目次

略号一覧表 3
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.2.1 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの単回経口投与毒性試験（[redacted]49AD1 試験） 9
2.6.6.2.2 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの単回経口投与毒性試験（[redacted]49AD2 試験） 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験 10
2.6.6.3.1 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 4 週間経口投与反復投与及び 4 週間回復試験（[redacted]49RD1 試験） 10
2.6.6.3.2 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（8426159 試験） 12
2.6.6.3.3 SpragueDawley ラットを用いたフルキンチニブの 26 週間 反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（[redacted]54RD1 試験） 15
2.6.6.3.4 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 4 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（[redacted]49RD2 試験） 17
2.6.6.3.5 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（8449374 試験） 19
2.6.6.3.6 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 39 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（[redacted]54RD2 試験） 20
2.6.6.4 遺伝毒性試験 22
2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（8456880 試験） 22
2.6.6.4.2 In vitro チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験 （8456884 試験） 23
2.6.6.4.3 ラットを用いた小核試験及びコメットアッセイ（8456891 試験） 24
2.6.6.5 がん原性試験 26
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 26
2.6.6.6.1 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（[redacted]54RA1 試験） 26
2.6.6.6.2 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの胚・胎児発生に関する強制 経口投与用量設定試験（トキシコキネティクスを含む）（8449386 試験） 28
2.6.6.6.3 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験（トキシコキネティクスを含む）（8449387 試験） 29
2.6.6.7 局所刺激性試験 30
2.6.6.8 その他の毒性試験 31
2.6.6.8.1 不純物に関する試験 31
2.6.6.8.2 モルモットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による光毒性試験（[redacted]186PT02 試験） 31

2.6.6.9 考察及び結論 32
2.6.6.9.1 非臨床毒性試験 32
2.6.6.9.2 曝露量比 33
2.6.6.10 参考文献一覧 36

表

表 2.6.6.1-1 フルキンチニブの毒性試験一覧 8
表 2.6.6.2-1 フルキンチニブのラットにおける単回経口投与毒性試験の試験デザイン 9
表 2.6.6.2-2 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの単回経口投与毒性試験の試験デザイン 9
表 2.6.6.3-1 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 4 週間経口投与 反復投与毒性試験及び 4 週間回復試験の試験デザイン 10
表 2.6.6.3-2 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 13 週間反復強制経口投与 及び 4 週間回復試験デザイン 12
表 2.6.6.3-3 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 26 週間反復強制経口投与 及び 4 週間回復試験の試験デザイン 15
表 2.6.6.3-4 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 4 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験の試験デザイン 18
表 2.6.6.3-5 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験の試験デザイン 19
表 2.6.6.3-6 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 39 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験の試験デザイン 21
表 2.6.6.4-1 細菌を用いた復帰突然変異試験の試験デザイン 23
表 2.6.6.4-2 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた in vitro 染色体異常試験の 試験デザイン 24
表 2.6.6.4-3 ラットを用いた小核試験及びコメットアッセイの試験デザイン 25
表 2.6.6.6-1 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の試験デザイン 27
表 2.6.6.6-2 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの胚・胎児発生に関する強制経口投与用量設定試験の試験デザイン 28
表 2.6.6.6-3 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験の試験デザイン 29
表 2.6.6.8-1 モルモットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による光毒性試験の試験デザイン 31
表 2.6.6.9-1 臨床用量（5 mg）におけるフルキンチニブの曝露マージン 34
表 2.6.6.9-2 臨床用量（5 mg）における M11 の曝露マージン 35

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
	英語	日本語
A/G	albumin/globulin ratio	アルブミン／グロブリン比
ALB	albumin	アルブミン
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{24}	area under the concentration-versus-time curve from time 0 to time 24 hours.	投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BUN	blood urea nitrogen	血中尿素窒素
CFDA	China Food and Drug Administration	中国食品医薬品局
CHL	Chinese hamster lung	チャイニーズハムスター肺
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CHOL	cholesterol	コレステロール
C_{max}	maximum observed concentration	最高血漿中濃度
CMC-Na	sodium carboxymethylcellulose	カルボキシメチルセルロースナトリウム
CREA	creatinine	クレアチニン
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
ECG	electrocardiogram	心電図
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HB	hemoglobin	ヘモグロビン
HNSTD	highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
ICH	International Council for Harmonization	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
LOAEL	Lowest-Observed-Adverse-Effect Level	最小毒性量
LYM%	lymphocyte percentage	リンパ球百分率
MHRA	Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency	英国医薬品庁
MNPCE	micronucleated PCE	小核を有する多染性赤血球
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NMPA	National Medical Products Administration	中国国家医薬品局
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level	無毒性量
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PCE	polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PLT	platelets	血小板
S9	9000×g supernatant of liver homogenate	ラット肝代謝活性化系
STD_{10}	severely toxic dose in 10% of the animals	供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する投与量
TBIL	total bilirubin	総ビリルビン
TG	triglycerides	トリグリセリド
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
TP	total protein	総蛋白
TTC	threshold of toxicological concern	毒性学的懸念の閾値
US FDA	United States Food and Drug Administration	米国食品医薬品局

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明	
	英語	日本語
VEGFR	vascular endothelial growth factor receptor	血管内皮増殖因子受容体
%Tail Intensity	-	細胞全体の輝度に対する尾部（DNA 鎖切断部分）の DNA 割合

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

フルキンチニブ（HMPL-013/TAK-113）は、血管内皮増殖因子受容体（VEGFR）-1、-2 及び-3 に対して高い選択性を示す強力なチロシンキナーゼ阻害剤である。VEGFR を介した血管内皮増殖因子（VEGF）によるシグナル伝達は、腫瘍血管新生及び腫瘍増殖において重要な役割を果たし、VEGF シグナル伝達経路は結腸・直腸癌を含む抗癌治療標的として広く認められている。フルキンチニブは現在、結腸・直腸癌、胃癌、子宮内膜癌及び乳癌を含む多数の固形癌を対象として開発中である。

フルキンチニブの臨床推奨用法・用量は 5 mg を 1 日 1 回、3 週間経口投与／1 週間休薬の 28 日間の投与サイクルである。フルキンチニブの予定する適応は、転移性結腸・直腸癌患者の治療である。

フルキンチニブは進行癌の治療を目的としているため、非臨床開発プログラムは日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）S9 ガイダンス（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン）及び ICH S9 に関する質疑応答集に従ってデザインした。

フルキンチニブの毒性試験として、ラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験（それぞれ最長 26 週間及び最長 39 週間）、一連の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する毒性試験、ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験、並びにモルモットを用いた光毒性評価を実施した（表 2.6.6.1-1）。これらの試験は、中国、米国又は英国において、米国食品医薬品局（US FDA）、中国国家医薬品局〔NMPA、旧称：中国食品医薬品局（CFDA）〕、経済協力開発機構（OECD）及び／又は英国医薬品庁（MHRA）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。

NMPA GLP 規則に従って実施した in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験並びに胚・胎児発生毒性試験を、US FDA、OECD 及び／又は MHRA の GLP 規則に従って再度実施し、これらの新たな試験の詳細を本申請資料に示した。

In vitro 及び in vivo 薬物代謝試験の結果から、ヒト肝ミクロソームで産生されるフルキンチニブの代謝物は、ラット肝、イヌ肝及びサル肝ミクロソームで認められるものと類似しており、ヒト特有の代謝物は特定されなかった（2.6.4.5）。したがって、毒性評価には Sprague Dawley ラット及びビーグル犬を選択した。これら動物種及び系統では、種々の医薬品に対する反応性及び多くの背景データが得られており、所見の評価及びヒトへの外挿性の評価に利用可能である。曝露マージンを確立するため、毒性試験ではフルキンチニブのトキシコキネティクス（TK）評価を実施した。ヒトの主代謝物である M11（HM5025423）の評価は、ラット及びイヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験、ラットを用いた胚･胎児発生に関する試験、in vivo 小核試験及びモルモットを用いた光毒性試験で実施した。

非臨床試験の投与経路は、ヒトで予定されている投与経路である経口投与を採用した。

本項に記載したすべての試験は、ヒトへの使用が予定されているフルキンチニブのフリー体（以下、フルキンチニブ）を用いて実施した。本概要に記載したすべての用量及び濃度は、フルキンチニブのフリー体として表す。

原薬の規格に、ICH Q3A(R2)に基づく安全性確認の必要な閾値である 0.15%を超える不純物はなかった（2.6.7.4、3.2.S.4）。さらに、フルキンチニブの合成に使用するすべての出発

物質、中間体及び試薬、並びに潜在的不純物について、[redacted] v.[redacted] 及び [redacted] v.[redacted] の両バージョンを用いて、遺伝毒性の可能性を ICH M7(R1)に従って評価した。特定されたすべての潜在的な遺伝毒性不純物は、パージデータ及び／又はパージファクター評価に基づき、ICH M7(R1)に従って毒性学的懸念の閾値（TTC）に基づく許容摂取量を下回るレベルまで製造工程で効果的に除去されている（3.2.S.2.6）。そのため、患者集団（進行がん）及び予想投与期間が 3～4 ヵ月であることに基づいて、ICH S9 に準拠し、規格の裏付けとなる追加評価は実施しなかった。

フルキンチニブの開発を裏付けるために実施した毒性試験で得られた所見を以下に要約する。また、毒性試験の所見の総合的な評価を 2.6.6.9 に、実施した試験の一覧を表 2.6.6.1-1 に、詳細な所見を毒性試験概要表（2.6.7）に示す。

一般毒性

・単回経口投与後の最大耐量（MTD）は、Sprague Dawley ラットで 2000 mg/kg、ビーグル犬で 1000 mg/kg であった。ラット及びイヌのいずれにおいても消化管への作用として下痢、ラットでは胆管拡張及び胃及び十二指腸の出血、イヌでは血便が認められた。また、活動低下及び摂餌量減少（イヌのみ）並びに平均体重及び／又は体重増加量の減少が認められた。

・ラット（4 週、13 週、26 週）及びイヌ（4 週、13 週、39 週）を用いた反復投与毒性試験を実施した。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験におけるフルキンチニブの毒性の主な標的臓器は、肝胆道系〔アルカリホスファターゼ（ALP）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、コレステロール（CHOL）及びトリグリセリド（TG）の増加、並びに肝細胞壊死／変性及び胆管過形成〕、腎臓〔血中尿素窒素（BUN）上昇、腎糸球体変性及び硝子円柱〕、消化管（下痢及び消化管出血）、副腎（うっ血及び出血）、免疫系（リンパ球減少、胸腺萎縮、脾臓萎縮、腸間膜リンパ節の肥満細胞浸潤）、ブルンナー腺の変性、壊死及び炎症、造血系（骨髄の造血細胞減少）及び骨格系（大腿骨骨端軟骨の肥厚及び切歯の破損／喪失）であった。これらの毒性変化は、一部の骨格系の変化（切歯の破損／喪失）を除き、いずれも休薬により回復又は回復傾向を示した。

・ラットを用いた反復投与毒性試験では、4 週間試験の無毒性量（NOAEL）は 2 mg/kg/日、13 週間試験の NOAEL は 0.3 mg/kg/日、供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する投与量（STD_{10}）は 1.2/2.4 mg/kg/日（投与 44 日から増量）、26 週間試験の最小毒性量（LOAEL）は 0.5/0.25 mg/kg/日（投与 50 日から減量）であった。イヌを用いた反復投与毒性試験では、4 及び 39 週間試験の NOAEL は 0.1 及び 0.03 mg/kg/日、13 週間試験の重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は 0.12 mg/kg/日であった。

遺伝毒性試験

・サルモネラ菌を用いた in vitro 復帰突然変異試験（代謝活性化系の存在下又は非存在下、TA98、TA100、TA102、TA1535 及び TA1537 株）、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（in vitro 代謝活性化系：存在下又は非存在下、3 若しくは 20 時間処理）及びコメットアッセイを含む in vivo ラット小核試験（0、500、1000 又は 2000 mg/kg/日を 3 日間反復投与）による遺伝毒性試験を実施し、その結果、フルキンチニブは遺伝毒性を示さなかった。

生殖発生毒性試験

・ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、雌雄の受胎能に影響は認められなかったが、吸収胚数及び着床後胚死亡率の増加、生存胎児数及び生存胎児率の低下が認められた。本試験における受胎能に対する NOAEL は、雄で 3 mg/kg/日、雌で 0.5 mg/kg/日、初期胚発生に対する NOAEL は 0.15 mg/kg/日と判断された。

・ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では、母体及び胎児に投薬に関連した影響が認められた。生存胎児数の減少、並びに発生毒性として、胎児の外表、内臓及び骨格異常が認められた。外表異常として、頭部及び尾部の奇形及び浮腫が、内臓検査では、血管系の位置異常又は欠損の奇形の増加が、骨格検査では、脊椎異常の増加並びに未骨化中手骨及び／又は指節骨などの変異の発生率の増加が認められた。母動物毒性及び胎児発生に関する NOAEL はそれぞれ 0.25 mg/kg/日及び 0.025 mg/kg/日であった。

光毒性試験

・フルキンチニブはモルモットを用いた光毒性試験で光毒性を示さなかった。

表 2.6.6.1-1　フルキンチニブの毒性試験一覧

試験の種類	系統	投与経路	投与量（mg/kg/日）	GLP	報告書番号	添付資料番号	区分
単回投与毒性試験							
ラット単回投与試験	Sprague Dawley	強制経口	0, 2000	適用 [a]	[redacted]49AD1	4.2.3.1-1	参考
イヌ単回投与試験	Beagle	強制経口	1000	適用 [a]	[redacted]49AD2	4.2.3.1-2	参考
反復投与毒性試験							
ラット 4 週及び 4 週回復試験	Sprague Dawley	強制経口	0, 2, 20, 60	適用 [a]	[redacted]49RD1	4.2.3.2-1	参考
ラット 13 週及び 4 週回復試験	Sprague Dawley	強制経口	0, 0.3, 0.6, 1.2/2.4 [b]	適用 [c]	8426159	4.2.3.2-2	評価
ラット 26 週及び 4 週回復試験	Sprague Dawley	強制経口	0, 0.5/0.25 [d], 1.5/0.75 [d], 5/3/1.5 [e], 10/6 [f]	適用 [a]	[redacted]54RD1	4.2.3.2-3	参考
イヌ 4 週及び 4 週回復試験	Beagle	カプセル経口	0, 0.03, 0.1, 0.3	適用 [a]	[redacted]49RD2	4.2.3.2-4	参考
イヌ 13 週及び 4 週回復試験	Beagle	カプセル経口	0, 0.03, 0.06, 0.12	適用 [c]	8449374	4.2.3.2-5	評価
イヌ 39 週及び 4 週回復試験	Beagle	カプセル経口	0, 0.01, 0.03, 0.1/0.06 [g], 0.2/0.12 [g]	適用 [a]	[redacted]54RD2	4.2.3.2-6	参考
遺伝毒性試験							
細菌を用いた復帰突然変異試験	*Salmonella typhimurium* [h]	In vitro	0, 5, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate, ± S9	適用	8456880	4.2.3.3.1-3	評価
CHO 細胞を用いた染色体異常試験	Chinese hamster ovary cells	In vitro	0, 10, 25, 40, 45, 50 µg/mL, 3 hours, - S9 0, 10, 30, 45, 50 µg/mL, 3 hours, + S9; 0, 2, 8, 20, 25 µg/mL, 20 hours, - S9	適用	8456884	4.2.3.3.1-4	評価
ラット小核試験及びコメットアッセイ	Sprague Dawley	強制経口	0, 500, 1000, 2000, 3 日間反復投与	適用	8456891	4.2.3.3.2-2	評価
生殖発生毒性試験							
ラット受胎能及び着床までの初期胚発生	Sprague Dawley	強制経口	雄：0, 0.3, 1, 3, 雌：0, 0.05, 0.15, 0.5	適用 [a]	[redacted]54RA1	4.2.3.5.1-1	参考
ラット胚・胎児発生用量設定試験	Sprague Dawley	強制経口	0, 0.05, 0.25, 1.25	非適用	8449386	4.2.3.5.2-2	参考
ラット胚・胎児発生試験	Sprague Dawley	強制経口	0, 0.025, 0.1, 0.25	適用	8449387	4.2.3.5.2-3	評価
その他毒性試験							
モルモット光毒性試験	Hartley	強制経口	0, 5, 25, 100 mg/kg, 単回投与	適用 [c]	[redacted]186PT02	4.2.3.7.7-1	参考

CHO：チャイニーズハムスター卵巣、GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、NMPA：中国国家医薬品局（中国食品医薬品局）、OECD：経済強力開発機構、S9：ラット肝代謝活性化系、US FDA：米国食品医薬品局。

a. NMPA GLP に準拠して中国において試験を実施した。US FDA 及び OECD GLP には準拠していない。
b. 投与 44 日以降、投与量を増量増量した。
c. US FDA、OECD 及び NMPA GLP に準拠して中国において試験を実施した。
d. 投与 50 日以降、投与量を減量した。
e. 投与 29 日及び投与 50 日以降、投与量を減量した。
f. 投与 29 日以降、投与量を減量した。
g. 投与 15 日以降投与量を減量した。
h. TA98, TA100, TA102, TA1535 及び TA1537 を用いて評価した。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの単回経口投与毒性試験（[redacted]49AD1 試験）

：添付資料番号 4.2.3.1-1（参考）

ラット（各群雌雄各 5 例）にフルキンチニブを単回強制経口投与したときの急性毒性を検討した。フルキンチニブを 0〔媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム（CMC-Na）〕又は 2000 mg/kg の用量（20 mL/kg）で投与した。投与後 6 時間にわたってラットの一般状態を詳細に観察し、その後は 1 日 2 回、14 日間観察した。また、体重測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。試験デザインを表 2.6.6.2-1 に示す。

表 2.6.6.2-1　フルキンチニブのラットにおける単回経口投与毒性試験の試験デザイン

群	投与量（mg/kg）	濃度（mg/mL）	例数（雄/雌）
1	0[a]	0	5/5
2	2000	100	5/5

出典：[redacted]49AD1 試験

[a] 対照群の投与媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム

観察期間中に死亡例は認められず、MTD は 2000 mg/kg であった。投薬に関連した所見は雄のみに認められ、投与 11 日以降に下痢、投与 7 及び 14 日に体重増加抑制若しくは体重減少が認められた。標的臓器は消化管であり、剖検では、胃粘膜側の赤色斑、胆管拡張、十二指腸拡張が認められ、対応する病理組織学的変化として、胃で多巣性出血及び粘膜うっ血、胆管で粘膜上皮細胞の過形成、壊死及び炎症性細胞浸潤、十二指腸で粘膜の多巣状出血及び／又はうっ血並びに多発性小巣状炎症性細胞浸潤が認められた。

2.6.6.2.2 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの単回経口投与毒性試験（[redacted]49AD2 試験）

：添付資料番号 4.2.3.1-2（参考）

ビーグル犬（1 群雌雄各 1 例）にフルキンチニブを単回強制経口投与したときの急性毒性を検討した。フルキンチニブ 1000 mg/kg（10 mL/kg）を投与した。投与後 6 時間にわたってイヌの一般状態を詳細に観察し、その後は 1 日 2 回、21 日間観察した。心電図（ECG）検査、血液学的検査、凝固系検査及び血液生化学検査を投与前及び投与 22 日に実施した。観察期間終了時に剖検を実施し、消化管の肉眼的病変について病理組織学的検査を実施した。試験デザインを表 2.6.6.2-2 に示す。

表 2.6.6.2-2　ビーグル犬を用いたフルキンチニブの単回経口投与毒性試験の試験デザイン

投与群	投与量（mg/kg）	濃度（mg/mL）	例数（雄/雌）
1	1000	100	1/1

出典：[redacted]49AD2 試験

観察期間中に死亡例は認められず、MTD は 1000 mg/kg であった。投薬に関連する所見として、雌雄で摂餌量減少を伴う体重減少、活動性低下、下痢及び／又は血便が認められた。雌では、投薬に関連した臨床検査及び剖検所見は認められなかった。雄では、ヘモグロビン

（HB）、ヘマトクリット、アルブミン（ALB）及びアルブミン／グロブリン比（A/G）の減少が認められた。剖検では、雄で十二指腸、盲腸、結腸及び直腸に出血がみられ、病理組織学的検査では関連する所見として、十二指腸、盲腸、結腸及び直腸粘膜の多巣性小限局性出血が認められた。投与 22 日の ECG 検査では、いずれのイヌにおいても特記すべき変化は認められなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 4 週間経口投与反復投与及び 4 週間回復試験（[redacted]49RD1 試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-1（参考）

Sprague Dawley ラットにフルキンチニブを 1 日 1 回、4 週間強制経口投与したときの毒性及び TK を検討するとともに、4 週間の回復期間後の回復性を検討した。ラット 80 例（雌雄各 40 例）を主試験で 10 例／性／群の 4 群に割り付け、そのうち 5 例／性／群を 4 週間の投与期間終了時に剖検し、残りの動物を 4 週間の回復期間終了後に剖検した。さらに、ラット 24 例（雌雄各 12 例）を TK 評価のために各群雌雄各 3 例のサテライト群に割り付けた。フルキンチニブを 0（媒体：0.5% CMC-Na）、2、20 又は 60 mg/kg/日（5 mL/kg）の用量で強制経口投与した。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理検査（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学検査及び尿検査）、骨髄検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。TK 評価用の血液試料を投与 1 及び 28 日に採取した。試験デザインを表 2.6.6.3-1 に示す。

表 2.6.6.3-1 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 4 週間経口投与反復投与毒性試験及び 4 週間回復試験の試験デザイン

投与群	投与量 (mg/kg/day)	濃度 (mg/mL)	例数 (主群) 雄／雌	例数 (回復群) 雄／雌	例数 (TK 群) 雄／雌
1	0 [a]	0	5/5	5/5	3/3
2	2	0.4	5/5	5/5	3/3
3	20	4	5/5	5 [b]/5	3/3
4	60	12	5 [c]/5 [c]	5 [c]/5 [c]	3/3

出典：[redacted]49RD1 試験
TK：トキシコキネティクス
[a] 対照群の投与媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム。
[b] 回復期間 4 日目に 20 mg/kg/日群の雄 1 例の死亡が確認された。
[c] 投与期間中に雌雄各 9 例が死亡又は瀕死の状態で発見された。雌雄各 1 例を投与期間終了時に剖検し、60 mg/kg 群の動物は回復群に割り当てなかった。

60 mg/kg/日群では、雄で投与 12 日及び雌で投与 19 日以降に状態悪化による安楽殺例又は死亡例がみられ、投与期間終了時までに雌雄各 10 例中 9 例が死亡した。安楽殺例の剖検前の主な一般状態の変化は、立毛、円背位、自発運動の低下、眼脂、下痢及び削痩であった。瀕死状態の雄ラット 2 例について臨床病理検査を実施し、そのうち 1 例では、白血球及び血小板（PLT）の減少、ALT、AST、TBIL 及び BUN の増加が認められ、他の 1 例では、クレアチニン（CREA）の増加、総蛋白（TP）及び ALB の減少が認められた。死亡例及び安楽殺例の病理組織学的検査では、小葉間胆管過形成及び肝細胞の多巣性壊死、腎尿細管上皮細胞の

壊死、胸腺及び脾臓の萎縮、副腎のうっ血及び出血、骨髄（胸骨）の造血細胞の減少及び／又は十二指腸の出血が認められた。肝臓、腎臓、消化管及び骨髄への影響が死因と考えられた。20 mg/kg/日群の雄 1 例が回復期間 4 日目に死亡した。死亡前の主な一般状態及び病理組織学的検査の結果は、60 mg/kg/日群の死亡動物で認められた所見と同様であったことから、当該動物の死亡は投薬に関連したものであると考えられた。

2 mg/kg/日群では、投薬に関連した一般状態の変化は認められなかった。20 mg/kg/日群では、投与期間中の一般状態の変化として、雌雄で立毛、円背位、活動性低下及び鼻孔周囲の乾燥物が認められた。回復期間終了時には、雌で円背位、活動性低下及び削痩が認められた。また、回復期間中に雌雄で切歯の破損が認められた。60 mg/kg/日群の雌雄で認められた一般状態の変化は、立毛、円背位、自発運動の減少、鼻孔及び口の周囲の乾燥物、削痩及び下痢であった。

2 mg/kg/日群の雌雄で体重及び摂餌量に変化は認められなかった。20 mg/kg/日群では、体重増加量の減少又は体重減少が雌雄で認められ、4 週間の回復期間終了時に完全には回復しなかった。また、投与期間中に認められた摂餌量減少も、回復期間終了時に完全には回復しておらず、これは切歯の破損によるものと考えられた。60 mg/kg/日群では体重の減少が認められた。

2 mg/kg/日群では、血液学的検査又は凝固パラメータに、投薬に関連した変化は認められなかった。20 mg/kg/日群では、雌で PLT 及び雄のリンパ球百分率（LYM%）が減少した。60 mg/kg/日群では、白血球、赤血球、HB、PLT 及び LYM%の低値が認められた。胸骨骨髄塗抹検査では、顆粒球（主に成熟顆粒球）の減少が、20 mg/kg/日群の雄及び 60 mg/kg/日群の雌雄で認められた。2 又は 20 mg/kg/日群で認められたいずれの所見も回復期間終了時には完全に回復した。

2 mg/kg/日群では、血液生化学的検査に投薬に関連した変化は認められなかった。なお、2 mg/kg/日群の雌では ALT の増加がみられたが、背景データ範囲内の変動であった。20 mg/kg/日群の雌雄では、ALT 及び AST の増加、並びに TP、ALB 及び A/G の減少が認められ、60 mg/kg/日群でも同様に認められた。これらの所見に関連して、肝臓の小葉間胆管の過形成及び肝細胞壊死が認められた。20 mg/kg/日群の雌雄における CREA の増加に関連する所見として、尿検査で尿蛋白陽性及び腎臓の病理学的検査で尿細管硝子円柱が認められ、また、60 mg/kg/日群で BUN の増加、尿蛋白陽性及び腎糸球体変性が認められた。回復期間終了時には、すべての投与群で血液生化学的検査値に異常は認められなかった。なお、20 mg/kg/日群の雄の肝臓で限局性肝細胞壊死及び小葉間胆管の過形成、又は、腎臓で尿細管硝子円柱が認められたが、雌では肝臓及び腎臓に異常所見は認められなかった。さらに、投与期間終了時に 20 及び 60 mg/kg/日群の雌でアミラーゼ及びリパーゼの増加が認められたが、4 週間の回復期間終了後には完全に回復した。

投与期間終了時の剖検では、20 及び 60 mg/kg/日群で胸腺及び脾臓の萎縮、副腎のうっ血及び出血、胃及び十二指腸の出血が認められた。病理組織学的検査では、20 mg/kg/日群の雌雄で副腎の多巣性うっ血及び出血並びに十二指腸の炎症性細胞浸潤及び限局性粘膜出血、雄で胸腺の萎縮、皮質のリンパ球減少及び皮質／髄質境界不明瞭、脾臓全体の萎縮、並びに胃粘膜の限局性出血が認められた。60 mg/kg/日群でも同様の所見が認められた。4 週間の回復期間終了後にも、20 mg/kg/日群で胸腺萎縮が認められた。

病理組織学的検査の結果、主な標的臓器は肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脾臓、胃、十二指腸、骨髄（胸骨）及び大腿骨であった。肝臓、腎臓及び胸腺の変化を除き、すべての病理組織学的所見は回復期間終了時に回復した。28 日間反復経口投与後、曝露量に蓄積又は性差は認められなかった。2 mg/kg/日群では、投薬に関連した毒性所見は認められなかった。したがって、NOAEL は 2 mg/kg/日であり、同用量における投与 28 日のフルキンチニブの雌雄平均の投与後 0 から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{24}）及び最高血漿中濃度（C_{max}）は、それぞれ 6805 ng·hr/mL 及び 800 ng/mL であった。

