ボラシデニブ　クエン酸水和物

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第２部（モジュール２）

2.6.6　毒性試験の概要文

日本セルヴィエ株式会社

目次

1.　まとめ....7

2.　単回投与毒性試験....13
2.1　サル....13
2.1.1　単回経口投与トキシコキネティクス試験【AG881-N-008-R1】【2.6.7_5】....13

3.　反復投与毒性試験....14
3.1　ラット....14
3.1.1　1 日 2 回 7 日間経口投与による忍容性試験【AG881-N-009-R1】【2.6.7_6】....14
3.1.2　1 日 2 回 7 日間経口投与による忍容性試験【AG881-N-011-R1】【2.6.7_6】....15
3.1.3　7 日間経口投与毒性試験【AG881-N-014-R1】【2.6.7_6】....16
3.1.4　28 日間反復経口投与毒性試験【AG881-N-012-R1】【2.6.7_7 項】....18
3.1.5　13 週間反復経口投与毒性試験【AG881-N-056】【2.6.7_7】....21
3.2　サル....24
3.2.1　1 日 1 回 7 日間経口投与用量範囲設定試験【AG881-N-010-R1】【2.6.7_6】....24
3.2.2　28 日間反復経口投与毒性試験【AG881-N-013-R1】【2.6.7_7】....26
3.2.3　13 週間反復経口投与毒性試験【AG881-N-057】【2.6.7_7】....28

4.　遺伝毒性試験....30
4.1　*In vitro* 遺伝毒性試験....30
4.1.1　AGI-23088 に関する細菌を用いる復帰突然変異試験【AG881-N-017-R1】【2.6.7_8】....30
4.1.2　代謝物 AGI-69460 に関する細菌を用いる復帰突然変異試験【AG881-N-065】【2.6.7_8】.31
4.1.3　*In vitro* 哺乳類細胞小核試験【AG881-N-054】【2.6.7_8】....31
4.2　*In vivo* 遺伝毒性試験....31
4.2.1　ラット骨髄小核試験【8500632】【2.6.7_9】....31

5.　がん原性試験（補助的トキシコキネティクス評価を含む）....32

6.　3 生殖発生毒性試験（用量設定試験及び補助的なトキシコキネティクス評価を含む）....32
6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験....32
6.2　胚胎児発生毒性....33
6.2.1　ラットを用いた胚胎児発生毒性試験（用量範囲設定試験、非 GLP）【20360623】【2.6.7_11】....33
6.2.2　ラットを用いた胚胎児発生毒性試験（本試験、GLP）【20360627】【2.6.7_13】....33
6.2.3　ウサギを用いた胚胎児発生毒性試験（用量設定、非 GLP）【20360618】【2.6.7_11】....35
6.2.4　ウサギを用いた胚胎児発生毒性試験（本試験、GLP）【20360619】【2.6.7_13】....35
6.3　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....37
6.4　新生児を用いた試験....37
6.5　局所刺激性....37

7.　その他の毒性試験....37
7.1　28 日間聴覚毒性試験【AG881-N-015-R1】【2.6.7_17】....37
7.2　*In vitro* 光毒性試験【AG881-N-060】【2.6.7_17】....39
7.3　不純物の試験....39
7.3.1　不純物D [redacted]
7.3.2　不純物E [redacted]

8.　考察及び結論....42
8.1　反復投与毒性....43
8.2　遺伝毒性試験、生殖及び発生毒性試験、その他の試験....47
8.3　全体のまとめと結論....48

9.　参考文献一覧.....49

表一覧

表 1:1　ボラシデニブの毒性試験の概要 8
表 3:1　ラットに 28 日間経口投与した後のボラシデニブのトキシコキネティクスパラメータ ..21
表 3:2　Sprague-Dawley ラットに 13 週間経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ 24
表 3:3　カニクイザルに 28 日間経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ 28
表 3:4　カニクイザルに 13 週間経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ 30
表 6:1　妊娠ラットにおけるボラシデニブと AGI-69450 のトキシコキネティクスパラメータ ...34
表 6:2　妊娠ウサギにおけるボラシデニブと AGI-69460 のトキシコキネティクスパラメータ ...36
表 7:1　動物試験において動物が実際に摂取した類縁物質の量 40
表 8:1　ヒトに 1 日 50 mg のボラシデニブを反復投与したときの血漿中曝露量と比較した安全マージン 43

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
α-KG	Alpha-ketoglutarate	α-ケトグルタル酸
2-HG	2-hydroxyglutarate	2-ヒドロキシグルタル酸
ABR	Auditory brain stem response	聴性脳幹反応
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
API	Active pharmaceutical ingredient	有効成分
APTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
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	濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}12/24h}$	AUC from time 0 to 12 or 0 to 24 hours	0 時間から 12 時間又は 0 時間から 24 時間までの AUC
BID	*Bis in Die* (twice a day)	1 日 2 回
CHF	Congestive Heart Failure	うっ血性心不全
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
DCM	Dilated cardiomyopathy	拡張型心筋症
DLT	Dose limiting toxicity	用量制限毒性
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DPBS	Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+}	Ca^{2+}及び Mg^{2+}添加ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水
ECG	Electrocardiogram	心電図
F	Female	雌
FDA	Food and Drug Administration	食品医薬品局
GD	Gestation day	妊娠日数
GGT	Gamma glutamyltransferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
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
HCT	Hematocrit	ヘマトクリット
HDW	Hemoglobin concentration distribution width	ヘモグロビン濃度分布幅
HNSTD	Highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
[redacted]		
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品調和国際会議
IDH1/IDH2	Isocitrate dehydrogenase-1/isocitrate dehydrogenase-2	イソクエン酸脱水素酵素-1/イソクエン酸脱水素酵素-2
M	Male	雄
MC	Methylcellulose	メチルセルロース
MCV	Mean corpuscular volume	平均赤血球容積
MN PCE	Micronucleated polychromatic erythrocytes	小核を有する多染性赤血球
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐用量
NMT	Not more than	以下
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed-effect level	無作用量
NRU	Neutral red uptake	ニュートラルレッド取込み
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト種

OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PCE	Polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PD	Pharmacodynamic	薬力学
PIF	Photoirritancy factor	光毒性係数
PT	Prothrombin time	プロトロンビン時間
QD	Once daily	1 日 1 回
QSAR	Quantitative Structure-Activity Relationship	定量的構造活性相関
QTc	Heart-rate corrected QT interval	心拍数で補正した QT 間隔
RBC	Red blood cell	赤血球
RDW	Red cell distribution width	赤血球分布幅
SD	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley
SDH	Sorbitol dehydrogenase	ソルビトール脱水素酵素
STD_{10}	Severely toxic dose (10% lethality)	重度の毒性が発現する用量（10%致死量）
TPGS	Tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate	トコフェロールポリエチレングリコール 1000 コハク酸
TK	Toxicokinetic	トキシコキネティクス
T_{max}	Time to maximum concentration	最高濃度到達時間
UPW	Ultra-Pure Water	超純水

1.　まとめ

ボラシデニブ［一般名：ボラシデニブ　クエン酸水和物、治験成分記号：S095032、AG-881 又は AGI-23088］は、イソクエン酸脱水素酵素-1（IH1）変異タンパク質及びイソクエン酸脱水素酵素-2（IH2）変異タンパク質の強力な阻害薬である。イソクエン酸脱水素酵素はクエン酸回路の非常に重要な酵素であり、イソクエン酸の酸化的脱炭酸を触媒し、二酸化炭素と　α-ケトグルタル酸（α-KG）を産生する。変異 IDH 酵素は触媒活性を有するが、新たな酵素活性として、α-KGを還元しオンコメタボライトである 2-ヒドロキシグルタル酸（2-HG）への変化を触媒する活性がある。2-HG は固形腫瘍及び血液腫瘍の患者で増加することが分かっている。

ボラシデニブは、臨床プログラム以前に実施された又は臨床プログラムと平行して実施された複数の非臨床毒性試験で評価されている。一部の短期間の試験を除いた反復投与毒性試験及びピボタル試験、並びにトキシコキネティクス（TK）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）の規制及び経済協力開発機構（OC）や ICH のガイドラインに準拠して実施した。グローバルプログラムは医薬品調和国際会議（ICH）の S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」[1)] に従って実施し、非 GLP 試験は GLP 施設において適切に管理された条件下で実施した。

ボラシデニブの毒性学的プロファイルは、ラット及びカニクイザルを用いた単回投与及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた胚胎児発生毒性試験、並びに光毒性、聴覚毒性などの特殊な毒性試験で評価し、また、不純物 D と 不純物E 及び代謝物 AGI-69460 についても評価した。試験を表 1:1 に一覧で示し、【2.6.7_1】に記載する。

ボラシデニブの毒性プロファイルは、薬物動態（PK）及び毒性データに基づいて選択したラット（げっ歯類）、カニクイザル（非げっ歯類）を用いて評価した。ラットとサルは毒性試験で標準的に使用する動物種であり、ボラシデニブの潜在的な毒性の評価に適切な動物と考えられた。ボラシデニブの代謝物プロファイルをマウス、ラット、イヌ及びサルで評価したところ、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソームとプレートに播種した肝細胞でのインキュベーション実験においてほぼ同じであった。ラットとサルでみられた *in vivo* プロファイルは *in vitro* プロファイルとほぼ同じであった。全体としてすべてのヒト *in vitro* 代謝物は、*in vitro* 試験又は安全性試験に用いた動物種における *in vivo* 試験で確認された【2.6.4】及び【2.6.5】。

In vivo 非臨床毒性試験ではボラシデニブを経口で投与し、患者に治療薬として投与する際の投与経路に合わせた。化合物は添加剤[redacted]（[redacted]）（[redacted]w/w）を用いた[redacted]（[redacted]）として投与した。本文書に記載された用量は、ボラシデニブのフリー体換算での投与量を示す。一部の毒性試験では、2 種類の溶媒対照群を設定した。2 番目の溶媒対照群には、高用量群に投与した量に相当する量の [redacted] を添加し、化合物が投与された同等の処方で動物に投与した。*In vitro* 試験、*in vivo* 小核試験及び胚胎児発生毒性試験でも、ヒトに投与するときと同様にクエン酸水和物を動物に投与した。

ラットを用いた初期の *in vivo* 毒性試験では、ボラシデニブを 1 日 2 回（BID）で投与した。これらの試験では、濃度-時間曲線下面積（AUC）値を 0～12 時間のデータ（$AUC_{0\text{-}12hr}$）を報告した。他の毒性試験では 1 日 1 回（QD）を使用し、血漿中曝露量の結果は 0～24 時間のデータ（$AUC_{0\text{-}24hr}$）を報告した【2.6.7_3】。本文書では、血漿中濃度及び曝露量は定量された全ての濃度に基づいて算出した値として記載する。

ラットとサルの血漿におけるボラシデニブ定量法はバリデートされている。TK 分析法は【2.6.4】及び【2.6.5】に要約する。

ボラシデニブの毒性試験を表 1:1 に概要を示し、各試験の詳細を以下に記載する。

表 1:1　ボラシデニブの毒性試験の概要

Study Type and Duration	Species/Strain	Route of Administration	Test Article	Study Number	GLP Compliance
SINGLE-DOSE TOXICITY					
Single	Cynomolgus monkey	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41946 AG881-N-008-R1	-
REPEAT-DOSE TOXICITY					
7 days	Rat/SD	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41947 AG881-N-009-R1	-
7 days	Rat/SD	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41948 AG881-N-011-R1	-
7 days	Rat/SD	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41971 AG881-N-014-R1	-
28 days	Rat/SD	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41973 AG881-N-012-R1	Yes
13 weeks	Rat/SD	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41974 AG881-N-056	Yes
7 days	Cynomolgus monkey	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41977 AG881-N-010-R1	-
28 days	Cynomolgus monkey	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41976 AG881-N-013-R1	Yes
13 weeks	Cynomolgus monkey	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41981 AG881-N-057	Yes
GENOTOXICITY					
Bacterial Reverse Mutation	*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	*In vitro*	Vorasidenib citrate)	NP41979 AG881-N-017-R1	Yes
Bacterial Reverse Mutation	*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	*In vitro*	AGI-69460	NP42134 AG881-N-065	Yes
In vitro Micronucleus	Human Peripheral Blood Lymphocytes	*In vitro*	Vorasidenib citrate	NP41980 AG881-N-054	Yes
Bone Marrow Micronucleus	Rat/SD	Oral gavage	Vorasidenib citrate	NP42502 8500632	Yes
REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY					
Embryo-fetal development (Dose range	Rat/SD	Oral gavage	Vorasidenib citrate	NP42346 20360623	-

Study Type and Duration	Species/Strain	Route of Administration	Test Article	Study Number	GLP Compliance
finding)					
Definitive embryo-fetal developmental	Rat/SD	Oral gavage	Vorasidenib citrate	NP42429 20360627	Yes
Embryo-fetal development (Dose range finding)	Rabbit/NZW	Oral gavage	Vorasidenib citrate	NP42410 20360618	-
Definitive embryo-fetal developmental	Rabbit/NZW	Oral gavage	Vorasidenib citrate	NP42503 20360619	Yes
OTHER TOXICITY STUDIES					
Ototoxicity	Rat/SD	Oral gavage	Vorasidenib [redacted]	NP41984 AG881-N-015-R1	Yes
Phototoxicity	BALB/c 3T3 mouse fibroblasts	*In vitro*	Vorasidenib	NP42151 AG881-N-060	Yes
Bacterial Reverse Mutation (Impurity)	*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	*In vitro*	Impurity D	NP42257 AG881-N-061	Yes
Bacterial Reverse Mutation (Impurity)	*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	*In vitro*	Impurity E	NP42258 AG881-N-062	Yes

GLP = Good Laboratory Practice; [redacted] = [redacted] *NZW: New Zealand White; SD = Sprague-Dawley;* [redacted]: [redacted]

カニクイザルを用いて単回経口投与毒性試験を実施し、ボラシデニブの TK プロファイルを評価した。用量は 3、40、80 mg/kg であった。80 mg/kg 群の雄 1 匹で、投与から 1～2 時間後にわずかな振戦がみられた。この試験で体重には影響はなく、化合物の忍容性は全般的に良好であった。

ボラシデニブの毒性プロファイルは、Sprague Dawley ラット及びカニクイザルを用いて 7 日間、28 日間及び 13 週間経口投与した反復投与毒性試験を実施した。

Sprague Dawley ラットを用いて 7～10 日間の反復投与試験 3 件を実施した。0.1、1、5 mg/kg/day を BID で投与したとき（雄のみ）、大きな影響はなかった。2 番目の試験では、雄ラットに 15、50、150、500 mg/kg/day を BID で投与した。2 × 50 mg/kg/day 以上は最大耐用量（MTD）を超えており、瀕死状態や死亡が顕著であった。アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アルカリホスファターゼ（ALP）、総ビリルビン及びコレステロールの増加などの肝臓に対する影響がみられ、主に動物の一般状態の悪化に関係する臨床検査値の変化もみられた。さらに、精巣で精細管の変性／萎縮（重量の減少及び精巣上体で軽度の内腔細胞残屑を伴う）、並びに嗅球（脳）で顆粒細胞のわずかな多巣性壊死が 2 × 50 mg/kg/day を投与したときのみにみられた。MTD は 2 × 15 mg/kg/day と判断した。MTD では、肝細胞肥大（肝臓重量の増加及び肝酵素値の増加を伴う）、前立腺及び精嚢の上皮萎縮、並びに中耳のわずかな急性炎症（好中球浸潤）がみられた。

3 番目の試験では、雌雄のラットに 50、100、200 mg/kg/day（溶媒 1：0.5% MC／1% [redacted]）及び 200、400 mg/kg/day（溶媒 2：10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]）を 1 日 1 回投与した。溶媒 1 に溶解したボラシデニブを投与したとき、50 mg/kg/day 及び 100 mg/kg/day の投与では 5 日間、200 mg/kg/day［無毒性量（NOAEL）］の投与では 9 日間、忍容性は良好であった。200 mg/kg/day の投与では冷たい四肢又はほてり、皮膚緊張低下、種々の体表面に赤、黄色及び／又は茶色の物質の付着などいくつかの一般状態の変化、及び体重増加抑制と摂餌量減少がみられた。50 mg/kg/day 及び 100 mg/kg/day の投与では投与 5 日を経過すると、一般状態、体重又は摂餌量の変化はなくなった。

溶媒 2 に溶解したボラシデニブ 200 mg/kg/day 及び 400 mg/kg/day を最長 5 日間投与したとき、投与期間終了時に顕著な一般状態の変化（体重減少及び摂餌量の有意な減少）を伴う死亡がみられた。剖検では、副腎又は胃粘膜の赤色領域、脾臓萎縮（200 mg/kg/day 及び 400 mg/kg/day の投与）、及び肝臓肥大（400 m/kg/day の投与）の所見が確認された。

GLP 一般毒性試験で、ヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$（3144 ng.hr/mL）を超える曝露量のボラシデニブをラット及びサルに反復経口投与したところ、いずれの動物種でも忍容性は良好であった。ラットでは、反復投与毒性試験で達成された最低曝露量で、試験終了時の $AUC_{0\text{-}24hr}$ はヒトに 50 mg を反復投与したときの $AUC_{0\text{-}24hr}$ の 7 倍（雌雄を合わせた値）であった。この曝露量で重大な所見があったが可逆的であり、中耳の好中球浸潤（病理組織所見）及び肝臓重量の増加（対応する病理組織所見はない）のみであった。サルでは、試験で使用した最低曝露量で、試験終了時の $AUC_{0\text{-}24hr}$ はヒトに 50 mg を反復投与したときの $AUC_{0\text{-}24hr}$ の 2 倍（雌雄を合わせた値）であった。この曝露量ではボラシデニブに関連する影響はなかった。

ラットを用いた GLP 準拠 28 日間試験では【AG881-N-012-R1】【2.6.7_7】、100 mg/kg/day の投与で用量制限毒性（DLT）が生じた（Day 27 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ の 172 倍）。DLT の原因はボラシデニブ投与に伴う体重減少／飢餓衰弱であり、胃と十二指腸の病変と関連があると考えられた。この用量での顕著な所見は、中耳の好中球浸潤、局所刺激性を示唆する胃腸の潰瘍及びびらん、並びに肝細胞酵素誘導と関連する肝臓所見であった。さらに、皮膚表皮過形成及び皮脂腺肥大がみられた。他の所見はストレスにより二次的に生じたと考えられた。100 mg/kg/day の用量は、致死率 10%（STD_{10}）に至る重度の毒性が発現する用量をわずかに超える用量であった。ラットで評価した 2 番目に高い用量（30 mg/kg/day）の忍容性は良好で、Day 27 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ は、ヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態の平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 62 倍であった。この用量では、ボラシデニブに関連する所見のほとんどは部分的又は完全に可逆的であった。ラットで評価した低用量（10 mg/kg/day 及び 3 mg/kg/day）での血漿中 $AUC_{0\text{-}24hr}$ は、ヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態の平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 26 倍と 7 倍であった。当試験では Irwin 変法によるスクリーニングを実施した。自発運動、振戦、動揺性歩行、接触反応、攻撃性、瞳孔の直径、身づくろい、落涙、体温などのパラメータを Day 0 と Day 27 に評価したところ、行動学的、生理学的及び神経学的状態にボラシデニブによる影響はみられなかった。

ラットを用いた GLP 準拠 13 週間試験【AG881-N-056】【2.6.7_7】では、50 mg/kg/day の投与で DLT が生じた（Day 91 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 158 倍）。瀕死状態の明らかな原因は特定できなかった。しかし、ボラシデニブに関連した体重の顕著な減少、骨格筋萎縮、及び／又は尿細管変性が動物の状態悪化に関連があると考えられた。試験に使用した中用量（15 mg/kg/day）は忍容性があり、Day 91 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ はヒトに 50 mg を投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 70 倍であった。この用量では肝臓、腎臓、骨格筋及び雌雄の生殖器に顕微鏡所見があった。重大な顕微鏡所見を含むほとんどの所見は部分的又は完全に可逆的であった。試験で使用した低用量（5 mg/kg/day）の忍容性は良好であり、Day 91 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態の平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 26 倍であった。この用量での顕微鏡所見は 15 mg/kg/day 群と同じ組織にみられたが、発現率及び重症度は全般的に 15 mg/kg/day 群よりも低く、ほとんどの所見（重大な顕微鏡所見も含む）は部分的又は完全に可逆的であった。

サルを用いた GLP 準拠 28 日間試験では【AG881-N-013-R1】【2.6.7_7】、40 mg/kg/day の投与で DLT が生じた（Day 27 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 29 倍）。この用量で投与したときの脳中ボラシデニブ曝露量と血漿中ボラシデニブ曝露量の比は 1.25 であった。DLT の原因は、振戦、運動失調、平衡感覚障害及び頭部傾斜であって、瀕死状態のため安楽死が必要となった。振戦は可逆的であったが、ストレスの徴候は残存した。この用量では、ボラシデニブに関連するその他の所見として体重減少、及び肝細胞酵素誘導に関連する影響、ストレス及び皮膚の表皮剥離が観察された。サルに使用した 2 番目の高い用量（10 mg/kg/day）では、Day 27 の血漿中 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 12 倍であった。この用量の忍容性は良好であったため、この用量を重度の毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）と定義した。試験に使用した最低用量 3 mg/kg/day の投与では影響はみられず、Day 27 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 2 倍であった。当試験では投与期間終了間際に（Day 25）、すべての生存動物で心血管系に対する安全性を評価した。心拍数、RR 間隔、PR 間隔又は QRS 持続時間にボラシデニブに関連する影響はなかった。40 mg/kg/day を投与した雄ザル 1 匹で Day 25 に補正 QT 間隔（QTc）がわずかに延長した（ヒトに 50 mg を連日投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ の 55 倍、定常状態での平均 C_{max} の 107 倍）。この所見が生じたサルは 1 匹のみであったが、ボラシデニブとの関連は否定できなかった。

サルを用いた GLP 準拠 13 週間試験では【AG881-N-057】【2.6.7_7】、ボラシデニブ 20 mg/kg/day（試験に使用した最高用量）を投与した雄 1 匹で拡張型心筋症（DCM）と二次性うっ血性心不全（CHF）に関連して一般状態が悪化したため、Day 51 に早期に安楽死させた。ボラシデニブとの関連は否定できない。20 mg/kg/day を投与し、予定された安楽死まで生存していた動物では、Day 91 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 65 倍であった。6 mg/kg/day 以上を投与した動物では標的臓器に影響があり、顕微鏡所見である肝細胞肥大、混合細胞浸潤増加及びクッパー細胞過形成に関連した肝臓重量の増加が観察された。肝細胞肥大と混合細胞浸潤は回復、肝臓重量は部分的に回復した。これらの結果に基づき、MTD は

6 mg/kg/day と判断された。この用量の投与で Day 91 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の 8 倍である。最低用量は 2 mg/kg/day で、この用量を無作用量（NOEL）と判断した。この用量を投与したとき、Day 91 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態での平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ の 2 倍である。

ラットとサルにボラシデニブを 7 日間反復経口投与したとき、代謝物 AGI-69460 がラット及びサルの血漿に確認されたため【AG881-N-070】（ラット）【AG881-N-071】（サル）、これらの動物種を用いた毒性試験全体で、この代謝物の安全性が適切に担保されていることが示唆された。この代謝物は、ラットとウサギを用いた胚胎児発生毒性試験【20360627】【20360619】並びに *in vivo* 小核試験【8500632】でも検出され、評価されている。

ボラシデニブ【AG881-N-017-R1】及びボラシデニブの代謝物 AGI-69460【AG881-N-065】は、Ames 試験でアロクロール誘導ラット肝 S9 分画存在下でも非存在下でも変異原性を示さなかった。また、ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 試験【AG881-N-054】【2.6.7_8】でも、アロクロール誘導ラット肝 S9 分画存在下及び非存在下で小核を誘導しなかった。さらに、雄ラットに 500、1000、2000 mg/kg/day（現行の試験ガイドラインに従った最高用量）を投与したとき、骨髄の多染性赤血球で小核を誘導しなかった【8500632】。

ボラシデニブの胚胎児発生毒性は、交配が確認された Sprague-Dawley ラットを用いた用量設定試験【20360623】及び本試験【20360627】【2.6.7_13】で評価した。これらの試験では、器官形成期である妊娠日数（GD）6～17 で投与した。妊娠した雌の Sprague-Dawley ラットを用いた GLP 胚胎児発生毒性試験の本試験では、ボラシデニブ 10、25、75 mg/kg/day を経口投与した。75 mg/kg/day の投与では母動物 1 匹が死亡し、全同腹仔吸収が生じ、いずれの投与群でも母動物の体重減少と一般状態の変化がみられた。母動物に対する毒性の NOAEL は 25 mg/kg/day と判断した（GD 17 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 193000 ng.h/mL であり、ヒトに 50 mg を反復投与したときの曝露量の 61 倍）。

胎児毒性は 10 mg/kg/day 以上の投与で生じ、主に内臓所見（腎臓及び精巣の位置異常）を伴う胎児重量の減少、及び骨格筋所見（すべての投与群で骨の不完全な骨化及び短肋骨）が観察された。胚胎児発生の NOAEL は 10 mg/kg/day と判断した。胚胎児発生毒性は、New Zealand White ウサギを用いた用量設定試験【20360618】及び本試験【20360619】【2.6.7_13】で評価した。これらの試験でも器官形成期である GD 6～19 で投与した。GLP 本試験ではボラシデニブ 2、6、18 mg/kg/day を経口投与した。すべての用量で平均体重増加抑制及び摂餌量減少がみられ、18 mg/kg/day 群の雌 1 匹で流産が生じた。母動物に対する毒性の NOAEL は 6 mg/kg/day と判断した（GD 19 の曝露量は 15500 ng.h/mL であり、ヒトにボラシデニブ 50 mg を投与したときの曝露量の 4 倍）。同腹仔に関しては、6 mg/kg/day 以上の投与で用量に関連した軽微から中等度の胎児平均重量の減少及び複数の骨の骨化遅延がみられ、18 mg/kg/day の投与では後期吸収の発現率がわずかに上昇した。これらの影響は母動物でみられた毒性と一致しており、胎仔に対する直接の毒性によるものではない。したがって、NOAEL は 6 mg/kg/day と判断した。

ラットを用いた 28 日間聴覚毒性試験【AG881-N-015-R1】【2.6.7_17】でボラシデニブ 3、10、30、100 mg/kg/day を投与したところ、中耳及び耳管の上皮に有害ではない可逆的かつわずかな好

中球浸潤（中耳炎）が生じた。聴性脳幹反応（ABR）、耳鏡検査、シトコクレオグラム、卵形嚢有毛細胞の密度、脳、蝸牛神経又はらせん神経節の肉眼的又は顕微鏡的病理所見にボラシデニブに関連する影響はなかった。

BALB/c 3T3 マウスの線維芽細胞を用いた *in vitro* アッセイでは、ボラシデニブに光毒性の可能性は示されなかった【AG881-N-060】【2.6.7_17】。

原薬中の 3 種類の個別規格設定不純物（不純物A、不純物B 及び 不純物C）は、2 種類の異なる定量的構造活性相関［(Q)SAR］モデルで陰性であり、ラットとサルを用いた GLP28 日間毒性試験において、予定している規格で毒性プロファイルが十分に確認された。すべての出発物質、中間体、中間体及び原薬で確認された不純物と可能性のある不純物、試薬、溶媒又は触媒、並びに原薬自体についても、変異原性の可能性を *in silico* で評価した。変異原性アラートが生じた 2 種類の不純物（不純物D 及び 不純物E）を変異原性試験で評価したところ、陰性であった【AG881-N-061】【AG881-N-062】。他の ICH M7 クラス 1、2 又は 3 の不純物は TTC 値（毒性学的懸念の閾値）である患者 1 例、1 日につき 1.5 µg 又はそれぞれの化合物又はクラスごとの限度で管理されている【2.3S_3.2.4】。

以下の項でヒトと比較した安全マージンは、ヒトに対する 1 日量である 50 mg を神経膠腫患者に投与したとき Cycle 2 の Day 1（C2D1）における値を 24 時間まで外挿して得られた、0 時間から 24 時間までの臨床的濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24hr}$）曝露量（定常状態で 3144 ng.hr/mL）に基づいている【AG881-C-002】【5.3.3.1】。安全マージンを算出する際に選択したヒトに対する用量は、相対バイオアベイラビリティ試験、ポピュレーション PK シミュレーション、及び第 1 相試験から得た臨床薬物動態データの結果に基づいており、フィルムコーティング錠剤 40 mg を反復投与したときの定常状態での AUC は、非コーティング錠剤 50 mg を反復投与したときの AUC と同程度と予想された【2.7.2_2.2.1.3.1】。

2.　単回投与毒性試験

2.1　サル

2.1.1　単回経口投与トキシコキネティクス試験【AG881-N-008-R1】【2.6.7_5】

カニクイザルを用いて単回経口投与毒性試験を実施し、ボラシデニブの毒性及び TK プロファイルを評価した。

ボラシデニブ／[redacted]（[redacted] w/w）を溶媒（10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水）に溶解し、3、40、80 mg/kg を動物 3 群（1 群あたり雌雄それぞれ 2 匹）に 1 回、経鼻胃管で単回投与した。動物の死亡／瀕死状態、一般状態及び体重を評価し、投与から 72 時間後まで血液試料を採取して TK を測定した。

試験期間中の死亡はなかった。80 mg/kg 群の雄 1 匹が投与から 1～2 時間後にわずかな振戦を示した。ボラシデニブに関連する体重への影響はなかった。

ボラシデニブは経口投与後に吸収され、各動物の T_{max} は投与から 1～24 時間後であり、半減期は 15～49 時間と算出された。

結論として、雌雄のカニクイザルにボラシデニブ 3、40、80 mg/kg を単回経口投与したとき、忍容性は良好であった（$AUC_{0\text{-}24hr}$ は雄で 3520、44700、139000 ng.hr/mL、雌で 5020、83300、90600 ng.hr/mL であり、C_{max} は雄で 484、3280、6550 ng/mL と雌で 538、4520、4610 ng/mL であった）。

3.　反復投与毒性試験

Sprague Dawley ラットとカニクイザルを用いた反復投与毒性試験を実施し、ボラシデニブを最長 13 週間投与した。ヒトでの投与経路は経口であるため、いずれの試験でも経口投与を選択した。ボラシデニブ投与用懸濁液は[redacted]を使用した[redacted]として調製した。用量はいずれもフリー体換算による投与量とした。げっ歯類及び非げっ歯類で、ボラシデニブに関連する影響について可逆性、持続性及び遅延発現を 28 日間試験では投与終了後 14 日間、13 週間試験では投与終了後 4 週間評価した。

3.1　ラット

3.1.1　1 日 2 回 7 日間経口投与による忍容性試験【AG881-N-009-R1】【2.6.7_6】

Sprague Dawley ラットを用いた 7 日間反復投与試験で、ボラシデニブの忍容性と TK プロファイルを評価した。

ボラシデニブ／[redacted]（[redacted] w/w）を溶媒（10%ビタミン E TPGS／1% [redacted] を含む脱イオン水）に溶解し、毒性評価を目的とした 3 群（1 群あたり雄 5 匹）及びトキシコキネティクス評価を目的とした 3 群（1 群あたり雄 3 匹）に、1 日 2 回（約 12 時間間隔）7 日間連続で強制経口投与した。用量は 0.2、2、10 mg/kg/day（2 × 0.1、2 × 1、2 × 5 mg/kg/day）であった。毒性評価を目的とした同時対照群には、同じ量の [redacted] 添加剤を含む溶媒を投与した。7 日間の投与後、すべての動物を安楽死させ、血液と脳を採取して TK を分析した。

試験期間を通して死亡／瀕死状態、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床検査（血液学的検査、凝固系、血液生化学検査及び尿検査）、臓器重量、肉眼的及び顕微鏡的検査、並びに TK パラメータをモニタリングした。

すべての動物が予定された剖検まで生存した。一般状態、眼科検査、体重、摂餌量、血液検査パラメータ及び尿検査パラメータ、臓器重量、肉眼所見又は顕微鏡所見にボラシデニブに関連する影響はなかった。

10 mg/kg/day 群では、ボラシデニブに関連して血清フィブリノーゲン平均値及びカリウム平均値が低下した。これらの変化はわずかであり、関連した臨床検査所見や病理組織所見はなかったため、毒性学的な意味はないと判断した。0.2 mg/kg/day 群又は 2 mg/kg/day 群では、ボラシデニブに関連する臨床検査所見はなかった。

結論として、雄の Sprague-Dawley ラットにボラシデニブ 0.2、2、10 mg/kg/day を 7 日間連続して経口投与したとき、忍容性は良好であり、毒性学的に意味のある所見はなかった。

10 mg/kg/day 群では $AUC_{0\text{-}12hr}$ は 35800 ng.hr/mL、C_{max} は 3540 ng/mL であった。この用量での脳内濃度と血漿中濃度の比は 1.36 であった。

