# ジャイパーカ錠 50mg
# ジャイパーカ錠 100mg

# 2.6.6　毒性試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

# 目次

2.6.6　毒性試験の概要文 1
2.6.6.1　まとめ 1
2.6.6.2　単回投与毒性試験 4
2.6.6.3　反復投与毒性試験 7
2.6.6.3.1　ラットを用いた 14 日間反復投与毒性試験（GLP 非適用） 7
2.6.6.3.1.1　結果の要約 7
2.6.6.3.1.2　目的 7
2.6.6.3.1.3　方法 7
2.6.6.3.1.3.1　試験デザイン 7
2.6.6.3.1.3.2　試験のパラメータ及び評価項目 7
2.6.6.3.1.3.3　用量設定根拠 8
2.6.6.3.1.4　結果 8
2.6.6.3.1.4.1　トキシコキネティクス 8
2.6.6.3.1.4.2　死亡 8
2.6.6.3.1.4.3　体重及び摂餌量の変化 8
2.6.6.3.1.4.4　骨髄の変化 8
2.6.6.3.1.4.5　リンパ系器官の変化 8
2.6.6.3.1.4.6　膵臓の変化 9
2.6.6.3.1.4.7　腎臓及び膀胱の変化 9
2.6.6.3.2　ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 9
2.6.6.3.2.1　結果の要約 9
2.6.6.3.2.2　目的 9
2.6.6.3.2.3　方法 9
2.6.6.3.2.3.1　試験デザイン 9
2.6.6.3.2.3.2　試験のパラメータ及び評価項目 10
2.6.6.3.2.3.3　用量設定根拠 10
2.6.6.3.2.4　結果 10
2.6.6.3.2.4.1　トキシコキネティクス 10
2.6.6.3.2.4.2　死亡 10
2.6.6.3.2.4.3　体重及び摂餌量の変化 13
2.6.6.3.2.4.4　リンパ系器官の変化 13
2.6.6.3.2.4.5　膵臓の変化 13
2.6.6.3.2.4.6　その他の変化 13
2.6.6.3.3　ラットを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験 14
2.6.6.3.3.1　結果の要約 14
2.6.6.3.3.2　目的 14
2.6.6.3.3.3　方法 14
2.6.6.3.3.3.1　試験デザイン 14
2.6.6.3.3.3.2　試験のパラメータ及び評価項目 14
2.6.6.3.3.3.3　用量設定根拠 15
2.6.6.3.3.4　結果 15
2.6.6.3.3.4.1　トキシコキネティクス 15
2.6.6.3.3.4.2　死亡 16
2.6.6.3.3.4.3　体重及び摂餌量の変化 16
2.6.6.3.3.4.4　リンパ系器官の変化 16
2.6.6.3.3.4.5　免疫系の変化 16
2.6.6.3.3.4.6　膵臓の変化 17
2.6.6.3.4　イヌを用いた 14 日間反復投与による用量設定試験（GLP 非適用） 17
2.6.6.3.4.1　結果の要約 17

2.6.6.3.4.2　目的 ..... 17
2.6.6.3.4.3　方法 ..... 17
2.6.6.3.4.3.1　試験デザイン ..... 17
2.6.6.3.4.3.2　試験のパラメータ及び評価項目 ..... 18
2.6.6.3.4.3.3　用量設定根拠 ..... 18
2.6.6.3.4.4　結果 ..... 18
2.6.6.3.4.4.1　トキシコキネティクス ..... 18
2.6.6.3.4.4.2　死亡 ..... 18
2.6.6.3.4.4.3　骨髄の変化 ..... 19
2.6.6.3.4.4.4　リンパ系器官の変化 ..... 19
2.6.6.3.5　イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 ..... 19
2.6.6.3.5.1　結果の要約 ..... 19
2.6.6.3.5.2　目的 ..... 19
2.6.6.3.5.3　方法 ..... 20
2.6.6.3.5.3.1　試験デザイン ..... 20
2.6.6.3.5.3.2　試験のパラメータ及び評価項目 ..... 20
2.6.6.3.5.3.3　用量設定根拠 ..... 20
2.6.6.3.5.4　結果 ..... 21
2.6.6.3.5.4.1　トキシコキネティクス ..... 21
2.6.6.3.5.4.2　死亡 ..... 21
2.6.6.3.5.4.3　一般状態の変化 ..... 21
2.6.6.3.5.4.4　体重及び摂餌量の変化 ..... 22
2.6.6.3.5.4.5　骨髄の変化 ..... 22
2.6.6.3.5.4.6　リンパ系器官の変化 ..... 22
2.6.6.3.5.4.7　消化管の変化 ..... 22
2.6.6.3.5.4.8　心電図の変化 ..... 23
2.6.6.3.5.4.9　肺の変化 ..... 23
2.6.6.3.6　イヌを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験 ..... 23
2.6.6.3.6.1　結果の要約 ..... 23
2.6.6.3.6.2　目的 ..... 23
2.6.6.3.6.3　方法 ..... 23
2.6.6.3.6.3.1　試験デザイン ..... 23
2.6.6.3.6.3.2　試験のパラメータ及び評価項目 ..... 24
2.6.6.3.6.3.3　用量設定根拠 ..... 24
2.6.6.3.6.4　結果 ..... 24
2.6.6.3.6.4.1　トキシコキネティクス ..... 25
2.6.6.3.6.4.2　死亡 ..... 25
2.6.6.3.6.4.3　眼の変化 ..... 25
2.6.6.3.6.4.4　リンパ系器官の変化 ..... 25
2.6.6.3.6.4.5　免疫系の変化 ..... 25
2.6.6.3.6.4.6　その他の変化 ..... 26
2.6.6.4　遺伝毒性試験 ..... 26
2.6.6.4.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 ..... 26
2.6.6.4.1.1　結果の要約 ..... 26
2.6.6.4.1.2　目的 ..... 26
2.6.6.4.1.3　方法 ..... 26
2.6.6.4.1.3.1　試験デザイン ..... 26
2.6.6.4.1.3.2　試験のパラメータ及び評価項目 ..... 27
2.6.6.4.1.4　結果 ..... 27
2.6.6.4.2　チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる in vitro 小核試験（GLP 非適用） ..... 27
2.6.6.4.2.1　結果の要約 ..... 27

2.6.6.4.2.2 目的 ..... 27
2.6.6.4.2.3 方法 ..... 27
2.6.6.4.2.3.1 試験デザイン ..... 27
2.6.6.4.2.3.2 試験のパラメータ及び評価項目 ..... 27
2.6.6.4.2.4 結果 ..... 28
2.6.6.4.3 ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験 ..... 28
2.6.6.4.3.1 結果の要約 ..... 28
2.6.6.4.3.2 目的 ..... 28
2.6.6.4.3.3 方法 ..... 29
2.6.6.4.3.3.1 試験デザイン ..... 29
2.6.6.4.3.3.2 試験のパラメータ及び評価項目 ..... 29
2.6.6.4.3.4 結果 ..... 29
2.6.6.4.4 ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験—蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（FISH）解析によるメカニズム試験 ..... 29
2.6.6.4.4.1 結果の要約 ..... 29
2.6.6.4.4.2 目的 ..... 30
2.6.6.4.4.3 方法 ..... 30
2.6.6.4.4.3.1 試験デザイン ..... 30
2.6.6.4.4.3.2 試験のパラメータ及び評価項目 ..... 30
2.6.6.4.4.4 結果 ..... 30
2.6.6.4.5 ラットを用いた in vivo 哺乳類赤血球小核試験 ..... 30
2.6.6.4.5.1 結果の要約 ..... 30
2.6.6.4.5.2 目的 ..... 31
2.6.6.4.5.3 方法 ..... 31
2.6.6.4.5.3.1 試験デザイン ..... 31
2.6.6.4.5.3.2 試験のパラメータ及び評価項目 ..... 31
2.6.6.4.5.3.3 用量設定根拠 ..... 31
2.6.6.4.5.4 結果 ..... 31
2.6.6.5 がん原性試験 ..... 32
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 ..... 32
2.6.6.6.1 ラットを用いた拡充型胚及び胎児発生に関する予備試験 ..... 32
2.6.6.6.1.1 結果の要約 ..... 32
2.6.6.6.1.2 目的 ..... 32
2.6.6.6.1.3 方法 ..... 32
2.6.6.6.1.3.1 試験デザイン ..... 32
2.6.6.6.1.3.2 試験のパラメータ及び評価項目 ..... 33
2.6.6.6.1.3.3 用量設定根拠 ..... 33
2.6.6.6.1.4 結果 ..... 33
2.6.6.6.1.4.1 トキシコキネティクス ..... 33
2.6.6.6.1.4.2 母動物の死亡 ..... 33
2.6.6.6.1.4.3 母動物の体重及び摂餌量の変化 ..... 33
2.6.6.6.1.4.4 卵巣及び子宮の所見 ..... 33
2.6.6.6.1.4.5 胎児の変化 ..... 34
2.6.6.7 局所刺激性試験 ..... 34
2.6.6.8 その他の毒性試験 ..... 34
2.6.6.8.1 不純物の評価 ..... 34
2.6.6.8.1.1 ラットを用いた不純物安全性確認試験 ..... 35
2.6.6.8.1.1.1 結果の要約 ..... 35
2.6.6.8.1.1.2 目的 ..... 35
2.6.6.8.1.1.3 方法 ..... 35
2.6.6.8.1.1.3.1 試験デザイン ..... 35
2.6.6.8.1.1.3.2 試験のパラメータ及び評価項目 ..... 35

2.6.6.8.1.1.3.3 用量設定根拠 ..... 36
2.6.6.8.1.1.4 結果 ..... 36
2.6.6.8.1.2 ＊不純物B の安全性確認 ..... 36
2.6.6.8.1.3 ＊不純物C の安全性確認 ..... 36
2.6.6.8.1.4 ＊不純物A （[redacted]）の安全性確認 ..... 37
2.6.6.8.2 BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験 ..... 38
2.6.6.8.2.1 結果の要約 ..... 38
2.6.6.8.2.2 目的 ..... 38
2.6.6.8.2.3 方法 ..... 38
2.6.6.8.2.4 結果 ..... 39
2.6.6.9 考察及び結論 ..... 39
2.6.6.9.1 イヌの死亡 ..... 40
2.6.6.9.2 眼の変化 ..... 40
2.6.6.9.3 リンパ系器官の変化 ..... 41
2.6.6.9.4 免疫系の変化 ..... 41
2.6.6.9.5 遺伝毒性（染色体数的異常誘発性） ..... 42
2.6.6.9.6 受胎能並びに胚及び胎児発生への影響 ..... 42
2.6.6.9.7 その他の変化 ..... 43
2.6.6.9.7.1 体重及び摂餌量の変化 ..... 43
2.6.6.9.7.2 赤血球量減少 ..... 43
2.6.6.9.7.3 忍容性の認められない用量でイヌのみに認められた変化 ..... 43
2.6.6.9.7.4 ラットに特異的な膵臓の変化 ..... 44
2.6.6.9.8 曝露量比 ..... 44
2.6.6.9.9 結論 ..... 45
2.6.6.10 参考文献 ..... 46

＊新薬承認情報提供時に置き換え

## 2.6.6　毒性試験の概要文

### 2.6.6.1　まとめ

ピルトブルチニブ（LOXO-305、LY3527727、REDX08608）は、ブルトン型チロシンキナーゼ（Bruton's tyrosine kinase：BTK）を選択的かつ可逆的に阻害する、低分子の非共有結合型 BTK 阻害薬である。適応症、物理化学的特性、及び臨床用量に関する情報は CTD 第 2.2 項を参照のこと。

ピルトブルチニブの毒性試験は、成人の進行がん患者を対象としたピルトブルチニブの 1 日 1 回経口投与をサポートすることを目的として、ICH S9 ガイダンスを参照して計画し、実施した（表 2.6.6-1）。反復投与毒性試験は、ラット及びイヌを用いて最長 3 ヵ月の試験を実施し、回復性は 28 日間試験で評価した。反復投与毒性試験の一環として心血管系、呼吸系、及び中枢神経系の安全性薬理評価項目、並びに免疫毒性の評価を実施した。生殖発生毒性の評価は、胚・胎児発生に関する試験を実施し、受胎能への影響は、反復投与毒性試験での生殖器官への影響に基づき評価した。主要な毒性試験では、ピルトブルチニブのトキシコキネティクス（TK）を評価した。ICH Q3A 又は Q3B の安全性確認の閾値を上回る 3 種類の不純物、すなわち　＊不純物A　（[redacted]）、　＊不純物B　、及び　＊不純物C　について、非臨床試験に基づき安全性を確認した。

主要な毒性試験及び安全性薬理試験は、経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development：OECD）データ相互受入れ合意の加盟国で医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施し、ICH、及び OECD の適用可能なガイドラインを参照した。

動物種選択の妥当性、用量設定、及び投与間隔などの非臨床毒性試験計画を以下に要約する。

- ピルトブルチニブの毒性試験には、ラット及びイヌを用いた。いずれの動物種も標的である野生型 BTK を発現し、ラット及びイヌの BTK のアミノ酸配列は、ヒト BTK と 98%以上の相同性を示す（BlastP による比較）。また、ヒトで検出されたすべてのピルトブルチニブの代謝物がラット又はイヌでも検出された（CTD 第 2.6.4.5 項）。
- 毒性試験での投与経路は、臨床での投与経路と同じ経口投与とした。ピルトブルチニブの消失半減期は、ヒトと比較してラット及びイヌで短いため、十分なピルトブルチニブの曝露量を 24 時間にわたって確実に維持し、曝露量を増加させるため、1 日 2 回（twice a day：BID）投与により毒性試験を実施した。
- ラットでは雌雄で薬物動態（PK）プロファイルが異なるため（CTD 第 2.6.4.3.1.1 項）、雄ではより高い用量を選択した。
- ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験では、無毒性量（no observed adverse effect level：NOAEL）から、毒性変化が誘発される用量、最大耐量（maximum tolerated dose：MTD）を超える用量、又は ICH M3 で推奨される限界用量を含む用量範囲を評価した。
- 毒性試験には、ピルトブルチニブフリー体の結晶体又は溶解度を向上させるため非晶質を維持した噴霧乾燥分散（spray-dried dispersion：SDD）剤を使用し、用量及び濃度はフリー体当量で示した。投与溶媒には特に記載がないかぎり 0.5%（w/v）ヒドロキシプロピルメチルセルロース（hydroxypropyl methylcellulose：HPMC）水溶液を用いた。



＊新薬承認情報提供時に置き換え

## 表 2.6.6-1. ピルトブルチニブについて実施した毒性試験プログラムの概要

| 試験種 | 動物種／系統 | 投与方法及び用量 | GLP 適用の有無 | 試験実施施設 | 報告書番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| **反復投与毒性試験** | | | | | |
| 14 日間 DRF 予備試験及び TK | ラット／Wistar Han[a] | BID PO 投与 3 日間 DRF 試験に続く 14 日間 BID PO 投与 | 非適用 | [redacted] UK | LOXO-305-TOX-001 |
| 14 日間予備及び TK | ラット／Sprague Dawley | BID PO 投与<br>M：0、250、500、1000 mg/kg<br>F：0、75、175、375 mg/kg | 非適用 | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-003 |
| 28 日間及び TK 並びに 28 日間回復 | ラット／Sprague Dawley | BID PO 投与<br>M：0、50、150、500 mg/kg<br>F：0、20、60、175 mg/kg | 適用 | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-007 |
| 3 ヵ月間及び TK 並びに免疫毒性 | ラット／Sprague Dawley | BID PO 投与<br>M：0、50、500 mg/kg<br>F：0、60、300 mg/kg | 適用 | [redacted] Canada | LOXO-305-TOX-018 |
| 14 日間 DRF 及び予備並びに TK | イヌ／ビーグル | BID PO 投与 DRF 試験に続く 14 日間 BID PO 投与 | 非適用 | [redacted] UK | LOXO-305-TOX-002 |
| 14 日間予備及び TK | イヌ／ビーグル | BID PO 投与<br>0、15、35/70、60/120 mg/kg | 非適用 | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-004 |
| 28 日間及び TK 並びに 28 日間回復 | イヌ／ビーグル | BID PO 投与<br>0、10/5、30/10、90/60 mg/kg | 適用 | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-008 |
| 3 ヵ月間及び TK 並びに免疫毒性 | イヌ／ビーグル | BID PO 投与<br>0、0.5、2.5、5 mg/kg | 適用 | [redacted] Canada | LOXO-305-TOX-017 |
| **遺伝毒性試験** | | | | | |
| 細菌を用いる復帰突然変異試験 | In vitro／ネズミチフス菌及び大腸菌 | 0～5000 µg | 適用 | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-009 |
| 小核試験 | In vitro／CHO 細胞 | 0～130 µg/mL | 非適用 | [redacted] China | LOXO-305-TOX-013 |
| 小核試験 | In vitro／HPBL | 0～225 µg/mL | 適用 | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-010 |
| 小核試験（セントロメア染色含む） | In vitro／HPBL | 0～16 µg/mL | 適用 | [redacted] England | LOXO-305-TOX-014 |
| ラット予備小核試験 | ラット／Sprague Dawley | 単回投与<br>0、500、1000、2000 mg/kg | 適用 | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-015 |
| ラット小核試験 | ラット／Sprague Dawley | 単回投与<br>0、250、500、1000、2000 mg/kg | 適用 | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-016 |

| 試験種 | 動物種／系統 | 投与方法及び用量 | GLP 適用の有無 | 試験実施施設 | 報告書番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| **生殖発生毒性試験** | | | | | |
| 胚及び胎児発生に関する試験 | 妊娠ラット／Sprague Dawley | BID PO 投与<br>0、25、75、375、500 mg/kg | 適用 | [redacted]<br>Canada | LOXO-305-TOX-019 |
| **その他の試験** | | | | | |
| 光毒性試験 | In vitro／マウス線維芽細胞 | BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験<br>0～178 µg/mL | 適用 | [redacted]<br>USA | LOXO-305-TOX-005 |
| 不純物安全性確認試験 | ラット／Sprague Dawley | 不純物（ ＊不純物B 及び ＊不純物C ）<br>BID PO 投与<br>0、300 mg/kg | 適用 | [redacted]<br>Canada | LOXO-305-TOX-020 |
| 細胞を用いる不純物の復帰突然変異試験[b] | In vitro／ネズミチフス菌及び大腸菌 | 0～5000 µg | 適用 | [redacted]<br>USA | AG22LN.502E.BTL<br>AG18ZL.502E.BTL<br>AG22LM.502E.BTL<br>AG34KC.502E.BTL<br>AG22LP.502E.BTL<br>AG13AC.502E.BTL<br>AG29ZD.502E.BTL<br>AG54MP.502E.BTL |
| | | | | [redacted]<br>Japan | USA-R-20079<br>USA-R-20080 |
| | | | | [redacted]<br>USA | 00353562<br>00353566 |

略語：BID = 1 日 2 回、CHO = チャイニーズハムスター卵巣、DRF = 用量設定、F = 雌、HPBL = ヒト末梢血リンパ球、M = 雄、PO = 経口、TK = トキシコキネティクス

[a] 毒性試験実施施設を [redacted] UK から [redacted] USA に移行したとき、ラットの系統を Wistar Han から Sprague Dawley に変更した。

[b] これらの試験は、ピルトブルチニブの合成に関連する不純物について実施した。

毒性試験成績の概要を以下に示す。

- ラット及びイヌを用いた 1 及び 3 ヵ月間反復投与毒性試験では以下の主な所見が認められた。
  - ・ ラット及びイヌでリンパ系器官の変化（小型化、重量減少、細胞密度低下など）
  - ・ ラット及びイヌで B 細胞及びその他の免疫系機能マーカーの低値
  - ・ イヌ 28 日間反復投与試験での死亡（臨床曝露量[1]に相当する用量で発現）
  - ・ イヌ 3 ヵ月間反復投与毒性試験での角膜病変
- 28 日間反復投与毒性試験で回復性を評価し、すべての所見に回復性が認められた。
- ピルトブルチニブは細菌を用いる変異原性（Ames）試験及びラットを用いた in vivo 小核試験で陰性であった。ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験ではピルトブルチニブによる小核誘発が認められ、染色体数的異常誘発性に起因することが示された。
- ピルトブルチニブのがん原性試験は実施していないが、反復投与毒性試験では、増殖性変化

[1] ヒトに臨床推奨用量である 200 mg を 1 日 1 回（QD）経口投与したときの定常状態の $AUC_{0\text{-}24}$（91300 ng·h/mL、CTD 第 2.6.6.9.8）との比較。



＊新薬承認情報提供時に置き換え

などのがん原性リスクを示唆する変化は認められなかった。

- ラットを用いた胚及び胎児発生に関する試験で、ピルトブルチニブは、着床後胚損失率上昇、胎児体重減少、並びに腎臓、尿路、卵巣、子宮、及び骨の奇形及び変異を誘発した。
- In vitro 3T3 ニュートラルレッド取込み光毒性試験で、ピルトブルチニブは光毒性を示さなかった。
- 遺伝毒性を除き、上記の所見はいずれもヒトに臨床曝露量[1]に相当する用量で発現した。非結合型濃度で比較したとき、ラットで遺伝毒性が認められなかった最大用量での $C_{max}$ は、臨床使用時の 12 倍であった。
- ピルトブルチニブで規格設定された不純物のうち、ICH Q3A 又は Q3B の安全性確認閾値を上回る 3 種類の不純物（ ＊不純物A　[redacted] 、 ＊不純物B 、及び ＊不純物C ）について安全性確認を実施し、各不純物の規格値までの安全性が確認された。

### 2.6.6.2　単回投与毒性試験

ピルトブルチニブの単回投与毒性試験は実施せず、反復投与毒性試験の初回投与後の所見、及びラット小核試験の所見から急性毒性を評価した。表 2.6.6-2 にその一覧を示す。正常動物を用いたピルトブルチニブの毒性試験では、初回投与後にピルトブルチニブ投与に関連した死亡又は切迫屠殺は認められなかった。ラット 28 日間反復投与毒性試験では、単回投与後に群の 1 例が死亡したが（表 2.6.6-2）、当該試験では、高用量群を含め初回投与後に認められた一般状態所見は少なく、死亡例も認められなかったため、TK 群の 1 例の死亡が投与関連である可能性は低いと考えられた。したがって、ラット及びイヌでの概略の致死量は、それぞれ投与した最高用量である 2000 mg/kg 超、及び 90 mg/kg 超と考えられた。

なお、14 日間の観察期間を伴った単回投与毒性試験は実施しなかったため、OECD ガイドライン 425 の定義による、初回投与後 14 日間の致死性に基づくピルトブルチニブの致死量（$LD_{50}$）は求められなかったが、14 日間反復投与毒性試験において、イヌでは、35 mg/kg BID まで（CTD 第 2.6.6.3.4 項）、ラットでは、375 mg/kg BID まで（CTD 第 2.6.6.3.1 項）忍容性が認められたことから、イヌ及びラットの $LD_{50}$ はそれぞれ 35 mg/kg BID 以上及び 375 mg/kg BID 以上と考えられた。表 2.6.6-2 にはより高い用量が記載されている場合もあるが、その用量では動物で 14 日間以上にわたっては忍容性が認められなかったか、又は試験期間が 14 日未満であったことから、$LD_{50}$ 値に関する情報を提供するものではなかった。

## 表 2.6.6-2. ピルトブルチニブの反復投与毒性試験及び単回投与遺伝毒性試験での 1 日目の所見の要約

| 報告書番号 | 試験 | 1 日目に検討した最高用量 | 1 日目の死亡 | 個々の動物での 1 日目の一般状態の変化 |
|---|---|---|---|---|
| LOXO-305-TOX-001 | ラット 14 日間予備及び TK | 500 mg/kg BID | なし | R0802、150 mg/kg BID：被毛菲薄化 |
| LOXO-305-TOX-003 | ラット 14 日間予備及び TK | M：1000 mg/kg BID<br>F：375 mg/kg BID | なし | なし |
| LOXO-305-TOX-007 | ラット 28 日間及び TK 並びに回復 | M：500 mg/kg BID<br>F：175 mg/kg BID | R0618、60 mg/kg BID TK 用動物瀕死屠殺* | R0202、150 mg/kg BID、被毛菲薄化 |
| LOXO-305-TOX-018 | ラット 3 ヵ月間及び TK 並びに免疫毒性 | M：500 mg/kg BID<br>F：300 mg/kg BID | なし | 1012、対照：痂皮<br>1013、対照：痂皮<br>2004、50 mg/kg BID：痂皮<br>2013、50 mg/kg BID：被毛汚れ |
| LOXO-305-TOX-002 | イヌ 14 日間予備及び TK | 75 mg/kg BID | なし | なし |
| LOXO-305-TOX-004 | イヌ 14 日間予備及び TK | 60 mg/kg BID | なし | D0001、対照：無形便（群所見）<br>D0002、対照：投与中のもがき<br>D0101、15 mg/kg BID：投与中のもがき<br>D0101、15 mg/kg BID：無形便（群所見）<br>D0102、15 mg/kg BID：無形便（群所見） |
| LOXO-305-TOX-008 | イヌ 28 日間及び TK 並びに回復 | 90 mg/kg BID | なし | D0102、10 mg/kg BID：投与中のもがき及び異常発声<br>D0105、10 mg/kg BID：透明眼分泌物<br>D0204、30 mg/kg BID：嘔吐<br>D0602、30 mg/kg BID：痂皮 |
| LOXO-305-TOX-017 | イヌ 3 ヵ月間及び TK 並びに免疫毒性 | 5 mg/kg BID | なし | 4004、5 mg/kg BID：軟便<br>2502、0.5 mg/kg BID：後肢の限定的使用<br>3502、2.5 mg/kg BID：頚部腫脹 |

| 報告書番号 | 試験 | 1 日目に検討した最高用量 | 1 日目の死亡 | 個々の動物での 1 日目の一般状態の変化 |
|---|---|---|---|---|
| LOXO-305-TOX-015 | ラット予備的小核試験 | 2000 mg/kg | なし | 粗毛<br>対照：雄 4 例、雌 3 例<br>500 mg/kg：雄 9 例、雌 1 例<br>1000 mg/kg：雄 6 例、雌 4 例<br>2000 mg/kg：雄 0 例、雌 9 例<br>立毛<br>対照：なし<br>500 mg/kg：雄 1 例、雌 2 例<br>1000 mg/kg：雄 7 例、雌 2 例<br>2000 mg/kg：雄 11 例、雌 3 例 |
| LOXO-305-TOX-016 | ラット小核試験 | 2000 mg/kg | なし | 立毛<br>対照：雄 1 例、雌 0 例<br>250 mg/kg：雄 1 例、雌 0 例<br>500 mg/kg：雄 0 例、雌 1 例<br>1000 mg/kg：雄 1 例、雌 3 例<br>2000 mg/kg：雄 2 例、雌 5 例 |

略語：BID = 1 日 2 回、F = 雌、M = 雄、TK = トキシコキネティクス
*：他の試験のいずれの用量でも死亡／瀕死屠殺は認められなかったことから、ピルトブルチニブ投与に関連しないと判断した。

### 2.6.6.3　反復投与毒性試験

#### 2.6.6.3.1　ラットを用いた 14 日間反復投与毒性試験（GLP 非適用）

LOXO-305-TOX-003 試験（4.2.3.2.1）、概要表 2.6.7.6A

##### 2.6.6.3.1.1　結果の要約

ピルトブルチニブを Sprague Dawley（SD）系ラットに、雄は 0、250、500、又は 1000 mg/kg BID、雌は 0、75、175、又は 375 mg/kg BID の用量で、14 日間強制経口投与した。曝露量は雌雄ともにおおむね用量の増加に伴い増加した。雌の用量は雄より低かったにもかかわらず、曝露量はおおむね雄より雌で高かった。ピルトブルチニブ投与に関連した所見として、体重の軽度の減少、リンパ系器官の変化、骨髄の変化、及びラットに特異的な膵臓の変化が認められた。骨髄の毒性変化が 1000 mg/kg BID 群の雄及び 175 mg/kg BID 群で認められたため、NOAEL は雄で 500 mg/kg BID、雌で 75 mg/kg BID であった。

##### 2.6.6.3.1.2　目的

本試験は、ピルトブルチニブを SD 系ラットに 14 日間以上 BID 強制経口投与したときの毒性及び TK を評価するために実施した。

##### 2.6.6.3.1.3　方法

###### 2.6.6.3.1.3.1　試験デザイン

雌雄の SD 系ラットに、ピルトブルチニブを 10 mL/kg/回又は 20 mL/kg/日の投与容量で 14 日間、BID 強制経口投与した。試験デザインを表 2.6.6-3 に示す。

**表 2.6.6-3. ラット 14 日間反復投与毒性試験のデザイン**

| | 動物数 | | | | | 用量 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 毒性試験 | | TK 試験 | | | mg/kg BID[a] | | mg/kg/日 | |
| 群番号 | M | F | M | F | 被験物質 | M | F | M | F |
| 1 | 5 | 5 | 0 | 0 | 対照[b] | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 5 | 5 | 6 | 6 | ピルトブルチニブ | 250 | 75[c] | 500 | 150 |
| 3 | 5 | 5 | 6 | 6 | ピルトブルチニブ | 500 | 175 | 1000 | 350 |
| 4 | 5 | 5 | 6 | 6 | ピルトブルチニブ | 1000 | 375 | 2000 | 750 |

略語：BID = 1 日 2 回、F = 雌、M = 雄、TK = トキシコキネティクス

[a] 1 日 2 回の投与は、12 時間 ± 30 分の間隔で実施した（雌雄それぞれ、各群で最初の動物に投与した時間に基づく）。

[b] 対照群には溶媒を投与した。

[c] 1 日目の投与液の濃度確認試験で、75 mg/kg 群の投与液の測定値が既定の濃度範囲を下回ったため、投与 1 日目の実際の投与液濃度は設定値の 74%～81%であった。最終投与日の投与液濃度は既定の濃度範囲内であり、投与期間中の大部分で既定の用量が投与されたと考えられる。

###### 2.6.6.3.1.3.2　試験のパラメータ及び評価項目

本試験では、以下のパラメータ及び評価項目を評価した。

- 生死確認
- 一般状態
- 体重
- 摂餌量
- 器官重量
- 剖検
- 病理組織学的検査
- トキシコキネティクス

- 臨床検査

#### 2.6.6.3.1.3.3　　用量設定根拠

用量は、ラットでのピルトブルチニブの忍容性を評価するために設定した。雌でより高い曝露量が認められため、雌では雄より低い用量を設定した。

### 2.6.6.3.1.4　結果

本試験で認められた重要な変化について本項に示す。本項で考察しなかった評価項目を含め、毒性試験成績の概要は概要表 2.6.7.6A に示す。

#### 2.6.6.3.1.4.1　　トキシコキネティクス

本試験の TK の結果は概要表 2.6.7.6A を、TK に関する考察は CTD 第 2.6.4.3.3.1 項を参照のこと。

#### 2.6.6.3.1.4.2　　死亡

ピルトブルチニブ投与に関連した死亡は発現しなかった。

#### 2.6.6.3.1.4.3　　体重及び摂餌量の変化

対照群と比較して軽度の体重及び体重増加量の減少が、すべての用量群で雄に認められ、それに伴って摂餌量が軽度に減少した。雌では体重及び摂餌量の変化は認められなかった。

#### 2.6.6.3.1.4.4　　骨髄の変化

病理組織学的検査で、骨髄に軽微から軽度の細胞密度低下が、175 mg/kg BID 以上の群の雌 3 例及び 1000 mg/kg BID 群の雄 1 例に認められ、毒性変化と判断した。

1000 mg/kg BID 群の雄 1 例で見られた細胞密度低下は主に好中球の低下によるものであり、末梢血中の白血球減少を伴っていた。雄で認められた細胞密度低下は、尿路感染、前立腺の大型膿瘍、及び化膿性前立腺炎に関連する炎症性変化に起因すると考えられた。

