第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名：	ゾンゲルチニブ
剤形・含量：	フィルムコート錠・60 mg
文書名：	2.6.6 毒性試験の概要文
文書作成日：	25 July 2025

Proprietary confidential information
© 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 2
略号一覧表 4
1.　まとめ 5
2.　単回投与毒性試験 9
3.　反復投与毒性試験 10
3.1　ラット 10
3.1.1　ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験 10
3.1.2　ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験 10
3.1.3　ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験 11
3.2　イヌ 12
3.2.1　イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験 12
3.2.2　イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験 13
3.2.3　イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験 15
3.2.4　イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験 15
4.　遺伝毒性試験 16
4.1　Ames 試験 16
4.2　ラットを用いたコメット/末梢血小核複合試験 16
5.　がん原性試験 18
6.　生殖発生毒性試験 19
6.1　胚・胎児発生に関する試験 19
6.1.1　ラット 19
6.1.1.1　DRF 試験 19
6.1.1.2　本試験 20
6.1.2　ウサギ 20
6.1.2.1　DRF 試験 20
6.1.2.2　本試験 21
7.　局所刺激性試験 23
8.　その他の毒性試験 24
8.1　免疫毒性 24
8.1.1　免疫学的検査 24
8.1.2　反復投与毒性試験の病理組織学的検査及び器官重量 24
8.2　光毒性試験 24
8.3　溶血性試験 24
8.4　代謝物 24
8.5　不純物 25
8.5.1　ゾンゲルチニブ原薬及び製剤中不純物の安全性確認 26

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies
8.6 曝露量の比較 28
9. 考察及び結論 30
10. 図表 33
11. 参考文献 34

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

略号一覧表

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 in plasma	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-24}	area under the concentration-time curve in plasma over the time interval from 0 to 24 hour	投与後時間 0 から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0-24,ss}$	area under the curve from time zero to 24 hours postdose at steady state	定常状態における投与後時間 0 から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
C_{max}	maximum concentration in plasma	最高血漿中濃度
$C_{max,ss}$	maximum concentration in plasma at steady state	定常状態における最高血漿中濃度
Crl:WI(Han)	charles river laboratories / wistar hannover (rat strain)	Charles River Laboratories / Wistar Hannover（ラットの系統）
Derek	in silico system for structure activity relationship assessment	構造活性相関評価のための *in silico* システム
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DRF	dose-range finding	用量設定
EFD	embryo-fetal development	胚・胎児発生
EGFR	epidermal growth factor receptor	上皮成長因子受容体
F	female(s)	雌
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HED	human equivalent dose	ヒト等価用量
HPMC-AS	hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate	ヒドロキシプロピルメチルセルロース酢酸エステルコハク酸エステル
ICH	International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
M	male(s)	雄
%MN-RET	percentage of micronuclei per reticulocytes	小核を有する網状赤血球の出現率
N/A	not applicable	該当なし
NK	natural killer	ナチュラルキラー
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NMT	not more than	以下
NRU	Neutral red uptake	ニュートラルレッド取込み
NSCLC	non-small cell lung cancer	非小細胞肺癌
NZW	new zealand white (rabbit strain)	ニュージーランドホワイト（ウサギの系統）
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
RET	reticulocytes	網状赤血球
TI	tail intensity	テール蛍光強度
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. まとめ

末期非小細胞肺癌（NSCLC）の長期治療を目的としたゾンゲルチニブの成人への 1 日 1 回経口投与をサポートするため，包括的な非臨床安全性試験プログラム（表 1: 1）を実施した。特に記載のない限り，本文中に記載したすべての用量又は濃度は，ゾンゲルチニブの遊離塩基換算量を示す。

ヒト上皮成長因子受容体 2（human epidermal growth factor receptor 2［HER2］）はすべての動物種を通して相同性が高く，ゾンゲルチニブの主要な結合相互作用に関連する残基は，すべての非臨床試験動物種で保存されている。肝細胞を用いた *in vitro* データに基づくと，ラット及びイヌで推定されるゾンゲルチニブの代謝物プロファイルを組み合わせることにより，ヒトにおける推定代謝物プロファイルが網羅される。また，ラット及びイヌでゾンゲルチニブの経口投与により，十分なゾンゲルチニブの全身曝露が認められた［CTD 2.6.4_3 項］。これらのことから，ゾンゲルチニブの一般毒性試験で用いる適切な動物種として，げっ歯類はラットを，非げっ歯類はイヌを選択した。また，生殖発生毒性試験で用いる動物種として，ヒトにおける潜在的な胚・胎児毒性及び形態異常誘発リスクの評価に一般的に受け入れられている動物種であるラット及びウサギを選択した。これらの毒性試験は，臨床投与経路と同じ経口投与で実施した。

実施した主要な非臨床安全性試験プログラムの概要を表 1: 1 に示す。

表 1: 1　ゾンゲルチニブの開発中に実施した主要な（GLP 適用）非臨床安全性試験の概要

Study type and duration	Species	Route of administration	Reference
Repeat dose toxicity			
4 weeks (+ 4 weeks recovery)	Rat Dog	per os (po)	CTD 4.2.3.2-02_n00282481 CTD 4.2.3.2-06_n00278943
13 weeks (+ 4 weeks recovery)	Rat Dog	po	CTD 4.2.3.2-03_n00301352 CTD 4.2.3.2-07_n00301353
Genotoxicity			
Ames bacterial reversion	Salmonella typhimurium Escherichia coli	*In vitro*	CTD 4.2.3.3.1-01_n00282239
Comet assay in liver and duodenum	Rat	po	CTD 4.2.3.3.2-01_n00281499
Micronucleus test in peripheral blood	Rat	po	CTD 4.2.3.3.2-01_n00281499
Reproductive and developmental toxicity			
Embryo-fetal development	Rat Rabbit	po	CTD 4.2.3.5.2-02_n00298815 CTD 4.2.3.5.2-04_n00301151

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

曝露量比は，ゾンゲルチニブの予定臨床用量である 120 mg を 1 日 1 回投与したときの推定曝露量（定常状態における最高血漿中濃度［$C_{max,ss}$］：2730 nmol/L，定常状態における投与後時間 0 から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積［$AUC_{0-24,ss}$］：30500 nmol•h/L）［CTD 5.3.3.5-01_c44247865］に基づいて算出した。ラットにおける曝露量比は，ゾンゲルチニブの血漿中での非結合型分率がラットとヒトで約 6 倍異なった（ラット：0.074%，ヒト：0.46%）ことから，非結合型分率で補正して算出した。

臨床試験及び製造販売承認申請をサポートするためのゾンゲルチニブの非臨床安全性試験プログラムでは，用量設定（DRF）試験に続く主要な試験として，4 及び 13 週間毒性試験（ラット及びイヌ），標準的組み合わせの遺伝毒性試験，胚・胎児発生（EFD）に関する試験（ラット及びウサギ），並びに局所刺激性試験（ウサギ）を実施した。さらに，溶血性及び光毒性の有無を *in vitro* で評価した。単回投与毒性試験は規制ガイドラインで要求されていないため，単回投与毒性に特化した試験は実施しなかった。提案中の適応（局所進行性又は転移性 NSCLC の患者へのゾンゲルチニブ投与）に一致して，また，進行がんの治療を目的とした薬物に関する医薬品規制調和国際会議（ICH）S9 ガイドライン「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（薬食審査発 0604 第 1 号 平成 22 年 6 月 4 日）に従い，慢性毒性試験，がん原性試験，受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，並びに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なかった。

主要な試験以外の試験を除くすべての試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従い，経済協力開発機構（OECD）加盟国において実施し，限界用量までの用量又は濃度で評価した。ラット及びイヌを用いたすべての主要な反復投与毒性試験では，病理組織学的検査のピアレビューを実施した。また，ICH ガイドラインに従い，ラット，ウサギ及びイヌを用いたすべての GLP 適用毒性試験では，対照群を含め適正なトキシコキネティクス（TK）を実施した。

ゾンゲルチニブの反復投与毒性は，4 週間までの短期試験ではいずれも，ゾンゲルチニブを 0.5%ヒドロキシエチルセルロース水溶液に懸濁させて投与した。EFD 試験（DRF 試験を含む）及び 13 週間反復投与毒性試験では，ゾンゲルチニブの固体分散体を 0.5%メチルセルロースに懸濁させて投与した。

ゾンゲルチニブについて，ラット及びイヌを用いた最長 13 週間の反復強制経口投与毒性試験を実施した。反復経口投与後の TK により，ゾンゲルチニブの用量依存的な全身曝露量の増加が認められ，その値は予定臨床用量の曝露量と同程度又はそれを上回った。

ゾンゲルチニブによる毒性所見として，ラットでは副腎及び雌性生殖器官の所見，イヌでは口腔粘膜所見が特徴的に認められた。ラットでは，4 週間反復投与毒性試験のみで副腎において器官重量増加を伴う束状帯/網状帯の肥大，空胞化及び単細胞壊死が観察され，13 週間反復投与毒性試験では，子宮の器官重量減少を伴うびまん性萎縮，並びに子宮頸部及び膣の軽微又は軽度の過形成/過角化が認められた。イヌでは，口腔粘膜の病変に合致して摂餌量及び体重の減少が認められた。すべての毒性所見に回復性が認められた。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

ゾンゲルチニブに関連した毒性ではない所見が，ラット及びイヌの被毛，ラット（雄のみ）の精巣，乳腺及び前立腺，並びにイヌの腸及び副腎に認められた。さらに，ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験では，複数の器官に軽微から軽度の間質マクロファージ内色素沈着が認められた。雄ラットでは，精巣間質細胞の軽微な空胞化，並びに乳腺及び前立腺の萎縮が認められた。一連の反復投与毒性試験において，被毛黄色化が，ラット及びイヌでそれぞれ投与 15 及び 28 日目以降に認められた。イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験では，腸に杯細胞の過形成が認められ，一般状態変化として糞便性状の異常が認められた。イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験ではこれらの消化管所見は認められなかった。また，イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験のみで副腎球状帯の過形成が観察された。

ラットを用いた 4 及び 13 週間反復投与毒性試験の無毒性量（NOAEL）はそれぞれ 90 及び 30 mg/kg/日であった。イヌを用いた 4 及び 13 週間反復投与毒性試験の NOAEL はそれぞれ 10 及び 6 mg/kg/日（最高用量）であった。各 NOAEL における曝露量をヒト推定曝露量と比較すると，ラットでは曝露量比 1.5～3.6 倍とヒト推定曝露量をわずかに上回ったものの，イヌではヒト推定曝露量と同程度であったため，安全域が得られなかった。しかし，回復期間終了後に形態学的変化が完全に回復したことから，提案中の適応における臨床状況を考慮すると，この曝露量比は許容可能と考えられる。

ゾンゲルチニブの遺伝毒性を，標準的組み合わせの遺伝毒性試験で評価した。Ames 試験では，代謝活性化系の存在下及び非存在下で突然変異誘発性は認められなかった。ラットを用いた *in vivo* 骨髄小核試験及びコメット試験（肝臓及び十二指腸）では，限界用量まで投与したところ，陰性であった。したがって，ゾンゲルチニブに遺伝毒性はないと結論された。

ゾンゲルチニブの EFD 試験を，妊娠したラット及びウサギを用いて実施した。妊娠ラットを用いた DRF 試験では，90 mg/kg/日（曝露量比は 5.2 倍）以上の用量で胚・胎児致死性が認められた。しかし，ラット本試験では，最高用量の 60 mg/kg/日までゾンゲルチニブによる母体毒性及び胚・胎児毒性は認められず，胎児体重減少，並びに骨化度低下及び尿路系発育遅延に示される発育遅延が認められたのみであった。したがって，ラットにおける母体毒性及び胚・胎児毒性に関する NOAEL は 60 mg/kg/日（曝露量比 3.3 倍）であった。ウサギでは，評価したすべての用量でゾンゲルチニブによる用量依存的な母体毒性がみられたが，胚・胎児毒性は認められなかった。したがって，ウサギにおける母体毒性に関する NOAEL を明らかにすることはできなかったが，胚・胎児毒性に関する NOAEL は最高用量の 120 mg/kg/日（曝露量比 1.3 倍）であった。以上，曝露量比 5.2 倍で胚・胎児毒性が発現したが，胚・胎児毒性及び形態異常誘発性は曝露量比 3.3 倍まで認められなかった。

ウサギを用いた局所刺激性試験において，静脈内，動脈内，静脈周囲，皮下又は筋肉内にゾンゲルチニブを単回投与したときの忍容性は良好であった。

個別規格設定されたすべての原薬不純物又は製剤分解生成物について，ヒト最大一日曝露量を上回る量が添加されたゾンゲルチニブを用いたラット 13 週間反復投与毒性試験において，忍容性

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

が認められ，その正当性が示された。したがって，原薬又は製剤中の不純物の存在は，表 8.5.1: 1 及び表 8.5.1: 2 に記載された規格限界まで正当と考えられる。

ヒトにおいて曝露量が薬物関連物質の総曝露量の 10%を超える代謝物（以下，主要代謝物）は認められなかったため，ICH M3(R2)「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に準拠して，非臨床試験でこれら代謝物のさらなる特徴づけは行わなかった。

以上，一連の非臨床安全性試験プログラムでゾンゲルチニブによる毒性を評価した。ラット及びイヌを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験では，ゾンゲルチニブによる毒性所見が口腔粘膜，副腎及び雌性生殖器官に認められたが，毒性ではない所見が，ラット及びイヌの被毛，雄ラットの精巣，乳腺及び前立腺，並びにイヌの副腎及び腸に認められた。遺伝毒性評価において，ゾンゲルチニブは陰性であった。また，ラットで胚・胎児致死性がみられたが，形態異常誘発性は認められなかった。したがって，提案中の適応を考慮すると，ゾンゲルチニブの毒性学的プロファイルは，本製造販売承認申請において許容可能と考えられる。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2. 単回投与毒性試験

ゾンゲルチニブの単回投与毒性試験は実施しなかったが，ラットの *in vivo* 遺伝毒性試験，並びにラット及びイヌの反復投与毒性試験の初回投与時の結果から急性毒性を評価したところ，ラット及びイヌのいずれにおいても最高用量（それぞれ 2000 及び 1000 mg/kg/日）までゾンゲルチニブに起因する死亡は認められず，忍容性は良好であった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3. 反復投与毒性試験

ゾンゲルチニブの反復投与毒性を，Wistar Han ラット及びビーグル犬を用いて評価した。

ラットでは，DRF 試験としての 2 週間反復投与毒性試験に続いて 4 及び 13 週間反復投与毒性試験を実施した。イヌでは，DRF 試験としての用量漸増及び 2 週間反復投与毒性試験に続いて 4 週間反復投与毒性試験を実施した。さらに，投与するゾンゲルチニブの非分散体から固体分散体（ヒドロキシプロピルメチルセルロース酢酸エステルコハク酸エステル［HPMC-AS］をキャリアに用いて噴霧乾燥して製造）への変更に伴うブリッジング試験として 28 日間反復投与毒性試験を実施した後，13 週間反復投与毒性試験を実施した。

DRF 及び 4 週間反復投与毒性試験では，ゾンゲルチニブの非分散体を 0.5%ヒドロキシエチルセルロース（ナトロゾール® 250 HX）に懸濁して強制経口投与した。13 週間反復投与毒性試験では，ゾンゲルチニブの固体分散体を 0.5%メチルセルロースに懸濁して強制経口投与した。

DRF 試験及びブリッジング試験を除くすべての試験は，OECD 加盟国で GLP を遵守して実施した。

3.1 ラット

3.1.1 ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験

Wistar Han ラット（1 群雄各 5 例）に，ゾンゲルチニブを 0（溶媒），40，130 及び 420 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，2 週間反復強制経口投与した。さらに，1 群あたり雄各 3 例を追加し，TK に割り当てた［CTD 4.2.3.2-01_n00281427］（GLP 非適用）。

TK では，ゾンゲルチニブを投与したすべての動物でゾンゲルチニブの全身曝露が認められた。

いずれの用量においても，ゾンゲルチニブに起因する死亡はみられなかった。

一般状態の変化は 420 mg/kg/日群でみられた被毛黄色化のみであり，全用量で血液凝固及び尿検査パラメータに変化は認められなかった。ゾンゲルチニブに明らかに関連すると考えられる肉眼的及び病理組織学的変化は認められなかった。

420 mg/kg/日群において，試験終了時に摂餌量減少及び体重増加量減少（対照群と比較して−86.7%）が認められた。これに伴って，肝臓及び脾臓の絶対重量が減少したが，関連する病理組織学的変化は認められなかった。また，投与期間終了時に，軽度の網状赤血球数減少が認められた。総ビリルビン及びコレステロールの増加，並びにトリグリセリド及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の減少が認められた。総ビリルビン増加及びトリグリセリド減少は 130 mg/kg/日群においても認められた。

本試験の条件下では 420 mg/kg/日は毒性用量ではないと判断された。この用量における投与 14 日目のゾンゲルチニブの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は，それぞれ 84000 nmol/L 及び 1270000 nmol•h/L であった。

3.1.2 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験

Wistar Han ラット（1 群雌雄各 10 例，6～8 週齢）にゾンゲルチニブを 0（溶媒），30，90 及び 270 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，4 週間反復強制経口投与した。投与期間終了後に 4 週間の回復期

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

間を設定した（0 及び 270 mg/kg/日群の雌雄各 5 例）。さらに，1 群雌雄各 3（対照群）又は 6 例（投与群）を追加し，TK に割り当てた［CTD 4.2.3.2-02_n00282481］（GLP 適用）。

TK では，ゾンゲルチニブを投与したすべての動物で全身曝露が認められた。ゾンゲルチニブの血漿中曝露量は 30～270 mg/kg/日の用量間では用量比を下回って増加した。投与 27 日目のゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} の雌雄合算の平均値は，投与 1 日目と比較して，すべての用量群でそれぞれ 1.4 倍及び 1.6 倍であった。C_{max} 及び AUC_{0-24} に性差を示唆する一貫した傾向は認められなかった。

いずれの用量においても，ゾンゲルチニブに起因する死亡はみられなかった。

毒性ではない変化と考えられる被毛黄色化（組織学的変化は伴わない）が，すべての用量群で投与 15 日目以降にみられ，4 週間の回復期間終了後においても認められた。30 mg/kg/日以上の群で用量依存的な体重増加量減少がみられ，雄では摂餌量減少を伴っていた。

血液学的検査では，270 mg/kg/日群で網状赤血球数の軽微な増加（対照群と比較して最大 1.3 倍），90 mg/kg/日以上の群の雌で軽微な白血球数及び好中球数増加（最大 1.5 倍），並びに 270 mg/kg/日群で軽微なプロトロンビン時間延長（約 1.1 倍）が認められた。血液生化学的検査では，270 mg/kg/日群の雌雄でグルコース増加，90 mg/kg/日以上の群で AST 減少及びすべての用量群でクレアチンホスホキナーゼ減少が認められたが，いずれも軽微であった。これらの変化は，軽微かつ相関する病理組織学的変化を伴わないことから，毒性ではないと判断された。