3.1.2　1 日 2 回 7 日間経口投与による忍容性試験【AG881-N-011-R1】【2.6.7_6】

2 番目の 7 日間反復投与試験では、Sprague-Dawley ラットにより高用量を投与して忍容性と TK を評価した。

ボラシデニブ／[redacted]（[redacted]w/w）を溶媒（10%ビタミン E TPGS／1% [redacted] を含む脱イオン水）に溶解し、毒性評価を目的とした 4 群（1 群あたり雄 5 匹）及び TK 評価を目的とした 4 群（1 群あたり雄 3 匹）に、1 日 2 回（約 12 時間間隔）7～10 日間連続で強制経口投与した。用量はそれぞれ 30、100、300、1000 mg/kg/day（2 × 15 mg/kg/day、2 × 50 mg/kg/day、2 × 150 mg/kg/day 及び 2 × 500 mg/kg/day）であった。同時対照群には、同じ量の [redacted] 添加剤を含む溶媒を 10 日間連続投与した。

試験期間を通して死亡／瀕死状態、一般状態、体重及び摂餌量、眼科検査、臨床検査（血液学的検査、凝固系、血液生化学検査及び尿検査）、臓器重量、肉眼的及び顕微鏡的検査並びに TK パラメータをモニタリングした。7～10 日間投与した後、毒性評価群で生存していたすべての動物を安楽死させ、TK 評価群の動物からは安楽死の前に血液を採取した。

1000 mg/kg/day の投与ではすべての動物、300 mg/kg/day の投与ではほぼすべての動物が Day 3 又は Day 4 に死亡状態で発見された又は瀕死状態のため安楽死させた。これらの動物の肉眼所見は、胃（暗赤色の領域、濃い白又は暗赤色の胃内容物）、盲腸（暗赤色の内容物）、脾臓（萎縮）及び鼻の皮膚（浮腫及び／又は痂疲）、300 mg/kg/day を投与した動物 5 匹中 1 匹で回腸の腸重積であった。試験計画書に従いこれらの死亡した動物の顕微鏡検査は実施しなかったため、死亡／瀕死状態の原因は確定できなかったが、胃びらんと潰瘍が肉眼的病変で示唆され低用量群でも顕微鏡所見として報告されているため、胃びらんと潰瘍に関連する可能性がある。他の動物はすべて予定された剖検時まで生存していた。

100 mg/kg/day 以上の投与で、ボラシデニブに関連する有害な一般状態の所見がみられた。具体的には、消化器の異常（便の減少、小さい便／軟便、重度の下痢）が生じ、その後、活動性低下、半分閉じた眼、皮膚緊張低下、被毛状態の異常、平衡感覚障害、頭部傾斜、振戦及び虚脱などがみられた。一般状態の悪化は、冷たい四肢／身体、呼吸の徴候、青白い身体及び体表面の種々の部位（鼻、口、眼、体幹腹部、泌尿生殖器／肛門生殖器領域、前肢）に付着した透明／赤／茶色／黄色の物質にも反映されていた。30 mg/kg/day を投与した動物では、ボラシデニブに関連する一般状態の所見はなかった。

ボラシデニブに関連する体重減少及びこれに対応する摂餌量減少が、100 mg/kg/day 以上を投与したすべての動物で生じたが、30 mg/kg/day 群では体重に関連する影響はなかった。ボラシデニブに関連する眼所見はなかった。

ボラシデニブに関連する臨床検査値の変化は、30 mg/kg/day 以上から観察され、主に血液濃縮／脱水［赤血球（RBC）数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血清尿素窒素、及び尿比重の増

加]、ストレス（リンパ球、好酸球及び網状赤血球数の減少；血清グルコースの増加）、摂餌量減少と消化管タンパク質損失（血清総タンパク質、アルブミン、グロブリン、ナトリウム、クロール、リンの減少）、及び消化管の炎症（好中球数と単球数、及び血小板の増加；血清アルブミンの減少）と関連していた。100 mg/kg/day以上の投与では凝固が変化し、凝固時間が短縮し［プロトロンビン時間（PT）、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）］、フィブリノーゲン濃度が低下（30 mg/kg/day 以上の投与）した。さらに、100 mg/kg/day 以上の投与では肝酵素値も増加し［ALT、AST、ソルビトール脱水素酵素（SDH）、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）、コレステロール、ビリルビン及び ALP］、これに関連して肝細胞壊死とびまん性肝細胞肥大が観察された。

予定された剖検時点では、すべての群でボラシデニブ投与に関連して臓器重量が変化しており、30、100、300 mg/kg/day の投与で平均肝臓重量が増加し、100 mg/kg/day の投与で平均副腎重量が増加し、100 mg/kg/day 及び 300 mg/kg/day の投与で胸腺、脾臓、前立腺、精巣上体及び精巣の平均重量が減少した。

ボラシデニブに関連する肉眼所見は、300 mg/kg/dayを投与して生存していた動物で胃拡張及び濃縮胃内容物、暗赤色の盲腸内容物、胸腺萎縮及び脾臓萎縮、100 mg/kg/day群で胃の拡張、濃縮胃内容物、暗赤色及び／又は濃い白の胃内容物、盲腸／回腸／空腸の茶色い液状内容物、胸腺萎縮、脾臓萎縮及び肝葉の硬化であった。30 mg/kg/day 群ではボラシデニブに関連する肉眼所見はなかった。

顕微鏡検査は、30 mg/kg/day 及び 100 mg/kg/day を投与した動物由来の組織のみについて実施した。標的臓器は肝臓（30 mg/kg/day 以上のみ、肝細胞肥大）、前立腺（上皮萎縮）、精嚢及び中耳（急性炎症）であった。さらに、100 mg/kg/dayの投与ではその他の毒性として、腺胃、非腺胃及び十二指腸（びらん／潰瘍及び／又は急性炎症、過形成）、直腸（炎症）、脾臓（亜急性炎症、赤色髄の壊死）、肝臓（肝細胞壊死）、精巣（精細管の変性／萎縮）、胸腺／脾臓／リンパ節及びパイエル板におけるリンパ球壊死及び／又は枯渇が特定された。

結論として、雄の Sprague-Dawley ラットにボラシデニブを 100 mg/kg/day 以上の用量で 7～10 日間連続経口投与したとき（Day 6 の $AUC_{0\text{-}12hr}$ は 589000 ng.hr/mL、C_{max} は 53100 ng/mL）、MTD を超えており、死亡、重度の一般状態の所見、臨床検査値に関連した変化、並びに体重と臓器重量及び摂餌量に対する影響が生じた。30 mg/kg/day は忍容性良好で顕微鏡所見は限られていたため、この用量を MTD と判断した（Day 10 の $AUC_{0\text{-}12hr}$ は 113000 ng.hr/mL、C_{max} は 10500 ng/mL）。

3.1.3　7 日間経口投与毒性試験【AG881-N-014-R1】【2.6.7_6】

Sprague-Dawley ラットにボラシデニブを 6 日間以上連続投与した反復投与毒性試験では、50、100、200 mg/kg/day（溶媒 1：0.5% MC／1%[redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水）を 1 群あたり雌雄それぞれ 4 匹に投与し、これに追加して TK 評価を目的とした群（1 群あたり雌雄それぞれ 3 匹）に投与した。低用量の 2 つの群では一般状態の変化がみられなかったため、高用量に再度割り当て、別の溶媒（溶媒 2：ボラシデニブを 10%ビタミン E TPGS／1%[redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水）に溶解し、200 mg/kg/day 又は 400 mg/kg/day を Day 15 から投与し

た。溶媒 1 に溶解した 200 mg/kg/day を投与した動物は Day 9 まで投与を継続して Day 10 に安楽死させたが、剖検は実施しなかった。

Day 16 にすべての生存動物を安楽死させ、検査は実施しなかった。試験期間を通して死亡／瀕死状態、一般状態、体重と摂餌量、肉眼所見、及び TK パラメータを評価した。

溶媒 1：0.5% MC／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水

この溶媒に溶解したボラシデニブ 50、100、200 mg/kg/day を投与したときの忍容性は良好で、死亡や瀕死状態は生じなかった。200 mg/kg/day 群でみられたボラシデニブに関連する一般状態の所見は、皮膚緊張低下、冷たい四肢、四肢のほてり、及び種々の体表面に赤色、黄色及び茶色の物質の付着などであった。50 mg/kg/day 群又は 100 mg/kg/day 群ではボラシデニブに関連する一般状態の変化は観察されなかった。

200 mg/kg/day を投与した雌雄で、ボラシデニブ投与に関連して摂餌量が減少し、これに関連して体重も減少した。Day 10 の体重は最初の体重と比べて雄で約 3.9%、雌で 1.4%減少した。50 mg/kg/day 群又は 100 mg/kg/day 群には体重や摂餌量の変化はなかった。

0.5% MC／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水に溶解したボラシデニブは、50 mg/kg/day 及び 100 mg/kg/day で 6 日間、200 mg/kg/day で 10 日間忍容性を示した。200 mg/kg/day の投与ではボラシデニブに関連する一般状態の所見、体重減少及び摂餌量減少が生じたが、50 mg/kg/day 及び 100 mg/kg/day の投与では所見はなかった。

1000 mg/kg/day を投与したときの Day 0 の平均 C_{max} 値は雄で 2750 ng/mL、雌で 6430 ng/mL、平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値はそれぞれ 52700 ng.hr/mL と 96100 ng.hr/mL であった。他の試料については、TK 分析は実施しなかった。

溶媒 2：10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水

溶媒 2 で 200 mg/kg/day 及び 400 mg/kg/day を投与したときの忍容性は不良であった。一部の動物は瀕死状態になり安楽死させた（200 mg/kg/day を投与した雌 2 匹、400 mg/kg/day を投与した雄 3 匹と雌 4 匹を Day 15 又は Day 16 に安楽死させた）。有害作用として体重減少、一般状態の所見として活動性低下、前肢捻転、削痩、衰弱、振戦、冷たい身体、種々の表面に黄色、赤及び／又は茶色の物質の付着、及び便の減少などがみられた。

200 mg/kg/day 群及び 400 mg/kg/day 群では、ボラシデニブに関連する摂餌量が減少し、これに応じてして体重も減少した。

瀕死状態のため安楽死させた動物の剖検所見は、400 mg/kg/day 群の雌雄で副腎の暗赤色変色、腺胃部分の膨張（暗赤色領域がある場合もない場合もある）、脾臓及び／又は甲状腺の萎縮、盲腸の暗赤色領域、肝臓肥大、削痩、及び／又は膀胱中の赤い液状内容物、200 mg/kg/day 群の雌 1 匹で胃の暗赤色変色、脾臓萎縮及び腎臓萎縮であった。

ボラシデニブを 10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水の溶媒に溶解して、200 mg/kg/day 及び 400 mg/kg/day を 5 日間連続して投与したときの忍容性は不良

で、雌では 200 mg/kg/day 及び 400 mg/kg/day、雄では 400 mg/kg/day の投与で瀕死状態が発現した。これらの忍容性のない用量については、TK 分析は実施していない。

2 つの処方を同時に評価した結果、その後の GLP 毒性試験の溶媒として 10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを選択し、最高用量を 200 mg/kg/day 以下とした。

3.1.4　28 日間反復経口投与毒性試験【AG881-N-012-R1】【2.6.7_7 項】

雌雄の Sprague-Dawley ラットを用いて 28 日間反復投与毒性試験を実施した。生じた影響からの回復及びその持続性又は進行を 14 日間の回復期間後に評価した。

ボラシデニブ／[redacted]（[redacted] w/w）を溶媒（10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水）に溶解し、毒性評価を目的とした 4 群（1 群あたり雌雄それぞれ 15 匹）及び TK 評価を目的とした 4 群（溶媒群では 1 群あたり雌雄それぞれ 3 匹、投与群では 1 群あたり雌雄それぞれ 9 匹）の Sprague-Dawley ラットに 1 日 1 回最長 28 日間連続で強制経口投与した。用量は 3、10、30、100 mg/kg/day であった。同時対照群には化合物が投与された同様の溶媒を投与した。また、追加の対照群には、高用量群に投与した量と同じ量の [redacted] 添加剤を含む溶媒（API と添加剤の比は 1：1。以下、対照物質と呼ぶ）を投与した。

100 mg/kg/day を投与した毒性評価群と TK 評価群の雌で、強制投与関連の死亡が多数生じたため、生存している雌は Day 12 又は Day 13 に早期終了した。これらの雌から得たデータは死因についてのみ分析し、強制経口投与過誤が原因であることが確認された。100 mg/kg/day 毒性評価群及び TK 評価群にそれぞれ雌 15 匹と 9 匹、同時対照物質毒性評価群と TK 評価群にそれぞれ雌 15 匹と 3 匹を追加し、これらの追加した動物には 28 日間投与して試験計画書で規定した手順を実施した。28 日間の投与後、毒性評価群では雌雄それぞれ 10 匹を安楽死させて主要剖検を実施し、残りの動物は 14 日間の回復期間後に安楽死させた。TK 評価群で生存していた動物は最終採血後（Day 27 又は Day 28）に安楽死させた。

毒性は、死亡／瀕死状態、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査及び臨床検査（主要評価及び回復期間終了時の評価で血液学的検査、凝固、血液生化学検査及び尿検査）、肉眼観察、剖検時の臓器重量及び病理組織所見に基づいて評価した。Irwin 変法及び体温測定を Day 0 と Day 27 の投与前及び投与から約 4 時間後に実施した。

全群の一部の動物から、Day 0 と Day 27 の投与前及び投与から 1、2、4、8、24 時間後に TK 評価用血液試料を採取した。さらに、全脳を採取してボラシデニブ濃度を分析した。

100 mg/kg/day を投与した毒性評価群及び TK 評価群で、ボラシデニブ投与に関連した死亡／瀕死状態が生じた。これらの動物における一般状態の所見は、衰弱、冷たい身体／四肢、呼吸数減少及び排便減少、運動失調、ケージを過剰に噛む、皮膚緊張低下、削痩、腹部膨張、種々の体表面に黄色い物質及び／又は肛門生殖器に茶色い物質の付着などであった。これらの動物の死亡／瀕死状態の原因は、ボラシデニブ投与に伴う体重減少／飢餓衰弱であった。この群で腺胃／十二指腸の潰瘍と腹膜炎の発現率が高かったことは、根本的な死因は、胃及び十二指腸の病変である可能性を裏付けた。その他の所見は、肝細胞肥大、発情周期消失／雌生殖器の萎縮、中耳の好中

球浸潤、皮膚表皮過形成、及び、消耗を示す顕微鏡所見（臓器及び皮下脂肪組織の萎縮）、並びに終末期ストレス（リンパ球枯渇／リンパ系臓器の壊死、及び胸腺と脾臓の肉眼的萎縮に関連する脾臓の赤色脾萎縮、並びに骨髄低細胞性）であった。試験を早期に終了した TK 評価群 5 匹でも死亡前に同様の一般状態の所見があり、剖検時に強制投与過誤の所見はなかったため、これらの動物についても同じ結論となった。

100 mg/kg/day 群で剖検まで瀕死状態を示さず生存していた雌雄の一般状態の所見は、腹部膨満、及び泌尿生殖器周囲に黄色い物質の付着などであった。3、10、30 mg/kg/day 群ではボラシデニブに関連する一般状態の所見はなく、Irwin 変法の評価項目にも関連する影響はなかった。いずれの群でも眼科検査でボラシデニブに関連する異常はなかった。

また、100 mg/kg/day 群の雌雄では投与期間を通して、ボラシデニブに関連して摂餌量が減少して体重増加が抑制された。回復期間中は雌雄で体重増加抑制は持続したが部分的に回復し、摂餌量は全般的に対照動物とほぼ同じとなった。3、10、30 mg/kg/day 群ではボラシデニブに関連する体重又は摂餌量の変化はなかった。

血液パラメータ（Day 28）は、30 mg/kg/day 群の雄及び 100 mg/kg/day 群の雌雄でわずかに影響がみられ、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値が低下した。100 mg/kg/day 群の雌雄で網状赤血球、ヘモグロビンと赤血球分布幅［ヘモグロビン濃度分布幅（HDW）、赤血球分布幅（RDW）］がわずかに増加し、赤血球数の再生と不均一性を示した。これらの血液学的変化は胃びらんから二次的に生じた可能性があり、回復期間後も持続していた。3 mg/kg/day 群又は 10 mg/kg/day 群ではボラシデニブに関連する血液学的所見はなかった。

Day 28 には主に 100 mg/kg/day 群で血清化学パラメータの変化が観察され、ALP 低下、総ビリルビンのわずかな高値（直接ビリルビン）、及びコレステロール、GGT、総タンパク質、アルブミン、グロブリン及び尿素窒素値の増加が生じた。100 mg/kg/day 群の雌では、クロールが低下して重炭酸塩値が増加した。30 mg/kg/day の投与では、ビリルビン、ALP 及びコレステロールのみに影響があり、程度もわずかであった。いずれの変化も回復期間評価時には消失していたが、100 mg/kg/day 群の雄 1 匹で、総タンパク質、アルブミン及びグロブリン高値が持続していた。3 mg/kg/day 群又は 10 mg/kg/day 群では、血液生化学検査パラメータにボラシデニブに関連する影響はなかった。

主要剖検時の肉眼観察は、精嚢萎縮及び前立腺萎縮（それぞれ 30 mg/kg/day 以上及び 100 mg/kg/day の投与）、胃の肥厚及び暗赤色の内容物（30 mg/kg/day 群の雄 1 匹と 100 mg/kg/day 群の雌 1 匹）、肝臓肥大（100 mg/kg/day 群の雌 1 匹）及び全身の削痩（100 mg/kg/day 群の雌 1 匹）であった。さらに、100 mg/kg/day 群の雌 1 匹で胸腺と脾臓が萎縮していたが、これらの所見は顕著な体重減少／ストレスから二次的に生じたと判断した。これらの所見は回復時の剖検では回復していた。3 mg/kg/day 群又は 10 mg/kg/day 群では肉眼所見はなかった。

主要剖検時のボラシデニブに関連する臓器重量の変化は以下のとおりである：肝臓重量増加（10 mg/kg/day 以上を投与した雄、3 mg/kg/day 以上を投与した雌）、腎臓重量減少（10 mg/kg/day 以上を投与した雄、100 mg/kg/day を投与した雌）、下垂体重量低下（100 mg/kg/day を投与した雌雄）及び脾臓重量低下（100 mg/kg/day を投与した雌）、並びに生殖器に対する影響

（100 mg/kg/day を投与した雄で精巣上体、精嚢／前立腺及び精巣重量の低下、雌で卵巣／卵管及び子宮重量の低下）。回復期間終了時の剖検では臓器重量の変化は持続していたが、精嚢／前立腺（30 mg/kg/day 以上を投与した雄）、肝臓（100 mg/kg/day の投与）、精巣上体と腎臓（100 mg/kg/day の投与）、及び下垂体、卵巣／卵管と子宮（100 mg/kg/day の投与）は部分的に回復した。

ボラシデニブに関連する顕微鏡所見は以下のとおりである：

- 腺胃（びらん、粘膜下浮腫）及び非腺胃（10 mg/kg/day 以上及び 30 mg/kg/day の投与で潰瘍、びらん及び／又は扁平上皮の変性、並びに過形成の発現率増加、100 mg/kg/day の投与で亜急性炎症の発現率増加）、3 mg/kg/day の投与で雌 1 匹のみにわずかな非腺胃のびらんがみられた。
- 十二指腸（30 mg/kg/day 以上の投与で好中球浸潤、100 mg/kg/day の投与でびらん及び粘膜過形成）
- 耳（3 mg/kg/day 以上の投与でわずかから軽度の好中球浸潤）
- 肝臓（10 mg/kg/day 以上の投与で肝細胞肥大）
- 皮膚（100 mg/kg/day の投与で表皮過形成及び皮脂腺肥大）
- 雄の生殖器（100 mg/kg/day の投与で精巣の精細管変性及び精巣上体の内腔細胞残屑、30 mg/kg/day 以上の投与で前立腺の上皮萎縮、10 mg/kg/day 以上の投与で精嚢の上皮萎縮）
- 雌の生殖器（発情周期消失、卵巣内黄体減少、子宮、子宮頸部及び膣の萎縮、子宮頸部及び膣の粘液分泌）。

ストレス／飢餓衰弱及び体重減少に対して二次的に生じたと考えられる顕微鏡所見は次のとおりである：100 mg/kg/day 群で脾臓中のリンパ球壊死及び／又は枯渇、パイエル板、胸腺及びリンパ節中の壊死及び／又は枯渇、脾臓の赤色髄萎縮、骨髄低細胞性、及び下垂体萎縮。

14 日間の回復期間終了後にみられたボラシデニブに関連する顕微鏡所見は、わずかな小葉中心性肝細胞肥大の発現（低発現率）、腺胃のわずかな混合細胞炎症（非常に低い発現率）、及び十二指腸のわずかな粘膜過形成と好中球浸潤であった。3 mg/kg/day 群と 10 mg/kg/day 群では、14 日間の回復期間終了後に残存した顕微鏡所見はなかった。

TK の結果を表 3:1 に一覧で示す。ボラシデニブは経口投与後に吸収され、T_{max} は 1～24 時間の範囲であった。血漿中曝露量に明らかな性差はなかった。全体として血漿中曝露量の増加は用量比を下回り、用量が 33 倍になっても曝露量は約 20 倍であった。ボラシデニブは反復投与後には明らかに蓄積し、種々の投与群で Day 27 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ は Day 0 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ の 3～5 倍であった。半減期は 16～68 時間であり、このパラメータを算出する上で十分な測定ポイントが確保されていた。

ボラシデニブ投与群では Day 28 に採取したすべての脳試料でボラシデニブが検出され、3、10、30、100 mg/kg/day の反復投与後の平均濃度は 1090、3590、7470、30000 ng/g であった。Day 27 の投与から 24 時間後に血漿試料を採取した動物（1 群あたり雌雄それぞれ 3 匹）の平均脳内濃度は 3、10、30、100 mg/kg/day の反復投与でそれぞれ 912、2880、5930、19300 ng/g であり、Day 27 の

24 時間後血漿中濃度（平均で 796、2920、6480、19800 ng/mL）の 1.13 倍、0.969 倍、0.935 倍、及び 0.965 倍であった。

また、対照動物でも、非常に低い濃度のボラシデニブ（0.392～7.36 ng/g）が血漿中ではなく脳試料で検出された。この理由は不明であるが、血漿中では検出されなかったため、TK データの解釈に影響はない。

表 3:1　ラットに 28 日間経口投与した後のボラシデニブのトキシコキネティクスパラメータ

Daily Dose (mg/kg)	**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	M:9	F:9	M:9	F:9	M:9	F:9	M:9	F:9/9 [a]
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng.hr/mL)								
Day 0	5910	6900	21900	24400	67500	71200	119000	129000
Day 27	23400	23900	84800	83900	195000	195000	566000	527000
C_{max} (ng/mL)								
Day 0	439	479	1620	1650	3430	3500	6850	6020
Day 27	1360	1330	4400	4900	9930	10100	25800	24700
T_{max} (hr)								
Day 0	2.0	1.0	1.0	1.0	2.0	8.0	4.0	24.0
Day 27	1.0	1.0	1.0	1.0	2.0	2.0	2.0	1.0

[a] *Due to a large number of gavage error-related deaths in the 100 mg/kg/day toxicology and toxicokinetic group females, all surviving animals were terminated early, and additional females were added to the vehicle +* [redacted] *and 100 mg/kg/day toxicology and toxicokinetic groups. Data from the original females are not presented.*

結論として、100 mg/kg/day を 1 日 1 回 28 日間投与すると、約 10%の動物が早期死亡／瀕死状態となり、この用量が STD_{10} と同定された。死亡／瀕死状態の原因は、体重減少／飢餓衰弱と考えられた。これは腺胃及び十二指腸の潰瘍及び腹膜炎の発現率が高かったためである。血液学的検査パラメータの軽度の変化は胃腸のびらんと一致していた。

30 mg/kg/day の用量は忍容性良好であった。ボラシデニブに関連する組織学的な影響は 100 mg/kg/day を投与した動物と同じ標的臓器で観察された。14 日間の回復期間終了後、ほとんどの所見は部分的又は完全に可逆的であった。

10 mg/kg/day の用量は忍容性が非常に良好で、中耳、非腺胃及び精嚢に可逆的な病理組織所見が生じた。

3 mg/kg/day の用量は忍容性が非常に良好で、中耳に可逆的な病理組織所見がみられたのみであった。

3.1.5　13 週間反復経口投与毒性試験【AG881-N-056】【2.6.7_7】

雌雄の Sprague-Dawley ラットにボラシデニブを投与した 13 週間反復投与毒性試験を実施した。

ボラシデニブ／[redacted]（[redacted]w:w）を溶媒［10%（w/v）TPGS／1%（w/v）[redacted]-Mid fine／0.1%（v/v）シメチコンを含む超純水（UPW）］に溶解し、1 日 1 回強制経口投与した。用量は 5、15、50 mg/kg/day であった（毒性評価群は 1 群あたり雌雄それぞれ 15 匹、TK 評価群は 1 群あたり雌雄それぞれ 9 匹）。回復期間評価群には 1 群あたり雌雄それぞれ 5 匹を追加し、安楽死は最終投与から 4 週間後の予定とした。

この試験で評価したパラメータと評価項目は以下のとおりである：死亡／瀕死状態、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床検査パラメータ（血液学的検査、凝固、血液生化学検査及び尿検査）、TK パラメータ、臓器重量、肉眼的及び顕微鏡的検査。死亡動物と瀕死状態で安楽死させた動物を含むすべての動物で剖検を実施し、予定された剖検で一部の臓器の重量を測定した。一部の動物で Day 1 と Day 91 の投与前及び投与から 1、2、4、8、24 時間後に TK 評価用の血液試料を採取した。

Day 49～90 に 50 mg/kg/day を投与した 9 匹でボラシデニブ投与により有害な一般状態の所見が生じて状態悪化が継続したため、早期に試験を終了した。死亡前に観察された一般状態は削痩、皮膚の所見（汚れ、顕著な青白さ）、呼吸（呼吸数増加、浅い呼吸）、筋緊張低下、わずかから重度の後肢使用制限、円背位、わずかから重度の脱水の疑い、及び活動性低下などに関連していたが、これらに限定されなかった。瀕死状態の原因は特定できなかったが、体重減少、骨格筋萎縮及び／又は腎尿細管変性（雌）などのボラシデニブに関連する所見全体が状態悪化に寄与したと考えられた。最終安楽死動物でボラシデニブに関連する可逆的な一般状態は、異常な呼吸数及び浅い呼吸（5 mg/kg/day 以上を投与した雌及び 50 mg/kg/day を投与した雄）、わずかから重度の脱水の疑い、流延、異常歩行、尻尾を上げない（雄のみ）、及び後肢使用制限（50 mg/kg/day を投与した雌雄）であった。最終安楽死動物でみられたが 4 週間の回復期間終了時には部分的に可逆的であった一般状態は、後肢の筋緊張低下及び背骨の突出（15 mg/kg/day 以上を投与した雌及び 50 mg/kg/day を投与した雄）、円背位（50 mg/kg/day を投与した雌雄）であり、雄のみで完全に可逆的であった。50 mg/kg/day を投与した雌雄でみられた削痩は可逆的ではなかった。

体重に対して用量に関連した影響が、15 mg/kg/day 以上を投与した雄及び 50 mg/kg/day を投与した雌で観察された。回復期間終了時には 15 mg/kg/day の投与では平均体重は完全に回復したが、50 mg/kg/day の投与では雌雄とも回復しなかった。体重減少は 15 mg/kg/day 以上を投与した雄で摂餌量減少と相関していた。

眼科検査ではボラシデニブに関連する異常はなかった。

血液学的検査では、50 mg/kg/day を投与した雄で好中球数がわずかに減少し、15 mg/kg/day を投与した雄及び 50 mg/kg/day を投与した雌雄で 4 週間の回復期間終了後にも好中球数がわずかに減少していた。リンパ球数はわずかかつ可逆的に増加し（15 mg/kg/day 以上を投与した雄及び 5 mg/kg/day 以上を投与した雌）、まれに総白血球数に反映され、炎症が示唆された。これに相関して同じ群の組織学的所見として複数の臓器に炎症性細胞浸潤がみられた。可逆的でわずかな RBC パラメータ値の低下（RBC 数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）が 15 mg/kg/day 以上を投与した雌雄で観察され、これに伴ってわずかに RBC 分布幅が増加した（50 mg/kg/day を投与した雌雄）。

血液生化学検査値の変化は、ALP のわずかな減少（15 mg/kg/day 以上を投与した雄、50 mg/kg/day を投与した雌）、及びトリグリセリド濃度の軽度から顕著な低下（5 mg/kg/day 以上を投与した雌雄）であった。回復期間終了時には、5 mg/kg/day 以上を投与した雄で ALP 減少がみられ、トリグリセリド濃度は完全に可逆的であった。ALP とトリグリセリドの減少は、摂餌量減少と関連があったと考えられる。総ビリルビン濃度が可逆的かつ軽度から中等度に増加し

（50 mg/kg/dayを投与した雌雄）、これに相関して血清に黄疸所見がある動物数が増加した。この所見に関連した肝臓の組織学的所見はなく、ビリルビン増加の根本的な原因は決定できなかった。尿素濃度及びクレアチニン濃度がわずかに低下し（50 mg/kg/day を投与した雄及び 15 mg/kg/day 又は 50 mg/kg/day を投与した雌）、雄では 4 週間の回復期間後にも残存していた。これらの変化は、影響のあった群における摂餌量減少及び／又は組織学的所見としてみられた骨格筋萎縮と関連があると考えられた。

15 mg/kg/day以上を投与した雄でグルコース濃度がわずかに低下し、この所見は5 mg/kg/day以上を投与した雄で 4 週間の回復期間終了時にもみられた。15 mg/kg/day 以上を投与した雌でグロブリンがわずかに増加したが可逆的であった。血清リン濃度が 50 mg/kg/day を投与した雌でわずかに増加した。

尿検査所見は、尿量の軽度から中等度の増加（15 mg/kg/day以上を投与した雌雄）、ナトリウムとカルシウムの排泄分画のわずかな増加（50 mg/kg/dayを投与した雌雄）、クロールのわずかな増加（50 mg/kg/dayを投与した雄及び15 mg/kg/day以上を投与した雌）、及びカリウムのわずかな増加（50 mg/kg/dayを投与した雄及び5 mg/kg/day以上を投与した雌）であった。回復期間終了後の所見は、血清リン濃度の増加（15 mg/kg/day 以上を投与した雄及び 5 mg/kg/day 以上を投与した雌）、尿量の増加、クロール排泄分画のわずかな増加（雌）及びカリウム排泄分画のわずかな増加（雄）であった。これらの変化は、臨床的な脱水及び腎臓に対する影響と相関していた。

ボラシデニブに関連する顕微鏡所見は以下のとおりである：

- 骨格筋（神経原性萎縮）が、すべての用量でみられたが、5 mg/kg/day の投与ではグレードが非常に低く、相関する一般状態の所見はなかった。15 mg/kg/day の投与では対応する肉眼所見（骨格筋萎縮）と一般状態の変化が観察された。
- 肝臓（肝細胞肥大が15 mg/kg/day以上を投与した雄及びすべての用量で雌、5 mg/kg/day以上の投与で門脈周囲／中間帯の肝細胞空胞形成）。肝酵素値の増加はなかった。
- 腎臓（5 mg/kg/day 以上の投与でわずかの尿細管変性、すべての用量で尿細管上皮に茶色の色素、15 mg/kg/day以上の投与で腎盂上皮の混合細胞浸潤）
- 膀胱（50 mg/kg/dayを投与した雌で混合細胞の炎症性浸潤）
- 雌雄の生殖器（すべての用量で精巣の精細管変性／萎縮、及び前立腺及び精嚢の萎縮、15 mg/kg/day 以上の投与で精巣上体の内腔細胞残屑。すべての用量で発情周期の変化とこれに関連する子宮上皮肥大及び子宮頸部と膣の上皮過形成、50 mg/kg/day の投与で子宮の扁平上皮化生及び周期外の膣粘液分泌増加が確認され、すべての用量で黄体数減少及び／又は大型閉鎖卵胞の増加、卵巣の間質細胞の空胞化）
- 乳腺（15 mg/kg/day以上を投与した雄で萎縮）
- 皮膚（50 mg/kg/dayの投与で表皮過形成）

ボラシデニブに関連する可能性のある所見は、50 mg/kg/day を投与した動物 1 匹で胃（びらん／潰瘍）及び心臓（空胞化、冠動脈の変性／壊死）にみられた。4 週間の回復期間終了時に、ボラシデニブに関連する顕微鏡所見が腎臓、肝臓、骨格筋（中用量群及び高用量群のみ）、雌雄の

生殖器及び乳腺に観察された。腎尿細管変性と腎臓の茶色い色素、及び精細管の変性は可逆的ではなかった。小葉中心性肝細胞肥大、骨格筋萎縮、前立腺と乳腺の萎縮、生殖器に対する影響（精巣及び精巣上体、並びに持続的発情を示唆する卵巣、膣又は子宮の変化）は部分的に可逆的であった。門脈周囲／中間帯の肝細胞空胞形成と皮膚表皮過形成は完全に可逆的であった。