雌では、175 mg/kg BID 群の 1 例、及び 375 mg/kg BID 群の 2 例で、細胞密度低下が認められた。細胞密度低下はすべての細胞系統で認められ、それに伴って髄洞の拡張及びうっ血が認められた。375 mg/kg BID 群の 1 例では、尿路感染に一致する腎盂及び膀胱の炎症性変化も認められた。375 mg/kg BID 群の雌では軽度の赤血球量減少も認められたが、これが骨髄の変化に関連していたか否かは不明である。

#### 2.6.6.3.1.4.5　　リンパ系器官の変化

病理組織学的検査で、脾臓、リンパ節、及び腸管関連リンパ組織（gut-associated lymphoid tissue：GALT）のリンパ球枯渇並びにリンパ節内赤血球貪食が、すべての用量の雌雄で認められた。胸腺重量減少が 375 mg/kg BID 群の雌で認められた。脾臓重量の減少が 250 及び 500 mg/kg BID 群の雄で認められたが、1000 mg/kg BID 群では認められなかった。500 mg/kg BID 以下の群の雄及び 75 mg/kg BID 群の雌でのこれらの所見は、リンパ球枯渇の重症度が軽微であり、その二次

的変化である感染症が認められなかったこと、及び動物の健康状態に影響を及ぼさなかったことから、毒性変化ではないと考えられた。1000 mg/kg BID 群の雄及び 175 mg/kg BID 以上の群の雌で発現したこれらの所見は重症度がより高く、雌雄各 1 例での二次的な感染症発現に関与した可能性がある。

#### 2.6.6.3.1.4.6　膵臓の変化

病理組織学的検査で、膵島の局所的出血及び線維化が、1000 mg/kg BID 群の雄で認められた。これは既知のラット特異的背景変化が悪化したものと考えられた(Erickson et al. 2017; Bhaskaran et al. 2018)。これらの膵臓の変化は、重症度が低く、局所的又は多巣性の所見であり、変化が認められた膵島の比率が低かった。また、動物の健康状態に明らかな影響を及ぼさなかったことから、毒性変化ではないと判断した。なお、他の BTK 阻害薬を高用量で長期に曝露した試験でも、耐糖能などの機能的評価項目への影響は認められていない(Bhaskaran et al. 2018)。

#### 2.6.6.3.1.4.7　腎臓及び膀胱の変化

腎盂腎炎並びに膀胱の軽度の粘膜過形成、粘膜下浮腫、及び単核細胞浸潤が、375 mg/kg BID 群の雌 1 例で認められ、毒性変化と判断した。

### 2.6.6.3.2　ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験及び 28 日間回復性試験

LOXO-305-TOX-007 試験（4.2.3.2.2）、概要表 2.6.7.7A

#### 2.6.6.3.2.1　結果の要約

ピルトブルチニブを SD 系ラットに、雄は 0、50、150、又は 500 mg/kg BID、雌は 0、20、60、又は 175 mg/kg BID の用量で、28 日間強制経口投与した。すべての用量に休薬群を設け、28 日間の休薬による毒性の回復性を評価した。雄での曝露量は 150 mg/kg BID までの用量では用量の増加に伴い増加したが、150 mg/kg BID から 500 mg/kg BID の間では、ほとんど増加が認められなかった。雌での曝露量は、検討した最高用量の 175 mg/kg BID まで、おおむね用量の増加に伴い増加した。雌の用量は雄より低かったにもかかわらず、曝露量はおおむね雄より雌で高かった。ピルトブルチニブ投与に関連した所見として、体重の軽度の減少、軽度のリンパ系器官の変化、及びラットに特異的な膵臓の変化が認められた。所見の重症度は軽度で、動物の健康状態への影響が認められなかったことから、認められた所見はすべて毒性変化ではないと判断した。したがって、NOAEL は雄では 500 mg/kg BID、雌では 175 mg/kg BID であった。

#### 2.6.6.3.2.2　目的

本試験は、ピルトブルチニブを SD 系ラットに 28 日間以上 BID 強制経口投与したときの毒性及び TK を評価するとともに、28 日間の休薬期間による毒性の回復性を評価するために実施した。

#### 2.6.6.3.2.3　方法

##### 2.6.6.3.2.3.1　試験デザイン

雌雄の SD 系ラットに、ピルトブルチニブを 10 mL/kg/回又は 20 mL/kg/日の投与容量で、28 日間 BID 強制経口投与した。試験デザインを表 2.6.6-4 に示す。

表 2.6.6-4. GLP 適用ラット 28 日間反復投与毒性試験のデザイン

| 群番号 | 動物数 | | | | 被験物質 | 用量 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 毒性試験 [a] | | TK 試験 | | | mg/kg BID[b] | | mg/kg/日 | |
| | M | F | M | F | | M | F | M | F |
| 1 | 15 | 15 | 3 | 3 | 対照 [c] | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 15 | 15 | 6 | 6 | ピルトブルチニブ | 50 | 20 | 100 | 40 |
| 3 | 15 | 15 | 6 | 6 | ピルトブルチニブ | 150 | 60 | 300 | 120 |
| 4 | 15 | 15 | 6 | 6 | ピルトブルチニブ | 500 | 175 | 1000 | 350 |

略語：BID = 1 日 2 回、F = 雌、M = 雄、TK = トキシコキネティクス

a　生存状況に応じ、雌雄それぞれ最大 5 例／群は、28 日間の BID 投与の後、28 日間の休薬期間をおき、回復性評価に用いた。

b　1 日 2 回の投与は、12 ± 1 時間の間隔で実施した。

c　対照群には溶媒を投与した。

#### 2.6.6.3.2.3.2　試験のパラメータ及び評価項目

以下のパラメータ及び評価項目を評価した。

- 生死確認
- 一般状態
- 体重
- 摂餌量
- 眼科学的検査
- 機能観察総合評価法（FOB）検査
- 自発運動量
- 臨床検査
- 剖検
- 器官重量
- 病理組織学的検査
- トキシコキネティクス

#### 2.6.6.3.2.3.3　用量設定根拠

雌雄のラットにピルトブルチニブを 3 回反復経口投与した PK 試験では、500 mg/kg の用量で吸収の飽和が示唆された（CTD 第 2.6.4.3.2.1 項）。ラット 14 日間反復投与毒性試験（CTD 第 2.6.6.3.1 項）成績では、雄では 500 mg/kg BID から 1000 mg/kg BID の間で、雌では 175 mg/kg BID から 375 mg/kg BID の間で曝露量がほとんど増加しなかったため、これを上回る用量での検討の意義は低いと考えられた。したがって、本試験の高用量は、雄で 500 mg/kg BID、雌で 175 mg/kg BID とした。

### 2.6.6.3.2.4　結果

本試験で認められた重要な変化について本項に示す。本項で考察しなかった評価項目を含め、毒性試験成績の概要は概要表 2.6.7.7A に示す。

#### 2.6.6.3.2.4.1　トキシコキネティクス

本試験の TK の結果は概要表 2.6.7.7A を、TK に関する考察は CTD 第 2.6.4.3.3.1 項を参照のこと。

#### 2.6.6.3.2.4.2　死亡

ピルトブルチニブ投与に関連した死亡は認められなかった。

投与 22 日目に、175 mg/kg BID 群の雌 1 例（R0702）が死亡し、175 mg/kg BID 群の雌 1 例（R0701）が瀕死屠殺に至った。175 mg/kg BID 群の雌 1 例（R0711）が休薬 3 日目に瀕死屠殺に至った。これらの動物の詳細を表 2.6.6-5 に示す。肺、心臓、胸腺、又はこのうち 2 つ以上の器官で剖検所見及び病理組織学的所見が認められ、食道に内出血及び穿孔の所見が認められたことから、これらの死亡は強制経口投与の操作による傷害に起因するものであり、ピルトブルチニブ投与に関連しないものと判断した。

## 表 2.6.6-5. LOXO-305-TOX-007 試験での途中死亡

| | | | |
|---|---|---|---|
| **R0701：175 mg/kg BID 群の雌、投与 22 日目に瀕死屠殺** | | | |
| **一般状態の変化** | 円背位 | 努力性呼吸 | 立毛 |
| **臨床検査** | 白血球数減少<br>すべての白血球分画で絶対数減少 | トリグリセリド増加<br>クロール減少 | クレアチンキナーゼ減少<br>グルコース増加 |
| **肉眼所見** | 食道の顕著な内出血及び穿孔 | | |
| **剖検所見** | 肺の癒着 | | |
| **病理組織学的所見**<br>*心臓*：重度の心外膜混合細胞性炎症<br>*肺*：中等度の胸膜混合細胞性炎症 | *腸間膜リンパ節*：軽度のリンパ球壊死及び枯渇<br>*大腿骨骨髄*：軽微な細胞密度低下<br>*胸骨骨髄*：軽微な細胞密度低下 | *脾臓*：軽度の白脾髄リンパ球減少<br>*胸腺*：中等度のリンパ球枯渇及び壊死<br>*細菌の存在*：心臓、胸腺 | |
| **R0702：175 mg/kg BID 群の雌、投与 22 日目に死亡** | | | |
| **肉眼所見** | 食道の顕著な内出血及び穿孔 | | |
| **剖検所見** | 肺の癒着 | | |
| **病理組織学的所見**<br>*心臓*：中等度の心外膜混合細胞性炎症<br>*肺*：重度の出血<br>*肺*：中等度の胸膜混合細胞性炎症 | *下顎リンパ節*：軽度のリンパ球壊死及び枯渇<br>*腸間膜リンパ節*：軽度のリンパ球壊死及び枯渇<br>*大腿骨骨髄*：軽微な細胞密度低下<br>*胸骨骨髄*：軽微な細胞密度低下 | *脾臓*：軽度の白脾髄リンパ球減少<br>*胸腺*：中等度のリンパ球枯渇及び壊死<br>*胸腺*：軽度の混合細胞性炎症<br>*細菌の存在*：心臓、肺、胸腺 | |
| **R0711：175 mg/kg BID 群の雌、休薬 3 日目に瀕死屠殺** | | | |
| **一般状態の変化** | 円背位<br>活動性低下 | 斜視<br>耳蒼白 | 立毛 |
| **臨床検査**<br>白血球数減少<br>すべての白血球画分で絶対数減少 | 赤血球量減少<br>網状赤血球減少<br>血小板減少<br>総タンパク減少 | アルブミン減少<br>アルブミン：グロブリン比低下<br>コレステロール減少 | クレアチンキナーゼ減少<br>アルカリホスファターゼ減少<br>カリウム減少 |
| **剖検所見** | 心嚢の肥厚及び癒着 | 肺の癒着 | 唾液腺硬化 |
| **病理組織学的所見**<br>*副腎皮質*：軽度の肥大<br>*心臓*：極めて重度の心外膜線維化<br>*心臓*：重度の心外膜混合細胞性炎症<br>*肝臓*：軽度の単核細胞浸潤<br>*肺*：重度の胸膜及び胸膜下線維化<br>*肺*：軽度の出血<br>*肺*：重度の胸膜混合細胞性炎症 | *下顎リンパ節*：重度の被膜線維化<br>*下顎リンパ節*：軽度の出血<br>*下顎リンパ節*：重度の混合細胞性炎症<br>*腸間膜リンパ節*：軽度のリンパ球壊死及び枯渇<br>*乳腺*：中等度のマクロファージ浸潤及び切片内リンパ組織の被膜下洞内浸潤（組織球増加） | *顎下腺*：中等度の混合細胞性炎症<br>*膵臓*：軽微な線維化<br>*脾臓*：軽度の白脾髄リンパ球減少<br>*膀胱*：軽微な出血<br>*膀胱*：軽度の移行細胞過形成<br>*膀胱*：軽度の単核細胞浸潤<br>*細菌の存在*：心臓、肺、下顎リンパ節 | |

略語：BID = 1 日 2 回

#### 2.6.6.3.2.4.3　　体重及び摂餌量の変化

以下のピルトブルチニブ投与に関連した体重及び摂餌量の変化が雄に認められた。

- 150 mg/kg BID 以上の群で投与終了時の体重が低下した。
- 500 mg/kg BID 群で 1～15 日目に摂餌量の有意な減少が認められた。
- 50 mg/kg BID 群では投与 1 週目の体重増加量が有意に低下した。

すべての体重及び摂餌量の変化は、休薬期間中に回復するか又は回復の傾向を示した。

#### 2.6.6.3.2.4.4　　リンパ系器官の変化

脾臓又はリンパ節に、以下のピルトブルチニブ投与に関連した変化が認められた。

- 150 mg/kg BID 以上の群の雄及び 60 mg/kg BID 以上の群の雌で白脾髄の軽微なリンパ球減少が認められ、175 mg/kg BID 群の雌では血中リンパ球数減少を伴っていた。
- すべての用量群の雌雄で、対照群と比較して最大で 30%の脾臓重量減少が認められた。
- 175 mg/kg BID 群の雌で腸間膜リンパ節に軽微なリンパ球減少が認められた。
- すべての用量群の雌雄で、腸間膜リンパ節に軽微から軽度の赤血球貪食及びリンパ節洞内赤血球が認められた。

すべての変化は休薬期間中に回復するか又は回復の傾向を示した。これらの所見は、重症度が低く、動物の健康状態に影響を及ぼさなかったことから、毒性変化ではないと判断した。

#### 2.6.6.3.2.4.5　　膵臓の変化

すべての用量群で、以下に示す膵臓の変化が認められた。これらはラットに特異的な背景病変がピルトブルチニブ投与により悪化したもので(Erickson et al. 2017; Bhaskaran et al. 2018) 、ヒトへの外挿性は低いと考えられる。

- 軽微から中等度の混合細胞性炎症
- 軽微から中等度の線維化
- 軽微から中等度の出血
- 軽微から軽度の色素
- 軽微から軽度の腺房萎縮

すべての変化は休薬期間中に回復した。これらの膵臓の変化は、動物の健康状態に影響を及ぼさなかったこと、また耐糖能などの機能的評価項目に影響を及ぼさなかったことから、毒性変化ではないと判断した(Bhaskaran et al. 2018)。

#### 2.6.6.3.2.4.6　　その他の変化

血液学的及び血液生化学的パラメータに以下の変化が認められた。

- 175 mg/kg BID 群の雌で、赤血球量、白血球数、好中球数、及び好酸球数の軽微な減少が認められた。
- すべての用量群で、カリウムの軽微な減少及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase：ALT）の軽微な増加が認められた。
- 60 mg/kg BID 以上の群の雌で、クロールの軽微な増加が認められた。
- 60 mg/kg BID 以上の群の雌で、総タンパクの軽微な減少が認められた。

これらの変化は休薬期間中に回復した。これらの所見は軽微であり、動物の健康状態に影響を及ぼさなかったことから、いずれも毒性変化ではないと判断した。

### 2.6.6.3.3　ラットを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験

LOXO-305-TOX-018 試験（4.2.3.2.3）、概要表 2.6.7.7.B

#### 2.6.6.3.3.1　結果の要約

ピルトブルチニブを SD 系ラットに、雄は 0、50、又は 500 mg/kg BID、雌は 0、60、又は 300 mg/kg BID の用量で、15 週間強制経口投与した。曝露量は、雌雄ともにおおむね用量の増加に伴って増加した。雌の用量は雄より低かったにもかかわらず、曝露量はおおむね雌が雄より高かった。ピルトブルチニブ投与に関連した所見として、体重の軽度の減少、リンパ系器官及び免疫系の変化、並びにラットに特異的な膵臓の変化が認められた。リンパ系器官では、細胞密度低下及びそれに伴う B リンパ球の相対的減少、並びに T 細胞依存性抗体反応（T-cell dependent antibody response：TDAR）の低下又は消失が認められた。これらの変化は、ピルトブルチニブの薬理作用に関連するものと考えられた。500 mg/kg BID 群の雄で認められた TDAR への影響は毒性変化であり、NOAEL は、雄で 50 mg/kg BID、雌では検討した最高用量の 300 mg/kg BID であった。

#### 2.6.6.3.3.2　目的

本試験は、ピルトブルチニブを SD 系ラットに 15 週間にわたり BID 強制経口投与したときの毒性、TK、及び免疫調節作用の有無を評価するために実施した。

#### 2.6.6.3.3.3　方法

##### 2.6.6.3.3.3.1　試験デザイン

雌雄の SD 系ラットにピルトブルチニブを 10 mL/kg/回又は 20 mL/kg/日の投与容量で、15 週間にわたり BID 強制経口投与した。 試験デザインを表 2.6.6-6 に示す。

**表 2.6.6-6. GLP 適用のラット 3 ヵ月間反復投与毒性試験のデザイン**

| 群番号 | 動物数 | | | | | | 被験物質 | 用量 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 毒性試験 | | TK 試験 | | TDAR 試験 | | | mg/kg BID[a] | | mg/kg/日 | |
| | M | F | M | F | M | F | | M | F | M | F |
| 1 | 10 | 10 | 3 | 3 | 5 | 5 | 対照[b] | 0 | 0 | 0 | 0 |
| M：2<br>F：3 | 10 | 10 | 9 | 9 | 5 | 5 | ピルトブルチニブ | 50 | 60 | 100 | 120 |
| M：5<br>F：4 | 10 | 10 | 9 | 9 | 5 | 5 | ピルトブルチニブ | 500 | 300 | 1000 | 600 |

略語：BID = 1 日 2 回、F = 雌、M = 雄、TDAR = T 細胞依存性抗体反応、TK = トキシコキネティクス

[a] 1 日 2 回の投与は、12 時間 ± 30 分の間隔で実施した（雌雄それぞれ、各群で最初の動物に投与した時間に基づく）。

[b] 対照群には溶媒を投与した。

##### 2.6.6.3.3.3.2　試験のパラメータ及び評価項目

本試験では以下のパラメータ及び評価項目を評価した。

- 生死確認
- TDAR

- 一般状態
- 体重
- 摂餌量
- 眼科学的検査
- 臨床検査
- 免疫フェノタイピング：血液、脾臓、及び胸腺
- 器官重量
- 剖検
- 病理組織学的検査
- トキシコキネティクス

#### 2.6.6.3.3.3.3　用量設定根拠

雌では曝露量が雄より高く、毒性の発現も増強されることから、用量は雌雄で別々に設定した。

雄の用量：

高用量は ICH M3(R2)の限界用量（1000 mg/kg/日）である 500 mg/kg BID とした。この用量は、先に実施したラット 28 日間反復投与毒性試験（CTD 第 2.6.6.3.2 項）での雄の NOAEL であり、当該用量ではリンパ系器官の軽微な変化が見られたのみであった。

低用量は、ラット 28 日間反復投与毒性試験での低用量と同じに設定した。この用量は本試験の NOAEL と予測された。

中用量は、高用量と明らかに異なる曝露量が得られ、高用量で所見が認められた場合に用量反応性を評価することを目的に設定した。

雌の用量：

ラット 28 日間反復投与毒性試験で検討した雌の最高用量は 175 mg/kg BID であった（CTD 第 2.6.6.3.2 項）。この用量は NOAEL であり、主に薬理作用に関連すると考えられる変化のみが認められた。14 日間予備試験で検討した最高用量は 375 mg/kg BID であった（CTD 第 2.6.6.3.1 項）。この用量では骨髄の毒性変化が認められ、MTD に近い用量であったと考えられる。本試験の高用量は、忍容性の限界の評価を目的とし、上記毒性試験成績に投与期間の延長を考慮して、300 mg/kg BID に設定した。この用量では毒性変化が発現し、かつ 15 週間にわたり忍容性が認められると予測された。

低用量は、ラット 28 日間反復投与毒性試験の中用量と同じで、本試験の NOAEL と予測された 60 mg/kg BID とした。

中用量は、高用量と明らかに異なる曝露量が得られ、高用量で所見が認められた場合に用量反応性を評価することを目的に設定した。

#### 2.6.6.3.3.4　結果

本試験で認められた重要な変化について本項に示す。本項で考察しなかった評価項目を含め、毒性試験成績の概要は概要表 2.6.7.7B に示す。

#### 2.6.6.3.3.4.1　トキシコキネティクス

本試験の TK の結果は概要表 2.6.7.7B を、TK に関する考察は CTD 第 2.6.4.3.3.1 項を参照のこと。

#### 2.6.6.3.3.4.2　　死亡

試験中に 5 例の途中死亡が認められたが、死亡の発現に用量及び投与期間との関連性が認められなかったため、いずれもピルトブルチニブ投与に関連しないものと考えられた（表 2.6.6-7）。

表 2.6.6-7. LOXO-305-TOX-018 試験での途中死亡

| 試験 - 動物番号 | 性 | 用量（mg/kg BID） | 死亡日 | 死因 |
|---|---|---|---|---|
| TDAR - 1510 | 雌 | 0 | 5 | 不明 |
| Tox - 2003 | 雄 | 50 | 89 | 不明 |
| TDAR - 2014 | 雄 | 50 | 67 | 事故（落下） |
| TK - 2021 | 雄 | 50 | 100 | 不明 |
| TDAR - 4509 | 雌 | 300 | 11 | 不明 |

略語：BID = 1 日 2 回、TDAR = T 細胞依存性抗体反応、Tox = 毒性、TK = トキシコキネティクス

#### 2.6.6.3.3.4.3　　体重及び摂餌量の変化

500 mg/kg BID 群の雄で、対照群と比較して最大で 13%までの体重低下、及び最大 17%までの体重増加量減少が認められた。雌では体重の変化は認められず、摂餌量の変化は雌雄ともに認められなかった。

#### 2.6.6.3.3.4.4　　リンパ系器官の変化

すべての用量群の雌雄で、脾臓の総リンパ球減少に伴って脾臓重量が 14%～39%減少し、軽微から中等度の脾臓リンパ球細胞密度低下が認められた。脾臓小型化が、500 mg/kg BID 群の雄 1 例で認められた。これらの所見は、重症度が低く、動物の健康状態に影響を及ぼさなかったことから、毒性変化ではないと判断した。

#### 2.6.6.3.3.4.5　　免疫系の変化

免疫フェノタイピングでは、すべての用量群の雌雄で、血中及び脾臓内の T、B、及び NK リンパ球のバランスの変化が認められた。B 細胞の相対比率が低下し、それに伴い他の種類のリンパ球の相対比率が上昇した。これはピルトブルチニブの薬理作用に起因すると考えられた（CTD 第 2.6.2.1 項参照）。一方胸腺では免疫フェノタイプの変化は認められなかった。投与終了時に、血中及び脾臓内の B リンパ球の相対比率が最大で 39%低下し、絶対数が最大で 76%減少した。これらの変化に伴って、T 細胞の相対比率が最大で 40%上昇し、ヘルパーT 細胞の相対比率が最大で 48%上昇した。細胞傷害性 T 細胞への影響はより小さかったため、細胞傷害性 T 細胞に対するヘルパーT 細胞の比率も上昇した。NK 細胞の増加も認められた。

TDAR の評価では、すべての用量群の雌雄で、キーホールリンペットヘモシアニン（keyhole limpet hemocyanin：KLH）による免疫後の抗 KLH IgM 及び IgG 反応の低下、並びに非反応例の増加が認められ、一次及び二次 TDAR の低下が確認された。500 mg/kg BID 群の雄では、多くの個体で抗 KLH 抗体反応が惹起されなかったことから、この所見は毒性変化と判断した。

病理組織学的検査では、軽微から中等度のリンパ節内赤血球貪食が、すべての用量群の雌雄で認められた。

雄での TDAR 反応の低下を除き、上記免疫系の変化は、感染率の上昇及び動物の全身の健康状態への影響など免疫系への更なる影響を及ぼさなかったことから毒性変化ではないと判断した。

#### 2.6.6.3.3.4.6　膵臓の変化

すべての用量群の雌雄で、以下の膵臓の変化が主にランゲルハンス島及びその周囲に認められた。これらはラット特異的な背景病変(Erickson et al. 2017; Bhaskaran et al. 2018)がピルトブルチニブ投与により悪化したものと考えられ、ヒトへの外挿性は低いと考えられる。

- 軽微から軽度の炎症
- 軽微から中等度の線維化
- 軽微から軽度の出血
- 軽微から軽度の色素

また、すべての用量群で、腺房萎縮の発現頻度が増加した。

これらの膵臓の変化は、本試験の動物の健康状態に影響せず、耐糖能などの機能的評価項目にも影響を及ぼさなかったことから、毒性変化ではないと判断した(Bhaskaran et al. 2018)。

### 2.6.6.3.4　イヌを用いた 14 日間反復投与による用量設定試験（GLP 非適用）

LOXO-305-TOX-004 試験（4.2.3.2.4）、概要表 2.6.7.6B

#### 2.6.6.3.4.1　結果の要約

ピルトブルチニブを雌雄ビーグル犬に 0、15、35/70、又は 60/120 mg/kg BID の用量で、14 日間強制経口投与した。曝露量は雌雄ともにおおむね用量の増加に伴って増加した。60/120 mg/kg BID 群では忍容性が認められず、雌 1 例が瀕死屠殺に至った。ピルトブルチニブ投与に関連した所見が、胃、骨髄、及びリンパ系器官に認められた。60/120 mg/kg BID 群で死亡及び骨髄の毒性変化が認められたことから、NOAEL は 35/70 mg/kg BID であった。

#### 2.6.6.3.4.2　目的

本試験は、ピルトブルチニブをイヌに 14 日間以上 BID 強制経口投与したときの毒性及び TK を評価するために実施した。

#### 2.6.6.3.4.3　方法

##### 2.6.6.3.4.3.1　試験デザイン

雌雄のビーグル犬に、ピルトブルチニブを 5 mL/kg/回又は 10 mL/kg/日の投与容量で、14 日間 BID 強制経口投与した。第 3 及び 4 群では、1 日目の曝露量が予測より低かったため、9 日目より用量を増量した。試験デザインを表 2.6.6-8 に示す。

表 2.6.6-8. GLP 非適用イヌ 14 日間反復投与毒性試験のデザイン

| 群番号 | 動物数 | | 被験物質 | 用量 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | | mg/kg BID[a] | mg/kg/日 |
| 1 | 2 | 2 | 対照[b] | 0 | 0 |
| 2 | 2 | 2 | ピルトブルチニブ | 15 | 30 |
| 3 | 2 | 2 | ピルトブルチニブ | 35/70 | 70/140 |
| 4 | 2 | 2 | ピルトブルチニブ | 60/120 | 120/240 |

略語：BID = 1 日 2 回、F = 雌、M = 雄

a　1 日 2 回の投与は、12 時間 ± 30 分の間隔で実施した（雌雄それぞれ、各群で最初の動物に投与した時間に基づく）。第 3 群及び 4 群は、投与 9 日目から用量を増量した。

b　対照群には溶媒を投与した。

#### 2.6.6.3.4.3.2　試験のパラメータ及び評価項目

本試験では以下のパラメータ及び評価項目を評価した。

- 生死確認
- 一般状態
- 体重
- 摂餌量
- 臨床検査
- 器官重量
- 剖検
- 病理組織学的検査
- トキシコキネティクス

#### 2.6.6.3.4.3.3　用量設定根拠

用量は、イヌでピルトブルチニブの忍容性を評価するために設定した。

### 2.6.6.3.4.4　結果

本試験で認められた重要な変化について本項に示す。本項で考察しなかった評価項目を含め、毒性試験成績の概要は概要表 2.6.7.6B に示す。

#### 2.6.6.3.4.4.1　トキシコキネティクス

本試験の TK の結果は概要表 2.6.7.6B を、TK に関する考察は CTD 第 2.6.4.3.3.2 項を参照のこと。

#### 2.6.6.3.4.4.2　死亡

60/120 mg/kg BID 群の雌 1 例（D0701）が、10 日目の最終投与の後、一般状態の悪化のため 11 日目に瀕死屠殺に至った。この動物では 4 日目以降、体重が 1.1 kg 減少した。この途中屠殺はピルトブルチニブ投与に関連すると考えられた。以下の一般状態の変化が認められた。

- 嘔吐
- 活動性低下
- 円背位
- 運動失調
- 歩行意欲低下
- 脱水
- 蒼白から黄色の粘膜

D0701 の剖検では、胃、骨髄、及びリンパ組織に所見が認められた。胃では、中等度の腺過形成及び限局性びらんが認められ、これに関連して異常な腸内容物が認められた。胃の所見は毒性変化であったが、他のいずれの動物にも同様の所見は認められなかった。

骨髄では重度の細胞密度低下が認められ、末梢血の白血球、血小板、及び赤血球量の減少を伴っていた。この変化は本試験の他の動物でも認められ（CTD 第 2.6.6.3.4.4.3 項）、毒性変化と判断した。

リンパ系器官では、中等度から重度のリンパ球枯渇が、いくつかのリンパ組織で認められた。この変化は本試験の他のピルトブルチニブ投与動物でも認められたが、毒性変化ではないと判断した（CTD 第 2.6.6.3.4.4.4 項）。D0701 の臨床検査では、炎症、脱水に起因する血液濃縮及び肝障害の可能性を示唆する変化、並びに摂餌量減少による二次的変化が認められた。

#### 2.6.6.3.4.4.3　　骨髄の変化

途中屠殺例で認められた骨髄の変化（CTD 第 2.6.6.3.4.4.2 項）に加え、60/120 mg/kgBID 群の雄（2 例／2 例中）でも、骨髄に軽度の細胞密度低下が認められた。これに伴って、末梢血中の白血球、好中球、その他の白血球、及び赤血球の減少が、35/70 mg/kg BID 以上の群で認められた。骨髄の所見は毒性変化と判断した。

#### 2.6.6.3.4.4.4　　リンパ系器官の変化

すべての用量群で、脾臓、リンパ節、及び GALT などのリンパ系器官に、リンパ球枯渇及び赤血球貪食が認められた。また、脾臓の壊死及びリンパ組織のうっ血が、60/120 mg/kg BID 群で認められた。これらの所見は動物の健康状態に影響を及ぼさなかったことから、毒性変化ではないと判断した。

### 2.6.6.3.5　　イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験及び 28 日間回復性試験

LOXO-305-TOX-008 試験（4.2.3.2.5）、概要表 2.6.7.7C

#### 2.6.6.3.5.1　結果の要約

ピルトブルチニブを雌雄ビーグル犬に 0、10/5、30/10、又は 90/60 mg/kg BID の用量で 28 日間強制経口投与した。すべての用量に休薬群を設け、28 日間の休薬による毒性の回復性を評価した。曝露量は雌雄ともにおおむね曝露量の増加に伴って増加した。90/60 mg/kg BID 群では忍容性が認められず、13 日目に全例を安楽殺した。30 mg/kg BID 群では、極めて重度の一般状態所見が認められたことから、投与 12 日目から用量を 10 mg/kg BID に減量し、10 mg/kg BID 群の用量が投与 11 日目から 5 mg/kg BID に減量して投与を継続した。ピルトブルチニブ投与に関連した所見が、骨髄、リンパ系器官、消化管、及び肺に認められた。すべての所見に回復性が認められた。30/10 mg/kg BID 以上の群で骨髄、消化管、及び肺に毒性変化が認められたため、NOAEL は 10/5 mg/kg BID であった。

#### 2.6.6.3.5.2　目的

本試験は、ピルトブルチニブをビーグル犬に 28 日間 BID 強制経口投与したときの毒性及び TK を評価するとともに、28 日間の休薬期間による毒性の回復性を評価するために実施した。

#### 2.6.6.3.5.3　方法

##### 2.6.6.3.5.3.1　試験デザイン

雌雄のビーグル犬に、ピルトブルチニブを 5 mL/kg/回又は 10 mL/kg/日の容量で、28 日間 BID 強制経口投与した。90/60 mg/kg BID 群では忍容性が認められず、13 日目に全例を安楽殺した。30 mg/kg BID 群では、極めて重度の一般状態所見が認められたことから、投与 12 日目に用量を 10 mg/kg BID に減量し、10 mg/kg BID 群の用量は投与 11 日目から 5 mg/kg BID に減量して投与を継続した。試験デザインを表 2.6.6-9 に示す。