TK データについては、2.6.4.3.4.1 (2)に記載する。

2.6.6.3.2 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（8426159 試験）

：**添付資料番号 4.2.3.2-2（評価）**

Sprague Dawley ラットにフルキンチニブを 1 日 1 回、13 週間強制経口投与したときの毒性を評価し、TK を検討するとともに、4 週間の回復期間後の回復性を検討した。ラット 120 例（雌雄各 60 例）を主試験で 15 例／性／群の 4 群に割り付け、そのうち 10 例／性／群を 13 週間の投与期間終了時に剖検し、残りの動物を 4 週間の回復期間後に剖検した。さらに、42 例のラット（雌雄各 21 例）を TK 評価のために雌雄各 3 例（対照群）、雌雄各 6 例（各投与群）のサテライト群に割り付けた。フルキンチニブを 0（媒体：0.5% CMC-Na）、0.3、0.6 又は 1.2/2.4 mg/kg/日（5 mL/kg）の用量で強制経口投与した（なお、投与 44 日以降、投与液量を 10 mL/kg に増量し、1.2 mg/kg/日群の投与用量を 2.4 mg/kg/日に増量した）。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、精子検査、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学検査及び尿検査）、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。TK 評価用の血液試料を投与 1 及び 91 日に採取した。試験デザインを表 2.6.6.3-2 に示す。

表 2.6.6.3-2　Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験デザイン

投与群	投与量 (mg/kg/day)	濃度 (mg/mL)	例数 (主群) 雄／雌	例数 (回復群) 雄／雌	例数 (TK 群) 雄／雌
1	0 [a]	0	10/10	5/5	3/3
2	0.3	0.06/0.03 [b]	10/10	5/5	6/6
3	0.6	0.12/0.06 [b]	10/10	5/5	6/6
4	1.2/2.4 [c]	0.24	10/10	5/5	6/6

出典：8426159 試験
TK：トキシコキネティクス
[a] 対照群の投与媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム。
[b] 低用量及び中用量群の投与検体中のフルキンチニブ濃度を投与 44 日以降、0.03 mg/mL 及び 0.06 mg/ml に変更した。
[c] 高用量群のフルキンチニブの投与量を投与 44 日以降、2.4 mg/kg/日に変更した。

1.2/2.4 mg/kg/日を投与した雄 1 例を投与 78 日目に安楽殺した。一般状態所見として、円背位、削痩、赤色鼻汁、切歯の破損及び皮膚の変色がみられ、大幅かつ急速な体重減少が認められた。体重減少は、部分的に切歯の破損に起因していたと考えられる。この動物で認められた臨床病理学的所見は、計画剖検時まで生存した動物で認められた所見と同様だった。ま

た、肉眼所見は認められず、病理組織学的検査では、副腎のうっ血及び出血並びに変性及び壊死、腸間膜リンパ節の肥満細胞浸潤、ブルンナー腺の変性・壊死及び炎症、大腿骨骨端軟骨の肥厚、大腿骨及び胸骨骨髄の細胞充実性の低下、並びに下顎切歯の変性、壊死、骨折、炎症及び隣接歯槽骨の内側の骨芽細胞／破骨細胞増加が認められた。瀕死状態はフルキンチニブと関連ありと判断された。0.6 mg/kg/日群の雌 1 例が、4 週目の臨床検査用採血後の投与 28 日に死亡した。死亡前に活動性低下及び耳蒼白、剖検で右腋窩部の皮下組織に血栓が認められ、死因は採血手技によるものと考えられた。

投薬に関連した眼科学的所見は認められなかった。

投薬に関連した一般状態の変化として、切歯の異常（破損、不正咬合、欠損）、削痩及び円背位が認められた。切歯の異常は 0.6 又は 1.2/2.4 mg/kg/日群の雌雄で投与 36 日より認められ、摂餌量減少及び体重減少の一因と考えられた。切歯の所見は回復期間終了時にも認められたが、部分的に回復し、雌雄の体重は増加傾向を示した。1.2/2.4 mg/kg/日群の 5 例で切歯の変色（黄色又は白色）が認められ、切歯の異常に関連した所見と考えられた。

1.2/2.4 mg/kg/日群の雄で、統計学的に有意な体重増加抑制がみられた。投与 44 日の投与量変更以降、1.2/2.4 mg/kg/日群と対照群との体重差は投与期間終了時まで継続して拡大した。体重の低値／減少は、切歯の破損の臨床所見と一致していた。1.2/2.4 mg/kg/日群の雄では、回復期間中の体重増加量が対照群よりも大きく、体重への影響は可逆的であった。

切歯の破損が 1.2 mg/kg/日群の動物で投与 36 日から認められたが、顕著な摂餌量の変化は認められなかった。投与 44 日以降に投与量を 1.2 mg/kg/日から 2.4 mg/kg/日に増量した動物（1.2/2.4 mg/kg/日群）では、摂餌量の減少が認められ、投与期間終了時まで持続した。高用量では、より程度の強い切歯の異常が生じたため摂餌量が有意に減少した可能性がある。回復期間中には摂餌量の増加が認められ、回復性が示された。0.3 又は 0.6 mg/kg/日群では摂餌量の変化は認められなかった。

計画剖検時まで生存した動物における投薬に関連した最も顕著な臨床病理学的変化は、脱水、電解質喪失、並びに肝細胞及び／又は肝胆道系の変化に関連しており、すべての投与量で認められた。0.3 mg/kg/日以上の雄で投与 28 日及び／又は 92 日にみられた赤血球量、尿素窒素及び無機リン濃度の増加は、摂餌量減少に関連した脱水によると考えられた。肝細胞及び／又は肝胆道系の変化として、0.3 mg/kg/日以上を投与した雄及び 0.6 mg/kg/日以上を投与した雌で投与 28 日及び／又は 92 日に ALT の増加、0.3 mg/kg/日以上を投与した雄及び 1.2/2.4 mg/kg/日を投与した雌で投与 28 日に ALP 活性の増加が認められた。これらの影響は、多くの雌で認められた門脈周囲肝細胞における細胞質内褐色色素の病理組織学的所見と関連している可能性がある。その他の投薬に関連した臨床病理学的変化として、主に 1.2/2.4 mg/kg/日群で赤血球パラメータの増加（平均赤血球容積、平均赤血球 HB 量）、網状赤血球数及び PLT の減少、並びに尿 PH の高値が認められた。網状赤血球の絶対数及び PLT の減少は、大腿骨及び胸骨骨髄の細胞充実性低下と関連している可能性がある。

回復期間に認められた変化、すなわち、平均赤血球容積の増加（1.2/2.4 mg/kg/日群の雄及び 0.6 mg/kg/日以上の群の雌）、平均赤血球 HB 量の増加（1.2/2.4 mg/kg/日群の雄及び 0.3 mg/kg/日以上の群の雌）、無機リン濃度の増加（1.2/2.4 mg/kg/日群の雄）は、それら所見が持続的／不可逆的であったこと及び／又は遅発性に発現したことが示唆される。その他の臨床病理検査値は、回復期間終了時に回復性を示した。

1.2/2.4 mg/kg/日群の雄及び 0.3 mg/kg/日以上の群の雌では、投与期間終了時に投薬に関連した胸腺重量の減少が認められた。胸腺重量の減少は回復期間終了後も持続した。胸腺重量の減少に関連する病理組織学的所見は認められなかった。

投薬に関連する剖検所見は認められなかった。

投与期間終了時の計画剖検動物の病理組織学的検査では、副腎、脾臓、腸間膜リンパ節、肝臓、ブルンナー腺、大腿骨、骨髄（大腿骨及び胸骨）及び下顎切歯にフルキンチニブと関連のある所見が認められた。1.2/2.4 mg/kg/日群では、雌雄で大腿骨骨端軟骨の肥厚、大腿骨骨髄の細胞充実性低下、下顎切歯の変性/壊死、破損、炎症及び隣接する歯槽骨の骨芽細胞／破骨細胞の増加、ブルンナー腺の炎症、腸間膜リンパ節の肥満細胞浸潤、雄で副腎の変性及び壊死、ブルンナー腺の変性壊死、胸骨骨髄の細胞充実性低下、雌で脾臓の鉱質沈着、肝臓の細胞質内色素が認められた。同様の所見は、0.6 mg/kg/日群の雌の脾臓及び腸間膜リンパ節、並びに 0.3 及び 0.6 mg/kg/日群の雌雄の下顎切歯に認められた。0.3 又は 0.6 mg/kg/日群における病理組織学的所見の発現頻度及び重症度は、1.2/2.4 mg/kg/日群と比較して概して低かった。

これら病理組織学的所見のうち、1.2/2.4 mg/kg/日群でみられたブルンナー腺の変性、壊死及び／又は炎症、並びに大腿骨骨端軟骨の肥厚、0.6 又は 1.2/2.4 mg/kg/日群でみられた下顎切歯の変性、壊死、破損及び炎症は毒性と考えられた。その他の病理組織学的所見は、発現頻度及び／又は重症度が低く、機能障害を示唆するものではないため、毒性ではないと考えられた。

回復群では、1.2/2.4 mg/kg/日群の脾臓及び腸間膜リンパ節の所見は、概ね発現頻度及び重症度が減弱していた。0.6 mg/kg/日以上の群の雌雄で下顎切歯の所見は回復期間後も認められた。回復期間終了時の 1.2/2.4 mg/kg/日群の雄 1 例の脾臓に軽微な鉱質沈着が認められたが、本所見は投与期間終了時には認められていない。

投与期間又は回復期間終了後の精子検査（精子運動率、精巣上体尾部重量、精子密度）では、投薬に関連した影響は認められなかった。

13 週間反復経口投与により、フルキンチニブの曝露にわずかな蓄積、M11 の曝露に明らかな蓄積が認められた。概して、曝露量に性差は認められなかった。

本試験の所見に基づくと、STD_{10} は 1.2/2.4 mg/kg/日であり、同用量における投与 91 日目のフルキンチニブの投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{24}）及び C_{max} の雌雄平均値は、それぞれ 15900 ng·hr/mL 及び 1880 ng/mL であった。最低用量の 0.3 mg/kg/日で毒性所見が認められなかったことから、NOAEL と判断され、同用量における投与 91 日目のフルキンチニブの AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値は、それぞれ 1640 ng·hr/mL 及び 305 ng/mL であった。

代謝物 M11 については、フルキンチニブ 1.2/2.4 mg/kg/日を投与したときの投与 91 日目の AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値はそれぞれ 371 ng·hr/mL 及び 22 ng/mL であり、NOAEL（0.3 mg/kg/日）における投与 91 日目の AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値はそれぞれ 30 ng·hr/mL 及び 2.5 ng/mL であった。

TK データについては、2.6.4.3.4.1 (3)に記載する。

2.6.6.3.3 SpragueDawley ラットを用いたフルキンチニブの 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（[redacted]54RD1 試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-3（参考）

Sprague Dawley ラットにフルキンチニブを 1 日 1 回、26 週間強制経口投与したときの毒性及び TK を検討するとともに、4 週間の回復期間後の回復性を検討した。150 例（雌雄各 75 例）のラットを 15 例／性／群からなる 5 群に主試験で割り付け、そのうち 5 例／性／群を 13 週間投与後に、5 例／性／群を 26 週間投与後に剖検し、残りの動物は 4 週間の回復期間後に剖検した。さらに、54 例のラット（雌雄各 27 例）を、TK 評価のために各群雌雄各 3～6 例のサテライト群に割り付けた。フルキンチニブを 0（媒体：0.5% CMC-Na）、0.5/0.25（投与 50 日から減量）、1.5/0.75（投与 50 日から減量）、5/3/1.5（投与 29 日／投与 50 日からそれぞれ減量）又は 10/6 mg/kg/日（投与 29 日から減量）の用量で、5 mL/kg の投与液量で強制経口投与した。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学検査及び尿検査）、骨髄検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。TK 評価用の血液試料を投与 1、91 及び 182 日に採取した。試験デザインを表 2.6.6.3-3 に示す。

表 2.6.6.3-3　Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験の試験デザイン

投与群	投与量（mg/kg/day）	例数（13 週投与群）雄／雌	例数（26 週投与群）雄／雌	例数（回復群）雄／雌	例数（TK 群）雄／雌
1	0 [a]	5/5	5/5	5/5	3/3
2	0.5/0.25 [b]	5/5	5/5	5/5	6/6
3	1.5/0.75 [b]	5/5	5/5	5/5	6/6
4	5/3 [c]/1.5 [b]	5/5	5/5	5/5	6/6
5	10/6 [c]	5/5	5/5	5/5	6/6

出典：[redacted]54RD1 試験

[a] 対照群の投与媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム。

[b] 投与 50 日以降、投与量を減量した。

[c] 投与 29 日以降、投与量を減量した。

1.5/0.75 mg/kg/日群の雌 1 例が投与 53 日目に死亡した。一般状態所見として、眼脂が認められた。肉眼的検査では異常所見は認められず、病理組織学的検査では、骨髄（胸骨）の造血細胞の減少及び大腿骨骨幹端の軟骨細胞肥大（骨端軟骨異形成）が認められた。骨髄における造血細胞の抑制が死因と考えられた。5/3/1.5 mg/kg/日群の雌 3 例が投与 95～165 日の間に死亡した。一般状態所見として、切歯の脱落、活動性低下及び眼脂、また、体重増加量の減少又は体重減少が認められた。剖検所見として、十二指腸の拡張、胆管の肥厚、胸水及び腹水、肝臓の横隔膜及び腹腔への癒着及び肝臓内の複数の淡黄色顆粒並びに腎臓の暗赤色変色及び表面粗造が認められた。病理組織学的検査では、胆管の拡張/肥厚及び上皮過形成、肝細胞壊死及び膿瘍、糸球体腫大、腎尿細管上皮細胞の変性及び壊死、骨髄（胸骨）の増殖抑制、脾臓及び胸腺の萎縮、副腎出血、並びに大腿骨骨幹端軟骨細胞肥大が認められた。主な死因は肝臓、腎臓及び骨髄の所見と考えられた。

5/3/1.5 mg/kg/日群の雄 7 例が投与 44～68 日の間に瀕死状態のため剖検され、雄 6 例が投与 32～69 日の間に死亡した。死亡又は剖検前に、一般状態所見として、切歯の脱落、鼻腔汚染、活動性低下、軟便及び水様便、肛門及び性器周囲の汚染、被毛のくすみ並びに蒼白が認められた。赤血球、HB、ヘマトクリット及び白血球の減少、ALT、AST 及び BUN の増加、並びに骨髄塗抹標本ですべての細胞系の細胞減少が観察された。剖検及び病理組織学的検査で認められた変化は、同用量群の雌と同様であり、雄の主な死因は雌と同じであった。10/6 mg/kg/日群では、投与 68 日までに全例が死亡又は瀕死状態のため安楽殺された。死亡又は安楽殺前の一般状態、臨床検査及び病理組織学的変化は、5/3/1.5 mg/kg/日群と同様であり、10/6 mg/kg/日群の主な死因も 5/3/1.5 mg/kg/日群と同じと考えられた。

一般状態観察では、0.5/0.25 mg/kg/日群では、雌で投与期間中に切歯の脱落及び眼脂が認められ（1 例は投与過誤により死亡）、眼脂は回復期間中も認められた。同群の雄では、切歯の脱落、鼻汁及び眼脂、粘液便、肛門生殖器の汚染、軟便及び活動性低下が認められた。1.5/0.75 mg/kg/日群では、雌で切歯の脱落、鼻腔汚染、眼脂及び活動性低下が、同群の雄ラットで切歯の損傷、喪失及び流涎が認められた。回復期間中、雌で眼脂及び脱毛、雄で流涎及び脱毛が引き続き認められた。5/3/1.5 mg/kg/日群では、雌で切歯の喪失、鼻腔汚染、眼脂、頭部傾斜及び活動性低下、雄で切歯の脱落、削痩、活動性低下、鼻腔汚染及び蒼白が認められた。回復期間中、雌の切歯の喪失は継続して認められた（雄の生存動物なし）。

0.5/0.25 mg/kg/日群の雌を除くすべての動物で体重増加量の減少又は体重減少が認められ、4 週間の回復期間後に完全に回復しなかった。0.5/0.25 mg/kg/日群の、雄では 1～7 週目まで、雌では 1～9 週目まで摂餌量の変化は認められなかった。その後、粉末食に変更し、摂餌量は測定しなかった。1.5/0.75 mg/kg/日群の雌雄では、1～5 週目まで摂餌量の変化は認められなかった（その後、粉末食が与えられ、摂餌量は測定しなかった）。5/3/1.5 mg/kg/日群の雌では、1～5 週目まで摂餌量の変化は認められず、6 週目に摂餌量の減少が認められた（7 週目以降は粉末食に変更し、摂餌量は測定しなかった）。10/6 mg/kg/日群では、摂餌量の有意な減少が、雌では 3～7 週目まで、雄では 2～7 週目まで認められた（8 週時以降は粉末食に変更し、摂餌量は測定しなかった）。

計画剖検動物では、血液学的検査又は凝固系検査に投薬に関連した変化は認められなかった。骨髄に関しては、病理組織学的検査では、5/3/1.5 mg/kg/日群で骨髄の造血細胞の減少が投与 13 週及び 26 週終了時の雌各 1 例、骨髄検査では、1.5/0.75 mg/kg/日群及び 5/3/1.5 mg/kg/日群の一部の動物で成熟顆粒球数の減少が認められた。

血液生化学検査では、投与 13 週終了時（投与 92 日）に、1.5/0.75 及び 5/3/1.5 mg/kg/日群の雌で ALT 及び ALP の増加が認められた。5/3/1.5 mg/kg/日群の雌でグルコースの低値及び BUN の高値、5/3/1.5 mg/kg/日群の雌雄で CHOL 及び TG の高値が認められた。投与 26 週終了時（投与 183 日）に、5/3/1.5 mg/kg/日群の雌で CHOL の有意な高値が認められた。回復期間終了時には、1.5/0.75 mg/kg/日群の雄及び 5/3/1.5 mg/kg/日群の雌でグルコース低値が認められた。0.5/0.25、1.5/0.75 及び 5/3/1.5 mg/kg/日群の動物で、13 週目、26 週目及び／又は回復期間終了時に低蛋白血症が認められた。これらの変化は、摂餌量の減少による肝障害又は栄養障害に関連している可能性があり、投薬に関連した変化と考えられた。

尿検査では、1.5/0.75 mg/kg/日群の雄で、投与 13 週及び 26 週終了時、並びに回復期間終了時に尿蛋白及び白血球が認められた。5/3/1.5 mg/kg/日群の雌雄でも同様の所見が認められた。これらの変化は腎臓の病理組織学的所見と関連していた。

10/6 mg/kg/日群では、肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脾臓、骨髄（胸骨）及び大腿骨が標的臓器であった。肝臓では胆管拡張／肥厚、腎臓では尿細管の硝子円柱、尿細管上皮細胞の変性及び腫脹、尿細管の内腔狭窄、尿細管上皮細胞の壊死、副腎では皮質細胞壊死、胸腺では萎縮、脾臓では萎縮及びリンパ球減少、骨髄では造血細胞減少、大腿骨では骨幹端の軟骨細胞の肥大（骨端軟骨異形成）が認められた。

5/3/1.5 mg/kg/日群の標的臓器は肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脾臓、骨髄（胸骨）及び大腿骨であり、10/6 mg/kg/日群と同様の所見が認められた。

1.5/0.75 mg/kg/日群の死亡例で認められた本薬投与に関連した変化は、骨髄（胸骨）の造血細胞減少及び大腿骨骨幹端の軟骨細胞肥大（骨端軟骨異形成）であった。この投与群の生存動物では、投与 26 週終了時の雄及び回復期間終了時の雌雄で尿細管の硝子円柱、回復期間終了時の雌雄で副腎皮質細胞の巣状壊死が認められた。1.5/0.75 mg/kg/日群の標的臓器は、腎臓、副腎、骨髄（胸骨）及び大腿骨であった。

0.5/0.25 mg/kg/日群では、26 週間の投与期間終了時の雌雄で副腎皮質細胞の限局性の壊死が認められた。この所見は 10/6 mg/kg/日群の動物でも認められた。

91 日間及び 182 日間の反復経口投与後、曝露量の蓄積及び性差は認められなかった。

本試験の所見に基づくと、LOAEL は 0.5/0.25 mg/kg/日であり、同用量における投与 182 日のフルキンチニブの AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値は、それぞれ 3676 ng·hr/mL 及び 327 ng/mL であった。

TK データについては、2.6.4.3.4.1 (4)に記載する。

2.6.6.3.4 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 4 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（[redacted]49RD2 試験）

：**添付資料番号 4.2.3.2-4（参考）**

ビーグル犬にフルキンチニブを 1 日 1 回、カプセルを用いて 4 週間経口投与したときの毒性及び TK を検討するとともに、4 週間の回復期間後の回復性を評価した。本試験は、被験物質（フルキンチニブ）の分析証明書がないため、参考資料とする。ビーグル犬 24 例（雌雄各 12 例）を各群雌雄各 3 例の 4 群に割り付け、そのうち雌雄各 2 例/群を 4 週間の投与期間終了時に剖検し、残りの動物を 4 週間の回復期間終了後に剖検した。フルキンチニブを 0〔結晶セルロース（99.7%）+ドロモール（0.3%）〕、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg/日の用量でカプセルを用いて経口投与した。動物の生死、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、ECG 検査、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学検査及び尿検査）、骨髄検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。TK 評価用の血液試料を投与 1 及び 28 日に採取した。試験デザインを表 2.6.6.3-4 に示す。

表 2.6.6.3-4　ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 4 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験の試験デザイン

投与群	投与量（mg/kg/day）	例数（主群）雄／雌	例数（回復群）雄／雌
1	0 [a]	2/2	1/1
2	0.03	2/2	1/1
3	0.1	2/2	1/1
4	0.3	2/2	1/1

出典：[redacted]49RD2 試験
MCCPH101：微結晶性セルロース
[a] 溶媒対照群の投与検体は MCCPH101（99.7%） 及びドロモール（0.3%）を含有する。

0.1 mg/kg/日以下の群では一般状態、摂餌量及び体重に異常所見は認められなかった。0.3 mg/kg/日群では、投与 6 日以降に摂餌量減少、活動性低下、下痢、血便、後肢脱力、脱力及び体重減少が認められ、投与期間終了前に 6 例中 5 例が死亡又は安楽殺された。これらの動物では、摂餌量の減少／無摂餌、下痢及び／又は血便などの消化管異常が認められ、剖検及び病理組織学的検査で、胃消化器系で出血がみられ、消化器毒性が主な状態悪化又は死因と考えられた。

0.03 及び 0.1 mg/kg/日群の動物では、ECG 検査、眼科学的検査、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査及び骨髄検査に異常所見は認められなかった。投与期間終了時まで生存した 0.3 mg/kg/日群の動物では、投与前値と比較して、TP、ALB 及び A/G の減少が認められ、回復期間終了時には回復した。

病理組織学的検査では、0.3 mg/kg/日群の死亡又は安楽殺した動物で、胸腺の萎縮、皮質のリンパ球減少及び皮質と髄質の境界不明瞭、脾臓の萎縮及びリンパ球減少、腎臓で糸球体の腫大、多発性尿細管拡張及び多発性硝子円柱、回腸、結腸及び直腸で多発性粘膜出血、空腸、回腸、盲腸及び直腸で多発性粘膜うっ血、副腎で皮質細胞の腫大、皮質の出血及びうっ血、並びに肝臓で肝細胞の多巣性水腫性変性が認められた。0.3 mg/kg/日群の生存例では、回復期間終了時に上記の所見は認められなかったことから、上記の病理学的変化は回復性のある変化と考えられた。0.03 及び 0.1 mg/kg/日群の動物には、投与期間終了時及び回復期間終了時のいずれにおいても、投薬に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

病理組織学的検査に基づき、主な標的臓器は肝臓、腎臓、消化管、副腎、胸腺及び脾臓と考えられた。

28 日間の反復投与後、曝露量のわずかな蓄積が認められた。曝露量に明らかな性差は認められなかった。

本試験の所見に基づくと、NOAEL は 0.1 mg/kg/日であり、同用量における投与 28 日のフルキンチニブの AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値は、それぞれ 618 ng·hr/mL 及び 48 ng/mL であった。

TK データについては、2.6.4.3.4.2 (1)に記載する。

2.6.6.3.5 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（8449374 試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-5（評価）

ビーグル犬にフルキンチニブを 1 日 1 回、カプセルを用いて 13 週間経口投与したときの毒性及び TK を検討するとともに、4 週間の回復期間後の回復性を評価した。ビーグル犬 40 例（雌雄各 20 例）を各群雌雄各 5 例の 4 群に割り付け、そのうち雌雄各 3 例／群を 13 週間の投与期間終了時に剖検し、残りの動物を 4 週間の回復期間終了後に剖検した。フルキンチニブを 0（混合粉末のみを含有するプラセボ、0.12 mg/kg/日群と同じカプセル数）、0.03、0.06 又は 0.12 mg/kg/日の用量で、カプセルを用いて経口投与した。カプセル剤は、5 mg のフルキンチニブを含有し、結晶セルロース、トウモロコシデンプン及びタルクを含有する 260 mg の混合粉末製剤をカプセルに充てんした。動物の生死、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、体温、神経学的検査、血圧、呼吸数、パルスオキシメトリ、ECG 検査、雄性生殖器系評価、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学検査及び尿検査）、骨髄評価、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。TK 評価用の血液試料を投与 1 及び 91 日に採取した。試験デザインを表 2.6.6.3-5 に示す。

表 2.6.6.3-5　ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験の試験デザイン

投与群	投与量（mg/kg/day）	例数（主群）雄／雌	例数（回復群）雄／雌
1	0 [a]	3/3	2/2
2	0.03 [b]	3/3	2/2
3	0.06 [b]	3/3	2/2
4	0.12 [b]	3/3	2/2

出典；8449374 試験

a. 対照群には結晶セルロース、トウモロコシデンプン及びタルクを含有する混合粉末製剤 260 mg を充てんしたカプセルを、0.12 mg/kg 群の動物と同数投与した。

b. 実薬群には、結晶セルロース、トウモロコシデンプン及びタルクの混合粉末製剤中にフルキンチニブ 5 mg を含有する製剤 260 mg を充てんしたカプセルを投与した。

すべての動物は計画剖検時まで生存した。眼科学的検査、体温、神経学的検査、血圧、呼吸数、パルスオキシメトリー及び ECG 検査では、投薬に関連した影響は認められなかった。

0.12 mg/kg/日群の動物では、一般状態観察で、口腔粘膜の赤色化、口腔粘膜潰瘍及び褐色歯が認められた。0.06 mg/kg/日群では口腔粘膜の赤色化又は褐色化も認められた。

0.12 mg/kg/日群の雌雄で体重減少が認められた。そのため、獣医師の指示により、体重減少の強い 5 例の動物に対して投与期間終了時まで毎日の飼料に缶詰飼料を加え栄養補給を行った結果、体重減少は停止したが、0.12 mg/kg/日群の平均体重は投与期間終了時まで低レベルのままであった。0.03 及び 0.06 mg/kg/日群に顕著な体重減少は認められなかった。回復期間中、0.12 mg/kg/日群の雄の体重増加量は、対照群と比較して大きく増加し、また、0.12 mg/kg/日群の雌の体重増加量は概して対照群と同程度であったことから、体重に対する影響は休薬により回復したことが示された。

0.12 mg/kg/日群では摂餌量の減少が認められたが、同群の 5 例にカロリー摂取量を補う目的で缶詰ドッグフードが追加給餌されたことから、評価対象としなかった。0.03 及び 0.06 mg/kg/日群では、摂餌量への影響は認められなかった。

凝固系検査及び血液生化学検査では、0.12 mg/kg/日群で、フィブリノゲン及びグロブリン濃度の増加、並びに A/G の減少が認められた。これらの所見は回復期間終了時までに回復性が認められた。血液学的検査及び尿検査では、本剤投与に関連する所見は認められなかった。

器官重量及び剖検では、投薬に関連した影響は認められなかった。投与期間終了後の病理組織学的検査では、0.03 mg/kg/日以上の群の雌雄で副腎皮質球状帯の空胞の増加、0.03 mg/kg/日以上の群の雄及び 0.12 mg/kg/日群の雌で大腿骨端軟骨の肥厚、0.12 mg/kg/日群の雌雄で大腿骨骨髄の細胞充実性低下が認められた。

回復期間終了後の病理組織学的検査では、0.03 又は 0.12 mg/kg/日群で副腎球状帯の空胞の増加が認められたが、いずれも軽微であった。大腿骨及び大腿骨髄の病理組織学的変化は認められなかった。