剖検及び/又は病理組織学的検査において，30 及び 90 mg/kg/日群では毒性所見は認められなかった。270 mg/kg/日群では，副腎に軽度の器官重量増加（絶対重量が対照群と比較して 1.3 倍）を伴う，束状帯/網状帯における軽微から軽度のびまん性空胞化，軽微な単細胞壊死及び軽微なびまん性肥大が認められた。回復期間終了後も雄のみで軽度の副腎重量増加がみられたが，病理組織学的所見は認められなかったことから，回復性が認められた。

270 mg/kg/日群におけるこれらの所見に基づき，副腎が毒性標的器官と特定され，NOAEL は雌雄ともに 90 mg/kg/日と判断された。NOAEL におけるゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24}（雄/雌）はそれぞれ 53400/56600 nmol/L 及び 576000/677000 nmol•h/L であった。

3.1.3 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験

Wistar Han ラット（1 群雌雄各 12 例，7～8 週齢）にゾンゲルチニブの固体分散体を 0（溶媒），10，30 及び 90 mg/kg/日の用量で 13 週間反復強制経口投与した。投与期間終了後に 4 週間の回復期間を設定した（0 及び 90 mg/kg/日群の雌雄各 10 例）。さらに，1 群あたり雌雄各 3 例（対照群）又は 6 例（投与群）を追加し TK に割り当てた［CTD 4.2.3.2-03_n00301352］（GLP 適用）。

TK では，ゾンゲルチニブを投与したすべての動物で全身曝露が認められた。ゾンゲルチニブの血漿中曝露量は 10～30 mg/kg/日の用量間では用量に比例して増加し，30～90 mg/kg/日の用量間では用量比を下回って増加した。ゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} に，蓄積及び性差を示唆する一貫した傾向は認められなかった。

いずれの用量においても，ゾンゲルチニブに起因する死亡は認められなかった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

30 及び 90 mg/kg/日群の雄で，投与期間中に体重増加量減少（対照群の 0.88 倍）及び軽度の摂餌量減少が認められた。10 mg/kg/日群の雄及びすべての投与群の雌では，体重増加及び摂餌量の変化は認められなかった。回復期間中，90 mg/kg/日群の雄のみ，体重増加及び摂餌量が低く推移した。

臨床検査及び眼科学的検査では，毒性学的に意義のある所見は認められなかった。

90 mg/kg/日群の主試験動物 12 例中 3 例で性周期判定ができず，それに関連して子宮の軽微なびまん性萎縮（器官重量減少を伴う），並びに子宮頸部及び膣の軽微又は軽度の過形成/過角化が認められた。子宮の重量減少は 4 週間の回復期間後においても引き続き認められたが，それに伴う病理組織学的変化は認められなかった。これらの所見は毒性であるが回復性があると考えられた。

ゾンゲルチニブに関連した所見が，30 mg/kg/日以上の群で精巣（間質の細胞［ヘマトキシリン・エオジン染色スライド上ではマクロファージ又はライディッヒ細胞の明確な区別ができない］の空胞化），乳腺及び前立腺（腺房萎縮；雄のみ），並びに舌下腺（腺房分泌減少）に認められたが，重症度が低く，かつ変性，壊死及び/又は炎症が認められなかったため，毒性ではないと判断された。また，軽微から軽度の金褐色のリポフスチン様色素が，多数の器官でマクロファージ内に認められた。回復期間終了後に，精巣間質細胞の軽微な空胞化が投与終了時と同じ発現頻度で認められたことから，この所見に回復性は認められなかった。また，多数の器官でマクロファージ内に金褐色色素が引き続き認められた。他の所見はいずれも回復性があると考えられた。当該所見が認められた臓器の一部について追加の検討を行ったところ，細胞内色素は Ziehl-Neelsen 染色及びシュモール反応に陽性であり，リポフスチンである可能性が高いと考えられた。

これらの結果に基づき，NOAEL は 30 mg/kg/日と判断された。毒性標的器官は，雌性生殖器官（子宮，子宮頸部及び膣）であった。毒性ではない所見として，ゾンゲルチニブに関連した器官重量変化及び/又は病理組織学的所見が，雄の精巣，乳腺及び前立腺，並びに雌雄の舌下腺に認められた。NOAEL における 13 週間の投与期間終了時のゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24}（雄/雌）は，それぞれ 34300/47900 nmol/L 及び 280000/302000 nmol•h/L であった。

3.2 イヌ

3.2.1 イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験

ビーグル犬にゾンゲルチニブを，漸増用量（雌雄各 1 例に 10，30，60，200，600 及び 1000 mg/kg/日の用量で 1 用量あたり 1～6 日間投与，回復期間あり又はなし）で反復強制経口投与した後，未投薬の動物を用いて固定用量（60 mg/kg/日で雌雄各 2 例，100 mg/kg/日で雌雄各 1 例）で 1 日 1 回，2 週間反復経口投与した。投与開始時，イヌは 10～26 カ月齢であった［CTD 4.2.3.2-04_n00276961］（GLP 非適用）。

TK では，ゾンゲルチニブを投与したすべての動物で全身曝露が認められた。動物数が少なかったため，ゾンゲルチニブの血漿中濃度はばらつきが大きかった。固定用量で反復投与したときのゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} は，60 mg/kg/日群（雄/雌）でそれぞれ 9590/1820 nmol/L 及び 86600/9130 nmol•h/L，100 mg/kg/日群（雄/雌）でそれぞれ 4530/2630 nmol/L 及び 31000/49200 nmol•h/L であった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

いずれの用量においても，ゾンゲルチニブに起因する死亡は認められなかった。

ゾンゲルチニブに関連した一般状態の変化として，30 mg/kg/日以上（漸増用量投与）及び60 mg/kg/日以上（固定用量投与）で糞便性状の異常（液状便，赤色便又は黄色便等）及び口腔内変化（小胞及び/又はびらん/潰瘍）が認められ，後者は毒性と考えられた。600 mg/kg/日以上（漸増用量投与）及び 60 mg/kg/日以上（固定用量投与）では，口腔内変化に関連して，一部の動物では一過性の震え/振戦及び/又は自発運動低下もみられた。口腔内変化に伴う病理組織学的所見として，軟口蓋の粘膜に混合細胞浸潤を部分的に伴うびらん/潰瘍がみられた。臨床検査では好中球数及び血漿タンパク濃度に軽度の増加が認められ，これらは軽度の口腔内炎症過程を反映したものである可能性が高い。個々の動物で，摂餌量は用量及び/又は時間に依存して軽度から重度に減少した。摂餌量減少に伴って，数例に投与 1 日目と比較して最大 5.6%の軽微な体重減少が認められた。

肝臓のトキシコゲノミクス解析では，脱制御遺伝子の数に変化は認められなかった。経路解析により，100 mg/kg/日群の雄のみで，コレステロール経路の誘導が認められた。

以上，ゾンゲルチニブに関連した糞便性状の異常及び口腔内の毒性所見（小胞及び/又はびらん/潰瘍）がみられ，それに関連して摂餌量減少及び体重減少が認められた。

3.2.2 イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験

ビーグル犬（1 群雌雄各 3 例）にゾンゲルチニブを 0，10，20 及び 50 mg/kg/日の用量で 4 週間反復強制経口投与した。投与期間終了後に 4 週間の回復期間を設定した（0 及び 50 mg/kg/日群の雌雄各 2 例）。投与開始時，イヌは 11～12 カ月齢であった［CTD 4.2.3.2-06_n00278943］（GLP 適用）。

標準的な検査に加えて，皮膚（腹部及び頸部）検体を用いたラマンイメージング，蛍光顕微鏡検査及びトキシコゲノミクス，並びに口腔粘膜（軟口蓋）のトキシコゲノミクスを実施した（いずれも GLP 非適用）。

TK では，ゾンゲルチニブを投与したすべての動物で全身曝露が認められた。同一投与日における同一投与群内での曝露量のばらつきは大きかったが，全体的な傾向として，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量は用量比を上回って増加した。ゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} に，蓄積及び性差を示唆する明らかな傾向は認められなかった。

いずれの用量においても，ゾンゲルチニブに起因する死亡は認められなかった。

一般状態観察では，10 mg/kg/日以上の群で，用量依存的かつ毒性学的に意義のある糞便性状の異常（液状便，粘液便，赤色便，淡色便，緑色便又は黄色便等）及び軽度から重度の口腔粘膜の病変/発赤が認められた。20 及び 50 mg/kg/日群では，上記の変化に加えて中等度から重度の摂餌量減少/飼料拒絶，体重減少，自発運動量減少，震え/振戦及び歯肉蒼白化が投与 2 日目以降に認められた。さらに，20 及び 50 mg/kg/日群では，摂餌量減少による軽度の体重減少（最大で 6.7%）が，投与 4 日目に認められた。数回の摂餌刺激を実施したところ，大半の動物で摂餌状況が改善したが，50 mg/kg/日群の数例では，投与 1 日目と比較して体重が最大で 23.6%減少した。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

20 及び 50 mg/kg/日群では，口腔内変化に伴って臨床検査パラメータに軽度の炎症反応（好中球数，白血球数，血小板数及びフィブリノゲンの増加，並びに軽度の血小板数増加に伴ったアルブミン，総タンパク及びアルブミン/グロブリン比の減少）が認められた。

病理組織学的検査では，10 mg/kg/日以上で，ゾンゲルチニブに関連した変化として，口腔内のびらん/潰瘍が認められた。20 mg/kg/日以上でみられた様々な口腔内変化及びそれに伴う中等度から重度の一般状態への影響は，毒性と考えられた。50 mg/kg/日群では，ゾンゲルチニブに関連した所見として，小腸及び大腸にびまん性杯細胞過形成がみられた。また，空腸の黄色化液状内容物が認められたが，回復期間中に消失した。杯細胞過形成は炎症，変性及び壊死の所見を伴わず，回復期間中に完全に回復したことから，毒性ではないと判断された。20 及び 50 mg/kg/日群では副腎の軽微なびまん性副腎皮質球状帯過形成が認められたが，軽微で，炎症，変性及び壊死がみられず，かつ回復期間中に回復したことから，毒性ではないと判断された。50 mg/kg/日群の雌 1 例で血漿中カリウム濃度の進行性減少及び尿比重低値が認められ，これらは副腎の所見に関連して発現した可能性がある。しかし，関連する一般状態の変化が認められなかったことから，この所見は毒性ではないと判断された。

50 mg/kg/日群の全例で，投与 28 日目以降に身体の数カ所で被毛黄色化が認められ，回復期間中にむしろより顕著になった。病理組織学的検査では皮膚及び付属器の変化は認められなかった。20 及び 50 mg/kg/日群の自家蛍光顕微鏡検査で，毛包内にゾンゲルチニブが検出された。50 mg/kg/日ではゾンゲルチニブのラマンシグナルも検出された。検査を実施した高用量回復群では，ゾンゲルチニブシグナルの減少がラマンイメージング及び蛍光イメージングの両方で認められたことから，変化の回復性が認められた。

心電図検査では，50 mg/kg/日群で投与 25 日目の投与前及び投与後 2 時間に，ゾンゲルチニブに関連した心拍数減少（それぞれ−22.2%及び−33.9 bpm/−25.6%）が RR 間隔延長を伴って認められた。統計学的有意差はみられなかったが，心拍数減少は投与 10 日目の投与前（10 例中 5 例，−20～−39 bpm）及び投与後 2 時間（10 例中 6 例，−11～−27 bpm）においても認められた。しかし，いずれの評価時点においても，徐脈は認められなかった。

眼科学的検査では，評価したいずれの用量においてもゾンゲルチニブに関連した眼の変化は認められなかった。

皮膚（頸部）のトキシコゲノミクスにおいて，50 mg/kg/日群の雌で，免疫応答，ERK1/2 カスケード，並びにケラチン及びケラチノサイト分化に関する遺伝子に対するゾンゲルチニブに関連した遺伝子の脱制御が認められた。

本試験の条件下で，口腔粘膜が毒性標的器官と特定された。口腔内のびらん/潰瘍が 20 及び 50 mg/kg/日で認められ，NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。ゾンゲルチニブに関連するが毒性ではない所見が，被毛（黄色化），副腎（球状帯過形成）及び腸（杯細胞過形成）に認められた。NOAEL におけるゾンゲルチニブの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$（雄/雌）は，それぞれ 621/968 nmol/L 及び 7010/11500 nmol•h/L であった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3.2.3 イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験

ビーグル犬（1 群雌雄各 1 又は 2 例，17～25 カ月齢）にゾンゲルチニブの固体分散体を 1，5 及び 10 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回, 最長 28 日間反復強制経口投与した［CTD 4.2.3.2-05_n00292500］（GLP 非適用）。本試験は，投与製剤の変更に伴うブリッジング試験として，13 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）（3.2.4 項）の用量設定のために実施した。

TK では，ゾンゲルチニブを投与したすべての動物で全身曝露が認められた。ゾンゲルチニブの血漿中曝露量は 1～10 mg/kg/日の用量間で用量に比例して増加した。ゾンゲルチニブの非分散体を用いた試験［CTD 4.2.3.2-06_n00278943］と比較して，固体分散体を投与したときのゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} は，10 mg/kg/日でそれぞれ約 7.6 及び 6.6 倍に増加した。

本試験の結果は，口腔粘膜の毒性病変を含めて，2 週間反復投与毒性試験（3.2.1 項）の結果を再現したが，5 及び 10 mg/kg/日群では，さらに小腸及び/又は大腸（空腸，回腸，結腸及び/又は直腸）に軽微又は軽度のびまん性杯細胞過形成が認められた。

ゾンゲルチニブの 1 mg/kg/日（毒性がみられなかった用量）群の投与 14 日目における C_{max} 及び AUC_{0-24}（雌雄合算）は，それぞれ 618 nmol/L 及び 4420 nmol•h/L であった。

3.2.4 イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験

ビーグル犬（1 群雌雄各 3 例）にゾンゲルチニブの固体分散体を 0（溶媒），1.5，3 及び 6 mg/kg/日の用量で 13 週間反復強制経口投与した。投与期間終了後に 4 週間の回復期間（0 及び 6 mg/kg/日群で雌雄各 2 例）を設定した。投与開始時，イヌは約 12～13 カ月齢であった［CTD 4.2.3.2-07_n00301353］（GLP 適用）。

TK では，ゾンゲルチニブを投与したすべての動物で全身曝露が認められた。ゾンゲルチニブの血漿中曝露量は，1.5～6 mg/kg/日の用量間でほぼ用量に比例して増加した。同一用量内では，ゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与 1，27 及び 90 日目で同程度であった。ゾンゲルチニブの曝露に性差を示唆する一貫した傾向は認められなかった。

いずれの用量においても，ゾンゲルチニブに起因する死亡は認められなかった。

ゾンゲルチニブに関連した一般状態の変化は散発的な口腔内所見のみであり, 6 mg/kg/日群の雌雄で頬粘膜，歯肉又は下側口唇の発赤が認められた。いずれの用量においても，ゾンゲルチニブに関連する体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図検査，直腸温及び臨床検査の変化は認められなかった。投与期間及び回復期間終了後の剖検時には，ゾンゲルチニブに関連した器官重量変化，肉眼的変化及び病理組織学的変化は認められなかった。

以上，イヌにゾンゲルチニブを 0，1.5，3 及び 6 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，13 週間反復強制経口投与したときの忍容性は良好であり，評価した項目におけるゾンゲルチニブに関連した変化は認められなかった。例外として，6 mg/kg/日群で毒性ではない口腔内所見（頬粘膜，歯肉又は口唇の発赤）が散見されたが，完全な回復性が認められた。これらの結果に基づき，NOAEL は 6 mg/kg/日と判断され, この用量における投与 90/91 日目のゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24}（雄/雌）は，それぞれ 2120/3230 nmol/L 及び 19200/32400 nmol•h/L であった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4. 遺伝毒性試験

ゾンゲルチニブの遺伝毒性を，ICH S2(R1)ガイダンス「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス」（薬食審査発 0920 第 2 号 平成 24 年 9 月 20 日）における標準的組合せのオプション 2 に従い，細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）及び 2 種類の異なる組織における *in vivo* 遺伝毒性試験で評価した。試験濃度/用量は，*in vitro* 試験では細菌毒性/細胞毒性濃度まで，*in vivo* 試験では限界用量の 2000 mg/kg/日まで設定した。*In vitro* モデルでは，ラット肝 S9 画分（S9 mix）を代謝活性化系として使用した。

4.1 Ames 試験

OECD ガイドライン No. 471（細菌を用いる復帰突然変異試験，1997）及び ICH S2(R1)ガイダンスに従い，ゾンゲルチニブの突然変異誘発性を評価した［CTD 4.2.3.3.1-01_n00282239］（GLP 適用）。

代謝活性化系の存在下及び非存在下で，プレート法及びプレインキュベーション法により実施した。試験菌株は，ネズミチフス菌 TA 1535，TA 100（塩基対置換に対する感受性あり）及び TA 1537，TA 98（フレームシフト変異原に対する感受性あり），並びに大腸菌 WP2 uvrA（pKM 101，塩基対置換に対する感受性あり）を用いた。

ゾンゲルチニブをジメチルスルホキシドに溶解して，最終濃度 10～500 µg/プレートで添加し，プレート法及びプレインキュベーション法を実施した。プレート法では，S9 mix の非存在下及び存在下において，それぞれ 100～500 µg/プレートで析出が認められた。プレインキュベーション法では，S9 mix の非存在下及び存在下において，300 µg/プレート以上で析出が認められた。プレート法及びプレインキュベーション法のいずれも，すべての菌株において，S9 mix の非存在下及び存在下で細菌毒性は認められなかった。

ゾンゲルチニブが不溶の濃度まで試験を実施したところ，ネズミチフス菌の様々な菌株及び大腸菌の 1 菌株で，陰性対照と比較して，復帰変異コロニー数の明らかな増加は認められなかった。さらに，S9 mix による代謝活性化は，これらの菌株の突然変異頻度を変化させなかった。

以上，本試験の条件下で，ゾンゲルチニブは「Ames 陰性」であった。

4.2 ラットを用いたコメット/末梢血小核複合試験

雄 Wistar Han ラット（1 群雄各 5 例）に，ゾンゲルチニブを 0（溶媒），270，1000 及び 2000 mg/kg/日の用量（第 1～4 群）で，4 日間反復強制経口投与した。陽性対照群（小核試験で 3 例［第 6 群］，コメット試験で 3 例［第 5 群］）には，メタンスルホン酸エチル（ethyl methanesulfonate）を，小核試験では 125 mg/kg の用量で 2 日間（投与 1 及び 2 日目），コメット試験では 200 mg/kg の用量で 2 日間（投与 3 及び 4 日目），それぞれ強制経口投与した［CTD 4.2.3.3.2-01_n00281499］（GLP 適用）。4 週間反復投与毒性試験の生存期間中，毒性及び TK に明らかな性差が認められなかったことから，雄動物のみを使用した。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