**表 2.6.6-9. GLP 適用イヌ 28 日間反復投与毒性試験のデザイン**

| 群番号 | 動物数 [a] | | 被験物質 | 用量 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | | mg/kg BID[b] | mg/kg/日 |
| 1 | 5 | 5 | 対照 [c] | 0 | 0 |
| 2 | 5 | 5 | ピルトブルチニブ | 10/5[d] | 20/10 [d] |
| 3 | 5 | 5 | ピルトブルチニブ | 30/10[e] | 60/20 [e] |
| 4 | 5 | 5 | ピルトブルチニブ | 90/60[f] | 180/120 [f] |

略語：BID = 1 日 2 回、F = 雌、M = 雄

[a] 回復性試験終了時屠殺に割り当てた動物（第 1、2、3、及び 4 群で、生存状況に応じて 1 群雌雄各 2 例まで）については、投与終了後に 28 日間の休薬期間をおいた。

[b] 1 日 2 回の投与は、12 時間 ± 30 分の間隔で実施した（雌雄それぞれ、各群で最初の動物に投与した時間に基づく）。補正係数は 1.02 とし、用量はピルトブルチニブの用量を示す。

[c] 対照群には溶媒を投与した。

[d] 第 3 群の用量を第 2 群の開始用量と同じ用量まで減量したため、十分な曝露量比を維持するため、第 2 群の用量を、11 日目の午前投与から 5 mg/kg BID に減量した。

[e] 一般状態の変化が認められたため、第 3 群の用量を、12 日目の午後投与から 10 mg/kg BID に減量した。

[f] 一般状態の変化が認められたため、第 4 群の用量を、6 日目の午前投与から 60 mg/kg BID に減量した。

##### 2.6.6.3.5.3.2　試験のパラメータ及び評価項目

本試験では以下のパラメータ及び評価項目を評価した。

- 生死確認
- 一般状態
- 体重
- 摂餌量
- 眼科学的検査
- 身体検査
- 体温
- 呼吸数
- 心電図検査
- 心拍数
- 血圧
- 臨床検査
- 器官重量
- 剖検
- 病理組織学的検査
- トキシコキネティクス

##### 2.6.6.3.5.3.3　用量設定根拠

本試験の用量は、イヌ 14 日間用量設定毒性試験の試験成績（CTD 第 2.6.6.3.4 項）に基づき設定した。用量設定試験では、120 mg/kg BID で忍容性が認められなかった。本試験の高用量は、ピルトブルチニブの忍容性の限界を評価するため、90 mg/kg BID とした。低及び中用量は、高用量で所見が認められた場合の用量反応性を評価するために設定した。

#### 2.6.6.3.5.4　結果

本試験で認められた重要な変化について本項に示す。本項で考察しなかった評価項目を含め、毒性試験成績の概要は概要表 2.6.7.7C に示す。休薬期間終了時には変化が認められなかった。

##### 2.6.6.3.5.4.1　　トキシコキネティクス

本試験の TK の結果は概要表 2.6.7.7C を、TK に関する考察は CTD 第 2.6.4.3.3.2 項を参照のこと。

##### 2.6.6.3.5.4.2　　死亡

90/60 mg/kg BID 群の全例を、以下の理由により 13 日目に屠殺した。

- 活動性低下
- 脱水
- 体温上昇
- 粘液便又は赤色便
- 循環血中の血球、特に好中球の減少

高用量群では 90 mg/kg BID の用量で 1～5 日目午前までの投与を実施し、5 日目の午後投与は休薬した。投与 6～7 日目は用量を 60 mg/kg BID に減量して投与を実施し、8 日目の午前投与から再び休薬させた。減量、休薬、及び獣医師による治療を行ったにもかかわらず、一般状態の変化が持続し、一部の動物では 12 日目に依然として活動性低下及び液状便が認められた。同群では、極めて重度の一般状態の変化として、主に活動性低下、脱水、体温上昇、及び消化管の所見が認められ、それに伴って循環血中の血球（主に好中球）が顕著に減少したことから、全例を 13 日目に安楽殺した。一般状態の悪化から瀕死屠殺に至る一連の変化は、ピルトブルチニブに関連すると考えられた。

10/5 又は 30/10 mg/kg BID 群では、全例が計画屠殺まで生存した。

##### 2.6.6.3.5.4.3　　一般状態の変化

高用量群での一般状態の変化については CTD 第 2.6.6.3.5.4.2 項に記載した。

中用量群は 30 mg/kg BID の用量で投与を開始したが、以下の一般状態所見が認められ、所見の重症度が高かったため、9 日目から休薬を開始した。ほとんどの動物で、12 日目から用量を 10 mg/kg BID に減量して投与を再開した。この減量の後の一般状態の変化は、主に糞便異常のみであった。

- 活動性低下
- 横臥位
- 無形便
- 嘔吐
- 体温上昇

低用量群ではピルトブルチニブ投与に関連した一般状態の変化は認められなかったが、中用量群を 10 mg/kg BID に減量したため、11 日目に 5 mg/kg BID に減量した。

#### 2.6.6.3.5.4.4　　体重及び摂餌量の変化

投与 1 週目に、高用量群の雌で、統計学的に有意な体重増加量の減少が認められた。高用量群の雄でも、統計学的有意差はなかったものの、投与 1 週目に体重増加量の減少傾向が認められた。これに伴って、高用量群の雌雄で、体重減少傾向及び摂餌量減少が認められた。低及び中用量群では、体重の変化は認められなかった。

#### 2.6.6.3.5.4.5　　骨髄の変化

高用量群の雄 2 例でピルトブルチニブに関連した軽微から軽度の骨髄細胞密度低下が認められた。同群ではこれに関連して計画外屠殺時の血液学検査で以下の変化が認められた。

- 白血球数及び好中球数の減少（中等度から極めて重度）並びにその他の白血球の全般的な減少
- 血小板数減少（中等度から重度）
- リンパ球数及び赤血球量減少（軽度から中等度）

低用量群又は中用量群で以下の血液学的所見も認められた。

- 好中球減少（軽度から重度）
- 単球減少（軽度）
- リンパ球減少（軽度）
- 好酸球減少（軽度）
- 赤血球量減少（軽微）

これらの血液学的所見は投与 14 日目に認められ、投与期間終了時までに回復又は部分的に回復した。

高用量群で認められた血液学的変化を伴う骨髄の変化は、所見の重症度が高かったため毒性変化と判断した。

#### 2.6.6.3.5.4.6　　リンパ系器官の変化

すべての用量群で、脾臓、胸腺、リンパ節、及び GALT に以下の病理組織学的所見が認められた。

- 胸腺、脾臓、リンパ節及び GALT で軽微から重度のリンパ球減少
- リンパ節で軽微から中等度の赤血球貪食及びリンパ節洞内赤血球
- リンパ節で軽微から軽度の混合細胞浸潤

これらの所見に伴って、末梢血中のリンパ球減少が認められた。

高用量群で認められた胸腺のリンパ球減少（重度）は毒性変化と判断した。

#### 2.6.6.3.5.4.7　　消化管の変化

高用量群では、大腸の複数の部位にピルトブルチニブに関連した以下の病理組織学的所見が認められた。

- 軽微から重度の混合細胞性炎症

- 軽度又は重度の壊死
- 軽微から中等度の出血

これらの所見に関連した剖検所見として、盲腸の赤色化が認められた。ピルトブルチニブ投与に関連した肉眼所見として結腸の腸重積が高用量群の 1 例で認められた。消化管又は肺の炎症に関連する可能性のある変化として、フィブリノゲンの増加が認められた。アルブミン減少及びコレステロール増加（軽度）も、消化管の変化に関連している可能性が考えられた。

上記の消化管の変化は、所見の重症度が高かったため毒性変化と考えられた。

#### 2.6.6.3.5.4.8　　心電図の変化

中用量群で 26 日目に、心拍数で補正した QT（heart rate corrected QT：QTc）間隔の延長が認められた。対照群と比較して 6.3%（15 ミリ秒）の延長であり、変化の程度が小さかったため、毒性変化ではないと判断した。

#### 2.6.6.3.5.4.9　　肺の変化

ピルトブルチニブに関連した肺の病理組織学的所見として、軽度から極めて重度の混合細胞性炎症及び軽微から中等度の出血が高用量群で認められ、関連する肉眼所見として、高用量群で隆起部位又は肺葉赤色化が認められた。

上記の所見は、その重症度が高かったため毒性変化と判断した。

### 2.6.6.3.6　　イヌを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験

LOXO-305-TOX-017 試験（4.2.3.2.6）、概要表 2.6.7.7D

#### 2.6.6.3.6.1　結果の要約

ピルトブルチニブを雌雄のビーグル犬に 0、0.5、2.5、又は 5 mg/kg BID の用量で 15 週間強制経口投与した。曝露量は雌雄ともにおおむね用量の増加に伴って増加した。ピルトブルチニブ投与に関連した所見として、角膜及びリンパ系器官の変化、B 細胞の減少、並びに TDAR の低下が認められた。5 mg/kg BID 群で角膜の毒性変化が認められため、NOAEL は 2.5 mg/kg BID であった。

#### 2.6.6.3.6.2　目的

本試験は、ピルトブルチニブをイヌに 15 週間にわたって BID 強制経口投与したときの毒性、TK、及び免疫調節作用の有無を評価するために実施した。

#### 2.6.6.3.6.3　方法

##### 2.6.6.3.6.3.1　　試験デザイン

雌雄のビーグル犬にピルトブルチニブを 15 週間 BID 強制経口投与した。試験デザインを表 2.6.6-10 に示す。

表 2.6.6-10. GLP 適用イヌ 3 ヵ月間反復投与毒性試験のデザイン

| 群番号 | 被験物質 | 用量 [a] | | 投与容量 [b] (mL/kg/回) | 動物数 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | mg/kg/日 | mg/kg BID | | M | F |
| 1 | 対照 | 0 | 0 | 5 | 4 | 4 |
| 2 | ピルトブルチニブ [c] | 1 | 0.5 | 5 | 4 | 4 |
| 3 | ピルトブルチニブ [c] | 5 | 2.5 | 5 | 4 | 4 |
| 4 | ピルトブルチニブ [c] | 10 | 5 | 5 | 4 | 4 |

略語：BID = 1 日 2 回、F = 雌、M = 雄

a 対照群には溶媒を投与した。1 日 2 回の投与は、12 ± 1 時間の間隔で実施した（各群で最初の動物に投与した時間に基づく）。

b 直近の体重測定値に基づき投与容量を算出した。

c ピルトブルチニブ／HPMC-AS-M SDD 剤を用いた。補正係数を 2.083 とし、用量はピルトブルチニブとしての用量を示す。

### 2.6.6.3.6.3.2　試験のパラメータ及び評価項目

本試験では以下のパラメータ及び評価項目を評価した。

- 生死確認
- 一般状態
- 体重
- 摂餌量
- 眼科学的検査
- 心電図検査（心拍測定を含む）
- 臨床検査
- 免疫フェノタイピング：血液
- TDAR
- 器官重量
- 剖検
- 病理組織学的検査
- トキシコキネティクス

### 2.6.6.3.6.3.3　用量設定根拠

結晶体のピルトブルチニブを用いたイヌ 28 日間反復投与毒性試験（CTD 第 2.6.6.3.5 項参照）では、曝露量にばらつきが認められたため、本試験では、SDD 剤を使用した。本試験の用量は、イヌ 28 日間反復投与毒性試験成績及び投与形態の変更による用量－曝露量関係の変化を考慮して設定した。

イヌ 28 日間反復投与毒性試験では 30 mg/kg BID で忍容性が認められず、30 mg/kg BID での 4 日目の曝露量は 72500 ng·h/mL であった。本試験の高用量は、ピルトブルチニブの忍容性の限界をイヌで評価するため、5 mg/kg BID とした。SDD 剤をこの用量で投与したときの推定曝露量は 61000 ng·h/mL であり、イヌ 28 日間毒性試験で忍容性が認められなかった曝露量を下回るが、忍容性の限界に近い曝露量と考えられた。中用量は、本試験の投与期間を通して忍容性が認められると予測される用量として、2.5 mg/kg BID に設定した。この用量での推定曝露量 28000 ng·h/mL は、イヌ 28 日間毒性試験で忍容性が認められた曝露量であった。低用量は、高用量で所見が認められた場合の所見の用量反応性を評価するため、NOAEL と予測される用量として 0.5 mg/kg BID に設定した。

### 2.6.6.3.6.4　結果

本試験で認められた重要な変化について本項に示す。本項で考察しなかった評価項目を含め、毒性試験成績の概要は概要表 2.6.7.7D に示す。

#### 2.6.6.3.6.4.1　　トキシコキネティクス

本試験の TK の結果は概要表 2.6.7.7D を、TK に関する考察は CTD 第 2.6.4.3.3.2 項を参照のこと。

#### 2.6.6.3.6.4.2　　死亡

試験期間を通して死亡は認められず、すべての動物が 106 日目の計画屠殺時まで生存した。

#### 2.6.6.3.6.4.3　　眼の変化

5 mg/kg BID 群の雄 2 例で、両眼の変化として、以下の所見が 1 つ以上認められた。

- 軽微から軽度の角膜上皮有糸分裂増加
- 軽度の角膜上皮過形成
- 軽微な角膜上皮単細胞壊死
- 軽度の角膜びらん
- 軽度の角膜潰瘍形成
- 軽微から軽度の角膜間質線維化
- 軽微から軽度の角膜間質混合細胞浸潤

病理組織学的所見に伴って、両側角膜混濁が 15 週目の眼科学的検査時に認められた。これらの変化は、明らかな視覚障害を誘発するほど顕著ではなかった。

#### 2.6.6.3.6.4.4　　リンパ系器官の変化

リンパ系器官に、以下のピルトブルチニブ投与に関連した所見が認められた。

- すべての用量群での軽微から中等度の GALT リンパ系細胞密度低下
- 2.5 mg/kg BID 以上の群での軽微から軽度のリンパ節リンパ系細胞密度低下

#### 2.6.6.3.6.4.5　　免疫系の変化

免疫フェノタイピングでは、ピルトブルチニブに関連した血中 T 及び B 細胞のバランスの変化が認められた。

投与 6 週及び 15 週目に、ピルトブルチニブ投与に関連した用量依存的な B 細胞減少が認められた。

- B 細胞の絶対数は、雌では 33%～77%、雄では 19%～54%減少した。
- B 細胞相対比率は、雌では 31%～76%、雄では 16%～59%低下した。

相対比率の変化は、15 週目の 0.5 mg/kg BID 以上の群で、対照群と比較して統計学的有意差が認められた。B 細胞減少はすべての用量群で経時的に進行し、変化の程度は 5 mg/kg BID 群の雌で顕著であった。

ピルトブルチニブによる総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、及び細胞傷害性 T 細胞の絶対数増加（最大で 43%）、並びに相対比率上昇（最大で 45%）も認められた。これらの増加又は上昇は経時的に進行し、雌でより顕著であった。ヘルパーT 細胞：細胞傷害性 T 細胞比には明らかな変化は認められなかった。

TDAR の評価では、すべての用量群で、KLH による免疫後の一次及び二次抗 KLH IgM 反応が低下したが、大部分の動物で、抗 KLH IgM 反応の惹起が見られた。ピルトブルチニブ群の抗 KLH IgG 反応は、33 日目を除き対照群と同様であった。最初の評価時点である 33 日目に KLH IgG 反応が低値を示したが、それ以降の評価時点で対照群との差は認められなかったことから、33 日目の変化は一次 IgG 反応動態の遅延に関連したものと考えられた。

上記の免疫系の変化はいずれも毒性変化ではないと判断した。

#### 2.6.6.3.6.4.6　その他の変化

血液学的及び血液生化学的パラメータに、以下の変化が認められた。

- 2.5 mg/kg BID 以上の群の雌で、ヘマトクリット、ヘモグロビン、及び赤血球数などの赤血球量マーカーの一過性減少（軽微から軽度）
- 5 mg/kg BID 群の雌で一過性のアルブミン及び総タンパク減少（軽微）
- すべての用量群の雄でリン減少（軽微）

### 2.6.6.4　遺伝毒性試験

ピルトブルチニブの遺伝毒性を、細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）並びに in vitro 及び in vivo 小核試験で評価した。

#### 2.6.6.4.1　細菌を用いる復帰突然変異試験

LOXO-305-TOX-009 試験（4.2.3.3.1.1）、概要表 2.6.7.8A

##### 2.6.6.4.1.1　結果の要約

本 GLP 適用 Ames 試験では、5 つの細菌株を用いて、代謝活性化の非存在下及び存在下で、ピルトブルチニブの復帰突然変異誘発能を評価した。ピルトブルチニブは、検討したいずれの条件下でも変異原性を示さなかった。

##### 2.6.6.4.1.2　目的

本試験は、ネズミチフス菌及び大腸菌でのピルトブルチニブの復帰突然変異誘発能を、外因性代謝活性化系の存在下及び非存在下で評価するために実施した。

##### 2.6.6.4.1.3　方法

###### 2.6.6.4.1.3.1　試験デザイン

試験デザインは OECD ガイドライン 471 及び ICH S2(R1)を参照した。下記の 5 菌株を、代謝活性化系（Aroclor 誘発ラット肝 S9）の存在下及び非存在下で、一連の濃度の被験物質及び対照物質により処理した。溶媒対照としてジメチルスルホキシド（dimethyl sulfoxide：DMSO）を、また、菌株ごとに適切な陽性対照を用いた。ピルトブルチニブの処理濃度は最高用量を 5000 µg/プレート（ガイダンスで推奨される最高用量）に設定した。

- ネズミチフス菌 TA98
- ネズミチフス菌 TA100

- ネズミチフス菌 TA1535
- ネズミチフス菌 TA1537
- 大腸菌 WP2 *uvrA*

#### 2.6.6.4.1.3.2　　試験のパラメータ及び評価項目

試験菌株に対する毒性及びプレート当たりの復帰変異コロニー数を評価した。

### 2.6.6.4.1.4　結果

ピルトブルチニブは、S9 の存在下及び非存在下いずれの菌株でも、5000 µg/プレート又は沈殿が認められる濃度まで、復帰突然変異を誘発しなかった。陽性及び陰性対照の結果より、試験系の感度及び S9mix の活性が確認された。

## 2.6.6.4.2　　チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる in vitro 小核試験（GLP 非適用）

LOXO-305-TOX-013 試験（4.2.3.3.1.2）、概要表 2.6.7.8B

### 2.6.6.4.2.1　結果の要約

本試験では、チャイニーズハムスター卵巣（Chinese hamster ovary：CHO）細胞を用いて、ピルトブルチニブの小核誘発能を、代謝活性化の非存在下及び存在下で評価した。ピルトブルチニブは、検討したすべての条件下で、小核誘発性を示さなかった。

### 2.6.6.4.2.2　目的

本試験は、CHO-WBL 細胞を用いて、外因性代謝活性化の存在下及び非存在下で、小核形成の程度を指標にピルトブルチニブの染色体構造異常及び数的異常誘発能を評価するために実施した。

### 2.6.6.4.2.3　方法

#### 2.6.6.4.2.3.1　　試験デザイン

試験デザインは、OECD ガイドライン 487 及び ICH S2(R1)を参照した。

CHO-WBL 細胞を、外因性代謝活性化系（Aroclor 誘発ラット肝 S9）存在下又は非存在下、被験物質又は対照物質で処理した。処理時間は S9 存在下では 3 時間、非存在下では 3 及び 24 時間とし、薬物処理開始後 24 時間で細胞を回収した。ピルトブルチニブの処理濃度は 18 用量を設定し、各用量 duplicate で実施した。ピルトブルチニブの処理濃度は OECD ガイドラインの推奨に従い設定した。

#### 2.6.6.4.2.3.2　　試験のパラメータ及び評価項目

OECD ガイダンス推奨の限界用量、沈殿の有無、及び細胞毒性に基づき、評価可能な最高濃度とこれより低い 2 用量以上を選択し、二核細胞の総数に対する小核を有する二核細胞（bi-nucleated cells with micronuclei：MN-BN）の比率を算出した。

#### 2.6.6.4.2.4　結果

各条件下での BN-MN の比率を表 2.6.6-11 に示す。S9 非存在下で 3 時間処理したとき、MN-BN の比率増加に用量依存性（Cochran-Armitage 解析、p≤0.05）が認められたが、S9 の存在下及び非存在下で 3 時間処理したとき、いずれの用量でも、MN-BN の比率に溶媒対照と比較して有意な増加は認められなかったが。S9 非存在下で 24 時間処理したとき、NM-BN の比率増加に用量依存性が認められた（Cochran-Armitage 解析、p≤0.05）。また 5 µg/mL で MN-BN の比率が溶媒対照と比較して有意に増加したが、増加の程度は背景データの範囲（0.72%～2.05%）内であった。したがって、MN-BN 比率の用量依存的な増加及び対照群と比較した有意な増加は、小核誘発を示すものではないと考えられた。陽性及び陰性対照群の結果より、試験系の感度及び S9mix の活性が確認された。

以上より、ピルトブルチニブは、本試験の条件下で、小核誘発性を示さなかった。

**表 2.6.6-11. ピルトブルチニブで処理した CHO 細胞での小核頻度**

| **期間：（処理）** | **3h** | | **3h** | | **24h** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **代謝活性化（S9）：** | - | | + | | - | |
| **処理群** | **µg/mL[a]** | **%[b]** | **µg/mL[a]** | **%[b]** | **µg/mL[a]** | **%[b]** |
| 溶媒対照 | 0 | 0.98 | 0 | 0.93 | 0 | 1.18 |
| ピルトブルチニブ 用量 1 | 30 | 1.00 | 20 | 1.07 | 0.5 | 1.39 |
| ピルトブルチニブ 用量 2 | 70 | 1.21 | 30 | 1.23 | 1 | 1.06 |
| ピルトブルチニブ 用量 3 | 130 | 1.30 | 50 | 1.34 | 2 | 1.53 |
| ピルトブルチニブ 用量 4 | | | 100 | 1.50 | 5 | 2.01* |
| ピルトブルチニブ 用量 5 | | | 130 | 1.54 | | |

略語：CHO = チャイニーズハムスター卵巣、h = 時間
* Fisher の正確検定、p≤0.05
a　細胞が曝露されたピルトブルチニブの濃度
b　比率（MN-BN 数／二核細胞の総数）

### 2.6.6.4.3　ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験

LOXO-305-TOX-010 試験（4.2.3.3.1.3）、概要表 2.6.7.8C

#### 2.6.6.4.3.1　結果の要約

本試験では、ヒト末梢血リンパ球（human peripheral blood lymphocytes：HPBL）を用いて、ピルトブルチニブの小核誘発能を代謝活性化の非存在下及び存在下で評価した。本試験で検討した条件下で、ピルトブルチニブは 5 µg/mL 以上の濃度で小核を誘発した。

#### 2.6.6.4.3.2　目的

本試験は、HPBL を用いて、外因性代謝活性化系の非存在下及び存在下で、ピルトブルチニブの小核誘発能を評価するために実施した。

#### 2.6.6.4.3.3　方法

##### 2.6.6.4.3.3.1　試験デザイン

試験デザインは、OECD ガイドライン 487 及び ICH S2(R1)を参照した。

HPBL 細胞を、外因性代謝活性化系（Aroclor 誘発ラット肝 S9）の非存在下及び存在下で 4 時間処理、又は S9 非存在下で 24 時間処理し、薬物処理開始後 24 時間で細胞を回収した。溶媒対照として DMSO を使用した。

##### 2.6.6.4.3.3.2　試験のパラメータ及び評価項目

過度の細胞毒性が認められない最高濃度及びその次に低い 2 用量を選択し、二核細胞の総数に対する MN-BN の比率を算出した。

#### 2.6.6.4.3.4　結果

ピルトブルチニブは、S9 の非存在下及び存在下での小核誘発が陽性であった（表 2.6.6-12 参照）。陽性及び陰性対照群の反応により、試験系の感度及び S9mix の活性が確認された。

表 2.6.6-12. ピルトブルチニブに曝露された HPBL の小核頻度

| **期間：（処理）** | **4h** | | **4h** | | **24h** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **代謝活性化（S9）：** | - | | + | | - | |
| **処理群** | **μg/mL[a]** | **%[b]** | **μg/mL[a]** | **%[b]** | **μg/mL[a]** | **%[b]** |
| 溶媒対照 | 0 | 0.4 | 0 | 0.5 | 0 | 0.35 |
| ピルトブルチニブ 低用量 | 50 | 0.85* | 50 | 0.55 | 5 | 1.5** |
| ピルトブルチニブ 中用量 | 120 | 1.3** | 100 | 1.2** | 12 | 4.0** |
| ピルトブルチニブ 高用量 | 150 | 3.5** | 225 | 3.3** | 16 | 3.7** |

略語：h = 時間、HPBL = ヒト末梢血リンパ球
Fisher の正確検定：* p≤0.05、** p≤0.01
a　細胞が曝露されたピルトブルチニブの濃度
b　用量当たりの小核を有する二核細胞の比率

### 2.6.6.4.4　ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験—蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（FISH）解析によるメカニズム試験

LOXO-305-TOX-014 試験（4.2.3.3.1.4）、概要表 2.6.7.8D

#### 2.6.6.4.4.1　結果の要約

LOXO-305-TOX-010 試験でピルトブルチニブの小核誘発能が認められた（CTD 第 2.6.6.4.3 項参照）ことから、本試験では、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（fluorescent in situ hybridization：FISH）によりセントロメアを検出し、ピルトブルチニブによる HPBL での小核誘発のメカニズムを検討した。その結果、ピルトブルチニブは染色体数的異常誘発により小核を誘発することが示された。

#### 2.6.6.4.4.2　目的

本試験は、FISH によりセントロメアの有無を評価し、HPBL でのピルトブルチニブによる小核形成の増加が、染色体構造異常誘発性あるいは異数性誘発性のいずれに起因するのかを確認するために実施した。

#### 2.6.6.4.4.3　方法

##### 2.6.6.4.4.3.1　　試験デザイン

本試験のデザインは、OECD ガイドライン 487 及び ICH S2(R1)を参照した。

LOXO-305-TOX-010 で小核誘発の感受性が最も高かった条件を選択し（CTD 第 2.6.6.4.3 項参照）、HPBL 細胞を S9 の非存在下で 24 時間処理した。

##### 2.6.6.4.4.3.2　　試験のパラメータ及び評価項目

過度の細胞毒性が認められない最高濃度及びその次に低い 4 濃度を選択し、二核細胞の総数に対する MN-BN の比率を算出した。小核の有意な増加が誘発された処理濃度について、FISH を用いてセントロメアの有無を解析した。

#### 2.6.6.4.4.4　結果

本試験の条件下では、ピルトブルチニブ 12 µg/mL 以上の濃度で MN-BN の比率が有意に増加した。セントロメア陽性細胞が高い頻度で検出されたことから、小核は主に染色体数的異常誘発性（染色体消失）に起因すると考えられた（表 2.6.6-13）。陽性及び陰性対照群の結果より、試験系の感度が確認された。

**表 2.6.6-13. ピルトブルチニブに曝露された HPBL の小核及びセントロメア陽性細胞の頻度**

| ピルトブルチニブの濃度（µg/mL） | 細胞毒性 [a]（%） | MN-BN 頻度（%） | セントロメア+[b]（%） |
|---|---|---|---|
| 0（対照） | -- | 0.40 | NC |
| 1.25 | 0 | 0.35 | NC |
| 2.5 | 3 | 0.65 | NC |
| 5 | 5 | 0.40 | NC |
| 12 | 29 | 4.7* | 67 |
| 16 | 54 | 10* | 79 |

略語：DMSO = ジメチルスルホキシド、HPBL = ヒト末梢血リンパ球、MN-BN = 小核を有する二核細胞、NC = 算出せず

* Fisher の正確検定：p≤0.001

[a] DMSO 溶媒対照と比較した複製指数に基づく。

[b] セントロメア陽性であった細胞の比率

### 2.6.6.4.5　　ラットを用いた in vivo 哺乳類赤血球小核試験

LOXO-305-TOX-016 試験（4.2.3.3.2.1）、概要表 2.6.7.9

#### 2.6.6.4.5.1　結果の要約

ピルトブルチニブを雌雄 SD 系ラットに、2000 mg/kg まで単回経口投与したとき、骨髄の小核誘発作用は認められなかった。

#### 2.6.6.4.5.2 目的

本試験は、ピルトブルチニブの骨髄での小核誘発能の有無を評価するために実施した。

#### 2.6.6.4.5.3 方法

##### 2.6.6.4.5.3.1 試験デザイン

ラットに、ピルトブルチニブを 0（溶媒）、250、500、1000、又は 2000 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。投与後 24 又は 48 時間に骨髄を採取し、小核を有する多染性赤血球（polychromatic erythrocyte：PCE）の比率を算出した。

本試験のデザインは、OECD ガイドライン 474、ICH S2(R1)、及び ISO/IEC 17025:2005 を参照した。

##### 2.6.6.4.5.3.2 試験のパラメータ及び評価項目

本試験では、以下のパラメータ及び項目を評価した。

- 死亡確認
- 一般状態
- 体重
- 小核分析（PCE 比率）
- トキシコキネティクス

##### 2.6.6.4.5.3.3 用量設定根拠

先に実施した用量設定試験（LOXO-305-TOX-015 試験、4.2.3.3.2.2）では、ピルトブルチニブを 2000 mg/kg の用量で雌雄ラットに単回経口投与したとき、良好な忍容性が認められたことから、本試験の高用量を 2000 mg/kg に設定した。高用量は、OECD ガイダンス（OECD 474）で推奨される限界用量である。低及び中用量は、高用量で所見が認められた場合に用量反応性を評価する目的で設定した。

#### 2.6.6.4.5.4 結果

ピルトブルチニブは、本試験の条件下で小核誘発能を示さなかった（表 2.6.6-14）。

**表 2.6.6-14. ピルトブルチニブを投与したラットでのピルトブルチニブのトキシコキネティクス及び骨髄小核頻度**

| 用量 (mg/kg) | 期間 (時間) | MnPCE (%) | | 総 $C_{max}$（μg/mL） | | 非結合型* $C_{max}$（μg/mL） | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | M | F | M | F | M | F |
| 0（溶媒） | 24 | 0.10 | 0.10 | -- | -- | | |
| 250 | 24 | 0.10 | 0.09 | 2.8 | 15 | 0.36 | 1.9 |
| 500 | 24 | 0.09 | 0.09 | 2.0 | 17 | 0.26 | 2.2 |
| 1000 | 24 | 0.12 | 0.09 | 3.0 | 16 | 0.39 | 2.1 |
| 2000 | 24 | 0.10 | 0.10 | 3.6 | 26 | 0.47 | 3.3 |
| 0（溶媒） | 48 | 0.09 | 0.11 | | | | |
| 2000 | 48 | 0.08 | 0.13 | | | | |

略語：$C_{max}$ = 最高血漿中濃度、F = 雌、MnPCE = 小核を有する多染性赤血球、M = 雄

* ラットでのタンパク結合率（87.1%）（CTD 第 2.6.4.4.2 項）に基づいて総 $C_{max}$ から算出した。

### 2.6.6.5　がん原性試験

ピルトブルチニブは進行がんの患者の治療を目的とした薬剤であるため、がん原性試験は実施していない。

### 2.6.6.6　生殖発生毒性試験

LOXO-305-TOX-019 試験（4.2.3.5.2.1）

ピルトブルチニブの生殖発生毒性を、ラットを用いた胚及び胎児発生に関する試験で評価した。

#### 2.6.6.6.1　ラットを用いた拡充型胚及び胎児発生に関する予備試験

LOXO-305-TOX-019 試験（4.2.3.5.2.1）、概要表 2.6.7.13

##### 2.6.6.6.1.1　結果の要約

適時交配した雌ラットにピルトブルチニブを 25、75、375、及び 500 mg/kg BID の用量で、交尾確認後 6～17 日目の間、BID 強制経口投与した。いずれの用量群でも母動物の毒性変化は認められなかったことから、母動物に関する NOAEL は 500 mg/kg BID であった。500 mg/kg BID 群で 1/10 例で全胚吸収が認められた。375 mg/kg BID 以上の群での胚・胎児発生に対する有害作用として、胎児の奇形及び変異、並びに胎児体重低下が認められた。胚・胎児発生に関する NOAEL は 75 mg/kg BID であった。

