 1 例の死因は消化管障害に起因すると考えられたが、雌全例の死因は不明であった。体重測定を実施した動物では、死亡前に顕著な体重減少が認められた。

一般状態観察では、テナパノル塩酸塩投与群の全例で投与期間を通して軟便、下痢及びそれらに伴う肛門周囲の被毛の汚れが認められた。更に、テナパノル塩酸塩投与群の全群で皮膚の弛緩及び削痩が認められた。

顕著な体重減少、摂餌量の減少及び飲水量の増加が、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で投与期間中に認められた。これらの変化は休薬後に回復性が認められた。

血液学的検査では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で、投与期間終了時に、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球ヘモグロビン濃度、赤血球容積分布幅、ヘモグロビン濃度分布幅（雌のみ）、好中球数及び単球数の高値、平均赤血球容積の低値（雌のみ）が認められた。休薬期間終了後時の検査では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値及び／又は網状赤血球数の高値が、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雄又は雌で認められた。

血液生化学的検査では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄でナトリウムの低値及び尿素窒素の高値が投与期間終了時に認められた。これらの変化は休薬後に回復性が確認された。更に、テナパノル塩酸塩投与群の全群で、投与期間終了時にアラニンアミノトランスフェラーゼ（雌雄）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（雌雄）、クレアチニン（雌）及び A/G 比（雌雄）の高値、並びにカリウム（雄）、アルブミン（雌）、コレステロール（雌）及びクロライド（雌）の低値が認められた。

尿検査では、テナパノル塩酸塩投与群全群の雌雄において、尿比重の低値が認められた。尿比重は休薬後に回復性が認められた。

剖検では、投与期間終了時の剖検例又は途中死亡例のテナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で盲腸、結腸、十二指腸、回腸、空腸及び胃に拡張及び／又は褐色液体内容物が認められた。更に、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で腋窩リンパ節、脾臓及び胸腺の小型化並びに皮膚、尾及び足の褐色汚染が認められた。休薬期間終了時の剖検では、100 mg/kg/day 投与群の雌及び 1000 mg/kg/day 投与群の雄で盲腸の拡張が認められ、1000 mg/kg/day 投与群の雄では皮膚の褐色汚染も認められた。

器官重量では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で脾臓の絶対重量並びに体重及び脳重量に対する相対重量の低値が投与期間終了時及び／又は休薬期間終了時に認められた。

病理組織学的検査で認められた所見を Table 3.2.4-1 に示した。テナパノル塩酸塩投与群の雄及び／又は雌では盲腸、結腸、十二指腸、回腸、空腸、直腸、腎臓、眼窩外涙腺、腸間膜リンパ節、腋窩リンパ節、脾臓、胸腺、大腿骨及び胸骨の骨髄に所見が認められたほか、雄では凝固腺及び精嚢にも所見が認められた。30 mg/kg/day 投与群におけるテナパノル塩酸塩の投与に関連した病理組織学的所見は、休薬後に回復性が確認された。

Table 3.2.4-1 投与終了後剖検時（雄は 18 日目、雌は 15 日目）における病理組織学的所見の発現例数

投与量（mg/kg/day）	雄					雌				
	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
盲腸 [a]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
杯細胞減少	0	5	10	10	10	0	6	4	3	6
炎症細胞浸潤	0	0	2	1	1	0	3	3	2	4
結腸 [a]	10	10	1	3	10	10	10	1	2	10
杯細胞減少	0	2	0	0	5	0	3	0	1	4
粘膜萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
十二指腸 [a]	10	0	1	0	10	10	10	0	1	10
杯細胞減少	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
回腸 [a]	10	10	1	3	10	10	10	1	2	10
杯細胞減少	0	2	1	1	4	0	4	0	0	6
空腸 [a]	10	10	1	0	10	10	10	1	1	10
杯細胞減少	0	1	1	0	1	0	2	0	0	1
直腸 [a]	10	10	0	0	10	10	10	0	0	10
杯細胞減少	0	5	0	0	8	0	8	0	0	10
びらん	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
炎症細胞浸潤	0	4	0	0	5	0	6	0	0	8
腺上皮壊死	0	4	0	0	5	0	2	0	0	4
腎臓 [a]	10	10	3	0	10	10	10	0	0	10
尿細管の硝子円柱	0	6	3	0	6	0	4	0	0	7
尿細管上皮変性	0	5	3	0	5	1	4	0	0	6
尿細管上皮再生	0	5	2	0	5	0	3	0	0	4
眼窩外涙腺 [a]	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10
萎縮	0	0	0	0	7	0	0	0	0	10
腸間膜リンパ節 [a]	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10
リンパ球減少	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
腋窩リンパ節 [a]	10	0	2	0	10	10	0	0	0	10
リンパ球減少	0	0	1	0	0	0	0	0	0	6
脾臓 [a]	10	0	2	3	10	10	1	1	1	10
リンパ球減少	0	0	2	1	1	0	1	1	1	6
胸腺 [a]	10	2	3	1	10	10	1	1	3	10
リンパ球減少	0	2	3	1	9	0	1	1	3	10
大腿骨骨髄 [a]	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10
細胞減少	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
胸骨骨髄 [a]	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10
細胞減少	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
凝固腺 [a]	1	1	2	2	7	NA	NA	NA	NA	NA
分泌低下	0	0	1	2	7	-	-	-	-	-
精嚢 [a]	10	2	4	3	10	NA	NA	NA	NA	NA
分泌低下	0	1	3	3	7	-	-	-	-	-

a: 各群の検査例数

サテライト群の薬物動態パラメータを 2.6.7-7.2.1 項に示した。テナパノルの全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）はおおむね用量の増加に伴って上昇した。また、テナパノルの全身曝露量は反復投与により増加した。30 mg/kg/day 投与群における 15 日目の C_{max} は、雄で 11.3 ng/mL、雌で 30.5 ng/mL、AUC_{last} は、雄で 135 ng·h/mL、雌で 387 ng·h/mL であった。

以上より、ラットにテナパノル塩酸塩を 15 又は 18 日間反復経口投与した結果、30 mg/kg/day 以上で死亡例や一般状態の悪化が認められたため、無毒性量は 30 mg/kg/day 未満と判断した。

3.2.5 ラットを用いた 3 ヵ月間反復経口投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 28 日間回復性試験（RDX5791-TX-10）評価資料 4.2.3.2-7

雌雄の Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、0.1、1 及び 5 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 91 日間（サテライト群は 90 日間）反復経口投与した。投与 3 ヵ月間時点での解剖群（10 例／性／群）に加えて回復群（5 例／性、0 及び 5 mg/kg/day 投与群）を設け、30 日間の休薬期間後の回復性を評価した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（9 例／性／群、媒体投与群のみ 3 例／性／群）。

その結果、テナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。

一般状態観察及び体重測定では、1 及び 5 mg/kg/day 投与群の雌雄で軟便や肛門周囲の被毛の汚れ及び体重の低値傾向が認められた。これらの症状変化は休薬後に回復性が確認された。

摂餌量測定では、1 及び 5 mg/kg/day 投与群の雌雄で投与初期に一過性の摂餌量の減少が認められた。

眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、毒性学的意義のある変化は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、テナパノル塩酸塩の投与に関連した変化は認められなかった。

器官重量では、5 mg/kg/day 投与群の雌で肝臓（投与期間終了時のみ）及び卵巣／卵管（投与期間及び休薬期間終了時）の重量の高値が認められたが、関連する病理組織学的所見は認められないことから毒性学的意義は低いと判断した。

サテライト群の血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算）を 2.6.7-7.2.2 項に示した。投与 0 日目と 87 日目のいずれにおいてもほとんどの試料において血漿中濃度は定量下限（0.5 ng/mL）未満であり、1 及び 5 mg/kg/day 投与群の一部の動物で一過性の低い曝露が認められた。

以上より、ラットにテナパノル塩酸塩を 91 日間反復経口投与した結果、一般状態の悪化や瀕死・死亡例は認められず、毒性学的に意義のある変化が認められなかったことから、無毒性量は評価した最高用量である 5 mg/kg/day と判断した。

3.2.6 ラットを用いた 6 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び雄性ラット授胎能評価試験（[redacted]-775030）評価資料 4.2.3.2-8

雌雄の Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、1、3 及び 10 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 182～183 日間反復経口投与した（雄 15 例／群、雌 15 例／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（9 例／性／群：媒体投与群のみ 3 例／性／群）。更に、各群の雄に授胎能評価群を設け（雄 5 例／群）、約 10 週間の投与後に未投与かつ交配歴の無い雌と最長 13 日間交配した。授胎能評価の結果は 6.1.2 項に記載した。

その結果、媒体投与群の雄 1 例と 10 mg/kg/day 投与群の雄 2 例の計 3 例の途中死亡が認められた。媒体投与群の雄 1 例は 152 日目に死亡したが、一般状態、病理検査で特記すべき所見は認められず、死因は不明であった。10 mg/kg/day 投与群の雄 1 例は 65 日目に死亡した。64 日目に腹部膨満が認められ、病理所見から死因は腸捻転と考えられた。10 mg/kg/day 投与群の雄 1 例

は 139 日目に死亡した。138 日目に糞便量減少と腹部膨満が認められ、病理組織学的検査で盲腸の出血と急性炎症、十二指腸、空腸、回腸及び結腸の管腔拡張等が認められたことから死因は腸管障害と考えられた。10 mg/kg/day 投与群の 2 例の途中死亡はテナパノル塩酸塩投与による影響の可能性が考えられた。

一般状態観察では、テナパノル塩酸塩投与の全群の雌雄で、投与期間を通して軟便、下痢及び肛門周囲の被毛の汚れが認められた。

体重測定では、3 及び 10 mg/kg/day 投与群の雄並びに 10 mg/kg/day 投与群の雌で体重増加抑制が認められた。また、3 及び 10 mg/kg/day 投与群の雌雄で投与初期に一過性の摂餌量減少が認められた。

眼科学的検査及び血液学的検査では、テナパノル塩酸塩の投与に関連した変化は認められなかった。

血液生化学的検査では、3 及び 10 mg/kg/day 投与群の雄並びに 10 mg/kg/day 投与群の雌で血中グルコースの低値が認められた。また、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で、血清リン及び／又はカリウムの高値が認められた。

尿検査では、10 mg/kg/day 投与群の雄並びに 3 及び 10 mg/kg/day 投与群の雌で尿 pH 値の上昇が認められた。テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で暗黄色、褐色又は赤色尿及び／又はビリルビン尿が認められた。また、3 及び 10 mg/kg/day 投与群の雌雄で混濁尿が認められた。3 及び 10 mg/kg/day 投与群の雌で尿タンパク、10 mg/kg/day 投与群の雌で亜硝酸塩陽性が認められた。10 mg/kg/day 投与群の雌雄で尿潜血が認められたが、顕微鏡的尿検査ではテナパノル塩酸塩に関連した赤血球数の増加は認められなかった。病理組織学的検査において、腎臓に器質的な変化は認められなかったことから、尿検査で認められたこれらの変化は毒性と判断しなかった。

剖検及び器官重量測定では、テナパノル塩酸塩の投与に関連する所見は認められなかった。

病理組織学的所見では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄の副腎でごくわずか～中程度の球状帯細胞の肥大が認められた。

サテライト群の血漿中テナパノル濃度を 2.6.7-7.2.3 項に示した。ほとんどの試料において血漿中濃度は定量下限（0.5 ng/mL）未満であったため、薬物動態パラメータは算出できなかった。測定可能な試料では、個々の動物の血漿中濃度は非連続的であり、かつ性別や測定日との明らかな関連性はなかった。また、血漿中にテナパノルはほとんど曝露されず、用量の増加に伴った全身曝露量の増加傾向も認められなかった。

以上より、雌雄ラットにテナパノル塩酸塩を 182～183 日間反復経口投与した結果、雄の 10 mg/kg/day でテナパノル塩酸塩に関連する死亡が認められた。一方、雌では 10 mg/kg/day まで毒性学的意義のある変化は認められなかった。このため、無毒性量は雄で 3 mg/kg/day、雌では評価した最高用量である 10 mg/kg/day と判断した。

3.3 イヌを用いた反復投与毒性試験

3.3.1 イヌを用いた 7 日間反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-04）参考資料 4.2.3.2-9

雌雄のビーグル犬に、カプセルを用いてテナパノル塩酸塩を 0（対照）、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与した（1 例／性／群）。検査項目として、

一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

その結果、テナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。

一般状態観察では、排泄物の異常（主に軟便）がテナパノル塩酸塩投与群の全群でほぼ投与期間を通して認められた。

体重、体重増加量、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査ではテナパノル塩酸塩の投与に関連した影響は認められなかった。

剖検では、1000 mg/kg/day 投与群の雌で結腸及び回腸の暗赤色化が認められ、これに対応して病理組織学的検査では軽度のうっ血が認められた。1000 mg/kg/day 投与群の雄の結腸では、杯細胞数の軽度の減少が認められた。

以上より、イヌにテナパノル塩酸塩を 7 日間反復経口投与した結果、最高用量の 1000 mg/kg/day まで忍容性は良好であった。このため、イヌを用いたテナパノル塩酸塩の 28 日間反復経口投与試験の最高用量は 1000 mg/kg/day が妥当と考えられた。

3.3.2 イヌを用いた 28 日間反復経口投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 14 日間回復性試験（RDX5791-TX-06）評価資料 4.2.3.2-10

雌雄のビーグル犬にカプセルを用いてテナパノル塩酸塩を 0（対照）、50、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した。投与 28 日間時点での解剖群（3 例／性／群）に加えて回復群（2 例／性、0 及び 1000 mg/kg/day 投与群）を設け、14 日間の休薬期間後の回復性を評価した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、飲水量測定、摂餌量測定、心電図検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。更に、全群の全身曝露を評価した。

その結果、テナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。

一般状態観察では、テナパノル塩酸塩投与群の全群で排泄物の異常（主に軟便）が投与期間と休薬期間の初期に認められた。

体重、体重増加量、摂餌量、飲水量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、心電図、眼科学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査では、テナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。

血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算）及び薬物動態パラメータを 2.6.7-7.3.1 項に示した。C_{max} 及び AUC_{last} は、50～1000 mg/kg/day の用量間でおおむね用量増加に伴った増加傾向が認められたが、用量及び測定日に関わらず、雌雄ともに個体差が大きかったため、全身曝露量の用量依存性、蓄積性及び性差を正確に評価することは困難であった。

以上より、イヌにテナパノル塩酸塩を 28 日間反復経口投与したときの忍容性は良好であり、無毒性量は雌雄ともに評価した最高用量である 1000 mg/kg/day と判断した。

3.3.3 イヌを用いた 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（RDX5791-TX-11）評価資料 4.2.3.2-11

雌雄のビーグル犬にカプセルを用いてテナパノル塩酸塩を 0（対照）、50、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 91 日間（3 ヵ月間）反復経口投与した。投与 3 ヵ月間時点での解剖群（4 例／性／群）に加えて回復群（2 例/性、0 及び 1000 mg/kg/day 投与群）を設け、28 日間の休薬期間後の回復性を評価した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量

測定、心電図検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。更に、全群について全身曝露を評価した。

その結果、テナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。

一般状態観察では、テナパノル塩酸塩投与群の全群で排泄物の異常（下痢、赤色物質を含む下痢、赤色物質を含む糞便、粘液便、赤色粘液様糞便、黄色粘液様糞便及び／又は軟便）が、投与期間及び回復期間に認められた。

体重、体重増加量、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、心電図、眼科学的検査及び器官重量では、テナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。また、テナパノル塩酸塩投与による影響を示唆する剖検及び病理組織学的所見は認められなかった。

300 及び 1000 mg/kg/day 投与群の薬物動態パラメータを 2.6.7-7.3.2 項に示した。300 及び 1000 mg/kg/day 投与群の曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）は、用量の増加に伴って増加する傾向を示し、また、反復投与により蓄積する傾向を示した。血漿中濃度の個体差が大きかったため、全身曝露量の用量依存性や蓄積性、性差を正確に評価することは困難であった。

以上より、イヌにテナパノル塩酸塩を 3 ヵ月間反復経口投与したときの忍容性は良好であり、無毒性量は雌雄ともに評価した最高用量である 1000 mg/kg/day と判断した。

3.3.4 イヌを用いた 9 ヵ月間反復経口投与毒性試験（[redacted]-775031）評価資料 4.2.3.2-12

雌雄のビーグル犬に、カプセルを用いてテナパノル塩酸塩を 0（対照）、50、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 273 日間（9 ヵ月間）反復経口投与した（4 例／性／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、心電図検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。更に、全群について全身曝露を評価した。

その結果、テナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。50 mg/kg/day 投与群において、雄 1 例で 202 日目から活動量の低下や皮膚の弛緩などの全身状態の悪化が認められたため、208 日目に切迫安楽死させた。この動物では、剖検において輸精管の絡まりによる空腸の狭窄が認められ、病理所見から偶発性の変化と考えられた。このため、この動物における全身状態の悪化は、テナパノル塩酸塩投与による影響ではないと判断した。

一般状態観察では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄ともに排泄物の異常（軟便及び下痢、粘液様糞便、赤色粘液様糞便及び赤色物質を含む糞便）が試験期間を通して認められた。

体重及び摂餌量測定、心電図、血液学的検査、尿検査、眼科学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査では、いずれもテナパノル塩酸塩の投与に関連した変化は認められなかった。

血液生化学的検査では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄ともに、投与 39 週目に血清クロライドの高値傾向が認められたが、軽度の変化であったことから、毒性学的意義は低いと判断した。

血漿中テナパノル濃度を 2.6.7-7.3.3 項に示した。多くの試料において血漿中濃度は BLQ 又は LLOQ（0.5 ng/mL）付近であり、薬物動態パラメータの算出は困難であった。測定可能な試料では、性別や測定日と血漿中濃度の間に明らかな関連性は認められず、用量の増加に伴った全身曝露量の増加傾向や反復投与による蓄積傾向も認められなかった。

以上より、イヌにテナパノル塩酸塩の 1000 mg/kg/day を 9 ヵ月間反復経口投与したときの忍容性は良好であり、無毒性量は雌雄ともに評価した最高用量である 1000 mg/kg/day と判断した。

4 遺伝毒性試験

4.1 in vitro 試験

4.1.1 細菌を用いた in vitro 試験

4.1.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（RDX5791-GT-02）評価資料 4.2.3.3.1-1

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌 WP2 *uvrA*/pKM101 を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下でテナパノル塩酸塩の復帰突然変異試験を行った。なお、当該試験は、プレート法で実施した。溶解度試験において検討した最高濃度である約 500 mg/mL のテナパノル塩酸塩 DMSO 溶液は、目視での溶解性が確認された。用量設定試験では、テナパノル塩酸塩の処理濃度を 1.5、5.0、15、50、150、500、1500 及び 5000 µg/plate とした。

用量設定試験の結果、ラット肝 S9 mix の有無に関わらず、TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び WP2 *uvrA*/pKM101 に陽性の変異原性反応は認められなかった。1500 µg/plate から沈殿が観察された。いずれの菌株も明らかな菌の生育阻害は認められなかった。本試験におけるテナパノル塩酸塩の処理濃度は、50、150、500、1500 及び 5000 µg/plate とした。

本試験の結果、陽性の変異原性反応は認められなかった。テナパノル塩酸塩は 500 µg/plate から沈殿が観察された。いずれの菌株も明らかな菌の生育阻害は認められなかった。

以上より、本試験条件下では、テナパノル塩酸塩は変異原性を示さなかった。

4.1.2 哺乳類培養細胞を用いた in vitro 試験

4.1.2.1 哺乳類培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（RDX5791-GT-03）評価資料 4.2.3.3.1-2

HPBL を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下でテナパノル塩酸塩の in vitro 染色体異常試験を実施した。

用量設定試験では、テナパノル塩酸塩の処理濃度を最高濃度 5000 µg/mL とし、HPBL に対して、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で 4 時間、ラット肝 S9 mix の非存在下で 20 時間処理した。培養液中の沈殿は、処理の開始及び終了時の目視観察では 50 µg/mL 以上の処理濃度で認められたが、15 µg/mL 以下の処理濃度では認められなかった。

染色体異常試験の濃度選択は、媒体と比較した有糸分裂指数の減少に基づいて行った。全 3 種類の処理系列において、5000 µg/mL の濃度で媒体と比較して有糸分裂指数が少なくとも 50%低下した。これらの結果より、本試験は、4 時間処理ではラット肝 S9 mix の有無に関わらず 62.5～3000 µg/mL、20 時間処理では 62.5～2500 µg/mL の濃度で実施した。

本試験は、HPBL に対してテナパノル塩酸塩をラット肝 S9 mix の非存在下で 4 及び 20 時間、ラット肝 S9 mix の存在下では 4 時間処理した。テナパノル塩酸塩処理の開始から 20 時間後に細胞を回収した。培養液中の沈殿は、処理の開始及び終了時の目視観察ではすべての濃度で認められた。テナパノル塩酸塩処理群の構造又は数的異常を有する細胞の出現率は、いずれの濃度においても媒体と比較して有意な増加を示さなかった。

以上より、テナパノル塩酸塩は HPBL に対して染色体異常を誘発しなかった。

4.2 in vivo 試験

4.2.1 マウスを用いた骨髄小核試験（RDX5791-GT-04）評価資料 4.2.3.3.2-1

雌雄の ICR マウスに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、500、1000 及び 2000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 2 日間経口投与し、染色体異常誘発性を評価した（5 例／性／群、投与時 6 週齢）。陽性対照物質 CP 投与群は単回経口投与 24 時間後に、媒体及びテナパノル塩酸塩投与群は初回投与 2 日後に大腿骨骨髄を採取して骨髄塗抹標本を作製し、全赤血球に占める PCE の割合及び小核出現頻度を算出した。一般状態観察は、1 日 1 回実施した。また、各群にサテライト群を設け、2 回目投与後の全身曝露を評価した（18 例／性／群、媒体投与群のみ 3 例／性／群）。

その結果、テナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった。1000 及び 2000 mg/kg/day 投与群の雄マウスはすべての観察時点で、同群の雌マウスは安楽死前に立毛が認められた。

テナパノル塩酸塩投与群の全赤血球に占める PCE の割合は、媒体投与群と比較して明らかな低値を示さなかったことから、テナパノル塩酸塩は赤血球産生を顕著に抑制しないことが示唆された。テナパノル塩酸塩の 2 回目投与 24 時間後における小核を有する PCE の出現頻度は、媒体投与群と比較して増加しなかった。一方、陽性対照である CP は小核を有する PCE の出現頻度を増加させた。

テナパノル塩酸塩を投与した全動物の全時点で血漿中にテナパノルが検出された。血漿中テナパノル濃度は、雌雄ともに用量増加に伴って増加した。

サテライト群の薬物動態パラメータを Table 4.2.1-1 に示した。

Table 4.2.1-1 マウスを用いた骨髄小核試験における薬物動態パラメータ

パラメータ	テナパノル塩酸塩投与量（mg/kg/day）					
	雄			雌		
	500	1000	2000	500	1000	2000
C_{max} (ng/mL)	119	218	228	80.1	154	292
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng･h/mL)	495	1090	1510	955	1230	2010

以上より、テナパノル塩酸塩はマウスの骨髄細胞に染色体異常を誘発しないと判断した。

4.2.2 ラットを用いた静脈内投与最大耐量毒性試験（3570[redacted]）参考資料 4.2.3.3.2-2

雄の Wistar Han ラットにテナパノル塩酸塩を 1、2、4、6、8 及び 10 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 2 日間静脈内投与した（1 例／群、10 mg/kg 群のみ 3 例／群）。5～7 日間の一般状態観察及び体重測定を行い、静脈内投与時のテナパノル塩酸塩の忍容性を評価した。

その結果、一般状態観察では 4 mg/kg/day 投与群の 1 例で肛門周囲の被毛の汚れ及び軟便が認められたが、初回投与後 3 日目までに消失した。また体重測定では、6、8 及び 10 mg/kg/day 投与群において初回投与後 2 及び 3 日目に軽度の体重減少が認められたが、4 日目以降は増加に転じた。

以上より、テナパノル塩酸塩を 1 日 1 回 2 日間雄ラットに静脈内投与した結果、重篤な一般状態の変化は認められず、最高用量の 10 mg/kg/day まで忍容性を示した。

4.2.3 ラットを用いた骨髄小核試験（3585[redacted]）評価資料 4.2.3.3.2-3

雄の Wistar Han ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、1、5 及び 10 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 2 日間静脈内投与し、染色体異常誘発性を評価した（7 例／群、投与時約 11 週齢）。2 回目

投与の 24 時間後に骨髄を採取して骨髄塗抹標本を作製し、全赤血球に占める IE 及び MIE の比率を算出した。10 mg/kg 投与群ではサテライト群（3 例）を設け、初回投与後の全身曝露を評価した。

その結果、試験期間を通して、死亡動物は認められなかった。一般状態観察及び体重測定では、1 及び 10 mg/kg/day 投与群で軟便が認められ、10 mg/kg/day 投与群では軽微な体重減少や肛門周囲の被毛の汚れも認められた。

骨髄塗抹標本を用いた検査では、全赤血球に占める IE 及び MIE の比率は、テナパノル塩酸塩投与群と媒体投与群でほぼ同じであった。

サテライト群の血漿中テナパノル濃度（平均値及び標準偏差）を Table 4.2.3-1 に示した。全例において、テナパノルの全身曝露が認められた。

Table 4.2.3-1 雄性ラットにテナパノル塩酸塩を 10 mg/kg/day で静脈内投与したときの血漿中濃度

群	投与量 (mg/kg/day)	時点（時間）							
		1		4		6		24	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
5（サテライト群）	10	3.53	5.25	0.365	0.381	BLQ	NC	BLQ	NC

濃度の単位: μmol/L
NC = Not Calculated

以上より、テナパノル塩酸塩はラットの骨髄細胞に対して染色体異常を誘発しないと判断した。

5 がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

5.1 長期がん原性試験

5.1.1 ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験（20049785）評価資料 4.2.3.4.1-1

雌雄の Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、1、3 及び 10 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 104 週間反復経口投与し、がん原性を評価する予定であった（60 例／性／群）。しかしながら、顕著な体重減少のため、10 mg/kg/day 投与群は投与開始 69～85 日目の間の休薬期間をはさんだ後、86 日目から 5 mg/kg/day に減量し、3 mg/kg/day 投与群は投与開始 92 日目から 2 mg/kg/day に減量し、投与を継続した。最終的に、雄の 1 群（媒体）及び 3 群（3/2 mg/kg/day）は 86 週間、雄の 2 群（1 mg/kg/day）は 85 週間、雄の 4 群（10/5 mg/kg/day）は 83 週間、雌は全群 95 週間で投与を終了した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血清ナトリウム濃度測定、腫瘍発生率、剖検及び病理組織学的検査を実施した。試験期間を通して認められた各投与群における評価動物の死亡の内訳を Table 5.1.1-1 に示した。途中死亡例の総数（死亡発見及び安楽死）は、媒体投与群とテナパノル塩酸塩投与群との間で顕著な差は認められなかったが、死亡発見の割合は 1 mg/kg/day 以上の投与群の雄並びに 3/2 及び 10/5 mg/kg/day 投与群の雌でそれぞれの媒体投与群と比較して高かった。雌雄間では、生存率に統計学的有意差は認められなかった。

Table 5.1.1-1 各投与群における評価動物の死亡の内訳のまとめ

性	雄				雌			
群	1[a]	2[b]	3[a]	4[c]	1[d]	2[d]	3[d]	4[d]
投与量（mg/kg/day）	0	1	3/2	10/5	0	1	3/2	10/5
試験終了時の安楽死例[e]	20	15	22	15	20	22	14	17
途中死亡例	40	45	38	45	40	38	46	43
• 死亡発見例	20	27	28	29	12	11	19	26
• 状態悪化による安楽死例	20	18	10	16	28	27	27	17
総数	60	60	60	60	60	60	60	60

a: 雄の 1 及び 3 群は雄の媒体投与群（1 群）の生存数が 20 例に達したため、86 週目に安楽死した。
b: 雄の 2 群は生存数が 15 例に達したため、86 週目に安楽死した。
c: 雄の 4 群は生存数が 15 例に達したため、83 週目に安楽死した。
d: 雌の 1～4 群は雌の媒体投与群（1 群）の生存数が 20 例に達したため、95 又は 96 週目に安楽死した。
e: 試験終了時の安楽死例には、上記 a～d の理由により早期に安楽死された例が含まれる。

途中死亡例の死因との関連性が示唆される病理所見を Table 5.1.1-2 に示した。

Table 5.1.1-2 途中死亡動物の死因に関連しうる所見

性	雄				雌			
群	1	2	3	4	1	2	3	4
投与量（mg/kg/day）	0	1	3/2	10/5	0	1	3/2	10/5
途中死亡例	40	45	38	45	40	38	46	43
盲腸における異常所見[a]	0[b]	12	15	23	0	5	9	19
乳腺腫瘍[c]	1	2	0	0	9	6	3	1
下垂体腺腫／癌	16	10	5	7	24	20	26	14
不明	12	15	8	8	0	2	2	1

a: 剖検時に拡張、貯留物の異常（暗色、緑色、粘液状、水状、粒状及び／又は軟性の糞便）、変色を認め、出血、混合細胞炎、穿孔を併発し、他に明確な死因がない場合に死因として記録した。
b: 数値はその所見を認めた動物の数を表す。
c: 乳腺腫瘍には線維腺腫、腺癌、癌肉腫を含む。

途中死亡動物では、腫瘍性の変化（乳腺腫瘍、下垂体腺腫／癌）が認められた動物や死因が不明な動物の割合は媒体投与群とテナパノル塩酸塩投与群との間で顕著な差は認められなかった。一方、テナパノル塩酸塩投与群では、一般状態観察所見（軟便及び下痢）及び剖検所見（盲腸の拡張、貯留物の異常、盲腸の変色及び／又は消化管穿孔）並びに病理組織学的所見（出血及び／又は炎症）が認められた。このため、病理組織学的検査において消化管の変化以外の死因が特定されなかった動物については、これらの消化管の変化が死因であると考えられ、テナパノル塩酸塩投与群における途中死亡例に占める死亡発見の発生率の高さは、薬理作用に基づく軟便及び下痢に起因すると考えられた。

一般状態観察では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄で重度の軟便及び下痢が認められ、3/2 mg/kg/day 以上の投与群の雄では肛門周囲の被毛の汚れが認められた。

体重測定では、10/5 mg/kg/day 投与群の雄及び 1 mg/kg/day 以上の投与群の雌において、媒体投与群と比べて平均体重の低値が認められた。

摂餌量測定では、10/5 mg/kg/day 投与群の雌雄で顕著な摂餌量の減少が認められた。休薬により回復が認められたものの、減薬による投与再開後に再び摂餌量の減少が認められた。1 及び 3/2 mg/kg/day 投与群の雌においても、試験期間を通して、摂餌量の減少が認められた。

血液学的検査、血清ナトリウム濃度測定及び眼科学的検査では、テナパノル塩酸塩の投与に関連した変化は認められなかった。

腫瘍発生率評価では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄とも、腫瘍を有する動物の総数及び腫瘍の総数（良性及び悪性）はいずれも媒体投与群と比較して低値であり、テナパノル塩酸塩に関連したがん原性は認められなかった。

媒体投与群では、血漿中テナパノル濃度は LLOQ（0.5 ng/mL）未満であった。テナパノル塩酸塩投与群で血漿中テナパノル濃度が測定可能であった検体数は限定的であったため、薬物動態パラメータは算出できなかった。

以上より、ラットにテナパノル塩酸塩を 10/5 mg/kg/day までの用量で 86～96 週間反復経口投与した結果、がん原性は認められなかった。

5.2 短期又は中期がん原性試験

5.2.1 予備試験

5.2.1.1 CByB6F1 ハイブリッドマウスを用いた経口投与最大耐量及び用量設定試験（0976[redacted]）参考資料 4.2.3.4.2-1

MTD 試験として、雌雄の CByB6F1 ハイブリッド（Tg rasH2 非トランスジェニック同腹児）マウスにテナパノル塩酸塩を 50、100、200、400 及び 800 mg/kg（単回投与）並びに、800 mg/kg（400 mg/kg、1 日 2 回、6 時間間隔）の用量で経口投与した（2～6 例／性／群）。MTD 試験では、一般状態観察及び体重測定を実施し、投与後 5 日目に剖検を行うことなく動物を安楽死させた。また、800 mg/kg 単回投与群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（6 例／性／群）。

用量設定試験として、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、200、400 及び 800 mg/kg/day（100、200 及び 400 mg/kg、1 日 2 回、6 時間間隔）の用量で 7 日間反復経口投与したときの毒性を評価した（3 例／性／群）。用量設定試験では一般状態観察、体重測定、血液学的検査、器官重量測定及び剖検を実施した。また、全群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（媒体投与群は 6 例／性／群、テナパノル塩酸塩投与群は 18 例／性／群）。用量設定試験では、最終投与の翌日に剖検した。

MTD 試験では、800 mg/kg（400 mg/kg、1 日 2 回）又は 800 mg/kg（単回投与）の用量まで、死亡例は認められなかった。一般状態観察では、投与 2 日目に 800 mg/kg（400 mg/kg、1 日 2 回）投与群の雄 1 例及び雌 2 例、並びに 800 mg/kg 単回投与群の雄 1 例で一過性の軟便が認められた。テナパノル塩酸塩に関連した明らかな体重変化は認められなかった。

用量設定試験では、800 mg/kg/day（400 mg/kg、1 日 2 回）の用量まで死亡例及び特記すべき一般状態の変化は認められなかった。体重、血液学的検査、器官重量及び剖検では、テナパノル塩酸塩の投与に関連した明らかな変化は認められなかった。

サテライト群では、テナパノル塩酸塩投与群の全動物において全身曝露が認められた。用量設定試験のサテライト群では、テナパノルの全身曝露量は、200 及び 800 mg/kg/day 投与群の雄では投与 1 及び 7 日目において、おおむね用量に比例して増加した。400 mg/kg/day 投与群の雄では 1 日目には用量比以上の増加が認められたものの、7 日目には用量比未満の増加であった。テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌では、1 日目において用量比以上の増加が認められ、7 日目において用量比未満の増加であった。MTD 試験及び用量設定試験では、1 及び 7 日目においてテナパノルの全身投与量に性差が認められ、雄に比べて雌の曝露量が多い傾向が認められた。

以上より、テナパノル塩酸塩の MTD 試験における MTD は、800 mg/kg（400 mg/kg の 1 日 2 回又は 800 mg/kg の単回投与）、用量設定試験における無毒性量は、雌雄で 800 mg/kg/day（400 mg/kg、1 日 2 回投与）と判断した。

5.2.1.2 CByB6F1 ハイブリッドマウスを用いた 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（0977[redacted]）評価資料 4.2.3.4.2-2

雌雄の CByB6F1 ハイブリッドマウス（Tg rasH2 非トランスジェニック同腹児）に、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、100、400 及び 800 mg/kg/day（50、200 及び 400 mg/kg、1 日 2 回、6 時間間隔）の用量で 1 ヵ月間反復経口投与した（10 例／性／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、全群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（媒体投与群は 6 例／性／群、テナパノル塩酸塩投与群は 18 例／性／群）。

その結果、テナパノル塩酸塩の投与に関連した死亡は認められなかった

一般状態観察、摂餌量測定、眼科学的検査、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では、いずれもテナパノル塩酸塩の投与に関連した変化は認められなかった。

体重測定では、400 及び 800 mg/kg/day 投与群の雄において、22 及び 28 日目に媒体投与群に対して体重増加抑制が認められた。

器官重量では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄において心臓及び脾臓の絶対重量並びに体重及び脳重量に対する相対重量の低値が認められたが、これらの変化に関連する病理学組織的所見、血液学的及び血液生化学的検査における変化は認めらなかったことから、毒性学的意義は低いと判断した。

サテライト群の薬物動態パラメータを 2.6.7-11.2 項に示した。テナパノル塩酸塩投与群の全動物において、全身曝露が認められた。テナパノルの全身曝露量は、1 日目の 400 及び 800 mg/kg/day 投与群及び 28 日目の全群で、雌雄ともにおおむね用量に比例して増加した。また同群では、反復投与時のテナパノル全身曝露量は、雌雄ともに 1 日目よりも 28 日目で高かった。テナパノルの全身曝露量は、1 日目ではおおむね雌の方が雄より高かったが、28 日目では明確な性差は認められなかった。用量の増加、反復投与及び性別による t_{max} の明確な差も認められなかった。

以上より、CByB6F1 ハイブリッドマウスを用いたがん原性試験の最高用量は、雌では 800 mg/kg/day（400 mg/kg、1 日 2 回）が妥当と判断した。雄では 400 mg/kg/day 以上の投与群で、投与 3 週目から媒体投与群に対して体重増加抑制が認められたことから、rasH2 マウスを用いたがん原性試験における雄の最高用量は 100 mg/kg/day（50 mg/kg、1 日 2 回）が妥当と考えられた。

5.2.2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験（RDX5791-TX-16）評価資料 4.2.3.4.2-3

雌雄の rasH2 マウス（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic）に、テナパノル塩酸塩を雄は 0（媒体）、10、30 及び 100 mg/kg/day（5、15 及び 50 mg/kg、1 日 2 回、6 時間間隔）、雌は 0（媒体）、100、300 及び 800 mg/kg/day（50、150 及び 400 mg/kg、1 日 2 回、6 時間間隔）の用量で 26 週間反復経口投与した（25 例／性／群）。陽性対照として NMU 投与群を設定した。本試験では M1 のがん原性評価も実施しており、M1 の結果の詳細は 8.1.8 項に記載した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を実施した。また、サテライト群を設け、テナパノルの全身曝露を評価した（36 例／性／群、媒体投与群のみ 12 例／群）。

その結果、テナパノル塩酸塩投与群では、媒体投与群と比較して生存率に有意な差は認められなかった。病理組織学的検査の結果から、途中死亡はいずれもテナパノル塩酸塩投与に起因しないと考えられた。一般状態観察では、テナパノル塩酸塩に関連した一般状態の変化は認められなかった。体重測定では、100 mg/kg/day 投与群の雄において、155 日目以降から試験終了間際にかけて、媒体投与群と比べて体重の低値が認められた。摂餌量測定、血液学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査では、いずれもテナパノル塩酸塩に関連した変化は認められなかった。病理組織学的検査では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄ともに、媒体投与群に対する腫瘍発生率の増加は認められなかった。

一方、NMU 投与群では、予想された腫瘍性病変（悪性リンパ腫、扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の発生率の増加）及び非腫瘍性の変化（網膜変性）が認められたことから、本試験で用いた rasH2 マウスを用いた評価の妥当性が確認された。

テナパノル塩酸塩を投与したときのテナパノル及び M1 の薬物動態パラメータを 2.6.7-12.2 項に示した。テナパノル塩酸塩投与群の全動物において、テナパノルの全身曝露が確認された。雄の投与量は雌より低かったため、雄ではテナパノルの全身曝露量の群間比較や薬物動態パラメータの算出は困難であった。雌では、テナパノルの全身曝露量（$AUC_{0\text{-}6}$ 及び C_{max}）はおおむね用量の増加に伴い増加した。テナパノルの全身曝露量（$AUC_{0\text{-}6}$）は 1 及び 180 日目で顕著な増加は認められず、反復投与によるテナパノルの蓄積性は認められなかった。

以上より rasH2 マウスを用いたがん原性試験では、テナパノルのがん原性は認められなかった。

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）

6.1 受胎能及び初期胚発生

6.1.1 マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（0967[redacted]）評価資料 4.2.3.5.1-1

雌の CD-1 マウスに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、10 及び 50 mg/kg/day の用量で、交配の 14 日前から妊娠 6 日目まで 1 日 1 回反復経口投与した（24 例／群）。交配に用いた雄にはテナパノル塩酸塩は投与しなかった。検査項目として、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、交尾行動評価を実施した。妊娠 12 又は 13 日目の剖検では、肉眼所見並びに子宮内のすべての着床数及び着床部位を評価した。

その結果、一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定では、テナパノル塩酸塩投与に関連した変化は認められなかった。

剖検では、テナパノル塩酸塩投与に関連した変化は認められなかった。

交尾所要日数、交尾数及び受胎数を Table 6.1.1-1 に示した。これらはいずれも、テナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。

Table 6.1.1-1 雌マウスの交配成績及び受胎能

	投与用量（mg/kg/day）		
	0	10	50
交尾所要日数	動物数（非妊娠動物数）		
1	7（2）	7（1）	3
2	2	5	3
3	10（1）	7	14
4	3	4	3
5	0	1	0
8	1	0	1
交尾徴候なし	1	0	0
交尾所要日数の中央値	3	2.5	3
発情期を経過した動物数	0	2	0
雄と同居した雌の数	24	24	24
妊娠数	21	23	24
雌の受胎率（%）	88	96	100

また、妊娠成績の要約を Table 6.1.1-2 に示した。10 mg/kg/day 投与群では、媒体投与群と比較して早期胚死亡数がわずかに増加したが、50 mg/kg/day 投与群では媒体投与群と同程度であることから、10 mg/kg/day 投与群の増加は偶発的なものであり、テナパノル塩酸塩投与とは関連しないと判断した。

Table 6.1.1-2 雌マウスの交配成績及び受胎能指数

	投与用量（mg/kg/day）		
	0	10	50
着床総数	286	314	334
着床後死亡率（%）	4	7	4
着床生存胚総数（%）	275（96）	292（93）	321（96）
着床後死亡胚数（%）	11（4）	22（7）	13（4）
早期死亡胚総数（%）	11（4）	22（7）	13（4）
後期死亡胚総数（%）	0	0	0
平均着床胚数	13.6 ± 2.1	14.3 ± 2.4	13.9 ± 3.4
平均着床生存胚数	13.1 ± 2.4	13.3 ± 2.8	13.4 ± 3.7
平均着床後死亡胚数	0.5 ± 0.9	1.0 ± 1.2	0.5 ± 1.1
平均早期死亡胚数	0.5 ± 0.9	1.0 ± 1.2	0.5 ± 1.1
平均後期死亡胚数	0	0	0

平均値 ± 標準偏差

以上より、母動物の一般毒性、生殖能、初期胚発生に関してテナパノル塩酸塩投与全群で、テナパノル塩酸塩の投与の影響が認められなかったことから、雌の生殖能及び初期胚発生に関する無毒性量はいずれも 50 mg/kg/day と判断した。

6.1.2 ラットを用いた 6 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び雄性ラット授胎能評価試験（[redacted]-775030）評価資料 4.2.3.2-8

Sprague Dawley ラット（雄 5 例／群）にテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、1、3 及び 10 mg/kg/day の用量で約 10 週間反復経口投与した後、テナパノル塩酸塩未投与かつ交配歴の無い雌と最長 13 日間交配し、雄の授胎能を評価した。交配が確認された非投与雌は、妊娠 15 日目に子宮を摘

出し、検査項目として生殖組織について剖検、子宮検査、妊娠の確認を行い、黄体・胚・早期吸収胚・着床部位の数と位置確認を実施した。

その結果、雄の交配能、授胎能、交尾率、交尾までの所要日数に、テナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。また、初期胚発生（着床前及び着床後死亡率、黄体数、着床数及び生存胚数）についても、テナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。

以上より、テナパノル塩酸塩投与群の全群において、雄の生殖能及び初期胚発生に対するテナパノル塩酸塩の影響は認められなかったことから、雄の生殖能及び初期胚発生に関する無毒性量は 10 mg/kg/day と判断した。

6.2 胚・胎児発生

6.2.1 ラットを用いた試験

6.2.1.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-12）評価資料 4.2.3.5.2-1

雌の Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、1、3、10 及び 30 mg/kg/day の用量で妊娠 6～17 日目（12 日間：胎児器官形成期）に 1 日 1 回反復経口投与した（8 例／群）。投与開始時週齢は 13 週齢であった。検査項目として、一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施した。妊娠 20 日目に各雌に帝王切開を実施し、子宮、胎盤及び卵巣検査、胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数及び黄体数を評価した。また、妊娠子宮重量を測定し、妊娠子宮重量を引いた正味体重及び正味体重変化（正味体重から妊娠 4 日目の体重を引いた値）を算出した。胎児体重を測定し、外表奇形及び変異を評価した。

その結果、妊娠 20 日目の剖検まで母動物の瀕死及び死亡は認められなかった。

母動物の一般状態観察では、テナパノル塩酸塩投与群の全群において軟便及び下痢が認められた。

母動物の体重及び摂餌量測定では、テナパノル塩酸塩投与群の全群において、投与開始後に摂餌量の減少を伴った一過性の体重減少が認められ、10 及び 30 mg/kg/day 投与群では妊娠 7 及び 8 日目において媒体投与群と比べて体重の低値が認められた。

すべてのテナパノル塩酸塩投与群の平均正味体重、正味体重増加量、妊娠子宮重量、子宮内発育及び生存率にテナパノル塩酸塩の影響は認められなかった。更に、すべてのテナパノル塩酸塩投与群で胎児に外表異常は認められなかった。

以上より、ラットを用いた胚・胎児発生に関する本試験の最高用量は 30 mg/kg/day が適切であると判断した。

6.2.1.2 ラットを用いた胚･胎児発生に関する反復経口投与試験（RDX5791-TX-14）評価資料 4.2.3.5.2-2

雌の Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、1、10 及び 30 mg/kg/day の用量で妊娠 6～17 日目（12 日間：胎児器官形成期）に、1 日 1 回反復経口投与した（25 例／群）。投与開始時週齢は約 14 週齢であった。妊娠 20 日目に帝王切開を実施した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、子宮、胎盤及び卵巣の観察（胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数並びに黄体数）を実施した。また、妊娠子宮重量を測定し、正味体重及び正味体重変化（正味体重から妊娠 20 日目の体重を引いた値）を算出した。胎児の検査項目として、胎

児体重、性、外表、内臓及び骨格の奇形並びに変異検査を実施した。更に、各群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（8 例／群：媒体投与群のみ 4 例）。

その結果、30 mg/kg/day 投与群の母動物 2 例がそれぞれ妊娠 13 及び 16 日目に死亡し、1 例を妊娠 15 日目に切迫安楽死させた。母動物に顕著な体重減少、摂餌量の減少及びこれらの変化に伴う一般状態の悪化が認められたため、10 及び 30 mg/kg/day 投与群のすべての動物を妊娠 13～16 日の間に安楽死させた。10 及び 30 mg/kg/day 投与群の胚・胎児検査は実施しなかった。1 mg/kg/day 投与群の母動物では、投与期間中の軟便及び下痢、体重減少並びに摂餌量減少が認められた。生存胎児数並びに胎児の体重、性比、外表、内臓及び骨格に影響は認められなかった。

