ザズベイカプセル 30 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 7
2.6.6 毒性試験の概要文 8
2.6.6.1 まとめ 8
2.6.6.2 単回投与毒性試験 14
2.6.6.2.1 ラット単回経口投与毒性試験 14
2.6.6.2.2 イヌ単回経口投与毒性試験 16
2.6.6.3 反復投与毒性試験 18
2.6.6.3.1 ラット 5 日間反復経口投与毒性試験 18
2.6.6.3.2 ラット 2 週間反復経口投与毒性試験 19
2.6.6.3.3 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験 22
2.6.6.3.4 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験 24
2.6.6.3.5 イヌ 7 日間反復経口投与毒性試験 26
2.6.6.3.6 イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験 28
2.6.6.3.7 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験 30
2.6.6.3.8 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験 33
2.6.6.3.9 イヌ 29 週間又は 44 週間間歇経口投与毒性試験 35
2.6.6.4 遺伝毒性試験 39
2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 39
2.6.6.4.2 ほ乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験 40
2.6.6.4.3 げっ歯類を用いる小核試験 41
2.6.6.5 がん原性試験 42
2.6.6.5.1 マウスがん原性試験 42
2.6.6.5.2 ラットがん原性試験 48
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 50
2.6.6.6.1 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 50
2.6.6.6.2 雄ラット授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 51
2.6.6.6.3 ラット胚・胎児発生に関する試験 53
2.6.6.6.4 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 56
2.6.6.6.5 マウス胚・胎児発生に関する試験 59
2.6.6.6.6 ラット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 62
2.6.6.6.7 幼若ラットを用いた試験 65
2.6.6.6.7.1 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 65
2.6.6.6.7.2 幼若ラットにおけるズラノロンの神経変性に対する影響 71
2.6.6.7 局所刺激性試験 72
2.6.6.8 その他の毒性試験 72
2.6.6.8.1 抗原性試験 72

2.6.6.8.2 免疫毒性試験 72
2.6.6.8.3 薬物乱用及び身体依存性に関する試験 72
2.6.6.8.3.1 雄性 Lister Hooded 系ラットにおける薬物弁別試験 73
2.6.6.8.3.2 雌性 Lister Hooded 系ラットにおける薬物弁別試験 75
2.6.6.8.3.3 雌性 Lister Hooded 系ラットを用いた静脈内自己投与試験 77
2.6.6.8.3.4 雄性 Lister Hooded 系ラットを用いた身体依存性試験 81
2.6.6.8.3.5 雌性 Lister Hooded 系ラットを用いた身体依存性試験 82
2.6.6.8.4 光毒性試験 84
2.6.6.8.5 不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験 84
2.6.6.9 考察及び結論 84
2.6.6.9.1 急性毒性 84
2.6.6.9.2 反復投与毒性 85
2.6.6.9.3 生殖発生毒性 89
2.6.6.9.4 薬物乱用及び身体依存性 96
2.6.6.9.5 代謝物 98
2.6.6.9.6 総合的な結論 99
2.6.6.10 図表 99
2.6.6.11 参考文献 99

表

表 2.6.6.1-1 主要なズラノロンの毒性試験一覧 8
表 2.6.6.1-2 ズラノロン不純物の毒性試験一覧 9
表 2.6.6.1-3 鎮静の評価の定義 (全毒性試験) 9
表 2.6.6.2-1 ズラノロンを単回経口投与したラットの血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 16
表 2.6.6.2-2 雌雄イヌに対する単回経口投与後の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 18
表 2.6.6.3-1 ラット 5 日間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 19
表 2.6.6.3-2 ラット 2 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (4.2.3.2-07) 21
表 2.6.6.3-3 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験の群構成 22
表 2.6.6.3-4 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 24
表 2.6.6.3-5 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験の群構成 25
表 2.6.6.3-6 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 26

表 2.6.6.3-7 イヌ 7 日間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 27
表 2.6.6.3-8 イヌ 7 日間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算) 29
表 2.6.6.3-9 イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験の群構成 29
表 2.6.6.3-10 イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算) 30
表 2.6.6.3-11 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験の群構成 31
表 2.6.6.3-12 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算) 33
表 2.6.6.3-13 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験の群構成 33
表 2.6.6.3-14 雌雄イヌに対する反復経口投与後の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算) 35
表 2.6.6.3-15 イヌ 29 週間又は 44 週間間歇経口投与毒性試験の群構成 36
表 2.6.6.3-16 観察期間中に認められた鎮静及び重度の一般状態 (死亡/瀕死及び痙攣) 38
表 2.6.6.3-17 雌雄のイヌに対する反復経口投与後の投与 12 日目におけるズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算) 39
表 2.6.6.4-1 CHO 細胞を用いる染色体異常試験におけるズラノロンの用量 41
表 2.6.6.4-2 ズラノロンを用いたラット小核試験の試験デザイン 42
表 2.6.6.5-1 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型 (rasH2) マウスを用いたズラノロンの 5 日間反復経口投与毒性試験のデザイン (B 期) 43
表 2.6.6.5-2 雌雄マウスに対する反復経口投与時の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算) 44
表 2.6.6.5-3 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型 (rasH2) マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験の群構成 45
表 2.6.6.5-4 雌雄マウスに反復経口投与後の投与 28 日目における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算) 46
表 2.6.6.5-5 rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験の群構成 47
表 2.6.6.5-6 rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算) 47
表 2.6.6.5-7 ラットを用いたズラノロンのがん原性試験のデザイン 49
表 2.6.6.5-8 ラットがん原性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 49
表 2.6.6.6-1 雌ラットの受胎能及び初期胚発生に対するズラノロンの影響を評価する試験デザイン 50
表 2.6.6.6-2 雌ラットにおける試験 15 日目の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネ

ティクスパラメータ 51
表 2.6.6.6-3 雄ラット授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の群構成 52
表 2.6.6.6-4 雄ラットにおける交配前 (投与 28 日目) の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 53
表 2.6.6.6-5 ラット胚・胎児発生に関する試験の群構成 54
表 2.6.6.6-6 妊娠 6 及び 17 日の妊娠ラットにおける血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 55
表 2.6.6.6-7 非妊娠ウサギにおける忍容性評価 (パート A) 及び妊娠ウサギにおける探索的胚・胎児発生評価 (パート B) 試験の群構成 56
表 2.6.6.6-8 ウサギ胚・胎児発生に関する試験の群構成 57
表 2.6.6.6-9 妊娠 7 及び 19 日の妊娠ウサギにおける血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 59
表 2.6.6.6-10 妊娠マウスでの探索的胚・胎児発生評価試験の群構成 59
表 2.6.6.6-11 マウス胚・胎児発生に関する試験の群構成 60
表 2.6.6.6-12 妊娠 6 及び 15 日の妊娠マウスにおける血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 62
表 2.6.6.6-13 ラット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の群構成 63
表 2.6.6.6-14 妊娠 17 日及び哺育 10 日に F0 母動物へ経口投与した後の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 65
表 2.6.6.6-15 幼若ラット (投与開始時生後 7 日又は 22 日) における忍容性評価 (A 期) 及び幼若ラット (投与開始時生後 22 日) における 28 日反復投与毒性試験 (B 期) の群構成 66
表 2.6.6.6-16 幼若ラット (投与開始時生後 22 日) における 28 日間反復投与毒性試験の TK 群の群構成 (B 期) 66
表 2.6.6.6-17 幼若ラットに反復経口投与後の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 68
表 2.6.6.6-18 幼若ラット (投与開始時生後 22 日) における反復経口投与毒性試験の群構成 69
表 2.6.6.6-19 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ 71
表 2.6.6.9-1 ラット及びイヌの概略の致死量におけるズラノロンの曝露量と臨床曝露量との比 85
表 2.6.6.9-2 ズラノロンの反復経口投与毒性試験における NOAEL におけるズラノロンの曝露量及び臨床曝露量との比 87
表 2.6.6.9-3 ラット及びイヌを用いた主要な毒性試験における鎮静の曝露量-反応関係と鎮静のみられた曝露量と臨床曝露との比 88
表 2.6.6.9-4 ズラノロンの生殖発生毒性試験における主な毒性所見及び無毒性量 95

表 2.6.6.9-5 ラット，ウサギ及び/又はマウスを用いた生殖毒性試験における NOAEL での曝露量に基づくズラノロンの安全域 96

図

図 2.6.6.8-1 雄性ラットを用いた薬物弁別試験におけるズラノロンのミダゾラムに対する般化 75
図 2.6.6.8-2 雌性ラットを用いた薬物弁別試験におけるズラノロンのミダゾラムに対する般化 77
図 2.6.6.8-3 コカイン自己投与能獲得雌性ラットにおけるズラノロンの自己投与行動 80

略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24hr}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose	時間 0 から投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}t}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose	時間 0 から投与後 t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\tau}$	area under the plasma concentration-time curve over the dosing interval τ	時間 0 から投与間隔時間 τ までの血漿中薬物濃度-時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration	時間 0 から濃度測定可能最終時点までの濃度–時間曲線下面積
AmCuAg		アミノ酸－銅－銀
CDP	chlordiazepoxide	クロルジアゼポキシド
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
DMSO	dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
FR	fixed ratio	固定比率
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)
MEC	molar extinction coefficient	モル吸光係数
MRHD	maximum recommended human dose	ヒトでの最大推奨臨床用量
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
PAPS	3’-phosphoadenosine-5’-phosphosulfate	3'-ホスホアデノシン-5'-ホスホ硫酸
S9 mix	metabolic activation system	代謝活性化系
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T_{max}	time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間

Hematology

APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間

Blood Chemistry

ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ズラノロン (以降，ズラノロンと称する．別名：S-812217，SAGE-217，SGE-217，SGE-797 又は SGE-00797) の安全性評価に際し，主要な毒性試験として，表 2.6.6.1-1 に示すラット及びイヌを用いた単回及び反復経口投与毒性試験 (それぞれ最長 26 週及び 39 週)，in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験，ウサギ及び/又はラットを用いた生殖発生毒性試験，ラット及びトランスジェニックマウスを用いたがん原性試験並びにラットを用いた薬物乱用及び依存性試験を実施した．

以下の概要に示す試験は，特に明記しない限りは Good Laboratory Practice (GLP) 適用下で経済協力開発機構 (OECD) 加盟国にて実施した．

GLP の毒性試験に供したバイオアナリシスの概要については，2.6.4.3 項に示す．

表 2.6.6.1-1 主要なズラノロンの毒性試験一覧

試験の種類及び期間	動物種等	投与 (処置) 経路	GLP 適用
単回投与毒性試験			
	ラット，イヌ	経口	非適
反復投与毒性試験			
5 日間	ラット	経口	適
7 日間	イヌ	経口	非適
2 週間	ラット，イヌ	経口	適
13 週間	ラット，イヌ	経口	適
26 週間	ラット	経口	適
39 週間	イヌ	経口	適
29 週間あるいは 44 週間 (間歇)	イヌ	経口	適
遺伝毒性試験			
細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌，大腸菌	In vitro	適
ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣細胞	In vitro	適
げっ歯類を用いる小核試験	ラット	経口	適
がん原性試験			
4 週間 (用量設定)	マウス	経口	適
26 週間	トランスジェニックマウス	経口	適
104 週間	ラット	経口	適
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	ラット	経口	適
胚・胎児発生に関する試験	ラット，ウサギ，マウス	経口	適
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	ラット	経口	適
新生児を用いた試験			
7 週間反復投与毒性試験	幼若ラット (投与開始時 22 日齢)	経口	適
新生児の神経変性に関する試験	幼若ラット (投与時 7 日齢)	経口	適
その他の毒性試験			
薬物乱用及び依存性試験	ラット	経口	適

試験の種類及び期間	動物種等	投与 (処置) 経路	GLP 適用
モル吸光係数	–	In vitro	非適

表 2.6.6.1-2　　ズラノロン不純物の毒性試験一覧

試験の種類及び期間	動物種等	投与 (処置) 経路	GLP 適用
不純物 (化合物C ， 不純物A ， 不純物B ， 不純物F ， 不純物E ， 不純物D ，不純物C ， 不純物G ， 不純物H) の毒性試験			
細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌，大腸菌	In vitro	適

非臨床試験における鎮静は，4 段階 (正常，軽度，中等度，重度) の程度で評価し，程度の定義は試験間で統一した (表 2.6.6.1-3)．鎮静や鎮静に関連する一般状態の変化は，ズラノロンの $GABA_A$ 受容体ポジティブアロステリックモジュレーション (PAM) を介した薬理作用の過剰な発現による変化であり，生殖発生毒性試験など一部の試験を除き，過度の呼吸抑制や痙攣などの重度の一般状態の変化を伴わず，体重及び摂餌量に顕著な影響が認められない限りは毒性ではないと判断した．

表 2.6.6.1-3　　鎮静の評価の定義 (全毒性試験)

Sedation Grade	Descriptor	Characteristics
1	Normal	All functions are normal, unless altered directly by the experimental procedure.
2	Mild	Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact, and is able to move to food and water but may still show signs of sedation such as drowsiness, ataxia, or decreased activity.
3	Moderate	Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position.
4	Severe	Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.

単回投与毒性試験

ズラノロンの急性毒性は，ラット 5 日間反復経口投与毒性試験の投与初日の成績，GLP 非適用下で実施したラット及びイヌ単回経口投与毒性試験並びにイヌ 7 日間反復経口投与毒性試験の投与初日の成績をもとに評価した．

雄性ラットを用いた 5 日間反復経口投与毒性試験 (投与量 : 30，45，60 及び 100 mg/kg/日) において，45 mg/kg/日投与群で投与初日に死亡例が認められた．GLP 非適用下で実施したラットを用いた単回経口投与毒性試験 (雄の投与量 : 20，25，30，35 及び 40 mg/kg，雌の投与量 : 2.5，4，5，7.5 及び 10 mg/kg) では，5 mg/kg 以上の投与群の雌で瀕死例が認められたが，雄には死亡/瀕死例は認められなかった．全投与群において，鎮静，自発運動の低下，接触及び/又は音に対する反応性亢進，ミオクローヌス，振戦，眼球突出，姿勢を立て直すことができない状態及

び/又は身体緊張の消失などの一般状態の変化が認められた．総合すると，ラットの概略の致死量は雄で 45 mg/kg，雌では 5 mg/kg と判断した．

GLP 非適用下で実施した雌雄イヌを用いた単回経口投与毒性試験 (投与量 : 1，1.5，2，2.5 及び 3 mg/kg) では，死亡/瀕死例は認められなかった．1 mg/kg 以上の投与群で重度の鎮静及び関連する一般状態の変化として平衡感覚の異常，自発運動の低下，振戦，半眼/閉眼 (両眼)，接触及び音に対する反応性亢進及び身体緊張の消失が認められた．

GLP 非適用下で実施した雄性イヌを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験 (投与量 : 3.5 mg/kg/日) の投与初日において，死亡/瀕死例は認められなかったが，重度の鎮静，運動失調，自発運動の低下，側臥位/腹臥位，半眼/閉眼，意識消失，攣縮，振戦，パドリング，筋緊張亢進/低下，非持続性痙攣，呼吸数低下/増加及び体温低下などが認められた．総合すると，イヌの概略の致死量は雄では 3.5 mg/kg，雌では 3 mg/kg を超える量と判断した．

反復投与毒性試験

ラット 2 週間反復経口投与毒性試験 (雄の投与量 : 3，10 及び 22.5 mg/kg/日，雌の投与量 : 1，3 及び 8 mg/kg/日) において，雄は 10 mg/kg/日以上，雌は 8 mg/kg/日の用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められ，鎮静の程度や持続時間は反復投与によって軽減した．雌の 8 mg/kg/日投与群 (トキシコキネティクス [TK] 群) の 1 例で死亡がみられた以外に毒性所見は認められず，無毒性量 (NOAEL) は雄で 22.5 mg/kg/日，雌では 3 mg/kg/日と判断した．

ラット 13 週間反復経口投与毒性試験 (雄の投与量 : 0.8，2.5，8 及び 30 mg/kg/日，雌の投与量 : 0.15，0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日) において，雄の 0.8 mg/kg/日投与群を除き，全用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められ，鎮静の程度や持続時間は反復投与によって軽減した．5 mg/kg/日投与群の雌 1 例において重度の鎮静に起因した死亡が認められた以外には毒性所見は認められず，NOAEL は雄では 30 mg/kg/日，雌では 1.5 mg/kg/日と判断した．

ラット 26 週間反復経口投与毒性試験 (雄の投与量 : 3，10 及び 30 mg/kg/日，雌の投与量 : 0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日) において，雄の 10 mg/kg/日以上及び雌の 1.5 mg/kg/日以上の用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められ，鎮静の程度や持続時間は反復投与によって軽減した．30 mg/kg/日投与群 (TK 群) の雄 1 例において重度の鎮静に起因した死亡が認められた以外に毒性所見は認められず，NOAEL は雄で 10 mg/kg/日，雌で 5 mg/kg/日と判断した．

イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量 : 0.4，1 及び 2.5 mg/kg/日) において，全用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静がみられた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められた．ズラノロンの薬理作用に関連した変化以外の所見は認められず，NOAEL は 2.5 mg/kg/日と判断した．

イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験 (投与量 : 0.06，0.2，0.6 及び 2 mg/kg/日) において，全用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静や鎮静に関する一般状態の変化が認められた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められた．2 mg/kg/日投与群の

雄 1 例において，投与 61 日目の投与前に退薬症候によると考えられる死亡が認められたため，NOAEL は 0.6 mg/kg/日と判断した．

イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験 (投与量 : 0.6，1.2 及び 2.5 mg/kg/日) において，全用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静や関連する一般状態の変化が認められた．鎮静の程度，発現頻度や持続時間には用量依存性が認められた．2.5 mg/kg/日投与群の雌 2 例において，それぞれ投与 30 日目の投与前及び休薬 3 日目に退薬症候によると考えられる死亡/瀕死が認められたため，NOAEL は 1.2 mg/kg/日と判断した．

イヌ 29 又は 44 週間間歇経口投与毒性試験 (投与量 : 1.2 及び 2.5 mg/kg/日 [29 週間間歇経口投与毒性試験は 14 日間の投与期間と 21 日間の休薬期間を 1 サイクルとして合計 6 サイクルで構成，44 週間間歇経口投与毒性試験は 14 日間の投与期間と 42 日間の休薬期間を 1 サイクルとして合計 6 サイクルで構成]) において，全用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められ，鎮静の程度，発現頻度及び持続時間には用量依存性が認められた．2.5 mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例において，1 サイクル目の休薬期間中 (それぞれ休薬 2 日目及び休薬 4 日目) に退薬症候によると考えられる死亡又は瀕死が認められ，NOAEL は 1.2 mg/kg/日と判断した．退薬症候を含めいずれの一般状態の変化についても，投与サイクル間の休薬期間の違いによる影響は認められなかった．

遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験，ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験及びげっ歯類を用いる小核試験のいずれにおいても陰性であり，ズラノロンに遺伝毒性の懸念はないと判断した．

がん原性試験

ラットを用いた 104 週間反復経口投与がん原性試験及び rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験では，最大耐量 (MTD) を基に設定した最高用量まで，がん原性を示唆する変化は認められなかったことから，ズラノロンにがん原性はないと判断した．

生殖発生毒性試験

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生試験 (雄試験の投与量 : 3，10 及び 30 mg/kg/日，雌試験の投与量 : 1，3 及び 10 mg/kg/日) において，雌親動物では，10 mg/kg/日の用量で死亡，1 mg/kg/日以上の用量で，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が一過性に認められた．鎮静の程度及び発現頻度には用量依存性が認められた．いずれの用量においても，交尾能及び受胎能にズラノロン投与の影響は認められなかった．雌親動物の一般毒性に関する NOAEL は 3 mg/kg/日，生殖機能及び初期胚発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日であった．雄親動物では，30 mg/kg/日の用量で死亡及び摂餌量減少を伴う体重減少，10 mg/kg/日以上の用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が一過性に認められた．鎮静の程度及び発現頻度には用量依存性が認められた．いずれの用量においても，交尾能，授胎能及び精子検査にズラノロン投与の影響は認められなかった．雄親動物の一般毒性に関する

NOAEL は 10 mg/kg/日，授胎能及び生殖機能に関する NOAEL は 30 mg/kg/日であった．

ラットを用いた胚・胎児発生試験 (投与量：2.5，7.5 及び 22.5 mg/kg/日) では，22.5 mg/kg/日の用量で死亡及び痙攣，反応性亢進，眼の赤色分泌物並びに筋攣縮，7.5 mg/kg/日以上の用量で中等度及び重度の鎮静，摂餌抑制を伴う体重増加抑制及び 2.5 mg/kg/日以上の用量で用量依存的な鎮静が母動物に認められた．胚・胎児では，22.5 mg/kg/日の用量では子宮重量の低値，着床後死亡率の高値，胎児の体重低値，胎児の形態異常並びに骨化遅延が認められた．NOAEL は，母動物に関して 2.5 mg/kg/日，胚・胎児の発生に関して 7.5 mg/kg/日と判断した．

ウサギを用いた胚・胎児発生試験 (投与量：25，125 及び 500 mg/kg/日) では，500 mg/kg/日の用量で母動物の死亡，攣縮，半眼，身づくろいの減少，努力呼吸，呼吸数減少及び正向反射の消失，125 mg/kg/日以上の用量で摂餌減少を伴う体重の増加抑制及び 25 mg/kg/日以上の用量で用量依存的な鎮静が認められた．25 mg/kg/日の用量で認められた鎮静は軽度に留まった．母体毒性が認められた 500 mg/kg/日の用量では軽度な胎児体重の低値が認められたものの，いずれの用量においても胚・胎児の形態異常及び致死や母動物の生殖機能への影響は認められなかった．NOAEL は，母動物に関して 25 mg/kg/日，胚・胎児の発生に関して 125 mg/kg/日と判断した．

マウスを用いた胚・胎児発生試験 (投与量：30，100 及び 300 mg/kg/日) では，全てのズラノロン投与群で母動物に鎮静や関連する一般状態の変化が認められ，程度及び/又は発現頻度には概ね用量依存性が認められた．300 mg/kg/日投与群では，投与期間全体を通じて母動物の体重増加量が対照群と比べ有意に減少し，妊娠 12～16 日には対照群に比して有意な体重の低値もみられた．これらの変化には妊娠子宮重量の低値も伴っていた．胚・胎児では，300 mg/kg/日投与群で胎児の体重低値及び口蓋裂や未骨化などの所見がみられたが，これらの口蓋裂や骨化遅延については，母体毒性又は胎児体重の低値による二次的影響と判断された．母動物及び胚・胎児の発生に関する NOAEL は，いずれも 100 mg/kg/日と判断した．なお，上述した胎児の体重低値に関する被験物質起因性の判断及び母動物の無毒性量の判断は最終報告書 (4.2.3.5-12) の内容と異なるため，2.6.6.6.5 項には最終報告書における内容を記載し，2.6.6.9.3 項には最終報告書の内容を踏まえて，その内容と異なる判断をする根拠とその妥当性を示す．

ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験 (投与量:1, 4 及び 10 mg/kg/日) では，4 mg/kg/日以上の投与群で，母動物の死亡，中等度又は重度の鎮静，反応性亢進及び振戦，妊娠期間及び哺育期間の摂餌量減少，10 mg/kg/日投与群では母動物に痙攣や努力呼吸などの一般状態の変化及び哺育期間の体重減少が認められ，全例が予定解剖前に死亡又は安楽殺された．児動物においては，4 mg/kg/日以上の投与群で，生存性の低下及び一過性の体重低値が認められた．離乳後は，1 及び 4 mg/kg/日投与群の F1 世代に，ズラノロンに関連した死亡又は一般状態への影響は認められなかった．4 mg/kg/日投与群の F1 雄では，摂餌量減少を伴う体重減少が認められた．その他，性成熟，神経行動学的評価 (自発運動，音刺激に対する驚愕反応並びにそれに対する馴化反応，学習及び記憶能) 又は生殖機能に関する評価項目には，いずれの群の F1 世代においてもズラノロンの影響は認められなかった．母動物及び出生児の発生に関する NOAEL はいずれも 1 mg/kg/日と判断した．

幼若ラット (投与開始時生後 22 日齢) を用いた 7 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：3，10

及び 30 mg/kg/日 [雌は投与 15 日以降 1，3 及び 10 mg/kg/日に減量]) では，30 mg/kg/日の用量の雄において，投与初期にズラノロンに関連した重度鎮静による死亡又は瀕死が認められた．30/10 mg/kg/日の用量の雌においても，投与初期にズラノロンに関連した重度鎮静による死亡又は瀕死が認められたが，投与量を 10 mg/kg/日に減量した後は死亡又は瀕死は認められなかった．雄では 3 mg/kg/日，雌では 3/1 mg/kg/日の用量から薬理作用の過剰な発現に起因した鎮静が認められ，程度及び発現頻度には用量依存性が認められた．また，雄では 30 mg/kg/日投与群，雌では 30/10 mg/kg/日投与群において，摂餌量減少を伴う体重減少が認められた．30/10 mg/kg/日投与群の雌で膣開口日齢の遅延が認められた．30 mg/kg/日投与群の雄，10/3 mg/kg/日以上の雌の投与群で投与期間中に自発運動量の増加が認められたが，休薬期間には認められなかった．その他，性成熟 (雄のみ)，眼科学的検査，音刺激に対する驚愕反応並びにそれに対する馴化反応，学習及び記憶能，生殖機能，骨長又は骨密度，血液学的検査及び血液化学的検査項目，剖検時肉眼検査及び病理組織学的検査項目に，ズラノロンに関連した影響は認められなかった．生存性，一般状態，体重及び摂餌量，雌の性成熟，自発運動 (雄のみ) 及び生殖機能 (性周期，交尾能，受胎能) に対する NOAEL は，雄で 10 mg/kg/日，雌で 10/3 mg/kg/日と判断した．その他，血液検査，病理検査，雄の性成熟，音に対する驚愕反応並びに学習及び記憶能の NOAEL は，雌で 30 mg/kg/日及び雌で 30/10 mg/kg/日と判断した．雌の自発運動量に対する影響の NOAEL は 3/1 mg/kg/日と判断した．

類薬 (フェノバルビタール，ペントバルビタール，ジアゼパム，及びクロナゼパムなど) において幼若ラットにおけるアポトーシス性神経変性リスクが報告されていることから [1]，脳発達の重要な段階にあるラット脳におけるズラノロンによる神経変性リスクを検討する目的で，生後 7 日齢の雌雄ラットにズラノロンを単回経口投与 (投与量：2.5 及び 7.5 mg/kg) し，投与後 24 時間にラット脳における神経細胞の細胞体及び細胞突起の崩壊をアミノ酸-銅-銀 (AmCuAg) 染色により評価した．7.5 mg/kg の用量において，対照群に比して海馬台における神経細胞崩壊の増加が示唆されたが，この日齢及び発達段階における脳の可塑性を考慮すると，海馬台におけるアポトーシス性神経変性の増加の生物学的意義は不明であった．

局所刺激性試験

臨床適用経路における局所刺激性は反復経口投与毒性試験において評価したため，単独の局所刺激性試験は実施しなかった (2.6.6.3 項参照)．

その他の毒性試験

ズラノロンの主な薬理作用は，ヒトにおいて薬物乱用のリスクが知られた $GABA_A$ 受容体に対する PAM (モジュール 2.6.2 参照) 作用を介して発現する [2, 3]．そこで，ズラノロンの薬物乱用及び身体依存性リスクについて in vitro 及び in vivo で検討した．

In vitro 結合特異性評価を実施したところ，ズラノロン (10 µmol/L [4096 ng/mL]) は，薬物乱用に関連する 2 つのオフターゲット受容体であるシグマ 2 受容体及びグリシン受容体への結合を阻害した．コカイン静脈内自己投与能獲得ラットにおいて，試験した用量域 (複数回の薬物自己投与により，予想臨床用量と同程度の血漿中濃度を生じ得る用量を含む) では，ズラノロ

ンの明らかな自己投与回数の増加は認められなかった．これは，評価期間終盤にコカイン群と同程度の自己投与回数が認められたミダゾラム群とは対照的であり，ズラノロンは強化効果をほとんど又は全く有さないことが示唆された．雄性ラットでは，血漿中薬物濃度 410 ng/mL 以下となる用量で，ズラノロン休薬後に退薬症候は認められなかった．雌性ラットでは，血漿中薬物濃度が 696 ng/mL となる用量で，ズラノロンの休薬後に軽度かつ一過性の退薬症候 (摂餌量減少及びそれに伴う体重減少など) が認められた．これらの症状は，ベンゾジアゼピン系薬物に認められる退薬症候 (体重減少，自発運動量の変化，咀嚼行動の増加や立毛などの神経行動学的所見など) と一致していたが，その程度はクロルジアゼポキシド (CDP) ほど顕著ではなかった．上述したイヌを用いた 29 週又は 44 週間間歇投与毒性試験において，退薬症候は，間歇投与によって増悪しないことが示された．In vitro 受容体結合性試験，ラットを用いた薬物弁別試験，静脈内自己投与試験及び身体依存性試験並びにイヌを用いた間歇投与毒性試験の成績を総合すると，ズラノロンの薬物乱用や身体依存リスクは米国の物資規制法に基づくスケジュール IV のベンゾジアゼピン系薬物と同等以下であることが示唆された．

抗原性試験及び免疫毒性試験は，反復投与毒性試験において抗原性及び/又は免疫毒性を示す所見が認められなかったことから，独立した試験は実施しなかった．また，光毒性試験についても，ズラノロンは 290 nm～700 nm の波長においてモル吸光係数 (MEC) が 1000 L/mol/cm を上回らないことから，光毒性を引き起こす可能性は低いと判断した．

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラット単回経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.1-01，4.2.3.1-02，4.2.3.2-04
概要表 2.6.7.5

GLP 非適用下で，Sprague Dawley 系ラットに Labrasol® (PEG-8 カプリル酸/カプリン酸グリセリド) を用いて調製したズラノロンの投与液を単回経口投与 (A 期) 及び 7 日間反復経口投与 (B 期) し，A 期では急性毒性の評価，B 期では 7 日間反復投与時の MTD の推定と TK 評価を実施した (4.2.3.2-04)．A 期の結果を以下に要約し，B 期の結果は 2.6.6.3.2 項に要約する．

ズラノロンを雄では 10, 15, 18 又は 20 mg/kg，雌では 2.5, 6, 10 又は 20 mg/kg で，ラット (各群雌雄各 3 例) に単回経口投与し，一般状態観察，体重及び摂餌量測定を行った．剖検は実施しなかった．

雄において，死亡/瀕死例はいずれの投与群においても認められなかった．一方，雌では，10 mg/kg 以上の投与群で死亡及び瀕死例が認められた．瀕死例では，投与後 5～7 時間以内に中等度～重度の鎮静が認められたが，回復傾向が認められず，呼吸緩徐，自発運動の低下，筋攣縮，振戦，正向反射の消失，立毛及び粗毛などの状態悪化を示唆する一般状態の変化を伴っていたことから，これらの動物は投与後 16～17 時間に安楽殺された．

薬理作用に関連した鎮静及び鎮静に関連した一般状態の変化は生存例においても認められた．鎮静は，18 mg/kg 以上の投与群の雄及び 6 mg/kg 以上の投与群の雌で認められ，多くの場合は鎮静に先立って，自発運動の低下，低い姿勢，運動失調，閉眼及び/又は正向反射の消失が認め

られた．鎮静が認められた動物には，眼及び鼻周囲の付着物質が認められた．鎮静は，雌雄共に投与後約 3～5 時間から発現した．鎮静の程度及び持続時間には概ね用量依存性が認められた．20 mg/kg 投与群の雄では，軽度から中等度の鎮静が投与後 4 時間以内に認められたが，投与後 10～11 時間以内には完全に回復した．18 mg/kg 投与群の雄は軽度の鎮静を示したが，投与後 5～5.5 時間以内に回復した．6 mg/kg 以上の投与群の雌では，重度の鎮静が投与後 3.5 時間以内に発生したが，投与後 23 時間以内に完全に回復した．10 mg/kg 投与群の雄及び 2.5 mg/kg 投与群の雌では，鎮静及び鎮静と関連した一般状態の変化は認められなかった．体重及び摂餌量にズラノロンの影響は認められなかった．

以上の結果より，ズラノロンをラットに単回経口投与したところ，雌では 6 mg/kg 以上の用量で鎮静が認められ，10 mg/kg 以上の用量では中等度から重度の鎮静による死亡/瀕死が認められた．雄では 15 mg/kg 以上の用量で軽度から中等度の鎮静が認められたが，死亡/瀕死は認められなかった．

GLP 非適用下で，Sprague Dawley 系ラットに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を単回経口投与し，忍容性及び薬物動態をそれぞれ評価した (4.2.3.1-01).

忍容性の評価では，ズラノロンを雄では 20, 25, 30, 35 又は 40 mg/kg，雌では 2.5, 4, 5, 7.5 又は 10 mg/kg の用量でラット (各群雌雄各 3 例) に単回経口投与し，一般状態観察を実施した．薬物動態の評価では，ズラノロンを雄には 1，3，10，20 及び 35 mg/kg (各群 6 例)，雌には 0.25，0.75，2.5，5 及び 7.5 mg/kg (各群 6 例) の用量で単回経口投与をした．

いずれの投与群においてもズラノロンの薬理作用の過剰な発現による鎮静が認められた．鎮静の程度や持続時間にはばらつきがあり，明確な用量反応関係は認められなかった．10 mg/kg 投与群の雌 2 例及び 5 mg/kg 投与群の雌全例が，鎮静の程度及び持続時間の程度が著しく，皮温低下も認められたため瀕死と判断され，早期に安楽殺された．雄では死亡/瀕死は認められなかった．雌雄共に全投与群において，自発運動の低下，接触及び/又は音に対する反応性亢進，ミオクローヌス，振戦，眼球突出，姿勢を立て直すことができない状態及び/又は身体緊張の消失などが認められた．いずれの所見も雌の方が雄よりも重度であり，10 mg/kg 投与群では投与後 12 時間まで持続した．これらの一般状態の変化も，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に関連した変化と考えられた．

ズラノロンを単回経口投与した雌雄ラットにおける AUC_{last} 及び最高血漿中濃度 (C_{max}) は，雄では 1 mg/kg から 20 mg/kg，雌では 0.25 mg/kg から 5 mg/kg までのズラノロンの用量増加に伴って増加した．ズラノロン投与後の全身曝露量の薬物動態パラメータを表 2.6.6.2-1 に示す．

結論として，ズラノロンの単回経口投与では，雄では 40 mg/kg の用量，雌では 4 mg/kg の用量まで死亡/瀕死は認められなかった．

表 2.6.6.2-1 ズラノロンを単回経口投与したラットの血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg)	Sex	AUC_{last} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)
1	Male	246	64.0	2
3		813	196	6
10		4050	387	4
20		5710	453	4
35[a]		5480	440	2
0.25	Female	218	38.8	2
0.75		635	104	2
2.5		3970	364	2
5		10 200	710	4
7.5		7640	641	2

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.
a Based on formulation analysis, the actual dose was 22.1 mg/kg.

GLP 非適用下で，雌雄 Sprague Dawley 系ラットに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を単回経口投与し，忍容性を評価した (4.2.3.1-02).

ズラノロンを雄では 25, 30 又は 35 mg/kg，雌では 2.5, 4, 4.5 又は 5 mg/kg の用量でラット (各群雌雄各 3 例) に単回経口投与し，一般状態観察を行った.

雌雄全てのズラノロン投与群において，瀕死又は死亡は認められなかったが，鎮静，自発運動の低下，平衡感覚の異常，接触及び/又は音に対する反応性亢進，半眼及び/又は正向反射の消失が認められた．鎮静の程度 (軽度～中等度) には用量依存性が認められ，鎮静の持続時間は雄では明白ではなかったが雌では用量依存性が認められた．いずれの一般状態への影響もズラノロンの薬理作用の過剰な発現に関連した変化と考えられた.

結論として，ズラノロンをラットに雄では 35 mg/kg，雌では 5 mg/kg の用量まで単回経口投与したところ，評価した全ての用量で程度又は持続時間に概ね用量依存性を伴う鎮静が認められたが，死亡/瀕死は認められなかった.

2.6.6.2.2 イヌ単回経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.1-03，4.2.3.1-04，4.2.3.2-11
概要表 2.6.7.5

GLP 非適用下で，30%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン (HPβCD) 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液をビーグルイヌに単回経口投与したときの急性毒性の評価 (A 期) 及び 7 日間反復経口投与した際の忍容性の推定及び TK 測定 (B 期) を目的とした 2 期からなる試験を実施した (4.2.3.2-11). A 期の結果を以下に要約し, B 期の結果を 2.6.6.3.6 項に要約する.

ズラノロンを 2，2.5，1 又は 0.5 mg/kg の用量で 4 から 7 日の休薬期間を設けて同じイヌ (雌雄各 2 例) に経口漸増/漸減投与し，一般状態観察，体重及び摂餌量測定を実施した.

試験期間を通して，死亡及び瀕死は発生しなかった．1 mg/kg 以上の用量で鎮静及び関連する

一般状態の変化として，自発運動の低下，運動失調，側臥位，振戦，音に対する反応性亢進，流涙及び皮温低下が認められた．鎮静は，1 mg/kg 以上の用量を投与した雌雄のいずれにおいても投与後約 0.5～1.5 時間から認められ，程度や持続時間に雌雄差は認められなかった．2.5 mg/kg 投与群では，重度の鎮静が認められたが，概ね投与後 12 時間で回復した．1 及び 2 mg/kg 投与群においても重度の鎮静は認められ，大半の動物は概ね投与後 8～8.5 時間で鎮静から回復したが，2 mg/kg 投与群の雌は投与後 9～11.5 時間まで鎮静が認められた．0.5 mg/kg 投与群では鎮静は認められなかった．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められた．いずれの用量においても体重及び摂餌量にズラノロンによる明らかな影響は認められなかった．

結論として，雌雄イヌにズラノロンを 0.5，1，2 又は 2.5 mg/kg の用量を単回経口投与した際に，程度及び持続時間に用量依存性を伴う鎮静が一過性に認められたが，いずれの用量においても瀕死/死亡は認められなかった．

GLP 非適用下で，雌雄ビーグルイヌに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を単回経口投与した際の薬物動態及び忍容性の評価を目的とし，ズラノロンをイヌ (各群雌雄各 3 例) に 1，1.5，2，2.5 又は 3 mg/kg の用量で単回経口投与し，一般状態観察及び TK 測定を行った (4.2.3.1-03).

試験期間を通じて死亡及び瀕死は発生しなかった．ズラノロン投与群では，いずれの用量においても鎮静が認められ，鎮静の程度 (軽度から重度) や持続時間には用量依存性が認められた．重度の鎮静が認められた 2.5 mg/kg 及び 3 mg/kg 投与群では，鎮静は最大で投与後約 15 時間まで持続した．中等度の鎮静が認められた 2 mg/kg 投与群では鎮静の持続時間は最大約 7.75 時間であった. 鎮静に関連する一般状態の変化として, 1 mg/kg 以上の投与群で平衡感覚の異常，自発運動の低下，振戦，半眼/閉眼 (両眼)，接触又は/及び音に対する反応性亢進又は身体緊張の消失が認められた．

ズラノロンの血漿中曝露量は，1～3 mg/kg の用量間で用量比で増加した．雌雄の曝露量は全用量間で同程度 (2 倍以内) であり，明白な性差は認められなかった．最高血漿中濃度到達時間 (T_{max}) は投与後 2～4 時間であった．雌雄イヌにおけるズラノロンの曝露量 (時間 0 から投与後 24 時間までの血漿中濃度 － 時間曲線下面積 [$AUC_{0\text{-}24hr}$]) 及び C_{max} を表 2.6.6.2-2 に示す．

結論として，ズラノロンをイヌに 1～3 mg/kg の用量で単回経口投与したところ，全ての用量で鎮静及び関連する一般状態の変化が認められたが，死亡/瀕死は認められなかった．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められた．鎮静の持続時間及び程度を考慮すると，2 mg/kg/日が亜急性及び慢性毒性試験の最大耐用量と考えられた．

表 2.6.6.2-2 雌雄イヌに対する単回経口投与後の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg)	Sex	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)
1	Male	2550	247	2.00
	Female	3320	275	2.00
1.5	Male	3760	367	2.00
	Female	4320	363	2.00
2	Male	4840	459	2.00
	Female	6700	529	2.00
2.5	Male	5910	478	2.67
	Female	7450	543	4.00
3	Male	8980	630	3.33
	Female	9620	764	2.67

$AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

GLP 非適用下で, 雌雄ビーグルイヌにズラノロンを 2 又は 2.5 mg/kg の用量でイヌ (各群雌雄各 2 例) に単回経口投与し，一般状態観察を行った (4.2.3.1-04). 媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた.

試験期間を通じて死亡及び瀕死は発生しなかった．全投与群において，鎮静，自発運動の低下，平衡感覚の異常，接触及び/又は音に対する反応性亢進，半眼又は閉眼，前肢の強直性伸長，振戦及び/又は姿勢を立て直すことができない状態等の鎮静に関連する一般状態の変化が認められた．2 又は 2.5 mg/kg の用量で認められた鎮静の程度は最も強い場合で中等度であり，鎮静の最大持続時間は約 5.5 時間であった．鎮静に関連する一般状態の変化に関しても，その程度と持続時間は，鎮静の程度 (概ね軽度～中等度) 及び持続時間と相関していた.

結論として，ズラノロンのイヌへの単回投与では 2.5 mg/kg の用量まで死亡/瀕死は認められなかった．2 及び 2.5 mg/kg のいずれの用量においても，薬理作用に関連した軽度又は中等度の鎮静及び関連する一般状態の変化が認められたが，忍容性は良好であった.

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラット 5 日間反復経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-03

概要表 2.6.7.6

雄性 Sprague Dawley 系ラット (主群 : 各 10 例，TK 群 : 各 9 例 [溶媒群のみ 3 例]) に PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロンを 30，45，60 及び 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回 5 日間反復経口投与し，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，尿検査，血液学的検査，血液化学的検査及び剖検時肉眼検査 (死亡例のみ) 並びに TK 測定 (初回及び最終投与後に TK 群から採血) を実施した.

30 mg/kg/日投与群では，ズラノロンの薬理作用である鎮静 (軽度又は中等度) のみが認められ，忍容性は良好であった．45 mg/kg/日投与群では，反応性亢進及び投与初日に 1 例の死亡が

認められたが，ズラノロンとの関連性は不明であった．60 又は 100 mg/kg/日投与群では，下位用量で認められた所見の他に皮温低下及び/又は努力性の不整呼吸などが認められ，5 例が投与 1 日目に瀕死のため安楽殺された．100 mg/kg/日投与群の内 1 例では，投与後 6 日目に活動性低下，非持続性の痙攣，意識消失，低体温，脱水，浅速呼吸，赤色尿が認められた．30 mg/kg/日以上の投与群において認められた鎮静の頻度と程度には用量依存性が認められ，反復投与によって軽減した．体重，摂餌量，尿検査，血液学的検査及び血液化学的検査項目及び剖検時肉眼検査にはズラノロンによる影響は認められなかった．

ズラノロンの AUC_{last} 及び C_{max} は概ね用量比以下で増加し，反復投与による曝露の蓄積は認められなかった (表 2.6.6.3-1).

結論として，雄性ラットに対するズラノロンの 30 mg/kg/日 (AUC_{last}= 6260 ng·hr/mL ; C_{max} = 450 ng/mL) を MTD と判断した．

表 2.6.6.3-1　　ラット 5 日間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{last} (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max} (hr)	
	Day 1	Day 5	Day 1	Day 5	Day 1	Day 5
30	6300	6260	539	450	6	4
45	8010	7700	568	543	6	6
60	10 400	7310	750	546	8	6
100	8180	10 600	611	657	6	4

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.3.2　　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-06

参考資料 4.2.3.2-04，4.2.3.2-07

概要表 2.6.7.6，2.6.7.7.1

(1) 用量設定根拠

GLP 非適用下で，Sprague Dawley 系ラット (主群：雌雄各 5 例，TK 群：雌雄各 6 例) にズラノロンを，雄には 0 (媒体)，15，18 及び 20 mg/kg/日の用量で，雌には 0 (媒体)，3，5 及び 7.5 mg/kg/日の用量で，1 日 1 回 7 日間反復経口投与し，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検時肉眼検査，器官重量測定及び TK (初回及び最終投与後に TK 群から採血) 測定を実施した．媒体には 100% Labrasol®を用いた (4.2.3.2-04).

全てのズラノロン投与群で軽度～中等度の鎮静が認められたが，死亡/瀕死，重度の一般状態の変化は認められなかった．雄の 20 mg/kg/日投与群では，血液学的検査において好中球数とリンパ球数増加に伴う白血球数の増加，血液生化学検査において尿素窒素及びクレアチニンの増加，器官重量測定において副腎重量の増加が認められた．また，雌の全てのズラノロン投与群では，血液生化学検査において尿素窒素の増加が認められ，7.5 mg/kg/日投与群では血液生化学検査においてグルコースの増加，器官重量測定において副腎重量の増加が認められた．

体重，摂餌量，尿検査及び剖検時肉眼検査にズラノロンによる影響は認められなかった．

最高用量まで，死亡/瀕死，対照群比で 10%を超える体重減少及び重度の一般状態の変化は認められず，ズラノロンをラットに 7 日間反復投与した際の MTD は雄では＞20 mg/kg/日，雌では＞7.5 mg/kg/日と考えられた．従って，ラット 2 週間反復経口投与毒性試験の高用量として，雄は 22.5 mg/kg/日，雌は 8 mg/kg/日を設定した．毒性の用量反応関係を確認するため，雄では 3 及び 10 mg/kg/日，雌では 1 及び 3 mg/kg/日を下位用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

Sprague Dawley 系ラット (主群：雌雄各 16 例 [休薬群として雌雄各 5～6 例を含む]，TK 群：雌雄各 6 例 [媒体群のみ雌雄各 3 例]) に，ズラノロンを雄には 0 (媒体)，3，10 又は 22.5 mg/kg/日，雌には 0 (媒体)，1，3 又は 8 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与し，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検時肉眼所見，器官重量及び病理組織学的検査を実施した．媒体には 100% Labrasol®を用いた．毒性の回復性/進行性/遅発性毒性の有無は，投与期間終了後に 2 週間の休薬期間を設けた休薬群を用いて評価した．ズラノロンの TK 評価を初回及び最終投与後に TK 群からの血漿サンプルを用いて実施したが，測定時の技術的な誤りのため (4.2.3.2-06)，別の試験 (4.2.3.2-07) で改めて TK 評価を実施した．

試験期間を通して，主群及び TK 群にズラノロンに関連する死亡は認められなかった (4.2.3.2-06)．追加で実施した TK 試験 (4.2.3.2-07) では，8 mg/kg/日投与群の雌 1 例が投与 5 日目に死亡した．死因は特定されなかったが，ズラノロンによる重度の鎮静に関連している可能性が考えられた．

ズラノロンによる鎮静及び関連した一般状態の変化が雄では 10 mg/kg/日以上，雌では 3 mg/kg/日以上の投与群で認められた．10 mg/kg/日投与群の雄で認められた鎮静は投与 1 日目に 1 例でのみ認められ，その程度は軽度であった．22.5 mg/kg/日投与群の雄では軽度～中等度，8 mg/kg/日投与群の雌では軽度～重度の鎮静が認められた．投与 1 日目における鎮静の持続時間は，22.5 mg/kg/日群の雄 (約 2～11 時間) に比べて 8 mg/kg/日投与群の雌 (約 12～18 時間) で長く，雌雄共に鎮静の程度及び持続時間は反復投与によって減少した．休薬期間中に鎮静は認められなかった．

血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査において，以下の変化が認められたが，軽度であり毒性とは判断しなかった．いずれの変化も休薬期間後には認められず，回復性がみられた．

- 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) の軽度な延長 (対照群比: +18%): 雄 10 mg/kg/日以上の投与群，雌 1 mg/kg/日以上の投与群
- 血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) の軽微な上昇 (対照群比: 1.1～1.4 倍): 雄 22.5 mg/kg/日投与群，雌 8 mg/kg/日投与群
- 血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の軽度な上昇 (対照群比: 1.8 倍): 雌 8 mg/kg/日投与群
- 尿 pH の軽度な上昇: 雄 22.5 mg/kg/日投与群，雌 8 mg/kg/日投与群

器官重量測定において，8 mg/kg/日投与群の雌における肝臓の絶対重量及び相対重量の増加が認められた．同群の雌では肝細胞空胞化並びに AST 及び ALT 上昇の発現頻度が高かったが，いずれも軽微又は軽度な変化であり，病理組織学的検査で壊死や炎症などの退行性変化は肝臓ではみられなかったことから，肝臓重量の増加は毒性ではないと判断した．肝臓重量の変化は休薬期間終了後には認められず，回復性を示した．その他にズラノロンに関連する器官重量の変化は認められなかった．

病理組織学的検査において，10 及び 22.5 mg/kg/日投与群の雄並びに 1，3 及び 8 mg/kg/日投与群の雌において軽微から軽度な肝細胞空胞化が認められた．8 mg/kg/日投与群の雌及び 22.5 mg/kg/日投与群の雄における肝細胞空胞化は，ALT/AST の軽微な上昇を伴っていたが，変化は軽微から軽度であり，壊死や炎症などの退行性変化は肝臓ではみられなかったことから，毒性ではないと判断した．本所見は休薬期間終了時に 22.5 mg/kg/日投与群の雄 1 例にのみ認められたが，休薬群の他の動物では同様の所見は認められず，回復性を示した．その他にズラノロンに関連する病理組織学的所見はなかった．

体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査又は剖検時肉眼検査において，ズラノロンに関連した影響は認められなかった．

投与 1 日目及び投与 14 日目におけるズラノロンの $AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び C_{max} は，ほぼ用量比で増加した．ズラノロンの反復投与による全身曝露量の蓄積は認められなかった．これらの結果を表 2.6.6.3-2 に要約する．

結論として，ズラノロンを雄ラットに 3，10 及び 22.5 mg/kg/日，雌ラットに 1，3 及び 8 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 14 日間反復経口投与したところ，雄では 10 mg/kg/日以上，雌では 3 mg/kg/日以上の投与群において鎮静が認められた．鎮静の持続時間及び程度には用量依存性が認められ，鎮静は反復投与に伴って程度や持続時間が軽減した．NOAEL は，雄では 22.5 mg/kg/日，雌では 8 mg/kg/日 (TK 群) の 1 例で死亡がみられたことから 3 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.3-2 ラット 2 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (4.2.3.2-07)

Dose Level (mg/kg/day)	Sex	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max} (hr)	
		Day 1	Day 14	Day 1	Day 14	Day 1	Day 14
3	Male	622	891	40.6	62.0	4	2
10		2040	2570	135	225	4	4
22.5		4660	5050	285	502	8	2
1	Female	1370	1950	88.1	121	8	8
3		4400	5270	306	392	8	4
8		9430	12 900	626	921	8	8

$AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); TK = toxicokinetics; T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.3.3 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-08
概要表 2.6.7.7.2

(1) 用量設定根拠

ラットを用いた単回経口投与毒性試験 (2.6.6.2.1 項参照) 及びラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験 (2.6.6.3.2 項参照) の結果から用量制限因子となる重度の鎮静が発現する用量を考慮し，高用量として雄は 30 mg/kg/日，雌は 5 mg/kg/日を設定した．毒性の用量反応関係を確認するため，中用量として雄では 2.5 及び 8 mg/kg/日，雌では 0.5 mg/kg/日及び 1.5 mg/kg/日を設定した．鎮静が発現しないと予想される用量として，雄では 0.8 mg/kg/日，雌では 0.15 mg/kg/日を下位用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

雌雄 Sprague Dawley 系ラットに，表 2.6.6.3-3 に示す試験デザインに従い，ズラノロンを雄には 0 (水，媒体)，0.8，2.5，8 又は 30 mg/kg/日，雌には 0 (水，媒体)，0.15，0.5，1.5 又は 5 mg/kg/日の用量でラットに 1 日 1 回 90 日間以上反復経口投与した．媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，TK 測定，剖検時肉眼検査，器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した．毒性変化の回復性を検討するために，水及び媒体投与群並びに中及び高用量群には投与期間終了後 28 日間の休薬期間を設けた休薬群を含めた．

表 2.6.6.3-3 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)		Main Study[a]		Toxicokinetics	
		Males	Females	Males	Females	Males	Females
1	Water	0	0	15	15	3	3
2	Vehicle	0	0	15	15	3	3
3	Zuranolone	0.8	0.15	10	10	9	9
4	Zuranolone	2.5	0.5	10	10	9	9
5	Zuranolone	8	1.5	15	15	9	9
6	Zuranolone	30	5	15	15	9	9

a 5 animals/sex in Groups 1, 2, 5, and 6 were assigned to a minimum of 28 days of recovery.