##### 2.6.6.6.1.2　目的

本試験は、妊娠ラットにピルトブルチニブを着床から硬口蓋閉鎖まで投与したときの胚・胎児発生への影響を評価するために実施した。

##### 2.6.6.6.1.3　方法

###### 2.6.6.6.1.3.1　試験デザイン

適時交配した雌 SD 系ラットに、交尾確認後 6～17 日目の間、ピルトブルチニブを BID 強制経口投与した。交尾確認後 21 日目に剖検を行った。試験デザインを表 2.6.6-15 に示す。

**表 2.6.6-15. ラットを用いた拡充型胚及び胎児発生に関する予備試験の試験デザイン**

| 群番号 | 被験物質 | 用量 [a] | | 投与容量 [a] (mL/kg/回) | 動物数 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | mg/kg/日 | mg/kg/回 | | 主試験 | TK[b] 試験 |
| 1 | 対照 [c] | 0 | 0 | 5 | 10 | 4 |
| 2 | ピルトブルチニブ | 50 | 25 | 5 | 10 | 8 |
| 3 | ピルトブルチニブ | 150 | 75 | 5 | 10 | 8 |
| 4 | ピルトブルチニブ | 750 | 375 | 5 | 10 | 8 |
| 5 | ピルトブルチニブ | 1000 | 500 | 5 | 10 | 8 |

略語：TK = トキシコキネティクス

[a] 直近の体重測定値に基づき投与容量を算出した。1 日 2 回の投与は、12 ± 1 時間の間隔で実施した（各群で最初の動物に投与した時間に基づく）。

[b] TK 用動物は TK 評価のみに使用した。

[c] 対照群には溶媒を投与した。

#### 2.6.6.6.1.3.2 試験のパラメータ及び評価項目

本試験では、以下のパラメータ及び評価項目を評価した。

- 生死確認
- 一般状態
- 体重
- 摂餌量
- 剖検
- トキシコキネティクス
- 卵巣及び子宮のパラメータ
- 胎児体重
- 胎児の外表、内臓、及び骨格検査

#### 2.6.6.6.1.3.3 用量設定根拠

用量は、ラットを用いた反復投与毒性試験成績に基づき設定した。14 日間用量設定試験（LOXO-305-TOX-003 試験、CTD 第 2.6.6.3.1 項）では、ピルトブルチニブを 0、75、175、及び 375 mg/kg BID の用量で雌に強制経口投与した。その結果、375 mg/kg BID（MTD）群の雌で骨髄の毒性変化が認められ、雌の NOAEL は 75 mg/kg BID であった。

28 日間反復投与毒性試験（LOXO-305-TOX-007 試験 CTD 第 2.6.6.3.2 項参照）では、雌ラットにピルトブルチニブを 0、20、60、又は 175 mg/kg BID の用量で強制経口投与した。その結果毒性変化は認められず、雌の NOAEL は 175 mg/kg BID であった。

以上の試験成績に基づき、本試験の用量は、0、25、75、375、及び 500 mg/kg BID とした。375 mg/kg BID 以上の用量で体重増加量の減少が予測された。500 mg/kg BID は生殖発生毒性試験の限界用量であり、より低用量で毒性変化が十分に発現しない場合を考慮して設定した。中用量の 375 mg/kg BID は、14 日間反復投与毒性試験での雌の投与量に合わせた。低用量は、高用量で所見が認められた場合の所見の用量反応情報を得るために設定した。

### 2.6.6.6.1.4 結果

主要な評価項目について以下にその概要を示す。その他の評価項目については概要表 2.6.7.13 を参照のこと。

#### 2.6.6.6.1.4.1 トキシコキネティクス

本試験の TK 評価の考察は CTD 第 2.6.4.3.3.1 項及び概要表 2.6.7.13 に示す。

#### 2.6.6.6.1.4.2 母動物の死亡

試験期間中、ピルトブルチニブ投与に関連した母動物の死亡は認められなかった。

#### 2.6.6.6.1.4.3 母動物の体重及び摂餌量の変化

母動物の体重及び摂餌量には、ピルトブルチニブ投与に関連した変化は認められなかった。

#### 2.6.6.6.1.4.4 卵巣及び子宮の所見

500 mg/kg BID 群の雌 1 例で全胚吸収が認められたことから、500 mg/kg BID の用量では早期及び後期吸収胚数、総吸収胚数、並びに着床後胚損失率の群平均値は対照群と比較して高値を示した。また同群の総胚吸収数及び着床後胚損失率は、背景値の範囲の上限を上回った。500 mg/kg

BID 群では母動物での全胚吸収の発現率が背景値の範囲を超えて高かったことから、この所見はピルトブルチニブ投与に関連すると考えられた。

#### 2.6.6.6.1.4.5　　胎児の変化

雄、雌、及び雌雄平均の胎児体重は、375 及び 500 mg/kg BID 群で対照群を統計学的に有意に下回った。

ピルトブルチニブ投与に関連した奇形及び変異の増加が、375 mg/kg BID 以上の群で認められた。 認められた変異及び奇形の所見を以下に示す。75 mg/kg BID 以下の群では、胎児の変化は認められなかった。

- 尿管欠損
- 腎臓の欠損、小型化、位置異常、又は形態異常
- 卵巣位置異常
- 子宮形態異常
- 極めて重度の尿管拡張
- 腎盂の欠損又は極めて重度の小型化
- 腰椎弓の分離骨化部位
- 胸骨分節形態異常

### 2.6.6.7　　局所刺激性試験

経口投与経路のため該当なし。

### 2.6.6.8　　その他の毒性試験

#### 2.6.6.8.1　　不純物の評価

ピルトブルチニブで規格設定された不純物のうち、ICH Q3A 又は Q3B の安全性確認閾値を上回る以下の 3 種類の不純物について安全性確認を実施した。

- ＊不純物A　　（[redacted]）：[redacted]%
- ＊不純物B　　：[redacted]%[2]
- ＊不純物C　　：[redacted]%[2]

＊不純物B　及び　＊不純物C　の安全性確認のために、ラットを用いた不純物の安全性確認試験（CTD 第 2.6.6.8.1.1.項）及び細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）（概要表 2.6.7.17B）を実施した。

＊不純物A　　（[redacted]）の安全性は、ピルトブルチニブの反復投与毒性試験成績に基づき評価した。

[2] ＊不純物B　及び　＊不純物C　について、含有量[redacted]%までの安全性確認を個別に実施したが、規格は各不純物を合わせた含量が[redacted]%以下に設定されている。

ICH M7(R1)に準拠し、市販用原薬の合成経路における変異原性不純物の評価を実施した。詳細はCTD第3.2.S.3.2項に、細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames試験）成績は概要表2.6.7.17Bに示す。Ames試験の結果はいずれも陰性であった。

### 2.6.6.8.1.1　ラットを用いた不純物安全性確認試験

LOXO-305-TOX-020試験（4.2.3.7.7.2）、概要表2.6.7.17A

#### 2.6.6.8.1.1.1　結果の要約

本試験では、不純物　＊不純物B　及び　＊不純物C　を含有するピルトブルチニブ、又はこれら2種類の不純物を含まないピルトブルチニブを、雌雄のSD系ラットに2週間、BID強制経口投与した。2ロットのピルトブルチニブの間で毒性プロファイルの違いは認められず、先に実施したGLP適用のラット反復投与毒性試験と比較して新たな所見は認められなかった（CTD第2.6.6.3項参照）。NOAELは300 mg/kg BIDであった。

#### 2.6.6.8.1.1.2　目的

本試験は、ピルトブルチニブ中の不純物　＊不純物B　及び　＊不純物C　をラットに2週間BID強制経口投与したときの安全性を確認することであった。

#### 2.6.6.8.1.1.3　方法

##### 2.6.6.8.1.1.3.1　試験デザイン

雌雄のSD系ラットにピルトブルチニブを2週間BID強制経口投与した（表2.6.6-16）。

**表2.6.6-16. ラットを用いた不純物安全性確認試験の試験デザイン**

| 群番号 | 被験物質 | 用量（mg/kg/日） | 用量（mg/kg BID） | 投与容量（mL/kg） | 動物数 主試験 M | 動物数 主試験 F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 対照[a] | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 |
| 2 | ピルトブルチニブ[b] | 600 | 300 | 10 | 10 | 10 |
| 3 | ピルトブルチニブ[c] | 600 | 300 | 10 | 10 | 10 |

略語：BID = 1日2回、F = 雌、M = 雄

a　対照群には溶媒を投与した。

b　ロット[redacted]。[redacted]%の　＊不純物B　及び[redacted]%の　＊不純物C　を含む。分析証明書の発行後にこれら不純物の感度係数が測定されたため、含有率の値は試験報告書中の分析証明書の値と一致していない可能性がある。

c　ロット[redacted]。　＊不純物B　及び　＊不純物C　を含まない（いずれも≤[redacted]%）。

##### 2.6.6.8.1.1.3.2　試験のパラメータ及び評価項目

本試験では以下のパラメータ及び評価項目を評価した。

- 生死確認
- 一般状態
- 体重
- 摂餌量
- 眼科学的検査
- 臨床検査
- 器官重量
- 剖検
- 病理組織学的検査



＊新薬承認情報提供時に置き換え

#### 2.6.6.8.1.1.3.3 用量設定根拠

ラット 3 ヵ月間反復投与毒性試験の NOAEL は 300 mg/kg BID であった。本試験の用量は、ピルトブルチニブ原薬中の不純物に関連する新たな毒性がある場合、それを検出できるように設定した。

#### 2.6.6.8.1.1.4 結果

不純物 ＊不純物B 及び ＊不純物C を含有するピルトブルチニブのロットと、これらの不純物を含有しないピルトブルチニブのロットの間で、認められた所見に明らかな違いはなかった。本試験で新たな所見は認められなかった。300 mg/kg BID の用量では、いずれの群にも毒性変化は認められなかった。

### 2.6.6.8.1.2 ＊不純物B の安全性確認

体表面積換算用量に基づく比較で、ラットを用いた不純物安全性確認試験の NOAEL での ＊不純物B の曝露量は、ピルトブルチニブの臨床推奨用量を投与した場合の ＊不純物B 曝露量より高かった（表 2.6.6- 17）。 ＊不純物B は Ames 試験で陰性であった（概要表 2.6.7.17B）。

＊不純物B の染色体異常誘発リスクを評価する試験は実施していないが、ピルトブルチニブが染色体数的異常を誘発すること（CTD 第 2.6.6.9.5 項）、及び不純物の曝露量は低いことを考慮すると、 ＊不純物B への曝露により追加される染色体異常誘発のリスクは無視しうる程度と考えられる。

以上より、 ＊不純物B の規格値 [redacted]%[2] までの安全性が確認された。

**表 2.6.6-17. 臨床推奨用量及び毒性試験の NOAEL での ＊不純物B の曝露量**

| **動物種<br>影響量（ピルトブルチニブの用量）** | **ピルトブルチニブの 1 日総用量（mg/m²）[a]** | ＊不純物B **の 1 日総用量（mg/m²）[b]** |
|---|---|---|
| **ヒト** | | |
| 臨床推奨用量 = 200 mg QD（2.9 mg/kg[c]） | 107 | ≤1.4[e] |
| **ラット不純物安全性確認試験**（LOXO-305-TOX-020 試験）[d] | | |
| 雄の NOAEL = 300 mg/kg BID | 3600 | 18 |

略語：BID = 1 日 2 回、NOAEL = 無毒性量、QD = 1 日 1 回

a 米国食品医薬品局の「成人健康被験者を対象とした治療薬の初回臨床試験での最大安全開始用量の推定に関する企業向けガイダンス」の表 1 の記載に従って、mg/kg 単位の用量を mg/m² 単位に変換した。

b ヒトは ＊不純物B の規格設定（[redacted]%）、ラットは不純物安全性試験で使用したピルトブルチニブロット中の ＊不純物B 含有率に基づき算出した。

c 体重を 70 kg として算出した。

d [redacted]%の ＊不純物B を含有するピルトブルチニブ（ロット [redacted]）を用いて実施した。分析証明書の発行後に感度係数が測定されたため、含有率の値は試験報告書中の分析証明書の値と一致しない可能性がある。

e [redacted]%の ＊不純物B を含有するピルトブルチニブを臨床推奨用量で投与した場合に患者が曝露される用量。

### 2.6.6.8.1.3 ＊不純物C の安全性確認

体表面積換算用量に基づく比較で、ラットを用いた不純物安全性確認試験の NOAEL での ＊不純物C の曝露量は、ピルトブルチニブの臨床推奨用量を投与した場合の ＊不純物C 曝露量より高かった（表 2.6.6-18）。また ＊不純物C は Ames 試験で陰性であった（概要表

2.6.7.17B）。　＊不純物C　の染色体異常誘発リスクを評価する試験は実施していないが、ピルトブルチニブが染色体数的異常を誘発すること（CTD 第 2.6.6.9.5 項）、及び不純物の曝露量は低いことを考慮すると、＊不純物C　への曝露により追加される染色体異常誘発のリスクは無視しうる程度と考えられる。以上より、＊不純物C　の規格値[redacted]%²までの安全性が確認された。

**表 2.6.6-18. 臨床推奨用量及び毒性試験の NOAEL での　＊不純物C　の曝露量**

| **動物種**<br>**影響量（ピルトブルチニブの用量）** | **ピルトブルチニブの 1 日総用量（mg/m²）[a]** | ＊不純物C　**の 1 日総用量（mg/m²）[b]** |
|---|---|---|
| **ヒト** | | |
| 臨床推奨用量 = 200 mg QD（2.9 mg/kg[c]） | 107 | ≤1.4[e] |
| **ラット不純物安全性確認試験**（LOXO-305-TOX-020 試験）[d] | | |
| 雄の NOAEL = 300 mg/kg BID | 3600 | 19 |

略語：BID = 1 日 2 回、NOAEL = 無毒性量、QD = 1 日 1 回

a　米国食品医薬品局の「成人健康被験者を対象とした治療薬の初回臨床試験での最大安全開始用量の推定に関する企業向けガイダンス」の表 1 の記載に従って、mg/kg 単位の用量を mg/m² 単位に変換した。

b　ヒトは　＊不純物C　の規格設定（[redacted]%）、又はラットは不純物安全性試験で使用したピルトブルチニブロット中の　＊不純物C　含有率に基づき算出した。

c　体重を 70 kg として算出した。

d　[redacted]%の　＊不純物C　を含有するピルトブルチニブ（ロット[redacted]）を用いて実施した。分析証明書の発行後に感度係数が測定されたため、含有率の値は試験報告書中の分析証明書の値と一致しない可能性がある。

e　[redacted]%の　＊不純物C　を含有するピルトブルチニブを臨床推奨用量で投与した場合に患者が曝露される用量。

### 2.6.6.8.1.4　＊不純物A　（[redacted]）の安全性確認

体表面積換算用量に基づく比較で、反復投与毒性試験の NOAEL での　＊不純物A　の曝露量は、ピルトブルチニブの臨床推奨用量を投与した場合の　＊不純物A　曝露量より高かった（表 2.6.6-19）。　＊不純物A　はピルトブルチニブの[redacted]であり、遺伝毒性試験での挙動はピルトブルチニブに類似すると予測されため、　＊不純物A　について遺伝毒性試験は実施しなかった。ピルトブルチニブの遺伝毒性成績から（CTD 第 2.6.6.4 項）、　＊不純物A　の Ames 試験は陰性で、　＊不純物A　による染色体異常誘発のリスクは、ピルトブルチニブと同程度と予測される。ピルトブルチニブ染色体数的異常を誘発すること（CTD 第 2.6.6.9.5 項）、及び不純物の曝露量は低いことから、　＊不純物A　への曝露により追加される染色体異常誘発のリスクは無視しうる程度であり、染色体異常誘発を評価する試験実施の意義は低いと考えられる。以上より、　＊不純物A　の規格値[redacted]%までの安全性が確認された。

表 2.6.6-19. 臨床推奨用量及び毒性試験の NOAEL での　＊不純物A　（[redacted]）の曝露量

| 動物種<br>影響量（ピルトブルチニブの用量） | ピルトブルチニブの 1 日総用量（$mg/m^2$）[a] | ＊不純物A　の 1 日総用量（$mg/m^2$）[b] |
|---|---|---|
| ヒト | | |
| 臨床推奨用量 = 200 mg QD（2.9 mg/kg[c]） | 107 | ≤1.1[e] |
| ラット 28 日間反復投与毒性試験（LOXO-305-TOX-007 試験）[d] | | |
| 雄の NOAEL = 500 mg/kg BID | 6000 | 17 |
| 雌の NOAEL = 175 mg/kg BID | 2100 | 6.1 |
| イヌ 28 日間反復投与毒性試験（LOXO-305-TOX-008 試験）[d] | | |
| NOAEL = 10 mg/kg BID | 400 | 1.2 |

略語：BID = 1 日 2 回、NOAEL = 無毒性量、QD = 1 日 1 回

a　米国食品医薬品局の「成人健康被験者を対象とした治療薬の初回臨床試験での最大安全開始用量の推定に関する企業向けガイダンス」の表 1 の記載に従って、mg/kg 単位の用量を $mg/m^2$ 単位に変換した。

b　ヒトは　＊不純物A　の規格値（[redacted]%）、ラットは毒性試験で使用したピルトブルチニブロット中に含まれる　＊不純物A　含有率に基づき算出した。

c　体重を 70 kg として算出した。

d　[redacted]%の　＊不純物A　（[redacted]）を含有するピルトブルチニブ（ロット [redacted]）を用いて実施した。

e　[redacted]%の　＊不純物A　（[redacted]）を含有するピルトブルチニブを、臨床推奨用量で投与した場合に患者が曝露される用量。

### 2.6.6.8.2　BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験

LOXO-305-TOX-005 試験（4.2.3.7.7.1）、概要表 2.6.7.17A

#### 2.6.6.8.2.1　結果の要約

BALB/c3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験により、ピルトブルチニブの光毒性を評価した。ピルトブルチニブは本試験で光毒性を示さなかった。

#### 2.6.6.8.2.2　目的

本試験は、紫外線照射下（UVR+）／非照射下（UVR-）でピルトブルチニブ処理した BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞の生存率を比較し、紫外線照射による相対生存率低下を指標にピルトブルチニブの光毒性を評価するために実施した。

#### 2.6.6.8.2.3　方法

UVR 照射下又は非照射下で BALB/c 3T3 細胞をピルトブルチニブで処理した。生存細胞数をニュートラルレッド取込みを指標に測定し、溶媒対照と比較した細胞の生存率及び 50%阻害濃度（$IC_{50}$）を算出した。最初に被験物質の溶解度の検討を含む用量設定試験を実施し、この試験成績に基づき最終的な試験でのピルトブルチニブ処理濃度（8 用量）を決定した。最終的な試験は独立したアッセイを 2 回実施した。陽性対照としてプロメタジンを使用した。$IC_{50}$ 値から、光刺激係数（photoirritancy factor：PIF）及び平均光作用（mean photo effect：MPE）を算出し、光毒性の有無を判定した。

本試験のデザインは、ICH ガイドライン S10 及び OECD ガイドライン 432 を参照した。

### 2.6.6.8.2.4　結果

表 2.6.6-20 に示すように、ピルトブルチニブは光毒性を示さなかった。陽性対照の成績から、本試験の結果の信頼性が確認された。

**表 2.6.6-20. In vitro 光毒性試験の結果**

| 処理 | $IC_{50}$（μg/mL）-UVR[a] | $IC_{50}$（μg/mL）+UVR[b] | PIF[c] | MPE[c] | 光毒性[c] | UVR 生存率[d]（%） | 平均 $OD_{540}$[d] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| プロメタジン（試験 3 及び 4）[f] | 35 | 0.96 | 37 | 0.51 | Yes | 87 | 0.87 |
| ピルトブルチニブ（試験 3）[f] | -- | -- | *1[e] | 0.013 | No | 76 | 0.78 |
| ピルトブルチニブ（試験 4）[f] | -- | -- | *1[e] | -0.040 | No | 83 | 0.83 |

略語：$IC_{50}$ = 50%阻害濃度、MPE = 平均光作用、$OD_{540}$ = 540 nm での光学密度、PIF = 光刺激係数、UVR = 紫外線照射

a -UVR：紫外線非照射下。

b +UVR：紫外線照射下。照射条件は、UVA：5 J/cm$^2$、UVB：用量設定試験では 23 mJ/cm$^2$、最終的な試験では 25 mJ/cm$^2$。

c 光毒性の基準：PIF>5 又は MPE>0.150 の場合、「光毒性あり」とする。

d 細胞生存率に関する試験の許容基準は、$OD_{540}$≥0.400 及び UVR 生存率>80%である。

e $IC_{50}$（-UVR）及び $IC_{50}$（+UVR）がいずれも算出できない（紫外線照射の有無にかかわらず、被験物質が細胞毒性を示さない）場合、「光毒性なし」とする。

f 最終的な試験（試験 1 及び 2）で技術的過誤が生じたため、最終的な試験を再度実施した（試験 3 及び 4）。試験 1 及び 2 の結果も光毒性に関して陰性であったが、これらの試験の結果は光毒性の判定には使用しなかった。

## 2.6.6.9　考察及び結論

ピルトブルチニブについて、成人の進行がん患者を対象としたピルトブルチニブの 1 日 1 回経口投与をサポートすることを目的として、ICH S9 の推奨事項に一致する一連の非臨床毒性試験を計画し、実施した。

主要な試験で、以下の重要な変化が認められた。

- ラット及びイヌでのリンパ系器官の変化（小型化、重量減少、又は細胞密度低下など）
- ラット及びイヌでの B 細胞及びその他の免疫系機能マーカーの減少
- イヌ 28 日間反復投与毒性試験での死亡
- イヌ 3 ヵ月間反復投与毒性試験での角膜病変
- 遺伝毒性（異数性誘発性）
- 胚及び胎児毒性、並びに奇形

その他、軽度又はヒトの安全性への関連性が低いと考えられる以下の所見が認められた。

- ラット及びイヌでの体重及び摂餌量の減少
- ラット及びイヌでの赤血球量減少
- イヌ 28 日間反復投与毒性試験での骨髄毒性
- イヌ 28 日間反復投与毒性試験での消化管毒性
- イヌ 28 日間反復投与毒性試験での肺の炎症

- イヌ 28 日間反復投与毒性試験での軽度の QTc 延長
- ラットに特異的な膵臓の変化

上記の所見について以下に考察する。

#### 2.6.6.9.1　イヌの死亡

イヌ 28 日間反復投与毒性試験では忍容性が認められず、最終的に瀕死状態で安楽殺に至った（CTD 第 2.6.6.3.5.4.2 項参照）。高用量群では 90 mg/kg BID で投与を開始したが、活動性低下、体温上昇、消化管傷害の徴候といった重度の一般状態所見が認められたことから、5 日目午後の投与は休薬した。同群の 4 日目の AUC は約 121500 ng·h/mL で、これは臨床曝露量（ヒトに臨床推奨用量である 200 mg QD を経口投与したときの定常状態の $AUC_{0\text{-}24}$ = 91300 ng·h/mL、CTD 第 2.6.6.9.8 項）より高かった。6 及び 7 日目は用量を 60 mg/kg BID に減量したが、一般状態の変化が持続し、忍容性が認められなかったため、8 日目午後から再び休薬させ、高用量群の全例を 13 日目に安楽殺した。60 mg/kg BID 投与時の曝露量は評価しなかった。

中用量群では、30 mg/kg BID で投与を開始したが忍容性が認められず、高用量群（90/60 mg/kg BID）と同様の一般状態の変化が認められたため、9 日目から休薬し、12 日目から用量を 10 mg/kg BID に減量した。中用量群の 4 日目（30 mg/kg BID 投与時）の AUC は 72500 ng·h/mL であり、臨床曝露量を下回った（CTD 第 2.6.6.9.8 項参照）。ヒトでは臨床推奨用量（200 mg QD）投与時に良好な忍容性が認められたが、イヌではより低い曝露量でも忍容性が認められなかった。イヌ 3 ヵ月間反復投与毒性試験では、検討した最高用量の 5 mg/kg BID で忍容性が認められ、同群の AUC は 38600 ng·h/mL であった。イヌでピルトブルチニブに対する感受性がより高い理由は不明である。

#### 2.6.6.9.2　眼の変化

イヌ 3 ヵ月間反復投与毒性試験では、臨床曝露量を下回る用量で、高用量群の雄 2 例で、以下の角膜病変が病理組織学的検査及び眼科学的検査で認められた（CTD 第 2.6.6.3.6.4.3 項）。

- 角膜上皮有糸分裂増加
- 角膜上皮過形成
- 角膜上皮単細胞壊死
- 角膜びらん
- 角膜潰瘍形成
- 角膜間質線維化
- 角膜間質混合細胞浸潤

眼の変化は、イヌ 3 ヵ月間反復投与毒性試験でのみ認められた所見であり、イヌ又はラットを用いた他のいずれの試験でも、眼の変化は認められなかった。この所見の回復性は評価しなかったが、所見の性質から、これらの所見の多くは投与中止により回復可能と予測される。また、臨床使用時に同様の変化が生じた場合には、眼の変化に関連した徴候及び症状（眼不快感、発赤など）が発現すると予測されるため、ヒトでは眼科学的検査でモニタリング可能と考えられる。

なお、BTK 阻害薬であるイブルチニブでは、イヌで眼の変化が認められたが、ヒトでの臨床試験結果との関連はなかったとされている（イブルチニブ審査報告書）。一部の BTK 阻害薬では、眼障害が副作用として記載されているが（イブルチニブ添付文書、チラブルチニブ添付文書）、

眼毒性は BTK 阻害薬のクラスエフェクトとしてこれまで特定されていない。また、ピルトブルチニブの臨床試験でも有害事象として眼障害の報告はあるものの、ピルトブルチニブの臨床試験では明らかな眼毒性の安全性シグナルは認められていない（CTD 第 2.5.5.1 項）。

### 2.6.6.9.3　リンパ系器官の変化

ラット及びイヌで、以下に示すいずれか（又は複数）のリンパ系器官の変化が認められた。

- 脾臓、胸腺、リンパ節、及び GALT のリンパ球減少及び細胞密度低下
- 脾臓重量減少
- リンパ節の赤血球貪食及びリンパ節洞内赤血球
- 混合細胞浸潤

これらの変化には回復性が認められた。ほとんどの所見は、動物の健康状態に影響を及ぼさなかったことから毒性変化ではないと判断した。これらの変化には、ピルトブルチニブの薬理作用及び後述する免疫系の変化（CTD 第 2.6.6.9.4 項）に関連している可能性が考えられた。

### 2.6.6.9.4　免疫系の変化

ラット及びイヌの 3 ヵ月間反復投与毒性試験では、血液（ラット及びイヌ）、胸腺（ラット）、及び脾臓（ラット）の免疫フェノタイピング、並びに TDAR の評価を実施した（それぞれ CTD 第 2.6.6.3.3.4.5 項及び 2.6.6.3.6.4.5 項参照）。これらの評価項目は、評価に要する期間が長いため、28 日間反復投与毒性試験には含めなかった。免疫フェノタイピング評価では、ラット及びイヌで B 細胞が減少し、これに伴い他の種類の免疫細胞の相対比率が上昇した。また TDAR の低下が認められた。

ラット及びイヌで、血中 B 細胞の絶対数減少及び相対比率低下が認められた。これに伴って、多くの T 細胞集団の絶対数増加及び相対比率上昇が認められた。ラットでは細胞傷害性 T 細胞の変化が認められなかったため、ヘルパーT 細胞／細胞傷害性 T 細胞の比が上昇した。イヌではすべての種類の T 細胞が一貫して増加したため、この比率は変化しなかった。ラットでは同様の変化が脾臓でも認められたが、胸腺では認められなかった。

TDAR の評価では、ラット及びイヌの両方で、KLH 免疫に対する IgM 反応が低下した。ラットでは更に、IgG 反応も低下した。ラットの高用量（500 mg/kg BID）群の雄では、多くの個体で TDAR 反応の惹起が検出できなかったため、同群の所見は毒性変化であり、他は動物の全般的健康状態に影響を及ぼさなかったことから、毒性変化ではないと判断した。

免疫毒性の評価項目は、3 ヵ月間反復投与毒性試験でのみ設定したため、B 細胞減少及び TDAR の低下の回復性は評価していないが、1 ヵ月間反復投与毒性試験で認められたリンパ系器官の変化と同様に、投与中止により回復可能と予測される。

免疫系の変化は、ピルトブルチニブの薬理作用及び先述のリンパ系器官の変化（CTD 第 2.6.6.9.3 項）に関連すると考えられ、全般的な免疫系の変化を伴うため臨床モニタリングが可能と考えられる。また非臨床試験での変化と一致して、臨床試験でも、薬理作用である免疫抑制作用の結果として患者での感染症のリスク増加（発現、重症度、又は両方）が報告されているが、これは BTK 阻害薬で既知の毒性である。

### 2.6.6.9.5　遺伝毒性（染色体数的異常誘発性）

ピルトブルチニブは Ames 試験及び in vivo 小核試験では陰性であったが、in vitro でのピルトブルチニブによる小核誘発が HPBL で認められた（CTD 第 2.6.6.4 項）。キナーゼ阻害薬の多くが特徴的な小核誘発作用を示すことが報告されている(Tweats 2007)。染色体数的異常誘発物質には閾値が存在することが一般に認められており、薬物が紡錘体機能に影響を及ぼさない用量、すなわち小核の頻度増加が起こらない用量が設定可能とされている(Parry 1994)。ピルトブルチニブの染色体数的異常誘発作用に関する安全な曝露量限界を以下のとおり導出した。

ピルトブルチニブの in vitro 及び in vivo 小核試験について、小核誘発に関する無影響量（NOEL）及び最小影響量（LOEL）、並びに非結合型濃度に基づく安全域を表 2.6.6- 21 に示す。安全な曝露量限界を NOEL のうち最も低い値（ラット小核試験の NOEL）とし、ラット小核試験の NOEL と臨床推奨用量を非結合型 $C_{max}$ に基づき比較したとき、適切な安全域が得られた（表 2.6.6- 21）。したがって、推奨用量の 200 mg QD 以下の用量での治療を受けるがん患者では、ピルトブルチニブの遺伝毒性（染色体数的異常誘発性）が安全性上の懸念となる可能性は低いと考えられる。

**表 2.6.6-21. ピルトブルチニブの小核誘発作用及び無影響量と安全域**

| 試験 | 報告書 | 小核誘発の NOEL | 小核誘発の LOEL | 安全域 [a] |
|---|---|---|---|---|
| HPBL を用いる in vitro 小核試験 | LOXO-305-TOX-010 | ND | 5 µg/mL | -- |
| HPBL を用いる in vitro 小核試験及びセントロメア染色 | LOXO-305-TOX-014 | 5 µg/mL | 12 µg/mL | 19x |
| CHO 細胞を用いる in vitro 小核試験 | LOXO-305-TOX-013 | 5 µg/mL | ND | 19x |
| ラット in vivo 小核試験 | LOXO-305-TOX-016 | 3.3 µg/mL[b] | ND | 12x |

略語：HPBL = ヒト末梢血リンパ球、LOEL = 最小影響量、NOEL = 無影響量、ND = 決定せず、CHO = チャイニーズハムスター卵巣

[a] 小核誘発に関する NOEL での非結合型 $C_{max}$ を、ヒトに 200 mg QD で投与時の非結合型 $C_{max}$（0.27 µg/mL）で除した値。臨床使用時の $C_{max}$ は約 6.5 µg/mL（CTD 第 5.3.5.2.1 項：18001 試験の第 2 相パートで患者にピルトブルチニブを 200 mg QD で投与したときの母集団 PK 解析に基づく定常状態での最高血漿中濃度）、ヒトでのタンパク結合率は 95.8%である（LOXO-305-DMPK-060 試験、CTD 第 5.3.2.1.3 項）。