サテライト群の血漿中テナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算）を 2.6.7-15.1 項に示した。10 及び 30 mg/kg/day 投与群のサテライト群の動物は、母動物の顕著な体重減少により、予定よりも早く妊娠 14 又は 15 日目にすべての動物を安楽死させたため、反復投与後の血漿中濃度は測定できなかった。妊娠ラットにテナパノル塩酸塩を反復経口投与したとき、妊娠 6 日目の 10 及び 30 mg/kg/day 投与群並びに妊娠 17 日目の 1 mg/kg/day 投与群の少数例において、1～3 時点でのみ血漿中濃度が測定可能であり、全身曝露は低かった。これらのことから、詳細な薬物動態解析は困難であった。

以上より、ラットに反復経口投与したときの母動物に対する無毒性量は 1 mg/kg/day 未満であり、胚・胎児発生に関する無毒性量は 1 mg/kg/day と判断した。

6.2.2 ウサギを用いた試験

6.2.2.1 非妊娠ウサギを用いた反復経口投与用量設定試験:バイオアナリシス及びトキシコキネティクス評価（0333[redacted]）参考資料 4.2.3.5.2-3

雌のニュージーランド白色種ウサギ 3 例に、テナパノル塩酸塩を 45 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 13 日間反復経口投与し、全身曝露を評価した。

その結果、血漿中テナパノル濃度は全時点で LLOQ 未満であったが、テナパノル塩酸塩投与群の全動物で M1 の全身曝露が認められた。

M1 の薬物動態解析の結果を 2.6.7-13.1 項に示した。M1 の全身曝露量は 1 日目よりも 13 日目に高くなる傾向がみられたが、1 日目に対する 13 日目の平均 C_{max} 比及び AUC_{0-t} 比はそれぞれ 1.2 及び 1.4 であり、反復投与による全身曝露量の明確な蓄積は認められなかった。M1 の t_{max} の中央値は、1 日目（4 時間）と比較して 13 日目（2 時間）の方が小さかった。$t_{1/2}$ は、消失相が適切に評価できなかったため、算出不能であった。

6.2.2.2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する反復経口投与用量設定試験（RDX5791-TX-13）評価資料 4.2.3.5.2-4

雌のニュージーランド白色種ウサギにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、3、10、30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で妊娠 7～20 日目に 1 日 1 回反復経口投与した（6 例／群、投与開始時齢約 5～6 ヵ月齢）。検査項目として、一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施し、妊娠 29 日目に帝王切開を実施した。子宮、胎盤及び卵巣を検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数並びに総着床数及び黄体数を評価した。妊娠子宮重量を測定し、正味体重及び正味体重変化（正味体重から妊娠 0 日目の体重を引いた値）を算出した。胎児の体重を測定し、外表奇形及び変異を評価した。

その結果、3 mg/kg/day 投与群の母動物 1 例で摂餌量減少、体重減少及び排泄物に関連した一般状態の変化を示したため、妊娠 20 日目に切迫安楽死させた。他のすべての母動物は帝王切開時まで生存した。糞便量減少、糞便の小型化、軟便及び下痢等の排泄物関連の一般状態の変化は、テナパノル塩酸塩を投与したすべての投与群の母動物で観察され、30 mg/kg/day 以上の投与群では程度及び頻度が顕著であった。100 及び 300 mg/kg/day 投与群の母動物では、軽度の体重減少及び体重増加量の減少並びに摂餌量の減少が投与期間を通して認められたが、3、10 及び 30 mg/kg/day 投与群では媒体投与群とほぼ同等だった。また、テナパノル塩酸塩投与群の全群の母動物の平均体重、正味体重、正味体重変化及び妊娠子宮重量は媒体投与群とほぼ同等であった。

30、100 及び 300 mg/kg/day 投与群では、媒体投与群と比較して、用量増加に伴った胎児体重の減少が認められた。3 及び 10 mg/kg/day 投与群の子宮内発育（胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数及び黄体数、胎児体重）及びテナパノル塩酸塩投与群の全群の胎児生存率は媒体投与群と同程度であった。また、いずれの用量でもテナパノル塩酸塩に関連した胎児の外表異常は認められなかった。

以上より、ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験のための最高用量は 30 mg/kg/day 以上 100 mg/kg/day 未満が適切と判断した。

6.2.2.3 ウサギを用いた胚･胎児発生に関する反復経口投与試験（RDX5791-TX-15）
評価資料 4.2.3.5.2-5

雌のニュージーランド白色種ウサギにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、5、15 及び 45 mg/kg/day の用量で妊娠 7～20 日目に 1 日 1 回反復経口投与した（22 例／群）。投与開始時月齢は約 5.5 ヵ月齢であった。妊娠 29 日目に帝王切開を実施した。母動物の検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、子宮、胎盤及び卵巣の観察（胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数及び黄体数測定）を実施した。妊娠子宮重量を測定し、正味体重及び正味体重変化量（正味体重から妊娠 0 日目の体重を引いた値）を算出した。胎児の検査項目として、体重、性、外表、内臓及び骨格の奇形並びに変異の観察を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（4 例／群）。

その結果、45 mg/kg/day 投与群の母動物 1 例で妊娠 23 日目に流産が認められた。

テナパノル塩酸塩投与群の全群の母動物で軟便及び下痢を主とする排泄物異常に関連した症状が認められた。15 及び 45 mg/kg/day 投与群の母動物では媒体投与群に比べ、軽度の体重及び摂餌量の減少が認められた。

子宮重量、生存胎児数並びに胎児の体重、性比、外表、内臓及び骨格検査、正味体重及び正味体重変化量では、いずれもテナパノル塩酸塩の投与による影響は認められなかった。

血漿中のテナパノル濃度（テナパノル塩酸塩濃度換算）を 2.6.7-15.2 項に示した。妊娠ウサギにテナパノル塩酸塩を反復経口投与したとき、妊娠 7 及び 20 日目のいずれにおいても 1～4 例／群の動物で 1～4 時点でのみ血漿中濃度が測定でき、全身曝露が非常に低かったため、詳細な薬物動態解析は困難であった。

以上より、ウサギにテナパノル塩酸塩を反復経口投与した場合の母動物に対する無毒性量は 5 mg/kg/day、胚・胎児発生に関する無毒性量は 45 mg/kg/day と判断した。

6.2.3 ゼブラフィッシュを用いた試験

6.2.3.1 ゼブラフィッシュを用いた胚発生毒性試験（ZEDTA）（Batch 23）参考資料 4.2.3.5.2-6

ゼブラフィッシュ胚に、テナパノルを 0.1、1、10 及び 100 µmol/L の濃度で 5 日間飼育水に曝露させ、胚発生完了までの期間における催奇形性を評価した。

テナパノルは飼育水に対し、100 µmol/L で沈殿が形成された。

2 回の催奇形性評価の結果、いずれも有意な奇形は誘発しなかった。テナパノルを 100 µmol/L の濃度で 24 時間、飼育水に曝露させたときの各胚–仔魚内におけるテナパノル濃度は、曝露開始時の飼育水内濃度の 94%であった。

以上より、ゼブラフィッシュの胚発生時期にテナパノルを 5 日間曝露させたとき、最高濃度の 100 µmol/L まで催奇形性を誘発しないと判断した。

6.3 出生前・出生後の発生並びに母動物の機能

6.3.1 マウスを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する反復経口投与試験（[redacted]-775035）評価資料 4.2.3.5.3-1

雌の CD-1 マウスに、テナパノル塩酸塩を 0（媒体）、20、60 及び 200 mg/kg/day の用量で妊娠 6 日目から授乳 20 日目まで 1 日 1 回、反復経口投与した（25 例／群）。テナパノル塩酸塩投与開始時における母動物の週齢は約 11 週齢であった。母動物はすべて分娩させ、哺育 21 日目まで哺育させた後に剖検を実施した。母動物の検査項目として、一般状態観察並びに体重及び摂餌量測定を実施し、母動物の妊娠期間、分娩状態、着床数及び着床後死亡を評価した。F_1 児の検査項目として、一般状態観察、体重測定、性比、身体的及び機能的発達の指標（自発運動量、聴性驚嘆反応、学習及び記憶の評価並びに離乳後の発達指標）の評価を実施した。F_1 の生殖機能評価用に各群の動物（最大 1 匹／性／腹）を、同胞のペアを避けて交配させた。すべての F_1 雌に F_2 児を出産させ、生後 4 日目まで児を哺育させた。F_2 児の検査項目として、一般状態観察、体重測定及び性比を実施した。

その結果、すべてのテナパノル塩酸塩投与群の母動物の妊娠期間、分娩状態、着床数及び着床後死亡に対して、テナパノル塩酸塩投与の影響は認められなかった。F_1 児の出生児数、生存出生児数及び性比、授乳期間中の一般症状、出生後の生存率及び身体発達並びに離乳時点の剖検にテナパノル塩酸塩投与の影響は認められなかった。60 及び 200 mg/kg/day 投与群の F_1 では、雌雄ともに授乳期間（生後 1～21 日目）を通して体重及び体重増加量の低値が認められた。統計学的に有意な体重の低値は離乳後（F_1 雌では妊娠期間を含む）まで継続した。活動性評価検査において、200 mg/kg/day 投与群の F_1 児の雄で生後 21 日目に活動量の増加が認められたが、生後 61 日目の検査ではテナパノル塩酸塩投与の影響は認められなかった。学習機能評価において、200 mg/kg/day 投与群の F_1 児の雄で生後 22 日目にエラー回数の増加及び所要時間の延長が認められたが、生後 62 日目の検査ではテナパノル塩酸塩投与の影響は認められなかった。200 mg/kg/day 投与群の F_1 雄では、生後 22 日目の記憶評価時に統計学的に有意な平均エラー数の増加に対応した平均回避時間の延長が認められた。200 mg/kg/day 投与群の F_1 児の雄では、生後 21 日目に自発運動量の増加が認められ、その差は統計学的に有意であった。生後 61 及び 62 日目の記憶及び自発運動量の評価では、いずれの用量レベルでもテナパノル塩酸塩に関連した影

響は認められなかった。母動物へのテナパノル塩酸塩投与は、F_2 児の平均出生数、生存同腹児数、性比、出生後生存率、一般状態、体重及び性比に影響を及ぼさなかった。

以上より、母動物の全身毒性に対する無毒性量は 200 mg/kg/day、F_1 新生児の発生毒性に関する無毒性量は 60 mg/kg/day で認められた体重の低値に基づいて 20 mg/kg/day、F_1 親動物に対する全身及び生殖毒性並びに F_2 新生児に関する無毒性量は 200 mg/kg/day と判断した。

6.4 幼若動物試験

6.4.1 幼若ラットを用いた 21 日間反復経口投与毒性試験（1884[redacted]）参考資料 4.2.3.5.4-1

雌雄の幼若 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、5 及び 10 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回反復経口投与した（10 例／性／群）。生後 5 日目から 21 日間投与する計画であったが、10 mg/kg/day 投与群の雄、5 及び 10 mg/kg/day 投与群の雌で媒体投与群と比較して 20%を超える体重の低値が認められたことから計画剖検前の投与 11 日目に剖検を実施した。検査項目として、全動物の一般状態観察及び体重測定を実施した。また、テナパノル及び M1 の血漿中濃度を測定した。

一般状態観察では、テナパノル塩酸塩投与群の全群の雌雄ともに軟便及び水様便が認められた。

体重測定では、5 mg/kg/day 投与群の雄並びに 5 及び 10 mg/kg/day 投与群の雌で体重増加抑制が認められた。

テナパノルの血漿中濃度は、5 及び 10 mg/kg/day 投与群の 11 日目の投与後 8～9 時間で低値であり、雌雄で同程度であった。M1 の血漿中濃度は、同時点のテナパノルより高く、5 及び 10 mg/kg/day 投与群の雌雄で同程度であった。

以上より、幼若ラットにテナパノル塩酸塩を反復経口投与した結果、雄は 10 mg/kg/day で、雌は 5 mg/kg/day 以上で体重増加抑制が認められた。

6.4.2 幼若ラットを用いた 20 日間反復経口投与用量設定試験（00775062）参考資料 4.2.3.5.4-2

雌雄の幼若 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、0.1、0.5、2.5 及び 5 mg/kg/day の用量で生後 5～24 日目に 1 日 1 回反復経口投与した（10 例／性／群）。

検査項目として、一般状態観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、骨成長測定、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、媒体投与群を除く各群にサテライト群を設け、テナパノル及び M1 の全身曝露を評価した（27 例／性／群）。

その結果、毒性評価群の 0.5、2.5 及び 5 mg/kg/day 投与群の雄 3、6 及び 7 例、雌 2、9 及び 8 例並びにサテライト群の同用量群の雄 1、4 及び 5 例、雌 1、4 及び 5 例で瀕死又は死亡が認められた。

一般状態観察では、瀕死又は死亡した動物の多くで、皮膚の弛緩及び被毛粗剛が認められたほか、少数例の動物では、自発運動低下、あえぎ呼吸、体温低下、体の蒼白化、呼吸困難、腹臥位、削痩、腹部膨満、後肢の機能障害、振戦及び半眼が瀕死又は死亡の前日あるいは当日に認められた。その他の一般状態の変化として、瀕死又は死亡した多くの動物において下痢、軟便又は粘液便及び肛門性器周辺に赤色、黄色又は褐色物質が認められた。テナパノル塩酸塩を投

与したすべての投与群の生存例の一般状態観察において、試験期間を通して被毛粗剛、皮膚の弛緩、肛門性器周辺の褐色及び／又は黄色物質が認められた。

体重測定では、0.5 mg/kg/day 以上の投与群で、体重増加抑制又は体重の減少が認められた。

骨成長測定では、0.5、2.5 及び 5 mg/kg/day 投与群の雌雄で生後 25 日目に媒体投与群と比較して軽微な脛骨長の低値が認められ、体重減少と関連した変化であると考えられた。

瀕死又は死亡により、0.5、2.5 及び 5 mg/kg/day 投与群の雄並びに 2.5 及び 5 mg/kg/day 投与群の雌の血液学的検査、2.5 及び 5 mg/kg/day 投与群の雌雄の血液生化学的検査、尿検査は実施しなかった。血液学的検査では、0.5 mg/kg/day 投与群の雌で赤血球数のわずかな高値が認められ、0.1 mg/kg/day 投与群の雄では白血球数、血小板数及びリンパ球の絶対数が低値を示した。尿検査では、0.5 mg/kg/day 投与群の雌雄でカリウムの低値、0.1 及び 0.5 mg/kg/day 投与群の雌雄で、ナトリウムの低値が認められ、0.5 mg/kg/day 投与群の雄でクレアチニンの低値及び雌でカルシウムの高値も認められた。血液生化学的検査ではテナパノル塩酸塩投与群で特記すべき変化は認められなかった。

瀕死又は死亡例の器官重量測定は実施しなかった。生存例の器官重量測定では、0.1、0.5、2.5 及び 5 mg/kg/day 投与群の雄並びに 0.1、0.5 及び 2.5 mg/kg/day 投与群の雌で胸腺重量の低値、0.5、2.5 及び 5 mg/kg/day 投与群の雄並びに 0.5 及び 2.5 mg/kg/day 投与群の雌で脾臓重量の低値が認められた。

剖検では、死亡及び生存例において、0.1、0.5、2.5 及び／又は 5 mg/kg/day 投与群の雌雄で消化管拡張が認められた。

病理組織学的検査では、0.5、2.5 及び 5 mg/kg 投与群の瀕死、死亡及び生存例において、破骨細胞の増加、骨びらん及び／又は胸骨及び／又は大腿骨脛骨関節の骨減少が認められた。

0.5 mg/kg/day 以上の投与群ではテナパノル及び M1 の曝露が生後 5 及び 24 日目に確認された（0.5 及び 2.5 mg/kg/day 投与群の雌の生後 24 日目のテナパノルの曝露を除く）。0.1 mg/kg/day 投与群では、いずれの評価日においてもテナパノルの血漿中濃度は認められず、生後 24 日目には M1 の血漿中濃度も認められなかった。生後 24 日目の 0.5 及び 2.5 mg/kg 投与群では、血漿中テナパノル濃度を測定可能であった時点が 3 時点未満の動物が多く、AUC_{last} を算出できなかった。

テナパノル塩酸塩及び M1 の薬物動態パラメータを 2.6.7-17.2 項に示した。テナパノルの全身曝露量（AUC_{last} 及び C_{max}）は、用量の増加に伴って増加した。測定した例数が少数であったため、テナパノルの全身曝露量について性差や蓄積性を正確には評価できなかった。t_{max} は 0.5～2 時間であった。

M1 の全身曝露量（AUC_{last} 及び C_{max}）は、生後 24 日目の雄における C_{max} がいずれの用量でも同等であったことを除いて、おおむね用量増加に伴って増加した。テナパノルと同様に、測定可能であった例数が少数であったため、M1 の全身曝露量について性差や蓄積性を正確には評価できなかった。M1 の t_{max} は生後 5 日目では 8 時間、生後 24 日目では 0.5～24 時間であった。

以上より、テナパノル塩酸塩を投与した 0.5 mg/kg/day 以上の群で瀕死や死亡例が認められたことから、幼若ラットを用いた 8 週間反復経口投与毒性試験の投与用量には 0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg/day を選択した。

6.4.3 幼若ラットを用いた 21 日間反復経口投与用量設定試験（2050[redacted]）参考資料 4.2.3.5.4-5

雌雄の幼若 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、0.1、1 及び 5 mg/kg/day の用量で生後 21～41 日目に 1 日 1 回反復経口投与した（6 例／性／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、血液学的検査、血液生化学的検査及び剖検を実施した。また、試験期間終了日にテナパノル及び M1 の血漿中濃度を測定した。

その結果、5 mg/kg/day 投与群では雌雄ともに投与初日から 2 日目にかけて半数以上が瀕死又は死亡した。このため、5 mg/kg/day 投与群は投与 2 日間で投与を終了した。また、1 mg/kg/day 投与群では雄 2 例で投与 2 日目に死亡が認められた。

一般状態観察では、テナパノル塩酸塩を投与した全例で初回投与 3 時間後から被毛の異常が認められ、1 mg/kg/day 投与群では試験終了時まで持続した。また、1 mg/kg/day 投与群の雌雄では、初回投与約 4 時間後から水様便が認められ、投与 18 日目まで持続した。生存例では投与 12 又は 13 日目（生後 32 又は 33 日齢）から腹部膨満も認められた。

体重測定では、1 mg/kg/day 投与群の雌雄で投与 2 日目から媒体投与群に比べて体重の低値が認められた。

摂餌量及び飲水量測定では、1 mg/kg/day 投与群の雌雄で投与 2 日目から摂餌量の減少及び飲水量の増加が認められた。

血液学的検査では、1 mg/kg/day 投与群の雌で好中球の増加が認められた。

剖検では、0.1 mg/kg/day 投与群の雌及び 1 mg/kg/day 投与群の雌雄において水溶物貯留による盲腸の拡張が認められ、用量の増加に伴い程度は増悪した。

試験期間終了日（最終投与の約 24 時間後）の血漿中テナパノル及び M1 の C_{min} は全例において BLQ であった。

以上より、雄は 1 mg/kg/day 以上、雌は 5 mg/kg/day で瀕死や死亡が認められたことから、幼若ラット（生後 21～80 日齢）を用いた 60 日間反復経口投与毒性試験の最高用量は、雄は 1 mg/kg/day 未満、雌は 1 mg/kg/day が妥当と判断した。

6.4.4 幼若ラットを用いた 8 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（00775063）評価資料 4.2.3.5.4-3

雌雄の幼若 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg/day の用量で生後 5～61 日目に 1 日 1 回反復経口投与した。生後 62 日目時点での解剖群（20 例／性／群）に加えて回復群（20 例／性／群）を設け、4 週間の休薬期間後の回復性を評価した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、脛骨長測定、眼科学的検査、発育指標、神経行動学的検査、性周期、生殖能、分娩、同腹児の活動及び生存率、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、剖検、器官重量測定、神経病理学的検査（10 例／性／群／各解剖時点）及び病理組織学的検査（10 例／性／群／各解剖時点）を実施した。また、各群にサテライト群を設け、テナパノル及び M1 の全身曝露を評価した（24 例／性／群、媒体投与群は 6 例／性／群、0.03 mg/kg/day 投与群の雄のみ 25 例）。

その結果、0.3 mg/kg/day 投与群では、サテライト群の雄 1 例並びに毒性評価群の雄 5 例及び雌 1 例が死亡し、毒性評価群の雌 1 例を投与期間中に瀕死解剖した。死亡した雄 1 例と瀕死解剖した雌 1 例は、死亡又は瀕死前に体重減少が認められた。瀕死解剖した雌では、被毛粗剛、泌尿性器部の黄色物質及び肛門性器部の褐色物質の沈着が認められ、瀕死解剖当日の一般症状

観察において、発育不良、歩行中の振戦、頻回の転倒及び閉眼が観察された。投与過誤の雄 1 例を除き、本試験で認められた瀕死又は死亡はテナパノル塩酸塩の投与の影響と判断した。

一般状態観察では、0.3 mg/kg/day 投与群の雌雄において、媒体投与群と比較して肛門性器周辺の褐色物質沈着が高頻度で認められ、休薬後に回復性が認められた。

体重及び摂餌量測定では、0.3 mg/kg/day 投与群の雌雄において体重増加量及び摂餌量の低値が認められ、休薬後に回復性が認められた。

脛骨長測定では、0.3 mg/kg/day 投与群の雌雄において、投与期間中の脛骨の平均長が短く、体重の低値に関連する変化であると考えられた。これらの変化は休薬後に回復性が認められた。

発育指標検査では、テナパノル塩酸塩を投与したすべての群において、亀頭包皮分離及び膣開口時の平均齢に変化は認められなかった。

テナパノル塩酸塩の投与に関連した生殖能（雌雄の交配及び受胎能、雄の交尾、雌の受胎指数）、平均性周期、妊娠期間及び分娩過程への影響は認められなかった。眼科学的検査、神経行動学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定、神経病理学的検査及び病理組織学的検査では、いずれの投与群においてもテナパノル塩酸塩の投与に関連した影響は認められなかった。また、テナパノル塩酸塩投与群の全群で、平均着床数及び着床後胚損失率は媒体投与群と同等であった。平均 F_1 出生児数、生後 0 日目の生存同腹児数、性比、出生後の生存率、F_1 の一般状態、体重及び体重増加量では、いずれの投与群においてもテナパノル塩酸塩の投与の影響は認められなかった。

F_0 の生後 5 及び 61 日目におけるテナパノル及び M1 の血漿中濃度は BLQ である場合が多く、テナパノル及び M1 の全身曝露量について、明確な性差や測定日の影響は認められず、ほとんどの群で薬物動態パラメータを算出できなかった。また、テナパノルに対する M1 の曝露量の比は算出できなかった。

以上より、0.3 mg/kg/day 投与群でテナパノル塩酸塩投与による瀕死／死亡が認められたことからテナパノル塩酸塩の幼若ラット（生後 5～61 日齢）に対する無毒性量は 0.1 mg/kg/day と判断した。

6.4.5 幼若ラットを用いた 60 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（20301378）評価資料 4.2.3.5.4-4

雌雄の幼若 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 0（媒体）、0.1、0.3 及び 0.7（雄）又は 1.0 mg/kg/day（雌）の用量で生後 21～80 日目に 1 日 1 回反復経口投与した。生後 81 日目時点での解剖群（10 例／性／群）に加えて回復群（10 例／性／群）を設け、14 日間の休薬期間後の回復性を評価した。検査項目として、生存率、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、性成熟検査、脛骨長測定、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、大腿骨長測定、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、各群にサテライト群を設け、テナパノル及び M1 の全身曝露を評価した（24 例／性／群、媒体投与群は 6 例／性／群）。

その結果、テナパノル塩酸塩投与に関連した死亡や瀕死は認められなかった。0.3 mg/kg/day 投与群では、サテライト群の雄 1 例が生後 32 日目に死亡した。この死亡の発現には用量依存性が無く、1 例のみで認められたことから、テナパノル塩酸塩投与に起因した死亡では無いと判断した。

一般状態観察では、0.3 mg/kg/day 以上の投与群の雌雄で軟便又は水様便が認められた。1.0 mg//kg/day 投与群の雌では肛門部の赤色化も認められた。これらの所見は投与期間中に消失した。

体重測定では、0.3 mg/kg/day 以上の投与群の雄で生後 22 日目から体重減少及び体重増加抑制が認められ、回復期間終了時まで継続した。0.3 mg/kg/day 以上の投与群の雌では、生後 21～35 日目の間に体重減少及び／又は体重増加抑制が認められたが、休薬後に回復性が認められた。

摂餌量測定では、0.7 mg/kg/day 投与群の雄及び 1.0 mg/kg/day 投与群の雌で、生後 21～29 日目の間で摂餌量の減少が認められた。

性成熟検査では、雄はいずれの投与群においてもテナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。雌では、0.3 mg/kg/day 以上で平均膣開口日数の遅延が認められ、体重の低値に関連する変化であると考えられた。

脛骨長測定では、0.3 mg/kg/day 以上の投与群の雄において、生後 76～80 日目に脛骨長の短縮が認められ、0.7 mg/kg/day 投与群の雄では生後 36～64 日目にも脛骨長の短縮が認められた。これらの変化は体重の低値に関連する変化であると考えられ、休薬後に回復性が認められた。雌ではいずれの投与群においてもテナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。

尿検査では、0.3 mg/kg/day 以上の投与群の雄において、投与期間終了時に尿 pH の低値が認められ、休薬後に回復性が認められた。雌ではテナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。

眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、大腿骨長測定、剖検、器官重量及び病理組織学的検査では、いずれもテナパノル塩酸塩投与による影響は認められなかった。

テナパノル及び M1 の薬物動態パラメータを 2.6.7-17.3 項に示した。生後 21 及び 80 日目におけるテナパノルの血漿中濃度は多くの個体で BLQ であったため、全用量で薬物動態パラメータを算出できなかった。

M1 の C_{max} は、評価可能な時点において雌雄ともに用量の増加に伴って増加した。測定可能であった例数が少数であったため、M1 の全身曝露量について性差や蓄積性を正確には評価できなかった。M1 の t_{max} は生後 21 及び 80 日目ともに 1～8 時間であった。

以上より、0.3 mg/kg/day 投与群で軟便や水様便、体重減少が認められたことから、テナパノル塩酸塩の幼若ラット（生後 21～80 日齢）に対する無毒性量は 0.1 mg/kg/day と判断した。

7 局所刺激性試験

テナパノル塩酸塩を用いた局所刺激性試験は実施しなかった。

8 その他の毒性試験

8.1 代謝物の毒性試験

テナパノルの不活性代謝物である M1 は評価したいずれの動物種（マウス、ラット、ウサギ及びイヌ）においても検出された。テナパノル塩酸塩を健康成人に 1 日 2 回 15 mg の用量で反復経口投与したときの M1 濃度は、マウス及びラットに比べて高かった（2.6.4-5.3 項）。また、ヒトマスバランス試験において、M1 の曝露量はテナパノル関連物質総曝露量の 10%を超えていた（2.7.2-2.2.3 項）ことから、M1 の各種毒性試験を実施した。

8.1.1 マウスを用いた M1 の単回経口投与毒性試験（RDX5791-M1-01）参考資料 4.2.3.7.5-1

雄の C57BL/6 マウスに M1 を 0（媒体）、300 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与し、その後 4 日間観察した（3～4 例／群）。検査項目として、一般状態観察及び体重測定を実施し、5 日目に剖検を実施した。

その結果、1000 mg/kg 投与群の 4 例中 3 例に自発運動低下、嗜眠、振戦、接触時冷感及び努力性呼吸が認められた。これら 3 例のうち 1 例は、投与後 48 時間以内に回復したが、残りの 2 例は切迫安楽死させた。300 mg/kg 投与群の 3 例中 2 例では、投与後一過性に自発運動低下及び嗜眠が認められたが、その後は一般状態に変化は認められなかった。

以上より、M1 のマウスの概略の致死量は 1000 mg/kg と判断した。

8.1.2 ラットを用いた M1 の単回経口投与毒性試験（RDX5791-M1-06）参考資料 4.2.3.7.5-2

雌雄の Sprague Dawley ラットに、M1 を 0（媒体）及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与し、その後 24 時間観察した（3 例／群／性）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定及び飲水量測定を実施した。また、M1 の全身曝露量を評価した。

その結果、M1 に関連する死亡例は認められなかった。

一般状態観察、体重及び飲水量測定では、雌雄ともに M1 の投与に関連した変化は認められなかった。また、摂餌量測定では、M1 投与群の雄で有意に低かったが、雌では明らかな変化は認められなかった。

M1 を 1000 mg/kg の用量で投与したときの 24 時間後の平均 C_{min} は雌雄ともに非常に高く、雄で 75600 ng/mL、雌で 92800 ng/mL であった。

以上より、M1 のラットの MTD は 1000 mg/kg を超えると判断した。

8.1.3 マウスを用いた M1 の 4 日間反復経口投与毒性試験（RDX5791-M1-03）参考資料 4.2.3.7.5-3

雌雄の C57BL/6 マウスに、M1 を 0（媒体）、30、100 及び 300 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 4 日間反復経口投与した（3 例／性／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定及び剖検を実施した。また、M1 の全身曝露量を評価した。

その結果、M1 に関連した死亡は認められなかった。

一般状態観察では、300 mg/kg/day 投与群の雄の 2 例で嗜眠、努力性又は促拍呼吸及び円背姿勢が、雌の全例で一過性の自発運動亢進が認められた。100 mg/kg/day 投与群の雄の 1 例で円背姿勢が認められた。30 mg/kg/day 投与群では雌雄ともに、明らかな変化は認められなかった。

M1 の平均血漿中濃度は、最終投与後 24 時間において、300 mg/kg/day 投与群の雄で 1282 ng/mL（測定値範囲：29.3～3066 ng/mL）及び雌で 79.7 ng/mL（測定値範囲：17.6～170 ng/mL）、100 mg/kg/day 投与群の雄で 3.15 ng/mL 及び雌で 2.24 ng/mL であり、30 mg/kg 群では LLOQ（1 ng/mL）未満であった。300 mg/kg/day 投与群では個体差が大きかったが、雌雄ともに用量の増加に伴った曝露の増加が認められた。

以上より、マウスに M1 を 4 日間反復経口投与した結果、忍容性は 100 mg/kg/day までおおむね良好であった。300 mg/kg/day では雄で呼吸異常が、雌で自発運動亢進が認められたため、C57BL/6 マウスではいずれも許容できない毒性変化と判断した。

8.1.4 マウスを用いた M1 の 14 日間反復経口投与毒性試験（RDX5791-M1-04）参考資料 4.2.3.7.5-4

雌雄の CByB6Fl/J マウスに、M1 を 0（媒体）、500 及び 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、14 日間反復経口投与した（6 例／性／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、剖検を実施した。また、M1 の全身曝露を評価した。

その結果、1000 mg/kg/day 投与群の雌雄各 6 例及び 500 mg/kg/day 投与群の雌雄各 3 例が、3～9 日目に瀕死又は死亡した。これらの個体の一般症状観察では、嗜眠、呼吸困難、振戦、流涎、円背姿勢、体温低下、立毛及び瀕死が認められた。

血漿中 M1 濃度は、最終投与後 30 分で約 54 μg/mL、投与後 24 時間で約 2～5 μg/mL であり、高い血漿中濃度が認められた。切迫安楽死させたマウスでも高い血漿中濃度が認められた。

以上より、CByB6Fl/J マウスに M1 を 500 及び 1000 mg/kg/day の用量で反復経口投与した結果、瀕死又は死亡が多発し、忍容性は認められなかった。

8.1.5 rasH2 マウスを用いた M1 の 28 日間反復経口投与用量設定試験及びトキシコキネティクス試験（[redacted]-775038）評価資料 4.2.3.7.5-5

雌雄の rasH2 マウス（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic）に、M1［0（媒体）、75、150 及び 250 mg/kg/day］又はテナパノル塩酸塩（400 mg/kg/day）を 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した（10 例／性／群）。媒体投与群及び M1 投与群のすべての群にサテライト群を設け、全身曝露を評価した（媒体投与群は 4 例／性、M1 投与群は 9 例／性／群）。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

その結果、M1 及びテナパノル塩酸塩投与に関連した死亡は認められなかった。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、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査では、いずれも M1 及びテナパノル塩酸塩投与の影響は認められなかった。

M1 の薬物動態パラメータを 2.6.7-20.1.4 項に示した。雌雄の rasH2 マウスに 75、150 及び 250 mg/kg/day の用量で M1 を反復経口投与したとき、M1 の曝露が認められた。0 と 27 日目のいずれにおいても、M1 の全身曝露量（AUC_{last} 及び C_{max}）は、雌雄ともに 75～250 mg/kg の範囲で用量の増加に伴って増加したが、27 日目の雄では 150 と 250 mg/kg/day 投与群における AUC_{last} は同程度であった。0 と 27 日目の C_{max} を比較した結果、M1 の蓄積性は認められなかった。t_{max} は、0 日目は 0.5 時間、27 日目は 0.5 又は 1 時間であった。採血時点が限られていたため、0 日目の半減期は算出できなかった。27 日目で算出可能であった半減期は、雌雄ともに 2～4 時間であった。

以上より、本試験では毒性学的意義のある変化は認められなかったことから、M1 の無毒性量は 250 mg/kg/day と考えられた。また、そのときの投与 27 日目における AUC_{last} 及び C_{max} は、雄で 201000 ng·h/mL 及び 40900 ng/mL、雌で 439000 ng·h/mL 及び 42000 ng/mL であった。

8.1.6 細菌を用いた M1 の復帰突然変異試験（3581[redacted]）評価資料 4.2.3.7.5-6

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌 WP2 *uvrA*/pKM101 を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で M1 の復帰突然変異試験を行った。なお、当該試験は、プ　ート法で実施した。本試験では、M1 の処理濃度を 5、16、50、160、500、1600 及び 5000 μg/plate とした。比較対象として、媒体群及び各陽性対照群を設定した。

その結果、M1 処理群の復帰変異コロニー数は、ラット肝 S9 mix 存在下及び非存在下ともに、いずれの試験菌株においても判定基準（TA98、TA100 及び WP2 *uvrA* pKM101：媒体群の 2 倍以上、TA1535 及び TA1537：媒体群の 3 倍以上）を下回った。

以上より、本試験条件下では、M1 は変異原性を示さなかった。

8.1.7 L5178Y 細胞を用いた M1 の in vitro 小核試験（3522[redacted]）評価資料 4.2.3.7.5-7

L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で in vitro 小核試験を実施した。ラット肝 S9 mix 存在下及び非存在下の 3 時間処理では 21 時間の回復期間（3+21 時間）を、ラット肝 S9 非存在下の 24 時間処理では 24 時間の回復期間（24+24 時間）を設定した。小核の観察はラット肝 S9 mix 非存在下の 3+21 時間処理では、M1 は 60、80、95 及び 100 µg/mL（0.17、0.22、0.27 及び 0.28 mmol/L）、ラット肝 S9 mix 存在下の 3+21 時間処理では 60、80、90 及び 95 µg/mL（0.17、0.22、0.25 及び 0.27 mmol/L）、ラット肝 S9 mix 非存在下の 24+24 時間処理では 20、30、35、40 及び 50 µg/mL（0.056、0.084、0.098、0.11 及び 0.14 mmol/L）の濃度で実施した。各濃度につき 2000 個の単核細胞を観察して小核の有無を調べた。比較対象として、媒体群及び陽性対照（MMC）群を設定した。

その結果、いずれの条件においても、M1 による L5178Y マウスリンパ腫細胞での小核の誘導は認められなかった。

8.1.8 rasH2 マウスを用いた M1 のがん原性試験（RDX5791-TX-16）評価資料 4.2.3.4.2-3

雌雄の rasH2 マウス（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic）に、M1 を 0（媒体）、55 及び 165 mg/kg/day（投与開始 99 日目から 110 mg/kg/day に減量）の用量で 1 日 1 回 26 週間反復経口投与した（25 例／性／群）。陽性対照として NMU 投与群を設定した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、サテライト群を設け、M1 の全身曝露を評価した（36 例／性／群、媒体投与群のみ 12 例／性／群）。

その結果、M1 の 165 mg/kg/day 投与群の雌雄で顕著な体重減少が認められたため、投与開始 99 日目から 110 mg/kg/day に減量した。媒体投与群と M1 投与群で生存率に有意な差は認められなかった。病理組織学的検査において、M1 投与群における途中死亡動物の死因はすべて投与過誤又は背景病変として認められる腫瘍であったことから、M1 投与による影響ではないと判断した。

摂餌量測定、血液学的検査、剖検及び器官重量測定では、M1 投与に関連した変化は認められなかった。

媒体投与群と比較して、すべての M1 投与群の雌雄で腫瘍発生率の増加は認められなかった。

NMU を投与された陽性対照群では、予想された腫瘍性病変（悪性リンパ腫、扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の発生率の増加）及び非腫瘍性の変化（網膜変性）が認められたことから、本試験で用いた rasH2 マウスの妥当性が確認された。

M1 の薬物動態パラメータを 2.6.7-12.2 項に示した。投与 180 日目では、165／110 mg/kg/day 投与群の雄及び雌でそれぞれ t_{max} が 0.5 及び 0.5 時間、C_{max} が 26600 及び 31200 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ が 89500 及び 197000 ng·h/mL であった。雄と比較して、雌の M1 の全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）は 2～3 倍高い傾向が認められた。全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max}）は、1 及び 180 日目において雌雄ともに用量の増加に伴って増加した。

以上より、rasH2 マウスを用いたがん原性試験では、M1 のがん原性は認められなかった。

8.1.9 ラットを用いた M1 の胚・胎児発生に関する反復経口投与用量設定試験（[redacted]-775033）参考資料 4.2.3.7.5-8

雌の Sprague Dawley ラットに M1 を 0（媒体）、30、100、350 及び 750 mg/kg/day の用量で妊娠 6～17 日目に 1 日 1 回反復経口投与した（8 例／群）。投与開始時週齢は約 14 週齢であった。妊娠 20 日目に帝王切開を実施した。母動物に対する検査項目として、一般状態観察、体重及び摂餌量測定並びに子宮、胎盤及び卵巣の観察（胎児数、早期及び後期吸収数、総着床数並びに黄体数）を評価した。妊娠子宮重量を記録し、正味体重及び正味体重変化（正味体重から妊娠 0 日目の体重を引いた値）を算出した。胎児に対する検査項目として、体重、性比、外表の奇形及び変異を評価した。また、全身曝露を評価した（4 例／群）。

その結果、750 mg/kg/day 投与群の母動物 8 例中 7 例が、妊娠 13～18 日目に瀕死又は死亡した。瀕死又は死亡した動物では、体重減少、摂餌量の減少及び一般症状の変化（ラッセル音、口及び／又は鼻周囲の赤色及び／又は透明な物質、赤色膣分泌物及び半眼など）が認められた。350 mg/kg/day 投与群の母動物では、摂餌量の低値を伴う一過性の体重増加量の減少又は体重減少が媒体投与群と比較して認められた。試験期間を通して、30 及び 100 mg/kg/day 投与群の母動物の体重、体重増加量及び摂餌量は媒体投与群と同程度であった。剖検時の 30、100 及び 350 mg/kg/day 投与群の正味体重、正味体重増加量及び妊娠子宮重量は媒体投与群と同程度であった。

母動物の剖検では、瀕死又は死亡した 750 mg/kg/day 投与群に、腎臓及び／又は肝臓の淡色化、副腎の肥大、胃のびらん及び／又は赤色巣及び子宮内容物の赤色化が認められた。妊娠 20 日目の剖検では、特記すべき所見は認められなかった。

750 mg/kg/day 投与群の妊娠 20 日目の帝王切開まで生存した 1 例では完全吸収胚が認められた。なお、同群の瀕死又は死亡した母動物 7 例中 3 例には、完全吸収胚が認められた。750 mg/kg/day 投与群では生存胎児が認められなかったことから、子宮内発育及び胎児形態の評価はできなかった。

350 mg/kg/day 投与群の胎児体重は媒体投与群よりも低値であった。30 及び 100 mg/kg/day 投与群の子宮内発育並びに 30、100 及び 350 mg/kg/day 投与群での子宮内生存率及び胎児形態は、M1 投与の影響を受けなかった。

媒体投与群、30、100、350 及び 750 mg/kg/day 投与群の妊娠 17 日目における血漿中 M1 濃度は、投与後 0.5 時間でそれぞれ 1.075、19875、57225、88650 及び 84200 ng/mL で、24 時間後はそれぞれ 1.091、1608、11213、30800 及び 90800 ng/mL であった。

以上より、750 mg/kg/day 投与群では母動物に強い毒性が認められた。一方で、350 mg/kg/day 投与群の母動物では重篤な毒性が認められないことから、M1 のラット反復経口投与胚・胎児発生に関する GLP 試験の投与用量は、30、150 及び 400 mg/kg/day が妥当と判断した。

8.1.10 ラットを用いた M1 の胚・胎児発生に関する反復経口投与試験（[redacted]-775034）評価資料 4.2.3.7.5-9

妊娠 Sprague Dawley ラットに M1 を 0（媒体）、30、150 及び 400 mg/kg/day の用量で、妊娠 6～17 日目に 1 日 1 回反復経口投与（25 例／群）し、妊娠 20 日目に帝王切開した。母動物に対する検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、子宮、胎盤及び卵巣の観察（胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数及び黄体数）を実施した。妊娠子宮重量を記録し、正味体

重及び正味体重変化を算出した。胎児に対する検査項目として、体重、性比、外表、内臓及び骨格の奇形並びに変異の観察を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露量を評価した（8 例／群）。

その結果、400 mg/kg/day 投与群の母動物 1 例で、妊娠 6～16 日目に顕著な体重減少と摂餌量の減少を示し、妊娠 17 日目に瀕死が認められた。

母動物の一般状態観察では、400 mg/kg/day 投与群の生存例において糞便量減少、糞便の淡色化、赤色の膣分泌物、ラッセル音、四肢の蒼白化及び体表面の赤色物付着（鼻、前肢及び口）の発現頻度の増加が認められた。また、媒体投与群に比べ、体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。

胎盤及び卵巣の観察では、400 mg/kg/day 投与群において媒体投与群に比べて生存胎児数の減少が認められた。また、400 mg/kg/day 投与群において胎児の平均体重の減少、胎児の形態異常（局所又は全身性の浮腫及び骨格異常）及び変異（脾臓の淡色化及び小型化、骨格変異並びに骨化不全）の増加が認められた。

妊娠 17 日目の 150 mg/kg/day における AUC_{last} 及び C_{max} は、それぞれ 897000 ng·h/mL 及び 52500 ng/mL であった。

以上より、ラットに M1 を反復経口投与したときの母動物及び胚・胎児発生に関する無毒性量は 150 mg/kg/day と判断した。

8.1.11 ゼブラフィッシュを用いた胚発生毒性試験（ZEDTA）（Batch 23）参考資料 4.2.3.5.2-6

ゼブラフィッシュ胚に、M1 を 0.1、1、10 及び 100 µmol/L の濃度で 5 日間飼育水に曝露させ、胚発生完了までの期間における催奇形性を評価した。

M1 は飼育水に対し、100 µmol/L まで溶解性が確認された。

2 回の催奇形性評価の結果、いずれも有意な奇形は誘発しなかった。M1 を 100 µmol/L の濃度で 24 時間飼育水に曝露させたときの各胚 - 仔魚内における M1 濃度は、曝露開始時の飼育水濃度の 47%であった。

以上より、ゼブラフィッシュの胚発生時期に M1 を 5 日間曝露させたとき、最高濃度の 100 µmol/L まで催奇形性を誘発しないと判断した。

8.2 不純物の検討

テナパノル塩酸塩に含まれるすべての不純物及び分解物は、ICH M7「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン」、ICH Q3A（R2）「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」及び ICH Q3B（R2）「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」に従って評価した。

テナパノル関連物質の全 39 構造について、Derek Nexus 及び Leadscope を用いた in silico 解析により細菌に対する変異原性を予測した（8.2.1 項）。更に、テナパノル塩酸塩の不純物及び分解物の合計 10 化合物について、イヌを用いた毒性試験における無毒性量での曝露に基づいた安全性評価を実施した（8.2.2 項）。

8.2.1 Derek Nexus及びLeadscopeを用いたテナパノルの不純物の細菌に対する変異原性の予測（[redacted]002drkls）参考資料4.2.3.7.6-1

ICH M7 に基づき、テナパノル関連物質（テナパノル、テナパノル塩酸塩、代謝物、類縁物質、分解物及び不純物）の全 39 構造について、Derek Nexus（Program version: Derek KB 2015 2.0 及び Derek KB 2018 1.1）及び Leadscope Genotox Statistical Models（Program version: Leadscope Model applier 2.2.2）を用いた大腸菌及びネズミチフス菌に対する変異原性を評価した。

この結果、テナパノル及び主要代謝物 M1 を含む 32 構造が ICH M7 のクラス 5（警告構造を有しないか、警告構造を有するが変異原性又は発がん性のないことを示す十分なデータが存在する構造）に、3 構造がクラス 4 に、2 構造がクラス 3 に、1 構造がクラス 2 に、残り 1 構造がクラス 1 にそれぞれ分類された。クラス 1～4 に属する 7 構造を Table 8.2.1-1 に示した。

Table 8.2.1-1 In silico 解析により ICH M7 のクラス 1～4 に分類されたテナパノル関連物質

化合物名	クラス	分類の裏付けとなる証拠及び提案される管理措置
不純物K*	4	Ames 陰性構造に基づき偽陽性と考えられる。
不純物L* （遊離塩基）	4	変異原性溶媒に起因する偽陽性と考えられる。
不純物M*	4	Ames 陰性構造に基づき偽陽性と考えられる。
不純物N*	3	[redacted]との構造類似性に基づき、許容摂取量は 40.6 µg/日と提案された。
不純物O*	3	変異原性を有する[redacted]との構造類似性に基づき、許容摂取量は 31.8 µg/日と提案された。
不純物P*	2	既知の変異原性物質。許容摂取量は 1361 µg/日。
不純物Q*	1	既知の変異原性発がん物質。許容摂取量は 40.6 µg/日。

以上より、テナパノル関連物質の全 39 構造のうち 7 構造がクラス 1～4 に分類された。クラス 3 以上の構造に対しては化合物毎の許容限度値以下での管理が提案され、クラス 1 の塩化ベンジルは許容摂取量を 40.6 µg/日と算出された。

8.2.2 テナパノル塩酸塩の毒性試験における不純物の安全性確認（RDX5791-TX-17）参考資料 4.2.3.7.6-2

テナパノル塩酸塩の原薬及び製剤に含まれる不純物及び分解物として合計 10 種類が特定された（不純物A*、不純物B*、不純物C*、不純物D*、不純物E*、不純物F*、不純物G*、不純物H*、不純物I*及び不純物J*）。これら不純物・分解物の規格値はいずれも ICH Q3A で設定された閾値 0.15%を上回ったことから、反復経口投与毒性試験並びに DEREK Nexus 及び Leadscope を用いた変異原性の in silico 解析の結果に基づいて安全性を確認した。反復経口投与毒性試験では、げっ歯類はテナパノル塩酸塩の薬理作用に対する感受性が高く、げっ歯類の無毒性量は不純物及び分解物の安全性を低く見積もることから、最適な評価動物種としてイヌを選択した。