投与期間及び回復期間終了時の精子検査パラメータ（精子運動率、精巣上体尾部重量、精子密度）に、投薬に関連した影響は認められなかった。

91 日間の反復投与後、曝露量の蓄積が認められた。曝露量に明らかな性差は認められなかった。

0.12 mg/kg/日群に十分な忍容性が認められたことから、HNSTD は 0.12 mg/kg/日と判断された。副腎皮質及び大腿骨に最低用量で認められた所見に基づき、本試験では NOAEL は特定されなかった。HNSTD である 0.12 mg/kg/日の用量における投与 91 日のフルキンチニブの AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値は、それぞれ 1480 ng·hr/mL 及び 105 ng/mL であった。代謝物 M11 については、フルキンチニブ 0.12 mg/kg/日を投与したときの AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値は、それぞれ 88 ng·hr/mL 及び 5.0 ng/mL であった。

TK データについては、2.6.4.3.4.2 (2)に記載する。

2.6.6.3.6 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 39 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（[redacted]54RD2 試験）

：**添付資料番号 4.2.3.2-6（参考）**

ビーグル犬にフルキンチニブを 1 日 1 回、カプセルを用いて 39 週間経口投与したときの毒性及び TK を検討するとともに、4 週間の回復期間後の回復性を評価した。ビーグル犬 50 例（雌雄各 25 例）を各群雌雄各 5 例の 5 群に割り付け、そのうち雌雄各 2 例を 13 週間の投与期間終了時に、雌雄各 2 例を 39 週間の投与期間終了時に、残りの雌雄各 1 例を 4 週間の回復期間終了後にそれぞれ剖検した。フルキンチニブを 0（50%デンプン、49%結晶セルロース及び 1%タルクを含有する混合粉末を充てんしたプラセボカプセル）、0.01、0.03、0.1/0.06（投与 15 日から減量）又は 0.2/0.12 mg/kg/日（投与 15 日から減量）の用量で、カプセルを用いて経口投与した。

動物の生死、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、体温、ECG 検査、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学検査及び尿検査）、骨髄検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。TK 評価用の血液試料を投与 1、91 及び 273 日に採取した。試験デザインを表 2.6.6.3-6 に示す。

表 2.6.6.3-6 ビーグル犬を用いたフルキンチニブの 39 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験の試験デザイン

投与群	投与量 (mg/kg/day)	例数 (13 週投与群) 雄／雌	例数 (39 週投与群) 雄／雌	例数 (回復群) 雄／雌
1	0[a]	2/2	2/2	1/1
2	0.01	2/2	2/2	1/1
3	0.03	2/2	2/2	1/1
4	0.1/0.06[b]	2/2	2/2	1/1
5	0.2/0.12[b]	2/2	2/2	1/1

出典：[redacted]54RD2 試験

[a] 対照群にはデンプン（50%）、結晶セルロース（49%）及びタルク（1%）を充てんしたプラセボカプセルを投与した。

[b] 投与 15 日以降、投与量を減量した。

0.01、0.03 及び 0.1/0.06 mg/kg/日群の雌雄、並びに 0.2/0.12 mg/kg/日群の雄は計画剖検まで生存した。0.2/0.12 mg/kg/日群の雌 2 例を、それぞれ投与 8 日及び投与 99 日に安楽殺剖検した。これらの雌 2 例では、剖検前に活動性及び摂餌量の低下、水様便及び／又は変色便が認められた。臨床病理検査で低蛋白血症、貧血、尿蛋白陽性が認められた。病理組織学的検査では、腎臓皮質尿細管上皮細胞の空胞化、限局性肝細胞空胞化、胸腺萎縮、白脾髄辺縁帯のリンパ球減少、腸間膜リンパ節皮質のリンパ球減少、周囲の炎症性細胞浸潤、出血及び線維化を伴う十二指腸腺管拡張、粘膜の充血及び出血、部分的な上皮消失を伴う食道炎が認められた。これらの結果から、状態悪化の主な原因は肝毒性、腎毒性、消化器毒性及び免疫抑制と考えられた。

一般状態観察では、0.01 及び 0.03 mg/kg/日群の雌雄、並びに 0.1/0.06 mg/kg/日群の雌に異常所見は認められなかった。0.1/0.06 mg/kg/日群の雄で活動性低下、水様便及び／又は変色便が認められた。0.2/0.12 mg/kg/日群の雌雄では、活動性低下、摂餌量減少、水様便及び変色便が認められた。回復期間中、0.1/0.06 mg/kg/日群の雄及び 0.2/0.12 mg/kg/日群の雌雄では、異常所見は認められなかった。

0.01 及び 0.03 mg/kg/日群の雌雄、並びに 0.1/0.06 mg/kg/日群の雌に体重への影響は認められなかった。対照群と比較して有意な平均体重の減少が、0.1/0.06 mg/kg/日群の雄及び 0.2/0.12 mg/kg/日群の雌雄で認められた。0.1/0.06 及び 0.2/0.12 mg/kg/日群の体重は 4 週間の回復期間後に回復傾向を示した。

0.01 及び 0.03 mg/kg/日群の雌雄で摂餌量に変化は認められなかった。摂餌量減少が、0.1/0.06 及び 0.2/0.12 mg/kg/日群の雌雄で間欠的に認められた。

0.2/0.12 mg/kg/日群の雄では、投与 273 日の投与前、並びに投与 2 及び 24 時間後に心拍数減少が認められた。回復期間終了時に心拍数の異常な変化は認められなかった。その他の ECG パラメータへの影響は認められなかった。生存例の体温及び眼科学的検査では、いずれも異常は認められなかった。

0.2/0.12 mg/kg/日群の雌雄で、投与 273 日に対照群と比較して白血球の減少が認められた。また、投与 91 日に同群の雌で ALB 及び A/G の減少及び雄で ALB の減少、並びに投与 273 日に雌雄で ALB 及び A/G の減少が認められた。このうち、雄 1 例の ALB 及び A/G 値は、回復期間終了時に投与前の値に回復した。投与期間終了時及び回復期間終了時の生存動物の尿検査、潜血検査及び骨髄塗抹検査では、投薬に関連した所見は認められなかった。

病理組織学的検査では、13 週間の投与期間終了時には、0.1/0.06 mg/kg/日群の雌で大腿骨骨幹端の成長板過形成、0.2/0.12 mg/kg/日群の雌雄で大腿骨骨幹端の成長板過形成、雌で限局性肝細胞空胞化が認められた。39 週間の投与期間終了時には、0.2/0.12 mg/kg/日群の雌で肝臓に巣状肉芽腫性炎症、肝細胞の巣状色素沈着、クッパー細胞増加及び巣状肝細胞肥大、並びに大腿骨幹端の成長板過形成が認められた。回復期間終了時には、投薬に関連した病理組織学的所見は認められなかった。安楽殺剖検例を含む病理組織学的検査に基づき、主な標的臓器は肝臓、腎臓、消化管、免疫系（胸腺、脾臓、リンパ節）及び大腿骨と考えられた。

39 週間の反復投与後、曝露量の蓄積は認められず、曝露量に明らかな性差は認められなかった。

本試験の所見に基づくと、NOAEL は 0.03 mg/kg/日であり、同用量における投与 273 日のフルキンチニブの AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値は、それぞれ 343 ng·hr/mL 及び 31 ng/mL であった。

TK データについては、2.6.4.3.4.2 (3)に記載する。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.3.1-1（参考）、-2（参考）、4.2.3.3.2-1（参考）**

NMPA GLP 規則に従って in vitro 及び in vivo の遺伝毒性試験を実施したが、US FDA、OECD 及び／又は MHRA の GLP 規則に従って再度実施した試験を本申請資料で使用する（2.6.6.4.1 以降に記載）。NMPA GLP 試験結果の概要を以下に示す。

- 復帰突然変異試験（0962AM1、4.2.3.3.1-1）：代謝活性化系の存在下又は非存在下でサルモネラ菌 5 株（TA97、TA98、TA100、TA102 及び TA1535）を用いてフルキンチニブを最大 300 µg/プレートまで評価。陰性。
- 染色体異常試験（0962CA1、4.2.3.3.1-2）：代謝活性化系の存在下又は非存在下でチャイニーズハムスター肺（CHL）細胞を用いて、フルキンチニブ 4.5～36 µg/mL の濃度で評価。36 µg/mL の濃度では代謝活性化系非存在下、24 時間処理の条件で、CHL 細胞の染色体構造異常を伴う異常細胞の有意な増加が認められた。
- ICR マウスを用いた小核試験（0962MN1、4.2.3.3.2-1）：0、500、1000 又は 2000 mg/kg/日を単回投与し、24 又は 48 時間後の骨髄中の小核を有する細胞を評価。陰性。

2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（8456880 試験）

：**添付資料番号 4.2.3.3.1-3（評価）**

Aroclor 1254 で酵素誘導したラット肝代謝活性化系（S9）の非存在下又は存在下で、サルモネラ菌 5 株を用いてフルキンチニブの復帰突然変異誘発能を評価した。

5 種類のサルモネラ菌株（TA98、TA100、TA102、TA1535 及び TA1537）を、S9 の存在下又は非存在下で、5、16、50、160、500、1600 又は 5000 µg/プレートの濃度のフルキンチニブと共にインキュベートするプレート法を実施した。被験物質並びに陽性及び陰性対照のすべての濃度について 3 枚のプレートを用いた。

試験デザインを表 2.6.6.4-1 に示した。

表 2.6.6.4-1 細菌を用いた復帰突然変異試験の試験デザイン

陰性／溶媒対照群

	S9 活性化	評価系統	評価容量（mL/plate）
DMSO	±	TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102	0.1

陽性対照群

	S9 活性化	評価系統	濃度（μg/mL）	濃度（μg/plate）
ベンゾ[a]ピレン	+	TA98	200	10
2-アミノアントラセン		TA100, TA1535, TA1537	100	5
		TA102	400	20
2-ニトロフルオレン	–	TA98	100	5
アジ化ナトリウム		TA100, TA1535	40	2
9-アミノアクリジン		TA1537	1000	50
マイトマイシン C		TA102	4	0.2

フルキンチニブ

	S9 活性化	評価系	濃度（μg/mL）	濃度（μg/plate）
フルキンチニブ	±	TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102	0.05, 0.16, 0.5, 1.6, 5, 16, 50	5, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000

出典：8456880 試験
DMSO：ジメチルスルホキシド、S9：ラット肝代謝活性化系

細菌叢の減少及び／又は復帰変異コロニー数の顕著な減少はみられず、本試験条件下で生育阻害は認められなかった。S9 非存在下及び存在下のいずれにおいても、500 μg/plate 以上で析出が認められた。溶媒対照の結果は、試験施設の背景データの許容範囲内であり、陽性対照は明らかな復帰変異コロニー数の増加を誘発した。

フルキンチニブは、S9 の存在下又は非存在下のいずれの用量でも、陰性／溶媒対照と比較して、1.5 倍（TA102）、2 倍（TA98 及び TA100）又は 3 倍（TA1535 及び TA1537）以上の復帰変異コロニー数（平均値）の増加を誘発せず、本試験条件下において、フルキンチニブに変異原性は認められなかった。

2.6.6.4.2 In vitro チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験（8456884 試験）

：添付資料番号 4.2.3.3.1-4（評価）

CHO 細胞を S9 の非存在下又は存在下で処理して染色体に対するフルキンチニブの染色体異常誘発能を評価した。

フルキンチニブの CHO 細胞に対する細胞毒性を評価した後、CHO 細胞を表 2.6.6.4-2 に示すフルキンチニブの濃度で、S9 存在下又は非存在下で 3 時間（17 時間の回復期間あり）、又は S9 非存在下で 20 時間連続（回復期間なし）培養した。すべての細胞を処理開始 20 時間後に回収した。試験デザインを表 2.6.6.4-2 に示す。

表 2.6.6.4-2 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた in vitro 染色体異常試験の試験デザイン

	被験物質	処理条件	最終濃度（μg/mL）
陰性対照群	DMSO	3+17 hr, -S9, 3+17 hr, +S9, 20+0 hr, -S9	0.1 mL/culture
陽性対照群	マイトマイシン C	3+17 hr, -S9	1
		20+0 hr, -S9	1
	シクロホスファミド	3+17 hr, +S9	6
染色体異常誘発群	フルキンチニブ	3+17 hr, -S9	10, 25, 40, 45, 50
		3+17 hr, +S9	10, 30, 45, 50
		20+0 hr, -S9	2, 8, 20, 25

出典：8456884 試験
DMSO：ジメチルスルホキシド、S9：ラット肝代謝活性化系

フルキンチニブでは、S9 非存在下の 3 時間処理後（45 及び 50 μg/mL）及び 20 時間処理後（25 μg/mL）にギャップを除く異常を持つ細胞数の正常範囲を超える増加が散発的に認められた。しかし、これらの増加は沈殿が生じる濃度のみで認められ、2 枚のシャーレの片方のみで認められた。また、沈殿を生じない最大濃度である S9 非存在下の 3 時間処理の 40 μg/mL 又は 20 時間処理の 20 μg/mL では異常細胞の増加はみられなかった。その結果、陽性判定基準を満たさなかった。

S9 存在下で 3 時間培養した処理条件で、フルキンチニブ処理群では溶媒対照及び正常範囲を上回る数的異常細胞頻度の増加が認められた。これらの増加は主に解析中に観察された核内倍加細胞数によるものであった。OECD 473 ガイドラインによると、in vitro 染色体異常試験は数的異常を評価するために特別にデザインされたものではない。S9 非存在下で 3 時間又は 20 時間培養した処理条件で、溶媒対照及び正常範囲を上回る数的異常細胞頻度の増加は認められなかった。

溶媒対照の結果は、試験施設の背景データから判定した許容範囲内であり、陽性対照は明らかな染色体異常数の増加を誘発した。

以上、S9 の非存在下及び存在下で 3 時間又は S9 の非存在下で 20 時間処理したとき、フルキンチニブは培養 CHO 細胞に染色体の構造異常を誘発しなかった。

2.6.6.4.3 ラットを用いた小核試験及びコメットアッセイ（8456891 試験）

：**添付資料番号 4.2.3.3.2-2（評価）**

Sprague Dawley ラットを用いて、フルキンチニブの小核誘発能（小核試験）及び／又はデオキシリボ核酸（DNA）鎖切断誘発能（コメットアッセイ）をそれぞれ骨髄多染性赤血球（PCE）と肝細胞で評価した。

小核／コメットアッセイの高用量設定のために、3 例の雄ラットにフルキンチニブを 2000 mg/kg/日の用量で 3 日間反復経口投与した。忍容性が確認できたことから、本試験の最高用量として 2000 mg/kg/日を選択した。また、過去の試験でラットの雌雄間で曝露量に大きな差は認められなかったことから、雄のみを用いた。

雄ラット 27 例を 5 群に割り付けた。各群の動物数は、溶媒対照群（1 群）及びフルキンチニブ投与群（2～4 群）を各 6 例、陽性対照群を 3 例とした。第 1 群には溶媒（0.5% CMC-Na）

を、2、3 及び 4 群にはそれぞれ 500、1000 及び 2000 mg/kg/日の用量でフルキンチニブを、5 群には陽性対照のメタンスルホン酸エチル 150 mg/kg/日を、3 日間、10 mL/kg の投与液量で強制経口投与し、投与 3 日（48 時間）にすべての動物から骨髄及び肝臓を採取した。また、剖検時に血液を採取し、血液生化学的検査を実施した。雄ラット 9 例を TK 評価のためサテライト群（各群 3 例）に割り付け、フルキンチニブ 500、1000 又は 2000 mg/kg を 10 mL/kg の投与液量で単回経口投与した。

小核試験では、各動物及び群の平均値について PCE の割合を算出した。小核を有する PCE（MNPCE）の頻度及び MNPCE の割合を各動物について求め、群平均を求めた。

コメットアッセイでは、剖検時（3 日目、48 時間）に肝臓を採取した。動物あたり 150 個の細胞を用いて、電気泳動後の DNA の尾部（tail）の蛍光強度を測定し細胞全体の輝度に対する尾部（DNA 鎖切断部分）の DNA 割合（%Tail Intensity）を解析した。また、観察時にヘッジホッグ（高度に損傷した細胞が示す形態であり、しばしば細胞毒性、壊死又はアポトーシスを伴う）の数も記録した。試験デザインを表 2.6.6.4-3 に示す。

表 2.6.6.4-3　ラットを用いた小核試験及びコメットアッセイの試験デザイン

処理／試験目的	群	投与量（mg/kg/day）	濃度（mg/mL）	例数
フルキンチニブ／用量設定	1RF	2000	200	3
フルキンチニブ／主試験	1	0 [a]	0	6
	2	500	50	6
	3	1000	100	6
	4	2000	200	6
メタンスルホン酸エチル／陽性対象	5	150	15	3
フルキンチニブ／TK 評価 [b]	1TK	500 [c]	50	3
	2TK	1000 [c]	100	3
	3TK	2000 [c]	200	3

出典：8456891 試験
RF：用量設定、TK：トキシコキネティクス
a. 溶媒対照群の投与媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム。
b. 血液試料は投与後 1、2、4、8、12 及び 24 時間に採取した。
c. 単回投与

本試験では、死亡例はみられず、投薬に関連した一般状態の変化は認められなかったが、すべてのフルキンチニブ投与群で体重減少がみられた。

すべてのフルキンチニブ投与群で ALT、CHOL、TP（A/G の減少を伴うグロブリン増加による）、カルシウム、リン酸塩及び CREA の増加、並びに、クロール、ナトリウム及びカリウムの減少、1000 及び 2000 mg/kg/日群で ALP の増加、並びに 2000 mg/kg/日群で AST の増加がみられた。肝臓の病理組織学的検査では、すべてのフルキンチニブ投与群で肝細胞グリコーゲン減少が用量依存的に認められた。

500、1000 又は 2000 mg/kg/日群の PCE 率は溶媒対照群の平均値と同程度であり、試験実施施設の背景データの 95%の基準範囲内であったことから、骨髄毒性がないことが確認された。500、1000 又は 2000 mg/kg/日群の平均 MNPCE 発現率（それぞれ 0.17%、0.13%及び 0.14%）は、溶媒対照群の平均値（0.07%）と同程度であり、試験実施施設の過去の溶媒対照データの 95%基準範囲内（0%～0.33%）であり、いずれの群においても、溶媒対照群と比較して、小核発現頻度の統計学的に有意な増加は認められず、用量反応性も認められなかった。

コメットアッセイでは、肝臓においてフルキンチニブ投与によるヘッジホッグの割合の明らかな増加は認められず、コメット解析を妨げる可能性のある過度の DNA 損傷は誘発しないことが示された。500、1000 又は 2000 mg/kg/日の用量でフルキンチニブを投与した動物では、%Tail Intensity の群平均は溶媒対照群の平均値と同程度であり、試験実施施設の溶媒対照の背景データの 95%の基準範囲内であった。いずれのフルキンチニブ群でも、溶媒対照群と比較して、%Tail Intensity に統計的に有意な増加は認められず、用量反応性も認められなかった。

溶媒対照群の群平均データ（%MNPCE 及び%Tail Intensity）は、同施設の溶媒対照群の背景データの 95%の基準範囲内であった。陽性対照群では、溶媒対照群と比較して、骨髄及び肝臓の%MNPCE 及び%Tail Intensity の有意な増加が認められ、これらは試験実施施設の過去の陽性対照データと同程度であった。したがって、本試験が有効と認められた。

以上の結果から、本試験条件下で最高 2000 mg/kg/日（現行の規制ガイドラインに従ったこれらの in vivo 試験の最大推奨用量）の用量まで検討したとき、フルキンチニブは骨髄の MNPCE を増加させず、肝臓の DNA 鎖切断も誘発しなかった。

2000 mg/kg 単回投与後の AUC_{24} 値は、フルキンチニブで 169000 ng·hr/mL、M11 で 3040 ng·hr/mL であった。

2.6.6.5 がん原性試験

ICH S9 に準拠して、がん原性試験は実施していない。

ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験では、投薬に関連した増殖性病変及び前癌病変は認められず、遺伝毒性も認められなかったことから、フルキンチニブ投与によるがん原性のリスクは低いと考えられた。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

NMPA GLP 規則に従って胚・胎児発生毒性試験を実施したが、US FDA、OECD 及び／又は MHRA の GLP 規則に従って再度実施した試験を本申請資料で使用する（2.6.6.6.1 以降に記載）。NMPA GLP 試験の概要を以下に示す。

- Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの胚・胎児発生毒性試験（[redacted]54RB1）：妊娠ラットに 0、0.025、0.1 又は 0.25 mg/kg/日のフルキンチニブを妊娠 6～15 日まで強制経口投与し、母体または胎児に対するフルキンチニブの毒性を評価した。0.1 mg/kg/日群で、胎児で奇形、体重減少及び骨化の遅延、0.25 mg/kg/日群で、母体体重増加の低下、胎児で胚発生異常、奇形、体重減少、骨化遅延が認められた（4.2.3.5.2-1）。

2.6.6.6.1 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（[redacted]54RA1 試験）

：添付資料番号 4.2.3.5.1-1（参考）

Sprague Dawley ラットを用い、フルキンチニブの受胎能及び着床までの初期胚発生に及ぼす影響を検討した。フルキンチニブを雄には交配 4 週間前から計画剖検前日まで、雌には交配 2 週間前から妊娠 7 日まで連続してフルキンチニブを強制経口投与し、受胎能及び初期胚発生毒性に対するフルキンチニブの毒性を評価した。160 例（雌雄各 80 例）のラットを雌雄

各 20 例／群からなる 4 群に割り付け、第 1 群（0 mg/kg/日）に溶媒（0.5% CMC-Na）を、雌の 2、3 及び 4 群にはそれぞれ 0.05、0.15 及び 0.5 mg/kg/日の用量を、雄の 2、3 及び 4 群にはそれぞれ 0.3、1 及び 3 mg/kg/日の用量を、交配前（雄は 4 週間、雌は 2 週間）から交配期間を経て計画剖検前日（雄）又は妊娠初期（雌は妊娠 7 日）まで、5 mL/kg の投与液量で 1 日 1 回強制経口投与した。

雌は、投与 15 日目（初回投与を 1 日目とした）から雄と 1：1 で交配させ、8 日間の交配期間中、妊娠の指標として膣栓及び／又は膣垢内精子の有無を毎日検査し、膣栓又は精子の存在日を妊娠 0 日とした。

動物の生死、一般状態を評価した。体重は、雄は週 2 回、雌は交配前に週 2 回、その後、妊娠 0、3、7、10、13 及び 15 日に測定した。摂餌量は、雄は投与期間中に週 1 回、雌は交配前に週 1 回、その後妊娠 0、7 及び 15 日に測定した。発情周期は、初回投与の 14 日前から同居終了まで毎日検査した。

雄は投与期間終了後に安楽殺し、片側の精巣上体を精子運動性、精子数及び形態学的評価に用い、他方の精巣上体と両側の精巣は組織病理学的検査を実施した。妊娠 15 日に交尾したすべての雌を安楽殺し、剖検を実施し、黄体数、着床数、死亡胎児数、生存胎児数及び吸収胚数を記録した。また、交尾率、着床前/着床後胚死亡数の平均値、生存胚、死亡胚、吸収胚及び着床前／着床後胚死亡率を算出した。

試験デザインを表 2.6.6.6-1 に示す。

表 2.6.6.6-1　Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の試験デザイン

投与群	投与量（mg/kg/day）		濃度（mg/mL）		投与液量	例数	
	雄	雌	雄	雌	（mL/kg）	雄	雌
1	0[a]	0[a]	0	0	5	20	20
2	0.3	0.05	0.06	0.01	5	20	20
3	1	0.15	0.2	0.03	5	20	20
4	3	0.5	0.6	0.1	5	20	20

出典：[redacted]54RA1 試験

[a] 溶媒対照群の投与媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム。

すべての動物が計画剖検時まで生存した。

一般状態観察では 1 及び 3 mg/kg/日群の雄のみで、36 日間投与後にそれぞれ 20 例中 6 例及び 20 例中 11 例で切歯破損が認められた。

雄では、1 及び 3 mg/kg/日群でそれぞれ投与 36 日及び投与 32 日以降に統計学的に有意な体重増加量の減少が認められた。雌の体重、雌雄の摂餌量に変化は認められなかった。

計画剖検時には、雌雄ともに投薬に関連する剖検所見は認められなかった。

雄の生殖機能に関する検査では、交尾、授精、精子検査パラメータ並びに精巣及び精巣上体の病理組織学的検査に投薬に関連した変化は認められなかった。

雌の生殖機能及び胚形成に関する検査では、0.5 mg/kg/日群で、対照群と比較して、吸収胚及び着床後胚死亡率の増加並びに生存胎児数及び生存胎児率の減少が認められた。交配、妊娠パラメータ及び性周期に、投薬に関連した変化は認められなかった。

一般毒性に対する NOAEL は、雄で 0.3 mg/kg/日、雌で 0.5 mg/kg/日、受胎能に対する NOAEL は、雄で 3 mg/kg/日、雌で 0.5 mg/kg/日であった。初期胚発生に関する NOAEL は 0.15 mg/kg/日であった。

2.6.6.6.2 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの胚・胎児発生に関する強制経口投与用量設定試験（トキシコキネティクスを含む）（8449386 試験）

：添付資料番号 4.2.3.5.2-2（参考）

器官形成期（妊娠 6～17 日）の妊娠 Sprague Dawley ラットにフルキンチニブを反復強制経口投与し、母体及び胚・胎児の忍容性並びに TK を評価した。

42 例の妊娠ラットを 4 群に割り付け、第 1 群（対照群、0 mg/kg/日）に溶媒（0.5% CMC-Na）、2、3 及び 4 群にそれぞれ 0.05、0.25 及び 1.25 mg/kg/日を投与した。対照群は 6 例、2、3 及び 4 群は、評価動物として各群 6 例、TK 評価動物として各群 6 例を用いた。投与液量は 0.05 mg/kg/日群は 2 mL/kg、対照群、0.25 及び 1.25 mg/kg/日群は 4 mL/kg として、妊娠 6～17 日まで 1 日 1 回強制経口投与した。妊娠 21 日にすべての動物を帝王切開した。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、剖検及び帝王切開所見を検査した。また、TK 評価用の血液試料を妊娠 6 及び 17 日に採取した。

試験デザインを表 2.6.6.6-2 に示す。

表 2.6.6.6-2　Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの胚・胎児発生に関する強制経口投与用量設定試験の試験デザイン

投与群	投与量 (mg/kg/day)	投与液濃度 (mg/mL)	投与液量 (mL/kg)	例数	
				主群	TK 群
1	0[a]	0	4	6	0
2	0.05	0.025	2	6	6
3	0.25	0.0625	4	6	6
4	1.25	0.3125	4	6	6

出典：8449386 試験
TK：トキシコキネティクス
[a] 対照群の投与媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム。

いずれの投与群においても死亡は認められず、投薬に関連した一般状態の変化は認められなかった。投与期間中（妊娠 6～18 日）に平均体重増加量の減少が認められた。すべての用量群で妊娠 12～15 日以降に平均体重増加量の減少が認められた。

平均摂餌量の減少がすべての投与群で認められ、妊娠中期に最も減少した。

帝王切開パラメータに対する投薬に関連した影響がすべての投与群で認められた。1.25 mg/kg/日群ではすべての母動物で全胚が吸収されたことから着床後胚死亡率は 100%を示し、早期吸収胚数及び着床後胚死亡率は顕著に増加した。0.05 又は 0.25 mg/kg/日群でも着床後胚死亡率が用量依存的に増加しており、その結果、対照群と比較して、すべての投与群で、生存胎児数及び妊娠子宮重量が用量依存的に減少した。すべての投与群で、母動物の子宮を含まない体重重量は対照群と比較して顕著に増加したことから、すべての用量で認められた母動物の体重増加量の減少は胚・胎児死亡に起因すると考えられた。

0.25 mg/kg/日群で投薬に関連した胎児の外表異常が認められ、外表変異として浮腫、奇形として全身浮腫、頭蓋髄膜瘤、舌突出及び短尾などが認められた。0.05 mg/kg/日群では、胎児に異常は認められなかった。

妊娠 6 及び 17 日における曝露量を評価した結果、妊娠 6 日では概ね用量比に従い、妊娠 17 日では用量比例性を上回って増加した。

TK データについては、2.6.4.3.4.1 (6)に記載する。

2.6.6.6.3 Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験（トキシコキネティクスを含む）（8449387 試験）