5 mg/kg/日投与群 (主群) の雌 1 例で投与 34 日目の投与後約 6 時間に死亡が認められた．当該個体では死亡当日に投与後 90 分から軽度及び中等度の鎮静が認められ，投与後約 390 分に重度の鎮静に達した後，投与後約 405 分に死亡が認められた．死亡日以前に，この雌に認められた鎮静はいずれも軽度であった．当該個体の体重，摂餌量，血液生化学的検査値 (投与 28 日目の値)，剖検時肉眼所見及び病理組織学的評価に明らかな影響は認められず，死因は不明であった．しかしながら，当該個体は高用量群の動物であり，死亡当日の投与後に重度の鎮静に達していたことから，この死亡はズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因すると考えられた．

投与 55 日目の 8 mg/kg/日投与群 (主群) の雄及び投与 87 日目の 30 mg/kg/日投与群 (TK 群) の雄でそれぞれ 1 例の死亡例が認められたが，これらの群の死亡は低頻度であり，当該個体よりも重度の鎮静が認められた他の雄には死亡が認められなかったこと及び/又は関連する体重，摂餌，血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査項目並びに病理検査において影響が認められなかったことから，ズラノロンとの関連はないと判断された．その他の動物はいずれも計画剖検時まで生存した．

投与期間中，2.5，8 及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに 0.15，0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日投与群の雌で，ズラノロンに関連した鎮静並びにそれに伴う自発運動の低下及び運動失調が用量依存的に認められた．鎮静と鎮静に関連した一般状態変化は，概して，5 mg/kg/日投与群の雌と比較して 30 mg/kg/日投与群の雄の方がより高い頻度で認められた．軽度及び/又は中等度の鎮静は主に 2.5，8 及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに 5 mg/kg/日投与群の雌でみられ，中等度の鎮静の発現頻度は 30 mg/kg/日投与群の雄及び 5 mg/kg/日投与群の雌が最も高かった．8 及び 30 mg/kg/日投与群の雄並びに 5 mg/kg/日投与群の雌で，これらの所見は概して投与期間を通じて投与後 30 分という早い時点から認められ，投与後 180 分以降も持続して認められた．30 mg/kg/日投与群の雄及び 5 mg/kg/日投与群の雌では振戦，平衡感覚の異常及び/又は接触に対する反応性亢進が散発的に認められ，30 mg/kg/日投与群 (TK 群) の雄 1 例で投与 80 日目に平伏姿勢及びパドリングが認められた．いずれの変化もズラノロンに関連した変化と考えられた．軽度及び中等度の鎮静及び鎮静に関連する一般状態変化の頻度，並びに鎮静の持続時間は，概して雌雄共に投与開始後 30 日間が最も高い又は長かった．

体重に関して，投与期間を通して 30 mg/kg/日投与群の雄で水対照群 (陰性対照群) と比較して 12.7%の体重増加抑制がみられたが，投与期間終了時 (投与 13 週目) の体重は水対照群と比較して 7.5%減及び媒体対照群と比較して 5.8%減であったことから，体重増加抑制は軽度であり毒性ではないと判断した．休薬期間中も，30 mg/kg/日投与群の雄の体重増加量は水対照群と同等以下であったが，休薬終了時 (投与 17 週目) の体重は水対照群と比較して 8.0%減，媒体対照群と比較して 3.0%減であった．雌の体重にズラノロンに関連した影響は認められなかった．

投与終了後の剖検時において，2.5，8 及び 30 mg/kg/日投与群の雄で相対肝重量の増加，並びに 1.5 及び 5 mg/kg/日投与群の雌で絶対肝重量の増加及び/又は相対肝重量の増加がみられたが，関連する病理組織学的所見が認められなかったことから，毒性ではないと判断した．

その他，いずれの用量においても，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検時肉眼検査及び病理組織学的検査にズラノロンに関連した影響は認められなかった．

TK に関して，雄は雌より約 5～6 倍高い用量を投与したが，各投与群におけるズラノロンの AUC_{last} は雌雄間で同程度であった．全ての評価日において，雄における曝露量は，AUC_{last} は用量に比例して増加し，C_{max} は用量比を下回る増加を示した．全体として，雌ではいずれの評価日においても AUC_{last} 及び C_{max} は概ね用量に比例して増加した．高用量では，いずれの評価日にも全身曝露量の蓄積は認められなかった．消失半減期 ($t_{1/2}$) は，全ての評価日で雄において 2.28～5.85 時間，雌において 4.14～8.37 (近似値) 時間であった．雌雄ラットにおけるズラノロン投与後の全身曝露量を表 2.6.6.3-4 に要約する．

結論として，ズラノロンを雄ラットに 0.8，2.5，8 及び 30 mg/kg/日，雌ラットに 0.15，0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 90 日間反復経口投与したところ，雄の 0.8 mg/kg 投与群を除く全ての用量で鎮静が認められ，特に投与初期には持続時間及び程度に用量依存性が認められた．鎮静は反復投与に伴って程度や持続時間が軽減した．毒性と判断される変化が認められなかったことから，雄において，NOAEL は 30 mg/kg/日と判断した．雌では，5 mg/kg/日投与群の 1 例で重度の鎮静に起因した死亡がみられたため，NOAEL は 1.5 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.3-4 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	Sex	AUC_{last} (ng·hr/mL)			C_{max} (ng/mL)			T_{max} (hr)		
		Day 0	Day 30	Day 90	Day 0	Day 30	Day 90	Day 0	Day 30	Day 90
0.8	Male	181	193	226	37.2	35.0	44.3	4	2	2
2.5		578	750	1300	121	186	155	2	2	2
8		2760	2910	2820	262	315	266	4	2	2
30		5050	6160	4340	613	495	393	6	4	4
0.15	Female	97.2	270	460	17.5	24.3	33.2	4	2	2
0.5		669	787	1230	58.7	63.3	79.3	2	2	2
1.5		2410	2470	3190	214	201	218	2	4	2
5		7810	6370	6110	554	411	411	2	4	4

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.
Day 0 means the first day of dosing.

2.6.6.3.4 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-09
概要表 2.6.7.7.3

(1) 用量設定根拠

ラット 13 週間反復経口投与毒性試験 (2.6.6.3.3 項参照) において，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現によると考えられる鎮静及び鎮静に関連する一般状態の変化が認められたが，雄の 30 mg/kg/日投与群及び雌の 1.5 mg/kg/日投与群まで毒性変化は認められなかった．この結果を受け，最高用量として雄では 30 mg/kg/日，雌では 5 mg/kg/日を設定した．また，毒性の用量反応関係を確認するため，雄では 3 及び 10 mg/kg/日，雌では 0.5 及び 1.5 mg/kg/日を下位用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

表 2.6.6.3-5 に示す試験デザインに従い，雌雄 Sprague Dawley 系ラットにズラノロンを，雄には 0 (媒体)，3，10 又は 30 mg/kg/日，雌には 0 (媒体)，0.5，1.5 又は 5 mg/kg/日の用量で 182 日間 (26 週間) 以上反復経口投与した．媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．一般毒性は，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学検査及び尿検査，TK 測定，剖検時肉眼検査，器官重量測定及び病理組織学的検査によって評価した．

毒性の回復性を検討するために，媒体投与群並びに中及び高用量群には投与期間終了後 28 日間の休薬期間を設けた休薬群を含めた．

表 2.6.6.3-5 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)		Main Study[a]		Toxicokinetics	
		Males	Females	Males	Females	Males	Females
1	Vehicle	0	0	21	21	3	3
2	Zuranolone	3	0.5	15	15	9	9
3	Zuranolone	10	1.5	21	21	9	9
4	Zuranolone	30	5	21	21	9	9

a 4-6 animals/sex in Groups 1, 3, and 4 were assigned to a minimum of 28 days of recovery.

主群及び TK 群で計 10 件の投与期間中の死亡が認められた．死亡のうち，30 mg/kg/日投与群 (TK 群) の雄 1 例の死亡のみがズラノロン関連と考えられた．

30 mg/kg/日投与群 (TK 群) において，投与 4 日目に雄 1 例が瀕死のため安楽殺された．死亡当日，当該動物には深い努力呼吸及び呼吸数増加を伴う重度の鎮静が認められ，瀕死状態と判断された．剖検時に肉眼的異常は認められなかった．この動物の病理組織学的検査は実施しなかったが，安楽殺前の連続する 3 回の観察時点で重度の鎮静が認められたことから，ズラノロンに関連した瀕死と判断した．

30 mg/kg/日投与群の雄及び 5 mg/kg/日投与群の雌でズラノロンの薬理作用に起因する一般状態の変化 (主に，自発運動の低下，運動協調能の障害，正向反射の消失/低下及び低い姿勢) がみられた．10 mg/kg/日投与群の雄及び 1.5 mg/kg/日投与群の雌においても同様の変化はみられたが，その発現頻度は高用量群に比べてはるかに少なかった．これらは軽度及び中等度の鎮静に伴う変化であり，発現頻度に雌雄差は認められなかった．高用量群では，これらの所見は試験期間を通して投与後約 6～7 時間まで概ね持続した．休薬期間中，特記すべき一般状態の変化は認められなかった．

ズラノロンと関連した鎮静はほとんどが軽度及び中等度で，主に 30 mg/kg/日投与群の雄及び 5 mg/kg/日投与群の雌で認められ，10 mg/kg/日投与群の雄及び 1.5 mg/kg/日投与群の雌では程度が極めて弱かった．用量依存的な鎮静とそれに関連する自発運動の低下，運動協調能の障害及び正向反射の消失/低下は，ズラノロンの薬理作用に関連した変化と考えられた．30 mg/kg/日投与群の雄では，投与 6 日目から投与 29 日目まで重度の鎮静が数回認められたが，それ以降は認められなかった．1.5 及び 5 mg/kg/日投与群の雌には，重度の鎮静は認められなかった．

器官重量測定において，3，10 及び 30 mg/kg/日投与群の雄で甲状腺/副甲状腺重量の増加，1.5 及び 5 mg/kg/日投与群の雌で肝重量の増加が認められたが，関連する病理組織学的所見は認められなかったことから，これらの変化はいずれも毒性ではないと判断された．

その他，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学検査，尿検査，眼科学的，剖検時肉眼検査及び病理組織学的検査に影響はみられなかった．

TK に関して，時間 0 から投与後 t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 (AUC_{0-t}) 及び C_{max} に基づくズラノロンの曝露量は，投与 91 日目及び投与 182 日目は用量比以下で増加した．$t_{1/2}$

(算出可能な場合) は雄で 2.58～6.60 時間，雌では 3.95～8.11 時間であった．反復投与後にズラノロンの全身曝露量の蓄積は認められなかった．雌雄ラットにおけるズラノロン投与後の全身曝露量を表 2.6.6.3-6 に要約する．

結論として，ズラノロンを雄ラットに 3, 10 及び 30 mg/kg/日，雌ラットに 0.5, 1.5 及び 5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 26 週間反復経口投与したところ，雄の 10 mg/kg/日以上及び雌の 1.5 mg/kg/日以上の用量で鎮静が認められた．鎮静の持続時間及び程度は用量依存的に増加したが，反復投与に伴いこれらは軽減した．30 mg/kg/日投与群 (TK 群) の雄 1 例で重度の鎮静に起因した死亡がみられたが，毒性と判断される変化は認められず，NOAEL は雄で 10 mg/kg/日，雌で 5 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.3-6 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)			C_{max} (ng/mL)			T_{max} (hr)		
		Day 1	Day 91	Day 182	Day 1	Day 91	Day 182	Day 1	Day 91	Day 182
3	Male	929	1760	1690	295	214	168	8	2	4
10		3760	6150	4560	313	485	350	2	2	6
30		8020	6560	6350	562	513	429	6	2	4
0.5	Female	845	1280	1310	80.3	126	83.9	2	2	2
1.5		2600	4010	4060	241	263	295	2	1	2
5		7690	8680	7590	560	721	564	2	4	2

AUC_{0-t} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.3.5 イヌ 7 日間反復経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-10，4.2.3.2-12

概要表 2.6.7.6

GLP 非適用下で，雄性ビーグルイヌに 15% (w/v) スルホブチルエーテル-β-シクロデキストリン (SBECD) を用いて調製したズラノロン投与液を 3.5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与したときの忍容性評価及び TK 測定を目的として試験を開始した (4 例). しかしながら，忍容性の問題により投与 3 日目に試験を中止した．毒性は一般状態観察，体重及び摂餌量測定及び剖検時肉眼検査により評価した (4.2.3.2-10)．試験中止に至るまでに得られた結果を以下に示す．

投与 2 日目に重度の痙攣及び頻脈のため 3 例 (動物番号 1001，1002 及び 1004) が安楽殺された．動物番号 1002 及び 1004 の肺，胃，気管及び胸腺にみられた肉眼的所見は偶発的及び/又は死戦期症状と判断され，動物番号 1001 では剖検時肉眼的所見は認められなかった．

いずれの動物においても重度の鎮静及び鎮静に関連する一般状態の変化が認められた．運動失調，自発運動の低下及び半眼などが投与 1 日目の投与後約 15 分に認められ，その後間もなく，側臥位又は腹臥位，閉眼が認められた．その他，意識消失，攣縮，振戦，パドリング，筋緊張亢進/低下，非持続性痙攣，呼吸数低下/増加及び体温低下が認められた．意識消失状態の間，

座位及び立位への試み，運動亢進並びに異常発声などの深い鎮静からの回復を示唆する一般状態の変化が徐々に認められた．これらの一般状態の変化は，全ての動物で投与 1 日目の投与後約 8 時間まで認められた．

投与 2 日目の投与前には，投与 1 日目に認められた一般状態への影響の大半は消失していたが，投与 2 日目の投与直後に，投与 1 日目で認められた一般状態への影響がより重度に認められ，顕著な摂餌量減少も認められた (動物番号 1001 及び動物番号 1004)．動物番号 1003 では，投与 2 日目の投与後 12 時間まで，上述のような意識のある状態と意識消失が程度の異なる状態 (軽度～重度) で認められたため，投与 3 日目の投与は中止した．投与中止により，動物番号 1003 の一般状態への影響は消失した．

以上の結果より，ズラノロンを 3.5 mg/kg/日の用量でイヌに経口投与したところ，いずれの動物においても重度の鎮静や関連する一般状態の変化が認められた．投与 2 日目以降には重度の痙攣及び頻脈による瀕死や顕著な摂餌量減少が認められ，投与 3 日目に試験を中止した．3.5 mg/kg/日の用量は 7 日間の反復投与には耐容しないと判断した．

GLP 非適用下で，雌雄ビーグルイヌにズラノロンを，2 又は 2.5 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与したときのズラノロンの忍容性を，一般状態観察に基づき評価した (4.2.3.2-12)．投与 7 日目にのみ TK 測定も実施した (各群雌雄各 3 例)．媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．

2 又は 2.5 mg/kg/日投与群において，自発運動の低下，平衡感覚の異常，接触及び/又は音に対する反応性亢進，半眼又は閉眼，前肢の強直性伸長，振戦，姿勢を立て直すことができない状態，平伏姿勢，異常発声及び/又は旋回行動等のズラノロンによる鎮静に関連した一般状態の変化が認められた．鎮静の程度及び持続時間には用量依存性がみられた (2 mg/kg/日投与群で軽度～中等度の鎮静，2.5 mg/kg/日投与群で中等度～重度の鎮静)．

TK 測定に関して，反復投与後の血漿中ズラノロンの AUC_{last} 及び C_{max} は，雌雄共にズラノロンの用量が 2 mg/kg/日から 2.5 mg/kg/日に増加するのに伴って増加した．ズラノロンの曝露量に性差は認められなかった．T_{max} は雄では投与後 2～4 時間，雌では投与後 2～8 時間であった．雌雄イヌにおけるズラノロン投与後の全身曝露量を表 2.6.6.3-7 に要約する．

表 2.6.6.3-7 イヌ 7 日間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	Sex	AUC_{last} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)
2	Male	6960	534	3.3
	Female	10 400	575	4.7
	Sex-Combined	8690	555	4.0
2.5	Male	12 600	755	2.7
	Female	16 400	866	3.3
	Sex-Combined	14 500	811	3.0

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.3.6 イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-13
参考資料 4.2.3.2-11
概要表 2.6.7.6，2.6.7.7.4

(1) 用量設定根拠

GLP 非適用下で，雌雄ビーグルイヌにズラノロンを 1，2 又は 2.5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与し (各群雌雄各 2 例)，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学検査，尿検査及び TK 測定を実施した (4.2.3.2-11)．媒体には 30% HPβCD 水溶液を用いた．

投与期間を通して，ズラノロンに関連した死亡及び瀕死は認められなかった．1 mg/kg/日以上の投与群で鎮静，自発運動の低下，運動失調，側臥位及び/又は振戦が認められた．その他の一般状態の変化として，音及び接触に対する反応性亢進，流涙，流涎及び皮温低下が認められた．鎮静は，1 mg/kg/日以上の投与群で雌雄共に投与後約 0.5～1.5 時間に発現した．2 及び 2.5 mg/kg/日投与群ではより重度の鎮静が認められたが，投与後 5～14 時間以内に回復した．鎮静の程度及び持続時間には概ね用量依存性が認められた．1 mg/kg/日投与群の雌雄で運動失調がみられたが，投与後 5 時間以内に回復した．

2 又は 2.5 mg/kg/日投与群の一部の動物で摂餌量及び体重がやや減少した．摂餌量の減少は，鎮静の持続時間の長さに起因したと考えられる．また，血液学的検査において，2 mg/kg/日投与群の雌及び 2.5 mg/kg/日投与群の雌雄で，投与前と比較して軽度のフィブリノゲンの上昇 (60%～78%増加) が認められたが，対照群の値と大差はなかった．

TK 測定に関して，投与 1 日目及び投与 7 日目のイヌにおける血漿中ズラノロンの $AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び C_{max} を表 2.6.6.3-8 に示す．投与量あたりのズラノロンの血漿中濃度に雌雄間で大きな差がなかったことから，雌雄を合わせて曝露量を算出した．ズラノロンの $AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び C_{max} は，投与 1 日目には概ね用量比に従い増加し，投与 7 日目には用量比をやや上回って増加した．投与 1 日目に対する投与 7 日目の $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比が 2 倍未満であることに基づき，反復投与後のズラノロンの全身曝露量の蓄積はないと判断した．

以上の結果より，ズラノロンを雌雄ビーグルイヌに 2.5 mg/kg/日までの用量で 7 日間反復経口投与したところ，いずれの用量においても死亡/瀕死は認められなかった．1 mg/kg 以上の用量において鎮静及び鎮静に関連した一般状態の変化が認められたが，その他に著変は認められず，ズラノロンは雌雄共に 2.5 mg/kg/日まで耐容すると判断し，イヌ 2 週間反復投与毒性試験の高用量は 2.5 mg/kg/日を設定した．毒性の用量反応関係を確認するため，0.4 及び 1 mg/kg/日を下位用量に設定した．

表 2.6.6.3-8　　イヌ 7 日間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算)

Dose Levels (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max}[a] (hr)	
	Day 1	Day 7	Day 1	Day 7	Day 1	Day 7
1	2550	2350	209	240	1 – 4	1 – 2
2	6310	6610	487	494	1 – 4	1
2.5	7540	9770	506	902	1 – 4	2

$AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.
a Median value or the range (minimum - maximum) if median value is not determined.

(2) 試験方法及び成績

雌雄イヌに 2 週間反復経口投与したときのズラノロンの毒性評価，TK 測定及び休薬期間 (14 日間) 後の毒性の回復性を評価することを目的として試験を実施した (4.2.3.2-13).

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを 0 (媒体)，0.4，1 又は 2.5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 週間反復経口投与した (表 2.6.6.3-9)．媒体には 30% HPβCD 水溶液を用いた．一般状態観察，体重，体温及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，眼科学的検査，心電図 (ECG) 検査，剖検時肉眼検査，器官重量測定並びに病理組織学的検査を実施した．

表 2.6.6.3-9　　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験の群構成

Group Number	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals[a]	
		Males	Females
1	0	6	6
2	0.4	6	6
3	1	6	6
4	2.5	6	6

a Two animals/sex/group remained on study for a 14-day recovery period.

ズラノロンに関連した死亡は認められなかった．ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に関連した鎮静が全用量で認められた．0.4 mg/kg/日投与群の雄では鎮静は認められなかったものの，0.4 mg/kg/日投与群の雌 (3/6 例) で軽度の鎮静が投与 1 日目にのみ認められ，投与後 1～6 時間まで持続した．1 mg/kg/日投与群の雌雄では投与 1 日目, 2 日目，5 日目，8 日目及び 10 日目のみに重度の鎮静が認められ，2.5 mg/kg/日投与群の雌雄では全期間に重度の鎮静が認められた．鎮静の発現頻度，程度及び持続時間には用量依存性が認められた．

鎮静の二次的な影響として，2.5 mg/kg/日投与群において投与 1 日目及び投与 14 日目にそれぞれ 1.1℃～1.4℃及び 0.5℃～0.8℃の一時的な深部体温の低下が認められたが，これは投与後 3.5 時間～6 時間以内に発現し，投与後 9 時間までに概ね回復した．他にも，1 及び 2.5 mg/kg/日投与群では投与後 2 時間に心拍数の増加 (心電図の RR 間隔の短縮) が認められ，一部のイヌでは心拍数が 190 回/分超を示した．心拍数の増加は，投与 2 日目に 1 mg/kg/日投与群の雄 1 例並びに投与 2 日目又は投与 13 日目に 2.5 mg/kg/日群の雄 2 例及び雌 3 例で認められた．媒体対照群及び 0.4 mg/kg/日投与群では，心拍数の増加は認められなかった．0.4 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 2.5 mg/kg/日投与群の雌において PR 間隔の短縮，2.5 mg/kg/日投与群の雄において QT

間隔の短縮がみられたが，いずれも心拍数の増加による二次的な変化と考えられた．いずれの投与量においても，QTc 間隔及び QRS 時間にズラノロンに関連した影響は認められなかった．これら ECG の変化は，休薬期間には認められず，回復性がみられた．

その他，体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図波形，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，器官重量，剖検時肉眼所見及び病理組織学的検査ではズラノロンに関連した影響は認められなかった．

TK 測定に関して，投与 1 日目及び投与 14 日目における血漿中ズラノロンの $AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び C_{max} は，ほぼ用量に比例して増加した．ズラノロンの反復投与後に全身曝露量の蓄積はみられなかった．ズラノロンの全身曝露量に性差はみられず，各投与量の曝露量は雌雄の TK 測定値を合算して表 2.6.6.3-10 に要約した．

結論として，ズラノロンを 0.4，1.0 又は 2.5 mg/kg/日の用量でイヌに 2 週間反復経口投与したところ，全ての用量において，用量依存的な持続時間の延長及び程度の増大を特徴とする鎮静がみられた．鎮静及び鎮静に関連する変化はズラノロンの薬理作用の過剰な発現によるものであり，毒性と判断される変化は認められなかったことから，NOAEL はこの試験で検討した最高用量である 2.5 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.3-10　　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算)

Dose Level (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max}[a] (hr)	
	Day 1	Day 14	Day 1	Day 14	Day 1	Day 14
0.4	1240	1690	102	118	1 – 2	1 – 2
1	3090	4100	266	304	2	2
2.5	8910	11 100	674	731	1 – 8	2

$AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; TK = toxicokinetics; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.
a　Median value or the range (minimum - maximum) if median value is not determined.

2.6.6.3.7　　イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-14
概要表 2.6.7.7.5

(1) 用量設定根拠

媒体に 30% HPβCD 水溶液を用い，ズラノロンをイヌに 0.4，1.0 又は 2.5 mg/kg/日の用量で 2 週間反復経口投与した試験 (2.6.6.3.6 項参照) では，全ての用量において，鎮静及び鎮静に関連する一般状態の変化がみられ，2.5 mg/kg/日投与群では重度の鎮静が認められたが，死亡/瀕死は認められなかった．反復投与による曝露への影響は認められなかった．媒体に PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用い，ズラノロンをイヌに 1～3 mg/kg の用量で単回経口投与した試験 (2.6.6.2.2 項参照) では，死亡/瀕死は認められなかったが，全ての用量で鎮静及び関連する一般状態の変化が認められた．2.5 mg/kg 以上の投与群では重度の鎮静が認められ，これらの用量では鎮静は投与後最大 15 時間まで持続し，反復投与時には動物が耐用しない可能性が考えられ

た.

以上から，イヌ 13 週間反復投与毒性試験では用量制限因子となり得る程度の鎮静の発現が予想される 2 mg/kg/日を高用量に設定した．また，毒性の用量反応関係を確認するため，0.06, 0.2, 及び 0.6 mg/kg/日を下位用量に設定した.

(2) 試験方法及び成績

雌雄ビーグルイヌに 13 週間反復経口投与したときのズラノロンの潜在的毒性，TK プロファイル及び 28 日間以上の休薬期間による毒性の回復性評価を目的として試験を実施した.

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを 0 (水及び媒体)，0.06，0.2，0.6 又は 2 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 13 週間反復経口投与し (表 2.6.6.3-11)，一般状態観察，体温，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学検査，尿検査，心電図評価，TK 測定，剖検時肉眼検査，器官重量測定並びに病理組織学的検査を実施した．媒体には，PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた.

表 2.6.6.3-11 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals[a]	
			Males	Females
1	Water	0	6	6
2	Vehicle	0	6	6
3	Zuranolone	0.06	4	4
4	Zuranolone	0.2	4	4
5	Zuranolone	0.6	6	6
6	Zuranolone	2	6	6

a 2 animals/sex in Groups 1, 2, 5, and 6 were assigned to a minimum of 28 days of recovery.

2 mg/kg/日投与群の雄において，投与 61 日目の投与前に 1 例が死亡した．この動物では軽度又は中等度の鎮静が投与期間中に高い頻度で認められ，しばしば自発運動の低下，運動失調及び平衡感覚の異常がみられた．さらに死亡の 10 日前から (投与 52 日目～投与 61 日目) 一過性の虚脱，四肢硬直，振戦，異常発声，ハンドリングに対する攻撃行動，投与中の過剰な闘争及び強直性痙攣並びに軽度から中等度の鎮静が持続時間の延長を伴って認められ，これら症状の多くは 2 mg/kg/日投与群の他の動物とは明らかに異なるものであった．これらの一般状態の変化及び鎮静の持続時間の延長のため，この動物には投与期間中に 2 日間の休薬期間 (投与 55 日目及び投与 60 日目) を設けていた．剖検時に，この動物に特筆すべき剖検時肉眼所見及び病理組織学的所見は認められず，病理検査からは死因は明らかにならなかった．しかしながら，当該動物が高用量群であり，死亡前に認められた一般状態の異常を考慮すると，当該動物の死亡はズラノロン投与に関連したものと考えられた.

ズラノロン投与に起因した自発運動の低下，平衡感覚の異常，運動失調，異常発声，硬直性筋緊張及び/又は振戦が，2 mg/kg/日投与群の雌雄に認められた．これらの所見は投与 30 分後という早い時点から認められ，概して投与期間を通じて投与後 180 分以降も持続してみられた．また，0.6 mg/kg/日投与群の雌雄及び 0.2 mg/kg/日投与群の雌においても，低頻度ではあるが，

投与後に自発運動の低下，運動失調及び/又は平衡感覚の異常が認められた．これらの一般状態の変化は鎮静に関連した変化と考えられた．

ズラノロンの薬理作用に関連した鎮静が，0.06 mg/kg/日投与群の雄並びに 0.2, 0.6 及び 2 mg/kg/日投与群の雌雄で認められ，鎮静の程度と発現頻度は 2 mg/kg/日投与群が最も高い重症度又は高頻度であった．0.06 mg/kg/日投与群の雄及び 0.2 mg/kg/日投与群の鎮静は軽度，0.6 mg/kg/日投与群の鎮静は軽度又は中等度で，いずれも低頻度もしくは散発的であった．2 mg/kg/日投与群では，鎮静の程度は投与期間を通じて軽度又は中等度であり，これらの所見は投与後 30 分という早い時点から認められ，投与後 180 分以降に認められることも多々あった．2 mg/kg/日投与群の雄 1 例では，投与 1 日目にのみ投与後 180 分に重度の鎮静が一過性に発現した．鎮静の程度及び持続時間には，用量依存性がみられた．

心電図検査では，0.6 mg/kg/日投与群の雄及び 2 mg/kg/日投与群の投与初日において，ズラノロン投与に起因した心電図パラメータの変化が認められた．投与 1 日目に，雄性イヌ (0.6 及び 2 mg/kg/日投与群) 及び雌性イヌ (2 mg/kg/日投与群) のいずれにおいても，用量依存的な心拍数の増加が認められた．0.6 mg/kg/日投与群の雄及び 2 mg/kg/日投与群の心拍数増加は反復投与により軽減したが，2 mg/kg/日投与群の雄のみ，心拍数は投与 86 日目まで軽度に上昇したままであった．試験期間を通じて，ズラノロンの血漿中曝露量と心拍数の増加には関連がみられなかった．すなわち，2 mg/kg/日投与群の雌の AUC_{last} は投与 1 日目から投与 90 日目までわずかに増加したが (投与 0，30，及び 90 日目にそれぞれ 4320，5130 及び 6860 ng·hr/mL)，2 mg/kg/日投与群の雌の心拍数増加は反復投与に伴い消失し，最終検査日の心拍数は馴化期間中と概ね同程度になった．心拍数の変化はいずれも軽度であり，毒性ではないと判断した．

その他，体重，摂餌量，体温，器官重量，血液学的検査項目，血液化学的検査項目，眼科学的検査項目，剖検時肉眼検査項目及び病理組織学的検査項目にズラノロンによる影響は認められなかった．

TK 測定に関して，全評価日における血漿中ズラノロンの AUC_{last} 及び C_{max} は用量依存的に増加した．ズラノロンの反復投与後の曝露量に顕著な蓄積は認められず，また雌雄間で顕著な差は認められなかった．雌雄イヌにおけるズラノロン投与後の全身曝露量を表 2.6.6.3-12 に要約する．

結論として，ズラノロンを 0.06，0.2. 0.6 又は 2 mg/kg/日の用量でイヌに 13 週間反復経口投与したところ，0.06 mg/kg 以上の投与群において，ズラノロンの薬理作用によると考えられる鎮静が認められ，鎮静の持続時間及び程度には用量依存性が認められた．2 mg/kg/日投与群の雄 1 例でズラノロン投与に関連した死亡が認められたが，他に毒性と判断される変化は認められず，NOAEL は 0.6 mg/kg/日 (投与 90 日目の AUC_{last}: 1980 ng·hr/mL 及び C_{max}: 165 ng/mL [雌雄合算値]) と判断した．

表 2.6.6.3-12 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算)

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{last} (ng·hr/mL)			C_{max} (ng/mL)			T_{max} (hr)		
	Day 0	Day 30	Day 90	Day 0	Day 30	Day 90	Day 0	Day 30	Day 90
0.06	133	130	193	14.3	12.8	16.7	2.25	2.75	2.25
0.2	447	444	618	43.0	38.7	54.7	2.63	2.38	2.13
0.6	1420	1400	1980	129	117	165	2.58	2.25	2.50
2	4880	5120	6890	373	370	482	2.50	2.67	2.91

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration ; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.3.8 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-15

概要表 2.6.7.7.6

(1) 用量設定根拠

イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験 (2.6.6.3.7 項参照) において，0.06 mg/kg/日以上の投与群でズラノロンの薬理作用に関連した鎮静 (2 mg/kg/日投与群でも概ね中等度の鎮静) 及び鎮静に関連する一般状態の変化，0.6 mg/kg 以上の投与群で心拍数増加，2 mg/kg/日投与群でズラノロンに起因したと考えられる死亡が 1 例に認められた．2 mg/kg/日投与群まで 1 例の死亡以外の毒性変化は認められなかったことから，本試験の高用量は 2.5 mg/kg/日を設定した．また，毒性の用量反応関係を確認するため，0.6 及び 1.2 mg/kg/日を下位用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

GLP 適用下で，雌雄ビーグルイヌにズラノロンを 0 (媒体)，0.6，1.2 又は 2.5 mg/kg の用量で，39 週間反復経口投与したときのズラノロンの毒性を評価した．媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．毒性の回復性を評価するための休薬群を媒体群及びズラノロンの中用量及び高用量投与群に含めた (表 2.6.6.3-13).

ズラノロンの毒性は，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，電気生理学的脳波 (EEG ; 投与前期間のみ)，血液学的検査，血清生化学検査，尿検査，TK 測定，剖検時肉眼検査，器官重量測定及び病理組織学的検査に基づき評価した．

表 2.6.6.3-13 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals[a]	
			Males	Females
1	Vehicle	0	7	7
2	Zuranolone	0.6	4	4
3	Zuranolone	1.2	7	7
4	Zuranolone	2.5	7	7

a Four animals/sex/group were assigned to terminal necropsy. The remaining ≤3 animals/sex in Groups 1, 3, and 4 were assigned to a minimum of 28 days of recovery.

2.5 mg/kg/日投与群の雌において，投与 30 日目の投与前に瀕死が 1 例で認められた．試験期間を通じてこの動物には，中等度の鎮静及び鎮静に関連した一般状態の変化 (自発運動の低下，平衡感覚の異常，運動失調及び振戦) が認められた．鎮静は，投与後 8～10 時間までに概ね正常又は軽度に回復した．これらの一般状態への影響は，同投与群の他の動物で認められた変化と一致していた．しかしながら当該動物には，投与 30 日目の投与前に強直性及び間代性痙攣が認められ，獣医師による観察において，足のぐらつき，旋回，ケージ壁にもたれかかる様子，頻繁に転倒して興奮する様子や異常発声も観察された．投与後 30 日の投与は実施しなかったが，これらの所見は回復せず，状態悪化のためこの動物は当日に安楽殺された．当該動物においてズラノロンに関連した剖検時肉眼的所見及び病理組織学的変化は認められず，瀕死の原因は特定できなかったが，瀕死はズラノロンに関連した変化と判断した．

また，2.5 mg/kg/日投与群の雌 1 例が休薬期間中の投与 276 日目 (休薬 3 日目) に死亡した．この動物には，死亡の数日前 (休薬期間) には明らかな一般状態の異常は認められず，ズラノロンに関連した剖検時肉眼所見や病理組織学的所見も認められなかった．剖検時肉眼検査及び病理組織学的検査では死因を特定できなかったが，この動物は高用量群であり，当該動物の死亡が，ズラノロン投与による可能性は否定できなかった．

計画剖検時まで生存した動物で投与期間中に認められたズラノロン投与に起因した一般状態の変化は，主に自発運動の低下，運動失調，平衡感覚の異常，平伏姿勢及び振戦であり，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現による変化と考えられた (概して軽度～中等度の鎮静と関連)．これらの所見は主に 2.5 mg/kg/日投与群で認められ，1.2 mg/kg/日投与群ではその程度がはるかに弱かった．2.5 mg/kg/日投与群のこれらの所見は，概して試験期間を通じて投与後 5 時間以降も継続して認められた．0.6 mg/kg/日投与群では，ごく少数例で運動失調，平衡感覚の異常及び自発運動の低下のみが認められた (軽度な鎮静が散発的に認められたことと一致)．これらの所見は休薬期間中には認められなかった．

ズラノロンに関連した薬理作用の過剰な発現による鎮静が主に 2.5 mg/kg/日投与群の動物で観察された．0.6 及び 1.2 mg/kg/日投与群ではその程度がはるかに低かった．投与期間を通じて，2.5 mg/kg/日投与群のほとんどの動物は投与後 5 時間の観察時にも概ね軽度又は中等度が認められたが，翌日の投与前には正常に回復した．2.5 mg/kg/日投与群では，一部の動物で時折重度の鎮静が認められたが，次の観察時点までに中等度の鎮静に概ね回復した．1.2 mg/kg/日投与群のほとんどの動物で軽度の鎮静が観察され，投与後 5 時間の観察時点までに概ね正常まで回復した．0.6 mg/kg/日投与群では，ごく少数例で散発的に軽度の鎮静が認められたのみであった．鎮静の程度や持続時間は反復投与によって軽減した．

用量依存的な鎮静と鎮静に関連した一般状態の変化 (自発運動の低下，運動失調及び平衡感覚の異常) は，ズラノロンの薬理作用に関連する影響と考えられた．

その他，体重，摂餌量，眼科的検査項目，ECG 及び心拍数，血液学的検査及び血液化学的検査項目，剖検時肉眼所見，器官重量及び病理組織学的検査項目に，ズラノロンによる影響は認められなかった．

TK 測定に関して，血漿中ズラノロン濃度は概して投与後 2 時間までに C_{max} 又は C_{max} 付近に達した．$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} は，全ての用量及び評価日を通じてほぼ用量比で増加した．曝露の性

差や反復投与によるズラノロンの全身曝露量の蓄積もほとんど認められなかった．雌雄イヌにおけるズラノロン投与後の全身曝露量を表 2.6.6.3-14 に要約する．

結論として，ズラノロンを 0.6，1.2 又は 2.5 mg/kg/日の用量でイヌに 39 週間反復経口投与したところ，全用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静及び鎮静に関連した一般状態の変化が認められ，これらの発現頻度，持続時間及び程度に用量依存性が認められた．鎮静の程度や持続時間は反復投与によって軽減した．2.5 mg/kg/日投与群の雌 2 例に原因が特定できないズラノロン投与に関連した瀕死/死亡がみられた．ズラノロンの投与に関連した瀕死/死亡を除き，他に毒性と判断される変化が認められなかったことから，NOAEL は 1.2 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.3-14　　雌雄イヌに対する反復経口投与後の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算)

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)				C_{max} (ng/mL)				T_{max} (hr)			
	Day 0	Day 36	Day 139	Day 272	Day 0	Day 36	Day 139	Day 272	Day 0	Day 36	Day 139	Day 272
0.6	1870	1900	2370	2490	151	164	177	190	2.63	2.00	2.25	2.13
1.2	4190	4820	6230	6400	310	332	402	409	3.21	4.07	3.29	3.36
2.5	6620	10 200	11 900	10 600	419	707	753	675	3.79	3.08	3.31	3.50

AUC_{0-t} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.3.9　　イヌ 29 週間又は 44 週間間歇経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-16

概要表 2.6.7.7.7

(1) 用量設定根拠

イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験 (2.6.6.3.6 項参照) では，0.4 mg/kg/日以上の用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に関連した鎮静や鎮静に関連する一般状態の変化が認められたが，高用量まで死亡/瀕死は認められず，NOAEL は 2.5 mg/kg/日と判断された．イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験 (2.6.6.3.7 項参照) では，0.06 mg/kg/日以上の投与群において，ズラノロンの薬理作用によると考えられる鎮静や関連する一般状態の変化，0.6 mg/kg/日以上の投与群で心拍数増加が認められ，2 mg/kg/日投与群において投与後 61 日の投与前に 1 例で死亡が認められた．当該動物には他の動物と異なり，死亡 10 日前から虚脱，四肢硬直，振戦，異常発声，ハンドリングに対する攻撃行動，投与中の過剰な闘争及び強直性痙攣や鎮静の持続時間の延長が認められた．NOAEL は本死亡に基づき 0.6 mg/kg/日と判断された．イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験 (2.6.6.3.8 項参照) では，0.6 mg/kg/日以上の投与群においてズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静及び鎮静に関連した一般状態の変化が認められた．2.5 mg/kg/

日投与群では，投与後 30 日の投与前に 1 例で強直性及び間代性痙攣が認められた．当該動物に投与後 30 日の投与は実施しなかったが，足のぐらつき，旋回，ケージ壁にもたれかかる様子，頻繁に転倒して興奮する様子や異常発声が以降も認められ，状態悪化のため当日に安楽殺された．また，投与 276 日目 (休薬 4 日目) に 2.5 mg/kg/日投与群において死亡例が認められた．NOAEL は 1.2 mg/kg/日と判断された．

以上から，本試験の高用量は臨床投与期間である 2 週間の反復投与には耐容するが，それよりも長期間にわたって反復投与をした場合に死亡/瀕死や毒性が認められることが予想される 2.5 mg/kg/日を高用量に設定した．下位用量には 1.2 mg/kg/日を設定した．

(2) 試験方法及び成績

雌雄ビーグルイヌにズラノロンを臨床用法に則り，14 日間反復投与した後に休薬し，間歇投与したときの潜在的な毒性を評価することを目的として試験を実施した．媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを 0 (媒体)，1.2 又は 2.5 mg/kg/日の用量で経口投与した (表 2.6.6.3-15)．レジメン 1 (グループ 1～3) の投与サイクルは，14 日間の反復投与とその後の 42 日間の休薬期間を 1 サイクルとして，6 サイクルの間歇投与を実施した．ただし，6 サイクル目では，剖検前に 14 日間以上の休薬期間を設けた．レジメン 2 (グループ 4～6) の投与サイクルは，14 日間の反復投与とその後の 21 日間の休薬期間を 1 サイクルとして 6 サイクルの間歇投与を実施した．ただし，6 サイクル目では，剖検前に 14 日間以上の休薬期間を設けた．

一般状態観察，体重及び摂餌量測定，EEG (投与前期間のみ) 評価，TK 測定及び剖検時肉眼検査を実施した．

表 2.6.6.3-15 イヌ 29 週間又は 44 週間間歇経口投与毒性試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals	
			Males	Females
Regimen 1: Daily dosing for 14 days with 42 days of nondosing (1 cycle) x 6 cycles[a]				
1	Vehicle	0	6	6
2	Zuranolone	1.2	6	6
3	Zuranolone	2.5	6	6
Regimen 2: Daily dosing for 14 days with 21 days of nondosing (1 cycle) x 6 cycles[a]				
4	Vehicle	0	6	6
5	Zuranolone	1.2	6	6
6	Zuranolone	2.5	6	6

a For episodic Regimens 1 and 2, the sixth dosing cycle was followed by a minimum 14-day nondosing period.

2.5 mg/kg/日投与群の雄 1 例及び雌 1 例で，レジメン 1 の初回サイクル中にズラノロンに関連した死亡/瀕死が認められた．

2.5 mg/kg/日投与群の雄 1 例は，1 サイクル目の最終投与から 2 日後の投与 16 日目 (休薬 2 日目) に死亡した．投与期間中にこの動物に認められた一般状態の変化は，主に運動協調能の障害，自発運動の低下，横臥位及び異常歩行であった．この動物に認められた鎮静は，他の動物

と同様にほとんどの場合で軽度及び中等度であった．1 サイクル目の休薬期間の初日 (投与 15 日目) には，この動物に顕著な変化は認められなかったが，投与 16 日目の午前に死亡が確認された．死亡前の体重及び摂餌量に顕著な変化は認められず，死因は特定できなかったが，高用量群であったため，ズラノロンの投与に関連した死亡と考えられた．

2.5 mg/kg/日投与群の雌 1 例は, 1 サイクル目の最終投与から 4 日後の投与 18 日目 (休薬 4 日目) に瀕死のため安楽殺に至った．投与期間中にこの動物に認められた一般状態の変化は，主に運動協調能の障害，自発運動の低下，横臥位及び異常歩行であった．この動物に認められた鎮静は，他の動物と同様，ほとんど軽度及び中等度であった．1 サイクル目の休薬期間の初日 (投与 15 日目) には，一般状態に著変は認められなかったが，投与 16 日目に異常発声増加，重度の流涎及びペダリング，投与 17 日目には自発運動の低下，投与 18 日目には重度の振戦，中等度の流涎，重度の運動協調能の障害，浅速呼吸の所見のほか，起立不能が認められたため，瀕死と判断し安楽殺した．本動物では，投与 14 日目まで体重及び摂餌量に顕著な変化は認められなかったが，休薬開始後 (投与 14～18 日目の間) に顕著な摂餌量減少を伴う体重減少が認められた．剖検時に肉眼的所見は認められず，状態悪化の原因は特定できなかったが，この動物は高用量群であり，この瀕死はズラノロンと関連した変化と判断された．

その他の動物はいずれも計画剖検時まで生存した．投与レジメン 1 及び 2 では，摂餌量にズラノロンに関連した影響は認められず，ズラノロンに関連した剖検時肉眼所見も認められなかった．

計画剖検時まで生存した動物では，1.2 mg/kg/日以上の投与群において，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現による鎮静及び鎮静に関連した一般状態の変化が投与期間中に認められ，程度，持続時間及び発現頻度には用量依存性が認められた．1.2 mg/kg/日以上の投与群において，鎮静，運動協調能の障害，歩行異常，自発運動の低下，横臥及び正向反射の消失/低下が認められ，低頻度ではあるが，流涎，異常発声の増加，振戦，反応性亢進及び半眼又は閉眼も認められた．2.5 mg/kg/日投与群では痛覚反射の欠如，ペダリング及び筋攣縮 (頭部，前肢及び後肢) を伴う動物も散見された．所見の発現に性差は認められなかった．投与レジメン 1 と投与レジメン 2 の間でほとんどの所見の種類及び頻度に概して差はなく，投与サイクル間で鎮静や鎮静に関連する一般状態変化のプロファイルに大きな差は認められなかった (表 2.6.6.3-16).

表 2.6.6.3-16 観察期間中に認められた鎮静及び重度の一般状態 (死亡/瀕死及び痙攣)

	Cycle 1		Cycle 2		Cycle 3		Cycle 4		Cycle 5		Cycle 6	
Dose Level (mg/kg/day)	1.2	2.5	1.2	2.5	1.2	2.5	1.2	2.5	1.2	2.5	1.2	2.5
Regimen 1: Daily dosing for 14 days with 42 days of nondosing (1 cycle) x 6 cycles[a]												
Mortality[b]	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Convulsion[b]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Relative Sedation Incidence[c]												
Normal	42	25	34	25	32	21	34	16	33	18	35	14
Mild	14	27	20	25	19	29	17	41	17	36	21	44
Moderate	0	18	2	18	5	25	4	27	7	29	3	33
Severe	0	1	0	2	0	3	0	2	0	2	0	1
Regimen 2: Daily dosing for 14 days with 21 days of nondosing (1 cycle) x 6 cycles												
Mortality[b]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Convulsion[b]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Relative Sedation Incidence[c]												
Normal	41	22	42	23	39	25	33	22	31	21	37	20
Mild	14	33	14	32	17	20	23	28	23	33	14	37
Moderate	1	19	1	15	1	20	1	24	3	27	5	24
Severe	0	0	0	3	0	2	0	2	0	1	0	0

a For episodic Regimens 1 and 2, the sixth dosing cycle was followed by a minimum 14-day nondosing period.
b Total number of animals affected
c Relative Sedation Incidence defined as (total number of times sedation observation was recorded during entire cycle) / (total number of animals affected). Male and female data were combined for this analysis; data were recapitulated from source summary tables.

その他，レジメン 1 に割り付けられた 2.5 mg/kg/日投与群の雄 1 例において，投与 17 日目 (1 サイクル目の休薬期間 3 日目) に痙攣，側臥位でのパドリング，四肢の硬直，異常発声，浅速呼吸，流涎等が認められ，獣医学的介入がなされた後，当該動物は投与 23 日目までに正常に回復した．残りの試験期間においても，この動物には重度の鎮静，あるいは全身又は頭部の振戦を伴う嗜眠が認められ，それぞれ獣医学的な観察を必要としたが，休薬や再度の獣医学的介入を要するほどの所見ではないと判断された．

レジメン 2 に割り付けられた 1.2 mg/kg/日投与群の雄 1 例は，投与 188 日目 (6 サイクル目の投与 13 日目) に常同行動 (中等度の回転運動), 瞳孔散大, 口周囲の被毛湿潤, 自発運動の亢進, 浅速呼吸及び流涎が認められ，これらの所見は計画剖検 (投与 204 日目) まで散発的に認められた．

レジメン 2 に割り付けられた 1.2 及び 2.5 mg/kg/日投与群の雄において，試験期間を通じて，ズラノロンに関連するが毒性ではない，軽微な体重増加量の減少又は軽微な体重減少が散発的に認められた．試験終了時 (投与 203 日目) の体重は，対照群と比較してそれぞれ 7.26%及び 6.47%減の軽微な変化であった．これらの体重への影響が認められた時点に投与期間や休薬期間或いはサイクル間における一貫した傾向はみられなかった．試験終了時にみられた軽微な体重低値は，試験期間中に認められた散発的な影響が累積したことによる影響と考えられた．

TK に関して，ズラノロンの全身曝露量は，1.2 mg/kg/日～2.5 mg/kg/日への用量増加に伴い，概ね用量に比例して増加し，曝露に明らかな性差は認められなかった．レジメン 1 とレジメン 2 の曝露量は同程度であった．雌雄イヌ (雌雄合算) におけるズラノロンの全身曝露量を表

2.6.6.3-17 に要約する.

結論として，ズラノロンを 1.2 又は 2.5 mg/kg/日の用量で異なるサイクルでイヌに間歇経口投与したところ，1.2 mg/kg/日以上の用量で用量依存的な持続時間の延長及び程度の増大を特徴とする鎮静や鎮静に関連する一般状態の変化が認められ，2.5 mg/kg/日の用量では死亡/瀕死が認められた．死亡/瀕死例はいずれもレジメン 1 に割り当てられた動物で認められたが，死亡/瀕死はレジメン 2 との投与スケジュールの違いが生じる前に認められたことを考慮すると，死亡/瀕死の発現は投与サイクル間の休薬期間の違いとは関係がないと考えられた．その他に認められた所見の質や発現頻度にも投与サイクル間の休薬期間の違いによる差は認められなかった．死亡/瀕死を除き，他に毒性と判断される変化が認められなかったことから，NOAEL は 1.2 mg/kg/日と判断した.