イヌの反復経口投与毒性試験（28 日間、3 ヵ月間及び／又は 9 ヵ月間）の結果を用いた評価では、FDA ガイダンス「健康成人志願者を対象とした治療のための初期臨床試験における最大安全開始用量の推定（CDER、2005 年 7 月）」に基づき、イヌの反復経口投与毒性試験で確認されたテナパノル塩酸塩の無毒性量（1000 mg/kg/day）における各不純物及び分解物のレベルが、テナパノル塩酸塩の適応症である透析中の慢性腎臓病患者の一日最大投与量に対して十分な安全域を有することを確認した。

DEREK Nexus 及び Leadscope を用いた変異原性の in silico 解析では、10 種類すべての不純物及び分解物が ICH M7 のクラス 5 に分類された。

*新薬承認情報提供時に置き換え

以上より、テナパノル塩酸塩の原薬及び製剤に含まれる合計 10 種類の不純物及び分解物の規格値は適切に管理されていると考えられ、テナパノル塩酸塩を投与される患者に対する安全性上の懸念は無いと考えられた。

9 考察及び結論

テナパノル塩酸塩の毒性プロファイルを検討するために、単回経口投与毒性試験（ラット）、反復経口投与毒性試験（マウス、ラット及びイヌ）、遺伝毒性試験、がん原性試験（Tg rasH2 マウス及びラット）、生殖発生毒性試験（マウス、ラット、ウサギ、ゼブラフィッシュ）、幼若毒性試験（ラット）を実施した。また、その他の毒性試験として、主要代謝物 M1 並びに不純物及び分解物の安全性を評価した。臨床投与経路が経口であるため、局所刺激性試験は実施しなかった。

9.1 テナパノル塩酸塩の毒性

9.1.1 単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験

9.1.1.1 消化管に対する影響

ラットを用いた単回経口投与毒性試験並びにマウス、ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験では、いずれもテナパノル塩酸塩投与による主要な毒性として消化管に対する影響が認められた。特にげっ歯類ではイヌに比べて感受性が高く、用量の増加や投与期間の延長に伴い程度や発現頻度が増悪した。

一般状態観察で認められた変化は主に軟便及び下痢であり、げっ歯類ではこれらの所見に伴う肛門周囲の被毛の汚れや、剖検時の水溶性内容物の貯留を伴う腸管の拡張も認められた。テナパノルは、腸管内で局所的に作用する選択性の高い低分子の NHE3 阻害薬である。NHE3 は主に腸管上皮細胞の頂端膜に発現する Na^+/H^+交換輸送体であり、腸内の pH 恒常性を維持しながら、電気的中性の NaCl 及び水分の吸収を促している。NHE3 をコードする Slc9a3 遺伝子の機能欠損マウスでは、腸管でのナトリウム及び水分の吸収が阻害されることにより、下痢や水溶性内容物の貯留を伴う腸管拡張が起こることが報告されている（Schultheis et al., 1998）。このため、毒性試験で認められた排泄物の異常は、いずれもテナパノルの薬理作用に基づく直接的な影響に起因すると判断した。更に、げっ歯類では高用量投与（マウス：200 mg/kg/day、ラット：30 mg/kg/day 以上）により体重増加抑制又は体重減少、一般状態の悪化及び瀕死／死亡例の増加が認められた。Slc9a3 遺伝子の腸管上皮特異的ノックアウトマウスでは、持続的な下痢による飲水量の増加や一過性の体重減少、摂餌量減少及び重篤な消化管障害に起因した生存率の低下が報告されている（Xue et al., 2020）ことから、げっ歯類の毒性試験で認められた一般状態悪化や瀕死／死亡例の増加は、過剰な薬理作用に基づく持続的な下痢による影響であると考えられた。一方、イヌでは最高用量の 1000 mg/kg/day まで下痢や軟便以外の一般状態の悪化は認められず、忍容性は良好であった。

マウス（28 日間）、ラット（7 日間、14 日間、28 日間）及びイヌ（7 日間）を用いた反復経口投与毒性試験では、下痢又は軟便の発生とともに、腸管において Table 9.1.1.1-1 で示した病理組織学的所見も認められた。

Table 9.1.1.1-1 反復経口投与毒性試験の病理組織学的検査で認められた腸管における主な所見

動物種（報告書番号）	投与期間	性別	投与量（mg/kg/day）	腸管における主な病理所見
マウス（RDX5791-TX-09）	28 日間	雄	10, 50, 200	• 腸粘膜における炎症細胞浸潤（10 mg/kg/day 以上） • 腸管の陰窩細胞壊死（200 mg/kg/day）
		雌	10, 50, 200	• 腸粘膜における炎症細胞浸潤（50 mg/kg/day 以上） • 直腸粘膜の杯細胞減少（200 mg/kg/day） • 腸管の陰窩細胞壊死（200 mg/kg/day）
ラット（RDX5791-TX-02）	7 日間	雌雄	30	なし
ラット（RDX5791-TX-03）	7 日間	雌雄	100, 300, 1000	• 盲腸の杯細胞減少（100 mg/kg/day 以上）
ラット（RDX5791-07）	14 日間	雌雄	0.1, 1, 10	• 盲腸、結腸及び直腸の杯細胞減少及び炎症細胞浸潤（いずれも 0.1 mg/kg/day 以上）
ラット（RDX5791-TX-5）	18 日間	雄	30, 100, 300, 1000	• 盲腸、結腸、回腸、空腸及び／又は直腸の杯細胞減少 • 盲腸及び／又は直腸の炎症細胞浸潤 • 直腸の腺上皮壊死（いずれも 30 mg/kg/day 以上／より上）
	15 日間	雌	30, 100, 300, 1000	• 盲腸、結腸、十二指腸、回腸、空腸及び／又は直腸の杯細胞減少 • 盲腸及び／又は直腸の炎症細胞浸潤 • 直腸の腺上皮壊死（いずれも 30 mg/kg/day 以上／より上） • 結腸の粘膜委縮（1000 mg/kg/day）
イヌ（RDX5791-TX-04）	7 日間	雄	100, 300, 1000	• 結腸の杯細胞の軽度減少（1000 mg/kg/day）
		雌	100, 300, 1000	• 結腸及び回腸の暗赤色化及び／又はうっ血（1000 mg/kg/day）

NHE3 の欠損は、ナトリウム吸収障害に対する恒常性応答の一部として炎症性サイトカインや一酸化窒素合成酵素（NOS）の発現を誘導することも報告されており、NHE3 欠損マウスの病理組織学的所見では遠位結腸における陰窩過形成や杯細胞の減少、軽度の粘膜下浮腫性変化及び顆粒球のびまん性浸潤が認められている（Laubitz et al., 2008）。更に、NOS は、一酸化窒素を誘導することで腸の陰窩細胞壊死を引き起こすことがマウス大腸炎モデルから示唆されている（Leitao et al., 2011）。このため、毒性試験で認められた消化管の病理所見は、いずれも過剰な薬理作用に起因した変化であると考えられた。これらの病理学的所見は休薬期間で回復性が認められた。また、投与用量を下げたラットの長期反復投与毒性試験（最長 6 ヵ月、最高用量 10 mg/kg/day）ではいずれの病理所見も認められなかった。一方、イヌでは、7 日間反復投与毒性試験において 1000 mg/kg/day 投与で病理所見が認められたのみで、長期反復投与毒性試験（最長 9 ヵ月、最高用量 1000 mg/kg/day）ではこれらの病理所見は認められなかった。

以上より、薬理作用に起因した消化管に対する影響は、イヌに比べてげっ歯類で感受性が高いことが示された。

9.1.1.2 脱水による影響

げっ歯類を用いた反復経口投与毒性試験では、マウスは 50 mg/kg/day から、ラットは 10 mg/kg/day から持続的な摂餌量の減少及び／又は飲水量への影響が認められた。これらはいずれも下痢や軟便に伴う脱水に起因した変化であり、テナパノルの薬理作用に基づく二次的な影響と考えられた。ラットの 30 mg/kg/day 以上の投与群では、脱水に関連した各種変化が認められた。血液学的検査では、赤血球系の変化（赤血球数増加、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の高値）が認められ、脱水による血液濃縮に起因した変化と考えられた。また、血液生化学的検査では、腎機能に関連した変化（電解質、尿素窒素及び／又はクレアチニンの高値若しくは低値）や肝機能に関連した変化（コレステロール高値、アルブミン及び総蛋白の高値、アラニンアミノトランスフェラーゼ高値、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ高値及び／又は A/G 比の高値）が認められたが、いずれも脱水に関連した変化と考えられた。

一方、イヌを用いた反復経口投与毒性試験では、摂餌量の減少や飲水量の変化及び脱水に関連した変化は認められなかった。これは、げっ歯類の消化器症状が主に下痢であったのに対し、イヌでは最高用量の 1000 mg/kg/day まで主に軟便であったことから、イヌでは排泄物の異常に伴う水分消失の程度が低かったためと考えられた。

9.1.1.3 白血球及びリンパ組織に対する影響

ラットを用いた反復経口投与毒性試験（7 日間、14 日間、28 日間）では、10 mg/kg/day 以上の投与群においてリンパ球数及び白血球数の低値と、脾臓の絶対重量並びに体重及び脳重量に対する相対重量の低値が認められた。30 mg/kg/day 以上の投与群では、各種リンパ組織におけるリンパ球数及び白血球数の減少が認められた。低栄養状態では免疫機能の低下及びリンパ組織における細胞数減少が引き起こされることから（大森 and 大毛, 2019; Chandra, 1983）、これらはいずれも持続的な下痢や軟便、摂餌量減少による栄養不良に関連した変化であり、テナパノルの薬理作用に基づく二次的な影響と考えられた。これらの変化は、ラットの長期試験（3 ヵ月、6 ヵ月）及びイヌの毒性試験（最長 9 ヵ月）では認められなかった。

9.1.1.4 全身曝露

テナパノル塩酸塩の全身曝露量は非常に低く、各動物種における反復経口投与毒性試験の血漿中濃度測定では、定量下限未満の測定試料が散見された。各試験における C_{max} 及び AUC を 2.6.7-3 項に示した。

マウス及びラットでは、テナパノル塩酸塩の反復経口投与後の全身曝露量は雄に比べて雌の方が高い傾向にあったが、雌雄ともに反復投与による蓄積性が認められた。一方イヌでは、テナパノル塩酸塩を反復経口投与したときの血漿中濃度は個体差が大きく、全身曝露量の用量依存性、雌雄差及び蓄積性を正確に評価することは困難であった。更に、イヌの蓄積性はマウスやラットと比べて程度が低かった。

9.1.1.5 消化管に対する影響の種差

上述のように、マウス、ラット及びイヌの反復経口投与毒性試験では、いずれもテナパノルの薬理作用に基づく直接的な消化管障害又はそれに起因する二次的な影響が認められたが、薬理作用に起因した消化管に対する影響には種差があることが示された。テナパノル塩酸塩の細胞膜透過性は非常に低く、腸管内で局所的に NHE3 阻害作用を示すが、投与後 24 時間までに投

与した大部分が未変化体として糞中に排泄される（2.6.4-9 項）ことから、薬物動態特性の観点から薬理作用の種差を結論づけることは難しいと考えられた。

NHE3 は腸管上皮細胞の頂端膜に発現する Na^+/H^+交換輸送体であり、ヒトでは腸管におけるナトリウム吸収において最も重要な経路であると考えられている。ラット、イヌ及びヒトの正常状態における腸管での NHE3 遺伝子発現解析を実施した結果、NHE3 はすべての種において腸管全体で発現が認められ、概して類似した発現を示した（2.6.2-2.4 項）。このため、NHE3 の発現量の違いから消化管に対する影響の種差を説明することは困難であった。ENaC は、α、β 及び γ サブユニットから構成されることで機能する上皮性ナトリウムチャネルであり、同じく腸管上皮細胞の頂端膜に存在する。ラット、イヌ及びヒトの正常状態における腸管での ENaC 遺伝子発現解析の結果、α サブユニットはラット、イヌ及びヒトにおいて腸管全体で発現が認められたが、β 及び γ サブユニットの発現量は概して低く、正常状態においては機能的な ENaC 発現はいずれの種においても低いと考えられた（2.6.2-2.4 項）。一方、NHE3 機能欠損マウスにおける遠位結腸では、NHE3 機能の代替として ENaC の β 及び γ サブユニットの発現及び活性の上昇が引き起こされる（Schultheis et al., 1998）ことから、テナパノル投与条件下では、NHE3 阻害によるナトリウム吸収低下を補完するために、遠位結腸において ENaC の発現／活性が誘導される可能性が考えられる。また、ENaC 阻害剤を用いたヒト及びラットの近位／遠位結腸の頂端膜における ENaC 活性評価では、ヒトの遠位結腸で ENaC 活性が認められたのに対し、ラット結腸では近位／遠位ともに ENaC 活性が認められなかったことが報告されている（Sandle and McGlone, 1987）ことから、ヒトでは、NHE3 阻害下において ENaC が代替機能を果たしうる一方で、ラットでは ENaC による代替機能が低い可能性が考えられた。

以上のように、NHE3 の発現量に種差は認められず、テナパノルの薬理作用に起因した消化管に対する影響の種差の機序を完全には考察できていないが、NHE3 阻害下で代替機能を果たすと考えられる ENaC には種差を示唆する報告があり、消化管に対する影響の種差と関連している可能性が示唆された。

9.1.1.6　ヒトにおける安全性の考察

マウス、ラット及びイヌを用いた単回／反復経口投与毒性試験で認められた急性／慢性の諸変化は、いずれも消化管における NHE3 阻害を起点とした変化と考えられ、それ以外には明らかな毒性変化は認められなかった。テナパノル塩酸塩の全身曝露は非常に低いことが示唆されており、これまでの臨床試験においてほぼすべての検体で血漿中テナパノル濃度は定量下限（0.5 ng/mL）未満であった。このため、血中曝露をもとにヒトでの安全域を明確に算出することは困難だったが、少なくともヒトの全身曝露を上回る条件下で実施された各種単回／反復経口投与毒性試験において、薬理作用と関連の無い毒性変化が認められなかったことから、薬理作用に関連しない副作用の発現リスクは低いと考えられた。

9.1.2　遺伝毒性試験

テナパノル塩酸塩は、細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性を示さず、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験で構造及び数的異常を誘発しなかった。また、テナパノル塩酸塩は、マウス及びラットを用いた骨髄小核試験において染色体異常を誘発しなかった。

以上より、テナパノル塩酸塩は遺伝毒性を有さないと考えられた。

9.1.3 がん原性試験

rasH2 マウス（CByB6F1/Tg rasH2）にテナパノル塩酸塩を雄に最大 50 mg/kg、雌に最大 400 mg/kg の用量で 1 日 2 回 26 週間反復経口投与、また、M1 を 55 又は 165/110 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 26 週間反復経口投与したが、いずれもがん原性を示さなかった。

Sprague Dawley ラットに、最大 10/5 mg/kg/day の用量でテナパノル塩酸塩を、雄で 86 週間、雌で 96 週間反復経口投与したが、がん原性を示さなかった。

9.1.4 生殖発生毒性試験

CD-1 マウスにテナパノル塩酸塩を 50 mg/kg/day まで反復経口投与したが、雌の受胎能、交配能又は妊娠能に影響は認められなかった。また、雄 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を 10 mg/kg/day まで反復経口投与して、無処置雌と交配したときに、雄の生殖能（交配能、授精能及び交尾能)、胚の子宮内生存率にテナパノル塩酸塩に関連した影響は認められなかった。

妊娠 Sprague Dawley ラットにテナパノル塩酸塩を反復経口投与したところテナパノルの全身曝露量は非常に低かったが、死亡及び瀕死、主に排泄物異常に関連した一般状態悪化、体重及び摂餌量減少が認められ、10 mg/kg/day 以上の用量では忍容性は良好ではなかった。1 mg/kg/day 投与群では、排泄物異常に関連した一般状態の変化がほぼ投与期間を通して認められた。1 mg/kg/day 投与群では、子宮内の胎児の成長及び生存並びに外表、内臓及び骨格の形態に影響は認められなかった。母動物に認められた毒性は、テナパノル塩酸塩の薬理作用に基づく軟便及び下痢とその二次的変化によると考えられた。生存胎児数並びに胎児の体重、性比、外表、内臓及び骨格に影響は認められなかったことから、評価可能な用量において、テナパノル塩酸塩はラットの胚・胎児発生に対して影響を与えないと考えられた。

妊娠ニュージーランド白色種ウサギに 45 mg/kg/day のテナパノル塩酸塩を反復経口投与した試験でも、妊娠ラットの試験と同様、下痢や軟便を主とする一般状態の変化が認められ、15 及び 45 mg/kg/day 投与群では体重減少及び／又は体重増加抑制が認められた。すべてのテナパノル塩酸塩投与群で子宮重量、生存胎児数並びに胎児の体重、性比、外表、内臓及び骨格に影響は認められなかったことから、テナパノル塩酸塩はウサギの胚・胎児発生に対して影響を与えないと考えられた。

雌性 CD-1 マウスに 200 mg/kg/day の用量のテナパノル塩酸塩を反復経口投与して、F_0 雌を観察・交配し分娩させたが、いずれの用量でも F_0 雌にテナパノル塩酸塩に関連した毒性は認められなかった。授乳期間中の F_1 では、体重の低値や活動性評価及び記憶評価において一過性の影響が認められた。しかしながら、離乳後の F_1 生存率、F_1 体重増加、活動性評価、記憶評価及び F_1 生殖能又は F_2 出生後生存率にテナパノル塩酸塩の影響は認められなかったことから、テナパノル塩酸塩は出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に影響を与えないと考えられた。

以上より、テナパノル塩酸塩は親動物の生殖能及び次世代の発生に影響を与えないと考えられた。

9.1.5 幼若動物試験

幼若 Sprague Dawley ラット（生後 5～61 日齢）を用いた反復経口投与毒性試験では、0.3 mg/kg/day 投与群でテナパノル塩酸塩の投与と関連した死亡及び瀕死が認められた。当該試験におけるテナパノル塩酸塩の幼若ラットに対する無毒性量は 0.1 mg/kg/day と考えられた。本試験で認められた毒性はテナパノル塩酸塩の薬理作用に基づく軟便及び下痢とそれに関連する二次的な変化であると考えられた。また、生存例では、最高用量の 0.3 mg/kg/day まで幼若ラッ

トの発育分化、機能発達及び生殖能に対する影響は認められなかった。このため、テナパノル塩酸塩は幼若ラットに対して発生毒性、神経行動毒性及び生殖毒性を有さないと考えられた。

更に、幼若 Sprague Dawley ラット（生後 21～80 日齢）を用いた反復経口投与毒性試験では、最高用量（雄：0.7 mg/kg/day、雌：1.0 mg/kg/day）までテナパノル塩酸塩投与に起因した瀕死／死亡例は認められなかった。本試験で認められた毒性はテナパノル塩酸塩の薬理作用に基づく軟便とそれに関連する二次的な変化であると考えられた。雌での平均膣開口日数の遅延や雄での脛骨長の短縮は、発達段階における体重減少に伴った変化であると考えられた。

以上より、離乳前（生後約 21 日齢まで）からの投与では 0.3 mg/kg/day 投与群で死亡及び瀕死が認められたが、離乳後からの投与では、評価した最高用量（雄：0.7 mg/kg/day、雌：1.0 mg/kg/day）までテナパノル塩酸塩投与に起因した死亡又は瀕死例は認められなかった。また、いずれの試験でも発達段階における幼若動物特有の毒性所見は認められなかった。

9.2 M1 の毒性

雄の C57BL/6 マウスを用いた M1 の単回経口投与毒性試験では、概略の致死量は 1000 mg/kg と判断した。雌雄の Sprague Dawley ラットを用いた M1 の単回投与毒性試験では、MTD は 1000 mg/kg を超える用量であった。雌雄の C57BL/6 マウスに 30、100 及び 300 mg/kg/day の用量の M1 を 4 日間反復経口投与した試験では、300 mg/kg/day 投与群の雄で重篤な嗜眠並びに努力性又は促拍呼吸が認められ、このときの 24 時間後の平均 C_{min} は雄で 1282 ng/mL、雌で 80 ng/mL であった。雌雄の CByB6F1/J マウスに 500 及び 1000 mg/kg/day の用量の M1 を 14 日間反復経口投与した試験では、500 mg/kg/day 投与群から瀕死又は死亡が多発し、M1 の忍容性は認められなかった。このときの血漿中 M1 濃度は、最終投与後 30 分で約 54 μg/mL、投与後 24 時間で約 2～5 μg/mL であり、高い血漿中濃度が認められた。rasH2 マウスに 75、150 及び 250 mg/kg/day の用量の M1 を 28 日間反復経口投与した試験では、M1 投与により毒性学的意義のある変化は認められなかった。250 mg/kg/day 投与群の投与 27 日目における AUC_{last} 及び C_{max} は、雄で 201000 ng·h/mL 及び 40900 ng/mL、雌で 439000 ng·h/mL 及び 42000 ng/mL であった。

M1 は、復帰突然変異試験で変異原性を示さず、L5178Y 細胞を用いた小核試験で小核を誘発しなかったことから、遺伝毒性を有していないと考えられた。

マウスに M1 を最大 165 mg/kg/day を 26 週間反復経口投与した結果、M1 はがん原性を示さなかった。

Sprague Dawley ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験において、M1 の 400 mg/kg/day 投与群で、媒体投与群に比べて生存胎児数の減少、胎児の平均体重の減少、胎児の異常（局所又は全身性の浮腫及び骨格異常）及び変異（脾臓の淡色化及び小型化、骨格変異並びに骨化不全）の増加が認められた。したがって、M1 は催奇形性を有すると判断した。

マウス、ラット及びイヌを用いたテナパノル塩酸塩の反復経口投与毒性試験において、M1 は血漿中で検出された。マウスがん原性試験では、テナパノル塩酸塩及び M1 を投与したすべての動物で M1 の曝露が認められたが、反復投与による M1 の蓄積はほとんどみられなかった。ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験では、母動物及び胚・胎児発生における無毒性量である 150 mg/kg/day 投与群では、妊娠 17 日目の母動物の $AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} は、それぞれ 897000 ng·h/mL 及び 52500 ng/mL であった。

以上より、C57BL/6 マウスの 4 日間反復経口投与毒性試験から、M1 は 300 mg/kg/day で努力性又は促拍呼吸並びに重篤な嗜眠を引き起こした。CByB6F1/J マウスを 500 及び 1000 mg/kg/day の用量で 14 日間反復経口投与したとき、瀕死又は死亡が多発し、M1 の忍容性は認められなか

った。rasH2 マウスに M1 を 28 日間反復経口投与したときの無毒性量は 250 mg/kg であった。ラットの胚・胎児発生毒性試験から、M1 はラットで催奇形性を誘発すると判断した。透析施行中の CKD 患者に 30 mg のテナパノル塩酸塩を 1 日 2 回投与したときの M1 の定常状態における C_{max} は 14 ng/mL である（5.3.5.1-7-27 項）ことから、ヒト臨床濃度に対する安全域は十分担保できていると考えられた。

9.3 不純物及び分解物に関する評価

テナパノル関連物質の全 39 構造について、Derek Nexus 及び Leadscope を用いた in silico 解析により細菌に対する変異原性を予測した。更に、テナパノル塩酸塩の不純物及び分解物の合計 10 化合物について、イヌを用いた毒性試験における無毒性量での曝露に基づいた安全性評価を実施した。

変異原性予測では、全 39 構造のうち 32 構造が ICH M7 のクラス 5 に、3 構造がクラス 4 に、2 構造がクラス 3 に、1 構造がクラス 2 に、残り 1 構造がクラス 1 に分類された。クラス 1～4 に分類された 7 構造のうち、 不純物K* 、 不純物M* （クラス 4）、 不純物N* 及び 不純物O* （クラス 3）の 4 構造は、いずれも原薬の出発物質の生成段階又は単離工程中に不活性化又は除去されると考えられた。クラス 4 の 不純物L* 遊離塩基）は、製造プロセスの段階で消費又は加水分解により除去されると考えられた。クラス 2 の 不純物P* は、初期開発バッチの分析により 5 ppm 未満であることが確認された。クラス 1 の 不純物Q* は、原薬の規格値として 300 ppm 以下に設定された（2.3.S.3 項）。

規格値が ICH Q3A で設定される安全性確認の閾値を上回った合計 10 種類の不純物及び分解物については、反復経口投与毒性試験並びに変異原性の in silico 解析の結果に基づいた安全性評価を行った。

非臨床毒性試験の製品バッチ、原薬及び製剤における不純物及び分解物の規格値を Table 9.3-1 に示した。

Table 9.3-1 安全性評価を実施した不純物及び分解物における規格値

分解物/不純物	規格値（US）	原薬（DS）規格*	製剤（DP）規格*
不純物A※			
不純物B※			
不純物C※			
不純物D※			
不純物E※			
不純物F※			
不純物G※			
不純物H※			
不純物I※			
不純物J※			

*: 国内申請時
DS = drug substance（原薬）
DP = drug product（製剤）

※新薬承認情報提供時に置き換え

評価対象の不純物及び分解物のうち、不純物A*、不純物B*及び不純物J*を除く7化合物は、国内申請時の原薬及び／又は製剤の規格値は規格値（US）と同等又はそれ以下の規格で設定されている。不純物A*及び不純物B*は、いずれも原薬中の不特定の限界値以下（≤0.2%）で制御されている。このため、非臨床毒性試験の結果からの安全性評価は妥当と考えられた。

イヌの無毒性量（1000 mg/kg/day）における各不純物及び分解物のレベルを用いて評価した結果、テナパノル塩酸塩を投与される患者の一日最大投与量に対して十分な安全域を有することが確認された。更に、変異原性の in silico 解析の結果、10 種類すべての不純物及び分解物が ICH M7 のクラス 5 に分類された。

以上より、テナパノル塩酸塩の原薬及び製剤に含まれる合計 10 種類の不純物及び分解物の規格値は適切に管理されていると考えられ、テナパノル塩酸塩を投与される患者に対する安全性上の懸念は無いと考えられた。

*新薬承認情報提供時に置き換え

10 総括

テナパノル塩酸塩の毒性プロファイルを検討するために、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、幼若毒性試験及び不純物の安全性評価を実施した。その結果、ほぼすべての in vivo 試験を通して下痢や軟便などの消化器症状を主とした変化が認められたが、いずれもテナパノル塩酸塩の薬理作用に基づく変化と考えられた。特にげっ歯類では感受性が高く、高用量では過剰な消化器症状発現による状態悪化が認められた。一方、イヌでは評価した最高用量まで忍容性は良好であり、症状の発現には種差が認められた。テナパノル塩酸塩投与による遺伝毒性、がん原性、子動物に対する生殖発生毒性、幼若毒性はいずれも認められなかった。

更に、主要代謝物 M1、不純物及び分解物の安全性を評価した。M1 の単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験を実施した結果、臨床投与量より極めて高い曝露条件下においてマウスで重篤な毒性、ラットで催奇形性が認められたものの、ヒトに対する安全域は十分担保できていると考えられた。

In silico 解析による変異原性予測及びイヌを用いた毒性試験における無毒性量での曝露に基づく安全性評価の結果、不純物及び分解物の規格値は適切に管理されていると考えられた。

以上より、臨床ではテナパノル塩酸塩の薬理作用に基づく消化器症状を適切にモニタリングすることで、ヒトでの安全性を担保できると考えられた。

11 参考文献

Chandra, 1983

Chandra RK. Numerical and functional deficiency in T helper cells in protein energy malnutrition. Clin exp Immunol. 1983;51:126-32.

Laubitz et al., 2008

Laubitz D, Larmonier CB, Bai A, et al. Colonic gene expression profile in NHE3-deficient mice: evidence for spontaneous distal colitis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008;295:G63-77.

Leitao et al., 2011

Leitao RF, Brito GA, Oria RB, et al. Role of inducible nitric oxide synthase pathway on methotrexate-induced intestinal mucositis in rodents. BMC Gastroenterol. 2011;11:90.

Sandle and McGlone, 1987
Sandle GI, McGlone F. Segmental variability of membrane conductances in rat and human colonic epithelia : implications for Na, K and Cl transport. Pflugers Arch. 1987;410:173-80.

Schultheis et al., 1998
Schultheis PJ, Clarke LL, Meneton P, et al. Renal and intestinal absorptive defects in mice lacking the NHE3 Na^+/H^+ exchanger. Nat Genet. 1998;19:282-5.

Xue et al., 2020
Xue J, Thomas L, Tahmasbi M, et al. An inducible intestinal epithelial cell-specific NHE3 knockout mouse model mimicking congenital sodium diarrhea. Clin Sci (Lond). 2020;134:941-53.

大森 and 大毛, 2019
大森慶太郎, 大毛宏喜. 低栄養患者における感染症. 日本内科学会雑誌. 2019;108:2291-96.

12 図表

図表はいずれも本文中に記載した。

13 補遺

テナパノル塩酸塩又は M1 を用いて以下の試験を実施したが、以下に記載の事由により製造販売承認申請資料から除外した。

補遺 1　ラットを用いた 28 日間反復経口（混餌）投与毒性試験（試験番号[redacted]-775029）

雌雄の Sprague Dawley ラットに、テナパノル塩酸塩又はテナパノルを雄には 12 日間、雌には 11 日間混餌投与した（6 例／性／群）。投与量は、テナパノル塩酸塩及びテナパノルともに 10、30 及び 100 mg/kg/day とし、対照群には基礎飼料を与えた。

テナパノルを投与したすべての投与群で用量依存性のない摂餌量の減少及び体重減少が認められ、テナパノルを含む飼料の嗜好性に問題があると考えられたため、本試験は中止された。試験データの評価は行わなかった。

補遺 2　細菌を用いた簡易復帰突然変異試験（試験番号 RDX5791-GT-01）

ネズミチフス菌株の 2 株（TA98 及び TA100）を用いて、テナパノル塩酸塩の簡易復帰突然変異試験（mini-Ames 試験）を実施した。同様の試験を 4.1.1.1 項に記載している。

補遺 3　細菌を用いた M1 の復帰突然変異試験（試験番号[redacted]00031）

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌株（WP2 *uvrA*/pKM101）を用いてラット肝 S9 代謝活性化系（ラット肝 S9 mix）の存在下及び非存在下で、M1 の復帰突然変異試験を実施した。同様の試験を 8.1.6 項に記載している。

KHK7791

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

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

協和キリン株式会社

目次

略号及び用語の定義一覧 5
2.6.7 毒性試験概要表 6
1 毒性試験：一覧表 6
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 13
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 15
3.1 Overview of Toxicokinetics Data - C_{max} 15
3.2 Overview of Toxicokinetics Data - AUC 17
4 毒性試験：使用ロット 19
5 単回投与毒性試験 22
5.1 Single-dose Toxicity of RDX5791 at 300 mg/kg in Rats [RDX5791-TX-01] 22
6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 23
6.1 Repeat-Dose Toxicity Studies in Mice 23
6.1.1 A 7-Day Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study with RDX5791 in CD-1 Mice [RDX5791-TX-08] 23
6.2 Repeat-Dose Toxicity Studies in Rats 24
6.2.1 A 7-Day Oral (Gavage) Investigative Toxicity Study with 30 mg/kg RDX5791 in Sprague-Dawley Rats [RDX5791-TX-02] 24
6.2.2 A 7-Day Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study with RDX5791 in Sprague Dawley Rats [RDX5791-TX-03] 25
6.2.3 A 14-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats [RDX5791-07] 26
6.3 Repeat-Dose Toxicity Studies in Dogs 29
6.3.1 A 7-Day Oral (Capsule) Dose Range-Finding Study with RDX5791 in Beagle Dogs [RDX5791-TX-04] 29
7 反復投与毒性試験：重要な試験 30
7.1 Repeat-Dose Toxicity Studies in Mice 30
7.1.1 A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in CD-1 Mice [RDX5791-TX-09] 30
7.2 Repeat-Dose Toxicity Studies in Rats 32
7.2.1 A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats [RDX5791-TX-5] 32
7.2.2 A 3-Month Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 28-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats [RDX5791-TX-10] 39
7.2.3 A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of AZD1722 in Sprague Dawley Rats with Male Fertility Evaluation [[redacted]-775030] 42
7.3 Repeat-Dose Toxicity Studies in Dogs 46
7.3.1 A 28-Day Oral (Capsule) Toxicity and toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Beagle Dogs [RDX5791-TX-06] 46
7.3.2 A 3 Month Oral (Capsule) Toxicity Study of RDX5791 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Period [RDX5791-TX-11] 48
7.3.3 A 9-Month Oral (Capsule) Toxicity Study of AZD1722 in Beagle Dogs [[redacted]-775031] 50
8 遺伝毒性試験：重要な試験以外の試験 52
8.1 AZD1722: Maximum Tolerated Dose IV Toxicity Study in the Rat [3570[redacted]] 52
9 遺伝毒性試験: In Vitro（重要な試験） 53
9.1 Bacterial Reverse Mutation Assay [RDX5791-GT-02] 53
9.2 In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test [RDX5791-GT-03] 56

10 遺伝毒性試験: In Vivo（重要な試験） 58
10.1 In Vivo Micronucleus Assay in Mice by Oral Gavage [RDX5791-GT-04] 58
10.2 AZD1722: Genetic Toxicity Evaluation using the Rat Micronucleus Test after Two Intravenous Doses [3585[redacted]] 59

11 がん原性試験：重要な試験以外の試験 60
11.1 AZD1722: Oral Maximum Tolerated Dose and Dose Range-Finding Toxicity Study in CByB6F1 Hybrid Mice [0976[redacted]] 60
11.2 AZD1722: 1-Month Oral Range-Finding Toxicity Study in CByB6F1 Hybrid Mice [0977[redacted]] 62

12 がん原性試験：重要な試験 64
12.1 AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rat [20049785] 64
12.2 A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice [RDX5791-TX-16] 73

13 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 84
13.1 AZD1722: Oral Dose Range-Finding Toxicity Study in the Non-Pregnant Rabbit [0333[redacted]] 84
13.2 Oral Dose Range-Finding Studies in the Pregnant Rats and Rabbits (RDX5791-TX-12, RDX5791-TX-13) 85
13.3 Zebrafish Developmental Toxicity Assay (ZEDTA) Report [Batch 23] 86

14 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期発生に関する試験（重要な試験） 87
14.1 AZD1722: Oral Fertility and Early Embryonic Development Study in the Female Mouse [0967[redacted]] 87
14.2 A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of AZD1722 in Sprague Dawley Rats with Male Fertility Evaluation [[redacted]-775030] 90

15 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（重要な試験） 91
15.1 An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rats [RDX5791-TX-14] 91
15.2 An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rabbits [RDX5791-TX-15] 96

16 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（重要な試験） 101
16.1 An Oral (Gavage) Study of the Effects of Tenapanor on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Mice [[redacted]-775035] 101

17 幼若動物を用いた試験：重要な試験以外の試験 108
17.1 A Pilot 21-Day Repeat Dose Toxicity Study of Tenapanor in Male and Female Juvenile Rats (Post Natal Days 5 to 26) [1884[redacted]] 108
17.2 An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of Tenapanor in Juvenile Rats [00775062] 109
17.3 A 21-Day Oral Dose Range-Finding Toxicity Study in Post-Weaning Juvenile Rats [2050[redacted]] 114

18 幼若動物を用いた試験：重要な試験 115
18.1 An 8-Week Oral (Gavage) Toxicity Study of Tenapanor in Juvenile Rats with a 4-Week Recovery Period [00775063] 115
18.2 A 60-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of Tenapanor in Post-Weaning Juvenile Rats with a 14-Day Recovery Period [20301378] 117

19 局所刺激性試験 120

20 その他の毒性試験 121
20.1 Toxicity of Tenapanor Metabolite M1 (AZ13792925) 121
20.1.1 Single Dose Toxicity Studies of M1(AZ13792925) 121
20.1.2 A 4-Day Repeat Dose Toxicity Study of AZ13792925 [RDX5791-M1-03] 122

20.1.3 A 14-Day Repeat Dose Toxicity Study of AZ13792925 [RDX5791-M1-04] 123
20.1.4 A 28-Day Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of AZ13792925 in Hemizygous RasH2 [CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic] Mice [[redacted]-775038] 125
20.1.5 AZ13792925: Genetic Toxicity Evaluation Using the Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* TA1535, TA100, TA1537 and TA98 and *Escherichia coli* WP2 *uvrA* (pKM101) [3581[redacted]] 127
20.1.6 AZ13792925: In Vitro Micronucleus Assay Using L5178Y Cells [3522[redacted]] 129
20.1.7 An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats [[redacted]-775033] 131
20.1.8 An Oral (Gavage) Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats [[redacted]-775034] 134
20.2 Qualification of Impurities 139
20.2.1 Toxicological Analysis of Potential Impurities of Tenapanor for Bacterial Mutagenicity Using Derek Nexus and Leadscope [[redacted]002drkls] 139
20.2.2 Toxicity of Impurities: Tenapanor Impurity and Degradant Product Qualification [RDX5791-TX-17] 143

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
CP	Cyclophosphamide monohydrate（シクロホスファミド一水和物）
DMSO	Dimethylsulfoxide（ジメチルスルホキシド）
DRF	Dose Range Finding（用量設定）
FDA	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use（医薬品規制調和国際会議）
IE	Immature erythrocytes（幼若赤血球）
LED	Lowest effective dose level（最低有効用量）
MIE	Micronucleated immature erythrocytes（小核を有する幼若赤血球）
MMC	Mitomycin C（マイトマイシン C）
mnPCE	Micronucleated polychromatic erythrocytes（小核を有する多染性赤血球）
MMS	Methyl methanesulfonate（メタンスルホン酸メチル）
MTD	Maximum tolerated dose（最大耐量）
NA	Not applicable（適応外）
ND	Not determined（未確定）
NT	Not tested（未評価）
NMU	N-methyl-N-nitrosourea（N-メチル-N-ニトロソ尿素）
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level（無毒性量）
PCE	Polychromatic erythrocytes（多染性赤血球）
QSAR	Quantitative Structure-activity relationship（定量的構造活性相関）
SA	Sodium Azide（アジ化ナトリウム）
TK	Toxicokinetics（トキシコキネティクス）
Tg	Transgenic（遺伝子導入）
2AA	2-Aminoanthracene（2-アミノアントラセン）
2NF	2-Nitrofluorene（2-ニトロフルオレン）
9AAD	9-Aminoacridine（9-アミノアクリジン）

用語の定義

用語	定義
AUC	血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{0-t}	投与後 t 時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{0-24}	投与後 24 時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{0-6}	投与後 6 時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{inf}	無限大時間までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
AUC_{last}	最終測定時点までの血漿中薬物濃度–時間曲線下面積
BID	1 日 2 回
BLQ	定量下限未満
C_{max}	最高血漿中薬物濃度
C_{min}	血漿中濃度のトラフ値
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
KHK7791	テナパノル塩酸塩、開発番号
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
M1	KHK7791 代謝物
SD	標準偏差
SE	標準誤差
t_{max}	最高血漿中薬物濃度到達時間

2.6.7 毒性試験概要表

1 毒性試験：一覧表

概要			被験物質: テナパノル塩酸塩 (RDX5791, AZD1722)			
試験の種類	動物種、系統 (群構成)	用量、投与経路、投与期間	GLP 適用	実施施設	報告書番号	資料番号
単回投与毒性試験						
単回経口投与毒性試験	ラット、 Sprague Dawley (n=3/雌/群)	300 mg/kg、経口	非適用	[redacted]	RDX5791-TX-01	参考 4.2.3.1-1
反復投与毒性試験						
7 日間反復経口投与用量設定試験	マウス、CD-1 (n=5/性/群)	30, 100, 300 mg/kg/日、 経口、7 日間	非適用	[redacted]	RDX5791-TX-08	参考 4.2.3.2-1
28 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験	マウス、CD-1 (n=20/性/毒性群、 n≤10/性/回復群)	10, 50, 200 mg/kg/日、 経口、28 日間	適用	[redacted]	RDX5791-TX-09[a]	4.2.3.2-2
7 日間反復経口投与毒性試験	ラット、 Sprague Dawley (n=5/性/群)	30 mg/kg/日、経口、7 日間	非適用	[redacted]	RDX5791-TX-02	参考 4.2.3.2-3
7 日間反復経口投与用量設定試験	ラット、 Sprague Dawley (n=5/性/群)	100, 300, 1000 mg/kg/日、 経口、7 日間	非適用	[redacted]	RDX5791-TX-03	参考 4.2.3.2-4
14 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験	ラット、 Sprague Dawley (n=10/性/毒性群、 n=5/性/回復群)	0.1, 1, 10 mg/kg/日、経口、 14 日間	適用	[redacted]	RDX5791-07	4.2.3.2-5
28 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験	ラット、 Sprague Dawley (n=10/性/毒性群、 n≤5/性/回復群)	30, 100, 300, 1000 mg/kg/ 日、経口、雄：18 日間、 雌：15 日間	適用	[redacted]	RDX5791-TX-5[a]	4.2.3.2-6

Table continues

概要			被験物質: テナパノル塩酸塩 (RDX5791, AZD1722)（続き）			
試験の種類	動物種、系統 (群構成)	用量、投与経路、投与期間	GLP 適用	実施施設	報告書番号	資料番号
3 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験	ラット、 Sprague Dawley (n=10/性/毒性群、 n=5/性/回復群)	0.1, 1, 5 mg/kg/日、経口、 91 日間	適用	[redacted]	RDX5791-TX-10[a]	4.2.3.2-7
6 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び雄性授胎能評価試験	ラット、 Sprague Dawley (n=20/雄/毒性群、 n=15/雌/ 毒性群)	1, 3, 10 mg/kg/日、経口、 182-183 日間	適用	[redacted]	[redacted]-775030	4.2.3.2-8
7 日間反復経口投与用量設定試験	イヌ、Beagle (n=1/性/群)	100, 300, 1000 mg/kg/日、 経口、7 日間	非適用	[redacted]	RDX5791-TX-04	参考 4.2.3.2-9
28 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験	イヌ、Beagle (n=3/性/毒性群、 n=2/性/回復群)	50, 300, 1000 mg/kg/日、 経口、28 日間	適用	[redacted]	RDX5791-TX-06[a]	4.2.3.2-10
3 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験	イヌ、Beagle (n=4/性/毒性群、 n=2/性/回復群)	50, 300, 1000 mg/kg/日、 経口、91 日間	適用	[redacted]	RDX5791-TX-11[a]	4.2.3.2-11
9 ヵ月間反復経口投与毒性試験	イヌ、Beagle (n=4/性/群)	50, 300, 1000 mg/kg/日、 経口、273 日間	適用	[redacted]	[redacted]-775031	4.2.3.2-12
遺伝毒性試験：In vitro						
細菌を用いた復帰突然変異試験	ネズミチフス菌 TA98, TA100, TA1535, TA1537, 大腸菌 WP2 *uvr*A	50, 150, 500, 1500, 5000 µg/mL	適用	[redacted]	RDX5791-GT-02	4.2.3.3.1-1
哺乳類培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球	62.5, 125, 250, 500, 1000, 2000, 2500, 3000 µg/mL	適用	[redacted]	RDX5791-GT-03	4.2.3.3.1-2

Table continues

概要			被験物質: テナパノル塩酸塩 (RDX5791, AZD1722)（続き）			
試験の種類	動物種、系統 (群構成)	用量、投与経路、投与期間	GLP 適用	実施施設	報告書番号	資料番号
遺伝毒性試験：In vivo						
骨髄小核試験	マウス、CD-1 (n=5/性/群)	500, 1000, 2000 mg/kg/日、 経口、2 日間	適用	[redacted]	RDX5791-GT-04	4.2.3.3.2-1
静脈内投与最大耐量毒性試験	ラット、Wistar Han (n=1～3)	1, 2, 4, 6, 8, 10 mg/kg/日、 静脈内、2 日間	非適用	[redacted]	3570[redacted]	参考 4.2.3.3.2-2
骨髄小核試験	ラット、Wistar Han (n=7/雄/群)	1, 5, 10 mg/kg/日、 静脈内、2 日間	適用	[redacted]	3585[redacted]	4.2.3.3.2-3
がん原性試験						
104 週間反復経口投与がん原性試験	ラット、 Sprague Dawley (n=60/性/群)	1, 3/2[b], 10/5[c] mg/kg/日、 経口、104 週間	適用	[redacted]	20049785	4.2.3.4.1-1
経口投与最大耐量及び用量設定試験	マウス、 CByB6F1 Hybrid (非遺伝子組換え同腹仔) (n=2～6/性/群)	最大耐量試験：単回 50, 100, 200, 400, 400 BID, 800 mg/kg、経口 用量設定試験：100, 200, 400 mg/kg BID、 経口、7 日間	非適用	[redacted]	0976[redacted]	参考 4.2.3.4.2-1
1 ヵ月間反復経口投与毒性試験	マウス、 CByB6F1 Hybrid (非遺伝子組換え同腹仔) (n=10/性/群)	50, 200, 400 mg/kg BID、 経口、28 日間	適用	[redacted]	0977[redacted]	4.2.3.4.2-2
がん原性試験	マウス、 CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic (n=25/性/群)	雄: 10, 30, 100 mg/kg/日、 雌: 100, 300, 800 mg/kg/日、経口、26 週間	適用	[redacted]	RDX5791-TX-16	4.2.3.4.2-3