TK の結果を表 3:2 に示す。ボラシデニブの T_{max} は投与から 1～8 時間後であり、用量増加に伴い遅延する傾向を示した。曝露量は、雄では Day 1 には 5～50 mg/kg の間で用量比に応じて増加し、Day 91 の増加は用量比を下回った。91 日間の投与後のボラシデニブ曝露量は、Day 1 に比べて雌雄で増加していた。Day 1 も Day 91 も曝露量は雌雄でほぼ同じであった。Day 91 の曝露量は Day 1 の曝露量に比べて雌雄で増加したが、用量増加に伴い減少する傾向があった。$AUC_{0\text{-}24hr}$ の蓄積比は雄で 5.19、雌で 3.39 であった。脳内濃度と血漿中濃度を比較すると血漿中のほうが脳中よりも濃度が高く、脳内濃度と血漿中濃度の比は 0.431～1.12 の範囲であった。

表 3:2　Sprague-Dawley ラットに 13 週間経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ

Daily Dose (mg/kg)	**5**		**15**		**50**	
Sex: Number of Animals	M:9	F:9	M:9	F:9	M:9	F:9
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng.hr/mL)						
Day 1	10300	11800	30700	36700	99700	108000
Day 91	87900	77200	214000	228000	518000	480000
C_{max} (ng/mL)						
Day 1	709	790	2120	2410	4320	4930
Day 91	4620	4330	10800	11900	24600	25400
T_{max} (hr)						
Day 1	1.0	1.0	2.0	2.0	8.0	8.0
Day 91	1.0	1.0	2.0	2.0	1.0	4.0

結論として、ボラシデニブ 50 mg/kg/day の 1 日 1 回 91 日間強制経口投与は忍容性がなく、試験期間内に死亡が生じた。ボラシデニブに関連して体重減少、骨格筋萎縮及び／又は尿細管変性が生じ、これらが状態の悪化に寄与したと考えられる。この用量の $AUC_{0\text{-}24hr}$ はヒトに 50 mg を反復投与したときの定常状態の平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値の約 158 倍である。最大耐用量は 15 mg/kg/day であり、動物とヒトの曝露比は 70 倍であった。この用量では肝臓、腎臓、骨格筋及び雌雄の生殖器に影響がみられた。すべての用量でボラシデニブに関連する所見があったため、NOEL は特定できなかった。5 mg/kg/day は忍容性良好で、同様の所見があったが発現率も重症度も低く、この用量では動物とヒトの曝露比は 26 倍である。

3.2　サル

3.2.1　1 日 1 回 7 日間経口投与用量範囲設定試験【AG881-N-010-R1】【2.6.7_6】

雄のカニクイザルを用いて 7 日間反復投与試験を実施し、ボラシデニブの忍容性及び TK プロファイルを評価した。

ボラシデニブ／[redacted]（[redacted]w/w）を溶媒（0.5%メチルセルロース及び1%[redacted]を含む脱イオン水）に溶解し、1 日 1 回連日最長 10 日間にわたり 4 群（1 群あたり雄 3 匹）に経鼻胃管で投与した。試験に使用した用量は 1、10、50、100 mg/kg/day であった。100 mg/kg/day 群で明らかな毒性の徴候と瀕死状態が生じたため、生存していた 2 匹を予定より早い剖検を行い、Day 6 に安楽死させた。1、10、50 mg/kg/day 群の動物は Day 7 又は Day 10 に安楽死させた。

試験期間を通して評価したパラメータは、死亡／瀕死状態、一般状態、体重、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固、血液生化学検査及び尿検査）、眼科検査、臓器重量、肉眼及び顕微鏡検査、並びに TK であった。

1、10、50 mg/kg/day の用量で投与した動物、及び 100 mg/kg/day を投与して生存していた動物では、肉眼所見、体重、尿検査及び眼科所見にボラシデニブによる影響はなかった。

Day 4 に、100 mg/kg/day 群の動物 1 匹を瀕死状態のため安楽死させた。この動物の所見は、運動失調、わずかから重度の振戦、眼球振盪、瞳孔の異常な拡大、顔領域の赤み及び食欲不振で、体重は Day 0 から Day 3 の間に 5.8%減少した。この動物に顕微鏡観察は実施しなかった（他の動物では内耳／中耳を顕微鏡観察したが、この動物では実施しなかった）。他の動物はすべて予定された剖検時まで生存していた。

Day 6 に予定よりも早い剖検が実施された動物では、生存中 100 mg/kg/day 群でみられたボラシデニブに関連する一般状態の所見は、運動失調、わずかから重度の振戦及び食欲不振であった。50 mg/kg/day 群でみられた一般状態の所見はわずかな振戦のみであり、1 mg/kg/day 群及び 10 mg/kg/day 群ではボラシデニブに関連する一般状態の所見はなかった。予備的に安楽死させた 100 mg/kg/day 群の動物を除いては、いずれの群でも体重に対してボラシデニブに関連する影響はなかった。

予定された剖検時に 10、50、100 mg/kg/day 群では 1 mg/kg/day 群に比べ、網状赤血球絶対数がわずかに減少し、また 50 mg/kg/day 群及び 100 mg/kg/day 群ではリンパ球数が減少した（ストレスによる）。1 mg/kg/day 群では、ボラシデニブに関連する血液学的異常はなかった。

予定された剖検時に、50 mg/kg/day 群及び 100 mg/kg/day 群では ALT 値及び GGT 値の増加、100 mg/kg/群では総ビリルビン、AST 値及び SDH 値の増加が観察された。また、この用量では平均カリウム値が低下、平均グルコース値が増加し、これらはそれぞれ、摂餌量減少／胃腸喪失及びストレスの可能性がある。1 mg/kg/day 群及び 10 mg/kg/day 群では臨床化学検査値に異常はなかった。

10、50、100 mg/kg/day 群での肝臓重量増加は肝細胞肥大と相関しており、100 mg/kg/day 群のみでサル 1 匹にまれに単一細胞壊死がみられた。1 mg/kg/day 群の動物ではボラシデニブに関連する臓器重量の変化はなかった。ボラシデニブに関連する眼球振盪、運動失調、振戦及び瞳孔の異常な拡大の一般状態に関連する脳又は内耳／中耳の顕微鏡的変化はなかった。

結論として、雄のカニクイザルに 100 mg/kg/day を 1 日 1 回、4～6 日間連続投与したとき忍容性はなく、瀕死状態が生じ、一般状態ではわずかから重度の振戦、運動失調、眼球振盪、瞳孔の異常な拡大、顔領域の赤み、食欲不振及び体重減少がみられた。50 mg/kg/day の投与は 10 日間の

投与期間中忍容性があり、一般状態の所見はごくわずかな振戦のみであった（Day 9 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 128000 ng.hr/mL、C_{max} は 6920 ng/mL）。

3.2.2　28 日間反復経口投与毒性試験【AG881-N-013-R1】【2.6.7_7】

雌雄のカニクイザルを用いて GLP 準拠 28 日間反復経口投与毒性試験を実施し、ボラシデニブの潜在的な毒性と TK プロファイルを評価した。回復期間は 14 日と設定した。

ボラシデニブ／[redacted]（[redacted] w/w）を溶媒（10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水）に溶解し、1 日 1 回、最長連続 29 日間にわたり経鼻胃管で投与した。試験に使用した用量は 3、10、40 mg/kg/day であった（雌雄それぞれ 5 匹）。同時対照群には溶媒を投与した。さらに、2 番目の溶媒群には高用量群に投与した量と同じ量の [redacted] 添加剤を含む溶媒（API と添加剤の比は [redacted]。以下、対照物質と呼ぶ）を投与した。

40 mg/kg/day 群の雌 1 匹で過剰な毒性の徴候がみられたため Day 14 を最終投与とし、Day 15 から回復期間に移行した。40 mg/kg/day 群で生存していた他の雌雄には Day 27 まで投与を継続し、回復期間を設けずに Day 28 に安楽死させて主要剖検を実施した。投与期間終了時に、対照群及び 3 mg/kg/day 群又は 10 mg/kg/day 群から 1 群あたり雌雄それぞれ 3 匹を安楽死させ、雌雄それぞれ 2 匹を回復期間に移行した。

毒性は、死亡／瀕死状態、一般状態、体重、臨床検査（血液学的検査、凝固、血液生化学検査及び尿検査）に基づいて評価した。眼科検査及び ECG 記録（心拍数、伝導時間及び律動の分析）を実施した。早期に死亡した動物及び剖検予定のすべての動物に剖検を実施し、一部の臓器の重量を測り、組織を採取して顕微鏡で観察した。

TK 評価用血液試料は、すべての動物から投与前及び Day 0、Day 14 及び Day 27 に採取した。さらに、瀕死状態のために安楽死させた動物及び予定された剖検時に剖検したすべての動物から脳試料を採取し、ボラシデニブ濃度を定量した。

10 mg/kg/day を投与した雌 1 匹は Day 27 に死亡した状態で発見された。一般状態の観察、肉眼観察及び顕微鏡観察に基づくと、死因は挿管エラーの可能性がありボラシデニブとは関連がないと判断された。

40 mg/kg/day 群で雌 1 匹を Day 14、雄 2 匹を Day 12 に瀕死状態のため安楽死させた。安楽死時のこれらの動物の一般状態の所見は、振戦（雄）、運動失調、皮膚緊張低下、平衡感覚障害、頭部傾斜、食欲不振、種々の体表面の発赤部位、及び肛門生殖器に茶色い物質の付着などであった。ボラシデニブに関連する病理組織所見は中等度の肝細胞肥大、わずかから軽度の骨髄枯渇又は壊死、軽度から中等度の胸腺リンパ球枯渇及び副腎皮質束状帯空胞化の中等度の減少であった。これらの早期の死亡はボラシデニブ投与によるものであった。

40 mg/kg/day 群のもう 1 匹の雌は Day 14 に投与を終了し、Day 15 に 14 日間の回復期間に移行した。この動物では Day 7 という早期からわずかから中等度の振戦がみられ、振戦は Day 14 まで次第に悪化した。投与終了時にこの動物でみられた関連する一般状態の所見は、種々の体表面で発赤部位と表皮剥離、及び肛門生殖器領域に茶色い物質の付着であった。いずれの一般状態の所

見も 14 日間の回復期間中に回復した。40 mg/kg/day 群で残っていた他の 6 匹は投与を完了し、予定された最終剖検時まで生存していた。

これらの動物でみられたボラシデニブに関連する一般状態の所見は、わずかから重度の振戦、運動失調、平衡感覚障害、皮膚緊張低下、種々の体表面で発赤部位及び表皮剥離、並びに削痩であった。3 mg/kg/day 群又は 10 mg/kg/day 群にボラシデニブに関連する一般状態の所見はなかった。累積的な体重増加抑制及び体重減少は 40 mg/kg/day 群の雌雄のみに観察された。眼科検査ではボラシデニブに関連する異常はなく、心電図（ECG）評価でもボラシデニブに関連する影響はなかった。40 mg/kg/day 群の雄 1 匹で Day 27 に心拍数で補正した QT 間隔の延長（QTc、+32 msec）がみられ、ボラシデニブに関連する可能性があった。この所見は単発的で程度も低く、忍容性が乏しい用量で発現したため、生理学的には関連がないと判断された。

Day 28/29 に、40 mg/kg/day を投与した雌で網状赤血球絶対数が減少した。この群では、Day 42/43 の回復期間のデータはなかった。3 mg/kg/day 群及び 10 mg/kg/day 群では血液学的検査パラメータ及び凝固パラメータにボラシデニブに関連する影響はなかった。

10 mg/kg/day 群及び 40 mg/kg/day 群では、ボラシデニブに関連する影響が血液生化学検査パラメータでみられた。Day 28/29 に、平均 GGT、ALT 及び SDH 活性（10 mg/kg/day 及び 40 mg/kg/day の投与）並びに平均トリグリセリド（40 mg/kg/day の投与）がいずれも増加した。40 mg/kg/day 群でも Day 15 に同じパラメータが増加した（Day 15 に評価した群はこの群のみ）。GGT 値の増加は、10 mg/kg/day 群では回復期間終了時、40 mg/kg/day 群では回復期間に移行した雌で持続又は部分的に持続していた。3 mg/kg/day 群では血液生化学検査パラメータにボラシデニブに関連する影響はなかった。

尿検査パラメータではボラシデニブに関連する影響はなかった。主要剖検時にボラシデニブに関連する肉眼所見はなかった。回復期間終了時の剖検での肉眼所見は、40 mg/kg/day 群の雌でみられた胸腺萎縮及び胸腺重量減少のみであった。

主要剖検時にボラシデニブに関連する肝臓重量増加（10 mg/kg/day 以上の投与）と胸腺重量減少（40 mg/kg/day の投与）が観察された。

Day 28/29 の主要剖検時の顕微鏡所見に基づき、標的臓器は以下のとおりである：
- 肝臓（10 mg/kg/day 及び 40 mg/kg/day の投与でわずかから軽度の肝細胞肥大）
- 骨髄（40 mg/kg/day を投与した雌 1 匹で枯渇）
- 胸腺（40 mg/kg/day の投与でリンパ系枯渇）
- 副腎皮質（10 mg/kg/day 及び 40 mg/kg/day の投与で束状帯の空胞化減少）

回復期間終了時剖検でみられたボラシデニブに関連する顕微鏡所見は、40 mg/kg/day を投与した回復期間評価群の雌で、胸腺リンパ球の中等度の枯渇（胸腺重量減少と相関）及び副腎皮質束状帯空胞化の軽度減少であった。

TK の結果を表 3:3 に一覧で示す。性差はなかった。ボラシデニブは経口投与後に吸収され、各個体の T_{max} 値は 1～24 時間の範囲であった。いずれの用量を投与した雌雄でも $AUC_{0\text{-}24hr}$ は用量比に応じて増加した。1 日 1 回の経口投与で血漿中にボラシデニブが蓄積した。14 日間の回復期間

終了後の剖検時及び瀕死状態のため安楽死させた動物から得た脳試料で、定量可能な濃度のボラシデニブが観察された（血漿中濃度に対しそれぞれ 1.3～2.4 倍、1.5～2.0 倍）。

表 3:3　カニクイザルに 28 日間経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ

Daily Dose (mg/kg)	**3**		**10**		**40**	
Sex: Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng.hr/mL)						
Day 0	4830	3370	12400	12700	50000	50700
Day 27	11400	7290	34600	43900	96300	87000
C_{max} (ng/mL)						
Day 0	599	468	1520	1260	2910	2820
Day 27	975	652	2580	3550	13400	12100
T_{max} (hr)						
Day 0	1.0	1.0	1.0	1.0	6.2	2.8
Day 27	1.8	1.4	1.6	1.0	4.0	4.0

結論として、カニクイザルにボラシデニブ 40 mg/kg/day を 1 日 1 回 28 日間投与すると明らかな一般状態の変化（振戦、運動失調、平衡感覚障害、頭部傾斜）がみられ、一部の動物は安楽死が必要となり、この用量は HNSTD を超えていた。15 日間投与後に回復期間に移行した雌 1 匹では、一般状態の変化が可逆的であった。10 mg/kg/day は忍容性が良好で、ボラシデニブに関連する影響は軽度の肝細胞肥大（肝臓重量増加と血清生化学検査パラメータ値増加と相関）及び副腎皮質空胞化の軽度の減少であった。この用量とヒトに 50 mg を投与したときの曝露量を比較すると、安全マージンは 12 である。

ほとんどの所見は 14 日間の回復期間中に部分的又は完全に可逆的であった。ボラシデニブの HNSTD は 10 mg/kg/day である。3 mg/kg/day の忍容性は良好で、安全マージンは 2 であり、ボラシデニブに関連する影響はなかった。

3.2.3　13 週間反復経口投与毒性試験【AG881-N-057】【2.6.7_7】

雌雄のカニクイザルを用いて 13 週間反復投与毒性試験を実施した。回復期間は 4 週間とした。

ボラシデニブ／[redacted]（[redacted] w/w）を溶媒（10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水）に溶解し、1 日 1 回強制経口投与した。試験に使用した用量は 2、6、20 mg/kg/day（1 群あたり雌雄それぞれ 4 匹）であった。回復期間評価用の動物として 1 群あたり雌雄 2 匹ずつを追加し、これらの動物は最終投与から 4 週間後に安楽死させる予定とした。試験の溶媒対照群には、高用量群に投与した量と同じ量の [redacted] 添加剤を含む溶媒を同様のレジメンで投与した。

毒性は、死亡／瀕死状態、一般状態、体重、摂餌量、臨床検査（血液学的検査、凝固、血液生化学検査及び尿検査）、眼科検査、剖検時肉眼所見、臓器重量、及び病理組織所見に基づいて評価した。眼科検査及び ECG 記録（心拍数、伝導時間及び律動の分析）を実施した。死亡した状態で発見された動物、瀕死状態のため安楽死させた動物、及び予定された剖検を実施した動物に

剖検を実施し、一部の臓器の重量を測り、組織を採取して顕微鏡で観察した。TK 評価用血液試料は、すべての動物から投与前及び Day 1 と Day 91 の投与から約 1、2、4、8、24 時間後に採取した。

20 mg/kg/day を投与した雄 1 匹で拡張型心筋症及び二次的なうっ血性心不全に関連する一般状態の悪化が生じ、Day 51 に早期に安楽死させた。ボラシデニブとの因果関係は不明であるが、否定はできない。この動物では予定外の安楽死前の血漿中ボラシデニブ濃度は 24800 ng/mL であった。20 mg/kg/day を投与して予定された安楽死まで生存していた動物では、Day 91 の平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 208000 ng.hr/mL であった（ヒトにおける値の 66 倍）。

予定された安楽死まで生存していた動物では、生存中の観察／検査（体重、摂餌量の質的変化、眼科検査及び ECG）のいずれにもボラシデニブに関連する一般状態又は変化はなかった。

2 mg/kg/day の用量ではボラシデニブに関連する臨床検査値の変化はなかった。ボラシデニブに関連する血液学的検査パラメータの変化として、Day 59/60（雌雄）及び Day 85 に 20 mg/kg/day 群で RBC 量のわずかな低下などがみられたが、網状赤血球には顕著な変化はなく、同時に血小板が軽度に増加しため、RBC 量の減少の結果と考えられた。凝固パラメータの変化としては、Day 59/60 及び Day 85 に 6 mg/kg/day 以上の投与でフィブリノーゲンが軽度に減少したのみであった。6 mg/kg/day 以上の投与で ALT のわずかから中等度の増加、20 mg/kg/day を投与した雌で AST のわずかな増加、及び 6 mg/kg/day 以上の投与で GGT のわずかな増加が、いずれもすべての時点でみられた。これらに相関する病理組織所見は、肝細胞肥大と肝臓重量の増加であった。20 mg/kg/day の投与でみられたその他の所見は、ALP 値のわずかな減少（Day 59/60 と Day 85）、血清トリグリセリド値の軽度から中等度の増加（すべての時点）、及び血清中グロブリン濃度のわずかから軽度の上昇（すべての時点）であった。

いずれの用量でも、尿検査パラメータにボラシデニブに関連する変化はなかった。予定された剖検まで生存していた動物に肉眼的所見はなかった。6 mg/kg/day 以上を投与した動物で最終安楽死時に肝臓重量が増加していたが、回復期間終了時には完全又は部分的に（20 mg/kg/day の投与）回復した。

最終安楽死時の顕微鏡所見は肝臓のみであり、6 mg/kg/day 以上を投与した動物で肝細胞肥大（可逆的）、混合細胞浸潤の増加（可逆的）、及びクッパー細胞過形成がみられたが、肝細胞肥大と混合細胞浸潤は回復した。

TK の結果を表 3:4 に示す。ボラシデニブの T_{max} は、Day 1 には投与から 1～2 時間後、Day 91 には投与から 1～8 時間後であった。$AUC_{0\text{-}24hr}$ に基づいたボラシデニブ曝露量は、Day 1 には用量比に応じて増加した。Day 91 に雌雄の曝露量の増加は全般的に用量比を上回った。ただし、2～6 mg/kg/day を投与した雌では用量比例的であった。ボラシデニブ 20 mg/kg/day を投与すると雌雄とも顕著に蓄積した（平均蓄積比はそれぞれ 4.89 と 4.53）。Day 1 と Day 91 の曝露量は雌雄でほぼ同じであった。予定された剖検時（Day 92）に採取した脳試料では 2 mg/kg/day を除いたすべての用量でボラシデニブ濃度が定量可能であり、回復期間終了時には 2 mg/kg/day を投与した雄 1 匹を除いていずれも定量できなかった。Day 92 の脳内濃度は用量が高ければ高く、雌雄でほぼ同じ

であった。脳内濃度と血漿中濃度の比は、曝露量が血漿と脳でほぼ同じ（2 倍）であることを示し、各固体の脳内濃度と血漿中濃度の比は 0.711～2.12 の間であった。

表 3:4　カニクイザルに 13 週間経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ

Daily Dose (mg/kg)	**2**		**6**		**20**	
Sex: Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng.hr/mL)						
Day 1	3530	3850	14600	11800	44800	48400
Day 91	5240	8340	26400	26600	192000	221000
C_{max} (ng/mL)						
Day 1	419	419	1370	1180	3500	3580
Day 91	457	624	1800	1930	13500	13300
T_{max} (hr)						
Day 1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.5
Day 91	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

結論として、ボラシデニブ 2、6、20 mg/kg/day をカニクイザルに 1 日 1 回、13 週間にわたり強制経口投与した。20 mg/kg/day を投与した雄 1 匹は、拡張型心筋症と二次性うっ血性心不全で一般状態が悪化したため、Day 51 に早期安楽死させた。この事象とボラシデニブの因果関係は否定できない。6 mg/kg/day の投与で肝臓重量増加とこれに相関した顕微鏡所見（肝細胞肥大、混合細胞浸潤及びクッパー細胞過形成）が生じたが、完全又は部分的に回復した。臨床検査パラメータの主な変化のうち、病理組織所見と関連性が認められたのは、肝細胞肥大に関連する肝酵素値の変化のみであった。これらの結果に基づき、MTD は 6 mg/kg/day と判断した（雌雄を合わせた Day 91 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 26500 ng.hr/mL で、ヒトに 50 mg を投与したときの安全マージンは 8 である）。最低用量の 2 mg/kg/day が NOEL と考えられ、この用量の投与で雌雄を合わせた Day 91 の C_{max} は 541 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24hr}$ は 6790 ng.hr/mL であった。この用量での $AUC_{0\text{-}24hr}$ は、ヒトに 50 mg を反復投与したときの約 2 倍である。

4.　遺伝毒性試験

4.1　*In vitro* 遺伝毒性試験

4.1.1　AGI-23088 に関する細菌を用いる復帰突然変異試験【AG881-N-017-R1】【2.6.7_8】

ボラシデニブの細菌を用いた復帰突然変異試験は、ネズミチフス菌株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）並びに大腸菌株 WP2 *uvr*A を使用し、アロクロール誘導ラット肝 S9 の存在下と非存在下で実施した。この試験ではプレート法を使用して 2 段階で実施した。第 1 段階は、変異原性試験で使用する用量幅を確立するための予備的な毒性試験であり、第 2 段階の変異原性試験では、ボラシデニブの潜在的な変異原性を評価した。ボラシデニブはジメチルスルホキシド（DMSO）中で約 100 mg/mL（溶解性試験で検討した最高濃度）の澄明な液体を形成した。

変異原性試験で用いたボラシデニブの用量は 50、150、500、1500、5000 µg/plate であった。1500 µg/plate で沈殿が生じた。細胞毒性はみられなかった。試験に使用した菌株では代謝活性化の存在／非存在にかかわらず、変異原性陽性はみられなかった。上述の結論として、ボラシデニブは変異原性を示さなかった。

4.1.2　代謝物 AGI-69460 に関する細菌を用いる復帰突然変異試験【AG881-N-065】【2.6.7_8】

ネズミチフス菌株（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び大腸菌株 WP2 *uvrA* を用いた復帰突然変異試験で、AGI-69460（ボラシデニブの代謝物）の潜在的な変異原性を評価した。AGI-69460 は DMSO に溶解して最高濃度を 5000 µg/plate とし、アロクロール誘導ラット肝 S9 の存在下と非存在下で、プレート法で試験を実施した。

試験に使用した用量は 1.58、5.0、15.8、50、158、500、1581、5000 µg/plate であった。1581 µg/plate 以上ですべての株及び試験条件で沈殿が生じた。細胞毒性はみられなかった。

AGI-69460 への曝露後、プレートあたりの復帰変異体コロニーの数に大きな増加（2 倍以上）はなかった。ただし、TA1537 株は S9 存在下では複数の濃度で増加した。この株の増加は濃度依存性がなく、同時評価の陰性対照の値が低かったことによるものであった。さらに、すべての復帰変異体コロニーの数は過去の陰性対照データの 98%許容限度内であった。結論として AGI-69460 に潜在的な変異原性はなかった。

4.1.3　*In vitro* 哺乳類細胞小核試験【AG881-N-054】【2.6.7_8】

ボラシデニブが遺伝毒性を誘発する可能性をヒト末梢血リンパ球で評価した。ボラシデニブとともにヒト血液リンパ球を代謝活性化するラット S9 の存在下及び非存在下で 4 時間インキュベートし、さらにラット S9 非存在下で 24 時間インキュベートした。試験に使用した濃度は、ラット S9 非存在下では 1～500 µg/mL（4 時間と 24 時間）、存在下では 64～256 µg/mL であった。ラット S9 存在下では 256 µg/mL の濃度で 4 時間処理したところ沈殿が観察されたが、他の処理では沈殿は観察されなかった。各処理レジメンには、適切な溶媒対照と陽性対照を含めた。処理条件にかかわらず、陰性対照と比べてボラシデニブで処理した培養液で、小核二核細胞の発現率が統計的に有意に上昇することはなかった。

結論として、ボラシデニブはこの哺乳類細胞小核試験で遺伝毒性を示さなかった。

4.2　*In vivo* 遺伝毒性試験

4.2.1　ラット骨髄小核試験【8500632】【2.6.7_9】

雄の Sprague-Dawley ラットを用いて、ボラシデニブが骨髄の多染性赤血球（PCE）で小核を誘発する可能性を評価した。ボラシデニブを溶媒（ビタミン E／[redacted]／シメチコン）に溶解し、0（溶媒）、500、1000、2000 mg/kg の用量で 1 群あたり 6 匹の動物に投与した。高用量は、予備毒

性用量設定試験で雌雄それぞれ 3 匹のラットに 2000 mg/kg/day を投与しした結果に基づいた。2000 mg/kg/day は臨床的に忍容性を示し、死亡は生じなかった。毒性に性差はなかった。本実験では、雄ラットを 0 時間と 24 時間処理し、48 時間後に骨髄を採取した。細胞毒性を評価し、骨髄スメアを蛍光顕微鏡で評価した。1 匹について合計 4000 個の PCE を使用し、染色体損傷を示す小核の存在を評価した。ボラシデニブとその代謝物である AGI-69460 の TK も評価した。

いずれの投与群でも顕著な一般状態の変化や死亡は生じなかった。

溶媒対照のデータ［小核を有する PCE（MN PCE)］は、試験実施施設の過去の背景値の範囲内であった。陽性対照では MN PCE が明らかに増加した。したがって、本試験は適切に実施されたと判断した。

ボラシデニブを投与した雄ラットの群平均%PCE 値は、溶媒対照群の値とほぼ同じであった。500、1000、2000 mg/kg/day 群では、平均%PCE は 51.47%、51.40%及び 53.50%であり、これに対して溶媒対照の値は 49.17%、既存対照の範囲は 22.93%～58.24%PCE であった。したがって、骨髄毒性はなかった。

ボラシデニブを投与した雄ラットの群平均 MN PCE の数は、分析したいずれの用量でも溶媒対照群の数とほぼ同じであり、有意な（p≤0.05）増加はなかった。500、1000、2000 mg/kg/day の投与群において平均%MN PCE はそれぞれ 0.12%、0.17%及び 0.15%、溶媒対照では 0.16%、溶媒対照（95%基準）の背景値範囲は 0.00%～0.33% MN PCE であった。ボラシデニブを投与した動物において各個体の MN PCE 値は全般的に溶媒対照における分布範囲の背景値と一致しており、溶媒対照群における測定値の範囲内でもあった。中用量群の動物番号 R0205 の%MN PCE は 95%基準範囲を超えていたが、当該試験実施施設では過去にも観察された範囲内であった。このデータは散発的であり、ボラシデニブに関連する小核誘導作用を示すわけではないと判断した。

結論として、雄ラットにボラシデニブ 500、1000、2000 mg/kg/day を投与しても、骨髄の PCE で小核を誘導することはなかった（最大用量は、現行の規制ガイドラインに従った用量を使用した)。

5.　がん原性試験（補助的トキシコキネティクス評価を含む）

ボラシデニブは生命を脅かすがんの治療薬として開発されているため、がん原性試験は実施していない。生命を脅かすがんの患者の治療を目的とした医薬品の販売承認申請には、がん原性試験は必要とされない［ICH S9 ガイドライン「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価」(2009 年)］。

6.　3 生殖発生毒性試験（用量設定試験及び補助的なトキシコキネティクス評価を含む）

6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施していない。ボラシデニブは生命を脅かすがんの治療薬として開発されており、ICH S9 ガイドライン［「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価」(2009)］に基づくと、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は必要ではない。

ラットを用いた反復投与毒性試験では、雌雄の生殖器に対する影響がみられた。雌では発情周期消失／萎縮を伴う卵巣、子宮及び膣に対する影響、雄では精巣上体、精嚢／前立腺及び精巣で所見がみられた。カニクイザルでは MTD までの用量を投与したとき、13 週間の投与後に重大な毒性学的所見はなかった。反復投与毒性試験でみられた生殖器の所見は、受胎能障害の可能性を示唆する【2.6.6_[3.1.4, 3.1.5]】。

6.2　胚胎児発生毒性

胚胎児発生毒性は、2 種類の動物で評価した。妊娠 Sprague-Dawley ラット及び妊娠 New Zealand White ウサギを用いて用量設定試験及び本試験（GLP）を実施し、いずれの動物種でも器官形成期（Sprague-Dawley ラットは GD 6～17、New Zealand White ウサギは GD 6～19）にボラシデニブを 1 日 1 回投与した。

ヒトでの投与経路と同様に、いずれの動物種でも経口投与とした。ボラシデニブは 10%ビタミン E ポリエチレングリコール-1000-コハク酸、1%[redacted] 及び 0.1%シメチコンを含む精製水（pH 7）で処方した。

6.2.1　ラットを用いた胚胎児発生毒性試験（用量範囲設定試験、非 GLP）【20360623】【2.6.7_11】

交配が確認された Sprague-Dawley ラットを用いた胚胎児発生毒性試験（用量設定試験、非 GLP）を実施した。雌ラットの GD 6～17 に、ボラシデニブ 0（溶媒）、10、25、60 mg/kg/day を経口投与した（毒性評価及び TK 評価用として 1 群あたり 6 匹）。

投与群では投与期間中（GD 6～18）、体重増加抑制、体重減少及び摂餌量減少が観察された。剖検時に妊娠子宮重量で補正した体重は投与群では低かったが、明らかな用量依存性はなかった。帝王切開時に各群のすべての雌の胎児は生存していた。胎児に関しては、胚胎児の生存及び胎児の性比にボラシデニブに関連する影響はなかったが、胎児の体重は低かった。

試験に使用した最高用量でも忍容性があり軽微な影響しかみられなかったことから、ラットを用いた胚胎児発生毒性試験の本試験で使用する高用量として 60 mg/kg/day 以上が適切であると判断した。

6.2.2　ラットを用いた胚胎児発生毒性試験（本試験、GLP）【20360627】【2.6.7_13】

交配が確認された Sprague-Dawley ラットを用いて、経口投与によるボラシデニブについて胚胎児発生毒性試験（本試験、GLP）を実施した。ボラシデニブ／[redacted]（[redacted] w:w）を溶媒（10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水）に溶解し、1 日 1 回 GD 6～17 に強制経口投与した。用量は 10、25、75 mg/kg/day であった（毒性評価群に 1 群あたり 22 匹、TK 評価群に 1 群あたり 6 匹）。毒性は、死亡、一般状態、体重、体重増加、摂餌量、TK、母動物の剖検時肉眼所見、GD 21 の子宮同腹仔のデータ及び胎児検査に基づいて評価した。

雌 1 匹（75 mg/kg/day の投与）は、摂餌量減少とこれに続く体重減少のため、倫理的な理由で GD 16 に安楽死させた。安楽死前の所見は削痩及び立毛であった。この雌では剖検時に肉眼所見はなかったが、全同腹仔が吸収されていた。投与期間中はボラシデニブに関連する立毛が、75 mg/kg/day 群ではほとんどの動物、10 mg/kg/day 群及び 25 mg/kg/day 群では 2～3 匹の動物に散発的にみられた。

投与期間中、全投与群で対照群に比べて平均体重増加が用量に依存して抑制された。剖検時には、妊娠子宮重量について補正した平均体重絶対値はすべての群で同程度であった。

GD 6～12 に、25 mg/kg/day 群及び 75 mg/kg/day 群では対照群に比べ、用量に依存して摂餌量が減少した。この影響は 75 mg/kg/day 群では GD 18 まで持続した。いずれの投与群にも肉眼所見はなかった。