表 2.6.6.3-17 雌雄のイヌに対する反復経口投与後の投与 12 日目におけるズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算)

Dose Level (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)[a]
Regimen 1			
1.2	4210	321	2
2.5	10 100	692	3
Regimen 2			
1.2	4440	331	2
2.5	8550	600	2

$AUC_{0\text{-}t}$ = area under the curve from zero to time t; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.
a Median value.

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

評価資料 4.2.3.3-01，4.2.3.3-02
参考資料 4.2.3.3-04
概要表 2.6.7.8.1，2.6.7.8.2，2.6.7.8.3

ネズミチフス菌 (TA98，TA100，TA1535 及び TA1537) 並びに大腸菌 (WP2 *uvrA*) を用いて，代謝活性化系 (S9 mix：Aroclor 1254 で誘導したラット肝臓由来) の存在下及び非存在下で，ズラノロンの突然変異誘発性を評価した．試験はプレート法を用いて実施した．ジメチルスルホキシド (DMSO) を媒体及び陰性対照として用いた (4.2.3.3-01).

用量設定試験において，いずれの試験菌株でも最高用量である 5000 μg/プレートまで背景細菌叢に対する毒性は認められなかったことから，本試験の最高用量は 5000 μg/プレートに設定した.

本試験では 15，50，150，500，1500 及び 5000 μg/プレートに設定した．全ての菌株において，S9 mix の有無にかかわらず，いずれの処理用量でもズラノロン群の復帰突然変異コロニー数は陰性対照と比較し増加を示さなかった．また，用量設定試験の再現性も確認された.

結論として，ズラノロンの細菌を用いる復帰突然変異試験は陰性であった．

また，ネズミチフス菌 (TA98，TA100，TA1535 及び TA1537) 並びに大腸菌 (WP2 *uvrA*) を用いて，3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate (PAPS) とヒト肝 S9 を用いた代謝活性化系の存在下で，ズラノロンの突然変異誘発性を評価した．陰性対照として DMSO を用いた (4.2.3.3-02).

ズラノロンの用量は，1.5，5.0，15，50，150，500，1500 及び 5000 μg/プレートに設定した．いずれの菌株においても 150 μg/プレート以上で被験物質の析出が認められた．5000 μg/プレートでは，沈殿物の密度が高く背景細菌叢に対する毒性及び復帰突然変異コロニー数を評価できなかったものの，1500 μg/プレートまでは，いずれの菌株においても，背景細菌叢及び/又は復帰変異コロニー平均数の減少は認められなかった．

全ての試験菌株において，ズラノロン群の復帰突然変異コロニー数は全ての評価用量で陰性対照と比較し増加を示さなかった．

以上の結果より，PAPS 及びヒト肝 S9 を用いた代謝活性化系の存在下における，ズラノロンの細菌を用いる復帰突然変異試験は陰性であった．

2.6.6.4.2 ほ乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験

評価資料 4.2.3.3-03
参考資料 4.2.3.3-05
概要表 2.6.7.8.1，2.6.7.8.4

代謝活性化系 (S9 mix) の非存在下及び存在下で，チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞を用いて，ズラノロンの in vitro 染色体異常誘発性を評価した．用量設定試験を行い，染色体異常試験の用量範囲を設定した．細胞毒性試験及び染色体異常試験で，CHO 細胞を S9 mix 非存在下で 4 及び 20 時間，S9 mix 存在下で 4 時間処理した．処理開始から 20 時間後に全ての細胞を採取した．被験物質の溶解性及び標的細胞への忍容性に基づき，DMSO を媒体として使用した．

用量設定試験を 0.041～410 μg/mL (0.0001～1 mmol/L) の用量範囲で実施したところ，S9 mix 非存在下 4 時間曝露群では 123 μg/mL 以上の用量で，S9 mix 存在下 4 時間曝露群及び S9 mix 非存在下 20 時間曝露群では 41 μg/mL 以上の用量で，細胞毒性 (媒体対照と比較して細胞増殖率の 50%以上の低下) が認められた．以上の結果に基づき，染色体異常試験に選択した用量は，S9 mix 非存在下 4 時間曝露群では 10～120 μg/mL, S9 mix 存在下 4 時間曝露群では 5～50 μg/mL, S9 mix 非存在下 20 時間曝露群では 1～40 μg/mL であった (表 2.6.6.4-1).

表 2.6.6.4-1 CHO 細胞を用いる染色体異常試験におけるズラノロンの用量

Treatment Condition	Treatment Time (hr)	Recovery Time (hr)	Dose Levels (µg/mL)
Non-activated	4	16	10, 20, 40, 50, 60, 70, 85, 100, 120
	20	0	1, 2.5, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40
S9-activated	4	16	5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50

CHO = Chinese hamster ovary; hr = hour(s).

染色体異常試験では，S9 mix 非存在下 4 時間曝露群で 50 µg/mL 及び 70 µg/mL 以上，S9 mix 存在下 4 時間曝露群では 45 µg/mL 以上，S9 mix 非存在下 20 時間曝露群では 20 µg/mL 以上の用量で細胞毒性が認められた．各処理条件で評価した最高用量で細胞増殖率が約 50%±5%低下し，ICH 及び OECD 試験ガイドラインが推奨する本試験法の用量限界を満たした．

S9 mix 存在下又は非存在下のいずれの処理群においても，染色体構造異常の有意な又は用量依存的な増加は認められなかった．

S9 mix 非存在下 4 時間曝露群の 50 µg/mL では対照群 (1.0%) と比較して数的異常の統計学的に有意な増加 (4.0%) が認められたが，用量反応性は認められず，数的異常を有する細胞の割合は，背景データ (0.0%～5.0%) の対照範囲内であったことから，この変化は生物学的に意義のあるものではないと判断した．S9 mix 存在下 4 時間曝露群及び S9 mix 非存在下 20 時間曝露群において，数的異常の有意な又は用量依存的な増加は認められなかった．

結論として，ズラノロンの CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験は陰性であった．

2.6.6.4.3 げっ歯類を用いる小核試験

評価資料 4.2.3.3-06

概要表 2.6.7.9.1

ラット骨髄中の多染性赤血球の小核を検出することにより，ズラノロンの in vivo 染色体異常誘発性を評価した．

成熟雄性 Sprague Dawley 系ラット (各群 5～10 例) にズラノロンを 0 (媒体: Labrasol®)，3，10，22.5 又は 30 mg/kg の用量で，単回経口投与し，投与後 24 又は 48 時間に骨髄塗抹標本を作製した．陽性対照としてシクロホスファミドを 40 mg/kg の用量で，陰性対照としては媒体である Labrasol®を経口投与した．試験デザインを表 2.6.6.4-2 に示す．

体温変化により小核形成を誘発する報告があり，ズラノロンの一般毒性試験において体温への影響がみられていることから，深部体温も測定した．

表 2.6.6.4-2 ズラノロンを用いたラット小核試験の試験デザイン

Group	Treatment	Dose Level (mg/kg)	No. Rats/Sacrifice Time	
			24 hr	48 hr
1	Vehicle (Labrasol®)	0	5	5
2	Zuranolone	3	5	NA
3	Zuranolone	10	5	NA
4	Zuranolone	22.5	5	5
5	Zuranolone	30	5	5
6	Cyclophosphamide	40	5	NA

hr = hour(s); NA = not applicable.

いずれのズラノロン投与群においても死亡/瀕死は認められなかった．22.5 mg/kg 以上の用量で立毛及び下痢並びに 30 mg/kg の用量で嗜眠及び平伏姿勢が認められたことから，ズラノロンのラットへの全身曝露が示唆された．深部体温に対しては，いずれのズラノロン投与群でもズラノロンに関連する影響は認められなかった．標本観察の結果，いずれのズラノロン投与群においても，多染性赤血球中の小核を有する細胞の出現頻度に，陰性対照群と比較して有意な増加は認められなかった．また，全赤血球中の多染性赤血球比は，いずれのズラノロン投与群においても陰性対照群と有意差はなく，骨髄細胞の増殖抑制は認められなかった．

結論として，ズラノロンは 30 mg/kg までの用量で染色体異常誘発性を示さず，ズラノロンのラット小核試験は陰性であった．

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 マウスがん原性試験

評価資料 4.2.3.4-02

参考資料 4.2.3.2-01，4.2.3.2-02

概要表 2.6.7.10.1，2.6.7.10.2，2.6.7.10.3

(1) 用量設定試験結果

GLP 非適用下で，ズラノロンの単回 (A 期) 又は反復 (B 期) 経口投与後の毒性及び MTD 評価並びに TK 測定をすること目的に，2 期からなる用量設定試験を実施した (4.2.3.2-01).

A 期では，ズラノロンを 0 (媒体)，15，30，100，300 又は 1000 mg/kg の用量でマウス (各群雌雄各 3 例) に単回経口投与し，一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を行った (最長 4 日間)．媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．

1000 mg/kg 投与群の雄 1 例が投与 2 日目に瀕死のため安楽殺された．当該個体の安楽殺前には自発運動の低下，運動失調，接触に対する反応性亢進，半眼/閉眼 (両眼)，皮温上昇 (全身)，浅呼吸，呼吸努力の増加，背弯姿勢及び間代性痙攣が認められた．他に瀕死/死亡例は認められなかった．

一般状態への影響に関して，1000 mg/kg 投与群では，側臥位又は腹臥位，正向反射の消失，運動失調，皮膚弾力性の消失，皮温低下，半眼/閉眼 (両眼) 等，300 mg/kg 以上の投与群では自発運動の低下及び亢進，接触に対する反応性亢進，振戦，異常発声及び浅呼吸，100 mg/kg 投与

群では，自発運動の亢進のみが認められた．300 及び 1000 mg/kg 投与群では投与 1～2 日目に軽度の体重減少が認められ，1000 mg/kg 投与群では軽度の摂餌量減少も認められた．A 期の成績から，マウスにおける単回投与時の MTD は死亡/瀕死や重度の一般状態所見，体重及び摂餌量への影響が認められなかった 300 mg/kg と判断した．

B 期では，ズラノロンを 0 (媒体)，50，150 又は 500 mg/kg/日の用量で CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型 (rasH2) マウスに 1 日 1 回 5 日間反復投与し (表 2.6.6.5-1)，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査並びに TK 測定を行った．媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．

表 2.6.6.5-1 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型 (rasH2) マウスを用いたズラノロンの 5 日間反復経口投与毒性試験のデザイン (B 期)

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals	
			Males	Females
Main Study				
6	Vehicle	0	6	6
7	Zuranolone	50	6	6
8	Zuranolone	150	6	6
9	Zuranolone	500	6	6
Toxicokinetics				
10	Zuranolone	50	42	42
11	Zuranolone	150	42	42
12	Zuranolone	500	42	42

500 mg/kg/日投与群の主群において，投与 2 日目に雌 1 例の死亡，投与 5 日目に雄 1 例の瀕死が認められた．TK 群では，投与 2 日目～投与 5 日目に雄 5 例及び雌 2 例に瀕死が認められた．死亡/瀕死例では安楽殺前に，自発運動の低下，振戦，腹臥位又は側臥位，半眼又は閉眼 (両眼)，全身の皮膚の変色 (ピンク色)，運動失調，異常発声，低い姿勢，呼吸困難 (浅，緩徐又は不整呼吸)，努力呼吸の増加，背弯姿勢，正向反射の消失，皮膚弾力性の消失，脱水，立毛，皮温低下又は皮温上昇，接触に対する反応性亢進，旋回行動/歩き回り，脱力，間代性及び/又は強直性痙攣並びに攣縮が認められた．

全ての投与群において鎮静及び関連する一般状態の変化が認められた．50 mg/kg/日以上の投与群で，鎮静，自発運動の低下，自発運動の亢進，運動失調，振戦及び腹臥位，150 mg/kg/日以上の投与群で，半眼/閉眼，側臥位，立毛，背弯姿勢，皮温低下など，500 mg/kg/日投与群では，皮膚弾力性の消失，皮膚の変色 (ピンク色又は蒼白)，正向反射の消失，異常発声，低い姿勢，呼吸困難，不整/浅/緩徐呼吸及び攣縮などが認められた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められた．

50 mg/kg/日以上の投与群の雄 (最大－9.36%) 及び 150 mg/kg/日以上の投与群の雌 (最大－4.45%) において，体重減少が認められた．150 mg/kg/日投与群の雄及び 500 mg/kg/日投与群の雌雄では，摂餌量の減少傾向が認められた．

500 mg/kg/日投与群においてリンパ球数の減少 (対照群比：最大－80%)，好中球数の減少 (対

照群比：最大－82%) 及び単球数の減少 (対照群比：最大－100%)，150 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 500 mg/kg/日投与群の雌 1 例で，摂餌量減少に起因すると考えられる網状赤血球絶対数の減少 (対照群比：最大－56%) が認められた．500 mg/kg/日投与群の雌においてアルブミン及びグロブリン濃度の上昇並びに 500 mg/kg/日投与群の雄 1 例に尿素窒素濃度の上昇が認められたが，摂餌量減少に関連した脱水に伴う血液濃縮による影響と推察された．

TK 測定に関して，雌雄マウスにおけるズラノロン投与後の全身曝露量を表 2.6.6.5-2 に要約する．全身曝露量に性差は認められなかった．ズラノロンの T_{max} は投与 1 日目及び 5 日目で投与後 0.6～2 時間であった．AUC_{last} の反復投与後の増加は 2 倍未満であり，反復投与による曝露の蓄積は認められなかった．

CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (野生型) (rasH2) マウスにズラノロンを 5 日間反復経口投与した結果，150 mg/kg/日の用量まで死亡/瀕死例は認められなかった．

表 2.6.6.5-2 雌雄マウスに対する反復経口投与時の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算)

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{last} (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max} (hr)	
	Day 1	Day 5	Day 1	Day 5	Day 1	Day 5
50	4260	4250	812	1110	2	1
150	8120	10 300	835	1260	1	1
500	11 600	17 700	1220	6080	2	0.6

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型 (rasH2) マウスに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を 1 日 1 回 28 日間反復経口投与し，毒性評価及び TK 測定を実施した (4.2.3.2-02).

ズラノロンを雌雄マウスに 30，100 又は 300/200 mg/kg/日の用量で 28 日間反復経口投与した (表 2.6.6.5-3). 一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検時肉眼検査，器官重量測定並びに病理組織学的検査を実施した．投与 28 日目に TK 測定を実施した．

表 2.6.6.5-3 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 野生型 (rasH2) マウスを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals[a]	
			Males	Females
Main Study				
1	Vehicle	0	10	10
2	Zuranolone	30	10	10
3	Zuranolone	100	10	10
4	Zuranolone	300/200[b]	10	10
Toxicokinetics				
5	Vehicle	0	6+2	6+2
6	Zuranolone	30	51+2	51+2
7	Zuranolone	100	51+2	51+2
8	Zuranolone	300/200[b]	51+2	51+2

a For toxicokinetic groups, additional animals were included as possible replacement animals.
b Animals received 300 mg/kg/day through Day 6; the dose level was reduced to 200 mg/kg/day on Day 7.

300/200 mg/kg/日投与群において，主群の雄 2 例及び雌 1 例並びに TK 群の雄 13 例及び雌 2 例が瀕死状態となったため，投与 3 日目から投与 8 日目の間に安楽殺された．病理組織学的検査を実施したが，いずれの死因も特定できなかった．300 mg/kg/日投与群は瀕死例の発現頻度が高かったため，投与 7 日目より投与量を 200 mg/kg/日に減量した．安楽殺前にこれらの瀕死例に認められた一般状態の変化は，自発運動の低下，振戦，運動失調，背弯姿勢，半眼/閉眼 (両眼)，浅呼吸，緩徐又は不整呼吸，努力呼吸，正向反射の消失，側臥位又は胸骨臥位 (胸を地面につけて腹ばいになる姿勢)，攣縮 (多くの場合全身性)，四肢の開脚，低い姿勢 (1 例では高い姿勢)，削痩，皮膚弾力性の消失，脱水，皮温低下及び粗毛などであった．

100 mg/kg/日以上の投与群において，自発運動の亢進，振戦，自発運動の低下及び攣縮 (全身性) が認められた．いずれの一般状態の変化も概ね一過性であり，多くは投与 1 週目に 1 日又は 2 日間認められた．300/200 mg/kg/日投与群の生存例では，その他の所見として運動失調，皮温低下，低い姿勢，背弯姿勢，脱水，半眼/閉眼 (両眼)，過敏症，旋回行動，揺れ，粗毛，側臥位又は胸骨臥位及び呼吸努力の増加が認められた．これらの一般状態所見の発現頻度及び程度は，投与量を 200 mg/kg/日に減量した後は概して軽減したため，投与 8 日目以降に動物の一般状態の急激な悪化や安楽殺例は生じなかった．

30 mg/kg/日以上の投与群において，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因した鎮静が認められた．鎮静の程度，発現頻度及び持続時間には用量依存性が認められ，反復投与により鎮静は軽減した．

300/200 mg/kg/日投与群の雄のみにおいて，投与 1 週目に一過性の体重減少 (-2.98 g) が認められた (投与 1 週目の対照群の雄の体重増加量は 0.31 g)．100 mg/kg/日投与群の雄で投与 2 及び 3 週目，雌では投与 2 週目，300/200 mg/kg/日投与群の雄で投与 1 から 3 週目，雌では投与 2 週目に摂餌量減少が認められたが (対照群比-17.07～75%), いずれも一過性であり体重にほとんど影響が認められなかったことから毒性ではないと判断した．

30 mg/kg/日以上の投与群の雄において，肝重量の減少が認められたが，用量依存性は認められなかった．病理組織学的検査において，全てのズラノロン投与群の動物にごく軽度～軽度な

肝細胞で細胞質の空胞化の減少が認められ，肝重量の減少はこれによる間接的/二次的影響と考えられた．肝細胞での細胞質の空胞化は形態学的にグリコーゲン貯蔵の減少を示唆することから，摂餌量減少に関連する影響と考えられ，毒性ではないと判断した．

その他，血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査又は部検時肉眼検査には，ズラノロンに関連した影響は認められず，器官重量測定又は病理組織学的検査においてもズラノロンによる直接的な影響は認められなかった．

TK 測定に関して，血漿中ズラノロンの C_{max} 及び AUC_{last} に，明らかな性差は認められなかった．30，100 及び 200 mg/kg/日の用量では，投与 28 日目の投与後 1 時間までにズラノロンの C_{max} に達した．投与 28 日目におけるズラノロンの C_{max} は，30～100 mg/kg/日の用量間では用量比以下で増加し，100～200 mg/kg/日の用量間では明らかな増加はみられなかった．一方，AUC_{last} は，30～200 mg/kg/日の用量間では用量比以下で増加した．雌雄マウスにおけるズラノロン投与後の全身曝露量を表 2.6.6.5-4 に要約する．

結論として，CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (野生型) (rasH2) マウスにズラノロンを 30，100 及び 300/200 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した結果，30 mg/kg/日以上の投与群において，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因した鎮静が認められた．300 mg/kg/日投与群において投与初期に死亡例が認められ，投与 7 日目より 200 mg/kg/日に投与量を減量したが，投与 8 日目以降に死亡/瀕死例は認められなかった．300/200 mg/kg/日投与群で死亡/瀕死例が認められたことに基づき，NOAEL は 100 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.5-4 雌雄マウスに反復経口投与後の投与 28 日目における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算)

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{last} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)
30	2180	997	1
100	3740	1330	1
200	7000	1370	1

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

(2) 試験方法及び成績

CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (ヘミ接合性) (rasH2) マウスを用いて，PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を 1 日 1 回 26 週間反復経口投与したときのがん原性の評価を実施した (4.2.3.4-02)．CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (非トランスジェニック，Taconic モデル 001178-W) マウスの TK 群には，同じ方法で同じ期間にわたり投与した．陽性対照群 (ヘミ接合性) には，N-ニトロソ-N-メチル尿素 (NMU) を単回腹腔内投与した．

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを 10，30 又は 100 mg/kg/日の用量で反復経口投与し (表 2.6.6.5-5)，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，TK 測定，剖検時肉眼検査，器官重量測定並びに病理組織学的検査を行った．

表 2.6.6.5-5 rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals[a]	
			Males	Females
Main Study[b]				
1	Vehicle	0	25	25
2	Water	0	25	25
3	Zuranolone	10	25	25
4	Zuranolone	30	25	25
5	Zuranolone	100	25	25
6	NMU	75	15	15
Toxicokinetics[c]				
7	Vehicle	0	6+2	6+2
8	Zuranolone	10	51+2	51+2
9	Zuranolone	30	51+2	51+2
10	Zuranolone	100	51+2	51+2

NMU = N-nitroso-N-methylurea.
a For toxicokinetic groups, additional animals were included as possible replacement animals.
b CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(hemizygous) [RasH2] mice
c Taconic model 001178-W (non-transgenic) CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic mice

ズラノロン投与群について，生存性にズラノロンに関連した明らかな影響は認められなかった．ズラノロンに関連した毒性やがん原性を示唆する所見は生存時にも剖検時にも認められなかった．主に 100 mg/kg/日投与群において，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現による鎮静が認められた．ズラノロンを投与した雌雄で認められた腫瘍性変化は，いずれも用量反応性がなく，この系統のマウスにおいてよくみられる種類のものであったため，偶発性及び/又は自然発生性と判断された．ズラノロンに関連した非腫瘍性の病理組織学的所見は，30 mg/kg 以上の投与群の雌で認められた卵巣における黄体肥大及び乳腺の小葉過形成のみであった．

陽性対照群においては，このトランスジェニックマウスモデルに NMU を腹腔内投与したときにみられる既知の反応と一致する一般状態の変化，生存性への影響，腫瘍形成が認められた．

雌雄 Tg(HRAS) (非トランスジェニック) マウスにおけるズラノロン投与後の全身曝露量を表 2.6.6.5-6 に要約する．

結論として，ズラノロンは CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (ヘミ接合性) (rasH2) マウスモデル系においてがん原性を示さなかった．

表 2.6.6.5-6 rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ (雌雄合算)

Dose Level (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max} (hr)	
	Day 1	Day 182	Day 1	Day 182	Day 1	Day 182
10	1910	1210	641	348	1	1
30	3750	2480	919	1040	1	1
100	8340	5070	1060	1100	1	1

$AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.5.2 ラットがん原性試験

評価資料 4.2.3.4-01
概要表 2.6.7.10.4

(1) 用量設定根拠

ラット 13 週間反復経口投与毒性試験 (雄の投与量：0.8，2.5，8 及び 30 mg/kg/日，雌の投与量：0.15，0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日) (2.6.6.3.3 項参照) では，雄の 0.8 mg/kg/日投与群を除くいずれの用量においてもズラノロンの薬理作用の過剰な発現と考えられる鎮静及び鎮静に関連する所見が認められ，5 mg/kg/日投与群の雌 1 例において重度の鎮静に起因した死亡が認められた．他に毒性変化は認めらず．NOAEL は雄では 30 mg/kg/日，雌では 1.5 mg/kg/日と判断した．この結果を踏まえ，雄では 20 mg/kg/日，雌では 1.5 mg/kg/日をがん原性試験の高用量として設定した．さらに，発がん性の用量反応関係を確認するため，雄では 2 及び 6 mg/kg/日，雌では 0.2 及び 0.6 mg/kg/日を下位用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

雌雄 Sprague Dawley 系ラットに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を 1 日 1 回 92 週間反復経口投与したときのがん原性の評価を目的とし，試験を実施した．

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを，雄には 0 (水及び媒体)，2，6 又は 20 mg/kg/日，雌には 0 (水及び媒体)，0.2，0.6 又は 1.5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，92 週間反復経口投与し (表 2.6.6.5-7)，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，TK 測定，剖検時肉眼検査並びに病理組織学的検査を行った．

表 2.6.6.5-7 ラットを用いたズラノロンのがん原性試験のデザイン

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals[a]	
			Males	Females
Main Study				
1	Vehicle	0	70	70
2	Water	0	70	70
3	Zuranolone	2	70	-
4	Zuranolone	6	70	-
5	Zuranolone	20	70	-
6	Zuranolone	0.2	-	70
7	Zuranolone	0.6	-	70
8	Zuranolone	1.5	-	70
Toxicokinetics				
9	Vehicle	0	3+2	3+2
10	Water	0	3+2	3+2
11	Zuranolone	2	9+2	-
12	Zuranolone	6	9+2	-
13	Zuranolone	20	9+2	-
14	Zuranolone	0.2	-	9+2
15	Zuranolone	0.6	-	9+2
16	Zuranolone	1.5	-	9+2

a For toxicokinetic groups, additional animals were included as possible replacements.

生存性に，ズラノロンに関連した明らかな影響は認められなかった．ズラノロンに関連した毒性及びがん原性を示唆する所見は生存時にも剖検時にも認められなかった．ズラノロンの薬理作用の過剰な発現による鎮静が，主に 20 mg/kg/日投与群 (雄) 及び 1.5 mg/kg/日投与群 (雌) で認められた．

ズラノロンに関連した剖検時肉眼所見，腫瘍性病理組織学的又は非腫瘍性の病理組織学的所見は認められず，ズラノロンは，Sprague Dawley 系ラットにおいてがん原性を示さなかった．

雌雄ラットにおけるズラノロン投与後の全身曝露量を表 2.6.6.5-8 に要約する．

表 2.6.6.5-8 ラットがん原性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	Sex	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max} (hr)	
		Day 1	Day 363	Day 1	Day 363	Day 1	Day 363
2	Male	581	2280	105	202	2	4
6		2040	4430	263	305	2	2
20		4450	6430	422	457	4	2
0.2	Female	356	828	37.8	65.9	2	2
0.6		1040	2100	101	168	2	4
1.5		2560	4560	248	307	2	2

$AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

評価資料 4.2.3.5-01

概要表 2.6.7.12.2

(1) 用量設定根拠

ラット胚・胎児発生に関する試験 (投与量: 2.5，7.5 及び 22.5 mg/kg/日) では，7.5 mg/kg/日以上の投与群で中等度及び重度の鎮静が認められ，22.5 mg/kg/日投与群では痙攣及び死亡等が認められた (2.6.6.6.3 項参照)．ラット 13 週間反復経口投与毒性試験 (雌の投与量: 0.15，0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日) では，5 mg/kg/日投与群の雌 1 例で投与 34 日目に重度の鎮静及び活動性低下が認められその後死亡したが，全投与群において体重，摂餌量及び病理学的検査への影響は認められなかった (2.6.6.3.3 項参照)．ラット 2 週間反復経口投与毒性試験 (雌の投与量:1，3 及び 8 mg/kg/日) では，死亡や瀕死は認められなかった (2.6.6.3.2 項参照)．以上の結果から，高用量として 10 mg/kg/日を設定した．また，毒性の用量反応関係を確認するため，1 及び 3 mg/kg/日を下位用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

雌の Sprague Dawley 系ラットに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を 1 日 1 回経口投与し，受胎能及び初期胚発生への影響を評価した．また，ズラノロンの TK パラメータ評価も実施した．

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを 0 (媒体)，1，3 又は 10 mg/kg/日の用量で，交配 15 日前から無処置雄との交配期間を経て妊娠 7 日目まで投与し，妊娠 13 日目に帝王切開した (表 2.6.6.6-1)．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，性周期評価，交配能評価，血漿中薬物濃度測定 (投与 15 日目)，剖検並びに黄体数，着床数及び胚生存性の評価を行った．

表 2.6.6.6-1 雌ラットの受胎能及び初期胚発生に対するズラノロンの影響を評価する試験デザイン

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals	
			Main Study Females	Toxicokinetic Females
1	Vehicle	0	24	3
2	Zuranolone	1	24	6
3	Zuranolone	3	24	6
4	Zuranolone	10	24	6

10 mg/kg/日投与群の 2 例が投与 1 日目及び投与 19 日目 (妊娠 3 日目) に死亡した．これらは，鎮静及び関連する一般状態の変化を伴ったことから，ズラノロンに起因する変化と判断した．10 mg/kg/日投与群では他に，投与初期に，攣縮，身づくろいの減少，色素涙，軽度の脱水，運動失調，喘ぎ呼吸及び尿による腹部の被毛の着色が認められた．

ズラノロンの薬理作用の過剰な発現による鎮静が全てのズラノロン投与群において認められた．鎮静の程度及び発現頻度には用量依存性が認められ，1 mg/kg/日以上の投与群において軽度の鎮静，10 mg/kg/日投与群では中等度及び重度の鎮静が認められたが，重度の鎮静は概ね投与初期にのみ観察された．いずれの投与群においても，鎮静の程度及び発現例数は投与期間が進むにつれ減少した．また，全ての投与群において，投与初期に反応性亢進が認められ，発現頻度に用量依存性が認められた．

全てのズラノロン投与群で投与期間終了後に体重増加量が減少したが，一過性であり，体重に影響がなかったため毒性ではないと判断した．また，10 mg/kg/日投与群では，投与 10 日目までに発情間期の継続が認められ，それに伴う投与期間中の発情回数減少が認められた．発情周期への影響は投与初期にのみ認められ，交尾能及び受胎能にズラノロン投与の影響は認められず，母体の剖検時の肉眼検査においても異常所見は認められなかったことから毒性ではないと判断した．

TK 測定について，$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} は用量比以下で増加した．雌ラットにおけるズラノロンの全身曝露量を表 2.6.6.6-2 に示す．

結論として，10 mg/kg/日投与群において，死亡，攣縮，身づくろいの減少，色素涙，軽度の脱水，運動失調，喘ぎ呼吸及び尿による腹部の被毛の着色が認められた．薬理作用に関連する変化として，全てのズラノロン投与群で鎮静及び反応性亢進が用量依存的に認められたが，3 mg/kg/日以下の投与群で認められた鎮静及び関連する一般状態の変化はいずれも軽度であった．これらのデータに基づき，母動物の一般毒性に関する NOAEL は 3 mg/kg/日と判断した．また，雌ラットの交尾能，受胎能及び生殖機能に関する NOAEL は 10 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.6-2 雌ラットにおける試験 15 日目の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)
1	2360	228	2
3	5150	480	2
10	11 000	940	6

$AUC_{0\text{-}t}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.6.2 雄ラット授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

評価資料 4.2.3.5-02

概要表 2.6.7.12.1

(1) 用量設定根拠

ラット 13 週間反復経口投与毒性試験（雄の投与量：0.8，2.5，8 及び 30 mg/kg/日）では，30 mg/kg/日の用量まで毒性変化は認められなかった．ズラノロンに関連する変化として，30 mg/kg/日投与群で中等度の鎮静とそれに関連した活動性低下，運動失調及び投与期間中の体

重増加量の低値が認められた (2.6.6.3.3 項参照). また，雄性ラットを用いた 5 日間反復経口投与毒性試験 (投与量 : 30，45，60 及び 100 mg/kg/日) では，45 mg/kg/日以上の投与群で中等度及び重度の鎮静並びに死亡が認められた (2.6.6.3.3 項参照). 以上の結果から，高用量として 30 mg/kg/日を設定し，用量依存性を確認するため 3 及び 10 mg/kg/日を下位用量に設定した.

(2) 試験方法及び成績

雄性 Sprague Dawley 系ラットに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を媒体に用いて調製したズラノロン投与液を 1 日 1 回反復経口投与し，授胎能及び初期胚発生への影響を評価した.

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを 0 (媒体)，3，10 及び 30 mg/kg/日の用量で，交配前 28 日から無処置雌との交配期間を経て雄の剖検まで (51～52 日間) 投与した (表 2.6.6.6-3). 一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，交配能評価，剖検，器官重量測定 (脳，精巣，精巣上体及び前立腺)，精子検査 (精子運動性，精子濃度及び総精子数)，並びに交配した相手雌 (妊娠 13 日) の着床数や胚生存性の評価を行った. TK 群には主群と同じ条件でズラノロンを投与し，投与 28 日目に採取した血漿を用いて血漿中ズラノロン濃度を測定した.

表 2.6.6.6-3 雄ラット授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals		
			Treated Males		Untreated Females
			Main Study	TK Study	
1	Vehicle	0	25	3	25+15[a]
2	Zuranolone	3	25	6	25
3	Zuranolone	10	25	6	25
4	Zuranolone	30	25	6	25+13[a]

TK = toxicokinetics.
a An additional ≤15 untreated rats were mated with males in Groups 1 and 4 assigned to the recovery phase of the study.

30 mg/kg/日投与群の雄 2 例が投与 5 及び 9 日目に死亡した. これらは鎮静及び関連する所見を伴ったことから，ズラノロンに起因する変化と判断した. 30 mg/kg/日投与群では，投与初期に体重増加量の低値が，投与 8 日目及び休薬期間中に体重低値が認められた. また投与期間を通じて摂餌量が減少した.

10 mg/kg/日以上の投与群において一過性の鎮静が認められ，その程度及び発現頻度は用量依存的であった. 中等度及び重度の鎮静が認められたラットの数は，投与期間が進むにつれて減少する傾向にあった. また，10 mg/kg/日以上の投与群では，接触又は音に対する反応性亢進，正向反射の消失，皮温低下，ラッセル音及び努力呼吸が用量依存的に認められた. 休薬期間中，投与に関連した一般状態の変化は認められなかった.

いずれの用量でも，投与期間及び休薬期間の交配において交配までに要した日数，交配率 (交配動物数/同居動物数) ，授胎率 (妊娠動物数/交配動物数)，生殖器重量，精子検査並びに妊娠が確認された無処置の相手雌の着床数及び胚生存性にズラノロン投与の影響は認められなかった. 30 mg/kg/日投与群で対照群に比して交配率の軽度な低値傾向が認められたが，背景データの範囲内であり関連する変化が認められなかったため，最終的にズラノロンによる影響ではないと

判断した.

投与 28 日目の全身曝露量 (AUC_{0-t} 及び C_{max}) は，3～10 mg/kg/日の用量間において用量増加に伴って増加したが，10～30 mg/kg/日の用量間では顕著な差は認められなかった．雄ラットにおけるズラノロンの全身曝露量を表 2.6.6.6-4 に示す.

以上の結果から，雄親動物の一般毒性に関する NOAEL は 10 mg/kg/日，雄ラットの授胎能及び生殖機能に関する NOAEL は 30 mg/kg/日と判断した.

表 2.6.6.6-4 雄ラットにおける交配前 (投与 28 日目) の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)
3	1580	227	2
10	4540	404	2
30	3540	450	4

AUC_{0-t}= area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.6.3 ラット胚・胎児発生に関する試験

評価資料 4.2.3.5-04

参考資料 4.2.3.5-03

概要表 2.6.7.11，2.6.7.13.1

(1) 用量設定根拠

妊娠ラットを用いた用量設定試験 (投与量：1，4，7.5，15，30 及び 100 mg/kg/日，4.2.3.5-03) では，母動物の一般毒性について，30 mg/kg/日以上の投与群において死亡，瀕死，攣縮，呼吸不整又は体重減少が認められ，100 mg/kg/日投与群では帝王切開までに全例が死亡又は安楽殺処置された．15 mg/kg/日以上の投与群では歩行異常及び流涎，7.5 mg/kg/日以上の投与群では重度の鎮静，眼の分泌物及び摂餌量減少を伴う体重増加抑制が認められた．胚・胎児発生に関して，30 mg/kg/日投与群において児の着床後死亡率の高値並びに体重の低値が認められたが，30 mg/kg/日の用量まで黄体数，着床数，着床前死亡率及び胎児外表にズラノロン投与の影響は認められなかった.

以上の結果に基づき，ラット胚・胎児発生毒性試験の用量として 2.5，7.5 及び 22.5 mg/kg/日を選択した.

(2) 試験方法及び成績

Sprague Dawley 系妊娠ラットに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を着床から硬口蓋閉鎖までの期間 (妊娠 6～17 日) 投与し，妊娠 21 日に剖検して，母動物の一般毒性及び生殖機能並びに胚・胎児発生への影響を評価した (4.2.3.5-04).

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを 0 (媒体)，2.5，7.5 又は 22.5 mg/kg/日の用量で 1 日

1 回反復経口投与し (表 2.6.6.6-5)，母動物については一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，剖検，帝王切開パラメータ評価及び子宮重量測定を行った．胎児については生存性及び性別の評価，体重測定並びに外表，内臓及び骨格観察を行った．妊娠 6 及び 17 日目に TK 群の動物から血漿を採取し，ズラノロンの TK 評価を実施した．

表 2.6.6.6-5 ラット胚・胎児発生に関する試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose (mg/kg/day)	No. of Main Study Animals	No. of TK Study Animals
1	Vehicle	0	23	3
2	Zuranolone	2.5	23	8
3	Zuranolone	7.5	23	8
4	Zuranolone	22.5	23	8

TK = toxicokinetics.

22.5 mg/kg/日投与群のラット 5 例 (主群 3 例，TK 群 2 例) が妊娠 6 日 (3 例)，10 日 (1 例) 及び 17 日 (1 例) に死亡した．いずれも死因は特定できなかったが，最高用量でのみ発現したこと及び発現頻度を考慮すると，これらの死亡はズラノロンに起因すると考えられた．

母動物の一般毒性に関して，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が，全投与群の母動物で認められ，その程度及び発現頻度には用量依存性が認められた．22.5 -mg/kg/日投与群では投与初期 (妊娠 6, 7, 8 及び 11 日) にのみ，重度の鎮静が認められた．中等度の鎮静は，7.5 mg/kg/日投与群では妊娠 6 及び 17 日にのみ，22.5 mg/kg/日投与群では投与期間を通じて認められた．7.5 mg/kg/日以上の投与群で認められた中等度及び重度の鎮静は，妊娠ラットにおいては毒性と判断された．他に，22.5 mg/kg/日投与群では痙攣 (妊娠 6，7 又は 8 日)，脱水徴候，削痩，被毛の着色 (黄色)，被毛の乱れ，呼吸音異常及び努力呼吸が認められた．妊娠 13～15 日に，22.5 mg/kg/日投与群の 2 又は 3 例で粘液性又は液状の膣分泌物が認められた．その他，2.5 mg/kg/日以上の投与群において反応性亢進，7.5 mg/kg/日以上の投与群では，眼の赤色分泌物及び全身性の筋攣縮が認められた．いずれ一般状態への影響も発現頻度に用量依存性が認められた．

22.5 mg/kg/日投与群は概ね全観察期間 (妊娠 6～21 日) において対照群に比して体重増加量が減少した．7.5 mg/kg/日投与群では妊娠 6～9 日にのみ対照群に比して体重増加量が減少した (対照群より 39.0%減少) が，その後の体重増加量は概ね対照群と同等であった．

妊娠 21 日の平均体重は, 2.5, 7.5 及び 22.5 mg/kg/日投与群でそれぞれ対照群の－0.1%，－1.0%及び－8.5%であった．

2.5，7.5 及び 22.5 mg/kg/日投与群において，全投与期間 (妊娠 6～18 日) を通じて摂餌量減少が認められ，それぞれ対照群よりも最大 10.4%，12.2%及び 37.4%の摂餌量減少が認められた．7.5 及び 22.5 mg/kg/日投与群の摂餌量減少は，投与終了後 (妊娠 18～21 日) にも認められた．22.5 mg/kg/日投与群では体重増加抑制が認められたため，22.5 mg/kg/日投与群で認められた摂餌量減少は毒性と判断した．

22.5 mg/kg/日投与群では，妊娠子宮重量及び胎児体重の低値 (対照群より 8%～9%減少) 並び

に着床後死亡及び早期吸収胚数の増加が認められた．胎児の形態観察では，胎児の外表，内臓及び骨格に異常又は変異所見を有する母動物数と胎児数の増加が認められた．異常所見は 10 例の胎児に認められ，外脳 (1 胎児)，尾及び/又は尾椎の異常 (2 腹の 3 胎児)，仙椎の異常 (2 腹の 2 胎児)，臍帯ヘルニア及び潜在眼球 (1 胎児)，水晶体の欠損又は小型化 (同腹の 2 胎児)，並びに胸椎/腰椎/肋骨の異常 (2 腹の 3 胎児) であった．これらの各所見の母動物及び/又は胎児における発現頻度は概して，施設の背景値の範囲内か，背景値をわずかに上回る程度であり，所見の質にも一貫性は認められなかったが，22.5 mg/kg/日投与群では外表，内臓及び骨格異常並びに変異を有する母動物数と胎児数の増加が認められたことから，これらの所見はズラノロンに起因する変化と判断した．その他，22.5 mg/kg/日投与群では，対照群に比して後肢 (足根骨，中足骨及び趾節骨) の平均骨化数の減少が認められた．

ズラノロンの曝露量 (AUC_{last} 及び C_{max}) は，妊娠 6 日及び妊娠 17 日に用量比を下回る増加を示した．妊娠ラットの全身曝露量に顕著な蓄積は認められなかった．雌ラットにおけるズラノロンの全身曝露量を表 2.6.6.6-6 に示す．

以上のデータに基づき，ズラノロンの母動物に対する NOAEL は 2.5 mg/kg/日と判断した．22.5 mg/kg/日の用量では，母動物に死亡，痙攣，反応性亢進，眼の赤色分泌物及び筋攣縮などの一般状態への影響並びに体重及び摂餌量減少が認められ，いずれも毒性と判断した．7.5 mg/kg/日の用量では，投与開始初期に体重増加量の減少がみられたほか，反応性亢進，眼の赤色分泌物及び筋攣縮の発現頻度が上昇した．ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が全用量で用量依存的な程度及び発現頻度で認められた．7.5 mg/kg/日以上で認められた中等度及び重度の鎮静は，妊娠ラットにおいては毒性と判断された．

また，22.5 mg/kg/日の用量では，着床後死亡の増加，胎児体重の低値及び胎児の外表，内臓又は骨格に異常や変異を有する胎児を有する母動物数と胎児数の増加が認められたため，胚・胎児発生に関する NOAEL は 7.5 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.6-6 妊娠 6 及び 17 日の妊娠ラットにおける血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{last} (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max} (hr)	
	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17
2.5	3710	3710	310	281	2	2
7.5	10 300	9380	737	656	4	4
22.5	18 500	18 700	1240	1210	8	4

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; GD = gestation day; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.6.4 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

評価資料 4.2.3.5-06
参考資料 4.2.3.5-05
概要表 2.6.7.11，2.6.7.13.2

(1) 用量設定試験結果

GLP 非適用下で，ニュージーランドホワイト種の非妊娠ウサギに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を 7 日間反復投与したときの忍容性を確認し (パート A)，続いて，妊娠ウサギに同様に調製したズラノロン投与液を妊娠 7 日から 19 日まで反復経口投与したときにズラノロンが妊娠及び胚･胎児発生に及ぼす影響を評価 (パート B) することを目的に 2 期からなる用量設定試験を以下の試験デザインに従って実施した (表 2.6.6.6-7) (4.2.3.5-05).

表 2.6.6.6-7 非妊娠ウサギにおける忍容性評価 (パート A) 及び妊娠ウサギにおける探索的胚・胎児発生評価 (パート B) 試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Females
Part A – Tolerability (7-Day, Non-Pregnant Rabbits)				
1	Zuranolone	5	5	3
2	Zuranolone	20	5	3
3	Zuranolone	100	10	2
4	Zuranolone	500	10	2
5	Zuranolone	1000	10	2
Part B – Embryo-Fetal Development (Pregnant Rabbits)				
6	Vehicle Control	0	5	6
7	Zuranolone	50	5	6
8	Zuranolone	150	5	6
9	Zuranolone	500	5	6

GD = gestation day.

パート A における評価 (投与量：5，20，100，500 及び 1000 mg/kg/日) では，1000 mg/kg/日投与群で重度の鎮静，振戦，被毛の乱れ，眼瞼下垂，呼吸不整，体重減少及び摂餌量減少等が認められ，これらを基にパート B における評価の投与量として 50，150 及び 500 mg/kg/日を選択した．

パート B における評価 (投与量：50，150 及び 500 mg/kg/日) では，全例で妊娠が確認され，死亡例は認められなかった．全投与群で軽度の鎮静が発現し，500 mg/kg/日投与群では被毛の乱れが認められた．全ズラノロン投与群で体重増加量の減少が認められ，減少の程度には明らかな用量依存性は認められなかったが (50，150 及び 500 mg/kg/日投与群でそれぞれ対照群の－33%，－68%及び－16%，妊娠 7～20 日)，150 mg/kg/日以上の投与群では，投与終了後も体重増加量の減少が持続した (それぞれ対照群比: －27%及び－70%，妊娠 20～29 日)．しかし，妊娠 29 日の平均体重にズラノロン投与による影響は認められなかった．投与後の期間 (妊娠 20～

29 日) の摂餌量は，全ズラノロン投与群で軽度に減少した (50，150 及び 500 mg/kg/日投与群で対照群比: − 16%， − 18%及び − 32%).

いずれの投与群においても，帝王切開パラメータ，胚・胎児の生存性及び体重，並びに胎児の外表及び内臓にズラノロン投与の影響は認められなかった.

妊娠 7 日及び妊娠 19 日に全ての投与群で血漿中ズラノロン濃度に顕著な個体差が認められた．評価した用量範囲において，ズラノロンの曝露量は用量比を下回って増加し，反復による顕著な曝露の蓄積は認められなかった.

以上のデータに基づき，用量設定試験の条件下で母動物の一般毒性に関する NOAEL は 50 mg/kg/日未満，胚・胎児発生に関する NOAEL は 500 mg/kg/日と判断した．続く本試験の高用量は，薬理作用に関連する変化はみられるが，重度の母体毒性は認められない用量として 500 mg/kg/日を設定した.

(2) 試験方法及び成績

ニュージーランドホワイト種の妊娠ウサギに着床から硬口蓋閉鎖までの期間 (妊娠 7 日から妊娠 19 日) にズラノロンを経口投与し, 母動物及び胚･胎児発生への影響を評価した (4.2.3.5-06).

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを 0 (媒体)，25，125 又は 500 mg/kg/日の用量で妊娠 7〜19 日まで 1 日 1 回経口投与し (表 2.6.6.6-8)，帝王切開を妊娠 29 日に実施した．媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．母動物の生存性，一般状態，体重，体重増加量，摂餌量及び剖検時肉眼所見，黄体数，着床数，児数，胎盤所見，胚・胎児の生存性並びに胎児の外表及び性別，体重，内臓及び骨格所見に基づき，毒性を評価した．TK 群の動物から妊娠 7 日及び 19 日に血液を採取し，ズラノロンの血漿中濃度を測定した.

表 2.6.6.6-8 ウサギ胚・胎児発生に関する試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	No. of Main Study Animals	No. of Toxicokinetic Study Animals
1	Vehicle	0	25	3
2	Zuranolone	25	25	4
3	Zuranolone	125	25	4
4	Zuranolone	500	25	4

GD = gestation day.

500 mg/kg/日投与群の 1 例が，体重減少及び攣縮，被毛の乱れ及び重度の鎮静を示した後，妊娠 16 日に死亡した．同群の別の 1 例は，正向反射の消失，削痩，呼吸数減少，体重及び摂餌量減少などの毒性変化が認められたため，妊娠 10 日に安楽殺された．これらの死亡は高用量投与群で認められ，ズラノロンに起因する所見を伴っていたことから，ズラノロン投与の影響と判断された．その他の動物にズラノロンに起因した死亡は認められなかった.

鎮静は，全ズラノロン投与群で認められ，鎮静の程度及び発現頻度には用量依存性がみられた．重度の鎮静は 500 mg/kg/日の用量でのみ認められ，中等度の鎮静は 125 mg/kg/日以上の用量でのみ認められた．中等度及び重度の鎮静が認められた動物の例数は，投与期間の進行に伴っ

て減少する傾向があった.

さらに，125 mg/kg/日以上の投与群で横臥位，500 mg/kg/日投与群では攣縮，半眼，努力呼吸，異常呼吸音，呼吸数の減少並びに正向反射の消失及び糞量の減少が認められた．身づくろいの減少は全投与群で認められたが，500 mg/kg/日投与群ではより高頻度であった.

500 mg/kg/日投与群では，妊娠 7～10 日に母動物体重の減少が認められた (対照群の 95.87 g の増加に対し-86.19 g)．また，125 mg/kg/日投与群では，妊娠 7～10 日の期間に母動物の体重増加量が減少した (対照群と比較して－90%)．その結果，妊娠 7～20 日の投与期間全体において 125 及び 500 mg/kg/日投与群で母動物の体重増加量が減少した (それぞれ対照群の－40%及び－45%).

500 mg/kg/日投与群では, 妊娠 20～24 日の投与後の期間に母動物体重の減少が認められた (対照群の増加量 98.68 g に対して－11.79 g)．また，25 及び 125 mg/kg/日投与群では，投与終了後の妊娠 20～24 日に母動物の体重増加量が減少した．その結果，125 及び 500 mg/kg/日投与群では, 妊娠 20～29 日の全投与後期間及び妊娠 7～29 日の全期間において母動物の体重増加量が減少した.

500 mg/kg/日投与群では，妊娠 23～29 日で母動物体重の減少が認められた (対照群と比較して－5%～－6%)．いずれの用量においても，妊娠子宮重量に対する影響は認められなかった.

125 及び 500 mg/kg/日投与群では妊娠 7～10 日の期間, 500 mg/kg/日投与群では妊娠 10～13 日の期間及び妊娠 7～20 日の全投与期間に母動物の摂餌量が減少した．125 mg/kg/日及び 500 mg/kg/日投与群では，妊娠 20～29 日の投与後の期間及び妊娠 7～29 日の全期間で母動物の摂餌量が減少した.

生存例の剖検時肉眼検査において，ズラノロンに関連した異常は認められなかった.

500 mg/kg/日投与群では，軽度な胎児体重の低値が認められた.

その他，黄体数，着床数，着床前後の胚胎児生存性，胎児の外表，胎盤，内臓，骨格及び骨化数にズラノロン投与に関連した変化は認められなかった.

TK 解析では，全投与群で血漿中ズラノロン濃度に大きな個体差が認められた．血漿中ズラノロン濃度が定量下限未満を示した個体も認められたが，いずれの個体にも鎮静が認められたことから，少なくとも本薬は十分に中枢移行したことが示唆された．血漿中ズラノロン濃度にばらつきがみられたことから，曝露の用量依存性に関する結論は得られなかったが，鎮静や関連する一般状態への影響，体重や摂餌量減少には明らかな用量依存性が認められたことから，曝露も用量依存性を伴って増加したと推察された．反復投与による血漿中ズラノロン濃度の蓄積は認められなかった (表 2.6.6.6-9).