：添付資料番号 4.2.3.5.2-3（評価）

器官形成期（妊娠 6～17 日）の妊娠 Sprague Dawley ラットにフルキンチニブを反復強制経口投与し、母体及び胚・胎児の忍容性、母体毒性、胚・胎児発生への影響、並びに TK を評価した。109 例の妊娠ラットを 4 つの試験群に割り付けた。第 1 群の対照群（0 mg/kg/日）には 25 例（22 例を主試験、3 例を TK 評価）を用い、溶媒（0.5% CMC-Na）を投与した。第 2、3 及び 4 群には各群 28 例（22 例を主試験、6 例を TK 評価）を用い、それぞれ 0.025、0.1 及び 0.25 mg/kg/日 (2 mL/kg) のフルキンチニブを妊娠 6～17 日まで 1 日 1 回強制経口投与した。妊娠 21 日に帝王切開を実施した。動物の生死、一般状態、体重、摂餌量、剖検及び帝王切開所見を検査した。TK 評価用の血液試料を妊娠 6 及び 17 日に採取した。

試験デザインを表 2.6.6.6-3 に示す。

表 2.6.6.6-3　Sprague Dawley ラットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験の試験デザイン

投与群	投与量 (mg/kg/day)	投与液濃度 (mg/mL)	投与液量 (mL/kg)	例数	
				主群	TK 群
1	0 [a]	0	2	22	3
2	0.025	0.0125	2	22	6
3	0.1	0.05	2	22	6
4	0.25	0.125	2	22	6

出典：8449387 試験
TK ：トキシコキネティクス
[a] 対照群の投与媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム。

いずれの投与群においても死亡は認められず、全例が計画剖検時まで生存した。

一般状態所見として、フルキンチニブを投与した全群で投与後 2～4 時間に立毛が認められ、0.1 又は 0.25 mg/kg/日群では、活動性低下、頭部の上下運動、運動失調及び不規則呼吸が用量依存的に認められた。これらの所見は一過性であり、午後の観察では消失した。これらの所見は用量依存性がみられ、対照群では認められなかったことから、投薬に関連した所見と考えられたが、忍容性があることから、有害ではないと考えられた。

0.25 mg/kg/日群で、投薬に関連した体重への影響が認められた。投与期間中（妊娠 6～18 日）の平均体重増加量は、対照群に比べて統計学的に有意に減少したが、試験期間全体（妊娠 6～21 日）の総平均体重及び平均体重増加量は対照群と同程度であった。0.25 mg/kg/日群の平均体重増加量は、対照群と比較して妊娠 15～18 日に 25%（10 g）減少したが、これは着

床後胚死亡によるものと考えられた。投与終了後の平均体重増加量が増加し、妊娠 21 日の剖検時の体重は対照群と同程度に回復した。0.25 mg/kg/日群の統計学的に有意な体重増加量の減少は投薬に起因する変化と考えられたが、軽微であったことから有害ではないと考えられた。

いずれの用量においても、平均摂餌量及び生殖能に対する投薬に関連した影響は認められなかった。

剖検では、すべての投薬群で、胸腺の硬化及び／又は変色が認められた。

0.25 mg/kg/日では、統計学的に有意な平均胎児体重の減少及び生存胎児数の減少が認められた。

0.25 mg/kg/日群の平均生存胎児数は 11.5 であったのに対し、対照群では 13.5 であった。0.25 mg/kg/日群でみられた着床後胚死亡数及び着床後胚死亡率の平均値の増加は投薬に関連する変化と考えられた。

0.25 mg/kg/日群の平均胎児体重（雌雄及び雌）に統計学的に有意な減少がみられ、雌雄胎児又は雌胎児で、対照群と比較して、それぞれ 3.6 又は 3.9%の低値を示した。これらの減少は、本用量で認められた胎児異常と関連していると考えられた。

胎児の外表、内臓及び骨格異常として、0.1 又は 0.25 mg/kg/日群で投薬に関連した発生毒性が認められた。頭部外表及び尾部の奇形が 0.25 mg/kg/日群で高頻度にみられ、浮腫及び舌突出が 0.1 mg/kg/日以上の群で認められた。0.1 又は 0.25 mg/kg/日群では、胎児の内臓血管奇形（血管の欠損又は位置異常）も認められた。0.1 mg/kg/日以上の群のこれら胎児奇形及び変異は、発現率の増加及び VEGFR 阻害による既知の変化であることから、投薬に関連すると考えられた。

フルキンチニブと関連のある椎骨又は四肢骨の骨格の所見として、0.1 及び 0.25 mg/kg/日群の胎児に、奇形として腰椎半椎体、変異として前肢中手骨及び指節骨の未骨化、尾椎の配列異常又は未骨化、過剰腰椎、腰椎椎体の二分骨化又は一側性骨化、胸椎体の二分骨化、不完全骨化、一側性骨化又は未骨化が認められた。0.1 又は 0.25 mg/kg/日群のすべての椎骨異常の発現頻度は、試験実施施設の背景データ範囲外であり、投薬に関連すると考えられた。

0.025 mg/kg/日を投与した動物では、投薬に関連した胎児異常は認められなかった。

フルキンチニブの曝露量は、0.025 mg/kg/日から 0.25 mg/kg/日への用量増加に伴って増加した。

本試験の結果から、母動物に対する NOAEL は 0.25 mg/kg/日、胎児発生に対する NOAEL は 0.025 mg/kg/日であった。妊娠 17 日のフルキンチニブの AUC_{24} 及び C_{max} は、0.25 mg/kg/日でそれぞれ 1260 ng·hr/mL 及び 187 ng/mL、0.025 mg/kg/日でそれぞれ 114 ng·hr/mL 及び 19 ng/mL であった。代謝物 M11 は、0.025 及び 0.1 mg/kg/日群の多くの動物で定量下限未満であり、AUC_{24} 及び C_{max} 値は算出されなかった。

TK データについては、2.6.4.3.4.1 (7)に記載した。

2.6.6.7 局所刺激性試験

ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験の一環として、一般状態、消化管の肉眼的及び病理組織学的評価を実施し、フルキンチニブの局所刺激性を評価した。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 不純物に関する試験

原薬の規格には、ICH Q3A(R2)に基づく安全性確認の必要な閾値である 0.15%を超える個別規格設定不純物はなかった（2.6.7.4、3.2.S.4）。さらに、フルキンチニブの合成に使用するすべての出発物質、中間体及び試薬、並びに潜在的不純物について、[redacted] V.[redacted] 及び [redacted] V.[redacted] の両バージョンを用いて、遺伝毒性の可能性を ICH M7(R1)に従って評価した。特定されたすべての潜在的な遺伝毒性不純物は、パージデータ及び／又はパージファクター評価に基づき、ICH M7(R1)に従って TTC に基づく許容摂取量を下回るレベルまで製造工程で効果的に除去される（3.2.S.2.6）。そのため、患者集団（進行がん）及び予想投与期間 3～4 ヵ月に基づく ICH S9 に準拠し、申請規格の裏付けとなる追加評価は実施していない。

2.6.6.8.2 モルモットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による光毒性試験（[redacted]186PT02 試験）

：添付資料番号 4.2.3.7.7-1（参考）

フルキンチニブは、290～700 nm の波長範囲の光を吸収し（3.2.S.3.1）、モル吸光係数は 1000 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ を上回る吸収極大を示し、ラット全身オートラジオグラフィー試験において、フルキンチニブはメラニン含有組織（ぶどう膜、眼、皮膚など）に分布することが示された（2.6.4.4.2.2）。そのため、モルモットに単回強制経口投与したときのフルキンチニブの潜在的な光毒性及び TK プロファイルを評価する in vivo 試験を実施し、フルキンチニブの光毒性を評価した。

Hartley モルモット 40 例（雌雄各 20 例）を雌雄各 4 例の 5 群に無作為に割り付け、フルキンチニブを 0（0.5% CMC-Na）、5、25 又は 100 mg/kg を 10 mL/kg の投与液量で単回強制経口投与及び陽性対照として 0.1%メトキサレン溶液 0.2 mL／部位を皮内投与した。また、溶媒対照群及びフルキンチニブ投与群について、32 例のモルモットを各群雌雄各 4 例のサテライト群に割り付け、フルキンチニブの TK 評価を実施した。10 J/cm^2 の紫外線 A を、陽性対照群では投与後約 30 分に、溶媒対照群及びフルキンチニブ投与群では投与後 120 分に照射し、紫外線照射後 1、24、48 及び 72 時間にモルモットの皮膚反応を観察した。試験デザインを表 2.6.6.8-1 に示す。

表 2.6.6.8-1　モルモットを用いたフルキンチニブの強制経口投与による光毒性試験の試験デザイン

投与群	被験薬	投与量（mg/kg）	投与検体濃度	例数（雄／雌）	
				主群	TK 群
1	0[a]	0	0 mg/mL	4/4	4/4
2	フルキンチニブ	5	0.5 mg/mL	4/4	4/4
3	フルキンチニブ	25	2.5 mg/mL	4/4	4/4
4	フルキンチニブ	100	10 mg/mL	4/4	4/4
5	0.1%メトキサレン溶液	0.2 mL/site	0.1%	4/4	NA

出典：[redacted]186PT02 試験
NA：該当せず、TK：トキシコキネティクス
[a] 対照群の投与媒体：0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム。

100 mg/kg 群の雌 1 例及び陽性対照群の雌 1 例が照射後 1 日目（麻酔から照射終了までの約 1.5 時間）に死亡したが、麻酔に起因する可能性が考えられた。その他、試験期間中に瀕死状態を示す動物は認められなかった。UVA 照射／非照射溶媒対照群及び非照射陽性対照群では、紅斑又は浮腫の徴候は認められなかった。照射陽性対照群の皮膚では、全例で照射後 24、48 及び 72 時間に紅斑又は浮腫を含む皮膚反応が認められた。フルキンチニブを投与した群では、いずれの時点においても非照射皮膚及び照射皮膚に反応は認められず、フルキンチニブは 5、25 及び 100 mg/kg のいずれの投与量においても光毒性陰性と判定された。

TK 評価の結果、いずれの用量においても、フルキンチニブ及び M11 の曝露量に性差は認められなかった。

光毒性が認められなかったことから、NOAEL は 100 mg/kg であり、本用量でのフルキンチニブの AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値は、それぞれ 94200 ng·hr/mL 及び 6400 ng/mL、M11 の AUC_{24} 及び C_{max} の雌雄平均値はそれぞれ 7250 ng·hr/mL 及び 500 ng/mL であった。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 非臨床毒性試験

フルキンチニブの毒性評価として、ラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験（それぞれ最長 26 週間及び最長 39 週間）、一連の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する毒性試験、ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験及びモルモットを用いた光毒性試験を実施した。反復投与毒性試験では免疫毒性及び局所刺激性も評価した。このうち、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験並びに胚・胎児発生毒性試験は、当初 NMPA GLP 規則に従って実施したが、US FDA、OECD 及び／又は MHRA の GLP 規則に従って再度実施し、本申請資料に詳細を示した。

ラット及びイヌを用いた単回投与毒性試験では、MTD はそれぞれ 2000 及び 1000 mg/kg であり、消化管が主な標的臓器であった。

ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験では、フルキンチニブの主な毒性標的臓器は、肝胆道系（ALP、ALT、AST、CHOL 及び TG の上昇、並びに肝細胞の壊死/変性及び胆管過形成）、腎臓（BUN 上昇、腎糸球体変性、硝子円柱）、消化管（下痢及び消化管出血）、副腎（うっ血及び出血）、免疫系（胸腺のリンパ球の減少及び萎縮、脾臓の萎縮、腸間膜リンパ節の肥満細胞の浸潤）、ブルンナー腺の変性、壊死及び炎症、造血系（骨髄の造血細胞減少）及び骨格系（大腿骨骨端軟骨の肥厚及び切歯の破損／喪失）であった。これらの毒性変化は、一部の骨格系の変化（ラットにおける切歯の破損／喪失）を除き、いずれも休薬により回復又は回復傾向を示した。

ラットを用いた 4 週試験の NOAEL は 2 mg/kg/日、13 週試験の NOAEL 及び STD_{10} はそれぞれ 0.3 及び 1.2/2.4 mg/kg/日（投与 44 日から増量）、26 週試験の LOAEL は 0.5/0.25 mg/kg/日（投与 50 日から減量）であった。イヌでは、4 及び 39 週試験の NOAEL はそれぞれ 0.1 及び 0.03 mg/kg/日、13 週試験の HNSTD は 0.12 mg/kg/日であった。これらの値を用いて、フルキンチニブ及び／又は M11 の曝露量比を算出した（2.6.6.9.2）。

サルモネラ菌を用いた復帰突然変異試験（代謝活性化系存在下／非存在下）、CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（代謝活性化系存在下／非存在下）及びラットを用いた in vivo

小核／コメットアッセイからなる標準的な in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験の結果から、フルキンチニブは遺伝毒性を示さないと考えられた。

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、0.5 mg/kg/日群の雌で対照群と比較して吸収胚数及び着床後胚損失率の増加、生存胎児数及び生存胎児率の減少が認められた。雄の生殖機能並びに雌の交配及び妊娠パラメータ及び性周期パラメータに、投薬に関連した影響は認められず、雄の受胎能、雌の受胎能及び初期胚発生に対する NOAEL は、それぞれ 3、0.5 及び 0.15 mg/kg/日と判断した。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では、母体及び胎児に投薬に関連した影響がみられ、生存胎児数の減少が認められた。発生毒性として、胎児の奇形及び外表、内臓及び骨格異常が認められた。母動物毒性及び胎児発生に関する NOAEL はそれぞれ 0.25 mg/kg/日及び 0.025 mg/kg/日であった。

モルモットを用いた光毒性試験において、100 mg/kg まで光毒性を示さなかった。

2.6.6.9.2 曝露量比

フルキンチニブ及び M11 の臨床用量 5 mg における曝露マージンを、表 2.6.6.9-1 及び表 2.6.6.9-2 に示す。

ラット及びイヌの反復投与毒性試験、ラットの胚・胎児発生毒性試験及びモルモットの光毒性試験の NOAEL 以上の用量における曝露量と 2015-013-00US1 試験における臨床曝露量（5 mg/日を 1 日 1 回投与後、定常状態に達したサイクル 1 の投与 14 日の値）を比較した、フルキンチニブ及び M11 の曝露マージンをそれぞれ表 2.6.6.9-1 及び表 2.6.6.9-2 に示す。また、フルキンチニブ及び M11 の遊離型 AUC 並びに総 C_{max} 及び遊離型 C_{max} の曝露マージンを示す。

表 2.6.6.9-1 に示すように、13 週間反復投与毒性試験の STD_{10} 及び HNSTD における総 AUC は、フルキンチニブの 5 mg の臨床曝露量に対して、ラットで約 3 倍、イヌで 1 倍未満であった。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では、母体毒性及び胎児発生に関する NOAEL におけるフルキンチニブの曝露量比は 1 未満であった。モルモットを用いた光毒性試験では、評価した最高用量でのフルキンチニブの曝露量はヒト曝露量の 4 倍であった。

表 2.6.6.9-1　臨床用量（5 mg）におけるフルキンチニブの曝露マージン

試験の種類／試験番号	NOAEL／LOAEL／STD_{10}／HNSTD（mg/kg/day）	AUC (ng·hr/mL) [a]		C_{max} (ng/mL) [a]		AUC 比		C_{max} 比	
		総濃度	遊離型濃度	総濃度	遊離型濃度	総濃度	遊離型濃度	総濃度	遊離型濃度
ヒト（患者）／2015-013-00US1	5 mg/day	5777	272	291	13.7	NA	NA	NA	NA
ラット 4 週間／[redacted]49RD1	2（NOAEL）	6805	265	800	31	1.2	1.0	2.7	2.3
	20	44467	1734	3301	129	7.7	6.4	11	9.4
	60	75597 [b]	2948	5946 [b]	232	13	11	20	17
ラット 13 週間／8426159	0.3（NOAEL）	1640	64	305	12	0.3	0.2	1.0	0.9
	0.6	3260	127	628	24	0.6	0.5	2.2	1.8
	1.2/2.4（STD_{10}）	15900	620	1880	73	2.8	2.3	6.5	5.3
ラット 26 週間／[redacted]54RD1	0.5/0.25（LOAEL)、	3676	143	327	13	0.6	0.5	1.1	0.9
	1.5/0.75	5928	231	632	25	1.0	0.8	2.2	1.8
	5/3/1.5	9809	383	890	35	1.7	1.4	3.1	2.6
	10/6	48374 [b]	1887	4260 [b]	166	8.4	6.9	15	12
イヌ 4 週間／[redacted]49RD2	0.1（NOAEL)	618	74	48	5.7	0.1	0.3	0.2	0.4
	0.3	1399[b]	166	78 [b]	9.3	0.2	0.6	0.3	0.7
イヌ 13 週間／8449374	0.03	298	35	18	2.1	0.05	0.1	0.1	0.2
	0.06	698	83	39	4.6	0.1	0.3	0.1	0.3
	0.12（HNSTD)	1480	176	105	13	0.3	0.6	0.4	0.9
イヌ 39 週間／[redacted]54RD2	0.03（NOAEL）	343	41	31	3.7	0.06	0.2	0.1	0.3
	0.1/0.06	968	115	132	16	0.2	0.4	0.5	1.2
	0.2/0.12	1771	211	130	15	0.3	0.8	0.4	1.1
ラット胚・胎児発生／8449387	0.25（母動物 NOAEL)	1260	49	187	7.3	0.2	0.2	0.6	0.5
	0.025（胚・胎児発生 NOAEL）	114	4.4	19	0.7	0.02	0.02	0.07	0.05
モルモット光毒性／[redacted]186PT02	100（NOAEL）	94200	ND	6400	ND	16	ND	22	ND

AUC：血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度; GD：妊娠；HNSTD：重篤な毒性が発現しない最大投与量、LOAEL：最小毒性量、NA：該当せず、ND：評価せず、NOAEL：無毒性量、QD：1 日 1 回、STD_{10}：供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する投与量

AUC 及び C_{max} は雌雄の平均値を用いた。

フルキンチニブの血漿蛋白結合率：ラット（96.1%）、イヌ(88.1%)、ヒト（95.3%）。

フルキンチニブ 1 日 1 回 5 mg を患者に投与後の定常状態（サイクル 1 の 14 日）における AUC 及び C_{max} を、ヒトにおける定常状態の曝露量として用いた。

C_{max} 比：動物におけるフルキンチニブの C_{max}／ヒトにおけるフルキンチニブの C_{max}。

AUC 比：動物におけるフルキンチニブの C_{max}／ヒトにおけるフルキンチニブの C_{max}。

a　特記しない場合、毒性試験の最終投与日の曝露量を示す。すなわち、4 週間、13 週間、26 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では、それぞれ投与 28 日、91 日、182 日及び 273 日における曝露量を、胚・胎児発生試験では妊娠 17 日、光毒性試験では投与 1 日の曝露量である。

b　死亡のため投与 1 日の曝露量のみが得られた。

表 2.6.6.9-2　臨床用量（5 mg）における M11 の曝露マージン

試験の種類／試験番号	NOAEL／LOAEL／STD_{10}／HNSTD（所見／標的臓器）（mg/kg/day）	AUC (ng·hr/mL) [a]		C_{max} (ng/mL) [a]		AUC 比		C_{max} 比	
		総濃度	遊離型濃度	総濃度	遊離型濃度	総濃度	遊離型濃度	総濃度	遊離型濃度
ヒト（患者）／2015-013-00US1	5 mg/day	1668	38.4	77.4	1.8	NA	NA	NA	NA
ラット 13 週間／8426159	0.3（NOAEL）	30.3	1.03	2.50	0.085	0.02	0.03	0.03	0.05
	0.6	66.8	2.27	4.56	0.16	0.04	0.06	0.06	0.09
	1.2/2.4（STD_{10}）	371	12.6	22.3	0.76	0.2	0.3	0.3	0.4
イヌ 13 週間／8449374	0.03	18.3	0.95	1.11	0.06	0.01	0.02	0.01	0.03
	0.06	38.8	2.0	2.17	0.11	0.02	0.05	0.03	0.06
	0.12（HNSTD)	87.8	4.6	4.96	0.26	0.05	0.1	0.06	0.1
モルモット光毒性／[redacted]186PT02	100（NOAEL）	7250	ND	500	ND	4.3	ND	6.5	ND

AUC：血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度; GD：妊娠；HNSTD：重篤な毒性が発現しない最大投与量、NA：該当せず、ND：評価せず、NOAEL：無毒性量、STD_{10}：供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する投与量

AUC 及び C_{max} は雌雄の平均値を用いた。

M11 は代謝物 HM5025423 である。

M11 の血漿蛋白結合率：ラット（96.6%）、イヌ（94.8%）、ヒト（97.7%）。

フルキンチニブ 1 日 1 回 5 mg を患者に投与後の定常状態（サイクル 1 の 14 日）における AUC 及び C_{max} を、ヒトにおける定常状態の曝露量として用いた。

C_{max} 比：動物における血漿中 M11 の C_{max}／ヒトにおける血漿中 M11 の C_{max}。

AUC 比：動物における M11 の AUC／ヒトにおける M11 の AUC。

[a] 動物試験における最終投与日の曝露量（13 週反復投与毒性試験の投与 91 日及び光毒性試験の投与 1 日における曝露量）。

非臨床安全性試験で認められた有害作用は、分裂の速い組織を標的とした化合物の曝露により予想されるものであり、特定された標的臓器は、薬理作用に起因すると考えられた。非臨床安全性試験における STD_{10}、HNSTD、LOAEL 又は NOAEL と患者集団における臨床有効用量との曝露量比は低いが、非臨床安全性プロファイルは作用機序と一致しており、また、臨床開発中の臨床安全性モニタリングが可能である。

2.6.6.10 参考文献一覧

該当せず

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表....2
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表....6
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表 8
2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧 14
2.6.7.5 単回投与毒性試験.... 15
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 16
2.6.7.7 反復投与毒性試験.... 17
2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験 54
2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験 59
2.6.7.10 がん原性試験 61
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：予備試験.... 62
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 63
2.6.7.13 生殖発生毒性試験 66
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 70
2.6.7.15 新生児を用いた試験.... 71
2.6.7.16 局所刺激性試験 72
2.6.7.17 その他の毒性試験 73

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：フルキンチニブ

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	添付資料番号	区分
Single-Dose Toxicity									
Single-dose toxicity study in rats	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	Single dose	0, 2000 mg/kg	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]49AD1	4.2.3.1-1	参考
Single-dose toxicity study in dogs	Dog, Beagle	Oral gavage	Single dose	1000 mg/kg	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]49AD2	4.2.3.1-2	参考
Repeat-Dose Toxicity									
4-Week toxicity study in rats with a 4-week recovery period	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	4 weeks, once daily	0, 2, 20, 60 mg/kg	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]49RD1	4.2.3.2-1	参考
13-Week toxicity study in rats with a 4-week recovery period	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	13 weeks, once daily	0, 0.3, 0.6, 1.2/2.4 mg/kg (increased from Day 44)	US FDA/ NMPA/ OECD GLP [b]	[redacted], China	8426159	4.2.3.2-2	評価
26-Week toxicity study in rats with a 4-week recovery period	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	26 weeks, once daily	0, 0.5/0.25 (decreased from Day 50), 1.5/0.75 (decreased from Day 50), 5/3/1.5 mg/kg (decreased from Day 29/ Day 50, respectively), 10/6 (decreased from Day 29)	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]54RD1	4.2.3.2-3	参考
4-Week toxicity study in dogs with a 4-week recovery period	Dog, Beagle	Oral capsule	4 weeks, once daily	0, 0.03, 0.1, 0.3 mg/kg	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]49RD2	4.2.3.2-4	参考

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	添付資料番号	区分
13-Week toxicity study in dogs with a 4-week recovery period	Dog, Beagle	Oral capsule	13 weeks, once daily	0, 0.03, 0.06, 0.12 mg/kg	US FDA/ NMPA/ OECD GLP [b]	[redacted], China	8449374	4.2.3.2-5	評価
39-Week toxicity study in dogs with a 4-week recovery period	Dog, Beagle	Oral capsule	39 weeks, once daily	0, 0.01, 0.03, 0.1/0.06 (decreased from Day 15) 0.2/0.12 mg/kg (decreased from Day 15)	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]54RD2	4.2.3.2-6	参考
Genotoxicity (Nonpivotal)									
Bacterial reverse mutation assay	Salmonella typhimurium (TA97a, TA98, TA100, TA1535 and TA102)	In vitro	Approximately 69 hours	0, 18.25, 37.5, 75, 150, 300 µg/plate +/-S9	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]62AM1	4.2.3.3.1-1	参考
Chromosome aberration assay	Chinese hamster lung cells	In vitro	6 +18 hours +S9 [c] 6 +18 hours -S9 [c]	0, 4.5, 9, 18, 36 µg/mL [d] +/-S9	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]62CA1	4.2.3.3.1-2	参考
In vivo micronucleus test in mice	Mouse, ICR	Oral gavage	Single dose	0, 500,1000, 2000 mg/kg	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]62MN1	4.2.3.3.2-1	参考
Genotoxicity (Pivotal)									
Bacterial reverse mutation assay	Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102	In vitro	72 hours	0, 5, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate +/-S9	MHRA/ OECD GLP [e]	[redacted], England	8456880	4.2.3.3.1-3	評価

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	添付資料番号	区分
Chromosome aberration assay	Chinese hamster ovary cells	In vitro	3+17 hours, +S9 [c] 3+17 hours, -S9 [c] 20+0 hours, -S9 [c]	0, 10, 25, 40, 45, 50 µg/mL (3 hours plus 17-hour recovery, in the absence of S9); 0, 10, 30, 45, 50 µg/mL (3 hours plus 17-hour recovery, in the presence of S9); 0, 2, 8, 20, 25 µg/mL (20 hours in the absence of S9)	MHRA/ OECD GLP [e]	[redacted], England	8456884	4.2.3.3.1-4	評価
In vivo micronucleus and alkaline comet study in rats	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	3 doses at 0 (Day 1), 24 (Day 2), and 44 (Day 3) hours	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	MHRA/ OECD GLP [e]	[redacted], England	8456891	4.2.3.3.2-2	評価
Carcinogenicity No carcinogenicity studies have been conducted.									
Reproductive and Developmental Toxicity									
Fertility and early embryo developmental toxicity study	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	Once daily, males were dosed for 28 days prior to mating, through 14 days of mating, continued until the day prior to euthanasia. Females were dosed for 14 days prior to mating until GD 7	Male: 0, 0.3, 1, 3 mg/kg Female: 0, 0.05, 0.15, 0.5 mg/kg	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]54RA1	4.2.3.5.1-1	参考

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	添付資料番号	区分
Embryo-fetal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	Once daily GD 6 to GD 15	0, 0.025, 0.1, 0.25	NMPA GLP [a]	[redacted], China	[redacted]54RB1	4.2.3.5.2-1	参考
Dose range- finding embryo-fetal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	Once daily GD 6 to GD 17	0, 0.05, 0.25, 1.25	No	[redacted], USA	8449386	4.2.3.5.2-2	参考
Embryo-fetal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	Once daily GD 6 to GD 17	0, 0.025, 0.1, 0.25	US FDA GLP [f]	[redacted], USA	8449387	4.2.3.5.2-3	評価
Local Tolerance									
The local tolerance of fruquintinib was evaluated as part of the repeat-dose toxicology studies in rats and/or dogs by evaluating clinical signs and macroscopic and microscopic evaluations of the gastrointestinal tract, in-line with ICH M3(R2).									
Other Toxicity Studies									
Phototoxicity study in guinea pigs	Guinea Pig, Hartley	Oral gavage	Single dose	0, 5, 25, 100	US FDA/ NMPA/ OECD GLP [b]	[redacted], China	[redacted]186PT02	4.2.3.7.7-1	参考

CFDA: China Food and Drug Administration; FDA: Food and Drug Administration; GLP: Good Laboratory Practice; GD: gestation day; MHRA: Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency; NMPA: National Medical Products Administration ; NOAEL: No-Observed-Adverse-Effect Level; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development; S9: 9000×g supernatant of liver homogenate.

Underbar: Dose with underlined represents the maximum tolerated dose (MTD) in the single-dose toxicity studies and the NOAEL in the repeat-dose toxicity studies.