コメット試験では，投与 4 日目の最終投与 2 時間後に肝臓及び十二指腸の組織を採取し，単細胞懸濁液を調製した。小核試験では，投与 4 日目（第 1～4 群では投与 3 日目の投与後約 23～24 時間以降，第 6 群では投与 2 日目の投与後約 46～47 時間以降）に末梢血を採取し，フローサイトメトリーを用いて評価した。

ゾンゲルチニブの 1000 及び 2000 mg/kg/日群では，陰性対照群と比較して軽度の体重減少が認められた。投与開始時から剖検時まで，一般状態の変化は認められなかった。剖検時，消化管に肉眼的変化はみられず，消化管の黄色化が用量依存的な強度で認められたのみであった。

投与 4 日目の投与後約 2 時間におけるゾンゲルチニブの血漿中濃度は，270，1000 及び 2000 mg/kg/日の用量で，それぞれ 89280，105620 及び 104800 nmol/L であった。

コメット試験

いずれの用量においても，肝臓及び十二指腸に生物学的意義のある，又は統計学的に有意なテール蛍光強度（%TI）の増加は認められなかった。陰性対照を含むすべての値は，陰性対照の%TI 中央値の平均値に関する背景範囲内であった。ゾンゲルチニブ投与動物の肝臓及び十二指腸では，陰性対照と比較して，細胞毒性の可能性の指標である「ヘッジ 100～500 μg/プレートに修正ホッグ」数の明らかな増加は認められなかった。

以上，ゾンゲルチニブを雄ラットに 2000 mg/kg/日までの用量で 4 日間反復強制経口投与したところ，肝臓及び十二指腸におけるデオキシリボ核酸（DNA）損傷（DNA 一本鎖又は二本鎖の切断，若しくはアルカリ感受性部位）は誘導されなかった。

小核試験

ゾンゲルチニブ投与群では，陰性対照と比較して，用量依存的な網状赤血球（RET）の減少（1000 及び 2000 mg/kg/日では統計学的有意差が認められた）がみられたことから，骨髄毒性が認められた。

ゾンゲルチニブ投与群では，陰性対照と比較して，生物学的意義のある，又は統計学的に有意で用量依存的な小核を有する網状赤血球の出現率（%MN-RET）の増加は認められなかった。

以上，雄ラットにゾンゲルチニブを 2000 mg/kg/日までの用量で 4 日間反復強制経口投与したところ，末梢血中の%MN-RET の増加は認められなかった。

したがって，肝臓及び十二指腸におけるコメット試験，並びに末梢血小核試験を複合した本試験において，ゾンゲルチニブを雄ラットに限界用量までの用量で強制経口投与したところ，遺伝毒性は陰性と結論された。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

5. がん原性試験

ICH S9 ガイドラインに従い，ゾンゲルチニブのがん原性を評価するための試験は実施していない。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

6. 生殖発生毒性試験

ゾンゲルチニブの EFD 試験を，妊娠したラット及びウサギを用いて実施した。いずれの動物種においても，主要な GLP 適用試験に先立って GLP 非適用の DRF 試験を実施し，器官形成期の母体毒性及び胚・胎児毒性を評価するとともに，EFD 本試験の用量を設定した。

ICH S9 ガイドラインに従い, ゾンゲルチニブの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，並びに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。

6.1 胚・胎児発生に関する試験

6.1.1 ラット

6.1.1.1 DRF 試験

妊娠雌 Wistar Han ラット（1 群 13 例）に，ゾンゲルチニブの固体分散体を 0（溶媒），30，90 及び 270 mg/kg/日の用量で，妊娠 7～17 日目（投与 1～11 日目）に強制経口投与した。さらに，別の動物（1 群各 3 例）を，妊娠 7（投与 1 日目）及び妊娠 17 日目（投与 11 日目）の TK に割り当てた。主試験動物及び TK 用動物をそれぞれ妊娠 22 及び 19 日目に剖検し，子宮を摘出した［CTD 4.2.3.5.2-01_n00292914］（GLP 非適用）。

妊娠ラットにおけるゾンゲルチニブ曝露量は用量依存的に増加した。

母体毒性

90 mg/kg/日群の妊娠動物 1 例及び 270 mg/kg/日群の妊娠動物全例で赤色性器分泌物が認められた。投与期間中，90 及び 270 mg/kg/日群で摂餌量が著しく減少した。30 及び 90 mg/kg/日群で体重増加量の軽微な減少がみられ，270 mg/kg/日群では体重の軽微な減少が認められた。その結果，妊娠 21 日目には，90 及び 270 mg/kg/日群で絶対体重の著しい減少が認められた。90 mg/kg/日以上で観察された母動物の所見はいずれも，胚・胎児死亡の発現と明らかに相関しており，母体毒性ではないと判断された。

胚・胎児毒性

270 mg/kg/日群では，12 例全例で，剖検時（主試験動物及び TK 用動物でそれぞれ妊娠 22 及び 19 日目）に生存胚・胎児は認められなかった。90 mg/kg/日群では，剖検時における生存胚・胎児は約 50%であったが，30 mg/kg/日群では胚・胎児生存への影響は認められなかった。

以上, ゾンゲルチニブは, ラットにおいて 90 mg/kg/日以上の用量で胚･胎児毒性作用を示した。30 mg/kg/日では，胚・胎児生存率減少及び形態異常は認められなかった。30 mg/kg/日群の妊娠 17 日目（投与 11 日目）におけるゾンゲルチニブの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ はそれぞれ 51000 nmol/L 及び 495000 nmol/L であった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

6.1.1.2 本試験

妊娠雌 Wistar Han ラット（1 群 27 例）に，ゾンゲルチニブの固体分散体を 0（溶媒），10，30 及び 60 mg/kg/日の用量で，妊娠 7～18 日目（投与 1～12 日目）に強制経口投与した。さらに，別の動物（1 群各 3 例）を，妊娠 7（投与 1 日目）及び 18 日目（投与 12 日目）の TK に割り当てた。妊娠 22 日目に剖検し，子宮を摘出した［CTD 4.2.3.5.2-02_n00298815］（GLP 適用）。

TK では，妊娠 7 及び 18 日目において，ゾンゲルチニブを投与したすべての動物で全身曝露が認められた。ゾンゲルチニブの血漿中曝露量は 10～30 mg/kg/日の用量間で用量比を上回って増加したが，30～60 mg/kg/日の用量間では曝露量の更なる増加は認められなかった。ゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} は妊娠 7 及び 18 日目で同程度であった。

母体毒性

いずれの用量においても，ゾンゲルチニブに関連した死亡はなく，明らかな母体毒性は認められなかった。ゾンゲルチニブ投与群では，わずかな体重増加量減少が認められた。また，剖検時に羊水の黄色化がみられたが，これはおそらくゾンゲルチニブの胎児への移行を示していると考えられる（ゾンゲルチニブ原薬の外観は，黄色～黄褐色を呈する［CTD 3.2.S.4.1-01］）。

胚・胎児毒性

10，30 及び 60 mg/kg/日群において，胚・胎児生存への影響はみられなかったが，軽度かつ用量依存的な胎児体重減少（それぞれ対照群の 0.95，0.93 及び 0.88 倍）が認められた。いずれの用量においても，対照群と比較して，形態異常の増加は認められなかった。60 mg/kg/日群で，尿路系の発育遅延及び骨化遅延が中等度に増加した。骨化遅延の軽微な増加は中用量でも認められた。これらの発育遅延は毒性ではなく，胎児体重減少と関連していると考えられた。ゾンゲルチニブ投与群の生存胎児数が対照群より多かったことも，ゾンゲルチニブ投与群における胎児体重減少及び発育状態遅延の一因と考えられる。

以上，妊娠ラットにゾンゲルチニブを 10，30 及び 60 mg/kg/日の用量で投与したところ，母体毒性及び胚・胎児毒性は認められず，発育遅延（胎児低体重，骨化遅延及び尿路系発育遅延のみ）が用量依存的にみられた。したがって，ラットにおける母体毒性及び胚・胎児毒性に関する NOAEL は 60 mg/kg/日と判断した。妊娠 18 日目におけるゾンゲルチニブの血漿中曝露量は 30 mg/kg/日と 60 mg/kg/日との用量間で同程度であり，C_{max} はそれぞれ 54600 及び 47900 nmol/L，AUC_{0-24} はそれぞれ 577000 及び 625000 nmol•h/L であった。

6.1.2 ウサギ

6.1.2.1 DRF 試験

妊娠雌ニュージーランドホワイト（NZW）ウサギ（1 群 3［第 2，3 及び 4 群］又は 6［第 1 及び 5 群］例）に，ゾンゲルチニブの固体分散体を 0（溶媒，第 1 及び 6 群），5，15，45 及び 150 mg/kg/日（それぞれ第 2，3，4 及び 5 群）の用量で，妊娠 6～19 日目（投与 1～14 日目）に強制経口投与した。2 つの対照群（第 1 及び 6 群）には，それぞれゾンゲルチニブ固体分散体の用量 45 及び

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

150 mg/kg/日に含まれる HPMC-AS と同量の HPMC-AS を投与した。そのうち，各群 3 例を，妊娠 6（投与 1 日目）及び 19 日目の TK に割り当てた。妊娠 29 日目に剖検し，子宮を摘出した［CTD 4.2.3.5.2-03_n00298324］（GLP 非適用）。

TK では，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に用量依存的な増加が認められ，C_{max} 及び AUC_{0-24} は，妊娠 6 及び 19 日目で同程度であった。

150 mg/kg/日群の 1 例が妊娠 25 日目に流産し，妊娠 26 日目に死亡が認められた。この動物では，投与期間中及び投与期間終了後に体重減少がみられ，投与期間終了後に糞及び尿の排泄が認められなかった。150 mg/kg/日群で体重増加量減少及び摂餌量減少が認められた。また，15 及び 45 mg/kg/日群で体重減少が，5，15 及び 45 mg/kg/日群で摂餌量減少が認められたが，いずれも程度が軽度であったため，これらの変化は毒性ではないと判断した。

いずれの用量においても，ゾンゲルチニブに関連した胚・胎児毒性は認められなかった。

以上，ゾンゲルチニブを 5，15，45 及び 150 mg/kg/日の用量で投与したところ，150 mg/kg/日で母体毒性として，体重増加量及び摂餌量減少がみられ，1 例で死亡が認められた。45 mg/kg/日では用量制限的な母体毒性及び胚・胎児毒性は認められず，妊娠 19 日目（投与 14 日目）のゾンゲルチニブの C_{max} は 2410 nmol/L，AUC_{0-24} は 10500 nmol•h/L であった。

6.1.2.2 本試験

妊娠雌 NZW ウサギ（第 1～4 群，1 群 21 例）に，ゾンゲルチニブの固体分散体を，0（溶媒），40，80 及び 120 mg/kg/日の用量で，妊娠 6～19 日目（投与 1～14 日目）に強制経口投与した。そのうち，各群 3 例を，妊娠 6 日目（投与 1 日目）及び 19 日目の TK に割り当てた。妊娠 29 日に剖検し，子宮を摘出した［CTD 4.2.3.5.2-04_n00301151］（GLP 適用）。

TK では，ゾンゲルチニブの血漿中曝露量に用量依存的な増加が認められた。ゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} は，40 及び 80 mg/kg/日では妊娠 6 及び 19 日目で同程度であったが，120 mg/kg/日では妊娠 6～19 日目にかけて約 2 倍に増加した。

母体毒性

対照群の 1 例を除き，すべての群で死亡はなかった。40，80 及び 120 mg/kg/日のすべての用量で，用量依存的な摂餌量減少（妊娠 6～19 日目の投与期間中に，それぞれ対照群の 0.84，0.65 及び 0.62 倍）及び軽度の体重減少（妊娠 6～19 日目の体重増加量は対照群の 1.8%に対し，それぞれ−0.6%，−0.9%及び−1.9%）が認められた。

胚・胎児毒性

いずれの用量においても，胚・胎児生存率に変化はみられず，形態異常誘発性は認められなかった。

以上，妊娠ウサギにゾンゲルチニブを 40，80 及び 120 mg/kg/日の用量で投与したところ，軽度かつ用量依存的な母体毒性がみられた（母体毒性に関する NOAEL なし）が，胚・胎児毒性は認

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

められなかった。したがって，胚・胎児毒性に関する NOAEL は 120 mg/kg/日と判断され，この用量における妊娠 6 日のゾンゲルチニブの C_{max} は 7940 nmol/L, AUC_{0-24} は 40800 nmol•h/L であった。

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の結論

ラットでは，予定臨床用量における AUC_{0-24} ヒトの 5.2 倍で胚・胎児致死が認められたが，ヒト推定曝露量と同程度の曝露量では，胚・胎児毒性及び形態異常誘発性は認められなかった。ラット及びウサギでの胚･胎児毒性に関する NOAEL は, それぞれ 60 及び 120 mg/kg/日と判断された。NOAEL におけるゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} は予定臨床用量におけるヒトと比較して，ラットでそれぞれ 2.8 及び 3.3 倍，ウサギでそれぞれ 2.9 及び 1.3 倍であった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7. 局所刺激性試験

雄 NZW ウサギにゾンゲルチニブを単回静脈内，動脈内，静脈周囲，皮下又は筋肉内投与したときの局所刺激性を評価した［CTD 4.2.3.6-01_n00300800］（GLP 適用）。

ゾンゲルチニブ（静脈内，動脈内及び皮下投与［液量：0.5 mL］では 0.005 mg，静脈周囲投与［液量：0.15 mL］では 0.0015 mg，並びに筋肉内投与［液量：0.25 mL］では 0.0025 mg）を 0.01 mg/mL の投与液濃度で単回投与したときの忍容性は良好で，いずれの投与部位においても，投与 1 及び 7 日目にゾンゲルチニブに関連した一般状態の変化及び局所反応は認められなかった。体重，体重増加量及び摂餌量に，ゾンゲルチニブに関連した変化は認められなかった。ゾンゲルチニブに関連した肉眼所見及び/又は病理組織学的所見は認められなかった。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

8. その他の毒性試験

8.1 免疫毒性

8.1.1 免疫学的検査

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験の中で，免疫毒性検査（血液，脾臓及び胸腺のリンパ球サブ集団フェノタイピング，並びに脾臓のナチュラルキラー［NK］細胞活性の測定を含む）を実施した［CTD 4.2.3.2-02_n00282481］。本試験では，雌雄ラットにゾンゲルチニブを 0，30，90 及び 270 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。

血液，脾臓及び胸腺細胞集団に軽度から中等度の変化がみられ，変化は 270 mg/kg/日群で顕著であったが，回復期間終了後には部分的又は完全な回復が認められた。所見としては，血中における B 細胞及び NK 細胞の軽度の増加，並びに脾臓における T 細胞，B 細胞及び NK 細胞の減少が認められた。また，雄では胸腺における総 CD3-intermediate 細胞，T 細胞前駆細胞，総 CD3 細胞及び初期 T 細胞の増加がみられたが，雌では胸腺における総 CD3-intermediate 細胞，T 細胞前駆細胞及び総 CD3 細胞の減少が認められた。

以上，ラットにゾンゲルチニブを 270 mg/kg/日までの用量で投与したところ，部分的又は完全な回復性を示したことから，免疫系への毒性は認められなかった。

8.1.2 反復投与毒性試験の病理組織学的検査及び器官重量

リンパ系組織の組織形態学検査は，免疫抑制又は免疫刺激を検出するための最も信頼性のある高感度の方法と考えられる［CTD 4.3-16_R10-2941］。

ラットでは 270 mg/kg/日，イヌでは 6 mg/kg/日の用量まで，リンパ細網系の一貫した変化は認められなかった。

8.2 光毒性試験

OECD ガイドライン No. 432（*in vitro* 3T3 NRU phototoxicity test, 2019）に従い，ゾンゲルチニブの光毒性を，3T3 ニュートラルレッド取込み（NRU）光毒性試験により *in vitro* で評価した［CTD 4.2.3.7.7-01_n00282185］（GLP 適用）。本実験条件下で許容される 37.5 µg/mL までの濃度で評価したところ，ゾンゲルチニブの光毒性に関するエビデンスは認められなかった。

8.3 溶血性試験

In vitro で，ゾンゲルチニブによる溶血，赤血球凝集及び血漿沈殿への影響を評価した［CTD 4.2.3.7.7-02_n00296566，CTD 4.2.3.7.7-03_n00301356］（GLP 適用）。エタノール及び 0.9% 塩化ナトリウム溶液（1：15 の比率）中では 5.00 µg/mL の濃度まで，PBS 10 mM 中 3% (w/v) HP-β-CD 中では 30 µg/mL の濃度まで，溶血，赤血球凝集及び血漿沈殿は認められなかった。

8.4 代謝物

ゾンゲルチニブのヒト代謝物［CTD 4.2.2.4-03_n00308022］はいずれも，血漿中曝露量が薬物関連物質の総曝露量の 10%未満であった。したがって，非臨床試験による特徴づけが必要となる主

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

要代謝物は存在しなかった。ヒト検体中に微量に検出された代謝物である CD 40413（M553）［CTD 4.2.3.7.6-02_n00301787］及び CD 40203（M656）［CTD 4.2.3.7.5-02_n00290011］，並びに理論上，代謝物として生成し得る CD 40204［CTD 4.2.3.7.5-01_n00290012］は，変異原性に関する警告構造を示したが，Ames 試験で不溶の濃度まで評価したところ，いずれの試験も陰性であった。

8.5 不純物

個別規格設定不純物の安全性確認

原薬中不純物は，ICH Q3A(R2)ガイドライン「新有効成分医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」（医薬審発第 1216001 号 平成 14 年 12 月 16 日）に従って安全性確認がなされている。ゾンゲルチニブの最大 1 日投与量は 120 mg であるため，ゾンゲルチニブ原薬中で 0.15%を上回るすべての不純物は安全性確認の必要がある。申請原薬規格における不純物の許容基準は，不純物F* が 0.48%以下，不純物C* が 0.86%以下，不純物B* が 0.48%以下，不純物G* が 0.34%以下，不純物D* が 0.24%以下と，安全性確認の閾値を上回る濃度に設定されている。

製剤中不純物は，ICH Q3B(R2)ガイドライン「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」（医薬審発第 0624001 号 平成 15 年 6 月 24 日）に従って安全性確認がなされている。ゾンゲルチニブの最大 1 日投与量は 120 mg であるため，ゾンゲルチニブ製剤中で 0.2%を上回るすべての分解生成物は安全性確認の必要がある。ゾンゲルチニブ製剤中の分解生成物である 不純物A*（3.0%以下）及び 不純物E*（0.4%以下）は規格として設定すること，又は製剤中でのモニタリングが必要である。

表 8.5: 1 ゾンゲルチニブの主要な毒性試験で使用した原薬バッチ及び構造既知の不純物

Batch	Impurity 2§	不純物B*	不純物C*	不純物F*	不純物G* §§	不純物D*	不純物E*	不純物A*
Proposed DS specification NMT [%]		0.48	0.86	0.48	0.34	0.24	-	-
Proposed DP specification NMT [%]*		-	-	-	-	-	0.4	3.0
DV-22006#		0.18	0.32	0.15	0.16	≤ 0.05	0.06	1.53
B204000330#	0.11	-	-	-	0.69	-	-	-

§ Described in the Certificate of Analysis as Unspecified Impurity (不純物I*)

§§ Described in the Certificate of Analysis as "Unspecified Impurity (不純物J*)" (further names: Impurity 3, 不純物K*). For toxicological qualification of Route 1 material, the lower criteria for Impurity 2 was applied as Impurity 2 and 3 were not well resolved and thus reported together for later batches.