本試験では，500 mg/kg/日投与群において，死亡並びに攣縮，半眼，身づくろいの減少，努力呼吸，呼吸数減少及び正向反射の消失が認められた．全投与群において，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が用量依存的な程度で認められたが，25 mg/kg/日投与群の鎮静は軽度に留まった．125 mg/kg/日以上の投与群では，投与期間中に母動物の体重増加抑制及び摂餌量減少が認められ，毒性と判断した．これらの結果に基づき，母体毒性に関する NOAEL は 25 mg/kg/日と判断した．胚・胎児発生について，いずれの投与群においても胚・胎児の形態異常及び致死は認められなかったが，500 mg/kg/日投与群で軽度な胎児体重の低値が

認められたことから，NOAEL は 125 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.6-9 妊娠 7 及び 19 日の妊娠ウサギにおける血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{-last} (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max} (hr)	
	GD 7	GD 19	GD 7	GD 19	GD 7	GD 19
25	256	291	21.1	11.0	6.00	4.00
125	395	663	19.8	39.1	4.75	3.00
500	233	260	16.9	21.1	15.5	4.75

AUC_{0-t} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; GD = gestation day; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.6.5 マウス胚・胎児発生に関する試験

評価資料 4.2.3.5-12

参考資料 4.2.3.5-11

概要表 2.6.7.11，2.6.7.13.3

(1) 用量設定試験結果

GLP 非適用下で，Crl:CD1 (ICR) 系妊娠マウスに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を妊娠 6 日から 15 日まで反復経口投与したときに，ズラノロンが妊娠及び胚・胎児発生に及ぼす影響を評価することを目的に用量設定試験を以下の試験デザインに従って実施した (表 2.6.6.6-10) (4.2.3.5-11).

表 2.6.6.6-10 妊娠マウスでの探索的胚・胎児発生評価試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Volume (mL/kg)	Number of Females	
				Main study	TK
1	Vehicle Control	0	10	6	6
2	Zuranolone	30	10	6	42
3	Zuranolone	100	10	6	42
4	Zuranolone	300	10	6	42
5	Zuranolone	450	10	6	42

450 mg/kg/日投与群 (主群) の 1 例が，妊娠 6 日以降に鎮静に加え，振戦，浅呼吸，努力呼吸，皮膚蒼白，皮温低下，低い姿勢，側臥位及び活動性低下がみられ，妊娠 7 日に状態悪化のため安楽殺された．また TK 群の 450 mg/kg/日投与群の 3 例に，努力呼吸，異常呼吸，側臥位，活動性低下，運動失調，振戦，前傾姿勢，立毛，歩行障害及び攣縮がみられ，妊娠 6 日から 14 日の間に状態悪化により安楽殺された．これらの瀕死はズラノロン投与の影響と判断された．

母動物の一般毒性に関して，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が全てのズラノロン投与群で認められ，その程度及び発現頻度には概ね用量依存性が認められた．その他，30 mg/kg/日以上の投与群において，軽度から中等度の振戦，軽度から重度の運動協調能の障害，低い姿勢及び活動性低下，100 mg/kg/日投与群では異常歩行，100 mg/kg/日以

上の投与群で努力呼吸や浅呼吸，側臥位及び攣縮がみられ，300 mg/kg/日以上の投与群で前傾姿勢，皮膚蒼白がみられた．450 mg/kg/日投与群では投与期間中 (妊娠 6 日から 16 日) に体重増加量及び体重の低値が認められた．

いずれの投与群においても，帝王切開パラメータ，胚・胎児の生存性，並びに胎児の体重，外表及び内臓にズラノロン投与の影響は認められなかった．

ズラノロンの曝露量 (AUC_{last} 及び C_{max}) は評価した用量範囲において概ね用量比以下で増加したが，C_{max} は 300 mg/kg/日～450 mg/kg/日の用量間でほとんど増加しなかった．また，反復投与により曝露の減少傾向がみられた．

以上のデータに基づき，続く本試験の高用量は薬理作用に関連する変化はみられるが，重度の母体毒性は認められない用量として 300 mg/kg/日を設定した．

(2) 試験方法及び成績

Crl:CD1 (ICR) 系妊娠マウスに着床から硬口蓋閉鎖までの期間 (妊娠 6～15 日) にズラノロンを経口投与し，母動物及び胚・胎児発生への影響を評価した (4.2.3.5-12).

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを 0 (媒体)，30，100 又は 300 mg/kg/日の用量で妊娠 6～15 日まで 1 日 1 回経口投与し (表 2.6.6.6-11)，帝王切開を妊娠 18 日に実施した．媒体には PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．母動物の生存性，一般状態，体重，体重増加量及び剖検時肉眼所見，黄体数，着床数，児数，胎盤所見，子宮重量，胚・胎児の生存性並びに胎児の外表及び性別，体重，内臓及び骨格所見に基づき，毒性を評価した．TK 群の動物から妊娠 6 日及び 15 日に血液を採取し，ズラノロンの血漿中濃度を測定した．

表 2.6.6.6-11 マウス胚・胎児発生に関する試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	No. of Main Study Animals	No. of Toxicokinetic Study Animals
1	Vehicle	0	22	6
2	Zuranolone	30	24[a]	37[a]
3	Zuranolone	100	22	36
4	Zuranolone	300	22	36

a Due to the deaths of 2 main study and 1 toxicokinetic phase females on Gestation Day 6 or 7, 3 additional animals were assigned to this group.

30 mg/kg/日投与群の 3 例 (主群 2 例，TK 群 1 例) 及び 100 mg/kg/日投与群の 2 例 (主群) で死亡が確認され，一部の個体にはズラノロンの薬理作用に関連したと考えられる鎮静 (軽度～中等度) 及び関連する一般状態所見が死亡前に認められた．しかしながら，いずれの死亡例にも剖検時肉眼検査において異常は認められず，最高用量である 300 mg/kg/日投与群で死亡例が認められなかったことから，ズラノロン投与に関連した変化ではないと判断された．その他の動物にズラノロンに起因した死亡は認められなかった．

母動物の一般毒性に関して，いずれのズラノロン投与群においても投与期間である妊娠 6～15 日を通してズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静 (軽度～重度)

が認められた．重度の鎮静の発現例数は，30，100 及び 300 mg/kg/日投与群で，それぞれ 1，2 及び 8 例であり，用量依存性が認められた．また，30 及び 100 mg/kg 日投与群にみられた鎮静は，投与翌日までには消失したのに対し，300 mg/kg/日投与群では投与翌日においても軽度～中等度の鎮静が認められ，鎮静の持続時間にも用量依存性が認められた．また，全投与群において，鎮静に関連する一般状態変化として，振戦，呼吸異常 (減少，増加又は不規則)，努力呼吸，前傾姿勢，閉眼 (一部)，運動協調能の障害，低い姿勢，異常歩行，側臥位，活動性低下及び攣縮が認められ，100 及び 300 mg/kg/日投与群では浅呼吸，300 mg/kg/日投与群では意識消失及び立毛を伴っていた．これらの所見に関しても，発現頻度は概ね用量依存的であった．

300 mg/kg/日投与群では，投与期間 (妊娠 6～15 日) を通じて対照群と比べ体重増加量の低値がみられ，妊娠 12～16 日までの体重も対照群より低く，妊娠 16 日の体重は対照群比−9.31%の低値であった．しかしながら，投与期間後 (妊娠 16～18 日) の体重増加量は対照群より高値となり，妊娠 18 日の体重は対照群比−4.58%の低値にまで回復した．300 mg/kg/日投与群の妊娠子宮重量は対照群比−7.24%の低値であった．300 mg/kg/日投与群でみられた体重への影響は，投与期間後から剖検までに回復傾向がみられたことから，毒性ではないと判断された．30 及び 100 mg/kg/日投与群では本薬の投与に起因した体重及び妊娠子宮重量への影響はみられなかった．

100 及び 300 mg/kg/日投与群において胎児体重の低値がみられ (それぞれ対照群比−4.7%～−5.4%及び−17.0%～−17.7%)，変化の大きさから，300 mg/kg/日投与群の胎児体重低値は毒性と判断した．30 mg/kg/日投与群には胎児体重の影響はみられなかった．

胎児外表観察において，100 mg/kg/日投与群で口蓋裂が 2 腹の 2 胎児 (発生頻度 : 0.99% [児]，11.1% [母])，300 mg/kg/日投与群で 3 腹の 10 胎児 (発生頻度 : 3.69% [児]，15.0% [母]) に認められ，骨格観察において，それぞれ 2 腹の 2 胎児と 2 腹の 9 胎児で口蓋骨の分裂を伴っていた．口蓋裂の発生頻度はいずれも背景値範囲内 (母動物の発生頻度最大 25.0%，児の発生頻度最大 6.76%) であったが，口蓋裂がみられた胎児はいずれも体重が低値を示しており，100 mg/kg/日投与群で 1.22 g 未満，300 mg/kg/日投与群で 1.07 g 未満であった (対照群の胎児体重平均値 : 1.404 g)．また，300 mg/kg/日投与群では，対照群と比べ不完全骨化又は未骨化の発生頻度の増加が認められ，影響を受けた部位は，頭蓋骨 (前頭骨 : 2 腹の 8 胎児，頭頂骨 : 2 腹の 7 胎児) 及び脊柱 (胸骨分節 : 腹の 10 胎児，頸椎体 : 3 腹の 12 胎児，胸椎体 : 2 腹の 2 胎児) であった．さらに，300 mg/kg/日投与群では，1 腹の 3 胎児に不完全骨化に関連する複数の頭蓋骨変異が認められた．口蓋裂を含むこれらの所見は全て，ズラノロン投与に関連した胎児体重の低値に基づく二次的な影響と判断された．その他，生存例の母動物の剖検時肉眼検査，黄体数，着床数，胎児数及び胎盤並びに胚・胎児の生存性，性別及び内臓にズラノロンに関連した異常は認められなかった．

ズラノロンの曝露量 (AUC_{last} 及び C_{max}) は，妊娠 6 日及び妊娠 15 日に用量比以下で増加した．また，反復投与によりズラノロンの曝露量は低下傾向を示した．妊娠マウスにおけるズラノロンの全身曝露量を表 2.6.6.6-12 に示す．

本試験では，全投与群の母動物においてズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静及び鎮静に関連した一般状態変化が認められ，また，300 mg/kg/日投与群では投与

期間を通じて体重増加量及び体重の低値が認められたが，投与終了後から剖検時までに回復傾向がみられた．そのため最終報告書では本所見を毒性とは判断せず，母体毒性に対する NOAEL は 300 mg/kg/日と判断された．胚・胎児に関して，100 mg/kg/日以上の投与群において胎児体重の低値が認められ，300 mg/kg/日投与群の胎児体重の低値に関しては変化の大きさから毒性と判断した．外表及び骨格観察において口蓋裂及び不完全骨化又は未骨化等がみられたが，胎児体重の低値に基づく二次的な影響と判断された．300 mg/kg/日投与群でみられた胎児体重の低値に基づき，胚・胎児発生に対する NOAEL は 100 mg/kg/日と判断された．

なお，本項は最終報告書 (4.2.3.5-12) に記載された内容を要約したが，100 mg/kg/日投与群の胎児で認められた所見 (体重低値，口蓋裂及び関連する骨格の所見) と本薬投与の関係，さらに本試験における毒性変化と無毒性量については，最終報告書の記載と異なる判断をしたため，総合考察を 2.6.6.9.3 項に記載した．

表 2.6.6.6-12　　妊娠 6 及び 15 日の妊娠マウスにおける血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{last} (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max} (hr)	
	GD 6	GD 15	GD 6	GD 15	GD 6	GD 15
30	2620	1870	942	583	1	2
100	6360	5500	1070	748	1	4
300	15 200	7980	1270	1010	2	4

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; GD = gestation day; hr = hour(s); T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.6.6　　ラット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

評価資料 4.2.3.5-07

概要表 2.6.7.14.1

(1) 用量設定根拠

ラット胚・胎児発生に関する試験 (投与量 : 2.5，7.5 及び 22.5 mg/kg/日) において，22.5 mg/kg/日投与群では，死亡，痙攣，反応性亢進，眼の赤色分泌物及び筋攣縮並びに摂餌量減少を伴う体重及び体重増加量の減少などの母体毒性が認められた．7.5 mg/kg/日投与群においても，投与開始時に体重増加量の減少が認められた他に，反応性亢進，眼の赤色分泌物及び筋攣縮が高頻度に認められた．全投与群において，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因した鎮静が認められ，7.5 mg/kg/日以上の投与群で認められた中等度～重度の鎮静は，妊娠ラットにおいて毒性と判断された．また，胚・胎児発生について，22.5 mg/kg/日投与群では着床後早期吸収胚の増加，胎児体重の減少及び胎児形態異常が認められた (2.6.6.6.3 項参照)．以上の結果から，本試験の高用量として 10 mg/kg/日を設定し，毒性の用量反応関係を確認するため，1 及び 4 mg/kg/日を下位用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

表 2.6.6.6-13 に示す試験デザインに従い，Sprague Dawley 系妊娠ラットに，ズラノロンを 0 (媒体)，1，4 及び 10 mg/kg/日の用量で，妊娠 6 日から哺育 20 日まで，1 日 1 回反復経口投与し，母体の機能及び出生前後の児動物の生存性，身体発育，行動及び生殖能に対する影響を評価した．媒体には，PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いた．母動物について，生存性，一般状態，体重，体重増加量，摂餌量及び剖検時肉眼所見に基づき，毒性を評価した．F1 出生児については，生存性，一般状態，体重，体重増加量，摂餌量，性成熟 (膣開口及び亀頭包皮分離)，行動評価 (自発運動量，音刺激に対する驚愕反応及び馴化反応，Morris 水迷路)，性周期評価，交配能，剖検時肉眼所見並びに受胎能に基づいて，毒性を評価した．また，TK 解析のために妊娠 17 日に母動物から，哺育 4 日及び哺育 10 日には母動物及び児動物から採血し，血漿中ズラノロン濃度を測定した．

表 2.6.6.6-13 ラット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の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	No. of F0 Generation Main Study Animals	No. of F0 Generation Toxicokinetic Animals	No. of F1 Generation Animals	
					Males	Females
1	Control	0	24	4	23[a]	23[a]
2	Zuranolone	1	24	8	24[a]	24[a]
3	Zuranolone	4	24	8	22[a,b]	22[a,b]
4	Zuranolone	10	24[c]	8[c]	-	-

GD = gestation day; LD = lactation day.
a One male and 1 female from each surviving litter was selected for continued observation on LD 21. No additional pups were selected from a litter.
b Due to high mortality in the main study, 1 male and 1 female pup from Group 3 TK study Litters 1113 to 1118 and 1120 were selected for continued observation.
c Due to high mortality, all dams and pups were terminated on LD 8 to 10.

10 mg/kg/日投与群

主群 24 例及び TK 群 8 例のうち，妊娠 6 日～哺育 2 日までの間に，主群の 9 例及び TK 群の 4 例が死亡又は紅涙，努力呼吸，ラッセル音，流涎過多，喘ぎ呼吸，痙攣，反応性亢進及び振戦などの毒性所見のために安楽殺された．さらに，哺育 1 日～哺育 4 日の間に全児死亡のため，主群の母動物 6 例及び TK 群の母動物 3 例が安楽殺された．その他，妊娠 20 日に主群の母動物 1 例が誤投与により死亡し，妊娠 25 日に TK 群の母動物 1 例が分娩が認められなかったために安楽殺された．これら 2 例の死亡及び安楽殺例では，全ての胚が早期又は後期吸収胚であった．以上の主群及び TK 群の母動物の死亡，瀕死並びに全児死亡により，評価に十分な児動物数が確保できないと判断されたことから，10 mg/kg/日投与群の全生存母動物 (主群 8 例) 及びその生存児が哺育 8～10 日に安楽殺された．

その他の一般状態の変化として，母動物では中等度及び重度の鎮静が認められたが，重度の鎮静が認められたのは哺育期間中の 1 例のみであった．鎮静はズラノロンの薬理作用に関連すると考えられた．

妊娠期間中に母動物において摂餌量減少が認められたが，体重又は体重増加量に影響は認め

られなかった．哺育期間中には母動物の摂餌量，体重又は体重増加量の減少が認められた．

剖検時肉眼検査では，ズラノロンに起因する変化は認められなかった．

生後 1～4 日目に児の死亡数及び安楽殺数又は食殺によると推定された児の死亡数が増加し，同腹児数及び出生から哺育 4 日までの生存性が低下した．

また，離乳前の児動物に関して児散在，皮温低下及び体重低値 (対照群の 76%～94%) が認められた．

1 及び 4 mg/kg/日投与群 (離乳前)

4 mg/kg/日投与群の主群の母動物 3 例が哺育 2 日～6 日までに死亡又は皮温低下，脱水，あえぎ呼吸，重度の鎮静などの一般状態への影響のために安楽殺された．また，4 mg/kg/日投与群の母動物 7 例 (主群 6 例，TK 群 1 例) は，哺育 1 日～2 日の間に全児死亡のため安楽殺された．

1 及び 4 mg/kg/日投与群の母動物において，一過性の鎮静が投与期間を通じて認められ，程度及び発現頻度には用量依存性が認められた．中等度及び重度の鎮静は，4 mg/kg/日投与群の哺育期間中に発現した．そのほか，4 mg/kg/日投与群では反応性亢進及び振戦が妊娠期間及び哺育期間に認められ，1 mg/kg/日投与群では哺育期間にのみ反応性亢進が認められた．また，4 mg/kg/日投与群では母動物の摂餌量減少が妊娠期間及び哺育期間に認められたが，いずれの評価時点においても体重又は体重増加量に影響は認められなかった．

剖検時肉眼検査では，いずれの投与群においてもズラノロンに関連した変化は認められなかった．

4 mg/kg/日投与群において，生後 1 日～生後 4 日に，児の死亡数，安楽殺数又は食殺によると推定された児の死亡数が増加し，同腹児数と生存性が低下した．また，児動物の体重低値が生後 4，10 及び 14 日に認められた (それぞれ対照群の 94%，93%及び 94%)．

4 mg/kg/日以下の投与群ではズラノロンに関連した離乳前の児の一般状態にズラノロンに関連した変化は認められなかった．

1 及び 4 mg/kg/日投与群 (離乳後)

いずれの投与群においても，F1 世代にズラノロンに関連した死亡又は一般状態への影響は認められなかった．

4 mg/kg/日投与群の F1 雄では，出生後 22～71 日における体重が減少し，出生後 22～43 日に摂餌量が一過性に減少した．

いずれの投与群の F1 世代においても，性成熟，神経行動学的評価 (自発運動，音刺激に対する驚愕反応及び馴化反応又は Morris 水迷路における学習及び記憶能) 並びに性周期や受胎能 (黄体数，着床数及び胚の生存性等) に，ズラノロンの影響は認められなかった．

TK 解析では，1，4 及び 10 mg/kg/日投与群における妊娠 17 日の母動物の AUC_{last} はそれぞれ 2420, 7030 及び 10 400 ng·hr/mL, C_{max} はそれぞれ 223, 500 及び 912 ng/mL であった (表 2.6.6.6-14)．母動物の血漿中ズラノロン濃度に対する児動物の血漿中ズラノロン濃度は，1 及び 4 mg/kg/日投与群においてそれぞれ，哺育 4 日で約 0.6%～0.7%及び哺育 10 日で 0.3%～0.5%であった．

結論として，4 mg/kg/日以上の投与群で，母動物の死亡，中等度又は重度の鎮静，反応性亢進

及び振戦並びに妊娠期間中及び哺育期間中の摂餌量減少及び体重減少，10 mg/kg/日投与群では紅涙，努力呼吸，ラッセル音，流涎過多，あえぎ呼吸及び痙攣が認められた．4 mg/kg/日以上の投与群では哺育 1～4 日に児動物の死亡率が増加し，離乳前の児動物体重が減少した．4 mg/kg/日投与群の F1 雄では体重低値が離乳後まで持続した．これらのデータに基づき，母動物に関する NOAEL 及び出生児の発生に関する NOAEL はいずれも 1 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.6-14 妊娠 17 日及び哺育 10 日に F0 母動物へ経口投与した後の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	AUC_{last} (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		T_{max} (hr)	
	GD 17	LD 10	GD 17	LD 10	GD 17	LD 10
1	2420	1860	223	272	2	2
4	7030	N.C	500	N.C	4	N.C
10	10 400	N.C	912	N.C	4	N.C

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; GD = gestation day; hr = hour(s); LD = lactation day; N.C = not calculated; T_{max} = time of maximum plasma concentration.

2.6.6.6.7 幼若ラットを用いた試験

2.6.6.6.7.1 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.5-09

参考資料 4.2.3.5-08

概要表 2.6.7.15.1，2.6.7.15.2

(1) 用量設定試験結果

GLP 非適用下で，幼若 (生後 7 日又は 22 日) Sprague Dawley 系ラットに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を 1 日 1 回 5 日間 (A 期) 又は幼若 (生後 7 日) Sprague Dawley 系ラットに 1 日 1 回 28 日間 (B 期) 反復経口投与した (4.2.3.5-08).

以下の試験デザインに従い，ズラノロンを幼若ラットに 20，40，60，80 又は 100 mg/kg/日の用量で 5 日間反復投与 (A 期) ，又は 0 (媒体)，3，10 又は 30 mg/kg/日の用量で 28 日間反復投与 (B 期) した (表 2.6.6.6-15 及び表 2.6.6.6-16)．B 期では 2 つの群 (第 12 及び 13 群) に 30 mg/kg/日の用量で投与し，一般状態観察，体重測定及び剖検時肉眼検査を実施した．第 13 群は，日齢の違いによる被験物質による影響の違いに対応するため，投与後 2 週間に用量を 60 mg/kg/日に増量する予定だったが，30 mg/kg/日投与群で重篤な所見が認められたため増量は実施しなかった．B 期では，上記に加え血液学的及び血液生化学的検査，器官重量測定，病理組織学的検査及び TK 測定も実施した．TK 評価はサテライト群を用いて，生後 7，20 及び 34/35 日におけるズラノロンの血漿中薬物濃度を測定した．

表 2.6.6.6-15 幼若ラット (投与開始時生後 7 日又は 22 日) における忍容性評価 (A 期) 及び幼若ラット (投与開始時生後 22 日) における 28 日反復投与毒性試験 (B 期) の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	PND at First Dose	Number of Animals	
				Males	Females
Phase A – 5 Day Tolerability					
1	Zuranolone	20	7	3	3
2	Zuranolone	100	7	3	3
3	Zuranolone	60	7	3	3
4	Zuranolone	40	7	3	3
5	Zuranolone	20	22	3	3
6	Zuranolone	100	22	3	3
7	Zuranolone	60	22	3	3
8	Zuranolone	80	22	3	3
Phase B – 28 Day Toxicity					
9	Vehicle	0	7	8	8
10	Zuranolone	3	7	8	8
11	Zuranolone	10	7	8	8
12	Zuranolone	30	7	8	8
13	Zuranolone	30	7	8	8

PND = postnatal day.

表 2.6.6.6-16 幼若ラット (投与開始時生後 22 日) における 28 日間反復投与毒性試験の TK 群の群構成 (B 期)

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals per Blood Collection Day					
			PND 7		PND 20		PND 34	
			Males	Females	Males	Females	Males	Females
10	Zuranolone	3	15	15	15	15	9	9
11	Zuranolone	10	15	15	15	15	9	9
12	Zuranolone	30	15	15	15	15	9	9
13	Zuranolone	30	-	-	15	15	9	9

PND = postnatal day.

A 期：離乳前の投与 - 第 1～4 群

20 mg/kg/日投与群において，死亡/瀕死は認められなかった．鎮静 (軽度～中等度)，運動協調能の障害及び振戦が認められた．生後 10 日の平均体重は背景値に比して低値傾向であったものの，いずれの動物も投与期間中は体重増加を示した．

40 mg/kg/日以上の投与群では，投与初日に重度の鎮静が長時間 (8 時間以上) 認められ，皮温低下，呼吸数の低下，努力呼吸又は浅呼吸などの一般状態への影響も認められたことから，40 mg/kg/日は 5 日間の反復投与に耐用しないと判断し，全例を安楽殺した．

いずれの動物においても剖検時肉眼所見にズラノロンによる影響は認められなかった．

A 期：離乳後の投与 - 第 5～8 群

20 mg/kg/日投与群において，鎮静 (軽度～中等度)，振戦，運動協調能の障害，半眼，低い姿勢，反応性亢進，赤色眼脂，四肢の開脚及び浅呼吸などが認められた．

60 mg/kg/日投与群において，鎮静 (軽度～重度)，振戦及び赤色眼脂，80 mg/kg/日投与群では鎮静 (軽度～重度) が認められた．

100 mg/kg/日投与群において，瀕死，鎮静 (軽度～重度)，呼吸数減少及び/又は浅呼吸，振戦，非持続性の痙攣，脱水の疑い，被毛の乱れ，浅呼吸及び呼吸数減少などが認められた．

体重及び体重増加量に関して，雄はいずれの用量においても明らかな影響は認められなかった．雌では 100 mg/kg/日投与群の 1 例において体重減少が認められたが，その他の投与群において明らかな影響は認められなかった．

剖検所見に関して，生後 22 日に安楽殺された 100 mg/kg/日投与群の雌の児動物 1 例では，剖検時に気管の穿孔が認められた．他の児動物はいずれも正常と考えられた．

B 期：28 日間反復投与毒性試験

30 mg/kg/日投与群 (第 12 及び 13 群) において，死亡/瀕死又は所在不明となった動物数が増加した．2 つの群 (主群及び TK 群を含む，生後 7 日の TK 対象動物を除く) を合わせると，雄 64 例中 13 例 (20.3%) 及び雌 64 例中 29 例 (45.3%) が生後 20 又は 34/35 日の剖検まで生存しなかった．10 mg/kg/日投与群の雌 47 例中 2 例及び雌 47 例中 1 例が死亡又は安楽殺された．その他の動物はいずれも試験期間を通して生存した．

10 及び 30 mg/kg/日投与群の雄において，鎮静 (軽度～中等度)，皮温低下及び脱水の疑いが認められ，30 mg/kg/日投与群では鎮静 (重度)，被毛の乱れ，削痩，振戦，腹部膨満，半眼，皮膚蒼白，努力呼吸及び浅呼吸が認められた．雌について，3 mg/kg/日以上の投与群において鎮静 (軽度～中等度)，10 mg/kg/日以上の投与群において皮温低下及び脱水の疑い，30 mg/kg/日投与群において鎮静 (重度)，自発運動の亢進，皮膚蒼白，被毛の乱れ，努力呼吸，正向反射の消失及び削痩が認められた．

10 及び 30 mg/kg/日投与群 (第 11，12 及び 13 群) では，投与期間を通じて体重増加量が減少し (雄：それぞれ対照群比 −18.3%， −25.2%及び −32.5%，雌：それぞれ対照群比 −14.2%, −18.5%及び −22.4%), 生後 8 日から試験終了時まで平均体重の減少も認められた．

いずれの投与群においても，血液学的検査及び血液生化学的検査について，ズラノロンに関連した影響は認められなかった．

10 及び 30 mg/kg/日投与群において，精巣重量の減少が認められた．剖検時肉眼検査及び病理組織学的検査にはいずれの用量においてもズラノロンによる影響は認められなかった．

ズラノロンの曝露量 (AUC_{last} 及び C_{max}) は，雌雄共に 3～30 mg/kg/日の用量間で用量比又は用量比以下で増加した．生後 7 日及び 20 日におけるズラノロンの曝露量に雌雄間で顕著な差はなかった．しかし，生後 34/35 日では，雌の AUC_{last} は雄と比較して約 3.5～6.4 倍高い結果となり，成熟ラットを用いた過去のズラノロン試験の結果と一致していた．雌雄共に，全ての投与量及び評価日において顕著な曝露量の蓄積は認められなかったが，雄においては生後 34/35 日の AUC_{last} 及び C_{max} は，全ての投与群で，生後 7 日及び生後 20 日の値と比較して低かった．幼若ラットにおけるズラノロンの曝露量を表 2.6.6.6-17 に示す．

結論として，ズラノロンを 3，10 又は 30 mg/kg/日の用量で生後 7 日齢の児動物に 28 日間反

復経口投与したところ，30 mg/kg/日投与群では死亡率増加が認められ，10 及び 30 mg/kg/日投与群では投与期間を通じて体重及び体重増加量の減少が認められた．以上の結果から，幼若動物における NOAEL は雌雄共に 3 mg/kg/日と判断した．その他，10 及び 30 mg/kg/日投与群の雄及び全用量の雌において，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が，程度及び発現頻度に用量依存性を伴って認められた．

表 2.6.6.6-17 幼若ラットに反復経口投与後の血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	Sex	AUC_{last} (ng·hr/mL)			C_{max} (ng/mL)			T_{max} (hr)		
		PND 7	PND 20	PND 34/35	PND 7	PND 20	PND 34/35	PND 7	PND 20	PND 34/35
3	Male	1890	1300	506	201	162	109	6	1	3
10		6150	4870	1580	727	786	340	3	3	3
30[a]		5160	8270	3550	571	1010	473	6	1	3
3	Female	1830	2110	3240	182	314	291	6	1	3
10		6900	5240	8510	769	768	808	3	3	3
30[a]		8280	9550	12 600	764	1130	1040	6	1	6

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); PND = postnatal day; T_{max} = time of maximum plasma concentration.
a Combined values for 30 mg/kg/day Group 12 and Group 13.

その他，成熟ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験 (2.6.6.3.3 項参照) 及び 26 週間反復経口投与毒性試験 (2.6.6.3.4 項参照) 並びに雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 (2.6.6.6.1 項参照) において，高用量群 (雄：30 mg/kg/日，雌：5～10 mg/kg/日) の雌雄で死亡又は瀕死が認められたが，いずれも 1 又は 2 例と発現頻度が低く，これらの用量を投与した場合に死亡/瀕死が再現するかは不明であった．

以上の結果から，続く本試験では，著しい頻度の死亡/瀕死例はみられないが，中等度までの鎮静の発現が見込まれる 30 mg/kg/日を高用量に設定した．下位用量は，薬理作用に関連した鎮静及び NOAEL が期待できる用量として 3 又は 10 mg/kg/日を設定した．ただし，雌ラットについては成熟雌ラットにおける忍容性を考慮し，生後 36 日から全投与量を雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験で設定したのと同じ用量 (1，3 又は 10 mg/kg/日) にそれぞれ減量することとした．

(2) 試験方法及び成績

生後 22～71 日の Sprague Dawley 系ラットに PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液を用いて調製したズラノロン投与液を 3，10 又は 30 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回反復経口投与し，幼若ラットにおける毒性を評価した (4.2.3.5-09)．雌ラットについては，生後 36 日から 1，3 又は 10 mg/kg/日の用量に減量した (表 2.6.6.6-18)．投与期間終了後に，約 6 週間の休薬期間を設け，毒性変化の回復性を検討する休薬群も設定した．生殖機能評価群には，同居 (第 1～3 群) 開始の約 5 週間前から妊娠 13 日の剖検時まで，また雄については生後 133 日の剖検時まで無投与期間を設けた．

この試験では，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，性成熟観察，性周期観察，交配並びに

受胎能検査 (休薬期間中のみ)，神経行動学的評価 (自発運動測定，音に対する驚愕反応検査及び Morris 水迷路検査)，眼科学的検査，血液学的検査及び血液生化学的検査，剖検時肉眼検査，骨長及び骨密度評価 (投与期間のみ)，器官重量測定及び病理組織学的検査に基づき，毒性を評価した．

表 2.6.6.6-18 幼若ラット (投与開始時生後 22 日) における反復経口投与毒性試験の群構成

Group Number	Treatment	Dose Level (mg/kg/day) [a]	Number of Animals (in Main/Recovery [b]/Reproductive/TK studies)
Males			
1	Vehicle	0	63 (10/20/21/12)
2	Zuranolone	3	81 (10/20/21/30)
3	Zuranolone	10	81 (10/20/21/30)
4	Zuranolone	30	81 (14 [c]/20 [c]/17 [c]/30)
Females			
1	Vehicle	0	63 (10/20/21/12)
2	Zuranolone	3 / 1	81 (10/20/21/30)
3	Zuranolone	10 / 3	81 (10/20/21/30)
4	Zuranolone	30 / 10	81 (13 [c]/30 [c]/8 [c]/30)

PND = postnatal day.
a The dose levels in female animals were reduced to 1, 3, or 10 mg/kg/day from PND 36 through scheduled euthanasia.
b A part of animals dosed on 10 mg/kg/day in recovery study were also utilized for PND 71 toxicokinetic blood sample collections due to unexpected mortality on this dose level.
c Due to unexpected mortality, animals in reproductive study were reassigned to main or recovery studies to get the appropriate number of animals for each desired endpoint. Due to the low number of remaining females dosed on 10 mg/kg/day in reproductive study, reproductive assessments were not recorded for this group.

30 mg/kg/日投与群の雄 12 例が投与後 4 日 (生後 25 日) までに死亡又は瀕死のため安楽殺に至ったが，生後 26 日以降にズラノロンと関連のある死亡は発生しなかった．

同用量の雌では，投与 14 日 (生後 22～35 日) までに，24 例が死亡又は瀕死のために安楽殺に至った．10 mg/kg/日投与群の雌 1 例についても投与 13 日 (生後 34 日) に瀕死のため安楽殺された．投与量の減量後にズラノロンに関連する死亡は認められなかった．

全用量で，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が一過性に用量依存的な程度及び発現頻度で認められた．重度の鎮静は生後 22～31 日に 30 mg/kg/日投与群のみで認められた．10 mg/kg/日投与群では生後 22～35 日に，30 mg/kg/日投与群では生後 22～53 日に，30/10 mg/kg/日投与群では生後 22～67 日に中等度の鎮静が認められた．3 mg/kg/日投与群ではほとんどの雄で生後 22～33 日，雌の全例で生後 22～35 日に軽度の鎮静が認められ，10 mg/kg/日以上の投与群では，全例で投与期間を通じて認められた．

30/10 mg/kg/日投与群の雌では生後 51～55 日に歩行失調が認められた．30 mg/kg/日投与群及び 30/10 mg/kg/日投与群の雌雄各 3 例で生後 23～57 日に振戦が認められた．30 mg/kg/日及び 30/10 mg/kg/日投与群の雌雄各 3 又は 4 例で生後 22～51 日に浅呼吸及び/又は努力呼吸が認められた．10 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3/1 mg/kg/日以上の投与群の雌で呼吸音の異常が認められたが，雄の 10 mg/kg/日以下の投与群，雌の 10/3 mg/kg/日以下の投与群で認められた症状は低頻度であったことから毒性ではないと判断した．これらの一般状態の変化はいずれも中等度～重度の鎮静に関連していると考えられた．

30 mg/kg/日投与群の雄において，投与期間を通して体重増加量が減少し (対照群比: − 5% ～ − 6%)，投与期間終了後 (生後 78～92 日) にも体重増加量減少は持続した (対照群比: − 5% ～ − 6%)．30/10 mg/kg/日投与群の雌でも，30 mg/kg/日の用量でズラノロンを投与した時には体重及び体重増加量の減少が認められた．また，30 mg/kg/日投与群の雄及び 30/10 mg/kg/日投与群の雌で投与期間を通して摂餌量が減少し，その程度はそれぞれ対照群比 − 12%及び − 15%であった．

30/10 mg/kg/日投与群の雌において，膣開口日齢が遅延した (対照群：生後 32.5 日に対して生後 35.8 日)．

30 mg/kg/日投与群の雄では生後 54 ± 2 日に，自発運動量測定の指標である総微細行動回数の増加が認められた (対照群比: 1.39 倍)．30/10 mg/kg/日投与群の雌では生後 54 ± 2 日に，総歩行数の増加が認められた．10/3 及び 30/10 mg/kg/日投与群 (試験時点でそれぞれ 3 及び 10 mg/kg/日) の雌においても，総微細行動回数の増加が認められた．自発運動量に認められた影響はいずれも，休薬期間中には認められなかった．

いずれの用量においても，雄の性成熟観察 (包皮分離)，眼科学的検査，音刺激に対する驚愕反応及び馴化反応検査，神経行動学的評価，性周期観察，交尾能，授受胎能 (死亡により評価できなかった 30 mg/kg/日投与群の雄及び 30/10 mg/kg/日投与群の雌を除く)，骨長又は骨密度検査，血液学的検査，血液化学的検査，剖検時肉眼検査，器官重量測定又は病理組織学的検査の成績にズラノロンに関連する変化は認められなかった．

TK 解析では，雌雄共に検討した用量の範囲内で $AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} は用量比以下で増加し，た．生後 22 日の曝露量に性差は認められなかったが，生後 35 及び 71 日では雌の方が雄よりも高い曝露量であった (表 2.6.6.6-19)．

本試験では，30 mg/kg/日 (雌では生後 36 日以降に 10 mg/kg/日に減量) 投与群において，概ね投与 2 週間目 (生後 35 日) までに死亡及び歩行失調，振戦並びに異常な呼吸，浅呼吸及び/又は努力呼吸などの一般状態への影響が認められた．薬理作用の過剰な発現に起因した鎮静は，全用量で用量依存的に発生した．30 mg/kg/日投与群の雄及び 30/10 mg/kg/日投与群の雌で体重減少，体重増加量及び摂餌量の減少が認められ，同投与群の雌では膣開口日齢が遅延した．30 mg/kg/日投与群の雄及び 10/3 mg/kg/日以上の投与群の雌で自発運動量の増加が認められたが，本変化は休薬期間中には認められず，回復性を示した．以上のデータに基づき，生存性，一般状態，体重及び摂餌量，雌の性成熟，自発運動 (雄のみ) 及び生殖機能 (性周期，交尾能，受胎能) に対する NOAEL は，雄で 10 mg/kg/日，雌で 10/3 mg/kg/日と判断した．その他，血液検査項目，病理検査項目，雄の性成熟，眼科学的検査項目，音に対する驚愕反応並びに学習及び記憶能の NOAEL は，雄で 30 mg/kg/日及び雌で 30/10 mg/kg/日と判断した．雌の自発運動量に対する影響の NOAEL は 3/1 mg/kg/日と判断した．

表 2.6.6.6-19 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験における血漿中ズラノロンの平均トキシコキネティクスパラメータ

Dose Level (mg/kg/day)	Sex	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)			C_{max} (ng/mL)			T_{max} (hr)		
		PND 22	PND 35	PND 71	PND 22	PND 35	PND 71	PND 22	PND 35	PND 71
3	Male	1550	525	1690	317	135	271	2	1	2
10		3970	1720	3740	637	305	506	2	2	4
30		13 700	3340	4250	998	446	568	4	1	2
3 / 1	Female[a]	1210	3370	2610	277	349	240	2	2	2
10 / 3		7700	9510	5440	700	669	497	2	4	4
30 / 10		11 500	14 100	11 000	975	975	783	2	8	2

AUC_{0-t} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose ; C_{max} = maximum plasma concentration; hr = hour(s); PND = postnatal day; T_{max} = time of maximum plasma concentration.
a The dose levels in female animals were reduced to 1, 3, or 10 mg/kg/day from PND 36 through scheduled euthanasia.

2.6.6.6.7.2 幼若ラットにおけるズラノロンの神経変性に対する影響

評価資料 4.2.3.5-10

概要表 2.6.7.15.3

$GABA_A$ 受容体と相互作用する薬剤 (フェノバルビタール, ペントバルビタール, ジアゼパム, 及びクロナゼパム) を含め, GABA 受容体作動薬を生後 7 日目のラットに単回腹腔内投与すると, 投与後 24 時間の脳に広範なアポトーシス性神経変性が生じさせることが確認されており [1], GABA 受容体作動薬は出生後のラットに神経変性を引き起こす可能性が示唆されている. そこで, GABA 受容体作動薬による影響を受けやすいとされる脳発達の重要な段階 (ラットの出生後 0～14 日, ヒトでは妊娠第三期から生後数年に相当 [4]) にある生後 7 日齢のラットにズラノロンを単回経口投与し, ズラノロンによる幼若ラットへの神経変性作用の有無を評価した. 生後 7 日齢の雌雄 Sprague Dawley 系ラットの出生児 (雌雄各 10 例/群) に, 水 (対照), PVP-VA の 2% (w/v) DI 水溶液 (媒体対照), ズラノロンを 2.5 mg/kg 又は 7.5 mg/kg の用量で単回経口投与, 又は MK-801 (陽性対照) を 1 mg/kg の用量で単回腹腔内投与し, 一般状態観察及び体重測定を行った. 投与 24 時間後に脳を採取し, AmCuAg 染色を用いて変性/壊死により崩壊した神経細胞の細胞体及び細胞突起を評価した. ズラノロンの TK 評価を, 毒性評価群と同じ条件でズラノロンを投与したサテライト群 (各時点雌雄各 3 匹) を用いて実施した.

ズラノロン 7.5 mg/kg 投与群の雄 1 例で投与後約 6 時間にズラノロンに関連した死亡が認められた. 当該動物には, 投与後 2 時間に全身の蒼白/皮温低下及び努力呼吸, 投与後 4 時間に中等度の鎮静と活動性低下が認められた.

その他の一般状態の変化に関して, 2.5 mg/kg 投与群では投与後 2～4 時間に軽度の鎮静, 7.5 mg/kg 投与群では軽度～中等度の鎮静が認められ, 程度に用量依存性を伴っていた. また, 2.5 mg/kg 投与群では投与後 2 時間に 1 例のみで努力呼吸が認められた. 7.5 mg/kg 投与群では, 活動性低下, 努力呼吸及び又は全身の蒼白並びに/皮温低下が投与後 2 時間に認められ, このうち活動性低下は投与後 4 時間まで持続したが, 投与後 8 時間には回復した. MK-801 投与群では投与後 2～4 時間に軽度～中等度の鎮静及び活動性低下がみられ, 投与後 8 時間までに回復し

た.

ズラノロン 7.5 mg/kg 投与群において，媒体対照群と比べ体重増加量の減少がみられたが，絶対体重には差はみられなかった．MK-801 投与群では，媒体対照群と比べ体重増加量の減少並びに絶対体重の低値が認められた.

いずれの動物の脳においても剖検時に肉眼所見はみられなかった．病理組織学的所見として，水対照群及び媒体対照群では，当該日齢のラットで通常認められる程度の神経細胞の崩壊が認められた．陽性対照群では MK-801 投与の影響として，脳の複数領域で神経細胞崩壊の増加が認められた．ズラノロン 7.5 mg/kg 投与群では，海馬台のみで神経細胞崩壊が僅かに増加したが，影響が認められた領域は陽性対照群に比べ小さく，脳断面によって染色にばらつきがみられた．ズラノロン 2.5 mg/kg 投与群では，ズラノロンによる神経変性に対する影響は認められなかった.

AmCuAg 染色では非特異的な染色がよくみられる上に，発達段階の脳は可塑性が高く，生後 8 日目の脳における神経細胞のズラノロン投与による細胞死と生理的な神経細胞のアポトーシスの区別を評価することは難しいことを考慮すると，本試験において脳の一部の領域 (海馬台) に認められた程度の神経細胞崩壊の生物学的意義は不明であった.

TK 解析の結果，生後 7 日における $AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び C_{max} (雌雄併合) は，2.5 mg/kg でそれぞれ 1730 ng·hr/mL 及び 201 ng/mL，7.5 mg/kg でそれぞれ 6810 ng·hr/mL 及び 605 ng/mL であった.

2.6.6.7 局所刺激性試験

臨床適用経路における局所刺激性は反復経口投与毒性試験において評価したため，独立した局所刺激性試験は実施しなかった.

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

ラット (最長 26 週間) 又はイヌ (最長 39 週間) を用いた反復投与毒性試験において，抗原性を示す所見は認められなかったことから，独立した抗原性試験は実施しなかった.

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

ラット (最長 26 週間) 又はイヌ (最長 39 週間) を用いた反復投与毒性試験において，免疫毒性を示す所見は認められなかったことから，独立した免疫毒性試験は実施しなかった.

2.6.6.8.3 薬物乱用及び身体依存性に関する試験

ズラノロンの薬理作用は主に，ヒトにおいて薬物乱用リスクを有することが知られている γ-アミノ酪酸 A 型 ($GABA_A$) 受容体の PAM (モジュール 2.6.2 参照) を介して発現する [2, 3]. そこで，ズラノロンが乱用リスクや身体依存形成能を有するか否かを in vitro 及び in vivo 両試験で検討した (ヒトにおける薬物乱用や依存性に関する試験についてはモジュール 2.7.4 を参照).

In vitro 試験に関して，GLP 非適用下で in vitro 特異性試験 (4.2.1.2-01，4.2.1.2-02 及び 4.2.1.2-

04) を実施し，薬物乱用に関与することが知られている既知の分子ターゲットに対するズラノロンの結合能を検討した (2.6.2.3 項参照)．これらの標的には，受容体 (γ-アミノ酪酸 B 型受容体 [$GABA_B$]，オピオイド，カンナビノイド，ドパミン，グルタミン酸，セロトニン，シグマ，ムスカリン及びニコチン性アセチルコリン，アドレナリン作動性)，イオンチャネル ($GABA_A$，N-メチル-D-アスパラギン酸 [NMDA]，α-アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾールプロピオン酸 [AMPA]，カイニン酸，グリシン)，及びトランスポーター (γ-アミノ酪酸 [GABA]，ノルエピネフリン，ドパミン，セロトニン) が含まれていた．これらの試験を通じて，ズラノロンは 10 µmol/L (4096 ng/mL) の濃度で，(1) 主要な薬理学的標的である GABA 作動性 Cl チャネル (99% [4.2.1.2-01，4.2.1.2-02]) 及び (2) シグマ 2 受容体 (非選択的シグマ：87%及び 89% [それぞれ 4.2.1.2-01，4.2.1.2-02]；シグマ 2：85% [4.2.1.2-04]) の 2 種の分子ターゲットにおいてのみ，各放射性標識リガンドの結合を 50%以上阻害し，これらの阻害作用は再現性が認められた．

In vivo 試験に関して，雌雄ラットを用いたズラノロンの薬物乱用リスク及び身体依存性形成能を評価する試験を実施した．薬物弁別試験では，ズラノロンが，$GABA_A$ 受容体の PAM 作用を有するベンゾジアゼピン系薬物であるミダゾラムと同様の内受容性感覚 (自覚効果) を示すかを検討した．静脈内自己投与試験では，コカイン自己投与能を獲得したラットを用いてズラノロンの強化効果を評価した．身体依存性試験では，ズラノロンを 28 日間反復経口投与した後に自然休薬し，ズラノロンが退薬症候を誘発するかどうかを評価した．

2.6.6.8.3.1 雄性 Lister Hooded 系ラットにおける薬物弁別試験

評価資料 4.2.3.7-01

概要表 2.6.7.17.1

雄性ラットを用い，餌を強化子として用いた 2 レバー選択法による薬物弁別試験を実施し，ズラノロンがミダゾラムと同様の自覚効果を有するかどうかを検討した．

まず，雄性 Lister Hooded 系ラット 12 例にミダゾラム弁別能獲得のための訓練を実施した．一方はミダゾラム (1 mg/kg，腹腔内投与)，他方は媒体 (生理食塩水) でそれぞれ条件づけした 2 つのレバーを用い，正解側レバー選択時には餌報酬を与えることで，ミダゾラムと媒体の弁別を獲得させた．般化試験における強化スケジュールは固定比率 10 (FR10) を設定した．

ズラノロンの般化試験に先立ち，複数用量のミダゾラム (0.1，0.32，1 及び 3 mg/kg) をクロスオーバーデザインで評価し，ラットにおけるミダゾラム弁別能の獲得を確認した．ミダゾラム又は媒体は，セッション開始前 20 分にそれぞれ腹腔内投与した．般化試験ではいずれのレバーを選択した場合も餌報酬が受領できる条件で，総レバー押し回数に対するミダゾラム側レバー押し回数の割合 (ミダゾラム側レバーに対する反応率) を評価した．同時に，薬物投与による動物のレバー押し行動への影響を検討するために，試験時間中の総レバー押し回数も評価した．その結果，11 例中 10 例がミダゾラムと媒体を弁別可能なことを確認した．ミダゾラムは，1 及び 3 mg/kg の用量で訓練用量 (1 mg/kg) のミダゾラムに完全般化した (ミダゾラム側レバーに対する反応率 [群平均値] は各々100%及び 99.9%；図 2.6.6.8-1A)．いずれの用量のミダゾラム投与によっても，総レバー押し回数の減少は認められなかったが，1 mg/kg の用量では，媒体

投与時に比べて総レバー押し回数が有意に増加した (図 2.6.6.8-1B).

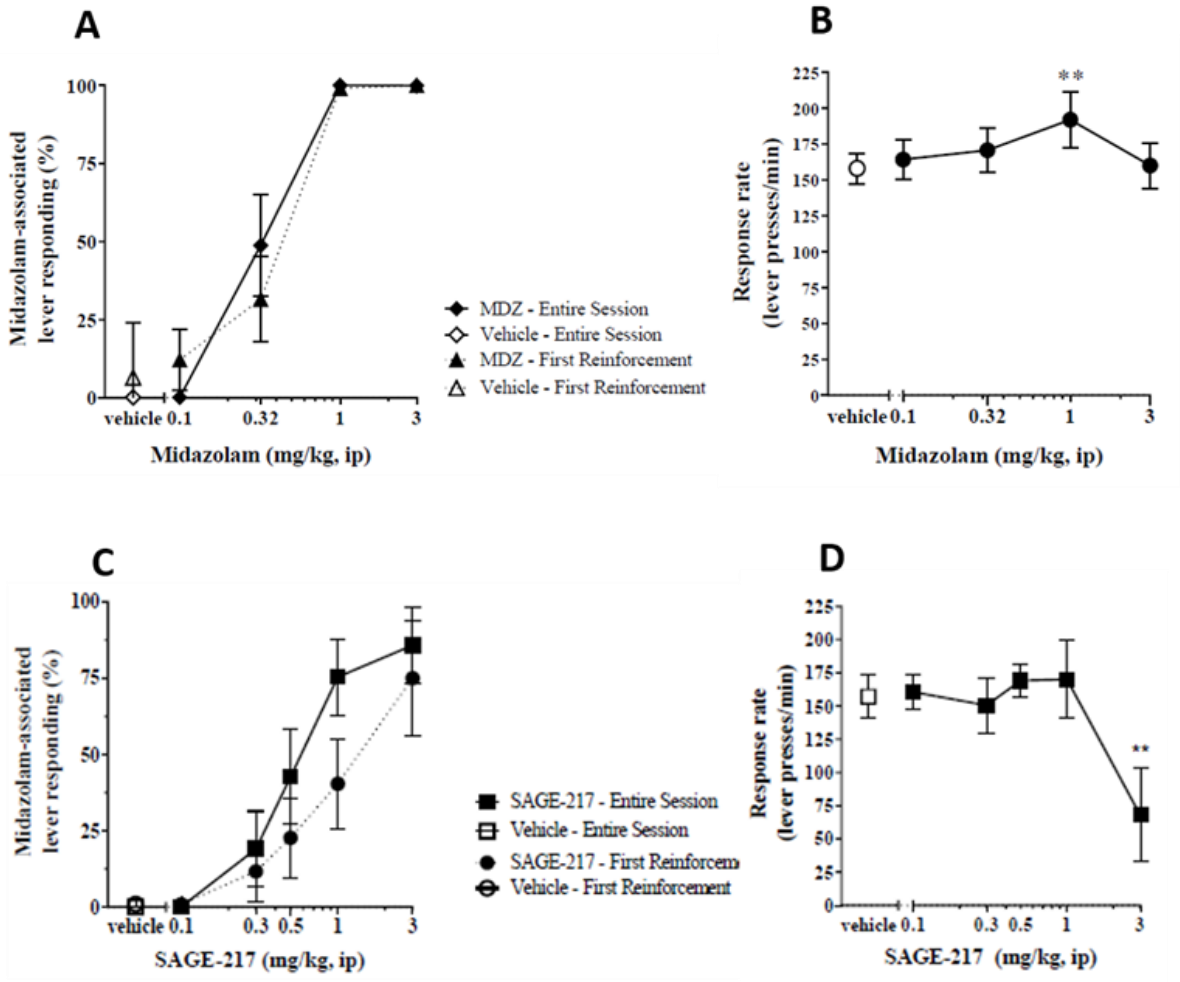
ズラノロンの般化試験は，ミダゾラム弁別能を確認した 10 例を用いて，ズラノロン (0.1, 0.3, 0.5 及び 1 mg/kg) がミダゾラムに般化するかを検討した. ズラノロンの媒体には 30% HPβCD を用い，ズラノロン又は媒体はセッション開始前 1 時間にそれぞれ腹腔内投与した．ズラノロンは，クロスオーバーデザインで 0.1～1 mg/kg の用量を評価した後，薬理作用の過剰な発現による鎮静によってレバー押し速度の低下が予想される 3 mg/kg の用量も評価した．ミダゾラム側レバーに対する反応率が 80%以上の場合にズラノロンはミダゾラムに完全般化したと判定し，20%～80%の場合には部分般化，20%未満の場合には般化しなかったと判定した.