[b] ラット小核試験 NOEL における非結合型 $C_{max}$。小核誘発に関する NOEL（2000 mg/kg）での $C_{max}$ は 26 µg/mL、ラットでのタンパク結合率は 87.1%である。

### 2.6.6.9.6　受胎能並びに胚及び胎児発生への影響

ピルトブルチニブの受胎能への影響は、反復投与毒性試験での生殖器官への影響に基づき評価した。いずれの試験でも、雌雄の生殖器官に対するピルトブルチニブの影響は認められなかった。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では、ピルトブルチニブを妊娠ラットの器官形成期に投与したところ、明らかな母動物毒性が認められない用量で、着床後胚損失率上昇、胎児体重減少、並びに胎児における腎臓、尿路、卵巣、子宮、及び骨の奇形及び変異が認められた（CTD 第 2.6.6.6.1 項参照）。これらの変化は、臨床曝露量に近い用量で発現した（CTD 第 2.6.6.9.8 項参照）。妊婦又は妊娠可能な女性には、この胎・胎児発生に対するリスクについて、添付文書により適切に注意喚起する予定である。

### 2.6.6.9.7　その他の変化

#### 2.6.6.9.7.1　体重及び摂餌量の変化

体重又は摂餌量の軽度減少が、ラット 28 日間及び 3 ヵ月間反復投与毒性試験、並びにイヌ 28 日間反復投与毒性試験で認められた。イヌ 28 日間反復投与毒性試験で認められた消化管の変化を除き、関連する明らかな標的器官の変化は認められなかったことから、体重及び摂餌量の変化は、動物の健康状態全般を反映したもので、ヒトの安全性との関連性は低いと考えられる。

#### 2.6.6.9.7.2　赤血球量減少

ラット 28 日間、並びにイヌ 28 日間及び 3 ヵ月間反復投与毒性試験で、軽度の赤血球量減少が認められた。先に述べたように、イヌ 28 日間反復投与毒性試験では、これに関連して骨髄細胞密度低下が認められたが、他の試験では認められなかった。赤血球量の変化は全体的に軽度であり、定期的な血液学的検査で検出可能と考えられることから、ヒトでの安全性上の懸念を示すものではないと考えられる。血球減少症（貧血を含む）は、ピルトブルチニブを含め BTK 阻害薬の既知のリスクである。

#### 2.6.6.9.7.3　忍容性の認められない用量でイヌのみに認められた変化

イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験で忍容性の認められない用量で、以下の変化が認められ、その結果、途中屠殺又は減量に至った。

- 骨髄毒性（CTD 第 2.6.6.3.5.4.5 項参照）
- 消化管毒性（CTD 第 2.6.6.3.5.4.7 項参照）
- 軽微な QTc 延長（CTD 第 2.6.6.3.5.4.8 項参照）
- 肺の炎症（CTD 第 2.6.6.3.5.4.9 項参照）

イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験では、90 mg/kg BID の用量で投与を開始し、60 mg/kg BID に減量した後、一般状態悪化により 13 日目に安楽殺に至った。同群では病理組織学検査で骨髄細胞密度低下が認められ、関連する血液学的変化が認められた。同様の血液学的変化は、中用量の 30 mg/kg BID 群でも試験中間点付近（14 日目）の検査で認められたが、12 日目より中用量群の用量を 10 mg/kg BID に減量した結果、投与 28 日目の血液学的検査でこれらの所見は回復していた。なお、骨髄の毒性変化がラット及びイヌを用いた GLP 非適用の予備試験で認められたが、イヌでは忍容性が認められない用量でのみ発現した所見であり、ラット、イヌともにより長期の試験で再現されなかった。

28 日間反復投与毒性試験で忍容性の認められない用量を投与した群（投与期間の一部のみ投与した群を含む）では、消化管の変化が発現した。高用量群では、肺に出血を伴う炎症が認められた。消化管及び肺の所見はいずれも他の GLP 適用試験で再現されなかった。なお、消化器関連事象を含む消化管の変化は抗がん剤治療に伴って一般的に認められ、ピルトブルチニブ投与患者で最も高頻度に発現する有害事象（adverse event：AE）である（CTD 第 2.7.4 項）。

28 日間反復投与毒性試験の中用量群では、投与期間終了時の心電図検査で、QTc 延長が認められたが、延長の程度は軽微であり、生理学的に重要でないと考えられた。3 ヵ月間反復投与毒性試験で QTc の変化は認められず、イヌ心血管系安全性薬理試験では、より高い用量（60 mg/kg）

でも QTc 延長は認められなかった（CTD 第 2.6.2.4.2 項）。また、in vitro hERG 試験での hERG チャネル電流阻害の $IC_{50}$ と、臨床推奨用量（200 mg QD）投与時の $C_{max}$ を非結合型濃度に基づき比較した場合、十分な曝露量比が得られている（CTD 第 2.6.2.4.1 項参照）。したがって、イヌ 28 日間反復投与毒性試験の心電図検査で認められた QTc 延長がヒトでの安全性上の懸念となる可能性は低いと考えられる。

一般に、MTD を上回る用量のみで動物に認められる変化は、ヒトでのリスクとなる可能性が低いと予測されること、及び上記の変化はいずれもより長期の試験で再現されなかったことから、これらの変化のヒトでの安全性への関連性は低いと考えられる。

#### 2.6.6.9.7.4　ラットに特異的な膵臓の変化

ラットを用いたすべての反復投与毒性試験で、以下に示す膵臓の変化が、主にランゲルハンス島周囲で認められた。

- 出血
- 線維化
- 炎症
- 色素増加

これはラットに特異的な変化であり、ピルトブルチニブの非臨床試験に使用した系統の Crl:CD(SD)で特に顕著に認められる(Bhaskaran et al. 2018)。また、イブルチニブなど他の BTK 阻害薬でもラットで同様の所見が発現するが、耐糖能検査を含め、膵臓機能に影響を及ぼさないことが報告されている(Erickson et al. 2017; Bhaskaran et al. 2018)。これまでに、ヒトでの安全性リスクを示唆するエビデンスは得られておらず、ヒトでの安全性上の懸念を示唆するものではないと考えられる。

### 2.6.6.9.8　曝露量比

ラット及びイヌの 3 ヵ月間反復投与毒性試験での曝露量を、臨床推奨用量（200 mg QD）投与時と比較した曝露量比を表 2.6.6-22 に示す。

ラット 3 ヵ月間反復投与毒性試験において、雌では高用量群（300 mg/kg BID）でも毒性変化は認められず、同群の曝露量は臨床曝露量の 4 倍であった。雄の高用量は、ICH M3 で推奨される限界用量の 500 mg/kg BID（1000 mg/kg/日）を設定したが、同群の曝露量は臨床曝露量を下回った。高用量群の雄で認められた毒性変化は、B 細胞減少を伴う TDAR 低下であったが（CTD 第 2.6.6.3.3.4.5 項参照）、これはピルトブルチニブの薬理作用に関連するもので、臨床でのモニタリングが可能と考えられた。また膵臓の変化は全用量群で認められたが、毒性変化ではなく、ラットに特異的な変化であることから、ヒトへの外挿性は低いと考えられた。

イヌでは臨床曝露量と同程度の曝露量で忍容性が認められず、NOAEL での曝露量は臨床曝露量より低かった。イヌの高用量群で認められた毒性変化は角膜の変化であったが（CTD 第 2.6.6.3.6.4.3 項参照）、臨床モニタリングが可能であり、臨床試験で眼毒性を示唆するエビデンスは報告されていない。

ラットで、ピルトブルチニブによる胚・胎児発生への有害な影響が認められた曝露量は、臨床曝露量の約 3 倍に相当する（CTD 第 2.6.6.9.6 項）。妊婦及び妊娠可能な女性に対しては、添付文書などで適切に注意喚起する予定である。

表 2.6.6-22. ピルトブルチニブの経口投与に関する曝露量比

| | 用量 | 曝露量<br>$AUC_{0-24}$（ng·h/mL） | 曝露量比 [a] |
|---|---|---|---|
| **ヒト** | | | |
| 推奨用量 | 200 mg QD | 91300[b] | |
| **ラット** | | | |
| NOAEL（M）[c] | 50 mg/kg BID | 19100[e] | <1 |
| MTD（M）[c] | 500 mg/kg BID | 63000[e] | <1 |
| NOAEL/MTD（F）[c] | 300 mg/kg BID | 369000[e] | 4.0x |
| **妊娠ラット** | | | |
| 胎児への影響の NOEL[i] | 75 mg/kg BID | 106000[j] | 1.2x |
| 胎児への影響の LOEL[i] | 375 mg/kg BID | 272000[j] | 3.0x |
| **イヌ** | | | |
| NOAEL[d] | 2.5 mg/kg BID | 15600[f] | <1 |
| MTD[d] | 5 mg/kg BID | 38600[f] | <1 |
| MTD を超える用量 [g] | 30 mg/kg BID | 72500[h] | <1 |

略語：$AUC_{0-24}$ = 血漿中濃度－時間曲線下面積、BID = 1 日 2 回、F = 雌、LOEL = 最小影響量、M = 雄、MTD = 最大耐量、NOAEL = 無毒性量、NOEL = 無影響量、QD = 1 日 1 回

a 曝露量比は動物の曝露量をヒトの曝露量で除した値である。

b 18001 試験（CTD 第 5.3.5.2.1 項）の第 2 相パートで患者にピルトブルチニブを 200 mg QD で投与したときの母集団 PK 解析に基づく定常状態での AUC。

c ラットを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（LOXO-305-TOX-018 試験）で決定された NOAEL 及び MTD

d イヌを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（LOXO-305-TOX-017 試験）で決定された NOAEL 及び MTD

e 105 日目の曝露量

f 105 日目の雌雄平均曝露量

g イヌ 28 日間反復投与毒性試験（LOXO-305-TOX-008 試験）では、30 mg/kg BID の低用量で忍容性が認められなかった。

h 4 日目の雌雄平均曝露量

i ラットを用いた胚及び胎児発生に関する試験（LOXO-305-TOX-019 試験）で決定された NOEL 及び LOEL

j 交尾確認後 17 日目の曝露量

### 2.6.6.9.9　結論

一連の非臨床毒性試験より、ピルトブルチニブの安全性が適切に評価され、成人の進行がん患者を対象とした臨床使用時の安全性が裏付けられた。非臨床毒性試験成績で認められたピルトブルチニブ投与に関連した所見は、臨床使用時の重大な安全性上のリスクを示すものではないと考える。反復投与毒性試験では、NOAEL から MTD を超える用量範囲を評価したが、臨床曝露量と同程度の曝露量を達成できないか、又は忍容性が認められなかった。反復投与毒性試験での主な毒性所見は、臨床曝露量を下回る用量で発現したものの、忍容性が認められる用量で発現した変化はおおむね軽度で、認められた主な変化は薬理作用に関連した免疫系及びリンパ系器官の変化であった。忍容性が認められる用量で認められたすべての所見は臨床でモニタリングが可能と考えられた。ピルトブルチニブは遺伝毒性（数的異常誘発）物質であるが、小核誘発の無影響量と臨床曝露量との間に適切な安全域が確認された。胚・胎児発生に有害な影響を及ぼす可能性については、ラット胚・胎児発生に関する試験の所見に基づき、曝露量比を含め、添付文書で適切に

注意喚起する予定である。以上、非臨床成績に基づくと、成人の進行がん患者を対象とした 1 日 1 回の投与が支持されると考える。

### 2.6.6.10　参考文献

Bhaskaran M, Cornwell PD, Sorden SD, et al. Pancreatic Effects of a Bruton's Tyrosine Kinase Small-molecule Inhibitor in Rats Are Strain-dependent. *Toxicol Pathol*. 2018;46(4):460-472.

Erickson RI, Schutt LK, Tarrant JM, et al. Bruton's Tyrosine Kinase Small Molecule Inhibitors Induce a Distinct Pancreatic Toxicity in Rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2017;360(1):226-238.

Parry JM, Fielder RJ, McDonald A. Thresholds for aneuploidy-inducing chemicals. Advisory Committee on Mutagenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment of the UK Department of Health. *Mutagenesis*. 1994;9(6):503-504.

Tweats DJ, Blakey D, Heflich RH, et al. Report of the IWGT working group on strategy/interpretation for regulatory in vivo tests II. Identification of in vivo-only positive compounds in the bone marrow micronucleus test. *Mutat Res*. 2007;627(1):92-105.

# ジャイパーカ錠 50mg
# ジャイパーカ錠 100mg

# 2.6.7　毒性試験概要表

日本イーライリリー株式会社

# 目次

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary ..... 1
2.6.7.1 Toxicology: Overview of Pirtobrutinib Toxicology Studies ..... 1
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Studies ..... 4
2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data ..... 5
2.6.7.4 Toxicology: Drug substance characterization ..... 7
2.6.7.5 Single-Dose Toxicity ..... 9
2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Nonpivotal Studies ..... 10
2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies ..... 13
2.6.7.8 Genotoxicity: In vitro ..... 44
2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo ..... 51
2.6.7.10 Carcinogenicity ..... 53
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity – Nonpivotal Studies ..... 54
2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic Development to Implantation ..... 55
2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity – Embryofetal Development ..... 56
2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function ..... 59
2.6.7.15 Studies in Juvenile Animals ..... 60
2.6.7.16 Local Tolerance ..... 61
2.6.7.17 Other Toxicity Studies ..... 62

## 2.6.7 Toxicology Tabulated Summary

### 2.6.7.1 Toxicology: Overview of Pirtobrutinib Toxicology Studies

**Table 2.6.7.1: Overview of Pirtobrutinib Toxicology Studies**

**Test Article: Pirtobrutinib**

| Type of Study/Species/Strain | Dosing route | Duration of Dosing | Dose[a] | GLP[b] | Testing Facility | Report Number | CTD Section |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Repeated-Dose Toxicity** | | | | | | | |
| Rat/Sprague Dawley | Oral gavage | 14 days | M: 0, 250, **500**, 1000 mg/kg BID<br>F: 0, **75**, 175**,** 375 mg/kg BID | No | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-003 | 4.2.3.2.1 |
| Rat/Sprague Dawley | Oral gavage | 28 days | M: 0, 50, 150, **500** mg/kg BID<br>F: 0, 20, 60, **175** mg/kg BID | Yes | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-007 | 4.2.3.2.2 |
| Rat/Sprague Dawley | Oral gavage | 15 weeks | M: 0, **50**, 500 mg/kg BID<br>F: 0, 60, **300** mg/kg BID | Yes | [redacted] Canada | LOXO-305-TOX-018 | 4.2.3.2.3 |
| Rat/Wistar Han | Oral gavage | 3 days/14 days | 50, 150, 300, 500 mg/kg BID (3d),<br>0, 50, **150** mg/kg BID (14d) | No | [redacted] UK | LOXO-305-TOX-001 | 4.2.3.2.7 |
| Dog/Beagle | Oral gavage | 14 days | 0, 15, **35/70**[c], 60/120[c] mg/kg BID | No | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-004 | 4.2.3.2.4 |
| Dog/Beagle | Oral gavage | 28 days | 0, **10/5**[d], 30/10[e], 90/60[f] mg/kg BID | Yes | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-008 | 4.2.3.2.5 |
| Dog/Beagle | Oral gavage | 15 weeks | 0, 0.5, **2.5**, 5 mg/kg BID | Yes | [redacted] Canada | LOXO-305-TOX-017 | 4.2.3.2.6 |
| Dog/Beagle | Oral gavage | 3 days/14 days | 15, 30, 50, 75 mg/kg BID (3d)<br>15, 30, **50** mg/kg BID (14d) | No | [redacted] UK | LOXO-305-TOX-002 | 4.2.3.2.8 |

## Table 2.6.7.1: Overview of Pirtobrutinib Toxicology Studies (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| Type of Study/Species/Strain | Dosing route | Duration of Dosing | Dose[a] | GLP[b] | Testing Facility | Report Number | CTD Section |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Genotoxicity** | | | | | | | |
| Bacterial reverse mutation (Ames) assay | In vitro | NA | 0, 33.3, 100, 333, 1000, 3333, 5000 µg/plate | Yes | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-009 | 4.2.3.3.1.1 |
| Microwell micronucleus screening/CHO cells | In vitro | NA | 3-hour +S9: 0, 20, 30, 50, 100, 130 µg/mL<br>3-hour -S9: 0, 30, 70, 130 µg/mL<br>24-hour -S9: 0, 0.5, 1, 2, 5 µg/mL | No | [redacted] China | LOXO-305-TOX-013 | 4.2.3.3.1.2 |
| Micronucleus assay/HPBL | In vitro | NA | 4-hour exposure -S9: 0, 50, 120, 150 µg/mL<br>4-hour exposure +S9: 0, 50, 100, 225 µg/mL<br>24-hour exposure -S9: 0, 5, 12, 16 µg/mL | Yes | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-010 | 4.2.3.3.1.3 |
| Micronucleus assay with centromere staining/HPBL | In vitro | NA | 0, 1.25, 2.5, 5, 12, 16 µg/mL | Yes | [redacted] England | LOXO-305-TOX-014 | 4.2.3.3.1.4 |
| Micronucleus assay/Rat/Sprague Dawley | Oral gavage | Single dose | 0, 250, 500, 1000, 2000 mg/kg | Yes | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-016 | 4.2.3.3.2.1 |
| Micronucleus assay/Rat/Sprague Dawley | Oral gavage | Single dose | 0,500, 1000, 2000 mg/kg | Yes | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-015 | 4.2.3.3.2.2 |

## Table 2.6.7.1: Overview of Pirtobrutinib Toxicology Studies (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| Type of Study/Species/Strain | Dosing route | Duration of Dosing | Dose[a] | GLP[b] | Testing Facility | Report Number | CTD Section |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Reproductive and Developmental Toxicity** | | | | | | | |
| Embryofetal Development/Rat/Sprague Dawley | Oral gavage | Days 6-17 postcoitum | 0, 25, 75, 375, 500 mg/kg BID | Yes | [redacted] Canada | LOXO-305-TOX-019 | 4.2.3.5.2.1 |
| **Other Toxicity Studies**[g] | | | | | | | |
| Phototoxicity | In vitro | NA | 0.10, 0.316, 1.00, 3.16, 10.0, 31.6, 100, 178 µg/mL | Yes | [redacted] USA | LOXO-305-TOX-005 | 4.2.3.7.7.1 |
| Impurity qualification/Rat/Sprague Dawley | Oral gavage | 2 weeks | 0, 300 mg/kg BID, 300 mg/kg BID with new impurities | Yes | [redacted] Canada | LOXO-305-TOX-020 | 4.2.3.7.7.2 |

Abbreviations: BID = twice daily; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; F = female; NA = not applicable; CHO = Chinese hamster ovary; HPBL = human peripheral blood lymphocytes

[a] For repeated-dose toxicity, the highest No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) is in **bold**.

[b] Indicates study includes a GLP Compliance statement

[c] Dosing at the higher dose level began on Day 9

[d] Due to the reduction of dose in Group 3 down to a dosage that matched the starting dose for Group 2, the dose administered to Group 2 animals was reduced to 5 mg/kg/dose BID starting with the a.m. dose on Day 11 in order to maintain adequate multiples of exposures.

[e] Due to clinical observations, the dose administered to Group 3 animals was reduced from 30 to 10 mg/kg/dose BID starting with the p.m. dose on Day 12.

[f] Due to clinical observations, the dose administered to Group 4 animals was reduced from 90 to 60 mg/kg/dose BID starting with the a.m. dose on Day 6.

[g] Toxicity studies conducted with impurities related to pirtobrutinib synthesis are listed in Table 2.6.7.17B.

## 2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Studies

### Table 2.6.7.2: Overview of Pirtobrutinib Toxicokinetics Studies

**Test Article: Pirtobrutinib**

| Type of Study | Test System | Method of Administration | Dose (mg/kg BID) | GLP[a] | Report Number | CTD Section |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 14-day repeat-dose with TK | Rat/Sprague Dawley | PO (BID) | M: 0, 250, 500, 1000<br>F: 0, 75, 175, 350 | No | LOXO-305-TOX-003 | 4.2.3.2.1 |
| 28-day repeat-dose with TK and 28-day recovery | Rat/Sprague Dawley | PO (BID) | M: 0, 50, 150, 500<br>F: 0, 20, 60, 175 | Yes | LOXO-305-TOX-007 | 4.2.3.2.2 |
| 3-month repeat-dose with TK and immunotox | Rat/Sprague Dawley | PO (BID) | M: 0, 50, 500<br>F: 0, 60, 300 | Yes | LOXO-305-TOX-018 | 4.2.3.2.3 |
| 14-day repeat-dose with TK | Dog/Beagle | PO (BID) | 0, 15, 35/70[b], 60/120[b] | No | LOXO-305-TOX-004 | 4.2.3.2.4 |
| 28-day repeat-dose with TK and 28-day recovery | Dog/Beagle | PO (BID) | 0, 10/5[c], 30/10[d], 90/60[e] | Yes | LOXO-305-TOX-008 | 4.2.3.2.5 |
| 3-month repeat-dose with TK and immunotox | Dog/Beagle | PO (BID) | 0, 0.5, 2.5, 5 | Yes | LOXO-305-TOX-017 | 4.2.3.2.6 |
| Embryofetal development study | Rat/Sprague Dawley | PO (BID) | 0, 25, 75, 375, 500 | Yes | LOXO-305-TOX-019 | 4.2.3.5.2.1 |

Abbreviations: BID = twice a day, F = female, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, PO = oral, TK = toxicokinetics.

[a] Indicates study includes a GLP Compliance statement

[b] Dosing at the higher dose level began on Day 9

[c] Due to the reduction of dose in Group 3 down to a dosage that matched the starting dose for Group 2, the dose administered to Group 2 animals was reduced to 5 mg/kg/dose BID starting with the a.m. dose on Day 11 in order to maintain adequate multiples of exposures.

[d] Due to clinical observations, the dose administered to Group 3 animals was reduced to 10 mg/kg/dose BID starting with the p.m. dose on Day 12.

[e] Due to clinical observations, the dose administered to Group 4 animals was reduced to 60 mg/kg/dose BID starting with the a.m. dose on Day 6.

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data

**Table 2.6.7.3: Overview of Pirtobrutinib Toxicokinetics**

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) | | | | $C_{max}$ (ng/mL) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Rat/Sprague Dawley | | Dog/Beagle | | Rat/Sprague Dawley | | Dog/Beagle | |
| Dose (mg/kg BID) | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| 0.5 | - | - | 2270[a] | 2400[a] | - | - | 258[a] | 273[a] |
| 2.5 | - | - | 13800[a] | 17300[a] | - | - | 1400[a] | 2060[a] |
| 5 | - | - | 14200[b]<br>32200[a] | 18400[b]<br>44900[a] | - | - | 935[b]<br>3950[a] | 1210[b]<br>3900[a] |
| 10 | - | - | 30500[b] | 24900[b] | - | - | 2010[b] | 1560[b] |
| 15 | - | - | 17300[c] | 16700[c] | - | - | 1560[c] | 1470[c] |
| 20 | - | 80700[d] | - | - | - | 5410[d] | - | - |
| 25 | - | 40200[e] | - | - | - | 2360[e] | - | - |
| 30 | - | - | 86200[f] | 58800[f] | - | - | 5560[f] | 4010[f] |
| 50 | 19500[d]<br>19100[g] | - | - | - | 1550[d]<br>1380[g] | - | - | - |
| 60 | - | 172000[d]<br>126000[g] | - | - | - | 9680[d]<br>7980[g] | - | - |
| 70 | - | - | 51300[c] | 36000[c] | - | - | 4080[c] | 4090[c] |
| 75 | - | 210000[h]<br>106000[e] | - | - | - | 11300[h]<br>7030[e] | - | - |
| 90 | - | - | 119000[f] | 124000[f] | - | - | 7320[f] | 6590[f] |
| 120 | - | - | 79400[c] | 36400[c] | - | - | 5390[c] | 3940[c] |
| 150 | 38600[d] | - | - | - | 2420[d] | - | - | - |
| 175 | - | 340000[h]<br>300000[d] | - | - | - | 16200[h]<br>17500[d] | - | - |
| 250 | 36900[h] | - | - | - | 2910[h] | - | - | - |

## Table 2.6.7.3: Overview of Pirtobrutinib Toxicokinetics (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | $AUC_{0-24}$ (ng·h/mL) | | | | $C_{max}$ (ng/mL) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Rat/Sprague Dawley | | Dog/Beagle | | Rat/Sprague Dawley | | Dog/Beagle | |
| 300 | - | 369000[g] | - | - | - | 20800[g] | - | - |
| 375 | - | 381000[h]<br>272000[e] | - | - | - | 20400[h]<br>15900[e] | - | - |
| 418 | 48200[d] | - | - | - | 2820[d] | - | - | - |
| 500 | 50200[h]<br>63000[g] | 331000[e] | - | - | 2640[h]<br>4990[g] | 21600[e] | - | - |
| 1000 | 59200[h] | - | - | - | 3600[h] | - | - | - |

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration vs. time curve, BID = twice daily, $C_{max}$ = maximum concentration in plasma, GLP = Good Laboratory Practice

[a] GLP 3-month dog repeat-dose report, LOXO-305-TOX-017, Day 105

[b] GLP 28-day dog repeat-dose report, LOXO-305-TOX-008, Day 28

[c] Non-GLP 14-day dog repeat-dose report, LOXO-305-TOX-004, Day 14

[d] GLP 28-day rat repeat-dose report, LOXO-305-TOX-007, Day 28

[e] Pregnant rats in GLP rat enhanced embryofetal development report, LOXO-305-TOX-019, Day 17 postcoitum

[f] GLP 28-day dog repeat-dose report, LOXO-305-TOX-008, Day 4

[g] GLP 3-month rat repeat-dose report, LOXO-305-TOX-018, Day 105

[h] Non-GLP 14-day rat repeat-dose report, LOXO-305-TOX-003, Day 14

2.6.7.4　Toxicology: Drug substance characterization

**Table 2.6.7.4:　Drug substance characterization**

| Batch No. | Purity (%) | Total Impurities (%) | Specified Impurities (%) | Report Number | Type of Study[a] |
|---|---|---|---|---|---|
| [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted]:<br>RRT ~ :<br>RRT ~ :<br>＊不純物A ( ):<br>[redacted] | LOXO-305-SPHARM-002 | Cardiovascular safety pharmacology study in dogs |
| | | | | LOXO-305-SPHARM-003 | In vitro hERG study |
| | | | | LOXO-305-TOX-005 | In vitro phototoxicity study |
| | | | | LOXO-305-TOX-007 | 1-month repeat-dose study in rats |
| | | | | LOXO-305-TOX-008 | 1-month repeat-dose study in dogs |
| | | | | LOXO-305-TOX-009 | In vitro bacterial reverse mutation (Ames) assay |
| | | | | LOXO-305-TOX-010 | In vitro micronucleus assay in HPBL |
| | | | | LOXO-305-TOX-014 | In vitro micronucleus assay in HPBL with centromere assessment |
| | | | | LOXO-305-TOX-015 | Micronucleus pilot study in rats |
| | | | | LOXO-305-TOX-016 | Micronucleus study in rats |



＊新薬承認情報提供時に置き換え

## Table 2.6.7.4: Drug substance characterization (Contd)

| Batch No. | Purity (%) | Total Impurities (%) | Specified Impurities (%) | | | | | | Chiral Impurity (%) | Report Number | Type of Study[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | LOXO-305-TOX-017 | 3-month repeat-dose study in dogs |
| [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | LOXO-305-TOX-018 | 3-month repeat-dose study in rats |
| | | | | | | | | | | LOXO-305-TOX-019 | Enhanced pilot embryofetal development study in rats |

| Batch No | Purity (%) | Total Impurities (%) | Specified Impurities (%) | | Report Number | Type of Study[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ＊不純物B | ＊不純物C | | |
| [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | LOXO-305-TOX-020 | 2-week qualification study in rats |

Abbreviations: GLP = Good Laboratory Practice; HPBL = human peripheral blood lymphocytes; hERG = human ether-à-go-go-related gene.

[a] All studies listed were conducted under GLPs

[b] Batch was reanalyzed with newer analytical methods; thus, the values here may not match the values in the CoA in the study report. These values are consistent with the values reported in Module 3.2.S.S.4.

[c] Most impurities in this table were referred to as an RRT or other name in the characterization report in the study report. The following is the key for translating characterization report nomenclature to LSNs for each lot

| Impurity LSN | Characterization report impurity designation | |
|---|---|---|
| | Lot [redacted] | [redacted] |
| [redacted] | C-1 | RRT [redacted] |
| | B-2 | RRT |
| | B-1 | RRT |
| | 9 | RRT |
| | Z | RRT |

[d] Due to measurement of the respon e factors for these impurities after the Certificate of Analysis was issued, these values may not match the values in the Certificate of Analysis in the study report.



＊新薬承認情報提供時に置き換え

### 2.6.7.5　Single-Dose Toxicity

No studies conducted

## 2.6.7.6 Repeat-Dose Toxicity: Nonpivotal Studies

### Table 2.6.7.6A: Nonpivotal Study of Pirtobrutinib in Rat

**Test Article: Pirtobrutinib**

| Species/Strain | Method of Administration (Vehicle/Formulation) | Duration of Dosing | Doses (mg/kg) | Gender and No. per Group | NOAEL (mg/kg) | Report Number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Rat/Crl:CD(SD) | Oral gavage (0.5% w/v HPMC in RO water) | 14 days | M: 0, 250, 500, 1000 BID<br>F: 0, 75, 175, 375 BID | Main: 5/sex/group<br>TK: 6/sex/pirtobrutinib group | M: 500 BID<br>F: 75 BID | LOXO-305-TOX-003 |

**Noteworthy Findings**
**≥ 250 mg/kg BID (M):** ↓BW gain, ↓FC, Lymphoid organs: lymphocyte depletion, LN: erythrophagocytosis, ↓Spleen weight (not at 1000 mg/kg)
**1000 mg/kg BID (M):** BM: hypocellularity, rat-specific pancreatic effect. ↓WBC
**≥ 75 mg/kg BID (F):** Lymphoid organs: lymphocyte depletion, LN: erythrophagocytosis
**≥ 175 mg/kg BID (F):** ↓TP, ↓ALB, BM: hypocellularity
**375 mg/kg BID (F):** ↓red cell mass, ↓WBC, ↓NEUT, ↓LYMPH, ↓EOS, ↓APTT, ↓Thymus weight, Pyelonephritis (1 rat), Urinary bladder inflammatory changes (1 rat)

| **Dose (mg/kg BID)** | 250 (Low) | 58.2/75[a] (Low) | 500 (Mid) | 175 (Mid) | 1000 (High) | 375 (High) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg/day)** | 500 (Low) | 116/150[a] (Low) | 1000 (Mid) | 350 (Mid) | 2000 (High) | 750 (High) |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Toxicokinetic Animals** | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| **Dosing Phase** | | | | | | |
| **Composite Toxicokinetics:** | | | | | | |
| Day 1 | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ (ng·h/mL) | 35600 | 133000 | 44300 | 293000 | 57600 | 320000 |
| $C_{max}$ (ng/mL) | 2820 | 8440 | 2920 | 18500 | 5330 | 16900 |
| $T_{max}$ (h) | 13.0 | 16.0 | 4.00 | 13.0 | 13.0 | 16.0 |
| Day 14 | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ (ng·h/mL) | 36900 | 210000 | 50200 | 340000 | 59200 | 381000 |
| $C_{max}$ (ng/mL) | 2910 | 11300 | 2640 | 16200 | 3600 | 20400 |
| $T_{max}$ (h) | 13.0 | 13.0 | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 |

Abbreviations: ALB = albumin, APTT = activated partial thromboplastin time, $AUC_{0-24}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours postdose, BID = twice daily, BM = bone marrow, BW = body weight, $C_{max}$ = maximum (peak) observed drug concentration, EOS = eosinophils, F = female, FC = food consumption, HPMC = hydroxypropyl methylcellulose, LN = lymph nodes, LYMPH = lymphocytes, M = male, NEUT = neutrophils, NOAEL = no observed adverse effect level, RO = reverse osmosis, SD = Sprague Dawley, TK = toxicokinetics, $T_{max}$ = time after dosing at which the maximum observed concentration was observed, TP = total protein, WBC = white blood cells.