*Area corrected by Relative Response Factor (RRF); #reported in area percent without RRF correction for purpose of comparison; DP: Drug product, DS: Drug substance
NMT: not more than

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

8.5.1 ゾンゲルチニブ原薬及び製剤中不純物の安全性確認

不純物B*，不純物C*，不純物F* 及び不純物G* の原薬中限界量の正当性

不純物B*，不純物C*，不純物F* 及び不純物G* は原薬製造工程不純物であり，2 種類の *in silico* モデルである Derek Nexus（6.3.0）及び Sarah Nexus（3.3.0）で評価し，ICH M7 (R2)ガイドライン「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン」（医薬薬審発 0214 第 1 号 令和 6 年 2 月 14 日）に基づいて分類した。さらに，不純物B* CTD 4.2.3.7.6-03_n00309415］及び不純物C* CTD 4.2.3.7.6-04_n00309413］については，Ames 試験（GLP 適用）において陰性であり，クラス 5 に分類された。不純物F* は，ゾンゲルチニブと共通の(Q)SAR の警告構造を示し，ゾンゲルチニブの Ames 試験（GLP 適用）が陰性であることから［CTD 4.2.3.3.1-01_n00282239］，クラス 4 に分類された。不純物G* は，*in silico* 評価によりクラス 5 に分類された。

すべての原薬不純物は，13 週間反復投与毒性試験に使用した固体分散体バッチ DV-22006 中に存在した。ラットを用いた本試験におけるゾンゲルチニブの NOAEL は 30 mg/kg/日と判断された。最大投与量（90 mg/kg/日）では，びまん性の子宮萎縮（器官重量減少を伴う），並びに子宮頸部及び膣の軽微又は軽度の過形成/過角化が認められ，これらは毒性と考えられた。このような所見は，tucatinib のような他の HER2 阻害剤でも報告されている［CTD 4.3-15_R23-1043］。したがって，この所見はゾンゲルチニブのオンターゲット作用に起因するものであり，薬理活性の低い（非活性かつ非反応性の）不純物を介したものではないと考えられる。ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験の NOAEL（30 mg/kg/日）及び最大投与量（90 mg/kg/日），並びに予定臨床用量の 120 mg に基づくと，以下に示す不純物の規格値では適切に安全性が確認されているものと考えられる（表 8.5.1: 1 参照）。

表 8.5.1: 1 不純物B*，不純物C*，不純物F* 及び不純物G* について申請原薬規格

Impurity	**Proposed DS specification [%]** **(ICH qualification limit: 0.15%)**	**Maximum human daily exposure [mg/kg] based on 120 mg (once daily) zongertinib (calculated for 60 kg human)**	**Actual concentration [%] in batch used in 13-week rat repeat dose toxicity study**	**Maximum exposure [mg/kg] in the 13-week rat repeat dose toxicity study at the NOAEL (30 mg/kg)**	**Safety margin at NOAEL (30 mg/kg)** **Based on [mg/kg] comparison rat versus human**	**Safety margin at 90 mg/kg** **Based on [mg/kg] comparison rat versus human**
不純物B*	0.48	0.0096	0.18	0.054	5.6	16.9
不純物C*	0.86	0.0172	0.32	0.096	5.6	16.7
不純物F*	0.48	0.0096	0.15	0.045	4.7	14.1
不純物G*	0.34	0.0068	0.16	0.048	7.1	21.2

DS: Drug substance

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

不純物D* に関する原薬上限値の正当性

不純物D* は原薬製造工程不純物であり，ゾンゲルチニブの分解生成物としては認められない。不純物D* の構造はゾンゲルチニブに極めて類似している。不純物D* は，共有結合性反応基に H_2O が付加された生成物であることから，反応性反応基による共有結合は不可能である。したがって，本分子はゾンゲルチニブの低活性（非活性かつ非反応性）アナログと考えられる。Ames 試験で不純物D* を不溶の濃度まで評価したところ，陰性であった［CTD 4.2.3.7.6-02_n00301787］。したがって，ICH Q3B に記載された安全性確認の必要な閾値（1 日最大投与量が 100 mg から 2 g の場合は 0.2%）を適用するのが毒性学的見地から妥当であると考えられる。規格上限値は 0.24%に設定したが，ICH S9 ガイドラインの記載に基づくと，この値は許容されると考えられる。

不純物E* 及び不純物A* に関する製剤上限値の正当性

不純物E* の構造はゾンゲルチニブに極めて類似している。不純物E* は，製剤工程で生成される時に形成され，共有結合性反応基にメトキシ基が付加された生成物であることから，反応性反応基による共有結合は不可能である。したがって，本分子はゾンゲルチニブの低活性（非活性かつ非反応性）アナログと考えられる。Ames 試験で 不純物E* を不溶の濃度まで評価したところ，陰性であった［CTD 4.2.3.7.6-01_n00301997］。不純物E* は，13 週間反復投与毒性試験で使用した製剤バッチ中に 0.06%の濃度で存在した。ラットを用いた試験の NOAEL である 30 mg/kg/日及び予定臨床用量に基づくと，提案中の製剤中 不純物E* の限界値 0.4%は毒性学的に安全性が確認されていると考えられる（表 8.5.1: 2 参照）。

不純物A* はゾンゲルチニブの二量体である。1 つのゾンゲルチニブ分子の反応基が，その共有結合でもう 1 つのゾンゲルチニブ分子に結合している。

不純物A* は分子量が 1144 g/mol と大きいため，腸移行時に相当量が吸収される可能性は低いと考えられる。吸収後，特に 不純物A* の二量体分割により 2 分子のゾンゲルチニブが生体内で生成された場合，最大で 1 つの反応基は活性を示すため，ゾンゲルチニブと同程度の薬力学的特性が得られる。*In silico* 評価で示された警告構造が，Ames 試験陰性であるゾンゲルチニブと共通であることを考慮して，不純物A* は ICH M7 クラス 4 に分類された。不純物A* は，13 週間反復投与毒性試験で使用した製剤バッチ中に 1.53%の濃度で存在した。ラットの試験におけるゾンゲルチニブの NOAEL は 30 mg/kg/日であった。最大投与量（90 mg/kg/日）で観察された所見はオンターゲット作用によるものであり，不純物により誘発されることはないと考えられる。ラットを用いた試験の NOAEL（30 mg/kg/日）及び最大投与量（90 mg/kg/日），並びに予定臨床用量に基づくと，以下に示す不純物の含有率は毒性学的に安全性が確認されていると考えられる。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 8.5.1: 2 不純物E* 及び 不純物A* について申請製剤規格

Impurity	Proposed DP specification [%] (ICH qualification limit: 0.2%)	Maximum human daily exposure [mg/kg] based on 120 mg (once daily) zongertinib (calculated for 60 kg human)	Actual concentration [%] in batch used in 13-week rat repeat-dose toxicity study	Maximum Exposure [mg/kg] in the 13-week rat repeat-dose toxicity study at the NOAEL (30 mg/kg)	Safety margin at NOAEL (30 mg/kg) Based on [mg/kg] comparison rat versus human	Safety margin at 90 mg/kg Based on [mg/kg] comparison rat versus human
不純物E*	0.4	0.008	0.06	0.018	2.3	6.8
不純物A*	3.0	0.06	1.53	0.459	7.7	23.0

DP: Drug product

以上，すべての個別規格設定原薬不純物及び製剤分解生成物は，ラット 13 週間反復投与毒性試験における量がヒト 1 日曝露量を上回るか又は正当性が示された。したがって，一覧表に記載された規格限界までの原薬又は製剤中不純物の存在は，その毒性に関して許容されると考えられる。

8.6 曝露量の比較

主要な毒性試験の NOAEL における曝露量と，予定臨床用量におけるヒトでの曝露量を比較した（表 8.6: 1）。ゾンゲルチニブ 120 mg をヒトに 1 日 1 回，反復投与したときの定常状態における推定曝露量は，$C_{max,ss}$ が 2730 nmol/L，$AUC_{0-24,ss}$ が 30500 nmol•h/L である［CTD 5.3.3.5-01_c44247865］。ヒト等価用量（HED）の算出及び比較においては，毒性試験の NOAEL を体表面積補正に基づいて HED に変換し（ラット，イヌ及びウサギで，用量をそれぞれ 6.2，1.8 及び 3.1 で除し），ヒトの体重を 60 kg と仮定した。ラットについては，血漿中での非結合型分率がヒトの約 6 分の 1 であった［CTD 2.6.4_4.1 項］ことから，曝露量比は非結合型分率で補正して算出した。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

表 8.6: 1 主要な毒性試験の NOAEL とヒト予定臨床用量におけるゾンゲルチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} の比較

Species, Treatment duration [Reference]	**NOAEL of animal study [mg/kg]**	**HED* at NOAEL [mg/day] (60 kg human)**	**Mean C_{max} at NOAEL [nmol/L] (M/F)**	**Mean AUC_{0-24} at NOAEL [nmol•h/L] (M/F)**	**Animal to human exposure multiple**		
					Based on HED (120 mg /day basis)	**Based on multiples of C_{max} (M/F) total or unbound (rat only)**	**Based on multiples of AUC_{0-24} (M/F) total or unbound (rat only)**
Rats 4 weeks [CTD 4.2.3.2-02_n00282481]	90	871	53400/ 56600	576000/ 677000	~7.3X	3.1X/3.3X	3.0X/3.6X
Rat 13 weeks [CTD 4.2.3.2-03_n00301352]	30	290	34300/ 47900	280000/ 302000	~2.4X	2.0X/2.8X	1.5X/1.6X
Dog 4 weeks [CTD 4.2.3.2-06_n00278943]	10	333	621/ 968	7010/ 11500	~2.8X	0.2X/0.4X	0.2X/0.4X
Dog 13 weeks [CTD 4.2.3.2-07_n00301353]	6	200	2120/ 3230	19200/ 32400	~1.7X	0.8X/1.2X	0.6X/1.1X
Rat EFD [CTD 4.2.3.5.2-02_n00298815]	60	581	N/A/ 47900	N/A/ 625000	~4.8X	2.8X	3.3X
Rabbit EFD [CTD 4.2.3.5.2-04_n00301151]	For embryo-fetal toxicity = 120	2323	N/A/ 7940 [a]	N/A/ 40800 [a]	~19.4X	2.9X	1.3X

M = males; F = females; HED = Human Equivalent Dose; conversion based on body surface area; N/A = not applicable
NOAEL = No observed adverse effect level; C_{max} = Maximum concentration; AUC = Area under the curve from time zero to 24 h postdose; EFD = Embryo-fetal development
a: data shown at Gestation day 6

ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験の NOAEL における曝露量は，ヒト推定曝露量をわずかに上回るか（ラット），又はヒト推定曝露量に近接（イヌ）していた。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

9. 考察及び結論

ゾンゲルチニブの毒性（一般毒性，遺伝毒性，生殖発生毒性，局所刺激性，免疫毒性，光毒性及び溶血性を含む）を，ICH S9 ガイドラインに準拠した包括的な非臨床安全性試験プログラムで評価した。ラット及びイヌを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験，並びに妊娠ラット及び妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験は，予定ヒト臨床投与経路と同じ経口投与で実施した。ゾンゲルチニブの毒性試験プログラム内で実施した主要な毒性試験の一覧を表 1: 1 に示す。

反復経口投与後の TK により，ヒト推定曝露量と同程度又はそれを上回る用量依存的なゾンゲルチニブの全身曝露量が認められた。ラットにおけるゾンゲルチニブの血漿中曝露量は，10～30 mg/kg/日の用量間では用量に比例して増加し，30～270 mg/kg/日の用量間では用量比を下回って増加した。反復投与によるゾンゲルチニブ血漿中曝露量の増加が 4 週間反復投与毒性試験でみられたが，13 週間反復投与毒性試験では認められなかった。ゾンゲルチニブの曝露量に，明らかな性差は示されず，ゾンゲルチニブの非分散体と固体分散体による大きな違いも認められなかった。イヌ 4 週間試験においてゾンゲルチニブの全身曝露は，同一投与群内及び投与日間でばらつきが大きかったが，全体として，用量比を上回る曝露量の増加が認められた。ゾンゲルチニブの固体分散体を投与したときの血漿中曝露量は，1.5～6 mg/kg/日の用量間では用量にほぼ比例して増加した。また，非分散体投与後の曝露量より高かった。全体として，曝露量に反復投与の影響及び性差を示す明らかな傾向は認められなかった。妊娠ウサギでは，TK により，用量に相関しかつ用量依存的なゾンゲルチニブ全身曝露量の増加が認められた。血漿中ゾンゲルチニブ濃度は，40 及び 80 mg/kg/日では妊娠 6 及び 19 日目で同程度であったが，120 mg/kg/日では，妊娠 6 日目と比較して，妊娠 19 日目で約 2 倍に増加した。

ラット及びイヌを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験において，ゾンゲルチニブによる毒性が，口腔粘膜，副腎及び雌性生殖器官に認められた。毒性所見はいずれも回復性があると考えられた。

イヌでは，口腔粘膜の病変に伴って，一般状態の変化である摂餌量減少及び体重減少による不快感が認められた。

ラットの副腎では，器官重量増加，並びに束状帯/網状帯における肥大，空胞化及び単細胞壊死が認められた。これらの所見は用量依存的な体重増加量及び/又は摂餌量の減少，並びに好中球数（雌のみ）及びグルコースの増加を伴っていたことから，ストレスによる二次的変化である可能性が考えられた。しかし，グルココルチコイドの作用として一貫して認められることが報告されている胸腺及びリンパ組織の萎縮［CTD 4.3-17_R24-0826］は認められなかった。胸腺及びリンパ組織の萎縮は毒性学的に誘導された副腎皮質機能不全とストレスを区別するのに有用とされることから，副腎に認められた変化は毒性と考えられた。これらの変化は 4 週間反復投与毒性試験のみで認められた。

ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験において，ラットの雌性生殖器官で，子宮のびまん性萎縮（器官重量減少を伴う），並びに子宮頸部及び膣の軽微又は軽度の過形成/過角化が認められ

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

た。これらの変化が受胎能に影響を及ぼすか否かは不明である。Tucatinib のような他の選択的 HER2 阻害剤で，雌性生殖器官の同様の所見が既に報告されている［CTD 4.3-15_R23-1043］。

ゾンゲルチニブに関連した毒性ではない所見が，ラット及びイヌの被毛，イヌの副腎及び腸，並びに雄ラットの精巣，乳腺及び前立腺に認められた。さらに，ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験において，複数の器官に軽微から軽度のマクロファージ内色素が認められた。

被毛黄色化が，ラット及びイヌでそれぞれ投与 15 及び 28 日目に認められた。自家蛍光顕微鏡検査及びラマンイメージングにより，毛包内にゾンゲルチニブが検出された。病理組織学的検査では，皮膚及び付属器の変化は認められなかった。この所見には回復性が認められた。副腎球状帯の軽微な過形成がイヌでみられたが，炎症，変性，壊死及び一般状態の変化が認められなかったことから毒性ではないと判断された。この所見は 4 週間反復投与毒性試験のみでみられ，回復性が認められた。4 週間投与したイヌの小腸及び大腸に，杯細胞のびまん性過形成が認められた。この所見の特徴は，他の腸粘膜と比較した杯細胞数の軽度の増加であり，分泌細胞型への分化の転換を示すものであった。この所見は 13 週間投与後には認められなかった。雄ラットのみで乳腺の萎縮が認められた。この所見の特徴は乳腺腺房の萎縮であり，正常な雌の乳腺と類似した管状胞状の構造を呈していた。雄の乳腺の萎縮は，他の上皮成長因子受容体（EGFR）阻害剤及び HER2 阻害剤でも報告されている［CTD 4.3-15_R23-1043］。

精巣の軽微な間質細胞空胞化及び前立腺の萎縮がラットで認められたが，精巣変性の徴候が認められなかったことから，受胎能への影響の可能性は低いと考えられる。

ラットを用いた 4 及び 13 週間反復投与毒性試験の NOAEL は，それぞれ 90 及び 30 mg/kg/日と判断された。また，イヌを用いた 4 及び 13 週間反復投与毒性試験の NOAEL は，それぞれ 10 及び 6 mg/kg/日と判断された。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験の NOAEL（表 8.6: 1 参照）における曝露量は，ヒト推定曝露量をわずかに上回るか（ラット），又はヒト推定曝露量に近接した（イヌ）。反復投与毒性試験で認められた毒性所見は重症度が低く，回復性が認められたことから，進行がんの適応を考慮すると，ゾンゲルチニブの一般毒性プロファイルは許容可能なものと考えられる。

ゾンゲルチニブの遺伝毒性を，細菌を用いる *in vitro* 試験（Ames 試験）及びラットを用いた *in vivo* 試験（コメット/末梢血小核複合試験）で評価した。ゾンゲルチニブは Ames 試験で陰性であり，*in vivo* コメット試験（肝臓及び十二指腸）及び *in vivo* 末梢血小核試験においても陰性であった。ICH S9 ガイドラインに従い，ゾンゲルチニブのがん原性試験は実施しなかった。

妊娠ラット及びウサギを用いたゾンゲルチニブの胚・胎児発生に関する試験を実施した。ラットでは，ヒトに 120 mg を 1 日 1 回投与したときの $AUC_{0\text{-}24}$ と比較して 5.2 倍の $AUC_{0\text{-}24}$ で，胚・胎児致死が誘発された。しかし，ヒトに 120 mg を 1 日 1 回投与したときの $AUC_{0\text{-}24}$ と比較して 3.3 倍の $AUC_{0\text{-}24}$ まで，母体毒性及び形態異常誘発性はみられず，胎児体重減少，骨化度低下及び尿路系遅延に示される発育遅延が認められたのみであった。ウサギでは，ゾンゲルチニブのすべての用量で軽度かつ用量依存的な母体毒性がみられたが，胚・胎児毒性は認められなかった（ヒトに 120 mg を 1 日 1 回投与したときの $AUC_{0\text{-}24}$ と比較して，1.3 倍の $AUC_{0\text{-}24}$）。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

以上，ヒト推定曝露量と同程度の曝露量では，胚・胎児毒性及び形態異常誘発性は認められなかった。

個別規格設定されたいずれの原薬不純物又は製剤分解生成物についても，ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験で忍容量がヒト推定曝露量を上回るか，又は正当性が示された。したがって，一覧表（表 8.5.1: 1 及び表 8.5.1: 2 参照）に記載された規格限界までの原薬又は製剤中不純物の存在は正当であると考えられる。