その結果，媒体 (30% HPβCD) 及び 0.3 mg/kg の用量までのズラノロンを投与した動物は，主に媒体側レバーに反応し (ミダゾラム側レバーに対する反応率は 20%未満；図 2.6.6.8-1C)，媒体及び 0.3 mg/kg 以下の用量のズラノロンでは，ミダゾラムへの般化は認められなかった．一方, 0.5 及び 1 mg/kg の用量では, ズラノロンはミダゾラムに部分般化した (ミダゾラム側レバーに対する反応率 [群平均値] はそれぞれ 42.7%及び 75.4%；図 2.6.6.8-1C). さらに 3 mg/kg の用量では，ミダゾラムに対して完全般化 (ミダゾラム側レバーに対する反応率 [群平均値] は 85.8%) した. 3 mg/kg の用量では, レバー押し速度の低下も認められた (媒体投与時及び 3 mg/kg 投与時のレバー押し回数はそれぞれ 157.2 及び 67.9 回/分；図 2.6.6.8-1C，D). 10 例中 5 例でレバー押し行動が顕著に抑制されたため (総レバー押し回数 10 回未満)，これらの動物のデータは評価に含めなかった．また，3 mg/kg の用量では，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現による鎮静が認められた.

サテライト群 (N=12) において，ズラノロン (0.1，0.3，0.5，1 及び 3 mg/kg，腹腔内投与) の血漿中薬物動態 (PK) プロファイルを評価した．ズラノロンの T_{max} は，評価した全ての用量で投与後 1～4 時間であった．C_{max} は用量比で増加した．ズラノロン投与後 1 時間に般化試験を開始し，各試験は約 30 分間実施したことから，般化試験は血漿中曝露量が概ね C_{max} となる時間帯で実施されたと考えられた．ズラノロンを 0.1，0.3，0.5 及び 1 mg/kg の用量で投与したところ，C_{max} はそれぞれ 10.3，65.8，99.2 及び 172 ng/mL となった．ズラノロンを 3 mg/kg で投与したときの C_{max} は 219 ng/mL であった.

結論として，ズラノロンはミダゾラム弁別能を獲得した雄性ラットにおいて用量依存的にミダゾラムに般化し，3 mg/kg の用量ではミダゾラムに完全般化したことから，スケジュール IV に指定されるベンゾジアゼピン系薬物であるミダゾラムと同様の自覚効果を有することが示唆された．ズラノロンがミダゾラムに完全般化した 3 mg/kg の用量では，鎮静が認められ，レバー押し速度の低下が認められた.

図 2.6.6.8-1 雄性ラットを用いた薬物弁別試験におけるズラノロンのミダゾラムに対する般化



Top: Midazolam dose response curve for percent responding on the midazolam-associated lever (A) and response rate (B) in male rats trained to discriminate 1 mg/kg midazolam from saline. **Bottom**: SAGE-217 dose response curve for percent responding on the midazolam-associated lever (C) and response rate (D) in the same midazolam-trained male rats. All data are mean±SEM. **p<0.01 versus vehicle.

2.6.6.8.3.2 雌性 Lister Hooded 系ラットにおける薬物弁別試験

評価資料 4.2.3.7-02

概要表 2.6.7.17.1

雌性ラットを用い，餌を強化子として用いた 2 レバー選択法による薬物弁別試験を実施し，ズラノロンがミダゾラムと同様の自覚効果を有するかどうかを検討した．

まず，雌性 Lister Hooded 系ラット 12 例にミダゾラム弁別能獲得のための訓練を施した．一方はミダゾラム (1 mg/kg, 腹腔内投与), 他方は媒体 (生理食塩水) でそれぞれ条件づけした 2 つのレバーを用い，正解側レバー選択時には餌報酬を与えることで，ミダゾラムと媒体の弁別を

獲得させた．般化試験における強化スケジュールは FR10 を設定した．

ズラノロンの般化試験に先立って，複数用量のミダゾラム (0.1，0.32，1 及び 3 mg/kg) をクロスオーバーデザインで評価し，ラットにおけるミダゾラム弁別能の獲得を確認した．ミダゾラム又は媒体は，セッション開始前 20 分にそれぞれ腹腔内投与した．般化試験ではいずれのレバーを選択した場合も餌報酬が受領できる条件で，総レバー押し回数に対するミダゾラム側レバー押し回数の割合 (ミダゾラム側レバーに対する反応率) を評価した．同時に，薬物投与による動物のレバー押し行動への影響を検討するために，試験時間中の総レバー押し回数も評価した．その結果，全例がミダゾラムと媒体を弁別可能なことを確認した．ミダゾラムは，1 及び 3 mg/kg の用量で訓練用量 (1 mg/kg) のミダゾラムに完全般化した (ミダゾラム側レバーに対する反応率 [群平均値] は各々99.7%及び 99.9%；図 2.6.6.8-2A)．最高用量までレバー押し速度の低下は認められなかったが，1 mg/kg 投与時に，媒体投与時に比べてレバー押し速度が有意に上昇した (図 2.6.6.8-2B)．

ズラノロンの般化試験は，ミダゾラム弁別能が確認された 12 例を用いて，ズラノロン (0.1, 0.3, 0.5 及び 1 mg/kg) がミダゾラムに般化するかを評価した．ズラノロンの媒体には 30% HPβCD を用い，ズラノロン又は媒体はセッション開始前 1 時間に腹腔内投与した．なお，0.1～1 mg/kg の用量をクロスオーバーデザイン (N=12) で評価した後，薬理作用の過剰な発現による鎮静によってレバー押し速度の低下が予想される 2 mg/kg の用量症も評価した．ミダゾラム側レバーに対する反応率が 80%以上の場合にズラノロンはミダゾラムに完全般化したと判定し，20%～80%の場合には部分般化，20%未満の場合には般化しなかったと判定した．

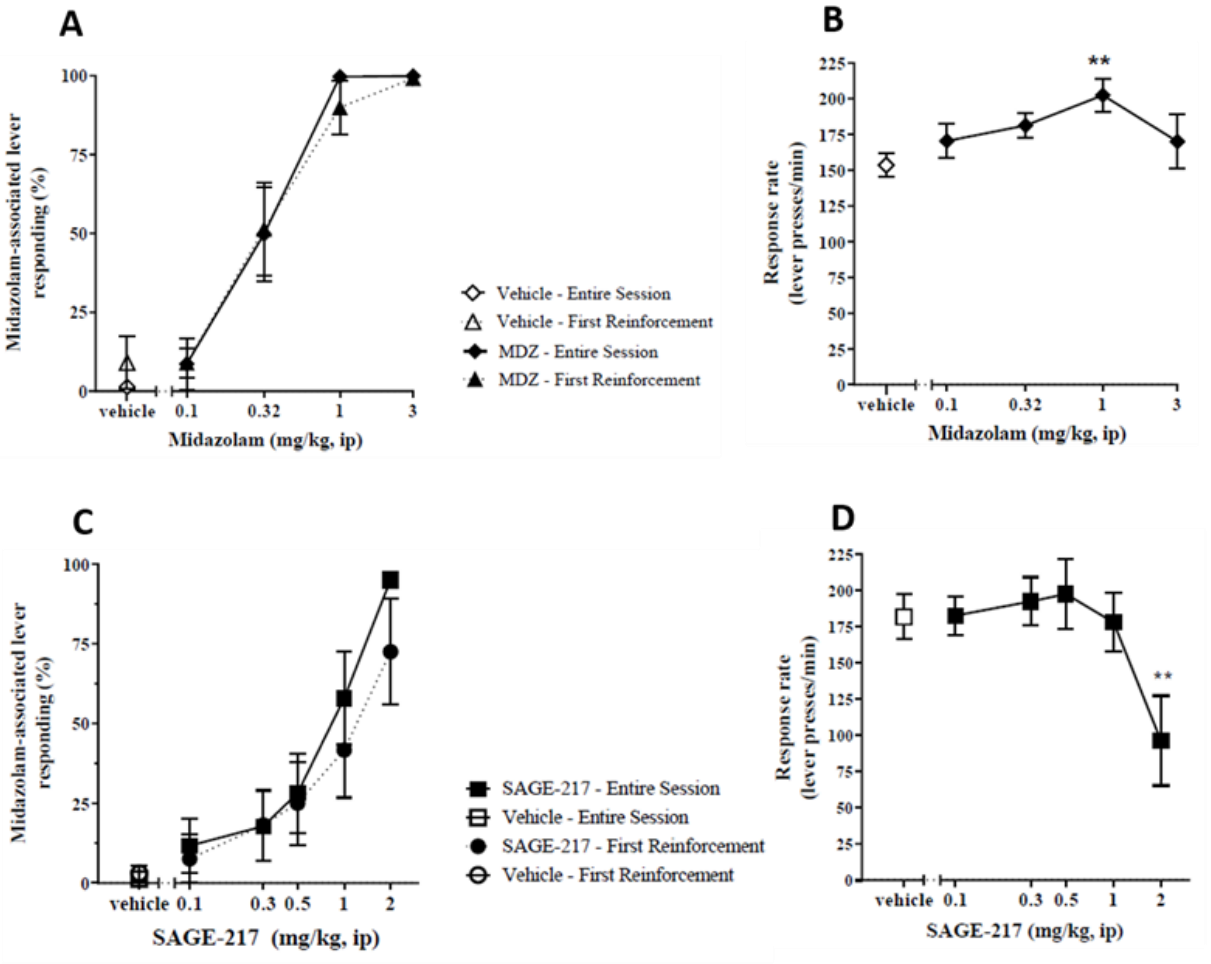
その結果，媒体 (30% HPβCD)，0.3 mg/kg の用量までのズラノロンを投与した動物は，主に媒体側レバーに反応し (ミダゾラム側レバーに対する反応率 [群平均値] は 20%未満；図 2.6.6.8-2C)，ミダゾラムへの般化は認められなかった．一方，0.5 及び 1 mg/kg の用量では，ズラノロンはミダゾラムに部分般化した (ミダゾラム側レバーに対する反応率 [群平均値] はそれぞれ 28.2%及び 57.9%；図 2.6.6.8-2C)．ズラノロンを 2 mg/kg の用量で投与したラットは，ミダゾラムに対して完全般化 (ミダゾラム側レバーに対する反応率 [群平均値] は 95.1%；図 2.6.6.8-2C) したが，レバー押し速度の減少を伴っていた (媒体投与時には 181.7 回/分のレバー押し，2 mg/kg 投与時では 95.9 回/分のレバー押し；図 2.6.6.8-2C，D)．なお，12 例中 5 例ではレバー押し行動が顕著に抑制されたため (総レバー押し回数 10 回未満)，これらの動物のデータは評価に含めなかった．また，2 mg/kg の用量では，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現による鎮静が認められた．

サテライト群 (N=12) の動物において，ズラノロン (0.1，0.3，0.5，1 及び 2 mg/kg，腹腔内投与) の血漿中 PK プロファイルを評価した．評価した全ての用量で T_{max} は投与後 2 時間であった．ズラノロン投与後 1 時間に般化試験を開始し，各試験は約 30 分間実施したことから，般化試験は血漿中曝露量が概ね C_{max} となる時間帯で実施されたと考えられた．ズラノロンを 0.1，0.3，0.5 及び 1 mg/kg の用量で投与したところ，C_{max} は，それぞれ 43.5，56.9，178 及び 480 ng/mL となった．ズラノロンを 2 mg/kg で投与したときの C_{max} は 499 ng/mL であった．

結論として，ズラノロンはミダゾラム弁別能を獲得した雌性ラットにおいて用量依存的にミダゾラムに般化し，2 mg/kg の用量ではミダゾラムに完全般化したことから，スケジュール IV

に指定されるベンゾジアゼピン系薬物であるミダゾラムと同様の自覚効果を有することが示唆された．ズラノロンがミダゾラムに完全般化した 2 mg/kg の用量では，鎮静が認められ，レバー押し速度の低下が認められた．

図 2.6.6.8-2 雌性ラットを用いた薬物弁別試験におけるズラノロンのミダゾラムに対する般化



Top: Midazolam dose response curve for percent responding on the midazolam-associated lever (A) and response rate (B) in female rats trained to discriminate 1 mg/kg midazolam from saline. **Bottom**: SAGE-217 dose response curve for percent responding on the midazolam-associated lever (C) and response rate (D) in the same midazolam-trained female rats. All data are mean±SEM. **p<0.01 versus vehicle.

2.6.6.8.3.3 雌性 Lister Hooded 系ラットを用いた静脈内自己投与試験

評価資料 4.2.3.7-05

概要表 2.6.7.17.1

コカイン静脈内自己投与能を獲得した雌性 Lister Hooded 系ラットのコカイン自己投与行動が，薬液をコカインからズラノロンに置換した際に維持されるかどうかを観察し，ズラノロンの強化効果を評価した．

大腿静脈内にカテーテルを留置したラットに対し，レバー押しによってコカイン (2.5 mg/mL, 約 0.80 mg/kg/注入) を静脈内自己投与するように訓練した．強化スケジュールは FR1 から開始し，最終的には FR10 で動物が自己投与を行うように訓練した．ラットにおいてコカイン自己投与行動が安定して認められることを確認した後，強化子 (コカイン) 非存在下では自己投与行動が消失することを確認するため，薬液をコカインから生理食塩水に切り替えた条件で自己投与試験を行った (消失期)．消失期において自己投与行動の消失を確認した後，ラットに再びコカインを曝露させ，強化子に対して安定した自己投与行動を示すことを確認した (再燃期)．

これらのコカイン自己投与訓練を完了した 41 例を，ズラノロン (0.01，0.03 及び 0.05 mg/kg/注入)，媒体 (30% HPβCD)，ミダゾラム (比較対照薬，0.016 mg/kg/注入) 又はコカイン (陽性対照薬，0.80 mg/kg/注入) 投与群に群分けし (N=8～9 例/群)，コカインから各薬剤に薬液を置換することで各々の薬剤の強化効果を 9 セッションにわたって評価した (薬剤置換期)．薬剤置換期終了後，陽性対照薬であるコカインに対する自己投与行動が維持されていることを確認するために，再び薬液をコカインに置換し，自己投与行動を評価した (再曝露期)．薬剤置換期のコカイン群では持続的で安定した自己投与行動が認められ (薬物置換期中の群平均自己投与回数 23～25 回)，再燃期と同程度の自己投与回数又は active レバー押し回数が認められた．薬剤置換期及び再曝露期まで終了したコカイン群の動物は，媒体，ズラノロン及びミダゾラム群の動物数が同程度となるように，他の群 (媒体，ズラノロン又はミダゾラム) に再分配された．

媒体群及びズラノロン群は，ほとんどの動物において薬物置換期の自己投与行動が消失した．媒体群の自己投与回数及び active レバー押し回数は，薬物置換期全体又はその大部分 (2 回目の薬物置換期以降) で再燃期にみられたコカイン自己投与回数及び active レバー押し回数よりも有意に少なく，薬剤置換期中のコカイン群と比べても有意に少なかった (図 2.6.6.8-3A，B)．ズラノロン群の薬剤置換期中の自己投与回数及び active レバー押し回数に媒体群との差は認められず，ズラノロン群の大多数の動物には最小レベルの自己投与及びレバー押し行動しか認められなかった．

ミダゾラム群は，薬物置換期の 7 回目のセッションまで，その自己投与回数及び active レバー押し回数はいずれも，コカイン群と比較して有意に少なかった．しかし，8 回目及び 9 回目のセッションでは，コカイン群と同様の反応を示し (8 回目のセッション：ミダゾラム群平均自己投与回数 18.5 回及び active レバー押し回数 196.9 回 vs.コカイン群平均自己投与回数 25.0 回及び active レバー押し回数 266.3 回)，薬物置換期の終盤にかけて，ラットがミダゾラム自己投与能を獲得したことが示唆された (図 2.6.6.8-3)．媒体群との比較では，薬物置換期の大半において，ミダゾラム群と媒体群の間で反応に差は認められなかったが，8 回目のセッションでは，ミダゾラム群の方が媒体群と比較して自己投与回数及び active レバー押し回数が多かった．

薬物置換期全体のズラノロン群の反応はミダゾラム群と概ね類似していたが，薬物置換期中の 5 回目 (0.03 mg/kg/注入のズラノロン群)，8 回目 (全ズラノロン群) 及び 9 回目 (0.01 mg/kg/注入のズラノロン群) のセッションの自己投与回数及び active レバー押し回数はミダゾラム群と比較して少なかった．

いずれの投与群の動物に関しても，コカイン再曝露期において，コカインに対する自己投与行動が認められたことから，薬物置換中においても強化子の自己投与能は維持されていたこと

が示された.

ズラノロン群ではセッション終了時に，一部の動物 (0.03 mg/kg/注入群：8 例中 2 例，0.05- mg/kg/注入群：8 例中 3 例) に不安定歩行，自発運動の低下又は亢進及び鎮静が散見されたが，いずれも軽度又は中等度であった．ミダゾラム群ではセッション終了時にこれらの一般状態への影響は認められなかった.

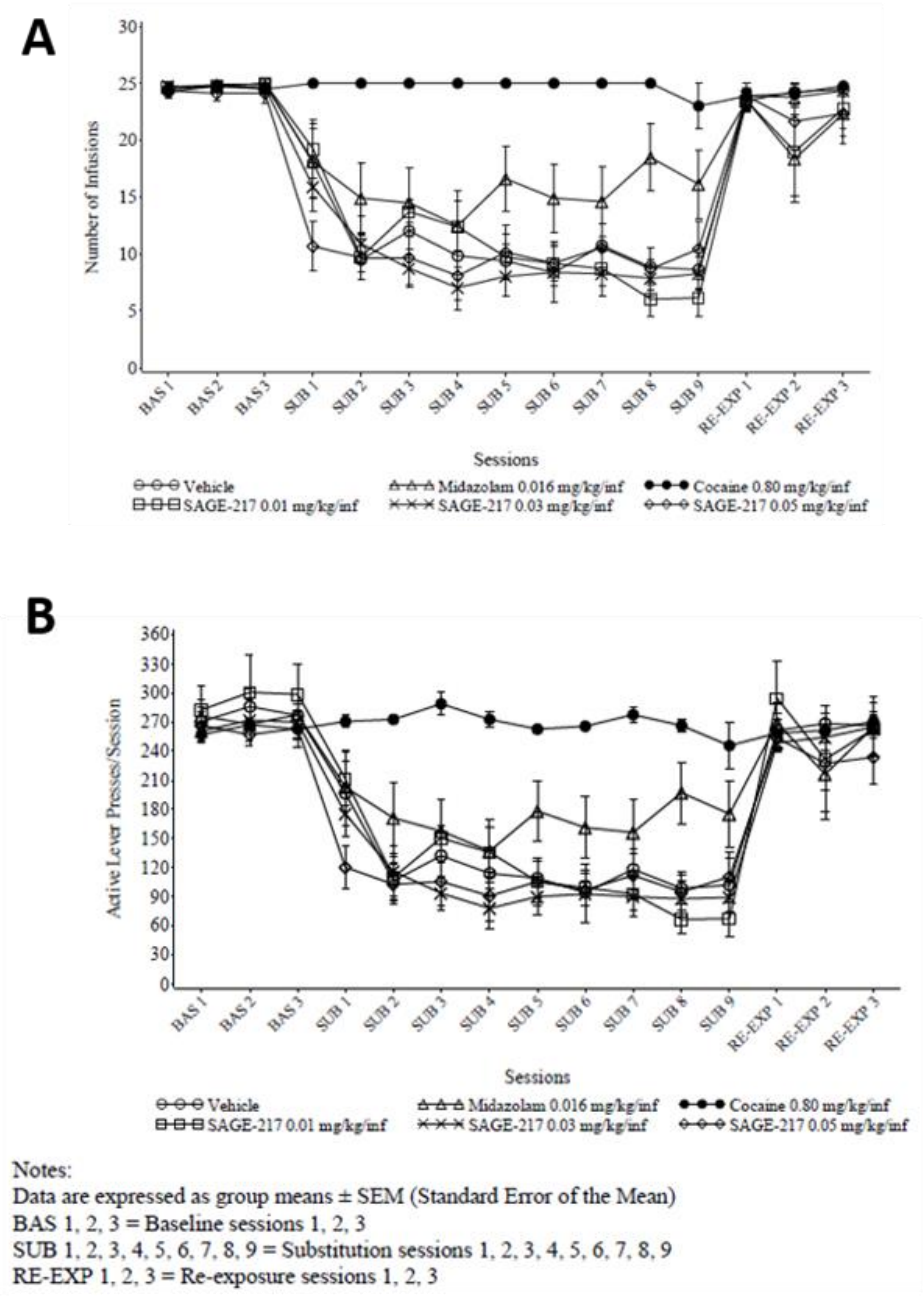
薬物置換期の初回及び最終セッション (それぞれ置換第 1 日及び置換第 2 日と定義) 終了時にズラノロン及びミダゾラムの血漿中濃度を測定した．置換第 1 日のズラノロン投与群 (0.01，0.03 及び 0.05 mg/kg/注入) の平均血漿中濃度は，それぞれ 108.2，261.4 及び 302.6 ng/mL であった．置換第 2 日 (薬物置換期における 9 回目のセッション) におけるズラノロン投与群 (0.01，0.03 及び 0.05 mg/kg/注入) の平均血漿中濃度はそれぞれ 38.6，107.9 及び 323.1 ng/mL であった. ミダゾラム群の平均血漿中濃度は, 置換第 1 日及び置換第 2 日でそれぞれ 6.3 及び 12.5 ng/mL であった.

これらの結果から，ズラノロンは，コカイン自己投与能を獲得したラットにおいて 0.01～0.05 mg/kg/注入の用量で自己投与されないことが示された．本試験で評価した用量域における置換第 1 日の血漿中濃度は, 母集団薬物動態解析から得られた本薬の申請用法用量である 30 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態での C_{max} (67.2 ng/mL，中央値) の 1.6～4.5 倍であり，ズラノロンは，治療曝露量 (67.2 ng/mL) 以上の血漿中濃度においても，ラットにおいてほとんど又は全く強化効果を示さないことが示唆された．ズラノロンを 0.03 mg/kg/注入以上の用量で評価した際には，セッション終了時に一部の動物において，不安定歩行，自発運動の変化及び鎮静が認められ，これらの用量で認められたレバー押し回数の減少に影響した可能性が示唆された.

一方，比較対照薬であるミダゾラムについて，その自己投与回数及び active レバー押し回数は，陽性対照薬であるコカインと比較して薬剤置換期の初期には有意な低値を示したが，最後 2 回のセッションではコカイン群と同程度の反応が認められた．コカイン自己投与能獲得ラットにおいてミダゾラムは正の強化子として作用すること，及び本試験条件は $GABA_A$ 受容体の PAM 作用を介した強化効果を高い感度で検出できることが示された.

結論として，ズラノロンは強化効果をほとんど又は全く示さないことが示唆された.

図 2.6.6.8-3 コカイン自己投与能獲得雌性ラットにおけるズラノロンの自己投与行動



Notes:
Data are expressed as group means ± SEM (Standard Error of the Mean)
BAS 1, 2, 3 = Baseline sessions 1, 2, 3
SUB 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 = Substitution sessions 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9
RE-EXP 1, 2, 3 = Re-exposure sessions 1, 2, 3

Top: Female rats trained to self-administer cocaine underwent a substitution phase (9 days), where cocaine was substituted for vehicle (30% HPBCD), SAGE-217, midazolam or cocaine. (A) Number of infusions per session (B) Active lever presses per session. All data are mean±SEM.

2.6.6.8.3.4 雄性 Lister Hooded 系ラットを用いた身体依存性試験

評価資料 4.2.3.7-03
概要表 2.6.7.17.1

雄性 Lister Hooded 系ラット (各群 10 例) に媒体 (PVP-VA の 2% [w/v] DI 水溶液), ズラノロン (投与量 : 2, 6 及び 20 mg/kg/日) を 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した. 陽性対照薬として, ベンゾジアゼピン系薬物である CDP (投与量 : 200 mg/kg/日まで漸増投与) を約 8 時間間隔で 1 日 2 回 28 日間反復経口投与した. 28 日間の反復投与後に 7 日間の休薬期間を設けた.

退薬症候は, 投与期間中及び休薬期間中の生理学的パラメータ (体重, 摂餌量及び体温), 自発運動量 (LMA) パラメータ, 神経行動学的所見及び一般状態への影響を指標に評価した.

投与期間における評価

投与前の評価において, 全ての投与群で生理学的パラメータ, LMA パラメータ又は神経行動学的所見に媒体投与群との差は認められなかった.

CDP 投与群において, 摂餌量減少を伴う軽微な体重減少が投与期間終盤の数日間 (投与 24 日目及び投与 26～28 日目) に認められた. LMA 評価では, 総移動距離の増加が投与 14 及び 28 日目に認められた. 神経行動学的観察では, 投与期間終了に近付くにつれ尾の位置の上昇, 筋緊張の低下, 覚醒時間及び咀嚼行動の増加などの神経行動学的所見が認められた.

ズラノロンについて, 20 mg/kg/日投与群において, 投与期間を通じて体温が媒体投与群に比して統計学的に有意な低値を示した (媒体投与群より 0.3℃～1.4℃低値). LMA 評価では, 20 mg/kg/日投与群において, 投与 1 日目に媒体投与群と比較して有意な総移動距離及びアリーナ周縁部滞在時間の減少が認められ, 6 mg/kg/日以上の投与群で垂直活動, 常同行動及び立ち上がり時間の用量依存的な減少が認められた. 投与 14 及び 28 日目においても, アリーナ周縁部滞在時間は, 6 mg/kg/日以上の投与群で減少した. 6 mg/kg/日投与群のほとんどの動物において, $GABA_A$ 受容体 PAM を介した薬理作用に関連した作用と考えられる中等度の鎮静及び活動性低下が認められた. 20 mg/kg/日投与群では, 刺激に対する反応性低下, 不安定歩行の程度及び頻度の増加, 平伏姿勢又は側臥位並びに運動協調能の異常を伴うより強い鎮静が認められた.

ズラノロンの 2, 6 及び 20 mg/kg/日投与群における投与 28 日目の AUC_{last} の平均値はそれぞれ 1140, 2510 及び 4780 ng· hr/mL, C_{max} の平均値はそれぞれ 163, 278 及び 410 ng/mL であった. 各評価用量におけるズラノロンの C_{max} は, 母集団薬物動態解析より得られた本薬の申請用法用量である 30 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態での C_{max} (67.2 ng/mL) の 2.4, 4.1 及び 6.1 倍であり, 依存性ガイドライン [5, 6] で推奨されるとおり, 本試験で評価したズラノロンの投与量は治療曝露量と同程度～治療曝露量を数倍上回る曝露に達することが示された.

休薬期間における評価

CDP 投与群において, 休薬により, ベンゾジアゼピン系薬物で認められる退薬症候と一致する症状が誘発された [7-9]. 例えば, CDP 投与群は, 媒体投与群と比較して投与 30 日目～投与 34 日目の体重が有意な低値を示し, LMA 評価において, 投与 29 日目に総移動距離及び常同行

動時間の増加が認められた他，神経行動学的観察では，咀嚼行動の増加，立毛，引っ掻き行動及び排便減少などが認められた．

ズラノロンの休薬により，6 mg/kg/日以上の投与群では，投与 30 日目にのみ媒体投与群と比較して摂餌量の軽度な減少が認められたが，体重の変化は認められず，その他の検査項目においても毒性学的に意義のある変化は認められなかった．

結論として，本試験条件下において，CDP は自然休薬によりベンゾジアゼピン系薬物で認められる典型的な退薬症候を雄性ラットに誘発した一方，ズラノロンは血漿中濃度の C_{max} が 410 ng/mL 以下の曝露条件では，退薬症候を誘発しないことが示唆された．

2.6.6.8.3.5 雌性 Lister Hooded 系ラットを用いた身体依存性試験

評価資料 4.2.3.7-04

概要表 2.6.7.17.1

雌性 Lister Hooded 系ラット (各群 10 例) に媒体 (PVP-VA の 2% [w/v] DI 水溶液)，ズラノロン (投与量：0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日) を 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した．陽性対照薬として，雌性 Lister Hooded 系ラット (各群 9 例) に CDP (投与量：200 mg/kg/日まで漸増投与) を約 8 時間間隔で 1 日 2 回 28 日間反復経口投与した．28 日間の反復投与後に 7 日間の休薬期間を設けた．

退薬症候は，投与期間中及び休薬期間中の生理学的パラメータ (体重，摂餌量及び体温)，LMA パラメータ及び神経行動学的所見並びに一般状態への影響を指標に評価した．

投与期間における評価

投与前のベースライン評価において，生理学的パラメータ，LMA パラメータ又は神経行動学的所見に媒体投与群との差は認められなかった．

CDP 投与群において，投与期間を通して体重及び摂餌量の低値が認められた．LMA 評価では，投与 14 日目に総移動距離の有意な増加及び投与 28 日目に垂直活動の減少及び常同行動時間の増加並びに投与 1 日目及び投与 28 日目の立ち上がり回数の減少が認められた．その他，投与期間終盤にかけて，身体及び尾の位置の上昇，流涎及び咀嚼行動の増加並びに異常行動 (鼻をこする行動，飛び跳ね，アリーナの床を舐める行動) などの神経行動学的所見が認められた．

ズラノロン投与群では，5 mg/kg/日の用量において，投与期間を通じて体温の有意な低値が認められた (媒体投与群より 0.9℃～2.1℃低値)．5 mg/kg/日の用量では他に，投与 1 日目に水平活動 (総移動距離，常同行動に費やす時間及びアリーナ周縁部滞在時間) の有意な減少が認められた．また，1.5 及び 5 mg/kg/日の用量において，投与 1 日目の垂直活動及び立ち上がり回数の用量依存的な減少も認められた．5 mg/kg/日投与群では，投与 14 及び 28 日目に常同行動の時間が有意に長かったが，アリーナ周縁部にいる時間は短かった．5 mg/kg/日投与群の全ての動物は自発運動の低下，協調運動の欠如，不安定歩行，速い呼吸を示し，動くことを嫌がった．特に投与第 1 週には，複数の動物が時折平伏姿勢となった．これらの一般状態への影響は，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現によると考えられた．

ズラノロンの 0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日投与群における投与 28 日目の AUC_{last} の平均値はそれぞれ 1340，3040 及び 7770 ng· hr/mL，C_{max} の平均値はそれぞれ 137，325 及び 696 ng/mL であった．各評価用量におけるズラノロンの C_{max} は，母集団薬物動態解析で得られた本薬の申請用法用量用法である 30 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態における C_{max} (67.2 ng/mL) の 2.0，4.8 及び 10.3 倍であり，依存性ガイドライン [5, 6] で推奨されるとおり，本試験で評価したズラノロンの投与量は治療曝露量又は治療曝露量を数倍上回る曝露に達することが示された.

休薬期間における評価

CDP 投与群において，休薬初日 (投与 29 日目) からベンゾジアゼピン系薬物で認められる退薬症候と一致する症状 [7-9] が誘発され，いくつかの退薬症候は休薬期間全体を通して認められ，休薬期間中に程度が悪化した所見も認められた．CDP 群では，媒体投与群と比較して，投与 32 日目及び投与 33 日目の体重が有意な低値を示した他，LMA 評価では不安を示唆すると考えられるアリーナ周縁部にいる時間の有意な増加 (投与 31～35 日目) などが認められた. また，神経行動学的観察では，例えば，平伏姿勢，咀嚼行動の増加，尾の位置の上昇，立毛及び引っ掻き行動並びに鼻をこする行動，アリーナの床を舐める行動及び飛び跳ねなどの異常行動がみられた.

ズラノロン投与群について, 0.5 及び 1.5 mg/kg/日の用量では, 休薬後も生理学的パラメータ，神経行動学的パラメータ及び自発運動量パラメータに影響は認められなかったことから (1.5 mg/kg 投与群で投与 30 日目に認められた摂餌量減少を除く)，投与 28 日目の C_{max} である 325 ng/mL (ヒトの定常状態での C_{max} [67.2 ng/mL] の 4.8 倍) 以下の曝露域ではズラノロンは退薬症候を誘発しないことが示唆された．5 mg/kg/日投与群では，休薬後に媒体投与群と比較して投与 30～32 日目の摂餌量が減少し，投与 30～32 日目には，媒体投与群との統計学的有意差は認められないものの，投与 29 日目時点の体重からの減少が認められた．このような摂餌量及び体重の減少は持続せず，休薬期間終了時 (投与 35 日目) までには摂餌量は増加し，投与 33～35 日目の体重は休薬初日と比較して差がなかった．休薬による LMA 評価への影響はほとんど認められなかったが, 5 mg/kg/日投与群では投与 29～33 日目及び投与 35 日目に媒体投与群と比較してアリーナ周縁部にいる時間の有意な増加が認められた．投与期間中は，アリーナ周縁部への滞在時間は顕著に減少していたことから，ズラノロンの休薬による薬効のリバウンド現象が示唆されたが，休薬中のアリーナ周縁部への滞在時間は投与前のアリーナ周縁部滞在時間を僅かに上回る程度であった．1.5 及び 5 mg/kg/日投与群では，神経行動学的観察において，投与 31 日目及び 32 日目 (1.5 mg/kg/日投与群のみ) に，媒体投与群と比較して逃避試行回数の有意な減少や覚醒度の有意な低下がみられたが，認められたスコアの中央値は概ね投与前値と同程度であった.

結論として，本試験条件下において，ズラノロンは C_{max} が 696 ng/mL となる用量のズラノロンをラットに反復投与した後で自然休薬させると，軽度の退薬症候を誘発する可能性があることが示された．しかし，これらの退薬症候は，スケジュール IV のベンゾジアゼピン系薬物である CDP の休薬時にみられた退薬症候ほど顕著ではなかった.

2.6.6.8.4 光毒性試験

参考資料 4.2.3.7-15
概要表 2.6.7.17.2

GLP 非適用下で実施した試験において，ズラノロンは，波長約 200 nm から 250 nm の範囲では波長 214 nm に単一の吸収極大が認められたが，波長 250 nm～700 nm の範囲において光吸収を示さず，ズラノロンの波長 290 nm～700 nm における MEC は 1000 L/mol/cm を上回らなかった．したがって，ICH S10「医薬品の光安全性評価ガイドライン」に従い，ズラノロンには直接的な光毒性を誘発するほどの光反応性はなく，ズラノロンがヒトで光毒性を生じさせる懸念は非常に低いと判断した．

2.6.6.8.5 不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

評価資料 4.2.3.7-06～4.2.3.7-14
概要表 2.6.7.17.3

ICH M7 ガイドラインに基づき，ズラノロン原薬及び製剤に存在する，又はその製造工程中や保管中に発生する可能性がある 9 種の潜在的不純物について，細菌を用いる復帰突然変異試験を S9 mix の存在下及び非存在下で実施した．その結果 化合物C (4.2.3.7-06) 不純物A (4.2.3.7-07)，不純物B (4.2.3.7-08)，不純物D (4.2.3.7-10)，不純物G (4.2.3.7-13) 及び 不純物H (4.2.3.7-14) の 6 種類の不純物については，細菌を用いる復帰突然変異試験にて陰性，不純物F (4.2.3.7-12)，不純物E (4.2.3.7-11) 及び 不純物C (4.2.3.7-09) の 3 種の不純物については，陽性であった．

2.6.6.9 考察及び結論

ズラノロンの安全性を評価するため，単回及び反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験，薬物乱用及び身体依存性試験並びに in vitro 光毒性試験を実施した．また，不純物の変異原性の評価を行うために，細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した．

上記の毒性試験において，ズラノロン服薬時のヒトの安全性リスクを見積もる上で重要な所見は，鎮静及び鎮静に関連した一般状態の変化，心拍数増加及び二次的な心電図パラメータへの影響，並びに生殖発生毒性，薬物乱用及び身体依存性と考えられた．

2.6.6.9.1 急性毒性

ズラノロンの急性毒性は，ラット 5 日間反復経口投与毒性試験の投与初日の成績並びに GLP 非適用下で実施したラット及びイヌ単回経口投与毒性試験，イヌ 7 日間反復投与毒性試験の投与初日の成績をもとに評価した．

雄性ラットを用いた 5 日間反復経口投与毒性試験 (投与量 : 30，45，60 及び 100 mg/kg/日) において，45 mg/kg/日投与群で投与初日に死亡例が認められた．GLP 非適用下で実施したラット

を用いた単回経口投与毒性試験 (雄の投与量 : 20，25，30，35 及び 40 mg/kg，雌の投与量 : 2.5，4，5，7.5 及び 10 mg/kg) では，5 mg/kg 以上の投与群の雌で瀕死例が認められたが，雄には死亡/瀕死例は認められなかった．全投与群において，鎮静，自発運動の低下，接触及び/又は音に対する反応性亢進，ミオクローヌス，振戦，眼球突出，姿勢を立て直すことができない状態及び/又は身体緊張の消失などが認められた．これらの結果を基に，ラットの概略の致死量は雄で 45 mg/kg，雌では 5 mg/kg と判断した．

GLP 非適用下で実施したイヌ単回経口投与毒性試験 (投与量 : 1，1.5，2，2.5 及び 3 mg/kg) では，死亡/瀕死例は認められなかった．1 mg/kg 以上の投与群で鎮静及び関連する一般状態の変化である平衡感覚の異常，自発運動の低下，振戦，半眼/閉眼 (両眼)，接触及び音に対する反応性亢進及び身体緊張の消失が認められた．GLP 非適用下で実施した雄性イヌを用いた 7 日間反復経口投与毒性試験 (投与量 : 3.5 mg/kg/日) の投与初日において，死亡/瀕死は認められなかったが，重度の鎮静，運動失調，自発運動の低下，側臥位/腹臥位，半眼/閉眼，意識消失，攣縮，振戦，パドリング，筋緊張亢進/低下，非持続性痙攣，呼吸数低下/増加及び体温低下などが認められた．これらの結果を基に，イヌの概略の致死量は雄では 3.5 mg/kg，雌では 3 mg/kg を超える量と判断した．

ラット及びイヌの概略の致死量での血漿中曝露量 (AUC 及び C_{max}) と，申請用法用量である 30 mg を 1 日 1 回ヒトに投与したときの血漿中曝露量 (C_{max} 及び時間 0 から投与間隔時間 τ までの血漿中薬物濃度-時間曲線下面積 [$AUC_{0-\tau}$])との比は，ラットで約 8～11 倍，イヌで約 10～16 倍であった (表 2.6.6.9-1).

表 2.6.6.9-1 ラット及びイヌの概略の致死量におけるズラノロンの曝露量と臨床曝露量との比

Species	Study	Gender	Dose (mg/kg)	AUC (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	Animal to Human Ratio	
						AUC[a]	C_{max}[a]
Rat	Repeated-dose (5 days)	Male	45	8010[b]	568[b]	8.49	8.45
	Single-dose	Female	5	10 200	710	10.8	10.6
Dog	Repeated-dose (7 days)	Male	3.5	13 802[c]	1067[c]	14.6	15.9
	Single-dose	Female	> 3	> 9620	> 764	> 10.2	> 11.4

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration.
a: Systemic exposure of zuranolone in Japanese subjects after administration of zuranolone at 30 mg QD based on the population pharmacokinetic analysis: $AUC_{0-\tau}$: 943.7 ng·hr/mL, C_{max}: 67.2 ng/mL
b: Systemic exposure (AUC and C_{max}) on Day1 of dosing in the 45 mg/kg/day group of rat 5-day repeated-dose toxicity study
c: Systemic exposure (AUC and C_{max}) on Day1 of dosing in the 3.5 mg/kg/day group of dog 7-day repeated-dose toxicity study

2.6.6.9.2 反復投与毒性

ラット 2 週間反復経口投与毒性試験 (雄の投与量 : 3，10 及び 22.5 mg/kg/日，雌の投与量 : 1，3 及び 8 mg/kg/日) において，雄は 10 mg/kg/日，雌は 8 mg/kg/日以上の用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められた．鎮静の程度や持続時間には用量

依存性が認められ，鎮静の程度や持続時間は反復投与によって軽減した．8 mg/kg/日投与群 (TK 群) の雌 1 例で死亡がみられた以外に毒性は認められず，NOAEL は雄で 22.5 mg/kg/日，雌では 3 mg/kg/日と判断した．

ラット 13 週間反復経口投与毒性試験 (雄の投与量：0.8，2.5，8 及び 30 mg/kg/日，雌の投与量：0.15，0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日) において，雄の 0.8 mg/kg/日投与群を除き，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められ，鎮静の程度や持続時間は反復投与によって軽減した．5 mg/kg/日投与群の雌 1 例において重度の鎮静に起因した死亡が認められたが，それ以外の投与群では毒性は認められず，NOAEL は雄では 30 mg/kg/日，雌では 1.5 mg/kg/日と判断した．

ラット 26 週間反復経口投与毒性試験 (雄の投与量：3，10 及び 30 mg/kg/日，雌の投与量：0.5，1.5 及び 5 mg/kg/日) において，雄の 10 mg/kg/日以上及び雌の 1.5 mg/kg/日以上の用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められ，鎮静の程度や持続時間は反復投与によって軽減した．30 mg/kg/日投与群 (TK 群) の雄 1 例において重度の鎮静に起因した死亡が認められたが，それ以外に毒性は認められず，NOAEL は雄で 10 mg/kg/日，雌で 5 mg/kg/日と判断した．

イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：0.4，1 及び 2.5 mg/kg/日) において，全用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静がみられた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められた．ズラノロンの薬理作用に関連した変化以外の所見は認められず，NOAEL は 2.5 mg/kg/日と判断した．

イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：0.06，0.2，0.6 及び 2 mg/kg/日) において，全用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められた．鎮静の程度や持続時間には用量依存性が認められた，2 mg/kg/日投与群の雄 1 例において投与 61 日目の投与前に退薬症候によると考えられる死亡が認められたため，NOAEL は 0.6 mg/kg/日と判断した．

イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：0.6，1.2 及び 2.5 mg/kg/日) において，全用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められた．鎮静の程度，発現頻度や持続時間には用量依存性が認められた．2.5 mg/kg/日投与群の雌 2 例において，それぞれ投与 30 日目の投与前及び休薬 3 日目に退薬症候と考えられる死亡/瀕死が認められたため，NOAEL は 1.2 mg/kg/日と判断した．

イヌ 29 又は 44 週間の間歇経口投与毒性試験 (投与量：1.2 及び 2.5 mg/kg/日 [29 週間間歇経口投与毒性試験は 14 日間の投与期間と 21 日間の休薬期間を 1 サイクルとして合計 6 サイクル，44 週間間歇経口投与毒性試験では 14 日間の投与期間と 42 日間の休薬期間を 1 サイクルとして合計 6 サイクルで構成]) において，全ての用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が認められ，鎮静の程度，発現頻度及び持続時間には用量依存性が認められた．2.5 mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例において，1 サイクル目の休薬期間中 (それぞれ休薬 2 日目及び休薬 4 日目) に退薬症候によると考えられる死亡又は瀕死が認められ，NOAEL は 1.2 -mg/kg/日と判断した．退薬症候を含めいずれの一般状態の変化についても，投与サイクル間の休薬期間の違いによる影響は認められなかった．

ラット及びイヌ反復経口毒性試験の NOAEL における血漿中曝露量 (C_{max} 及び AUC) 並びに申請用法用量である 30 mg QD における血漿中曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0-\tau}$) との比を表 2.6.6.9-2 に示す.

表 2.6.6.9-2　　ズラノロンの反復経口投与毒性試験における NOAEL におけるズラノロンの曝露量及び臨床曝露量との比

Study Duration	Species	NOAEL (mg/kg/day)	AUC (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	Animal to Human Ratio[a]	
					AUC	C_{max}
2 weeks	Rat	22.5 (M)	5050 (M)	502 (M)	5.35 (M)	7.47 (M)
		3 (F)	5270 (F)	392 (F)	5.58 (F)	5.83 (F)
13 weeks	Rat	30 (M)	4340 (M)	393 (M)	4.60 (M)	5.85 (M)
		1.5 (F)	3190 (F)	218 (F)	3.38 (F)	3.24 (F)
26 weeks	Rat	10 (M)	4560 (M)	350 (M)	4.83 (M)	5.21 (M)
		5 (F)	7590 (F)	564 (F)	8.04 (F)	8.39 (F)
2 weeks	Dog	2.5	11 100	731	11.8	10.9
13 weeks	Dog	0.6	1980	165	2.10	2.46
39 weeks	Dog	1.2	6400	409	6.78	6.09
29 or 44 weeks	Dog	1.2	4210	321	4.46	4.78

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; M = male; NOAEL = no observed adverse effect level.
a　Systemic exposure of zuranolone in Japanese subjects after administration of zuranolone at 30 mg QD based on the population pharmacokinetic analysis: $AUC_{0-\tau}$: 943.7 ng·hr/mL, C_{max}: 67.2 ng/mL

ラット及びイヌのズラノロンの単回及び反復投与試験で認められた最も重要な所見は，$GABA_A$ 受容体を介したズラノロンの薬理作用の過剰な発現によると考えられる鎮静であった．鎮静や鎮静に関連した一般状態の変化はラット及びイヌを用いた全ての毒性試験及び安全性薬理試験で認められた．鎮静の程度及び持続時間には概ね用量依存性が認められ，反復投与による所見の軽減や休薬による回復性が認められた．また，ズラノロンの薬理作用に関連した心拍数増加及び二次的な心電図パラメータへの影響，体温低下及び呼吸異常が認められた．心血管系への影響に関してはイヌ心血管系試験においても認められたため，2.6.2.6 項で考察する．それぞれの所見の詳細と意義について以下に示す.

鎮静及び鎮静に関連した一般状態の変化，体温低下及び呼吸異常

非臨床試験における鎮静の評価は，4 段階 (正常，軽度，中等度，重度) のグレードで評価した．ラット及びイヌを用いた主要な毒性試験の結果から，定常状態の血漿中曝露量と鎮静の各グレード間の関係，並びに申請用法用量の 30 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態での C_{max} 及び $AUC_{0-\tau}$ (それぞれ 67.2 µg/mL 及び 943.7 µg・hr/mL) との乖離を示した (表 2.6.6.9-3).