同腹仔に関しては、すべての雌の胎児が生存していた（ただし、75 mg/k/day 群の 1 匹では全同腹仔が吸収された）。75 mg/kg/day 群では今回の対照群及び過去に実施された試験の対照群と比べて早期での吸収数が多かった。すべての群で胎児平均重量は用量に依存して低下し、平均妊娠子宮重量も低下した（25 mg/kg/day 及び 75 mg/kg/day の投与）。その結果、すべての投与群において胎児で複数の骨化遅延及び短い肋骨の発現率が高かった。75 mg/kg/day 群では内臓奇形（別の同腹仔から 2 匹が腎臓と精巣の位置異常を示した）の発現率が高かった。高用量群での所見はボラシデニブに関連すると考えられた。

TK の結果を表 6:1 に一覧で示す。ボラシデニブの T_{max} は GD 6 には 1～24 時間、GD 17 には 1～7 時間であった。最高用量では T_{max} が遅延する傾向を示した。GD 6～17 でボラシデニブとその代謝物 AGI-69460 が蓄積したが、AGI-69460 の蓄積率は用量の増加と共に低下した。ボラシデニブの $AUC_{0\text{-}24hr}$ と C_{max} は、10 mg/kg/day と 25 mg/kg/day 間では用量比に応じて増加したが、75 mg/kg/day では用量比を下回った。AGI-69460 についても同様な傾向がみられた。

表 6:1　妊娠ラットにおけるボラシデニブと AGI-69450 のトキシコキネティクスパラメータ

Daily Dose (mg/kg)	**10**	**25**	**75**
Vorasidenib			
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng.hr/mL)			
Gestation Day 6	25300	59200	124000
Gestation Day 17	89500	193000	338000
C_{max} (ng/mL)			
Gestation Day 6	1830	3240	5640
Gestation Day 17	5110	9570	17000
T_{max} (hr)			
Gestation Day 6	1.00	4.00	24.00
Gestation Day 17	1.00	1.00	7.00
AGI-69460			
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng.hr/mL)			
Gestation Day 6	90.1	198	396
Gestation Day 17	916	1510	1870
C_{max} (ng/ml)			
Gestation Day 6	9.52	21.4	44.6

Daily Dose (mg/kg)	10	25	75
Gestation Day 17	44.6	69.9	84.6
T_{max} (hr)			
Gestation Day 6	24.00	24.00	24.00
Gestation Day 17	0.00	24.00	1.00

結論として、ボラシデニブを妊娠 Sprague-Dawley ラットに器官形成期を通して反復経口投与すると一般状態の変化と母動物に対する毒性がみられ、75 mg/kg/day を投与した雌 1 匹を早期に安楽死させた。母動物に対する毒性の NOAEL は 25 mg/kg/day であった。

ボラシデニブに関連する胚損失は、25 mg/kg/day まで生じなかった。ボラシデニブに関連する発生への影響として、すべての用量で胎児平均重量が用量に依存して低下した。25 mg/kg/day 及び 75 mg/kg/day の投与では胎児毒性がみられ（早期吸収と内臓奇形の発現率上昇）、すべての投与群で複数の骨化遅延及び短い肋骨が観察された。これらの結果に基づき、胚胎児発生の NOAEL は 10 mg/kg/day と判断した。

6.2.3　ウサギを用いた胚胎児発生毒性試験（用量設定、非 GLP）【20360618】【2.6.7_11】

交配が確認された New Zealand White ウサギを用いて胚胎児発生毒性試験（用量設定、非 GLP）を実施した。ボラシデニブを 10% TPGS、1%[redacted]及び 0.1%シメチコンを含む精製水に溶解し、0（溶媒）、25、50、75 mg/kg/day を雌の New Zealand White ウサギ（毒性評価及び TK 評価用に 1 群あたり 6 匹）に GD 6～19 で経口投与した。

母動物に対する毒性がすべての用量でみられ（便量減少、体重増加抑制及び摂餌量減少）、50 mg/kg/day 群及び 75 mg/kg/day 群ではすべての動物を早期に安楽死させた。剖検時には各群の 4 匹又は 5 匹の心臓が蒼白であった。さらに両群で対照群と比べて胚吸収数が多かった。25 mg/kg/day の投与で体重増加が抑制されたが、胎児平均重量に対してボラシデニブに関連する影響はなく、形態異常もなかった。

この後のウサギを用いた胚胎児発生試験では、25 mg/kg/day 未満の用量を高用量として選択した。

6.2.4　ウサギを用いた胚胎児発生毒性試験（本試験、GLP）【20360619】【2.6.7_13】

New Zealand White ウサギを用いて、胚胎児発生毒性試験（本試験、GLP）を実施した。[redacted]中のボラシデニブを溶媒（10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水）に溶解し、2、6、18 mg/kg/day を 1 日 1 回 GD 6～19 に強制経口投与した（毒性評価群には 1 群あたり 22 匹、TK 評価群には 1 群あたり 3 匹）。毒性は、死亡、一般状態、体重、体重増加、摂餌量、TK、剖検時の母動物肉眼所見、GD 29 の子宮同腹仔データ及び胎児所見に基づいて評価した。

母動物に対する毒性として、すべての投与群で平均体重増加抑制又は平均体重減少、及び摂餌量の減少がみられた。これらの影響は 18 mg/kg/day で生じた有害作用と判断した。18 mg/kg/day 群の雌 1 匹が流産したが、この原因は母動物に対する毒性が重篤であったためと考えられた。

対照群、2 mg/kg/day 群及び 6 mg/kg/day 群で、それぞれ 2 匹、1 匹及び 1 匹が流産した。これらの動物は入荷時の摂餌量がわずかであり、投与前に適切に馴化されていなかった。したがって、2 mg/kg/day 群及び 6 mg/kg/day 群で生じた流産の原因がボラシデニブによるものか明らかにできなかった。

いずれの群でもボラシデニブに関連する肉眼所見はなく、妊娠子宮の平均重量にも影響はなかった。

母動物に対する毒性の NOAEL は 6 mg/kg/day であった（この用量を投与したとき GD 19 の平均 C_{max} と AUC_{last} は 1260 ng/mL と 15500 ng.h/mL）。すべての雌の胎児は生存していたが、18 mg/kg/day 群の 1 匹では全同腹仔が吸収された。18 mg/kg/day 群で後期吸収の発現率がわずかに高かったため、着床後胚損失率はわずかに高くなった。

6 mg/kg/day 群及び 18 mg/kg/day 群では、用量に関連して胎児平均重量のわずかから中等度の減少がみられた。これらの群では胎児平均重量減少と一致して、1 つ又は複数の骨化遅延した胎児の発現率が高かった。対照群、2、6、18 mg/kg/day 群でそれぞれ 5（5）、5（4）、4（3）及び 2（2）の胎児（括弧内は同腹仔数）に奇形が生じたが、いずれもボラシデニブが原因ではない。

胚胎児発生の NOAEL は 6 mg/kg/day と判断した。TK の結果を表 6:2 に一覧で示す。最高濃度は、ボラシデニブについては投与から 1～2 時間後の T_{max}、AGI-69460 については 24 時間後に観察された。ボラシデニブとその代謝物は GD 6～19 に蓄積したが、蓄積率はボラシデニブについては 2～18 mg/kg/day の投与の増加に伴って減少した。GD 19 には、ボラシデニブについては用量比に応じて増加する傾向がみられたが、代謝物の増加は用量比を下回った。

表 6:2　妊娠ウサギにおけるボラシデニブと AGI-69460 のトキシコキネティクスパラメータ

Daily Dose (mg/kg)	**2**	**6**	**18**
Vorasidenib			
AUC (ng.hr/mL)			
Gestation Day 6	141	3450	11800
Gestation Day 19	3010	15500	34400
C_{max} (ng/mL)			
Gestation Day 6	121	494	1260
Gestation Day 19	287	1260	2350
T_{max} (hr)			
Gestation Day 6	1.00	1.00	1.50
Gestation Day 19	1.00	1.00	2.00
AGI-69460			
AUC (ng.hr/mL)			
Gestation Day 6	125	191	404
Gestation Day 19	2210	6450	10300
C_{max} (ng/mL)			
Gestation Day 6	10.2	16.7	34.1

Daily Dose (mg/kg)	**2**	**6**	**18**
Gestation Day 19	103	311	486
T_{max} (hr)			
Gestation Day 6	24	24	24
Gestation Day 19	7	24	24

$AUC_{0\text{-}24hr}$ for Gestation Day 6 and AUC_{last} for Gestation Day 19

結論として、妊娠 New Zealand White ウサギに対して器官形成期を通してボラシデニブ 2、6、18 mg/kg/day を経口投与すると、すべての用量で平均体重増加抑制と摂餌量減少がみられ、高用量群では流産が生じた。母動物に対する毒性の NOAEL は 6 mg/kg/day と判断した。ボラシデニブに関連した、発生に対する影響は、6 mg/kg/day の投与で用量に関連したわずかから中等度の胎児平均重量減少と複数の骨化遅延、18 mg/kg/day の投与で後期吸収のわずかな発現率上昇（母動物に対する重篤な毒性と一致すると考えられる）などであった。胚胎児発生の NOAEL は 6 mg/kg/day と判断した。

6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない。ボラシデニブはがんの治療薬として開発されており、ICH ガイドライン S9（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価）によれば、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必要ではない。

6.4　新生児を用いた試験

新生児を用いた試験は実施していない。新生児から 12 歳未満の小児患者に対しては対象外であることを申請している。

対象患者集団の年齢、非臨床試験でみられた所見の性質及び／又は非臨床試験の所見に基づくと安全マージンが大きいこと、並びに臨床での既知の安全性プロファイルに基づき、新生児を用いた毒性試験は必要ではないと判断される。

6.5　局所刺激性

臨床における投与経路は経口投与である。Sprague-Dawley ラットとカニクイザルを用いたすべての反復投与毒性試験で消化管を評価した。したがって、局所刺激性の評価を目的とした試験は必要ではないと判断される。

7.　その他の毒性試験

7.1　28 日間聴覚毒性試験【AG881-N-015-R1】【2.6.7_17】

ラットを用いた 28 日間反復投与試験では、投与した動物に炎症性浸潤、空胞化マクロファージ及び滲出液が観察された。そのため、GLP 聴覚毒性試験を実施して Sprague-Dawley ラットにボラシデニブを 28 日間連続して経口投与（胃挿管）し、聴覚機能に変化が生じる可能性及びコル

チ器と卵形嚢の有毛細胞に対する細胞毒性を評価した。生じた影響からの回復及びその持続性又は進行を 14 日間の回復期間終了後に評価した。

ボラシデニブ／[redacted]（[redacted]w/w）を溶媒（10%ビタミン E TPGS／1% [redacted]／0.1%シメチコンを含む脱イオン水）に溶解し、4 群の動物（1 群あたり 16 匹）に 1 日 1 回、最長 28 日間連続して強制経口投与した。用量は 3、10、30、100 mg/kg/day であった。対照群には、高用量群（100 mg/kg/day）に投与した量と同じ量の [redacted] 添加剤を含む溶媒（API と溶媒の量は 1:1）を同様のレジメンで投与した。

すべての動物を 1 日 2 回観察し、死亡及び瀕死状態を確認した。一般状態の所見は、各投与前、投与から 4 時間後、及びその後は週 2 回観察した。個別の体重は、投与期間中は連日記録し、回復期間中は週 2 回記録した。身体検査、耳鏡検査及び聴性脳幹反応検査は、投与前、最終剖検前及び回復期間終了時の剖検前に実施し、病理解剖、シトコクレオグラム、卵形嚢有毛細胞の計数と中耳の評価は最終剖検及び回復期間終了時の剖検後に実施した。

Day 32（回復期間 Day 4）に、100 mg/kg/day を投与した雄 2 匹を瀕死状態のため安楽死させた。この投与群でみられた一般状態の変化は、攻撃的行動、活動性低下、不規則歩行、腹部膨満、被毛状態異常及び呼吸増加であった。また、Day 28 には対照群に比べて平均体重が統計的に有意に減少（12.8%）していた。瀕死状態のため安楽死させた 2 匹において瀕死状態になる前にみられた一般状態の所見及び体重に対する影響と同様のものが、この群（100 mg/kg/day）の他の動物でもみられた。一般状態の所見と体重の変化に基づき、これらの死亡はボラシデニブに関連する可能性が高いと判断した。

その他に 3 mg/kg/day を投与した 2 匹と 30 mg/kg/day を投与した 1 匹の合計 3 匹が、聴性脳幹反応（ABR）検査のため麻酔した後、Day 28 に死亡状態で発見された。さらに投与前の ABR 評価でも、これらの手順の麻酔中に 2 匹が死亡した。したがって、これらの死亡は、麻酔薬に対する過敏性に関連があり、ボラシデニブとは関連がないと判断した。

3、10、30 mg/kg/day 群では、ボラシデニブに関連する一般状態の変化又は体重に対する影響は観察されなかった。

30 mg/kg/day 群及び 100 mg/kg/day 群の中耳及び蝸牛（側頭骨）で、ボラシデニブ投与との関連が不明な肉眼所見がみられた。所見は、側頭骨の茶色の病巣、卵円窓（前庭窓）の異物、及び鼓室部の浮腫であった。これらの所見があった動物は少数であり、有害ではなく可逆的であると考えられ、また、これらの所見に相関する顕微鏡所見はなかった。

ボラシデニブ 10、30、100 mg/kg/day の投与で生じた顕微鏡所見は、中耳と耳管の上皮におけるわずかな好中球浸潤（中耳炎）のみであった。中耳と耳管の好中球浸潤は回復期間終了時剖検ではみられなかった。

聴性脳幹反応、耳鏡検査、シトコクレオグラム、卵形嚢有毛細胞の密度、脳、蝸牛神経又はらせん神経節の肉眼的又は顕微鏡的病理所見に、ボラシデニブに関連する影響はなかった。

結論として、Sprague-Dawley ラットにボラシデニブ 100 mg/kg/day を 1 日 1 回 28 日間投与すると、瀕死状態、一般状態の変化、及び体重に対する影響が生じ、Day 32 には回復期間評価群の動物 2 匹で安楽死が必要となった。3、10、30 mg/kg/day 群には一般状態の変化や体重に対する影響

はなかった。ボラシデニブ 30 mg/kg/day 及び 100 mg/kg/day を投与すると、肉眼所見として側頭骨の茶色い病巣、卵円窓の異物、及び鼓室部の浮腫が生じたが、これらに相関する顕微鏡所見はなかった。ボラシデニブ 10、30、100 mg/kg/day を投与した時の有害ではなく可逆的な顕微鏡所見は、中耳及び耳管の上皮におけるわずかな好中球浸潤（中耳炎）であった。聴性脳幹反応、耳鏡検査、シトコクレオグラム、卵形嚢有毛細胞の密度、脳、蝸牛神経及びらせん神経節の肉眼的又は顕微鏡的病理所見に、ボラシデニブに関連する影響はみられなかった。

7.2　*In vitro* 光毒性試験【AG881-N-060】【2.6.7_17】

ボラシデニブの潜在的な光毒性は、Balb/c 3T3 マウスの線維芽細胞をボラシデニブに曝露して紫外線照射したときと（+UVR）、ボラシデニブの存在下で紫外線照射しないとき（-UVR）を比較し、生存率の相対的な低下を測定して評価した。ボラシデニブの溶解性を評価したところ、限度は 3.17 µg/mL であった。用量設定試験では、細胞毒性と光毒性の 50%阻害濃度（IC_{50}）に達しなかった。この試験における陽性対照としてプロメタジンを使用した。

本試験では、ボラシデニブを 1% DMSO／DPBS に溶解して（最高濃度は 5.62 µg/mL）使用した。光毒性の評価では、厚さ 1 mm のショット WG 320 フィルターを備えた 6500 W キセノンアークソーラーシミュレーターから 5 J/cm^2 の UVA 及び 17～22 mJ/cm^2 の UVB を照射して細胞を曝露させた。

IC_{50}、光毒性係数（PIF）及び平均光作用値（MPE）を算出した。陽性対照物質の細胞毒性及び光毒性反応で、本試験の妥当性が確認された。

ボラシデニブは、Balb/c 3T3 マウスの線維芽細胞を用いた *in vitro* ニュートラルレッド取込み（NRU）光毒性試験で、光毒性の可能性を示さなかった。

7.3　不純物の試験

開発中、原薬中の 3 種類の類縁物質 不純物A、不純物B 及び不純物C には規格を設定して管理していた。うち、不純物Cはボラシデニブの[redacted]である。市販用製造方法で製造した原薬に当初設定した規格値は、不純物A及び 不純物Bが各 0.15%以下、不純物Cが0.5%以下であった。なお、欧州申請の審査中に規制当局の要請に応じ、規格値を一部変更している。これらの不純物について、2 種類の(Q)SAR モデル（Derek Nexus 及び Leadscope Model Applier）で変異原性を評価したところ、すべて「Negative」であったため、ICH M7 ガイドラインの「クラス5」に分類される【2.3.S_3.2.1】。

ラットとサルを用いたGLP 準拠 28 日間反復投与毒性試験では、ボラシデニブの[redacted]（バッチ番号[redacted]、製造に使用した原薬のバッチ番号は[redacted]）を用いて評価した。このバッチに含まれる不純物 A、不純物B 及び不純物Cの濃度は、それぞれ0.10% w/w、0.16% w/w 及び 0.56% w/w であった。ラットとサルに投与した中用量と高用量は、それぞれ 30～100 mg/kg/day と 10～40 mg/kg/day であった（フリー体換算）。表 7:1 に示すように、ラットとサルが実際に摂取した不純物の量は規格内で担保されていた。したがって、検討したこれら3 種類の

類縁物質については、患者の実際の摂取量に相当する量又はそれ以上で毒性プロファイルが確認されたと判断した。

表 7:1　動物試験において動物が実際に摂取した類縁物質の量

Study	Vorasidenib (Free Base) Dose (mg/kg/d)	Actual Impurity Intake in Animals (mg/kg/d)	Human Equivalent Dose (mg/kg/d - Allometry)[1]	Actual Human Intake (mg/kg/d)[2] at 0.15% Impurity A, 0.15% Impurity B, 0.5% Impurity C
				Therapeutic dose 40 mg/d (expressed as free base)
Repeat dose 4 weeks - Rat - Report NP41973 or AG881-N-012-R1 Bach No. [redacted]	STD10: 100	Impurity A (0.10%): 0.1	0.016	0.001
		Impurity B (0.16%): 0.16	0.026	0.001
		Impurity C (0.56%): 0.56	0.090	0.003
	HNSTD: 30	Impurity A (0.10%): 0.03	0.005	0.001
		Impurity B (0.16%): 0.05	0.008	0.001
		Impurity C (0.56%): 0.17	0.027	0.003
Repeat dose 4 weeks - Monkey – Report NP41976/AG881-N-013-R1 Bach No. [redacted]	Highest dose: 40	Impurity A (0.10%): 0.04	0.013	0.001
		Impurity B (0.16%): 0.06	0.019	0.001
		Impurity C (0.56%): 0.22	0.070	0.003
	HNSTD: 10	Impurity A (0.10%): 0.01	0.003	0.001
		Impurity B (0.16%): 0.016	0.005	0.001
		Impurity C (0.56%): 0.056	0.017	0.003

[1]: Human equivalent dose estimates based on Body-Surface Area (BSA) using a factor of 6.2 for rat and 3.1 for monkeys
[2]: for a 60 kg patient
[3]:The limits shown are that used in later clinical studies and are different from the proposed specifications for the drug substance.
STD10: Severely Toxic Dose for 10% of the animals; HNSTD: Highest Non-Severely Toxic Dose

不純物の潜在的な変異原性リスクの評価：

原薬製造に用いる出発物質、中間体及び原薬中で検出された不純物又は潜在的な不純物、試薬、溶媒又は触媒及び原薬自体について、2 種類の(Q)SAR ツール（DEREK 及び Leadscope）を使用し、ICH M7 ガイドラインに従って *in silico* 分析を実施した【2.3S_3.2.4】。

「Inconclusive」と評価された 2 種類の不純物 D及び 不純物E について、変異原性を評価する実験を実施したところ、陰性であった。結果を以下に示す【AG881-N-061】【AG881-N-062】。

その他の ICH M7 クラス 2 又はクラス 3 の不純物は TTC 値（毒性学的懸念の閾値、患者 1 日あたり 1.5 µg）又は一日許容曝露量未満に管理される【2.3S_3.2.4】。ICH M7 クラス 1 の不純物も、化合物ごとに設定した限度値で管理される【2.3S_3.2.4】。

また、ニトロソアミンのリスク評価を実施した結果を【2.3S_3.2.5】に含めている。

7.3.1　不純物D に関する細菌を用いる復帰突然変異試験【AG881-N-061】【2.6.7_17】

ネズミチフス菌株（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び大腸菌株 WP2 *uvr*A を用いた復帰突然変異試験で、不純物D（出発物質、別名 [redacted]）が遺伝毒性を有する可能性を評価した。試験ではプレート法を使用して 2 段階で実施した。最初の段階は予備毒性試験で、変異原性試験で使用する用量範囲を確立した。2 番目の段階は変異原性試験で、不純物Dの潜在的変異原性を評価した。

これらの株を、不純物D（最高濃度はこの試験の標準限度濃度である 5000 µg/plate）を含む DMSO で、ラット肝分画（S9 mix）の存在下及び非存在下で処理した。試験の妥当性は陰性対照及び陽性対照から得た結果に基づいて確認した。

試験に使用した用量は1プレートあたり 1.58、5.0、15.8、50、158、500、1581、5000µg であった。試験に使用したすべての条件下で沈殿はみられなかった。いずれの株でも不純物Dの曝露後に、復帰変異体ではない細菌の不完全な background lawn 又は background lawn の欠如、又は復帰変異体コロニー数の大幅な減少はみられず、不純物Dは試験に使用した最高濃度でも細菌に対する毒性はないことが示された。

この変異原性試験では、試験に使用したいずれの株でも、不純物Dに対する曝露後に濃度やS9 mix の有無にかかわらず、復帰変異体コロニーの数が大幅に増加することはなかった。この *in vitro* 変異原性試験で不純物Dは変異原性活性を示さなかった。

7.3.2　不純物E に関する細菌を用いる復帰突然変異試験【AG881-N-062】【2.6.7_17】

ネズミチフス菌株（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び大腸菌株　WP2　を用いた復帰突然変異試験で、不純物E（出発物質　不純物D及び中間体 [redacted] 中の不純物、別名 [redacted]）が遺伝毒性を有する可能性を評価した。これらの株を、不純物E（最高濃度はこの試験の標準限度濃度である 5000 µg/plate）を含む DMSO で、ラット肝分画（S9 mix）の存在下及び非存在下においてプレート法で処理した。試験の妥当性は陰性対照及び陽性対照から得た結果に基づいて確認した。

試験に使用した用量は1プレートあたり1.58、5.0、15.8、50、158、500、1581、5000μgであった。試験に使用したすべての条件下で沈殿はみられなかった。いずれの株でも 不純物E 曝露後に、復帰変異体ではない細菌の不完全なbackground lawn 又はbackground lawn の欠如、又は復帰変異体コロニー数の大幅な減少はみられず、不純物Eは試験に使用した最高濃度でも細菌に対する毒性はないことが示された。

試験に使用したいずれの株でも、不純物E に対する曝露後に濃度やS9 mix の有無にかかわらず、復帰変異体コロニーの数が大幅に増加することはなかった。

結論として、この *in vitro* 変異原性試験で不純物Eは変異原性活性を示さなかった。

8. 考察及び結論

IDH1 又は *IDH2* 遺伝子変異陽性の神経膠腫の治療薬としてのボラシデニブの安全性を裏付けるために、ラットとサルを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、*in vitro* 光毒性試験、特殊な試験であるラット聴覚毒性試験を実施して、ボラシデニブの毒性プロファイルを評価した。さらに Sprague-Dawley ラットと New Zealand White ウサギを用いて、胚胎児発生毒性試験（用量設定試験及び本試験）を実施した。変異原性アラートがみられた 2 種類の不純物を *in vitro* 変異原性試験で評価した。循環代謝物である AGI-69460 の変異原性も Ames 試験で評価し、*in vivo* 一般毒性試験、胚胎児発生試験及び小核試験で親化合物とともに毒性プロファイルを評価した。毒性試験は ICH S9 ガイドライン［「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価」（2009）］に従って実施した。このガイドラインに従い、がん原性試験は実施しなかった。

ボラシデニブの反復投与毒性試験では、Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルを非臨床毒性評価動物に選択した。本動物を毒性評価に選んだ理由として、これらの動物種はヒトに対する有害作用を予想する動物種としてこれまで利用されていること、及び肝細胞培養で検出されたボラシデニブの *in vitro* 代謝物プロファイルがラット、サル及びヒトでほぼ同じであり、違いはわずかであったことである【2.6.4】及び【2.6.5】。

一部の短期試験を除き、反復投与毒性試験とピボタル試験及び TK 評価試験は GLP に準拠しており、OECD の基準とも一致している。また、適用される ICH ガイドラインにも準拠して試験を進めた。

ボラシデニブは、患者での投与経路である経口投与を選択し、全般的に [redacted] を添加した [redacted] として経口投与した。本文書で言及した用量はフリー体換算量での投与である。一部の毒性試験では溶媒対照を 2 種類（溶媒、及び [redacted]+溶媒）使用し、投与した動物に対する添加剤負荷も考慮した。溶媒には、各試験で使用した最高用量に存在する [redacted] の量（添加剤の負荷量）と同じ量を添加した。*In vivo* 小核試験及び胚胎児発生毒性試験では、臨床に用いられたボラシデニブ　クエン酸水和物を使用した【2.6.4_3.2.2.1】。

主な標的臓器は肝臓（ラットとサル）、消化管（ラット）、皮膚（ラット）、腎臓（ラット）、筋肉（ラット）、生殖器（ラット）であった。詳細は以下に記す。ラットの耳でみられた所見は、

聴覚毒性の評価を目的とした 28 日間反復投与毒性試験で毒性学的意義がないと確認された。投与に関連する毒性は全般的に用量依存性であった。

ヒトに 1 日 50 mg を反復投与したときの定常状態の平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 3144 ng.hr/mL であり、この値と各臓器で毒性を示す曝露量とを比較したマージンを表 8:1 に示す。

表 8:1　ヒトに 1 日 50 mg のボラシデニブを反復投与したときの血漿中曝露量と比較した安全マージン

Type of study/target organs (Repeat dose toxicity studies)	Species	No toxic or lowest toxic dose (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}24hr}$[a] (ng.h/ml)	Animal to human exposure ratio
Liver	Rat	5	82600	26
	Monkey	6	26500	8
Gastro-intestinal tract	Rat	15	221000	70
Skin	Rat	15	221000	70
Kidneys	Rat	15	221000	70
Skeletal Muscle	Rat	5	82600	26
Reproductive organs	Rat	5	82600	26

a: $AUC_{0\text{-}24hr}$ sex-combined value
Sources data: Repeat-dose toxicity studies in rats and monkeys reports NP41973/AG881-N-012-R1; NP41974/AG881-N-056; NP41976/ AG881-N-013-R1; NP41981/AG881-N-057

8.1　反復投与毒性

肝臓

ラット及びカニクイザルを用いた 28 日間及び 13 週間の反復投与毒性試験では、肝臓でボラシデニブ介在性の影響がみられた。

ラットにボラシデニブを 28 日間投与したところ、GGT のわずかな増加（100 mg/kg/day の投与のみ）と総ビリルビンのわずかな増加、肝臓重量の用量に依存したした増加、及び小葉中心性からびまん性の肝細胞肥大（10 mg/kg/day 以上を投与した雌雄）が生じた。肝細胞肥大は、肝細胞の拡大と豊富なすりガラス状の細胞質からなり、これに相関して平均肝臓重量が増加した（雄で 10 mg/kg/day 以上、雌で 3 mg/kg/day 以上の投与）。100 mg/kg/day 群の雄及び 30 mg/kg/day 以上を投与した雌では、回復期間終了時の剖検でもこれらの影響が残存していた。

13 週間反復投与毒性試験では、肝細胞肥大及びこれに伴う平均肝臓重量の増加が、5 mg/kg/day 以上を投与した動物で観察された。この観察に相関する肝酵素活性の変化はなかった。肥大した肝細胞では、種々の大きさの非染色空胞を特徴とする門脈周囲／中間帯の肝細胞空胞形成の発現率上昇も観察された。4 週間の回復期間終了時に、肝臓では顕微鏡的変化が依然として観察されたが、発現率及び／又は重症度が低下する、あるいは部分的に可逆的であった（15 mg/kg/day 及び 50 mg/kg/day の投与で肝細胞変性）。門脈周囲／中間帯肝細胞空胞化は完全に回復した。

サルの 28 日間反復投与毒性試験では、40 mg/kg/day（MTD 超の用量）を投与して安楽死させた 3 匹で、ボラシデニブに関連する肝臓の顕微鏡所見（肝細胞肥大）及び血液生化学検査パラメータに対する影響（10 mg/kg/day 及び 40 mg/kg/day の投与で GGT、ALT、SDH 及びトリグリセリド

の平均値増加）がみられた。回復期間終了時には10 mg/kg/day群でも40 mg/kg/day群でもGGT増加は持続していた又は部分的に持続し、ALT 増加と SDH 増加は完全に回復した。主要剖検時には肝臓重量が増加していた（10 mg/kg/day 以上の投与）。主要剖検時の顕微鏡所見は、10 mg/kg/day 群及び 40 mg/kg/day 群でわずかから軽度の肝細胞肥大などであり、小葉中心性からびまん性の肝細胞拡大及び細胞質の希薄化という特徴を示した。回復期間には肝臓に所見はなく、観察された影響は完全に可逆的であることが示された。

13週間反復投与毒性試験では、ALT（6 mg/kg/day以上の投与）、AST（20 mg/kg/dayの投与）及び GGT（6 mg/kg/day 以上の投与）の増加がみられ、これに相関して肝細胞肥大と肝臓重量増加が生じた。最終安楽死時における肝臓の顕微鏡所見は、6 mg/kg/day以上を投与した動物で肝細胞肥大、混合細胞浸潤増加及びクッパー細胞過形成であったが、回復期間終了後の動物では肝細胞肥大及び混合細胞浸潤は回復していた。

ラットとサルを用いた反復投与毒性試験では、使用した最低用量又は耐用量で肝臓に影響が生じ、ヒトにおける曝露量と比較したときの安全マージンはそれぞれ 26 と 8 であった。この影響は、肝酵素誘導を示唆する徴候に限定されており（肝臓重増加と肝細胞肥大）、肝細胞の変性や壊死はなかった。これらの所見に伴い、主にサルで肝酵素値が増加したが、ヒトにおける曝露量に比べて曝露量が非常に大きくない限りは（ヒトに 50 mg を反復投与したときの曝露量の 65 倍超）、対照群でみられた値の3倍を超える場合はまれであった。

肝臓に対する影響の機序は解明には至っていないが、これらの動物種における肝酵素誘導に関連があると考えられた。

消化管

ラットを用いた28日間反復投与毒性試験では、30 mg/kg/dayの投与で消化管にボラシデニブに関連する所見がみられた。所見は腺胃又は非腺胃の肥厚で、これに相関する顕微鏡所見としてびらん、潰瘍、浮腫、炎症、上皮変性及び／又は過形成がみられた。十二指腸においても特記すべき顕微鏡所見はほとんど見られなかったが、びらん、粘膜過形成及び好中球浸潤がわずかにみられた。また、腹部の臓器、膵臓及び脾臓の腹膜面にも炎症があり、胃と十二指腸の炎症プロセスの延長と判断した。

回復期間終了時の剖検ではボラシデニブに関連する影響が腺胃と十二指腸に残存していたが、発現率は低下していた。

サルでは消化管に明らかな影響はなく、ラットでも 13 週間反復投与毒性試験では影響はなかった。しかし、ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験において高用量（30 mg/kg/day 及び 100 mg/kg/day）でみられた所見は、ボラシデニブの局所刺激性が示唆された。ラットを用いた28日間試験で最小毒性量の 10 mg/kg/day を投与したときの曝露量とヒトに 50 mg を 1 日 1 回投与したときの曝露量を比較すると、安全マージンは27倍である。

皮膚

ボラシデニブは、ラットを用いた反復投与毒性試験で使用した最高用量で皮膚毒性を誘発した。

100 mg/kg/day を 28 日間投与すると上皮過形成が生じ、局所的に広範囲又はびまん性の有棘層の肥厚がみられたが、乳頭間突起の形成や基底細胞の過形成はなかった。これらの病変に関連する炎症はなかった。上記の動物の一部では、毛嚢脂腺ユニットの皮脂腺肥大もみられ、ボラシデニブ投与と関連があると判断された。13 週間反復投与毒性試験では、50 mg/kg/day 群で上皮過形成の発現率が上昇したが、回復期間終了時には回復した。最小毒性量（15 mg/kg/day）での曝露量はヒトにおける曝露量の 70 倍と大きい。

サルを用いた 28 日間反復投与毒性試験では、40 mg/kg/day を投与して一般状態が悪化した雌 1 匹で種々の体表面で表皮剥離が生じたが、相関する組織学的所見はなく、他の動物では皮膚の一般状態の所見も顕微鏡所見もなかった。さらに、13 週間反復投与毒性試験で最高用量を投与し、28 日間反復投与毒性試験と比べて曝露量が増加しても、上記の所見は観察されなかった。したがって、サルにおいて皮膚は毒性の対象ではないと判断した。