ゾンゲルチニブ及びその代謝物は選択的にメラニン（皮膚及び眼球のようなメラニン含有組織）に結合することが示唆される［CTD 2.6.4_4.3 項］。しかし，ラット及びイヌを用いたいずれの反復投与毒性試験においても，眼毒性及び皮膚毒性は認められなかった。3T3 NRU 光毒性試験において，ゾンゲルチニブは光毒性を示さなかった。

以上，ゾンゲルチニブについて一連の非臨床安全性試験を実施し，その毒性の範囲を評価した。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験の NOAEL で得られた曝露量は，ヒト推定曝露量をわずかに上回るか（ラット），又はヒト推定曝露量と同程度であった（イヌ）。毒性所見が口腔粘膜，副腎及び雌性生殖器官に認められた。いずれの変化も重症度が低く，回復性があると考えられた。さらに，毒性ではない所見が，被毛，腸，精巣，乳腺（雄ラットのみ）及び前立腺に認められた。ゾンゲルチニブは遺伝毒性評価において陰性であった。また，ゾンゲルチニブは胚・胎児致死（ラット）及び母体毒性（ウサギ）を示すが，予定臨床用量における曝露量と同程度の曝露量で形態異常誘発性を示さなかった。したがって，提案中の適応を考慮すると，ゾンゲルチニブの毒性学的プロファイルは，本製造販売承認申請において許容可能と考えられる。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

10. 図表

図表は本文中に記載した。

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

11. 参考文献

R10-2941 Schulte A, Althoff J, Ewe S, Richter-Reichhelm HB, BGVV Group Investigators. Two immunotoxicity ring studies according to OECD TG 407 - comparison of data on cyclosporin A and hexachlorobenzene. Regul Toxicol Pharmacol; 2002; 36:12-21. (CTD 4.3-16)

R23-1043 Center for Drug Evaluation and Research: application number: 213411Orig1s000 (multi-discipline review, version date: July 24, 2019). 2019. (CTD 4.3-15)

R24-0826 Harvey PW, Sutcliffe C. Adrenocortical hypertrophy: establishing cause and toxicological significance. J Appl Toxicol; 2010; 30(7): 617-626. (CTD 4.3-17)

第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名：	ゾンゲルチニブ
剤形・含量：	フィルムコート錠・60 mg
文書名：	2.6.7 毒性試験概要表
文書作成日：	7 January 2025

Proprietary confidential information
© 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved.
This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

目　次

目　次 2
1. 毒性試験：一覧表 3
2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 6
3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 7
4. 毒性試験：使用ロット 9
5. 単回投与毒性試験 10
6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 11
7A. 反復投与毒性試験：重要な試験 15
7B. 反復投与毒性試験：重要な試験 20
7C. 反復投与毒性試験：重要な試験 26
7D. 反復投与毒性試験：重要な試験 31
8. *In Vitro* 遺伝毒性試験 34
9. *In Vivo* 遺伝毒性試験 38
10. がん原性試験 40
11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 41
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 42
13A. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 43
13B. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 45
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 49
15. 新生児を用いた試験 50
16. 局所刺激性試験 51
17A. その他の毒性試験 52
17B. その他の毒性試験 53
17C. その他の毒性試験 54

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. 毒性試験：一覧表

被験物質：ゾンゲルチニブ

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Doc. No.	CTD No.
Single-Dose Toxicity	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Repeat-Dose Toxicity	Rat, Wistar Han	Oral (gavage)	2 weeks	40, 130, 420	No	[redacted]	n00281427	CTD 4.2.3.2-01
	Rat, Wistar Han	Oral (gavage)	4 weeks	30, 90, 270	Yes	[redacted]	n00282481	CTD 4.2.3.2-02
	Rat, Wistar Han	Oral (gavage)	13 weeks	10, 30, 90	Yes	[redacted]	n00301352	CTD 4.2.3.2-03
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	Dose escalation: 4/3/3/3/6/1 days Fixed dose: 2 weeks	10/30/60/200/600/1000 60, 100	No	BI	n00276961	CTD 4.2.3.2-04
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	20/20/28 days	1/5/10	No	BI	n00292500	CTD 4.2.3.2-05
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	4 weeks	10, 20, 50	Yes	BI	n00278943	CTD 4.2.3.2-06
	Dog, Beagle	Oral (gavage)	13 weeks	1.5, 3, 6	Yes	[redacted]	n00301353	CTD 4.2.3.2-07
Genotoxicity								
Ames test	*S. typhimurium/E. coli*	*In vitro*	± metabolic activation	10 - 500 µg/plate	Yes	BI	n00282239	CTD 4.2.3.3.1-01
Micronucleus and comet assay	Rat, Wistar Han	Oral (gavage)	4 days	270, 1000, 2000	Yes	BI	n00281499	CTD 4.2.3.3.2-01
Carcinogenicity	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat, Wistar Han	Oral (gavage)	GD 7 - 17	30, 90, 270	No	BI	n00292914	CTD 4.2.3.5.2-01
	Rat, Wistar Han	Oral (gavage)	GD 7 - 18	10, 30, 60	Yes	BI	n00298815	CTD 4.2.3.5.2-02
	Rabbit, NZW	Oral (gavage)	GD 6 - 19	5, 15, 45, 150	No	BI	n00298324	CTD 4.2.3.5.2-03
	Rabbit, NZW	Oral (gavage)	GD 6 - 19	40, 80, 120	Yes	BI	n00301151	CTD 4.2.3.5.2-04

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. 毒性試験：一覧表（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	GLP Compliance	Testing Facility	Doc. No.	CTD No.
Local Tolerance	Rabbit, NZW	Intravenous, intraarterial, subcutaneous, perivenous, intramuscular	Single dose	0.01 mg/mL	Yes	[redacted]	n00300800	CTD 4.2.3.6-01
Other Toxicity Studies								
Phototoxicity test	Murine fibroblasts, BALB/c 3T3 cells (3T3 Neutral Red Uptake)	*In vitro*	Treated for 1 hour	Up to 37.5 µg/mL	Yes	[redacted]	n00282185	CTD 4.2.3.7.7-01
Hemolysis	Human peripheral blood, healthy donors	*In vitro*	Incubated for at least 45 minutes	Up to 5 µg/mL in ethanol and 0.9% NaCl	Yes	BI	n00296566	CTD 4.2.3.7.7-02
	Human peripheral blood, healthy donors	*In vitro*	Incubated for at least 45 minutes	Up to 30 µg/mL in 3% HP-β-CD in 10 mmol/L PBS	Yes	BI	n00301356	CTD 4.2.3.7.7-03
Ames test: Metabolites, Impurities and Intermediates								
CD 40204	*S. typhimurium/E. coli*	*In vitro*	± metabolic activation	10 - 600 µg/plate	Yes	BI	n00290012	CTD 4.2.3.7.5-01
CD 40203	*S. typhimurium/E. coli*	*In vitro*	± metabolic activation	10 - 300 µg/plate	Yes	BI	n00290011	CTD 4.2.3.7.5-02
不純物E*	*S. typhimurium/ E. coli*	*In vitro*	± metabolic activation	10 - 600 µg/plate	Yes	BI	n00301997	CTD 4.2.3.7.6-01
不純物D*	*S. typhimurium/ E. coli*	*In vitro*	± metabolic activation	10 - 600 µg/plate	Yes	BI	n00301787	CTD 4.2.3.7.6-02
不純物B*	*S. typhimurium/ E. coli*	*In vitro*	± metabolic activation	3.16 - 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	n00309415	CTD 4.2.3.7.6-03
不純物C*	*S. typhimurium/ E. coli*	*In vitro*	± metabolic activation	3.16 - 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	n00309413	CTD 4.2.3.7.6-04

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

1. 毒性試験：一覧表（続き）

a: Unless otherwise specified. For Repeat-Dose Toxicity, the highest No Observed Adverse-Effect Level is underlined.
BI: Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Birkendorfer Str. 65, 88397 Biberach an der Riss, Germany; [redacted] E. coli: Escherichia coli; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practice; HP-β-CD: hydroxypropyl-beta-cyclodextrin; NA: not applicable; NaCl: Sodium chloride solution; NZW: New Zealand White; S. typhimurium: Salmonella typhimurium

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：ゾンゲルチニブ

Type of Study	Test System	Method of Administration	Daily Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Doc. No.	CTD No.
Repeat-Dose Toxicity	Rat	Oral (gavage)	40, 130, 420	No	n00281427	CTD 4.2.3.2-01_
Repeat-Dose Toxicity	Rat	Oral (gavage)	30, 90, 270	Yes	n00282481	CTD 4.2.3.2-02
Repeat-Dose Toxicity	Rat	Oral (gavage)	10, 30, 90	Yes	n00301352	CTD 4.2.3.2-03
Repeat-Dose Toxicity	Dog	Oral (gavage)	Dose escalation: 10/30/60/200/600/1000 Fixed dose: 60, 100	No	n00276961	CTD 4.2.3.2-04
Repeat-Dose Toxicity	Dog	Oral (gavage)	1, 5, 10	No	n00292500	CTD 4.2.3.2-05
Repeat-Dose Toxicity	Dog	Oral (gavage)	10, 20, 50	Yes	n00278943	CTD 4.2.3.2-06
Repeat-Dose Toxicity	Dog	Oral (gavage)	1.5, 3, 6	Yes	n00301353	CTD 4.2.3.2-07
Embryo-Fetal Development	Rat	Oral (gavage)	30, 90, 270	No	n00292914	CTD 4.2.3.5.2-01
Embryo-Fetal Development	Rat	Oral (gavage)	10, 30, 60	Yes	n00298815	CTD 4.2.3.5.2-02
Embryo-Fetal Development	Rabbit	Oral (gavage)	5, 15, 45, 150	No	n00298324	CTD 4.2.3.5.2-03
Embryo-Fetal Development	Rabbit	Oral (gavage)	40, 80, 120	Yes	n00301151	CTD 4.2.3.5.2-04

GLP: good laboratory practice

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：ゾンゲルチニブ

Study type	Route	Species	Strain	Dosing duration	Daily Dose[a] (mg/kg)	C_{max} (nmol/L)[b] M&F or M/F	AUC_{0-24} (nmol•h/L)[b] M&F or M/F	CTD / Doc. No.	GLP Compliance
Repeat-Dose Toxicity	Oral (gavage)	Rat	Wistar Han	2 weeks	40 130 420	15200/NA 65000/NA 84000/NA	141000/NA 641000/NA 1270000/NA	CTD 4.2.3.2-01 / n00281427	No
Repeat-Dose Toxicity	Oral (gavage)	Rat	Wistar Han	4 weeks	30 90 270	23400/38100 53400/56600 105000/78200	230000/337000 576000/677000 1240000/1140000	CTD 4.2.3.2-02 / n00282481	Yes
Repeat-Dose Toxicity	Oral (gavage)	Rat	Wistar Han	13 weeks	10 30 90	25600/19300 34300/47900 53500/69700	192000/95500 280000/302000 489000/561000	CTD 4.2.3.2-03 / n00301352	Yes
Repeat-Dose Toxicity	Oral (gavage)	Dog	Beagle	4 days 3 days 3 days 3 days 6 days 1 day 2 weeks 2 weeks	10 30 60 200 600 1000 100 60	5420/4520 8890/3660 622/6740 9300/20700 1510/21100 3010/4260 4530/2630 9590/1820	33300/26400 61500/39700 2560/68000 56900/169000 20500/206000 15000/61100 31000/49200 86600/9130	CTD 4.2.3.2-04 / n00276961	No
Repeat-Dose Toxicity	Oral (gavage)	Dog	Beagle	20 days 20 days 28 days	1 5 10	844/393 3280/2590 5490/6310	6280/2570 19400/13400 40300/36400	CTD 4.2.3.2-05 / n00292500	No
Repeat-Dose Toxicity	Oral (gavage)	Dog	Beagle	4 weeks	10 20 50	621/968 1950/2160 11400/11800	7010/11500 19600/22600 131000/136000	CTD 4.2.3.2-06 / n00278943	Yes
Repeat-Dose Toxicity	Oral (gavage)	Dog	Beagle	13 weeks	1.5 3 6	996/920 2040/996 2120/3230	7220/9450 17700/12100 19200/32400	CTD 4.2.3.2-07 / n00301353	Yes

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

Study type	Route	Species	Strain	Dosing duration	Daily Dose[a] (mg/kg)	C_{max} (nmol/L) [b] M&F or M/F	AUC_{0-24} (nmol•h/L) [b] M&F or M/F	CTD / Doc. No.	GLP Compliance
Embryo-Fetal Development	Oral (gavage)	Rat	Wistar Han	GD 7 - 17	30 90 270	NA/51000 NA/78800 NA/117000	NA/495000 NA/982000 NA/1920000	CTD 4.2.3.5.2-01 / n00292914	No
Embryo-Fetal Development	Oral (gavage)	Rat	Wistar Han	GD 7 - 18	10 30 <u>60</u>	NA/10700 NA/54600 NA/47900	NA/92100 NA/577000 NA/625000	CTD 4.2.3.5.2-02 / n00298815	Yes
Embryo-Fetal Development	Oral (gavage)	Rabbit	NZW	GD 6 - 19	5 15 45 150	NA/161 NA/579 NA/2410 NA/7920	NA/639 NA/2040 NA/10500 NA/69900	CTD 4.2.3.5.2-03 / n00298324	No
Embryo-Fetal Development	Oral (gavage)	Rabbit	NZW	GD 6 - 19	40 80 <u>120*</u>	NA/3380 NA/9730 NA/14000	NA/8850 NA/27500 NA/81900	CTD 4.2.3.5.2-04 / n00301151	Yes

Clinical dose of zongertinib of 120 mg QD (quaque die, once daily) targeting an exposure of 2730 nM for $C_{max,ss}$ and 30500 nmol•h/L for $AUC_{0-24,ss}$.

a: Unless otherwise specified. For pivotal repeat-dose toxicity, the No Observed Adverse Effect Level is underlined.

b: The toxicokinetic parameters refer to the last sampling day

AUC_{0-24}: area under the curve from time zero to 24 hours postdose; C_{max}: maximum concentration in plasma ; F: female; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practice; M: male; NA: not applicable; NZW: New Zealand White

*: The No Observed Adverse Effect Level for embryo-fetal toxicity. No Observed Adverse Effect Level for maternal toxicity.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4. 毒性試験：使用ロット

被験物質：ゾンゲルチニブ

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)									CTD / Doc. No.	Type of Study
		Impurity[a]	不純物B*	不純物C*	不純物F*	不純物G*	不純物D*	不純物H*	不純物E*	不純物A*		
B204000330	96.2	0.11	-	-	-	0.69[b]	-	-	-	-	CTD 4.2.3.2-02 / n00282481 CTD 4.2.3.2-06 / n00278943 CTD 4.2.3.3.2-01 / n00281499	4-week toxicity in rats 4-week toxicity in dogs Combined micronucleus test and comet assay
FR-91-77	99.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CTD 4.2.3.3.1-01 / n00282239	Ames
CC1116 and corresponding SDD batch DV-22006[c]	48.5	-	0.18	0.32	0.15	0.16	≤ 0.05	-	0.06	1.53	CTD 4.2.3.2-03 / n00301352 CTD 4.2.3.2-07 / n00301353 CTD 4.2.3.5.2-02 / n00298815 CTD 4.2.3.5.2-04 / n00301151 CTD 4.2.3.6-01 / n00300800	13-week toxicity in rats 13-week toxicity in dogs Embryo-fetal development in rats Embryo-fetal development in rabbits Local tolerance

a: Described in the Certificate of Analysis as Unspecified Impurity (不純物I*)

b: Described in the Certificate of Analysis as "Unspecified Impurity (不純物J*)" (further names: Impurity 3, 不純物K*). For toxicological qualification of Route 1 material, the lower criteria for Impurity 2 was applied as Impurity 2 and 3 were not well resolved and thus reported together for later batches.

c: Spray-dried product contains zongertinib [batch No. CC1116] and hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate with 1.6% 不純物A* at a 50/50 ratio.

SDD: Spray-dried dispersion

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

5. 単回投与毒性試験

No studies have been conducted.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Daily Dose (mg/kg)	Gender and No. / Group	Noteworthy Findings	CTD / Doc. No.
Rat/ Wistar Han	Once daily, oral (gavage) (0.5% Hydroxy-ethylcellulose)	2 weeks	0 40 130 420	5M	The plasma exposure (AUC_{0-24}) increased slightly more than proportionally to dose between 40 and 130 mg/kg and slightly less than proportionally to dose between 130 and 420 mg/kg. The variability of the plasma concentrations was moderate to low. The plasma exposure was slightly lower on Day 14 than on Day 1. There was no effect on mortality, clinical appearance (except for yellow fur at 420 mg/kg), coagulation parameters, urinalysis, macroscopic or microscopic examination. At 130 mg/kg, increase in total bilirubin (+256% vs control) and decrease in triglyceride (-40% vs control) concentrations were noted on Day 6 and persisted on Day 15 (total bilirubin +130% vs control and triglycerides -47% vs control). At 420 mg/kg, reduced food consumption (-24% vs control) and body weight gain (+6.9 g vs +51.8 g in control) were observed, resulting in low body weights (-16.5% vs controls), and correlating with decreases in absolute liver and spleen weights (no histopathological correlate). A mild decrease in reticulocyte count (-32.6% vs control) was noted on Day 15. Increases in total bilirubin (+870% vs control) and cholesterol (+59% vs control) and decreases in triglyceride (-43% vs control) concentrations and AST activity (-21% vs control), were noted on Day 6 and persisted on Day 15 (total bilirubin +268%, cholesterol +52%, triglycerides -55% and AST activity -16%, vs control).	CTD 4.2.3.2-01 / n00281427

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Daily Dose (mg/kg)	Gender and No. / Group	Noteworthy Findings	CTD / Doc. No.
Dog/ Beagle	Once daily, oral (gavage) (0.5% Hydroxy-ethylcellulose)	4 days 3 days 3 days 3 days 6 days 1 day	10 30 60 200 600 1000	1M/1F	Escalating dose phase (6 dose steps, no off-treatment between 10 and 30 mg/kg or 3, 5, 5 and 2 days off-treatment between following dose steps, respectively): Toxicokinetics (M/F): C_{max} (nmol/L) AUC_{0-24} (nmol•h/L) 10 mg/kg: TD 1 3690/866 23700/5520 TD 4 5420/4520 33300/26400 30 mg/kg: TD 3 8890/3660 61500/39700 60 mg/kg: TD 1 9520/5950 61600/80200 TD 3 622/6740 2560/68000 200 mg/kg: TD 1 9300/20700 56900/169000 600 mg/kg: TD 1 1680/20600 26800/241000 TD 6 1510/21100 20500/206000 1000 mg/kg: TD 1 3010/4260 15000/61100 Clinical signs: ≥30 mg/kg: fecal alterations (liquid and/or yellow discolored) (M/F) 30 and 60 mg/kg: oral vesicle of palate (M) 200 mg/kg: emesis (M/F), oral vesicle of palate (M). 600 mg/kg: shivering or trembling (M), lesion of oral mucosa (F). 1000 mg/kg: salivation (M), shivering or trembling (M), lesion of oral mucosa (F). Body weight vs. Day 1/33 at necropsy (10 - 1000 mg/kg): -5.6%/-3.8% (M). Food consumption [10 - 1000 mg/kg (M)/600 - 1000 mg/kg (F)]: ↓ (M: + to +++; F: + to ++). Clinical Pathology (day of necropsy): Neutrophil count (absolute) ↑ + (M), albumin ↑ + (M), fibrinogen ↑ + (F). Pathology: Oral mucosa: erosions/ulcers, accompanied by mixed cell infiltrate (F).	CTD 4.2.3.2-04 / n00276961