表 2.6.6.9-3　　ラット及びイヌを用いた主要な毒性試験における鎮静の曝露量-反応関係と鎮静のみられた曝露量と臨床曝露との比

Sedation Descriptor	Characteristics	Rat Studies[a]		Dog Studies[b]	
		C_{max} Range (ng/mL)	AUC Range (ng·hr/mL)	C_{max} Range (ng/mL)	AUC Range (ng·hr/mL)
Normal	All functions are normal, unless altered directly by the experimental procedure.	33 – 168 (0.49 – 2.50)[c]	226 – 1950 (0.24 – 2.07)[c]	17 – 118 (0.25 – 1.76)[c]	193 – 1690 (0.20 – 1.79)[c]
Mild	Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact and is able to move to food and water but may still show signs of sedation such as drowsiness, ataxia, or decreased activity.	79 – 295 (1.18 – 4.39)[c]	1230 – 4060 (1.30 – 4.30)[c]	55 – 190 (0.82 – 2.83)[c]	618 – 2490 (0.65 – 2.64)[c]
Moderate	Animal is semi-conscious, and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position	266 – 564 (3.96 – 8.39)[c]	2820 – 7590 (2.99 – 8.04)[c]	165 – 409 (2.46 – 6.09)[c]	1980 – 6400 (2.10 – 6.78)[c]
Severe	Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent	411 – 921 (6.12 – 13.7)[c]	6110 – 12 900 (6.47 – 13.7)[c]	304 – 731 (4.52 – 10.9)[c]	4100 – 11 100 (4.34 – 11.8)[c]

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C_{max} = maximum plasma concentration.
a　Aggregate sedation and steady-state (last dose) plasma exposure data from pivotal 2-week (4.2.3.2-06, 4.2.3.2-07), 13-week (4.2.3.2-08), and 26-week (4.2.3.2-09) studies in rats.
b　Aggregate sedation and steady-state (last dose) plasma exposure data from pivotal 2-week (4.2.3.2-13), 13-week (4.2.3.2-14), and 39-week (4.2.3.2-15) studies in Beagle dogs.
c　Systemic exposure of zuranolone in Japanese subjects after administration of zuranolone at 30 mg QD based on the population pharmacokinetic analysis: $AUC_{0-\tau}$: 943.7 ng·hr/mL, C_{max}: 67.2 ng/mL

重度の鎮静が認められた用量では，いずれか一方又は両動物種において，死亡/瀕死，浅/可聴/努力呼吸，平伏姿勢，一過性の体温低下，ペダリング，攣縮及び流涎が認められた．イヌ心血管系試験においても，2.5 mg/kg の用量（C_{max}：674 ng/mL）において重度の鎮静に伴う一般状態の変化や最大 3℃の体温低下が認められた（2.6.2.4.2.3 項参照）．また，ラット呼吸系試験において，22.5 mg/kg 投与群（C_{max}：285 ng/mL）で呼吸数の減少が認められた（2.6.2.4.3.1 項参照）．

体温低下及び/又は呼吸異常は，エトミデート，ベンゾジアゼピン類及びプロポフォールなどの $GABA_A$ 受容体を介して薬理作用を発揮する薬剤を含め，鎮静/麻酔作用を有する広範な薬剤において副作用として広く知られており，$GABA_A$ 受容体の PAM であるズラノロンにおいても薬理作用の過剰発現時に発現が予測される所見と考えられた [10]．

軽度の鎮静が発現する曝露域に対する申請用量用法におけるヒト曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0-\tau}$）比は，ラットで 1.18～4.39 倍及びイヌで 0.65～2.83 倍であり，重度の鎮静が認められる曝露域に対する申請用法用量における曝露量比は，ラットで 6.12～13.7 倍，イヌで 4.34～11.8 倍であっ

た．これまでに実施した患者対象の国内臨床試験では，発現した鎮静は全て軽度であり，投与中止に至った鎮静はみられなかった (2.7.4.2.1.4.1 項及び 2.7.4.2.1.5.1.1 項参照)．また，体温低下及び呼吸異常は認められておらず (2.7.4.2 項参照)，これらの副作用が申請用量用法においてヒトで発現する懸念は低いと考えられた．

2.6.6.9.3 生殖発生毒性

生殖発生毒性試験で認められた主な毒性所見及び無毒性量を表 2.6.6.9-4，各試験における血漿中曝露量 (AUC 及び C_{max}) 並びに申請用法用量におけるヒト血漿中曝露量との比を表 2.6.6.9-5 に示す．

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生試験 (雄試験の投与量：3，10 及び 30 mg/kg/日，雌試験の投与量：1, 3 及び 10 mg/kg/日) では，雌親動物において，10 mg/kg/日の用量で死亡，1 mg/kg/日以上の用量で，ズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が一過性に認められた．いずれの用量においても，交尾能及び受胎能にズラノロン投与の影響は認められず，母体の剖検時の肉眼検査においても異常所見はなかった．雌親動物の一般毒性に関する NOAEL は 3 mg/kg/日，生殖機能及び初期胚発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日と判断した．生殖機能及び初期胚発生に関する NOAEL における $AUC_{0\text{-}t}$ は 11 000 ng·hr/mL, C_{max} は 940 ng/mL であり，申請用法用量におけるヒト血漿中曝露量のそれぞれ 11.7 倍及び 14.0 倍であった (表 2.6.6.9-5)．雄親動物では，30 mg/kg/日の用量で死亡及び摂餌量減少を伴う体重減少，10 mg/kg/日以上の用量でズラノロンの薬理作用の過剰な発現に起因したと考えられる鎮静が一過性に認められた．いずれの用量においても，投与期間終了後又は休薬期間終了後の交尾能，授胎能及び精子検査にズラノロン投与の影響は認められなかった．雄ラットにおける NOAEL は授胎能及び生殖機能に関して 30 mg/kg/日と判断した．授胎能及び生殖機能に関する NOAEL における $AUC_{0\text{-}t}$ は 3540 ng·hr/mL，C_{max} は 450 ng/mL であり，申請用法用量におけるヒト血漿中曝露量のそれぞれ 3.75 倍及び 6.70 倍であった (表 2.6.6.9-5)．

ラットを用いた胚・胎児発生試験 (投与量：2.5，7.5 及び 22.5 mg/kg/日) において，母動物の死亡 (22.5 mg/kg/日)，体重増加抑制 (7.5 mg/kg/日以上) 及び用量依存的な鎮静 (2.5 mg/kg/日以上) が認められ，母動物に対する NOAEL は 2.5 mg/kg/日と判断した．この用量における妊娠 17 日の AUC_{last} は 3710 ng·hr/mL，C_{max} は 281 ng/mL であった．母体毒性の認められた 22.5 mg/kg/日投与群では早期吸収胚数の増加が認められ，関連して妊娠子宮重量の低値及び着床後死亡率の高値が認められた．また，22.5 mg/kg/日投与群では，胎児体重が低値 (対照群比: －8%～－9%) を示した．22.5 mg/kg/日投与群において，10 例の胎児に形態異常が認められ，その内訳は，外脳 (1 胎児)，尾及び/又は尾椎の異常 (2 腹の 3 胎児)，仙椎の異常 (2 腹の 2 胎児)，臍帯ヘルニア及び潜在眼球 (1 胎児)，水晶体の欠損又は小型化 (同腹の 2 胎児)，並びに胸椎/腰椎/肋骨の異常 (2 腹の 3 胎児) であった．また，対照群に比して後肢 (足根骨，中足骨及び趾節骨) の骨化数減少も認められた．これらの形態異常の発生頻度は，試験施設又は既報 [11] の背景値の範囲内もしくはその上限と概ね同等であり，所見の質に一貫性はなく，様々な部位に低頻度で認められた．既知の催奇形性物質では，特定の催奇形メカニズムにより特定の所見又は発生が特定の部位に偏った複数の所見が認められる特徴が知られている [12, 13] が，本薬ではこの傾向は

みられなかった．また，22.5 mg/kg/日投与群では母動物に死亡，重度の鎮静に加えて，摂餌抑制及び体重増加抑制が認められたことから，本薬の投与により，母動物が過度の中枢神経系抑制による呼吸抑制状態及び低酸素状態，並びにストレス状態下にあった可能性が考えられた．母体の呼吸抑制や母体ストレスは胎児の形態異常を増加させるという報告があり [14]，ラットにおいて母体毒性を伴う用量では胎児の肋骨 (癒合，過剰，欠損，波状)，椎骨 (癒合，欠損，分離など)，胸骨 (欠損，癒合，配列異常)，目の欠損，尾の異常や臍帯ヘルニア，水頭症等の非特異的な形態異常がみられ，特に，肋骨，胸骨及び椎骨の形態異常が頻発すると報告されている [15]．さらに，22.5 mg/kg/日投与群で様々な部位に低頻度で認められた胎児の形態異常所見は，個々の変化の質及び頻度としてはラットで背景的に認められる偶発性の変化と概ね同等であった．従って，22.5 mg/kg/日投与群で認められた形態異常所見は，自然発生的に形態異常が起こるのと同様の機序又は母体毒性の影響との組み合わせの結果，二次的に生じた可能性があると考えた．

22.5 mg/kg/日投与群で認められた胎児の形態異常所見のうち肋骨欠損，肋骨癒合，胸椎弓癒合，及び胸椎欠損は，7.5 mg/kg/日投与群においても 2 母動物の 1 例ずつの胎児にのみ認められたが，以下のとおり発生頻度が低く，自然発生性にも認められる変化であることから偶発性の変化と判断した．肋骨欠損及び胸椎欠損は，7.5 mg/kg/日投与群の 1 胎児でみられ，22.5 mg/kg/日群の 1～2 胎児でも認められたが，いずれの投与群でも発生頻度は試験施設又は既報 [11] における背景値と同程度と低かった．肋骨癒合及び胸椎弓癒合は，7.5 mg/kg/日投与群の 1 胎児で認められ，22.5 mg/kg/日投与群の 2～3 胎児でも認められたが，7.5 mg/kg/日投与群の発生頻度は試験施設又は既報 [11] の背景値と同程度であった．肋骨欠損，肋骨癒合，胸椎弓癒合，及び胸椎欠損を含む肋骨，胸椎及び腰椎 (椎体及び椎弓を含む) の異常は，ラットにおいて自然発生性にしばしば認められる所見であり，これらの形態異常は試験施設でも背景的に認められる変化であった．

以上の結果から，胚・胎児発生に関する NOAEL は 7.5 mg/kg/日と判断した．胚・胎児発生に関する無毒性量における妊娠 17 日の母動物の AUC_{last} 及び C_{max} はそれぞれ 9380 ng·hr/mL 及び 656 ng/mL であり，申請用法用量におけるヒト血漿中曝露量のそれぞれ 9.94 倍及び 9.76 倍であった (表 2.6.6.9-5)．

ウサギを用いた胚・胎児発生試験 (投与量：25，125 及び 500 mg/kg/日) では，ズラノロンに関連した母動物の死亡が 500 mg/kg/日投与群で認められた．25 mg/kg/日以上の投与群の母動物において，鎮静及び関連する一般状態の変化が，用量依存的な程度及び発現頻度で認められた．また，125 mg/kg/日以上の投与群で，母動物に摂餌量減少を伴う体重増加量の低値が認められた．母体の生殖機能に関するパラメータには，いずれの投与群においてもズラノロンに関連した影響は認められなかった．胚・胎児では，500 mg/kg/日投与群で軽度な胎児体重の低値が認められたが，胎児の外表，内臓及び骨格に異常は認められなかった．母体毒性に関する NOAEL は 25 mg/kg/日と判断し，この用量での妊娠 19 日の妊娠ウサギにおける AUC_{last} は 291 ng·hr/mL，C_{max} は 11.0 ng/mL であった．胚・胎児発生に関する NOAEL は 125 mg/kg/日と判断し，この用量における妊娠 19 日の AUC_{last} は 663 ng·hr/mL，C_{max} は 39.1 ng/mL であり，申請用法用量における血漿中曝露量のそれぞれ 0.70 倍及び 0.58 倍であった (表 2.6.6.9-5)．

マウスを用いた胚・胎児発生試験 (投与量：30，100 及び 300 mg/kg/日) において，全てのズラノロン投与群で母動物に鎮静や関連する一般状態の変化が，程度や発現頻度に用量依存性を伴って認められた．300 mg/kg/日投与群の母動物において，投与期間 (妊娠 6～15 日) を通じて認められた体重増加抑制は，投与終了後剖検時までに回復傾向を示したことから最終報告書では非毒性とされているが，投与最終日における体重は対照群比で約−10%に達したこと，妊娠子宮重量の低値 (対照群比：−7.24%) もみられたことから毒性と判断する．

胚・胎児に関して，300 mg/kg/日投与群で認められた胎児体重の低値は，同群の母体体重へ影響 (毒性) がみられていることから，本薬による母体毒性の二次的影響の可能性が高いと考えた．なお，100 mg/kg/日投与群においても胎児体重の低値がみられたと最終報告書では判断されたが，当該群の平均胎児体重 (1.329 g) は対照群の平均値に対し−5.35%であり，対照群との間に統計学的有意差は認められず，240 例の母動物と 2294 例の胎児データから得られた試験施設の背景値の範囲内 (1.287～1.416 g [平均 1.364 g]) であった．また，本試験の対照群には施設の背景値の範囲を下回る体重の胎児が散見され，100 mg/kg/日投与群の全ての胎児体重 (最小体重 1.01 g) は対照群の胎児の最小体重 (0.93 g) を上回った．これらから，100 mg/kg/日投与群の胎児体重は，個体値を考慮しても，マウスの胎児体重として取り得る範囲内の値で，本薬の投与に起因した変化ではないと考えた．

外表観察において，口蓋裂が 100 mg/kg/日投与群の 2 腹の 2 胎児 (発生頻度：0.99% [児]，11.1% [母]) 及び 300 mg/kg/日投与群の 3 腹の 10 胎児 (発生頻度：3.69% [児]，15.0% [母]) に認められ，骨格観察において関連する骨格の異常所見を伴っていた．300 mg/kg/日投与群で口蓋裂を有する胎児を出産した 3 母動物 (母動物番号 4502，4504 及び 4517) には，それぞれ 1，1 及び 8 例の口蓋裂児がみられたが，最も多くの口蓋裂児がみられた母動物番号 4517 の個体は妊娠 16 日の体重が対照群比で−30%の低値 (投与期間である妊娠 6 日～16 日の体重増加量は対照群比で−72%の低値) を示し，同群の他の母動物よりも顕著な低体重を示した (300 mg/kg/日投与群の妊娠 16 日の母動物の平均体重は対照群比で−9.31%の低値)．さらに，当該母動物から生まれた胎児の平均体重は 0.71 g であり，同群の母動物から生まれた胎児 (平均体重 1.158 g) よりも明らかに低値を示した．また，母動物番号 4502 及び 4504 の個体にも中等度又は重度の鎮静がみられ，母動物番号 4517 と同程度の著しい母動物の低体重及び/又は背景値を下回る胎児体重の低値がみられた．口蓋裂の発生機序に関して，ICH S5 (R3)「医薬品の生殖発生毒性評価に係るガイドライン」(令和 3 年 1 月 29 日薬生薬審発 0129 第 8 号) に記載のとおり，マウスはストレスに対する感受性が高い種として知られており，ストレス性変化や摂餌量減少がみられる母動物では胎児に口蓋裂が誘発されることが知られている [16,17]．さらに，低体重の胎児では口蓋裂の発現頻度が高まることが知られている [17, 18]．以上から，300 mg/kg/日投与群の胎児でみられた口蓋裂は本薬による母体毒性又は母体毒性による胎児体重の低値の二次的影響のいずれかによって生じたと考察した．100 mg/kg/日投与群でみられた 2 胎児の口蓋裂 (発生頻度：0.99% [児]，11.1% [母]) は，発生頻度が背景値範囲内 (0%～6.76% [児]，0%～25.0% [母]) であること，用量設定試験 (4.2.3.5-11) において対照群で口蓋裂が 1 腹の 1 例の低体重児 (1.14 g) でみとめられたこと (発生頻度：1.67% [児]，20.0% [母]) から本薬投与に起因した所見ではないと考えた．

マウスでは口蓋裂が認められたが，本薬の薬理作用の過度の発現による重度の鎮静やそれに伴う死亡，摂餌量減少や体重増加抑制などの母体毒性がみられる高用量で評価したウサギにおける胚・胎児発生毒性試験において，口蓋裂を含む胎児の形態異常は認められなかった．また，ウサギと同様の母体毒性が発現する高用量で，かつ，マウスよりも高曝露 (本薬を申請用量用法でヒトに投与した時の AUC_{last} 及び C_{max} の 19.8 倍及び 18.0 倍に相当) で評価したラットにおける胚・胎児発生試験においても，口蓋裂は認められなかった．上述の ICH S5 (R3) ガイドラインにおいて，ヒト外挿性の考察をする際に注意する例としてマウスにおけるコルチコステロイド誘発性の口蓋裂が挙げられており，ストレスに関わるステロイドホルモンが母体から分泌された際の胎児の形態異常には動物種間の反応性に違いがあることが知られている．したがって，本薬の投与によりマウスのみで認められた母体毒性の二次的影響で生じた口蓋裂について，ヒトに対する外挿性は低いと考えられた．

また，妊娠期間が短く頭蓋の側方成長が急激に生じるマウスでは，口蓋棚の回転や癒合の僅かな遅れを出産時までに回復することが難しく，口蓋裂が顕在化し易いとされるのに対し，ヒトをはじめ妊娠期間の長い動物は口蓋棚が癒合するまでの時間的余裕がマウスよりも相対的に長くなるため口蓋裂は顕在化しにくく，マウスでみられた口蓋裂のヒト外挿性は高くないという報告もある [18]．したがって，本薬の申請用法の服薬期間 (14 日間) を考慮すると，胎児体重の低値，即ち胎児の発育抑制によって生じる口蓋裂のヒト外挿性も低いと考えられた．

以上を総合すると，300 mg/kg/日投与群でみられた母体体重への影響又は胎児体重の低値に基づき，本試験の母体及び胚・胎児発生に対する影響の無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日と判断した．胚・胎児発生に関する無毒性量における妊娠 15 日の母動物の AUC_{last} 及び C_{max} はそれぞれ 5500 ng· hr/mL 及び 748 ng/mL であり，申請用法用量におけるヒト血漿中曝露量のそれぞれ 5.38 倍及び 11.1 倍であった (表 2.6.6.9-5)．また，本薬による胚・胎児致死性及び形態異常がみられなかった 300 mg/kg/日における妊娠 15 日の母動物の AUC_{last} 及び C_{max} はそれぞれ 7980 ng· hr/mL 及び 1010 ng/mL であり，申請用法用量におけるヒト血漿中曝露量のそれぞれ 8.46 倍及び 15.0 倍であった．

ラットを用いた出生前/出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 (投与量：1，4 及び 10 mg/kg/日) では，妊娠期及び/又は哺育期に，4 mg/kg/日以上の投与群で，母動物の死亡，中等度又は重度の鎮静，反応性亢進，振戦及び摂餌量減少など母体毒性が認められた．10 mg/kg/日投与群では，母動物の死亡/瀕死及び全児死亡の発現頻度が高く，同投与群の全生存動物が哺育 8～10 日に安楽殺された．いずれの投与群においても，母動物の剖検時にズラノロンに関連した異常は認められなかった．

4 mg/kg/日投与群では，生後 1～4 日に死亡発見された児動物，安楽殺された児動物又は食殺による死亡と推定された児動物の数が対照群に比べて増加し，生存性が低下した．4 mg/kg/日投与群で生後 4，10 及び 14 日における児動物の体重低値が認められた (対照群の約 94%)．離乳後は，4 mg/kg/日以下の投与群の F1 世代に，ズラノロンに関連した死亡/瀕死又は一般状態の変化は認められなかった．4 mg/kg/日群の F1 雄では，出生後 22～71 日における体重が減少し，出生後 22～43 日に摂餌量が一過性に減少した．4 mg/kg/日以下の投与群の F1 の雌雄では，性成熟，神経行動学的評価 (自発運動，音刺激に対する驚愕反応並びに馴化反応，学習及び記憶能)

又は生殖機能に関する評価項目にズラノロンの影響は認められなかった．母動物に関する NOAEL は 1 mg/kg/日，出生児の発育及び発生に関する NOAEL は 1 mg/kg/日 (妊娠 17 日における母動物の曝露量は，AUC_{last} が 2420 ng·hr/mL，C_{max} が 223 ng/mL) と判断した．母動物の血漿中ズラノロン濃度に対する児動物の血漿中ズラノロン濃度は，1 及び 4 mg/kg/日投与群においてそれぞれ，哺育 4 日で約 0.6%～0.7%及び哺育 10 日で 0.3%～0.5%であった．

幼若ラット (投与開始時生後 22 日齢) を用いた 7 週間反復経口投与毒性試験 (投与量 : 3，10 及び 30 mg/kg/日 [雌は投与 15 日以降に 1，3 及び 10 mg/kg/日に減量]) では，幼若ラットにズラノロンを生後 22 日から 71 日まで経口投与し，その後 6 週間以上の休薬期間を設けた．雄の性成熟，眼科学的検査，音刺激に対する驚愕反応及び馴化反応，学習及び記憶能，生殖機能，骨長又は骨密度，血液学的検査及び血液生化学的検査項目又は病理学的検査項目には，いずれの用量においても雌雄共にズラノロンに関連した影響は認められなかった．30 mg/kg/日投与群の雄では，投与後 4 日以内に 12 例 (81 例中) が重度鎮静や重度の鎮静に関連する一般状態の変化のために死亡又は瀕死のため安楽殺されたが，それ以降に死亡/瀕死例は認められなかった．30 mg/kg/日投与群の雌では，生後 22 日から 35 日の間に 24 例 (81 例中) が重度鎮静による死亡又は瀕死のため安楽殺されたが，用量を 10 mg/kg/日に減量した生後 36 日以降はズラノロンに関連した死亡は認められなかった．30/10 mg/kg/日投与群の雌で膣開口日の遅れが認められた (対照群 32.5 日に対して 35.8 日)．自発運動量測定において，生後 54 ± 2 日に，30 mg/kg/日投与群の雄で総微細行動の増加が認められ，雌では 30/10 mg/kg/日投与群で総歩行数の増加，10/3 mg/kg/日投与群及び 30/10 mg/kg/日投与群で総微細行動の増加が認められた．休薬期間中には自発運動量への影響は認められなかった．生存性，一般状態，体重及び摂餌量，雌の性成熟，自発運動 (雄のみ) 及び生殖機能 (性周期, 交尾能, 受胎能) に対する NOAEL は, 雄で 10 mg/kg/日，雌で 10/3 mg/kg/日と判断した．その他，血液検査，病理検査，雄の性成熟，音に対する驚愕反応並びに学習及び記憶能の NOAEL は，雄で 30 mg/kg/日及び雌で 30/10 mg/kg/日と判断した．雌の自発運動量に対する影響の NOAEL は 3/1 mg/kg/日と判断した．

$GABA_A$ 受容体を含む GABA 受容体作動薬 (フェノバルビタール，ペントバルビタール，ジアゼパム，及びクロナゼパムなど) が出生後のラットに神経変性を引き起こす可能性が示されている [1]．GABA 受容体作動薬による影響を受けやすい脳発達の重要な段階 (ラットの出生後 0～14 日，ヒトでは妊娠第三期から生後数年に相当 [4]) にある生後 7 日齢のラットにズラノロン (投与量 : 2.5 及び 7.5 mg/kg) を単回経口投与又は陽性対照薬である MK-801 (投与量 : 1 mg/kg) を単回腹腔内投与したときの脳における神経変性作用の有無を脳の AmCuAg 染色によって検討した．陽性対照投与群では，投与後 24 時間で脳の複数の領域における神経細胞崩壊の増加がみられ，脳の広範にわたって神経変性が生じていることが示唆された．ズラノロン 7.5 mg/kg 投与群では，文献 [1] 及び MK-801 投与群で認められた広範な神経変性とは対照的に，脳の単一領域 (海馬台) においてのみ，神経細胞崩壊の増加が確認された．ズラノロン 2.5 mg/kg 投与群では，ズラノロンによる神経変性に対する影響は認められなかった．AmCuAg 染色では非特異的な染色がよくみられる上に，発達段階の脳は可塑性が高く，生後 8 日目の脳における神経細胞のズラノロン投与による細胞死と生理的な神経細胞のアポトーシスの区別を評価することは難しいことを考慮すると，本試験において脳の一部の領域 (海馬台) に認めら

れた程度の神経細胞崩壊の生物学的意義は不明であった.

以上のように，ラットを用いた生殖発生毒性試験において，母動物に毒性が認められた 22.5 mg/kg/日の用量 (AUC_{last} 及び C_{max} はヒトに 30 mg を投与した時の推定曝露量の 19.8 倍及び 18.0 倍に相当) では，着床後死亡率の高値及び胎児の形態異常が様々な部位に低頻度で認められた．そのうち一部の胎児の形態異常については，7.5 mg/kg/日の用量 (AUC_{last} 及び C_{max} はヒトに 30 mg を投与した時の推定曝露量の 9.94 倍及び 9.76 倍に相当) でも，試験施設又は既報 [11] の背景値の範囲内もしくはその上限と同程度の低頻度に認められ，これらの変化は偶発性と判断したものの，そのような所見が認められない用量は 2.5 mg/kg/日 (AUC_{last} 及び C_{max} はヒトに 30 mg を投与した時の推定曝露量の 3.93 倍及び 4.18 倍に相当) であった．本薬がヒト胚・胎児の発生に及ぼす影響を否定しきれず，妊娠期間では他の治療選択肢が存在することも踏まえると，本薬は妊婦又は妊娠している可能性のある女性には投与しないことが妥当と考える．また，妊娠の可能性がある女性については，ズラノロンの半減期 (15～20 時間) に基づき，最終投与後 1 週間の避妊が必要であると考える.

ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において，母動物に毒性が認められた 4 mg/kg/日以上の用量 ($AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} は申請用法用量である 30 mg をヒトに 1 日 1 回投与したときの定常状態の曝露量のそれぞれ 7.45 倍以上及び 7.44 倍以上に相当) において出生児の生存性や発育に影響が認められ，NOAEL は 1 mg/kg/日だった ($AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} は申請用法用量である 30 mg をヒトに 1 日 1 回投与したときの定常状態の曝露量の 2.56 倍及び 3.32 倍に相当) が，乳汁中ズラノロンによる児動物への影響は不明であった．また，幼若ラット (投与時 7 日齢) におけるズラノロンの神経変性に対する影響を検討した試験において，7.5 mg/kg 投与群 ($AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び C_{max} は申請用法用量である 30 mg をヒトに 1 日 1 回投与したときの定常状態の曝露量の 7.22 倍及び 9.00 倍に相当) で，脳の 1 つの領域 (海馬台) でアポトーシス性神経変性の増加が認められた．本変化の生物学的意義は不明であるが，無影響量は 2.5 mg/kg であった.

ヒトにおいて，ズラノロンは母体投与量と比較するとごく微量ではあるが，母乳中に移行することが報告されている．授乳中の健康成人女性を対象に実施した乳汁移行評価試験 (217-CLP-114 試験) において，申請用量用法である 30 mg のズラノロンを授乳婦に 1 日 1 回 5 日間夕食後投与したときのズラノロンの乳汁移行性を検討したところ，母乳を介して乳児が摂取する 1 日用量は 0.00125 mg/kg/日とごく僅かであることが示された. 幼若ラットの神経変性に関する試験で認められた無影響量 (2.5 mg/kg) は，投与量基準で考えると，申請用量用法における乳児のズラノロン摂取量と約 2000 倍の乖離がある.

しかしながら，動物の授乳による児への影響やヒトにおける哺乳中の児における影響が不明であることから，授乳婦は治療上の有益性及び母乳栄養の有益性を考慮し，授乳の継続又は中止を検討するか否かを検討すべきである.

表 2.6.6.9-4　　ズラノロンの生殖発生毒性試験における主な毒性所見及び無毒性量

動物種	試験種	投与経路	投与量 (mg/kg/日)	主な毒性所見と無毒性量
ラット	受胎能及び着床までの初期胚発生	経口	[雄] 3, 10, 30 [雌] 1, 3, 10	雄 30 mg/kg/日：死亡，鎮静 (重度)，鎮静に関連した一般状態，摂餌量減少を伴う体重減少 無毒性量 一般毒性：10 mg/kg/日 生殖機能・初期胚発生：30 mg/kg/日 雌 10 mg/kg/日：死亡，鎮静 (中等度～重度)，鎮静に関連した一般状態 無毒性量 一般毒性：3 mg/kg/日 生殖機能：10 mg/kg/日 初期胚発生：10 mg/kg/日
	出生前・出生後の発生並びに母体の機能	経口	1，4，10	母動物 ≥4 mg/kg/日：死亡，鎮静 (中等度～重度)，鎮静に関連した一般状態，妊娠中及び哺育中の摂餌量減少 F1 出生児 ≥4 mg/kg/日：死亡率増加，体重低値 (雄のみ) 無毒性量 母動物・次世代の発生：1 mg/kg/日
	胚・胎児発生	経口	2.5，7.5，22.5	母動物 22.5 mg/kg/日：死亡，痙攣，摂餌量減少，体重減少 ≥7.5 mg/kg/日：鎮静 (中等度～重度)，筋攣縮，眼の赤色分泌物 胚・胎児 22.5 mg/kg/日：着床後死亡率増加，体重低値，形態異常 無毒性量 母動物：2.5 mg/kg/日 胚・胎児発生：7.5 mg/kg/日
ウサギ	胚・胎児発生	経口	25，125，500	母動物 500 mg/kg/日：死亡，筋攣縮，呼吸数減少 ≥125 mg/kg/日：体重増加抑制及び摂餌量減少 胚・胎児 500 mg/kg/日：体重低値 (軽度) 無毒性量 母動物：25 mg/kg/日 胚・胎児発生：125 mg/kg/日
マウス	胚・胎児発生	経口	30, 100, 300	母動物 300 mg/kg/日：鎮静 (軽度～重度)，攣縮，意識消失，立毛，体重増加抑制，体重低値 胚・胎児 300 mg/kg/日：体重低値 無毒性量 母動物：100 mg/kg/日 胚・胎児発生：100 mg/kg/日

表 2.6.6.9-5 ラット，ウサギ及び/又はマウスを用いた生殖毒性試験における NOAEL での曝露量に基づくズラノロンの安全域

Study Type	Species	NOAEL (mg/kg/day)	AUC (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	Animal to Human Ratio[a]	
					AUC	C_{max}
Fertility	Rat (M)	30[b]	3540	450	3.75	6.70
Fertility	Rat (F)	10[b]	11 000	940	11.7	14.0
Embryo-fetal development	Rat	7.5[c]	9380	656	9.94[h]	9.76[h]
Embryo-fetal development	Rabbit	125[c]	663	39.1	0.70	0.58
Embryo-fetal development	Mouse	100[c]	5500	748	5.83	11.1
Pre- and postnatal development	Rat	1[d]	2420	223	2.56	3.32
7-week juvenile tox	Rat (juvenile)	10 (M)[e] 3/1[f] (F)[g]	3740 (M) 2610 (F)	506 (M) 240 (F)	3.96 (M) 2.77 (F)	7.53 (M) 3.57 (F)

AUC = area under the plasma concentration-time curve ; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; M = male; NOAEL = no observed adverse effect level.

a Systemic exposure of zuranolone in Japanese subjects after administration of zuranolone at 30 mg QD based on the population pharmacokinetic analysis: $AUC_{0-\tau}$: 943.7 ng·hr/mL, C_{max}: 67.2 ng/mL

b NOAEL for fertility and reproductive function.

c NOAEL for developmental toxicity.

d NOAEL for growth and development in the offspring.

e NOAEL for survival, growth, motor activity, and reproductive function (including mating and fertility).

f Female rats were administered 3 mg/kg/day from postnatal day (PND) 22 to PND 35, followed by a dose adjustment (due to tolerability) to 1 mg/kg/day from PND 36 through scheduled euthanasia on PND 71.

g NOAEL for motor activity. The NOAEL for survival, growth, female sexual maturation, motor activity (males only) and reproductive function in males and females was 10 and 10/3 mg/kg/day, respectively; the NOAEL for systemic toxicity, male sexual maturation, acoustic startle response and learning and memory was 30 and 30/10 mg/kg/day in the males and females, respectively.

h Exposure at 2.5 mg/kg/day, which did not result in the external, visceral, or skeletal malformations observed at 7.5 and 22.5 mg/kg/day in rat embryo-fetal development study, corresponded to 3.93-fold AUC and 4.18-fold C_{max} compared to human exposures at 30 mg QD.

2.6.6.9.4 薬物乱用及び身体依存性

ズラノロンの主要な薬理作用は $GABA_A$ 受容体を介して発揮されるが，本受容体の活性化は薬物乱用リスクを有することが報告されているため [2, 3]，ズラノロンの薬物乱用及び身体依存性リスクを in vitro 及び in vivo で検討した (2.6.6.8.3 項) ．

In vitro 結合特異性試験において，ズラノロンは 10 µmol/L (4096 ng/mL) の濃度で薬物乱用に関連するとされるシグマ 2 受容体に結合能を示した．再現性は認められなかったものの，ズラノロンはグリシン受容体に対しても結合能を示した (2.6.2.3.1 項参照)．ズラノロンの血漿蛋白結合率は 99.5%であり，従って，非結合型濃度 10 µmol/L (4096 ng/mL) は，ズラノロンの血漿中濃度 819 200 ng/mL に相当する．これは，母集団薬物動態解析から得られた申請用法用量である 30 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態での C_{max} (67.2 ng/mL，中央値) と約 12 200 倍もの乖離があり，ヒトにおいてこれらの受容体を介した薬物乱用リスクが顕在化する可能性は低いと考えられた．

雌雄ラットを用いた薬物弁別試験において，ズラノロンがベンゾジアゼピン系薬物のミダゾラムと同様の自覚効果を有するかについて検討した (それぞれ 2.6.6.8.3.1 項及び 2.6.6.8.3.2 項参

照)．その結果，ズラノロンは，C_{max} が 99～480 ng/mL となる用量でミダゾラムによる自覚効果に対して部分般化し，C_{max} が 219 ng/mL (雄) ，499 ng/mL (雌) となる用量では完全般化した．完全般化を示した用量では，$GABA_A$ 受容体を介した薬理作用の過剰な発現による鎮静及びレバー押し速度の有意な低下が認められた．以上の成績から，ズラノロンは用量依存的にベンゾジアゼピン様の自覚効果を惹き起こし，レバー押し速度を低下させるような高用量 (母集団薬物動態解析から得られた申請用法用量である 30 mg を 1 日 1 回反復投与したときの定常状態での C_{max} [67.2 ng/mL，中央値] の 3.26 倍～7.43 倍に相当する投与量) ではミダゾラムに対して完全般化することが示された．コカイン自己投与能を獲得した雌性ラットを用いた静脈内自己投与試験で，ズラノロンの強化効果を評価した (2.6.6.8.3.3 項参照)．その結果，媒体 (陰性対照) 群及びズラノロンの 0.05 mg/kg/注入群 (最後の薬物置換期での血漿中濃度が 94.9～870.9 ng/mL [群平均 323.1 ng/mL]で，ズラノロンの申請用法用量である 30 mg をヒトに 1 日 1 回反復投与したときの定常状態での C_{max} [67.2 ng/mL] の 4.81 倍に相当する投与量群) においてもコカイン自己投与時に認められた強力な自己投与行動は維持されず，ズラノロンに明らかな強化効果は認められなかった．一方，ミダゾラム群では薬物置換期の終盤 2 回のセッションにおいて，コカイン群と同程度の自己投与行動が認められた．雌雄ラットを用いて，ズラノロンの身体依存形成能を検討した (2.6.6.8.3.4 項及び 2.6.6.8.3.5 項参照)．陽性対照薬の CDP は，雌雄いずれにおいても，反復投与後の自然休薬により体重減少，自発運動量パラメータへの影響及び神経行動学的変化 (咀嚼行動の増加，尾の位置の上昇及び立毛など) など，ベンゾジアゼピン系薬物においてみられる典型的な退薬症候を誘発した．一方，ズラノロンは，雄ラットに 20 mg/kg/日の用量を 28 日間反復投与した後に自然休薬した場合に，生理学的，神経行動学的及び自発運動量パラメータに影響を及ぼさず，ズラノロンは血漿中薬物濃度が 410 ng/mL (投与 28 日目の C_{max} であり，申請用法用量である 30 mg をヒトに 1 日 1 回投与したときの定常状態の C_{max} の 6.10 倍に相当) 以下となる条件では退薬症候を誘発しないことが示唆された (2.6.6.8.3.4 項参照)．雌ラットでは，ズラノロンを 28 日間反復投与した後に自然休薬した場合，1.5 mg/kg/日の用量 (投与 28 日目の C_{max} が 325 ng/mL) までは休薬によって生理学的，神経行動学的及び自発運動量パラメータに変化は認められず，ズラノロンの血漿中薬物濃度が 325 ng/mL 以下 (申請用法用量である 30 mg をヒトに 1 日 1 回反復投与したときの定常状態での C_{max} [67.2 ng/mL] の 4.84 倍に相当) となる条件では，退薬症候は誘発されないことが示唆された (2.6.6.8.3.5 項参照)．しかしながら，5 mg/kg/日の用量 (投与 28 日目の C_{max} が 696 ng/mL となる用量) では，CDP 投与群でみられた退薬症候に比べて軽度であったが，休薬期間中に摂餌量減少や体重減少などの退薬症候を示唆する変化が認められた．

退薬症候を示唆する一般状態の変化はイヌにおいても認められた．ズラノロンのイヌの 13 週間及び 39 週間反復投与毒性試験において，ズラノロンの高用量群において，投与期間中 (投与後 29 日以降) の投与前及び/又は休薬期間 (休薬 4 日目) 中に，死亡/瀕死及び/又は痙攣，一過性の虚脱，四肢硬直，異常発声，ハンドリングに対する攻撃行動がごく少数例に認められた (高用量群 12 例中 1 例 [13 週間試験] 又は 14 例中 1 例 [39 週間試験])．

イヌは痙攣感受性が高い種として知られている [19, 20]．GABA モジュレータについても，反復投与後に痙攣に代表される退薬症候が認められるとの報告があることから [21-24]，イヌはこ

れらの薬剤による退薬症候の感受性が高い可能性が考えられた．ジアゼパムでは，イヌに 1 mg/kg の用量を 1 日 3 回 1 週間反復投与した際に退薬症候が認められたとの報告があるが [22]，本用量を投与時のイヌにおけるジアゼパム及び主要活性代謝物であるデスメチルジアゼパムの曝露量 [22] は，臨床最大用量 [25] における推定ヒト曝露量 [26, 27] を下回っていた．

ズラノロンのイヌ反復投与毒性試験において認められた死亡/瀕死/痙攣などの毒性所見は，低頻度であったこと，長期投与後に発現すること (29 回以上投与)，発現する用量 (2 mg/kg/日以上，$AUC_{last} \geq 6890$ ng·hr/mL，$C_{max} \geq 482$ ng/mL；申請用法用量である 30 mg で 1 日 1 回投与したときの定常状態での C_{max} [67.2 ng/mL，中央値] の 7.17 倍以上に相当) 及び所見の発現時刻又は時期 (血漿中ズラノロン濃度が最低/トラフ濃度となる投与前又は休薬期間) が似通っており，みられた所見の種類も上述したイヌに GABA モジュレータを投与した時の退薬症候と一致していることから，いずれも GABA モジュレータを長期投与した際に認められる退薬症候であると考えられた．

本薬を臨床投与期間で繰り返し服薬した際の身体依存性形成リスクを検討するための特別な試験として実施したイヌ 44 週間間歇投与毒性試験の高用量群 (2.5 mg/kg/日； 申請用法用量である 30 mg で 1 日 1 回投与したときの定常状態での C_{max} の 8.93～10.3 倍に相当) においても，一般毒性試験で認められたのと同様の退薬症候 (痙攣及び/又は死亡) が認められた．退薬症候は，1 サイクル目の休薬期間にのみ認められ，イヌにおいて間歇投与による退薬症候の増悪は惹起されないことが示された．

以上の身体依存性に関する成績を総合すると，申請用法用量である 30 mg でヒトに 1 日 1 回反復投与したときの定常状態での C_{max} (67.2 ng/mL，中央値) の最大約 4.84～6.10 倍に相当する血漿中ズラノロン濃度において，雌雄ラットに退薬症候は認められないことが示された．雌ラットでは，申請用法用量で投与したときの定常状態での C_{max} (67.2 ng/mL) の 10.4 倍の血漿中濃度において，ズラノロンの自然休薬後に軽度のベンゾジアゼピン系薬物に典型的な退薬症候が認められたが，その症状はスケジュール IV に指定される CDP よりも軽度であった．また，特別な試験として実施したイヌ 44 週間間歇投与毒性試験の成績から，イヌにおいて退薬症候は間歇投与によって増悪しないことが示された．

総合すると，ズラノロンの薬物乱用及び身体依存性リスクはスケジュール IV に分類されるベンゾジアゼピン系薬物と同等以下であることが示唆された．なお，薬物依存ではない中枢神経系抑制薬の娯楽的使用者を対象に海外で実施した薬物嗜好性試験 (217-CLP-110) において，薬物乱用リスクはアルプラゾラム (スケジュール IV のベンゾジアゼピン系薬剤) と同等以下であることが示された (2.7.4.5.6 項参照)．国内で実施した臨床試験において，これまでに薬物乱用や依存性の懸念を示唆する有害事象や離脱症状並びに反跳現象に関連する副作用は認められていない (2.7.4.5.6 項及び 2.7.4.5.7 項参照)．以上のことから，ズラノロンの薬物乱用リスクは既承認のベンゾジアゼピン系薬剤と同等以下であり，申請用法用量であるズラノロン 30 mg を 1 日 1 回 14 日間反復投与では，ヒトで離脱症状及び反跳現象が生じる懸念は小さいと判断した．

2.6.6.9.5 代謝物

ヒトにおいて，ズラノロンは広く代謝を受け，ズラノロン由来放射能の 10%を超える代謝物

は認められなかった (2.6.4.5.2.4 項参照). また，ヒトの代謝物プロファイルをラット及びイヌの代謝物プロファイルと比較したところ，ヒトで薬剤関連の物質全体の 1%～10%として認められた全ての代謝物は，いずれか又は両方の非臨床毒性試験動物種でも認められた．そのため，代謝物に関して独立した非臨床毒性試験が必要なヒト代謝物はないものと判断した.

2.6.6.9.6 総合的な結論

一連の in vitro 及び in vivo 非臨床毒性試験から，ズラノロンの毒性プロファイルを明らかにし，うつ病及びうつ状態治療薬としての安全性情報に関する特徴を把握できた.

2.6.6.10 図表

図表は本文中の適切な場所に記載した.

2.6.6.11 参考文献

1. Bittigau P, Sifringer M, Genz K, et.al. Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Nov 12;99(23):15089-94.
2. Warneke LB. Benzodiazepines: abuse and new use. Can J Psychiatry. 1991;36(3):194-205.
3. Licata SC, Rowlett JK. Abuse and dependence liability of benzodiazepine-type drugs: GABAA receptor modulation and beyond. Pharmacol Biochem Behav. 2008;90(1):74-89.
4. Clancy B, Finlay BL, Darlington RB, Anand KJ. Extrapolating brain development from experimental species to humans. 2007;28(5):931-7.
5. FDA. Guidance for industry: Assessment of abuse potential of drugs. Rockville (MD): U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (U.S. FDA), and Center for Drug Evaluation and Research (CDER). 2017.
6. EMEA. Guideline on the non clinical investigation of the dependence potential of medicinal products. (EMEA/CHMP/SWP/94227/2004). London, UK: European Medicines Agency (EMEA), Committee for Medicinal Products for Human use (CHMP). 2006.
7. Goudie AJ, Leathley MJ. Effects of the 5-HT3 antagonist GR38032F (ondansetron) on benzodiazepine withdrawal in rats. Eur J Pharmacol. 1990;185(2-3):179-186.
8. Goudie AJ, Harrison AA, Leathley MJ. Evidence for a dissociation between benzodiazepine withdrawal signs. Neuroreport. 1993;4(3):295-298.
9. Froger-Colléaux C, Rompion S, Guillaume P, Porsolt RD, Castagné V, Moser P. Continuous evaluation of drug withdrawal in the rat using telemetry: effects of morphine and chlordiazepoxide. J Pharmacol Toxicol Methods. 2011;64(1):81-88.
10. Tobias JD, Leder M. Procedural sedation: a review of sedative agents, monitoring, and management of complications. Saudi J Anaesth. 2011;5(4):395-410.
11. Kuwagata M, Sakai Y, S Tanaka S, et al. Historical control data on developmental toxicity studies in rats. Congenital Anomalies. 2019;59:125–131.
12. Christina DC. Value of the small cohort study including a physical examination for minor structural

defects in identifying new human teratogens. Congenital Anomalies. 2011; 51:16-20.
13. Cassina M, Cagnoli GA, Zuccarello D, Di Gianantonio E, Clementi M. Human teratogens and genetic phenocopies. Understanding pathogenesis through human genes mutation. European Journal of Medical Genetics 2017;60:22-31.
14. Bychkova IY, Abduvosidov KA, Roginskiy VV. The role of hypoxia in the pathogenesis of congenital hyperplasia of blood vessels in the head and neck in children (literature review). Acta Biomedica Scientifica. 2022;7(1):37-4.
15. Khera KS. Maternal toxicity: a possible etiological factor in embryo-fetal deaths and fetal malformations of rodent-rabbit species. Teratology. 1985;31(1):129-53.
16. Barlow SM, McElhatton PR, Sullivan FM. The relation between maternal restraint and food deprivation, plasma corticosterone, and induction of cleft palate in the offspring of mice. Teratology. 1975;12(2):97-103.
17. Kalter H. Factors influencing the frequency of cortisone-induced cleft palate in mice. J Exp Zool. 1957;134(3):449-67.
18. DeSesso JM, Scialli AR. Bone development in laboratory mammals used in developmental toxicity studies. Birth Defects Res. 2018;110(15):1157-87.
19. Authier S, Delatte MS, Kallman MJ, Stevens J, Markgraf C. EEG in non-clinical drug safety assessments: Current and emerging considerations. J Pharmacol Toxicol Methods. 2016;81:274-285.
20. Bassett L, Troncy E, Pouliot M, Paquette D, Ascah A, Authier S. Telemetry video-electroencephalography (EEG) in rats, dogs and non-human primates: methods in follow-up safety pharmacology seizure liability assessments. J Pharmacol Toxicol Methods. 2014;70(3):230-240.
21. McNicholas LF, Martin WR, Cherian S. Physical dependence on diazepam and lorazepam in the dog. J Pharmacol Exp Ther. 1983;226(3):783-789.
22. Löscher W, Honack D, Fassbender CP. Physical dependence on diazepam in the dog: precipitation of different abstinence syndromes by the benzodiazepine receptor antagonists Ro 15-1788 and ZK 93426. Br J Pharmacol. 1989;97(3):843-852.
23. Fraser HF, Isbell H. Abstinence syndrome in dogs after chronic barbiturate medication. J Pharmacol Exp Ther. 1954;112(3):261-7.
24. Deneau GA, Weiss S. A Substitution Technique for Determining Barbiturate-like Physiological Dependence Capacity in the Dog. Pharmacopsychiatry 1968; 1(4): 270-275.
25. Roche Laboratories Inc. Valium® brand of diazepam tablets [Package insert]: Distributed by Nutley (NJ): Roche Laboratories Inc. Revised. 2008.
26. Hillestad L, Hansen T, Melsom H. Diazepam metabolism in normal man. II. Serum concentration and clinical effect after oral administration and cumulation. Clin Pharmacol Ther. 1974;16(3):485-489.
27. Eatman FB, Colburn WA, Boxenbaum HG, et al. Pharmacokinetics of diazepam following multiple-dose oral administration to healthy human subjects. J Pharmacokinet Biopharm. 1977;5(5):481-494.