IDH 阻害薬投与に伴う皮膚の有害事象は文献に記載されている。患者で多くみられる皮膚の有害事象は、炎症性皮膚症、皮膚血管の異常、皮膚感染及びそう痒症である [2)]。そのため、ラットに高用量のボラシデニブを投与したときの皮膚に対する可逆的な影響は、ヒトに治療薬として投与するときにも発現する可能性があるが、対処は可能と判断した。

腎臓

ラットに 28 日間反復投与すると腎臓重量がわずかに減少したが、これに相関する顕微鏡所見や臨床検査値との相関はなかった。

13 週間反復投与すると、主に 50 mg/kg/day の投与で腎臓の尿細管変性が生じ、発現率は雌のほうが雄より高かった。この所見は 5 mg/kg/day 又は 10 mg/kg/day の投与でも、重症度はわずかであるが単発的にみられた（1 群あたり 1～2 匹）。この所見に相関した血漿クレアチニン又は尿素値の増加はなかったが、主に 15 mg/kg/day を投与した動物で尿中電解質排泄がわずかに増加した。混合細胞浸潤が、腎盂上皮（15 mg/kg/day 以上を投与した雌）及び膀胱（50 mg/kg/day を投与した雌）で観察された。いずれについても、15 mg/kg/day を投与したときの曝露量とヒトにおける曝露量を比較すると曝露マージンは 70 倍と大きい。

4 週間回復期間終了時に顕微鏡的変化は残存し、発現率及び／又は重度もほぼ同じであり、これらの変化は可逆的ではないと判断された。

カニクイザルでは用量や投与期間を問わず、腎臓に影響はなかった。

骨格筋

ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験では、ボラシデニブ 50 mg/kg/day を投与した複数の動物で筋緊張低下や異常歩行など兆候が認められまた、15 mg/kg/day を投与した動物でも症状は軽いが、同様な兆候が認められた。これに相関する顕微鏡所見は、神経原性に一致する骨格筋萎縮であった。萎縮は、直径が小さく、しばしば角ばった断面を伴う局所的に広範囲な筋線維群という特徴を示した。萎縮に伴う炎症又は筋壊死はなかった。病変がみられた部位の小さな神経枝では、軸索萎縮、髄鞘の消化破片及び／又は髄鞘拡張をしばしば伴った。これらの所見の発現率及

び重症度は用量に依存し、5 mg/kg の投与ではわずかであったが、15 mg/kg/day 及び 50 mg/kg/day の投与では軽度から中等度であった。平滑筋、横隔膜（採取した場合）、舌及び心臓は正常であり、坐骨神経及び脊髄にもボラシデニブに関連する軸索変性はなかった。

15 mg/kg/day 群及び 50 mg/kg/day 群では回復期間終了時も骨格筋萎縮はみられたが、発現率及び／又は重症度は低下した。

低用量（5 mg/kg/day）を投与したときの血漿中曝露量はヒトにおける曝露量の 26 倍であるが、所見の発現率は低く、グレードも非常に低かった。上記の所見に伴う一般状態はなく、所見は完全に可逆的であった。サルを用いた試験では筋毒性の一般状態や顕微鏡的徴候はなかった。

生殖器

雌ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験では、発情周期消失／萎縮、卵巣／卵管重量低下が高用量群で観察され、これに伴い、子宮（重量減少、萎縮）、卵巣（黄体減少、閉鎖卵胞増加）、子宮頸部（萎縮、粘液分泌）及び膣（萎縮、粘液分泌）への影響がみられた。100 mg/kg/day 群ではすべての動物で発情周期が異常であった。ほとんどすべての雌で発情期が持続するが、少なくとも数周期にわたり又は 1 匹は発情後期に至っても排卵がないことが示唆された、。

雄では 100 mg/kg/day 群で精巣上体、精嚢／前立腺及び精巣の重量が減少した。また、精巣（精細管の変性）、精巣上体（内腔細胞残屑、100 mg/kg/day の投与）、前立腺（30 mg/kg/day 以上の投与で上皮萎縮）、精嚢（10 mg/kg/day以上の投与で上皮萎縮）で所見があった。一般的に生殖器に関連する組織の萎縮及び発情周期の変化は、有意な体重減少及び／又はストレスに伴って観察され、これらの影響は 100 mg/kg/day を投与したときの生殖器の顕微鏡所見と関連する可能性がある。

試験に使用した最低用量（5 mg/kg/day）も所見が観察されたが、この用量を投与したときの曝露量は、ヒトに 50 mg を反復投与したときの曝露量の 26 倍である。

回復期間終了時の剖検では、ボラシデニブに関連する臓器重量の変化は雄では精嚢／前立腺及び精巣上体、雌では卵巣／卵管及び子宮で部分的に回復した。高用量群では雌雄で臓器重量が変化した。ただし、回復期間（14 日間又は 28 日間）は精子形成周期や卵胞の発達や成長過程を完全に網羅されていないため、生殖器に対する影響の可逆性については留意する必要がある。雌雄のラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験でも、生殖器に対する影響が観察された。

カニクイザルに 13 週間反復投与しても、MTD まで毒性学的に意味のある所見はなかった。

耳

ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験では、ボラシデニブ 3 mg/kg/day 以上を投与した雌雄で中耳の粘膜／粘膜下に好中球浸潤が生じた。この浸潤は鼓室の粘膜及び粘膜下内であり、しばしば耳管の入口又はその付近に隣接していた。内腔浸出液及びマクロファージ空胞化は対照動物にも投与動物にも観察されたため、添加剤の関与が示唆された。すなわち、炎症性浸潤、マクロファージ空胞化及び浸出液は、耳管を刺激した結果であることが示唆された。これらの所見はいずれも可逆的であった。

ラットを用いて聴覚毒性の評価を目的とした 28 日間反復投与毒性試験を実施し、聴覚系の機能及び形態に対する影響を評価した。ボラシデニブ 10、30、100 mg/kg/day を投与したところ、顕微鏡所見として中耳の上皮及び耳管にわずかな好中球浸潤（中耳炎）が生じたが、可逆的であった。聴性脳幹反応、耳鏡検査、シトコクレオグラム、卵形嚢の有毛細胞密度、及び脳、蝸牛神経又はらせん神経節の肉眼的又は顕微鏡的病理にボラシデニブに関連する影響はなかった。したがって、中耳の炎症性好中球浸潤に伴う機能又は形態の異常はなく、有害ではないと判断した。中耳炎は、咽喉頭酸逆流による喉頭刺激から生じることが知られている [3)]。また、強制経口投与時に添加剤又は被験物質に直接接触したため、中咽頭が刺激された可能性もある。中耳の組織学的所見は、その後ラットを用いて実施された 13 週間反復投与毒性試験でも、サルを用いたいずれの試験でもみられなかった。

QT 延長

サルを用いた 28 日間反復投与毒性試験では、高用量（40 mg/kg/day）を投与した雄 1 匹で QTc がわずかに延長した（32 msec）。この QTc 延長は程度が低く生理学的な意味はないと判断したが、この雄の Day 27 の血漿中 C_{max} は最も高かったため、ボラシデニブとの関連は否定できない。この他には、心電図パラメータ又はトレースにボラシデニブに関連する変化はなかった。

13 週間反復投与毒性試験では、心拍、律動又は波形、伝導時間にボラシデニブに関連する異常はなかった。ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）又はその他の心臓イオンチャネルに関して *in vitro* アラートは生じなかった【2.6.2】。したがって、この一所見のわずかな QTc 延長は、ボラシデニブの非臨床試験における心血管系の評価で単発的な所見であった。

8.2　遺伝毒性試験、生殖及び発生毒性試験、その他の試験

遺伝毒性の評価では、*in vitro* 細菌復帰変異（Ames）試験で変異原性がないことが示され、*in vitro* ヒトリンパ球小核試験、*in vivo* ラット骨髄小核試験でも染色体異常誘発性はないことが示された。

胚胎児発生毒性試験では、妊娠した Sprague-Dawley ラットに器官形成期を通して 10、25、75 mg/kg/day を連日経口投与した。母動物に対する毒性は 75 mg/kg/day の投与でみられ、NOAEL は 25 mg/kg/day と判断した。同腹仔では 25 mg/kg/day 及び 75 mg/kg/day の投与で胎児毒性がみられ、早期吸収と内臓奇形（75 mg/kg/day の投与で腎臓と精巣の位置異常）の発現率が高かった。すべての投与群で用量に依存した胎児重量減少と骨化遅延が生じた。胚胎児発生毒性の NOAEL は 10 mg/kg/day と判断した。

ウサギでは、妊娠雌に器官形成期を通してボラシデニブ 2、6、18 mg/kg/day を反復経口投与したところ、すべての投与群で体重が減少し、高用量群（18 mg/kg/day）で母動物に対する毒性がみられた。母動物に対する毒性の NOAEL は 6 mg/kg/day と判断した。同腹仔では直接の胎児毒性はみられず、6 mg/kg/day の投与で胎児重量減少と骨化遅延、18 mg/kg/day の投与で後期吸収発現率のわずかな上昇が観察され、母動物に対する毒性の重度と一致した。胚胎児発生毒性に関する NOAEL は 6 mg/kg/day と判断した。

ヒト血漿中の主要な代謝物としてデスクロロ-メチルスルホン代謝物である AGI-69460 がヒト ADME 試験【AG881-C-005】で同定された。その後、ラットとサルに 7 日間にわたり反復投与したときにこの代謝物の存在が血漿中で確認された。AGI-69460 の血漿中曝露は、ボラシデニブの胚胎児発生試験及び *in vivo* 小核骨髄試験で明らかになった。AGI-69460 の遺伝毒性の可能性を評価したところ、*in vitro* 変異原性試験で遺伝毒性は認められなかった。毒性試験全体で代謝物 AGI-69460 の毒性プロファイルが適切に評価された。

ボラシデニブは 215 nm と 281 nm の波長で最大吸光度を示したが、メラニンには結合しなかった。Balb/c 3T3 マウスの線維芽細胞を用いた *in vitro* NRU 光毒性試験の結果は陰性であった。したがって、ボラシデニブに光毒性のリスクはないと判断した。

原薬中の 3 種類の規格設定不純物（不純物A、不純物B 及び不純物C）を 2 種類の(Q)SARモデルで検討したところ陰性であり、ラットとサルを用いた GLP 準拠 28 日間反復投与毒性試験で、規格内で担保され、毒性プロファイルが適切に評価された。すべての出発物質、中間体、中間体及び原薬で観察された不純物又は潜在的な不純物、試薬、溶媒又は触媒、及び原薬自体についても、変異原性の可能性を *in silico* で評価した。変異原性アラートがみられた 2 種類の不純物D及び不純物Eについて変異原性を評価する実験を実施したところ、陰性であった。その他の ICH M7 クラス 1、2 又は 3 の不純物は TTC 値（毒性学的懸念の閾値、患者 1 例 1 日あたり 1.5 µg）又は各化合物及びクラスごとの限度で管理される【2.3S_3.2.4】。

8.3　全体のまとめと結論

ボラシデニブの毒性プロファイルは、ラットとカニクイザルを用いた単回投与及び反復投与毒性試験、ラットとウサギを用いた遺伝毒性及び胚胎児発生毒性試験、並びに光毒性、聴覚に特化した毒性試験で評価し、種々の不純物についても評価した。ICH S9 ガイドライン［「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価」（2009）］に従い、がん原性試験は実施していない。

所見がみられた標的臓器は肝臓（ラット及びサルで肝臓重量増加や肝細胞肥大など、肝酵素誘導を示唆する徴候）、皮膚（ラットで上皮過形成と表皮剥離）、腎臓（ラットで尿細管変性）、消化管（ラットで局所的刺激作用）、生殖器（ラットで萎縮／変性）及び骨格筋（ラットで神経原性萎縮）であった。これらの所見のほとんどが完全又は部分的に可逆的であった。

表 8:1 に示したように、ヒトに 50 mg を反復投与したときの曝露量と比較したマージンは、臓器別又は動物種別に 8～70 であった。全体としてヒトに 50 mg を反復投与したときの曝露量の 7 倍（ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験）及び 2 倍（サルを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験）の量を動物に投与したとき、忍容性は良好であった。

毒性試験で得られた曝露量マージンに基づき、げっ歯類及び非げっ歯類で観察された毒性は、その程度又は重症度がわずかであり、可逆的であったため、ボラシデニブの非臨床安全性プロファイルは許容可能であり、対象とする患者への治療薬として期待される。

9.　参考文献一覧

1）　ICH guideline S9 Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; 2009.

2）　Rose Parisi, Emily A Cowen, Joseph R Stoll, Haoling Zhu, Stephen Dusza, Melissa P Pulitzer, Eytan M Stein, Alina Markova. Dermatologic adverse events associated with IDH inhibitors ivosidenib and enasidenib for the treatment of acute myeloid leukemia. Leuk Res. 2022 Dec; 123: 106970. doi: 10.1016/j.leukres.2022.106970. Epub 2022 Oct 22.

3）　Al-Saab, F.; Manoukian, J.J.; Al-Sabah, B.; Almot, S.; Nguyen, L.H.; Tewflik, T.L.; Daniel, S.J.; Schloss, M.D.; Hamid, Q.A. Linking larygopharyngeal reflux to otitis media with effusion: pepsinogen study of adenoid tissue and middle ear fluid. Journal of Otolaryngology - Head and Neck Surgery 2008, 37(4), 565-571.

ボラシデニブ　クエン酸水和物

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第２部（モジュール２）

2.6.7　毒性試験概要表

日本セルヴィエ株式会社

目次

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 7
3.　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 9
4.　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 13
5.　単回投与毒性試験 15
6.　反復投与毒性試験：ピボタル試験以外の試験 16
7.　反復投与毒性試験：ピボタル試験 20
7.1　28 日間ラット反復投与毒性試験 20
7.2　13 週間ラット反復投与毒性試験 33
7.3　28 日間カニクイザル反復投与毒性試験 44
7.4　13 週間カニクイザル反復投与毒性試験 49
8.　*In Vitro* 遺伝毒性試験 54
8.1　細菌を用いる復帰突然変異試験-1 54
8.2　細菌を用いる復帰突然変異試験-2 55
8.3　*In vitro* 小核試験 56
9.　*In Vivo* 遺伝毒性試験 57
10.　がん原性試験 58
11.　生殖発生毒性試験：ピボタル試験以外の試験 59
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 60
13.　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 61
13.1　ラット 61
13.2　ウサギ 64
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 67
15.　新生児を用いた試験 67
16.　局所刺激性試験 67
17.　その他の毒性試験 68
17.1　聴覚毒性試験 68
17.2　光毒性試験 69
17.3　不純物に関する遺伝毒性試験 70
17.3.1　不純物：D
17.3.2　不純物：E

1.　毒性試験：一覧表

Vorasidenib、S095032、S95032-1、AG-881 及び AGI-23088 を含む異なる被験物質コードが使用されている。*in vivo* 試験においては、被験物質は [redacted] を用いた[redacted]（50/50）又はクエン酸水和物として投与され、投与量は S095032 の遊離塩基体換算で表記した。

Study Description	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	GLP status	Testing Facility	Report
Single-Dose Oral (Nasogastric) Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Cynomolgus Monkeys	Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage	Single dose	3, 40, 80	-	[redacted]	NP41946 AG881-N-008-R1
7-Day (Twice Daily Dosing) Oral Gavage Tolerability and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	7 days	0, 0.2, 2, 10 (2x0[a], 2x0.1, 2x1, 2x5)	-	[redacted]	NP41947 AG881-N-009-R1
A 7-Day (Twice Daily Dosing) Oral Gavage Tolerability and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Male Sprague Dawley Rats	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	7 or 10 days	0, 30, 100, 300, 1000 (2x0[b], 2x15, 2x50, 2x150, 2x500)	-	[redacted]	NP41948 AG881-N-011-R1
A 7-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	7 days	50, 100, 200	-	[redacted]	NP41971 AG881-N-014-R1
A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	28 days	0, 0[b], 3, 10, 30, 100	Yes	[redacted]	NP41973 AG881-N-012-R1

Study Description	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	GLP status	Testing Facility	Report
A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	13 weeks	0 [c], 5, 15, 50	Yes	[redacted]	NP41974 AG881-N-056
A 7-Day (Once Daily) Oral (Nasogastric) Dose Range-Finding Study of AGI-23088 in Male Cynomolgus Monkeys	Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage	7 days	1, 10, 50, 100	-	[redacted]	NP41977 AG881-N-010-R1
A 28-Day Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Cynomolgus Monkeys with a 14-Day Recovery Period	Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage	29 days	0, 0 [b], 3, 10, 40	Yes	[redacted]	NP41976 AG881-N-013-R1
A 13-week toxicity study of AG-881 given by oral gavage to cynomolgus monkeys with a 4-week recovery period	Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage	13 weeks	0[c], 2, 6 and 20	Yes	[redacted]	NP41981 AG881-N-057
Bacterial Reverse Mutation Assay of AGI-23088	*S. typhimurium:* TA98, TA100, TA1535, TA1537, *E. Coli* WP2 uvrA	*In vitro*	48 to72h	50-5000 µg/plate	Yes	[redacted]	NP41979 AG881-N-017-R1
Bacterial Reverse Mutation Test (AGI-69460, metabolite)	*S. typhimurium:* TA98, TA100, TA1535, TA1537, *E. coli* WP2 uvrA	*In vitro*	66h	1.58- 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	NP42134 AG881-N-065
In vitro Mammalian Cell Micronucleus Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes	Human Peripheral Blood Lymphocytes	*In vitro*	4 and 24 hours	1,2,4,8,16, 32,64,128, 256,500 µg/ml	Yes	[redacted]	NP41980 AG881-N-054
In vivo rat Bone Marrow Micronucleus Assay	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	4 and 24 hours	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	Yes	[redacted]	NP42502 8500632

Study Description	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	GLP status	Testing Facility	Report
Dose Range Finding Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 in the Female Sprague Dawley Rat	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to GD17	0, 10, 25 and 60	-	[redacted]	NP42346 20360623
Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 in the Female CD® (Sprague Dawley) IGS Rat	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to GD17	0, 10, 25 and 75	Yes	[redacted]	NP42429 20360627
Dose Range Finding Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 in the New Zealand White Rabbit	New-Zealand White Rabbit	Oral gavage	GD6 to GD19	0, 25,50 and 75	-	[redacted]	NP42410 20360618
Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 in the rabbit	New-Zealand White Rabbit	Oral gavage	GD6 to GD19	0, 2, 6 and 18	Yes	[redacted]	NP42503 20360619
A 28-Day Ototoxicity Evaluation of AGI-23088 in Male Sprague Dawley Rats with a 2-Week Recovery	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	28 days	0, 3, 10, 30 and 100	Yes	[redacted]	NP41984 AG881-N-015-R1
Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of AG-881 in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts	BALB/c 3T3 mouse fibroblasts	*In vitro*	30 min light exposure	0.100- 5.62 µg/ml	Yes	[redacted]	NP42151 AG881-N-060
Bacterial Reverse Mutation Test (Impurity D, [redacted])	*S. typhimurium*: TA98, TA100, TA1535, TA1537, *E. coli* WP2 uvrA	*In vitro*	66h	1.58-5000 µg/plate	Yes	[redacted]	NP42257 AG881-N-061

Study Description	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	GLP status	Testing Facility	Report
Bacterial Reverse Mutation Test (Impurity E, [redacted])	*S. typhimurium:* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *E. coli* WP2 uvrA	*In vitro*	64h	1.58-5000 µg/plate	Yes	[redacted]	NP42258 AG881-N-062

BID: Bis In Die (twice daily); GD: Gestation Day; GLP: Good Laboratory Practice; NA: not applicable
a: 2 control groups received the vehicle with an equivalent amount of [redacted] as that of the mid or high dose group.
b: the second control group received the vehicle with an equivalent amount of [redacted] as that of the high dose group.
c: the control group received the vehicle with an equivalent amount of [redacted] as that of the high dose group.

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

Type of Study	Species/ strain	Test Article	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Status	Report No.
SINGLE-DOSE TOXICITY						
Single dose oral TK	Cynomolgus monkey	AGI-23088/[redacted]	Oral gavage	3, 40, 80	-	NP41946 AG881-N-008-R1
REPEAT-DOSE TOXICITY						
Rat						
7-Day BID Oral toxicity and TK	SD rat	AGI-23088/[redacted]	Oral gavage	0.2, 2, 10 (2x 0.1, 2x1, 2x5)	-	NP41947 AG881-N-009-R1
7-Day BID Oral toxicity and TK	SD rat	AGI-23088/[redacted]	Oral gavage	30, 100, 300, 1000 (2x15, 2x50, 2x150, 2x500)	-	NP41948 AG881-N-011-R1
7-Day Oral (once daily) toxicity and TK	SD rat	AGI-23088/[redacted]	Oral gavage	50, 100, 200	-	NP41971 AG881-N-014-R1
28-Day Oral (once daily) Toxicity and TK	SD rat	AGI-23088/[redacted]	Oral gavage	3, 10, 30, 100	Yes	NP41973 AG881-N-012-R1
13-Week Oral (once daily) toxicity and TK	SD rat	AG-881/[redacted]	Oral gavage	5, 15, 50	Yes	NP41974 AG881-N-056
Monkey						
7-Day (Once Daily) DRF and TK	Cynomolgus monkey	AGI-23088/[redacted]	Oral gavage	1, 10, 50, 100	-	NP41977 AG881-N-010-R1
28-Day Oral (once daily) Toxicity and TK	Cynomolgus monkey	AGI-23088/[redacted]	Oral gavage	3, 10, 40	Yes	NP41976 AG881-N-013-R1
13-week Oral toxicity (once daily) and TK	Cynomolgus monkey	AG-881/[redacted]	Oral gavage	2, 6, 20	Yes	NP41981 AG881-N-057
REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY						
Rat						
DRF rat	SD rat	S095032-1	Oral gavage	10, 25, 60	-	NP42346 20360623
Embryo-Fetal Developmental rat	SD rat	S095032-1	Oral gavage	10, 25, 75	Yes	NP42429 095032_A 20360627

Type of Study	Species/ strain	Test Article	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Status	Report No.
REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY (cont'd)						
Rabbit						
DRF rabbit	New Zealand White Rabbit	S095032-1	Oral gavage	25,50, 75	-	NP42410 20360618
Embryo-Fetal Developmental rabbit	New Zealand White Rabbit	S095032-1	Oral gavage	2, 6, 18	Yes	NP42503 20360619
GENOTOXICITY						
In vivo micronucleus	SD rat	S095032-1	Oral gavage	500, 1000, 2000	Yes	NP42502 8500632

BID: Bis in die (twice daily); DRF: Dose-Range-Finding; GLP: Good Laboratory Practice; [redacted]; SD: Sprague Dawley; [redacted]; TK: Toxicokinetics

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

Plasma $AUC_{0\text{-}12hr}$[1] or $AUC_{0\text{-}24hr}$(hr.ng/mL)													
		Rat							Rabbit	Monkey			
Report No.		NP41947 AG881-N-009-R1	NP41948 AG881-N-011-R1	NP41971[2] AG881-N-014-R1	NP41973 [2,3] AG881-N-012-R1	NP41974 [2,3] AG881-N-056-R1	NP42429 20360627	NP42502 8500632	NP42503 20360619	NP41946[4] AG881-N-008-R1	NP41977[2] AG881-N-010-R1	NP41976 [2;5] AG881-N-013-R1	NP41981 [6,7] AG881-N-057
Dose (mg/kg/d)	**Sex**	**AGI-23088** [redacted]	**AGI-23088** [redacted]	**AGI-23088** [redacted]	**AGI-23088** [redacted]	**AG-881-** [redacted]	**S095032-1**	**S095032-1**	**S095032-1**	**AGI-23088** [redacted]	**AGI-23088** [redacted]	**AGI-23088** [redacted]	**AG-881-** [redacted]
0.2 (2x.01)	M	D0: 114	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		D6: 578	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D0:1190	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	D6:3550	-	-
2 (2x1)	M	D0: 1230	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		D6: 4980	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D1:3530
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D91:5240
	F	-	-	-	-	-	-	-	GD6: 141	-	-	-	D1:3850
		-	-	-	-	-	-	-	GD19: 3010	-	-	-	D91:8340
3	M	-	-	-	D0: 5910	-	-	-	-	D1: 2410	-	D0:4830	-
		-	-	-	D27:23400	-	-	-	-	-	-	D27:11400	-
	F	-	-	-	D0: 6900	-	-	-	-	D1: 3310	-	D0: 3370	-
		-	-	-	D27:23900	-	-	-	-	-	-	D27:7290	-
5	M	-	-	-	-	D1:10300	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	D91:87900	-	-	-	-	-	-	-
	F	-	-	-	-	D1:11800	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	D91:77200	-	-	-	-	-	-	-
6	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D1:14600
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D91:26400
	F	-	-	-	-	-	-	-	GD6: 3450	-	-	-	D1:11800
		-	-	-	-	-	-	-	GD19: 15500	-	-	-	D91:26600

Plasma $AUC_{0\text{-}12hr}$[1] or $AUC_{0\text{-}24hr}$(hr.ng/mL)													
		Rat							Rabbit	Monkey			
Report No.		**NP41947 AG881-N-009-R1**	**NP41948 AG881-N-011-R1**	**NP41971[2] AG881-N-014-R1**	**NP41973 [2, 3] AG881-N-012-R1**	**NP41974 [2, 3] AG881-N-056-R1**	**NP42429 20360627**	**NP42502 8500632**	**NP42503 20360619**	**NP41946[4] AG881-N-008-R1**	**NP41977[2] AG881-N-010-R1**	**NP41976 [2; 5] AG881-N-013-R1**	**NP41981 [6, 7] AG881-N-057**
Dose (mg/kg/d)	**Sex**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AG-881- [redacted]**	**S095032-1**	**S095032-1**	**S095032-1**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AG-881- [redacted]**
10 (2x5)	M	D0: 7050	-	-		-	-	-	-	-			
		D6:35800	-	-		-	-	-	-	-			
	F	-	-	-		-	-	-	-	-	-		
		-	-	-		-	-	-	-	-	-		
10	M				D0: 21900						D0:7560	D0:12400	
					D27:84800						D9: 23800	D27:34600	
	F	-	-	-	D0: 21900	-	GD6: 25300	-	-	-	-	D0: 12700	-
		-	-	-	D27:84800	-	GD17: 89500	-	-	-	-	D27: 43900	-
15	M	-	-	-	-	D1: 30700	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	D91:214000	-	-	-	-	-	-	-
	F	-	-	-	-	D1:36700	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	D91:228000	-	-	-	-	-	-	-
18	F	-	-	-	-	-	-	-	GD6: 11800	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	GD19: 34400	-	-	-	-
20	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D1:44800
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D91: 192000
	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D1:48400
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D91: 221000
25	F	-	-	-	-	-	GD6: 59200 GD17: 193000	-	-	-	-	-	-
30 (2x15)	M	-	D0: 19300	-	D0:67500	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	D6:98400	-		-	-	-	-	-	-	-	-
		-	D9:113000	-	D27: 195000	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	-	-	-	D0:71200	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	D27: 195000	-	-	-	-	-	-	-	-

Plasma $AUC_{0\text{-}12hr}$[1] or $AUC_{0\text{-}24hr}$(hr.ng/mL)													
		Rat							Rabbit	Monkey			
Report No.		**NP41947 AG881-N-009-R1**	**NP41948 AG881-N-011-R1**	**NP41971[2] AG881-N-014-R1**	**NP41973 [2, 3] AG881-N-012-R1**	**NP41974 [2, 3] AG881-N-056-R1**	**NP42429 20360627**	**NP42502 8500632**	**NP42503 20360619**	**NP41946[4] AG881-N-008-R1**	**NP41977[2] AG881-N-010-R1**	**NP41976 [2; 5] AG881-N-013-R1**	**NP41981 [6, 7] AG881-N-057**
Dose (mg/kg/d)	**Sex**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AG-881- [redacted]**	**S095032-1**	**S095032-1**	**S095032-1**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AGI-23088 [redacted]**	**AG-881- [redacted]**
40	M	-	-	-	-	-	-	-	-	D1:27800	-	D0:50000	-
		-	-	-	-	-	-	-	-		-	D27:96300	-
	F	-	-	-	-	-	-	-	-	D1:44100	-	D0: 50700	-
		-	-	-	-	-	-	-	-		-	D27:87000	-
50	M	-	-	-	-	D1:99700	-	-	-	-	D0:50800	-	-
		-	-	-	-	D91: 518000	-	-	-	-	D9:128000	-	-
	F	-	-	-	-	D1:108000	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	D91:480000	-	-	-	-	-	-	-
75	F	-	-	-	-	-	GD6: 124000 GD17: 338000	-	-	-	-	-	-
80	M	-	-	-	-	-	-	-	-	D1:63500	-	-	-
	F	-	-	-	-	-	-	-	-	D1:42900	-	-	-
100 (2x50)	M	-	D0:58200	D0:52700	D0:119000	-	-	-	-	-	D0:92900	-	-
		-	D6:589000	-	D27: 566000	-	-	-	-	-	D9:334000	-	-
	F	-	-	D0:96100	D0:129000	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	D27: 527000	-	-	-	-	-	-	-	-
300 (2x150)	M	-	D0: 60000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
500	M	-	-	-	-	-	-	453000	-	-	-	-	-
1000[8] (2X500)	M	-	D0: 52900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1000	M	-	-	-	-	-	-	485000	-	-	-	-	-
2000	M	-	-	-	-	-	-	592000	-	-	-	-	-

[1] *$AUC_{0\text{-}12h}$ is basically presented, a note indicates if other intervals are presented.*
[2] *$AUC_{0\text{-}24}$*
[3] *9 animals per group, per sex*
[4] *2 animals per group, per sex*
[5] *5 animals per group, per sex*

[6] *AUC_{0-t}*
[7] *6 animals per group, per sex*
[8] *All animals were found dead or euthanized on Day 4*
AUC_{0-x}hr: area under the concentration × time curve from 0 to X hours; D: Day; GD: gestation Day; [redacted]; SD: solid dispersion; [redacted]; [redacted]
Note: All values are means of ≥3 animals, unless noted with an asterisk, in which case n is different.