Table continues

概要			被験物質: テナパノル塩酸塩 (RDX5791, AZD1722)（続き）			
試験の種類	動物種、系統 (群構成)	用量、投与経路、投与期間	GLP 適用	実施施設	報告書番号	資料番号
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						
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	マウス、CD-1 (n=24/雌/群)	10, 50 mg/kg/日、経口、 交配 14 日前から交配 6 日後	適用	[redacted]	0967[redacted]	4.2.3.5.1-1
6 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び雄性授胎能評価試験	ラット、 Sprague Dawley (n=20/雄/群)	1, 3, 10 mg/kg/日、経口、 182~183 日間	適用	[redacted]	[redacted]-775030	4.2.3.2-8
胚・胎児発生に関する試験						
胚・胎児発生に関する反復経口投与用量設定試験	ラット、 Sprague Dawley (n=8/妊娠雌/群)	1, 3, 10, 30 mg/kg/日、経口、 妊娠 6~17 日	適用	[redacted]	RDX5791-TX-12	4.2.3.5.2-1
胚・胎児発生に関する反復経口投与試験	ラット、 Sprague Dawley (n=25/妊娠雌/群)	1, 10, 30 mg/kg/日、経口、 妊娠 6~17 日	適用	[redacted]	RDX5791-TX-14[a]	4.2.3.5.2-2
反復経口投与用量設定試験	ウサギ、 New Zealand White (n=3、雌)	45 mg/kg/日、経口、13 日間	非適用	[redacted]	0333[redacted]	参考 4.2.3.5.2-3
胚・胎児発生に関する反復経口投与用量設定試験	ウサギ、 New Zealand White (n=6/妊娠雌/群)	3, 10, 30, 100, 300 mg/kg/日、 経口、妊娠 7~20 日	適用	[redacted]	RDX5791-TX-13	4.2.3.5.2-4
胚・胎児発生に関する反復経口投与試験	ウサギ、 New Zealand White (n=22/妊娠雌/群)	5, 15, 45 mg/kg/日、経口、 妊娠 7~20 日	適用	[redacted]	RDX5791-TX-15[a]	4.2.3.5.2-5
胚発生毒性試験	ゼブラフィッシュ	テナパノル: 0.1, 1, 10, 100 µmol/L、 M1: 0.1, 1, 10, 100 µmol/L	非適用	[redacted]	Batch 23	参考 4.2.3.5.2-6

Table continues

概要			被験物質: テナパノル塩酸塩 (RDX5791, AZD1722)（続き）			
試験の種類	動物種、系統 (群構成)	用量、投与経路、投与期間	GLP 適用	実施施設	報告書番号	資料番号
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						
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する反復経口投与試験	マウス、CD-1 (n=25/群)	20, 60, 200 mg/kg/日、経口、 妊娠 6 日～哺育 20 日	適用	[redacted]	[redacted]-775035	4.2.3.5.3-1
幼若動物を用いた試験						
幼若動物を用いた 21 日間反復経口投与毒性試験	ラット、Sprague Dawley (n=10/性/群)	5, 10 mg/kg/日、経口、 生後 5～15 日	非適用	[redacted]	1884[redacted]	参考 4.2.3.5.4-1
幼若動物を用いた 20 日間反復経口投与用量設定試験	ラット、Sprague Dawley (n=10/性/群)	0.1, 0.5, 2.5, 5 mg/kg/日、経口、生後 5～24 日	非適用	[redacted]	00775062	参考 4.2.3.5.4-2
幼若動物を用いた 21 日間反復経口投与用量設定試験	ラット、Sprague Dawley （n=6/性/群）	0.1, 1, 5 mg/kg/日、 経口、生後 21～41 日	非適用	[redacted]	2050[redacted]	参考 4.2.3.5.4-5
幼若動物を用いた 8 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験	ラット、Sprague Dawley (n=40/性/群)	0.03, 0.1, 0.3 mg/kg/日、 経口、生後 5～61 日	適用	[redacted]	00775063	4.2.3.5.4-3
幼若動物を用いた 60 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験	ラット、Sprague Dawley (n=20/性/群)	雄：0.1, 0.3, 0.7 mg/kg/日、 雌：0.1, 0.3, 1.0 mg/kg/日、 経口、生後 21～80 日	適用	[redacted]	20301378	4.2.3.5.4-4

Table continues

その他の毒性試験: 代謝物 M1 (AZ13792925)の毒性試験			被験物質: AZ13792925 (tenapanor metabolite M1)			
試験の種類	動物種、系統 (群構成)	用量、投与経路、投与期間	GLP 適用	実施施設	報告書番号	資料番号
単回経口投与毒性試験	マウス、C57BL/6 (n=3~4/雄/群)	300, 1000 mg/kg、経口	非適用	[redacted]	RDX5791-M1-01	参考 4.2.3.7.5-1
単回経口投与毒性試験	ラット、Sprague Dawley (n=3/性/群)	1000 mg/kg、経口	非適用	[redacted]	RDX5791-M1-06	参考 4.2.3.7.5-2
4 日間反復経口投与毒性試験	マウス、C57BL/6 (n=3/性/群)	30, 100, 300 mg/kg/日、経口、4 日間	非適用	[redacted]	RDX5791-M1-03	参考 4.2.3.7.5-3
14 日間反復経口投与毒性試験	マウス、CByB6Fl/J (n=6/性/群)	500, 1000 mg/kg/日、 経口、14 日間	非適用	[redacted]	RDX5791-M1-04	参考 4.2.3.7.5-4
28 日間反復経口投与用量設定試験及びトキシコキネティクス試験	マウス、 CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic (n=10/性/群)	M1：75, 150, 250 mg/kg/日、 テナパノル塩酸塩： 400 mg/kg/日、経口、 28 日間	適用	[redacted]	[redacted]-775038	4.2.3.7.5-5
復帰突然変異試験	ネズミチフス菌 TA1535, TA100, TA1537 and TA98 and 大腸菌 WP2 *uvrA* (pKM101)	5, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate	適用	[redacted]	3581[redacted]	4.2.3.7.5-6
In vitro 小核試験	L5178Y tk ± (3.7.2C) マウスリンパ腫細胞	60, 80, 95, 100 µg/mL（S9 非存在下、3+21 時間）、 60, 80, 90, 95 µg/mL（S9 存在下、3+21 時間）、 20, 30, 35, 40, 50 µg/mL（S9 非存在下、24+24 時間）	適用	[redacted]	3522[redacted]	4.2.3.7.5-7

Table continues

その他の毒性試験: 代謝物 M1 (AZ13792925)の毒性試験			被験物質: AZ13792925 (tenapanor metabolite M1)（続き）			
試験の種類	動物種、系統 (群構成)	用量、投与経路、投与期間	GLP 適用	実施施設	報告書番号	資料番号
がん原性試験	マウス、 CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic (n=25/性/群)	55 mg/kg/日、経口、 26 週間、 165/110[d] mg/kg/日、 経口、26 週間	適用	[redacted]	RDX5791-TX-16	4.2.3.4.2-3
胚・胎児発生に関する反復経口投与用量設定試験	ラット、Sprague Dawley (n=8/雌/群)	30, 100, 350, 750 mg/kg/日、経口、 妊娠 6～17 日	適用	[redacted]	[redacted]-775033	4.2.3.7.5-8
胚・胎児発生に関する反復経口投与試験	ラット、Sprague Dawley (n=25/雌/群)	30, 150, 400 mg/kg/日、経口、 妊娠 6～17 日	適用	[redacted]	[redacted]-775034	4.2.3.7.5-9
胚発生毒性試験	ゼブラフィッシュ	テナパノル: 0.1, 1, 10, 100 µmol/L、 M1: 0.1, 1, 10, 100 µmol/L	非適用	[redacted]	Batch 23	4.2.3.5.2-6
その他の毒性試験：不純物の毒性試験						
Derek Nexus 及び Leadscope を用いた不純物の細菌に対する変異原性の予測	NA	NA	非適用	[redacted]	[redacted]002drkls	参考 4.2.3.7.6-1
不純物の安全性確認	NA	NA	非適用	[redacted]	RDX5791-TX-17	参考 4.2.3.7.6-2

a: 当該試験において、血漿中濃度測定（テナパノル塩酸塩として算出）に使用した標準物質の純度について、試験結果報告時に使用した分析値は分析法が確立されていない初期の分析結果（96.3%）であり、試験終了後に追加分析に基づき純度が更新された（86.8%）。純度の更新に伴い、真の血漿中薬物濃度は、テナパノル塩酸塩換算で、報告値の 1.1 倍となる。報告値と真の薬物濃度の乖離（10%）は、本邦の分析法バリデーションに関するガイドライン（厚生労働省ガイドライン「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」薬食審査発 0711 第 1 号平成 25 年 7 月 11 日）で定められている真度の許容基準（理論値の±15%以内）内であり、薬物濃度から算出される全身曝露や本剤の薬物動態及び安全性プロファイルの解釈に与える影響は顕著でない。

b: 14 週目（92 日目）から 2 mg/kg/day に減量

c: 13 週目（86 日目）から 5 mg/kg/day に減量

d: 99 日目から 110 mg/kg/day に減量

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

試験の種類	動物種、系統 (群構成)	投与方法	用量	GLP 適用	報告書番号	資料番号
反復投与毒性試験						
28 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験	マウス、CD-1 (n=20/性/毒性群、n≤10/性/回復群)	経口、28 日間	10, 50, 200 mg/kg/日	適用	RDX5791-TX-09	4.2.3.2-2
28 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験	ラット、Sprague Dawley (n=10/性/毒性群、n≤5/性/回復群)	経口、雄:18 日間、雌: 15 日間	30, 100, 300, 1000 mg/kg/日	適用	RDX5791-TX-5	4.2.3.2-6
28 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験	イヌ、Beagle (n=3/性/毒性群、n=2/性/回復群)	経口、28 日間	50, 300, 1000 mg/kg/日	適用	RDX5791-TX-06	4.2.3.2-10
3 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験	イヌ、Beagle (n=4/性/毒性群、n=2/性/回復群)	経口、91 日間	50, 300, 1000 mg/kg/日	適用	RDX5791-TX-11	4.2.3.2-11
遺伝毒性試験: In vivo						
骨髄小核試験	マウス、CD-1 (n=5/性/群)	経口、2 日間	500, 1000, 2000 mg/kg/日	適用	RDX5791-GT-04	4.2.3.3.2-1
がん原性試験						
経口投与最大耐量及び用量設定試験	マウス、CByB6F1 Hybrid (非遺伝子組換え同腹仔) (n=2~6/性/群)	MTD 群: 経口、単回 DRF 群: 経口、7 日間	MTD 群: 50, 100, 200, 400, 400 BID, 800 mg/kg DRF 群: 100, 200, 400 mg/kg BID、7 日間	非適用	0976[redacted]	参考 4.2.3.4.2-1
1 ヵ月間反復経口投与毒性試験	マウス、CByB6F1 Hybrid (非遺伝子組換え同腹仔) (n=10/性/群)	経口、28 日間	50, 200, 400 mg/kg BID	適用	0977[redacted]	4.2.3.4.2-2
がん原性試験	マウス、 CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic (n=25/性/群)	経口、26 週間	雄: 10, 30, 100 mg/kg/日、 雌: 100, 300, 800 mg/kg/日	適用	RDX5791-TX-16	4.2.3.4.2-3

Table continues

試験の種類	動物種、系統 (群構成)	投与方法	用量	GLP 適用	報告書番号	資料番号
胚・胎児発生に関する試験						
反復経口投与用量設定試験	ウサギ、New Zealand white (n=3、雌)	経口、13 日間	45 mg/kg/日	非適用	0333[redacted]	参考 4.2.3.5.2-3
幼若動物を用いた試験						
幼若動物を用いた 20 日間反復経口投与用量設定試験	ラット、 Sprague Dawley (n=10/性/群)	経口、生後 5~24 日	0.1, 0.5, 2.5, 5 mg/kg/日	非適用	00775062	参考 4.2.3.5.4-2
幼若動物を用いた 21 日間反復経口投与用量設定試験	ラット、 Sprague Dawley （n=6/性/群）	経口、 生後 21～41 日	0.1, 1, 5 mg/kg/日	非適用	2050[redacted]	参考 4.2.3.5.4-5
幼若動物を用いた 8 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験	ラット、 Sprague Dawley (n=40/性/群)	経口、生後 5~61 日	0.03, 0.1, 0.3 mg/kg/日	適用	00775063	4.2.3.5.4-3
幼若動物を用いた 60 日間反復経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験	ラット、Sprague Dawley (n=20/性/群)	経口、生後 21～ 80 日	雄：0.1, 0.3, 0.7 mg/kg/日、 雌：0.1, 0.3, 1.0 mg/kg/日	適用	20301378	4.2.3.5.4-4
その他の試験						
28 日間反復経口投与用量設定試験及びトキシコキネティクス試験	マウス、 CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic (n=10/性/群)	経口 28 日間	M1: 75, 150, 250 mg/kg/日、 テナパノル塩酸塩: 400 mg/kg/日	適用	[redacted]-775038[a]	4.2.3.7.5-5

a: M1 toxicokinetic evaluation

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

3.1 Overview of Toxicokinetics Data - C_{max}

テナパノル C_{max} (ng/mL)									
テナパノル塩酸塩 投与量 (mg/kg/day)	マウス		ラット		ウサギ		イヌ		報告書番号
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
0.03			2.81	NA					00775063[j]
			NA	NA					00775063[l]
0.1			NA	NA					00775062[j]
			NA	NA					00775062[k]
			NA	NA					2050[redacted][o]
			NA	NA					00775063[j]
			NA	NA					00775063[l]
			NA	NA					20301378[m]
			NA	NA					20301378[n]
0.3			0.194	0.316					00775063[j]
			NA	0.211					00775063[l]
			0.311	NA					20301378[m]
			NA	NA					20301378[n]
0.5			0.429	0.379					00775062[j]
			0.898	NA					00775062[k]
0.7			NA						20301378[m]
			NA						20301378[n]
1.0			NA	NA					2050[redacted][o]
				0.501					20301378[m]
				0.437					20301378[n]
2.5			3.89	3.45					00775062[j]
			6.00	NA					00775062[k]
5			28.9	18.3					00775062[j]
			11.5	11.4					00775062[k]
10	1.26	1.10							RDX5791-TX-09[b]
	14.1	60.8*							RDX5791-TX-09[d]
	NA								RDX5791-TX-16[b]
	NA								RDX5791-TX-16[i]
30			0.607	0.683					RDX5791-TX-5[b]
			11.3	30.5					RDX5791-TX-5[e]
	NA								RDX5791-TX-16[b]
	5.17								RDX5791-TX-16[i]
45						7.43			0333[redacted][b]
						8.88			0333[redacted][f]
50	18.3	1.54							RDX5791-TX-09[b]
	14.0	79.5							RDX5791-TX-09[d]
							1.06	NA	RDX5791-TX-06[b]
							0.877	0.669	RDX5791-TX-06[g]

Table continues

テナパノル C_{max} (ng/mL)（続き）									
テナパノル塩酸塩 投与量 (mg/kg/day)	マウス		ラット		ウサギ		イヌ		報告書番号
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
100	0.991	3.09							0976[redacted][b]
	6.91	98.4							0976[redacted][c]
	11.3	19.3							0977[redacted][b]
	3.48	5.67							0977[redacted][d]
			2.20	5.34					RDX5791-TX-5[b]
			22.5	50.0					RDX5791-TX-5[e]
	14.7	12.3							RDX5791-TX-16[b]
	1.46	1.98							RDX5791-TX-16[i]
200	26.3*	32.0							0976[redacted][b]
	4.13*	13.4*							0976[redacted][c]
	12.0	7.85							RDX5791-TX-09[b]
	34.1	79.0*							RDX5791-TX-09[d]
300			2.57	1.27					RDX5791-TX-5[b]
			76.0	34.0					RDX5791-TX-5[e]
							1.72	1.74	RDX5791-TX-06[b]
							1.81	1.10	RDX5791-TX-06[g]
							1.04	1.35	RDX5791-TX-11[b]
							1.95	1.29	RDX5791-TX-11[h]
		37.1							RDX5791-TX-16[b]
		7.19							RDX5791-TX-16[i]
400	7.75*	217							0976[redacted][b]
	39.6	9.43*							0976[redacted][c]
	3.60	8.58							0977[redacted][b]
	44.7	35.3							0977[redacted][d]
500	119	80.1							RDX5791-GT-04
800	18.1	205							0976[redacted][a]
	8.97	16.2							0977[redacted][b]
	64.4	61.0							0977[redacted][d]
		64.3							RDX5791-TX-16[b]
		83.7							RDX5791-TX-16[i]
1000			9.79	45.3					RDX5791-TX-5[b]
			107	202					RDX5791-TX-5[e]
							1.52	3.83	RDX5791-TX-06[b]
							2.23	2.82	RDX5791-TX-06[g]
							1.99	1.93	RDX5791-TX-11[b]
							3.28	2.59	RDX5791-TX-11[h]
	218	154							RDX5791-GT-04
2000	228	292							RDX5791-GT-04

NA = not applicable due to all concentration below the limit of quantitation; [a] MTD phase; [b] Day 0/1 (after first dose); [c] Day 7; *outlier result; [d] Day27/28; [e] Day 15; [f] Day 13; [g] Day 26; [h] Day 89; [i] Day 180; [j] PND 5; [k] PND 24; [l] PND 61; [m] PND 21; [n] PND 80; [o] PND 42.

3.2 Overview of Toxicokinetics Data - AUC

テナパノル AUC (ng·h/mL)									
テナパノル塩酸塩投与量 (mg/kg/day)	マウス		ラット		ウサギ		イヌ		報告書番号
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
0.03			NR	NA					00775063[j]
			NA	NA					00775063[l]
0.1			NR	NR					00775062[j]
			NA	NR					00775062[k]
			NA	NA					2050[redacted][o]
			NA	NA					00775063[j]
			NA	NA					00775063[l]
			NR	NR					20301378[m]
			NR	NR					20301378[n]
0.3			NR	NR					00775063[j]
			NA	NR					00775063[l]
			NR	NR					20301378[m]
			NR	NR					20301378[n]
0.5			NR	0.575					00775062[j]
			NR	NR					00775062[k]
0.7			NR						20301378[m]
			NR						20301378[n]
1.0			NA	NA					2050[redacted][o]
				NR					20301378[m]
				NR					20301378[n]
2.5			17.5	4.67					00775062[j]
			NR	NR					00775062[k]
5			98.9	85.6					00775062[j]
			40.4	75.5					00775062[k]
10	10.8	0.700							RDX5791-TX-09[b]
	19.0	64.4*							RDX5791-TX-09[d]
	NA								RDX5791-TX-16[b]
	NA								RDX5791-TX-16[i]
30			3.46	1.69					RDX5791-TX-5[b]
			135	387					RDX5791-TX-5[e]
	NA								RDX5791-TX-16[b]
	7.54								RDX5791-TX-16[i]
45						62.9			0333[redacted][b]
						85.2			0333[redacted][f]
50	36.6	3.45							RDX5791-TX-09[b]
	93.0	152							RDX5791-TX-09[d]
							1.46	NA	RDX5791-TX-06[b]
							0.694	NA	RDX5791-TX-06[g]

Table continues

テナパノル AUC (ng·h/mL)（続き）									
テナパノル塩酸塩投与量 (mg/kg/day)	マウス		ラット		ウサギ		イヌ		報告書番号
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
100	13.7	7.15							0976[redacted][b]
	36.4	372							0976[redacted][c]
	35.9	61.1							0977[redacted][b]
	36.7	73.7							0977[redacted][d]
			9.33	58.6					RDX5791-TX-5[b]
			164	413					RDX5791-TX-5[e]
	11.6	105							RDX5791-TX-16[b]
	21.9	11.1							RDX5791-TX-16[i]
200	214*	163							0976[redacted][b]
	9.72*	114*							0976[redacted][c]
	61.3	14.9							RDX5791-TX-09[b]
	143	332*							RDX5791-TX-09[d]
300			14.6	19.4					RDX5791-TX-5[b]
			959	560					RDX5791-TX-5[e]
							4.78	9.42	RDX5791-TX-06[b]
							5.70	4.11	RDX5791-TX-06[g]
							2.81	3.60	RDX5791-TX-11[b]
							11.2	5.12	RDX5791-TX-11[h]
		343							RDX5791-TX-16[b]
		53.6							RDX5791-TX-16[i]
400	76.1*	494							0976[redacted][b]
	158	53.9*							0976[redacted][c]
	21.8	46.9							0977[redacted][b]
	510	343							0977[redacted][d]
500	495	955							RDX5791-GT-04
800	53.3	361							0976[redacted][a]
	82.2	90.1							0977[redacted][b]
	920	336							0977[redacted][d]
		204							RDX5791-TX-16[b]
		913							RDX5791-TX-16[i]
1000			79.4	182					RDX5791-TX-5[b]
			1317	2759					RDX5791-TX-5[e]
							9.98	17.0	RDX5791-TX-06[b]
							13.1	17.3	RDX5791-TX-06[g]
							11.0	9.47	RDX5791-TX-11[b]
							38.2	28.1	RDX5791-TX-11[h]
	1090	1230							RDX5791-GT-04
2000	1510	2010							RDX5791-GT-04

NA = not applicable due to all concentration below the limit of quantitation; NR = not reportable due to < 3 consecutive time points with measurable concentration; [a] MTD phase; [b] Day 0/1 (after first dose); [c] Day 7; * outlier result; [d] Day27/28; [e] Day 15; [f] Day 13; [g] Day 26; [h] Day 89; [I] Day 180; [j] PND 5; [k] PND 24; [l] PND 61; [m] PND 21; [n] PND 80; [o] PND 42.

4 毒性試験：使用ロット

使用ロット												被験物質:テナパノル塩酸塩	
バッチ番号	純度 (%)	規格設定された不純物 (%)										報告書番号	試験の種類
		不純物A*	不純物B*	不純物C*	不純物D*	不純物E*	不純物F*	不純物G*	不純物H*	不純物I*	不純物J*		
PROPOSED SPEC													
Impurity % Area		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	RDX5791-TX-5, RDX5791-TX-06, RDX5791-07, RDX5791-TX-09, RDX5791-GT-02, RDX5791-GT-03	Repeat dose, general: 28-day rat, Repeat dose, general: 28-day dog, Repeat dose, general: 14-day rat, Repeat dose, general: 28-day mice, Genotoxicity: Ames (in vitro), Genotoxicity: Chromosomal aberration (in vitro)

Table continues

*新薬承認情報提供時に置き換え

使用ロット												被験物質: テナパノル塩酸塩（続き）	
バッチ番号	純度 (%)	規格設定された不純物 (%)										報告書番号	試験の種類
		不純物A*	不純物B*	不純物C*	不純物D*	不純物E*	不純物F*	不純物G*	不純物H*	不純物I*	不純物J*		
PROPOSED SPEC													
Impurity % Area		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	RDX5791-TX-10, RDX5791-TX-11, RDX5791-TX-12, RDX5791-TX-13, RDX5791-TX-14, RDX5791-TX-15	Repeat dose, general: 3-month rat, Repeat dose, general: 3-month dog, Development: Embryo/Fetal (rat), Development: Embryo/Fetal (rabbit), Repeat dose, developmental: 12-day rat, Repeat dose, developmental: 14-day rabbit
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]-775030, [redacted]-775031	Repeat dose, general/reproductive: 6-month rat, Repeat dose, general: 9-month dog
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]-775031	Repeat dose, general: 9-month dog
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]-775031	Repeat dose, general: 9-month dog

Table continues

*新薬承認情報提供時に置き換え

使用ロット												被験物質: テナパノル塩酸塩（続き）	
バッチ番号	純度 (%)	規格設定された不純物 (%)										報告書番号	試験の種類
		不純物A*	不純物B*	不純物C*	不純物D*	不純物E*	不純物F*	不純物G*	不純物H*	不純物I*	不純物J*		
PROPOSED SPEC													
Impurity % Area		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	20049785, 0977[redacted], 0967[redacted]	Carcinogenicity: 104-week rat, Carcinogenicity: 1-month CByB6F1 hybrid mice, Development: Fertility and Early Development (mice)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	RDX5791-GT-04, 3585[redacted]	Genotoxicity: Micronucleus (in vivo, mouse), Genotoxicity: Micronucleus (in vivo, rat)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]-775035	Development: Pre- and Postnatal/Maternal (mice)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	20301378	Repeat dose, juvenile: 60-day rat
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	RDX5791-TX-16, 00775063	Carcinogenicity: 26-week rasH2 mice, Repeat dose, juvenile: 8-week rat

DP = Drug Product; DS = Drug Substance; NA = Not detected or less than limit of quantitation of 0.05% by %area.

*新薬承認情報提供時に置き換え

5 単回投与毒性試験

5.1 Single-dose Toxicity of RDX5791 at 300 mg/kg in Rats [RDX5791-TX-01]

Report Title: Single-Dose Toxicity of RDX5791 at 300 mg/kg in Rats	**Report No.:** RDX5791-TX-01	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** Single dose	
Initial Age: 9 weeks	**GLP Compliance:** No	
Method of Administration: Oral (gavage)	**Vehicle:** Deionized water	
MTD: >300 mg/kg (only dose examined)		
Daily Dose as Drug Substance: 300 mg/kg		
N/Sex/Group: 3/Female/group		
Methods: Three animals /group were administered tenapanor hydrochloride at 300 mg/kg (10 mL/kg). Animals were fed lab chow and water ad libitum. Clinical observations were performed 1, 3, 24, and 48 hours after dosing. Body weights were measured on Day 1 prior to dosing and on Day 3, approximately 48 hours after dosing. Food and water consumption were measured for one 48-hour period from Day 1 prior to dosing to Day 3, approximately 48 hours after dosing.		
Findings: Tenapanor hydrochloride administered at 300 mg/kg once to Sprague Dawley rats produced marked diarrhea due to exaggerated pharmacological effects. No abnormal clinical observations were observed; however, significant changes in food and water consumption were observed. All animals survived to the end of the study. The single-dose MTD of tenapanor hydrochloride in female Sprague Dawley rats was greater than 300 mg/kg.		

N=number of animals

6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

6.1 Repeat-Dose Toxicity Studies in Mice

6.1.1 A 7-Day Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study with RDX5791 in CD-1 Mice [RDX5791-TX-08]

Report Title: A 7-Day Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study with RDX5791 in CD-1 Mice	**Report No.:** RDX5791-TX-08	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
Species/Strain: Mice/CD-1	**Duration of Dosing:** 7 days	
Initial Age: approximately 7 weeks	**GLP Compliance:** No	
Date of First Dose: [redacted]. 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral (gavage)	
MTD: 300 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** 2% Tween® 80 (w/v) in deionized water	
Method: Tenapanor hydrochloride in the vehicle, 2% Tween® 80 (w/v) in deionized water, was administered orally by gavage once daily for 7 consecutive days to 3 groups (Groups 2-4) of CD-1 mice.		
Daily Dose as Drug Substance: 0 (vehicle), 30, 100, and 300 mg/kg/day		
N/Sex/Group: 5/sex/group		
Findings: Oral (gavage) administration of tenapanor hydrochloride1 to CD-1 mice for 7 consecutive days was generally well tolerated at all dosages. Non adverse treatment-related findings included abnormal excreta and/or brown material on the anogenital area at 100 and/or 300 mg/kg/day and lower body weights, food consumption, and water consumption at 300 mg/kg/day.		

N=number of animals

6.2 Repeat-Dose Toxicity Studies in Rats

6.2.1 A 7-Day Oral (Gavage) Investigative Toxicity Study with 30 mg/kg RDX5791 in Sprague-Dawley Rats [RDX5791-TX-02]

Report Title: A 7-Day Oral (Gavage) Investigative Toxicity Study with 30 mg/kg RDX5791 in Sprague-Dawley Rats	**Report No.:** RDX5791-TX-02	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 7 days	
Initial Age: 9 weeks	**GLP Compliance:** No	
Vehicle/Formulation: 10% propylene glycol	**Method of Administration:** Oral (gavage)	
NOAEL: 30 mg/kg/day (Only dose tested)		
Method: Animals were fed lab chow and water ad libitum. Clinical observations were performed daily; body weights, food consumption and water consumption were measured at regular intervals. Hematology and clinical chemistry parameters were evaluated from blood collected ~24 h after the last dose. Necropsies were performed, and gross observations were recorded; selected tissues were examined microscopically by a board-certified pathologist.		
Daily Dose as Drug Substance: 30 mg/kg/day		
N/Sex/Group: 5/sex/group		
Findings: Tenapanor hydrochloride administered at 30 mg/kg in 10% propylene glycol (30 to 100 times the ED_{50}) to Sprague Dawley rats produced marked diarrhea from exaggerated pharmacological effects. Decreased body weight gain, food consumption and increased water consumption were secondary to the diarrhea caused by tenapanor hydrochloride.		

N=number of animals
ED_{50} = 50% effective dose

6.2.2 A 7-Day Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study with RDX5791 in Sprague Dawley Rats [RDX5791-TX-03]

Report Title: A 7-Day Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study with RDX5791 in Sprague Dawley Rats	**Report No.:** RDX5791-TX-03	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 7 days	
Initial Age: ~8 weeks	**GLP Compliance:** No	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral (gavage)	
MTD: 1000 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** 2% Tween® 80 in water	
Method: Tenapanor hydrochloride in the vehicle, 2% Tween® 80 in water, was administered orally by gavage once daily for 7 consecutive days to Sprague Dawley rats. Plasma samples were collected at 1 and 2 hours after dosing on day 4 for toxicokinetic analysis.		
Daily Dose: 0, 100, 300, and 1000 mg/kg/day		
N/Sex/Group: 5/sex/group		

Incidence of Selected Histopathological Findings, Day 7 at Scheduled Necropsy

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
Findings								
Cecum[a]	5	5	5	5	5	5	5	5
Decreased Goblet Cells	0	4	4	4	0	3	5	5
Minimal	-	4	3	2	-	1	3	1
Mild	-	0	1	2	-	2	2	4
Infiltrate, Mixed Inflammatory Cells	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	-	-	-	-	-	-	-	1
Rectum[a]	5	5	5	5	5	5	5	5
Infiltrate, Mixed Inflammatory Cells	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	-	-	-	-	-	-	-	1

Findings: Oral (gavage) administration of tenapanor hydrochloride to Sprague Dawley rats for 7 consecutive days was generally well tolerated with no test article-related effects on survival or hematology parameters. Clinical findings of abnormal excreta as well as lower body weight and food consumption values were noted in all test article-treated groups. Based on results from this study the recommended high dose for the 28-day repeated-dose study (RDX5791-TX-5) was recommended to be 1000 mg/kg/day with a low dose of 10 to 50 mg/kg/day.

N = number of animals in a group; - = no findings

a: Number of animals for which tissues examined

6.2.3 A 14-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats [RDX5791-07]

Report Title: A 14-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats			**Report No.:** RDX5791-07			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley			**Duration of Dosing:** 14 days					
Initial Age: 7~8 weeks			**GLP Compliance:** Yes					
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (Males), [redacted] 20[redacted] (Females)			**Method of Administration:** Oral (gavage)					
Vehicle/Formulation: 2% Tween® 80 (w/v) in deionized water			**NOAEL:** 10 mg/kg/day					
Special Features: No toxicokinetic satellite groups in this study								
Findings in Treatment Period								
Daily Dose (mg/kg)	0		0.1		1.0		10	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals (Recovery)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Excreta (all findings recovered after cessation of dosing)								
Defecation Decreased	0	0	0	0	0	0	0	1
Soft Feces	0	0	0	0	6	1	15	5
Diarrhea	0	0	0	0	0	0	2	9
Anogenital area (all findings recovered after cessation of dosing)								
Dried Yellow Material	0	0	0	0	1	0	0	0
Dried Brown Material	0	0	0	0	7	0	12	4
Wet Brown Material	0	0	0	0	3	0	5	0
Body Weights	Statistically significant test article-related lower body weights noted during dosing period for 10 mg/kg/day group males.							
Food and Water Consumption	Statistically significant test article-related decreases in food consumption noted during day 0 to 7 interval for 10 mg/kg/day group males. Statistically significant test article-related increases in water consumption noted during dosing period for 10 mg/kg/day group males and females.							

Table continues

Report Title: A 14-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats			**Report No.:** RDX5791-07				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)	0		0.1		1.0		10	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals (Recovery)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)
Hematology and Coagulation (difference vs control) (all parameters recovered after recovery period, none associated with histopathologic findings, all considered non-adverse)								
Eosinophil Count, Mean	-	-	-	(−45.5%*)	-	(−27.3%)	-	(−63.6%**)
White Blood Cell Count, Mean	-	-	-	-	-	-	-	(−38.1%*)
Lymphocyte Count, Mean Absolute	-	-	-	-	-	-	-	(−39.9%*)
Serum Chemistry (difference vs control) (all parameters recovered after recovery period, none associated with histopathologic findings, all considered non-adverse)								
Glucose, Mean	-	-	(−18.4%*)	-	(−19.5%*)	-	(−25.3%**)	-
Total Protein, Mean	-	-	-	-	-	-	(+6.7%*)	-
Phosphorus	-	-	-	-	-	-	(+12.9%**)	-
Potassium	-	-	-	-	-	-	(+8.0%*)	-
Urinalysis	No effects of tenapanor hydrochloride administration							
Ophthalmology	No effects of tenapanor hydrochloride administration							
Organ Weights (difference vs control)								
Spleen Absolute (g)	0.65	0.45	0.61 (−6.2%)	0.45 (0.0%)	0.63 (−3.1%)	0.42 (−6.7%)	0.51** (−21.5%)	0.40 (−11.1%)
Spleen Relative, g/100 g Final Body Weight (%)	0.229	0.230	0.212 (−7.4%)	0.232 (+0.9%)	0.213 (−7.0%)	0.228 (−0.9%)	0.193* (−15.7%)	0.213 (−7.4%)
Thyroid/Parathyroid Absolute (g)	0.0142	0.0107	0.0133 (−6.3%)	0.0102 (−4.7%)	0.0121 (−14.8%)	0.0100 (−6.5%)	0.0106* (−25.4%)	0.0102 (−4.7%)
Thyroid/Parathyroid Relative, g/100 g Brain Weight (%)	0.744	0.585	0.683 (−8.2%)	0.565 (−3.4%)	0.639 (−14.1%)	0.540 (−7.7%)	0.569* (−23.5%)	0.561 (−4.1%)

Table continues

Report Title: A 14-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats			**Report No.:** RDX5791-07		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)			
Histopathology								
Daily Dose (mg/kg)	0		0.1		1.0		10	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals (Recovery)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)	10(5)
Cecum [a]	10	10	1	1	5	7	10	10
Decreased Goblet Cells	0	0	0	1	5	5	9	10
Minimal	-	-	-	1	5	4	8	9
Mild	-	-	-	0	0	1	1	1
Infiltrate, Mixed Inflammatory Cell	0	0	0	0	0	0	4	1
Minimal	-	-	-	-	-	-	4	1
Colon [a]	10	10	0	0	0	0	10	10
Decreased Goblet Cells	0	1	0	0	0	0	7	8
Minimal	-	1	-	-	-	-	6	7
Mild	-	0	-	-	-	-	1	1
Rectum [a]	10	10	0	0	0	0	10	9
Decreased Goblet Cells	0	0	0	0	0	0	1	2
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	2
Infiltrate, Mixed Inflammatory Cell	0	0	0	0	0	0	1	1
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	1
Kidney [a]	10	10	3	NA	NA	1	10	10
Basophilic Tubules	1	0	0	NA	NA	1	3	0
Minimal	1	-	-	NA	NA	1	3	-
Chronic Progressive Nephropathy	4	1	0	NA	NA	0	3	8
Minimal	4	1	NA	NA	NA	NA	3	8

*(**) $p \leq 0.05(0.01)$ (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)
- = no findings
a: Number of animals for which tissues examined

6.3 Repeat-Dose Toxicity Studies in Dogs

6.3.1 A 7-Day Oral (Capsule) Dose Range-Finding Study with RDX5791 in Beagle Dogs [RDX5791-TX-04]

Report Title: A 7-Day Oral (Capsule) Dose Range-Finding Study with RDX5791 in Beagle Dogs	**Report No.:** RDX5791-TX-04	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
Species/Strain: Dog/Beagle	**Duration of Dosing:** 7 days	
Initial Age: 5-6 months	**GLP Compliance:** No	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral (capsule)	
MTD: 1000 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** Capsule	
Method: Tenapanor hydrochloride was administered orally in capsules once daily for 7 days to Beagle dogs (1/sex/group) at 0, 100, 300, and 1000 mg/kg/day.		
Daily Dose as Drug Substance: 0, 100, 300, and 1000 mg/kg/day		
N/Sex/Group: 1/sex/group		
Findings: Oral (capsule) administration of tenapanor hydrochloride to Beagle dogs for 7 consecutive days was generally well tolerated with no test article-related effects on survival, body weights, food consumption, clinical pathology parameters, or organ weights. Based on the results of this study, the recommended high dose for a 28-day repeated-dose study with tenapanor hydrochloride in Beagle dogs was 1000 mg/kg/day, with a low dose of 10–50 mg/kg/day.		

7 反復投与毒性試験：重要な試験

7.1 Repeat-Dose Toxicity Studies in Mice

7.1.1 A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in CD-1 Mice [RDX5791-TX-09]

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in CD-1 Mice			**Report No.:** RDX5791-TX-09		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)		
Species/Strain: Mouse/CD-1			**Duration of Dosing:** 28 days				
Initial Age: 8 weeks			**GLP Compliance:** Yes				
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			**Method of Administration:** Oral (gavage)				
NOAEL: 50 mg/kg/day			**Vehicle/Formulation:** 2% Tween® 80 [w/v] in deionized water				
Special Features: Toxicology study groups 1-4 each consisted of 20 animals/sex. Toxicokinetic satellite group 1A (vehicle) consisted of 6 animals/sex and groups 2A-4A each consisted of 36 animals/sex. Following 4 weeks of dose administration, 10 mice/sex/toxicology group were euthanized; the remaining ≤10 mice/sex/toxicology group were euthanized following a minimum of a 13-day non-dosing (recovery) period.							
Toxicokinetics							
Daily Dose (mg/kg)		10[a]		50		200	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals		18	18	18	18	18	18
Day 0 (first dosing)	t_{max} (h)	24	2	1	1	0.5	0.5
	C_{max} (ng/mL)	1.26	1.10	18.3	1.54	12.0	7.85
	AUC_{last} (ng·h/mL)	10.8	0.700	36.6	3.45	61.3	14.9
Day 27	t_{max} (h)	0.5	1[b]	4	1	0.5	0.5[c]
	C_{max} (ng/mL)	14.1	60.8[b]	14.0	79.5	34.1	79.0[c]
	AUC_{last} (ng·h/mL)	19.0	64.4[b]	93.0	152	143	332[c]

Table continues

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in CD-1 Mice	**Report No.:** RDX5791-TX-09	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)

Findings in Treatment Period								
Daily Dose (mg/kg)	0		10		50		200	
Sex/No.	M/20	F/20	M/20	F/20	M/20	F/20	M/20	F/20
Number of Surviving (Dead) Animals	20 (0)	18 (2)	20 (0)	20 (0)	18 (2)	20 (0)	19 (1)	17 (3)
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	2*	0	1*	2*
Clinical Observations:								
In the surviving 50 and 200 mg/kg/day group males, soft feces and brown material on the anogenital area were noted; however, these clinical observations were expected pharmacological effects of tenapanor hydrochloride administration and resolved during the recovery period. Test article-related lower body weights and corresponding lower food consumption were noted in the 50 and/or 200 mg/kg/day groups generally from Day 0 through 14 for males and 0 through 21 for females. Effects on body weights and food consumption resolved during the recovery period.								

a: On study Day 0, concentrations were measurable at only 2 non-consecutive time points at 10 mg/kg/day.
b: If outlier was included, AUC_{last} was 268 ng·h/mL, C_{max} was 105 ng/mL, and t_{max} was 8 hours post dosing.
c: If outlier was included, AUC_{last} was 575 ng·h/mL, C_{max} was 336 ng/mL, and t_{max} was 1 hour post dosing.
M = male; F = female
* No test article-related deaths

7.2 Repeat-Dose Toxicity Studies in Rats

7.2.1 A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats [RDX5791-TX-5]

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats				**Report No.:** RDX5791-TX-5				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley				**Duration of Dosing:** 28 days						
Initial Age: 8 weeks				**GLP Compliance:** Yes						
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]				**Method of Administration:** Oral (gavage)						
NOAEL: < 30 mg/kg/day				**Vehicle/Formulation:** 2% Tween® 80 (w/v) in deionized water						
Special Features: Due to mortality/moribundity of animals at higher doses, dosing was terminated early (at 14 days) in recovery necropsy animals. For primary necropsy animals, clinical pathology samples were taken on day 18 (males) or day 15 (females) prior to euthanasia. For the recovery group, clinical pathology samples were taken on Day 29, after 14 days of recovery prior to early euthanasia.										
Toxicokinetics (mean)										
Daily Dose (mg/kg)		30		100		300		1000		
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	
Number of Animals		6	6	6	6	6	6	6	6	
Day 0 (first dosing)	t_{max} (h)	8	2	0.5	1	0.5	4	1	0.5	
	C_{max} (ng/mL)	0.607	0.683	2.20	5.34	2.57	1.27	9.79	45.3	
	AUC_{last} (ng·h/mL)	3.46	1.69	9.33	58.6	14.6	19.4	79.4	182	
Day 15	t_{max} (h)	1	4	1	2	8	0.5	0.5	4	
	C_{max} (ng/mL)	11.3	30.5	22.5	50.0	76.0	34.0	107	202	
	AUC_{last} (ng·h/mL)	135	387	164	413	959	560	1317	2759	
Findings in Study Period (including toxicokinetic groups)										
Daily Dose (mg/kg)		0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
Sex		Male					Female				
Number of Animals		18	21	21	21	21	18	21	21	21	21
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	1	0	0	1	3	2	4

Table continues

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats					**Report No.:** RDX5791-TX-5			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)		0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
Sex		Male					Female				
Number of Animals		15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Clinical Observations											
Excreta											
Decreased Defecation		0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Soft Feces		0	9	10	10	9	0	9	13	10	10
Diarrhea		0	3	7	9	9	0	7	8	8	10
Body/Integument											
Anogenital Area, Wet Brown Material		0	10	9	10	10	0	10	10	7	10
Thin		0	1	0	1	0	0	1	1	0	1
Body Weights[b] (g) (difference vs control)	Day 0	236 ± 8.7	245 ± 10.2	238 ± 10.1	241 ± 11.0	238 ± 12.5	180 ± 7.2	181 ± 9.3	181 ± 9.1	179 ± 11.8	179 ± 6.5
	Day 7	287 ± 13.3	255 ± 28.0** (−11.1%)	260 ± 12.0* (−9.4%)	257 ± 26.1** (−10.5%)	252 ± 21.1** (−12.2%)	208 ± 14.2	186 ± 11.0* (−10.6%)	189 ± 21.7* (−9.1%)	191 ± 14.4 (−8.2%)	189 ± 14.8* (−9.1%)
	Day 14	316 ± 19.0	248 ± 46.6** (−21.5%)	215 ± 23.1** (−32.0%)	223 ± 27.3** (−29.4%)	208 ± 26.7** (−34.2%)	220 ± 16.3	152 ± 21.2** (−30.9%)	152 ± 23.7** (−30.9%)	160 ± 23.8** (−27.3%)	140 ± 15.5** (−36.4%)
	Day 21[a]	383 ± 11.6	307 ± 46.0* (−19.8%)	274 ± 55.0** (−28.5%)	267 ± 39.5** (−30.3%)	215 ± 42.4** (−43.9%)	243 ± 7.4	210 ± 12.3* (−13.6%)	218 ± 19.1 (−10.3%)	183 ± 25.3** (−24.7%)	210 ± 10.3* (−13.6%)
	Day 29[a]	423 ± 28.3	374 ± 37.8 (−11.6%)	356 ± 53.3* (−15.8%)	358 ± 16.1* (−15.4%)	303 ± 30.1** (−28.4%)	261 ± 10.5	239 ± 14.3 (−8.4%)	237 ± 15.6 (−9.2%)	231 ± 14.0* (−11.5%)	241 ± 13.4 (−7.7%)
Food Consumption (g/animal/day)	Day -8 to -2	24 ± 1.2	25 ± 1.2	24 ± 1.2	24 ± 1.0	24 ± 1.1	19 ± 2.1	19 ± 1.4	18 ± 2.3	18 ± 1.3	18 ± 1.9
	Day 0- 7	27 ± 2.2	21± 3.9**	24 ± 1.7	23 ± 2.9*	20 ± 2.7**	20 ± 3.6	16 ± 1.5**	16 ± 2.2**	15 ± 2.6**	16 ± 2.7*
	Day 7-14	28 ± 1.9	21 ± 4.0**	19 ± 4.4**	20 ± 3.6**	18 ± 2.6**	20 ± 2.4	13 ± 4.2**	12 ± 4.3**	11 ± 3.8**	12 ± 4.1**
	Day 21-29[a]	25 ± 7.2	30 ± 2.2	30 ± 3.2	28 ± 6.6	26 ± 2.7	22 ± 2.5	23 ± 3.0	22 ± 1.4	24 ± 1.2	23 ± 2.6
Water Consumption (g/animal/day)	Day -8 to -2	33 ± 4.9	33 ± 4.7	34 ± 3.0	33 ± 2.3	33 ± 3.1	28 ± 5.5	29 ± 5.4	26 ± 3.7	31 ± 7.1	30 ± 7.5
	Day 0- 7	40 ± 15.7	52 ± 10.9	50 ± 9.3	52 ± 6.6	45 ± 8.4	31 ± 5.4	45 ± 14.0**	42 ± 7.0**	41 ± 4.9*	41 ± 6.8*
	Day 7-14	37 ± 8.6	63 ± 11.8**	62 ± 8.2**	70 ± 12.3**	65 ± 13.9**	32 ± 7.6	48 ± 12.9**	46 ± 9.6**	48 ± 5.4**	44 ± 11.1*
	Day 21-29[a]	48 ± 9.4	45 ± 10.3	49 ± 14.3	43 ± 8.2	54 ± 14.5	31 ± 4.8	61 ± 64.4	33 ± 4.2	41 ± 8.0	37 ± 5.6

Table continues

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats	**Report No.:** RDX5791-TX-5	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)
Urinalysis: Test article-related lower mean urine specific gravity values (often statistically significant) were noted at the primary necropsy in all tenapanor hydrochloride-treated male and female groups. At the recovery necropsy, mean urine specific gravity levels returned to values similar to the control group.		
Hematology and Coagulation: Secondary test article-related effects on hematology noted at all dosage levels in both males and females at the primary necropsy at Day 18 (males) or Day 15 (females) included higher red blood cell count, hemoglobin concentration, hematocrit concentration, mean corpuscular hemoglobin concentration, red cell distribution width, hemoglobin distribution width (females only), neutrophil count, and monocyte count, and lower mean corpuscular volume (females only). Rebound effects noted at the recovery necropsy, 15 days after last dosing, included lower mean red blood cell counts, hemoglobin concentration, hematocrit concentration, and/or higher absolute reticulocyte counts noted in tenapanor hydrochloride-treated male or female groups.		
Serum Chemistry: Primary test article-related effects on serum chemistry parameters noted in all tenapanor hydrochloride-treated groups included lower sodium levels and higher urea nitrogen levels at the primary necropsy. Secondary test article-related effects on serum chemistry parameters noted at all dose levels included higher alanine aminotransferase, slightly higher aspartate aminotransferase, lower potassium (males only), higher creatinine (females only), lower albumin (females only), higher A/G ratio, lower cholesterol (females only), and lower chloride (females only) values at the primary necropsy.		
Macroscopic Examinations: Test article-related gross observations noted in males and females in the tenapanor hydrochloride-treated groups included distended and/or brown fluid contents in the cecum, colon, duodenum, ileum, jejunum and stomach noted at primary necropsy or in animals found dead. Additional test article-related gross observations noted in males and females in all tenapanor hydrochloride-treated groups included small axillary lymph nodes, spleen and thymus, as well as brown matting on the skin, tail and paws at the primary necropsy or in animals found dead.		
Organ Weights: Test article-related lower final body weights and spleen weights were noted in all tenapanor hydrochloride-treated groups at the primary and/or recovery necropsies.		