[a] Studies were conducted in China, complied with China's NMPA GLP only.

[b] Studies were conducted in China under US FDA, OECD, and NMPA GLP.

[c] Hours treated + hours recovery.

[d] Concentrations analyzed for induction of chromosome aberrations.

[e] Studies were conducted in the United Kingdom.

[f] Studies were conducted in the United States of America.

Fruquintinib is referred to as HMPL-013 in some study reports.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表

被験物質：フルキンチニブ

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	添付資料番号
Phototoxicity study in guinea pigs	Guinea Pig, Hartley	Oral gavage (Single dose)	0, 5, 25, 100 mg/kg	US FDA/ NMPA/ OECD GLP [a]	[redacted]186PT02	4.2.3.7.7-1
4-Week toxicity study in rats with a 4-week recovery period	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage, once daily	0, 2, 20, 60 mg/kg	NMPA GLP [b]	[redacted]49RD1	4.2.3.2-1
13-Week toxicity study in rats with a 4-week recovery period	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage, once daily	0, 0.3, 0.6, 1.2/2.4 mg/kg (increased from Day 44)	US FDA/ NMPA/ OECD GLP [a]	8426159	4.2.3.2-2
26-Week toxicity study in rats with a 4-week recovery period	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage, once daily	0, 0.5/0.25 (decreased from Day 50), 1.5/0.75 (decreased from Day 50), 5/3/1.5 (decreased from Day 29/Day 50, respectively) and 10/6 mg/kg (decreased from Day 29).	NMPA GLP [b]	[redacted]54RD1	4.2.3.2-3
4-Week toxicity study in dogs with a 4-week recovery period	Dog, Beagle	Oral capsule, once daily	0, 0.03, 0.1, 0.3 mg/kg	NMPA GLP [b]	[redacted]49RD2	4.2.3.2-4
13-Week toxicity study in dogs with a 4-week recovery period	Dog, Beagle	Oral capsule, once daily	0, 0.03, 0.06, 0.12 mg/kg	US FDA/ NMPA/ OECD GLP [a]	8449374	4.2.3.2-5
39-Week toxicity study in dogs with a 4-week recovery period	Dog, Beagle	Oral capsule, once daily	0, 0.01, 0.03, 0.1/0.06 (decreased from Day 15), 0.2/0.12 mg/kg (decreased from Day 15)	NMPA GLP [b]	[redacted]54RD2	4.2.3.2-6
In vivo micronucleus and alkaline comet study in rats	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage [3 doses at 0 (Day 1), 24 (Day 2), and 44 (Day 3) hours]	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	MHRA/ OECD GLP [c]	8456891	4.2.3.3.2-2
Embryo-fetal developmental toxicity study	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 0.025, 0.1, 0.25 mg/kg	NMPA GLP [b]	[redacted]54RB1	4.2.3.5.2-1

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	添付資料番号
Dose range-finding embryo-fetal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 0.05, 0.25, 1.25 mg/kg	No	8449386	4.2.3.5.2-2
Embryo-fetal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 0.025, 0.1, 0.25 mg/kg	US FDA GLP [d]	8449387	4.2.3.5.2-3

CFDA: China Food and Drug Administration; FDA: Food and Drug Administration; GLP: Good Laboratory Practice; NMPA: National Medical Products Administration ; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development.

[a] Studies were conducted in China under US FDA, OECD, and NMPA GLP.

[b] Studies were conducted in China, complied with China's NMPA GLP only, but TK study was not conducted in compliance with NHMP GLP.

[c] Studies were conducted in the United Kingdom.

[d] Studies were conducted in the United States of America.

Fruquintinib is referred to as HMPL-013 in some study reports

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表

2.6.7.3A 単回投与毒性試験：モルモット

被験物質：フルキンチニブ

Species/Route of Administration	Dose (mg/kg)	Time Point	C_{max} (ng/mL)		t_{max} (hours)		AUC_{24} (ng·h/mL)		Study Number	添付資料番号
			M	F	M	F	M	F		
Guinea pig/ Oral gavage (Single dose)	5	Day 1	1090	1030	1.5	2	8510	9640	[redacted]186PT02	4.2.3.7.7-1
	25	Day 1	3500	3110	2	3	40300	39900		
	100	Day 1	5880	6920	6	6	85400	103000		

AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum observed concentration; F: female; M: male; $t_{max:}$ time to reach maximum concentration.
The t_{max} values are presented as median.

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表（続き）

2.6.7.3B 反復投与毒性試験（ラット）

被験物質：フルキンチニブ

Species/Route of Administration	Dose (mg/kg)	Time Point	C_{max} (ng/mL)		t_{max} (hours) [f]		AUC_{24} (ng·h/mL)		Study Number	添付資料番号
			M	F	M	F	M	F		
Rat/Oral gavage (3 administrations, daily dosing)	500	Day 1	10900	NA	4	NA	161000	NA	8456891	4.2.3.3.2-2
	1000	Day 1	10900	NA	4	NA	162000	NA		
	2000	Day 1	10900	NA	8	NA	169000	NA		
Rat/Oral gavage (4 weeks, daily dosing)	2	Day 1	1128	1433	2	3	9236	13231	[redacted]49RD1	4.2.3.2-1
		Day 28	750	873	4	2	6748	6890		
	20	Day 1	4250	5546	4	4	49567	70862		
		Day 28	3370	3232	7	4	50281	38652		
	60	Day 1	5322	6571	3	5	65093	86101		
		Day 28	NA	3456	NA	4	NA	60316		
Rat/Oral gavage (13 weeks, daily dosing)	0.3	Day 1 [a]	140	168	2	1	905	647	8426159	4.2.3.2-2
			0.83	0.703	8	12	BLQ	BLQ		
		Day 91 [a]	268	401	2	1	1530	1630		
			2.6	2.4	8	8	35	18.6		
	0.6	Day 1 [a]	300	351	2	2	1170	2180		
			2.25	2.86	8	8	13	21		
		Day 91 [a]	497	760	2	2	2150	4360		
			3.9	5.2	8	8	61	72		
	1.2	Day 1 [a]	502	652	4	1	2790	3090		
			3.31	4.23	12	8	28	41		
	2.4	Day 44 [a,b]	1840	2290	4	2	16100	16700		
			27.9	17.6	12	8	388	277		
		Day 91 [a]	2230	2050	4	2	18200	13600		
			31.6	15.2	12	8	496	247		

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表（続き）

2.6.7.3B 反復投与毒性試験（ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Species/Route of Administration	Dose (mg/kg)	Time Point	C_{max} (ng/mL)		t_{max} (hours) [e]		AUC_{24} (ng·h/mL)		Study Number	添付資料番号
			M	F	M	F	M	F		
Rat/Oral gavage (26 weeks, daily dosing)	0.5/025 [c]	Day 1	352	369	2	4	3098	3409	[redacted]54RD1	4.2.3.2-3
		Day 91	202	271	4	2	2099	2439		
		Day 182	348	307	8	2	4445	2907		
	1.5/0.75 [c]	Day 1	938	1120	4	2	9080	11062		
		Day 91	785	830	4	2	7441	6031		
		Day 182	554	709	2	2	5892	5964		
	5/3/1.5 [d]	Day 1	2780	3670	4	4	28181	36027		
		Day 91	1383	1517	4	4	13151	13146		
		Day 182	853	926	4	2	9313	10304		
	10/6 [e]	Day 1	4013	4507	4	4	43901	52848		
		Day 91	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
		Day 182	NA	NA	NA	NA	NA	NA		

AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hr; BLQ: below level of quantification; C_{max}: maximum observed concentration; F: female; M: male; NA: not available; t_{max}: time to reach maximum concentration.

[a] The values presented in the upper cells are fruquintinib, and the values presented in the lower cells are M11.

[b] The dose was adjusted from 1.2 mg/kg/day to 2.4 mg/kg/day from Day 44.

[c] Dose reduction started from Day 50 in this dose group.

[d] Dose reductions started from Day 29 and Day 50, respectively.

[e] Dose reduction started from Day 29 in this dose group.

[f] The t_{max} values are presented as medians, except for study [redacted]49RD1 and study [redacted]54RD1, in which means are presented.

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表（続き）

2.6.7.3C 反復投与毒性試験（イヌ）

被験物質：フルキンチニブ

Species/Route of Administration	Dose (mg/kg)	Time Point	C_{max} (ng/mL)		t_{max} (hours)		AUC_{24} (ng·h/mL)		Study Number	添付資料番号
			M	F	M	F	M	F		
Dog / Oral capsule (4 weeks, once daily)	0.03	Day 1	6	9	5	2	107	120	[redacted]49RD2	4.2.3.2-4
		Day 28	30	29	1	1	318	320		
	0.1	Day 1	17	15	2	1	284	251		
		Day 28	47	49	1	2	621	614		
	0.3	Day 1	77	78	6	3	1348	1450		
		Day 28	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
Dog / Oral capsule (13 weeks, once daily)	0.03	Day 1 [a]	13	17	8	2	209	199	8449374	4.2.3.2-5
			0.3	0.5	12	24	5.6	6.0		
		Day 91 [a]	18	17	4	2	312	284		
			1	1	24	12	19	18		
	0.06	Day 1 [a]	24	29	8	2	390	417		
			0.6	1.1	12	24	9.63	13.2		
		Day 91 [a]	36	42	4	2	594	802		
			2.0	2.3	0	24	33.2	44.4		
	0.12	Day 1 [a]	69	73	1	2	992	872		
			1.3	1.9	24	24	21.1	24.8		
		Day 91 [a]	129	80	2	2	1820	1140		
			5.2	4.7	4	12	98.3	77.3		

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表（続き）

2.6.7.3C 反復投与毒性試験（イヌ）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Species/Route of Administration	Dose (mg/kg)	Time Point	C_{max} (ng/mL)		t_{max} (hours)		AUC_{24} (ng·h/mL)		Study Number	添付資料番号
			M	F	M	F	M	F		
Dog / Oral capsule (39 weeks, once daily)	0.01	Day 1	7	7	2	2	68	63	[redacted]54RD2	4.2.3.2-6
		Day 91	10	11	1	1	98	109		
		Day 273	32	24	9	1	199	122		
	0.03	Day 1	19	19	6	1	194	192		
		Day 91	28	26	1	1	331	281		
		Day 273	31	32	2	2	311	375		
	0.1/0.06 [b]	Day 1	42	40	1	1	525	500		
		Day 91	62	44	1	1	706	678		
		Day 273	214	49	1	2	1313	624		
	0.2/0.12 [b]	Day 1	79	55	11	1	1155	815		
		Day 91	76	80	1	2	1012	1257		
		Day 273 [c]	126	142	2	1	1904	1373		

AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum observed concentration; F: female; M: male; NA: not available; t_{max}: time to reach maximum concentration.

[a] The values presented in the upper cells are fruquintinib, and the values presented in the lower cells are M11.

[b] Dose reduction started from Day 15 in this dose group.

[c] There was only one animal in the female group.

The t_{max} values are presented as median except for [redacted]54RD2 study.

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表（続き）

2.6.7.3D 生殖発生毒性試験（ラット）

被験物質：フルキンチニブ

Species/Route of Administration	Dose (mg/kg)	Time Point	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (hours)	AUC_{24} (ng·h/mL)	Study Number	添付資料番号
Rat / Oral gavage	0.025	GD 6	18	5	121	[redacted]54RB1	4.2.3.5.2-1
		GD 15	24	2	152		
	0.1	GD 6	77	3	758		
		GD 15	113	2	1130		
	0.25	GD 6	179	3	1799		
		GD 15	266	3	3164		
Rat / Oral gavage	0.05	GD 6	26	1	173	8449386	4.2.3.5.2-2
		GD 17	26	1	134		
	0.25	GD 6	114	2	723		
		GD 17	159	1	744		
	1.25	GD 6	893	2	5590		
		GD 17	1510	2	10300		
Rat / Oral gavage	0.025	GD 6 [a]	15.8	2	107	8449387	4.2.3.5.2-3
			BLQ	BLQ	BLQ		
		GD 17 [a]	18.7	2	114		
			BLQ	BLQ	BLQ		
	0.1	GD 6 [a]	48.0	1	234		
			BLQ	BLQ	BLQ		
		GD 17 [a]	78.4	1	310		
			BLQ	BLQ	BLQ		
	0.25	GD 6 [a]	145	2	1070		
			0.940	8	NA [b]		
		GD 17 [a]	187	2	1260		
			0.883	8	NA [b]		

AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BLQ: below the limit of quantification; C_{max}: maximum observed concentration; GD: gestation day; NA: not available; t_{max}: time to reach maximum concentration.

[a] The values presented in the upper cells are fruquintinib, and the values presented in the lower cells are M11.

[b] For group 4 (0.25 mg/kg), the values for AUC are not reported for profiles with fewer than three quantifiable concentrations.

2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧

被験物質：フルキンチニブ

Batch No.	Total Impurities (%)	Specified Impurities (%)		Any Other Single Impurities (%)	Study Number	Type of Study	添付資料番号
		DHQ	HMPL-013- SM2				
PROPOSED SPECIFICATION:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]			
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]49AD1	Single-dose toxicity in rat.	4.2.3.1-1
					[redacted]49AD2	Single-dose toxicity in dog.	4.2.3.1-2
					[redacted]49RD1	4-Week repeat-dose toxicity in rat.	4.2.3.2-1
[redacted] ([redacted])	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	8449374	13-Week repeat-dose toxicity in dog.	4.2.3.2-5
[redacted][a]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]54RD2	39-Week repeat-dose toxicity in dog.	4.2.3.2-6
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	8426159	13-Week repeat-dose toxicity in rat.	4.2.3.2-2
					8456880	Bacterial reverse mutation assay.	4.2.3.3.1-3
					8456884	Chromosome aberration assay in CHO cells.	4.2.3.3.1-4
					8456891	Rat micronucleus and alkaline comet assay.	4.2.3.3.2-2
					8449386	Preliminary EFD study in rats.	4.2.3.5.2-2
					8449387	EFD study in rats.	4.2.3.5.2-3
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]54RA1	Fertility and EFD study in rats. EFD study in rats.	4.2.3.5.1-1
					[redacted]54RB1	26-Week repeat-dose toxicity in rat.	4.2.3.5.2-1
					[redacted]54RD1		4.2.3.2-3
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]186PT02	Phototoxicity study in guinea pigs.	4.2.3.7.7-1

CHO: Chinese hamster ovary; DHQ: 6,7-Dimethoxyquinazolin-4-ol; EFD: embryo-fetal development; HMPL-013-SM2: 6-Hydroxy-N,2-dimethyl-1-benzofuran-3-carboxamide; ND: not detected.

[a] Impurities were referenced to drug substance lot [redacted] (drug product batch [redacted] was prepared from drug substance batch [redacted]).

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：フルキンチニブ

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	Maximum Tolerated Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	添付資料番号
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (0.5% CMC-Na/Suspension)	0 (vehicle), 2000	5M/5F	2000	NA	Rats tolerated after a single dose of 2000 mg/kg. Fruquintinib-related findings were confined to males only: diarrhea, a decrease in body weight, red spots on the stomach mucosa, dilatation of the biliary duct and dilatation of the duodenum (gross necropsy), hemorrhage/congestion of the stomach mucosa, hyperplasia, necrosis of epithelial cells and inflammatory cell infiltration in the gall bladder, hemorrhage and/or congestion and multifocal inflammatory cell infiltration in the duodenal mucosa (histopathology). The main target organ was the gastrointestinal tract.	[redacted]49AD1	4.2.3.1-1
Dog/Beagle	Oral gavage (0.5% CMC-Na/Suspension)	1000	1M/1F	1000	NA	Dogs tolerated after single dose of 1000 mg/kg. The main findings were decreased activity, decreased food consumption and body weight, diarrhea and/or blood in stool. No changes in clinical pathology or macroscopic observations were seen in the female whereas decreased HB, HCT, ALB and A/G were observed in the male animal. Gross necropsy revealed hemorrhage of the duodenum, cecum, colon, and rectum in the male dog. No noteworthy changes in ECG examinations were observed on Day 22.	[redacted]49AD2	4.2.3.1-2

A/G: Albumin/Globulin ratio; ALB: albumin; CMC-Na: sodium carboxymethyl cellulose; ECG: electrocardiogram; F: female; HB: hemoglobin; HCT: hematocrit; M: male; NA: not available.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：フルキンチニブ

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	添付資料番号
Dog/ Beagle	Oral (capsule containing microcrystalline cellulose [99.7%] with dolomol [0.3%])	Once daily for 4 weeks	0, 0.03, 0.1, 0.3	Main study: 2 males, 2 females Recovery period: 1 male, 1 female (2 animals/ sex/group were necropsied at the end of the 4-week dosing phase; 1 animal/ sex/group was necropsied after the 4-week recovery period)	0.1	No abnormal findings were observed in clinical signs, food consumption, and body weights in animals at ≤ 0.1 mg/kg/day. In animals dosed at 0.3 mg/kg/day, the abnormal findings included decreased food consumption, decreased activity and diarrhea and/or blood in stool, weakness in posterior limb, lassitude, and a decrease in body weight, resulting in moribundity or death in 5 of 6 animals at the end of the dosing phase. In these animals, decreased/no food consumption, and gastrointestinal abnormalities such as diarrhea and hematochezia were noted prior to death or moribundity. In addition, gross necropsy and histopathological examinations showed gastrointestinal hemorrhage. The main reason for death was considered gastrointestinal toxicity. No abnormal findings were noted in ECGs, ophthalmologic examinations, hematology, coagulation, serum chemistry and bone marrow smears in animals dosed at 0.03 or 0.1 mg/kg/day. Based on histopathological examination, the main target organs included liver, kidney, gastrointestinal tract, adrenal gland, thymus, and spleen. The NOAEL was 0.1 mg/kg/day, corresponding to mean gender-combined AUC_{24} and C_{max} values of 618 ng·h/mL and 48 ng/mL, respectively on Day 28 of the dosing phase.	[redacted]49RD2	4.2.3.2-4

AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum observed concentration; ECG: electrocardiogram; NOAEL: No-Observed-Adverse- Effect Level.

[a] Doses are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7A 4 週間反復強制経口投与及び回復試験（Sprague Dawley ラット）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery							Study Number: [redacted]49RD1	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: Once daily for 4 weeks						添付資料番号: 4.2.3.2-1	
Initial Age: 5-7 weeks	Duration of Recovery Period: 4 weeks						GLP Compliance: NMPA GLP [a] （参考）	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage						Batch Number: [redacted]	
Vehicle/Formulation: 0.5% CMC-Na in deionized water/Suspension								
Special Features: None								
No-Observed-Adverse-Effect Level: 2 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg) [b]	0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Toxicokinetics: Mean (Day 28)								
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	750	873	3370	3232	NA	3456
AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	NA	6748	6890	50281	38652	NA	60316
t_{max} (hours)	NA	NA	4	2	7	4	NA	4
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	1	0	9	9
Body Weight [d]	Mean (g)		Percent (%) Change from Control					
Day 28	355.80	242.50	+0.65	-1.81	↓-36.85 **	↓-11.71 **	↓-42.95 **	↓-33.47 **
Food Consumption [d]	Mean (g)		Percent (%) Change from Control					
Day 28	22.29	22.01	-18.08	-19.58	↓-68.73	↓-36.57	↓-79.86	↓-52.89
Clinical Observations								
2 mg/kg/day: no fruquintinib-related clinical signs were observed. 20 mg/kg/day: piloerection, hunched posture, decreased activity, and dry material around the nares. At the end of the recovery period, hunched posture, hypoactivity, and thin appearance were observed in 1 of 5 females, and broken teeth were observed during the recovery period in males and females. 60 mg/kg/day: 9 of 10 male and female rats were dead before the scheduled necropsy, including 4 moribund animals (3 males and 1 female). Prior to necropsy, piloerection, hunched posture, hypoactivity, eye discharges, diarrhea, and thin appearance were observed.								

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery								
Daily Dose (mg/kg) [b]	0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
End of Dosing (Day 28) [e]								
Hematology and Coagulation								
Mean Corpuscular Volume (fL)	55.22	55.18	-	56.96	-	↑59.66 **	NA	NA
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)	19.64	20.28	-	20.78	-	↑21.88 **	NA	NA
Platelets (10^9/L)	556.40	596.00	-	530.40	-	↓406.00 *	NA	NA
Neutrophil (%)	17.60	18.60	16.40	-	28.40 *	-	NA	NA
Lymphocyte (%)	82.00	80.20	82.80	-	↓70.00 *	-	NA	NA
At 60 mg/kg/day, decreases in white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), hemoglobin (HB), PLT, and LYM% were observed in 1 female, and lower LYM% was observed in 1 male..								
Serum Chemistry								
Alanine Aminotransferase (U/L)	42.20	32.20	44.40	40.60 **	↑166.60 **	↑188.40 **	NA	NA
Aspartate Aminotransferase (U/L)	125.20	140.20	125.20	139.60	↑325.60 **	↑274.00 *	NA	NA
Alkaline Phosphatase (U/L)	154.00	71.00	205.60	-	↑271.60 *	-	NA	NA
Cholesterol (mmol/L)	0.96	1.29	-	1.30	-	2.32 **	NA	NA
Serum Total Bilirubin (μmol/L)	1.87	1.40	-	1.79	-	2.67 *	NA	NA
Triglycerides (mmol/L)	0.35	0.28	-	0.26	-	0.67 **	NA	NA
Creatine (μmol/L)	24.40	28.40	25.40	27.00	↑36.40 **	↑35.40 *	NA	NA
Protein, total (g/L)	55.80	58.60	54.40	59.20	↓46.80 **	↓49.40 **	NA	NA
Albumin (g/L)	40.60	44.00	39.40	43.80	↓27.20 **	↓33.20 **	NA	NA
Albumin to globulin ratio	2.67	3.03	2.64	2.85	↓1.40 **	↓2.09 **	NA	NA
Amylase (U/L)	1639.44	911.36	-	1051.66	-	↑1256.60 **	NA	NA
Lipase (U/L)	8.86	9.35	-	9.79	-	↑10.65 **	NA	NA
At 60 mg/kg/day, increases in ALT and AST and decreases in TP, ALB and A/G were observed f.								
Urinalysis (Day 28)								
Protein (+++) g	-	-	-	-	-	1/5	-	-
White blood cells (+++) [g]	-	-	-	-	-	1/5	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery								
Daily Dose (mg/kg) [b]	0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Bone Marrow Smear								
Decreased granulocyte (mainly mature granulocyte) was observed in the 20 mg/kg/day (male) and 60 mg/kg/day groups.								
Organ Weights [d]	Mean (g)		Percent (%) Change from Control					
Liver	8.668	6.211	-0.75	+1.37	↓ -32.34 **	-5.17	-28.45	-18.97
Spleen	0.611	0.509	+15.88	+2.95	↓ -44.84 **	-7.86	-34.53	-56.97
Kidney	2.608	1.770	-2.15	-4.24	↓ -35.58 **	-2.6	-35.62	-14.41
Adrenal glands	0.069	0.088	-7.25	-3.41	↑ +46.38 *	3.41	+60.87	+94.32
Thymus	0.490	0.468	+7.96	+12.61	↓ -71.02 **	-22.65	-61.63	NA
Gross Pathology								
Macroscopic findings observed at the end of dosing in the 20 mg/kg/day and 60 mg/kg/day groups included atrophy of thymus and spleen, congestion and hemorrhage in the adrenal gland, and hemorrhage in the stomach and duodenum.								
Recovery Period								
Recovery Day 28 [d]	Mean (g)		Percent (%) Change from Control					
Body Weight	438.60	286.40	-1.78	+0.98	↓-37.07 **	↓-17.74 *	NA	NA
Food Consumption	24.71	20.71	+14.57	-2.46	↓-49.13	↓-54.32	NA	NA
Hematology and Coagulation: All findings observed during the dosing period fully resolved by the end of the recovery period.								
Serum Chemistry: All findings observed during the dosing period fully resolved by the end of the recovery period.								
Organ Weights	Mean (g)		Percent (%) Change from Control					
Thymus	0.453	0.476	-5.30	-7.98	↓-35.54 *	↓-46.43 *	NA	NA

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [b]		0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Gross Pathology									
At the end of the 4-week recovery period, atrophy of the spleen, congestion and hemorrhage in the adrenal gland, and hemorrhage in the stomach and duodenum were no longer observed in animals at 20 mg/kg/day. However, atrophy of the thymus was still observed.									
Histopathology – Unscheduled Necropsy									
Liver	Animals examined:	-	-	-	-	1	-	9	8
	Normal	-	-	-	-	0	-	1	4
Hyperplasia of interlobular bile duct, multifocal	Minimal	-	-	-	-	0	-	4	1
	Mild	-	-	-	-	0	-	1	2
	Moderate	-	-	-	-	1	-	3	0
Necrosis, hepatocytes, focal	Minimal	-	-	-	-	0	-	0	2
	Mild	-	-	-	-	1	-	1	0
	Moderate	-	-	-	-	0	-	1	0
Hemorrhage, multifocal	Minimal	-	-	-	-	0	-	1	1
	Mild	-	-	-	-	0	-	1	0
Necrosis, single hepatocyte, scattered	Minimal	-	-	-	-	1	-	0	1
Inflammatory cell infiltration and fibrosis, interlobular bile duct	Moderate	-	-	-	-	1	-	2	0
Kidney	Animals examined:	-	-	-	-	1	-	9	7
	Normal	-	-	-	-	0	-	0	2
Degeneration, glomerulus	Minimal	-	-	-	-	1	-	5	0
	Mild	-	-	-	-	0	-	1	1
Necrosis, glomerulus	Minimal	-	-	-	-	1	-	0	0
	Mild	-	-	-	-	0	-	1	0
Exudation in Bowman's capsule	Minimal	-	-	-	-	1	-	1	1

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [b]		0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Necrosis, tubular, multifocal	Mild	-	-	-	-	0	-	2	3
	Moderate	-	-	-	-	1	-	4	1
Hyaline casts, multifocal	Minimal	-	-	-	-	1	-	2	0
	Mild	-	-	-	-	0	-	0	1
Thymus	Animals examined:	-	-	-	-	1	-	4	3
	Normal	-	-	-	-	0	-	0	0
Atrophy	Mild	-	-	-	-	1	-	3	0
	Moderate	-	-	-	-	0	-	1	3
Decreased, lymphocyte, cortex	Mild	-	-	-	-	1	-	3	0
	Moderate	-	-	-	-	0	-	1	3
Unclear boundary between cortex and medulla	Mild	-	-	-	-	1	-	3	0
	Moderate	-	-	-	-	0	-	1	3
Spleen	Animals examined:	-	-	-	-	1	-	9	7
	Normal	-	-	-	-	0	-	0	0
Atrophy	Minimal	-	-	-	-	1	-	1	0
	Mild	-	-	-	-	0	-	6	5
	Moderate	-	-	-	-	0	-	2	2
Atrophy, splenic corpuscle	Minimal	-	-	-	-	1	-	1	0
	Mild	-	-	-	-	0	-	6	5
	Moderate	-	-	-	-	0	-	2	2

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [b]		0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Adrenal gland	Animals examined:	-	-	-	-	1	-	9	8
	Normal	-	-	-	-	0	-	0	0
Hemorrhage, multifocal	Minimal	-	-	-	-	0	-	1	1
	Mild	-	-	-	-	1	-	4	2
	Moderate	-	-	-	-	0	-	4	4
Congestion, multifocal	Minimal	-	-	-	-	0	-	1	2
	Mild	-	-	-	-	1	-	4	2
	Moderate	-	-	-	-	0	-	4	4
Swelling, cells in cortex	Mild	-	-	-	-	0	-	0	1
Stomach	Animals examined:	-	-	-	-	1	-	8	7
	Normal	-	-	-	-	1	-	5	7
Hemorrhage, mucosa, focal	Minimal	-	-	-	-	0	-	3	0
Duodenum	Animals examined:	-	-	-	-	1	-	8	6
	Normal	-	-	-	-	1	-	4	2
Inflammatory cell infiltration, mucosa	Minimal	-	-	-	-	0	-	1	1
	Mild	-	-	-	-	0	-	2	2
Inflammatory cell infiltration, submucosa	Mild	-	-	-	-	0	-	0	1
Hemorrhage, mucosa, focal	Minimal	-	-	-	-	0	-	4	0
	Mild	-	-	-	-	0	-	0	1