4.　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Batch No	Compound	Purity (%)	Specified impurities (% w/w)	Unspecified impurities (% w/w)	Report No.	Type of study
[redacted]	DS ([redacted])	99.654	NA	0.168%	AG881-N-008-R1, NP41946 AG881-N-014-R1, NP41971	Single dose toxicity monkey Repeat dose toxicity 7-day rat
[redacted]	DS ([redacted])	NA	NA	NA	AG881-N-009-R1, NP41947 AG881-N-011-R1, NP41948	Repeat dose toxicity 7-day rat Repeat dose toxicity 7-day rat
[redacted]	DS ([redacted])	99.9	Impurity F (RRT [redacted]): ND Impurity A (RRT[redacted]): ND Impurity B (RRT [redacted]): 0.07	NA	AG881-N-056, NP41974 AG881-N-057, NP41981	Repeat dose toxicity 13-week rat Repeat dose toxicity 13-week monkey
[redacted]	DS ([redacted])	99.654	NA	0.168%	AG881-N-010-R1, NP41977	Repeat dose toxicity 7-day monkey
[redacted] [2]	DS ([redacted])	100.2	Impurity F (RRT[redacted]): 0.13% Impurity A (RRT[redacted]): 0.10% Impurity B (RRT [redacted]): 0.16% Impurity C 0.56%	NA	AG881-N-012-R1, NP41973 AG881-N-013-R1, NP41976 AG881-N-015-R1, NP41984	Repeat dose toxicity 28-day rat Repeat dose toxicity 28-day monkey Ototoxicity 28-day rat
[redacted]	DS (free base form)	99.4	NA	0.17%	AG881-N-017-R1, NP41979	Genotoxicity *vitro*
[redacted]	AGI-69460 (vorasidenib metabolite)	99.4	NA	NA	AG-881-N-065, NP42134	Genotoxicity *vitro*
[redacted] [1]	DS (citrate form)	99.7	Impurity F (RRT [redacted]): ND Impurity A (RRT[redacted]): ND Impurity B (RRT [redacted]): 0.08 Impurity C : 0.13%	No single unspecified impurity is more than 0.05 %	AG881-N-054, NP41980	Genotoxicity *vitro* micronucleus

Batch No	Compound	Purity (%)	Specified impurities (% w/w)	Unspecified impurities (% w/w)	Report No.	Type of study
[redacted][1]	DS (citrate form)	98.9	Impurity F (RRT[redacted]) <0.02% Impurity A (RRT[redacted]) <0.02% Impurity B (RRT [redacted]) <0.02% Impurity C : 0.17%	No single unspecified impurity is more than 0.05 %	NP42502, 8500632 NP42346, 20360623 NP42429, 20360627, NP42503, 20360619	Genotoxicity *vivo* micronucleus DRF Embryo-fetal development rat and rabbit Pivotal Embryo-fetal development rat and rabbit
[redacted][1]	DS (citrate form)	98.7	Impurity F (RRT [redacted]): ND Impurity A (RRT[redacted]) < 0.05% Impurity B (RRT [redacted]): 0.07 Impurity C : 0.18%	ND	AG881-N-060, NP42151	Phototoxicity *In vitro*
[redacted]	Impurity D (vorasidenib impurity)	100	NA	NA	AG881-N-061, NP42257	Genotoxicity *vitro* impurities
[redacted]	Impurity E (vorasidenib impurity)	99.8	NA	NA	AG881-N-062, NP42258	Genotoxicity *vitro* impurities

DRF: Dose Range finding; DS: Drug substance; LOD: Limit of detection; NA: Not Applicable; ND: Not detected; RRT: Relative Retention Time; [redacted]: [redacted]
1: Drug substance batch number.
2: A7-147-036: Vorasidenib [redacted] *batch manufactured with drug substance batch* [redacted]*, release results for specified impurities available in Module 3.2.S.4.4 Batch analyses*

5.　単回投与毒性試験

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report No.:
Cynomolgus Monkeys	Oral (gavage) Vehicle: 10% vitamin E TPGS/1% [redacted]/0.1% simethicone in deionized water	3, 40, 80	M: 2 F: 2	80	NA (No death)	Vorasidenib was well tolerated as single oral administration by male and female cynomolgus monkeys at doses up to 80 mg/kg/day. Only one male showed slight tremors 1-2 hours post dose. No changes were seen on body weight and food consumption. Toxicokinetics: Plasma AUC_{0-24} (ng.hr/mL) at 3, 40 and 80 mg/kg, respectively: M: 3520, 44700 and 139000 F: 5020, 83300 and 90600	NP41946 AG881-N-008-R1

AUC_{0-24}: area under the concentration ×time curve from 0 to 24 hours; F: Female; GLP: Good Laboratory Practice; [redacted]
M: Male, NA: not applicable; TPGS: Tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate

6.　反復投与毒性試験：ピボタル試験以外の試験

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/d)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Report No.
Rat/Sprague Dawley	Oral (gavage) Vehicle: 10% vitamin E TPGS/1% [redacted] in deionized water/suspension Administration twice daily	7 days	0[a], 0.2, 2, 10 (2x0, 2x0.1, 2x5)	M: 5 + 3 (TK)	2x5	NP41947 AG881-N-009-R1
	Noteworthy Findings: Vorasidenib was well tolerated by male rats at all doses with no mortality and no effects on body weight, food consumption, hematology and clinical pathology parameters, urinalysis parameters, or at clinical examination, and ophthalmology (performed at 2 mg/kg only). Minimally lower fibrinogen and potassium values at 2x5 mg/kg/day were considered not toxicologically relevant due to lack of correlation with other clinical pathology parameters and with any microscopic finding. At terminal kill, no treatment-related organ weight changes, macroscopic and microscopic findings. Toxicokinetics (Day 6): Plasma AUC_{0-12}: 578, 4980, 35800 ng.hr/mL respectively at 2x0.1, 2x1, 2x5 mg/kg/day					

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/d)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Report No.
Rat/Sprague Dawley	Oral (gavage), twice daily Vehicle: 10% vitamin E TPGS/1% [redacted] in deionized water/suspension	7 or 10 days	0[b], 30, 100, 300, 1000 (2x0, 2x15, 2x50, 2x150, 2x500)	M: 5 + 3 (TK)	2x15	NP41948 AG881-N-011-R1
	Noteworthy findings: Doses of 2x50 mg/kg/day and above exceeded the MTD, leading to mortality at 2x150 and 2x500 mg/kg/day, and to adverse clinical signs, lower body weights (*e.g.*, -20% at 2x50 mg/kg/day) and decreased food consumption (*e.g.*, -75% at 2x50 mg/kg/day): No clinical signs were seen at 2x15 mg/kg/day. From 2x50 mg/kg/day, clinical signs consisted of hypoactivity, impaired equilibrium, dermal atonia, cool body and/or extremities, shallow respiration, partial closure of the eyes, red material around the eye, nose and mouth, diarrhea (severe), soft or small feces, or decreased defecation. From 2x150 mg/kg/day head tilt, tremors, and unkempt appearance were noted. No ophthalmology abnormalities were observed in the examined males at 2x0,2x15, 2x50 or 2x150 mg/kg/day. No hematology or blood chemistry changes were seen at 2x15 mg/kg/day, apart from a statistically significant lower fibrinogen (279.2 vs 344.8 mg/dL in controls). From 2x50 mg/kg/day, signs of hepatic induction (increased ALT, AST, ALP, total bilirubin, cholesterol) were seen together with clinical pathology alterations largely related to hemoconcentration/dehydration (e.g., increased red blood cell parameters), stress (e.g., increased blood glucose, decreased lymphocytes), and decreased food intake (e.g., decreased albumin, globulin, total proteins). Microscopic examination (performed at 2x0, 2x15 and 2x50 mg/kg/day) showed treatment-related findings from 2x15 mg/kg/day, such as hepatocellular hypertrophy (in line with increased liver weight at necropsy and increased liver enzymes, together with minimal hepatocellular necrosis in 2 rats at 2x50 mg/kg/day), epithelial atrophy of the prostate and seminal vesicles (in line with decreased weights from 2x50 mg/kg/day), and minimal acute inflammation (i.e., neutrophil infiltrate) in the middle ear. In addition, tubular degeneration/atrophy in testis (in line with dec weight; together with mild luminal cell debris in epididymis) and minimal multifocal necrosis of the granular cells of the olfactory bulb (brain) were seen at 2x50 mg/kg/day. Other microscopic findings mainly due to poor clinical condition and/or stress were seen at 2x50 mg/kg/day, e.g., lymphoid necrosis or depletion in lymphoid tissues (spleen and thymus in line with dec weight; Peyer's patch, and lymph nodes), secretory granule depletion in adrenal medulla, bone marrow hypocellularity, as well as minimal to mild stomach or duodenal erosion/ulcer and/or inflammation. MTD and NOAEL: 2x15 mg/kg/day, with AUC_{0-12} and C_{max} of 113000 ng.hr/ml and 10500 ng/mL on Day 10.					

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/d)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Report No.
Rat/Sprague Dawley	Oral (gavage), once daily Vehicle 1 (v1): 0.5% MC/1% [redacted]/ 0.1% simethicone in deionized water/suspension Vehicle 2 (v2) 10% vitamin E TPGS/ 1% [redacted]/ 0.1% simethicone in deionized water/suspension	5 (per dose) to 10 days	50-v1/200-v2[c], 100-v1/400-v2[c], 200-v1	M & F: 4 +3 (TK)/sex	100 with vehicle 1 ND with vehicle 2	NP41971 AG881-N-014-R1
	Noteworthy Findings: Vorasidenib dosed with **vehicle 1** was tolerated at 50 and 100 mg/kg/day for 5 days, and at 200 mg/kg/day for 9 days: Clinical signs, such as cool or flushed extremities, dermal atonia, red, yellow and/or brown material of various body surfaces, were seen at 200 mg/kg/day, as well as minimally lower bodyweight on Day 10 [-3.9% (M) and -1.4% (F)] and lower food consumption. After 5 days of dosing, there were no clinical signs, body weight or food consumption changes at 50 and 100 mg/kg/day. Vorasidenib dosed with **vehicle 2** at 200 and 400 mg/kg/day for up to 5 days led to mortalities (F at 200 mg/kg/day, M and F at 400 mg/kg/day) with clinical signs such as tremors, hypoactivity, splayed forelimbs, thinness, prostration, cool body, yellow, red, and/or brown material on various surfaces, decreased defecation, body weight loss [-5.2% and -11.1% (M); -8.8% and-23.9% (F) , respectively at 200 or 400 mg/kg/day] and markedly decreased food consumption at the end of dosing period. Necropsy (on intercurrent mortalities) showed red areas on adrenals or stomach mucosa, small spleen (both doses), and enlarged liver (400 mg/kg/day). Toxicokinetics: Plasma $AUC_{0\text{-}24}$ (Day 0) with **vehicle 1** at 100mg/kg/day: 52700 (M) and 96100 (F) ng.hr/ml (No TK analysis conducted on non-tolerable doses administered with vehicle 2).					

ALP: Alkaline phosphatase; ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; $AUC_{0\text{-}12 \text{ or } 24}$: area under the concentration ×time curve from 0 to 12 or 24 hours; Cmax: Maximum plasma concentration; dec: Decrease ; F: Female; GLP: Good Laboratory Practice; HPMC-AS: hydroxypropylmethyl cellulose (hypromellose) acetate succinate; inc: Increase; M: Male; MTD: Maximal Tolerated Dose; ND: not determined; NOAEL: No Observed Adverse-Effect Level; TPGS: Tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate. TK: Toxicokinetic.
a: 2 control groups received the vehicle with [redacted] as that of the mid or high dose group.
b: 2 control groups received the vehicle with [redacted] as that of the high dose group.
c: After 5 days of daily administration, the doses of 50 and 100 mg/kg/day with vehicle 1 (v1) were stopped, and after a 5-day washout period, rats were re-dosed at 200 or 400 mg/kg/day with vehicle 2 (v2).

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/d)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Report No.
Cynomolgus Monkeys	Oral (nasogastric), once daily Vehicle: 00.5% MC/ 1% [redacted] in deionized water/suspension	up to 10 days	1, 10, 50, 100	M: 3	50	NP41977 AG881-N-010-R1
	Noteworthy Findings: Doses up to 50 mg/kg/day were well tolerated over the 10-day dosing period with clinical signs limited to slight tremors at 50 mg/kg/day. The dose of 100 mg/kg/day induced signs of overt toxicity (ataxia, slight to severe tremors, nystagmus, abnormal pupil dilation, reddened face area, inappetence), one death and moribundity leading to an early termination of this dose (Day 6). Body weight was generally unaffected at all doses. There was no treatment-related change at ophthalmology or urinalysis at any dose. Compared to the low dose of 1 mg/kg/day, the following changes were observed: lower absolute reticulocyte counts at 10, 50, and 100 mg/kg/day (respectively, 63.6, 23.4, 31.3 vs 109.6 $10^3/\mu L$); lower lymphocyte counts, at 50 and 100 mg/kg/day (respectively 2.28 and 3.70 vs 5.65 $10^3/\mu L$); increases in liver enzymes (ALT, AST, GGT) and/or SDH, as well as total bilirubin, from 50 mg/kg/day. Minimal lower mean potassium (3.76 vs 4.37 mEq/L) and higher mean blood glucose (96 vs 74 mg/dL) were also noted at 100 mg/kg/day. Higher mean liver weights at 10 mg/kg/day correlated with hepatocellular hypertrophy at microscopic examination. Higher mean liver weights at 50 and 100 mg/kg/day with liver enzymes (ALT, AST, GGT and/or SDH) and bilirubin elevations together with minimal to mild hepatocellular hypertrophy, and with minimal single cell necrosis for 1/2 surviving males at 100 mg/kg/day. At this high dose, minimal apoptosis was seen in the thymus of 2/3 males, indicative of acute stress. Toxicokinetics: Plasma $AUC_{0\text{-}24}$, end of dosing: 3550, 23000 and 128000 ng.hr/ml, respectively at 1, 10 and 50 mg/kg/day					

AST: Aspartate aminotransferase $AUC_{0\text{-}24}$: area under the concentration ×time curve from 0 to 24 hours; GGT: Gamma glutamyltransferase; [redacted]: [redacted]; M: Male; MC: Methylcellulose; NOAEL: No Observed Adverse-Effect Level; SDH: Sorbitol dehydrogenase

7.　反復投与毒性試験：ピボタル試験

7.1　28 日間ラット反復投与毒性試験

Page 1/13	**Report Title**: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period	**Test Article**: Vorasidenib
Species/Strains: Crl: CD(SD) rats	**Duration of Dosing:** 28 days	**Report No**.: NP41973, AG881-N-012-R1
Initial Age: 7-8 weeks	**Duration of Post-dose:** 14 days	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
	Vehicle/Formulation: 10% vitamin E TPGS/1% [redacted]/ 0.1% simethicone in deionized water/solution	**GLP Compliance:** Yes

Special Features:	- A 2nd vehicle group received the vehicle adjusted with [redacted] excipient load ([redacted]API to excipient load) as the high dose group. - For each toxicology group, 10 M +10F and 5 M +5 F were respectively intended for scheduled necropsy at the end of dosing or recovery period. - Due to 12 gavage error-related deaths in the 100 mg/kg/day female group, all surviving high dose females were terminated early (Days 12 and 13, data not shown). Microscopic examination on selected tissues (lung, trachea, esophagus, thymus, heart, larynx, and pharynx) confirmed the mis gavage-relationship with mortality. Additional 15+3 and 15+9 females (toxicology + toxicokinetic) were respectively assigned to a new vehicle + [redacted] group and a replacement high dose group. - D0 is the first day of treatment. - A modified Irwin Screen was performed on 10 rats/sex/group on Day 0 (before and 4 hours after dosing) and Day 27 (4 hours after dosing). - Whole brains, for analysis of test article concentration were collected from the toxicokinetic animals euthanized *in extremis*, the 2 surviving 100 mg/kg/day group females at early termination (Day 12), and from all toxicokinetic animals at the scheduled kill (Day 27/28).

No Observed Adverse-Effect Level: 30 mg/kg/day; **Severely Toxic dose (STD_{10})**: 100 mg/kg/day

Toxicokinetic groups Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle +[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:3**	**F:3**	**M:3**	**F:(3)3** [a]	**M:9**	**F:9**	**M:9**	**F:9**	**M:9**	**F:9**	**M:9**	**F:9**
Dead / Sacrificed Moribund	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	4 [b]/0	0/0	1 [b]/0	0/0	1 [b]/0	1 [b]/**1**	**1/3**
Toxicokinetics: plasma AUC_{0-24} (ng.hr/mL)												
Day 0	BQL	BQL	BQL	BQL	5910	6900	21900	24400	67500	71200	119000	129000
Day 27	BQL	BQL	BQL	BQL	23400	23900	84800	83900	195000	195000	556000	527000
Toxicokinetics: plasma C_{max} (ng/mL)												
Day 0	BQL	BQL	BQL	BQL	439	479	1620	1650	3430	3500	6850	6020
Day 27	BQL	BQL	BQL	BQL	1360	1330	4400	4900	9930	10100	25800	24700
Bioanalysis- Day 27/28 (sex pooled) **Brain** (ng/g)	2.6		2.39		1090		3590		7470		30000	
Brain to plasma ratio (24hr post dose)	NA		NA		1.13		0.969		0.935		0.965	

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 2/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology Groups												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle +** [redacted]		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15/15** [a]	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**
Noteworthy Findings: dosing period												
Dead/Sacrifice moribund	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1 [b]/0	2 [d]/0
Body Weight (g, %)[e]	417	261	404	256/251	+4.0	+3.5	+5.2	+5.1	+2.5	+7.8	-8.9*	-6.4
Food Consumption (g/day, %)[e]	29	20	28	20/20	0.0	5.0	0.0	5.0	0.0	5.0	14.3**	20.0**
Clinical Observations												
Hypoactivity, ataxia, prostration, excessive chewing of cage, body flat, dermal atonia, thin, cool body or extremities, decreased respiration rate, decreased defecation	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	+[f]
Yellow material on various body surfaces (anogenital area, urogenital area, ventral trunk), and/or brown material on anogenital area.	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	+[f]
Swollen abdominal area	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	+**(d21)**	+**(d16-27)**
Yellow material urogenital area	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	+ **(S)**	+ **(S)**
Observational Assessments and Body temperature (Day 0 and Day 27)	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	-
Modified Irwin Test (Day 0-Day 27)	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 3/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology Groups												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle +** [redacted]		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M: 15**	**F: 15**	**M:15**	**F:15/15** [a,c]	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M:15**	**F:15** [a]
Hematology (Day 28)												
Red blood cells ($10^6/\mu L$)	8.45	8.12	8.57	8.05/8.22	8.43	8.51*	8.49	8.23	**8.29**	7.96	**7.89****	**7.75***
Hemoglobin (g/dL)	16.1	15.5	16.1	15.5/15.5	16.0	16.2*	16.0	15.4	**15.5***	15.3	**14.9****	**14.3****
Hematocrit (g/dL)	47.0	45.3	46.9	45.0/44.1	46.4	46.8*	46.5	44.8	**44.3****	44.0	**42.3****	**40.1****
Absolute reticulocytes ($10^3/\mu L$)	142.9	120.7	140.5	137.6/130.0	137.0	126.8	141.5	150.2	148.8	118.8	**207.1****	**224.9****
Coagulation (Day 28)	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry (Day 28)												
Albumin (g/dL)	3.9	4.1	3.9	4.2/4.3	3.9	4.0	3.9	4.0	4.0	4.2	**4.1****	4.1
Total proteins (g/dL)	6.3	6.7	6.4	6.8/6.7	6.4	6.6	6.5	6.7	6.6	6.9	**6.9****	6.6
Globulins (g/dL)	2.5	2.7	2.5	2.6/2.4	2.5	2.6	2.6	2.7	2.6	2.7	**2.8****	2.5
Total bilirubin (mg/dL)	0.00	0.00	0.00	0.00/0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	**0.07****	0.05**	**0.14****	**0.17****
Direct bilirubin (mg/dL)	0.00	0.00	0.00	0.00/0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08**	0.01	0.18**	**0.20****
Urea nitrogen (mg/dL)	14.2	16.3	14.2	16.2	13.1	15.6	13.5	14.9	13.6	14.8	**17.0****	24.9
Alkaline phosphatase (U/L)	160	119	174	104/110	165	108	183	104	**120***	**71****	**116****	97
Gamma glutamyltransferase (U/L)	0.9	0.8	0.7	0.5/0.1	1.0	0.6	1.2	0.3	1.1	0.6	**6.2****	**12.9****
Cholesterol (mg/dL)	56	68	60	71/57	59	68	60	66	74	**94****	**123****	**143****
Chloride (mEq/L)	104	105	103	105/104	104	103	103	104	102	102**	102**	**99****
Bicarbonate (mmol/L)	27	26	26	26/25	26	27	27	27	28*	28	29*	**30****

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 4/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology Groups												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle +[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F:15/15** [a,c]	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F:15**	**M: 15**	**F:1 5**	**M: 15**	**F:15** [a]
Urinalysis (Day 28)	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology												
Unscheduled Deaths	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 [b]	**2** [d]
Liver: Enlarged	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	**1**	0
Primary Necropsy (Day 28)												
Number Examined	*10*	*10*	*10*	*10/10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*
Liver: Enlarged	0	0	0	0/0	0	0	0	0	0	0	**4**	**1**
Stomach: Thickened	0	0	0	0/0	0	0	0	0	**1**	0	0	0
Stomach: Dark red contents	0	0	0	0/0	0	0	0	0	0	0	0	**1**
Whole Body: Thin	0	0	0	0/0	0	0	0	0	0	0	0	**1**
Spleen: Small	0	0	0	0/0	0	0	0	0	0	0	0	**1**
Thymus: Small	0	0	0	0/0	0	0	0	0	0	0	0	**1**
Prostate: Small	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Seminal Vesicles: Small	0	NA	0	NA	0	NA	**1**	NA	1	NA	3	NA
Organ Weights [e]												
Primary Necropsy (Day 28)												
Final bodyweight (g, %)	396	244	390	241/229	-	-	**-**	**-**	**-**	**-**	**-14.1****	**-9.6***
Liver, absolute (g, %)	13.60	8.61	13.46	8.22/8.15	6.4	9.4	**11.1**	**13.9**	**39.1****	**46.4****	**72.6****	**82.7****
Liver, relative % FBW	3.422	3.532	3.429	3.408/3.557	-	7.6	**11.9***	**11.5****	**40.5****	**41.6****	**102.3****	**101.9****
Kidneys, absolute (g, %)	3.32	1.95	3.31	1.98/1.94	-	-	**-9.1**	**-**	**-12.1***	**-**	**-23.6****	**-16.0****
Kidneys, relative % FBW	0.841	0.803	0.849	0.822/0.844	-	-	**-8.8****	**-**	**-11.7****	**-**	**-10.6****	**-6.4***

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 5/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology Groups												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle+[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15/15[a, c]**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15[a]**
Organ Weights (continued)[e]												
Primary Necropsy (Day 28)												
Spleen, absolute (g, %)	0.80	0.55	0.74	0.52/0.55	-	-	-	7.7	-	7.7	-	**-25.5****
Spleen, relative % FBW	0.201	0.227	0.190	0.213/0.241	-	-	-	6.6	-	-	13.2	**-18.7***
Testes, absolute (g, %)	3.30	NA	3.52	NA	-	NA	-	NA	-	NA	**-12.2****	NA
Testes, relative % FBW	0.842	NA	0.912	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Epididymides, absolute (g, %)	1.00	NA	1.05	NA	-	NA	-	NA	-	NA	**-13.3****	NA
Epididymides, relative %FBW	0.256	NA	0.272	NA	-	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Seminal vesicle/prostate, absolute (g, %)	2.39	NA	2.29	NA	6.6	NA	6.1	NA	7.4	NA	**-38.0****	NA
Seminal vesicle/prostate, relative %FBW	0.607	NA	0.592	NA	-	NA	-	NA	7.1	NA	**-28.2****	NA
Ovaries/oviduct, absolute (g, %)	NA	0.1489	NA	0.138/0.148	NA	-	NA	-	NA	-9.3	NA	**-42.8****
Ovaries/oviduct, relative %FBW	NA	0.061	NA	0.057/0.064	NA	-	NA	-	NA	-12.3*	NA	**-35.9****
Uterus, absolute (g, %)	NA	0.49	NA	0.45/0.64	NA	8.9	NA	13.3	NA	31.1	NA	**-65.6****
Uterus, relative % FBW	NA	0.206	NA	0.187/0.283	NA	-	NA	11.2	NA	28.3	NA	**-62.5****
Pituitary, absolute (g, %)	0.0144	0.0162	0.0127	0.016/0.017	11.8	-	11.8	-	-	-	-14.2	**-35.8****
Pituitary, relative %FBW	0.004	0.007	0.003	0.007/0.008	33.3	-14.3	33.3	-14.3	-	-14.3	-	**-37.5****

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 6/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology Groups												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle+[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15 [a,c,g]**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15 [a]**
Histopathology												
Unscheduled Deaths and Primary Necropsy (Day 28)												
Liver [g]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Hypertrophy, hepatocellular (centrilobular and diffuse)	NA	NA	0	0	0	0	**1**	**3**	**10**	**10**	**11**	**12**
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	3	8	6	0	1
Mild	-	-	-	-	-	-	0	0	2	4	11	10
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	1
Ear, Left Middle [h]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Exudate, luminal Minimal	NA	NA	1	0	**1**	**2**	0	0	0	**3**	**2**	**1**
Infiltrate, neutrophil Minimal	NA	NA	0	0	**1**	**3**	**1**	**1**	0	**3**	**2**	**3**
Macrophages, vacuolated	NA	NA	0	0	**1**	**3**	0	**2**	0	**1**	**1**	**2**
Minimal	-	-	-	-	1	3	-	1	-	1	1	2
Mild	-	-	-	-	0	0	-	1	-	0	0	0
Ear, Right Middle [h]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Exudate, luminal Minimal	NA	NA	0	0	0	0	**1**	0	0	0	**1**	0
Infiltrate, neutrophil	NA	NA	0	0	0	**1**	**2**	0	**1**	0	**2**	0
Minimal	-	-	-	-	-	1	2	-	1	-	1	-
Mild	-	-	-	-	-	0	0	-	0	-	1	-
Macrophages, vacuolated Minimal	NA	NA	1	0	0	0	0	0	1	0	2	0
Skin [g]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Atrophy, adipose tissue	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	**4**
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Moderate or Severe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	3
Hyperplasia, epidermal Minimal	NA	NA	0	1	0	0	0	0	0	0	**5**	**6**
Hyperplasia, sebaceous gland Minimal	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	**2**	**5**

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 7/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology Groups												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle+[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15[a,c,g]**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15[a]**
Histopathology (continued)												
Unscheduled Deaths and Primary Necropsy (Day 28)												
Bone Marrow, Femur/Sternum[h, i]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Hypocellular Minimal/Mild	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**7**
Spleen[h]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Atrophy, red pulp Moderate or Severe	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**2**
Depletion, lymphoid Mild / Moderate	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	**2**
Necrosis, lymphoid Minimal or Mild	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**3**
Thymus[h]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Necrosis, lymphoid Minimal/Severe	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**3**
Peyer's Patch[h]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Depletion, lymphoid Mild/Moderate	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**3**
Necrosis, lymphoid Minimal	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymph Node, Axillary[h]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Depletion, lymphoid Minimal/Moderate	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**3**
Necrosis, lymphoid Minimal	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**2**
Lymph Node, Mandibular[h]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Depletion, lymphoid Minimal/Mild	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**3**
Necrosis, lymphoid Mild	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**2**
Lymph Node, Mesenteric[h]	0	0	10	10	10	10	10	10	10	10	11	12
Depletion, lymphoid Mild	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**2**
Necrosis, lymphoid Mild	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**3**

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 8/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology Groups												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle+[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15[a,c,g]**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15[a]**
Histopathology (continued)												
Unscheduled Deaths and Primary Necropsy (Day 28)												
Stomach, Nonglandular[h]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	11	12
Degeneration, squamous epithelium	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Minimal	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Erosion	0	0	0	0	0	1	0	1	2	1	2	0
Minimal	-	-	-	-	-	1	-	1	2	1	2	-
Hyperplasia, limiting ridge	1	4	2	0	1	3	2	3	**4**	**6**	**4**	2
Minimal	0	2	0	-	1	1	2	1	3	1	3	2
Mild	0	1	1	-	0	2	0	2	0	5	1	0
Moderate	1	1	1	-	0	0	0	0	1	0	0	0
Inflammation, subacute	1	0	1	0	0	1	2	0	1	1	**5**	**2**
Minimal	1	-	1	-	-	1	2	-	1	1	**5**	**2**
Ulceration	1	0	2	0	1	0	0	1	1	3	0	0
Minimal	0	-	2	-	1	-	-	*1*	*0*	*3*	-	-
Mild	1	-	0	-	0	-	-	0	1	0	-	-
Stomach, Glandular[h]	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Edema, submucosal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	**2**	0
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	1	-
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1	-
Erosion Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	**4**	**5**
Infiltrate, inflammatory cells, serosa	0	0	2	2	2	1	1	1	5	3	**1**	**3**
Minimal	-	-	2	2	2	1	1	1	5	3	1	2
Mild	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation, mixed cell	2	2	4	3	2	2	1	4	**5**	2	**8**	**3**
Minimal	2	2	3	3	2	2	1	4	4	2	5	1
Mild	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	3	2

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 9/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology Groups												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle+[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15[a,c,g,f]**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15[a]**
Histopathology (continued)												
Unscheduled Deaths and Primary Necropsy (Day 28)												
Duodenum[h]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Erosion Minimal	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	0
Hyperplasia, mucosal Minimal	NA	NA	1	0	0	0	1	0	0	0	1	**2**
Infiltrate, neutrophil	NA	NA	0	0	0	0	0	0	**1**	**1**	**1**	**3**
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	1	3
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	0
Testes[h]	*0*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*11*	*NA*
Degeneration, tubular Minimal	NA	*NA*	0	*NA*	0	*NA*	0	*NA*	0	*NA*	11	*NA*
Epididymides[h]	*0*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*11*	*NA*
Luminal cell debris Minimal/Mild	NA	*NA*	0	*NA*	0	*NA*	0	*NA*	0	*NA*	11	*NA*
Seminal Vesicles[h]	*0*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*11*	*NA*
Atrophy, epithelial	NA	*NA*	0	*NA*	**0**	*NA*	2	*NA*	10	*NA*	11	*NA*
Minimal	-	-	-	-	-	-	2	-	4	-	5	-
Mild	-	-	-	-	-	-	0	-	6	-	6	-
Prostate[h]	*0*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*11*	*NA*
Atrophy, epithelial	-	-	0	-	0	-	0	-	2	-	11	-
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	3	-
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	8	-

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 10/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology Groups												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle+[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15 [a,c,g]**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15**	**M:15**	**F:15 [a]**
Histopathology (continued)												
Unscheduled Deaths and Primary Necropsy (Day 28)												
Female genital system[j]	*NA*	*0*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*12*
Prolonged diestrus	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	11
Ovaries[h]	*NA*	*0*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*12*
Decreased corpora lutea Minimal/Mild	-	NA	-	0	-	0	-	0	-	0	-	**11**
Increased atretic follicles	-	-	-	0	-	1	-	0	-	0	-	**2**
Minimal	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Mild	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	1
Uterus[h]	*NA*	*0*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*12*
Atrophy Minimal to Severe		NA		0		0		0		0		**11**
Cervix[h]	*NA*	*0*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*12*
Atrophy Mild/Moderate		NA		0		0		0		0		**11**
Mucification Minimal		NA		0		0		0		0		**4**
Vagina[h]	*NA*	*0*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*10*	*NA*	*12*
Atrophy Minimal to moderate		NA		0		0		0		0		**10**
Mucification Minimal	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	**5**
Pituitary[h]	*0*	*0*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*10*	*11*	*12*
Atrophy, pars distalis Minimal/Mild	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**4**

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 11/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Recovery Evaluation												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle+[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5/5[c]**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:4**	**F:3[a]**
Body Weight (g, %)[k]	462	289	424	279/270	10.8	7.9	15.6 **	7.9	7.8	9.7	**-13.0**	**-3.7**
Food Consumption (g/day, %)[k]	30	21	28	21/20	7.1	4.8	10.7	4.8	7.1	9.5	0.0	5.0
Clinical Observations	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Day 42)												
Red blood cells (10^6/µL)	8.91	8.30	8.78	8.10/8.59	8.54	8.06	8.54	8.19	**7.96****	8.36	**8.06****	**8.02**
Hemoglobin (g/dL)	15.7	15.2	16.0	14.8/15.8	15.5	14.7	15.8	15.0	**14.7****	15.0	**14.5****	**14.3**
Hematocrit (g/dL)	47.1	44.6	47.5	43.2/46.5	45.9	42.8	46.3	43.3	**44.0****	43.7	**43.8****	**42.6**
Absolute reticulocytes (10^3/µL)	163.7	148.5	180.1	146.2/171.4	139.9	153.4	158.4	154.6	209.7	155.7	**326.2****	**224.7**
Coagulation (Day 42)	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry (Day 42)												
Albumin (g/dL)	3.8	4.3	3.9	4.3/4.5	3.9	4.3	4.0	4.1	3.9	4.4	**4.1**	4.4
Total proteins (g/dL)	6.4	6.9	6.5	7.0/7.1	6.4	7.0	6.6	6.7	6.5	7.2	**6.8**	7.1
Globulins (g/dL)	2.5	2.6	2.5	2.7/2.6	2.5	2.7	2.6	2.6	2.6	2.8	**2.7**	2.7
Urinalysis (Day 42)	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology (Day 42)	-	-	-	-/-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[k]												
Final bodyweight (g, %)	434	268	397	258/244	11.8	-	15.9	6.6	7.3	8.9	**-6.7**	-
Liver, absolute (g, %)	14.57	8.49	12.73	8.64/7.91	17.0	9.7	18.2	-	15.6	13.8	13.7	**12.9**
Liver, relative % FBW	3.358	3.173	3.203	3.349/3.235	-	-	-	-	7.7	-	**21.7****	**17.7***
Kidneys, absolute (g, %)	3.67	2.09	3.34	2.02/1.97	-	10.9	-	-	-	10.4	**-10.8***	-
Kidneys, relative %FBW	0.846	0.779	0.843	0.784/0.805	-8	-	-12.6**	-	-	-	-	6.9
Epididymides, absolute (g, %)	1.26	NA	1.24	NA	-	NA	-	NA	-8.9	NA	**-19.4****	NA
Epididymides, relative %FBW	0.291	NA	0.313	NA	-10.1	NA	-14.4*	NA	-15.3*	NA	**-13.7**	NA

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 12/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Recovery Evaluation												
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle+[redacted]**		**3**		**10**		**30**		**100**	
Sex: Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5/5[c]**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:4**	**F:3[a]**
Organ Weights (continued)[k]												
Seminal vesicle/prostate, absolute (g, %)	2.79	NA	2.72	NA	7.4	NA	7.0	NA	**-14.7**	NA	**-26.5****	NA
Seminal vesicle/prostate, relative % FBW	0.647	NA	0.690	NA	-4.6	NA	-8.3	NA	**-20.7***	NA	**-21.2***	NA
Ovaries/oviduct, absolute (g, %)	NA	0.1417	NA	0.1393/0.1422	NA	5.4	NA	-1.7	NA	13.4	NA	**-20.1**
Ovaries/oviduct relative % FBW	NA	0.053	NA	0.054/0.058	NA	0.0	NA	-7.4	NA	3.7	NA	**-17.2**
Uterus, absolute (g, %)	NA	0.66	NA	0.50/0.59	NA	26.0	NA	56.0	NA	64.0	NA	**-23.7**
Uterus, relative % FBW	NA	0.249	NA	0.192/0.244	NA	22.9	NA	51.6	NA	50.0	NA	**-20.1**
Pituitary, absolute (g, %)	0.0146	0.0155	0.0136	0.0151/0.0170	16.2	19.9	17.6	6.6	10.3	11.3	0.7	**-13.5**
Pituitary, relative % FBW	0.003	0.006	0.003	0.006/0.007	33.3	16.7	0.0	0.0	33.3	0.0	33.3	**-14.3**
Histopathology												
Recovery Necropsy (Day 42)												
Liver[h]	*0*	*0*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*4*	*3*
Hypertrophy, hepatocellular, centrilobular Minimal	0	0	0	0	0	**1**	0	0	0	**1**	**3**	**1**
Duodenum[hg]	*0*	*0*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*4*	*3*
Hyperplasia, mucosal Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	0
Infiltrate, neutrophil Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	0
Stomach, Glandular[h]	*5*	*5*	*5*	*f*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*4*	*3*
Inflammation, mixed cell Minimal	1	0	1	0	1	0	1	0	1	**2**	**2**	0
Other organs[j]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period（**Page 13/13**）	**Report No.:** NP41973, AG881-N-012-R1	**Test Article**: Vorasidenib

BQL: Below quantification limit; F: female; FBW: Final body weight; [redacted]; M: male; NOAEL: No Observed Adverse-Effect Level; S: sporadic; STD10: Severely Toxic dose; TPGS: Tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate

[a]: Data from original group, replaced high dose females are not shown here;

[b]: Death due to gavage error (Male No: 6334 on day 10);

[c]: Values presented as original / additional females;

[d]: Death of Female (No.: 1285) on day 14 was due to a gavage error; the premature kill on day 12 of F1243 was due to treatment-related poor clinical status; of note, terminal kill F1279 was moribund on Day 28;

[e]: At end of the dosing period (study Day 28), for the vehicle and vehicle + [redacted] control groups, group means are shown; for treated groups, percent differences from the vehicle + [redacted] group are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent difference);

[f]: seen for premature kill of F 1243 and terminal kill F1279;)

[g]: Only additional females microscopically examined;

[h]: number of tissues examined;

[i]: Incidence reflects change in both sternum and femur, change counted once/rat with the highest grade presented;

[j]: for the female genital tract, global evaluation of ovaries, uterus, cervix, and vagina led to lack of regular estrous cycle and prolonged diestrus in the high dose female group, mainly due to uterine atrophy, cervix atrophy and vaginal epithelium atrophy.