Table continues

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats				**Report No.:** RDX5791-TX-5			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)			
Microscopic Pathology Findings Summary										
Daily Dose (mg/kg/day):	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
Sex	Male					Female				
Number of Animals	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Cecum[c]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Decreased Goblet Cells	0	5	10	10	10	0	6	4	3	6
Minimal	-	2	6	5	3	-	4	2	3	5
Mild	-	3	4	5	7	-	2	2	0	1
Infiltrate, Mixed Inflammatory Cells	0	0	2	1	1	0	3	3	2	4
Minimal	-	-	1	0	1	-	1	2	2	3
Mild	-	-	1	1	0	-	2	1	0	1
Colon[c]	10	10	1	3	10	10	10	1	2	10
Decreased Goblet Cells	0	2	0	0	5	0	3	0	1	4
Minimal	-	2	-	-	4	-	3	0	1	1
Mild	-	0	-	-	1	-	0	0	0	3
Atrophy, Mucosal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Duodenum[c]	10	0	1	0	10	10	10	0	1	10
Decreased Goblet Cells	0	2	0	0	5	0	3	0	1	4
Minimal	-	2	-	-	4	-	3	-	1	1
Mild	-	-	-	-	1	-	-	-	-	3
Ileum[c]	10	10	1	3	10	10	10	1	2	10
Decreased Goblet Cells	0	2	1	1	4	0	4	0	0	6
Minimal	-	2	1	1	1	-	2	-	-	5
Mild	-	0	0	0	3	-	2	-	-	1
Jejunum[c]	10	10	1	0	10	10	10	1	1	10
Decreased Goblet Cells	0	1	1	0	1	0	2	0	0	1
Minimal	-	1	1	-	1	-	2	-	-	0
Moderate	-	0	0	-	0	-	0	-	-	1

Table continues

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats				**Report No.:** RDX5791-TX-5		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)				
Microscopic Pathology Findings Summary										
Daily Dose (mg/kg/day):	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
Sex	Male					Female				
Number of Animals	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Rectum [c]	10	10	0	0	10	10	10	0	0	10
Decreased Goblet Cells	0	5	0	0	8	0	8	0	0	10
Minimal	-	5	-	-	8	-	8	-	-	7
Mild	-	0	-	-	0	-	0	-	-	3
Erosion	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
Mild	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2
Infiltrate, Mixed Inflammatory Cell	0	4	0	0	5	0	6	0	0	8
Minimal	-	4	-	-	4	-	6	-	-	7
Mild	-	0	-	-	1	-	0	-	-	1
Necrosis, Glandular Epithelium	0	4	0	0	5	0	2	0	0	4
Minimal	-	4	-	-	5	-	2	-	-	4
Kidneys [c]	10	10	3	NA	10	10	10	NA	NA	10
Cast, Hyaline	0	6	3	NA	6	0	4	NA	NA	7
Minimal	-	5	2	NA	2	-	1	-	-	4
Mild	-	1	NA	NA	3	-	2	-	-	1
Moderate	-	0	1	NA	1	-	1	-	-	2
Degeneration, Tubular	0	5	3	NA	5	1	4	NA	NA	6
Minimal	-	5	2	NA	3	1	2	-	-	3
Mild	-	0	1	NA	2	0	2	-	-	1
Moderate	-	0	0	NA	0	0	0	-	-	2
Regeneration, Tubular	0	5	2	NA	5	0	3	NA	NA	4
Minimal	-	5	1	NA	4	-	2	-	-	2
Mild	-	0	1	NA	1	-	1	-	-	1
Moderate	-	0	0	NA	0	-	0	-	-	1

Table continues

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats				**Report No.:** RDX5791-TX-5		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)				
Microscopic Pathology Findings Summary										
Daily Dose (mg/kg/day):	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
Sex	Male					Female				
Number of Animals	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Exorbital Lacrimal Gland [c]	10	NA	NA	NA	10	10	NA	NA	NA	10
Atrophy	0	NA	NA	NA	7	0	NA	NA	NA	10
Minimal	-	-	-	-	3	-	-	-	-	4
Mild	-	-	-	-	4	-	-	-	-	3
Moderate	-	-	-	-	0	-	-	-	-	3
Lymph Node, Mesenteric [c]	10	NA	NA	NA	10	10	NA	NA	NA	10
Depletion, Lymphoid	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	5
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Lymph Node, Axillary [c]	10	NA	2	NA	10	10	NA	NA	NA	10
Depletion, Lymphoid	0	NA	1	NA	0	0	NA	NA	NA	6
Minimal	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3
Mild	-	-	0	-	-	-	-	-	-	3
Spleen [c]	10	NA	2	3	10	10	1	1	1	10
Depletion, Lymphoid	0	NA	2	1	1	0	1	1	1	6
Minimal	-	-	2	0	1	-	1	1	0	2
Mild	-	-	0	1	0	-	0	0	0	4
Moderate	-	-	0	0	0	-	0	0	1	0
Thymus [c]	10	2	3	1	10	10	1	1	3	10
Depletion, Lymphoid	0	2	3	1	9	0	1	1	3	10
Minimal	-	0	0	0	4	-	0	0	0	3
Mild	-	1	1	0	1	-	0	1	2	3
Moderate	-	1	2	1	3	-	1	0	1	2
Severe	-	0	0	0	1	-	0	0	0	2

Table continues

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats				**Report No.:** RDX5791-TX-5		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)				
Microscopic Pathology Findings Summary										
Daily Dose (mg/kg/day):	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
Sex	Male					Female				
Number of Animals	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Marrow, Femur [c]	10	NA	NA	NA	10	10	NA	NA	NA	10
Depletion	0	NA	NA	NA	0	0	NA	NA	NA	4
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Marrow, Sternum [c]	10	NA	NA	NA	10	10	NA	NA	NA	10
Depletion	0	NA	NA	NA	0	0	NA	NA	NA	3
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Coagulating Glands [c]	1	1	2	2	7	NA	NA	NA	NA	NA
Decreased Secretion	0	0	1	2	7	-	-	-	-	-
Minimal	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-
Mild	-	-	0	2	6	-	-	-	-	-
Moderate	-	-	0	0	1	-	-	-	-	-
Seminal Vesicles [c]	10	2	4	3	10	NA	NA	NA	NA	NA
Decreased Secretion	0	1	3	3	7	-	-	-	-	-
Minimal	-	0	2	0	2	-	-	-	-	-
Mild	-	0	1	1	4	-	-	-	-	-
Moderate	-	1	0	2	1	-	-	-	-	-

Note: Clinical signs are reported as number of animals. All other data reported as mean ± standard deviation, unless otherwise noted.
a: Recovery group only
b: Toxicologically significant changes
c: Number of animals for which tissues examined
*(**) $p \leq 0.05(0.01)$ (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)
- = no findings; A/G = albumin/globulin

7.2.2 A 3-Month Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 28-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats [RDX5791-TX-10]

Report Title: A 3-Month Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 28-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats			**Report No.:** RDX5791-TX-10			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley			**Duration of Dosing:** 3 months					
Initial Age: 7 weeks			**GLP Compliance:** Yes					
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			**Method of Administration:** Oral (gavage)					
NOAEL: 5 mg/kg/day			**Vehicle/Formulation:** 0.1% Tween® 80 in deionized water					
Special Features: Included Toxicokinetic Groups: 3 animals/sex (vehicle control group) and 9 animals/sex for tenapanor hydrochloride treated groups								
Findings in Treatment Period								
Daily Dose (mg/kg)	0		0.1		1.0		5.0	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals	15	15	10	10	10	10	15	15
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[a]	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Excreta								
Soft Feces	0	0	1	0	10	9	15	15
Rectal Mucous Exudate	0	0	0	0	1	0	6	0
Body/Integument								
Anogenital Area, Wet Brown Material	0	0	1	0	2	1	12	6
Anogenital Area, Dried Brown Material	0	0	2	0	10	2	15	9

Table continues

Report Title: A 3-Month Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 28-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats				**Report No.:** RDX5791-TX-10			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)		
Toxicokinetics (ng/mL)									
Daily Dose (mg/kg)		0		0.1		1.0		5.0	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals		3	3	9	9	9	9	9	9
Hours Post Dosing									
Day 0 (first dosing)	0.5	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.531[b]
	1	NA	NA	BLQ	BLQ	4.43[b]	BLQ	0.691[b]	BLQ
	2	NA	NA	BLQ	BLQ	1.14[b]	BLQ	BLQ	BLQ
	4	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	8	NA	NA	BLQ	BLQ	0.633[b]	BLQ	BLQ	BLQ
	24	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Day 87	0.5	NA	NA	BLQ	BLQ	4.72[b]	BLQ	BLQ	BLQ
	1	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	0.608[b]	BLQ	BLQ
	2	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	1.81[b]	BLQ	BLQ
	4	NA	NA	BLQ	BLQ	0.794[b]	BLQ	BLQ	BLQ
	8	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	24	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

Table continues

Report Title: A 3-Month Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of RDX5791 with a 28-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats		**Report No.:** RDX5791-TX-10		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)					
Daily Dose (mg/kg)		0		0.1		1.0		5.0	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Body Weight (g) (difference vs control)	Week 0	244 ± 12.2	184 ± 11.3	244 ± 11.1	183 ± 13.5	244 ± 8.5	186 ± 12.8	245 ± 10.6	182 ± 13.2
	Week 4	408 ± 40.5	253 ± 16.7	398 ± 31.0 (−2.5%)	254 ± 15.1 (+0.4%)	398 ± 23.3 (−2.5%)	242± 19.7 (−4.3%)	389 ± 26.3 (−4.7%)	239 ± 22.0 (−5.5%)
	Week 8	493 ± 54.0	281 ± 20.6	484 ± 59.0 (−1.8%)	283 ± 17.8 (+0.7%)	488 ± 32.8 (−1.0%)	273 ± 23.5 (−2.8%)	475 ± 36.3 (−3.7%)	267 ± 24.6 (−5.0%)
	Week 12	553 ± 61.6	296 ± 24.9	558 ± 62.0 (+0.9%)	303 ± 21.2 (+2.4%)	539 ± 44.2 (−2.5%)	291 ± 25.3 (−1.7%)	522 ± 42.9 (−5.6%)	282 ± 23.7 (−4.7%)
Ophthalmology		No test article-related findings							
Hematology/Coagulation		No test article-related findings							
Blood Chemistry									
Serum Protein (g/dL)		6.5 ± 0.08	7.0 ± 0.25	6.8 ± 0.28	7.3 ± 0.42	6.9 ± 0.46*	7.4 ± 0.57	6.9 ± 0.33*	7.1 ± 0.26
Urinalysis									
Specific Gravity		1.035 ± 0.0096	1.054 ± 0.0125	1.034 ± 0.0128	1.043 ± 0.0180	1.047 ± 0.0200	1.053 ± 0.0136	1.061 ± 0.0113**	1.066 ± 0.0099
pH		6.8 ± 0.26	6.1 ± 0.28	6.4 ± 0.39	6.0 ± 0.16	6.3 ± 0.26**	6.0 ± 0.47	6.2 ± 0.26**	6.1 ± 0.42
Total Volume (mL)		10.0 ± 5.60	2.6 ± 1.58	9.9 ± 4.26	3.9 ± 2.28	6.3 ± 4.03	2.1 ± 1.10	3.5 ± 1.35**	1.8 ± 0.71
Macroscopic Examination		No observations at necropsy considered to be related to test article administration							
Organ Weights									
Liver (relative), g/100 g Body Weight		2.756 ± 0.2269	2.757 ± 0.1803	2.836 ± 0.2452	2.874 ± 0.2086	2.776 ± 0.2006	2.981 ± 0.3056	2.853 ± 0.1422	3.293 ± 0.3259**
Ovary/Oviduct (relative), g/100 g Body Weight		NA	0.048 ± 0.0032	NA	0.045 ± 0.0095	NA	0.047 ± 0.0081	NA	0.056 ± 0.0058*
Histopathology									
Oviduct, Hyperplasia (epithelial)	Mild	NA	0/10	NA	NA	NA	NA	NA	3/10

Note: Clinical observations and histopathology are reported as number of animals. All other data reported as mean ± standard deviation, unless otherwise noted.

a: Animal euthanized on day 62 after accidental trauma to maxillary bone. No test article-related lethality during the study.

b: Reported value in a single animal (not an actual mean)

*(**) $p \leq 0.05(0.01)$ (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)

7.2.3 A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of AZD1722 in Sprague Dawley Rats with Male Fertility Evaluation [[redacted]-775030]

Report Title: A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of AZD1722 in Sprague Dawley Rats with Male Fertility Evaluation				**Report No.:** [redacted]-775030		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley				**Duration of Dosing:** 6 months				
Initial Age: 7 weeks				**GLP Compliance:** Yes				
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]				**Method of Administration:** Oral (gavage)				
NOAEL: 3 mg/kg/day for males and 10 mg/kg/day for females				**Vehicle/Formulation:** 0.1% Tween® 80 [w/v] in deionized water				
Special Features: Included evaluation of male fertility, summarized in Table 2.6.7.14.2								
Findings in Treatment Period								
Daily Dose (mg/kg)		0		1		3		10	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals		20	15	20	15	20	15	20	15
Died or Sacrificed Moribund		1	0	0	0	0	0	2	0
Clinical Observations									
Excreta	Soft feces	0	0	20	7	20	12	20	15
	Diarrhea	0	0	2	1	9	0	14	8
Anogenital Area	Wet brown material	0	0	5	0	15	1	18	9
	Dried brown material	0	0	14	4	16	3	20	12

Table continues

Report Title: A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of AZD1722 in Sprague Dawley Rats with Male Fertility Evaluation				**Report No.:** [redacted]-775030					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)
Toxicokinetics									
Daily Dose (mg/kg)		0		1		3		10	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals		3	3	9	9	9	9	9	9
Hours Post Dosing		**Concentration (mean, ng/mL)**							
Week 4 (first dosing)	0.5	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	1.78
	1	NA	NA	BLQ	0.333	BLQ	BLQ	0.423	BLQ
	2	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	4	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	8	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	24	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
Week 26	0.5	NA	NA	0.440	BLQ	BLQ	BLQ	25.4	BLQ
	1	NA	NA	0.860	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	2	0.172	BLQ	0.290	BLQ	BLQ	BLQ	0.490	BLQ
	4	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	7.40	BLQ
	8	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.850	BLQ
	24	NA	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.353	BLQ

Table continues

Report Title: A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of AZD1722 in Sprague Dawley Rats with Male Fertility Evaluation			**Report No.:** [redacted]-775030				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)		0	1		3		10	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals		3	3	9	9	9	9	9	9
Body Weight (g) (difference vs control)									
Week 0		229 ±13.6	178 ±14.1	231 ± 11.9	177 ± 12.5	231 ± 13.6	177 ±12.6	231 ± 12.9	178 ±11.9
Week 6		436 ± 41.9	260 ±26.8	442 ± 35.5 (+1.4%)	250 ± 22.2 (−3.8%)	415 ± 51.4 (−4.8%)	252 ± 17.0 (−3.1%)	386 ± 48.4** (−11.5%)	248 ± 24.6 (−4.6%)
Week 26		647 ± 69.9	321 ±33.6	632 ± 67.2 (−2.3%)	311 ± 34.7 (−3.1%)	614 ± 90.5 (−5.1%)	307 ± 22.1 (−4.4%)	624 ± 94.7 (−3.6%)	309 ± 29.4 (−3.7%)
Test article-related lower body weights and body weight changes were noted in the 3 and 10 mg/kg/day group male and 10 mg/kg/day group females. The effect on body weight did not persist through the end of the dosing period.									
Food Consumption		Test article-related lower food consumption was noted in the 3 and 10 mg/kg/day group males and females during the first week of dosing.							
Ophthalmology		No test article-related findings.							
Hematology/Coagulation: No test article-related findings.									
Serum Chemistry (difference vs control)									
Glucose (mg/dL)	Week 13	113 ± 15.2	104 ± 8.8	117 ± 23.1 (+3.5%)	98 ± 10.4 (−5.8%)	107 ± 13.5 (−5.3%)	99 ± 8.9 (−4.8%)	104 ± 13.4 (−8.0%)	92 ± 8.9 ** (-11.5%)
	Week 26	122 ± 9.8	112 ± 10.9	118 ± 11.2 (−3.3%)	105 ± 10.6 (−6.3%)	108 ± 15.7* (−11.5%)	104 ± 11.4 (−7.1%)	110 ± 14.0* (−9.8%)	103 ± 9.0 (−8.0%)
Phosphorous (mg/dL)	Week 13	7.3 ± 0.48	6.4 ± 0.77	7.6 ± 0.95 (+4.1%)	7.0 ± 0.65 (+9.4%)	7.7 ± 0.62 (+5.5%)	7.2 ± 0.79* (+12.5%)	8.3 ± 0.85** (+13.7%)	7.3 ± 0.83** (+14.1%)
	Week 26	6.2 ± 0.44	5.8 ± 0.71	6.9 ± 0.85* (+11.3%)	6.1 ± 0.82 (+5.2%)	6.9 ± 0.75* (+11.3%)	6.1 ± 0.83 (+5.2%)	7.1 ± 0.52** (+14.5%)	6.2 ± 0.61 (+6.9%)
Potassium (mEq/L)	Week 13	4.88 ± 0.286	4.58 ± 0.360	5.19 ± 0.285* (+6.4%)	4.86 ± 0.514 (+6.1%)	5.13 ± 0.420 (+5.1%)	4.85 ± 0.340 (+5.9%)	5.16 ± 0.357* (+5.7%)	4.68 ± 0.417 (+2.2%)
	Week 26	4.85 ± 0.329	4.35 ± 0.362	5.53 ± 0.481** (+14.0%)	4.55 ± 0.253 (+4.6%)	5.27 ± 0.456* (+8.7%)	4.73 ± 0.445** (+8.7%)	5.42 ± 0.445** (+11.8%)	4.47 ± 0.296 (+2.8%)

Table continues

Report Title: A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of AZD1722 in Sprague Dawley Rats with Male Fertility Evaluation	**Report No.:** [redacted]-775030	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)

Anatomic Pathology

Macroscopic Examination: No observations related to test article treatment at necropsy.

Organ Weights: No test article-related effects.

Histopathology

Daily Dose (mg/kg)	0		1		3		10	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Adrenal Cortex								
Number of Animals	14	15	15	15	15	15	14	15
Hypertrophy Zona Glomerulosa	0	0	15	14	15	15	14	15
Minimal	-	-	7	3	0	0	0	0
Mild	-	-	7	11	6	5	5	5
Moderate	-	-	1	0	9	10	9	10

Note: Clinical observations and histopathology are reported as number of animals. All other data reported as mean ± standard deviation, unless otherwise noted.
- = No treatment-related changes
*(**) $p \leq 0.05(0.01)$ (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)

7.3 Repeat-Dose Toxicity Studies in Dogs

7.3.1 A 28-Day Oral (Capsule) Toxicity and toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Beagle Dogs [RDX5791-TX-06]

Report Title: A 28-Day Oral (Capsule) Toxicity and toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Beagle Dogs	**Report No.:** RDX5791-TX-06	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
Species/Strain: Dog/Beagle	**Duration of Dosing:** 28 days	
Initial Age: 4-5 months	**GLP Compliance:** Yes	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral (capsule)	
NOAEL: 1000 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** Capsule	
Method: Tenapanor hydrochloride was administered orally by capsules once daily for a minimum of 28 consecutive days.		
Daily Dose: 0, 50, 300, and 1000 mg/kg/day		
N/Sex/Group: 3/sex/main group, 2/sex/recovery group		
Findings: All animals survived to scheduled necropsies. Abnormal excreta, primarily soft feces which is the expected pharmacology of the test article, was noted across all dosage levels for most of the dosing period and at the beginning of the recovery period. Body weights, body weight changes, food consumption, water consumption, clinical pathology and ECG parameters, ophthalmic examinations, and organ weights were unaffected by test article administration. The test article was only sporadically identified in toxicokinetic plasma samples.		

Toxicokinetic Parameters

Daily Dose (mg/kg)		50		300		1000	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Day 0 (first dosing)	t_{max} (h)	3.0†[2]	NA	2.0	9.3	3.6	3.6
	C_{max} (ng/mL)	1.06†[2]	NA	1.72	1.74	1.52	3.83
	AUC_{last} (ng･h/mL)	1.46†[2]	NA	4.78	9.42	9.98	17.0
Day 26	t_{max} (h)	2.3	2.5†[2]	2.7	2.0	2.4	3.0
	C_{max} (ng/mL)	8.77†[2]	0.669†[2]	1.81	1.10	2.23	2.82
	AUC_{last} (ng･h/mL)	0.694†[2]	NA	570	4.11	13.1	17.3

Table continues

Report Title: A 28-Day Oral (Capsule) Toxicity and toxicokinetic Study of RDX5791 with a 14-Day Recovery Period in Beagle Dogs	**Report No.:** RDX5791-TX-06	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)

Plasma Concentrations of Toxicokinetic Samples (Days 0 and 26) from Dogs Administered 1000 mg/kg/day

		Dog I.D. (Male)					Dog I.D. (Female)				
Day	**Time (h)**	**8123**	**8124**	**8126**	**8128**	**8139**	**8144**	**8146**	**8148**	**8152**	**8155**
0	0.5	BLQ	BLQ	0.629	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	1	BLQ	BLQ	1.31	1.79	0.910	0.660	1.05	1.26	0.908	1.71
	2	1.07	0.835	1.34	2.29	1.21	1.66	1.32	3.20	1.58	6.45
	4	1.48	1.03	1.53	2.35	0.611	2.10	1.70	6.84	2.06	2.32
	8	0.809	BLQ	BLQ	0.637	BLQ	0.541[a]	0.888	1.23	0.834	BLQ
	24	BLQ	BLQ	BLQ	2.14	BLQ[a]	BLQ	BLQ	0.941	BLQ	BLQ
26	0.5	0.919	0.699	BLQ	0.731	0.557	1.49	BLQ	1.15	BLQ	0.655
	1	1.75	2.30	0.708[a]	1.51	1.15	4.27	1.46	2.34	0.947	0.898
	2	3.66	1.96	1.49	1.52	0.954	2.80	2.01	2.98	1.43	1.33
	4	1.88	0.929	1.73	2.29	1.14	2.66	2.45[a]	3.88	2.19	0.566
	8	0.859	0.683	BLQ	1.52	0.534	1.41	0.713	1.44	1.64	BLQ
	24	1.32[a]	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	0.959	BLQ	BLQ

N = number of animals

N = 3 for 50 and 300 mg/kg/day groups, N = 5 for 1000 mg/kg/day group except where N is indicated as †[n]; NA = not applicable, all individual concentrations below lower limit of quantitation.

a: Sample was hemolyzed.

7.3.2 A 3 Month Oral (Capsule) Toxicity Study of RDX5791 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Period [RDX5791-TX-11]

Report Title: A 3 Month Oral (Capsule) Toxicity Study of RDX5791 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Period	**Report No.:** RDX5791-TX-11	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
Species/Strain: Dog/Beagle	**Duration of Dosing:** 3 months	
Initial Age: 4-5 months	**GLP Compliance:** Yes	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral (capsules)	
NOAEL: 1000 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** Capsule	
Method: Tenapanor hydrochloride (RDX5791) was administered orally in capsules once daily for a minimum of 91 days to 3 groups (Groups 2-4) of Beagle dogs.		
N/Sex/Group: 4/sex/main group, 2/sex/recovery group		
Findings: All animals survived to scheduled necropsy. Abnormal excreta such as diarrhea or soft feces which are expected pharmacology consequences of the test article treatment, were noted across all dosage levels for most of the dosing period and sporadically throughout the recovery periods. Plasma concentration data at 50 mg/kg/day was not sufficient for toxicokinetic analysis, so only data for the 300 and 1000 mg/kg/day doses are presented below.		

Toxicokinetic Parameters

Daily Dose (mg/kg)		300		1000	
Sex		Male	Female	Male	Female
Day 0 (first dosing)	t_{max} (h)	1.5	1.7	2.5	2.8
	C_{max} (ng/mL)	1.04	1.35	1.99	1.93
	AUC_{last} (ng·h/mL)	2.81†[2]	3.60†[3]	11.0	9.47
Day 89	t_{max} (h)	9.0	3.0	14	4.7
	C_{max} (ng/mL)	1.95	1.29	3.28	2.59
	AUC_{last} (ng·h/mL)	11.2	5.12†[2]	38.2	28.1

Table continues

Report Title: A 3 Month Oral (Capsule) Toxicity Study of RDX5791 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Period		**Report No.:** RDX5791-TX-11				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)		0		50		300		1000	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals (recovery)		6 (2)	6 (2)	4	4	4	4	6 (2)	6 (2)
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations (during dosing period)									
Excreta	Soft Feces	5	5	4	4	4	4	6	6
	Mucoid Feces	1	0	0	0	2	0	4	3
	Diarrhea	0	0	1	1	1	2	0	2
Body Weight		Body weights were unaffected by test article administration.							
Food Consumption		Food consumption was unaffected by test article administration.							
Clinical Pathology									
Hematology and Coagulation		There were no test article-related changes in hematology or coagulation parameters.							
Serum Chemistry		There were no test article-related changes in serum chemistry parameters.							
Urinalysis		There were no test article-related changes in urinalysis parameters.							
Ophthalmology		No ophthalmic lesion indicative of toxicity was observed in any test article-treated groups.							
Electrocardiography		No test article-related effects on heart rate, RR, PR, QRS, QT or QTcV intervals were found at any dosage level.							
Anatomic Pathology									
Macroscopic Examination		No test article-related microscopic findings were noted.							
Organ Weights		No test article-related alterations in organ weights were observed.							
Microscopic Examination		No test article-related microscopic findings were noted.							

N = number of animals; N = 4 for 300 mg/kg/day group and N = 6 for 1000 mg/kg/day group except where N is indicated as †[n]

7.3.3 A 9-Month Oral (Capsule) Toxicity Study of AZD1722 in Beagle Dogs [[redacted]-775031]

Report Title: A 9-Month Oral (Capsule) Toxicity Study of AZD1722 in Beagle Dogs	**Report No.:** [redacted]-775031	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)
Species/Strain: Dog/Beagle	**N/Sex/Group:** 4/sex/group	**Duration of Dosing:** 9 months
Initial Age: 5-6 months	**Daily Dose:** 50, 300, and 1000 mg/kg/day	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral (capsule)	
NOAEL: 1000 mg/kg/day	**Vehicle/Formulation:** Capsule	

Method: Tenapanor hydrochloride administered orally in capsules once daily for a minimum of 273 consecutive days to Beagle dogs.

Findings: Nine-month oral administration of tenapanor hydrochloride to Beagle dogs was well tolerated. Administration of tenapanor hydrochloride resulted in very limited systemic exposure that was variable, sporadic, and relatively low at all dose levels.

Toxicokinetics

Daily Dose (mg/kg)		50		300		1000	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals		4	4	4	4	4	4
Hours Post Dosing		**Concentration (ng/mL)**					
Week 4	0.5	0.144	0.365	BLQ	BLQ	BLQ	0.715
	1	0.134	0.682	0.268	0.132	1.41	1.35
	2	BLQ	0.832	0.608	0.655	3.02	1.54
	4	0.278	0.154	0.273	1.04	1.31	1.25
	8	BLQ	BLQ	0.650	0.440	1.51	0.895
	24	BLQ	BLQ	0.253	0.128	0.971	0.839
Week 38	0.5	BLQ	0.155	BLQ	0.402	0.355	0.622
	1	BLQ	0.452	0.388	0.943	0.886	1.13
	2	0.190	0.524	0.515	1.20	2.46	2.00
	4	BLQ	BLQ	0.329	0.953	1.59	0.942
	8	BLQ	BLQ	0.179	0.140	0.854	0.680
	24	BLQ	BLQ	0.568	0.695	1.58	0.438

Table continues

Report Title: A 9-Month Oral (Capsule) Toxicity Study of AZD1722 in Beagle Dogs		**Report No.:** [redacted]-775031				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)		0		50		300		1000	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals		4	4	4	4	4	4	4	4
Died or Sacrificed Moribund		0	0	1	0	0	0	0	0
Clinical Observations									
Excreta	Soft Feces	2	1	3	3	4	4	4	3
	Mucoid Feces	0	0	0	1	0	0	0	0
	Diarrhea	0	0	0	0	0	0	0	1
Body Weight		Body weights were unaffected by test article administration.							
Food Consumption		Food consumption was unaffected by test article administration.							
Clinical Pathology									
Hematology and Coagulation		There were no test article-related changes in hematology or coagulation parameters.							
Serum Chemistry (difference vs control)									
Chloride	Week -1	111 ± 1.3	111 ± 1.3	110 ± 0.0	109 ± 0.8	110 ± 1.3	111 ± 1.4	110 ± 1.7	111 ± 2.6
	Week 13	114 ± 0.6	113 ± 1.6	114 ± 1.0	114 ± 0.8	114 ± 1.0	115 ± 1.3	115 ± 1.6	115 ± 1.8
	Week 39	114 ± 0.5	114 ± 0.5	116 ± 1.0* (+1.8%)	115 ± 0.6	115 ± 0.5 (+0.9%)	115 ± 0.8	116 ± 1.5* (+1.8%)	116 ± 1.0
Urinalysis		There were no test article-related changes in urinalysis parameters.							
Ophthalmology		No ophthalmic lesion indicative of toxicity was observed in any test article-treated groups.							
Electrocardiography		No test article-related effects on heart rate, RR, PR, QT or QTcV intervals at any dose level. Mean QRS interval in 1000 mg/kg/day group males was significantly decreased from the control group during study week 38 at approximately 6 hours post-dosing. This statistically significantly minor change in the QRS interval is a normal variant, as values were still within the normal range.							
Anatomic Pathology									
Macroscopic Examination		No observations considered to be associated with test article administration were noted at necropsy.							
Organ Weights		No test article-related alterations in organ weights were observed.							
Microscopic Examination		No test article-related microscopic findings were noted.							

Note: Clinical observations are reported as number of animals. All other data reported as mean ± standard deviation, unless otherwise noted.
N = number of animals
* $p \leq 0.05$ (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)

8 遺伝毒性試験：重要な試験以外の試験

8.1 AZD1722: Maximum Tolerated Dose IV Toxicity Study in the Rat [3570[redacted]]

Report Title: AZD1722: Maximum Tolerated Dose IV Toxicity Study in the Rat	**Report No.:** 3570[redacted]	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)
Species/Strain: Rat/Wister Han	**Duration of Dosing:** Once daily for 2 days	
N/Sex/Group: 1/male/lower doses group, 3/male/highest dose group (10 mg/kg)	**GLP Compliance:** No	
Method of Administration: intravenous	**Vehicle/Formulation:** 0.9% Sodium Chloride	
MTD: > 6 mg/kg		
Method: As a preliminary dose-range finding study for the rat micronucleus study, animals were dosed once daily by intravenous infusion, for 2 days, and observed up to five days. The test compound was administered twice via intravenous injection to maximize the exposure of the test item to the bone marrow. The intended clinical route is oral but tenapanor hydrochloride is minimally absorbed and results in low systemic exposure.		

Intended Dose Levels (mg/kg/day)	Measured Dose Levels (mg/kg/day)	pH	Concentration of Dosing Formulation (mg/mL)
1	0.7	4.78	0.2
2	1.4	4.33	0.4
4	2.8	4.00	0.8
6	3.78	3.99	1.2
8	5.04	3.38	1.6
10	6.03	3.72	2.0

Findings:	The maximum feasible dose of 10 mg/kg in saline was tolerated in three male rats with no adverse clinical observations, the dose achieved in the animals was likely less than 10 mg/kg, but more than the 6 mg/kg measured by HPLC. The compound adhered to the glassware and formed a viscous gel in saline. The analytical HPLC and UV analysis did not provide reproducible results. It was estimated that only 63% of tenapanor hydrochloride was dissolved in saline.

N = number of animals

9 遺伝毒性試験: In Vitro（重要な試験）

9.1 Bacterial Reverse Mutation Assay [RDX5791-GT-02]

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
Test for Induction of: reverse mutation in bacterial cells		**Report No.:** RDX5791-GT-02
Strains: *S. typhimurium* TA100, TA98, TA1535, TA1537; and *E. coli* WP2 *uvrA*		**GLP Compliance:** Yes
Number of Independent Assays: 2	**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]	**Number of Replicate Cultures:** 3
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9		
Vehicles: For Test Article: DMSO; For all positive controls except for sodium azide: DMSO; sodium azide: water		
Treatment: incubation for approximately 48 to 72 hours at 37±2°C		
Genotoxic Effects: none		
Exposure Method: Plate incorporation assay		**Study Code:** AD07FF
Date Plated: [redacted]/[redacted]/20[redacted]		**Evaluation Period:** [redacted]/[redacted]/20[redacted]

Initial Toxicity – Mutation Assays (with and without S9 activation)

Metabolic Activation	Article		Dose Level Per Plate	Mean Revertant Colonies Per Plate			
				TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*/ pKM101
Without S9 Activation	Tenapanor hydrochloride		5000 µg	99	11	7	35
			1500 µg	84	11	6	32
			500 µg	88	13	6	29
			150 µg	95	20	6	24
			50 µg	102	10	6	30
			15 µg	104	11	6	25
			5.0 µg	91	14	5	27
			1.5 µg	83	13	6	31
	DMSO (vehicle)		50 µL	95	14	7	32
	Positive Controls	SA	1.0 µg	820	695	NT	NT
		9AAD	75 µg	NT	NT	754	NT
		MMS	1000 µg	NT	NT	NT	444

Table continues

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)		
Initial Toxicity – Mutation Assays (with and without S9 activation) (Continued)							
Metabolic Activation	**Article**		**Dose Level Per Plate**	**Mean Revertant Colonies Per Plate**			
				TA100	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvrA*/ pKM101**
With S9 Activation	Tenapanor hydrochloride		5000 µg	120	10	7	33
			1500 µg	110	9	7	32
			500 µg	112	10	6	34
			150 µg	108	10	9	30
			50 µg	92	13	5	35
			15 µg	105	13	6	37
			5.0 µg	95	14	7	35
			1.5 µg	108	13	5	37
	DMSO (vehicle)		50 µL	110	10	8	32
	Positive Controls	2AA	1.0 µg	NT	177	52	NT
			2.0 µg	604	NT	NT	NT
			10 µg	NT	NT	NT	143

Table continues

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)				
Confirmatory Mutagenicity Assay (Without or With S9 Activation)								
Metabolic Activation	**Test article**		**Dose level Per Plate**	**Revertant colony counts (Mean ± SD)**				
				TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
Without S9 Activation	Tenapanor hydrochloride		5000 µg	17 ± 2	85 ± 4	13 ± 4	12 ± 2	30 ± 4
			1500 µg	16 ± 1	92 ± 5	15 ± 2	12 ± 2	28 ± 1
			500 µg	15 ± 1	98 ± 11	15 ± 3	10 ± 3	43 ± 6
			150 µg	16 ± 3	99 ± 4	16 ± 3	14 ± 5	34 ± 6
			50 µg	14 ± 1	89 ± 7	15 ± 1	14 ± 5	35 ± 9
	DMSO (vehicle)		50 µL	13 ± 3	90 ± 7	15 ± 0	16 ± 1	33 ± 2
	Positive Controls	2NF	1.0 µg	427±278	NT	NT	NT	NT
		SA	1.0 µg	NT	788 ± 26	667 ± 33	NT	NT
		9AAD	75 µg	NT	NT	NT	1791 ± 184	NT
		MMS	1000 µg	NT	NT	NT	NT	494 ± 41
With S9 Activation	Tenapanor hydrochloride		5000 µg	20 ± 4	107 ± 6	11 ± 3	11 ± 2	35 ± 3
			1500 µg	18 ± 4	96 ± 5	10 ± 3	11 ± 3	41 ± 8
			500 µg	21± 3	105 ± 6	12 ± 3	8 ± 1	40 ± 6
			150 µg	21 ± 3	91 ± 6	9 ± 1	18 ± 1	35 ± 7
			50 µg	20 ± 5	110 ± 12	10 ± 4	14 ± 3	40 ± 5
	DMSO (vehicle)		50 µL	20 ± 6	105 ± 7	11 ± 5	13 ± 2	38 ± 3
	Positive Controls	2AA	1.0 µg	471 ± 46	NT	96 ± 10	60 ± 26	NT
			2.0 µg	NT	1123 ± 21	NT	NT	NT
			10 µg	NT	NT	NT	NT	405 ± 89

9.2 In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test [RDX5791-GT-03]

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)
Test for Induction of: chromosomal aberrations	**Number of Independent Assays:** 1	**Report No.:** RDX5791-GT-03
Test System: human peripheral blood lymphocytes:	**Number of Replicate Cultures:** 2	**GLP Compliant:** Yes
Metabolizing System: with or without Aroclor- induced S9 activation		
Vehicles: DMSO	**Positive Controls:** Mitomycin C for non-activated studies is. cyclophosphamide for S9-activated studies.	
Treatment: Incubation with tenapanor hydrochloride (at concentrations from 62.5 to 2500 µg/mL) vehicle or positive control in the absence and presence of an Aroclor- induced S9 activation system for 4 hours, and continuously for 20 hours in the absence of S9 activation		**Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Substantial toxicity (at least 50% reduction in mitotic index relative to the solvent control) was observed at 5000 µg/mL in all three tenapanor hydrochloride treatment groups (in the absence and presence of an Aroclor-induced S9 activation system for 4 hours, and continuously for 20 hours in the absence of S9 activation).		
Genotoxic Effects: Tenapanor hydrochloride was concluded to be negative for the induction of structural and numerical chromosome aberrations in both non-activated and S9-activated test systems in the in vitro mammalian chromosome aberration test using human peripheral blood lymphocytes.		
Summary of Results		

Treatment Time (hours)	Recovery Time (hours)	Harvest Time (hours)	S9	Mitotic Index Reduction[a] at Highest Dose Scored (µg/mL)	LED for Structural Aberrations (µg/mL)	LED for Numerical Aberrations (µg/mL)
4	16	20	-	52% at 3000	None	None
20	0	20	-	50% at 2000	None	None
4	16	20	+	50% at 2000	None	None

Table continues

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)

Summary of Results from Definitive Assays

Treatment µg/mL	S9 Activation	Treatment Time	Mean Mitotic Index	Cells Scored		Aberrations Per Cell		Cells with Aberrations	
				Numerical	Structural	Mean	±SD	Numerical (%)	Structural (%)
DMSO	-S9	4	12.9	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
RDX5791									
500	-S9	4	11.1	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
1000	-S9	4	10.4	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
3000	-S9	4	6.2	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
MMC, 0.6	-S9	4	4.2	200	100	0.230	±0.446	0.0	22.0**
DMSO	+S9	4	13.4	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
RDX5791									
250	+S9	4	12.2	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
500	+S9	4	11.8	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
2000	+S9	4	6.7	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
CP, 10	+S9	4	2.7	200	100	0.190	±0.394	0.0	19.0**
DMSO	-S9	20	12.4	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
RDX5791									
250	-S9	20	11.7	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
500	-S9	20	10.0	200	200	0.000	±0.000	0.0	0.0
2000	-S9	20	6.2	200	200	0.000	±0.000	1.0	0.0
MMC, 0.3	-S9	20	6.2	200	100	0.270	±0.510	0.0	24.0**

Treatment: Cells from all treatment conditions were harvested at 20 hours after the initiation of the treatments.
Aberrations per Cell: Severely damaged cells were counted as 10 aberrations.
** $p \leq 0.01$ (significantly different from the control group mean) (Fisher's Exact test)
a: Relative to the solvent control at the highest dose evaluated for chromosome aberrations

10 遺伝毒性試験: In Vivo（重要な試験）

10.1 In Vivo Micronucleus Assay in Mice by Oral Gavage [RDX5791-GT-04]

Report Title: In Vivo Micronucleus Assay in Mice	**Report No.:** RDX5791-GT-04	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride **(**RDX5791)
Assay: Bone marrow micronuclei	**Treatment Schedule:** Two Dose Administrations[a]	**GLP Compliance:** Yes
Species/Strain/Sex: Mouse/CD-1/Male and Female	**Sampling Times:** 24 hours post- second dose[a]	
Age: 6 weeks	**Route of Administration:** Oral gavage	**Cells Evaluated:** PCE
Vehicles: 2% Tween® in deionized water (test article); Sterile water for injection (cyclophosphamide positive control)		
Number of Cells Analyzed/Animal: 2000 PCE/animal	**Feeding Condition:** Ad libitum	**Dates of Dosing:** [redacted] and [redacted] 20[redacted]
Special Features: None		
Cytotoxic Effects: No appreciable reductions PCEs/EC ratios in test article-treated groups compared to vehicle control groups at 24 hours.		
Genotoxic Effects: No statistically significant increase in incidence of mnPCEs observed in either male or female mice in any RDX5791 treated groups.		

Sampling Time	**Controls/Test Article**	**Dose (mg/kg/day)**	**Sex/Number of Animals/Group**		**PCE/1000 Erythrocyte**		**Number mnPCE/PCE scored**		**Toxicokinetics (n=3)**		
			Sex	**Number**	**Mean**	**±SD**	**mnPCE**	**PCE scored**	**C_{max} (ng/mL)**	**AUC_{0-t} (ng·h/mL)**	**t_{max} (h)**
24 hours following Second dose[a]	2% Tween® in Deionized water	0	Male	5	0.542	±0.03	0	10000	ND	ND	ND
			Female	5	0.549	±0.04	1	10000	ND	ND	ND
	RDX5791	500	Male	5	0.495	±0.01	2	10000	119	495	0.500
			Female	5	0.550	±0.03	0	10000	80.1	955	1.00
		1000	Male	5	0.499	±0.05	1	10000	218	1090	0.500
			Female	5	0.550	±0.04	1	10000	154	1230	0.500
		2000	Male	5	0.550	±0.05	1	10000	228	1510	2.00
			Female	5	0.546	±0.05	1	10000	292	2010	0.500
	Cyclophosphamide[a]	50[a]	Male	5	0.471	±0.06	204*	10000	ND	ND	ND
			Femal	5	0.457	±0.06	175*	10000	ND	ND	ND

a: Animals in the vehicle control and test article groups were dosed on two consecutive days; each administration was separated by 24 hours. Animals in the positive control article groups were dosed only once, 24 hours prior to bone marrow collection time.

* $p \leq 0.05$ (significantly different from the control group mean) (Kastenbaum-Bowman Tables binomial distribution)

n = number of animals

10.2 AZD1722: Genetic Toxicity Evaluation using the Rat Micronucleus Test after Two Intravenous Doses [3585[redacted]]

Report Title: AZD1722: Genetic Toxicity Evaluation using the Rat Micronucleus Test after Two Intravenous Doses			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)
Test for Induction of: bone-marrow micronuclei	**Treatment Schedule:** Groups were given two intravenous doses of tenapanor hydrochloride at 0, 1, 5, or 10 mg/kg (0, 0.94, 4.70, or 9.40 mg/kg as tenapanor free base) 24 hours apart		**Report No.:** 3585[redacted]
Species/Strain/Sex/N: Rat/Wistar Han/Male/3	**Age:** 11 weeks	**Sampling Time:** 24 hours after the second dose	**GLP Compliant:** Yes
Method of Administration: intravenous	**Vehicle/Formulation:** 0.9% w/v sterile sodium chloride/Solution		**Cells Evaluated:** IE, MIE
Number of Cells Analyzed/Animal: 2000	**Special Features:** TK samples analyzed for 10 mg/kg intravenous dose		**Date of Dosing:** [redacted] 20[redacted]
Toxic/Cytotoxic Effects: none			
Genotoxic Effects: none			

Concentrations of tenapanor in Plasma Following 10 mg/kg Intravenous Administration of Tenapanor hydrochloride in the Male Rat (Mean ± SD)

	1 hour	4 hours	6 hours	24 hours
Plasma Concentration of tenapanor (µmol/L)	3.53 ± 5.25	0.365 ± 0.381	BLQ	BLQ

Mean Incidence of Micronucleated Immature erythrocytes in Rat Bone Marrow and Percentages of Immature Erythrocytes

Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Mean Number of MIE/ 2000 Immature Erythrocytes	Mean Percentage of IE
Vehicle	0	2.0	63.6
Tenapanor hydrochloride	1	1.4	66.8
	5	1.6	67.2
	10	2.4	70.0
Cyclophosphamide	20	35***	56.5

*** $p < 0.001$ (significantly different from the control group mean) (Fisher's Exact Test)
N = number of animals

11 がん原性試験：重要な試験以外の試験

11.1 AZD1722: Oral Maximum Tolerated Dose and Dose Range-Finding Toxicity Study in CByB6F1 Hybrid Mice [0976[redacted]]

Report Title: AZD1722: Oral Maximum Tolerated Dose and Dose Range-Finding Toxicity Study in CByB6F1 Hybrid Mice	**Report No.:** 0976[redacted]	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)
Species/Strain: Mouse/CByB6F1 Hybrid (Tg rasH2 non-transgenic littermates)	**Duration of Dosing:** Once or twice daily for 5 days (MTD phase) or 7 days (DRF phase)	
Initial Age: 8 weeks (MTD phase), 9 weeks (DRF phase)	**GLP Compliance:** No	
Method of Administration: Oral (gavage)	**Vehicle/Formulation:** 1% Polysorbate 80, 1% DMSO in Milli-Q Water	
Daily Dose: (MTD phase) 50, 100, 200, 400, 800 mg/kg once daily and 400 mg/kg BID; (DRF phase) 0, 100, 200 and 400 mg/kg BID		
N/Sex/Group: (MTD phase) 2/sex/lower dose group, 6/sex/highest dose group (800 mg/kg/day); (DRF phase) 3/sex/group		
Method: For MTD phase, assessments included clinical observations, body weight, and TK parameters (Group 6). For DRF phase, parameters assessed included clinical observations, body weight, hematology, TK parameters, gross pathology, and organ weights.		
MTD/NOAEL: 800 mg/kg/day (800 mg/kg QD, 400 mg/kg BID)		
Summary of Toxicokinetics: Day 1: MTD Phase (Mean ± SE, N=12)		

Dose (mg/kg)	800	
Sex	Male	Female
t_{max} (h)	0.5	0.5
C_{max} (ng/mL)	18.1 ± 3.73	205 ± 133
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	53.2 ± 5.68	361 ± 147

Table continues

Report Title: AZD1722: Oral Maximum Tolerated Dose and Dose Range-Finding Toxicity Study in CByB6F1 Hybrid Mice			**Report No.:** 0976DM		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)	
Summary of Toxicokinetics: Day 1 DRF Phase						
Daily Dose (mg/kg), BID[a]	100	200	400	100	200	400
Sex	Male			Female		
t_{max} (h)	0.5	1.5	0.5	0.5	0.5	1.5
C_{max} (ng/mL)	0.991 ± 0.0533	26.3[b] ± 20.1	7.75[b] ± 0.448	3.09 ± 1.15	32.0 ± 28.4	217 ± 206
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	13.7 ± 4.35	214[b] ± 46.6	76.1[b] ± 14.4	7.15 ± 1.93	163 ± 95.5	494 ± 393
Summary of Toxicokinetics: Day 7 DRF Phase						
Daily Dose (mg/kg), BID[a]	100	200	400	100	200	400
Sex	Male			Female		
t_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	3	0	0.5
C_{max} (ng/mL)	6.91 ± 6.28	4.13[b] ± 0.710	39.6 ± 31.9	98.4 ± 74.9	13.4[b] ± 12.2	9.43[b] ± 1.34
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	36.4 ± 23.1	9.27[b] ± 3.54	158 ± 114	372 ± 221	114[b] ± 73.9	53.9[b] ± 10.9
Data expressed as Mean ± SE, N=9/sex for tenapanor hydrochloride treated groups.						
Findings:	MTD Phase: There was no mortality observed during MTD phase at dose levels up to 400 mg/kg BID or 800 mg/kg (single dose) for 1 day only. Clinical signs were limited to transient instances of soft stool for one 400 mg/kg BID male, two 400 mg/kg BID females, and one 800 mg/kg (single dose) male on Day 2 (the day after administration). There were no apparent test article-related changes in body weight. DRF Phase: There was no mortality or notable clinical observations during the 7-day DRF phase of the study at dose levels up to 400 mg/kg BID. There were no apparent test article-related changes in mean body weight for test article-treated males and females as compared to controls during the 7-day study period. There were no apparent test article-related changes in hematology or clinical chemistry parameters as compared to control. There were no test article-related changes in organ weights or gross pathology findings. Conclusion: Oral administration of tenapanor hydrochloride for 7 days to CByB6F1 hybrid mice at doses of 100, 200, and 400 mg/kg BID was well tolerated in mice based on limited clinical signs, no apparent test article-related changes in body weight or clinical pathology parameters, and no gross findings. Therefore, the no observed adverse effect level (NOAEL) was 400 mg/kg BID (800 mg/kg/day) in males and females.					