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Daily Dose (mg/kg)	Gender and No. / Group	Noteworthy Findings	CTD / Doc. No.
Dog/ Beagle	Once daily, oral (gavage), (0.5% Hydroxy-ethylcellulose)	15 days 15 days	60 100	2M/2F 1M/1F	Fixed dose phases: Toxicokinetics (M/F): C_{max} (nmol/L) AUC_{0-24} (nmol•h/L) 60 mg/kg: TD 1 11200/7780 66900/69000 TD 14 9590/1820 86600/9130 100 mg/kg: TD 1 12400/19400 124000/256000 TD 14 4530/2630 31000/49200 Clinical signs: 60 mg/kg: fecal alterations (liquid, red and/or yellow discolored) (2M/2F), emesis (1F), vomit found (1M/1F), motor activity ↓ (1F), oral vesicle of palate (1M), lesion of oral mucosa (2M/1F), redness of oral mucosa (1F). 100 mg/kg: fecal alterations (liquid, red and/or yellow discolored) (1M/1F), vomit found (1F), motor activity ↓ (1F), shivering or trembling (1F), lesion of oral mucosa (1F). Body weight vs Day 1 (60 & 100 mg/kg): Reduced by up to -5.6% (2F) & (1F) Food consumption (60 mg/kg & 100 mg/kg): ↓++ to +++ (2F) & ↓++ to +++ (1M/1F). Clinical Pathology (60 mg/kg & 100 mg/kg): Neutrophil count ↑+ (2M/2F) & (1M), albumin ↓+ (2M/2F) & (1M/1F), fibrinogen ↑+ (2M/2F) & (1M/1F). Pathology (60 mg/kg): Oral mucosa: erosions/ulcers (2M/1F), accompanied by mixed cell infiltrate (1M/1F).	CTD 4.2.3.2-04 / n00276961

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

6. 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Daily Dose (mg/kg)	Gender and No. / Group	Noteworthy Findings	CTD / Doc. No.
Dog/ Beagle	Once daily, oral (gavage) (0.5% Methylcellulose / the test item was provided as spray-dried solid dispersion in hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate)	20 days 28 days	1 5 10	1M/1F 2M/2F 1M/1F	Toxicokinetics (M/F): C_{max} (nmol/L) AUC_{0-24} (nmol•h/L) 1 mg/kg: Day 14/15 844/393 6280/2570 5 mg/kg: Day 14/15 3280/2590 19400/13400 10 mg/kg: Day 14/15 4960/9320 35100/80700 Day 28 5490/6310 40300/36400 Clinical signs: Single or multiple oral mucosa lesions of the (soft) palate in 1/4 animals at 5 mg/kg and 2/2 animals at 10 mg/kg associated with the histopathological correlate of focal ulceration with mixed cell inflammation. Body weight (5 and 10 mg/kg): ↓+ Food consumption (5 and 10 mg/kg): ↓+ Clinical Pathology (day of necropsy): 5 and 10 mg/kg: neutrophil count (absolute) and WBC counts ↑+ (F). 10 mg/kg: fibrinogen ↑ + (F). Pathology (M/F, starting at 5 mg/kg): Soft palate: ++ ulceration; small and/or large intestine: + diffuse hyperplasia of goblet cells	CTD 4.2.3.2-05 / n00292500

AST: aspartate aminotransferase ; AUC_{0-24}: area under the curve from time zero to 24 hours postdose; C_{max}: maximum concentration in plasma; F: female; M: male; TD: treatment day at the corresponding dose level; WBC: white blood cell; ↓: decreased; ↑: increased; +: minimal to slight; ++: moderate; +++: severe.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7A. 反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：BI 1810631: 4-Week Oral (gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study in the Rat with a 4-Week Recovery

Species/Strain:	Rat/Wistar Han	Duration of Dosing:	4 weeks	CTD No.:	CTD 4.2.3.2-02
Initial Age:	6 - 8 weeks	Duration of Postdose:	4 weeks	Doc. No.:	n00282481
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	Vehicle/Formulation:	0.5% Hydroxyethylcellulose	GLP Compliance:	Yes
Method of Administration:	Oral (gavage)				
Special Features:	Immunophenotyping				
No Observed Adverse Effect Level:	90 mg/kg/day				

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		270	
Number of Animals	M:10+5 recovery	F:10+5 recovery	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10+5 recovery	F:10+5 recovery
Toxicokinetics:								
Number of Toxicokinetic Animals	M:3	F:3	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
C_{max} (nmol/L) - Day 1[a]	BLQ	BLQ	16700	26800	40700	41200	86800	60200[a]
AUC_{0-24} (nmol•h/L) - Day 1[a]	NA	NA	136000	193000	422000	342000	1160000	833000[a]
C_{max} (nmol/L) - Day 27	BLQ	BLQ	23400	38100	53400	56600	105000	78200
AUC_{0-24} (nmol•h/L) - Day 27	NA	NA	230000	337000	576000	677000	1240000	1140000
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)- Day 28	330.9	188.2	310.3	191.3	309.3	191.9	310.0	203.5
Body Weight Gain (g) - Day 1 - 28	+120.3	+50.6	+107.8	+43.4	+89.7*	+46.8	+77.5*	+42.1*
Food Consumption (%)[b] - Day 1 - 28	22.1 g/animal /day	14.5 g/animal /day	-6.3	-	-6.8	-	-12.2*	-
Clinical Observations								
Fur, yellow discoloration	-	-	-	5	10	1	15	15
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7A. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		270	
Noteworthy Findings (Continued):								
Number Evaluated	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Hematology – Day 29[f]								
White blood cell count (10^9/L)	-	6.1	-	5.7	-	6.8	-	7.1
Neutrophil count (10^9/L)	-	0.72	-	0.71	-	0.97	-	1.11*
Reticulocyte count (10^9/L)	198.1	207.0	206.0	205.2	191.9	234.7	250.6*	247.0
Coagulation								
Prothrombin time (sec) - Day 29[g]	24.2	26.8	25.8*	25.9	24.9	26.8	27.0*	28.0*
Clinical Chemistry								
Glucose (mmol/L)								
Day 3	5.7	5.4	6.6	5.1	5.3	6.7*	7.0*	5.1
Week 4	6.6	6.8	6.4	6.6	7.5	6.6	7.1	7.5
Aspartate aminotransferase (IU/L)								
Day 3	95	-	82	-	84	-	72*	-
Week 4	95	120[d]	95	102 [d]	85	90[d]*	82*	80[d]*
Creatine Phosphokinase (IU/L)								
Week 4	972	1500	857	989*	674*	792*	484*	571*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Evaluated	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Organ Weights (%)[c]								
Adrenals	0.060 g	0.057 g	+1	+6	+6	+14	+26*	+32*
Liver	-	4.84 g[d]	-	-2[d]	-	+4[d]	-	+22[d]*
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Adrenals								
Vacuolation, cortex, increased, diffuse								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	8
Slight/Mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Necrosis, single cell, cortex, minimal	0	0	0	0	0	0	3	5
Hypertrophy, cortex, diffuse, minimal	0	0	0	0	0	0	2	4

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7A. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		270	
Noteworthy Findings (Continued):								
Number Evaluated	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Immunophenotyping - Day 29								
Blood[h]								
B Cells, Absolute (Rat cells/µL)	1675	933	1509	1014	1974	1020	2097	1240
B Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	36.6	34.8	35.7	32.3	37.9	34.4	40.4	35.9
Natural Killer Cells, Absolute (Rat cells/µL)	285	159	264	183	285	174	340	213
Natural Killer Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	6.6	6.3	7.2	6.2	5.8	6.0	6.9	6.0
Spleen								
Total T Cells, Absolute (Cells/mg)	162619	-	150787	-	115578*	-	104747*	-
Helper T Cells, Absolute (Cells/mg)	98938	-	88915	-	73222	-	64383*	-
Cytotoxic T Cells, Absolute (Cells/mg)	60497	47869[d]	58672	39804[d]	40113*	46726[d]	38157*	30292[d]*
B Cells, Absolute (Cells/mg)	188963	193907	186443	172380	146266	193502	133320*	111349*
Natural Killer Cells, Absolute (Cells/mg)	48676	-	40080	-	33024	-	34252	-
Thymus								
Total CD3 Intermediate Cells, Absolute (Cells/mg)	1330776	1735039[c]	1013126*	1267026[d]*	1063355	1131154[d]*	1236868	981212[d]*
Total CD3 Intermediate Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	48.6	67.1	46.8	57.6*	49.5	44.4*	56.0*	48.8*
Precursor T Cells, Absolute (Cells/mg)	1307169	1682343[d]	992494*	1231008[d]*	1046892	1112016[d]*	1216374	959132[d]*
Precursor T Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	47.7	65.1	45.9	56.0*	48.7	43.7*	55.0*	47.7*
Total CD3+ T Cells, Absolute (Cells/mg)	1838991	2265720	1425739	1716998*	1517069	1735182*	1732421	1381519*
Total CD3+ T Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	66.8[d]	87.4	65.9[d]	78.0*	70.5[d]*	68.2*	78.4[d]*	68.7*
Early T Cells, Absolute (Cells/mg)	12213[d]	-	12249[d]	-	106807[d]*	-	126067[d]*	-
Early T Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	0.4[d]	-	0.6[d]*	-	4.9[d]*	-	5.7[d]*	-

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7A. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30		90		270	
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	M:5	F:5	M:0	F:0	M:0	F:0	M:5	F:5
Body Weight (g) - Day 56	395.0	210.6	NA	NA	NA	NA	-	220.9
Body Weight gain (g) - Day 29-56	53.0	21.2	NA	NA	NA	NA	-	14.6*
Food Consumption (%)[e]	22.5 g/day	14.7 g/day	NA	NA	NA	NA	-	+10.9
Clinical Observations								
Fur, yellow discoloration	-	-	NA	NA	NA	NA	5	5
Hematology								
White blood cell count (10^9/L)	-	5.8	NA	NA	NA	NA	-	6.2
Coagulation[j]								
Prothrombin time (sec)	26.6	-	NA	NA	NA	NA	23.9*	-
Clinical Chemistry			NA	NA	NA	NA		
Aspartate aminotransferase (IU/L)	109	-	NA	NA	NA	NA	80*	-
Creatine Phosphokinase (IU/L)	1291	-	NA	NA	NA	NA	668	-
Organ Weights (%)[c]								
Adrenals	0.055 g	-	NA	NA	NA	NA	+23*	-
Liver	-	4.68 g	NA	NA	NA	NA	-	+19*
Gross Pathology	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Histopathology	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Immunophenotyping								
Blood								
B Cells, Absolute (Rat cells/µL)	-	551	NA	NA	NA	NA	-	695
B Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	-	28.5	NA	NA	NA	NA	-	33.3
Natural Killer Cells, Absolute (Rat cells/µL)	236	92	NA	NA	NA	NA	290	129
Natural Killer Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	6.9	5.1	NA	NA	NA	NA	8.6	6.6
Spleen								
Total T Cells, Absolute (Cells/mg)	84043	-	NA	NA	NA	NA	66835	-
Helper T Cells, Absolute (Cells/mg)	49324	-	NA	NA	NA	NA	39168	-
Cytotoxic T Cells, Absolute (Cells/mg)	32884	-	NA	NA	NA	NA	25695	-

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7A. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 Control		30		90		270	
Recovery Evaluation (Continued):								
Number Evaluated	M:5	F:5	M:0	F:0	M:0	F:0	M:5	F:5
Immunophenotyping (Continued)								
Thymus								
Total CD3 Intermediate Cells, Absolute (Cells/mg)	475673	-	NA	NA	NA	NA	1035308*	-
Total CD3 Intermediate Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	31.7	-	NA	NA	NA	NA	56.0*	-
Precursor T Cells, Absolute (Cells/mg)	455228	-	NA	NA	NA	NA	1016286*	-
Precursor T Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	30.3	-	NA	NA	NA	NA	55.0*	-
Total CD3+ T Cells, Absolute (Cells/mg)	809832	-	NA	NA	NA	NA	1426448*	-
Total CD3+ T Cells, Percentage (% of Lymphocytes)	54.2	-	NA	NA	NA	NA	77.5*	-

*: $p \leq 0.05$ (ANOVA and Dunnett's test for main study, two-sample t-test for recovery study)

a: n=5 for females at the 270 mg/kg dose group on Day 1

b: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data.

c: Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the group mean unadjusted absolute organ weights.

d: Rank Transformed Data.

e: During the recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

f: n=9 for males at 270 mg/kg dose group; n=7 for females at the 0, 30 and 90 mg/kg/dose groups.

g: n=8 for females at 270 mg/kg dose group

h: n=9 for females at 270 mg/kg dose group

i: n=4 for males at 270 mg/kg dose group

j: n=3 for females at control group

-: no noteworthy findings; AUC_{0-24}: area under the curve from time zero to 24 hours postdose; BLQ: below the limit of quantification (< 10.0 nmol/L); C_{max}: maximum concentration in plasma; F: female; GLP: good laboratory practice; M: male; NA: not applicable.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7B. 反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：13-Week Study of BI 1810631 by the Oral (Gavage) Route in the Wistar Han IGS Rat with a 4-Week Recovery Period

Species/Strain:	Rat/Wistar Han	Duration of Dosing:	13 weeks	CTD No.:	CTD 4.2.3.2-03
Initial Age:	7 - 8 weeks	Duration of Postdose:	4 weeks	Doc. No.:	n00301352
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	Vehicle/Formulation:	0.5% Methylcellulose / the test item was provided as spray-dried solid dispersion in hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate	GLP Compliance:	Yes
Method of Administration:	Oral (gavage)				

Special Features: -

No Observed Adverse Effect Level: 30 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		90	
Number of Animals	M:12+10 recovery	F:12+10 recovery	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12+10 recovery	F:12+10 recovery
Toxicokinetics:								
Number of Toxicokinetic Animals	M:3	F:3	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
C_{max} (nmol/L) - Day 1	BLQ	BLQ	11900	10400	31300	43100	47300	63500
AUC_{0-24} (nmol·h/L) - Day 1	NA	NA	143000	102000	368000	357000	625000	801000
C_{max} (nmol/L) - Day 22	BLQ	BLQ	23000	14200	32900	51500	47800	72700
AUC_{0-24} (nmol•h/L) - Day 22	NA	NA	225000	89900	302000	299000	519000	465000
C_{max} (nmol/L) - Day 92	BLQ	BLQ	25600	19300	34300	47900	53500	69700
AUC_{0-24} (nmol•h/L) - Day 92	NA	NA	192000	95500	280000	302000	489000	561000
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)[a] - Day 91	445.9 g	262.1 g	-1.1	-	-8.4	-	-6.5	-
Body Weight Gain (g) (Day 1 - 91)	+219.9	+104.5	+212.3	-	+193.6**[A]	-	+193.2**[A]	-
Food Consumption (%) (Day 1 - 43)	-	-	-	-	Up to -7.4	-	Up to -6.7	-
Clinical Observations[b]								
Fur, yellow discoloration (Day 29 - 119)	-	-	-	-	-	-	22	22
Ophthalmoscopy	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7B. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		90	
Noteworthy Findings (Continued):								
Number Evaluated	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12
Clinical Chemistry								
Triglyceride (mmol/L) - Day 38	1.046	0.646	1.276	0.498*[B]	1.068	0.488*[B]	0.888	0.374** [B]
Triglyceride (mmol/L) - Day 92	-	0.570	-	0.481	-	0.502	-	0.464[g]
Cholesterol (mmol/L) - Day 38	1.701	1.793	2.095*[B]	1.895	1.958	1.718	2.195**[B]	2.324**[B]
Cholesterol (mmol/L) - Day 92	1.962	1.820	2.317	1.934	2.156	1.838	2.391*[B]	2.374*[B]
Calcium (mmol/L) - Day 38	2.465	-	2.562**[B]	-	2.538*[B]	-	2.597**[B]	-
Calcium (mmol/L) - Day 92	2.554	-	2.613	-	2.581	-	2.628*[B]	-
Urea (mmol/L) - Day 92	5.07	6.08	4.97	6.20	4.97	6.83*[B]	5.72*[B]	6.87*[Bg]
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[c]								
Prostate	0.931 g	NA	-8	NA	-18	NA	-28**[B]	NA
Uterus	NA	0.768 g	NA	-19	NA	-33*[A]	NA	-36*[A]
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Adrenal Gland								
Pigment, increased, minimal	0	0	0	0	3	4	5	9
Cervix								
Hyperplasia/hyperkeratosis	NA	0	NA	0	NA	0	NA	3
Minimal	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
Slight/Mild	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Epididymis								
Pigment, increased, minimal	0	NA	0	NA	1	NA	7	NA
Estrous Stage (Vagina, Uterus, Cervix)								
Undetermined	NA	0	NA	0	NA	0	NA	3
Present	NA	0	NA	0	NA	0	NA	3

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7B. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		90	
Noteworthy Findings (Continued):								
Number Evaluated	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12
Femorotibial Joint Left								
Pigment, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	7	7
Heart								
Pigment, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	4	7
Lacrimal Gland								
Pigment, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	6
Lung								
Pigment, minimal	0	0	0	0	4	5	8	8
Mammary Gland								
Atrophy, diffuse								
Minimal	0	-	0	NA	3	NA	2	-
Slight/Mild	0	-	0	NA	3	NA	5	-
Moderate	0	-	0	NA	1	NA	4	-
Pigment, minimal	0	0	0	NA	0	NA	1	9
Mandibular Lymph Node, Left								
Pigment, minimal	3	2	NA	NA	NA	NA	7	6
Mandibular Salivary Gland								
Pigment, minimal	0	0	0	0	0	1	6	5
Ovary								
Pigment, increased								
Minimal	NA	0	NA	0	NA	7	NA	8
Slight/Mild	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7B. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		90	
Noteworthy Findings (Continued):								
Number Evaluated	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12
Pancreas								
Pigment, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	5	6
Parotid Salivary Gland								
Pigment, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	5
Prostate								
Atrophy, diffuse								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	2	NA
Slight/Mild	0	NA	0	NA	1	NA	3	NA
Sublingual Salivary Gland (Number Evaluated)	(M:11)	(F:12)	(M:12)	(F:12)	(M:11)	(F:12)	(M:11)	(F:12)
Secretion, decreased, acinar								
Minimal	1	1	2	0	5	4	7	4
Slight/Mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Pigment								
Minimal	0	0	0	0	5	7	8	9
Slight/Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Testis								
Vacuolation, interstitial cell, minimal	0	NA	7	NA	11	NA	12	NA
Thyroid Gland (Number Evaluated)	(M:12)	(F:12)	(M:1)	(F:12)	(M:0)	(F:12)	(M:12)	(F:12)
Pigment, minimal	0	0	0	0	NA	4	5	6
Uterus								
Atrophy, diffuse, minimal	NA	0	NA	0	NA	0	NA	3
Pigment, minimal	NA	0	NA	0	NA	7	NA	8
Vagina								
Hyperplasia/hyperkeratosis, minimal	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7B. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		90	
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	M:10	F:10	NA	NA	NA	NA	M:10	F:10
Body Weight (%)[a] - Day 120/121	438.4 g	253.0 g	NA	NA	NA	NA	-7.1	-
Food Consumption (%)[d]	23.6 g	-	NA	NA	NA	NA	-6.5	-
Clinical observation								
Fur, yellow discoloration	-	-	NA	NA	NA	NA	10	10
Clinical Chemistry – Day 120/121								
Triglyceride (mmol/L)	0.901	-	NA	NA	NA	NA	1.336[e]	-
Calcium (mmol/L)	2.499	-	NA	NA	NA	NA	2.563[e*B]	-
Organ Weights (%)[c]								
Uterus	NA	0.8415 g	NA	NA	NA	NA	NA	-33*[A]
Histopathology								
Adrenal gland								
Pigment								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	7	5
Slight/Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Epididymis								
Pigment, increased, minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	8	NA
Lung								
Pigment, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	7	7
Mammary gland								
Pigment, minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Mandibular salivary gland								
Pigment, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	5	4
Ovary			NA	NA	NA	NA		
Pigment, increased								
Minimal	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	5
Slight/Mild	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	3

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7B. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		90	
Recovery Evaluation (Continued):								
Number Evaluated	M:10	F:10	NA	NA	NA	NA	M:10	F:10
Prostate								
Atrophy, diffuse, minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Sublingual salivary gland								
Pigment, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	7[e]	8
Testis								
Vacuolation, interstitial cell, minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	9	NA
Pigment, minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Thyroid gland								
Pigment, minimal	NA	0	NA	NA	NA	NA	1[f]	5
Uterus								
Pigment, increased, minimal	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	6

Numbers in parentheses represent the number of animals with the finding.