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [b]		0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Bone marrow (sternum)	Animals examined:	-	-	-	-	1	-	9	7
	Normal	-	-	-	-	0	-	0	1
Decreased hematopoietic cell	Mild	-	-	-	-	1	-	3	1
	Moderate	-	-	-	-	0	-	3	0
	Marked	-	-	-	-	0	-	3	5
Bile duct	Animals examined:	-	-	-	-	1	-	9	8
	Normal	-	-	-	-	1	-	3	6
Distension	Minimal	-	-	-	-	0	-	0	1
	Mild	-	-	-	-	0	-	4	1
	Moderate	-	-	-	-	0	-	2	0
Necrosis, epithelial cells	Minimal	-	-	-	-	0	-	0	1
	Mild	-	-	-	-	0	-	2	1
	Moderate	-	-	-	-	0	-	3	0
	Marked	-	-	-	-	0	-	1	0
Thickening, epithelial cells	Mild	-	-	-	-	0	-	3	1
	Moderate	-	-	-	-	0	-	2	0
	Marked	-	-	-	-	0	-	1	0
Fibrosis, inflammation, mucosa and muscular tunic	Minimal	-	-	-	-	0	-	0	1
	Mild	-	-	-	-	0	-	5	1
	Moderate	-	-	-	-	0	-	1	0

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [b]		0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Dosing Period)									
Liver	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	1	1
	Normal	5	5	5	5	1	0	1	0
Hyperplasia, interlobular bile duct, multifocal	Minimal	0	0	0	0	1	4	0	1
	Mild	0	0	0	0	1	1	1	0
Necrosis, hepatocytes, focal	Minimal	0	0	0	0	3	1	1	0
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Hemorrhage, multifocal	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Fibrosis, inflammatory cell infiltration, portal area	Minimal	0	0	0	0	2	0	0	0
	Mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Inflammatory cell infiltration, multifocal	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Kidneys	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	1	1
	Normal	5	5	5	5	1	1	1	0
Degeneration, glomerulus	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Hyaline casts, multifocal	Minimal	0	0	0	0	4	4	0	0
Inflammatory cell infiltration, multifocal	Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Thymus	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	1	0
	Normal	5	5	5	5	2	5	0	0
Atrophy	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
	Mild	0	0	0	0	2	0	0	0
	Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Decreased, lymphocyte, cortex	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
	Mild	0	0	0	0	2	0	0	0
	Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [b]		0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Unclear boundary between cortex and medulla	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
	Mild	0	0	0	0	2	0	0	0
	Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	1	1
	Normal	5	5	5	5	0	5	0	0
Atrophy	Minimal	0	0	0	0	5	0	1	0
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Atrophy, splenic corpuscle	Minimal	0	0	0	0	5	0	1	0
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Adrenal gland	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	1	1
	Normal	5	5	5	5	0	0	0	0
Hemorrhage, multifocal	Minimal	0	0	0	0	4	5	1	0
	Mild	0	0	0	0	1	0	0	1
Congestion, multifocal	Minimal	0	0	0	0	4	5	1	0
	Mild	0	0	0	0	1	0	0	1
Swelling, cells in cortex	Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Stomach	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	1	1
	Normal	5	5	5	5	4	5	1	1
Hemorrhage, mucosa, focal	Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
Duodenum	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	4	1
	Normal	5	5	5	5	0	4	0	0
Inflammatory cell infiltration, mucosa	Minimal	0	0	0	0	1	0	0	1
	Mild	0	0	0	0	3	1	1	0
	Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Inflammatory cell infiltration, submucosa	Minimal	0	0	0	0	3	0	0	0
	Mild	0	0	0	0	2	0	0	0
Hemorrhage, mucosa, focal	Minimal	0	0	0	0	2	1	1	0

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [b]		0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Bone marrow (sternum)	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	1	1
	Normal	5	5	5	5	4	5	0	0
Decreased hematopoietic cell	Mild	0	0	0	0	1	0	1	1
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Recovery Period)									
Liver	Animals examined:	5	5	5	5	4	5	0	0
	Normal	5	5	4	4	3	5	0	0
Hyperplasia, interlobular bile duct, multifocal	Mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Necrosis, hepatocytes, focal	Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
Inflammatory cell infiltration, multifocal	Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0
Kidney	Animals examined:	5	5	5	5	4	5	0	0
	Normal	5	5	5	5	2	5	0	0
Hyaline casts, multifocal	Mild	0	0	0	0	1	0	0	0
Inflammatory cell infiltration, multifocal	Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7A 4 週間経口投与反復投与毒性試験＋回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Four-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [b]		0 (Vehicle control)		2		20		60	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3	M: 5/5/3	F: 5/5/3
Thymus	Animals examined:	5	5	5	5	4	5	0	0
	Normal	5	5	5	5	3	3	0	0
Atrophy	Minimal	0	0	0	0	1	1	0	0
	Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
Decreased, lymphocyte, cortex	Minimal	0	0	0	0	1	1	0	0
	Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
Unclear boundary between cortex and medulla	Minimal	0	0	0	0	1	1	0	0
	Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0

"-": no findings, no data, not reported; ANOVA: analysis of variance; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24-hours; C_{max}: maximum observed concentration; CMC-Na: sodium carboxymethyl cellulose; F: female; GLP: Good Laboratory Practice; M: male; NA: not available; NMPA: National Medical Products Administration; TK: toxicokinetic; t_{max}: time to reach maximum concentration.

[a] The TK study was not conducted in compliance with GLP.

[b] Doses are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

[c] There were 10 animals/sex/group in the main study, of which 5/sex/group were necropsied at the end of the 4-week dosing phase and the remaining animals were necropsied after the 4-week recovery period.

[d] 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).

[e] Group means are shown for control and treated groups.

[f] Text summary provided for the 60 mg/kg dose group as data are only available for one male and one female animal.

[g] (+++) corresponds to a positive urine test and a high concentration of the parameter.

For the toxicokinetics data, n=2 for female animals in the 60 mg/kg/day dose group.

Statistical Analyses: ANOVA/Dunnett's Test: $^{*}P < .05$, $^{**}P < .01$

2.6.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7B 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery					Study Number: 8426159			
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: Once daily for 13 weeks				添付資料番号: 4.2.3.2-2			
Initial Age: 7.4 to 8.4 weeks	Duration of Recovery: 4weeks				GLP Compliance: US FDA/ NMPA/ OECD GLP（評価）			
Date of First Dose: Males: [redacted] 20[redacted] Females: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage				Batch Number: [redacted]			
Vehicle/Formulation: 0.5% sodium carboxymethyl cellulose in deionized water/Suspension								
Special Features: Sperm evaluations. As no severe toxicity was noted for animals administered 1.2 mg/kg/day and exposure levels were generally lower than previous toxicity studies, the dose level for this group was increased to 2.4 mg/kg/day from Day 44 of the dosing phase onwards.								
STD_{10}: 1.2/2.4 mg/kg/day; NOAEL considered to be 0.3 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg)[a]	0 (Vehicle control)		0.3		0.6		1.2/2.4[b]	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase[c]	M:10/5/3	F:10/5/3	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6
Toxicokinetics: Mean (Day 91) – Fruquintinib								
C_{max} (ng/mL)	0	0	268	401	497	760	2230	2050
AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	NA	1530	1630	2150	4360	18200	13600
t_{max} (hours)	NA	NA	2	1	2	2	4	2
Toxicokinetics: Mean (Day 91) – HM5025423 (Metabolite M11)								
C_{max} (ng/mL)	0	0	2.6	2.4	3.9	5.2	32	15
AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	NA	35	19	61	72	496	247
t_{max} (hours)	NA	NA	8	8	8	8	12	8
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	1	1	0
Body Weight [d]	Mean (g)		Percent (%) Change from Control					
Day 91	586	314	+2.39	-3.50	-2.05	-1.59	↓-15.19 *	-7.01
Food Consumption								
Animals in the 1.2 mg/kg/day dose group exhibited broken teeth from Day 36 of the dosing phase, but no significant changes in food consumption were observed. After dose escalation from 1.2 to 2.4 mg/kg/day on Day 44 onwards, low food consumption was observed.								

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7B 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery								
Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Vehicle control)		0.3		0.6		1.2/2.4[b]	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]	M:10/5/3	F:10/5/3	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6
Clinical Observations								
Fruquintinib-related clinical observations included abnormal teeth (broken, malocclusion, or missing), thin appearance, and hunched posture. Abnormal teeth were noted in both sexes administered 0.6 or 1.2/2.4 mg/kg/day and teeth findings still occurred at the end of recovery phase.								
End of Dosing (Day 92) [d]								
Hematology and Coagulation								
Hemoglobin (g/dL)	15.2	15.2	↑16.4 *	-	↑16.0 *	-	↑16.8 *	-
Hematocrit (%)	47.5	46.3	50.8 *	-	49.4	-	51.7 *	-
Mean corpuscular volume (fL)	54.4	57.4	55.5	-	56.2	-	↑57.7 *	-
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.4	18.8	17.9	18.9	18.1 *	19.3	↑18.8 *	↑19.7 *
Absolute reticulocyte count (E3/μL)	150.8	184.7	-	191.4	-	200.5	-	↓141.6 *
Platelet count (E3/μL)	944	923	916	-	926	-	↓762*	-
Serum Chemistry								
Alanine aminotransferase (U/L)	34	43	↑41	-	↑40	-	↑55 *	-
Inorganic phosphorous (mg/dL)	6.3	5.6	↑7.2 *	-	↑7.0	-	↑7.4 *	-
Urea nitrogen (mg/dL)	10	16	↑13 *	-	↑14 *	-	↑15 *	-
Urinalysis (Day 92)								
Male animals in the 0.6 and 1.2/2.4 mg/kg/day dose groups had higher urine pH on Day 92 of the dosing phase ($P < .05$). This effect exhibited evidence of reversibility by Day 29 of the recovery phase. No other substantiated test article related effects were observed.								
Organ Weights	Mean (g)		Percent (%) Change from Control					
Thymus (g)	0.311	0.334	+2.38	↓-18.85 *	+2.12	↓-17.74 *	↓-24.75	↓-27.56 *
Sperm Analysis								
No fruquintinib-related changes.								
Gross Pathology								
No fruquintinib-related changes.								

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7B 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle control)		0.3		0.6		1.2/2.4[b]	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M:10/5/3	F:10/5/3	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6
Recovery Period (Day 28-29) [d]									
Body Weight									
Body weight gain for males in the 1.2/2.4 mg/kg/day dose groups was greater compared to the control group during the recovery period which indicates reversibility of this effect.									
Food Consumption									
In the 1.2/2.4 mg/kg/day dose group, an increase in food consumption was observed during the recovery phase which indicates reversibility of this effect.									
Hematology									
Mean corpuscular volume (fL)		57.0	58.4	55.8	60.2	58.9	↑61.0 *	↑60.0 *	↑61.1 *
Mean corpuscular hemoglobin (pg)		17.4	18.1	16.9	↑18.7 *	18.0	↑19.1 *	↑18.6 *	↑19.0 *
Serum Chemistry									
Inorganic phosphorous (mg/dL)		6.9	5.3	7.0	-	7.2	-	↑7.9*	-
Organ Weights		Mean (g)		Percent (%) Change from Control					
Thymus (g)		0.371	0.265	-16.71	↓-12.52	↓-34.85 *	↓-10.83	↓-30.92 *	↓-13.96
Sperm Analysis									
No fruquintinib-related changes.									
Gross Pathology									
No fruquintinib-related changes.									
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Dosing) and Unscheduled Necropsy									
Adrenal Cortex	Animals examined:	10	10	10	NE	10	1	10	10
	Normal	10	10	10	-	10	1	8	10
Congestion/Hemorrhage	Mild	0	0	0	-	0	0	1	0
Degeneration/Necrosis	Minimal	0	0	0	-	0	0	1	0
	Mild	0	0	0	-	0	0	1	0

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7B 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery									
Daily Dose (mg/kg)[a]		0 (Vehicle control)		0.3		0.6		1.2/2.4 [b]	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase[c]		M:10/5/3	F:10/5/3	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Dosing) and Unscheduled Necropsy									
Spleen	Animals examined:	10	10	NE	10	NE	10	10	10
	Normal	10	10	-	10	-	8	10	1
Mineralization	Minimal	0	0	-	0	-	1	0	4
	Mild	0	0	-	0	-	1	0	3
	Moderate	0	0	-	0	-	0	0	2
Duodenum, Brunner's Glands [e]	Animals examined:	10	10	10	10	10	10	10	10
	Normal	9	10	10	10	10	10	9	9
Degeneration/Necrosis	Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, neutrophils	Minimal	1	0	0	0	0	0	0	0
	Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
	Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph Node, Mesenteric	Animals examined:	10	10	10	10	10	10	10	10
	Normal	7	9	8	9	9	6	1	4
Infiltrate, mast cells	Minimal	0	1	2	1	0	2	3	0
	Mild	3	0	0	0	1	2	2	1
	Moderate	0	0	0	0	0	0	4	5
Liver [f]	Animals examined:	10	10	10	10	10	10	10	10
	Normal	7	6	7	8	8	8	4	2
Pigment, intracytoplasmic	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	4
	Mild	0	0	0	0	0	0	0	3
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7B 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery									
Daily Dose (mg/kg)[a]		0 (Vehicle control)		0.3		0.6		1.2/2.4 [b]	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M:10/5/3	F:10/5/3	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6
Femur	Animals examined:	10	10	10	10	10	10	10	10
	Normal	10	10	10	10	10	10	1	4
Physis, increased thickness	Minimal	0	0	0	0	0	0	2	4
	Mild	0	0	0	0	0	0	2	1
	Moderate	0	0	0	0	0	0	3	1
	Marked	0	0	0	0	0	0	2	0
Decreased cellularity in femur marrow	Minimal	0	0	0	0	0	0	5	4
	Mild	0	0	0	0	0	0	2	2
Marrow, Sternum	Animals examined:	10	10	10	NE	10	1	10	10
	Normal	10	10	10	-	10	1	8	10
Decreased cellularity	Minimal	0	0	0	-	0	0	1	0
	Mild	0	0	0	-	0	0	1	0
Tooth, Lower	Animals examined:	10	10	10	10	10	9	10	10
	Normal	10	10	7	10	3	4	0	0
Degeneration/necrosis, incisor layers	Minimal	0	0	1	0	1	3	0	0
	Mild	0	0	2	0	2	0	0	0
	Moderate	0	0	0	0	3	2	0	1
	Marked	0	0	0	0	0	0	10	4
	Severe	0	0	0	0	0	0	0	5
Fracture	Present	0	0	0	0	3	1	9	8
Inflammation, mixed cell, periodontium	Minimal	0	0	0	0	1	1	1	2
	Mild	0	0	0	0	0	0	3	3
	Moderate	0	0	0	0	0	0	5	4
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7B 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery									
Daily Dose (mg/kg)[a]		0 (Vehicle control)		0.3		0.6		1.2/2.4[b]	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M:10/5/3	F:10/5/3	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6
Necrosis/inflammation, pulp	Minimal	0	0	1	0	1	1	0	0
	Mild	0	0	0	0	0	0	1	2
	Moderate	0	0	0	0	3	0	2	5
	Marked	0	0	0	0	0	0	7	1
	Severe	0	0	0	0	0	0	0	2
Osteoblast/osteoclast, increased, alveolar bone	Minimal	0	0	0	0	1	1	0	0
	Mild	0	0	0	0	0	0	10	1
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	8
	Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Recovery Period)									
Spleen	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	5	5
	Normal	5	5	5	5	5	5	4	1
Mineralization	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	4
Lymph Node, Mesenteric	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	5	5
	Normal	4	3	2	5	3	5	1	2
Infiltrate, mast cells	Minimal	0	2	3	0	1	0	1	0
	Mild	1	0	0	0	1	0	3	3
Tooth, Lower	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	5	5
	Normal	5	5	5	5	0	3	0	0
Degeneration/necrosis, incisor layers	Minimal	0	0	0	0	2	0	0	0
	Mild	0	0	0	0	2	2	1	2
	Moderate	0	0	0	0	0	0	1	3
	Marked	0	0	0	0	0	0	3	0
Fracture	Present	0	0	0	0	0	0	4	3

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7B 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity Study of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle control)		0.3		0.6		1.2/2.4[b]	
Number of Animals: End of Dosing/Recovery Period/TK Phase [c]		M:10/5/3	F:10/5/3	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6	M:10/5/6	F:10/5/6
Inflammation, mixed cell, periodontium	Minimal	0	0	0	0	0	0	2	2
	Mild	0	0	0	0	0	0	2	1
	Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Necrosis/inflammation, pulp	Minimal	0	0	0	0	1	1	0	0
	Mild	0	0	0	0	1	0	2	1
	Moderate	0	0	0	0	0	0	2	2
	Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Osteoblast/osteoclast, alveolar bone	Minimal	0	0	0	0	1	0	1	2
	Mild	0	0	0	0	0	0	3	2
	Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1

"-": no findings, no data, not reported; ANOVA: analysis of variance; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum observed concentration; F: female; FDA: Food and Drug Administration; GLP: Good Laboratory Practice; M: male; NA: not available; NMPA: National Medical Products Administration; NOAEL: no observed adverse effect level; NT: not tested; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development; STD_{10}: severely toxic dose in 10% of the animals; TK: toxicokinetic; t_{max}: time to reach maximum concentration.

[a] Doses are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

[b] Dose increased to 2.4 mg/kg/day from Day 44 onwards of the dosing phase.

[c] There were 15 animals/sex/group in the main study, 10/sex/group were necropsied after the 13-week dosing period and the remaining animals were necropsied after the 4-week recovery period. TK evaluations were performed on additional animals, 3 animals/sex in the control group and 6 animals/sex in the treatment groups.

[d] Group means are shown for control and treated groups.

[e] The examination of the duodenum and Brunner's glands of animals administered 0.3 or 0.6 mg/kg/day was restricted to the duodenal tissue (containing the Brunner's gland) on sections of the stomach.

[f] Only findings that were considered fruquintinib-related are presented. The values for animals examined and normal therefore do not total accurately.

The severity scale for histopathological analysis in the report uses 'Slight' whereas 'Mild' is used in this table. This change is to ensure consistency across different studies, the two terms represent the same grading.

Statistical Analyses: ANOVA/Dunnett's-Test: *P < .05, **P < .01

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery										Study Number: [redacted]54RD1	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing: Once daily for 26 weeks								添付資料番号: 4.2.3.2-3	
Initial Age: 5 weeks		Duration of Recovery Period: 4 weeks								GLP Compliance: NMPA GLP（参考）	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Method of Administration: Oral gavage								Batch Number: [redacted]	
Vehicle/Formulation: 0.5% sodium carboxymethyl cellulose/Suspension											
Special Features: Dose reductions were implemented in the following dose groups: low (0.5 to 0.25 mg/kg/day from Day 50), middle (1.5 to 0.75 mg/kg/day from Day 50), sub-high (5 to 3 to 1.5 mg/kg/day from Day 29 and Day 50, respectively, and high (10 to 6 mg/kg/day from Day 29).											
Lowest-Observed-Adverse-Effect Level: 0.5/0.25 mg/kg/day (No-Observed-Adverse-Effect Level not determined)											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]		M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Toxicokinetics: Mean											
C_{max} (ng/mL)	Day 91 (Week 13)	0	0	202	271	785	830	1383	1517	NA	NA
	Day 182 (Week 26)	0	0	348	307	554	709	853	926	NA	NA
AUC_{24} (ng·h/mL)	Day 91 (Week 13)	NA	NA	2099	2439	7441	6031	13151	13146	NA	NA
	Day 182 (Week 26)	NA	NA	4445	2907	5892	5964	9313	10304	NA	NA
Noteworthy Findings											
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	1	0	1	13	3	15	15
Body Weight [f]		Mean (g)		Percent (%) Change from Control							
Day 91 (Week 13)		546.20	305.20	↓-6.02 *	-4.09	↓-16.40 **	↓-10.92 **	↓-25.39 **	↓-13.26 **	NA	NA
Day 182 (Week 26)		621.20	339.00	↓-6.99	-1.28	↓-19.51 **	↓-16.49 **	NA	↓-21.70 **	NA	NA
Food Consumption [f]		Mean (g)		Percent (%) Change from Control							
Day 35 [g]		25.78	18.76	+0.19	-2.24	-8.49	-10.93	↓-55.28 **	-10.77	↓-79.25 **	↓-37.42 **
Clinical Observations											
Clinical signs observed following administration of fruquintinib in all dose groups included tooth loss, hair loss, eye and nasal discharge, mucous stool and reduced activity. These effects were generally dose proportional with a quicker onset and a higher proportion of animals affected in the higher dose groups. Limited data available for the 5/3/1.5 and 10/6 mg/kg/day dose groups due to high mortality during the dosing period.											

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery										
Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]	M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/ 6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Dosing Period: Interim (Day 92, n=5 sex/dose group) and End (Day 183, n=5 sex/dose group) [f]										
Hematology	No fruquintinib-related changes.									
Serum Chemistry										
Day 92 (Week 13) [h]										
Alanine Aminotransferase (U/L)	30.20	27.60	-	31.80	-	↑37.60 **	-	↑48.60 **	NA	NA
Alkaline Phosphatase (U/L)	70.20	40.60	-	48.00	-	↑78.20 *	-	↑81.60 *	NA	NA
Cholesterol (mmol/L)	1.34	1.68	1.16	1.65	1.36	1.74	↑3.45 **	↑2.49 **	NA	NA
Triglycerides (mmol/L)	0.38	0.29	0.30	0.31	0.54	0.33	↑0.82 *	↑0.46 *	NA	NA
Glucose (mmol/L)	7.25	7.24	-	6.59	-	7.27	-	↓6.48 **	NA	NA
Blood Urea Nitrogen (mmol/L)	5.33	5.20	-	6.21	-	5.87	-	↑6.69 **	NA	NA
Total Protein (g/L)	56.60	57.60	53.60	↓54.00 *	↓52.60 *	↓53.80 *	↓49.50 **	↓46.40 **	NA	NA
Albumin (g/L)	39.40	43.60	38.00	↓39.60 **	↓35.60 **	↓38.60 **	↓1.41 **	↓31.40 **	NA	NA
Albumin/Globulin Ratio	2.31	3.12	2.45	2.81	2.10	↓2.55 *	↓1.42 **	↓2.11 **	NA	NA
Day 183 (Week 26) [i]										
Cholesterol (mmol/L)	1.61	1.84	-	1.64	-	1.78	-	↑3.58 *	NA	NA
Total Protein (g/L)	58.80	61.00	58.00	60.60	↓52.20 **	56.50	-	↓49.25 **	NA	NA
Albumin (g/L)	39.40	47.60	-	45.80	-	↓40.00 **	-	↓31.50 **	NA	NA
Albumin/Globulin Ratio	2.04	3.58	-	3.12	-	↓2.46 **	-	↓1.79 **	NA	NA

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery										
Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]	M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/ 6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Urinalysis [j]										
Day 92 (Week 13)										
Protein (+++)	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/5	2/2	1/5	NA	NA
White Blood Cells (+++)	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/5	2/2	1/5	NA	NA
Day 183 (Week 26)										
Protein (+++)	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/4	NA	2/4	NA	NA
White Blood Cells (+++)	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/4	NA	2/4	NA	NA
Organ Weights										
Day 92 (Week 13)	Mean (g)		Percent (%) Change from Control							
Liver (g)	12.37	6.90	-13.50	-9.42	↓-19.24 *	↓-16.96 *	-13.26	↓-12.46 *	NA	NA
Day 183 (Week 26)	Mean (g)		Percent (%) Change from Control							
Liver (g)	14.28	7.33	-8.82	-4.64	↓-20.24 *	-9.41	NA	↑+14.73 *	NA	NA
Thymus (g)	0.48	0.27	-33.33	0.00	↓-52.08 *	-22.22	NA	-29.63	NA	NA
Gross Pathology										
Day 92 (Week 13): Macroscopic findings related to fruquintinib during the interim scheduled necropsy were mainly observed in the 5/3/1.5 mg/kg/day dose group and included bile duct dilatation, duodenum dilatation and duodenum discoloration.										
Day 183 (Week 26): Macroscopic findings related to fruquintinib at the end of the dosing period were dilatation and thickening of the bile duct observed in the 5/3/1.5 mg/kg/day dose group.										