N = number of animals; QD = Once daily

a: Doses were administered twice daily, 6 hours (± 1 hour) apart

b: Unexpected results were confirmed. Note: AUC reflects both doses (i.e., 24-h AUC)

11.2 AZD1722: 1-Month Oral Range-Finding Toxicity Study in CByB6F1 Hybrid Mice [0977[redacted]]

Report Title: AZD1722: 1-Month Oral Range-Finding Toxicity Study in CByB6F1 Hybrid Mice			**Report No.:** 0977[redacted]		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)		
Species/Strain: Mouse/CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates)			**Duration of Dosing:** 28 days, twice daily				
Initial Age: 9 weeks			**GLP Compliance:** Yes				
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			**Method of Administration:** Oral (gavage)				
NOAEL: 400 mg/kg BID (the maximum feasible dose)			**Vehicle/Formulation:** 1% Polysorbate 80, 1% DMSO in Milli-Q Water				
Toxicokinetics							
Daily Dose (mg/kg)		100		400		800	
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Day 1 (first dosing)	t_{max} (h)	1.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	C_{max} (ng/mL)	11.3 ± 11.0	19.3 ± 17.4	3.60 ± 0.872	8.58 ± 4.06	8.97 ± 2.30	16.2 ± 3.37
	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	35.9	61.1	21.8	46.9	82.2	90.1
Day 28 (last dosing)	t_{max} (h)	0.5	12	12	1.5	12	1.5
	C_{max} (ng/mL)	3.48 ± 0.945	5.67 ± 5.36	44.7 ± 22.2	35.3 ± 20.4	64.4 ± 56.6	61.0 ± 51.2
	AUC_{0-t} (ng·h/mL)	36.7	73.7	510	343	920	336

Table continues

Report Title: AZD1722: 1-Month Oral Range-Finding Toxicity Study in CByB6F1 Hybrid Mice			**Report No.:** 0977[redacted]				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)	
Findings in Treatment Period								
Daily Dose (mg/kg)	0		100		400		800	
Sex/Number of Animals	Male/10	Female/10	Male/10	Female/10	Male/10	Female/10	Male/10	Female/10
Number of Surviving Animals	10	10	10	10	10	10	10	10
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations: None								
Findings: Oral administration of Tenapanor hydrochloride to CByB6F1 hybrid (Tg rasH2 non-transgenic littermate) mice twice a day for up to 1 month at doses of 0, 50, 200, or 400 mg/kg BID was well tolerated up to a maximum feasible dose of 400 mg/kg BID in males and females. As there were no notable clinical observations, no apparent test article-related changes in body weight or clinical pathology parameters, and no test article-related gross findings or histopathology findings, the no observed adverse effect dose level for this study was 400 mg/kg BID in males and females. Overall, toxicokinetic interpretation was limited due to the high variability in results, which is likely due to high variability in absorption of tenapanor hydrochloride.								

N = number of animals

Mean values reported for t_{max} and AUC_{0-t} with mean ± standard error for C_{max} values; Tenapanor hydrochloride administered twice daily (BID) with second daily dose, approximately 6 hours after first daily dose; N = 3 per time point

12 がん原性試験：重要な試験

12.1 AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rat [20049785]

Report Title: AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rats					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley					**Report No.:** 20049785		
Duration of Dosing: 83 weeks (Group 4 males); 85 weeks (Group 2 males); 86 weeks (Group 1 and 3 males); 95 weeks (Group 1 to 4 females); once daily					**GLP Compliance:** Yes		
Initial Age: 7 weeks	**Method of Administration:** Oral (gavage)				**Duration of Post dose:** Not applicable		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 0.1% (v/v) Tween® 80 in Milli-Q water						
Basis for High-Dose Selection: The initial high-dose level was derived from dose-limiting pharmacology leading to tolerability issues at higher dose levels explored in the toxicology program							
No Observed Adverse Effect Level: There were no carcinogenic effects or statistically significant differences in survival. Soft and liquid stools and reductions in body weight gains/body weight losses prompted dose level reductions in the high-dose group on Day 86 and in the mid-dose group on Day 92. Fecal changes continued in all treated groups with overall reductions in mean body weights at 10/5 mg/kg/day in males and at ≥1 mg/kg/day in females. Gross and non-neoplastic microscopic pathology findings in the gastrointestinal tract (most pronounced in the cecum) were considered responsible for the higher incidences of found dead (vs. unscheduled euthanasia) in males at ≥1 mg/kg/day and females at ≥3/2 mg/kg/day.							
Daily Dose (mg/kg)	0		1		3/2[a]		10/5[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Toxicokinetics[b]								
Number of Animals:								
At Start	60	60	60	60	60	60	60	60
Died/Sacrificed Moribund	40	40	45	38	38	46	45	43
Terminal Sacrifice	20	20	15	22	22	14	15	17
Survival (%)	33.3	33.3	25.0	36.7	36.7	23.3	25.0	28.3
Body Weight (%)[c]								
Day 67	611.2 g	328.1 g	−2.1	−9.3***	−8.1***	−9.1***	−20.0***	−20.6***
Day 554	891.8 g	555.6 g	2.0	−16.6**	−2.6	−12.8	−7.1	−19.8***
Food Consumption (%)[c]								
Days 57/64 (g/animal/day)	34.9	23.8	−1.1	−3.7	−11.3***	−9.6*	−20.0***	−22.2***
Days 372/379 (g/animal/day)	34.4	24.4	−1.4	−11.4***	−4.6	−13.4***	−3.9	−13.2***

Table continues

Report Title: AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rats					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)	0		1		3/2[a]		10/5[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Clinical Observations[d]								
Soft Feces	7/4	0/0	6632/60	5263/60	7676/60	6676/60	7717/60	7175/60
Liquid Feces	0/0	0/0	298/53	381/52	427/57	496/58	282/43	492/56
Brown Fur Staining	37/11	14/7	1468/58	462/45	1776/60	372/39	1702/60	371/47
Brown Skin Staining	0/0	0/0	0/0	0/0	63/29	0/0	61/36	0/0
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Sodium	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of Animals with Neoplastic Lesions:								
Bone, Sternum								
Osteoblastoma (benign)	0	0	0	0	0	0	0	1
Brain								
Astrocytoma (mal)	0	0	0	0	0	0	1	1
Meningioma (mal)	1	0	0	0	0	0	1	0
Cervix								
Granular Cell Tumor (benign)	-	0	-	2	-	0	-	0
Endometrial Stromal Sarcoma (mal, 1º)	-	0	-	2	-	1	-	0
Schwannoma (mal, 1º)	-	0	-	1	-	0	-	0
Adrenal Gland								
Pheochromocytoma (benign)	3	0	2	1	1	0	1	2
Pheochromocytoma (mal)	1	1	0	0	1	0	0	0
Cortical Carcinoma (mal)	0	0	0	1	0	0	0	0
Cortical Adenoma (benign)	1	3	0	0	1	0	0	1
Mammary Gland								
Fibroadenoma (benign)	5	17	3	15	2	9	0	15
Adenoma (benign)	0	11	1	7	0	5	0	4
Adenocarcinoma (mal, 1º)	0	1	0	1	0	1	0	1
Carcinosarcoma (mal, 1º)	0	1	0	1	0	0	0	0

Table continues

Report Title: AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rats					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)	0		1		3/2[a]		10/5[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Parathyroid Gland								
Adenoma (benign)	0	1	0	1	1	1	0	0
Pituitary Gland								
Adenoma (benign)	27	49	21	46	31	40	24	31
Carcinoma (mal, 1º)	0	0	0	0	0	0	1	0
Prostate Gland								
Adenocarcinoma (mal, 1º)	0	-	0	-	0	-	1	-
Thyroid Gland								
Follicular Cell Adenoma (benign)	3	0	3	0	2	1	0	1
Follicular Cell Carcinoma (mal)	0	0	0	0	0	1	0	0
C-cell Carcinoma (mal, 1º)	0	1	0	0	0	0	0	0
C-cell Adenoma (benign)	5	7	4	8	3	2	4	3
Zymbal Gland								
Carcinoma (mal)	0	0	0	0	0	0	0	1
Heart								
Mesothelioma (mal, 1º)	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemagiosarcoma (mal)	0	0	0	0	0	0	0	1
Hemolymphoreticular Tissue								
Histiocytic Sarcoma (mal, 1º)	1	1	1	0	0	1	0	0
Leukemia (mal, 1º)	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymphoma (mal, 1º)	1	0	0	2	1	1	0	0
Kidney								
Adenoma (benign)	1	2	0	0	0	0	2	0
Tubular cell Adenoma (benign)	1	1	0	0	0	0	0	0
Tubular cell Carcinoma (mal)	0	1	0	0	0	0	0	0

Table continues

Report Title: AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rats					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)	0		1		3/2[a]		10/5[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Liver								
Hepatocellular Carcinoma (mal)	0	0	1	0	1	0	1	0
Hepatocellular Adenoma (benign)	1	0	1	2	0	1	0	0
Cholangiocarcinoma (mal)	0	0	0	0	0	1	1	0
Hemangiosarcoma (mal)	0	1	0	0	0	0	0	0
Lung								
Bronchioloalveolar Carcinoma (mal)	0	0	0	1	0	0	0	0
Squamous Cell Carcinoma (mal)	0	0	0	0	0	1	0	0
Mesenteric Lymph Node								
Hemangiosarcoma (mal)	0	0	1	0	1	0	0	0
Ovary								
Thecoma (mal)	-	1	-	0	-	0	-	0
Mesothelioma (mal, 1º)	-	0	-	0	-	0	-	1
Mixed Sex Cord Stromal Tumor (benign)	-	0	-	3	-	0	-	2
Pancreas								
Islet Cell Adenoma (benign)	5	3	4	1	7	0	2	2
Adenoma (benign)	0	0	0	0	1	1	1	0
Islet Cell Carcinoma (mal)	1	1	0	2	1	0	0	0
Carcinoma (mal)	0	0	0	0	1	0	0	0
Skin								
Papilloma (benign)	1	0	2	0	0	0	0	2
Fibrosarcoma (mal, 1º)	0	0	0	0	0	1	0	0
Fibroma (benign)	2	0	0	0	0	0	0	0
Basal Cell Tumor (benign)	0	1	0	0	0	0	0	1
Squamous Cell Carcinoma (mal)	3	0	0	0	0	0	0	0
Keratoacanthoma (benign)	2	0	3	0	1	0	1	0
Osteosarcoma (mal)	0	0	0	0	0	0	1	0
Schwannoma (mal)	0	0	1	0	0	0	0	1
Leiomyosarcoma (mal)	0	0	0	0	1	0	0	0

Table continues

Report Title: AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rats					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)	0		1		3/2[a]		10/5[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Spleen								
Hemangiosarcoma (mal)	0	0	1	1	0	0	0	0
Stomach								
Adenocarcinoma (mal)	0	0	0	0	0	0	1	0
Leiomyosarcoma (mal)	0	0	0	0	0	1	0	0
Papilloma (benign)	0	0	1	0	1	0	0	0
Squamous Cell Carcinoma (mal)	0	1	0	0	0	0	0	0
Tail								
Keratoacanthoma (benign)	1	0	1	0	0	0	0	0
Leiomyosarcoma (mal)	0	0	0	0	1	0	0	0
Urinary Bladder								
Transitional Cell Carcinoma (mal)	0	0	0	0	1	0	0	0
Uterus								
Leiomyosarcoma (mal)	-	1	-	0	-	0	-	0
Endometrial Stromal Polyp (benign)	-	1	-	4	-	0	-	2
Granular Cell Tumor (benign)	-	1	-	0	-	0	-	0
Vagina								
Granular Cell Tumor (benign)	-	7	-	4	-	3	-	2
Gross Pathology								
Number Examined	60	60	60	60	60	60	60	60
Stomach								
Dilatation	4	3	6	1	7	3	13	4
Duodenum								
Abnormal Content[e]	0	2	3	2	10	3	8	6
Dilatation	2	0	2	0	4	0	5	0
Jejunum								
Abnormal Content[e]	2	4	5	5	13	4	12	6
Dilatation	2	0	5	1	4	2	6	1

Table continues

Report Title: AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rats					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)	0		1		3/2[a]		10/5[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Ileum								
Abnormal Content[e]	4	4	4	7	16	4	13	7
Dilatation	2	0	9	2	7	3	10	4
Discoloration, Dark	0	0	1	0	1	0	2	0
Cecum								
Abnormal Content[e]	7	8	13	18	22	10	7	11
Dilatation	8	1	27	11	31	22	43	31
Discoloration or Focus, Dark	0	0	11	3	15	7	14	11
Perforation	0	0	0	0	0	0	0	3
Colon								
Abnormal Content[e]	6	4	14	11	24	10	10	12
Dilatation	3	0	2	3	2	0	7	4
Rectum								
Abnormal Content[e]	2	2	11	5	12	7	5	7
Lymph Node, Mesenteric								
Discoloration, Dark	1	0	5	1	3	1	3	0
Histopathology – Non-Neoplastic Lesions								
Number Examined	60	60	60	60	60	60	60	60
Jejunum (No. examined)	46	53	44	51	43	50	39	44
Hemorrhage	0	0	1	0	1	0	1	0
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	1	0	1	0
Inflammation, Mixed Cell	0	0	0	0	1	0	0	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	1	0	0	0

Table continues

Report Title: AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rats					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)	0		1		3/2[a]		10/5[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Ileum (No. examined)	47	53	47	56	45	51	44	42
Hemorrhage	0	0	4	0	3	0	5	1
Minimal	0	0	2	0	0	0	2	1
Mild	0	0	2	0	2	0	2	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, Mixed Cell	0	0	2	1	6	0	3	0
Minimal	0	0	0	0	1	0	1	0
Mild	0	0	2	1	3	0	2	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0
Marked	0	0	0	0	2	0	0	0
Cecum (No. examined)	45	54	46	53	51	51	50	53
Hemorrhage	0	0	13	4	16	10	19	17
Minimal	0	0	5	1	2	3	8	4
Mild	0	0	2	3	5	3	6	6
Moderate	0	0	3	0	2	2	2	6
Marked	0	0	3	0	6	1	2	0
Severe	0	0	0	0	1	1	1	1
Inflammation, Mixed Cell	0	1	11	4	18	8	17	18
Minimal	0	1	5	3	5	3	4	10
Mild	0	0	2	1	7	4	9	3
Moderate	0	0	3	0	2	0	4	4
Marked	0	0	1	0	3	1	0	1
Severe	0	0	0	0	1	0	0	0
Necrosis	0	0	0	0	0	0	1	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0

Table continues

Report Title: AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rats					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)	0		1		3/2[a]		10/5[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Cecum (No. examined)	45	54	46	53	51	51	50	53
Perforation	0	0	0	0	0	0	0	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Ulceration	0	0	0	0	2	0	0	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0
Marked	0	0	0	0	2	0	0	0
Colon (No. examined)	60	60	51	58	51	57	52	56
Hemorrhage	0	0	0	1	2	0	1	0
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	1	0
Inflammation, Mixed Cell	1	0	1	0	5	0	4	0
Minimal	1	0	1	0	2	0	2	0
Mild	0	0	0	0	1	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	2	0	1	0
Thrombosis	0	0	0	0	0	0	1	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	1

Table continues

Report Title: AZD1722: A 104-week Carcinogenicity Study by Oral Gavage in Rats					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)	0		1		3/2[a]		10/5[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Lymph Node, Mesenteric (No. examined)	60	59	60	60	60	60	59	60
Erythrocytosis, Medullary Sinus	3	2	10	3	11	7	13	10
Minimal	3	2	5	2	3	3	7	5
Mild	0	0	3	0	4	4	4	5
Moderate	0	0	1	1	2	0	1	0
Marked	0	0	1	0	2	0	1	0

"-" indicates the severity is not applicable due to absence of the finding in the group; * - $p \leq 0.05$; ** - $p \leq 0.01$; *** - $p \leq 0.001$(significantly different from the control group mean) (Dunnett's test). Secondary tumors are not included in organ/ summaries. mal = malignant; 1 = primary.

a: Beginning with Day 69 (Week 10), Group 4 (10 mg/kg/day) animals were placed on dosing holiday based on decreased body weight gains and body weight losses in combination with clinical signs. Following a 16-day dosing holiday, dosing resumed for Group 4 animals but at a dose level reduced to 5 mg/kg/day beginning on Day 86 (Week 13). The Group 3 (3 mg/kg/day) dose level was reduced to 2 mg/kg/day based on similar clinical findings and body weight trends observed at the high-dose level beginning on Day 92 (Week 14).

b: There was negligible absorption of the test article systemically (as expected for this test article), as demonstrated by the small number of quantifiable serum samples. Due to an insufficient number of quantifiable plasma sample concentrations, the toxicokinetic evaluation and the incurred sample re-analysis were not possible.

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

d: Data are presented as the Number of Observations/Number of Animals with the Finding.

e: Dark, green, mucoid, watery, gritty, and/or soft material.

12.2 A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice [RDX5791-TX-16]

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice		**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride (Tenapanor) and M1 (AZ13792925)
Species/Strain: Mice/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Hemizygous, CByB6F1 Wild-type		**Report No.:** RDX5791-TX-16
Duration of Dosing: minimum of 26 weeks		**GLP Compliance:** Yes
Initial Age: 8 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage	**Duration of Postdose:** Not applicable
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** For tenapanor hydrochloride: 0.1% Polysorbate 80, 1% DMSO in Milli-Q Water (TD) For AZ13792925: 0.1% Polysorbate 80 in Milli-Q Water (T)	
Basis for High-Dose Selection: The initial high-dose level was derived from dose-limiting pharmacology leading to tolerability issues at higher dose levels explored in the toxicology program.		
Experimental Groups: W = Milli-Q Water vehicle, Group 1; T = 0.1% Tween® 80 vehicle, Group 2; TD = 1% Tween® 80 & 1% DMSO vehicle, Group 3; AZ = AZ13792925 groups 4 (55 mg/kg/day) and 5 (165/110 mg/kg/day, reduced on Day 99); TP = Tenapanor hydrochloride groups 6 (Low dose), 7 (Mid dose) and 8 (High dose); PC = Positive Control (NMU in citrate-buffered saline (pH 4.5)), Group 9. Doses for Tenapanor hydrochloride: Males low dose 10 mg/kg/day, Mid dose 30 mg/kg/day, High dose 100 mg/kg/day; Females High dose 100 mg/kg/day, Mid dose 300 mg/kg/day, High dose 800 mg/kg/day.		
Conclusions: Oral gavage administration of AZ13792925 (the major metabolite of tenapanor) once daily at a low dose level of 55 or a high dose, 165 mg/kg/day (reduced to 110 mg/kg/day on Day 99) and tenapanor hydrochloride twice daily (approximately 6 hours apart) at dose levels of 10, 30, or 100 mg/kg for male and 100, 300, or 800 mg/kg for female CByB6F1/Tg rasH2 hemizygous mice for a minimum of 26 weeks did not result in any AZ13792925- or tenapanor hydrochloride-related gross pathology or histopathology (neoplastic or non-neoplastic) findings. No test article-related survival rate findings for males or females. Tenapanor hydrochloride and AZ13792925 were not carcinogenic in CByB6F1/Tg rasH2 hemizygous mice. Positive control group results indicated the assay was robust.		

Summary of Males Survival During Weeks 1 to 27

Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Daily Dose (mg/kg)	0	0	0	55	165/110†	10	30	100	75
Number of Male Mice	25	25	25	25	25	25	25	25	15
Number of Deaths Prior to Termination	1	0	1	1	0	0	1	1	13
Number of Survivors at Termination	24	25	24	24	25	25	24	24	2
Percent Survival (%)	96	100	96	96	100	100	96	96	13

Table continues

†: Dose level was reduced to 110 mg/kg/day on Day 99 in discussion with FDA.

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice					**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride (Tenapanor) and M1 (AZ13792925) (Continued)				
Summary of Females Survival During Weeks 1 to 27									
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Daily Dose (mg/kg)	0	0	0	55	165/110†	100	300	800	75
Number of Female Mice	25	25	25	25	25	25	25	25	15
Number of Deaths Prior to Termination	0	1	2	0	2	1	1	1	12
Number of Survivors at Termination	25	24	23	25	23	24	24	24	3
Percent Survival (%)	100	96	92	100	92	96	96	96	20
†Dose level was reduced to 110 mg/kg/day on Day 99 in discussion with FDA.									
Mortality Incidence and Causes of Death (Found Dead and Unscheduled Euthanasia) Based on Microscopic Findings, Males									
Number of Unscheduled Deaths	1	0	1	1	0	0	1	1	13
Cause of Death:									
Accident	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Lymphoma, Malignant, Hemolymphoreticular System	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Hemangiosarcoma, Spleen	1	-	-	-	-	-	-	1	-
Hemangiosaroma, Subcutis	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Schwannoma, Malignant, Skin	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Squamous Cell Carcinoma, Esophagus	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Squamous Cell Carcinoma, Body Cavity, Oral	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Undetermined	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Table continues

†: Dose level was reduced to 110 mg/kg/day on Day 99 in discussion with FDA.

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice					**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride (Tenapanor) and M1 (AZ13792925) (Continued)				
Mortality Incidence and Causes of Death (Found Dead and Unscheduled Euthanasia) Based on Microscopic Findings, Females									
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Daily Dose (mg/kg)	0	0	0	55	165/110†	100	300	800	75
Number of Animals	25	25	25	25	25	25	25	25	15
Number of Unscheduled Deaths	0	1	2	0	2	1	1	1	12
Cause of Death:									
Accident	-	-	1	-	1	-	-	-	-
Ameloblastoma, Malignant, Tooth	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Lymphoma, Malignant, Hemolymphoreticular System	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Mesothelioma, Malignant, Heart	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Mesothelioma, Malignant, Thymus	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Hemangiosarcoma, Cervix	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Undetermined	-	1	-	-	-	-	1	1	-
Male Body Weights (g) (mean ± standard deviation)									
Day 22	26.02 ± 1.61	27.13 ± 1.96	26.05 ± 1.64	26.52 ± 2.01	25.67 ± 2.17[f]	26.27 ± 1.27	26.90 ± 2.40	25.23 ± 1.78	24.07 ± 1.50[c]
Day 99	28.46 ± 2.22	30.93 ± 3.23[a]	27.71 ± 2.43	29.58 ± 3.38	26.98 ± 2.35[e]	27.76 ± 1.15	27.88 ± 2.08	26.65 ± 1.19	27.55 ± 2.92
Day 182	29.73 ± 3.28	33.34 ± 4.06[b]	29.66 ± 3.27	31.25 ± 3.66	29.08 ± 3.38[d]	29.40 ± 1.60	29.10 ± 2.28	27.70 ± 1.23[g]	29.05 ± 1.20[z]

Table continues

†: Dose level was reduced to 110 mg/kg/day on Day 99 in discussion with FDA.
a: p≤0.05, b: p≤0.01 (Significantly different from control group 1 value) (Wilcoxon)
c: p≤0.01 (Significantly different from control group 1 value) (T-test)
d: p≤0.01, e: p≤0.001 (Significantly different from control group 2 value) (Wilcoxon)
f: p≤0.05 (Significantly different from control group 2 value) (T-test)
g: p≤0.05 (Significantly different from control group 3 value) (Wilcoxon)
z: Group excluded from statistical analysis (N<3)

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice					**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride and M1 (AZ13792925) (Continued)				
Female Body Weights (g) (mean ± standard deviation)									
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Daily Dose (mg/kg), Female	0	0	0	55	165/110†	100	300	800	75
Day 22	21.14± 1.02	21.01± 2.18	20.81 ± 0.80	21.10 ± 1.34	20.76 ± 1.78	21.28 ± 1.07	21.25 ± 1.44	21.29 ± 1.37	20.69 ± 0.62
Day 99	22.68 ± 1.36	23.92 ± 1.29[b]	22.09 ± 1.37	23.23 ± 1.13	22.13 ± 1.18[d]	23.54± 1.13[f]	22.57 ± 1.48	21.98 ± 1.12	24.50 ± 1.22[c]
Day 182	24.12 ± 1.67	25.10 ± 1.54[a]	23.06 ± 1.24[a]	24.28 ± 1.22	23.36 ± 1.17[d]	24.21 ± 1.16[e]	23.28 ± 1.68	22.81 ± 1.10	25.57 ± 1.10

Table continues

†: Dose level was reduced to 110 mg/kg/day on Day 99 in discussion with FDA.
a: p≤0.05, b: p≤0.01, c: p≤0.001 (Significantly different from control group 1 value) (T-test)
d: p≤0.001 (Significantly different from control group 2 value) (T-test)
e: p≤0.05, f: p≤0.001 (Significantly different from control group 3 value) (T-test)

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice							**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride and M1 (AZ13792925) (Continued)		
Male Food Consumption (g/animal/day) (mean ± standard deviation)									
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Daily Dose (mg/kg)	0	0	0	55	165/110†	10	30	100	75
Days 15/22	6.03 ± 1.88	6.61± 2.04	5.98 ± 2.24	5.18 ± 1.49[b]	5.35 ± 1.96[b]	6.24 ± 2.10	5.14 ± 1.17	4.24 ± 0.75[f]	7.49 ± 2.62
Days 92/99	5.05 ± 0.58	5.36 ± 1.09	5.09 ± 0.99	5.11 ± 0.74	4.80 ± 1.29	5.42 ± 0.97	5.27 ± 0.56	4.63 ± 0.63	5.42 ± 1.43
Days 176/182	5.11 ± 0.67	5.53 ± 0.88	4.83 ± 0.62	5.26 ± 1.32	5.37 ± 0.97	6.29 ± 0.94[h]	5.70 ± 0.94[g]	4.90 ± 0.61	5.50 ± 0.42[z]
Female Food Consumption (g/animal/day) (mean ± standard deviation)									
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Dose (mg/kg/day)	0	0	0	55	165/110†	100	300	800	75
Days 15/22	7.04 ± 2.16	7.57 ± 1.94	6.26 ± 2.61	6.17 ± 2.48	5.10 ± 1.52[c]	5.55 ± 1.44	4.52 ± 0.72[e]	4.95 ± 0.94	5.75 ± 2.18
Days 92/99	5.48 ± 1.46	5.91 ± 1.82	5.82 ± 2.21	6.05 ± 1.77	4.53 ± 0.75[b]	5.77 ± 1.26	4.50 ± 1.60	5.21 ± 1.35	8.27 ± 2.40[a]
Days 176/182	5.21 ± 1.10	6.01 ± 1.34	4.52 ± 1.25	5.14 ± 1.02[d]	5.59 ± 1.57	5.29 ± 0.78	5.07 ± 0.69	5.27 ± 1.38	6.03 ± 1.10

Table continues

†: Dose level was reduced to 110 mg/kg/day on Day 99 in discussion with FDA.
a: p≤0.05 (Significantly different from control group 1 value) (Wilcoxon)
b: p≤0.01, c: p≤0.001 (Significantly different from control group 2 value) (Wilcoxon)
d: p≤0.05 (Significantly different from control group 2 value) (T-test)
e: p≤0.01, f: p≤0.001 (Significantly different from control group 3 value) (Wilcoxon)
g: p≤0.01, h: p≤0.001 (Significantly different from control group 3 value) (T-test)
z: Group excluded from statistical analysis (N < 3)

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor hydrochloride and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice							**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride and M1 (AZ13792925) (Continued)		
Clinical Observations, Males									
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Daily Dose (mg/kg)	0	0	0	55	165/110†	10	30	100	75
Number of Animals	25	25	25	25	25	25	25	25	15
Dehydration (suspected)	2	2	3	5	7	5	5	6	13
Hunched Posture	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Thin Appearance	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Clinical Observations, Females									
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Daily Dose (mg/kg)	0	0	0	55	165/110†	100	300	800	75
Number of Animals	25	25	25	25	25	25	25	25	15
Dehydration (suspected)	1	1	1	8	3	4	1	7	10
Hunched Posture	0	0	1	0	1	1	0	1	12
Thin Appearance	0	0	0	0	2	0	0	2	6
Hematology: No apparent test article (Tenapanor hydrochloride or AZ13792925) -related changes in male or female hematology parameters									

Table continues

†: Dose level was reduced to 110 mg/kg/day on Day 99 in discussion with FDA.

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice				**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride and M1 (AZ13792925) (Continued)		
Toxicokinetics of Tenapanor in Plasma Following Tenapanor Hydrochloride Administration						
Sex	Male			Female		
Daily Dose (mg/kg/day)	10	30	100	100	300	800
Parameter (Units)	**Day 1**					
$AUC_{0\text{-}6}$ (ng·h/mL)	NC	NC	19.2[a]	40.5	79.0	142
AUC_{last} (ng·h/mL)	NC	NC	11.6	105	343	204
C_{max} (ng/mL)	NC	NC	14.7	12.3	37.1	64.3
t_{max} (h)	NC	NC	0.5	4	2	0.5
t_{last} (h)	NC	NC	2	24	24	24
	Day 180					
$AUC_{0\text{-}6}$ (ng·h/mL)	NC	5.98	2.85	8.02	28.9	94.9
AUC_{last} (ng·h/mL)	NC	7.54	21.9	11.1	53.6	913
C_{max} (ng/mL)	NC	5.17	1.46	1.98	7.19	83.7
t_{max} (h)	NC	1	24	4	1	8
t_{last} (h)	NC	8	24	8	24	24
Accumulation Ratio	NC	NC	0.148	0.198	0.367	0.669
Toxicokinetics of AZ13792925 (Tenapanor Metabolite M1) in Plasma Following Tenapanor Hydrochloride Administration						
Parameter (Units)	**Day 1**					
$AUC_{0\text{-}6}$ (ng·h/mL)	1.11	3.60	5.74	11.9	16.3	23.5
AUC_{last} (ng·h/mL)	1.39	4.13	7.00	39.9	68.7	80.0
C_{max} (ng/mL)	1.17	1.70	2.57	4.57	5.36	6.27
t_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1
t_{last} (h)	8	8	8	24	24	24
	Day 180					
$AUC_{0\text{-}6}$ (ng·h/mL)	1.79	5.04	9.85	13.7	27.9	65.2
AUC_{last} (ng·h/mL)	2.79	7.34	14.8	20.9	35.5	212
C_{max} (ng/mL)	0.913	1.61	3.85	4.41	8.83	14.4
t_{max} (h)	1	0.5	0.5	8	1	0.5
t_{last} (h)	8	8	8	8	8	24
Accumulation Ratio	1.61	1.40	1.72	1.15	1.72	2.78

Table continues

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice			**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride and M1 (AZ13792925) (Continued)	
Toxicokinetics of AZ13792925 in Plasma Following AZ13792925 Administration				
Sex	Male		Female	
Daily Dose (mg/kg/day)	55	165/110†	55	165/110†
Parameter	**Day 1**			
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	16700	144000	45200	290000
AUC_{inf} (ng·h/mL)	16700	146000	45200	310000
C_{max} (ng/mL)	7100	22800	12600	40400
t_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	0.5
$t_{1/2}$ (h)	1.75	4.24	1.67	6.40
	Day 180			
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	31200	89500	59100	197000
AUC_{inf} (ng·h/mL)	31200	89500	59100	197000
C_{max} (ng/mL)	11100	26600	15500	31200
t_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	0.5
$t_{1/2}$ (h)	1.88	1.88	1.99	1.74
Accumulation Ratio	1.86	NC	1.31	NC

Table continues

NC = not calculable due to limited data in the terminal elimination phase; $t_{1/2}$ = half-life; t_{last} = time of last concentration
†: Dose level was reduced to 110 mg/kg/day on Day 99 in discussion with FDA.
a: Denotes an extrapolated value as there were no measurable time points up to 6 hours following the first dose.

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice								**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride and M1 (AZ13792925) (Continued)	
Tumor Summary, Male									
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Daily Dose (mg/kg)	0	0	0	55	165/110†	10	30	100	75
Number of Animals Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	15
Bronchioloaveolar Adenoma, Lung	4	2	1	2	2	2	2	1	2
Hemangiosarcoma, Spleen	3	-	1	2	-	-	-	1	1
Hemangiosarcoma, Subcutis	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Lymphoma,Malignant, Hemolymphoreticular System	-	1	-	-	-	-	-	-	10
Papilloma, Squamous Cell, Stomach	-	-	-	1	1	-	-	-	13
Papilloma, Squamous Cell, Skin	-	-	-	-	-	-	1	-	5
Schwannoma, Malignant, Skin	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Squamous Cell Carcinoma, Body C_{av}ity, Oral	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Squamous Cell Carcinoma,	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Thymoma, Malignant, Thymus	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Table continues

Dash (-) indicates absence of finding in group.
W = Milli-Q Water
T = 0.1% Tween® 80
TD = 1% Tween® 80 & 1% DMSO
AZ = AZ13792925
TP = Tenapanor hydrochloride
PC = Positive Control (NMU).

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice								**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride and M1 (AZ13792925) (Continued)	
Tumor Summary, Female									
Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Test Material	W	T	TD	AZ	AZ	TP	TP	TP	PC
Daily Dose (mg/kg)	0	0	0	55	165/110†	100	300	800	75
Number of Animals Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	15
Adenoma, Harderian Gland	-	1	-	-	-	1	-	-	1
Ameloblastoma, Tooth	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Bronchioloaveolar Adenoma, Lung	1	-	3	2	1	1	-	1	2
Bronchioloaveolar Carcinoma, Lung	-	-	-	-	-	1	1	-	-
Hemangiosarcoma, Cervix	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Hemangiosarcoma, Spleen	-	1	2	1	1	1	-	-	-
Hemangiosarcoma, Uterus	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Lymphoma,Malignnt, Hemolymphoreticular System	-	-	-	-	1	-	-	-	12
Mesothelioma, Malignant, Heart	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Mesothelioma, Malignant, Thymus	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Papilloma, Squamous Cell, Stomach	1	-	-	-	-	-	-	-	11
Papilloma, Squamous Cell, Skin	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Sarcoma, Not Otherwise Specified, Malignant, Duodenum	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Schwannoma, Malignant, Subcutis	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Squamous Cell Carcinoma, Stomach	-	-	-	-	-	-	-	-	4
Thymoma, Malignant, Thymus	-	-	-	-	-	-	-	1	1

Table continues

Dash (-) indicates absence of finding in group.
W = Milli-Q Water
T = 0.1% Tween® 80
TD = 1% Tween® 80 & 1% DMSO
AZ = AZ13792925
TP = Tenapanor hydrochloride
PC = Positive Control (NMU).

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Tenapanor and AZ13792925 by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice										**Test Articles:** Tenapanor hydrochloride and M1 (AZ13792925) (Continued)
Statistical Analysis of Survival										
Sex	**Day**	**Kaplan-Meier Estimates (%) and p-values**								
		Milli-Q Water	0.1% Tween® 80	1% Tween® 80, 1% DMSO	AZ13792925 55 mg/kg/day	AZ13792925 165/110 mg/kg/day	Tenapanor hydrochloride 10 mg/kg/day	Tenapanor hydrochloride 30 mg/kg/day	Tenapanor hydrochloride 100 mg/kg/day	Over-all
Male	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-
	End of Study	96	100	100	96	100	100	96	96	-
	p-value	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0.7738
Sex	Day	Milli-Q Water	0.1% Tween® 80	1% Tween® 80, 1% DMSO	AZ13792925 55 mg/kg/day	AZ13792925 165/110 mg/kg/day	Tenapanor hydrochloride 100 mg/kg/day	Tenapanor hydrochloride 300 mg/kg/day	Tenapanor hydrochloride 800 mg/kg/day	Over-all
Female	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-
	End of Study	100	96	96	100	96	96	96	96	-
	p-value	-	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0.9564

13 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

13.1 AZD1722: Oral Dose Range-Finding Toxicity Study in the Non-Pregnant Rabbit [0333[redacted]]

Report Title: AZD1722: Oral Dose Range-Finding Toxicity Study in the Non-Pregnant Rabbit: Bioanalysis and Toxicokinetic Evaluation	**Report No.:** 0333[redacted]	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White	**Duration of Dosing:** 13 days	
Daily Dose as Drug Substance: 45 mg/kg/day	**GLP Compliance:** No	
N/Sex/Group: 3/females/group	**Method of Administration:** Oral (gavage)	
Vehicle/Formulation: 0.1% (v/v) Tween® 80 (Polysorbate 80) in Milli-Q Water		
Design: Plasma samples were taken for validation of LC-MS/MS method and analysis of toxicokinetics of 45 mg/kg AZD1722 and M1 (AZ13792925) in female New Zealand white rabbits following single and repeated oral gavage administration of tenapanor hydrochloride for 13 days.		
Analyte: AZD1722, AZ13792925		
Additional Information: All tenapanor concentrations were below the limit of quantification and therefore no TK evaluation could be conducted for plasma tenapanor levels.		

Summary of TK Results of AZ13792925 in Female Rabbits Following Oral Administration of AZD1722

Dose Level (mg/kg/day)	45	
Sex	Female	
Day	1	13
Median t_{max} (range) (h)	4 (2, 4.1)	2 (2, 2)
Mean C_{max} (SD) (ng/mL)	7.43 (2.07)	8.88 (2.77)
Mean AUC_{0-t} (SD) (ng·h/mL)	62.9 (9.98)	85.2 (39.4)

13.2 Oral Dose Range-Finding Studies in the Pregnant Rats and Rabbits (RDX5791-TX-12, RDX5791-TX-13)

Non-Pivotal Studies					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride	
Species/ Strain	**Method of Administration (vehicle/formulation)**	**Dosing Period**	**Doses (mg/kg)**	**No. per Group**	**Findings**	**Report No.**
Rat/Sprague Dawley	Oral, gavage in 0.1%Tween® 80[w/v] in deionized water vehicle	GD6-17	0, 1, 3, 10, 30	N = 8	Intrauterine growth and survival at all dosage levels tested were similar to the control group values. In addition, there were no fetal external malformations or developmental variations noted at any dosage level. Based on increased incidences of the pharmacological effects (diarrhea and soft stool) without further evidence of toxicity, dosage levels of 1, 10 and 30 mg/kg/day were selected for the definitive embryo/fetal development study of tenapanor hydrochloride administered orally by gavage to bred Sprague Dawley rats.	RDX5791-TX-12
Rabbit/New Zealand White [Hra:(NZW)SPF]	Oral, gavage in 0.1% Tween® 80 [w/v] in deionized water vehicle	GD7-20	0, 3, 10, 30, 100, and 300	N = 6	Slight mean maternal body weight losses and lower mean body weight gains, reduced mean maternal food consumption, and increased incidences of excreta-related clinical observations (due to known pharmacology of the test article) were noted in maternal animals administered tenapanor hydrochloride at dosage levels of 100 and 300 mg/kg/day. In addition, lower mean fetal body weights were noted in the 30, 100, and 300 mg/kg/day groups. Based upon these results, dosage levels of 5, 15, and 45 mg/kg/day were selected for a definitive embryo/fetal development study of tenapanor hydrochloride administered orally by gavage to time-mated New Zealand White rabbits.	RDX5791-TX-13

13.3 Zebrafish Developmental Toxicity Assay (ZEDTA) Report [Batch 23]

Report Title: Zebrafish Developmental Toxicity Assay (ZEDTA) Report	**Test Article:** Tenapanor and M1 (AZ13792925)
Test for Induction of: assessment of potential for teratogenicity in zebrafish embryos	**Report No.:** Batch 23
Species / Strain: Zebrafish/Danio rerio	**GLP Compliant:** No.
No. of Independent Assays: 2 dose group	**No. of Replicate Cultures:** 2
Additional Information	Exposure concentrations 0, 0.1, 1, 10 and 100 µmol/L

Summary of Assay Findings

Compound	Replicate 1				Altered Dose Range	Replicate 2				Final Classification
	LC_{25}	LOAEL	NOAEL	Ratio		LC_{25}	LOEC	NOAEL	Ratio	
Tenapanor	>100	>100	100	UND	No	>100	>100	100	UND	Non-Teratogenic
AZ13792925	>100	>100	100	UND	No	>100	>100	100	UND	Non-Teratogenic

Compound	Precipitation	Concentration per Embryo (µmol/L)	Uptake as %	Stability (Day 5, as % of Day 0)
		Dosing Concentration at 100 µmol/L		
Tenapanor	Yes (100 µmol/L)	94.2827	94.3	1.2
AZ13792925	No	53.9376	47.2	114

Additional Information:

Tenapanor was soluble in DMSO but formed a precipitate at concentrations ≥100 µmol/L in embryo media; had a low stability over the 5 days of exposure. Tenapanor was determined to be present within the embryo/larvae at 94% after a 24-hour exposure. Tenapanor did not induce any significant malformations in either replicate. Due to the absence of lethality or significant effects observed, tenapanor was classified as non-teratogenic.

AZ13792925 was soluble in both DMSO and embryo media and was shown to be stable over the 5 days of exposure. AZ13792925 was determined to be present within the embryo/larvae at 47% after a 24-hour exposure and did not induce any significant malformations in either replicate. Due to the absence of lethality or significant effects observed, AZ13792925 was classified as non-teratogenic.

14 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期発生に関する試験（重要な試験）

14.1 AZD1722: Oral Fertility and Early Embryonic Development Study in the Female Mouse [0967[redacted]]

Report Title: AZD1722: Oral Fertility and Early Embryonic Development Study in the Female Mouse			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)	
Species/Strain; Mouse/Crl:CD-1 (ICR)		**Duration of Dosing:** 20 days	**Report No.:** 0967[redacted]	
Initial Age: 9-10 Weeks		**Day of Mating:** [redacted] 20[redacted]	**GLP Compliant:** Yes	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (Day 0)		**Vehicle/Formulation:** 0.1% polysorbate 80 in Milli-Q Water	**Method of Administration:** oral (gavage)	
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg/day				
Daily Dose (mg/kg)		0	10	50
Number of Animals		24	24	24
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0
Clinical Observations:				
Scab on Dorsal Neck		0	1	1
Lesion on Tail		0	1	0
Body Hunched, Dark Eyes, Piloerection and Rolling Gait		0	1	0
Animal Gave Birth (full term)		0	1	0
Sparse Hair		0	0	1
Bent Tail		0	0	1
Body Weights (g)	Day 0	28.8 ± 1.5	29.6 ± 2.6	29.9 ± 1.6
	Day 7	28.6 ± 1.3	30.1 ± 2.0[b]	30.9 ± 1.8[c]
	Day 14	29.5 ± 1.7	30.2 ± 2.0	30.9 ± 1.6[a]
	Gestation Day 1	28.5 ± 1.2	29.8 ± 1.9[a]	30.6 ± 2.1[c]
	Gestation Day 6	31.2 ± 1.3	33.3 ± 2.1[c]	33.6 ± 2.1[c]
	Gestation Day 12	40.2 ± 2.5	40.6 ± 3.7	42.6 ± 3.6[a]
Food Consumption (g/animal/day)	Day 0	4.8 ±0.2	4.9 ± 0.4	5.1 ± 0.4
	Day 7	4.7 ± 0.2	4.7 ± 0.4	5.2 ± 0.5[a]
	Day 14	4.8 ± 0.3	5.1 ± 0.5	5.3 ± 0.4
	Gestation Day 1	4.8 ± 1.0	5.6 ± 1.0	5.5 ± 1.0
	Gestation Day 6	6.2 ± 1.8	6.1 ± 1.6	6.8 ± 1.4
	Gestation Day 12	6.5 ± 1.1	6.4 ± 1.2	7.2 ± 1.1

Table continues

Report Title: AZD1722: Oral Fertility and Early Embryonic Development Study in the Female Mouse		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)	
Necropsy			
Placentae Fused	2	0	1
Discoloration on Tail	0	1	0
Tail Bent	0	0	1
Mating Performance and Fertility Indices			
Number of Nights to Positive Mating Sign	**Daily Dose (mg/kg)**		
	0	10	50
	Number of animals (number that did not become pregnant)		
1	7 (2)	7 (1)	3
2	2	5	3
3	10 (1)	7	14
4	3	4	3
5	0	1	0
8	1	0	1
No Clear Indication of Mating	1	0	0
Median Number of Nights to Positive Mating Signs	3	2.5	3
Number Passing One Estrus	0	2	0
Number of Females Paired	24	24	24
Number Pregnant	21	23	24
Female Fertility Index (%)	88	96	100

Table continues

Report Title: AZD1722: Oral Fertility and Early Embryonic Development Study in the Female Mouse	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722) (Continued)		
Group Pregnancy Performance			
Number of Nights to Positive Mating Sign	**Daily Dose (mg/kg)**		
	0	10	50
Number of Animals Paired for Mating	24	24	24
Number Pregnant	21	23	24
Number of Premature Decedents	0	0	0
Number Pregnant at Necropsy	21	23[d]	24
Conception Rate as %	88	96	100
Total Number of Implants	286	314	334
Post-Implantation Loss as %	4	7	4
Total Live Implants (%)	275 (96)	292 (93)	321 (96)
Total Dead Implants (%)	11 (4)	22 (7)	13 (4)
Total Early Embryonic Deaths (%)	11 (4)	22 (7)	13 (4)
Total Late Embryonic Deaths (%)	0	0	0
Mean Implants	13.6 ± 2.1	14.3 ± 2.4	13.9 ± 3.4
Mean Live Implants	13.1 ± 2.4	13.3 ± 2.8	13.4 ± 3.7
Mean Dead Implants	0.5 ± 0.9	1.0 ± 1.2	0.5 ± 1.1
Mean Early Embryonic Deaths	0.5 ± 0.9	1.0 ± 1.2	0.5 ± 1.1
Mean Late Embryonic Deaths	0	0	0

a: $p < 0.05$, b: $p < 0.01$, c: $p < 0.001$ (Significantly different from vehicle control group 1) (z tests).
d: Includes animal that gave birth to 7 live pups; excluded from items in above table after 'Conception rate as %.' Means are given ± standard deviation

14.2 A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of AZD1722 in Sprague Dawley Rats with Male Fertility Evaluation [[redacted]-775030]

Report Title: A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of AZD1722 in Sprague Dawley Rats with Male Fertility Evaluation		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (AZD1722)
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 70 days prior to dosing and through mating period	**Report No.:** [redacted]-775030
Initial Age: 7 Weeks (treated males and females), 12 weeks (untreated females)	**Day of Mating:** [redacted]	**GLP compliant:** Yes
Date of First Dose: [redacted]	**Vehicle/Formulation:** 0.1% Tween® 80 [w/v] in deionized water	**Method of Administration:** Oral (gavage)
Treatment: Once daily tenapanor hydrochloride at 0, 1, 3, or 10 mg/kg		
Additional Information: The fertility assessment was made as part of the 6-month oral gavage toxicity study. Toxicokinetic and general toxicology findings are provided in Table 2.6.7.7.2.3.		
No Observed Adverse Effect Level: Based on the absence of test article-related effects on reproductive endpoints and early embryonic development, the NOAEL for male reproductive toxicity and early embryonic toxicity was 10 mg/kg/day, the highest dosage level evaluated.		