[k]: At end of the recovery period (study day 42). For the vehicle and vehicle + [redacted] control groups, group means are shown. For the test article-treated groups, percent differences from the vehicle + [redacted] group are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

*[*]: p<0.05 and **: p<0.01 when compared to the vehicle + [redacted] group using Dunnett's test or 2-sample t-test, as appropriate.*

-: No noteworthy finding; +: present; bold: treatment-related change/finding

7.2　13 週間ラット反復投与毒性試験

Page (1/9)	Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period	Test Article: Vorasidenib

Species/Strains: Sprague Dawley rats		**Duration of Dosing:** 13 weeks	**Report No.:** NP41974, AG881-N-056
Initial Age: 8 weeks		**Duration of Post-dose:** 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		**Method of Administration:** Oral gavage	
		Vehicle/Formulation: 10% vitamin E TPGS/1% [redacted]/ 0.1% simethicone in Ultra-Pure Water	**GLP Compliance:** Yes
Special Features:	- Control group received the vehicle with [redacted] as the high dose group. - For each toxicology group, 15M +15F and 5M +5F were respectively intended for scheduled necropsy at the end of dosing or recovery period (Day 92 or Day 120). - Brain samples, for analysis of test article concentration were collected from all toxicokinetic animals at the end of dosing period (Day 91)		
No Observed Adverse-Effect Level: not identified (minimal changes at 5mg/kg/day); **Maximal Tolerated Dose (MTD)**: 15 mg/kg/day			
Toxicokinetic groups			

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**50**	
Sex: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Died or Euthanized Moribund (Day 49 or 54)	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**3**
Toxicokinetics: Plasma $AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng.hr/mL)								
Day 1	BQL	BQL	10300	11800	30700	36700	99700	108000
Day 91	BQL	BQL	87900	77200	214000	228000	518000	480000
Toxicokinetics: Plasma C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	709	790	2120	2410	4320	4930
Day 91	BQL	BQL	4620	4330	10800	11900	24600	25400
Bioanalysis (24 hr post-dose)								
Brain (ng/g)	BQL	BQL	3173	2287	7443	5559	14156	16850
Brain to plasma ratio	NA	NA	0.878	0.732	0.847	0.604	0.664	0.835

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period（**Page 2/9**）	**Report No.**: NP41974, AG881-N-056	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**50**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M:15+5**	**F:15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**
Noteworthy findings								
Died or Euthanized Moribund (Day 49 to 90)	0	0	0	0	0	0	4	2
Body Weight (g, %) [a], Day 91	768.7	383.3	752.9	398.3	656.4	374.3	524.8 **	300.6 **
Food Consumption (g, %) [a]								
Days 28 to 35	42.01	24.83	38.18	24.43	35.62	25.42	34.13	22.89
Days 84 to 91	37.05	22.07	35.43	23.42	34.53	24.46	28.61	24.18
Clinical Observations [b]								
Breathing, shallow	-	-	-	1(3)	-	4(7)	3(7)	10(18)
Respiratory rate, abnormal	-	-	-	1(3)	-	4(7)	3(7)	6(13)
Hunched posture	-	-	-	1(1)	-	4(4)	18(39)	17(45)
Backbone prominent	-	-	-	-	8(23)	3(6)	19(93)	20(109)
Decreased muscle tone, hindlimbs	-	-	-	-	-	5(6)	18(62)	17(61)
Limited usage, hindlimbs	-	-	-	-	-	-	6(21)	3(3)
Thin	-	-	-	-	-	-	16(67)	17(128)
Abnormal gait	-	-	-	-	-	-	14(50)	9(29)
Low carriage	-	-	-	-	-	-	3(7)	-
Ophthalmology (Week 13)	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation – Day 92	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology – Day 92								
White Blood Cells (10^3/µL)	11.54	5.43	-	-	13.53	-	13.74	-
Neutrophils (10^3/µL)	2.00	0.77	-	-	-	-	1.64	-
Lymphocytes (10^3/µL)	8.82	4.32	-	5.55	10.54	5.58	11.39*	6.17*

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period（**Page 3/9**）	**Report No.**: NP41974, AG881-N-056	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**50**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M:15+5**	**F:15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**
Hematology – Day 92 (cont'd)								
Red Blood Cells ($10^6/\mu L$)	8.29	8.08	-	-	7.86 **	7.70*	7.70**	7.89
Hemoglobin (g/dL)	14.13	14.35	-	-	13.8	13.8**	12.9**	13.7**
Hematocrit (%)	43.13	42.78	-	-	41.6*	40.8**	39.5**	40.6**
Serum Chemistry – Day 92								
Alkaline Phosphatase (U/L)	86.47	38.67	-	-	73.20	-	52.25**	33.00
Total Bilirubin (mg/dL)	0.06	0.05	-	-	-	-	0.187**	0.103**
Urea (mg/dL)	13.87	15.40	-	-	-	-	11.42**	13.08
Creatinine (mg/dL)	0.37	0.45	-	-	-	0.37*	0.33	0.32**
Glucose (mg/dL)	231.80	-	-	-	207.07	-	164.50**	-
Triglycerides (mg/dL)	123.07	104.73	80.87	85.20	75.07*	81.60	39.67**	53.77*
Globulins (g/dL)	-	2.01	-	-	-	2.26**	-	2.46**
Phosphorus (mg/dL)	-	5.84	-	-	-	-	-	6.45
Urinalysis: Volume (mL)								
Week 14, main rats	19.30	10.93	-	-	36.14**	19.79	53.18**	32.45**
Urine Chemistry – Day 92								
Fractional sodium excretion (%)	0.15	0.15	-	-	-	-	0.293**	0.23*
Fractional chloride excretion (%)	0.24	0.24	-	-	-	0.37**	0.41**	0.39**
Fractional potassium excretion (%)	9.18	12.33	-	16.42*	-	17.97**	11.70**	16.46*
Fractional calcium excretion (%)	0.17	0.52	-	-	-	-	1.93	2.51
Organ Weight (g, %) [a] **– End of dosing period** *(No. evaluated)*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*12*	*13*
Final bodyweight	768.7	383.3	-2.1	3.9	-14.6**	-2.3	-31.7**	-21.6**
Liver, absolute	20.94	9.73	-	17.9 A	5.7	36.0**	17.6**	52.8**
Liver, relative % FBW	2.707	2.539	-	14.0	24.3**	39.6**	73.3**	95.4**
Testis, absolute	4.21	NA	-	NA	-	NA	-16.3**	NA
Testis, relative % FBW	0.554	NA	-	NA	13.5*	NA	21.9**	NA

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period（**Page 4/9**）	**Report No.**: NP41974, AG881-N-056	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**50**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M:15+5**	**F:15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**
Organ Weight (g, %) [a] – End of dosing period *(No. evaluated)* **(cont'd)**	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*12*	*13*
Epididymis, absolute	1.59	NA	-	NA	-	NA	19.1 B	NA
Prostate, absolute	1.62	NA	-8.9	NA	-13.4	NA	-35.8**	NA
Prostate, relative % FBW	0.214	NA	-8.2	NA	-	NA	-6.7	NA
Ovary, absolute	NA	0.099	NA	-	NA	-	NA	-23.5
Ovary, relative % FBW	NA	0.0259	NA	-	NA	-	NA	-
Gross Pathology								
Number examined **(Main + Mortality)**	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*16*	*15*
Whole Animal, small	0	0	0	0	0	0	6	2
Muscle, Skeletal, small	0	0	0	0	1	2	13	11
Seminal Vesicles, small	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Prostate, small	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Ovary, small	NA	0	NA	0	NA	3	NA	7
Histopathology (Main + Mortality)								
Liver *(No. examined)*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*16*	*15*
Hypertrophy, hepatocellular	0	0	9	2	15	11	16	13
Minimal	-	-	7	2	4	11	-	8
Mild	-	-	2	-	7	-	4	5
Moderate	-	-	-	-	4	-	12	-
Vacuolation, hepatocyte, periportal/midzonal	5	6	10	4	11	3	12	1
Minimal	5	6	10	4	11	3	10	1
Mild	-	-	-	-	-	-	2	-
Kidneys *(No. examined)*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*12*	*13*
Degeneration, tubule	0	0	0	1	0	2	3	14
Minimal	-	-	-	1	-	2	3	13
Mild	-	-	-	-	-	-	-	1

Pigment, brown, tubular	1	0	1	13	4	15	12	12
Minimal	1	-	1	13	4	15	11	11
Mild	-	-	-	-	-	-	1	1

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period（**Page 5/9**）	**Report No.**: NP41974, AG881-N-056	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**50**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M:15+5**	**F:15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**
Histopathology (Main + Mortality) (cont'd)								
Kidneys *(No. examined)* (cont'd)	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*16*	*15*
Infiltrate, mixed cell, renal pelvis	0	1	0	1	0	5	0	7
Minimal	-	1	-	1	-	4	-	1
Mild	-	0	-	0	-	1	-	6
Urinary bladder *(No. examined)*	*15*	*15*	*0*	*15*	*0*	*15*	*16*	*15*
Infiltration, mixed inflammatory cell, submucosa, Minimal to moderate	0	0	-	0	-	0	0	6
Skeletal muscle (No. examined)	15	15	15	14	15	15	16	14
Atrophy, neurogenic [c]	0	0	8	5	15	15	15	14
Minimal	-	-	8	5	8	4	2	0
Mild or moderate	-	-	-	-	7	11	13	14
Testis (No. examined)	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*16*	*NA*
Degeneration, tubule	0	-	10	-	11	-	10	-
Minimal	-	-	10	-	11	-	3	-
Mild	-	-	-	-	-	-	7	-
Degeneration/atrophy, tubule	0	-	2	-	0	-	6	-
Minimal	-	-	1	-	-	-	-	-
Mild or moderate	-	-	1	-	-	-	6	-
Epididymis *(No. examined)*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*16*	*NA*
Cell debris, lumen	0	-	0	-	4	-	16	-
Minimal	-	-	-	-	4	-	11	-
Mild or moderate	-	-	-	-	-	-	5	-

Prostate *(No. examined)*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*16*	*NA*
Inflammation, mixed cell, dorsal prostate	2	-	2	-	4	-	13	-
Minimal	2	-	1	-	4	-	7	-
Mild	-	-	1	-	-	-	6	-

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period（**Page 6/9**）	**Report No.**: NP41974, AG881-N-056	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**50**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M:15+5**	**F:15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**
Histopathology (Main + Mortality) (cont'd)								
Prostate (No. examined) (cont'd)	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*16*	*NA*
Atrophy	0	-	2	-	8	-	15	-
Minimal	-	-	2	-	4	-	5	-
Mild	-	-	0	-	4	-	10	-
Seminal Vesicles *(No. examined)*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*16*	*NA*
Atrophy	0	-	3	-	6	-	16	-
Minimal or mild	-	-	3	-	6	-	5	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	11	-
Female genital system *(No. examined)*	*NA*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*15*	*NA*	*15*
Persistent Estrus[d]	-	0	-	4	-	9	-	10
Mammary Gland (No. examined)	14	15	15	0	13	0	14	15
Atrophy Minimal or mild	2	4	1	-	3	-	4	6
Stomach, Glandular (*No. examined*)	*15*	*15*	*15*	*0*	*15*	*0*	*16*	*15*
Erosion/ulcer, pylorus Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Heart *(No. examined)*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*16*	*15*
Degeneration/necrosis, media or wall, artery Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Vacuolation, cardiomyocyte Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Skin *(No. examined)*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*	*15*
Hyperplasia, epidermis	0	1	2	2	2	1	8	3
Minimal	-	1	1	2	2	1	2	2
Mild or moderate	-	-	1	-	-	-	6	1

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period（**Page 7/9**）	**Report No.**: NP41974, AG881-N-056	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**50**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M:15+5**	**F:15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**
Post-dose Evaluation (Recovery)								
Body Weight (g, %) [a] - Day 120	732.6	398.8	-	-	-	-	-12.3*	-21.6*
Hematology – Day 120								
Neutrophils ($10^3/\mu L$)	1.35	0.82	-	-	1.078	-	0.788	0.562
Serum Chemistry – Day 120								
Alkaline Phosphatase (U/L)	82.20		67.00	-	72.40	-	75.50	-
Urea (mg/dL)	13.80		-	-	-	-	9.50**	-
Creatinine (mg/dL)	0.38		-	-	-	-	0.30	-
Glucose (mg/dL)	274.20		218.40	-	215.40	-	207.75	-
Phosphorus (mg/dL)	6.46	5.94	-	7.02	7.48	6.86	7.43	6.64
Urinalysis: Volume (mL)								
Week 18	11.30	-	-	-	34.88	-	34.50	-
Urine Chemistry – Day 120								
Fractional chloride excretion (%)	0.17	0.19	-	-	-	0.34	-	0.25
Fractional potassium excretion (%)	8.96	14.70	-	-	11.98	-	12.82	-
Organ Weight (g, %) [a] (*No. evaluated*)	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*4*	*5*
Final body weight	732.6	398.8	-	-	-	-	-12.3*	-21.6*
Liver, absolute	17.00	10.69	-	-	30.8**	23.3	18.4	-
Liver, relative %FBW	2.322	2.672	-	-	23.7**	19.2	34.7**	28.1**
Testis, absolute	4.19	NA	-	NA	-	NA	-12.1*	NA
Testis, relative %FBW	0.575	NA	-	NA	-	NA	-	NA
Epididymis, absolute	1.57	NA	-	NA	-	NA	-16.3	NA
Epididymis, relative %FBW	0.215	NA	-	NA	-11.8	NA	-	NA
Prostate, absolute	1.78	NA	-12.1	NA	-15.9	NA	-15.8	NA
Prostate, relative %FBW	0.245	NA	-14.0	NA	-21.3	NA	-	NA
Gross Pathology (*No. examined*)	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*4*	*5*
Muscle, Skeletal, small	0	1	0	0	1	1	3	4
Whole Animal, small	0	0	0	0	0	0	1	1

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period（**Page 8/9**）	**Report No.**: NP41974, AG881-N-056	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**50**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M:15+5**	**F:15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**	**M: 15+5**	**F: 15+5**
Post-dose Evaluation (Recovery, cont'd)								
Histopathology								
Kidneys (*No. examined*)	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*4*	*5*
Degeneration, tubule Minimal	0	1	0	1	0	2	0	5
Pigment, brown, tubular	0	0	2	3	3	5	4	5
Minimal	-	-	2	3	3	5	2	5
Mild	-	-	-	-	-	-	2	-
Liver (*No. examined*)	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*4*	*5*
Hypertrophy, hepatocyte Minimal or mild	0	0	0	0	4	2	3	1
Skeletal Muscle (*No. examined*)	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*4*	*5*
Atrophy, neurogenic	0	0	0	0	5	5	4	5
Minimal or mild	-	-	-	-	5	5	1	3
Moderate	-	-	-	-	-	-	3	2
Testis (*No. examined*)	*5*	*NA*	*5*	*NA*	*5*	*NA*	*4*	*NA*
Degeneration, tubule Minimal	0		4		5		4	
Epididymis (*No. examined*)	*5*	*NA*	*5*	*NA*	*5*	*NA*	*4*	*NA*
Cell debris, lumen Minimal	0	-	0	-	2	-	1	-
Prostate (No. examined)	*5*	*NA*	*5*	*NA*	*5*	*NA*	*4*	*NA*
Inflammation, mixed cell Minimal or mild	1	-	2	-	3	-	2	-
Atrophy Minimal	0	-	0	-	1	-	1	-
Mammary Gland (*No. examined*)	*3*	*5*	*5*	*0*	*4*	*2*	*3*	*5*
Atrophy Minimal or mild	0	0	1	NA	1	0	1	0
Female genital system (*No. examined*)	*NA*	*5*	*NA*	*5*	*NA*	*5*	*NA*	*5*
Persistent estrus [d]	-	1	-	1	-	3	-	1
Estrous cycle phase: Not determined	-	0	-	0	-	0	-	1

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period（**Page 9/9**）	**Report No.**: NP41974, AG881-N-056	**Test Article**: Vorasidenib

BQL: Below quantification limit; F: female; FBW: Final body weight; [redacted]; M: male; NOAEL: NA: not applicable; No Observed Adverse-Effect Level; STD_{10}: Severely Toxic dose; TPGS: Tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate
[a]: for controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown.
[b]: Number of animals (Number of observations).
[c]: often, small nerve branches within the affected muscle section showed axonal atrophy, myelin digestion chambers and/or dilated myelin sheaths.
[d]: characterized at microscopic examination within ovaries, decreased number/absent corpora lutea and/or increased number of atretic follicles; in uterus, epithelium hypertrophy and squamous metaplasia (high dose only); in cervix and/or vagina: epithelium hyperplasia.
*Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). Significantly different from control group (Group 1) value: * - $p \leq 0.05$; ** - $p \leq 0.01$ (Dunnett's or Dunn's test)*
-: no noteworthy findings

7.3　28 日間カニクイザル反復投与毒性試験

Report Title: A 28-Day Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Cynomolgus Monkeys with a 14-Day Recovery Period (**Page 1/5)**									**Test Article**: Vorasidenib	
Species/Strains: Cynomolgus monkeys		**Duration of Dosing:** 28 or 29 days						**Report No.:** NP41976, AG881-N-013-R1		
Initial Age: 2-4 years old		**Duration of Post dose:** 14 days								
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]		**Method of Administration:** Oral (nasogastric intubation)								
		Vehicle/Formulation: 10% vitamin E TPGS/1% [redacted]/ 0.1% simethicone in deionized water/solution						**GLP Compliance:** Yes		
Special Features:	- A second control group received the vehicle adjusted for [redacted] excipient load ([redacted] API excipient load) as the high dose group. - A cardiovascular safety assessment was performed on Day 25. - Due to signs of excessive toxicity, one female (No.: 8234) given 40 mg/kg/day received the last dose on Day 14, and was transferred to a 14-day recovery period on Day 15, with a scheduled kill on Day 29; due to treatment-related mortalities (2 males, 1 female) at the high dose (40 mg/kg/day), no other high dose monkeys were kept for the recovery period - At necropsy, the skull was sampled for histology process and microscopic examination of the middle/inner ear. In addition, a sample of the brain was collected from all monkeys killed either *in extremis* or at the end of dosing or recovery period for test article concentration determination.									
Highest Non-Severely Toxic Dose (HNSTD): 10 mg/kg/day										
Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle +** [redacted]		**3**		**10**		**40[a]**	
Sex: Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Toxicokinetics: plasma $AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng.hr/mL)										
Day 0	BQL	BQL	BQL	BQL	4830	3370	12400	12700	50000	50700
Day 27	BQL	BQL	BQL	BQL	11400	7290	34600	43900	96300	87000
Toxicokinetics: plasma C_{max} (ng/mL)										
Day 0	BQL	BQL	BQL	BQL	599	468	1520	1260	2910	2820
Day 27	BQL	BQL	BQL	BQL	975	652	2580	3550	13400	12100
Bioanalysis (sex pooled) **Brain - Day28/29** (ng/g)	1.27 to 8.62		1.58 to 4.67		738		2960		13300	
Brain to plasma ratio (24hr post-dose)	NA		NA		2.43		1.97		1.25	
Brain (ng/g)**-end Recovery**	0.28 to 0.57		0.26 to 0.34		10.8		27.8		64.1	

Report Title: A 28-Day Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Cynomolgus Monkeys with a 14-Day Recovery Period（**Page 2/5**）	**Report No**.: NP41976, AG881-N-013-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle+[redacted]**		**3**		**10**		**40[a]**	
Sex: Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Noteworthy Findings										
Dead/Sacrificed moribund	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0[b]	0/2[b]	0/1[b]
Body Weight – Day 27 (g, %)[b]	2921	2736	2814	2708	-0.14%	-1.6%	-2.6	1.9	-2.0	-3.9
Clinical Observations										
Tremors, ataxia, impaired equilibrium, inappetence, reddened area(s) on various body surfaces, brown material on the anogenital area	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Dermal atonia	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Head tilt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Thin body	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Desquamation on various body surfaces	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Hematology - Day 28/29										
Absolute reticulocytes ($10^3/\mu L$)	51.2	57.1	49.9	68.2	51.6	51.8	52.0	49.2	48.3	**39.3**
Coagulation - Day 28/29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry - Day 28/29										
Alanine aminotransferase (U/L)	53	71	63	67	83	83	**156****	100	**124**	**209****
Gamma glutamyltransferase (U/L)	63.8	57.2	60.8	44.2	54.4	56.0	**167.0***	**125.0**	**243.7****	**388.0****
Sorbitol dehydrogenase (U/L)	3	4	2	5	3	3	8	5	**12***	8*
Triglycerides (mg/dL)	41	38	34	37	50	44	48	41	**138***	89**
Urinalysis -Day 28/29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology - Day 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography - Day 25										
Prolongation of QTc (incidence)	-	-	-	-	-	-	-	-	+ (1/4[d])	-

Report Title: A 28-Day Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Cynomolgus Monkeys with a 14-Day Recovery Period（**Page 3/5**）	**Report No**.: NP41976, AG881-N-013-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle +** [redacted]		**3**		**10**		**40[a]**	
Sex: Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Gross Pathology- Primary Necropsy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights- Primary Necropsy[c]										
Liver, absolute (g, %)	59.36	48.79	50.41	50.98	13.5	13.6	**33.5***	**39.1**	**79.7****	**68.3****
Liver, relative % bodyweight	2.094	1.980	1.860	2.016	15.2	9.3	**38.7****	**28.5**	**79.7****	**65.3****
Thymus, absolute (g)	2.09	1.45	1.93	2.05	-19.7	19.5	-	-38.0	**-57.0**	**-59.0**
Thymus, relative % bodyweight	0.076	0.059	0.072	0.080	-19.4	17.5	-	-41.3	**-58.3**	**-60.0**
Histopathology - Unscheduled Deaths										
Number Examined	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*2*	*1*
Liver: Hypertrophy, Hepatocellular	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	**1**	**2**	**1**
Mild	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Adrenal Cortex: Decreased Vacuolation, Zona Fasciculata	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	**2**	**1**
Mild	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	**2**	**1**
Bone marrow, Sternum: Depletion										
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	-	**1**	**1**
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
Bone marrow, Sternum: Necrosis Mild	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	**1**	0
Thymus: Depletion, Lymphoid	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	**2**	**1**
Mild	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-

Report Title: A 28-Day Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Cynomolgus Monkeys with a 14-Day Recovery Period（**Page 4/5**）	**Report No**.: NP41976, AG881-N-013-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle +** [redacted]		**3**		**10**		**40[a]**	
Sex: Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Histopathology - Primary Necropsy										
Number Examined	*3*	*3*	*3*	*3*	*3*	*3*	*3*	*2*	*3*	*3*
Liver: Hypertrophy, hepatocellular	0	0	0	0	0	0	**2**	**2**	**3**	**3**
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	1	0	0
Mild	-	-	-	-	-	-	1	1	3	3
Adrenal Cortex: Decreased Vacuolation, Zona Fasciculata	0	0	0	0	0	0	1	1	**2**	**3**
Mild	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
Bone marrow, Sternum: Depletion Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**
Thymus: Depletion, Lymphoid	1	2	0	2	0	1	1	1	**3**	2
Minimal	1	1	-	2	-	1	1	1	1	1
Mild	-	1	-	-	-	-	-	-	2	1
Recovery Evaluation										
Number Evaluated	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*0*	*1[a]*
Body Weight (g, %) [d]	2832	3057	2892	2810	-	-5.8	-	-	NA	NA
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	-
Hematology - Day 42/43 or 29 [e]										
Absolute reticulocytes ($10^3/\mu L$)	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	**118.4**
Coagulation - Day 42/43 or 29[e]	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	-
Serum Chemistry - Day 42/43 or 29[e]										
Gamma glutamyltransferase (U/L)	53.5	66.5	64.5	33.5	52.0	52.0	**89.5**	**127.0**	NA	**89.0**

Report Title: A 28-Day Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-23088 in Cynomolgus Monkeys with a 14-Day Recovery Period（**Page 5/5**）	**Report No**.: NP41976, AG881-N-013-R1	**Test Article**: Vorasidenib

Daily Dose (mg/kg)	**Vehicle**		**Vehicle +** [redacted]		**3**		**10**		**40[a]**	
Sex: Number of Animals	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**	**M:5**	**F:5**
Gross Pathology - Recovery										
Number evaluated	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*0*	*1*
Thymus: Small	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	**1**
Organ Weights – Recovery[d]										
Thymus, absolute (g, %)	2.68	1.96	3.16	1.79	-25.3	11.7	-27.5	46.9	NA	**-85.5**
Thymus, relative % bodyweight	0.100	0.066	0.114	0.064	-26.3	23.4	-27.2	50.0	NA	**-82.8**
Histopathology -Recovery										
Number Examined	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*2*	*0*	*1*
Adrenal Cortex: Decreased Vacuolation, Zona Fasciculata										
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	**1**
Thymus: Depletion, Lymphoid	0	2	0	2	1	2	0	1	NA	**1**
Minimal or Mild	-	2	-	2	1	2	-	1	NA	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	1

BQL: Below quantification limit; F: female; FBW: Final body weight; HNSTD: Highest Non-Severely Toxic Dose; [redacted]*;*
M: male; NA: not applicable; No Observed Adverse-Effect Level; STD_{10}: Severely Toxic dose; TPGS: Tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate
-: No noteworthy findings; ***Bold: treatment-related change/finding****.*
[a]: Due to signs of excessive toxicity, female no. 8234 (40 mg/kg/day group) was transferred to recovery on study day 15 after dosing was terminated on study day 14
[b]: Male nos. 8212 and 8209 (40 mg/kg/day group) euthanized in extremis on study day 12 and 14, respectively, and female no. 8238 (40 mg/kg/day group) euthanized in extremis on study day 12. Female no. 8262 (10 mg/kg/day group) found dead on study day 27 (determined to be due to a gavage error).
[c]: for the vehicle and vehicle + [redacted] *control groups, group means are shown; for the dosed groups, percent differences from the vehicle +* [redacted] *group are shown*
[d]: At end of the recovery period (study day 41). For the vehicle and vehicle + [redacted] *control groups, group means are shown. For the test article-treated groups, percent differences from the vehicle +* [redacted] *group are shown,*
[e]: Data from 40 mg/kg/day group female no. 8234 transferred to recovery on study day 15.
*Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences); *: $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the vehicle +* [redacted] *group using Dunnett's test or 2-sample t-test, as appropriate.*

7.4　13 週間カニクイザル反復投与毒性試験

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period (**Page 1/5)**							**Test Article**: Vorasidenib	
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus		**Duration of Dosing**: 13 weeks					**Report No.:** NP41981, AG881-N-057	
Initial Age: 2.5 to 4.0 years		**Duration of Post-dose**: 4 weeks						
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		**Method of Administration**: Oral (gavage), once daily					**GLP Compliance**: Yes	
		Vehicle/Formulation: Vehicle: 10% Vitamin E TPGS, 1% [redacted] (MF, mid fine), and 1% simethicone in deionized water/ solution						
Special Features:	- The control group received [redacted] excipient load ([redacted] API excipient load) as the high dose group. - Doses were administered by once daily oral gavage 7 days a week for 13 weeks except for Day 64/63 (males/females), due to vehicle preparation issues. This dosing holiday had no impact on the overall study integrity considering the dosing frequency and the dosing period length, and that there was no toxicokinetic sampling around the dosing holiday.							
No-Observed-Effect Level (NOEL): 2 mg/kg/day; **Maximum Tolerated Dose (MTD)**: 6 mg/kg/day								
Toxicokinetic groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**		**2**		**6**		**20**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M:4+2**	**F:4+2**	**M:4+2**	**F:4+2**	**M:4+2**	**F:4+2**	**M:4+2**	**F:4+2**
Toxicokinetics: Plasma AUC_{0-24} (ng.h/mL)								
Day 1	BQL	BQL	3530	3850	14600	11800	44800	48400
Day 91	BQL	BQL	5240	8340	26400	26600	192000	221000
Toxicokinetics: Plasma C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	419	419	1370	1180	3500	3580
Day 91	BQL	BQL	457	624	1800	1930	13500	13300
Bioanalysis (sex pooled) **Brain[a] (ng/g)**								
Day 92	BQL		312	423	1300	1400	7980	9500
Day 120	BQL		288	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Cynomolgus Monkeys with a 4 Week Recovery Period（**Page 2/5**）	**Report No**.: NP41981, AG881-N-057	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**		**2**		**6**		**20**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1, (D51)	0
Clinical Observations (onset before premature kill)								
Tremors, head tilt, ataxia, moderate dehydration, delayed capillary refill time, pale mucous membrane, auscultation-muffled heart sounds, inspiratory click sound on right side, crackles in both chest sides, left chest sounds muffled, abdomen painful/soft on palpation and enlarged liver extending below the rib cage.	-	-	-	-	-	-	+[b] (D51)	-
Body Weights & Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiogram	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Red Blood Cells (106/µL)								
Day 59/60	5.85	5.64	6.00	5.71	5.71	5.55	5.55	5.42
Day 85	5.84	5.51	6.04	5.53	5.73	5.55	5.63	5.32
Hemoglobin (g/dL)								
Day 59/60	13.83	13.87	14.42	13.83	13.82	13.67	12.74	12.53*
Day 85	13.82	13.67	14.50	13.53	13.87	13.78	12.80	12.32*
Platelets (10^6/µL)								
Day 59/60	411.8	383.3	386.0	364.7	367.5	434.7	563.8**	558.7**
Day 85	441.0	361.8	392.7	375.7	375.3	407.5	525.8	512.2*
Coagulation								
Fibrinogen (mg/dL)								
Day 59/60	272.2	253.3	233.3	240.0	217.3*	195.8*	204.0**	189.5**
Day 85	247.8	249.7	290.8	237.7	217.3	182.5**	209.2	181.5**

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Cynomolgus Monkeys with a 4 Week Recovery Period（**Page 3/5**）	**Report No**.: NP41981, AG881-N-057	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**		**2**		**6**		**20**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**
Clinical Chemistry								
Alanine aminotransferase (U/L)								
Day 59/60	41.8	35.8	45.8	60.3	116.7*	82.8	103.6**	167.0**
Day 85	41.7	34.5	39.8	53.8	146.0	90.7*	152.4*	211.0**
Aspartate aminotransferase (U/L)								
Day 59/60	46.3	41.0	43.0	38.8	48.7	43.7	45.4	56.8
Day 85	43.7	35.5	34.5	45.8	48.8	39.5	58.0	70.5**
Alkaline phosphatase (U/L)								
Day 59/60	630.5	358.7	732.0	416.8	666.2	392.2	403.4	274.2
Day 85	620.2	334.0	727.5	394.8	662.2	386.5	408.6	258.0
Gamma glutamyl transferase (U/L)								
Day 59/60	82.7	47.8	84.0	74.0	141.8	163.5*	286.0**	574.8**
Day 85	82.5	44.7	85.3	70.3	145.8	153.2*	289.2*	559.8**
Triglycerides (mg/dL)								
Day 59/60	49.5	43.2	53.5	44.7	38.0	43.3	135.6	243.8*
Day 85	72.8	90.2	63.5	69.3	65.0	61.3	155.0	380.5
Globulins (g/dL)								
Day 59/60	2.63	2.48	2.42	2.75	2.63	2.58	3.22	3.00
Day 85	2.52	2.47	2.42	2.75	2.65	2.62	3.36*	3.12**
Albumin (g/dL)								
Day 59/60	4.23	4.18	4.43	4.48	4.77*	4.53	4.64	4.68*
Day 85	4.27	4.18	4.63	4.30	4.80	4.55	4.46	4.62*
Urinalysis & Urine Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology- Unscheduled death *(Number Examined)*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*
Abdominal and thoracic cavity fluid accumulation, enlarged heart, enlarged, and pale tan liver[b]	-	-	-	-	-	-	+	-

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Cynomolgus Monkeys with a 4 Week Recovery Period（**Page 4/5**）	**Report No**.: NP41981, AG881-N-057	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**		**2**		**6**		**20**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**
Terminal Necropsy - Day 92 (Number Examined)	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**3**	**4**
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights [c]								
Liver, absolute (g)	56.7	50.8	-	13.2	37.0*	27.8	64.4***	83.7***
Liver, relative % body weight	2.02	2.01	-	14.4	42.4**	31.0*	82.2**	93.2**
Histopathology – Unscheduled death Number Examined	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver: degeneration and necrosis, mainly centrilobular Moderate	-	-	-	-	-	-	1[e]	-
Thymus: decreased lymphoid cellularity Moderate	-	-	-	-	-	-	1	-
Heart: Fibrosis, Moderate; Epicardial and pericardial inflammation, Marked	-	-	-	-	-	-	1	-
Histopathology - Day 92 *Number Examined*	*4*	*4*	*4*	*4*	*4*	*4*	*3*	*4*
Liver								
Kupffer cell hyperplasia Minimal	0	0	0	0	0	0	3	3
Hypertrophy, hepatocellular	0	0	0	0	4	4	3	4
Minimal	-	-	-	-	2	2	2	1
Mild	-	-	-	-	2	2	1	3

Report Title: A 13-Week Toxicity Study of AG-881 Given by Oral Gavage to Cynomolgus Monkeys with a 4 Week Recovery Period（**Page 5/5**）	**Report No**.: NP41981, AG881-N-057	**Test Article**: Vorasidenib

Toxicology groups								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**		**2**		**6**		**20**	
Sex: Number of Animals (Main + Recovery)	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**	**M: 4+2**	**F: 4+2**
Post dose evaluation Number evaluated	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology - Day 120	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[c]- Day 120								
Liver, absolute (g, %)	54.9	44.9	-	-	-	-	19.7	-
Liver, relative to % body weight	1.89	1.80	-	-	-	-	23.0	-
Histopathology – Day 120								
Liver								
Kupffer cell hyperplasia	0	0	0	0	0	1	2	2
Minimal	-	-	-	-	-	1	2	1
Mild	-	-	-	-	-	-	-	1

API: Active pharmaceutical ingredient; BQL: Below quantitation limit; D: Day; F: female; FBW: Final body weight; HNSTD: Highest Non-Severely Toxic Dose; [redacted]; M: male; MTD: Maximal tolerated dose; NA: not applicable; NOEL: No Observed Effect Level; TPGS: Tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate

-: No noteworthy finding

[a]: On day 92, test article concentrations in brain were quantifiable for all dosed animals except for one female at 2 mg/kg/day female; On Day 120, all brain samples were BQL, except for one male at 2 mg/kg/day.