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]		M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/ 6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Recovery Period (Day 28, n=5 sex/dose group)											
Body Weight		Mean (g)		Percent (%) Change from Control							
Day 28		654.60	368.20	-3.70	-3.11	↓-18.91 **	↓-23.14 **	NA	↓-24.50**, [k]	NA	NA
Serum Chemistry		Mean (g)		Percent (%) Change from Control							
Alkaline Phosphatase (U/L)		81.80	35.00	67.00	-	↓63.00 *	-	NA	-	NA	NA
Glucose (mmol/L)		8.35	7.88	7.72	7.51	↓6.71 **	7.25	NA	↓6.27 *	NA	NA
Albumin (g/L)		39.80	49.20	↓37.00 *	48.75	↓35.80 **	48.60	NA	↓42.33 *	NA	NA
Albumin/Globulin Ratio		2.08	2.86	1.85	-	↓1.75 *	-	NA	-	NA	NA
Urinalysis [j]											
Protein (+++)		0/5	0/5	0/5	0/5	3/5	0/4	NA	1/3	NA	NA
White Blood Cells (+++)		0/5	0/5	0/5	0/5	3/5	0/4	NA	0/3	NA	NA
Gross Pathology											
Thickening of the bile duct was observed in 1 of 3 females in the 5/3/1.5 mg/kg /day dose group. No other macroscopic findings were observed at the end of the recovery period.											
Histopathology - Unscheduled Necropsy											
Bile duct	Animals examined:	NA	NA	NA-	NA	NA	NA	11	3	11	11
	Normal	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0
Dilatation and thickening, epithelium hyperplasia		-	-	-	-	-	-	11	2	11	10
Epithelium necrosis with inflammatory cell infiltration		-	-	-	-	-	-	7	1	9	8

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]		M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/ 6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Liver	Animals examined:	NA	NA	NA-	1	NA	1	13	3	11	13
	Normal	-	-	-	1	-	1	0	0	0	0
Necrosis, hepatocyte, focal		-	-	-	0	-	0	6	2	9	6
Degeneration, necrosis, hepatocyte		-	-	-	0	-	0	0	0	0	1
Necrosis, single cell		-	-	-	0	-	0	6	0	5	1
Necrosis, localized		-	-	-	0	-	0	0	1	0	0
Necrosis in portal area with inflammatory cell infiltration		-	-	-	0	-	0	0	1	0	2
Bile duct hyperplasia		-	-	-	0	-	0	13	2	11	13
Bile duct fibrosis with inflammatory cell infiltration		-	-	-	0	-	0	12	2	11	9
Intrahepatic cholangitis		-	-	-	0	-	0	4	0	0	1
Epithelium hyperplasia, bile duct		-	-	-	0	-	0	3	0	0	1
Epithelium necrosis, bile duct		-	-	-	0	-	0	2	0	0	3
Multi-focal granuloma		-	-	-	0	-	0	0	0	0	1
Abscess		-	-	-	0	-	0	1	1	0	0
Kidney	Animals examined:	NA	NA	NA-	1	NA	1	13	3	11	13
	Normal	-	-	-	1	-	1	6	0	1	2
Lymphocyte infiltration		-	-	-	0	-	0	1	2	2	6
Swollen glomeruli		-	-	-	0	-	0	2	3	0	9
Degeneration and necrosis of glomeruli		-	-	-	0	-	0	1	1	0	5
Exudation of glomeruli and thickening of Bowman’s capsule		-	-	-	0	-	0	1	0	0	0
Interstitial fibrosis, hyaline degeneration of glomeruli		-	-	-	0	-	0	0	1	0	0

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/ End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]		M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Hyaline casts in renal tube		-	-	-	0	-	0	4	2	3	8
Degeneration and swelling of tubular epithelium and tubular lumen narrowed		-	-	-	0	-	0	4	1	1	5
Necrosis, tubular epithelium		-	-	-	0	-	0	4	1	8	5
Adrenal gland	Animals examined:	NA	NA	NA-	1	NA-	1	13	3	10	13
	Normal	-	-	-	1	-	1	6	1	1	3
Hemorrhage		-	-	-	0	-	0	7	2	5	9
Focal necrosis of cortex		-	-	-	0	-	0	2	1	4	3
Spleen	Animals examined:	NA	NA	NA-	1	NA-	1	13	3	11	13
	Normal	-	-	-	1	-	1	2	0	1	2
Atrophy		-	-	-	0	-	0	9	3	8	10
Decreased lymphocytes		-	-	-	0	-	0	6	1	7	7
Thymus	Animals examined:	NA	NA	NA-	1	NA-	1	11	3	10	8
	Normal	-	-	-	1	-	1	1	0	1	1
Atrophy		-	-	-	0	-	0	10	3	9	7
Stomach	Animals examined:	NA	NA	NA-	1	NA-	1	13	3	11	13
	Normal	-	-	-	1	-	1	13	3	10	13
Hemorrhage, mucosa		-	-	-	0	-	0	0	0	1	0
Bone marrow (sternum)	Animals examined:	NA	NA	NA-	1	NA-	1	13	3	11	13
	Normal	-	-	-	1	-	0	4	0	0	6
Decrease of hematopoietic cell in bone marrow		-	-	-	0	-	1	9	3	11	7
Femur	Animals examined:	NA	NA	NA-	1	NA-	1	13	3	11	13
	Normal	-	-	-	1	-	0	0	0	0	1
Increase in the zone of hypertrophic chondrocytes		-	-	-	0	-	1	13	3	11	12

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/ End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]		M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/ 6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Histopathology – Scheduled Necropsy (Interim of Dosing Period)											
Liver	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	2	5	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	5	0	2	-	-
Necrosis, focal		0	0	0	0	0	0	1	1	-	-
Hyperplasia, bile duct		0	0	0	0	0	0	2	3	-	-
Bile duct fibrosis with inflammatory cell infiltration		0	0	0	0	0	0	2	3	-	-
Kidney	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	2	5	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	5	0	5	-	-
Lymphocyte infiltration		0	0	0	0	0	0	1	0	-	-
Hyaline casts in renal tube		0	0	0	0	0	0	2	0	-	-
Adrenal gland	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	2	5	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	5	2	4	-	-
Hemorrhage		0	0	0	0	0	0	0	1	-	-
Thymus	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	2	4	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	5	1	4	-	-
Atrophy		0	0	0	0	0	0	1	0	-	-
Bone marrow (sternum)	Animals examined	5	5	5	5	5	5	2	5	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	5	2	4	-	-
Decrease in hematopoietic cells		0	0	0	0	0	0	0	1	-	-
Femur	Animals examined:	5	5	5	5	5	5	2	5	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	5	0	0	-	-
Increase in the zone of hypertrophic chondrocytes		0	0	0	0	0	0	2	5	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13) /End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]		M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/ 6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Dosing Period)											
Bile duct	Animals examined:	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	Normal	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-
Dilatation and thickening, epithelium hyperplasia		-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Epithelium necrosis with inflammatory cell infiltration		-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Liver	Animals examined:	5	5	5	5	5	4	-	4	-	-
	Normal	5	5	4	5	5	4	-	0	-	-
Necrosis, hepatocyte, focal		0	0	0	0	0	0	-	2		
Bile duct hyperplasia		0	0	0	0	0	0	-	4	-	-
Bile duct fibrosis with inflammatory cell infiltration		0	0	0	0	0	0	-	2	-	-
Kidney	Animals examined:	5	5	5	5	5	4	-	4	-	-
	Normal	5	5	4	5	2	4	-	0	-	-
Lymphocyte infiltration		0	0	0	0	0	0	-	1	-	-
Hyaline casts in renal tube		0	0	0	0	3	0	-	3	-	-
Swollen tubular epithelium		0	0	0	0	0	0	-	3	-	-
Adrenal gland	Animals examined:	5	5	5	5	5	4	-	4	-	-
	Normal	5	5	4	4	5	4	-	1	-	-
Hemorrhage		0	0	0	0	0	0	-	3	-	-
Focal necrosis of cortex		0	0	1	1	0	0	-	0	-	-
Spleen	Animals examined:	5	5	5	5	5	4	-	4	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	4	-	2	-	-
Atrophy		0	0	0	0	0	0	-	2	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13) /End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]		M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/ 6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Thymus	Animals examined:	5	5	5	5	5	4	-	4	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	4	-	2	-	-
Atrophy		0	0	0	0	0	0	-	2	-	-
Bone marrow (sternum)	Animals examined:	5	5	5	5	5	4	-	4	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	4	-	3	-	-
Decrease in hematopoietic cells		0	0	0	0	0	0	-	1	-	-
Femur	Animals examined:	5	5	5	5	5	4	-	4	-	-
	Normal	5	5	5	5	5	4	-	1	-	-
Increase in the zone of hypertrophic chondrocytes		0	0	0	0	0	0	-	3	-	-
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Recovery Period)											
Bile duct	Animals examined:	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	Normal	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-
Dilatation and thickening, epithelium hyperplasia		-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Liver	Animals examined:	5	5	5	4	5	5	-	3	-	-
	Normal	5	5	5	4	5	5	-	0	-	-
Necrosis, hepatocyte, focal		0	0	0	0	0	0	-	1	-	-
Necrosis in portal area with inflammatory cell infiltration		0	0	0	0	0	0	-	1	-	-
Bile duct hyperplasia		0	0	0	0	0	0	-	3	-	-
Bile duct fibrosis with inflammatory cell infiltration		0	0	0	0	0	0	-	2	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7C 26 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Twenty-Six-Week Oral Gavage Repeat-Dose Toxicity of Fruquintinib in SD Rats with a Four-Week Recovery											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Vehicle Control)		0.5/0.25 [b]		1.5/0.75 [b]		5/3/1.5 [c]		10/6 [d]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13) /End of Dosing (Week 26)/Recovery/TK Phase [e]		M:5/5/5/3	F:5/5/5/3	M:5/5/5/ 6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6	M:5/5/5/6	F:5/5/5/6
Kidney	Animals examined:	5	5	5	4	5	5	-	3	-	-
	Normal	5	5	5	4	3	2	-	2	-	-
Swollen glomeruli		0	0	0	0	0	0	-	1	-	-
Fibrosis, glomeruli		0	0	0	0	1	0	-	0	-	-
Hyaline casts in renal tube		0	0	0	0	2	3	-	1	-	-
Degeneration and swelling of tubular epithelium and tubular lumen narrowed		0	0	0	0	0	0	-	1	-	-
Adrenal gland	Animals examined:	5	5	5	4	5	5	-	3	-	-
	Normal	5	5	5	4	4	3	-	1	-	-
Hemorrhage		0	0	0	0	0	0	-	2	-	-
Focal necrosis of cortex		0	0	0	0	1	2	-	0	-	-
Spleen	Animals examined:	5	5	5	4	5	5	-	3	-	-
	Normal	5	5	5	4	5	5	-	2	-	-
Atrophy		0	0	0	0	0	0	-	1	-	-

"-": no findings, no data, not reported; ANOVA: analysis of variance; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24-hours; C_{max}: maximum observed concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practice; M: male; NA: not available; NMPA: National Medical Products Administration ; TK: toxicokinetic.

[a] Doses are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

[b] The dose level was decreased from Day 50.

[c] The dose level was decreased from Day 29/Day 50, respectively.

[d] The dose level was decreased from Day 29.

[e] There were 15 animals/sex/group in the main study, 5/sex/group were necropsied after 13 weeks of dosing, 5 sex/group after 26 weeks of dosing, and the remaining animals were necropsied after the 4-week recovery period. TK evaluations were performed on additional animals, 3 animals/sex in the control group and 6 animals/sex in the treatment groups.

[f] 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).

[g] Data from Day 35 presented as later time points are incomplete.

[h] Females: n=4 (1.5/0.75 mg/kg/day), n=3 (5/3/1.5 mg/kg/day).

[i] Males: n=2 (5/3/1.5 mg/kg/day).

[j] (+++) corresponds to a positive urine test and a high concentration of the parameter.

[k] n=3.

Statistical Analyses: ANOVA/Levene's Test/Dunnett's Test/Kruskal-Wallis Test: *P < .05, **P < .01

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7D 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（ビーグル犬）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of Fruquintinib in Beagle Dogs Followed by a Four-week Recovery							Study Number: 8449374	
Species/Strain: Dog/Beagle	Duration of Dosing: Once daily for 13 weeks						添付資料番号: 4.2.3.2-5	
Initial Age: 7.5 to 8.7 months	Duration of Recovery Period: 4 weeks						GLP Compliance: US FDA/OECD/NMPA GLP（評価）	
Date of First Dose: Males: [redacted] 20[redacted]; Females: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral capsule						Batch Number: [redacted] ([redacted])	
Vehicle/Formulation: Placebo								
Special Features: Body temperature, neurological examination, blood pressure, respiration rate, pulse oximetry, ECG measurements, and male reproductive system assessment.								
Highest non-severely toxic dose: 0.12 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Control)		0.03		0.06		0.12	
Number of Animals: Main Study/Recovery Period	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2
Toxicokinetics: Mean (Day 91) [b] Fruquintinib								
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	18	17	36	42	129	80
AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	NA	312	284	594	802	1820	1140
t_{max} (h)	NA	NA	4	2	4	2	2	2
Toxicokinetics: Mean (Day 91) [b] HM5025423 (Metabolite M11)								
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	1	1	2	2	5	5
AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	NA	19	18	33	44	98	77
t_{max} (h)	NA	NA	24	12	0	24	4	12
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight								
A moderate loss in body weight was noted in the 0.12 mg/kg/day dose group.								
Food Consumption								
Decreased food consumption was observed in animals in the 0.12 mg/kg/day dose group; however, values were not considered valid for evaluating toxicity as five animals in the group were offered additional canned food from Day 19 to Day 91 to supplement calorie intake. No food consumption effects were observed in animals in the lower dose groups.								

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7D 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（ビーグル犬）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of Fruquintinib in Beagle Dogs Followed by a Four-week Recovery								
Daily Dose (mg/kg)[a]	0 (Control)		0.03		0.06		0.12	
Number of Animals: Main Study/Recovery Period	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2
Clinical Observations								
Clinical signs of toxicity were observed in the 0.12 mg/kg/day dose group and included red discolored oral mucosa, oral mucosa ulceration and brown teeth. Red or brown oral mucosa was also observed in animals in the 0.06 mg/kg/day dose group.								
End of Dosing: Day 88 (Week 13) [c]								
Hematology: No fruquintinib-related findings.								
Coagulation								
Fibrinogen (mg/dL)	206	194	278	189	303	317 *	↑645 *	↑370 *
Serum Chemistry								
Globulin (g/dL)	2.5	2.2	2.8	2.2	2.8	2.5	↑3.4 *	↑2.7 *
Albumin/Globulin ratio	1.4	1.6	1.1	1.6	1.2	1.4	↓0.8 *	↓1.2 *
Urinalysis: No fruquintinib-related findings.								
Body Temperature: No fruquintinib-related findings.								
Blood Pressure: No fruquintinib-related findings.								
Respiration Rate: No fruquintinib-related findings.								
Pulse Oximetry: No fruquintinib-related findings.								
Electrocardiographic Evaluation: No fruquintinib-related findings.								
Neurological Examinations: No fruquintinib-related findings.								
Male Reproductive Assessment: No fruquintinib-related findings.								
Organ Weights: No fruquintinib-related findings.								
Gross Pathology: No fruquintinib-related findings.								
Recovery Period (Day 28-29)								
Body Weight								
Body weight gain for male and female animals in the 0.12 mg/kg/day dose group increased significantly compared to controls, indicating the effects on body weight were resolved.								

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7D 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（ビーグル犬）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of Fruquintinib in Beagle Dogs Followed by a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Control)		0.03		0.06		0.12	
Number of Animals: Main Study/Recovery Period		M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2
Food Consumption: No Fruquintinib-related findings.									
Coagulation: No Fruquintinib-related findings.									
Gross Pathology: No Fruquintinib-related findings.									
Histopathology – Unscheduled Necropsy									
All animals survived to their scheduled sacrifice.									
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Dosing)									
Adrenal, Cortex	Animals examined:	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	2	0	0	0	0	0	0
Vacuolation, increased, zona glomerulosa	Minimal	0	1	2	1	2	0	0	0
	Mild	0	0	0	2	1	2	2	0
	Moderate	0	0	1	0	0	1	1	3
Femur	Animals examined:	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	1	3	2	3	0	1
Physis, increased thickness	Minimal	0	0	1	0	1	0	0	1
	Mild	0	0	1	0	0	0	0	1
	Moderate	0	0	0	0	0	0	3	0
Femur, Marrow	Animals examined:	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	3	3	3	3	1	2
Cellularity, decreased	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
	Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
	Marked	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7D 13 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（ビーグル犬）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Thirteen-week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of Fruquintinib in Beagle Dogs Followed by a Four-week Recovery									
Daily Dose (mg/kg)[a]		0 (Control)		0.03		0.06		0.12	
Number of Animals: Main Study/Recovery Period		M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2	M:3/2	F:3/2
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Recovery Period)									
Adrenal, Cortex	Animals examined:	2	2	2	2	2	2	2	2
	Normal	2	2	1	1	1	2	0	1
Vacuolation, increased, zona glomerulosa	Minimal	0	0	1	1	0	0	2	1

"-" : no findings, no data, not reported; ANOVA: analysis of variance; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum observed concentration; ECG: electrocardiogram; F: female; FDA: Food and Drug Administration; GLP: Good Laboratory Practice; M: male; NMPA: National Medical Products Administration; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development; TK: toxicokinetic; t_{max} : time to reach maximum concentration.

[a] Doses are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

[b] Toxicokinetic evaluation was performed on all animals excluding control animals.

[c] Group means are shown for control and treated groups.

The severity scale for histopathological analysis in the report uses 'Slight' whereas 'Mild' is used in this table. This change is to ensure consistency across different studies, the two terms represent the same grading.

Statistical analyses: ANOVA/Dunnett's Test *P < .05

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7E 39 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（ビーグル犬）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: A 39-week Oral Gavage Toxicity Study of Fruquintinib (Formulation) with A 4-week Recovery Period in Beagle Dogs								Study Number: [redacted]54RD2			
Species/Strain: Dog/Beagle		Duration of Dosing: Once daily for 39 weeks						添付資料番号: 4.2.3.2-6			
Initial Age: 5-6 months (on arrival)		Duration of Recovery Phase: 4 weeks						GLP Compliance: NMPA GLP（参考）			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Method of Administration: Oral capsule						Batch Number: [redacted]			
Vehicle/Formulation: Placebo											
Special Features: The dose was reduced from Day 15 in Group 4 and Group 5 from 0.1 to 0.06 mg/kg and 0.2 to 0.12 mg/kg, respectively. The dose reduction was made following higher than expected toxicity in these dose groups.											
No-Observed-Adverse-Effect Level: 0.03 mg/kg/day											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Control)		0.01		0.03		0.1/0.06 [b]		0.2/0.12 [b]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/End of Dosing (Week 39)/Recovery [c]		M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1
Toxicokinetics: Mean											
C_{max} (ng/mL)	Day 91	0	0	10	11	28	26	62	44	76	80
	Day 273	0	0	32	24	31	32	214	49	126	142
AUC_{24} (ng·h/mL)	Day 91	NA	NA	98	109	331	281	706	678	1012	1257
	Day 273	NA	NA	199	122	311	375	1313	624	1904	1373
Noteworthy Findings:											
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Body Weight [d]		Mean (kg)		Percent (%) Change from Control							
Day 91 (n=5)		9.68	8.58	+1.24	+1.63	-0.83	+0.70	↓-5.58	+0.47	↓-10.12 *	↓-17.83 *
Day 273 (n=3, except for F 0.2/0.12 mg/kg, where n=1)		10.63	9.57	-0.94	+9.72	-2.45	+2.40	-2.82	-2.51	↓-20.98 *	↓-20.59
Food Consumption											
No abnormal food consumption was noted in the 0.01 or 0.03 mg/kg/day dose groups. Decreases in food consumption were intermittently noted in the 0.1/0.06 and 0.2/0.12 mg/kg/day dose groups.											

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7E 39 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（ビーグル犬）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: A 39-week Oral Gavage Toxicity Study of Fruquintinib (Formulation) with A 4-week Recovery Period in Beagle Dogs										
Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Control)		0.01		0.03		0.1/0.06 [b]		0.2/0.12 [b]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/End of Dosing (Week 39)/Recovery [c]	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1
Clinical Observations										
No abnormal clinical signs were observed in males and females in the 0.01 or 0.03 mg/kg/day dose groups or in females in the 0.1/0.06 mg/kg/day dose group. Decreased activity, watery feces and/or discolored feces was observed in males in the 0.1/0.06 mg/kg/day group. Decreased activity, decreased food consumption, watery feces and discolored feces were observed in males and females in the 0.2/0.12 mg/kg/day dose group.										
Dosing Period: Interim – Day 91 (Week 13) and End – Day 273 (Week 39)										
Hematology										
Day 91 (Week 13): No fruquintinib-related findings.										
Day 273 (Week 39)										
White Blood Cells (10^9/L)	10.47	9.67	11.10	10.67	11.70	11.03	8.87	10.03	↓6.30 *	↓6.10
Serum Chemistry										
Day 91 (Week 13)										
Albumin (g/L)	33.80	36.00	34.80	35.80	34.60	35.60	33.60	34.60	↓31.20 **	↓29.75 **
Albumin/Globulin ratio	1.22	1.59	-	1.41	-	1.49	-	1.41	-	↓0.93 **
Day 273 (Week 39)										
Albumin (g/L)	35.00	37.67	33.00	37.67	35.00	37.00	36.67	35.00	↓28.00 *	↓30.00
Albumin/Globulin ratio	1.15	1.22	0.96	1.23	1.05	1.26	1.16	1.04	↓0.78	↓0.88
Electrocardiographic (ECG) Examinations										
Decreased heart rate was noted in males in the 0.2/0.12 mg/kg/day dose group before dosing and at 2 and 24 hours after dosing on Day 273. No other effects on the ECG parameters were observed.										
Body Temperature: No fruquintinib-related findings.										

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7E 39 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（ビーグル犬）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: A 39-week Oral Gavage Toxicity Study of Fruquintinib (Formulation) with A 4-week Recovery Period in Beagle Dogs										
Daily Dose (mg/kg) [a]	0 (Control)		0.01		0.03		0.1/0.06 [b]		0.2/0.12 [b]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/End of Dosing (Week 39)/Recovery [c]	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1
Ophthalmoscopic Examination: No fruquintinib-related findings.										
Urinalysis: No fruquintinib-related findings.										
Occult Blood Examination: No fruquintinib-related findings.										
Bone Marrow Smear: No fruquintinib-related findings.										
Organ Weights: No fruquintinib-related findings.										
Recovery Period (Day 28)										
Hematology										
At the end of the recovery phase, WBC values in one male in the 0.2/0.12 mg/kg dose group were comparable to baseline data.										
Serum Chemistry										
The ALB and A/G levels in one male in the 0.2/0.12 mg/kg dose group recovered to baseline at the end of the recovery period.										
ECG Examinations										
No abnormal changes in heart rate were noted in males in the 0.2/0.12 mg/kg/day dose group at the end of the recovery phase.										
Gross Pathology										
Moribund animals: Two females in the 0.2/0.12 mg/kg/day group were found moribund and subjected to necropsy on Day 8 and Day 99, respectively. No abnormal macroscopic findings were noted in these two females. End of the 13-week of dosing period: No test article-related macroscopic findings were noted. End of the 39-week of dosing period: No test article-related macroscopic findings were noted. End of recovery period: No test article-related macroscopic findings were noted.										

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7E 39 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（ビーグル犬）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: A 39-week Oral Gavage Toxicity Study of Fruquintinib (Formulation) with A 4-week Recovery Period in Beagle Dogs
Histopathology – Unscheduled Necropsy
Animal #503 dosed at 0.2/0.12 mg/kg/day: moribund necropsy on Day 99 Kidney: epithelial vocuolation in cortex Liver: focal hepatocellular vacuolation Duodenum: Dilated duct of duodenal gland with surrounding inflammatory cell infiltration, hemorrhage and fibrosis; mucosal hyperemia, hemorrhage Esophagus: esophagitis with partially disappeared epithelium Spleen: decreased lymphocytes in marginal zone of white pulp Thymus: Atrophy Mesenteric lymph nodes: decreased lymphocytes in cortex Animal #505 dosed at 0.2/0.12 mg/kg/day: moribund necropsy on Day 8 Kidney: epithelial vocuolation in cortex Liver: focal hepatocellular vacuolation Spleen: decreased lymphocytes in marginal zone of white pulp Thymus: atrophy Mesenteric lymph node: decreased lymphocytes in cortex

2.6.7.7 反復投与毒性試験（続き）

2.6.7.7E 39 週間反復強制経口投与及び 4 週間回復試験（ビーグル犬）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: A 39-week Oral Gavage Toxicity Study of Fruquintinib (Formulation) with A 4- week Recovery Period in Beagle Dogs											
Daily Dose (mg/kg) [a]		0 (Control)		0.01		0.03		0.1/0.06 [b]		0.2/0.12 [b]	
Number of Animals: Interim Analysis (Week 13)/End of Dosing (Week 39)/Recovery [c]		M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1	M:2/2/1	F:2/2/1
Histopathology – Scheduled Necropsy (Interim of Dosing Period – Week 13)											
Liver	Animals examined:	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Normal	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0
Focal hepatocellular vacuolation		0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Bone (femurs)	Animals examined:	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	Normal	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0
Hyperplasia of growth plate, metaphysis		0	0	0	0	0	0	0	1	2	2
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Dosing Period – Week 39)											
Liver	Animals examined:	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
	Normal	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0
Focal granulomatous inflammation		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Focal pigmentation in hepatocyte		0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Increased Kupffer cells		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Focal hepatocellular hypertrophy		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Bone (Femurs)	Animals examined:	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
	Normal	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1
Hyperplasia of growth plate, metaphysis		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Histopathology – Scheduled Necropsy (End of Recovery Period): No fruquintinib-related findings.											

"-": no findings, no data, not reported; ANOVA: analysis of variance; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hour; C_{max}: maximum observed concentration; ECG: electrocardiogram; F: female; GLP: Good Laboratory Practice; M: male; NMPA: National Medical Products.

[a] Doses are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

[b] Dose levels were decreased from Day 15.

[c] 4M/4F on main study with 2M/2F necropsied at week 13, 2M/2F necropsied at week 39 and 1M/1F necropsied after recovery.

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

Statistical Analyses: ANOVA/Levene's Test/Dunnett's Test/Kruskal-Wallis Test: *P < .05, **P < .01, where n=1 no statistical analysis was performed.

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8A 重要ではない試験

被験物質：フルキンチニブ

Study Number	Study Type and GLP	Study Summary	Study Number	添付資料番号
[redacted]62AM1	Bacterial Reverse Mutation Assay NMPA GLP	Salmonella typhimurium strains TA97a, TA98, TA100, TA102, and TA1535 were treated with fruquintinib at concentrations of up to 300.0 µg/plate, in the presence or absence of a metabolic activation system (S9). Fruquintinib was not mutagenic.	[redacted]62AM1	4.2.3.3.1-1
[redacted]62CA1	Chromosome Aberration Assay NMPA GLP	CHL cells were treated in the presence or absence of S9 with fruquintinib, at concentrations of 4.5 to 36 µg/mL. Fruquintinib at a concentration of 36 µg/mL induced a significant increase in the percentages of aberrant cells with structural chromosome aberrations in CHL cells in vitro when treated with fruquintinib for 24 hours without S9 activation, but not when treated with fruquintinib for 6 hours with or without S9 activation or at lower concentrations.	[redacted]62CA1	4.2.3.3.1-2
[redacted]62MN1	Micronucleus Test NMPA GLP	ICR mice were administered 0, 500, 1000, or 2000 mg/kg fruquintinib as a single, oral gavage dose. Animals were sacrificed at either 24 (0, 500, 1000, or 2000 mg/kg) or 48 hours (2000 mg/kg only) and their bone marrow processed for PCE, normochromatic erythrocytes, and MPCE. There was no mortality in this study. Fruquintinib, as a single oral gavage dose, did not induce significant increases in the MPCE/PCE frequency up to 2000 mg/kg in ICR mice.	[redacted]62MN1	4.2.3.3.2-1

CFDA: China Food and Drug Administration; CHL: Chinese hamster lung; GLP: Good Laboratory Practice; MPCE: micronucleated polychromatic erythrocytes; NMPA: National Medical Products Administration ; PCE: polychromatic erythrocytes; S9: 9000×g supernatant of liver homogenate.

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8B 細菌を用いた復帰突然変異試験

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Fruquintinib: Bacterial Reverse Mutation Assay with Salmonella Typhimurium						Study Number: 8456880	
Test for Induction of: Reverse Mutations (Ames)			No. of Independent Assays: 1			添付資料番号: 4.2.3.3.1-3	
Strains: Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537 and TA102)			No. of Replicate Cultures: 2			GLP Compliance: MHRA/OECD（評価）	
Metabolizing System: β-naphthoflavone/phenobarbital-induced male rat liver S9			No. of Cells Analyzed/Culture: NA			Batch Number: [redacted]	
Vehicles:	For Test Article: Anhydrous analytical grade dimethyl sulfoxide (DMSO)		For Positive Controls: DMSO (2NF, AAC, AAN, B[a]P), Water (NaN_3, MMC)-				
Treatment: Plate incorporation with and without metabolic activation (S9)						Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]	
Cytotoxic Effects: No evidence of cytotoxicity was observed, as would normally be manifest as a thinning of the background bacterial lawn or a marked reduction in revertant numbers.							
Genotoxic Effects: Not mutagenic							

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/plate)	Revertants/Plate (Mean±SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation (S9)	DMSO	0	46.3±8.3	107.3±10.7	15.3±2.1	7.0±1.7	262.0±7.0
	Fruquintinib	5	41.0±5.3	108.3±4.9	15.7±3.1	10.0±4.6	254.7±7.8
	Fruquintinib	16	38.7±7.2	117.3±15.3	14.7±3.5	12.7±4.0	254.3±12.1
	Fruquintinib	50	39.3±4.0	101.3±7.5	16.7±4.0	8.3±1.5	278.7±8.7
	Fruquintinib	160	38.7±4.0	121.0±17.1	12.7±2.5	7.3±1.5	252.7±10.5
	Fruquintinib	500	51.0±15.1 [a]	119.3±13.4 [a]	14.7±4.2 [a]	5.7±1.5 [a]	274.3±30.5 [a]
	Fruquintinib	1600	40.3±5.5 [a]	113.0±7.8 [a]	13.0±4.4 [a]	7.3±2.3 [a]	258.7±23.5 [a]
	Fruquintinib	5000	44.7±18.2 [a]	123.7±9.2 [a]	14.7±3.2 [a]	5.7±0.6 [a]	238.7±26.6 [a]
	Sodium azide	2	NA	1049.7±91.5	833.3±29.4	NA	NA
	Mitomycin C	0.2	NA	NA	NA	NA	1069.3±22.2
	2-Nitrofluorene	5	1249.3±36.6	NA	NA	NA	NA
	9-Aminoacridine	50	NA	NA	NA	428.7±169.0	NA

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8B 細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

被験物質 : フルキンチニブ

Report Title: Fruquintinib: Bacterial Reverse Mutation Assay with Salmonella Typhimurium							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/plate)	Revertants/Plate (Mean±SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (S9)	DMSO	0	54.7±8.3	141.0±7.9	13.0±7.0	17.7±6.8	253.3±22.5
	Fruquintinib	5	48.0±1.7	126.3±13.7	13.7±2.1	16.0±1.0	315.7±29.0
	Fruquintinib	16	48.0±12.3	136.7±12.1	15.7±8.0	16.7±7.1	318.0±20.0
	Fruquintinib	50	64.0±11.3	126.0±3.6	19.0±3.6	13.0±0.0	295.7±31.7
	Fruquintinib	160	49.0±5.0	144.7±25.8	11.0±2.0	14.7±2.5	273.3±14.0
	Fruquintinib	500	54.0±8.5 [a]	150.3±17.0 [a]	18.7±1.5 [a]	18.0±3.5 [a]	269.3±26.6 [a]
	Fruquintinib	1600	43.3±2.1 [a]	128.3±10.2 [a]	19.0±7.2 [a]	10.3±6.0 [a]	243.3±13.6 [a]
	Fruquintinib	5000	45.7±2.1 [a]	129.3±5.5 [a]	16.0±3.6 [a]	11.0±1.7 [a]	225.3±12.9 [a]
	Benzo[a]pyrene	10	318.3±33.7	NA	NA	NA	NA
	2-Aminoanthracene	5	NA	3026.0±170.0	242.7±21.4	255.3±23.5	NA
	2-Aminoanthracene	20	NA	NA	NA	NA	2481.7±905.3

2NF: 2-nitrofluorene; AAC: 9-aminoacridine; B[a]P: benzo[a]pyrene; DMSO: dimethyl sulfoxide; GLP: Good Laboratory Practice; MMC: mitomycin C; MHRA: Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency; NA: not available; NaN_3: sodium azide; No.: number; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development; S9: 9000×g supernatant of liver homogenate; SD: standard deviation.