[a] Day 1 dose level/Day 14 dose level. In the concentration analysis on Day 1, the dose formulation for low-dose females did not meet specifications. Thus, low-dose females may have been administered approximately 74 to 81% of their intended dose on Day 1. The formulation on the last day met specifications, indicating that it's likely that animals were dosed with the correct concentration for most of the study

## Table 2.6.7.6B: Nonpivotal Study of Pirtobrutinib in Dog

**Test Article: Pirtobrutinib**

| Species/ Strain | Method of Administration (Vehicle/Formulation) | Duration of Dosing | Doses (mg/kg) | Gender and No. per Group | NOAEL (mg/kg) | Report Number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Dog/Beagle | Oral gavage (0.5% w/v HPMC in RO water | 14 days | 0, 15, 35/70[a], 60/120[a] BID | 2/sex/group | 70/140 | LOXO-305-TOX-004 |

**Noteworthy Findings**
**≥ 15 mg/kg BID:** Lymphoid tissues: lymphoid depletion and congestion, erythrophagocytosis
**≥ 35/70 mg/kg BID:** ↓WBC, ↓NEUT, ↓RBC
**60/120 mg/kg BID:** Mortality (1F on Day 11), emesis, reluctance to ambulate, pale to yellow mucous membranes, hunched posture, hypoactivity, ataxia, dehydration, ↓BW, ↓FC, ↓PLT, ↓RETIC, ↓red cell mass, ↑FIB, ↑PT, ↑APTT, ↓ALB, ↓A:G, ↑GLOB, ↑AST, ↑ALT, ↑TBILI, ↑ALP, ↑CHOL, ↑TRIG, ↓electrolytes, ↑BUN, GI tract: macroscopic lesions, Stomach: glandular hyperplasia and focal erosion, BM: hypocellularity, Spleen: necrosis, Thymus: atrophy, Liver: dilation/congestion of sinusoids

| **Dose (mg/kg BID)** | 15 (Low) | 15 (Low) | 35/70[a] (Mid) | 35/70[a] (Mid) | 60/120[a] (High) | 60/120[a] (High) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg/day)** | 30 (Low) | 30 (Low) | 70/140[a] (Mid) | 70/140[a] (Mid) | 120/240[a] (High) | 120/240[a] (High) |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Toxicokinetic Animals** | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2[b] |
| **Dosing Phase** | | | | | | |
| **Mean Toxicokinetics:** | | | | | | |
| Day 1 | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ (ng·h/mL) | 11400 | 13600 | 29500 | 29000 | 36300 | 44500 |
| $C_{max}$ (ng/mL) | 941 | 1220 | 2670 | 2700 | 2970 | 4110 |
| $T_{max}$ (h) | 20.0 | 16.0 | 18.0 | 18.0 | 18.0 | 15.0 |
| Day 9 | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ (ng·h/mL) | 22400 | 18500 | 54600 | 68300 | 107000 | 108000 |
| $C_{max}$ (ng/mL) | 1570 | 1690 | 4340 | 4330 | 7090 | 6120 |
| $T_{max}$ (h) | 1.00 | 8.50 | 8.50 | 18.0 | 15.0 | 8.50 |
| Day 14 | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ (ng·h/mL) | 17300 | 16700 | 51300 | 36000 | 79400 | 36400 |
| $C_{max}$ (ng/mL) | 1560 | 1470 | 4080 | 4090 | 5390 | 3940 |
| $T_{max}$ (h) | 8.50 | 11.0 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 0.00 |

## Table 2.6.7.6B: Nonpivotal Study of Pirtobrutinib in Dog (Contd)

Abbreviations: A:G = albumin:globulin ratio, ALB = albumin, ALP = alkaline phosphatase, ALT = alanine aminotransferase, APTT = activated partial thromboplastin time, AST = aspartate aminotransferase, $AUC_{0-24}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours postdose; BID = twice daily, BM = bone marrow, BUN = blood urea nitrogen, BW = body weight, CHOL = cholesterol, $C_{max}$ = maximum (peak) observed drug concentration, EOS = eosinophils, F = female, FC = food consumption; FIB = fibrinogen, GI = gastrointestinal, GLOB = globulin, HPMC = hydroxypropyl methylcellulose, NEUT = neutrophils, NOAEL = no observed adverse effect level, PLT = platelets, PT = prothrombin time, RETIC = reticulocytes, RO = reverse osmosis, TBILI = total bilirubin, $T_{max}$ = time after dosing at which the maximum observed concentration was observed, TRIG = triglycerides, WBC = white blood cells

[a] Dose levels were increased on Day 9 of the dosing phase.

[b] N＝1 for female high-dose group on Day 14 due to unscheduled sacrifice of female Animal D0701on Day11.

## 2.6.7.7 Repeat-Dose Toxicity: Pivotal Studies

### Table 2.6.7.7A: 1-month Repeat-dose Study in Rats

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Report Title:** A 28-Day Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Sprague-Dawley Rats With a 28 Day Recovery Phase | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-007 | | |
| **Species/Strain:** Rats/Crl:CD(SD) | | **Duration of Dosing:** 28 days | | | | **Study No**. 8375388 | | |
| **Initial Age:** 6 to 7 weeks | | **Duration of Recovery:** 28 days | | | | **GLP Compliance:** Yes | | |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] (males)<br>20[redacted] (females) | | **Method of Administration**: Oral gavage | | | | | | |
| **Vehicle Control Article**: 0.5% (w/v) hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) prepared in reverse osmosis water | | | | | | | | |
| **Special Features**: functional observation battery, locomotor activity | | | | | | | | |
| **No Observed Adverse Effect Level**: 1000 mg/kg/day in males and 350 mg/kg/day in female | | | | | | | | |
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 50 (Low) | 20 (Low) | 150 (Mid) | 60 (Mid) | 500 (High)[a] | 175 (High) |
| **Daily (mg/kg/day)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 100 (Low) | 40 (Low) | 300 (Mid) | 120 (Mid) | 1000 (High)[a] | 350 (High) |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Toxicokinetic Animals/Group[b]** | 3 | 3 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| **Dosing Phase** | | | | | | | | |
| **Composite Toxicokinetics[b]:** | | | | | | | | |
| Day 1 | | | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ (ng·h/mL) | NA | NA | 16200 | 18000 | 44300 | 164000 | 27000 | 260000 |
| $C_{max}$ (ng/mL) | NA | NA | 1480 | 1440 | 2750 | 9330 | 1860 | 14100 |
| $T_{max}$ (h) | NA | NA | 13 | 4.0 | 16 | 13 | 4.0 | 13 |
| Day 28 | | | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ (ng·h/mL) | NA | NA | 19500 | 80700 | 38600 | 172000 | 48200 | 300000 |
| $C_{max}$ (ng/mL) | NA | NA | 1550 | 5410 | 2420 | 9680 | 2820 | 17500 |
| $T_{max}$ (h) | NA | NA | 13 | 13 | 4.0 | 4.0 | 16 | 16 |

## Table 2.6.7.7A　1-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Sprague -Dawley Rats With a 28 Day Recovery Phase | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-007 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 50 (Low) | 20 (Low) | 150 (Mid) | 60 (Mid) | 500 (High)[a] | 175 (High) |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 100 (Low) | 40 (Low) | 300 (Mid) | 120 (Mid) | 1000 (High)[a] | 350 (High) |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Toxicity Animals at Study Start** | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Dosing Phase** | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund (Dosing Phase)** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0[c] | 0 | 2[d] |
| **Clinical Observations** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Body Weight (%)[e]** | | | | | | | | |
| Day 15 | 304 g | - | +1.3 | - | -7.2 | - | -11.2* | - |
| Day 22 | 345 g | - | +2.3 | - | -8.1 | - | -11.6* | - |
| Day 28 | 372 g | - | +2.4 | - | -7.3 | - | -10.5* | - |
| **Body Weight Change (g)** | | | | | | | | |
| Day 1-8 | 49 | - | 45* | - | 37* | - | 25* | - |
| Day 8-15 | 48 | - | 49 | - | 40* | - | 36* | - |
| Day 15-22 | 42 | - | 45 | - | 35 | - | 35* | - |
| Day 22-28 | 27 | - | 28 | - | 28 | - | 28 | - |
| **Food Consumption (%)[e]** | | | | | | | | |
| Day 1-8 | 25 g/animal/day | - | +8.0 | - | -8.0 | - | -16.0* | - |
| Day 8-15 | 28 g/animal/day | - | +3.6 | - | -14.3 | - | -17.9* | - |
| **Ophthalmic Examinations** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Functional Observation Battery** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Locomotor Activity** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology** | | | | | | | | |
| Day 29 | | | | | | | | |
| Red blood cell count (E6/µL) | - | 8.48 | - | 8.36 | - | 8.20 | - | 8.01* |
| White blood cell count (E3/µL) | - | 7.99 | - | 8.78 | - | 8.48 | - | 6.05* |
| Neutrophil count (E3/µL) | - | 1.31 | - | 1.80 | - | 1.56 | - | 0.86 |
| Lymphocyte count (E3/µL) | - | 6.32 | - | 6.55 | - | 6.51 | - | 4.90* |
| Eosinophil count (E3/µL) | - | 0.10 | - | 0.13 | - | 0.09 | - | 0.04* |

## Table 2.6.7.7A　1-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

## Test Article: Pirtobrutinib

| **Report Title:** A 28-Day Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Sprague -Dawley Rats With a 28 Day Recovery Phase | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-007 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 50 (Low) | 20 (Low) | 150 (Mid) | 60 (Mid) | 500 (High)[a] | 175 (High) |
| **Daily (mg/kg/day)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 100 (Low) | 40 (Low) | 300 (Mid) | 120 (Mid) | 1000 (High)[a] | 350 (High) |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Toxicity Animals at Study Start** | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| **Dosing Phase (Continued)** | | | | | | | | |
| **Coagulation** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Clinical Chemistry** | | | | | | | | |
| Day 29 | | | | | | | | |
| Aspartate aminotransferase (U/L) | 95 | 90 | 75* | 72* | 74* | 74* | 75* | 76* |
| Creatine kinase (U/L) | 610 | 494 | 305* | 316* | 285* | 290* | 261* | 270* |
| Potassium (mmol/L) | 5.3 | 5.6 | 4.7* | 4.9* | 4.8* | 5.0* | 4.6* | 5.0* |
| Alanine aminotransferase (U/L) | 46 | 33 | 52* | 39 | 54* | 40* | 56* | 41* |
| Alkaline phosphatase (U/L) | - | 105 | - | 101 | - | 87* | - | 84* |
| Chloride (mmol/L) | - | 101 | - | 102 | - | 103* | - | 103* |
| Total protein (g/dL) | - | 7.2 | - | 7.2 | - | 6.9* | - | 6.7* |
| **Urinalysis** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Organ Weights** | | | | | | | | |
| Spleen | | | | | | | | |
| Absolute Organ Weight (%)[e] | 0.7416 g | 0.5470 g | -11.2 | -18.2* | -13.0 | -15.1* | -20.1 | -30.5* |
| Organ to Body Weight (%) | 0.2117 | 0.2290 | 0.1799 | 0.1928* | 0.1970 | 0.2000 | 0.1810 | 0.1701* |
| Organ to Brain Weight (%) | 35.3289 | 27.6559 | 31.1046 | 22.9661* | 30.7822 | 23.9983* | 28.7692 | 19.8609* |
| **Macroscopic Observations** | - | - | - | - | - | - | - | - |

## Table 2.6.7.7A　1-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Sprague -Dawley Rats With a 28 Day Recovery Phase | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-007 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 50 (Low) | 20 (Low) | 150 (Mid) | 60 (Mid) | 500 (High)[a] | 175 (High) |
| **Daily (mg/kg/day)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 100 (Low) | 40 (Low) | 300 (Mid) | 120 (Mid) | 1000 (High)[a] | 350 (High) |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Toxicity Animals at Study Start** | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| **Dosing Phase (Continued)** | | | | | | | | |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| Number of Animals Examined | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 8 |
| Spleen | | | | | | | | |
| Lymphocytes, decreased, white pulp | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| Lymph Node, Mesenteric | | | | | | | | |
| Lymphocytes, decreased | | | | | | | | |
| Minimal | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 3 |
| Erythrophagocytosis | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 3 | 2 | 5 | 1 | 6 | 1 |
| Slight | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 |
| Erythrocytes, sinus | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 4 | 2 | 6 | 1 | 7 | 1 |
| Slight | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Pancreas | | | | | | | | |
| Inflammation, mixed cell | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| Slight | 0 | 0 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| Moderate | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Fibrosis | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Slight | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 3 | 0 | 2 |
| Moderate | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 |

## Table 2.6.7.7A　1-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Sprague -Dawley Rats With a 28 Day Recovery Phase | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-007 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 50 (Low) | 20 (Low) | 150 (Mid) | 60 (Mid) | 500 (High)[a] | 175 (High) |
| **Daily (mg/kg/day)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 100 (Low) | 40 (Low) | 300 (Mid) | 120 (Mid) | 1000 (High)[a] | 350 (High) |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Toxicity Animals at Study Start** | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| **Dosing Phase (Continued)** | | | | | | | | |
| **Histopathology (cont'd)** | | | | | | | | |
| Hemorrhage | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 |
| Slight | 0 | 0 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| Moderate | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Pigment | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Slight | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Atrophy, acinar | | | | | | | | |
| Minimal | 1 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 |
| Slight | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| **Recovery Phase** | | | | | | | | |
| **Number of Toxicity Animals in Recovery** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **Died or Sacrificed Moribund (Recovery Phase)** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1[d] |
| **Body Weight (%)**[e] | | | | | | | | |
| Day 1 | 363 g | - | -0.3 | - | -9.4 | - | -18.2* | - |
| Day 8 | 404 g | - | +1.2 | - | -6.9 | - | -14.6* | - |
| **Body Weight Change (g)** | | | | | | | | |
| Day 1-8 | 40 | - | 48 | - | 47 | - | 49 | - |
| Day 8-15 | 26 | - | 36 | - | 33 | - | 30 | - |
| Day 15-22 | 25 | - | 31 | - | 28 | - | 25 | - |
| Day 22-28 | 6 | - | 15* | - | 16* | - | 13 | - |

## Table 2.6.7.7A　1-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Sprague -Dawley Rats With a 28 Day Recovery Phase | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-007 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 50 (Low) | 20 (Low) | 150 (Mid) | 60 (Mid) | 500 (High)[a] | 175 (High) |
| **Daily (mg/kg/day)** | 0 (Control) | 0 (Control) | 100 (Low) | 40 (Low) | 300 (Mid) | 120 (Mid) | 1000 (High)[a] | 350 (High) |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Toxicity Animals at Study Start** | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| **Recovery Phase (Continued)** | | | | | | | | |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| Number of Animals Examined | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 |
| Lymph node, Mesenteric | | | | | | | | |
| Erythrophagocytosis | | | | | | | | |
| Minimal | 1 | - | 0 | - | 1 | - | 0 | - |
| Slight | 0 | - | 1 | - | 1 | - | 0 | - |
| Erythrocytes, sinus | | | | | | | | |
| Minimal | 1 | - | 0 | - | 1 | - | 0 | - |
| Slight | 0 | - | 1 | - | 1 | - | 0 | - |

Abbreviations: - = No noteworthy findings; $AUC_{0-24}$ = area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to 24 hours postdose; BLQ = Below the limit of quantitation (< 20.0 ng/mL); $C_{max}$ = Maximum (peak) observed drug concentration; GLP = Good Laboratory Practices; NA = Not applicable, $T_{max}$ = time after dosing at which the maximum observed concentration was observed.

***** Statistically significant at $p \leq 0.05$ based on actual data (not on percent difference) by ANOVA and Dunnett's, with rank transformation in some cases.

[a] On Day 28, males received a dose of 418 mg/kg BID or 835 mg/kg/day.

[b] Values are from composite concentration versus time profiles; therefore, a standard deviation cannot be calculated.

[c] One toxicokinetic female administered 120 mg/kg/day was replaced and sacrificed on Day 1 due to receiving only a partial dose, which invalidated it for TK evaluation.

[d] One toxicity female administered 350 mg/kg/day was found dead, and one female administered 350 mg/kg/day was sacrificed in a moribund condition, with clinical observations of hunched posture, labored respiration, and piloerection on Day 22 of the dosing phase. One female administered 350 mg/kg/day was sacrificed on Day 3 of the recovery phase, with clinical observations of hunched posture, hypoactivity, squinted eyes, pale ears, and piloerection. None of these deaths were considered to be test article-related.

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

## Table 2.6.7.7B: 3-month Repeat-dose Study in Rats

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** A 3-Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | **Report No.** LOXO-305-TOX-018 |
| **Species/Strain**: Rat/Crl:CD(SD) | **Duration of Dosing**: 3 months | **Study No**: 8002740 |
| **Initial Age**: 7 weeks | **Duration of Postdose**: NA | |
| **Date of First Dose**: [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration**: Oral gavage | **GLP Compliance**: Yes |
| | **Vehicle/Formulation**: 0.5% (w/v) hydroxypropyl methylcellulose (K4M HPMC) in Ultra-Pure Water | |
| **Special Features**: Immunophenotyping (blood, spleen and thymus), T-cell dependent antibody response (TDAR) | | |
| **No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day (males), 600 mg/kg/day (females)** | | |

| **Dose (mg/kg BID)a** | 0 (Control) | | 50 | 60 | 300 | 500 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg/day)a** | 0 (Control) | | 100 | 120 | 600 | 1000 |
| **Number of Animals/Group:** | M | F | M | F | F | M |
| **Main:** | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| **TDAR:** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **Toxicokinetic:** | 3[a] | 3[a] | 9[a] | 9[a] | 9[a] | 9[a] |
| **Toxicokinetics** | | | | | | |
| **Day 1** | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ ± SE (ng·h/mL) | NA | NA | 9650 ± 1380 | 63400 ± 4190 | 220000 ± 18600 | 37100 ± 7530 |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | NA | 863 ± 200 | 4500 ± 1460 | 12800 ± 3500 | 3170 ± 814 |
| $T_{max}$ (h) | NA | NA | 13 | 13 | 13 | 13 |
| **Day 28** | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ ± SE (ng·h/mL) | NA | NA | 9850 ± 528 | 82800 ± 10400 | 291000 ± 40100 | 38000 ± 6640 |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | NA | 701 ± 82.3 | 5940 ± 1930 | 15900 ± 4810 | 2900 ± 615 |
| $T_{max}$ (h) | NA | NA | 13 | 13 | 16 | 4 |
| **Day 105** | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ ± SE (ng·h/mL) | NA | NA | 19100 ± 7390[b] | 126000 ± 6370 | 369000 ± 50900 | 63000 ± 4690 |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | NA | 1380 ± 202 \[b] | 7980 ± 1190 | 20800 ± 575 | 4990 ± 1380 |
| $T_{max}$ (h) | NA | NA | 13[b] | 13 | 1 | 4 |

## Table 2.6.7.7B: 3-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title**: A 3-Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-018 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)[c]** | | 0 (Control) | | 50 | 60 | 300 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)[c]** | | 0 (Control) | | 100 | 120 | 600 | 1000 |
| | | M | F | M | F | F | M |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | **Main:** | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | **TDAR:** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | |
| **Died or Euthanized Moribund** | | 0 | 1 | 2[d] | 0 | 1 | 0 |
| **Body Weight (%)[e]** | | | | | | | |
| Day 106 | | 775.9 g | - | -5 | - | - | -13 A |
| **Body Weight Gain (g)** | | | | | | | |
| Day 1 to 106 | | 495.8 | - | 457.3 | - | - | 412.5 A |
| **Food Consumption (%)** | | - | - | - | - | - | - |
| **Ophthalmology** | | - | - | - | - | - | - |
| **Clinical Observations** | | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology** | | - | - | - | - | - | - |
| **Coagulation** | | - | - | - | - | - | - |
| **Serum Chemistry Week 16** | | | | | | | |
| Aspartate aminotransferase (U/L) | | 109.3 | 167.5 | 89.1 A | 97.6 A | 93.2 A | 86.9 B |
| Creatine kinase (U/L) | | 442.3 | 476.1 | 274.1 B | 224.3 E | 191.4 E | 238.7 B |
| Total bilirubin (mg/dL) | | 0.064 | 0.090 | 0.064 | 0.098 | 0.148 B | 0.089 |
| Total protein (g/dL) | | 5.47 | 6.69 | 5.41 | 6.20 | 5.92 B | 5.12 A |
| Globulin (g/dL) | | 1.63 | 1.62 | 1.63 | 1.18 B | 1.10 B | 1.48 |
| A/G ratio | | 2.40 | 3.17 | 2.33 | 4.33 A | 4.59 B | 2.50 |
| Urea nitrogen (mg/dL) | | 13.1 | 16.7 | 12.7 | 15.4 | 13.2 B | 13.4 |
| Potassium (mmol/L) | | 5.09 | 4.62 | 4.66 B | 4.13 B | 3.89 B | 4.36 B |

## Table 2.6.7.7B: 3-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title**: A 3-Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-018 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)[c]** | | 0 (Control) | | 50 | 60 | 300 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)[c]** | | 0 (Control) | | 100 | 120 | 600 | 1000 |
| | | M | F | M | F | F | M |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | **Main:** | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | **TDAR:** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **Urinalysis** | | - | - | - | - | - | - |
| **Immunophenotyping[f]** | | | | | | | |
| **Blood** | | | | | | | |
| Total Lymphocyte Counts | abs | 8925.0 (cells/µL) | 4798.9 (cells/µL) | -23 | 27 | - | -26 |
| Total T lymphocytes | abs | - | 2512.806 (cells/µL) | - | 56 B | 28 | - |
| | % | 43.056 | 52.625 | 18 | 25 B | 27 B | 29 B |
| Helper T lymphocytes | abs | - | 1651.678 (cells/µL) | - | 62 B | 42 D | - |
| | % | 27.144 | 34.611 | 27 A | 29 B | 42 B | 40 B |
| Cytotoxic T lymphocytes | abs | 1451.065 (cells/µL) | 916.856 (cells/µL) | -21 | 36 | - | -25 |
| | % | 16.714 | 19.061 | - | - | - | - |
| B lymphocytes | abs | 4010.359 (cells/µL) | 1689.204 (cells/µL) | -46 | - | -39 A | -52 E |
| | % | 43.203 | 34.976 | -27 B | -31 B | -39 B | -35 B |
| NK cells | abs | 371.742 (cells/µL) | 235.419 (cells/µL) | - | 22 | - | 25 |
| | % | 4.257 | 4.779 | 59 D | - | - | 64 E |
| Helper T : Cytotoxic T Ratio | | 1.708 | 1.860 | 27 | 21 | 61 B | 44 |

## Table 2.6.7.7B: 3-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title**: A 3-Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-018 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)[c]** | | 0 (Control) | | 50 | 60 | 300 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)[c]** | | 0 (Control) | | 100 | 120 | 600 | 1000 |
| | | M | F | M | F | F | M |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | **Main:** | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | **TDAR:** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **Spleen** | | | | | | | |
| Total Lymphocyte Counts | abs | 365.1 | 176.6 | -50 | -18 | -29 | -62 E |
| | | (cells/spleen)x$10^6$ | | | | | |
| Total T lymphocytes | abs | 135.772 | 65.708 | -35 | - | - | -47 A |
| | | (cells/spleen)x$10^6$ | | | | | |
| | % | 37.505 | 37.791 | 26 | 40 B | 39 B | 39 B |
| Helper T lymphocytes | abs | 77.833 | 36.380 | -35 | 27 | - | -43 |
| | | (cells/spleen)x$10^6$ | | | | | |
| | % | 21.643 | 21.136 | 26 B | 47 B | 48 B | 44 B |
| Cytotoxic T lymphocytes | abs | 56.842 | 28.307 | -43 | - | - | -56 A |
| | | (cells/spleen)x$10^6$ | | | | | |
| | % | 15.602 | 16.077 | - | 27 B | - | - |
| B lymphocytes | abs | 168.027 | 81.668 | -66 D | -44 D | -56 E | -76 E |
| | | (cells/spleen)x$10^6$ | | | | | |
| | % | 45.134 | 46.286 | -29 E | -31 B | -37 B | -36 E |
| NK cells | abs | 22.526 | 11.990 | -30 | - | - | -41 A |
| | | (cells/spleen)x$10^6$ | | | | | |
| | % | 6.754 | 6.782 | 35 D | 19 | 43 B | 48 E |
| Helper T : Cytotoxic T Ratio | | 1.481 | 1.338 | - | - | 27 A | 20 |
| **Thymus** | | - | - | - | - | - | - |
| **TDAR[g]** | | | | | | | |

## Table 2.6.7.7B: 3-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title**: A 3-Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-018 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)[c]** | | 0 (Control) | | 50 | 60 | 300 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)[c]** | | 0 (Control) | | 100 | 120 | 600 | 1000 |
| | | M | F | M | F | F | M |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | **Main:** | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | **TDAR:** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| IgM | | | | | | | |
| Nonresponders: Primary (animals/total animals evaluated) | | 1/5 | 2/4 | 5/5 | 5/5 | 4/4 | 5/5 |
| Nonresponders: Secondary (animals/total animals evaluated) | | 0/5 | 0/4 | 0/4 | 1/5 | 0/4 | 3/5 |
| | Day 26* | Ø | Ø | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Day 33 | 2.8272 (µg/mL) | 0.8483 (µg/mL) | -86 D | -54 | -54 | -86 D |
| | Day 40 | 1.0088 (µg/mL) | Ω | -61 D | -48 | -48 | -61 D |
| | Day 47 | Ø | Ω | 0 | -30 | -30 | 0 |
| | Day 92* | 1.3134 (µg/mL) | 0.9218 (µg/mL) | -70 D | -58 | -58 | -70 D |
| | Day 99 | 188.8052 (µg/mL) | 46.0155 (µg/mL) | -99 | -90 D | -75 | -99 E |
| | Day 106 | 40.8018 (µg/mL) | 18.4338 (µg/mL) | -97 | -92 B | -80 A | -99 E |
| IgG | | | | | | | |
| Nonresponders: Primary (animals/total animals evaluated) | | 0/5 | 0/4 | 2/5 | 4/5 | 4/4 | 5/5 |
| Nonresponders: Secondary (animals/total animals evaluated) | | 0/5 | 0/4 | 0/4 | 0/5 | 1/4 | 3/5 |

## Table 2.6.7.7B: 3-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title**: A 3-Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-018 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)[c]** | | 0 (Control) | | 50 | 60 | 300 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)[c]** | | 0 (Control) | | 100 | 120 | 600 | 1000 |
| | | M | F | M | F | F | M |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | **Main:** | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | **TDAR:** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Day 26* | | Ø | Ø | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Day 33 | | Ω | Ø | -35 | 0 | 0 | -35 |
| Day 40 | | 4.3132 (µg/mL) | 3.3313 (µg/mL) | -86 | -94 E | -94 E | -95 D |
| Day 47 | | 12.8846 (µg/mL) | 11.3443 (µg/mL) | -91 | -97 D | -98 E | -98 E |
| Day 92* | | 30.9272 (µg/mL) | 17.5645 (µg/mL) | -99 | -99 D | -99 E | -99 E |
| Day 99 | | 347.6866 (µg/mL) | 132.6868 (µg/mL) | -87 | -95 | -99 E | -100 E |
| Day 106 | | 407.9328 (µg/mL) | 181.7328 (µg/mL) | -89 | -97 | -99 E | -100 E |
| **Gross Pathology[h]** | | | | | | | |
| Spleen (No. Examined) | | 10 | 10 | 9 | 10 | 10 | 10 |
| Small | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Organ Weights [i]** | | | | | | | |
| Spleen (No. Weighed) | | 10 | 10 | 9 | 10 | 10 | 10 |
| Absolute value | | 1.2906 g | 0.6807 g | **-28** | **-18** | **-15** | **-38** |
| % of body weight | | 0.16550 | 0.17550 | **-24** | **-14** | **-14** | **-30** |
| % of brain weight | | 54.18865 | 31.91917 | **-29** | **-19** | **-16** | **-39** |

## Table 2.6.7.7B: 3-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title**: A 3-Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-018 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)[c]** | | 0 (Control) | | 50 | 60 | 300 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)[c]** | | 0 (Control) | | 100 | 120 | 600 | 1000 |
| | | M | F | M | F | F | M |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | **Main:** | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | **TDAR:** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **Histopathology [h]** | | | | | | | |
| Spleen (No. Examined) | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Decreased cellularity; marginal zone; periarteriolar lymphoid sheath | | (0)[j] | (0) | (9) | (9) | (9) | (10) |
| Minimal | | - | - | 9 | 3 | 3 | 3 |
| Mild | | - | - | 0 | 6 | 6 | 5 |
| Moderate | | - | - | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Pancreas (No. Examined) | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Fibrosis; islet of Langerhans | | (2) | (0) | (10) | (6) | (6) | (10) |
| Minimal | | 2 | - | 2 | 1 | 1 | 2 |
| Mild | | 0 | - | 7 | 5 | 5 | 7 |
| Moderate | | 0 | - | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Inflammation; acinar and/or islet of Langerhans | | (0) | (0) | (6) | (1) | (6) | (5) |
| Minimal | | 0 | - | 3 | 1 | 2 | 4 |
| Mild | | 0 | - | 3 | 0 | 4 | 1 |
| Pigment; islet of Langerhans | | (4) | (0) | (10) | (5) | (7) | (10) |
| Minimal | | 4 | - | 6 | 4 | 6 | 8 |
| Mild | | 0 | - | 4 | 1 | 1 | 2 |
| Atrophy; acinar | | (2) | (1) | (4) | (1) | (3) | (6) |
| Minimal | | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 5 |
| Mild | | 1 | 1 | 3 | 0 | 1 | 1 |
| Hemorrhage; islet of Langerhans | | (0) | (0) | (1) | (2) | (2) | (0) |

## Table 2.6.7.7B: 3-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title**: A 3-Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-018 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)[c]** | | 0 (Control) | | 50 | 60 | 300 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)[c]** | | 0 (Control) | | 100 | 120 | 600 | 1000 |
| | | M | F | M | F | F | M |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | **Main:** | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | **TDAR:** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Minimal | | - | - | 1 | 2 | 1 | 0 |
| Mild | | - | - | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Hemorrhage; acinar | | (0) | (0) | (0) | (0) | (2) | (0) |
| Minimal | | - | - | - | - | 2 | - |
| Inflammation, mixed cell; acinar | | (0) | (0) | (0) | (1) | (1) | (0) |
| Minimal | | - | - | - | 1 | 1 | - |
| Inflammation, vascular/perivascular | | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) |
| Minimal | | - | - | - | - | - | 1 |
| Lymph node, mandibular (No. Examined) | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Erythrophagocytosis | | (2) | (1) | (0) | (4) | (5) | (5) |
| Minimal | | 2 | 1 | - | 3 | 5 | 2 |
| Mild | | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 3 |
| Moderate | | 0 | 0 | - | 1 | 0 | 0 |
| Lymph node, mesenteric (No. Examined) | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Erythrophagocytosis | | (0) | (0) | (6) | (4) | (5) | (5) |
| Minimal | | - | - | 4 | 3 | 5 | 5 |
| Mild | | - | - | 2 | 1 | 0 | 0 |
| Lymph node (submitted for gross lesions) (No. Examined) | | 1 | 1 | 6 | 4 | 6 | 7 |
| Erythrophagocytosis | | (1) | (1) | (6) | (4) | (6) | (7) |
| Minimal | | 0 | 1 | 3 | 1 | 1 | 3 |
| Mild | | 1 | 0 | 3 | 1 | 2 | 2 |
| Moderate | | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 |

## Table 2.6.7.7B: 3-month Repeat-dose Study in Rats (Contd)

Abbreviations: - = no noteworthy findings; $AUC_{0-24}$ = area under the concentration vs time curve from the start of dose administration to the time after dosing at which the last quantifiable concentration was observed; BID = twice a day, $C_{max}$ = maximum concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice, IgG = immunoglobulin G, IgM = immunoglobulin M, KLH = keyhole limpet haemocyanin, LLOQ = lower limit of quantitation, M = male; NA = not applicable; SD = standard deviation, SE = standard error, TK = toxicokinetics, $T_{max}$ = time after dosing at which the maximum observed concentration was observed.; A/G = albumin/globulin; abs = absolute counts; TDAR = T-cell dependent antibody response; * = Day of KLH injection; Ø = All results in the group were < LLOQ, thus the mean reported is the LLOQ/2 value; Ω = Mean result is < LLOQ

[a] Samples were collected from 3 animals per timepoint, with each set of 3 animals being sampled for 2 timepoints approximately 12 hours apart.