ザズベイカプセル 30 mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7 毒性試験概要表

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.7 毒性試験概要表 5
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 5
2.6.7.2 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 14
2.6.7.3 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(GLP 試験のみ) 17
2.6.7.4 毒性試験：被験物質 (ロット毎) 一覧 20
2.6.7.5 単回投与毒性試験：重要な試験以外の試験 22
2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験 25
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 31
2.6.7.7.1 ラット 2 週間反復経口投与毒性試験 31
2.6.7.7.2 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験 35
2.6.7.7.3 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験 39
2.6.7.7.4 イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験 42
2.6.7.7.5 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験 45
2.6.7.7.6 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験 49
2.6.7.7.7 イヌ 29 週及び 44 週間反復経口投与毒性試験 53
2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験 58
2.6.7.8.1 In vitro 試験：重要な試験以外の試験 58
2.6.7.8.2 細菌を用いる復帰突然変異試験：重要な試験 59
2.6.7.8.3 細菌を用いる復帰突然変異試験 (2)：重要な試験 61
2.6.7.8.4 ほ乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験：重要な試験 63
2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験 64
2.6.7.9.1 げっ歯類を用いる小核試験：重要な試験 64
2.6.7.10 がん原性試験 65
2.6.7.10.1 がん原性試験：重要な試験以外の試験 65
2.6.7.10.2 マウスがん原性試験：用量設定試験 68
2.6.7.10.3 マウスがん原性試験 71
2.6.7.10.4 ラットがん原性試験 74
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 82
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 86
2.6.7.12.1 雄性ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 86
2.6.7.12.2 雌性ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 89
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 91
2.6.7.13.1 ラット胚・胎児発生に関する試験 91
2.6.7.13.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 95

2.6.7.13.3 マウス胚・胎児発生に関する試験 98
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 101
2.6.7.14.1 ラット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 101
2.6.7.15 新生児を用いた試験 106
2.6.7.15.1 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験：重要な試験以外の試験 106
2.6.7.15.2 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験：重要な試験 108
2.6.7.15.3 幼若ラットにおけるズラノロンの神経変性に対する影響 111
2.6.7.16 局所刺激性試験 114
2.6.7.17 その他の毒性試験 115
2.6.7.17.1 薬物乱用及び身体依存性に関する試験 115
2.6.7.17.2 光毒性試験：In Vitro 118
2.6.7.17.3 不純物に関する試験：In Vitro 119

略号及び用語定義一覧表

略号	英語
2AA	2-aminoanthracene
2NF	2-nitrofluorene
9AAD	9-aminoacridine
$AUC_{0\text{-}Xhr\ (12,\ 24)}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to X hours postdose
$AUC_{0\text{-}t}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose
AUC_{last}	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration
CDP	chlordiazepoxide
CHO	Chinese hamster ovary
C_{max}	maximum plasma concentration
CP	cyclophosphamide
DMSO	dimethylsulfoxide
F	female
GD	gestation day
GLP	Good Laboratory Practice
HPβCD	hydroxypropyl-beta-cyclodextrin
hr	hour(s)
ICR	ICR-191 acridine
IP	intraperitoneal
IV	intravenous
Labrasol	PEG-8 caprylic/capric glycerides
LD	lactation day
M	male
MEC	molecular extinction coefficient

min	minute(s)
MMC	mitomycin C
MMS	methyl methanesulfonate
MN-PCE	micronucleated polychromatic erythrocytes
msec	millisecond(s)
MTD	maximum tolerated dose
N/A	not applicable
NC	not calculated
ND	not determined
NE	not examined
NMU	N-nitroso-N-methylurea
NOAEL	no observed adverse effect level
NQNO	4-nitroquinoline-N-oxide
NT	not tested
PAPS	3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate
PCE(s)	polychromatic erythrocyte(s)
PK	pharmacokinetic(s)
PND	postnatal day
PVP-VA	polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer
S9	microsomal liver preparations
SA	sodium azide
SBECD	sulfobutylether-beta-cyclodextrin
SD	standard deviation
SEM	standard error of the mean
TE	total erythrocytes (polychromatic erythrocytes + normochromatic erythrocytes)
TK	toxicokinetic(s)
w/w	weight/weight

Hematology

APTT	activated partial thromboplastin time

Blood Chemistry

ALP	alkaline phosphatase
ALT	alanine aminotransferase
AST	aspartate aminotransferase

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: zuranolone (SAGE-217, SGE-00797)

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	Phase A: M: 10, 15, 18, 20 mg/kg F: 2.5, 6, 10, 20 mg/kg	No	[redacted]	SSN-828	4.2.3.2-04
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	Tolerability Phase M: 20, 25, 30, 35, 40 mg/kg F: 2.5, 4, 5.0, 7.5, 10 mg/kg TK Phase M: 1, 3, 10, 20, 35 mg/kg F: 0.25, 0.75, 2.5, 5, 7.5 mg/kg	No	[redacted]	SSN-01399	4.2.3.1-01
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	M: 25, 30, 35 mg/kg F: 2.5, 4.0, 4.5, 5.0 mg/kg	No	[redacted]	SSN-01452	4.2.3.1-02
	Dog/Beagle	Oral gavage	Single	Phase A: 0.5, 1, 2, 2.5 mg/kg	No	[redacted]	SSN-827	4.2.3.2-11
	Dog/Beagle	Oral gavage	Single	1, 1.5, 2, 2.5, 3.0 mg/kg	No	[redacted]	SSN-01400	4.2.3.1-03
	Dog/Beagle	Oral gavage	Single	2, 2.5 mg/kg	No	[redacted]	SSN-01447	4.2.3.1-04
Repeat-Dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	5 days	0, 30, 45, 60, 100	Yes	[redacted]	SSN-01739	4.2.3.2-03
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	1 week	Phase B: M: 0, 15, 18, 20 F: 0, 3, 5, 7.5	No	[redacted]	SSN-828	4.2.3.2-04
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	1 week	M: 30, 35 F: 2.5, 4.0	No	[redacted]	SSN-01401	4.2.3.2-05

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	2 weeks	M: 0, 3, 10, 22.5 F: 0, 1, 3[b], 8	Yes	[redacted]	SSN-01028	4.2.3.2-06
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	2 weeks	M: 0, 3, 10, 22.5 F: 0, 1, 3[b], 8	Yes	[redacted]	SSN-01195	4.2.3.2-07
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	13 weeks	M: 0 (water), 0, (vehicle), 0.8, 2.5, 8, 30 F: 0 (water), 0, (vehicle), 0.15, 0.5, 1.5, 5	Yes	[redacted]	SSN-01403	4.2.3.2-08
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	26 weeks	M: 0, 3, 10, 30 F: 0, 0.5, 1.5, 5	Yes	[redacted]	SSN-02113	4.2.3.2-09
	Dog/Beagle	Oral gavage	2 days	3.5	No	[redacted]	SSN-711	4.2.3.2-10
	Dog/Beagle	Oral gavage	1 week	Phase B: 0, 1, 2, 2.5	No	[redacted]	SSN-827	4.2.3.2-11
	Dog/Beagle	Oral gavage	1 week	2, 2.5	No	[redacted]	SSN-01402	4.2.3.2-12
	Dog/Beagle	Oral gavage	2 weeks	0, 0.4, 1.0, 2.5	Yes	[redacted]	SSN-01029	4.2.3.2-13
	Dog/Beagle	Oral gavage	13 weeks	0 (water), 0, (vehicle), 0.06, 0.2, 0.6, 2	Yes	[redacted]	SSN-01404	4.2.3.2-14
	Dog/Beagle	Oral gavage	39 weeks	0, 0.6, 1.2, 2.5	Yes	[redacted]	SSN-01940	4.2.3.2-15
	Dog/Beagle	Oral gavage	29 or 44 weeks (episodic)	0, 1.2, 2.5	Yes	[redacted]	SSN-02892	4.2.3.2-16

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Genotoxicity	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvrA*	In vitro	2 days	1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000 and 5000 µg/plate (±S9)	No	[redacted]	SSN-01235	4.2.3.3-04
	CHO cells (CHOWBL)	In vitro	20 hours (-S9); 3 hours (+S9)	Definitive Assay 1 3.20, 6.40, 12.8, 25.6, 51.3, 102.5, 205 and 410 µg/mL (±S9) Definitive Assay 2 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 and 1.6 µg/mL (-S9)	No	[redacted]	SSN-01234	4.2.3.3-05
	Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvrA*	In vitro	48 to 72 hours	15, 50, 150, 500, 1500 and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted]	SSN-01032	4.2.3.3-01
	Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvrA*	In vitro	2 days	1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500 and 5000 µg/plate (+S9 and PAPS) Only vehicle and positive controls were tested -S9	Yes	[redacted]	SSN-01675	4.2.3.3-02
	CHO cells	In vitro	20 hours (-S9); 4 hours + 16 hours recovery (±S9)	5, 15 and 25 µg/mL (20 hours, -S9) 20, 40 and 50 µg/mL (4 hours + 16 hours recovery, -S9) 15, 30 and 45 µg/mL (4 hours + 16 hours recovery, +S9)	Yes	[redacted]	SSN-01033	4.2.3.3.1-03
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	0, 3, 10, 22.5, 30 mg/kg	Yes	[redacted]	SSN-01034	4.2.3.3-06

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Carcinogenicity	Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type [rasH2]	Oral gavage	Phase A: Single Phase B: 5 days	Phase A: 15, 30, 100, 300, 1000 mg/kg Phase B: 0, 50, 150, 500	No	[redacted]	SSN-02394	4.2.3.2-01
	Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type [rasH2]	Oral gavage	4 weeks	0, 30, 100, 300/200[c]	Yes	[redacted]	SSN-02546	4.2.3.2-02
	Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Oral gavage	26 weeks	0 (vehicle), 0 (water), 10, 30, 100	Yes	[redacted]	SSN-02759	4.2.3.4-02
	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	104 weeks	M: 0 (vehicle), 0 (water), 2, 6, 20 F: 0 (vehicle), 0 (water), 0.2, 0.6, 1.5	Yes	[redacted]	SSN-01992	4.2.3.4-01
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	51 to 52 days to M animals only (28 days prior to mating with untreated females, through mating, and until termination)	0, 3, 10, 30[d]	Yes	[redacted]	SSN-01854	4.2.3.5-02

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	To F animals only (15 days prior to mating, during mating with untreated males, and until GD7)	0, 1, 3, 10[e]	Yes	[redacted]	SSN-01853	4.2.3.5-01
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6–17	0, 1, 4, 7.5, 15, 30, 100[f]	No	[redacted]	SSN-01408[g]	4.2.3.5-03
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6–17	0, 2.5, 7.5, 22.5[i]	Yes	[redacted]	SSN-01409	4.2.3.5-04
	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	Toxicity Phase: Day 1-7 Pregnant Phase: GD7-19	Toxicity Phase: 5, 20, 100, 500, 1000 Pregnant Phase: 0, 50, 150, 500[h]	No	[redacted]	SSN-01410	4.2.3.5-05
	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	GD7–19	0, 25, 125, 500[j]	Yes	[redacted]	SSN-02116	4.2.3.5-06
	Mouse/Crl: CD1 (ICR)	Oral gavage	GD6-15	0, 30, 100, 300, 450	No	[redacted]	SSN-16602	4.2.3.5-11
	Mouse/Crl: CD1 (ICR)	Oral gavage	GD6-15	0, 30, 100[m], 300	Yes	[redacted]	SSN-100396	4.2.3.5-12
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6–LD20	0, 1, 4, 10	Yes	[redacted]	SSN-02585	4.2.3.5-07

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Juvenile toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Phase A: 5 days starting on PND 7 or 22 Phase B: 4 weeks starting on PND 7	Phase A: Preweaning (PND 7 to 11): 20, 40, 60, 100 Postweaning (PND 22 to 26): 20, 60, 80, 100 Phase B (PND 7 to 34/35: 0, 3, 10, 30[k]	No	[redacted]	SSN-01406	4.2.3.5-08
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	7 weeks	M: 0, 3, 10, 30 F (PND 22 to 35): 0, 3, 10, 30 F (PND 36 to 71): 0, 1, 3, 10[l]	Yes	[redacted]	SSN-02819	4.2.3.5-09
	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	single starting on PND 7	0 (water), 0 (vehicle), 2.5, 7.5	Yes	[redacted]	SSN-03751	4.2.3.5-10
Other Toxicity								
Drug Discrimination: Stimulus Generalization to Midazolam in Males	Rat/Lister Hooded	IP	Single dose	0, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3	Yes	[redacted]	SSN-02450	4.2.3.7-01
Drug Discrimination: Stimulus Generalization to Midazolam in Females	Rat/Lister Hooded	IP	Single dose	0, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 2	Yes	[redacted]	SSN-02904	4.2.3.7-02
Spontaneous Withdrawal in Males	Rat/Lister Hooded	Oral (gavage)	28 days	0, 2, 6, 20	Yes	[redacted]	SSN-02451	4.2.3.7-03
Spontaneous Withdrawal in Females	Rat/Lister Hooded	Oral (gavage)	28 days	0, 0.5, 1.5, 5	Yes	[redacted]	SSN-02865[g]	4.2.3.7-04

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Self-Administration: Reinforcing Properties in Females	Rat/Lister Hooded	IV infusion	Self-administered	0, 0.01, 0.03, 0.05	Yes	[redacted]	SSN-02905[g]	4.2.3.7-05
Impurities								
Reverse Mutation Test of SGE-1559 with Bacteria	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvr*A	In vitro	2 days	6.25, 12.5, 25, 50, 100, 250 and 500 µg/plate (-S9) 50, 100, 250, 500, 1000, 2500 and 5000 µg/plate (+S9)	Yes	[redacted]	SSN-02921	4.2.3.7-06
Reverse Mutation Test of SGE-2748 with Bacteria	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvr*A	In vitro	2 days	10, 25, 50, 100, 250, 500 and 1000 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted]	SSN-02920	4.2.3.7-07
Reverse Mutation Test of SGE-2749 with Bacteria	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvr*A	In vitro	2 days	10, 25, 50, 100, 250, 500 and 1000 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted]	SSN-02919	4.2.3.7-08
Reverse Mutation Test of SGE-2054 with Bacteria	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvr*A	In vitro	2 days	10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500, and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted]	SSN-03359	4.2.3.7-09
Reverse Mutation Test of SGE-1932 with Bacteria	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvr*A	In vitro	2 days	10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500, and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted]	SSN-03358	4.2.3.7-10

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Reverse Mutation Test of SGE-6334 with Bacteria	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvr*A	In vitro	2 days	100, 250, 500, 1000, 2500, and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted]	SSN-03357	4.2.3.7-11
Reverse Mutation Test of SGE-2747 with Bacteria	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvr*A	In vitro	2 days	100, 250, 500, 1000, 2500, and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted]	SSN-03356	4.2.3.7-12
Reverse Mutation Test of SGE-7382 with Bacteria	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvr*A	In vitro	2 days	100, 250, 500, 1000, 2500 and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted]	SSN-03689	4.2.3.7-13
Reverse Mutation Test of SGE-7390 with Bacteria	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvr*A	In vitro	2 days	3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 and 2500 µg/plate (±S9)	Yes	[redacted]	SSN-03690	4.2.3.7-14
Phototoxicity								
UV-Vis Absorbance	N/A	In vitro	N/A	0.03 mg/mL	No	[redacted]	SSN-03950	4.2.3.7-15

CHO = Chinese hamster ovary; F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; LD = lactation day; M = male; N/A = not applicable; NOAEL = no observed adverse effect level; PAPS = 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate; PND = postnatal day; S9 = microsomal liver preparations; TK = toxicokinetic

a Unless otherwise specified. For Repeat-Dose Toxicity, and Reproductive and Developmental Toxicity (reproductive functions, maternal reproductive function, and embryo-fetal development), the highest NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) is underlined.

b NOAEL was based on mortality (1F at 8 mg/kg) in SSN-01195 (Location in CTD: 4.2.3.2-07).

c Due to mortalities at 300 mg/kg, the dose was reduced to 200 mg/kg/day starting on Day 7.

d In F_0 males, the NOAEL for paternal toxicity was 10 mg/kg/day and the NOAEL for male fertility and reproductive function was 30 mg/kg/day.

e In F_0 females, the NOAEL for maternal toxicity was 3 mg/kg/day and the NOAEL for mating, fertility, and reproduction in females was 10 mg/kg/day.

f NOAEL for maternal toxicity was 4 mg/kg/day and the NOAEL for developmental toxicity was 15 mg/kg/day.
g The Final Report and the Short Form Final Report Amendment are for the same study, and constitute the final report and the description of what is amended; therefore, they should be reviewed together.
h NOAEL for maternal toxicity was <50 mg/kg/day and the NOAEL for developmental toxicity was 500 mg/kg/day.
i NOAEL for maternal toxicity was 2.5 mg/kg/day and the NOAEL for developmental toxicity was 7.5 mg/kg/day.
j NOAEL for maternal toxicity was 25 mg/kg/day and the NOAEL for developmental toxicity was 125 mg/kg/day.
k An additional group of pups was administered a dose level of 30 mg/kg/day beginning on PND 7. This group was included to allow for the possibility of increasing the dosage to 60 mg/kg/day after ~2 weeks of dose administration to adjust for differences in sensitivity to the test article at different ages. Based on the effects observed at 30 mg/kg/day, the dose level increase was not implemented.
l NOAEL for motor activity in female animals was 3/1 mg/kg/day. NOAELs for survival, growth, sexual maturation (F), motor activity (M), and reproductive function are 10 and 10/3 mg/kg/day for males and females, respectively. NOAELs for systemic toxicity, sexual maturation (M) acoustic startle response, and learning and memory are 30 and 30/10 mg/kg/day for males and females, respectively.
m SSN-100396 (Location in CTD: 4.2.3.5-12) stated that NOAEL for maternal toxicity was 300 mg/kg/day and the NOAEL for developmental toxicity was 100 mg/kg/day. However, the applicant considered that the suppression of body weight gain of the maternal animals in the 300 mg/kg/day group was a toxicity findings and NOAEL for maternal toxicity should be 100 mg/kg/day.

2.6.7.2 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

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Nonpivotal Single-Dose	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	M: 1, 3, 10, 20, 35 F: 0.25, 0.75, 2.5, 5, 7.5	No	SSN-01399	4.2.3.1-01
Nonpivotal Single-Dose	Dog/Beagle	Oral gavage	1, 1.5, 2, 2.5, 3.0	No	SSN-01400	4.2.3.1-03
Nonpivotal RepeatDose (5-day)	Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type [rasH2]	Oral gavage	Phase B: 50, 150, 500	No	SSN-02394	4.2.3.2-01
Nonpivotal RepeatDose (5-day)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	0, 30, 45, 60, 100	Yes	SSN-01739	4.2.3.2-03
Nonpivotal RepeatDose (1-week)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	Phase B: M: 15, 18, 20 F: 3, 5, 7.5	No	SSN-828	4.2.3.2-04
Nonpivotal RepeatDose (1-week))	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	M: 30, 35 F: 2.5, 4.0	No	SSN-01401	4.2.3.2-05
Nonpivotal RepeatDose (2-week)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	M: 0, 3, 10, 22.5 F: 0, 1, 3, 8	Yes	SSN-01195	4.2.3.2-07
Nonpivotal RepeatDose (2-day)	Dog/Beagle	Oral gavage	3.5	No	SSN-711	4.2.3.2-10
Nonpivotal RepeatDose (1-week)	Dog/Beagle	Oral gavage	Phase B: 0, 1, 2, 2.5	No	SSN-827	4.2.3.2-11
Nonpivotal RepeatDose (1-week)	Dog/Beagle	Oral gavage	2, 2.5	No	SSN-01402	4.2.3.2-12
Pivotal Repeat-Dose (4-week)	Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type [rasH2]	Oral gavage	0, 30, 100, 300/200[a]	Yes	SSN-02546	4.2.3.2-02
Pivotal Repeat-Dose (13-week)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	M: 0 (water), 0, (vehicle), 0.8, 2.5, 8, 30 F: 0 (water), 0, (vehicle), 0.15, 0.5, 1.5, 5	Yes	SSN-01403	4.2.3.2-08
Pivotal Repeat-Dose (26-week)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	M: 0, 3, 10, 30 F: 0, 0.5, 1.5, 5	Yes	SSN-02113	4.2.3.2-09
Pivotal Repeat-Dose (2-week)	Dog/Beagle	Oral gavage	0, 0.4, 1.0, 2.5	Yes	SSN-01029	4.2.3.2-13

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Pivotal Repeat-Dose (13-week)	Dog/Beagle	Oral gavage	0 (water), 0, (vehicle), 0.06, 0.2, 0.6, 2	Yes	SSN-01404	4.2.3.2-14
Pivotal Repeat-Dose (39-week)	Dog/Beagle	Oral gavage	0, 0.6, 1.2, 2.5	Yes	SSN-01940	4.2.3.2-15
Pivotal Repeat-Dose (29 or 44-week)	Dog/Beagle	Oral gavage	0, 1.2, 2.5	Yes	SSN-02892	4.2.3.2-16
Pivotal Short or Medium Term Carcinogenicity (26-week)	Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	Oral gavage	0 (vehicle), 0 (water), 10, 30, 100	Yes	SSN-02759	4.2.3.4-02
Pivotal Long Term Carcinogenicity (104-week)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	M: 0 (vehicle), 0 (water), 2, 6, 20 F: 0 (vehicle), 0 (water), 0.2, 0.6, 1.5	Yes	SSN-01992	4.2.3.4-01
Fertility and early embryonic development to implantation	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	0, 3, 10, 30	Yes	SSN-01854	4.2.3.5-02
Fertility and early embryonic development to implantation	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	0, 1, 3, 10	Yes	SSN-01853	4.2.3.5-01
Dose range-finding embryofetal development	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	7.5, 15, 30, 100	No	SSN-01408	4.2.3.5-03
Dose range-finding embryofetal development	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	Toxicity Phase: 5, 20, 100, 500, 1000 Pregnant Phase: 50, 150, 500	No	SSN-01410	4.2.3.5-05
Dose range-finding embryofetal development	Mouse/ Crl: CD1 (ICR)	Oral gavage	0, 30, 100, 300, 450	No	SSN-16602	4.2.3.5-11
Embryo-fetal development (Pivotal)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	0, 2.5, 7.5, 22.5	Yes	SSN-01409	4.2.3.4-04
Embryo-fetal development (Pivotal)	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	0, 25, 125, 500	Yes	SSN-02116	4.2.3.5-06
Embryo-fetal development (Pivotal)	Mouse/ Crl: CD1 (ICR)	Oral gavage	0, 30, 100, 300	Yes	SSN-100396	4.2.3.5-12
Pre- and postnatal development	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	0, 1, 4, 10	Yes	SSN-02585	4.2.3.5-07
Dose range-finding Juvenile Toxicity	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	3, 10, 30[b]	No	SSN-01406	4.2.3.5-08
Pivotal Juvenile Toxicity	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	M: 0, 3, 10, 30 F (PND 22 to 35): 0, 3, 10, 30 F (PND 35 to 71): 0, 1, 3, 10	Yes	SSN-02819	4.2.3.5-09
Juvenile Toxicity (additional study)	Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	0 (water), 0 (vehicle), 2.5, 7.5	Yes	SSN-03751	4.2.3.5-10

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Drug discrimination: Stimulus Generalization to Midazolam in Males	Rat/Lister Hooded	IP	0, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3	Yes	SSN-02450	4.2.3.7-01
Drug discrimination: Stimulus Generalization to Midazolam in Females	Rat/Lister Hooded	IP	0, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 2	Yes	SSN-02904	4.2.3.7-02
Spontaneous Withdrawal in Males	Rat/Lister Hooded	Oral gavage	0, 2, 6, 20	Yes	SSN-02451	4.2.3.7-03

F = female; GLP = Good Laboratory Practice; IP = intraperitoneal; M = male; PND = postnatal day

a Due to mortalities at 300 mg/kg, the dose was reduced to 200 mg/kg/day starting on Day 7.

b An additional group of pups was administered a dose level of 30 mg/kg/day beginning on PND 7. This group was included to allow for the possibility of increasing the dosage to 60 mg/kg/day after ~2 weeks of dose administration to adjust for differences in sensitivity to the test article at different ages. Based on the effects observed at 30 mg/kg/day, the dose level increase was not implemented.

2.6.7.3 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(GLP 試験のみ)

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Daily Dose (mg/kg)	Steady State C_{max} (ng/mL)							
	Mice		Rats		Rabbits	Dogs		Humans
	M	F	M	F	F	M	F	M & F
0.06						17.2[a]	16.2[a]	
0.15				33.2[b]				
0.2				65.9[c]		61.5[a]	48.0[a]	
0.4						121[d]	115[d]	
0.5				79.3[b], 83.9[e]				
0.6				168[c]		171[a], 183[f]	160[a], 196[f]	67.2[u]
0.8			44.3[b]					
1				121[g], 228[h], 223[i], 272[j]		289[d]	320[d]	
1.2						467[f], 303[s], 316[t]	352[f], 338[s], 345[t]	
1.5				218[b], 295[e], 307[c]				
2			202[c]			498[a]	469[a]	
2.5			155[b]	281[k]		716[d], 621[f], 738[s], 604[t]	746[d], 730[f], 645[s], 597[t]	
3			62.0[g], 168[e], 227[l], 271[m]	392[g], 480[h], 240[m]				
4				500[i]				
5				411[b], 564[e]				
6			305[c]					
7.5				656[k]				
8			266[b]	921[g]				
10	370[n]	399[n]	225[g], 350[e], 404[l], 506[m]	940[h], 497[m], 912[i]				
20			457[c]					
22.5			502[g]	1210[k]				
25					11.0[o]			
30	713[p], 550[n]	1280[p], 1530[n], 583[v]	393[b], 429[e], 450[l], 568[m], 450[q]	783[m]				
45			543[q]					
60			546[q]					
100	1350[p], 1140[n]	1320[p], 1430[n], 748[v]	657[q]					
125					39.1[o]			
300/200[r]	1250[p]	1470[p]						
300		1010[v]						
500					21.1[o]			

Daily Dose (mg/kg)	Steady State $AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)							
	Mice		Rats		Rabbits	Dogs		Humans
	M	F	M	F	F	M	F	M & F
0.06						203[a]	182[a]	
0.15				460[b]				
0.2				828[c]		732[a]	505[a]	
0.4						1940[d]	1450[d]	
0.5				1230[b], 1310[e]				
0.6				2100[c]		2190[a], 2500[f]	1770[a], 2480[f]	943.7[u]
0.8			226[b]					
1				1950[g], 2360[h], 2420[i], 1860[j]		4220[d]	3970[d]	
1.2						7500[f], 4050[s], 4290[t]	5300[f], 4360[s], 4590[t]	
1.5				3190[b], 4060[e], 4560[c]				
2			2280[c]			6920[a]	6860[a]	
2.5			1300[b]	3710[k]		11 000[d], 9840[f], 10 800[s], 8450[t]	11 200[d], 11 500[f], 9460[s], 8660[t]	
3			891[g], 1690[e], 1580[l], 1690[m]	5270[g], 5150[h], 2610[m]				
4				7030[i]				
5				6110[b], 7590[e]				
6			4430[c]					
7.5				9380[k]				
8			2820[b]	12 900[g]				
10	1300[n]	1110[n]	2570[g], 4560[e], 4540[l], 3740[m]	11 000[h], 5440[m], 10 400[i]				
20			6430[c]					
22.5			5050[g]	18 700[k]				
25					291[o]			
30	1830[p], 2540[n]	2490[p], 2450[n], 1870[v]	4340[b], 6350[e], 3540[l], 4250[m], 6260[q]	11 000[m]				
45			7700[q]					
60			7310[q]					
100	3320[p], 5320[n]	4170[p], 4820[n], 5500[v]	10 600[q]					
125					663[o]			
300/200[r]	7500[p]	7320[p]						
300		7980[v]						

500					260[o]			

F = female; M = male; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration

a 13-week oral toxicity study in dogs (SSN-01404, Location in CTD: 4.2.3.2-14).
b 13-week oral toxicity study in rats (SSN-01403, Location in CTD: 4.2.3.2-08).
c 104-week oral carcinogenicity study in rats (SSN-01992, Location in CTD: 4.2.3.4-01).
d 2-week oral toxicity study in dogs (SSN-01029, Location in CTD: 4.2.3.2-13).
e 26-week oral toxicity study in rats (SSN-02113, Location in CTD: 4.2.3.2-09).
f 39-week oral toxicity study in dogs (SSN-01940, Location in CTD: 4.2.3.2-15).
g 2-week oral toxicokinetics study in rats (SSN-01195, Location in CTD: 4.2.3.2-07).
h Fertility and early embryonic development to implantation study in female rats (SSN-01853, Location in CTD: 4.2.3.5-01).
i Pre- and postnatal development study in rats, AUC from Gestation Day 17 (SSN-02585, Location in CTD: 4.2.3.5-07).
j Pre- and postnatal development study in rats, AUC from Lactation Day 10 (SSN-02585, Location in CTD: 4.2.3.5-07).
k Embryofetal development study in rats (SSN-01409, Location in CTD: 4.2.3.5-04).
l Fertility and early embryonic development to implantation study in male rats (SSN-01854, Location in CTD: 4.2.3.5-02).
m 7-week juvenile toxicity study in rats (SSN-02819, Location in CTD: 4.2.3.5-09). In female rats, the dose levels were reduced on PND36 through scheduled euthanasia from 3, 10, and 10 mg/kg/day to 1, 3, and 10 mg/kg/day, respectively.
n 26-week oral carcinogenicity study in mice (SSN-02759, Location in CTD: 4.2.3.4-02).
o Embryo-fetal development study in rabbits (SSN-02116, Location in CTD: 4.2.3.5-06).
p 4-week oral toxicity study in mice (SSN-02546, Location in CTD: 4.2.3.2-02).
q 5-day oral toxicity study in rats (SSN-01739, Location in CTD: 4.2.3.2-03).
r Animals received 300 mg/kg/day through Day 6. Beginning on Day 7, the dose level was reduced to 200 mg/kg/day.
s 29-week or 44-week oral toxicity study in dogs. On day12 in Regimen 1 (2-week dosing and 6-week non-dosing for 6-cycles) (SSN-02892, Location in CTD: 4.2.3.2-16)
t 29-week or 44-week oral toxicity study in dogs. On day12 in Regimen 2 (2-week dosing and 3-week non-dosing for 6-cycles) (SSN-02892, Location in CTD: 4.2.3.2-16)
u Population pahramacokinetic analysis study in humans (refer to Table 2.7.2.3-5 in Section 2.7.2.3.3). Dose was calculated from the clinical dose (30 mg) and human body weight (assumed to be 50 kg).
v Embryofetal development study in mice (SSN-100396, Location in CTD: 4.2.3.5-12)

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（ロット毎）一覧

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)					Study Number	Type of Study
		不純物I	化合物C	不純物J	出発物質B	不純物C		
		Proposed Specification						
		NMT 0.15% w/w	NMT 0.15% w/w	NMT 0.15% w/w	NMT 0.15% w/w	NMT 60 ppm		
バッチA[a]	95.9	0.07	0.39[b]	0.08	358 ppm	0.09	SSN-01028	2-Week repeat-dose toxicity in rat
							SSN-01195	2-Week repeat-dose toxicokinetics in rat
							SSN-01029	2-Week repeat-dose toxicity in dog
バッチB	100.0	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	SSN-01032	Bacterial reverse mutation assay
							SSN-01033	Chromosome aberration assay
							SSN-01034	Micronucleus assay
バッチC	100.0	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	SSN-01675	Bacterial reverse mutation assay
							SSN-01409	Embryo-fetal development in rat
バッチD	99.1	Not detected	<50 ppm	Not detected	61 ppm	Not detected	SSN-01739	5-Day repeat-dose toxicity in rat
							SSN-01403	13-Week repeat-dose toxicity in rat
							SSN-01404	13-Week repeat-dose toxicity in dog
バッチE	100.0	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	SSN-01853	Fertility and early embryonic development to implantation in female rat
							SSN-01854	Fertility and early embryonic development to implantation in male rat
バッチF	99.5	<0.05[b]	Not detected[b]	Not detected	Not detected	<0.05[b]	SSN-02546	4-Week repeat-dose toxicity in mouse
							SSN-02113	26-Week repeat-dose toxicity in rat
							SSN-01940	39-Week repeat-dose toxicity in dog
							SSN-02759	26-Week carcinogenicity in mouse
							SSN-01992	104-Week carcinogenicity in rat
							SSN-02116	Embryo-fetal development in rabbit
							SSN-02450	Drug Discrimination: Stimulus generalization to Midazolam in male rat
							SSN-02904	Drug Discrimination: Stimulus generalization to Midazolam in female rat
							SSN-02451	Spontaneous withdrawal in male rat
							SSN-02865	Spontaneous withdrawal in female rat
							SSN-02905	Self-Administration: Reinforcing properties in female rat
							SSN-02585	Pre- and postnatal development study in rat
							SSN-02819	7-Week juvenile toxicity in rat

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)					Study Number	Type of Study
		不純物I	化合物C	不純物J	出発物質B	不純物C		
		Proposed Specification						
		NMT 0.15% w/w	NMT 0.15% w/w	NMT 0.15% w/w	NMT 0.15% w/w	NMT 60 ppm		
バッチG	100.5	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	SSN-02892	29- or 44-Week repeat-dose toxicity in dog
							SSN-03751	Neurodegeneration in juvenile rat
バッチH	99.5	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	SSN-100396	Embryo-fetal development in mouse

w/w = weight/weight

a バッチA was tested for additional attributes using new/updated analytical methods and a certificate of analysis was reissued with the changes. Updates include 1) Purity (HPLC-UV) by % area was updated to Assay (HPLC-CAD) by % weight by developing a quantitative method for Assay by % weight and the detection was changed from Charged Aerosal Detection (CAD) to UltraViolet (UV) detection. 2) Related Impurities by % area was updated to % weight and multiple chromatographic methods were implemented for quantitating impurities using CAD and UV. 3) ROI, LOD, DSC, Melting Point, Specific Rotation and XRPD tests were added.

b Recorded as % w/w.

2.6.7.5 単回投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Numbe/ [Location in CTD]
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (Labrasol)	Single dose phase: M: 10, 15, 18, 20 F: 2.5, 6, 10, 20	Single dose phase: 3M, 3F	Single dose phase: M: 20 F: 6	Single dose phase: M: >20 F: 10	Single dose phase (Phase A): Mortalities in 1F at 20 mg/kg (found dead at ~13.5hr postdose) and remaining F animals in the 10 and 20 mg/kg groups were euthanized *in extremis* on Day 2 due to clinical signs indicative of animal distress (slow breathing, decreased activity, muscle twitching, tremors, lack of righting reflex, piloerection, and unkept appearance) that were consistent with the severity and duration of sedation. Clinical findings were consistent with dose-dependent sedation[a] (Phase 2 [mild] to 4 [severe] in 6 mg/kg females, Phase 2 in 18 mg/kg males, Phase 2 to 3 [moderate] in 20 mg/kg males, Phase 3 in 10 mg/kg females, Phase 3 to 4 in 20 mg/kg females), which is an exaggerated pharmacologic effect of SAGE-217. Clinical signs preceding sedation included ↓ activity, low carriage, ataxia, closed eyelids, righting reflex impaired, material around eyes and nose.	SSN-828 [4.2.3.2-04]
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	Tolerability Phase: M: 20, 25, 30, 35, 40 F: 2.5, 4, 5, 7.5, 10 TK Phase: M: 1, 3, 10, 20, 35[b] F: 0.25, 0.75, 2.5, 5, 7.5	Tolerability Phase: 3M, 3F TK Phase: 6M, 6F	M: 40 F: 4	M: >40 F: 5	Mortalities in 2F at 10 mg/kg and all females in the 5 mg/kg group were euthanized due to the severity and prolonged duration of sedation and body cool to touch. Sedation[a] Phase 2 (mild) to 3 (moderate) observed in male animals and Phase 3 to 4 (severe) in females (no dose-response). Clinical signs in all SAGE-217 groups included impaired equilibrium, partial/complete eye closure, hypoactivity, hyper-sensitivity/reactivity to touch and/or sound, myoclonus, tremors, exophthalmos, chromodacryorrhea, inability to right self, and/or loss of body tone (more severe in females). TK (plasma): C_{max} (M/F): 64.0/38.8, 196/104, 387/364, 453/710, and 440/641 ng/mL at 1/0.25, 3/0.75, 10/2.5, 20/5, and 35[b]/ 7.5 mg/kg, respectively. AUC_{last} (M/F): 246/218, 813/635, 4050/3970, 5710/10, 200, and 5480/7640 ng·hr/mL at 1/0.25, 3/0.75, 10/2.5, 20/5, and	SSN-01399 [4.2.3.1-01]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Numbe/ [Location in CTD]
						35[b]/7.5 mg/kg, respectively.	
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	M: 25, 30, 35 F: 2.5, 4.0, 4.5, 5.0	3M, 3F	M: 35 F: 5.0	M: >35 F: >5.0	Sedation[a] phase 2 (mild) to 3 (moderate) observed in all animals (dose-dependent in severity). Clinical signs in all SAGE-217 groups (hypoactivity, impaired equilibrium, hypersensitivity to touch and/or sound, partial closure of the eyes, and/or loss of righting reflex) were generally consistent with the sedative pharmacologic effects of SAGE-217.	SSN-01452 [4.2.3.1-02]
Dog/Beagle	Oral gavage (30% HPβCD)	Single dose phase: 0.5, 1, 2, 2.5	Single dose phase: 2M, 2F	Single dose phase: 2.5	Single dose phase: >2.5	Single dose phase (Phase A): Clinical findings were consistent with dose-dependent sedation[a] (Phase 3 [moderate] to 4 [severe] sedation at ≥1 mg/kg), which is an exaggerated pharmacologic effect of SAGE-217. ≥1 mg/kg: ↓ activity, ataxia, lateral recumbency, tremors, hypersensitivity (to sound), lacrimation, and skin that was cold to the touch.	SSN-827 [4.2.3.2-11]
Dog/Beagle	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	1, 1.5, 2, 2.5, 3.0	3M, 3F	3.0	>3.0	Clinical findings were consistent with sedation[a] (Phase 2 [mild] to 4 [severe]), which is an exaggerated pharmacologic effect of SAGE-217. Clinical signs (impaired equilibrium, hypoactivity, tremors, partial or complete closure of both eyes, loss of body tone, and/or hypersensitivity to touch and sound) were generally consistent with the sedative pharmacologic effects of SAGE-217. TK (plasma): C_{max} (M/F): 247/275, 367/363, 459/529, 478/543, and 630/764 ng/mL at 1, 1.5, 2, 2.5, and 3.0 mg/kg, respectively. AUC_{last} (M/F): 2550/3320, 3760/4320, 4840/6700, 5910/7450, and 8980/ 9620 ng·hr/mL at 1, 1.5, 2, 2.5, and 3.0 mg/kg, respectively.	SSN-01400 [4.2.3.1-03]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Numbe/ [Location in CTD]
Dog/Beagle	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	2, 2.5	2M, 2F	2.5	>2.5	Clinical findings were consistent with sedation[a] (Phase 2 [mild] to 3 [moderate]), which is an exaggerated pharmacologic effect of SAGE-217. Clinical signs (hypoactivity, impaired equilibrium, hypersensitivity to touch and/or sound, partial or complete closure of the eyes, tonic extension of the forelimbs, tremors, and/or inability to right self) were generally consistent with sedation.	SSN-01447 [4.2.3.1-04]

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; hr = hour(s); HPβCD = hydroxypropyl-beta-cyclodextrin; Labrasol = PEG-8 caprylic/capric glycerides; M = male; PVP-VA = polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer; TK = toxicokinetics.

a Sedation is graded based on the following characteristics:
Phase 1 (Normal) - All functions are normal, unless altered directly by the experimental procedure;
Phase 2 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact that is sufficient to prevent entrapment or injury and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;
Phase 3 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Phase 4 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.

b Based on dose formulation analysis, the actual dose administered was 22.1 mg/kg (nominal 35 mg/kg).

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	5 days	0, 30, 45, 60, 100	10M (3 to 9 M) [a]	ND	Mortalities in 1 control animal (blood collection complications), 1M (main study) at 45 mg/kg (found dead on Day 1; possibly related to SAGE217 but ultimately unclear), 2M (main study) and 1M (TK group) at 60 mg/kg euthanized moribund on Day 1, and 1M (main study) and 1M (TK group) at 100 mg/kg euthanized moribund on Day 1, and 1M (main study) at 100 mg/kg found dead on Day 6 (blood collection complications). Clinical signs prior to euthanasia included hypothermia (cold to the touch) and/or labored, irregular breathing that included abnormal sounds, and main study animals were noted with grade 3 (severe) sedation. Clinical signs were consistent with dose-dependent sedation[b] (grade 1 [mild] to 2 [moderate] sedation at ≥30 mg/kg and grade 3 sedation at ≥60 mg/kg), which is an anticipated pharmacologic effect of SAGE-217. ≥30 mg/kg: sedation (as noted above) ≥45 mg/kg: hyper-reactivity ≥60 mg/kg: decreased activity, hypothermia (cold to the touch), and labored, irregular breathing with abnormal sounds. 100 mg/kg: 1 animal found lying on its side, cold to the touch, with labored irregular breathing that included abnormal sounds; another animal had decreased activity, non-sustained convulsions, loss of consciousness, hypothermia (cool to the touch), suspected dehydration, abnormal shallow breathing, and red urine on Day 6. MTD = 30 mg/kg TK (plasma): Day 1: C_{max}: 539, 568, 750, and 611 ng/mL at 30, 45, 60, and 100 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 6300, 8010, 10 400, and 8180 ng·hr/mL at 30, 45, 60, and 100 mg/kg, respectively.	SSN-01739 [4.2.3.2-03]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
						Day 5: C_{max}: 450, 543, 546, and 657 ng/mL at 30, 45, 60, and 100 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 6260, 7700, 7310, and 10 600 ng·hr/mL at 30, 45, 60, and 100 mg/kg, respectively.	
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (Labrasol)	Repeated Dose Phase: 7 days	Repeated Dose Phase: M: 0, 15, 18, 20 F: 0, 3, 5, 7.5	Repeated Dose Phase: 5M, 5F (6M, 6F)[a]	Repeated Dose Phase: M: ND F: ND	Repeated Dose Phase (Phase B): Mortality in 1F at 5 mg/kg (procedure-related). Clinical findings were consistent with dose-dependent sedation[b] (Phase 2 [mild] sedation in 3 mg/kg females and in 15 mg/kg males, Phase 2 to 3 [moderate] in ≥5 mg/kg in females and ≥18 mg/kg in males). Clinical signs prior to sedation in M at ≥15 mg/kg (M) and ≥3 mg/kg (F) included ↓ activity, low carriage, ataxia, closed eyelids, righting reflex impaired, material around eyes and nose, and wet/discolored hair on the face or around the anogenital region. ≥3 mg/kg F: ↑ in urea nitrogen. 7.5 mg/kg F: ↓ in glucose and ↑ adrenal weights. 20 mg/kg M: ↑ in total leukocytes, neutrophils, lymphocytes, urea nitrogen and creatinine, ↑ in adrenal weights. MTD = >20 (M) and >7.5 (F) mg/kg TK (plasma): Day 1: C_{max} (M/F): 236/163, 235/394, and 242/254 ng/mL at 15/3, 18/5, and 20/7.5 mg/kg, respectively. $AUC_{0\text{-}24hr}$ (M/F): 2910/2780, 3630/5620, and 3470/3870 ng·hr/mL at 15/3, 18/5, and 20/7.5 mg/kg, respectively. Day 7: C_{max} (M/F): 269/289, 223/410, and 412/416 ng/mL at 15/3, 18/5, and 20/7.5 mg/kg, respectively. $AUC_{0\text{-}24hr}$ (M/F): N/A[c]/4130, 2990/6410, and 4880/5920 ng·hr/mL at 15/3, 18/5, and 20/7.5 mg/kg, respectively.	SSN-828 [4.2.3.2-04]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (2% w/v PVPVA in deionized water)	7 days	M: 30, 35 F: 2.5, 4.0	3M, 3F	ND	Sedation[b] grade 1 (normal) to 2 (mild) in F at 2.5 mg/kg and grade 2 to 3 (moderate) in F at 4.0 mg/kg and in M at ≥30 mg/kg. ≥2.5 mg/kg (F): hypoactivity, impaired equilibrium, hyper-reactivity to touch and/or sound, and hypersensitivity to touch. 4.0 mg/kg (F): tremors, exophthalmos, and inability to right self. ≥30 mg/kg (M): hypoactivity, prostration, impaired equilibrium, hyper-reactivity to touch and/or sound, hypersensitivity to touch, exophthalmos, partial closure of the eyes, inability to right self and splayed limbs. 35 mg/kg (M): labored respiration MTD = 35 (M) and 4 (F) mg/kg TK (plasma), Day 6: C_{max} (M/F): 352/345 and 368/519 ng/mL at 30/2.5 and 35/4.0 mg/kg, respectively. AUC_{last} (M/F): 2710/2720 and 3660/4920 ng·hr/mL at 30/2.5 and 35/4.0 mg/kg, respectively.	SSN-01401 [4.2.3.2-05]
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (Labrasol)	14 days	M: 0, 3, 10, 22.5 F: 0, 1, 3, 8	3 to 6M, 3 to 6F	ND	Mortality in 1 control F (dosing-related trauma); 1F at 8 mg/kg (found dead on Day 5; may have been related to severe sedation). Clinical signs in this animal prior to death included Phase 4[b] (severe) sedation, ↓ activity, ataxia, and impaired righting reflex. Clinical signs were consistent with dose-dependent sedation[b] (Phase 2 [mild] sedation in 1F at 3 mg/kg and Phase 2 to 4 sedation at 8 mg/kg in F). 3 and 22.5 mg/kg M: salivation. ≥1 mg/kg F: ↑ in body weight gain. 8 mg/kg F: clinical signs consisted of ↓ activity, low carriage, ataxia, slow breathing, tremors, prostration, closed eyelids, impaired righting reflex, and material around the eyes, and/or lacrimation. TK (plasma): Day 1: C_{max} (M/F): 40.6/88.1, 135/306, and 285/626 ng/mL at 3/1, 10/3, and 22.5/8 mg/kg, respectively.	SSN-01195 [4.2.3.2-07]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
						$AUC_{0\text{-}24hr}$ (M/F): 622/1370, 2040/4400, and 4660/9430 ng·hr/mL at 3/1, 10/3, and 22.5/8 mg/kg, respectively. Day 14: C_{max} (M/F): 62.0/121, 225/392, and 502/921 ng/mL at 3/1, 10/3, and 22.5/8 mg/kg, respectively. $AUC_{0\text{-}24hr}$ (M/F): 891/1950, 2570/5270, and 5050/12 900 ng·hr/mL 3/1, 10/3, and 22.5/8 mg/kg, respectively.	
Dog/Beagle	Oral gavage (15% SBECD)	2 days	3.5	4M	ND	Mortality in 3M (pre-terminally euthanized on Day 2 due to severe convulsions and tachycardia; no treatment-related gross findings and no cause of death could be determined). The remaining 1M was euthanized subsequently due to early termination of the study. Clinical signs on Day 1 included ataxia, ↓ activity, partially closed eyes followed by laterally or sternally recumbency with closed eyes, loss of consciousness, twitching, tremors, paddling, ↑/↓ muscle tone, non-sustained convulsions, ↑/↓ in respiratory rate, and reduced body temperature. Most clinical signs recovered prior to dosing on Day 2 but were more severe shortly after dosing on Day 2 and correlated with ↓ food consumption (2M). Clinical signs of consciousness and unconsciousness (slight to severe) were observed for up to 12h postdose on Day 2 in 1M (dosing was thereafter terminated). Plasma C_{max} and AUC_{last} on Day 1 was 1067 ng/mL and 13 802 ng·hr/mL, respectively.	SSN-711 [4.2.3.2-10]
Dog/Beagle	Oral gavage (30% HPβCD)	Repeated Dose Phase: 7 days	Repeated Dose Phase: 0, 1, 2, 2.5	Repeated Dose Phase: 2M, 2F	Repeated Dose Phase: ND	Repeated Dose Phase (Phase B): Clinical findings were consistent with dose-dependent sedation[b] (Phase 2 [mild] sedation at 1 mg/kg and Phase 2, 3 [moderate], and 4 [severe] sedation at ≥2 mg/kg). 1 mg/kg: Ataxia and evidence of tolerance to sedation (by Days 4 or 5) was noted. ≥2 mg/kg: Ataxia, ↓ activity, tremors, hypersensitivity (to both sound and touch), lacrimation, salivation, skin that was cold to the touch, slight ↓ in body weight and food consumption, ↑ in fibrinogen (F at 2 mg/kg and both sexes at 2.5 mg/kg). MTD: 2.5 mg/kg	SSN-827 [4.2.3.2-11]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
						TK (plasma): Day 1: C_{max} (M/F): 247/171, 450/525, and 489/524 ng/mL at 1, 2, and 2.5 mg/kg, respectively. AUC_{0-24hr} (M/F): 2670/2430, 5950/6660, and 7060/8020 ng·hr/mL at 1, 2, and 2.5 mg/kg, respectively. Day 7: C_{max} (M/F): 290/190, 502/486, and 1020/780 ng/mL at 1, 2, and 2.5 mg/kg, respectively. AUC_{0-24hr} (M/F): 2480/2210, 6610/6600, and 10 000/9530 ng·hr/mL at 1, 2, and 2.5 mg/kg, respectively.	
Dog/Beagle	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	7 days	2, 2.5	3M, 3F	ND	Clinical findings were consistent with dose-dependent sedation[b] (grade 2 [mild] to 3 [moderate] sedation at 2 mg/kg and grade 3 to 4 [severe] at 2.5 mg/kg). Clinical signs in 2 or 2.5 mg/kg groups (hypoactivity, impaired equilibrium, hypersensitivity to touch and/or sound, partial or complete closure of the eyes, tonic extension of the forelimbs, tremors, and inability to right self; prostration, vocalization, and/or circling), were generally consistent with the exaggerated pharmacologic (sedative) effect of SAGE-217. TK (plasma), Day 6: C_{max} (M/F): 534/575 and 755/866 ng/mL at 2 and 2.5 mg/kg, respectively. AUC_{last} (M/F): 6960/10 400 and 12 600/16 400 ng·h/mL at 2 and 2.5 mg/kg, respectively.	SSN-01402 [4.2.3.2-12]

AUC_{0-24hr} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; hr = hour(s); HPβCD = hydroxypropyl-beta-cyclodextrin; Labrasol = PEG-8 caprylic/capric glycerides; M = male; min = minute(s); MTD = maximum tolerated dose; ND = not determined; NOAEL = no observed adverse effect level; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer; SBECD = sulfobutylether-beta-cyclodextrin; TK = toxicokinetics

a An additional set of animals served as toxicokinetic satellite animals for the vehicle control and/or SAGE-217 groups (3/sex/timepoint).

b Sedation is graded based on the following characteristics:
Phase or grade 1 (Normal) - All functions are normal;
Phase or grade 2 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact that is sufficient to prevent entrapment or injury and is able to move to food and water,

but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;
Phase or grade 3 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Phase or grade 4 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.

c $AUC_{0\text{-}24hr}$ for the male 15 mg/kg group was not reported due to $\%AUC_{Extrap}$ >25%.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラット2週間反復経口投与毒性試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: 14-Day Oral Toxicity Study of SAGE-217 in Sprague Dawley Rats with a Two-Week Recovery Period			
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 2 weeks	**Duration of Postdose:** 2 weeks	**Study No.** SSN-01028
Initial Age: Approximately 6 weeks at receipt	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.2-06
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 100% Labrasol		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Sedation assessments			
NOAEL: 22.5 (M) and 3[a] (F) mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**3**	**10**	**22.5**	**0 (Control)**	**1**	**3**	**8**
Toxicokinetics[b]										
No. Evaluated			**M: 3**	**M: 6**	**M: 6**	**M: 6**	**F: 3**	**F: 6**	**F: 6**	**F: 6**
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 1**	N/A	40.6	135	285	N/A	88.1	306	626
		Day 14	N/A	62.0	225	502	N/A	121	392	921
	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	**Day 1**	N/A	622	2040	4660	N/A	1370	4400	9430
		Day 14	N/A	891	2570	5050	N/A	1950	5270	12 900
Noteworthy Findings										
No. Evaluated			**M: 16**	**M: 16**	**M: 16**	**M: 16**	**F: 16**	**F: 16**	**F: 16**	**F: 16**
No. Died or Sacrificed Moribund[c]			0	1	0	0	1	2	0	2
Body Weight (%)			-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)			-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observation[d]	Decreased activity		0	0	0	0	0	0	0	1
	Breathing									
	Audible		0	1	0	1	0	1	3	8
	Difficult		0	1	0	0	0	1	0	1
	Shallow		0	0	0	0	0	0	0	3
	Feces, soft		0	1	0	0	0	1	1	8
	Nasal discharge, clear		0	1	0	0	0	0	1	1
	Material around eyes									
	Black		0	0	0	0	0	0	0	2

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**3**	**10**	**22.5**	**0 (Control)**	**1**	**3**	**8**
	Red	0	0	0	1	0	0	0	2
	Material around mouth (red)	0	0	0	0	0	0	0	2
	Material around nose (red)	0	0	0	0	0	0	0	3
	Salivation	1	1	2	1	1	0	2	6
	Skin, cold to touch	0	0	0	0	0	0	0	5
	Tremors	0	0	0	0	0	0	0	1
	Wet hair, mouth	0	1	2	0	1	0	0	3
	Wet hair, anogenital region	0	1	0	0	0	0	0	3
Sedation Assessment (Number of Animals Affected)[c, d]									
	Phase 2 (Mild)	0	0	1	10	0	0	0	16
	Phase 3 (Moderate)	0	0	0	1	0	0	0	15
	Phase 4 (Severe)	0	0	0	0	0	0	0	9
Ophthalmoscopy		-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	**No. Examined**	10	9	10	9	9	9	9	7
	Urine pH	6.85	7.17	6.90	7.50 D	6.72	6.83	7.11	7.43 C
Hematology		-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation									
No. Evaluated		10	8	10	10	9	8	10	9
	APTT (sec)	14.04	15.45	16.19 A	16.53 A	13.69	15.26	15.87	15.42
Blood Chemistry									
No. Evaluated		10	9	10	10	9	9	10	9
	AST (U/L)	68.3	67.4	68.7	76.5 A	60.7	63.1	63.3	83.3 B
	ALT (U/L)	26.3	26.9	22.3	25.2	20.3	22.4	23.2	35.7 A
	ALP (U/L)	226.9	215.4	184.6	177.5 A	135.6	113.0	125.3	155.6
Organ Weight (%)[g]									
No. Evaluated		10	9	10	10	9	9	10	9

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**3**	**10**	**22.5**	**0 (Control)**	**1**	**3**	**8**
	Liver	**Absolute**	13.15 g	-3.9	-2.6	+1.9	8.225 g	+6.7	+5.4	+21.1 B
		Relative to body weight	3.875%	-3.2	+0.6	+3.8	3.848%	+5.2	+2.7	+14.7 B
		Relative brain weight	6.736%	-8.3	-3.2	+1.5	4.386%	+10.7	+6.9	+21.2 B
Gross Pathology			-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology										
No. Evaluated			10	9	10	10	9	9	10	9
Liver	Hepatocellular vacuolation									
		Minimal	0	0	1	1	0	1	3	4
		Mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Recovery Evaluation (Day 29)-Noteworthy Findings										
No. Evaluated			**M: 6**	**M: 6**	**M: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**F: 5**	**F: 6**	**F: 5**
Histopathology										
Liver	Hepatocellular vacuolation									
		Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0

- = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; ALP = alkaline phosphatase; ALT = alanine aminotransferase; APTT = activated partial thromboplastin time; AST = aspartate aminotransferase; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; hr = hour(s); Labrasol = PEG-8 caprylic/capric glycerides; M = male; N/A = not applicable

Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's: A = $p<0.05$; B = $p<0.01$

Rank Transformation with Dunnett's Test: C = $p<0.05$; D = $p<0.01$

a NOAEL was based on mortality (1F at 8 mg/kg) in SSN-01195 (Location in CTD: 4.2.3.2-07).

b Parts of the plasma analysis and incurred samples reanalysis was performed using the incorrect species matrix for the QC and standards. Although equivalency between the dog and rat matrix in this assay was previously demonstrated, the toxicokinetic portion of this study was repeated in SSN-01195 (Location in CTD: 4.2.3.2-07).

c None of the deaths/premature sacrifices were SAGE-217-related; deaths were considered related to dosing trauma based on microscopic findings in the animals.

d Clinical signs were associated with sedation and not related to systemic toxicity.

e On Days 1, 4, 11, and 14, each animal was monitored for signs of sedation intermittently every 30 min (±15 min) for the first 5h postdose and every 2h (±30 min) postdose thereafter. Once an animal was sedated, continuous observation was implemented through to Phase 1 (normal) level of sedation. On all other dosing days, animals were monitored every 2h (±30 min) for signs of sedation through the return to Phase 2 (mild) level of sedation.

f Sedation is graded based on the following characteristics:
Phase 1 (Normal) - All functions are normal;
Phase 2 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact that is sufficient to prevent entrapment or injury and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;
Phase 3 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Phase 4 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.