[a] Precipitation of the test article was observed.

Underlined**:** The positive control chemicals induced increases in revertant numbers of ≥ 1.5-fold (in strain TA102), ≥ 2-fold (in strains TA98 and TA100) or ≥ 3-fold (in strains TA1535 and TA1537) the concurrent vehicle control confirming discrimination between different strains, and an active S9 preparation.

Concentrations are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8C in vitro チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験

被験物質：フルキンチニブ

In Vitro Chinese Hamster Ovary Chromosome Aberration Assay		Study No: 8456884
Test for Induction of: Chromosomal aberrations	No. of Independent Assays: 1	添付資料番号: 4.2.3.3.1-4
Test System: Chinese hamster ovary cells	No. of Replicate Cultures: 4 (vehicle), 2 (test article, positive controls)	GLP Compliance: MHRA/OECD（評価）
Metabolizing System: Aroclor-1254 induced rat liver S9	No. of Cells Analyzed/Culture: Fruquintinib 300 cells analysed per concentration (structural)[b]; CPA 79 (structural); Mitomycin C: 55 and 62 (for structural) 3+17 hour and 20+0 hour treatment in the absence of S9, respectively.	Batch Number: [redacted]
Vehicle For Test Article: Anhydrous analytical grade DMSO	Vehicle For Positive Controls: DMSO (CPA), purified water (Mitomycin C)	
Treatment: 3+17 hours treatment in the absence and presence of metabolic activation (S9) and 20+0 hours treatment in the absence of S9.		Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects: 28%, 10% and 13% cytotoxicity (as determined by RICC) at 50, 50 or 25 µg/mL observed following 3+17 hour treatment in the absence and presence of S9 and 20+0 hours treatment in the absence of S9, respectively.		
Genotoxic Effects: Not genotoxic. Fruquintinib did not induce structural chromosome aberrations in cultured CHO cells when analyzed up to precipitating concentrations for 3 hours in the absence and presence of a rat liver S9 and for 20 hours continuously in the absence S9. Increases in the frequency of cells with numerical aberrations, which exceeded the concurrent vehicle controls and the normal range, were observed in cultures treated with fruquintinib following 3 hour treatments in the presence of S9. These increases were primarily due to the number of endoreduplicated cells observed during analysis.		

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity (%)[a]	% Cells With Chromosome Aberrations (Including Gaps)	% Cells With Chromosome Aberrations (Excluding Gaps)	Total Endoreduplicated Cells	Total Polyploid Cells
3+17 Hours Without Activation (S9)	DMSO	0	NA	1.33	1.33	0	2
	Fruquintinib	10	4	0.33	0.33	0	3
	Fruquintinib	25	11	1.00	1.00	0	0
	Fruquintinib	40	25	2.00	1.67	0	2
	Fruquintinib	45 [c]	14	3.00	2.33	1	3
	Fruquintinib	50 [c]	28	2.00	2.00	1	6
	Mitomycin C	1	58	94.55***	94.55***	0	0

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8C in vitro チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験（続き）

被験物質：フルキンチニブ

In Vitro Chinese Hamster Ovary Chromosome Aberration Assay							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/mL)	Cytotoxicity (%)[a]	% Cells With Chromosome Aberrations (Including Gaps)	% Cells With Chromosome Aberrations (Excluding Gaps)	Total Endoreduplicated Cells	Total Polyploid Cells
3+17 Hours With Activation (S9)	DMSO	0	NA	2.33	2.00	4	4
	Fruquintinib	10	9	2.67	1.67	3	0
	Fruquintinib	30	33	2.33	2.00	3	3
	Fruquintinib	45	0	2.33	1.67	12	5
	Fruquintinib	50 [c]	10	2.00	1.67	15	2
	CPA	6	26	78.48***	75.95***	0	0
20+0 Hours Without Activation(S9)	DMSO	0	NA	0.67	0.67	1	0
	Fruquintinib	2	0	0.78	0.78	0	2
	Fruquintinib	8	11	2.31	1.15	0	6
	Fruquintinib	20	14	0.67	0.67	0	5
	Fruquintinib	25 [c]	13	2.00	2.00	1	2
	Mitomycin C	1	13	96.77***	96.77***	0	2
Statistical Analyses: Fisher's exact test; $^{***}P \leq .001$							

CPA: cyclophosphamide; CHO: Chinese hamster ovary; DMSO: dimethyl sulfoxide; GLP: Good Laboratory Practice; ICC: increase in cell count; MHRA: Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency; NA: not available; No.: number; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development; RICC: relative increase in cell count; S9: 9000×g supernatant of liver homogenate.

[a] RICC (%) = (Treatment Concentration Mean ICC/Vehicle Mean ICC) × 100; cytotoxicity is expressed as (100 – RICC).

[b] For 2 and 8 μg/mL following 20+0 hours treatments in the absence of S9, the replicate B cultures only had 108 and 110 cells scored, respectively. Therefore, the total was only 258 and 260 cells scored at 2 and 8 μg/mL, respectively. This deviation was considered to not impact data validity or study conclusion.

[c] Precipitation observed at the end of treatment used to limit concentrations for analysis.

Underlined: The positive control chemicals induced statistically significant increases in the proportion of cells with structural chromosome aberrations (excluding gaps).

Concentrations are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9A ラットを用いた小核試験及びコメットアッセイ

被験物質：フルキンチニブ

Fruquintinib: Rat Micronucleus and Alkaline Comet Assay		Study No.: 8456891
Test for Induction of: Bone marrow micronuclei and DNA damage in the liver	Treatment Schedule: Three administrations at 0 (Day 1), 24 (Day 2) and 44 (Day 3) hours (positive control 45 hours)	添付資料番号: 4.2.3.3.2-2
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Sampling Time: 4 hours after the last dose administration (positive control 3 hours)	GLP Compliance: MHRA/OECD（評価） Batch Number: [redacted]
Age: 7 to 9 weeks	Method of Administration: Oral gavage	Date of Dosing: [redacted] 20[redacted]
Cells Evaluated: Micronucleus analysis in PCE of the bone marrow and comet analysis in liver cells	Vehicle/Formulation: 0.5% CMC-Na in purified water/suspension	Positive Control: EMS
No. of Cells Analyzed/Animal: 4000 PCE for micronuclei; 150 comets		
Special Features: Fruquintinib and its metabolite M11 (HM5025423) systemic exposure was confirmed at 500, 1000, and 2000 mg/kg. The mean toxicokinetic parameters/values at 2000 mg/kg for fruquintinib were: C_{max} 10900 ng/mL, t_{max} 8 hours and AUC_{24} 169000 ng·h/mL. Values for M11 (HM5025423) were: C_{max} 194 ng/mL, t_{max} 12 hours and AUC_{24} 3040 ng·h/mL.		
Toxic/Cytotoxic Effects: No clinical observations at any dose level. There was a dose-related decrease in group mean body weight.		
Genotoxic Effects: Not genotoxic. No biologically relevant increases in micronuclei or double strand break formation were observed (all group mean % micronucleated PCE or % tail intensity values fell within the 95% reference range of the laboratory's historical vehicle control data).		

Micronucleus Data

Test Article	Dose (mg/kg/day)	Sampling Time (hours)	No. of Animals/Sex	Group Mean % PCE	Group Mean % Micronucleated PCE±SD; Significance
0.5% CMC-Na	0	48	6M	47.73	0.07±0.05
Fruquintinib	500	48	6M	51.33	0.17±0.18
Fruquintinib	1000	48	6M	53.27	0.13±0.08
Fruquintinib	2000	48	6M	53.00	0.14±0.07
EMS	150	48	3M	44.80	2.54±0.84*

Statistical Analyses: Wilcoxon rank sum test * $P \leq .05$

2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.9A ラットを用いた小核試験及びコメットアッセイ（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Fruquintinib: Rat Micronucleus and Alkaline Comet Assay						
Liver Comet Data						
Test Article	Dose (mg/kg/day)	Sampling Time (hours)	No. of Animals/Sex	Tail Intensity		Mean % Hedgehogs
				Mean	SEM	
0.5% CMC-Na	0	48	6M	0.07	0.02	1.31
Fruquintinib	500	48	6M	0.12	0.03	1.21
Fruquintinib	1000	48	6M	0.09	0.02	1.69
Fruquintinib	2000	48	6M	0.09	0.03	1.60
EMS	150	48	3M	27.81 ***	2.45	0.76
Statistical Analyses: Dunnett's test $^{***}P \leq .001$						

AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum observed concentration; CMC-Na: sodium carboxymethyl cellulose; EMS: ethyl methanesulfonate; GLP: Good Laboratory Practice; M: male; MHRA: Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency; No.: number; OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development; PCE: polychromatic erythrocytes; SD: standard deviation; SEM: standard error of mean; ; t_{max}: time to reach maximum concentration.

Doses are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

2.6.7.10 がん原性試験

がん原性試験は実施していない。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：予備試験

被験物質：フルキンチニブ

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Nonpivotal Studies		No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	添付資料番号
		Dosing Period	Doses (mg/kg)				
Rat/ Sprague Dawley	Oral Gavage (0.5% CMC-Na)	GD 6 through GD 17, once daily	0, 0.05, 0.25, 1.25	6F TK: 6F [a]	Dose responsive reductions in mean maternal body weight and decreases in food consumption were noted at all dose levels. In the groups administered 0.05 or 0.25 mg/kg/day there was a treatment-related increased post- implantation loss and dose-responsive reductions in gravid uterine weight and reductions in the number of live fetuses. No fetal toxicological assessment could be conducted for animals administered 1.25 mg/kg/day due to fruquintinib-related toxicity. Fruquintinib-related external variations and malformations included the variation of edema and malformations of anasarca, cranial meningocele, protruding tongue, and short tail in litters from animals administered 0.25 mg/kg/day. No fetal anomalies were noted in litters from animals administered 0.05 mg/kg/day.	8449386	4.2.3.5.2-2
Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage (0.5% CMC-Na in water/ suspension)	GD 6 to GD 15	0, 0.025, 0.1, 0.25	25F TK: 6F	No maternal or fetal toxicity was noted in the 0.025 mg/kg/day dose group. In the 0.1 mg/kg/day dose group, no obvious toxicity was noted in maternal animals, but malformation, lower body weight, and a delay in ossification were observed in fetal animals. In the 0.25 mg/kg/day dose group, lower body weight gain was noted in maternal animals and abnormal embryo development, malformation, lower body weight, and a delay in ossification were observed in fetal animals. The NOAELs of fruquintinib were 0.1 mg/kg/day (AUC_{24} of last dose was 1130 ng·h/mL) for maternal toxicity and 0.025 mg/kg/day (AUC_{24} of last dose was 152 ng·h/mL) for embryo-fetal developmental toxicity, respectively.	[redacted]54RB1	4.2.3.5.2-1

[a] Treated animals only.

AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; CMC-Na: sodium carboxymethyl cellulose; F: female; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practice; NOAEL: No-Observed-Adverse-Effect Level; TK: toxicokinetic.

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

2.6.7.12A 強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験（Sprague Dawley ラット）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Oral Gavage Fertility and Early Embryo Developmental Toxicity Study of Fruquintinib in Sprague Dawley Rats				Study Number: [redacted]54RA1
Design similar to ICH 4.1.1: Yes	Duration of Dosing: M: Males were dosed daily from 4 weeks before cohabitation until necropsy. F: Females were dosed daily from 2 weeks before cohabitation to GD 7.			添付資料番号: 4.2.3.5.1-1 GLP Compliance: NMPA GLP（参考） Batch Number: [redacted]
Species/Strain: Rat/ Sprague Dawley	Day of Mating: From Day 15 of dosing in females (the first dosing was defined as Day 1), animals were paired in a ratio of 1:1. Females were examined daily for the presence of a vaginal plug and/or vaginal smear as an indicator of pregnancy, and the date of presence was designated as GD 0.			
Initial Age: 8-10 weeks (Male), 9-11 weeks (Female)	Day of C-Section: On presumed GD 15			
Date of First Dose: Male Dosing Date: [redacted] 20[redacted] Female Dosing Date: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage			
Special Features: None	Vehicle/Formulation: 0.5% CMC-Na in water/suspension			
No-Observed-Adverse-Effect Level: Parental general toxicity: 0.3 mg/kg/day Maternal general toxicity: 0.5 mg/kg/day Male fertility: 3 mg/kg/day Female fertility: 0.5 mg/kg/day Early embryonic development: 0.15 mg/kg/day				
Males				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3 mg/kg	1 mg/kg	3 mg/kg
No. Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations				
Tooth fracture	0	0	6	11
Necropsy Observations				
Yellow bulge in epididymis (right)	1	0	0	0
Body Weight AD 43/44[a]	Mean (g)	Percentage (%) change from control		
	437.9	-0.11	↓-6.78 **	↓-13.88 **
Food Consumption AD 22/29[a]	Mean (g/animal/day)	Percentage (%) change from control		
	24.8	0.0	+2.02	-3.63

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

2.6.7.12A 強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Oral Gavage Fertility and Early Embryo Developmental Toxicity Study of Fruquintinib in Sprague-Dawley Rats				
Males				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3 mg/kg	1 mg/kg	3 mg/kg
No. Evaluated	20	20	20	20
No. of Males that Mated	20	20	20	20
No. of Fertile Males	15	17	17	13
Females				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.05 mg/kg	0.15 mg/kg	0.5 mg/kg
No. Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations				
Normal	20	20	20	20
Necropsy Observations	No abnormalities were noted in females at scheduled necropsy			
Premating Body Weight AD 15 [a]	Mean (g)	Percentage (%) change from control		
	261.7	-1.53	-0.99	+1.68
Gestation Body Weight GD 15 [a]	Mean (g)	Percentage (%) change from control		
	323.5	+1.24	+0.40	-0.31
Premating Food Consumption AD 8-15 [a]	Mean (g/animal/day)	Percentage (%) change from control		
	17	-1.18	+1.76	+4.71
Gestation Food Consumption GD 7-15 [a]	Mean (g/animal/day)	Percentage (%) change from control		
	24.3	+7.00	+9.88	+1.23
Mean No. Estrous Cycles/14 days	1.2	1.9 **	2.4 **	1.6
Mean No. Days Prior to Mating	2.85	2.70	2.60	2.80
No. of Females Sperm Positive	20	20	20	20
No. of Pregnant Females	15	17	17	13
Mean No. Corpora Lutea	16.1	17.8	18.0	18.0
Mean No. Implantations	13.4	13.4	12.6	11.5

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

2.6.7.12A 強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Oral Gavage Fertility and Early Embryo Developmental Toxicity Study of Fruquintinib in Sprague-Dawley Rats				
Females				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.05 mg/kg	0.15 mg/kg	0.5 mg/kg
No. Evaluated	15	17	17	13
Mean % Preimplantation Loss	17.3	22.3	29.2	35.6
Mean No. Live Conceptuses	11.7	12.5	12.0	↓6.9 *
Mean No. Resorptions	1.6	0.8	0.6	↑4.5 *
No. Dead Conceptuses	0.1	0.0	0.0	0.1
Mean % Postimplantation Loss	16.2	6.0	5.7	↑46.0 **

AD: administration days; CMC-Na: sodium carboxymethyl cellulose; F: female; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practice; ICH: International Council for Harmonisation; M: male; No: number; NMPA: National Medical Products Administration .

[a] For control, group mean is shown. For treated groups the percentage change from control is shown.

Doses are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

Statistical Analyses: Fisher's exact, Kruskal-Waillis, ANOVA and Dunnett t test. *: compared with 0 mg/kg, P < .05, **: compared with 0 mg/kg, P < .01

2.6.7.13 生殖発生毒性試験

2.6.7.13A 強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験（Sprague Dawley ラット）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Oral Gavage Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study, Including Toxicokinetics, with Fruquintinib in Rats				Study Number: 8449387
Design similar to ICH 4.1.3: Yes	Duration of Dosing: GD 6 through GD 17			添付資料番号: 4.2.3.5.2-3
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Day of Mating: GD 0			GLP Compliance: US FDA（評価）
	Day of C-Section: GD 21			Batch Number: [redacted]
Initial Age: At initiation of dosing, animals were 11 to 12 weeks old	Method of Administration: Oral Gavage			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Vehicle/Formulation: 0.5% CMC-Na in deionized water/Suspension			
Special Features: None				
No-Observed-Adverse-Effect Level: Maternal toxicity: 0.25 mg/kg/day; fetal development (F1 Litters): 0.025 mg/kg/day				
Females Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle control)	0.025 mg/kg	0.1 mg/kg	0.25 mg/kg
Total Number of Animals (Dosing/TK)	25 (22/3)	25 (22/6)	25 (22/6)	25 (22/6)
Dams/Does: Toxicokinetics: GD 6 – Fruquintinib				
AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	107	234	1070
C_{max} (ng/mL)	0	15.8	48.0	145
t_{max} (hours)	NA	2	1	2
Dams/Does: Toxicokinetics: GD 17 – Fruquintinib				
AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	114	310	1260
C_{max} (ng/mL)	0	18.7	78.4	187
t_{max} (hours)	NA	2	1	2
Dams/Does: Toxicokinetics: GD 6 – HM5025423 (Metabolite M11)				
AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	BLQ	BLQ	NA [b]
C_{max} (ng/mL)	0	BLQ	BLQ	0.940
t_{max} (hours)	NA	BLQ	BLQ	8
Dams/Does: Toxicokinetics: GD 17 – HM5025423 (Metabolite M11)				
AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	BLQ	BLQ	NA [b]
C_{max} (ng/mL)	0	BLQ	BLQ	0.883
t_{max} (hours)	NA	BLQ	BLQ	8

2.6.7.13 生殖発生毒性試験（続き）

2.6.7.13A 強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Oral Gavage Embryo-Fetal Development Study, Including Toxicokinetics, with Fruquintinib in Rats				
Females Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle control)	0.025 mg/kg	0.1 mg/kg	0.25 mg/kg
Total Number of Animals (Dosing/TK)	25 (22/3)	25 (22/6)	25 (22/6)	25 (22/6)
Clinical Observations:				
Piloerection	0	2	15	20
Decreased activity	0	0	1	3
Head bobbing	0	0	0	2
Ataxia	0	0	1	2
Irregular respiration	0	0	5	7
Body Weight [a]	Mean (g)	Percentage (%) change from control		
GD 21	382	-1.05	+1.05	-2.36
Body Weight Change	Mean (g)	Percentage (%) change from control		
GD 6 through 18	94	+1.06	0.00	↓-12.77%*
Statistical Analyses: ANOVA/Dunnett's-Test: *$P < .05$				
Food Consumption [a]	Mean (g/rat/day)	Percentage (%) change from control		
GD 18 through 21	56.0	-1.79	+7.14	+16.07
Reproductive parameters				
No. Pregnant	22	22	22	21
No. Died or Sacrificed Moribund	No unscheduled mortality occurred. All animals survived to scheduled termination.			
No. Aborted or with Total Resorption of Litter (mean)	0.5	0.6	0.6	2.0
Caesarean-Section Summary				
Mean No. Corpora Lutea	15.3	15.0	16.0	14.7
Mean No. Implantations	14.0	13.7	14.5	13.6
Mean % Preimplantation Loss	7.90	7.86	8.87	7.58
Necropsy observations	No abnormal findings in gross necropsy			

2.6.7.13 生殖発生毒性試験（続き）

2.6.7.13A 強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Oral Gavage Embryo-Fetal Development Study, Including Toxicokinetics, with Fruquintinib in Rats					
Females Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle control)	0.025 mg/kg	0.1 mg/kg	0.25 mg/kg
Total Number of Animals (Dosing/TK)		25 (22/3)	25 (22/6)	25 (22/6)	25 (22/6)
Litters:					
No. Litters Evaluated		22	22	22	21
No. Live Fetuses (mean, per litter)		13.5	13.1	13.9	11.5 *
Mean No. Resorptions		0.5	0.6	0.6	2.0
No. of Litters with Dead Fetuses		0	0	0	1.0
Mean % Postimplantation Loss		3.54	4.66	4.07	15.77
Statistical Analyses: *r = Wilcoxon Rank Sum Test Significant at 0.05 level.					
Mean Fetal Body Weight [a]		Mean (g)	Percentage (%) change from control		
		5.457	+0.71	-0.48	↓-3.61 *
% Male Fetuses		46.6	46.2	50.9	42.5
Fetal Anomalies:					
Gross External: Percent litter (Fisher's exact test) / percent fetus affected (Kruskal-Wallis and Wilcoxon) - *P < .05, **P < .01, ***P < .001					
General	Edema	0 / 0	5 / 0.41	36 **/22.85 **	67 ***/45.96 ***
Head	Cranial meningocele	0 / 0	0 / 0	0 / 0	19 */ 17.41
Mouth	Tongue, protruding	0 / 0	0 / 0	9 / 1.4	10 / 3.2
Tail	Bent	0 / 0	0 / 0	0 / 0	19 */ 2.25 *
	Short	0 / 0	0 / 0	0 / 0	33 **/ 9.44 **
Visceral Anomalies: Percent litter (Fisher's exact test) / percent fetus affected (Kruskal-Wallis and Wilcoxon) - *P < .05, **P < .01, ***P < .001					
Blood Vessel	Aorta, malpositioned	0 / 0	0 / 0	0 / 0	5 /1.19
	Aorta, right sided	0 / 0	0 / 0	0 / 0	5 /0.79
	Aorta/pulmonary trunk – common origin	0 / 0	0 / 0	0 / 0	5 /1.19
	Aortic arch – absent	0 / 0	0 / 0	5 /0.57	24 * / 7.62 *
	Aortic arch – malpositioned	0 / 0	0 / 0	0 / 0	19*/ 4.76
	Aortic arch – right sided	0 / 0	0 / 0	0 / 0	5 / 0.79
	Ductus arteriosis – absent	0 / 0	0 / 0	0 / 0	19*/6.75
	Ductus arteriosis – right sided	0 / 0	0 / 0	0 / 0	10 / 1.98

2.6.7.13 生殖発生毒性試験（続き）

2.6.7.13A 強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験（Sprague Dawley ラット）（続き）

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: Oral Gavage Embryo-Fetal Development Study, Including Toxicokinetics, with Fruquintinib in Rats					
Females Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle control)	0.025 mg/kg	0.1 mg/kg	0.25 mg/kg
Total Number of Animals (Dosing/TK)		25 (22/3)	25 (22/6)	25 (22/6)	25 (22/6)
Blood Vessel (continued)	Innominate artery – malpositioned	0 / 0	0 / 0	0 / 0	5 / 0.79
	Pulmonary trunk – malpositioned	0 / 0	0 / 0	0 / 0	14 /3.57
	Pulmonary trunk – retroesophageal	0 / 0	0 / 0	0 / 0	5 /1.19
	Subclavian artery – malpositioned	5 /0.76	0 / 0	5 / 0.57	29 */ 10.48 *
	Subclavian artery – retroesophageal	5 /0.65	0 / 0	9 / 1.14	33*/13.97 *
	Innominate artery – absent	5 /0.65	0 / 0	14 /2.54	48** / 13.03 **
	Umbilical artery – left-sided	5 /1.95	18 /3.57	32 */4.92 *	43**/ 15.09 **
Heart	Ventricular septum defect	0 / 0	0 / 0	0 / 0	5 /4.76
Thymus	Malpositioned	0 / 0	0 / 0	0 / 0	14 /3.17
Brain	Brain ventricle – dilated	5 /0.76	0 / 0	0 / 0	14 /1.87
Thoracic cavity	Thoracic cavity – fluid filled	0 / 0	0 / 0	5 / 3.03	38**/23.93 **
Skeletal Anomalies: Percent litter (Fisher's exact test) / percent fetus affected (Kruskal-Wallis and Wilcoxon) - *P < .05, **P < .01, ***P < .001					
Vertebra	Lumbar vertebra – hemivertebra	0 / 0	0 / 0	0 / 0	10 /1.98
Forelimb	Metacarpal – unossified	0 / 0	0 / 0	0 / 0	10 /3.17
	Phalanx – unossified	18 /5.48	32 /10.93	36 /9.76	71 ***/49.70 ***
Hindlimb	Phalanx – unossified	86 /48.49	73 /40.46	95 /59.79	95 /85.83 ***
Caudal vertebra	Misaligned	0 / 0	0 / 0	0 / 0	24 */6.90 *
	Unossified	0 / 0	0 / 0	0 / 0	19 */6.63 *
Lumbar centrum	Bipartite ossification	0 /0	5 /0.91	9 /1.30	33 **/12.39 **
	Unilateral ossification	0 / 0	0 / 0	0 / 0	14 /3.57
	Supernumerary rib	36 /6.64	27 /5.48	23 /4.55	62 /24.98 *
Thoracic centrum	Bipartite ossification	23 /3.49	23 /4.14	59 */26.35 **	76 ***/63.30 ***
	Incomplete ossification	0 / 0	0 / 0	0 / 0	19 */4.01 *
	Unilateral ossification	0 / 0	0 / 0	9 /3.25	43 ***/29.93 ***
	Unossified	0 / 0	0 / 0	0 / 0	14 /10.71

"-": no findings, no data, not reported; AUC_{24}: area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BLQ: below the limit of quantification; C_{max}: maximum observed concentration; CMC-Na: sodium carboxymethyl cellulose; F1: first filial generation (embryo/fetus); FDA: Food and Drug Administration; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practice; ICH: International Council for Harmonisation; NA: not available; No.: number; TK: toxicokinetic; t_{max}: time to reach maximum concentration.

[a] For control, group mean is shown. For treated groups the percentage change from control is shown.

[b] For group 4 (0.25 mg/kg), the values for AUC are not reported for profiles with fewer than three quantifiable concentrations.

Doses are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).

Notes for statistical analysis are provided in the table.

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

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない。

2.6.7.15 新生児を用いた試験

新生児を用いた試験は実施していない。

2.6.7.16 局所刺激性試験

局所刺激性試験はICH M3(R2)に準拠し、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験の一環として、一般状態、消化管の肉眼的及び病理組織学的評価を実施した。

2.6.7.17 その他の毒性試験

被験物質：フルキンチニブ

Report Title: A Phototoxicity Study of Fruquintinib via Oral Gavage in Guinea Pigs							
Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing a	Doses (mg/kg)[b]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	添付資料番号
Guinea Pig/Hartley	Oral Gavage (Vehicle control; 0.5% CMC-Na)	Single dose	0, 5, 25, 100 An additional group of animals received 0.1% methoxsalen solution as a positive control. (Batch Number of fruquintinib, [redacted])	4M/4F (4M/4F TK)	No treatment-related moribundity was observed during the study. No skin reactions were observed at any time points in either non-irradiated skin or irradiated skin of animals at doses of fruquintinib of 5, 25, or 100 mg/kg. Accordingly, fruquintinib was considered to be negative for phototoxicity at doses up to 100 mg/kg. At 100 mg/kg, the gender-combined mean fruquintinib AUC_{24} and C_{max} values of 94200 ng•h/mL and 6400 ng/mL, respectively. For M11, gender-combined mean AUC_{24} values and C_{max} values were 7250 ng•h/mL and 500 ng/mL, respectively.	[redacted]186PT02	4.2.3.7.7-1

AUC_{24}: area under the concentration time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum observed concentration; CMC-Na: sodium carboxymethyl cellulose; F: female; M: male; TK: toxicokinetic.

[a] Ultraviolet A radiation at a dose of 10 J/cm^2 was applied approximately 120 minutes after dosing for the vehicle control and fruquintinib-treated groups.

[b] Concentrations are expressed in terms of the parent compound, fruquintinib (free base).