[b]: Male No.: 4003, premature kill due to declined clinical conditions on Day 51

[c]: For control groups, group means are shown; for treated groups, percent differences from the vehicle + HPMC-AS group are shown.
*Statistically significant, * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$*

8.　*In Vitro* 遺伝毒性試験

8.1　細菌を用いる復帰突然変異試験-1

Genotoxicity: *in vitro*	**Report Title:** Bacterial Reverse Mutation Assay of AGI-23088	**Test Article**: Vorasidenib
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 1	**Report No.:** NP41979, AG881-N-017-R1 **GLP Compliance:** Yes **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**No. of Replicate Cultures:** 3	
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:** 2.3 to 5.9 x 10^8 cells per plate	
Vehicles: **For Test Article:** DMSO	**For Positive Controls:** DMSO or sterile water for injection (sodium azide)	
Treatment: Plate incorporation method		
Cytotoxic Effects: None		
Mutagenic Potential: None		

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Revertants/Plate (Mean±SD)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
Without Activation	DMSO	50 µL/plate	17 ± 2	96 ± 8	10 ± 3	8 ± 3	24 ± 8
	AG-881	50	18 ± 3	88 ± 1	14 ± 1[a]	5 ± 3	28 ± 4
		150	15 ± 3	102 ± 9	11 ± 3	8 ± 4	29 ± 6
		500	13 ± 2	95 ± 11	9 ± 3	8 ± 5	27 ± 2
		1500[b]	11 ± 3	100 ± 2	11 ± 2	6 ± 1	26 ± 6
		5000[b]	9 ± 3	107 ± 3	11 ± 5	7 ± 3	26 ± 7
	2-nitrofluorene	1.0	121 ± 17	-	-	-	-
	Sodium azide	1.0	-	750 ± 32	752 ± 47	-	-
	9-aminoacridine	75	-	-	-	351 ± 7	-
	Methyl methanesulfonate	1000	-	-	-	-	431 ± 24
With Activation	DMSO	50 µL/plate	35 ± 2	103 ± 6	10 ± 4	11 ± 1	36 ± 2
	AG-881	50	25 ± 7	107 ± 3	11 ± 2	13 ± 4	39 ± 3
		150	33 ± 4	113 ± 7	11 ± 5	13 ± 3	37 ± 6
		500	30 ± 5	104 ± 4	11 ± 2	9 ± 1	32 ± 6
		1500[b]	33 ± 9	105 ± 13	13 ± 6	8 ± 2	31 ± 1
		5000[b]	24 ± 6	92 ± 5	12 ± 1	6 ± 1	30 ± 9
	2-aminoanthracene	1.0 to 15[c]	335 ± 20	640 ± 196	120 ± 71	52 ± 2	323 ± 26

DMSO: Dimethyl sulfoxide; GLP: Good Laboratory Practice, No.: number, SD: standard deviation
[a]: One replicate plate was lost due to contamination. Therefore, standard deviation was calculated where n=2.
[b]: Precipitate was observed.
[c]: 1.0 µg/plate for TA98 and TA1535; 2.0 µg/plate for TA100 and TA1537; 15 µg/plate for WP2uvrA

8.2　細菌を用いる復帰突然変異試験-2

Genotoxicity: *in vitro*	**Report Title:** AGI-69460: Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**Test Article:** Vorasidenib
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 1	**Report No.:** NP42134, AG881-N-065
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**No. of Replicate Cultures:** 3	**GLP Compliance:** Yes
Metabolizing System: Aroclor induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:** ≥ 1000x10^6 bacteria/mL	**Date of Treatment:** [redacted]
Vehicles: **For Test Article:** DMSO	**For Positive Controls:** DMSO or sterile water for injection (sodium azide)	[redacted]20[redacted]

Treatment: Plate incorporation
Special feature: Test item, AGI-69460 is a metabolite of vorasidenib

Cytotoxic Effects: None

Mutagenic Potential: AGI-69460 did not show any evidence of mutagenic activity.

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Revertants/plate (Mean ± SD)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
Without Activation	DMSO	-	32 ± 4	120 ± 13	14 ± 2	13 ± 3	45 ± 10
	AGI-69460	50	33 ± 4	135 ± 23	21 ± 9	17 ± 3	32 ± 10
		158	31 ± 8	115 ± 10	18 ± 8	13 ± 3	41 ± 2
		500	24 ± 7	128 ± 6	13 ± 2	13 ± 4	40 ± 16
		1581[a]	30 ± 3	136 ± 11	16 ± 2	10 ± 2	39 ± 7
		5000[a]	25 ± 5	129 ± 14	18 ± 6	16 ± 4	42 ± 9
	Sodium Azide	0.5	-	504 ± 19	476 ± 6	-	-
	9-Aminoacridine	50	-	-	-	721 ± 29	-
	2-Nitrofluorene	1	147 ± 13	-	-	-	-
	4-Nitroquinoline N-oxide	0.5	-	-	-	-	268 ± 86
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Revertants/plate (Mean ± SD)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
With Activation	DMSO	-	35 ± 1	140 ± 8	19 ± 4	8 ± 1	53 ± 14
	AGI-69460	50	35 ± 3	145 ± 8	14 ± 3	12 ± 0	48 ± 8
		158	39 ± 13	149 ± 12	17 ± 3	18 ± 5	57 ± 6
		500	37 ± 8	139 ± 18	17 ± 3	13 ± 2	48 ± 9
		1581[b]	32 ± 6	137 ± 19	12 ± 2	12 ± 2	46 ± 5
		5000[b]	41 ± 8	168 ± 22	20 ± 4	15 ± 5	50 ± 10
	2-Aminoanthracene	5 or 20[b]	-	-	262 ± 26	-	161 ± 12
	Benzo[a]pyrene	5	265 ± 33	709 ± 27	-	82 ± 21	-

DMSO: Dimethyl sulfoxide; GLP: Good Laboratory Practice, No.: number, SD: standard deviation
a: Precipitate was observed. b: 5µg/plate for TA1535 and 20µg/plate for WP2uvrA

8.3　*In vitro* 小核試験

Genotoxicity: *in vitro*	**Report Title:** AG-881 *In vitro* Mammalian Cell Micronucleus Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes	**Test Article:** Vorasidenib
Test for Induction of micronuclei **Test system**: Human peripheral blood lymphocytes (one male donor) **Metabolizing System**: Aroclor induced rat liver S9. **Vehicles: For test article**: DMSO	**No. of Independent Assays**: 1 **No. of Replicate Cultures**: 2 **No. of Cells Analyzed/Culture**: 1000 **Positive Controls**: Cyclophosphamide: Water; Nocodazole: DMSO; Mitomycine C: Water	**Report No.**: NP41980, AG881-N-054 **GLP Compliance**: Yes **Date of Treatment**: [redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects: None **Genotoxic Effects**: None		

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/mL)**	**Cytotoxicity (%)[a]**	**% Micronucleated cells**
Without Activation Treatment 4 hours	DMSO	-	0.0	0.25
	AG-881	128	-3.6	0.20
		256	-1.7	0.20
		500	4.3	0.15
	Nocodazole	0.25	36.6	3.2*
Without Activation Treatment 24 hours	DMSO	-	0.0	0.10
	AG-881	128	-6.9	0.10
		256	-3.0	0.35
		500	-0.1	0.20
	Mitomycin C	0.10	11.1	2.9*
With Activation Treatment 4 hours	DMSO	-	0.0	0.15
	AG-881	64	7.6	0.10
		128	1.6	0.20
		256[b]	4.3	0.20
	Cyclophosphamide	10	44.3	2.5*

DMSO: Dimethyl sulfoxide
[a]: Cytotoxicity is indicated by a decreased Cytokinesis-Block Proliferation Index compared to the concurrent vehicle control group.
*[b]: Precipitate visible in the culture medium at the end of treatment, *: $p \leq 0.05$ compared to the concurrent negative control (Fisher's exact test)*

9.　*In Vivo* 遺伝毒性試験

Report Title: S95032-1: Rat Bone Marrow Micronucleus Assay		**Test Article:** Vorasidenib
Test for Induction of: Micronuclei **Species/Strain:** Sprague Dawley rat **Age:** 7-8 weeks at time of dosing **Cells Evaluated**: Polychromatic erythrocytes (PCE) **No. of Cells Analysed:** 4000 PCE **No. of Animals**: 5 per group	**Treatment Schedule:** Vehicle and test compound groups dosed on two occasions approximately 24 hours apart (Day1 and Day 2). Positive control animals dosed once only	**Report No.: NP42502,** 8500632 **GLP Compliance:** Yes **Date of Dosing:** [redacted] 20[redacted]
	Sampling Time: 24 hours after the second dose (Day 3)	
	Method of Administration: Oral by gavage	
	Vehicle/Formulation: Vitamin E TPGS/[redacted]/ Simethicone (10/1/0.1 w/v) in purified water, pH 7	
	Positive control: Cyclophosphamide at 10 mg/kg	
Special Features: Only males included in the genotoxicity assessment since no sex-related differences were noted in the tolerability of the compound during a preliminary dose-range finding assay.		
Toxic/Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		
Evidence of Exposure: Bioanalysis confirmed systemic exposure to S095032 and its metabolite AGI-69460 following dosing at 500, 1000 or 2000 mg/kg/day.		

Test Article	**Dose (mg/kg/day)**	**No. of Animals**	**Group Mean %PCE**	**Group Mean %Micronucleated PCE (±SD)**	**Plasma Exposure (ng.h/mL)**	
					S095032	AGI-69460
Vehicle	0	6M	49.17	0.16 ± 0.08	BQL	BQL
S095032-1	500	6M	51.47	0.12 ± 0.06	453000	683
S095032-1	1000	6M	51.40	0.17 ± 0.14	485000	628
S095032-1	2000	6M	53.50	0.15 ± 0.12	592000	443
Cyclophosphamide	10	3M	56.13	2.93 ± 0.28 *	NA	NA

M: Male, NS: Not significant (p>0.05); %MN PCE (micronucleated polychromatic erythrocytes); PCE (polychromatic erythrocytes); SD: Standard deviation

**: p<0.05*

10. がん原性試験

がん原性試験は実施されていない。

11. 生殖発生毒性試験：ピボタル試験以外の試験

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/d)	No. per Group	Noteworthy Findings	Test Article: Vorasidenib **Report No.**
Rat/ Sprague Dawley	Oral, gavage (10% Vitamin E polyethylene glycol-1000-succinate, 1% [redacted], and 0.1% Simethicone in purified water, pH 7/Suspension)	GD6 to GD17	0, 10, 25, 60	Main: 6 pregnant females Toxicokinetics:3 (control) or 6 (treated) pregnant females	Slight to moderate dose-related maternal toxicity (reduced body weight gain and food consumption) in all groups. No test item-related effect on embryofetal survival in any group. Dose-related lower mean fetal weight at all dose levels.	20360623 NP42346
Rabbit/New Zealand white	Oral, gavage (10% Vitamin E polyethylene glycol-1000-succinate, 1% [redacted], and 0.1% Simethicone in purified water, pH 7/Suspension)	GD6 to GD19	0, 25, 50, 75	Main: 6 pregnant females Toxicokinetics:6 (control) or 6 (treated) pregnant females	Marked maternal toxicity in all groups (reduced faecal output, body weight gain and food consumption). Premature euthanasia of all animals in the 50 and 75 mg/kg/day. Pale heart observed for 4 or 5 animals in each group and higher number of resorptions. Marked reduced body weight gain at 25 mg/kg/day. A dose level below 25 mg/kg/day should be selected as the high dose in the subsequent embryofetal development study in the rabbit.	20360618 NP42410

GD: Gestation Day, [redacted]

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

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施されていない。

13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

13.1　ラット

Report Title: Embryo-Foetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 by the Oral (Gavage) Route in the Female CD® (Sprague Dawley) IGS Rat (**Page 1/3**)		**Test Article:** Vorasidenib
Design Similar to ICH 4.1.3. Yes **Species/Strain:** Sprague Dawley Rat **Initial Age:** Approximately 10 to 12 weeks at dosing initiation **Date of First Dose:** Main animals: [redacted] 20[redacted] Toxicokinetic animals: [redacted] 20[redacted]	**Duration of Dosing:** GD6 to GD17 **Day of Mating:** GD0 **Day of C-Section:** GD21 **Method/Volume of Administration:** Oral gavage/ 5ml/kg/day **Vehicle/Formulation (Control):** 10% Vitamin E polyethylene glycol-1000-succinate, 1% [redacted] and 0.1% Simethicone in purified water, pH 7/Suspension	**Report No.:** NP42429, 20360627 **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Toxicokinetic evaluation of parent drug and its metabolite AGI-69460 **No Observed Adverse Effect Level: F0 Females:** 25 mg/kg/day. **No Observed Adverse Effect Level: F1 Litters:** 10 mg/kg/day. Adverse developmental effects observed from 25 mg/kg/day, including lower fetal weight, early resorptions, visceral malformations (mispositioned kidney and testis) as well as ossification delays.		

Daily Dose (mg/kg/day)	**0**	**10**	**25**	**75**
Toxicokinetics: plasma AUC_{0-24} (ng.hr/mL), No evaluated	-	6	6	6
GD6	-	25300	59200	124000
GD17	-	89500	193000	338000
Toxicokinetics: plasma C_{max} (ng/mL)				
GD6	-	1830	3240	5640
GD17	-	5110	9570	17000
No. Dams	22	22	22	22
No. Pregnant	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	2[a]
Clinical Observations				
Erected fur	0	2/22	3/22	15/22
Necropsy Observations	-	-	-	-

Report Title: Embryo-Foetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 by the Oral (Gavage) Route in the Female CD® (Sprague Dawley) IGS Rat (**Page 2/3**)	**Report No**.: NP42429, 20360627	**Test Article**: Vorasidenib

Daily Dose (mg/kg/day)	**0**	**10**	**25**	**75**
Body Weight Change (g)				
GD6 to GD18	95.4	88.2	86.3	62.9**
Food Consumption (g/animal/day) [b]				
GD6 to GD9	23.92	-	**-9.50***	**-33.06****
GD9 to GD12	25.35	-	**-6.04**	**-26.74****
GD12 to GD15	26.62	-	-	**-5.97**
GD15 to GD18	28.02	-	-	**-9.52**
Mean No. Corpora Lutea	14.7	14.0	14.8	15.0
Mean No. Implantations	14.5	13.0*	14.0	14.7
Mean % Preimplantation Loss	1.17	6.42*	4.88	1.65
No. Litters Evaluated	22	22	22	21
Mean No. Live Fetuses	13.6	12.0	13.1	11.9
No. Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean No. Resorptions: early	0.8	0.9	0.9	**2.6***
Mean No. Resorptions: late	0	0.2	0	0.2
Mean % Postimplantation Loss	6.05	7.73	6.64	**17.72**[c]
Mean Fetal Body Weight (g)	5.59	**5.31****	**5.00****	**4.48****
Fetal Sex Ratios (% males)	47.65	52.90	52.64	49.66

Report Title: Embryo-Foetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 by the Oral (Gavage) Route in the Female CD® (Sprague Dawley) IGS Rat (**Page 3/3**)	**Report No**.: NP42429, 20360627	**Test Article**: Vorasidenib

Daily Dose (mg/kg/day)	**0**	**10**	**25**	**75**
External Observation				
No. of Fetuses (Litters) examined	300 (22)	263 (22)	289 (22)	250 (20)
External Fetal Malformations	-	-	-	-
Visceral Observation				
No. of Fetuses (Litters) Examined	145 (22)	126 (22)	140 (22)	119 (20)
Visceral Fetal Malformations				
Malpositioned kidney[d]	0 (0)	-	-	**2 (1.55)**
Malpositioned testis[d]	0 (0)	-	-	**2 (1.55)**
Skeletal Observation				
No. of Fetuses (Litters) Examined	155 (22)	137 (22)	149 (22)	131 (20)
Skeletal Fetal Malformations	-	-	-	-

Bold changes considered test-item related.
[a] *Including 1 female euthanized prematurely.*
[b] *For controls, group means are shown. For treated groups, the percentage differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percentage differences).*
[c] *Consistent with higher number of early resorptions*
[d] *Number of fetuses affected per litter (and global group percentage).*
[redacted]*: - = No noteworthy findings.GD = gestation day; * = p ≤ 0.05; ** = p ≤ 0.01*

13.2　ウサギ

Report Title: Embryo-Foetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 by the Oral (Gavage) Route in the New Zealand White Rabbit (**Page 1/3**)				**Test Article:** Vorasidenib
Design Similar to ICH 4.1.3. Yes Species/Strain: New Zealand White Rabbit / Crl: KBL(NZW). Initial Age: Approximately 0 to 17 weeks at initiation of dosing Date of First Dose: [redacted] to [redacted] 20[redacted]	**Duration of Dosing:** GD6 to GD19 **Day of Mating:** GD0 **Day of C-Section: GD29** **Method/Volume of Administration:** Oral gavage/ 5ml/kg/day **Vehicle/Formulation (Control):** 10% Vitamin E polyethylene glycol-1000-succinate, 1% [redacted] and 0.1% Simethicone in purified water, pH 7/Suspension			**Report No.:** NP42503, 20360619 **GLP Compliance: Yes**
Special Features: Toxicokinetic evaluation of parent drug and its metabolite AGI-69460 **No Observed Adverse Effect Level: F0 Females:** 6 mg/kg/day **No Observed Adverse Effect Level: F1 Litters:** 6 mg/kg/day.				
Daily Dose (mg/kg/day)	**0**	**2**	**6**	**18**
Toxicokinetics: plasma $AUC_{0\text{-}last}$ (ng.hr/mL), No evaluated				
GD6	-	141	3450	11800
GD19	-	3010	15500	34400
Toxicokinetics: plasma C_{max} (ng/mL)				
GD6	-	121	494	1260
GD19	-	287	1260	2350
No. Dams	22	22	22	22
No. Pregnant	21	22	19	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	2	1	1	2
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-

Report Title: Embryo-Foetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 by the Oral (Gavage) Route in the New Zealand White Rabbit (**Page 2/3**)	**Report No.:** NP42503, 20360619	**Test Article**: Vorasidenib

Daily Dose (mg/kg/day)	**0**	**2**	**6**	**18**
Body Weight Change (g)				
GD6 to GD9	80.5	**35.4***	**46.8**	**-8.3****
GD6 to GD20	192.7	-	-	**9.6****
Food Consumption (g/animal/day)[a]				
GD6 to GD20	121.67	**-13.11**	**-12.46**	**-34.51****
Mean No. Corpora Lutea	10.5	10.7	10.6	10.8
Mean No. Implantations	9.8	10.0	9.5	9.9
Mean % Preimplantation Loss	5.57	7.14	9.36	9.49
No. Litters Evaluated	19	21	17	18
Mean No. Live Fetuses	8.9	9.2	8.9	8.8
No. Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean No. Resorptions: early	0.5	0.4	0.2	0.3
Mean No. Resorptions: late	0.5	0.4	0.4	0.8
Mean % Post-implantation Loss	9.58	7.35	6.19	11.04
Mean Fetal Body Weight (g)	38.84	37.70	37.15	35.70
Fetal Sex Ratios (% males)	45.51	54.66	46.17	46.13

Report Title: Embryo-Foetal Developmental Toxicity Study of S95032-1 by the Oral (Gavage) Route in the New Zealand White Rabbit (**Page 3/3**)	**Report No.:** 20360619	**Test Article**: Vorasidenib

Daily Dose (mg/kg/day)	**0**	**2**	**6**	**18**
External Observation				
No. of Fetuses (Litters) examined	170 (20)[b]	194 (21)	162 (18)	170 (19)
External Fetal Malformations	-	-	-	-
Visceral Observation				
No. of Fetuses (Litters) Examined	169 (19)	194 (21)	152 (17)	158 (18)
Visceral Fetal Malformations	-	-	-	-
Skeletal Observation				
No. of Fetuses (Litters) Examined	169 (19)	194 (21)	152 (17)	158 (18)
Skeletal Fetal Malformations	-	-	-	-

Bold changes considered test-item related. GD: gestation day
*- = No noteworthy findings. * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0.01$*
[a] *For controls, group means are shown. For treated groups, the percentage differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percentage differences).*
[b] *Including external examination of 1 fetus of Female Nos. 1502 (control group), 3512 (25 mg/kg/day group) and 4517 (75 mg/kg/day group) that aborted on GD25, GD22 and GD22, respectively*

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

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない。

15. 新生児を用いた試験

臨床の小児対象集団に関しては、12 歳以上を予定しており、新生児を用いた試験は実施していない。

16. 局所刺激性試験

臨床での予定投与経路は経口投与である。Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルを用いたすべての反復投与毒性試験において、消化管の評価が行われており、詳細な局所刺激性試験は実施していない。

17. その他の毒性試験

17.1　聴覚毒性試験

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/d)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Test Article: Vorasidenib Report No.
Sprague-Dawley rats	Oral (gavage) Vehicle a: 10% Vitamin E TPGS/1% [redacted]/0.1% simethicone in deionized water Once daily administration	28 days (followed by a 14-day recovery period)	3, 10, 30, 100	M: 10b+6c	The dose of 100 mg/kg/day induced adverse clinical signs (e.g., aggressive behavior, ataxia decreased activity, irregular ambulation, unkept appearance), and lower body weights (-12.8% vs control on Day 28) leading to early sacrifice of 2 males on Day 4 of recovery. Discoloration of fur, sparse hair on multiple body surfaces and aggressive behavior persisted through the recovery phase. There were no adverse clinical signs or effects on body weights at 3, 10 or 30 mg/kg/day. There were no effects seen at the end of dosing or recovery otoscopic examinations in any dosed group. Possible treatment-related macroscopic findings were observed in some terminal kill rats given 30 or 100 mg/kg/day and one recovery kill male at 100 mg/kg/day: brown or red foci in the temporal bone, foreign material in the oval window, and edema in the tympanic cavity. These gross findings were without microscopic correlate and considered non-adverse and reversible. A reversible non-adverse minimal neutrophil infiltration of the epithelial lining of the middle ear and Eustachian tube (otitis media) was observed among rats given 10, 30 or 100 mg/kg/day. There were no effects on auditory brainstem response, otoscopic examinations, cytocochleograms, utricle hair cell density, or macroscopic or microscopic pathologies of the brain, cochlear nerve, or spiral ganglion.	NP41984 AG881-N-015-R1

[a] *vehicle with [redacted] as that of the high-dose (100 mg/kg/day);*
[b] *and* [c]*: scheduled kill respectively at the end of the 28-day dosing or 14-day recovery period.*
[redacted]

17.2　光毒性試験

Report Title: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of AG-881 in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts		**Test Article**: Vorasidenib
Strains: BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts	**No. of Independent Assays: 2**	**Report No.:** NP42151, AG881-N-060 **GLP Compliance:** Yes **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: Dulbecco's Phosphate Buffered Saline with Ca^{2+} and Mg^{2+} with 1% Dimethyl Sulfoxide	**UV irradiation:** **UVA dose: 5 J/cm^2, UVB: 17 or 22 mJ/cm^2**	
Positive control: Promethazine	**UVR exposure times: 28:50 – 32:53 (minutes: seconds)**	
Conclusion: AG-881 did not demonstrate phototoxic potential in this assay. All OECD 432-recommended cell survival and OD540 criteria and promethazine cytotoxicity and phototoxicity criteria were met, indicating that the assays were valid. Results of the analysis of the DMSO stock solutions prepared for the definitive assays met the protocol-specified criteria for concentration.		

Test Material	Dosage (µg/mL)	IC50 (µg/mL) – UVR	IC50 (µg/mL) +UVR	PIF	MPE	Phototoxic Potential	UVR Percent Survival	OD540
Promethazine	0.100; 0.316;1.00; 3.16; 10.0; 31.6; 100; 178	116.803	2.934	39.938	0.476	Phototoxic	96	0.685
AG-881 (Assay 1)	0.100; 0.178; 0.316; 0.562; 1.00; 1.78; 3.16; 5.62	-	-	*1	-0.029	Non-Phototoxic	85	0.594
AG-881 (Assay 2)	0.100; 0.178; 0.316; 0.562; 1.00; 1.78; 3.16; 5.62	-	-	*1	-0.003	Non-Phototoxic	93	0.707

*+UVR: Phototoxicity: with UVR exposure. – UVR: Cytotoxicity: without UVR exposure. –: IC_{50} not achieved. PIF: Photoirritancy Factor: The criterion for "phototoxic" is PIF > 5. MPE: Mean Photo Effect: The criterion for "phototoxic" is MPE > 0.15. UVR Percent Survival: The criterion is > 80%. OD540: The criterion is ≥ 0.400 PIF =*1: Both IC50(-UVR) and IC50(+UVR) could not be calculated (AG-881 did not show cytotoxicity or phototoxicity), this indicates a lack of phototoxic potential. In this case, a formal PIF = *1 is used to characterize the result.*

17.3　不純物に関する遺伝毒性試験

17.3.1　不純物：D

Report Title: Impurity D : Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		**Test Article**: Vorasidenib
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells **Strains:** *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* **Metabolizing System:** Aroclor-induced rat liver S9 **Vehicle for test article**: DMSO **Treatment:** Plate incorporation	**No. of Independent Assays:** 1 **No. of Replicate Cultures:** 3 **Vehicle for positive control:** Water for sodium azide and DMSO for all other positive controls	**Report No.:** NP42257, AG881-N-061 **GLP Compliance:** Yes **Date of Treatment:** [redacted]20[redacted]
Cytotoxic effects: None **Mutagenic Potential:** None		

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	Revertants/Plate (Mean±SD)				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
Without Activation	Water	-	30 ± 4	145 ± 18	19 ± 6	13 ± 1	45 ± 7
	Impurity D	50	30 ± 7	157 ± 9	16 ± 1	13 ± 2	40 ± 7
		158	25 ± 6	141 ± 5	14 ± 3	12 ± 2	41 ± 6
		500	26 ± 5	127 ± 15	15 ± 3	17 ± 1	40 ± 2
		1581	39 ± 7	133 ± 9	18 ± 2	14 ± 3	58 ± 4
		5000	26 ± 9	126 ± 14	14 ± 3	11 ± 3	51 ± 9
	Sodium azide	0.5	-	506 ± 23	530 ± 26	-	-
	9-aminoacridine hemihydrate	50	-	-	-	707 ± 193	-
	2-nitrofluoreneN	1	163 ± 17	-	-	-	-
	4-Nitroquinoline N-oxide	0.5	-	-	-	-	155 ± 14
With Activation	Water	-	40 ± 12	168 ± 7	16 ± 5	16 ± 3	47 ± 11
	Impurity D	50	39 ± 3	168 ± 8	19 ± 7	12 ± 2	48 ± 3
		158	42 ± 15	148 ± 16	19 ± 6	15 ± 2	49 ± 2
		500	41 ± 7	116 ± 5	17 ± 4	10 ± 5	55 ± 6
		1581	42 ± 6	150 ± 5	14 ± 2	14 ± 6	65 ± 8
		5000	47 ± 8	103 ± 8	12 ± 5	16 ± 3	68 ± 7
	2-Aminoanthracene	5	-	-	155 ± 16	-	-
	2-Aminoanthracene	20	-	-	-	-	296 ± 62
	Benzo[a]pyrene	5	262± 16	829 ± 56	-	94 ± 16	-

DMSO: Dimethyl sulfoxide; eo. = number, SD = standard deviation

17.3.2　不純物：E

Report Title: Impurity E : Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		**Test Article**: Vorasidenib
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells **Strains:** *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* **Metabolizing System:** Aroclor-induced rat liver S9 **Vehicle for test article:** DMSO **Treatment:** Plate incorporation	**No. of Independent Assays:** 1 **No. of Replicate Cultures:** 3 **Vehicle for positive control:** Water for sodium azide and DMSO for all other positive controls	**Report No.:** NP42258, AG881-N-062 **GLP Compliance:** Yes **Date of Treatment:** [redacted]20[redacted]
Cytotoxic effects: None **Mutagenic Potential:** Impurity E did not show any evidence of mutagenic activity		

Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**Revertants/Plate (Mean±SD)**				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
Without Activation	DMSO	100 µl/plate	40 ± 8	154 ± 13	17 ± 6	20 ± 6	46 ± 4
	DMSO	200 µl/plate	36 ± 4	154 ± 21	18 ± 5	13 ± 2	47 ± 6
	Impurity E	50	42 ± 7	161 ± 2	16 ± 6	13 ± 3	47 ± 8
		158	45 ± 16	161 ± 14	17 ± 7	10 ± 5	51 ± 15
		500	40 ± 4	175 ± 13	15 ± 3	17 ± 3	57 ± 6
		1581	43 ± 8	152 ± 14	22 ± 1	15 ± 3	48 ± 4
		5000	37 ± 4	126 ± 18	19 ± 2	16 ± 6	48 ± 2
	Sodium azide	0.5	-	498 ± 44	520 ± 28	-	-
	9-aminoacridine hemihydrate	50	-	-	-	446 ± 154	-
	2-nitrofluoreneN	1	168 ± 27	-	-	-	-
	4-Nitroquinoline N-oxide	0.5	-	-	-	-	156 ± 13
With Activation	DMSO	100 µl/plate	56 ± 4	149 ± 6	16 ± 6	15 ± 5	59 ± 6
	DMSO	200 µl/plate	51 ± 13	162 ± 14	15 ± 7	16 ± 4	46 ± 5
	Impurity E	50	56 ± 4	193 ± 11	18 ± 5	14 ± 2	44 ± 2
		158	46 ± 9	195 ± 21	15 ± 1	15 ± 4	57 ± 6
		500	54 ± 6	179 ± 9	17 ± 6	11 ± 1	57 ± 13
		1581	55 ± 7	174 ± 16	21 ± 5	15 ± 4	55 ± 7
		5000	39 ± 1	151 ± 23	15 ± 3	13 ± 2	55 ± 13
	2-Aminoanthracene	5	-	-	349 ± 90	-	-
		20	-	-	-	-	230 ± 23
	Benzo[a]pyrene	5	233 ± 7	558 ± 38	-	86 ± 15	-

No. = number, SD = standard deviation