Number of Animals

Daily Dose (mg/kg)	0	1	3	10
Number of Male Animals	20	20	20	20
Died Animals	1	0	0	2

Results of Male Reproductive Performance

Parameter	Dosage Level (mg/kg/day)				WIL Historic Control Mean (Range)
	0	1	3	10	
Male Mating Index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	97.9 (88.0-100.0)
Male Fertility Index (%)	100.0	100.0	100.0	94.7	94.7 (84.0-100.0)
Male Copulation Index (%)	100.0	100.0	100.0	94.7	96.9 (88.0-100.0)
Pre-Coital Interval (days)	2.5	3.0	2.6	2.7	2.9 (1.8-4.4)

15 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）

15.1 An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rats [RDX5791-TX-14]

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rats			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Method of Administration:** Oral (gavage)		**Report No.:** RDX5791-TX-14	
Initial Age at First Dose: 14 weeks	**Duration of Dosing:** 12 days, once daily from Gestation Day 6 to 17		**GLP Compliant:** Yes	
Vehicle/Formulation: 0.1% Tween® 80 [w/v] in deionized water		**NOAEL:** For maternal toxicity <1 mg/kg/day; For embryo/fetal toxicity 1 mg/kg/day		
Daily Dose (mg/kg)		1	10	30
Number of Dams per Time Point (h)		4	4	4
Plasma tenapanor concentration, Gestation Day 6 (ng/mL)	0	BLQ	BLQ	BLQ
	1	BLQ	BLQ	BLQ
	2	BLQ	BLQ	2.92 [a]
	4	BLQ	BLQ	BLQ
	8	BLQ	4.84[a]	8.17†[2]
	24	BLQ	BLQ	0.622 [a]
Plasma tenapanor concentration, Gestation Day 17 (ng/mL)	0	BLQ	NA	NA
	1	3.75[a]	NA	NA
	2	BLQ	NA	NA
	4	1.20 [a]	NA	NA
	8	BLQ	NA	NA
	24	BLQ	NA	NA

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)	
Findings on Dams					
Daily Dose (mg/kg)		0	1	10	30
Number of Dams		25	25	25	25
Died or Euthanized		0	0	25	25
Total Resorptions		0	1 (4.0%)	0	0
Clinical Observations (Dams)					
Excreta	Diarrhea	0	22	25	25
	Soft stool	0	25	18	21
	Decreased defecation	0	0	5	3
Body/Integument: Wet brown material at base of tail		0	2	16	19
Body Weight (g)[b]	GD 0	263 ± 15.6	263 ± 13.3	263 ±14.0	263 ± 13.1
	GD 6	294 ± 20.5	291 ± 13.6 (−1.0%)	293 ± 15.6 (−0.3%)	297 ± 18.1 (+1.0%)
	GD 16	350 ± 25.1	330 ± 26.1* (−5.7%)	271 ± 44.0** (−22.6%)	234 ± 41.1 ** (−33.1%)
Food Consumption (g/rat/day) [b]	GD 0-6	22 ± 2.2	22 ± 1.7	22 ± 2.0	23 ± 2.4
	GD 6-7	24 ± 3.3	13 ± 3.7**	7 ± 2.9**	7 ± 3.5**
	GD 12-13	25 ± 3.3	22 ± 4.1	9 ± 8.1**	6 ± 5.5**

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rats			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)	
Necropsy				
Daily Dose (mg/kg)	0	1	10	30
Number of Dams Examined	25	25	0	3
No Significant Changes Observed	24	23	0	0
Nongravid	1	0	0	0
Cecum Distended	0	0	0	1
Skin, Yellow Matting	0	0	0	2
Euthanized in Extremis	0	0	0	1
Skin, Dark Red Matting	0	0	0	1
Thymus, Small	0	0	0	2
Found Dead	0	0	0	2
Placentae Enlarged	0	2	0	0
Number of Fetuses	370	357	NA	NA
Corpora Lutea[b]	17.5 ± 3.15	17.0 ± 2.74	NA	NA
Implantation Sites[b]	16.3 ± 2.59	15.3 ± 3.55	NA	NA
Viable Fetuses (%)[b]	95.2 ±5.67	90.0 ±19.78	NA	NA
Dead Fetuses (%)	0	0	NA	NA
Total Resorptions (%)[b]	4.8 ±5.67	10.0 ±19.78	NA	NA
Pre-Implantation Loss (%)[b]	6.2 ±10.23	11.0 ± 19.22	NA	NA
Post-Implantation Loss (%)[b]	4.8 ± 5.67	10.0 ± 19.78	NA	NA
Sex Ratio (Male/Total, %) [b]	49.3 ± 15.05	51.5 ± 12.59	NA	NA
Mean Fetal Weight (g) - Male/Female	3.8/3.6	3.7/3.6	NA	NA

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rats			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)	
Fetal and Placental Abnormalities				
Number Examined, Fetuses (Litters)	370 (24)	357 (24)	No dams survived to the scheduled necropsy	
Number of Fetuses with Malformations (Litters)	3 (2)	1 (1)	NA	NA
External	1 (1)	0 (0)	NA	NA
Soft Tissue	1 (1)	0 (0)	NA	NA
Skeletal	1 (1)	1 (1)	NA	NA
Number of Fetuses Examined Externally (Litters)	370 (24)	357 (24)	NA	NA
Omphalocele	1 (1)	0 (0)	NA	NA
Number of Fetuses Examined Viscerally (Litters)	370 (24)	357 (24)	NA	NA
Malpositioned Vessel	1 (1)	0 (0)	NA	NA
Number of Fetuses Examined Skeletally (Litters)	370 (24)	357 (24)	NA	NA
Sternebrae Fused	1 (1)	0 (0)	NA	NA
Scapula(e) Misshapen	1 (1)	0 (0)	NA	NA
Sternebra(e) Malaligned	0 (0)	1 (1)	NA	NA
Summary of Fetuses and Litters with Variations				
Number of Fetuses (litters) Examined	370 (24)	357 (24)	No dams survived to the scheduled necropsy	
External Variations	0 (0)	0 (0)	NA	NA
Visceral Variations				
Liver, Accessory Lobule(s)	1 (1)	0 (0)	NA	NA
Renal Papilla(e) Not Developed/Distended Ureter	4 (2)	0 (0)	NA	NA
Skeletal Variations				
14th Rudimentary Rib	46 (14)	36 (12)	NA	NA
Bent Rib(s)	3 (2)	2 (2)	NA	NA
Hyoid Unossified	4 (2)	2 (1)	NA	NA
Sternebra(e) #5 and/or #6 Unossified	9 (4)	19 (7)	NA	NA
Reduced Ossification of the Skull	3 (2)	2 (1)	NA	NA
Cervical Centrum #1 Ossified	67 (18)	67 (17)	NA	NA
Reduced Ossification of the 13th Rib	3 (3)	1 (1)	NA	NA
14th Full Rib(s)	0 (0)	1 (1)	NA	NA
27 Presacral Vertebrae	1 (1)	1 (1)	NA	NA

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rats			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)	
7th Cervical Rib	5 (4)	4 (3)	NA	NA
Sternebra(e) Malaligned (slight or moderate)	5 (3)	4 (4)	NA	NA
Reduced Ossification of the Vertebral Arches	0 (0)	6 (4)	NA	NA
Pubis Unossified	0 (0)	3 (2)	NA	NA
Sternebrae #1, #2, #3, and/or #4 Unossified	0 (0)	2 (1)	NA	NA
Reduced Ossification of the Ribs(s)	1 (1)	0 (0)	NA	NA

Group 3 and 4 have values on GD6 only due to early termination.
a: Single value, not a mean
b: Mean ± standard deviation
* (**) : $p < 0.05$ (0.01) (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)
†[2]: mean of 2/4 animals in group
GD: gestation day

15.2 An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rabbits [RDX5791-TX-15]

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rabbits			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791)	
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White [Hra:(NZW)SPF]		**Method of Administration:** Oral (gavage)	**Report No.:** RDX5791-TX-15	
Initial Age at First Dose: 5.5 Months		**Duration of Dosing:** 14 days, once daily from GD7-20	**GLP Compliant:** Yes	
Vehicle/Formulation: 0.1% Tween® 80 [w/v] in deionized water			**NOAEL:** 45 mg/kg/day	
Daily Dose (mg/kg)		5	15	45
Number of Dams		4	4	4
Plasma tenapanor Concentration, Gestation Day 7 (ng/mL)	0	BLQ	BLQ	BLQ
	1	BLQ	BLQ	0.593[a]
	2	BLQ	BLQ	0.545[a]
	4	BLQ	0.910[a]	0.532[a]
	8	BLQ	BLQ	BLQ
	24	BLQ	BLQ	0.811[a]
Plasma tenapanor Concentration, Gestation Day 20 (ng/mL)	0	BLQ	BLQ	BLQ
	1	3.01[a]	0.773[a]	0.645
	2	BLQ	10.8[a]	0.614[a]
	4	5.82[a]	BLQ	BLQ
	8	BLQ	BLQ	8.88[a]
	24	BLQ	11.4[a]	BLQ

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rabbits				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)	
Findings on Dams					
Daily Dose (mg/kg)		0	5	15	45
Number of Dams		22	22	22	22
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
Abortion		0	0	0	1
Total Resorptions		7 (3.8%)	25 (13.3%)	13 (7.0%)	16 (8.7%)
Clinical Signs During the Administration Period					
Excreta-related Findings	Decreased Defecation	10	11	12	12
	Small Feces	11	10	17	15
	Soft Stool	12	15	18	21
	Diarrhea	0	0	3	4
	Dried Brown Material at Base of Tail	0	3	6	5
	Wet Brown Material at Base of Tail	0	2	4	5
Body Weight (g)	GD 0	3250 ± 368.2	3268 ±385.0	3319 ± 476.6	3277 ± 411.1
	GD 7	3369 ± 381.4	3376 ± 407.7	3454 ± 469.3	3405 ± 428.1
	GD 14	3531 ± 346.0	3493 ± 444.8	3518 ± 405.6	3475 ± 377.2
	GD 20	3663 ± 351.2	3597 ± 414.7	3535 ± 372.6	3534 ± 334.9
	GD 29	3806 ± 385.1	3751 ± 386.0	3700 ± 388.3	3658 ± 312.8
Food Consumption (g/animal/day)	GD 4-7	157 ± 26.2	157 ± 33.9	163 ± 23.9	178 ± 23.5*
	GD 7-21	164 ± 31.9	144 ± 43.7	112 ± 54.5**	125 ± 29.7**
	GD 21-29	121 ± 26.5	129 ± 40.5	119 ± 56.0	125 ± 37.7

Table coninues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rabbits			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)		
Necropsy					
Daily Dose (mg/kg)		0	5	15	45
Number of Dams Examined at Necropsy		22	22	22	22
No Significant Changes Observed		16	14	12	11
Colon	White Area(s)	0	0	0	1
	Thickened	0	0	0	1
Cecum	White Area(s)	0	0	0	1
	Thickened	0	0	0	1
	Mass	1	1	0	0
Aborted		0	0	0	1
Oviducts, Cyst(s)		3	5	5	2
Spleen, Accessory		2	4	5	4
Skin, Brown Matting		0	0	1	0
Uterus	White Fluid Contents	0	0	0	1
	Dark Red Fluid Contents	0	0	0	1
	Cyst(s)	0	0	0	1
	Thickened	0	0	0	1
Number of Fetuses		21	20	19	20
Corpora Lutea[b]		10.2 ± 1.64	10.4 ±1.96	9.9 ± 1.94	9.8 ± 2.10
Implantation Sites[b]		9.0 ± 1.26	9.8 ± 1.67	9.1 ± 2.37	8.9 ± 1.68
Viable Fetuses (%)[b]		96.2 ± 5.54	86.7 ± 23.15	93.0 ±9.08	91.3 ±12.14
Dead Fetuses (%)		0	0	0	0
Total Resorptions (%)[b]		3.8 ± 5.54	13.3 ± 23.15	7.0 ± 9.08	8.7 ± 12.14
Pre-Implantation Loss (%)[b]		11.1 ± 12.12	4.9 ± 10.02	9.0 ± 14.03	7.9 ± 9.79
Post-Implantation Loss (%)[b]		3.8 ± 5.54	13.3 ± 23.15	7.0 ± 9.08	8.7 ± 12.14
Sex Ratio (Male/Total, %) [b]		53.3 ± 15.76	49.2 ± 14.88	53.7 ± 15.15	44.6 ± 12.82
Mean Fetal Weight (g) - Male/Female		40.4/40.6	40.4/38.0	40.3/39.0	41.1/39.3

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rabbits			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)	0	5	15	45
Fetal and Placental Abnormalities				
Fetuses (litters) Examined Externally	182 (21)	171 (19)	159 (19)	162 (20)
Total Number with Malformations				
External	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Soft Tissue	2 (1)	4 (2)	1 (1)	1 (1)
Skeletal	2 (1)	2 (2)	0 (0)	2 (2)
Fetuses (litters) Examined Externally	182 (21)	171 (19)	159 (19)	162 (20)
Carpal and/or Tarsal Flexure	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Fetuses (litters) Examined Viscerally	182 (21)	171 (19)	159 (19)	162 (20)
Hydrocephaly	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Kidney and Ureter Absent	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Lungs, Lobular Agenesis	2 (1)	4 (2)	0 (0)	0 (0)
Fetuses (litters) examined skeletally	182 (21)	171 (19)	159 (19)	162 (20)
Sternebrae Fused	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
Costal Cartilage Anomaly	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Skull Anomaly	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Vertebral Centra Anomaly	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
Rib Anomaly	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
Total % of Litters with Variations (%)	65.4 ± 28.18	82.0 ± 17.91	84.0 ± 13.22	76.5 ± 23.48
External Examinations, Fetuses (litters)	182 (21)	171 (19)	159 (19)	162 (20)
Excessive Fat Pads	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDX5791 on Embryo/Fetal Development in Rabbits			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (RDX5791) (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)	0	5	15	45
Visceral Examinations, Fetuses (litters)	182 (21)	171 (19)	159 (19)	162 (20)
Retrocaval Ureter	7(4)	3 (3)	3 (3)	3 (2)
Gallbladder Absent or Small	4 (2)	3 (2)	6 (5)	6 (5)
Major Blood Vessel Variation	18 (9)	16 (9)	18 (5)	16 (8)
Heart, Extra Papillary Muscle	4 (3)	3 (3)	2 (2)	4 (3)
Accessory Spleen	22 (11)	20 (8)	25 (15)	14 (7)
Hemorrhagic Ring Around the Iris	1 (1)	2 (2)	0 (0)	1 (1)
Gallbladder, Bilobed	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Spleen, Pale	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Skeletal Examinations, Fetuses (litters)				
13th Full Rib	46 (15)	70 (18)	59 (16)	68 (17)
27 Presacral Vertebrae	13 (8)	21 (9)	22 (13)	34 (9)
Sternebrae #5 and/or #6 Unossified	23 (13)	34 (15)	20 (9)	25 (13)
13th Rudimentary Rib(s)	32 (15)	29 (13)	43 (18)	26 (14)
7th Cervical Rib(s)	6 (3)	8 (4)	3 (2)	7 (5)
Hyoid Arch(es) Bent	15 (10)	7 (5)	9 (5)	4 (3)
Extra Site of Ossification Anterior to Sternebra #1	5 (5)	3 (3)	0 (0)	3 (3)
Accessory Skull Bones	0 (0)	1 (1)	1 (1)	4 (2)
Sternebrae with Thread-Like Attachment	4 (2)	1 (1)	3 (3)	1 (1)
Hyoid Body and/or Arches Unossified	1 (1)	0 (0)	4 (1)	0 (0)
Sternebrae Malaligned (Slight or Moderate)	2 (2)	2 (1)	3 (3)	1 (1)
Reduced Ossification of the Skull	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
Spherical Enlargement of the Rib(s)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Extra Site of Ossification Ventral to Cervical Centrum	0 (0)	0 (0)	3 (1)	0 (0)
25 Presacral Vertebrae	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)

F = female; GD = gestation day; M = male

a: Single value, not a mean.

b: Mean ± standard deviation

* (**) : $p < 0.05(0.01)$ (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)

16 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（重要な試験）

16.1 An Oral (Gavage) Study of the Effects of Tenapanor on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Mice [[redacted]-775035]

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of Tenapanor on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Mice			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride	
Design Similar to ICH 4.1.2: Yes	**Duration of Dosing:** GD 6-LD 20		**Report No.:** [redacted]-775035	
Species/Strain: Mouse/CD-1	**Day of Mating:** GD 0		**GLP Compliance:** Yes	
Initial Age: 11 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage		**Litters Culled/Not Culled:** Culled	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 0.1% Tween® 80 [w/v] in deionized water			
No Observed Adverse-Effect Level: F_0 Females: 200 mg/kg/day, **F_1 Neonatal/developmental:** 20 mg/kg/day, **F_1 Males:** 200 mg/kg/day, **F_1 Females:** 200 mg/kg/day, **F_2 Neonatal/early postnatal:** 200 mg/kg/day				
Daily Dose (mg/kg)	0	20	60	200
F_0 Females:				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Pregnant	21	23	24	23
No. Died or Euthanized in Extremis	0	1	0	1
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	2	1	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight g (%)[a]				
GD 6	30.1	30.1 (0.0)	30.6 (1.7)	30.2 (0.3)
GD 18	55.1	53.7 (−2.5)	53.7 (−2.5)	52.3 (−5.1)
Gestation Body Weight Changes (g)				
GD 6-18	25.0	23.5	23.1	22.2
Lactation Body Weight g (%)[a]				
LD 1	34.3	34.8 (1.5)	35.1 (2.3)	34.7 (1.2)
LD 21	36.6	37.7 (3.0)	38.1 (4.1)	37.8 (3.3)
Lactation Body Weight Changes (g)				
LD 1-21	2.3	2.6	2.8	3.1

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of Tenapanor on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Mice				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)
Reproductive and Developmental Toxicity				**Report No.:** [redacted]-775035
Daily Dose (mg/kg)	0	20	60	200
F_0 Females:				
Gestation Food Consumption, g/animal/day				
GD 6-9	6.2	6.1	6.4	5.0**
GD 9-12	6.3	5.9	6.2	5.5
GD 12-15	7.2	7.5	7.1	6.5
GD 15-18	7.7	7.2	6.9*	6.8**
GD 6-18	6.9	6.7	6.6	5.9**
Lactation Food Consumption, g/animal/day				
LD 1-4	14.1	14.1	14.1	13.8
LD 4-7	16.1	15.7	15.2	14.5
LD 7-10	17.8	17.8	17.5	16.7
LD 10-14	17.5	16.6	15.3**	14.7**
LD 14-17	17.8	17.1	16.2*	15.5**
LD 17-21	17.7	18.9*	17.8	16.9
LD 1-21	16.9	16.7	16.1	15.4**
Mean Gestation Length (days)	18.7	18.9	18.8	19.0
No. of Total Litter Losses	0	1	1	0
Necropsy Observations	-	-	-	-
F_1 Litters:				
No. Litters Evaluated	21	22	24	21
Mean No. of Implantations	12.9	13.0	12.8	13.2
Mean No. of Pups Born/Litter	12.7	12.3	12.5	12.9
Mean No. Liveborn Litter (PND 0)	12.6	12.1	12.0	12.8
Postnatal Survival from Birth to PND 4 (% per Litter)	97.1	93.8	93.6	96.6
Postnatal Survival from PND 4 to PND 21 (% per Litter)	98.8	99.4	98.9	98.2

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of Tenapanor on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Mice			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)	
Reproductive and Developmental Toxicity			**Report No.:** [redacted]-775035	
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**20**	**60**	**200**
F1 Males:				
Pup Body Weight Change (g)				
PND 1-4	1.07	0.96	0.97	0.91
PND 4-7	1.97	1.80	1.70*	1.52**
PND 7-10	1.79	1.76	1.43**	1.41**
PND 10-14	1.52	1.44	1.29	1.16**
PND 14-17	0.95	0.77	0.64	0.77
PND 17-21	3.62	3.74	3.45	3.24
Pup Body Weights (g)[a]				
PND 1	1.85	1.78 (−3.8)	1.78 (−3.8)	1.74 (−5.9)
PND 4	2.92	2.76 (−5.5)	2.75 (−5.8)	2.65 (−9.2)
PND 7	4.88	4.58 (−6.1)	4.47 (−8.4)	4.18** (−14.3)
PND 10	6.66	6.33 (−5.0)	5.90** (−11.4)	5.59** (−16.1)
PND 14	8.18	7.77 (−5.0)	7.21** (−11.9)	6.79** (−17.0)
PND 17	9.13	8.53 (−6.6)	7.84** (−14.1)	7.55** (−17.3)
PND 21	12.75	12.27 (−3.8)	11.28** (−11.5)	10.80** (−15.3)
F1 Females:				
Pup Body Weight Change (g)				
PND 1-4	1.01	0.92	0.93	0.87
PND 4-7	1.96	1.79	1.67**	1.51**
PND 7-10	1.76	1.76	1.46**	1.47**
PND 10-14	1.59	1.42	1.32*	1.23**
PND 14-17	0.82	0.65	0.65	0.69
PND 17-21	3.34	3.50	3.24	3.04

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of Tenapanor on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Mice				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)
Reproductive and Developmental Toxicity				**Report No.:** [redacted]-775035
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**20**	**60**	**200**
F1 Females:				
Pup Body Weights (g)[a]				
PND 1	1.72	1.69 (−1.7)	1.71 (−0.6)	1.66 (−3.5)
PND 4	2.72	2.63 (−3.3)	2.64 (−2.9)	2.53 (−7.0)
PND 7	4.68	4.43 (−5.3)	4.29 (−8.3)	4.04** (−13.7)
PND 10	6.44	6.18 (−4.0)	5.75** (−10.7)	5.51** (−14.4)
PND 14	8.02	7.60 (−5.2)	7.07** (−11.8)	6.74** (−16.0)
PND 17	8.84	8.25 (−6.7)	7.72** (−12.7)	7.44** (−15.8)
PND 21	12.18	11.74 (−3.6)	10.96* (−10.0)	10.48** (−14.0)
Pup Sex Ratio (% Males per Litter)	49.7	48.5	54.7	49.8
Pup Clinical Observations	-	-	-	-
Pup Necropsy Observations	-	-	-	-
F_1 Males:				
Postweaning				
No. Evaluated Postweaning	42	40	46	40
No. Died or Euthanized in Extremis	1	1	0	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Mean Body Weights g (%) [a]				
PND 21	12.8	12.3 (−3.9)	11.5* (−10.2)	10.8** (−15.6)
PND 28	21.5	20.9 (−2.8)	19.4* (−9.8)	18.7** (−13.0)
PND 35	28.4	27.8 (−2.1)	26.9* (−5.3)	26.3** (−7.4)
PND 42	31.5	30.8 (−2.2)	29.9* (−5.1)	29.5** (−6.3)
PND 84	39.2	37.6 (−4.1)	37.2 (−5.1)	36.9 (−5.9)
PND 119	41.6	39.1 (−6.0)	38.9* (−6.5)	38.4* (−7.7)
Mean Body Weight Changes (g)				
PND 21-84	26.1	25.5	25.7	25.8
PND 21-119	28.5	27.0	27.4	27.3

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of Tenapanor on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Mice				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)
Reproductive and Developmental Toxicity				**Report No.:** [redacted]-775035
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**20**	**60**	**200**
Mean Age at Balanopreputial Separation (PND)	29.4	29.6	29.9	30.4
Mean Body Weights at Balanopreputial Separation (g)	23.2	22.7	21.9	22.0
Startle Response Assessment	-	-	-	-
Motor Activity (PND 21)[a]				
Mean Cumulative Motor Activity Counts	7303	7348 (0.6)	7379 (1.0)	8442 (15.6)
Mean Cumulative Ambulatory Counts	4791	4824 (0.7)	4924 (2.8)	5786 (20.8)
Biel Maze (PND 22)	-	-	-	-
Memory Assessment Mean Time to Escape, seconds[a]				
Trial 9	42.05	55.21 (31.296)	58.48 (39.073)	69.13 (64.400)
Trial 10	30.09	40.59 (34.895)	26.27 (−12.695)	44.72 (48.621)
Memory Assessment Mean No. of Errors				
Trial 9	10	17 (70.0)	19 (90.0)	21 (110.0)
Trial 10	7	10 (42.9)	7 (0.0)	13 (85.7)
Memory Trials Overall Mean No. of Errors	8	13	13	17*
No. of Males that Sired a Litter	15	14	17	17
Necropsy Observations	-	-	-	-
F_1 Females:				
Postweaning				
No. Evaluated Postweaning	42	40	46	41
No. Died or Euthanized in Extremis	0	3	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Mean Premating Body Weights g (%)[a]				
PND 21	12.2	11.7 (−4.1)	11.0* (−9.8)	10.5** (−13.9)
PND 28	18.2	17.6 (−3.3)	16.9 (−7.1)	16.1** (−11.5)
PND 35	23.5	23.1 (−1.7)	22.5 (−4.3)	21.6** (−8.1)
PND 42	25.5	25.0 (−2.0)	24.4 (−4.3)	23.4** (−8.2)
PND 84	31.0	30.4 (−1.9)	29.0* (−6.5)	28.6** (−7.7)

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of Tenapanor on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Mice				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)
Reproductive and Developmental Toxicity				**Report No.:** [redacted]-775035
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**20**	**60**	**200**
Mean Premating Body Weight Changes (g)				
PND 21-84	18.9	18.7	18.1	18.0
Mean Age at Vaginal Patency (PND)	29.4	28.4	29.5	29.9
Mean Body Weights at Vaginal Patency (g)	19.5	17.5*	18.0	17.5*
Startle Response Assessment	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Biel Maze	-	-	-	-
Mean Gestation Body Weights g (%)[a]				
GD 0	31.0	29.9 (−3.5)	28.8* (−7.1)	28.4** (−8.4)
GD 18	62.6	62.0 (−1.0)	59.5 (−5.0)	58.1 (−7.2)
Mean Gestation Body Weight Changes (g)				
GD 0-18	31.6	32.1	30.7	29.7
Mean Lactation Body Weights g (%)[a]				
LD 4	44.6	43.6 (−2.2)	43.1 (−3.4)	42.4 (−4.9)
Mean Lactation Body Weight Changes (g)				
LD 1-4	4.2	4.2	5.1	3.0
Mean Estrous Cycle Length (days)	4.5	4.8	4.6	4.5
Mean Precoital Interval (days)	3.1	3.0	3.4	3.8
F_1 Females:				
Postweaning				
No. of Females with Evidence of Mating	19	15	21	20
No. Pregnant	19	16	19	19
Necropsy Observations	-	-	-	-
Mean No. of Corpora Lutea	16.2	16.8[b]	14.7	14.8
Mean No. of Implantations	14.2	15.1[b]	13.3	13.9
Mean Gestation Length	18.9	18.9	18.9	18.9

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of Tenapanor on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Mice				**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)
Reproductive and Developmental Toxicity				**Report No.:** [redacted]-775035
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**20**	**60**	**200**
F_2 Litters:				
No. of Litters Evaluated	19	15	19	18
Mean No. of Pups Born/Litter	12.4	14.3	12.5	12.9
Mean No. Liveborn Pups/Litter	12.4	14.3	12.4	12.9
Postnatal Survival to Day 4 (% per Litter)	99.3	98.7	98.5	98.9
Mean Pup Body Weights	-	-	-	-
Pup Sex Ratio (% Males per Litter)	48.8	43.2	53.7	58.7
Pup Clinical Observations	-	-	-	-
Pup Necropsy Observations	-	-	-	-

- No noteworthy findings, GD = Gestation day; LD = Lactation day; PND = Postnatal day

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)

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

b: Number of pups born exceeded number of implantation sites and corpora lutea for 1 female; not included in calculation of mean.

17 幼若動物を用いた試験：重要な試験以外の試験

17.1 A Pilot 21-Day Repeat Dose Toxicity Study of Tenapanor in Male and Female Juvenile Rats (Post Natal Days 5 to 26) [1884[redacted]]

Report Title: A Pilot 21-Day Repeat Dose Toxicity Study of Tenapanor in Male and Female Juvenile Rats (Post Natal Days 5 to 26)					**Test Article:** Tenapanor hydrochloride	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		**Method of Administration:** Oral (gavage)			**Report No.:** 1884[redacted]	
Initial Age at First Dose: 5 days Postnatal		**Duration of Dosing:** 11 days			**GLP Compliant:** No	
Vehicle/Formulation: 0.1% Tween® 80		**NOAEL:** Not determined				
Additional Notes: Study was terminated early (after only 11 of 21 planned days of treatment) due to reduction in body weight of treated animals compared to vehicle control						
Daily Dose (mg/kg)	0		5		10	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals	10	10	10	10	10	10
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	1	1
Toxicokinetics (mean ± standard deviation)						
Daily Dose (mg/kg)			5		10	
Sex			Male	Female	Male	Female
Plasma Concentration of Tenapanor Measured 8-9 Hours Following Dosing on Study Day 11 (last dose) (ng/mL)			2.13 ± 3.48	0.901 ± 0.659	3.73 ± 1.66	1.25 ± 0.820
Clinical Observations	Soft and watery feces (the expected primary pharmacological effect)					
Body Weight	Males and females at both doses had >20% reduction in body weight compared to vehicle control (0 mg/kg)					

17.2 An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of Tenapanor in Juvenile Rats [00775062]

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of Tenapanor in Juvenile Rats		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Method of Administration:** Oral (gavage)	**Report No.:** 00775062
Initial Age at First Dose: 5 days Postnatal	**Duration of Dosing:** 20 days, from PND 5 to 24	**GLP Compliance:** No
Vehicle/Formulation: 0.1% Tween® 80 (w/v) in deionized water		**NOAEL:** <0.5 mg/kg/day
Additional Notes: Based on mortality/moribundity, decreased body weight, macroscopic and microscopic findings at 0.5, 2.5, and 5 mg/kg/day, dosage levels of 0.03, 0.1, and 0.3 mg/kg/day were selected for a definitive juvenile toxicity study.		

Daily Dose (mg/kg)	Vehicle		Tenapanor hydrochloride							
	0		0.1		0.5		2.5		5	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Died or Sacrificed Moribund	1	1	1	0	3	2	6	9	7	8
Clinical Observations:										
Hypoactivity	0	0	0	0	1	0	2	2	0	0
Impaired Use of Hindlimbs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Thin	0	1	0	1	2	3	6	2	2	2
Dermal Atonia	0	2	0	1	7	7	8	6	4	5
Unkempt Appearance	5	3	6	8	7	8	8	6	5	5
Cool Body	0	0	0	0	2	1	6	4	1	3
Labored Respiration	0	0	0	0	0	0	3	2	0	1
Swollen Abdominal Area	1	0	1	2	1	2	2	1	4	1
Dried Brown Material, Anogenital Area	8	7	9	10	8	10	10	8	7	7

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of Tenapanor in Juvenile Rats										**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)
Toxicokinetic Parameters for Tenapanor in Male Rats Following Oral Gavage Administration of Tenapanor hydrochloride										
Analyte	**PND**	**Sex**	**Dose Level (mg/kg/day)**	**Group**	**AUC_{last} (ng·h/mL)**	**DN AUC_{last}**	**C_{max} (ng/mL)**	**DN C_{max}**	**t_{max} (h)**	**Accumulation Ratio**
Tenapanor	5	Male	0.1	2	NR	NA	NA	NA	NA	NA
			0.5	3	NR	NA	0.429	0.859	1	NA
			2.5	4	17.5	6.99	3.89	1.56	2	NA
			5	5	98.9	19.8	28.9	5.78	0.5	NA
Tenapanor	24	Male	0.1	2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			0.5	3	NR	NA	0.898	1.80	0.5	NA
			2.5	4	NR	NA	6.00	2.40	1	NA
			5	5	40.4	8.09	11.5	2.30	0.5	0.41
Toxicokinetic Parameters for Tenapanor in Female Rats Following Oral Gavage Administration of Tenapanor hydrochloride										
Analyte	**PND**	**Sex**	**Dose Level (mg/kg/day)**	**Group**	**AUC_{last} (ng·h/mL)**	**DN AUC_{last}**	**C_{max} (ng/mL)**	**DN C_{max}**	**t_{max} (h)**	**Accumulation Ratio**
Tenapanor	5	Female	0.1	2	NR	NA	NA	NA	NA	NA
			0.5	3	0.575	1.15	0.379	0.757	1	NA
			2.5	4	4.67	1.87	3.45	1.38	1	NA
			5	5	85.6	17.1	18.3	3.66	2	NA
Tenapanor	24	Female	0.1	2	NR	NA	NA	NA	NA	NA
			0.5	3	NR	NA	NA	NA	NA	NA
			2.5	4	NR	NA	NA	NA	NA	NA
			5	5	75.5	15.1	11.4	2.27	1	0.88

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of Tenapanor in Juvenile Rats										**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)
Toxicokinetic Parameters for M1 (AZ13792925) in Male Rats Following Oral Gavage Administration of Tenapanor hydrochloride										
Analyte	**PND**	**Sex**	**Dose Level (mg/kg/day)**	**Group**	**AUC_{last} (ng·h/mL)**	**DN AUC_{last}**	**C_{max} (ng/mL)**	**DN C_{max}**	**t_{max} (h)**	**Accumulation Ratio**
AZ13792925	5	Male	0.1	2	7.64	76.4	0.478	4.78	8	NA
			0.5	3	79.4	159	5.77	11.5	8	NA
			2.5	4	298	119	21.6	8.64	8	NA
			5	5	667	133	42.5	8.50	8	NA
AZ13792925	24	Male	0.1	2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			0.5	3	NR	NA	9.19	18.4	2	NA
			2.5	4	39.2	15.7	7.84	3.14	0.5	0.13
			5	5	166	33.1	12.3	2.46	2	0.25
Toxicokinetic Parameters for AZ13792925 in Female Rats Following Oral Gavage Administration of Tenapanor hydrochloride										
Analyte	**PND**	**Sex**	**Dose Level (mg/kg/day)**	**Group**	**AUC_{last} (ng·h/mL)**	**DN AUC_{last}**	**C_{max} (ng/mL)**	**DN C_{max}**	**t_{max} (h)**	**Accumulation Ratio**
AZ13792925	5	Female	0.1	2	NR	NA	0.608	6.08	8	NA
			0.5	3	NR	NA	4.37	8.75	8	NA
			2.5	4	277	111	21.5	8.60	8	NA
			5	5	510	102	35.5	7.11	8	NA
AZ13792925	24	Female	0.1	2	NR	NA	NA	NA	NA	NA
			0.5	3	0.287	0.574	0.301	0.603	0.5	NA
			2.5	4	96.5	38.6	8.53	3.41	1	0.35
			5	5	187	37.3	8.17	1.63	24	0.37

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of Tenapanor in Juvenile Rats									**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)	
Dose	**Vehicle**		**Tenapanor hydrochloride**							
	0		0.1		0.5		2.5		5	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals	10	12	10	10	10	10	10	10	10	10
Body Weight										
PND 5	12.6 ± 0.81	12.1 ± 1.36	12.8 ± 0.72	12.1 ± 0.73	12.8 ± 1.04	12.1 ± 0.74	12.7 ± 0.93	12.3 ± 1.08	12.9 ± 1.22	12.4 ± 0.76
PND 12	22.9 ± 2.87	21.3 ± 2.80	23.4 ± 3.03	21.4 ± 3.62	22.1 ± 3.60	21.8 ± 3.45	22.3 ± 3.23	23.0 ± 3.63	20.3 ± 4.09	20.0 ± 6.82
PND 19	41.1 ± 4.79	39.1 ± 4.25	40.2 ± 5.32	38.8 ± 5.17	34.7 ± 7.55	36.6 ± 4.99	38.1 ± 3.17	35.7 ± 3.89	32.4 ± 4.74*	34.3 ± 2.03
PND 25	64.1 ± 8.56	57.1 ± 6.58	57.7 ± 8.53	55.1 ± 6.36	40.4 ± 9.04 **	38.8 ± 3.36**	33.8 ± 6.39 **	38.5 ± 0.00	29.4 ± 5.37	28.8 ± 0.0
Hematology and Coagulation: Interpretation of hematology and coagulation changes in the 0.5, 2.5, and 5 mg/kg/day group males and the 0.5, 2.5 and/or 5 mg/kg/day group females was precluded by mortality/moribundity in these groups that resulted in 0 to 2 surviving animals/group for evaluation										
Serum Chemistry: Interpretation of serum chemistry parameters in the 2.5 and 5 mg/kg/day group males and females was precluded by mortality/moribundity in these groups that resulted in 1 to 2 surviving animals/group for evaluation										
Urinalysis and Urine Chemistry: Interpretation of urinalysis and urine chemistry parameters in the 2.5 and 5 mg/kg/day group males and females was precluded by mortality/moribundity in these groups that resulted in 0 to 2 surviving animals/group for evaluation										
Bone Growth										
Number of Animals Examined	9	10	8	10	7	8	4	1	2	1
Tibial Length, mm†[1]	24.6 ± 1.00	24.7 ± 0.59	24.3 ± 0.99	24.3 ± 0.53	23.0 ± 1.66*	23.3 ± 0.73**	22.5 ± 1.27*	23.5 ± 0.00	21.8 ± 0.52	23.0 ± 0.00

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of Tenapanor in Juvenile Rats | **Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)

Macroscopic Observations at Necropsy: Test article-related distension of the gastrointestinal tract and small thymus and spleen were observed in males and/or females that died or were euthanized prior to the scheduled necropsy from the 0.5, 2.5, and 5 mg/kg/day groups. Test article-related small thymus was noted in the scheduled necropsy females from the 0.5 and 2.5 mg/kg/day groups, and test article-related distention of the gastrointestinal tract was observed in the scheduled necropsy males from the 5 mg/kg/day group and females from the 0.1 mg/kg/day group. The small thymus in scheduled necropsy females correlated with lower thymic weights.

Organ Weight: Test article-related lower thymus weights (absolute, relative to body weight, and/or relative to brain weight) were observed in males in the 0.1, 0.5, 2.5, and 5 mg/kg/day groups and in females in the 0.1, 0.5, and 2.5 mg/kg/day groups. Test article-related lower spleen weights (absolute, relative to body weight, and/or relative to brain weight) were observed in males in the 0.5, 2.5, and 5 mg/kg/day groups and in females in the 0.5 and 2.5 mg/kg/day groups.

Incidence of Selected Histopathologic Findings, Unscheduled and Scheduled Necropsies

Dosage (mg/kg/day)	Male					Female				
	0	0.1	0.5	2.5	5	0	0.1	0.5	2.5	5
Sternebrae[a]	9	1	3	6	9	11	0	2	7	7
Increased Osteoclasts	0	0	2	1	4	0	0	1	4	4
Minimal	-	-	1	0	2	-	-	0	1	2
Mild	-	-	0	1	2	-	-	1	3	1
Moderate	-	-	1	0	0	-	-	0	0	1
Increased Eroded Surface	0	0	1	0	2	0	0	1	2	2
Minimal	-	-	0	-	0	-	-	0	1	0
Mild	-	-	1	-	2	-	-	1	1	0
Moderate	-	-	0	-	0	-	-	0	0	1
Marked	-	-	0	-	0	-	-	0	0	1
Joint, Femorotibial[a]	10	1	3	6	9	11	0	2	7	8
Increased Osteoclasts	0	0	1	2	4	0	0	0	1	2
Minimal	-	-	0	1	3	-	-	-	1	2
Mild	-	-	1	1	1	-	-	-	0	0
Increased Eroded Surface	0	0	2	1	1	0	0	1	2	1
Mild	-	-	1	0	1	-	-	0	1	1
Moderate	-	-	1	1	0	-	-	1	1	0
Decreased Bone, Trabecular and/or Cortical	0	0	0	0	1	0	0	0	3	2
Minimal	-	-	-	-	0	-	-	-	1	0
Mild	-	-	-	-	1	-	-	-	1	0
Moderate	-	-	-	-	0	-	-	-	1	1
Marked	-	-	-	-	0	-	-	-	0	1

DN = Dose-normalized; units for dose-normalized AUC_{last} are (ng*h/mL)/(mg/kg) and for dose-normalized C_{max} are (ng/mL)/(mg/kg); NR = Not reportable due to <3 consecutive time points with measurable concentration.
* (**) : $p \leq 0.05$ (0.01) (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)
†[1] : PND 25
a: Number of tissues examined from each group

17.3 A 21-Day Oral Dose Range-Finding Toxicity Study in Post-Weaning Juvenile Rats [2050[redacted]]

Report Title: A 21-Day Oral Dose Range-Finding Toxicity Study in Post-Weaning Juvenile Rats							**Test Article**: Tenapanor hydrochloride	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		**Method of Administration**: Oral (gavage)					**Report No**.: 2050[redacted]	
Initial Age at First Dose: 21 days Postnatal		**Duration of Dosing**: 21 days, from PND21 to 41					**GLP Compliance**: No	
Vehicle/Formulation: 0.1% Tween® 80 (w/v) in deionized water							**NOAEL:** 0.1 mg/kg/day	
Additional Notes: The objective of this study is to determine the potential adverse effects of repeat oral administration of tenapanor in weaned juvenile male and female rats (PND 21 to 41) to inform dose selection for the 60-day study. NOAEL from the 8-week study in PND 5 to 61 rats (0.1 mg/kg/day) was selected as the lowest dose. NOAEL from the 3-month study in mature rats (5 mg/kg/day) was selected as the highest dose.								
Daily Dose (mg/kg)		**Vehicle**		**Tenapanor hydrochloride**				
		0		0.1		1		5
Sex		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male[a]	Female[a]
Number of Animals		6	6	6	6	6	6	6	6
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	2	0	4	3
Clinical Observations:									
Diarrhea		0	0	1	1	6	6	6	5
Fur abnormal		0	0	6	6	6	6	6	6
Enlarged abdomen		0	0	1	0	4	6	0	0
Body Weight		Lower mean body weights and/or reductions in body weight gain were observed in the 1 mg/kg/day groups.							
Food and Water Consumption		Decreased food consumption, and increased water consumption were observed in the 1 mg/kg/day groups.							
Hematology (mean ± standard deviation)									
Neutrophil (/μL)		729 ± 412.1	368 ±178	750 ± 156.6	482 ±105	843 ±182.4	868 ±202	NA	NA
Necropsy:									
Number of Animals evaluated		6	6	6	6	4	6	0	0
Cecum enlarged	Slightly	0	0	0	5	0	0	NA	NA
	Fluid-filled	0	0	0	0	4	6	NA	NA
Toxicokinetics of Tenapanor and M1 (AZ13792925)		Trough plasma concentrations of tenapanor and AZ13792925 were below the quantitative limit (i.e., < 0.5 ng/mL) following the final dose of tenapanor.							

a: Based on the mortality and moribundity observed at 5 mg/kg/day, 5 mg/kg/day groups (both males and females) were terminated early.

18 幼若動物を用いた試験：重要な試験

18.1 An 8-Week Oral (Gavage) Toxicity Study of Tenapanor in Juvenile Rats with a 4-Week Recovery Period [00775063]

Report Title: An 8-Week Oral (Gavage) Toxicity Study of Tenapanor in Juvenile Rats with a 4-Week Recovery Period		**Test Article**: Tenapanor hydrochloride
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Method of Administration:** Oral (gavage)	**Report No.:** 00775063
Initial Age at First Dose: 5 days Postnatal	**Duration of Dosing:** 57 days, from PND 5 to 61	**GLP Compliance:** Yes
Vehicle/Formulation: 0.1% Tween® 80 (w/v) in deionized water		**NOAEL:** 0.1 mg/kg/day
Additional Notes: Lower mean body weights and body weight gains were previously noted at 0.5 mg/kg/day group compared to controls. Based on these results, dosage levels of 0.03, 0.1, and 0.3 mg/kg/day have been selected.		

Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Tenapanor hydrochloride**					
	0		0.03		0.1		0.3	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals	40	40	40	40	40	40	40	40
Died or Sacrificed Moribund	0	1	0	0	1[a]	1[b]	5	2
Clinical Observations:								
Hair Loss Urogenital Area	0	0	0	0	0	0	1	0
Hair Loss Facial Area	0	0	0	0	0	0	1	1
Limbs Lacerations	0	0	0	0	0	0	4	0
Thin	0	0	0	0	1	0	0	0
Pale Extremities	0	0	0	0	1	0	0	0
Dried Red Material Around Nose	2	0	2	2	7	0	5	1
Dried Red Material Around Eyes	0	1	0	0	0	0	1	2
Soft Feces	2	2	2	0	4	2	2	7
Mucoid Feces	2	0	2	0	5	1	8	1
Diarrhea	0	0	0	0	1	0	4	1
Swollen Abdominal Area	2	0	3	0	2	1	1	1
Wet Material Around Mouth (clear/red)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	2 (1/1)	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/0)

Table continues

Report Title: An 8-Week Oral (Gavage) Toxicity Study of Tenapanor in Juvenile Rats with a 4-Week Recovery Period	**Test Article:** Tenapanor hydrochloride (Continued)

Toxicokinetic Parameters for Tenapanor in Male and Female Rats following Oral Gavage Administration of Tenapanor hydrochloride

Analyte	PND	Dose Level (mg/kg/day)	Group	AUC_{last} (ng·h/mL)		C_{max} (ng/mL)		t_{max} (h)	
				Male	Female	Male	Female	Male	Female
Tenapanor	5	0.03	2	NR	NA	2.81[c]	NA	1	NA
		0.1	3	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		0.3	4	NR	NR	0.194[c]	0.316[c]	0.5	0.5
	61	0.03	2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		0.1	3	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		0.3	4	NA	NA	NA	0.211[c]	NA	1

NR = Not reportable due to <3 consecutive time points with measurable concentration.

a: This death was not considered tenapanor-related because there were no adverse effects or other deaths at this dosage level that could be attributed to tenapanor.

b: Severe necrotizing inflammation of the urinary bladder was determined to be the cause of death microscopically for this animal; this death was not considered tenapanor-related because no other animals in this study, including those in the 0.3 mg/kg/day group that survived to the scheduled necropsy on PND 62, were noted with this finding.

c: Single value, not a mean.

18.2 A 60-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of Tenapanor in Post-Weaning Juvenile Rats with a 14-Day Recovery Period [20301378]

Report Title: A 60-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of Tenapanor in Post-Weaning Juvenile Rats with a 14-Day Recovery Period		**Test Article**: Tenapanor hydrochloride
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Method of Administration**: Oral (gavage)	**Report No**.: 20301378
Initial Age at First Dose: 21 days Postnatal	**Duration of Dosing**: 60 days, from PND21 to 80	**GLP Compliance**: Yes
Vehicle/Formulation: 0.1% Tween® 80 (w/v) in deionized water		**NOAEL:** 0.1 mg/kg/day
Additional Notes: In previous studies, the dose level of 1 mg/kg/day caused deaths in males but not in females. 0.1 mg/kg/day is not expected to produce any significant toxicity during treatment. Based on these results, dosage levels of 0.1, 0.3, and 0.7 (for males) or 1.0 mg/kg/day (for females) have been selected.		

Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Tenapanor hydrochloride**					
	0		0.1		0.3		0.7M/1.0F[a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals	20[b]	20[b]	20[b]	20[b]	20[b]	20[b]	20[b]	20[b]
Died or Sacrificed Moribund	1	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations (from Day 21 to 80):								
Dehydrated Suspected	0	0	0	0	0	0	0	1
Erected Fur	0	0	0	0	0	0	0	1
Thin Cover Fur	1	0	0	0	0	0	0	1
Discolored Skin	0	0	0	0	2	0	2	12
Scab Skin	1	0	0	0	0	2	0	1
Abnormal Consistency Feces	0	0	0	0	7	4	20	20
Broken Teeth	0	0	0	0	0	0	0	1
Decreased Activity	0	0	0	0	0	0	1	0
Abrasion Skin	0	0	0	0	0	1	0	0
Body Weight	In the male rats at 0.3 and 0.7 mg/kg/day, a decrease in mean body weights was observed beginning on PND 22 and continued for the remainder of the main study phase. A decrease in body weight was also observed on PND 81 during the recovery period and remained during the recovery period; In the female rats at 0.3 and 1.0 mg/kg/day, a decrease in mean body weights was observed between PNDs 23 to 35 in the main study phase. All mean body weights were comparable during the recovery period.							
Body Weight Gain	In the male rats at 0.3 and 0.7 mg/kg/day, a decrease in body weight gain was observed during the overall main study phases. In the females at 0.3 mg/kg/day, a decrease in body weight gain was observed between PNDs 21 and 22. In the females at 1.0 mg/kg/day, a decrease in body weight gain was observed at all intervals between PNDs 21 to 22 and 24 to 25.							
Food Consumption	In the main phase male and female rats at 1.0 mg/kg/day, there was statistically significant decrease in mean food consumption values at the first interval after the initiation of dose administration (PNDs 21 to 29).							

Table continues

Report Title: A 60-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of Tenapanor in Post-Weaning Juvenile Rats with a 14-Day Recovery Period									**Test Article**: Tenapanor hydrochloride (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)			**Vehicle**		**Tenapanor hydrochloride**					
			0		0.1		0.3		07M/1.0F	
Sex			Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Sexual Maturation	Preputial [k] Separation (Days)		43.7 ± 1.8	NA	43.6 ± 1.8	NA	44.4 ± 2.3	NA	45.0 ± 2.1	NA
	Vaginal [k] Opening (Day)		NA	30.7 ± 2.0	NA	31.5 ± 2.1	NA	33.5 ± 2.0**	NA	33.9 ± 2.2**
	Bodyweight [G] at Maturity (g)		258.5 ± 23.4	110.0 ± 13.1	245.6 ± 24.8	115.7 ± 16.2	239.3 ± 29.7	121.3 ± 18.9	239.5 ± 22.5	120.6 ± 13.1
Urinalysis	PND81[c]	Specific Gravity	1.0388 ± 0.0166	1.0368 ± 0.0145	1.0398 ± 0.0170	1.0356 ± 0.0150	1.0333 ± 0.0122	1.0420 ± 0.0171	1.0421 ± 0.0156	1.0401 ± 0.0174
		Urine pH	8.20 ± 0.35	7.90 ± 0.46	7.85 ± 0.34	8.10 ± 0.52	7.40 ± 0.52**	7.80 ± 0.48	7.60 ± 0.74*	7.25 ± 1.06
	PND94[d]	Specific Gravity	1.0422 ± 0.0180	1.0330 ± 0.0116	1.0369 ± 0.0140	1.0334 ± 0.0075	1.0383 ± 0.0126	1.0298 ± 0.0098	1.0409 ± 0.0167	1.0455 ± 0.0121*
		Urine pH	7.61 ± 0.55	7.65 ± 0.34	8.00 ± 0.41	8.09 ± 0.50	7.80 ± 0.42	8.20 ± 0.35	7.75 ± 0.49	8.00 ± 0.58
Bone Measurements	In the males at 0.3 and 0.7 mg/kg/day, a reduction in tibia measurements was observed at all intervals between PNDs 76 and 80. A reduction in tibia measurements was also observed at all intervals between PNDs 36 and 64 in the male rats at 0.7 mg/kg/day. There were no test article-related differences observed in the tibia measurements in the female rats at any dose level. There were also no statistically significant or biologically important differences in the tibia measurements in the male or female rats during the recovery period. At the end of the main study and recovery phases, there were no test article-related effects on femur length in either male or female rats.									

Table continues

Report Title: A 60-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of Tenapanor in Post-Weaning Juvenile Rats with a 14-Day Recovery Period	**Test Article**: Tenapanor hydrochloride (Continued)

Toxicokinetic Parameters for Tenapanor in Male and Female Rats following Oral Gavage Administration of Tenapanor hydrochloride

Analyte	PND	Dose Level (mg/kg/day)	Group	AUC_{last} (ng·h/mL)		C_{max} (ng/mL)		t_{max} (h)	
				Male	Female	Male	Female	Male	Female
Tanapanor	21	0.1	2	NR	NR	BLQ	BLQ	NC	NC
		0.3	3	NR	NR	0.311	BLQ	8	NC
		0.7M/1.0F[a]	4	NR	NR	BLQ	0.501	NC	1.17[e]
	80	0.1	2	NR	NR	BLQ	BLQ	NC	NC
		0.3	3	NR	NR	BLQ	BLQ	NC	NC
		0.7M/1.0F[a]	4	NR	NR	BLQ	0.437	NC	0.5

Toxicokinetic Parameters for M1 (AZ13792925) in Male and Female Rats following Oral Gavage Administration of Tenapanor hydrochloride

Analyte	PND	Dose Level (mg/kg/day)	Group	AUC_{last} (ng·h/mL)		C_{max} (ng/mL)		t_{max} (h)	
				Male	Female	Male	Female	Male	Female
M1 (AZ13792925)	21	0.1	2	NR	NR	BLQ	BLQ	NC	NC
		0.3	3	NR	NR	0.470	0.515	8	2
		0.7M/1.0F[a]	4	15.9	28.3	1.88	2.30	1.15[e]	1.22[e]
	80	0.1	2	NR	NR	BLQ	BLQ	NC	NC
		0.3	3	NR	1.31	BLQ	0.896	NC	2
		0.7M/1.0F[a]	4	1.77	15.3	1.23	4.96	1	1

a: 0.7 mg/kg/day for males and 1.0 mg/kg/day for females

b: Ten animals/sex/group were necropsied on PND 81 (at the end of the dosing period); the remaining 10 animals/sex/group were assigned to the recovery period. Ten rats/sex/group from dosing period and recovery period were assigned for clinical pathology blood collection.

c: End of dosing period

d: End of recovery period

e: Time adjusted due to late collection of blood samples for the 1-hour time point on PND 21 for this group.

M = Male; F = Female; NR = Not reportable due to <3 consecutive time points with measurable concentration.

* (**) : $p \leq 0.05$ (0.01) (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)

19 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施しなかった。

20 その他の毒性試験

20.1 Toxicity of Tenapanor Metabolite M1 (AZ13792925)

20.1.1 Single Dose Toxicity Studies of M1(AZ13792925)

Report No.	Species/ Strain	Route (Vehicle)	Doses (mg/kg)	Gender and Number per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings
RDX5791-M1-01	Mouse/C57BL/6	Oral, gavage in 0.01% Tween® 80	0, 300, 1000	Male, n=3 or 4	300	1000	Transient lethargy seen in two animals at 300 mg/kg; hypoactivity, lethargy, shaking, coldness to touch and labored breathing seen at 1000 mg/kg, two of 4 at 1000 mg euthanized in extremis.
RDX5791-M1-06	Rat/ Sprague Dawley	Oral, gavage in 0.1% Tween® 80 in water	0, 1000	n=3 Male and n=3 Female	1000	>1000	No test article-related clinical observations at 1000 mg/kg. Body weights of the AZ13792925-dosed animals were similar to concurrent controls. Food consumption significantly lower in AZ13792925-dosed males. Mean C_{min} at 24 hours post-dose of 1000 mg/kg AZ13792925 was very high in both males (75600 ng/mL) and females (92800 ng/mL)

20.1.2 A 4-Day Repeat Dose Toxicity Study of AZ13792925 [RDX5791-M1-03]

Report Title: A 4-Day Repeat Dose Toxicity Study of AZ13792925	**Report No.:** RDX5791-M1-03	**Test Article:** M1 (AZ13792925)
Species/Strain: Mouse/C57BL/6	**Duration of Dosing:** 4 days	
Initial Age: 8 weeks old	**GLP Compliance:** No	
Vehicle/Formulation: 0.1% Tween® 80	**Method of Administration:** Oral (gavage)	
MTD: 100 mg/kg/day		
Method: AZ13792925 at 30, 100 or 300 mg/kg/day or vehicle was administered by oral gavage once daily to groups of 3 male and 3 female C57BL/6 mice for 4 consecutive days.		
Daily Dose as Drug Substance: AZ13792925 at 30, 100 or 300 mg/kg/day		
N/Sex/Group: 3/Females, 3/Males		
Findings: Repeat oral administration of AZ13792925 for 4 consecutive days at 30 and 100 mg/kg/day was well tolerated in male and female C57BL/6 mice. Repeat dosing at 300 mg/kg/day was not well tolerated in male and female mice and resulted in clinical adverse findings including lethargy, labored or rapid breathing and hunched posture in 2/3 males at this dose.		

N = number of animals in a group.

20.1.3 A 14-Day Repeat Dose Toxicity Study of AZ13792925 [RDX5791-M1-04]

Report Title: A 14-Day Repeat Dose Toxicity Study of AZ13792925			**Report No.:** RDX5791-M1-04		**Test Article:** M1 (AZ13792925)	
Species/Strain: Mice/CByB6Fl/J			**Duration of Dosing:** 14 days			
Initial Age: 8 weeks old			**GLP Compliance:** No			
Vehicle/Formulation: 0.1% Tween 80 in deionized water			**Method of Administration:** Oral (gavage)			
NOAEL: Not established due to mortality/ morbidity at lowest dose tested (500 mg/kg/day)						
Special Features: AZ13792925 dosed once daily orally by gavage at 0, 500 or 1000 mg/kg/day, N = 6 males and 6 females per dose group. Health status monitored several times daily during the 14-day dosing period and animals were weighed daily. Terminal blood samples collected on day 15 or before euthanasia of animals in extremis, necropsies were conducted, and anatomical observations recorded.						
Findings in Treatment Period						
Daily Dose (mg/kg)	0		500		1000	
Gender	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals	6	6	6	6	6	6
Died or Sacrificed Moribund	0	0	3	3	6	6
Clinical Observations	Lethargy, labored breathing, shaking, drooling, hunched, cold to touch, piloerection and moribund					

Table continues

Report Title: A 14-Day Repeat Dose Toxicity Study of AZ13792925	**Report No.:** RDX5791-M1-04	**Test Article:** M1 (AZ13792925) (Continued)

Toxicokinetics

Plasma Concentrations of AZ13792925 in CByB6Fl/J Mice Following a Once Daily 14-Day Repeat Oral Dose of AZ13792925 at 500 mg/kg on study day 15

Dosage Level (mg/kg)	Sex	Mouse I.D.	Days Dosed	Time (h)	Concentration (ng/mL)	Mean	SD
500	Male	9	14	0.5	37309	53641	24505
		11	14	0.5	81818		
		12	14	0.5	41797		
500	Male	9	14	24	1550	1875	460
		11	14	24	2200		
		12	14	24	BQL		
500	Female	25	14	0.5	79920	54334	22696
		26	14	0.5	36631		
		27	14	0.5	46450		
500	Female	25	14	24	1883	5442	5032
		26	14	24	9000		
		27	14	24	BQL		

Plasma Concentrations of AZ13792925 in CByB6Fl/J Mice Following a Once Daily Repeat Oral Dose of AZ13792925 at 500 or 1000 mg/kg

Dosage Level (mg/kg)	Sex	Mouse I.D.	Days Dosed	Time (h)	Concentration (ng/mL)
500	Male	7	6	5	50714
		8	7	0.3	69640
		10	5	0.8	72588
1000	Male	13	7	7	65146
		15	9	4	68533
		18	5	0.5	136124
500	Female	28	6	0.7	50023
		29	8	0.3	86860
		30	6	0.8	45041
1000	Female	31	5	6	53407
		32	6	0.4	89340
		33	6	0.5	53201

N = number of animals in a group

20.1.4 A 28-Day Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of AZ13792925 in Hemizygous RasH2 [CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic] Mice [[redacted]-775038]

Report Title: A 28-Day Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of AZ13792925 in Hemizygous RasH2 [CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic] Mice	**Report No.:** [redacted]-775038	**Test Article:** M1(AZ13792925) and Tenapanor hydrochloride
Species/Strain: Mice/rasH2 [CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic]	**Duration of Dosing:** 28 days	
Initial Age: 7-8 weeks	**GLP Compliance:** Yes	
Date of First Dose: [redacted]h 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral (gavage)	
Vehicle/Formulation: 0.1% polysorbate [Tween®] 80 [w/v] in deionized water (for tenapanor hydrochloride), 0.1% Tween® 80 [w/v] in deionized water with 280 mM hydrochloric acid) (for AZ13792925)		
NOAEL: 250 mg/kg/day for AZ13792925		
Special Features: Dose range finding study for 26-week transgenic mouse carcinogenicity (RDX5791-TX-16). AZ13792925 dose 75, 150 and 250 mg/kg/day, tenapanor hydrochloride dose 400 mg/kg/day		

Findings in Treatment Period

Test Article	**Vehicle**		**AZ13792925**						**Tenapanor hydrochloride**	
Daily Dose (mg/kg)	0		75		150		250		400	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	No test article-related clinical observations, all observations had similar incidence in the control group.									
Body Weight	Body weight was unaffected by test article administration									
Food Consumption	Food consumption was unaffected by test article administration									
Serum Chemistry	No test article-related effects were reported for serum chemistry parameters									
Hematology	No direct test article-related effects were reported for hematology parameters, however some alterations consistent with a stress-response were observed in test article-treated groups									
Necropsy: No test article (AZ13792925 or tenapanor hydrochloride)–related macroscopic findings were reported at Necropsy.										
Organ Weights: No direct effects on organ weight were attributed to the test articles (AZ13792925 or tenapanor hydrochloride)										
Microscopic Examination: No test article (AZ13792925 or tenapanor hydrochloride)–related findings were seen.										

Table continues

Report Title: A 28-Day Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study of AZ13792925 in Hemizygous RasH2 [CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic] Mice		**Report No.:** [redacted]-775038		**Test Article:** M1 (AZ13792925) and Tenapanor hydrochloride (Continued)			
Daily Dose (mg/kg)		75		150		250	
Toxicokinetics of AZ13792925		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Day 1 (first dosing)	t_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	C_{max} (ng/mL)	16900	20700	26300	35600	41200	44100
	Dose-normalized C_{max} (ng/mL)	225	276	175	237	165	176
	AUC_{last} (ng·h/mL)	33900	46100	95300	135000	109000	222000
	Dose normalized AUC_{last} (ng·h/mL)	452	615	635	902	435	889
	$t_{1/2}$ (h)	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 27 (last dosing)	t_{max} (h)	0.5	0.5	1	0.5	0.5	0.5
	C_{max} (ng/mL)	18900	29600	23600	36600	40900	42000
	Dose normalized C_{max} (ng/mL)	252	394	158	244	164	168
	AUC_{last} (ng·h/mL)	46500	107000	233000	315000	201000	439000
	Dose normalized AUC_{last} (ng·h/mL)	620	1420	1550	2100	806	1760
	$t_{1/2}$ (h)	2.1	2.0	2.0	2.3	3.7	7.3†

Study Day 0 AUC_{last} calculated using concentration data through 8 hours post-dose (last collection time point). Study Day 27 AUC_{last} calculated using concentration data through 24 hours post-dose (last collection time point).
NC = not calculable
†: value is an approximation, exceeds blood collection time span divided by 3.3

20.1.5 AZ13792925: Genetic Toxicity Evaluation Using the Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* TA1535, TA100, TA1537 and TA98 and *Escherichia coli* WP2 *uvrA* (pKM101) [3581[redacted]]

Report Title: AZ13792925: Genetic Toxicity Evaluation Using the Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* TA1535, TA100, TA1537 and TA98 and *Escherichia coli* WP2 *uvrA* (pKM101)		**Test Article:** M1 (AZ13792925)
Test for Induction of: reverse mutation in bacterial cells		**Report No.:** 3581[redacted]
Strains: *S. typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) *E. coli* (WP2 *uvrA* (pKM101)		**GLP Compliance:** Yes
Number of Independent Assays: 1	**Cells Analysed/Culture:** Not applicable	**Number of Replicate Cultures:** 5 for vehicle; 3 for AZ13792925 and positive controls
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9, 10%		
Vehicles: For Test Article: DMSO; For all positive controls except sodium azide: DMSO; sodium azide: water		
Treatment: incubation for 72 hours at 37°C		**Date of Treatment:** 07 May[redacted]
Exposure Method: Plate incorporation assay		
Cytotoxic Effects: Evidence of toxicity was observed at ≥500 and/or 1600 µg/plate [1.40 and/or 4.48 µmol/plate] in all strains, in both the absence and presence of S9.		
Genotoxic Effects: None		

Table continues

Test for Induction of: reverse mutation in bacterial cells			**Number of Independent Assays:** 1			**Report No.:**3581BV (Continued)	
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration, µg/plate [µmol/plate]**	**Assay 1: Revertant Colony Counts, Mean ± SD**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA* (pKM101)**
Without S9 Activation	DMSO	100 µL/plate	31.8 ± 9.2	117.4 ± 10.1	24.8 ± 7.8	9.0 ± 5.2	141.8 ± 12.4
	AZ13792925	5 [0.014]	25.7 ± 3.5	104.3 ± 11.0	28.7 ± 7.1	10.7 ± 3.5	155.0 ± 16.8
		16 [0.045]	28.3 ± 10.7	106.0 ± 5.0	31.7 ± 7.6	11.3 ± 1.2	147.7 ± 13.8
		50 [0.14]	25.3 ± 10.0	123.7 ± 6.7	33.0 ± 3.6	9.3 ± 2.5	152.7 ± 10.4
		160 [0.45]	26.7 ± 3.1	114.3 ± 7.1	28.7 ± 10.0	6.0 ± 1.0	145.3 ± 14.5
		500 [1.40]	23.0 ± 2.6	119.0 ± 6.1	29.3 ± 0.6	7.7 ± 1.2	83.0 ± 6.9[c]
		1600 [4.48]	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]
		5000 [14.00]	-[a, b]	-[a, b]	-[a, b]	-[a, b]	-[a, b]
	2NF	5	667.7 ± 205.2	NT	NT	NT	NT
	SA	2	NT	741.3 ± 54.9	647.3 ± 54.6	NT	NT
	9AAD	50	NT	NT	NT	250.7 ± 57.8	NT
	4-Nitroquinoline 1-oxide	2	NT	NT	NT	NT	815.0 ± 82.5
With S9 Activation	DMSO	100 µL/plate	37.4 ± 5.2	109.8 ± 4.1	19.2 ± 4.4	16.0 ± 7.3	200.2 ± 10.3
	AZ13792925	5 [0.014]	39.0 ± 4.4	102.0 ± 3.5	16.0 ± 1.7	15.7 ± 1.2	194.3 ± 7.8
		16 [0.045]	42.7 ± 8.0	108.7 ± 2.3	21.3 ± 2.5	15.7 ± 1.2	192.3 ± 4.5
		50 [0.14]	40.7 ± 4.2	111.3 ± 14.4	13.3 ± 5.1	14.3 ± 4.0	195.0 ± 7.2
		160 [0.45]	43.7 ± 3.5	113.7 ± 6.0	14.0 ± 6.2	20.0 ± 3.5	172.7 ± 16.5
		500 [1.40]	38.0 ± 3.6	75.7 ± 8.1[c]	10.3 ± 7.5	10.7 ± 6.5[c]	128.0 ± 5.0[c]
		1600 [4.48]	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]	20.3 ± 11.9[d]
		5000 [14.00]	-[a, b]	-[a, b]	-[a, b]	-[a, b]	-[a, b]
	Benzo[a]pyrene	10	472.3 ± 61.5	NT	NT	NT	NT
	2-Aminoanthracene	5	NT	985.7 ± 322.5	248.7 ± 27.4	135.3 ± 13.0	NT
		10	NT	NT	NT	NT	853.3 ± 55.7

a:Toxic, no revertant colonies in all plates
b: Precipitation of test article observed in all plates
c: Slight thinning of background bacterial lawn in all plates
d: Very thin background bacterial lawn in all plates

20.1.6 AZ13792925: In Vitro Micronucleus Assay Using L5178Y Cells [3522[redacted]]

Report Title: AZ13792925: In Vitro Micronucleus Assay Using L5178Y Cells		**Test Article:** M1 (AZ13792925)
Assay: Micronucleus assay in L5178Y Cells	**Treatment Schedule:** 3-hour treatment + 21 hours recovery and 24-hour treatment + 24 hours recovery	**Report No.:** 3522[redacted]
Test System: L5178Y tk +/- (3.7.2C) mouse lymphoma cells		**GLP Compliance:** Yes
Route of Administration: In vitro	**Vehicle:** anhydrous analytical grade dimethyl sulphoxide (DMSO)	**Cells Evaluated:** 1000 mononucleate cells/culture
Cytotoxic Effects: At the highest concentrations analysed , 100 µg/mL [0.28 mmol/L] for the 3+21 hour treatment in the absence of S-9 cytotoxicity was 58%; at 95 µg/mL [0.27 mmol/L] for the 3+21 hour treatment in the presence of S-9, 42% cytotoxicity was reported and at 50 µg/mL [0.14 mmol/L] for the 24+24 hour treatment in the absence of S-9, a 48% cytotoxicity was reported.		
Genotoxic Effects: AZ13792925 did not induce micronuclei in L5178Y mouse lymphoma cells in this study when tested up to toxic concentrations for 3+21 hours in the absence and presence of a rat liver metabolic activation system (S-9) and for 24+24 hours in the absence of S-9.		

Table continues

Report Title: AZ13792925: In Vitro Micronucleus Assay Using L5178Y Cells				**Test Article:** M1 (AZ13792925) (Continued)	
Micronucleus Experiment – Results Summary					
Treatment	**Concentration (µg/mL) [mmol/L]**	**Cytotoxicity (%)[a]**	**Mean MNMON Cell Frequency (%)**	**Historical Control Range (%)[b]**	**Statistical Significance[c]**
3 + 21 hour, -S-9	Vehicle	-	0.10	0.00 – 0.64	-
	60.00 [0.17]	6	0.15		NS
	80.00 [0.22]	25	0.50		$p \leq 0.05$
	95.00 [0.27]	40	0.30		NS
	100.0 [0.28]	58	0.40		$p \leq 0.05$
	MMC, 0.30	35	15.00		$p \leq 0.001$
3 + 21 hour, + S-9	Vehicle	-	0.30	0.00 – 0.84	-
	60.00 [0.17]	9	0.35		NS
	80.00 [0.22]	26	0.35		NS
	90.00 [0.25]	38	0.30		NS
	95.00 [0.27]	42	0.20		NS
	CPA, 6.00	57	12.95		$p \leq 0.001$
24+24 hour, -S-9	Vehicle	-	0.20	0.00 – 0.92	-
	20.00 [0.056]	8	0.20		NS
	30.00 [0.084]	16	0.15		NS
	35.00 [0.098]	30	0.30		NS
	40.00 [0.11]	38	0.15		NS
	50.00 [0.14]	48	0.20		NS
	NOS, 35.0	62	1.85		$P \leq 0.001$

a: Based on population doubling
b: 95% reference range
c: Statistical significance comparing treatment concentration response to concurrent vehicle control (Cochran-Armitage Linear Trend)
CPA = cyclophosphamide; NOS = noscapine; NS = not significant; MNMON = micronucleated mononucleate

20.1.7 An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats [[redacted]-775033]

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Test Article:** M1 (AZ13792925)		
Design Similar to ICH 4.1.3: No		**Duration of Dosing:** GD 6-17		**Report No.:** [redacted]-775033		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		**Day of Mating/Insemination:** GD 0		**GLP Compliance:** Yes		
Initial Age: 14 weeks		**Day of Laparohysterectomy:** GD 20		**Method of Administration:** Oral gavage		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		**Vehicle/Formulation:** 0.1% Tween® 80 [w/v] in deionized water with 280 mmol/L HCl				
Special Features: Plasma analysis (GD 17, 0.5 and 24 hr post-dose)						
Daily Dose (mg/kg)		0	30	100	350	750
Dams:	**AZ13792925 GD 17 Mean Plasma Concentrations**					
	0.5 hr postdose (ng/mL)	1.075	19875	57225	88650	84200
	24 hr postdose (ng/mL)	1.091	1608	11213	30800	90800
	No. Evaluated	8	8	8	8	8
	No. Pregnant	7	8	7	8	8
	No. Died or Euthanized *in Extremis*	0	0	0	0	7
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0	1
	Clinical Observations[a]					
	Daily Examinations					
	Rales	0/0	0/0	0/0	1/1	33/8
	Gasping	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
	Red Material Around the Nose	0/0	0/0	0/0	0/0	33/8
	Partial Closure of Eye(s)	0/0	0/0	0/0	0/0	3/2
	Red Vaginal Discharge	0/0	0/0	0/0	0/0	6/4
	1 Hour Following Dosing					
	Prostrate	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
	Rales	0/0	0/0	0/0	0/0	23/8
	Pale Extremities	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
	Red Material Around the Nose	0/0	0/0	0/0	0/0	12/5
	Red Vaginal Discharge	0/0	0/0	0/0	0/0	3/3
	Red Material Around the Mouth	0/0	0/0	0/0	1/1	7/4
	Clear Material Around the Mouth	0/0	0/0	0/0	0/0	8/5

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats					**Test Article:** M1 (AZ13792925) (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)		0	30	100	350	750
Dams:	**Body Weight, g (%)** [b]					
	GD 6	280	276 (-1.4)	275 (-1.8)	281 (0.4)	275 (-1.8)
	GD 9	288	284 (-1.4)	280 (-2.8)	276 (-4.2)	267 (-7.3)
	GD 12	304	297 (-2.3)	297 (-2.3)	286 (-5.9)	264** (-13.2)
	GD 18	363	352 (-3.0)	351 (-3.3)	342 (-5.8)	237 (-34.7)
	GD 20	395	386 (-2.3)	383 (-3.0)	380 (-3.8)	260 (-34.2)
	Body Weight Change, g					
	GD 6-9	8	8	5	-6*	-7**
	GD 9-12	16	13	17	11	-4**
	GD 12-18	60	54	54	56	-20
	GD 6-18	83	75	76	61*	-41
	GD 18-20	32	34	32	37	45
	Food Consumption, g/animal/day					
	GD 6-9	18	20	17	10**	9**
	GD 9-12	20	21	21	15*	10**
	GD 12-18	24	23	23	21	11
	GD 6-18	22	22	21	17**	10
	GD 18-20	23	24	25	28**	14
	Gravid Uterine Weight, g	83.6	82.3	72.8	75.0	0.4
	Necropsy Observations (finding-observed animal/total evaluated animal)					
	Pale Kidneys	0/8	0/8	0/8	0/8	4/8
	Pale Liver	0/8	0/8	0/8	0/8	1/8
	Enlarged Adrenal Glands	0/8	0/8	0/8	0/8	3/8
	Eroded Areas on The Stomach	0/8	0/8	0/8	0/8	3/8
	Red Areas on The Stomach	0/8	0/8	0/8	0/8	1/8
	Red Uterine Contents	0/8	0/8	0/8	0/8	3/8
	Mean No. of Corpora Lutea	17.7	16.6	15.0	16.6	14.0
	Mean No. of Implantations	14.7	14.8	13.4	14.6	14.0
	Mean % Pre-Implantation Loss	15.6	10.2	10.4	11.3	0.0

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats					**Test Article:** M1 (AZ13792925) (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)		0	30	100	350	750
Litters:	**No. Litters Evaluated**	7	8	7	8	0
	Mean No. of Viable Fetuses	14.6	14.1	12.4	14.0	0.0
	Mean No. Resorptions	0.1	0.6	1.0	0.6	14.0
	Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean % Post implantation Loss	1.0	4.3	8.3	4.7	100.0
	Mean % Viable Fetuses	99.0	95.7	91.7	95.4	0.0
	Mean Fetal Body Weight, g (%) [b]					
	Male	3.9	4.0 (2.6)	4.0 (2.6)	3.6 (-7.7)	NA
	Female	3.7	3.7 (0.0)	3.8 (2.7)	3.4 (-8.1)	NA
	Combined	3.8	3.9 (2.6)	3.9 (2.6)	3.5 (-7.9)	NA
	Mean Sex Ratio (% Males per Litter)	43.3	48.5	56.2	46.4	NA
	External Malformations	0	0	0	0	0

* (**) : $p < 0.05$ (0.01) (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)

GD = Gestation day

a: Presented as the total occurrence/number of animals.

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

20.1.8 An Oral (Gavage) Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats [redacted]-775034]

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Test Article:** M1 (AZ13792925)	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		**Duration of Dosing:** G 6-17		**Report No.:** [redacted]-775034	
Initial Age: 13 weeks		**Day of Mating/Insemination:** GD 0		**GLP Compliance:** Yes	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		**Day of Laparohysterectomy:** GD 20		**Design Similar to ICH 4.1.3?:** Yes	
Method of Administration: Oral gavage		**Vehicle/Formulation:** 0.1% Tween® 80 [w/v] in deionized water with 280 mmol/L HCl			
Special Features: Toxicokinetics					
No Observed Adverse Effect Level (NOAEL): F_0 Females: 150 mg/kg/day**; F_1 Litters:** 150 mg/kg/day					
Daily Dose (mg/kg)		0	30	150	400
Dams:	**Toxicokinetics**:				
	Gestation Day 6				
	AUC_{last} (ng·h/mL)	NA	237000	726000	1150000
	C_{max} (ng/mL)	NA	16700	34900	55500
	t_{max} (h)	NA	2	0.5	1
	Gestation Day 17				
	AUC_{last} (ng·h/mL)	NA	247000	897000	1320000
	C_{max} (ng/mL)	NA	17000	52500	89200
	t_{max} (h)	NA	2	0.5	1
Dams:	**Clinical Observations [a]:**				
	No. Evaluated	25	25	25	25
	No. Pregnant	24	24	25	25
	No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	1
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	3
	Daily Examinations				
	Decreased defecation	1/1	0/0	0/0	66/23
	Pale feces	0/0	0/0	0/0	137/25
	Red vaginal discharge	0/0	0/0	0/0	65/24
	Rales	0/0	0/0	5/4	9/6
	Pale Extremities	0/0	0/0	0/0	13/6

Table continues

.

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Report No.:** [redacted]-775034 (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)		0	30	150	400
Dams:	**Clinical Observations[a]**				
	Daily Examinations				
	Red Material Around the Nose	4/3	1/1	4/3	64/18
	Red Material Around Mouth	1/1	0/0	0/0	5/3
	Red Material on Forelimbs	1/1	0/0	0/0	15/10
	1-2 Hours Following Dosing				
	Decreased Defecation	0/0	0/0	0/0	1/1
	Red Vaginal Discharge	0/0	0/0	0/0	8/7
	Rales	0/0	0/0	4/3	12/9
	Red Material Around the Nose	0/0	0/0	0/0	2/2
	Red Material Around Mouth	0/0	1/1	0/0	46/19
	Body Weight, g (%)[b]				
	GD 6	324	325 (0.3)	320 (−1.2)	324 (0.0)
	GD 7	329	329 (0.0)	311** (−5.5)	313** (−4.9)
	GD 18	420	423 (0.7)	410 (−2.4)	340** (−19.0)
	GD 20	454	460 (1.3)	453 (−0.2)	369** (−18.7)
	Body Weight Change, g				
	GD 6-9	12	13	2**	−19**
	GD 9-12	17	18	22	2**
	GD 12-18	66	67	66	31**
	GD 6-18	95	98	90	15**
	GD 18-20	35	37	43	29
	Food Consumption, g/animal/day				
	GD 6-9	23	23	16**	9**
	GD 9-12	23	24	22	12**
	GD 12-18	26	28	25	15**
	GD 6-18	25	26	22**	13**
	GD 18-20	26	28	31	25

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Report No.:** [redacted]-775034 (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)		0	30	150	400
Dams:	**Necropsy Observations**				
	Small Thymus	0	0	0	5
	Pale Kidneys	0	0	0	2
	White Area(s) on Liver	0	0	1	2
	Mean No. of Corpora Lutea	17.8	16.9	16.8	17.1
	Mean No. of Implantations	17.0	16.5	16.2	16.7
	Mean % Pre-implantation Loss	3.7	2.6	3.8	2.3

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Report No.:** [redacted]-775034 (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)		0	30	150	400
Litters:	No. Litters Evaluated	24	24	25	21
	Mean No. of Viable Fetuses	16.5	15.5	15.4	10.1**
	Mean No. Resorptions	0.5	1.0	0.8	6.6
	Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean % Postimplantation Loss	3.5	6.0	5.0	40.1++
	Mean % Viable Fetuses	96.5	94.0	95.0	59.9++
	Mean Fetal Body Weight, g (%)[b]				
	Male	3.8	3.9 (2.6)	3.8 (0.0)	2.4** (−36.8)
	Female	3.7	3.7 (0.0)	3.6 (−2.7)	2.3** (−37.8)
	Combined	3.7	3.8 (2.7)	3.7 (0.0)	2.3** (−37.8)
	Mean Sex Ratio (% Males per Litter)	50.5	48.8	52.3	46.8
	Fetal Anomalies (% per litter)				
	External Malformations				
	Localized Fetal Edema	0.0	0.0	0.0	4.8
	Fetal Anasarca	0.0	0.0	0.0	0.8
	Visceral Malformations				
	Right-sided Aortic Arch	0.0	0.0	0.0	0.3
	Retroesophageal Aortic Arch	0.0	0.0	0.3	0.0
	Skeletal Malformations				
	Costal Cartilage Anomaly	0.0	0.0	0.8	5.5
	Bent Limb Bone(s)	0.0	0.0	0.0	0.4
	Visceral Variations				
	Pale Spleen	0.0	0.3	1.3	6.0
	Small Spleen	0.0	0.2	0.0	1.7
	Skeletal Variations				
	7th Cervical Rib(s)	1.1	3.9	18.4++	56.4++
	Cervical Centrum No. 1 Ossified	21.2	14.6	13.2	0.7++

Table continues

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of AZ13792925 on Embryo/Fetal Development in Rats				**Report No.:** [redacted]-775034 (Continued)	
Daily Dose (mg/kg)		0	30	150	400
Litters:	**Skeletal Variations**				
	Reduced Ossification of the Vertebral Arches	1.0	0.3	0.0	56.0^{++}
	Reduced Ossification of the 13th rib(s)	0.5	1.0	1.9	4.2
	14th Rudimentary rib(s)	11.7	6.0	14.7	30.1^{+}
	Sternebra(e) nos. 1, 2, 3, and/or 4 Unossified	0.0	0.3	0.3	23.1^{++}
	Reduced Ossification of the Skull	0.0	0.0	0.0	18.4^{+}
	Pubis Unossified	0.0	0.0	0.0	4.9
	Sternebra(e) Malaligned (slight or moderate)	0.3	0.3	1.3	3.1
	Sternebra(e) Nos. 5 and/or 6 Unossified	5.5	4.0	20.6^{+}	79.0^{++}

GD = Gestation day

a: Presented as the total occurrence/number of animals.

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

*(**) $p \leq 0.05(0.01)$ (significantly different from the control group mean) (Dunnett's test)

+(++) $p < 0.05(0.01)$ (significantly different from the control group mean) (Dum's test)

20.2 Qualification of Impurities

20.2.1 Toxicological Analysis of Potential Impurities of Tenapanor for Bacterial Mutagenicity Using Derek Nexus and Leadscope [[redacted]002drkls]

Report Title: Toxicological analysis of potential impurities of Tenapanor for bacterial mutagenicity using Derek Nexus and Leadscope				**Report No.:** [redacted]002drkls	**Test Articles:** Tenapanor (AZD1722), metabolites and impurities
In Silico Knowledgebase: Derek KB 2015 2.0 and Derek KB 2018 1.1 (M14 and M15 only)		**Species Evaluated:** *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* (bacteria)		**OECD Principles for Validity Followed?** Yes **Endpoints Searched:** Bacterial mutagenicity **Processing Constraints:** Option to perceive tautomers selected	
Statistical Model: Leadscope Genotox		**Genetic Toxicity Evaluated:** Bacterial mutagenicity, *Salmonella* mutation model (QSAR Salmonella) and *E.coli* – A-T TA102 mutation model (QSAR E.coli/TA102)			
Structure	**Expert rule-based QSAR**	**Statistical Based QSAR**	**M7 Class Assignment**	**Additional Supportive Evidence and Comments**	
不純物Q*	Not required	Not required	1	Known bacterial mutagen. A lifetime AI of 40.6 µg/day has been calculated for benzyl chloride.	
不純物N*	Positive	Positive	3	Accepted positive in silico result. A lifetime AI of 40.6 µg/day has been proposed based on the structures similarity to benzyl chloride.	
不純物K*	Negative	Positive	4	Disputed positive in silico result. This result is considered a false positive based upon the occurrence of the triggering moiety in Ames negative structures.	
不純物P*	Not required	Not required	2	Known bacterial mutagen. A lifetime AI of 1361 µg/day has been calculated for methyl chloride.	
不純物O*	Positive	Positive	3	Accepted positive result. This structure shows potential for bacterial mutagenicity. Based on the TD_{50} of methyl methanesulfonate an acceptable daily amount of 31.8 µg/day was derived.	
不純物L* (free base)	Equivocal	Negative	4	Disputed equivocal in silico result. This result is considered a false positive based upon a known mutagenic solvent artefact.	
不純物R*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物S*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物T*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	

Table continues

*新薬承認情報提供時に置き換え

Report Title: Toxicological analysis of potential impurities of Tenapanor for bacterial mutagenicity using Derek Nexus and Leadscope				**Report No.:** [redacted]002drkls	**Test Articles:** Tenapanor (AZD1722), metabolites and impurities (Continued)
Structure	**Expert rule-based QSAR**	**Statistical Based QSAR**	**M7 Class Assignment**	**Additional Supportive Evidence and Comments**	
不純物U*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物V*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物W*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物A*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
不純物X*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
不純物E*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
不純物G*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
不純物D*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
不純物I*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
不純物Y*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	

Table continues

*新薬承認情報提供時に置き換え

Report Title: Toxicological analysis of potential impurities of Tenapanor for bacterial mutagenicity using Derek Nexus and Leadscope				**Report No.:** [redacted]002drkls	**Test Articles:** Tenapanor (AZD1722), metabolites and impurities (Continued)
Structure	**Expert rule-based QSAR**	**Statistical Based QSAR**	**M7 Class Assignment**	**Additional Supportive Evidence and Comments**	
不純物J*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API and an analogue structure which have been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
不純物C*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
Tenapanor (API)	Negative	Not in Domain	5	Negative empirical result in Ames assay	
不純物Z*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物AA*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物BB*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物CC*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物DD*	Negative	Positive	4	Disputed positive in silico result. This result is considered a false positive based upon the occurrence of the triggering moiety in Ames negative structures.	
不純物EE*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物FF*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物GG*	Negative	Indeterminate	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物HH*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物II*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	
不純物F*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
不純物H*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
不純物JJ*	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	

Table continues

*新薬承認情報提供時に置き換え

Report Title: Toxicological analysis of potential impurities of Tenapanor for bacterial mutagenicity using Derek Nexus and Leadscope				**Report No.:** [redacted]002drkls	**Test Articles:** Tenapanor (AZD1722), metabolites and impurities (Continued)
Structure	**Expert rule-based QSAR**	**Statistical Based QSAR**	**M7 Class Assignment**	**Additional Supportive Evidence and Comments**	
不純物B*	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
M14 (metabolite)	Negative	Not in Domain	5	Negative based on read-across. The impurity lacks obvious reactive potential. All positive structural groupings contained within this structure are found in the API which has been shown to be negative for bacterial mutagenicity.	
M15 (metabolite)	Negative	Negative	5	Negative in silico result. The impurity lacks obvious reactive potential.	

AI = acceptable intake; TD_{50} = medium toxic dose of a drug which toxicity occurs in 50% of cases

*新薬承認情報提供時に置き換え

20.2.2 Toxicity of Impurities: Tenapanor Impurity and Degradant Product Qualification [RDX5791-TX-17]

Report Title: Tenapanor Impurity and Degradant Product Qualification				**Report No.:** RDX5791-TX-17		**Test Article:** Tenapanor hydrochloride drug substance and Tenapanor hydrochloride drug product			
Species		**Sprague-Dawley Rats**			**Beagle Dogs**				
Study ID		RDX5791-TX-05	RDX5791-TX-10	[redacted]-775030	RDX5791-TX-06	RDX5791-TX-11	[redacted]-775031		
Duration of Study		28-day	3-month	6-month	28-day	3-month	9-month		
Tenapanor hydrochloride Lot Used		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
NOAEL (mg/kg/day)		10	5	3	1000	1000	1000	1000	1000
Specified Impurity and Degradation Product	**Specification Limit (%w/w)**	**Impurity Percent Area from CofA (%)[d]**							
不純物A*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物B*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物C*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物D*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物E*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物F*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物G*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物H*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物I* (DS)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物J* (DP)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

Table continues

*新薬承認情報提供時に置き換え

Report Title: Tenapanor Impurity and Degradant Product Qualification		**Report No.:** RDX5791-TX-17			**Test Article:** Tenapanor hydrochloride drug substance and Tenapanor hydrochloride drug product (Continued)				
Species		**Sprague-Dawley Rats**			**Beagle Dogs**				
Study ID		RDX5791-TX-05	RDX5791-TX-10	[redacted]-775030	RDX5791-TX-06	RDX5791-TX-11	[redacted]-775031		
Duration of Study		28-day	3-month	6-month	28-day	3-month	9-month		
Tenapanor hydrochloride Lot Used		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
NOAEL (mg/kg/day)		10	5	3	1000	1000	1000	1000	1000
Specified Impurity and Degradation Product	**Specification Limit (%w/w)**	**Qualification (%)[e]**							
不純物A*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物B*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物C*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物D*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物E*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物F*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物G*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物H*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物I*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物J*	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

a: Duration of use: 272 days (4/18/2013 to 1/15/2014)

b: Duration of use: 118 days (4/19/2013 to 8/15/2013)

c: Duration of use: 50 days (8/16/2013 to 10/5/2013)

d: Impurities and degradation products in the batches used in the toxicology studies were analyzed and quantified using a early developmented HPLC method (Analytical method IRIX-AP-742) by area normalization, assuming same response factor as tenapanor (relative resposne facor of 1). Six impurities, 不純物B* 不純物C* , 不純物E* 不純物F* , 不純物G* and 不純物H* have been determined to have same response factor as tenepnaor (relative response factor of 1) in validation of final HPLC method for late stage clinial trail material tests . The reamining 4 impurities and degradation products, 不純物A* 不純物D* , 不純物I* and 不純物J* were determined to have a relative response factor of 1.4, 0.8, 1.4 and 1.1, respectively. This response factor difference could affect these 4 impurity and degradation product % qualification level and safety margin calucations in tables below by maximum of 40%. However, this will not affact the impurity and degradation product qualification results. Therefore, a correction is not applied to these 4 impurities and degradation products

e: Calculation of the Qualification Percentage used the following formula: Qualified % of impurity and degradation product = (impurity and degradation product percent area from CoA in the tenapanor hydrochloride batch) *(NOAEL)*(human body weight)*(human equivalent dose conversion factor) ÷ (maximum daily dose in humans). The maximum daily dose is 106.4 mg/day.

f: DP value was used in the calucuation.

DP = Drug Product; DS = Drug Substance; NA = Not detected or less than limit of quantitation of 0.05% by % area

*新薬承認情報提供時に置き換え