*: p≤0.05; **: p≤0.01 (A: Kruskal-Wallis and Dunn test; B: ANOVA and Dunnett's test)

a: At end of dosing or recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data

b: Salivation was noted at 30 and 90 mg/kg immediately after gavaging and at 90 mg/kg associated with the signs like chewing, ploughing and pedaling, which was interpreted as cleaning behavior due to the palatability of the substance.

c: Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

d: Maximal value

e: Number examined = 9

f: Number examined = 1

g: Number examined = 11

-: no noteworthy findings; AUC_{0-24}: area under the curve from time zero to 24 hours postdose; BLQ: below the limit of quantification (< 10.0 nmol/L); C_{max}: maximum concentration in plasma; F: female; GLP: good laboratory practice; M: male; NA: not applicable.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7C. 反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：BI 1810631: 4-week oral (gavage) toxicity study in Beagle dogs

Species/Strain:	Dog/Beagle	Duration of Dosing:	4 weeks	CTD No.:	CTD 4.2.3.2-06
Initial age:	11 - 12 months	Duration of Postdose:	4 weeks	Doc. No.:	n00278943
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	Vehicle/Formulation:	0.5% Hydroxyethylcellulose	GLP Compliance:	Yes
Method of Administration:	Oral (gavage)				
Special features:	Toxicogenomics, Flurorescence imaging, Raman imaging (all three non-GLP)				
No Observed Adverse Effect Level:	10 mg/kg/day				

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		50	
Number of Animals	M:3+2 recovery	F:3+2 recovery	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3+2 recovery	F:3+2 recovery
Toxicokinetics:								
C_{max} (nmol/L) - Day 1	BLQ	BLQ	481	668	3810	2990	8290	10500
AUC_{0-24} (nmol·h/L) - Day 1	NA	NA	5130	9000	43400	38600	116000	142000
C_{max} (nmol/L) - Day 10	BLQ	BLQ	1060	820	3530	4250	15200	15900
AUC_{0-24} (nmol•h/L) - Day 10	NA	NA	6790	10800	40000	43400	184000	223000
C_{max} (nmol/L) - Day 28	BLQ	BLQ	621	968	1950	2160	11400	11800
AUC_{0-24} (nmol•h/L) - Day 28	NA	NA	7010	11500	19600	22600	131000	136000
Noteworthy findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (number of affected animals)[a]	-	-	-	-	up to -5.7 (2)	up to -10.8 (3)	up to -13.0 (3+2)	up to-23.6 (3+2)
Decreased Food Consumption (number of affected animals)[b]	-	-	-	-	(3)	(3)	(3+2)	(3+2)

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7C. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		50	
Noteworthy findings (Continued):								
Number Evaluated	M:3+2 recovery	F:3+2 recovery	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3+2 recovery	F:3+2 recovery
Clinical observations								
Motor activity, decreased	-	-	-	-	-	-	2	1
Shivering/trembling	-	-	-	-	-	-	2	1
Fur, yellow discoloration	-	-	-	-	-	-	5	5
Oral, gingiva, pale	-	-	-	-	-	-	1	1
General condition, thin	-	-	-	-	-	-	1	-
Oral lesion	3	4	3	2	3	3	4	5
Oral redness	-	1	-	-	2	2	3	2
Feces alterations	5[c]	-	1	2	2	3	5	5
Rectal body temperature	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography[d] (n=3)								
Adjusted heart rate (bpm)								
Pre-dose - Day 25	120.8		116.3		112.7		94.0	
Post-dose - Day 25	127.6		131.8		115.5		93.7*	
Hematology								
Neutrophil count [10^3/µL]								
Pre-Treatment	4.35	5.19	5.33	5.16	4.39	4.91	6.26*	4.81
Day 11	5.77	5.62	7.63	5.81	5.42	7.14*	8.26*	5.03
Day 28	5.17	5.12	5.46	5.41	5.17	7.28**	8.70**	6.31
White blood cell count [10^3/µL]								
Pre-Treatment	7.22	8.69	9.05	8.18	7.45	8.33	9.61*	7.67
Day 11	9.12	9.42	11.83	10.13	9.11	11.35	12.24*	8.37
Day 28	8.59	8.87	9.45	9.34	8.57	11.82*	13.08**	10.43
Platelet count [10^3/µL]								
Pre-Treatment	240	305	316	354	292	291	263	309
Day 11	233	309	315	308	324*	317	322*	365
Day 28	238	319	323*	338	329*	345	340**	372

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7C. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		50	
Noteworthy findings (Continued):								
Number Evaluated	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Clotting parameters								
Fibrinogen [mg/dL]								
Pre-Treatment	189	166	259	182	181	165	203	172
Day 11	179	186	245	184	280	298**	378**	218
Day 28	210	183	213	212	229	255	293**	229
Clinical Chemistry								
Albumin [g/dL]								
Pre-Treatment	3.23	3.15	3.10	3.24	3.34	3.38	3.12	3.44
Day 11	3.30	3.20	2.90	2.92	2.89	2.96	2.62**	2.91
Day 28	3.24	3.14	2.79*	2.72	2.75*	2.70	2.46**	2.65*
Total protein [g/L]								
Pre-Treatment	54.6	51.2	53.6	53.3	54.9	54.8	52.5	54.7
Day 11	54.4	51.5	51.2	47.9	50.6	50.5	49.3**	47.1
Day 28	56.1	52.2	50.2*	48.6	51.0	49.3	50.1*	46.6*
Albumin/globulin ratio								
Pre-Treatment	1.5	1.6	1.4	1.6	1.6	1.6	1.5	1.7
Day 11	1.6	1.6	1.3	1.6	1.3	1.4	1.2*	1.6
Day 28	1.4	1.5	1.2	1.3	1.2	1.2	1.0**	1.3
Potassium [mmol/L]								
Pre-Treatment	-	-	-	-	-	-	-	4.36[e]
Day 11	-	-	-	-	-	-	-	3.54[e]
Day 28	-	-	-	-	-	-	-	2.96[e]
Urinalysis (n=3)								
Low urinary specific gravity at treatment termination	-	-	-	-	-	-	-	1.008[e]

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7C. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		50	
Noteworthy Findings (Continued):								
Number Evaluated	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Histopathology								
Oral mucosa								
Erosion(s)/ulceration(s), minimal to slight	-	-	2	2	-	1	1	1
Erosion/ulceration, buccal mucosa, focal, minimal	-	-	1	-	-	-	-	-
Adrenal glands								
Hyperplasia zona glomerulosa, diffuse, minimal	-	-	-	-	-	1	-	2
Small and large intestine								
Hyperplasia of goblet cells, diffuse, minimal to moderate	-	-	-	-	-	-	3	3
Fluorescence images (non-GLP)[g]								
Hair follicles[f, g]	-	-	-	-	1	1	5	5
Raman images (non-GLP)[h]								
Skin, including hair follicles								
0.2 - 0.5 µg/mm^3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1
< 0.2 µg/mm^3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	1
Toxicogenomics (non-GLP)	Soft palate: no test item-related change in gene expression. Skin: test item-related findings limited to skin throat samples of females at 50 mg/kg. The deregulated genes correspond to genes of the immune response, the ERK1/2 cascade and to keratins and keratinocyte differentiation.							

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7C. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		20		50 mg/kg	
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	M:2	F:2	NA	NA	NA	NA	M:2	F:2
Clinical Observations								
Fur, yellow discoloration	-	-	NA	NA	NA	NA	2	2
Gross pathology								
Fur discoloration, diffuse, yellow	-	-	NA	NA	NA	NA	2	2
Hematology								
Platelet counts (10^3/µL)								
Pre-Treatment	240	305	NA	NA	NA	NA	263	309
Day 57	234	301	NA	NA	NA	NA	352	372
Fluorescence images (non-GLP)[g]								
Hair follicles[g]	-	-	NA	NA	NA	NA	2	2
Raman images (non-GLP)[h]								
Skin, including hair follicles								
< 0.2 µg/mm^3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1

*: p<0.05; **: p<0.01 (two-sided t-test vs control)

a: Number indicates percent difference compared to Day 1 (individual data).

b: Compared to pre-treatment (individual data).

c: Due to group housing, allocation to a specific animal was not possible.

d: Compared to Control.

e: Individual data of female No. 453.

f: All High-Dose recovery animals were included.

g: Fluorescence signal of zongertinib was exclusively detected.

h: Raman images were collected from areas within the epithelium of the skin, including hair follicles in all High-Dose main study animals and recovery male No. 404 and female No. 455.

-: no noteworthy findings; AUC_{0-24}: area under the curve from time zero to 24 hours postdose; BLQ: below the limit of quantification (< 10.0 nmol/L); C_{max}: maximum concentration in plasma; F: female; GLP: good laboratory practice; M: male; NA: not applicable.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7D. 反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：13-Week Toxicity Study of BI 1810631 by the Oral (Gavage) Route in the Beagle Dog with a 4-Week Recovery Period

Species/Strain:	Dog/Beagle	Duration of Dosing:	13 weeks	CTD No.:	CTD 4.2.3.2-07
Initial age:	12 - 13 months	Duration of Postdose:	4 weeks	Doc. No.:	n00301353
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted] (males) [redacted] 20[redacted] (females)	Vehicle/Formulation:	0.5% Methylcellulose / the test item was provided as spray-dried solid dispersion in hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate	GLP Compliance:	Yes

Method of Administration: Oral (gavage)
Special features: -
No Observed Adverse Effect Level: 6 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1.5		3		6	
Number of Animals	M:3+2 recovery	F:3+2 recovery	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3+2 recovery	F:3+2 recovery
Toxicokinetics:								
C_{max} (nmol/L) - Day 1	BLQ	BLQ	927	801	1640	1810	2870	3420
AUC_{0-24} (nmol·h/L) - Day 1	NA	NA	6760	6350	10500	13300	19400	27700
C_{max} (nmol/L) - Day 27	BLQ	BLQ	921	875	1730	1810	1660	2460
AUC_{0-24} (nmol·h/L) - Day 27	NA	NA	7640	7800	14700	12900	17300	20200
C_{max} (nmol/L) - Day 90 (M) / 91 (F)	BLQ	BLQ	996	920	2040	996	2120	3230
AUC_{0-24} (nmol·h/L) - Day 90 (M) / 91 (F)	NA	NA	7220	9450	17700	12100	19200	32400
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)[a]	10.48 kg	7.74 kg	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations								
Skin/Mucosa, red (Number of Animals/Observation Days) (Buccal mucosa, gums, or lower lip)	-	-	-	-	-	-	3/46-91	4/39-55

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

7D. 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1.5		3		6	
Noteworthy Findings (Continued):								
Number Evaluated	M:3+2 recovery	F:3+2 recovery	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3+2 recovery	F:3+2 recovery
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Rectal Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery Evaluation:								
Number Evaluated	M:2	F:2	NA	NA	NA	NA	M:2	F:2
Died or Sacrificed Moribund	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
Body Weight (%)[b]	9.75 kg	7.75 kg	NA	NA	NA	NA	-	-
Food Consumption	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Clinical Observations	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Electrocardiography	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Rectal Temperature	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Hematology	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Coagulation	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Clinical Chemistry	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Urinalysis	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Organ Weights	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Gross Pathology	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Histopathology	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

a: For controls, group means at the end of the treatment period (Day 91) are shown.

b: For controls, group means at the end of the treatment-free period (Day 119) are shown.

-: no noteworthy findings or unrelated to the test article; AUC_{0-24}: area under the curve from time zero to 24 hours postdose; BLQ: below the limit of quantification (< 10.0 nmol/L); C_{max}: maximum concentration in plasma; F: female; GLP: good laboratory practice; M: male; NA: not applicable.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

8. *In Vitro* 遺伝毒性試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：BI 1810631: Mutagenicity study using the *S. typhimurium/E. coli*/mammalian microsome assay (Ames test)

Test for Induction of:	Reverse mutation in bacteria	No. of Independent Assays:	1 of 2	CTD No.:	CTD 4.2.3.3.1-01
Strains:	*Salmonella typhimurium/ Escherichia coli*	No. of Replicate Cultures:	3	Doc. No.:	n00282239
Metabolizing System:	None	No. of Cells Analyzed/Culture:	100 million	GLP Compliance:	Yes
Vehicles: For Test Article:	DMSO	For Positive Controls:	A. dem. and DMSO	Date of Treatment:	[redacted] 20[redacted]
Treatment:	Standard plate test (Incubation: 48 hours)				
Cytotoxic Effects:	None				
Genotoxic Effects:	None				

Assay 1							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	Revertant Colony Counts				
			TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP2 uvrA (pKM101)
Without Activation	DMSO	100 µL/plate	16	5	17	120	241
	Zongertinib	10	12	6	15	111	248
		30	7	5	15	111	233
		100	15 P	7 P	16 P	95 P	218 P
		300	12 P	4 P	17 P	112 P	231 P
		500	14 P	6 P	18 P	113 P	200 P
	Sodium azide	5	1522#	NA	NA	1460#	NA
	9-Aminoacridine	75	NA	358#	NA	NA	NA
	2-Nitrofluorene	10	NA	NA	332#	NA	NA
	4-Nitroquinoline 1-oxide	10	NA	NA	NA	NA	2933#

#: Values regarded increased.

A. dem.: aqua demineralisata; DMSO: dimethylsulfoxide; GLP: good laboratory practice; NA: not applicable; P: precipitation

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

8. *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Test for Induction of:	Reverse mutation in bacteria	No. of Independent Assays:	1 of 2	CTD No.:	CTD 4.2.3.3.1-01
Strains:	*Salmonella typhimurium/ Escherichia coli*	No. of Replicate Cultures:	3	Doc. No.:	n00282239
Metabolizing System:	Phenobarbital/5,6-benzoflavone induced rat liver S9, 5%	No. of Cells Analyzed/Culture:	100 million	GLP Compliance:	Yes
Vehicles: For Test Article:	DMSO	For Positive Controls:	DMSO	Date of Treatment:	[redacted] 20[redacted]
Treatment:	Standard plate test (Incubation: 48 hours)				
Cytotoxic Effects:	None				
Genotoxic Effects:	None				

Assay 1 (continued)							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	Revertant Colony Counts				
			TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP2 uvrA (pKM101)
With Activation	DMSO	100 µL/plate	9	6	20	138	263
	Zongertinib	10	9	3	15	120	240
		30	5	4	23	142	254
		100	9	6	17	124	247
		300	10	9	22	130	208
		500	10 P	7 P	16 P	123 P	194 P
	2-Aminoanthracene	2.5	227#	81#	NA	1398#	NA
		50	NA	NA	NA	NA	626
	2-Aminofluorene	10	NA	NA	459#	NA	NA

#: Values regarded increased.

DMSO: dimethylsulfoxide; GLP: good laboratory practice; NA: not applicable; P: precipitation

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

8. *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Test for Induction of:	Reverse mutation in bacteria	No. of Independent Assays:	2 of 2	CTD No.:	CTD 4.2.3.3.1-01
Strains:	*Salmonella typhimurium/ Escherichia coli*	No. of Replicate Cultures:	3	Doc. No.:	n00282239
Metabolizing System:	None	No. of Cells Analyzed/Culture:	100 million	GLP Compliance:	Yes
Vehicles: For Test Article:	DMSO	For Positive Controls:	A. dem. and DMSO	Date of Treatment:	[redacted] 20[redacted]
Treatment:	Preincubation for 20 minutes (Incubation: 48 hours)				
Cytotoxic Effects:	None				
Genotoxic Effects:	None				

Assay 2							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	Revertant Colony Counts				
			TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP2 uvrA (pKM101)
Without Activation	DMSO	100 µL/plate	9	8	15	105	182
	Zongertinib	10	7	7	13	93	197
		30	9	6	21	101	186
		100	14	6	17	95	193
		300	4 P	5 P	14 P	102 P	182 P
		500	7 P	8 P	20 P	97 P	183 P
	Sodium azide	5	1526#	NA	NA	1514#	NA
	9-Aminoacridine	75	NA	522#	NA	NA	NA
	2-Nitrofluorene	10	NA	NA	211#	NA	NA
	4-Nitroquinoline 1-oxide	10	NA	NA	NA	NA	1495#

#: Values regarded increased.