[b] All timepoints had 3 animals, with the exception of the 4 and 16-hour collections, which had 2 animals due to an animal death.

[c] Animals were dosed twice daily or BID.

[d] One additional TK animal was euthanized in moribund condition on Day 100.

Significantly different from control group (Group 1) value: A - $P \leq 0.05$; B - $P \leq 0.01$; C - $P \leq 0.001$ (Dunnett)
D - $P \leq 0.05$; E - $P \leq 0.01$; F - $P \leq 0.001$ (Dunn)

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

[f] Blood and spleen immunophenotyping changes compared to vehicle control group (% difference).

[g] Change in anti-KLH antibody concentration, compared to vehicle control group (% difference).

[h] Incidence is presented.

[i] All values expressed as percent difference of control group means. Based upon statistical analysis of group means, values highlighted in bold are significantly different from control group at $p \leq 0.05$ or $p \leq 0.01$ (Anova & Dunnett).

[j] Numbers in parentheses represent the number of animals with the finding.

## Table 2.6.7.7C: 1-month Repeat-dose Study in Dogs

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Report Title:** A 28-Day Twice-Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Phase | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-008 | | | | | |
| **Species/Strain:** Dogs/purebred Beagles | **Duration of Dosing:** 28 days | | **Study No**. 8375389 | | | | | |
| **Initial Age:** 5 to 6 months | **Duration of Recovery:** 28 days | | **GLP Compliance:** Yes | | | | | |
| **Date of First Dose:** [redacted]20[redacted] | **Method of Administration:** Oral gavage | | | | | | | |
| **Vehicle Control Article:** 0.5% (w/v) hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) prepared in reverse osmosis (RO) water | | | | | | | | |
| **Special Features**: Physical examinations, body temperature, heart rate, respiration rates, blood pressure, electrocardiogram evaluation | | | | | | | | |
| **No Observed Adverse Effect Level:** 20 mg/kg/day (10 mg/kg/dose BID) | | | | | | | | |
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 10/5 (Low)[a] | | 30/10 (Mid)[b] | | 90/60 (High)[c] | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 20/10 (Low)[a] | | 60/20 (Mid)[b] | | 180/120 (High)[c] | |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Animals at Study Start** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **Dosing Phase** | | | | | | | | |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| Day 1 | | | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ ± SD (ng·h/mL) | NA | NA | 13400 ± 2770 | 18700 ± 2890 | 33800 ± 17500 | 41300 ± 7230 | 79000 ± 45600 | 107000 ± 46000 |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | NA | 923 ± 72.2 | 1350 ± 338 | 2700 ± 1230 | 2630 ± 428 | 5410 ± 3080 | 7020 ± 2970 |
| $T_{max}$ (h) | NA | NA | 2.00 | 4.00 | 2.00 | 4.00 | 8.00 | 4.00 |
| $T_{1/2, 0-12h}$ (h) | NA | NA | NA | 4.58 | 4.34 | NA | NA | NA |
| $T_{1/2, 12-24h}$ (h) | NA | NA | 4.63 | 5.72 | NA | NA | NA | NA |
| Day 4 | | | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ ± SD (ng·h/mL) | NA | NA | 30000 ± 11400 | 30000 ± 6660 | 86200 ± 38300 | 58800 ± 8310 | 119000 ± 38600 | 124000 ± 9720 |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | NA | 1920 ± 600 | 1880 ± 381 | 5560 ± 1920 | 4010 ± 453 | 7320 ± 2270 | 6590 ± 873 |
| $T_{max}$ (h) | NA | NA | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 | 4.00 |
| $T_{1/2, 0-12h}$ (h) | NA | NA | 3.61 | NA | NA | NA | NA | NA |
| $T_{1/2, 12-24h}$ (h) | NA | NA | NA | NA | NA | 5.06 | NA | NA |
| Day 14 | | | | | | | | |
| $AUC_{0-24}$ ± SD (ng·h/mL) | NA | NA | 13500 ± 4670 | 12300 ± 2790 | 16100 ± 6550 | 20900 ± 8580 | NA | NA |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | NA | 977 ± 412 | 840 ± 145 | 1040 ± 246 | 1770 ± 1030 | NA | NA |
| $T_{max}$ (h) | NA | NA | 2.00 | 2.00 | 4.00 | 2.00 | NA | NA |
| $T_{1/2, 0-12h}$ (h) | NA | NA | 5.06 | 5.13 | 3.87 | 4.44 | NA | NA |

## Table 2.6.7.7C: 1-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Twice-Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Phase | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-008 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 10/5 (Low)[a] | | 30/10 (Mid)[b] | | 90/60 (High)[c] | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 20/10 (Low)[a] | | 60/20 (Mid)[b] | | 180/120 (High)[c] | |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Animals at Study Start** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| $T_{1/2,\ 12\text{-}24h}$ (h) | - | - | NA | NA | NA | NA | - | - |
| Day 28 | | | | | | | | |
| $AUC_{0\text{-}24}$ ± SD (ng·h/mL) | BLQ | BLQ | 14200 ± 3560 | 18400 ± 5350 | 30500 ± 8370 | 24900 ± 3670 | NA | NA |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | BLQ | BLQ | 935 ± 186 | 1210 ± 314 | 2010 ± 669 | 1560 ± 202 | NA | NA |
| $T_{max}$ (h) | - | - | 2.00 | 4.00 | 2.00 | 4.00 | - | - |
| $T_{1/2,\ 0\text{-}12h}$ (h) | - | - | 4.57 | 5.68 | NA | 4.47 | - | - |
| $T_{1/2,\ 12\text{-}24h}$ (h) | - | - | NA | NA | NA | NA | - | - |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5[d] | 5[d] |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| Appearance | | | | | | | | |
| Hunched posture | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Tremors, entire body, intermittent | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Behavior | | | | | | | | |
| Growling/snarling | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Hypoactive | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 4 | 3 |
| Recumbent, lateral | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Recumbent, < 1 minute - mild, lateral | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Discharge | | | | | | | | |
| Excessive salivation | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Vomitus, group observation, brown | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Vomitus, group observation, brown, containing food | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 0 | 2 |
| Vomitus, group observation, containing food | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Vomitus, group observation, foamy, yellow | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Vomitus, individual observation, brown | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

## Table 2.6.7.7C: 1-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Twice-Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Phase | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-008 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 10/5 (Low)[a] | | 30/10 (Mid)[b] | | 90/60 (High)[c] | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 20/10 (Low)[a] | | 60/20 (Mid)[b] | | 180/120 (High)[c] | |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Animals at Study Start** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Vomitus, individual observation, brown, containing food | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 | 1 | 2 |
| Vomitus, individual observation, cloudy | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Excretion | | | | | | | | |
| Feces, discolored, group observation, red | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Feces, discolored, individual observation, red | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Feces, liquid, group observation | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| Feces, liquid, individual observation | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 2 | 1 |
| Feces, mucoid, group observation | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Feces, mucoid, individual observation | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| Feces, nonformed, group observation | 4 | 3 | 2 | 5 | 4 | 4 | 3 | 2 |
| Feces, nonformed, individual observation | 1 | 0 | 0 | 1 | 4 | 1 | 2 | 2 |
| Eyes | | | | | | | | |
| Squinting | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Skin and pelage | | | | | | | | |
| Cold to touch, ears | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Cold to touch, muzzle | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Warm to touch, entire body | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Ophthalmic Examinations** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Body Weight (kg)** | | | | | | | | |
| Day 8 | 8.5 | 7.7 | 8.8 | 7.6 | 8.5 | 7.3 | 8.3 | 6.9 |
| **Body Weight Change (kg)** | | | | | | | | |

## Table 2.6.7.7C: 1-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Twice-Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Phase | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-008 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 10/5 (Low)[a] | | 30/10 (Mid)[b] | | 90/60 (High)[c] | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 20/10 (Low)[a] | | 60/20 (Mid)[b] | | 180/120 (High)[c] | |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Animals at Study Start** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Days 1 - 8 | -0.2 | -0.1 | -0.3 | -0.2 | -0.2 | -0.3 | -0.5 | -0.6* |
| **Food Consumption (%)**[e, f] | | | | | | | | |
| Days 1 - 8 | 1308 g | 1158 g | +3.6 | +0.6 | -7.3 | -16.4 | -21.0 | -33.9* |
| **Physical Examinations** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Body Temperature** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Heart Rate** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Respiration Rate** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Blood Pressure Measurements** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Electrocardiographic Evaluation** | | | | | | | | |
| $QT_c$ interval-Dosing Phase Day 26[e] | 240 ms | - | - | - | +6.3%*,[g] | - | NA | NA |
| **Hematology**[h] | | | | | | | | |
| Day 14 | | | | | | | | |
| Neutrophil count (E3/µL) | 4.28 | 4.61 | 6.51 | 5.46 | 2.32 | 1.89* | NA | NA |
| Monocyte count (E3/µL) | 0.69 | 0.50 | 0.82 | 0.66 | 0.43 | 0.29 | NA | NA |
| Lymphocyte count (E3/µL) | 3.48 | 3.55 | 3.14 | 2.54 | 2.95 | 2.77 | NA | NA |
| Eosinophil count (E3/µL) | 0.18 | 0.24 | 0.13 | 0.09 | 0.06 | 0.11 | NA | NA |
| Red blood cell count (E6/µL) | 5.56 | 5.74 | 5.47 | 5.74 | 5.07 | 6.35 | NA | NA |
| Hemoglobin (g/dL) | 12.4 | 13.1 | 11.9 | 13.1 | 11.2 | 14.1 | NA | NA |
| Hematocrit (%) | 38.0 | 39.7 | 36.5 | 39.9 | 34.0 | 42.8 | NA | NA |
| Day 29 | | | | | | | | |
| Lymphocyte count (E3/µL) | 3.02 | 3.38 | 3.12 | 2.46 | 2.68 | 2.73 | NA | NA |
| Red blood cell count (E6/µL) | 5.69 | - | 5.50 | - | 5.22 | - | NA | NA |
| Hemoglobin (g/dL) | 12.4 | - | 11.9 | - | 11.4 | - | NA | NA |
| Hematocrit (%) | 38.1 | - | 36.1 | - | 34.6 | - | NA | NA |
| **Coagulation**[i] | | | | | | | | |
| Day 14 | | | | | | | | |
| Fibrinogen (mg/dL) | 312 | 199 | 395 | 308 | 366 | 334 | NA | NA |
| Day 29 | | | | | | | | |
| Fibrinogen (mg/dL) | 263 | 189 | 426* | 258 | 261 | 277* | NA | NA |

## Table 2.6.7.7C: 1-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Twice-Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Phase | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-008 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 10/5 (Low)[a] | | 30/10 (Mid)[b] | | 90/60 (High)[c] | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 20/10 (Low)[a] | | 60/20 (Mid)[b] | | 180/120 (High)[c] | |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Animals at Study Start** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **Clinical Chemistry**[j] | | | | | | | | |
| Day 14 | | | | | | | | |
| Cholesterol (mg/dL) | 140 | 138 | 185* | 149 | 268* | 184* | NA | NA |
| Day 29 | | | | | | | | |
| Cholesterol (mg/dL) | 140 | 149 | 237* | 159 | 232* | 194 | NA | NA |
| Albumin (g/dL) | 3.1 | - | 2.8 | - | 3.0 | - | NA | NA |
| Urea nitrogen (mg/dL) | 14 | 16 | 13 | 13* | 10* | 12* | NA | NA |
| Alkaline phosphatase (U/L) | 81 | 92 | 98 | 94 | 66 | 72 | NA | NA |
| **Urinalysis** | - | - | - | - | - | - | NA | NA |
| **Organ Weights** | - | - | - | - | - | - | NA | NA |
| **Macroscopic Observations** | | | | | | | | |
| Cecum | | | | | | | | |
| Discolored, red | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Colon | | | | | | | | |
| Intussusception | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Lung | | | | | | | | |
| Discolored | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| Raised area | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| Number of Animals Examined | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 5[k] | 5[k] |
| Lung | | | | | | | | |
| Inflammation, mixed cell | | | | | | | | |
| Slight | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Moderate | - | - | - | - | - | - | 0 | 2 |
| Severe | - | - | - | - | - | - | 0 | 1 |
| Hemorrhage | | | | | | | | |
| Minimal | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Slight | - | - | - | - | - | - | 0 | 2 |
| Moderate | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |

## Table 2.6.7.7C: 1-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Twice-Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Phase | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-008 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 10/5 (Low)[a] | | 30/10 (Mid)[b] | | 90/60 (High)[c] | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 20/10 (Low)[a] | | 60/20 (Mid)[b] | | 180/120 (High)[c] | |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Animals at Study Start** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Colon | | | | | | | | |
| Inflammation, mixed cell | | | | | | | | |
| Slight | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | - | - |
| Marked | - | - | - | - | - | - | 0 | 1 |
| Necrosis | | | | | | | | |
| Marked | - | - | - | - | - | - | 0 | 1 |
| Hemorrhage | | | | | | | | |
| Moderate | - | - | - | - | - | - | 0 | 1 |
| Intussusception | | | | | | | | |
| Present | - | - | - | - | - | - | 0 | 1 |
| Cecum | | | | | | | | |
| Inflammation, mixed cell | | | | | | | | |
| Minimal | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Moderate | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Necrosis, tunica muscularis | | | | | | | | |
| Slight | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Hemorrhage | | | | | | | | |
| Minimal | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Moderate | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Rectum | | | | | | | | |
| Inflammation, mixed cell | | | | | | | | |
| Minimal | - | - | - | - | - | - | 0 | 1 |
| Slight | - | - | - | - | - | - | 0 | 1 |
| Moderate | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Marked | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Hemorrhage | | | | | | | | |
| Slight | - | - | - | - | - | - | 2 | 0 |
| Marrow, Sternum | | | | | | | | |
| Cellularity, decreased | | | | | | | | |

## Table 2.6.7.7C: 1-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Twice-Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Phase | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-008 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 10/5 (Low)[a] | | 30/10 (Mid)[b] | | 90/60 (High)[c] | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 20/10 (Low)[a] | | 60/20 (Mid)[b] | | 180/120 (High)[c] | |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Animals at Study Start** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Minimal | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Slight | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Adrenal cortex | | | | | | | | |
| Inflammation, mononuclear cell | | | | | | | | |
| Moderate | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | - | - |
| Thymus | | | | | | | | |
| Decreased lymphocytes | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Slight | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Moderate | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Marked | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Spleen | | | | | | | | |
| Decreased lymphocytes, white pulp | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 3 |
| Slight | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 |
| Moderate | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| GALT/Peyer's Patch | | | | | | | | |
| Decreased lymphocytes | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| Slight | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 |
| Moderate | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| Mesenteric Lymph Node | | | | | | | | |
| Decreased lymphocytes | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| Slight | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Erythrophagocytosis | | | | | | | | |
| Minimal | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Slight | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 2 | 2 |
| Moderate | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 1 | 2 | 2 |

## Table 2.6.7.7C: 1-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Twice-Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Phase | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-008 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 10/5 (Low)[a] | | 30/10 (Mid)[b] | | 90/60 (High)[c] | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 20/10 (Low)[a] | | 60/20 (Mid)[b] | | 180/120 (High)[c] | |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Animals at Study Start** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Erythrocytes, sinus | | | | | | | | |
| Minimal | 2 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| Slight | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 2 | 4 | 2 |
| Moderate | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | 1 | 0 | 1 |
| Infiltrate, mixed cell | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Slight | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Mandibular Lymph Node | | | | | | | | |
| Decreased lymphocytes | | | | | | | | |
| Slight | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Erythrophagocytosis | | | | | | | | |
| Minimal | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 3 | 3 | 0 |
| Slight | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Moderate | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Erythrocytes, sinus | | | | | | | | |
| Minimal | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 3 | 0 |
| Slight | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Moderate | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Infiltrate, mixed cell | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Slight | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

## Table 2.6.7.7C: 1-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 28-Day Twice-Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of LOXO-305 in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Phase | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-008 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 10/5 (Low)[a] | | 30/10 (Mid)[b] | | 90/60 (High)[c] | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 20/10 (Low)[a] | | 60/20 (Mid)[b] | | 180/120 (High)[c] | |
| **Sex** | Male | Female | Male | Female | Male | Female | Male | Female |
| **Number of Animals at Study Start** | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **Recovery Phase** | | | | | | | | |
| **Number of Animals in Recovery** | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| No test article-related findings | | | | | | | | |

Abbreviations: - = No noteworthy findings; $AUC_{0-24}$ = Area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, estimated by the linear trapezoidal rule; BLQ = Below the limit of quantitation (< 20.0 ng/mL); $C_{max}$ = Maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practices; ms = milliseconds; NA = Not applicable; BID = twice daily; SD = standard deviation; $T_{max}$ = time after dosing at which the maximum observed concentration was observed (the median value was reported);
* = Statistically significant based on actual data (not on percent difference).

a The dose administered was reduced starting with the a.m. dose on Day 11.
b The dose administered was reduced starting with the p.m. dose on Day 12.
c The dose administered was reduced starting with the a.m. dose on Day 6.
d All animals administered 180/120 mg/kg/day were sacrificed on Day 13 due to clinical observations, including hypoactivity, dehydration, elevated body temperature, and gastrointestinal findings (mucoid or red feces), which were accompanied by pronounced decreases in circulating blood cells (particularly neutrophils). These deaths were considered test article-related.
e For control, group mean is shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.
f During the measurement intervals from Day 8 to 28 of the dosing phase, a statistically significant decrease in mean food consumption was noted for animals administered 30/10 mg/kg/dose BID. However, these animals were offered canned food, so the values indicated on the summary data table do not reflect total food consumption.
g This change was physiologically unimportant.
h In animals administered 90/60 mg/kg/dose BID that were sacrificed at an unscheduled interval on Day 13 of the dosing phase, hematology findings on the day of sacrifice included moderately to severely decreased white blood cell and neutrophil counts, with a generalized decrease in other leukocytes; moderately to markedly decreased platelet count; and mildly to moderately decreased lymphocyte count and red cell mass (i.e., red blood cell count, hemoglobin, and hematocrit). Marked neutropenia was noted as early as Day 5 in some animals and, despite dosing holidays and lowering the dose to 120 mg/kg/day, it did not improve by Day 11 or 13. Collectively, these findings were consistent with bone marrow suppression/toxicity and correlated with decreased bone marrow cellularity, which was noted microscopically in the sternum of two animals. Similar hematology findings were also observed at previous unscheduled time points (Days 5, 8, and 11 of the dosing phase). Moderately to markedly decreased reticulocyte count was observed in these animals on Days 5, 8, and 11 of the dosing phase and exhibited partial recovery by Day 13 of the dosing phase, which was probably due to the dosing holiday and lowered dose level. Decreased lymphocyte count correlated with decreased lymphocytes noted microscopically in various lymphoid tissues.
i In animals administered 90/60 mg/kg/dose BID that were sacrificed at an unscheduled interval on Day 13 of the dosing phase, mildly to markedly increased fibrinogen on Days 5 (a few animals), 11, and 13 of the dosing phase was noted. The increased fibrinogen was consistent with inflammation and may have been related to the inflammatory changes, which were noted microscopically in the gastrointestinal tract and lungs.
j In animals administered 90/60 mg/kg/dose BID that were sacrificed at an unscheduled interval on Day 13 of the dosing phase, mildly to moderately decreased albumin and albumin:globulin ratio on Days 8, 11, or 13 of the dosing phase; and mildly to moderately increased cholesterol on Days 8, 11, or 13 of the dosing phase were noted. The decreased albumin and increased cholesterol may also have been related to gastrointestinal tract findings.
k Microscopic findings from animals administered 180/120 mg/kg/day were from tissues collected at the unscheduled necropsy on Day 13 of the dosing phase.

## Table 2.6.7.7D: 3-month Repeat-dose Study in Dogs

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Report Title:** A 3 Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727/HPMC-AS-M as a Spray Dried Dispersion Administered by Twice Daily Oral Gavage to Dogs | | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-017 | |
| **Species/Strain**: Dog/Beagle | **Duration of Dosing**: 3 months | | | | | | **Study No**. 8002741 | |
| **Initial Age**: 6 to 7 months | **Duration of Postdose**: NA | | | | | | | |
| **Date of First Dose**: [redacted]20[redacted] | **Method of Administration**: Oral gavage | | | | | | **GLP Compliance**: Yes | |
| **Vehicle/Formulation**: 0.5% (w/v) Hydroxypropyl Methylcellulose (HPMC) in Ultra Pure Water | | | | | | | | |
| **Special Features**: Immunophenotyping (blood), T-cell dependent antibody response (TDAR) | | | | | | | | |
| **No Observed Adverse Effect Level**: 2.5 mg/kg BID | | | | | | | | |
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 0.5 | | 2.5 | | 5 | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 1 | | 5 | | 10 | |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | M | F | M | F | M | F | M | F |
| | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| **Toxicokinetics** | | | | | | | | |
| **Day 1** | | | | | | | | |
| $AUC_{0\text{-}24}$ ± SD (ng·h/mL) | NA | NA | 1440 ± 214 | 1290 ± 273 | 8360 ± 1530 | 7950 ± 762 | 22200 ± 2570 | 20600 ± 3020 |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | NA | 171 ± 31.2 | 159 ± 49.7 | 1130 ± 238 | 1110 ± 196 | 2960 ± 483 | 3070 ± 634 |
| $T_{max}$ ± SD (h) | NA | NA | 7.25 ± 7.23 | 4.25 ± 6.50 | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 |
| **Day 28** | | | | | | | | |
| $AUC_{0\text{-}24}$ ± SD (ng·h/mL) | NA | NA | 2180 ± 360 | 2210 ± 434 | 11100 ± 3290 | 14400 ± 6600 | 37500 ± 12000 | 45300 ± 9460 |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | NA | 226 ± 48.0 | 257 ± 48.0 | 1480 ± 446 | 1590 ± 940 | 4510 ± 456 | 5120 ± 1160 |
| $T_{max}$ ± SD (h) | NA | NA | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 | 4.25 ± 6.50 | 1.00 ± 0.00 | 4.00 ± 6.00 |
| **Day 105** | | | | | | | | |
| $AUC_{0\text{-}24}$ ± SD (ng·h/mL) | NA | NA | 2270 ± 287 | 2400 ± 296 | 13800 ± 2570 | 17300 ± 4230 | 32200 ± 4230 | 44900 ± 5570 |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | NA | 258 ± 49.1 | 273 ± 34.4 | 1400 ± 346 | 2060 ± 441 | 3950 ± 526 | 3900 ± 1030 |
| $T_{max}$ ± SD (h) | NA | NA | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 | 1.00 ± 0.00 |

## Table 2.6.7.7D: 3-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 3 Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727/HPMC-AS-M as a Spray Dried Dispersion Administered by Twice Daily Oral Gavage to Dogs | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-017 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 0.5 | | 2.5 | | 5 | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 1 | | 5 | | 10 | |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | M | F | M | F | M | F | M | F |
| | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| **Died or Euthanized Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Body Weight (%)** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Food Consumption (%)** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Ophthalmology** | Test item-related findings were noted in male Animal Nos. 4001 and 4003 (administered 5 mg/kg BID) at Week 15. Changes were described as bilateral corneal opacities. Part of the opacities had a cloud-like or diffuse appearance covering most of the central aspect of the corneas. This opacity was described as being superficial and within these larger and faint opacities, there were focal of multifocal smaller and denser (more opaque) opacities that were described as subepithelial or anterior stromal. | | | | | | | |
| **Electrocardiography** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Clinical Observations** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology** | | | | | | | | |
| Red Blood Cell Count (10^6/µL) | | | | | | | | |
| Week 6 | 6.475 | 6.833 | 6.000 | 6.248 | 6.700 | 5.985 A | 6.115 | 5.770 B |
| Week 15 | 6.933 | 6.663 | 6.753 | 6.783 | 7.263 | 6.600 | 6.883 | 6.093 |
| Hemoglobin (g/dL) | | | | | | | | |
| Week 6 | 14.73 | 15.90 | 13.78 | 14.45 A | 15.45 | 13.60 B | 13.90 | 13.50 B |
| Week 15 | 15.53 | 15.35 | 15.23 | 15.30 | 15.90 | 14.55 | 15.25 | 13.75 |
| Hematocrit (%) | | | | | | | | |
| Week 6 | 44.30 | 47.83 | 41.55 | 42.90 B | 45.33 | 40.18 B | 41.48 | 39.60 B |
| Week 15 | 47.03 | 46.33 | 46.13 | 46.00 | 48.00 | 43.88 | 46.53 | 41.55 |
| **Coagulation** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Clinical Chemistry** | | | | | | | | |
| Total Protein (g/dL) | | | | | | | | |
| Week 6 | 5.18 | 5.20 | 5.05 | 5.20 | 5.05 | 4.98 | 4.93 | 4.85 |
| Albumin (g/dL) | | | | | | | | |
| Week 6 | 3.28 | 3.53 | 3.30 | 3.68 | 3.40 | 3.35 | 3.28 | 3.30 |
| Phosphorus (mg/dL) | | | | | | | | |
| Week 6 | 5.98 | 5.75 | 5.53 | 5.13 | 5.28 A | 5.33 | 5.30 A | 4.95 |

## Table 2.6.7.7D: 3-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 3 Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727/HPMC-AS-M as a Spray Dried Dispersion Administered by Twice Daily Oral Gavage to Dogs | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-017 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 0.5 | | 2.5 | | 5 | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 1 | | 5 | | 10 | |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | M | F | M | F | M | F | M | F |
| | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Week 15 | 5.38 | 4.75 | 4.80 | 4.60 | 4.98 | 4.73 | 4.63 | 4.63 |
| **Urinalysis** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Blood Immunophenotyping**[a] | | | | | | | | |
| B Lymphocytes (CD3-/CD21+) | | | | | | | | |
| Absolute counts | | | | | | | | |
| Week 6 | 644.488 (cells/µL) | 823.875 (cells/µL) | -19 | -41 | -27 | -33 | -30 | -47 |
| Week 15 | 571.348 (cells/µL) | 695.695 (cells/µL) | -31 | -36 | -41 A | -44 | -54 B | -77 B |
| Relative Percentages | | | | | | | | |
| Week 6 | 22.733 (%) | 25.068 (%) | -16 | -31 | -27 | -34 | -30 | -44 |
| Week 15 | 22.070 (%) | 21.938 (%) | -34 A | -37 A | -42 B | -47 A | -59 B | -76 B |
| Total T Lymphocytes (CD3+) | | | | | | | | |
| Absolute counts | | | | | | | | |
| Week 6 | 1671.008 (cells/µL) | 2046.140 (cells/µL) | - | - | - | 18 | 22 | - |
| Week 15 | 1680.493 (cells/µL) | 1998.613 (cells/µL) | 20 | 22 | 17 | 35 | 35 | 27 |
| Relative Percentages | | | | | | | | |
| Week 6 | 61.398 (%) | 63.130 (%) | - | 12 | - | 14 A | 13 | 16 A |
| Week 15 | 66.000 (%) | 65.550 (%) | 12 | 17 B | 11 | 21 B | 19 | 30 B |
| Helper T Lymphocytes (CD3+/CD4+) | | | | | | | | |
| Absolute counts | | | | | | | | |
| Week 6 | 913.873 (cells/µL) | 1222.425 (cells/µL) | 21 | - | 19 | 30 | 30 | - |

## Table 2.6.7.7D: 3-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 3 Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727/HPMC-AS-M as a Spray Dried Dispersion Administered by Twice Daily Oral Gavage to Dogs | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-017 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 0.5 | | 2.5 | | 5 | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 1 | | 5 | | 10 | |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | M | F | M | F | M | F | M | F |
| | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Week 15 | 923.743 (cells/µL) | 1211.793 (cells/µL) | 32 | 24 | 29 | 37 | 43 | 16 |
| Relative Percentages | | | | | | | | |
| Week 6 | 33.550 (%) | 37.785 (%) | 18 | 19 B | 17 | 25 B | 22 | - |
| Week 15 | 36.280 (%) | 39.745 (%) | 23 | 20 B | 21 | 23 B | 26 | 19 A |
| Cytotoxic T lymphocytes (CD3+/CD8+) | | | | | | | | |
| Absolute counts | | | | | | | | |
| Week 15 | 476.278 (cells/µL) | 496.448 (cells/µL) | - | 33 | - | 38 | 37 | 41 |
| Relative Percentages | | | | | | | | |
| Week 15 | 18.863 (%) | 16.570 (%) | - | 25 | - | 22 | 20 | 45 |
| **TDAR**[b] | | | | | | | | |
| IgG | | | | | | | | |
| Day 26 (Pre KLH) | 125.0 (mean titer) | 125.0 (mean titer) | 0 | 144 | 117 | 0 | 0 | 0 |
| Day 33 (7 Days Post KLH) | 24027.0 (mean titer) | 10544.8 (mean titer) | -77 | -56 | -97 | -93 | -97 | -92 |
| Day 40 (14 Days Post KLH) | 89360.5 (mean titer) | 60742.0 (mean titer) | -14 | -24 | -17 | 28 | -20 | 57 |
| Day 47 (21 Days Post KLH) | 105424.0 (mean titer) | 115590.0 (mean titer) | 79 | -17 | 41 | 60 | 190 | 99 |
| Day 92 (Pre KLH) | 68153.3 (mean titer) | 48162.8 (mean titer) | 328 | 199 | -28 | 149 | 46 | -22 |
| Day 99 (7 Days Post KLH) | 1296348.5 (mean titer) | 2425282.8 (mean titer) | 269 | -12 | -7 | -12 | 152 | -45 |
| Day 106 (14 Days Post KLH) | 1430848.0 (mean titer) | 1742106.3 (mean titer) | 97 | -32 | -13 | -34 | -6 | -63 |

## Table 2.6.7.7D: 3-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 3 Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727/HPMC-AS-M as a Spray Dried Dispersion Administered by Twice Daily Oral Gavage to Dogs | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-017 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 0.5 | | 2.5 | | 5 | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 1 | | 5 | | 10 | |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | M | F | M | F | M | F | M | F |
| | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| IgM | | | | | | | | |
| Day 26 (Pre KLH) | 500.0 (mean titer) | 500.0 (mean titer) | 150 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Day 33 (7 Days Post KLH) | 19886.8 (mean titer) | 16549.0 (mean titer) | -10 | -80 | -93 | -97 | -97 | -97 |
| Day 40 (14 Days Post KLH) | 10205.3 (mean titer) | 10277.8 (mean titer) | -43 | -81 | -87 | -95 | -82 | -84 |
| Day 47 (21 Days Post KLH) | 3610.8 (mean titer) | 3521.0 (mean titer) | 16 | -50 | -59 | -86 | -44 | -69 |
| Day 92 (Pre KLH) | 500.0 (mean titer) | 500.0 (mean titer) | 383 | 84 | 147 | 0 | 440 | 995 |
| Day 99 (7 Days Post KLH) | 2545.0 (mean titer) | 7826.5 (mean titer) | -80 | -80 | -35 | -94 | 1 | -83 |
| Day 106 (14 Days Post KLH) | 2075.5 (mean titer) | 2446.5 (mean titer) | -55 | -74 | -40 | -80 | 57 | -35 |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Organ Weight** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Histopathology**[c] | | | | | | | | |
| Galt | | | | | | | | |
| Cellularity, decreased; lymphoid; germinal center | (0)[d] | (0) | (1) | (2) | (4) | (3) | (4) | (4) |
| Minimal | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 2 |
| Moderate | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 |
| Lymph node, mesenteric | | | | | | | | |
| Cellularity, decreased; lymphoid; germinal center | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (2) | (3) | (4) |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| Eye, left | | | | | | | | |

## Table 2.6.7.7D: 3-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** A 3 Month Toxicity and Toxicokinetic Study of LY3527727/HPMC-AS-M as a Spray Dried Dispersion Administered by Twice Daily Oral Gavage to Dogs | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-017 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | | 0.5 | | 2.5 | | 5 | |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | | 1 | | 5 | | 10 | |
| **Number of Animals/Sex/Group:** | M | F | M | F | M | F | M | F |
| | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Mitoses, increased; epithelial; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (2) | (0) |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Hyperplasia; epithelial; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (2) | (0) |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Erosion; epithelial; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Single cell necrosis; epithelial; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Fibrosis; stromal; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (2) | (0) |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Infiltration, mixed cell; stromal | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Eye, right | | | | | | | | |
| Mitoses, increased; epithelial; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (2) | (0) |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Hyperplasia; epithelial; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Erosion; epithelial; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Ulceration; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Fibrosis; stromal; cornea | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (2) | (0) |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Infiltration, mixed cell; stromal | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |

## Table 2.6.7.7D: 3-month Repeat-dose Study in Dogs (Contd)

Abbreviations:
BID = twice a day; - = no noteworthy findings; $AUC_{0-24}$ = The area under the concentration versus time curve from 0 to 24 hours post first daily dose; $C_{max}$ = maximum concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice, IgG = immunoglobulin G; IgM = immunoglobulin M; KLH = keyhole limpet hemocyanin, M = male; NA = not applicable, SD = standard deviation, $T_{max}$ = time after dosing at which the maximum observed concentration was observed.

[a] Blood immunophenotyping changes compared to vehicle control group (% difference).
[b] Change in anti-KLH antibody mean titer, compared to vehicle control group (% difference).
[c] Incidence is presented.
[d] Numbers in parentheses represent the number of animals with the finding.

Significantly different from control group (Group 1) value: A - $P \leq 0.05$; B - $P \leq 0.01$; C - $P \leq 0.001$ (Dunnett)

## 2.6.7.8 Genotoxicity: In vitro

### Table 2.6.7.8A: Bacterial Reverse Mutation (Ames) Assay

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Study Title:** Bacterial Reverse Mutation Assay | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-009 | |
| **Test for Induction of:** Reverse mutation in bacterial cells | | | **No. of Independent Assays:** 1 | | **Study No.** AF20TU.502ICH.BTL | |
| **Strains:** *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537; *E. coli* WP2 *uvr*A | | | **No. of Replicate Cultures:** 3 | | **GLP Compliance:** Yes | |
| **Metabolizing System:** Aroclor-induced rat liver S9 | | | **No. of Cells Analyzed/Cultured:** 0.8 to 2.3 x $10^9$ cells per mL | | | |
| **Vehicles: Test Article:** DMSO **Positive Controls:** DMSO, except sterile water for sodium azide | | | | | | |
| **Treatment:** Plate incorporation | | | **Date of Treatment:** [redacted]20[redacted] | | | |
| **Cytotoxic Effects:** None | | | | | | |
| **Genotoxic Effects:** None | | | | | | |
| | | | **Revertant Colony Counts (Mean ± SD)** | | | |
| | | | **Strain** | | | |
| **Metabolic Activation** | **Test Article** | **Dose (µg/plate)** | **TA98** | **TA100** | **TA1535** | **TA1537** | **WP2*uvrA*** |
| Without Activation | DMSO | 100 µL/plate | 17 ± 3 | 81 ± 1 | 16 ± 3 | 8 ± 2 | 23 ± 5 |
| | Pirtobrutinib | 33.3 | 16 ± 1 | 84 ± 3 | 19 ± 3 | 8 ± 0 | 26 ± 1 |
| | | 100 | 16 ± 3 | 86 ± 4 | 16 ± 2 | 10 ± 1 | 22 ± 4 |
| | | 333 | 15 ± 2 | 84 ± 4 | 19 ± 3 | 6 ± 1 | 21 ± 7 |
| | | 1000 | 15 ± 1 | 83 ± 6 | 14 ± 1 | 7 ± 0 | 19 ± 5 |
| | | 3333 | 15 ± 1 | 80 ± 7 | 13 ± 3 | 8 ± 1 | 23 ± 3 |
| | | 5000[p] | 14 ± 1 | 77 ± 4 | 15 ± 0 | 9 ± 1 | 22 ± 1 |
| | 2NF | 1.00 | 65 ± 8 | | | | |
| | SA | 1.00 | | 526 ± 38 | 429 ± 4 | | |
| | 9AAD | 75.0 | | | | 687 ± 152 | |
| | MMS | 1000 | | | | | 307 ± 18 |

## Table 2.6.7.8A: Bacterial Reverse Mutation (Ames) Assay (Contd)

| **Study Title:** Bacterial Reverse Mutation Assay | | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-009 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Metabolic Activation** | **Test Article** | **Dose (µg/plate)** | **Revertant Colony Counts (Mean ± SD)** | | | | |
| | | | **Strain** | | | | |
| | | | **TA98** | **TA100** | **TA1535** | **TA1537** | **WP2*uvrA*** |
| With Activation | DMSO | 100 µL/plate | 23 ± 3 | 96 ± 18 | 10 ± 3 | 6 ± 1 | 25 ± 4 |
| | Pirtobrutinib | 33.3 | 26 ± 1 | 80 ± 2 | 13 ± 2 | 8 ± 1 | 22 ± 4 |
| | | 100 | 26 ± 2 | 76 ± 5 | 9 ± 1 | 7 ± 1 | 22 ± 7 |
| | | 333 | 24 ± 1 | 78 ± 12 | 8 ± 0 | 6 ± 0 | 25 ± 1 |
| | | 1000 | 25 ± 1 | 101 ± 12 | 8 ± 2 | 9 ± 0 | 24 ± 4 |
| | | 3333 | 26 ± 3 | 108 ± 1 | 12 ± 1 | 7 ± 0 | 23 ± 2 |
| | | 5000 | 24 ± 3 [P] | 103 ± 8 [P] | 12 ± 3 [P] | 8 ± 0 [P] | 27 ± 5 |
| | 2AA | 1.00 | 226 ± 14 | | 62 ± 7 | | |
| | 2AA | 2.00 | | 710 ± 73 | | 52 ± 2 | |
| | 2AA | 15.0 | | | | | 295 ± 50 |

Abbreviations: DMSO = dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; SD = standard deviation

| Key to Positive Controls | |
|---|---|
| SA | sodium azide |
| 2AA | 2-aminoanthracene |
| 9AAD | 9-Aminoacridine |
| 2NF | 2-nitrofluorene |
| MMS | methyl methanesulfonate |
| [P] | precipitate |

## Table 2.6.7.8B: Micronucleus Study in CHO Cells

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** In vitro Microwell Micronucleus Screening Assay in Chinese Hamster Ovary Cells | | **Report No**. LOXO-305-TOX-013 |
| **Test for Induction of:** Micronuclei | **No. of Independent Assays:** 2 | **Study No**. 328-0006-GT |
| **Strains:** CHO-WBL | **No. of Replicate Cultures:** 2 | **GLP Compliance:** No |
| **Metabolizing System:** Aroclor™-induced rat liver S9 | **No. of Cells Analyzed/Cultured:** 6 x $10^3$ | **Date of Treatment:** [redacted]20[redacted] |
| **Vehicles: for Test Article:** DMSO | **for Positive Controls:** Water (CP, MMC) | |
| **Treatment:** 24 hours without metabolic activation (-S9), 3 hours with and without metabolic activation (±S9) | | |
| **Cytotoxic Effects:** In the micronucleus assay, cytotoxicity (> 50% cytotoxicity relative to the vehicle control) was observed at doses > 130 µg/mL in both the S9-non-activated and activated 3-hour exposure groups; at doses > 5 µg/mL in the non-activated 24-hour exposure group. | | |
| **Genotoxic Effects:** None. In the non-activated 24-hour treatment series, a significant increase in the frequency of MN-BN cells was observed at 5 µg/mL (micronucleus frequency was 2.01%) and a dose-related increase in micronucleus frequency was identified by Cochran-Armitage analysis ($p \leq 0.05$). However, the increase was within the range of the historical negative control data (0.72% to 2.05%). Thus, the significant increase and the dose-related increase in the frequency of MN-BN cells were considered not to be of biological relevance. | | |

| Treatment/Metabolic Activation | Test Article | Dose µg/mL | CBPI | Cytotoxicity[a] (% of Control) | Percentage of MN-BN Cells Per Total BN Cells Counted |
|---|---|---|---|---|---|
| **3-hr Treatment /Without Activation** | DMSO | 0 | 1.95 | 0 | 0.98 |
| | Pirtobrutinib | 30 | 2.00 | -5 | 1.00 |
| | | 70 | 1.75 | 21 | 1.21 |
| | | 130 | 1.57 | 41 | 1.30 |
| | MMC | 0.3 | 1.68 | 28 | 26.66* |
| **24-hr Treatment /Without Activation** | DMSO | 0 | 1.92 | 0 | 1.18 |
| | Pirtobrutinib | 0.5 | 1.94 | -1 | 1.39 |
| | | 1 | 1.90 | 3 | 1.06 |
| | | 2 | 1.82 | 11 | 1.53 |
| | | 5 | 1.58 | 38 | 2.01* |
| | MMC | 0.1 | 1.66 | 29 | 23.2* |

## Table 2.6.7.8B　Micronucleus Study in CHO Cells (Contd)

| **Report Title:** In vitro Microwell Micronucleus Screening Assay in Chinese Hamster Ovary Cells | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-013 | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Treatment/Metabolic Activation** | **Test Article** | **Dose µg/mL** | **CBPI** | **Cytotoxicity[a] (% of Control)** | **Percentage of MN-BN Cells Per Total BN Cells Counted** |
| **3-hr Treatment /With Activation** | DMSO | 0 | 1.96 | 0 | 0.93 |
| | Pirtobrutinib | 20 | 1.95 | 0 | 1.07 |
| | | 30 | 1.92 | 4 | 1.23 |
| | | 50 | 1.82 | 14 | 1.34 |
| | | 100 | 1.68 | 30 | 1.50 |
| | | 130 | 1.51 | 47 | 1.54 |
| | CP | 5 | 1.64 | 33 | 17.4* |

Abbreviations: CHO = Chinese Hamster Ovary; CBPI = Cytokinesis-Block Proliferation Index; GLP = good laboratory practices; MN-BN = Bi-nucleated cells with micronuclei; BN = Bi-nucleated cells DMSO = Dimethylsulfoxide; CP = Cyclophosphamide monohydrate; MMC = Mitomycin C

* = Fisher's Exact Test: statistical significance $p \leq 0.05$

a = relative to vehicle control

## Table 2.6.7.8C: Micronucleus Study in HPBL Cells

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** In vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL) | | **Report No.** LOXO-305-TOX-010 |
| **Test for Induction of:** Micronuclei | **No. of Independent Assays:** 1 | **BioReliance Study No.:** AF20TU.348ICH.BTL |
| **Strains:** Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL) | **No. of Replicate Cultures:** 2 | **GLP Compliance:** Yes |
| **Metabolizing System:** Aroclor™-induced rat liver S9 | **No. of Cells Analyzed/Cultured:** 1000 | **Date of Treatment:** [redacted]20[redacted] (Micronucleus Assay) |
| **Vehicles: for Test Article:** DMSO | **for Positive Controls**: Sterile Distilled Water (CP, VB) | |
| **Treatment:** 24 hr without S9; 4 hr with 20 hr recovery period with and without S9 | | |
| **Cytotoxic Effects:** In the micronucleus assay, cytotoxicity (≥ 45% CBPI relative to the vehicle control) was observed at doses ≥ 150 µg/mL in the non-activated 4-hour exposure group; at doses ≥ 225 µg/mL in the S9-activated 4-hour exposure group; and at doses ≥ 16 µg/mL in the non-activated 24-hour exposure group. | | |
| **Genotoxic Effects:** Positive for the induction of micronuclei in the non-activated and S9-activated test systems. | | |

| Metabolic Activation | Test Article | Dose µg/mL | CBPI | Cytotoxicity[a] (% of Control) | Percentage of MNBN Cells Per Total BN Cells Counted |
|---|---|---|---|---|---|
| **24-hr reatment /Without Activation** | DMSO | NA | 1.786 | NA | 0.35 |
| | Pirtobrutinib | 5 | 1.721 | 8 | 1.45** |
| | Pirtobrutinib | 12 | 1.625 | 21 | 3.95** |
| | Pirtobrutinib | 16 | 1.351 | 55 | 3.65** |
| | VB | 10 ng/mL | 1.392 | 50 | 3.80** |
| | | | | | |
| **4-hr Treatment /Without Activation** | DMSO | NA | 1.735 | NA | 0.40 |
| | Pirtobrutinib | 50 | 1.769 | -5 | 0.85* |
| | Pirtobrutinib | 120 | 1.609 | 17 | 1.25** |
| | Pirtobrutinib | 150 | 1.403 | 45 | 3.50** |

## Table 2.6.7.8C: Micronucleus Study in HPBL Cells (Contd)

| **Report Title:** In vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL) | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-010 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Treatment/ Metabolic Activation** | **Test Article** | **Dose µg/mL** | **CBPI** | **Cytotoxicity[a] (% of Control)** | **Percentage of MNBN Cells Per Total BN Cells Counted** |
| **4-hr Treatment /With Activation** | DMSO | NA | 1.716 | NA | 0.50 |
| | Pirtobrutinib | 50 | 1.646 | 10 | 0.55 |
| | Pirtobrutinib | 100 | 1.573 | 20 | 1.20** |
| | Pirtobrutinib | 225 | 1.387 | 46 | 3.30** |
| | CP | 5 | 1.431 | 40 | 1.60** |

Abbreviations: BN = binucleated cell; CBPI = cytokinesis-blocked proliferation index, DMSO = Dimethyl sulfoxide; CP = Cyclophosphamide; GLP = good laboratory practices; MNBN = micronucleated binucleated cells; NA = Not Applicable; VB = Vinblastine

Fisher's Exact Test: * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$.

a Relative to vehicle control

## Table 2.6.7.8D: Micronucleus Study with Centromere Staining in HPBL Cells

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** LOXO-305: In Vitro Human Lymphocyte Micronucleus Assay with Mechanistic Fluorescent in situ Hybridisation (FISH) Analysis of Micronuclei | | **Report No.** LOXO-305-TOX-014 |
| **Test for Induction of:** Micronuclei | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** 8394548 |
| **Strains:** Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL) | **No. of Replicate Cultures:** 2 (4 for vehicle control) | **GLP Compliance:** Yes |
| **Metabolizing System:** None | **No. of Cells Analyzed:** ≥ 500/replicate culture | **Treatment Start Date:** [redacted]20[redacted] |
| **Vehicle for Test Article:** DMSO | **Vehicles for Positive Controls**: Purified water for MMC; DMSO for NOS | |
| **Treatment:** 24 hours without S9 | | |
| **Cytotoxic Effects:** Cytotoxicity ≥ 54% CBPI relative to the vehicle control was observed at doses ≥ 16 µg/mL. | | |
| **Genotoxic Effects:** Positive for the induction of centromere postive micronuclei . | | |

| Treatment /Metabolic Activation | Test Article | Concentraton (µg/mL) | CBPI | Cytotoxicity (%) | Mean MNBN Cell Frequency (%) | Centromere Positive (%) | Centromere Negative (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **24-hr Continuous Treatment /Without Activation** | Vehicle: DMSO | 0 | 2.11 | - | 0.40 | Not analyzed | Not analyzed |
| | Pirtobrutinib | 1.25 | 2.14 | 0 | 0.35 | Not analyzed | Not analyzed |
| | Pirtobrutinib | 2.5 | 2.07 | 3 | 0.65 | Not analyzed | Not analyzed |
| | Pirtobrutinib | 5.0 | 2.06 | 5 | 0.40 | Not analyzed | Not analyzed |
| | Pirtobrutinib | 12 | 1.79 | 29 | 4.7* | 67 | 33 |
| | Pirtobrutinib | 16 | 1.51 | 54 | 10* | 79 | 21 |
| | Positive control: MMC[a] | 0.20 | 1.81 | 27 | 10* | 15 | 85 |
| | Positive control: NOS[b] | 30 | 1.80 | 28 | 4.0* | 73 | 27 |

Abbreviations: CBPI = cytokinesis block proliferation index; DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = good laboratory practices; MNBN = micronucleated binucleated; MMC = mitomycin C; NOS = noscapine.

* Fisher's Exact Test: $p \leq 0.001$.

a Clastogen reference compound

b Aneugen reference compound

## 2.6.7.9 Genotoxicity: In Vivo

### Table 2.6.7.9: Micronucleus Study in Rat Bone Marrow

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Report Title:** *In Vivo* Mammalian Erythrocyte Micronucleus Assay in Rats | | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-016 | |
| **Test for Induction of:** | Micronuclei | **Treatment Schedule:** | Single dose | | | | **Study No.** AF20TU.125012ICH.BTL | |
| **Species/Strains:** | Rat / Sprague Dawley | **Sampling Time:** | 24 and 48 hours after dosing | | | | | |
| **Age** | 7 weeks | **Method of Administration:** | Oral gavage | | | | | |
| **Cells Evaluated:** | Erythrocytes | **Vehicle/Formulation** | 0.5% HPMC in DI water | | | | **GLP Compliance:** Yes | |
| **No. of Cells Analyzed/Animal:** | 4000 PCE | | **Final Report Date:** | | | | [redacted]20[redacted] | |
| **Special Features:** | None | | | | | | | |
| **Dose (mg/kg)** | 250 | | 500 | | 1000 | | 2000 | |
| **Sex** | M | F | M | F | M | F | M | F |
| **Number of TK Animals/Timepoint** | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| **Composite Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| **$AUC_{0-24}$ (ng·h/mL)** | 33500 | 218000 | 30700 | 290000 | 29500 | 253000 | 49600 | 360000 |
| **$AUC_{0-48}$ (ng·h/mL)** | 37400 | 325000 | 34500 | 406000 | 34800 | 314000 | 57100 | 560000 |
| **$C_{max}$ (ng/mL)** | 2780 | 14600 | 1980 | 17400 | 2990 | 16400 | 3620 | 25900 |
| **$T_{max}$ (h)** | 3.0 | 3.0 | 3.0 | 3.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 |
| **Toxic/Cytotoxic Effects:** | Piloerection at ≥ 500 mg/kg | | | | | | | |
| **Genotoxic Effects:** | None | | | | | | **Number of** | |

| Test Article | Sex | Time (h) | Dose (mg/kg) | No. of Animals | PCE (%) | Toxicity (%) | MnPCE (%) | MnPCE | PCE Scored |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vehicle | M | 24 | 0 | 6 | 67 | | 0.10 | 23 | 24000 |
| Vehicle | F | 24 | 0 | 6 | 62 | | 0.10 | 24 | 24000 |
| Pirtobrutinib | M | 24 | 250 | 6 | 61 | -9 | 0.10 | 24 | 24000 |
| Pirtobrutinib | F | 24 | 250 | 6 | 59 | -5 | 0.09 | 21 | 24000 |

## Table 2.6.7.9: Micronucleus Study in Rat Bone Marrow (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title**: In Vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Assay in Rats | | | | | | **Report No.** LOXO-305-TOX-016 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | **Number of** | |
| **Test Article** | **Sex** | **Time (h)** | **Dose (mg/kg)** | **No. of Animals** | **PCE (%)** | **Toxicity (%)** | **MnPCE (%)** | **MnPCE** | **PCE Scored** |
| Pirtobrutinib | M | 24 | 500 | 6 | 60 | -11 | 0.09 | 21 | 24000 |
| Pirtobrutinib | F | 24 | 500 | 6 | 62 | -1 | 0.09 | 21 | 24000 |
| Pirtobrutinib | M | 24 | 1000 | 6 | 64 | -4 | 0.12 | 29 | 24000 |
| Pirtobrutinib | F | 24 | 1000 | 6 | 62 | -1 | 0.09 | 20 | 24000 |
| Pirtobrutinib | M | 24 | 2000 | 6 | 56 | -16 | 0.10 | 23 | 24000 |
| Pirtobrutinib | F | 24 | 2000 | 6 | 61 | -2 | 0.10 | 23 | 24000 |
| CP | M | 24 | 40 | 5 | 30* | -56 | 4.0** | 791 | 20000 |
| Vehicle | M | 48 | 0 | 6 | 64 | | 0.09 | 20 | 24000 |
| Vehicle | F | 48 | 0 | 6 | 66 | | 0.11 | 26 | 24000 |
| Pirtobrutinib | M | 48 | 2000 | 6 | 66 | 3 | 0.08 | 18 | 24000 |
| Pirtobrutinib | F | 48 | 2000 | 6 | 64 | -2 | 0.13 | 31 | 24000 |

Abbreviations: DI = deionized; F = female; GLP = good laboratory practices; HPMC = hydroxypropyl methylcellulose; M = male; MnPCE = micronucleated PCE; PCE = polychromatic erythrocytes

* $p < 0.01$, T-Test

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

### 2.6.7.10　Carcinogenicity

No studies conducted

### 2.6.7.11　Reproductive and Developmental Toxicity – Nonpivotal Studies

No studies conducted

### 2.6.7.12　Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic Development to Implantation

No studies conducted

## 2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity – Embryofetal Development

### Table 2.6.7.13: Rat Enhanced Pilot Embryofetal Development Study

**Test Article: Pirtobrutinib**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Report Title:** An Enhanced Pilot Embryo-fetal Development Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | **Report Number:** LOXO-305-TOX-019 | |
| **Design similar to ICH 4.1.3?** Yes, but with ICH M3 (R2) group sizes | **Duration of Dosing:** Day 6 to 17 postcoitum | | | **Study No.** 9001531 | |
| | **Day of Mating:** Day 0 post-coitum | | | | |
| **Species/Strain:** Rat/Sprague Dawley Crl:CD(SD) | **Day of C-Section:** Day 21 post-coitum | | | | |
| **Initial Age:** 11 to 12 weeks | **Method of Administration:** Twice daily oral gavage (12 hours apart +/-1 hour) | | | | |
| **Date of First Dose:** [redacted]20[redacted] | **Vehicle/Formulation:** 0.5% (w/v) hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) in ultra-pure water | | | | |
| **Special Features:** None | | | | **GLP Compliance:** Yes | |
| **No Observed Adverse Effect Level:** | | | | | |
| **$F_0$ Females:** | 1000 mg/kg/day | | | | |
| **$F_1$ Litters:** | 150 mg/kg/day | | | | |
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | 25 | 75 | 375 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | 50 | 150 | 750 | 1000 |
| **Females** Toxicokinetics | | | | | |
| TK Animals/Group | 4 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Day 6 post-coitum | | | | | |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | 3870 ± 273 | 7270 ± 1000 | 16700 ± 1960 | 19700 ± 4190 |
| $AUC_{0-24}$ ± SE (ng·h/mL) | NA | 60400 ± 2710 | 106000 ± 7690 | 252000 ± 13300 | 315000 ± 27800 |
| $T_{max}$ (h) | NA | 13 | 16 | 13 | 13 |
| Day 17 post-coitum | | | | | |
| $C_{max}$ ± SD (ng/mL) | NA | 2360 ± 578 | 7030 ± 2450 | 15900 ± 1110 | 21600 ± 4600 |
| $AUC_{0-24}$ ± SE (ng·h/mL) | NA | 40200 ± 2680 | 106000 ± 9650 | 272000 ± 12500 | 331000 ± 27100 |
| $T_{max}$ (h) | NA | 13 | 16 | 16 | 16 |

## Table 2.6.7.13: Rat Enhanced Pilot Embryofetal Development Study (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** An Enhanced Pilot Embryo-fetal Development Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | **Report Number:** LOXO-305-TOX-019 | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | 25 | 75 | 375 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | 50 | 150 | 750 | 1000 |
| **Females (continued)** | | | | | |
| No. Pregnant | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| No. Died or Sacrificed Moribund | 1[a] | 0 | 0 | 0 | 0 |
| No. with Total Resorption of Litter | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Clinical Observations | - | - | - | - | - |
| Necropsy Observations | - | - | - | - | - |
| Body Weight (%[b]) | | | | | |
| Day 6 postcoitum | 296.3 g | -1.9 | 0.0 | -4.0 | 0.3 |
| Day 21 postcoitum | 470.7 g | -2.5 | -0.4 | -6.2 | -2.3 |
| Food Consumption (%[b]) | | | | | |
| Day 6 to 21 postcoitum | 27.75 g/day | -5.3 | 0.9 | -5.8 | -2.2 |
| Mean No. Corpora Lutea | 14.6 | 16.7 | 14.4 | 15.5 | 16.5/17.0[* c] |
| Mean No. Implantations | 14.0 | 15.4 | 13.6 | 14.5 | 15.2/15.6[c] |
| Mean % Preimplantation Loss | 3.81 | 7.09 | 5.27 | 6.15 | 7.64/8.48[c] |
| **Litters** No. Litters Evaluated | 9 | 10 | 10 | 10 | 10/9[c] |
| Mean No. Live Fetuses | 13.3 | 14.2 | 13.3 | 13.6 | 13.3/14.8[c] |
| Mean No. Resorptions | 0.7 | 1.2 | 0.3 | 0.9 | 1.9/0.8[c] |
| Mean No.Early Resorptions | 0.7 | 1.2 | 0.3 | 0.8 | 1.6 |
| Mean No. Late Resorptions | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 0.3 |
| No. Litters with Dead Fetuses | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mean % Postimplantation Loss | 4.86 | 8.09 | 2.11 | 6.24 | 15.14/5.72[c] |
| Mean Fetal Weight (g)[d] | 6.33 | 5.96 | 6.28 | 5.78 ** | 5.54 ** |
| Fetal Sex Ratios (% males) | 48.87 | 49.74 | 49.55 | 44.78 | 56.49 |
| Fetal Malformations[e] | | | | | |
| External | - | - | - | - | - |
| Visceral | | | | | |
| Kidney, Absent | 0 | 0 | 0 | 0 | 10.21* (33.3) |
| Kidney, Malpositioned | 0 | 0 | 0 | 3.10 (20.0) | 0 |
| Kidney, Misshapen | 0 | 0 | 0 | 3.10 (20.0) | 1.59 (11.1) |
| Kidney, Small | 0 | 0 | 0 | 3.10 (20.0) | 1.59 (11.1) |
| Ureter, Absent | 0 | 0 | 0 | 0 | 10.21*(33.3) |

## Table 2.6.7.13: Rat Enhanced Pilot Embryofetal Development Study (Contd)

**Test Article: Pirtobrutinib**

| **Report Title:** An Enhanced Pilot Embryo-fetal Development Study of LY3527727 Administered by Oral Gavage Twice Daily to Rats | | | | **Report Number:** LOXO-305-TOX-019 | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (mg/kg BID)** | 0 (Control) | 25 | 75 | 375 | 500 |
| **Dose (mg/kg/day)** | 0 (Control) | 50 | 150 | 750 | 1000 |
| Ovary, Malpositioned | 0 | 0 | 0 | 0 | 5.64 (22.2) |
| Uterus, Misshapen | 0 | 0 | 0 | 0 | 5.64 (22.2) |
| Skeletal | - | - | - | - | - |
| Fetal Variations | | | | | |
| External | - | - | - | - | - |
| Visceral[e] | | | | | |
| Ureter, Dilatation, Severe | 6.48 (22.2) | 0 | 0 | 17.68 (40.0) | 22.75 (55.6) |
| Kidney, Renal papilla, Absent | 0 | 0 | 0 | 1.67 (10.0) | 1.59 (11.1) |
| Kidney, Renal papilla, Small | | | | | |
| Severe | 0 | 0 | 0 | 4.76 (20.0) | 7.54 (33.3) |
| Skeletal | | | | | |
| Sternebra, Misshapen | 0 | 1.25 (10.0) | 1.43 (10.0) | 0 | 5.64* (44.4) |
| Lumbar arch, Isolated ossification site | 14.09 (44.4) | 15.62 (70.0) | 15.48 (60.0) | 37.08 (80.0) | 37.37* (88.9) |

Abbreviations: - No noteworthy findings; $AUC_{0-24}$ = The area under the concentration versus time curve from 0 to 24 hours post first daily dose; BID = twice daily; $C_{max}$ = maximum concentration; GLP = good laboratory practices; M = male; NA = not applicable; SD = standard deviation; SE = standard error; $T_{max}$ = time after dosing at which the maximum observed concentration was observed; * = $p \leq 0.05$ (Kruskal-Wallis & Dunn); ** = $p \leq 0.01$ (Dunnett's test)

[a] Control female No. 1506 was euthanized preterminally on Day 14 pc with clinical findings indicative of a broken bone. Macroscopic findings were noted in the left tibiotarsal joint (enlargement) which correlated to the clinical observations of swollen and firm left hindpaw and adrenal gland (enlargement), spleen (adhesion, pale foci and enlargement) and liver (pale foci) which were considered incidental based on their nature and sporadic occurrence.

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

[c] Including/Excluding animals with only nonviable implantations

[d] Combined (male and female) fetal weight

[e] Percentage of fetuses affected (percentage of litter affected)

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

No studies conducted

### 2.6.7.15　Studies in Juvenile Animals

No studies conducted

### 2.6.7.16　Local Tolerance

No studies conducted

## 2.6.7.17　Other Toxicity Studies

### Table 2.6.7.17A:　Other Toxicity Studies with Pirtobrutinib

| Study Type | Species/ Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Concentrations/Doses | Sex and No. per Group | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Phototoxicity | BALB/c mouse 3T3 fibroblasts | In vitro | NA | 0.10, 0.316, 1.00, 3.16, 10.0, 31.6, 100, 178 µg/mL | NA | LOXO-305-TOX-005 |
| **Noteworthy Findings**: Pirtobrutinib did not have phototoxic potential. | | | | | | |
| Repeat-dose impurity qualification study | Rat/Sprague Dawley | Oral gavage | 2 weeks | 0, 300 mg/kg BID ([redacted]), 300 mg/kg BID with impurities [redacted] | Males and Females 10/sex | LOXO-305-TOX-020 |
| **Noteworthy Findings:**<br>No adverse effects at 300 mg/kg BID<br>No differences between lot of pirtbrutinib containing impurities ([redacted]) and lot without impurities ([redacted]).<br>No new findings compared to previous rat repeat-dose studies of pirtobrutinib | | | | | | |

Abbreviations: BID = twice daily; NA = not applicable; NOAEL = no observed adverse effect level.

## Table 2.6.7.17B: Other Toxicity Studies with Impurities

| Study Type | Test System | Method of Administration | Test Article | Noteworthy Findings | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | [redacted] | Negative | AG22LN.502E.BTL |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | [redacted] | Negative | AG18ZL.502E.BTL |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | ＊化合物B | Negative | AG22LM.502E.BTL |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | [redacted] | Negative | AG34KC.502E.BTL |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | [redacted] | Negative | AG22LP.502E.BTL |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | [redacted] | Negative | AG13AC.502E.BTL |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | [redacted] | Negative | AG29ZD.502E.BTL |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | ＊不純物B | Negative | AG54MP.502E.BTL |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | ＊化合物A | Negative | USA-R-20079 |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | [redacted] | Negative | USA-R-20080 |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | ＊不純物C | Negative | 00353562 |
| Bacterial Reverse Mutation (Ames) Study | *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli* WP2 *uvr*A | In vitro | [redacted] | Negative | 00353566 |



＊新薬承認情報提供時に置き換え