A. dem.: aqua demineralisata; DMSO: dimethylsulfoxide; GLP: good laboratory practice; NA: not applicable; P: precipitation

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

8. *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Test for Induction of:	Reverse mutation in bacteria	No. of Independent Assays:	2 of 2	CTD No.:	CTD 4.2.3.3.1-01
Strains:	*Salmonella typhimurium/ Escherichia coli*	No. of Replicate Cultures:	3	Doc. No.:	n00282239
Metabolizing System:	Phenobarbital/5,6-benzoflavone induced rat liver S9, 5%	No. of Cells Analyzed/Culture:	100 million	GLP Compliance:	Yes
Vehicles: For Test Article:	DMSO	For Positive Controls:	DMSO	Date of Treatment:	[redacted] 20[redacted]
Treatment:	Preincubation for 20 minutes (Incubation: 48 hours)				
Cytotoxic Effects:	None				
Genotoxic Effects:	None				

Assay 2 (continued)							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	Revertant Colony Counts				
			TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP2 uvrA (pKM101)
With Activation	DMSO	100 µL/plate	8	4	19	96	221
	Zongertinib	10	6	6	22	103	234
		30	5	7	17	102	232
		100	8	8	24	99	231
		300	9 P	9 P	22 P	112 P	239 P
		500	6 P	5 P	20 P	101 P	203 P
	2-Aminoanthracene	2.5	279#	218#	NA	3286#	NA
		50	NA	NA	NA	NA	548#
	2-Aminofluorene	10	NA	NA	769#	NA	NA

#: Values regarded increased.

DMSO: dimethylsulfoxide; GLP: good laboratory practice; NA: not applicable; P: precipitation

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

9. *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：BI 1810631: Combined Comet assay (detection of DNA damage) in liver and duodenum and micronucleus test in peripheral blood of orally (gavage) treated rats

Test for Induction of:	Micronucleus test: Micronuclei in peripheral blood Comet assay: Deoxyribo nucleic acid damage, strand breaks or alkaline-labile sites	Treatment Schedule:	Groups 1 - 4: 4 days, once daily (Days 1 - 4); Groups 5 - 6: 2 days, once daily (Days 1/2 and 3/4, respectively)	CTD No.: Doc. No.: GLP Compliance:	CTD 4.2.3.3.2-01 n00281499 Yes
		Sampling Time:	Day 4; Micronucleus test: 22 -23 hours after last dosing; Comet assay: 2 hours after last dosing	Date of Dosing:	[redacted] 20[redacted]
Species/Strain:	Rat/Wistar Han				
Age:	8 weeks	Method of Administration:	Oral (gavage)		
Cells Evaluated:	RET, liver and duodenum	Vehicle/Formulation:	0.5% Hydroxyethyl cellulose		

No. of Cells Analyzed/Animal:	About 20000 for micronucleus test and 150/organ for Comet assay
Special Features:	Male animals were examined since no specific sex differences of zongertinib treated animals were seen.
Toxic/Cytotoxic Effects:	A minor reduction of body weight was observed in rats given 1000 and 2000 mg/kg zongertinib compared to the respective negative control. No clinical signs were observed from start of dosing until necropsy. No macroscopic changes of the gastrointestinal tract were seen at necropsy, only a dose-dependent intensive yellow coloration of the gastrointestinal tract was observed.
Genotoxic Effects:	None (neither in the Comet assay nor in the micronucleus test)
Evidence of Exposure:	A mean zongertinib plasma concentration of 89280, 105620 and 104800 nmol/L was achieved on Day 4, about 2 hours post dose at 270, 1000 and 2000 mg/kg.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

9. *In Vivo* 遺伝毒性試験（続き）

Micronucleus test					
Test Article	Dose (mg/kg)	Sampling Time (hours after last dosing)	No. of Animals	%RET	%MN-RET
Negative control[a]	0	22-23	5	2.72	0.03
Zongertinib	270	22-23	5	2.32*	0.05[#]
	1000	22-23	5	1.30***	0.04
	2000	22-23	5	1.08***	0.04
Positive control	EMS: 125	46-47	3	0.99***	0.23**
Comet assay					
Test Article	Dose (mg/kg)	Sampling Time (hours after last dosing)	No. of Animals	Liver Median % TI[b]	% TI Duodenum Median % TI[b]
Negative control [a]	0	2	5	0.086	2.449
Zongertinib	270	2	5	0.035	0.616
	1000	2	5	0.046	1.269
	2000	2	5	0.043	1.578
Positive control	EMS: 200	2	3	36.236***	38.838**

#: 0.05≤p<0.1; *: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.0001, (vs negative control, pairwise t-test)

a: 0.5% Hydroxyethylcellulose.

b: Median % TI is calculated as the mean of the median values from individual animals per group.

% TI: % Tail Intensity; EMS: ethyl methanesulfonate; GLP: good laboratory practice; MN-RET: micronucleated reticulocytes; RET: reticulocytes

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

10. がん原性試験

No studies have been conducted.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Daily Dose (mg/kg)	No. (pregnant) per Group	Noteworthy Findings	CTD / Doc. Number
Rat/Wistar Han	Oral (gavage) (0.5% Methylcellulose / the test item was provided as spray-dried solid dispersion in hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate)	GD 7 - 17	0 30 90 270	13(8) 13(10) 13(8) 13(9)	≥ 90 mg/kg: strong embryo-toxic effects; maternal effects due to embryofetal death, no consequence of maternal toxicity. 30 mg/kg: no structural defects or reduced embryo-fetal survival. Toxicokinetic at 30 mg/kg on GD 17: C_{max}: 51000 nmol/L, $AUC_{0-24:}$ 495000 nmol·h/L	CTD 4.2.3.5.2-01 / n00292914
Rabbit/NZW	Oral (gavage) (0.5% Methylcellulose / the test item was provided as spray-dried solid dispersion in hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate)	GD 6 - 19	0 5 15 45 150	6 (6) 3 (3) 3 (3) 3 (3) 6 (5)	At 150 mg/kg dose limiting maternal toxicity (body weight loss, reduced food consumption) occurred. One animal was found dead (GD 26) after abortion (GD 25). At 15 and 45 mg/kg food consumption and body weight gain were slightly reduced. At 45 mg/kg a C_{max} of 2410 nmol/L and an AUC_{0-24} of 10500 nmol·h/L was measured on GD 19 (Dose Day 14).	CTD 4.2.3.5.2-03 / n00298324

AUC_{0-24}: area under the curve from time zero to 24 hours postdose; C_{max}: maximum concentration in plasma; GD: gestation day; NZW: New Zealand White.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

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

No studies have been conducted.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

13A. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：BI 1810631: Study for effects on embryo-fetal development in rats (oral administration by gavage)

Design similar to ICH S5 (R3)	Yes	Duration of Dosing:	GD 7 - 18	CTD No.:	CTD 4.2.3.5.2-02
Species/Strain:	Rat/Wistar Han	Day of Mating:	GD 0	Doc. No.:	n00298815
Age of mating:	11 weeks	Day of C-Section:	GD 22	GLP Compliance:	Yes
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	Method of Administration:	Oral (gavage)		
Special Features:	-	Vehicle/Formulation:	0.5% Methylcellulose / the test item was provided as spray-dried solid dispersion in hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate		

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: 60 mg/kg/day
F_1 Litters: 60 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	10	30	60
Number of Animals		27	27	27	27
Dam/Doe:	Toxicokinetics:				
	Number of Toxicokinetic Animals	3	3	3	3
	C_{max} (nmol/L) – GD 7	BLQ	14600	55200	50000
	AUC_{0-24} (nmol•h/L) – GD 7	NA	101000	416000	469000
	C_{max} (nmol/L) – GD 18	BLQ	10700	54600	47900
	AUC_{0-24} (nmol•h/L) – GD 18	NA	92100	577000	625000
	No. Pregnant	21	22	21	24
	No. Sacrificed Moribund	0	0	1	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	1	0
	Test item related clinical observations:	0	0	0	0
	Test item related necropsy findings:				
	Amnion discoloured, yellow	0	5	19	24
	Kidney, multiple cysts	0	0	1	0

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

13A. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	10	30	60
Dam/Doe (Continued):	Body Weight (%, GD 18)[a]	274.4 g	+0	-1	-0
	Daily Food Consumption (% GD 7 – 18)[a]	21.4 g/day	-1	-3	-3
	No. Corpora Lutea	12.81	13.23	13.15	13.75
	No. Implantations	11.14	12.45	12.50	12.62
	% Preimplantation Loss	13.45	5.57	4.86	7.51
Litters:	No. Litters Evaluated	21	22	20	24
	No. Live Fetuses	222	260	235	286
	Resorption rate (% per animal)				
	Early resorption	2.76	4.59	9.40	5.31
	Late resorption	2.06	0.45	0.91	0.28
	No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
	% Postimplantation Loss	4.81	5.04	10.31	5.59
	Fetal Body Weight (g)	5.31	5.06	4.91	4.67
	Fetal Sex Ratios (% Males)	49.66	46.02	49.05	48.70
	Fetal Anomalies Fetus (Litters):				
	Gross External	0	0	0	0
	Visceral Anomalies, hydronephrosis	0	0	0	1 (1)
	Skeletal Anomalies, missing 11th thoracal vertebra	1 (1)	0	0	0
	Total Affected Fetuses (Litters)	1 (1)	0	0	1 (1)

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

AUC_{0-24}: area under the curve from time zero to 24 hours postdose; BLQ: below the limit of quantification; C_{max}: maximum concentration in plasma; GD: gestation day; GLP: good laboratory practice

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

13B. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：BI 1810631: Study for effects on embryo-fetal development in rabbits (oral administration by gavage)

Design similar to ICH S5 (R3)	Yes	Duration of Dosing:	GD 6 – 19	CTD No.:	CTD 4.2.3.5.2-04
		Day of Mating:	GD 0	Doc. No.:	n00301151
Species/Strain:	Rabbits/NZW	Day of C-Section:	GD 29	GLP Compliance:	Yes
Initial Age:	19 - 21 weeks	Method of Administration:	Oral (gavage)		
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	Vehicle/Formulation:	0.5% Methylcellulose / the test item was provided as spray-dried solid dispersion in hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate		
Special Features:	-				

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Females:	Not defined (< 40 mg/kg/day)
F_1 Litters:	120 mg/kg/day

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

13B. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	40	80	120
Number of Animals		21	21	21	21
Dam/Doe:	Toxicokinetics:				
	Number of Toxicokinetic Animals	3	2[a]	3	3
	C_{max} (nmol/L) - GD 6	BLQ	3320	7430	7940
	AUC_{0-24} (nmol•h/L) - GD 6	NA	7420	21300	40800
	C_{max} (nmol/L) - GD 19	BLQ	3380	9730	14000
	AUC_{0-24} (nmol•h/L) - GD 19	NA	8850	27500	81900
	No. Pregnant	18	18	20	21
	No. Sacrificed Moribund	1	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical observations:				
	Genital discharge, red contents	0	0	1	0
	Red content in the cage tray	0	1	1	0
	Feces amount decreased, liquid	0	0	0	1
	Macroscopic findings at hysterectomy	0	0	1[c]	1[d]
	Body Weight (%, GD 19)[b]	4100.1 g	-1.6	-4.5	-4.1
	Daily Food Consumption (% GD 6 - 19)	121.0 g/day	-16.0	-34.9**	-38.3**
	No. Corpora Lutea	10.28	10.33	10.55	9.76
	No. Implantations	9.00	8.44	9.40	8.29
	% Preimplantation Loss	13.26	16.55	11.00	15.18

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

13B. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	40	80	120
Number of Animals		21	21	21	21
Litters:	No. Litters Evaluated	18	18	20	21
	No. Live Fetuses	150	146	172	165
	Resorption rate (%)	7.23	4.05	7.17	5.42
	No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
	% Postimplantation Loss	7.23	4.06	7.17	5.41
	Fetal Body Weight (g)	40.66	40.14	38.33	40.77
	Fetal Sex Ratios (% Males)	42.61	53.73	57.04	56.20
	Fetal Anomalies Fetus (Litters):				
	Gross External	0	0	0	0
	Visceral Anomalies	0	4 (3)	2 (2)	3 (2)
	Gall Bladder, Absent (Individual no.)	0	1 (204 P-1)	0	0
	Ureter, Retrocaval (Individual no.)	0	2 (205 P-4, 219 P-2)	2 (305 P-2, 316 P-3)	2 (402 P-7, 412 P-1)
	Kidney, Malpositioned (Individual no.)	0	1 (219 P-1)	0	0
	Arteries, Common carotid trunk origin, Malpositioned (Individual no.)	0	0	0	1 (402 P-2)
	Skeletal Anomalies	2 (2)	6 (4)	4 (3)	0
	Interparietal, Split (Individual no.)	0	1 (214 P-3)	1 (321 P-1)	0
	Lumbar vertebra, Hemivertebra (Individual no.)	0	1 (220 P-2)	0	0
	Rib, Fused (Individual no.)	0	1 (210 P-2)	0	0
	Rib, Malpositioned (Individual no.)	1 (102 P-1)	0	0	0
	Rib, Misshapen (Individual no.)	1 (102 P-1)	0	0	0
	Sternebra, Fused (Individual no.)	1 (117 P-1)	3 (210 P-5, 219 P-1, 219 P-4)	3 (315 P-6, 321 P-7, 306 P-3)	0
	Thoracic arch, Absent (Individual no.)	0	1 (210 P-2)	0	0
	Thoracic arch, Misshapen (Individual no.)	1 (102 P-1)	1 (210 P-2)	0	0
	Thoracic centrum, Absent (Individual no.)	0	1 (210 P-2)	0	0
	Thoracic centrum, Hemicentric (Individual no.)	1 (102 P-1)	0	0	0
	Thoracic centrum, Misshapen (Individual no.)	1 (102 P-1)	0	0	0
	Total Affected Fetuses (Litters)	2 (2)	9 (6)	6 (5)	3 (2)

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

**: p<0.01 (two-sided t-Test)

a: One rabbit was excluded from TK analysis due to non-pregnancy.

b: At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data.

c: A congenital anomaly (missing uterine horn, left)

d: A red discoloration of the stomach mucosa in the fundic region

AUC_{0-24}: area under the curve from time zero to 24 hours postdose; BLQ: below the limit of quantification; C_{max}: maximum concentration in plasma; GD: gestation day; GLP: good laboratory practice; NZW: New Zealand White

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

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

No studies have been conducted.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

15. 新生児を用いた試験

No studies have been conducted.

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

16. 局所刺激性試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：BI 1810631 - Local Tolerance Study in the New-Zealand White Rabbit Following One Single Intravenous or Intra-Arterial or Perivenous or Subcutaneous or Intramuscular Injection

Species/Strain	Method of Administration	Dose Level (mg)/Dose Concentration (mg/mL)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	CTD / Doc. No.
Rabbit/NZW	Group 1: PV IV SC Group 2: IA IM	 0.0015/0.01 0.005/0.01 0.005/0.01 0.005/0.01 0.0025/0.01	6M (3M were euthanized on Day 2 and 3M on Day 8)	Similar gross and histological lesions were observed at 1 or 7 days after treatment, when compared with control, and were therefore associated with the administration procedure and unrelated to the test article administration. Under the defined experimental conditions, the single administration of zongertinib to the NZW rabbit by IV, IA, SC, PV or IM routes, using a dose concentration of 0.01 mg/mL, was well tolerated and demonstrated a favorable local tolerance profile.	CTD 4.2.3.6-01 / n00300800

IA: intra-arterial; IM: intramuscular; IV: intravenous; M: male; NZW: New Zealand White; PV: perivenous; SC: subcutaneous

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

17A. その他の毒性試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：BI 1810631: *In vitro* evaluation of potential hemolytic effects on human blood with a solution of BI 1810631 for i.v. administration (Hemolysis Test)

Hemolysis

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Treatment	Concentration (µg/mL)	No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	CTD / Doc. No.
Human peripheral blood	*In vitro*	45 minutes	5.00 3.00 1.00	3 human donors in total	Hemolysis below 2%. No erythrocyte aggregation or plasma precipitation. Injection of up to 5.00 µg/mL zongertinib in the tested formulation is acceptable for i.v. injection in clinical trials. Concentration (µg/mL): Max. hemolysis (%)[a] 5.00 µg/mL: 1.80% 3.00 µg/mL: 1.78% 1.00 µg/mL: 1.40%	Yes	CTD 4.2.3.7.7-02 / n00296566
Human peripheral blood	*In vitro*	45 minutes	30.0 20.0 10.0 5.00	3 human donors in total	Hemolysis below 3.08%. No erythrocyte aggregation or plasma precipitation. Injection of up to 30.0 µg/mL in the tested formulation is acceptable for i.v. injection in clinical trials. Concentration (µg/mL): Max. hemolysis (%)[a] 30.0 µg/mL: 2.24% 20.0 µg/mL: 0.96% 10.0 µg/mL: 2.14% 5.00 µg/mL: 3.08%	Yes	CTD 4.2.3.7.7-03 / n00301356

a: Maximum hemolysis (%) observed among 3 donors.

GLP: good laboratory practice; i.v.: intravenous

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

17B. その他の毒性試験

被験物質：ゾンゲルチニブ

報告書の題名：*In Vitro* 3T3 NRU Phototoxicity Test with BI 1810631

Phototoxicity Test

Cell line	Method of Administration (Vehicle)	Concentration (µg/mL)	No. of Independent Assays	Noteworthy Findings	GLP Compliance	CTD / Doc. No.
BALB/c 3T3, clone A31 mouse fibroblasts	*In vitro* (EBSS/1% DMSO)	0.012 - 37.5	3	Cytotoxic effects were noted in all experiments. No evidence of phototoxicity up to 37.5 µg/L	Yes	CTD 4.2.3.7.7-01 / n00282185

EBSS: Earle‘s balanced salt solution; DMSO: dimethylsulfoxide; GLP: good laboratory practice

Proprietary confidential information © 2025 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

17C. その他の毒性試験

被験物質：CD 40204，CD 40203，不純物E*，不純物D*，不純物B*，不純物C*

Ames Test of Metabolites, Impurities and Intermediates

Metabolites Impurities Intermediates	Strains	Method of Administration	Doses (µg/plate)	Noteworthy Findings	GLP Compliance	CTD / Doc. No.
CD 40204	*Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98; *Escherichia coli* WP2 uvrA	Plate test method (*in vitro*)	10 - 600 ± metabolic activation	Negative	Yes	CTD 4.2.3.7.5-01 / n00290012
CD 40203	*Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98; *Escherichia coli* WP2 uvrA	Plate test method (*in vitro*)	10 - 300 ± metabolic activation	Negative	Yes	CTD 4.2.3.7.5-02 / n00290011
不純物E*	*Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98; *Escherichia coli* WP2 uvrA	Plate test method (*in vitro*)	10 - 600 ± metabolic activation	Negative	Yes	CTD 4.2.3.7.6-01 / n00301997
不純物D*	*Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98; *Escherichia coli* WP2 uvrA	Plate test method (*in vitro*)	10 - 600 ± metabolic activation	Negative	Yes	CTD 4.2.3.7.6-02 / n00301787
不純物B*	*Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98; *Escherichia coli* WP2 uvrA	Plate test method (*in vitro*)	3.16 - 5000 ± metabolic activation	Negative	Yes	CTD 4.2.3.7.6-03 / n00309415
不純物C*	*Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98; *Escherichia coli* WP2 uvrA	Plate test method (*in vitro*)	3.16 – 5000 ± metabolic activation	Negative	Yes	CTD 4.2.3.7.6-04 / n00309413

GLP: good laboratory practice