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

2.6.7.7.2 ラット 13 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A 3-Month Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats with a 28-Day Recovery Period			
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 13 weeks	**Duration of Postdose:** 4 weeks	**Study No.** SSN-01403
Initial Age: Approximately 51 days at receipt	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.2-08
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Sedation assessments			
NOAEL: 30 (M) and 1.5 (F) mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Water)**	**0 (Vehicle)**	**0.8**	**2.5**	**8**	**30**	**0 (Water)**	**0 (Vehicle)**	**0.15**	**0.5**	**1.5**	**5**
Toxicokinetics[a]														
No. Evaluated			M: 3	M: 3	M: 9	M: 9	M: 9	M: 9	F: 3	F: 3	F: 9	F: 9	F: 9	F: 9
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 0**	N/A	N/A	37.2	121	262	613	N/A	N/A	17.5	58.7	214	554
		Day 30	N/A	N/A	35.0	186	315	495	N/A	N/A	24.3	63.3	201	411
		Day 90	N/A	N/A	44.3	155	266	393	N/A	N/A	33.2	79.3	218	411
	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	**Day 0**	N/A	N/A	181	578	2760	5050	N/A	N/A	97.2	669	2410	7810
		Day 30	N/A	N/A	193	750	2910	6160	N/A	N/A	270	787	2470	6370
		Day 90	N/A	N/A	226	1300	2820	4340	N/A	N/A	460	1230	3190	6110
Noteworthy Findings														
No. Evaluated			15	15	10	10	15	15	15	15	10	10	15	15
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	0	1[b]	0[c]	0	0	0	0	0	1[d]
Body Weight (%)[e]	**Week 13**		584 g	573 g	-0.68/ +1.22	-4.97/ -3.14	-4.11/ -2.27	-7.53/ -5.76	317 g	322 g	-4.42/ -5.90	+0.32/ -1.24	-2.21/ -3.73	+1.58/ 0
Body Weight Change (%)[e]														
	Week 0 to 13		260 g	254 g	+1.54/ +3.94	-10.4/ -8.27	-7.69/ -5.51	-12.7/ -10.6	103 g	105 g	-10.7/ -12.4	+2.91/ +0.95	-2.91/ -4.76	+2.91/ +0.95
	Week 2 to 3		37 g	32 g	-8.11/ +6.25	-21.6/ -9.38 A	-16.2/ -3.13	-18.9/ -6.25 A	15 g	14 g	-13.3/ -7.14	-13.3/ -7.14	0/ +7.14	+20.0/ +28.6
	Week 11 to 12		5 g	8 g	+140/ +50 A	+180/ +75 B	+120/ +37.5 A	+100/ +25	0 g	1 g	NC[f]/ +300	NC[f]/ +300	NC[f]/ +100	NC[f]/ +500
	Week 12 to 13		16 g	12 g	-43.8/ -25 A	-37.5/ -16.7	-43.8/ -25 A	-25/ 0	4 g	4 g	-50/ -50	-25/ -25	-25/ -25	-75/ -75
Food Consumption (%)			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Water)**	**0 (Vehicle)**	**0.8**	**2.5**	**8**	**30**	**0 (Water)**	**0 (Vehicle)**	**0.15**	**0.5**	**1.5**	**5**
Clinical Observation [g] (Number of Animals affected, [entire dosing period])													
	Hypoactivity												
	Time Postdose												
	30 min	0	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0	2
	60 min	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	90 min	1	0	0	3	12	15	0	0	0	0	5	14
	120 min	0	0	0	6	15	15	0	0	0	0	2	15
	150 min	0	0	0	7	15	15	0	0	1	0	4	15
	180 min	1	0	0	1	15	15	0	0	0	1	9	15
	>190 min	0	0	0	0	14	15	0	0	0	0	5	15
	Ataxia												
	Time Postdose												
	60 min	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	90 min	0	0	0	0	6	15	0	0	0	0	0	12
	120 min	0	0	0	0	10	14	0	0	0	0	0	15
	150 min	0	0	0	0	11	15	0	0	0	0	2	15
	180 min	0	0	0	0	10	15	0	0	0	0	0	15
	>190 min	0	0	0	0	12	15	0	0	0	0	0	15
	Tremors												
	Time Postdose												
	90 min	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	120 min	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	150 min	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Impaired equilibrium												
	Time Postdose												
	>190 min	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	Hyper-reactivity to touch												
	Time Postdose												
	90 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	120 min	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2
	150 min	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	>190 min	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2
Sedation Assessment [h,i] (Number of Animals affected, [entire dosing period])													
	Phase 2 (Mild)												
	Time Postdose												
	30 min	0	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0	2

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Water)**	**0 (Vehicle)**	**0.8**	**2.5**	**8**	**30**	**0 (Water)**	**0 (Vehicle)**	**0.15**	**0.5**	**1.5**	**5**
	60 min		0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
	90 min		1	0	0	3	12	15	0	0	0	0	5	15
	120 min		0	0	0	6	15	15	0	0	0	0	2	15
	150 min		0	0	0	7	15	15	0	0	1	0	6	15
	180 min		1	0	0	1	15	15	0	0	0	1	9	15
	>190 min		0	0	0	0	15	15	0	0	0	0	5	15
	Phase 3 (Moderate)													
	Time Postdose													
	120 min		0	0	0	0	1	4	0	0	0	0	0	1
	150 min		0	0	0	0	2	8	0	0	0	0	0	3
	180 min		0	0	0	0	2	8	0	0	0	0	0	7
	>190 min		0	0	0	0	2	7	0	0	0	0	0	7
	Phase 4 (Severe)													
	Time Postdose													
	>190 min		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1[d]
Ophthalmoscopy			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weight (%)[e]														
No. Evaluated			10	10	10	10	9	10	10	10	10	10	10	9
	Liver	**Absolute**	14.86 g	15.46 g	+6.9/ +2.7	+4.4/ +0.3	+5.0/ +0.9	+11.6/ +7.2	9.04 g	8.95 g	-3.8/ -2.8	-0.3/ +0.7	+8.2/ +9.3	+10.7/ +11.8 A
		Relative to body weight	2.663/ 100 g body weight	2.787/ 100 g body weight	+7.1/ +2.3	+9.3/ +4.4 A	+13.0/ +7.9 B	+20.0/ +14.6 B	3.133/ 100 g body weight	2.989/ 100 g body weight	-1.5/ +3.2	-2.9/ +1.8	+6.2/ +11.3	+8.5/ +13.8
		Relative brain weight	664.8/ 100 g brain weight	697.4/ 100 g brain weight	+7.6/ +2.6	+9.0/ +3.9	+8.4/ +3.4	+14.3/ +8.9	443.0/ 100 g brain weight	450.1/ 100 g brain weight	-0.88/ -2.4	+4.2/ +2.5	+11.7/ +9.9 A	+12.5/ +10.7 A
Gross Pathology			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery Evaluation -Noteworthy Findings														
No. Evaluated			**M: 5**	**M: 5**	**M: 0**	**M: 0**	**M: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**F: 5**	**F: 0**	**F: 0**	**F: 5**	**F: 5**

Daily Dose (mg/kg)		0 (Water)	0 (Vehicle)	0.8	2.5	8	30	0 (Water)	0 (Vehicle)	0.15	0.5	1.5	5
Body Weight (%)[e]	**Week17**	599 g	568 g	N/A	N/A	+6.01/ +11.8	-8.01/ -2.99	332 g	330 g	N/A	N/A	-9.64/ -9.09	+0.30/ +0.91
Body Weight Change (%)[e]													
	Week 13 to 14	9 g	10 g	N/A	N/A	+33.3/ +20	-66.7/ -70	6 g	7 g	N/A	N/A	-66.7/ -71.4	-200/ -186 A
	Week 13 to 15	17 g	15 g	N/A	N/A	+41.2/ +60	-41.2/ -33.3	5 g	7 g	N/A	N/A	-120/ -114	-280/ -229 A
	Week 13 to 17	24 g	13 g	N/A	N/A	+50/ +177	-41.7/ +7.69	6 g	7 g	N/A	N/A	-100/ -100	-250/ -229 A
Histopathology		-	-	N/A	N/A	-	-	-	-	N/A	N/A	-	-

- = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; min = minute(s); N/A = not applicable; NC = not calculated; PVP-VA = polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer
Dunnett's test: A = $p<0.05$; B = $p<0.01$

a An additional 9 animals/sex/treatment group (and 3 animals/sex/control group) served as toxicokinetic satellite animals (3/sex/group/timepoint).

b One (1) main study animal found dead on Study Day 55; death was not considered to be SAGE-217-related.

c One (1) toxicokinetic study animal found dead on Day 87; death was not considered to be SAGE-217-related.

d Found dead at ~ 6 hours postdose on Day 34 (following 35 doses prior to death). On the day of death, the animal was observed to be hypoactive and at sedation phase 2 at 90 to 300 minutes postdose, sedation phase 3 (moderate) at 330 minutes postdose, and sedation phase 4 (severe) at 390 minutes postdose, after which the female was found dead (at ~405 minutes postdose). On study days prior to death, the animal had not reached an observed level of sedation that was greater than phase 2 (mild). Death was considered to be attributed to the exaggerated pharmacological effects of SAGE-217.

e Reported as percent difference from the water control/percent difference from the vehicle control. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

f Between Weeks 11 to 12, animals gained 4, 4, 2, and 6 g of weight at 0.15, 0.5, 1.5, and 5 mg/kg/day, respectively.

g Single occurrences of prostrate and paddling were noted for a single toxicokinetic male animal in the 30 mg/kg/day dose group on Day 80 at 10 min postdose; observation considered SAGE-217 related.

h Sedation assessments for the toxicology group animals were performed at the time of dose administration and at ~30, 60, 90, 120, 150, and 180 minutes postdose, and for the toxicokinetic group animals at ~180 minutes postdose.

i Sedation is graded based on the following characteristics:
Phase 1 (Normal) - All functions are normal;
Phase 2 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact that is sufficient to prevent entrapment or injury and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;
Phase 3 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Phase 4 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.

2.6.7.7.3 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study in Sprague Dawley Rats with a 28-Day Recovery Period			
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 26 weeks	**Duration of Postdose:** 4 weeks	**Study No.** SSN-02113
Initial Age: Approximately 8 weeks at initiation of dosing	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.2-09
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Sedation assessments			
NOAEL: 10 (M) and 5 (F) mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**	**0 (Control)**	**0.5**	**1.5**	**5**
Toxicokinetics [a]										
No. Evaluated			M: 3	M: 9	M: 9	M: 9	F: 3	F: 9	F: 9	F: 9
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 1**	N/A	295	313	562	N/A	80.3	241	560
		Day 91	N/A	214	485	513	N/A	126	263	721
		Day 182	N/A	168	350	429	N/A	83.9	295	564
	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	**Day 1**	N/A	929	3760	8020	N/A	845	2600	7690
		Day 91	N/A	1760	6150	6560	N/A	1280	4010	8680
		Day 182	N/A	1690	4560	6350	N/A	1310	4060	7590
Noteworthy Findings										
No. Evaluated			M: 21	M: 15	M: 21	M: 21	F: 21	F: 15	F: 21	F: 21
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	3[b]	2[e]	0	1[d]	2[e]
Body Weight (%)			-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)			-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observation										
	Sustained Convulsions[f]		0	0	0	0	0	0	0	1
	Non-Sustained Convulsions[f]		1	0	0	1	1	0	0	0
	Decreased activity		0	0	20	21	0	0	0	21
	Low carriage		0	0	15	20	0	0	0	21
	Lack of/impaired righting reflex		0	0	3	9	0	0	0	19
	Uncoordinated		0	0	21	21	0	0	3	21
Sedation Assessment [g,h] (Number of animals affected)										
	Phase 2 (Mild)		0	0	21	21	0	0	4	21
	Phase 3 (Moderate)		0	0	2	9	0	0	0	19
	Phase 4 (Severe)		0	1	0	2	0	1	0	0
Ophthalmoscopy			–	–	–	–	–	–	–	–
Urinalysis			–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology			–	–	–	–	–	–	–	–

Daily Dose (mg/kg)			0 (Control)	3	10	30	0 (Control)	0.5	1.5	5
Coagulation			–	–	–	–	–	–	–	–
Blood Chemistry			–	–	–	–	–	–	–	–
Organ Weight (%) [i]										
No. Evaluated			15	15	15	14	15	15	15	14
	Thyroid/ Parathyroid	**Absolute**	0.0226 g	+26.3 B	+25.4 B	+20.4 A	0.0219 g	-1.2	-7.0	+6.2
		Relative to body weight	0.0035%	+28.0 B	+28.5 B	+18.0	0.0064%	-1.6	-6.5	+8.6
		Relative brain weight	1.017%	+24.6 A	+21.7 A	+19.0	1.087%	-2.3	-9.7	+2.3
	Liver	**Absolute**	18.32 g	-3.6	+1.9	+7.9	10.05 g	-1.3	+7.7	+14.5 A
		Relative to body weight	2.8%	-3.0	+3.8	+5.0	2.9%	-0.3	+10.1 A	+19.1 B
		Relative brain weight	827.2%	-5.2	-1.3	+6.2	497.7%	-2.4	+4.8	+9.9
Gross Pathology			-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology			-	-	-	-	-	-	-	-
Recovery Evaluation (Day 211/212)-<u>Noteworthy Findings</u>										
No. Evaluated			**M: 6**	**M: 0**	**M: 6**	**M: 4**	**F: 5**	**F: 0**	**F: 6**	**F: 5**
No. Died or Sacrificed Moribund			1[j]	0	0	0	0	0	0	0
Histopathology			-	N/A	-	-	-	N/A	-	-

- = no noteworthy findings; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; hr = hour(s); M = male; N/A = not applicable; PVP-VA = polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer

ANOVA & Dunnett's test: A = $p<0.05$; B = $p<0.01$

a An additional 9 animals/sex/treatment group (and 3 animals/sex in the control group) served as toxicokinetic satellite animals (3/sex/group/timepoint).

b Three mortalities in main study males; deaths were not considered to be SAGE-217 related (2 gavage-related deaths and 1 case of obstructive uropathy). In addition, 1 toxicokinetic animal was euthanized *in extremis* on Day 4; cause of death was attributed to exaggerated SAGE-217 pharmacology. Prior to being euthanized, animal reached sedation phase 4 (severe) for three consecutive intervals.

c One (1) main study control female was found dead on Day 91 at the 2h postdose clinical observation; cause of death was undetermined. One (1) main study control female was found dead on Day 93 due to a gavage accident.

d One (1) main study female was found dead on Day 101; cause of death was undetermined.

e One (1) main study female was found dead on Day 91; death was attributed to the blood collection procedure. One (1) main study female was found dead on Day 103 due to a gavage accident.

f The observed convulsions were observed in 2 control animals on 2 separate occasions, were not dose responsive (not observed in any animals at 10/1.5 mg/kg), were observed transiently and sporadically for a limited number of individual animals, and were considered non-adverse. Therefore, the observed convulsions were considered unrelated to SAGE-217.

g Assessments were conducted on each day of dosing for all animals at ~ 2 and 4h postdose. If a given animal had not returned to a sedation phase 1 (normal) after having been at a phase ≥2 (mild) by ~4h postdose, then the animal was observed every 1h thereafter (based upon the observations at the previous interval) until the animal had returned to normal (sedation phase 1) or had been observed at sedation phase 2 for at least 3 consecutive hours.

h Sedation is graded based on the following characteristics:
Phase 1 (Normal) - All functions are normal;
Phase 2 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact that is sufficient to prevent entrapment or injury and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;

Phase 3 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Phase 4 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.

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

j One (1) recovery male was found dead on Day 193 with an adipose tissue mass noted at necropsy; cause of death was undetermined.

2.6.7.7.4 イヌ２週間反復経口投与毒性試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: 14-Day Oral Toxicity Study of SAGE-217 in Dogs with a Two-Week Recovery Period			
Species/Strain: Dog/Beagle	**Duration of Dosing:** 2 weeks	**Duration of Postdose:** 2 weeks	**Study No.** SSN-01029
Initial Age: Approximately 5.5 to 6.5 months at receipt	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.2-13
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 30% HPβCD in water		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Sedation assessments			
NOAEL: 2.5 mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**		**0.4**		**1.0**		**2.5**	
Toxicokinetics										
No. Evaluated			M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 1**	N/A	N/A	109	94.4	274	257	670	679
		Day 14	N/A	N/A	121	115	289	320	716	746
	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	**Day 1**	N/A	N/A	1300	1160	3250	2930	8480	9330
		Day 14	N/A	N/A	1940	1450	4220	3970	11 000	11 200
Noteworthy Findings										
No. Evaluated			M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)			–	–	–	–	–	–	–	–
Food Consumption (%)			–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical Observation [a] (Days 1 to 15)										
	Activity									
	Decreased		0	0	0	0	2	3	6	6
	Ataxia		0	0	0	0	6	6	5	6
	Skin									
	Loss of elasticity		0	0	1	0	1	1	3	5
	Tremors		0	0	0	0	1	1	6	6
	Unkempt appearance		0	0	0	0	1	0	1	1
	Vocalization		0	0	0	0	4	0	1	0
Duration and Onset of Sedation										
	Day1									
	Number Affected		N/A	N/A	0	3	6	6	6	6
	Time from onset of sedation to return to normal (hh:mm)		N/A	N/A	N/A	1:04-6:10	3:01-10:35	3:34-10:23	8:15-11:31	10:41-12:17
	Day 5									
	Number Affected		N/A	N/A	0	0	6	6	6	6

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4		1.0		2.5	
	Time from onset of sedation to return to normal (hh:mm)	N/A	N/A	N/A	N/A	5:19-5:37	5:00-5:24	9:43-14:30	8:11-15:05
	Day 11								
	Number Affected	N/A	N/A	0	0	6	6	6	6
	Time from onset of sedation to return to normal (hh:mm)	N/A	N/A	N/A	N/A	3:15-10:55	3:32-12:22	9:12-13:03	6:47-13:43
	Day 14								
	Number Affected	N/A	N/A	0	0	6	6	6	6
	Time from onset of sedation to return to normal (hh:mm)	N/A	N/A	N/A	N/A	3:45-7:23	2:52-6:38	8:43-10:35	7:34-13:41
Body Temperatures (%) [b]									
	Day 1								
	3.5hr postdose	100.5°F	100.6°F	+0.50	+0.10	-0.80	-0.20	-2.39	-2.29
	6hr postdose	101.2°F	101.2°F	-0.20	+0.20	-0.40	0	-0.59	-1.98
	9hr postdose	100.8°F	100.5°F	-0.20	0	-0.30	-0.20	-0.30	+0.40
	Day 14								
	3.5hr postdose	100.6°F	101.4°F	+0.10	-0.79	+0.40	-0.99	-0.89	-1.38
	6hr postdose	100.2°F	101.1°F	+0.80	-0.49	+0.50	-0.20	+0.40	-1.38
	9hr postdose	101.0°F	100.9°F	-0.20	+0.10	0	+0.30	+0.59	0
Ophthalmoscopy		–	–	–	–	–	–	–	–
Urinalysis		–	–	–	–	–	–	–	–
Electrocardiography		–	–	–	–	–	–	–	–
	Heart rate (beats/min)								
	Increased								
	Day 2	105.0	107.0	108.0	124.0	151.0 A	136.0	148.0 A	159.0 B
	Day 13	110.0	133.0	122.0	121.0	143.0 A	139.0	164.0 B	161.0
	RR interval (msec)								
	Decreased								
	Day 2	555.39	562.49	621.50	498.59	441.74	460.01	416.48	396.70 B
	Day 13	572.49	474.81	495.49	509.31	427.43 B	435.28	383.23 B	438.11
	PR interval (msec)								
	Decreased								
	Day 2	90.66	91.37	87.46	88.19	85.07	85.91	83.68	74.87 B
	Day 13	90.09	85.39	81.70 A	85.21	81.47 A	83.93	76.81 B	76.35
	QT interval (msec)								
	Decreased								
	Day 2	199.09	192.43	193.33	187.88	185.57	183.09	188.09	185.92

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**0.4**		**1.0**		**2.5**	
	Day 13	190.34	178.85	185.07	179.25	178.20	179.88	169.77 A	187.11
Hematology		–	–	–	–	–	–	–	–
Coagulation		–	–	–	–	–	–	–	–
Blood Chemistry		–	–	–	–	–	–	–	–
Organ Weight (%)		–	–	–	–	–	–	–	–
Gross Pathology		–	–	–	–	–	–	–	–
Histopathology									
No. Evaluated		M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Kidney	Basophilic tubules[c]								
	Minimal	1	1	1	2	2	1	3	2
	Tubular vacuolation[d]								
	Minimal	4	4	4	4	4	4	4	4
Recovery Evaluation (Day 29)-Noteworthy Findings									
Histopathology									
No. Evaluated		M:2	F:2	M:2	M:2	M:2	F:2	M:2	F:2
Kidney	Basophilic tubules								
	Minimal	2	0	0	0	2	1	1	1

- = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; hr = hour(s); hh:mm = hours:minutes; HPβCD = hydroxypropyl-beta-cyclodextrin; M = male; min = minute(s); msec = millisecond(s); N/A = not applicable

Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's: A = $p<0.05$; B = $p<0.01$

a Clinical signs preceded or were secondary to sedation and were not related to systemic toxicity.

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

c Basophilic tubules were also noted in vehicle control and recovery animals and were similar to historical controls.

d Vehicle-related, minimal renal tubular vacuolation was noted in all treated and control groups. There was no difference in the incidence or severity between groups.

2.6.7.7.5 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A 3-Month Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Period			
Species/Strain: Dog/Beagle	**Duration of Dosing:** 13 weeks	**Duration of Postdose:** 4 weeks	**Study No.** SSN-01404
Initial Age: Approximately 6 to 7 months at receipt	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.2-14
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Sedation assessments			
NOAEL: 0.6 mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Water)**		**0 (Vehicle)**		**0.06**		**0.2**		**0.6**		**2**	
Toxicokinetics														
No. Evaluated			M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 0**	N/A	N/A	N/A	N/A	13.9	14.8	45.9	40.2	133	126	399	347
		Day 30	N/A	N/A	N/A	N/A	13.9	11.8	45.1	32.2	129	106	377	363
		Day 90	N/A	N/A	N/A	N/A	17.2	16.2	61.5	48.0	171	160	498	469
	AUC_{last} (ng·hr/mL)	**Day 0**	N/A	N/A	N/A	N/A	146	120	534	360	1560	1280	5450	4320
		Day 30	N/A	N/A	N/A	N/A	158	101	538	350	1500	1300	5100	5130
		Day 90	N/A	N/A	N/A	N/A	203	182	732	505	2190	1770	6920	6860
Noteworthy Findings														
No. Evaluated			M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1[a]	0
Body Weight (%)			–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Food Consumption (%)			–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical Observation (Days 0 to 90)														
	Ataxia													
	Predose		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Time Postdose													
	60 min		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4
	90 min		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6	6
	120 min		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6
	150 min		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6
	180 min		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3
	>195 min		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
	Hypoactivity													
	Time Postdose													
	30 min		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
	60 min		0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	6	6
	90 min		0	0	0	0	0	0	0	0	2	6	6	6

Daily Dose (mg/kg)		0 (Water)		0 (Vehicle)		0.06		0.2		0.6		2	
	120 min	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	6	6
	150 min	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6	6
	180 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	6
	>195 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
	Impaired equilibrium												
	Predose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Time Postdose												
	30 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	60 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	6
	90 min	0	0	0	0	0	0	0	2	3	6	6	6
	120 min	0	0	0	0	0	0	0	1	3	6	6	6
	150 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6	6
	180 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6	6
	>195 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6
	Rigid muscle tone												
	Time Postdose												
	90 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	120 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Tremors												
	Time Postdose												
	60 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	90 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	5
	120 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4
	150 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4
	180 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
	>195 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
	Vocalization												
	Time of dose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Time Postdose												
	60 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	90 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	120 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	150 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Sedation[b]													
	Level 2 (Mild)												
	Time Postdose												
	30 min	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	0
	60 min	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6	6	6
	90 min	0	0	0	0	1	0	3	2	4	6	6	6

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Water)**		**0 (Vehicle)**		**0.06**		**0.2**		**0.6**		**2**	
	120 min	0	0	0	0	1	0	1	2	5	6	6	6
	150 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6	6
	180 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6	6
	>195 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6
	Level 3 (Moderate)												
	Time Postdose												
	60 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	6
	90 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	6	6
	120 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6	6
	150 min	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6	6
	180 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5
	>195 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2
	Level 4 (Severe)												
	Time Postdose												
	180 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Body Temperature		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ophthalmoscopy		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Urinalysis		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Electrocardiography													
	Heart rate (beats/min)												
	Increased												
	Day 1	108	132	125	117	121	127	119	130	144 A	149	154 B	165 B
	Day 28	122	132	131	122	137	130	133	126	151	134	156	157
	Day 86	130	140	124	120	139	124	118	129	140	117	165 A	136
	PR interval (msec)												
	Decreased												
	Day 1	90	82	85	85	79	88	85	75	76 A	77	75 A	76
	RR interval (msec)												
	Decreased												
	Day 1	612	479	513	550	523	499	537	486	445 A	421	401 B	371 A
	Day 28	545	469	475	522	450	493	485	489	415	471	395	392
	Day 86	471	450	498	528	434	501	541	479	443	541	381	457
	QT interval (msec)												
	Decreased[c]												
	Day 1	211	184	193 A	185	193 A	188	204	192	179 B	181	172 B	166 A
	Day 28	193	178	180	180	181	184	186	188	173	185	167	169
	Day 86	189	177	181	185	174	187	194	196	177	187	169	175
	QTcV interval (msec)												
	Decreased[d]												

Daily Dose (mg/kg)		0 (Water)		0 (Vehicle)		0.06		0.2		0.6		2	
	Day 1	244	229	235	224	234	232	244	237	227 B	231	224 B	221
	Increased												
	Day 86	235	226	225	226	223	231	234	241 A	226	227	223	223
Hematology		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Coagulation		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Blood Chemistry		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Organ Weight (%)		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Gross Pathology		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Histopathology		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Recovery Evaluation (Day 119)-Noteworthy Findings													
No. Evaluated		**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 0**	**F: 0**	**M: 2**	**F: 2**	**M: 2**	**F: 2**
Histopathology		–	–	–	–	N/A	N/A	N/A	N/A	–	–	–	–

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; hr = hour(s); M = male; min = minute(s); msec = millisecond(s); N/A = not applicable; PVP-VA = polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer

Dunnett's test: A = $p<0.05$; B = $p<0.01$

a One (1) male animal was found dead on Day 61 in the morning prior to dosing. Throughout the study, sedation phase 2 (mild) or 3 (moderate) was frequently observed in this animal with clinical observations of hypoactivity, ataxia, and impaired equilibrium, all of which were generally similar to the other animals in the 2 mg/kg/day group. On Day 52 prior to dosing, this animal was observed to collapse to the floor with legs outstretched (legs stiffened), which cycled approximately every 15 seconds for several minutes. On Day 52 after dosing, tremors, emesis, and sedation level 3 were observed in this animal. On Days 52 to 54, this animal was observed to be sedated for prolonged periods of time and took longer to return to sedation Phase 1 (normal) compared to all other animals in this dose group. The animal was not dosed on Day 55 because it had not yet returned to a sedation Phase 1 by prior to dosing. On Days 58 and 59, clinical observations of vocalization, aggression upon handling, and/or excessive struggling during dose administration were noted for this animal. The animal was not dosed on Day 60 due to tremors and tonic convulsions observed prior to dosing. On Day 61, this animal was found dead in the morning prior to dosing. Dried emesis containing white and red material were observed in the cage. At necropsy, there were no remarkable findings noted for this animal and a cause of death was not apparent after histopathology evaluation. However, considering this animal was in the high-dose group (2 mg/kg/day), the nature and frequency of observed significant clinical observations, and the prolonged duration of sedation during the week prior to death, this death was considered to be SAGE-217-related.

b Sedation is graded based on the following characteristics:
Sedation Level 0 (Normal) - All functions are normal, unless altered directly by the experimental procedure;
Sedation Level 1 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact, and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;
Sedation Level 2 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Sedation Level 3 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.
Veterinary assessment may have been sought after approximately 1 h of sedation at Level 2 or 3, and at onset of sedation at Level 4.

c Significantly shortened QT interval was considered physiological result of increased heart rate, and therefore not an effect of SAGE-217 administration.

d When corrected for heart rate, significant shortening of QTcV interval was considered SAGE-217-related but not biologically relevant due to magnitude of change (<10%) and prolongation in water control group.

2.6.7.7.6 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A 9-Month Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study in Beagle Dogs with a 28-Day Recovery Period			
Species/Strain: Dog/ Beagle	**Duration of Dosing:** 39 weeks	**Duration of Postdose:** 4 weeks	**Study No.** SSN-01940
Initial Age: Approximately 6 to 7 months at randomization	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.2-15
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Sedation assessments			
NOAEL: 1.2 mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**		**0.6**		**1.2**		**2.5**	
Toxicokinetics										
No. Evaluated			M: 7	F: 7	M: 4	F: 4	M: 7	F: 7	M: 7	F: 7
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 0**	N/A	N/A	157	146	354	265	474	364
		Day 36	N/A	N/A	173	155	372	291	796	604
		Day 139	N/A	N/A	184	171	448	356	792	709
		Day 272	N/A	N/A	183	196	467	352	621	730
	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	**Day 0**	N/A	N/A	1990	1750	5000	3500	7630	5620
		Day 36	N/A	N/A	1870	1930	5640	4010	10 900	9290
		Day 139	N/A	N/A	2500	2240	7550	4910	12 200	11 500
		Day 272	N/A	N/A	2500	2480	7500	5300	9840	11 500
Noteworthy Findings										
No. Evaluated			M: 7	F: 7	M: 4	F: 4	M: 7	F: 7	M: 7	F: 7
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	0	1[a]	0	1[b]	1[c]
Body Weight (%)			–	–	–	–	–	–	–	–
Food Consumption (%)			–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical Observation (Days 0 to 273)										
	Ataxia									
		Predose	0	0	0	0	0	0	0	1
		Unscheduled observation								
		0 to 90 min	0	0	0	0	1	0	1	0
		>330 min	0	0	0	0	3	2	7	7
		Time Postdose								
		2 hours	0	0	1	2	7	7	7	7
		5 hours	0	0	0	0	5	4	7	7
	Hypoactivity									
		Predose	0	1	0	0	0	0	0	0
		Unscheduled observation								
		0 to 90 min	0	0	0	0	2	0	0	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.6		1.2		2.5	
	>330 min	0	0	0	0	0	1	7	7
	Time Postdose								
	2 hours	0	0	1	2	8	7	7	7
	5 hours	0	0	0	0	4	0	7	7
	Impaired equilibrium								
	Predose	0	0	0	0	0	0	0	1
	Unscheduled observation								
	0 to 90 min	0	0	0	0	1	0	0	0
	150 to 270 min	0	0	0	0	1	0	0	0
	>330 min	0	0	0	0	5	5	7	7
	Time Postdose								
	2 hours	0	0	2	1	7	7	7	7
	5 hours	0	0	0	0	5	5	7	7
	Prostrate								
	Unscheduled observation								
	0 to 90 min	0	0	0	0	1	0	0	0
	>330 min	0	0	0	0	0	0	6	5
	Time Postdose								
	2 hours	0	0	0	0	2	1	7	7
	5 hours	0	0	0	0	1	0	7	6
	Tremors								
	Predose	0	0	0	0	0	0	0	1
	Unscheduled observation								
	0 to 90 min	0	0	0	0	1	0	0	1
	150 to 270 min	0	0	0	0	0	0	1	0
	>330 min	0	0	0	0	1	0	7	7
	Time Postdose								
	2 hours	0	0	0	0	3	2	7	7
	5 hours	0	0	0	0	0	0	7	7
	Wet clear material around mouth								
	Predose	5	3	4	2	7	7	7	7
	Unscheduled observation								
	150 to 270 min	0	0	1	0	0	0	0	0
	>330 min	0	1	0	0	1	0	7	7
	Time Postdose								
	2 hours	3	3	4	2	5	6	4	5

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**0.6**		**1.2**		**2.5**	
	5 hours	3	2	4	3	7	7	5	5
Sedation									
	Level 2 (Mild)								
	Predose	0	0	0	0	1	1	3	0
	Unscheduled observation								
	0 to 90 min	0	0	0	0	1	0	1	0
	150 to 270 min	0	0	0	0	1	0	0	0
	>330 min	0	0	0	0	5	5	7	7
	Time Postdose								
	2 hours	0	0	3	3	7	7	7	7
	5 hours	0	0	0	0	6	6	7	7
	Level 3 (Moderate)								
	Unscheduled observation								
	0 to 90 min	0	0	0	0	2	0	0	0
	150 to 270 min	0	0	0	0	0	0	1	0
	>330 min	0	0	0	0	0	1	7	7
	Time Postdose								
	2 hours	0	0	0	0	4	5	7	7
	5 hours	0	0	0	0	1	0	7	7
	Level 4 (Severe)								
	Unscheduled observation								
	>330 min	0	0	0	0	0	0	3	5
	Time Postdose								
	2 hours	0	0	0	0	1	0	7	7
	5 hours	0	0	0	0	0	0	6	3
Ophthalmoscopy		–	–	–	–	–	–	–	–
Urinalysis		–	–	–	–	–	–	–	–
Electrocardiography		–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology		–	–	–	–	–	–	–	–
Coagulation		–	–	–	–	–	–	–	–
Blood Chemistry		–	–	–	–	–	–	–	–
Organ Weight (%)		–	–	–	–	–	–	–	–
Gross Pathology		–	–	–	–	–	–	–	–
Histopathology		–	–	–	–	–	–	–	–
Recovery Evaluation-Noteworthy Findings									
No. Evaluated		M: 2	F: 3	M: 0	F: 0	M: 3	F: 3	M: 2	F: 2
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	N/A	N/A	0	0	0	1[d]

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.6**		**1.2**		**2.5**	
Histopathology	–	–	N/A	N/A	–	–	–	–

- = no noteworthy findings; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; min = minute(s); N/A = not applicable; PVP-VA = polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer

a One (1) male animal was euthanized in extremis on Day 0 at approximately 15 minutes following dosing. The cause of debility was determined to be aspiration and was not SAGE-217-related.

b One (1) male animal was euthanized in extremis on Day 185 based on its clinical condition (labored breathing, laterally recumbent, grey mucous membranes, delayed capillary refill time, apparent blood around the animal's muzzle and on the forepaws, body temperature of 95.7°F, and unable to stand). The cause of debility requiring euthanasia of this animal was determined to be aspiration and was not SAGE-217-related.

c One (1) female animal was euthanized in extremis on Day 30. In the morning on Day 30, this animal was observed to have tonic and clonic convulsions (prior to dosing). Due to these observations, the animal was not dosed on Day 30 and was monitored for clinical condition throughout the day. Due to a decline in clinical condition of this animal throughout the day, the animal was euthanized. Although a specific cause for the morbidity of this animal could not be determined based on macroscopic and microscopic evaluation alone, this animal was in the high-dose group and was euthanized due to significant adverse clinical signs and deteriorating condition. Therefore, this unscheduled death was considered to be SAGE-217-related.

d One (1) female animal was found dead on Day 276 during the recovery period (4 days after receiving its last dose). Although this animal died 4 days after receiving its last dose and no remarkable clinical observations were noted preceding death, the animal was in the high-dose group, and therefore a relationship to SAGE-217 could not be ruled out.

2.6.7.7.7 イヌ 29 週及び 44 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A 29-Week or 44-Week Oral (Gavage) Episodic Dosing Toxicity Study in Male and Female Beagle Dogs			
Species/Strain: Dog/Beagle	**Duration of Dosing:** Regimen 1: daily dosing for 14 days followed by 42-day non-dosing period (1 cycle) x 6 cycles[a] Regimen 2: daily dosing for 14 days followed by 21-day non-dosing period (1 cycle) x 6 cycles[a]	**Duration of Postdose:** N/A	**Study No.** SSN-02892
Initial Age: Approximately 6 to 7 months at the initiation of dosing	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.2-16
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Sedation assessments			
NOAEL: 1.2 mg/kg/day			

Treatment Regimen			**1 (2-week dosing + 6-week non-dosing for 6 cycles[a])**						**2 (2-week dosing + 3-week non-dosing for 6 cycles[a])**					
Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**		**1.2**		**2.5**		**0 (Control)**		**1.2**		**2.5**	
Toxicokinetics														
No. Evaluated			M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 12**	N/A	N/A	303	338	738	645	N/A	N/A	316	345	604	597
	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	**Day 12**	N/A	N/A	4050	4360	10 800	9460	N/A	N/A	4290	4590	8450	8660
Noteworthy Findings														
No. Evaluated			M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	0	1[b]	1[c]	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%) [d,e]	Day 308/203[f]		9.97 kg	8.25 kg	+1.34	-2.22	-2.07	+4.24	10.57 kg	8.60 kg	-7.26	-6.59	-6.47	-0.19
Body Weight Gain (kg)	Day 1 to 308/203[g]		2.53	1.57	2.67	1.15	2.22	1.68	3.65	1.82	2.73 A	1.20	2.75 A	1.87
Food Consumption (%)			–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical Observations[h,i] **(Number of animals affected / Number of observations)**														
	Uncoordinated													
	Slight													
	Cycle 1		0/0	0/0	6/43	6/56	6/155	6/129	0/0	0/0	6/67	6/60	6/165	6/170
	Cycle 2		0/0	0/0	6/99	6/84	5/88	5/91	0/0	0/0	6/55	6/57	6/136	6/191
	Cycle 3		0/0	0/0	6/38	6/52	5/96	5/70	0/0	0/0	6/58	6/56	6/77	6/111

Treatment Regimen		1 (2-week dosing + 6-week non-dosing for 6 cycles[a])						2 (2-week dosing + 3-week non-dosing for 6 cycles[a])					
Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1.2		2.5		0 (Control)		1.2		2.5	
	Cycle 4	0/0	0/0	6/31	6/31	5/174	5/160	0/0	0/0	6/94	6/78	6/96	6/121
	Cycle 5	0/0	0/0	6/34	6/43	5/153	5/124	0/0	0/0	6/47	6/27	6/189	6/178
	Cycle 6	0/0	0/0	6/95	6/92	5/195	5/180	0/0	0/0	6/11	3/6	6/158	6/158
	Moderate												
	Cycle 1	0/0	0/0	0/0	1/1	6/47	6/42	0/0	0/0	1/1	0/0	6/52	6/63
	Cycle 2	0/0	0/0	0/0	2/2	5/23	5/17	0/0	0/0	1/1	0/0	6/26	6/35
	Cycle 3	0/0	0/0	1/1	5/9	5/14	5/16	0/0	0/0	0/0	0/0	4/9	6/19
	Cycle 4	0/0	0/0	5/6	3/5	4/5	4/8	0/0	0/0	5/7	3/5	5/10	6/15
	Cycle 5	0/0	0/0	6/21	6/22	4/26	5/17	0/0	0/0	6/7	6/7	6/12	6/16
	Cycle 6	0/0	0/0	6/19	6/19	5/34	5/26	0/0	0/0	6/16	6/16	5/6	6/10
	Severe												
	Cycle 1	0/0	0/0	0/0	0/0	4/5	4/5	0/0	0/0	0/0	0/0	5/9	6/10
	Cycle 2	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1
	Cycle 3	0/0	0/0	0/0	0/0	5/5	3/3	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2	1/1
	Cycle 4	0/0	0/0	0/0	0/0	1/2	1/2	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2	2/2
	Cycle 5	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
	Cycle 6	0/0	0/0	1/1	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	3/3	3/3
	Abnormal Gait												
	Cycle 1	0/0	0/0	6/27	6/26	6/47	6/41	0/0	0/0	6/23	6/18	6/67	6/56
	Cycle 2	0/0	0/0	6/64	6/59	5/35	5/31	0/0	0/0	6/24	6/28	5/11	4/10
	Cycle 3	0/0	0/0	6/24	6/34	4/13	5/37	0/0	0/0	6/32	6/31	6/17	6/23
	Cycle 4	0/0	0/0	6/31	6/37	5/24	5/17	0/0	0/0	6/29	6/32	6/21	5/34
	Cycle 5	0/0	0/0	6/61	6/59	5/37	5/39	0/0	0/0	6/49	6/60	6/29	6/42
	Cycle 6	0/0	0/0	6/59	6/59	4/13	3/4	0/0	0/0	6/29	6/27	6/38	6/31
	Lying on Side												
	Cycle 1	0/0	0/0	0/0	0/0	6/96	6/92	0/0	0/0	0/0	0/0	6/78	6/100
	Cycle 2	0/0	0/0	6/8	5/7	5/76	5/57	0/0	0/0	3/3	2/3	6/64	6/86
	Cycle 3	0/0	0/0	6/36	6/20	5/76	5/58	0/0	0/0	0/0	0/0	6/57	6/57
	Cycle 4	0/0	0/0	6/21	6/21	5/98	5/80	0/0	1/1	2/3	2/3	6/58	6/61
	Cycle 5	0/0	0/0	6/39	6/43	5/142	5/103	0/0	0/0	6/20	6/17	6/76	6/63
	Cycle 6	0/0	0/0	6/20	6/19	5/166	5/154	0/0	0/0	6/29	6/32	6/101	6/111
	Activity Decreased												
	Cycle 1	0/0	0/0	6/35	6/34	6/132	6/124	0/0	0/0	6/23	6/27	6/103	6/133
	Cycle 2	0/0	0/0	6/47	6/39	5/152	5/134	0/0	0/0	6/36	6/38	6/162	6/245
	Cycle 3	0/0	0/0	6/110	6/106	5/241	5/184	0/0	0/0	6/45	6/46	6/177	6/207
	Cycle 4	0/0	0/0	6/98	6/87	5/302	5/284	0/0	1/2	6/83	6/75	6/221	6/200
	Cycle 5	0/0	0/0	6/83	6/89	5/257	5/198	0/0	0/0	6/93	6/88	6/265	6/236

Treatment Regimen			**1 (2-week dosing + 6-week non-dosing for 6 cycles[a])**						**2 (2-week dosing + 3-week non-dosing for 6 cycles[a])**					
Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**		**1.2**		**2.5**		**0 (Control)**		**1.2**		**2.5**	
	Cycle 6		0/0	0/0	6/72	6/71	5/354	5/353	0/0	0/0	6/90	6/83	6/295	6/281
	Lack of/Impaired Righting Reflex													
	Cycle 1		0/0	0/0	0/0	0/0	6/21	6/21	0/0	0/0	2/2	0/0	6/22	6/25
	Cycle 2		0/0	0/0	6/7	5/6	5/30	5/31	0/0	0/0	0/0	1/1	6/59	6/78
	Cycle 3		0/0	0/0	1/2	2/2	5/80	5/43	0/0	0/0	2/3	1/1	6/38	6/38
	Cycle 4		0/0	0/0	1/1	2/2	5/33	5/33	0/0	0/0	3/6	3/4	6/79	6/56
	Cycle 5		0/0	0/0	1/1	0/0	5/56	5/43	0/0	0/0	3/10	1/1	6/41	6/36
	Cycle 6		0/0	0/0	6/6	6/6	5/65	5/47	0/0	0/0	0/0	0/0	6/39	6/39
Sedation[j] (Number of animals affected / Number of observations)														
	Cycle 1													
	Level 0	(Normal)	6/330	6/330	6/252	6/247	6/136	6/158	6/330	6/330	6/247	6/246	6/138	6/130
	Level 1	(Mild)	0/0	0/0	6/81	6/87	6/177	6/151	0/0	0/0	6/85	6/88	6/186	6/209
	Level 2	(Moderate)	0/0	0/0	0/0	0/0	6/112	6/102	0/0	0/0	1/1	0/0	6/104	6/120
	Level 3	(Severe)	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Cycle 2													
	Level 0	(Normal)	6/330	6/330	6/197	6/211	5/122	5/129	6/336	6/336	6/256	6/253	6/154	6/116
	Level 1	(Mild)	0/0	0/0	6/124	6/114	5/127	5/121	0/0	0/0	6/80	6/82	6/156	6/227
	Level 2	(Moderate)	0/0	0/0	6/10	5/7	5/98	5/83	0/0	0/0	0/0	1/1	6/78	6/101
	Level 3	(Severe)	0/0	0/0	0/0	0/0	2/6	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	6/19	6/19
	Cycle 3													
	Level 0	(Normal)	6/336	6/336	6/196	6/189	5/96	5/109	6/336	6/336	6/237	6/235	6/157	6/141
	Level 1	(Mild)	0/0	0/0	6/102	6/127	5/151	5/137	0/0	0/0	6/101	6/100	6/97	6/145
	Level 2	(Moderate)	0/0	0/0	6/38	6/20	5/128	5/117	0/0	0/0	0/0	1/1	6/121	6/121
	Level 3	(Severe)	0/0	0/0	0/0	0/0	5/17	5/10	0/0	0/0	0/0	0/0	4/10	6/11
	Cycle 4													
	Level 0	(Normal)	6/330	6/330	6/203	6/206	5/77	5/82	6/336	6/335	6/193	6/198	6/132	6/134
	Level 1	(Mild)	0/0	0/0	6/104	6/103	5/210	5/204	0/0	1/1	6/141	6/140	6/162	6/174
	Level 2	(Moderate)	0/0	0/0	6/23	6/21	5/146	5/126	0/0	0/0	2/2	2/2	6/150	6/137
	Level 3	(Severe)	0/0	0/0	0/0	0/0	2/4	1/2	0/0	0/0	0/0	0/0	3/7	4/9
	Cycle 5													
	Level 0	(Normal)	6/336	6/336	6/205	6/196	5/77	5/101	6/336	6/336	6/185	6/191	6/129	6/126
	Level 1	(Mild)	0/0	0/0	6/95	6/107	5/194	5/162	0/0	0/0	6/145	6/131	6/198	6/201
	Level 2	(Moderate)	0/0	0/0	6/39	6/39	5/160	5/130	0/0	0/0	6/14	6/16	6/165	6/155
	Level 3	(Severe)	0/0	0/0	0/0	0/0	4/8	2/2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
	Cycle 6													

Treatment Regimen			**1 (2-week dosing + 6-week non-dosing for 6 cycles[a])**						**2 (2-week dosing + 3-week non-dosing for 6 cycles[a])**					
Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**		**1.2**		**2.5**		**0 (Control)**		**1.2**		**2.5**	
	Level 0	(Normal)	6/336	6/336	6/208	6/214	5/65	5/72	6/335	6/336	6/218	6/223	6/127	6/118
	Level 1	(Mild)	0/0	0/0	6/127	6/119	5/226	5/212	0/0	0/0	6/87	6/79	6/224	6/224
	Level 2	(Moderate)	0/0	0/0	6/19	6/18	5/169	5/157	0/0	0/0	6/31	6/34	6/139	6/147
	Level 3	(Severe)	0/0	0/0	0/0	0/0	3/3	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Gross Pathology			–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

- = no noteworthy findings; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; N/A = not applicable; PVP-VA = polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer

ANOVA & Dunnett: A = $p \leq 0.05$

a For episodic Regimens 1 and 2, the sixth dosing cycle was followed by a minimum 14-day non-dosing period.

b One (1) male animal was found dead on Day 16, two days after receiving the last dose in Cycle 1. Clinical observations and sedation noted for this animal were similar to what was noted for other animals at the same dose level during the first dosing cycle (across both regimens). No significant abnormalities were noted for this animal on the first day of the non-dosing period of Cycle 1 (Day 15). No remarkable changes in body weight or food consumption were noted prior to death. Macroscopic findings at necropsy likely represented perimortem changes; a microscopic evaluation of tissues was not performed per protocol. While a cause of death could not be determined, the animal was in the high dose group, and therefore, the death was considered to be related to SAGE-217.

c One (1) female animal was euthanized in extremis on Day 18, four days after receiving the last dose in Cycle 1. Clinical observations and sedation noted for this animal were similar to what was noted for other animals at the same dose level during the first dosing cycle (across both regimens). No significant abnormalities were noted for this animal on the first day of the non-dosing period of Cycle 1 (Day 15). On Day 16, ↑ vocalization, severe salivation, and pedaling were observed. On Day 17, ↓ activity was noted, and the animal was observed to be quiet, alert, responsive, and hydrated with normal gait and posture during veterinary examination. On Day 18, the animal's condition progressively worsened throughout the day. Following observations of severe tremors, moderate salivation, severely uncoordinated, panting, and not being able to support itself, the animal was humanely euthanized. Through Day 14, no remarkable changes in body weight or food consumption were noted. Between Days 14 and 18, the animal lost 13.6% (800 grams) in body weight. Food consumption values on Days 17 and 18 were 1 and 6 g, respectively, compared to daily averages of 171 g and 148 g during Weeks 1 and 2, respectively. At necropsy, no macroscopic findings were noted. Although a specific cause of the morbidity noted for this animal could not be determined, this death was considered to be related to SAGE-217.

d For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

e SAGE-217-related, non-adverse body weight effects were observed in Treatment Regimen 2 animals.

f Cycle 6: the day prior to the first day of the terminal euthanasia (Day 308 and Day 203 for animals in Treatment Regimen 1 and Treatment Regimen 2, respectively).

g Mean body weight gain from Day 1 to Day 308 in Treatment Regimen 1 groups, and Day 1 to Day 203 in Treatment Regimen 2 groups.

h The most frequent SAGE-217-related, non-adverse clinical observations, primarily associated with sedation, are listed in this table. Additional observations (not tabulated) that were noted less frequently and not consistently across each dose cycle, included lack of pinch reflex, pedaling, and twitches (head, forelimbs, and hindlimbs) at 2.5 mg/kg/day, and salivation, ↑ vocalization, tremors, hypersensitive, and eyes partly or completely closed at 1.2 and 2.5 mg/kg/day. In general, there were no meaningful differences in the type and frequency of most observations between treatment Regimens 1 and 2.

i Other noteworthy observations in individual animals: One 2.5 mg/kg/day male assigned to Treatment Regimen 1 was observed to have a convulsion on Day 17 (3 days into the nondosing period of Cycle 1). The animal was first observed to be laterally recumbent and paddling and was then observed to have limb rigidness. Upon standing, the animal began snarling, vocalizing, and urinating while circling rapidly (uncoordinated) in both directions. Shortly thereafter, the animal was observed to be panting, salivating, and clawing at the front of the cage. Following veterinary intervention that included subcutaneous fluid for dehydration and supplementation for low food consumption (6 g on Day 18), the animal returned to normal by Day 23. Throughout the remainder of the study, there were multiple instances of this animal reaching Sedation Level 3 (severe) or being noted as lethargic with whole body or head tremors, each requiring veterinary surveillance. Each instance, however, was generally transient and the animal would ultimately recover, with no dosing holidays and little to no intervention needed. One male in the 1.2 mg/kg/day group assigned to Treatment Regimen 2 showed locomotor stereotypy (moderate flipping), dilated pupils, wet fur around the mouth, ↑ activity, panting, and salivation on Day 188 (13th day of dosing in Cycle 6). Slight locomotor stereotypy, ↑ activity, salivation, panting, and wet fur around the mouth were occasionally noted through to the scheduled necropsy (Day 204).

j Sedation is graded based on the following characteristics:
Sedation Level 0 (Normal) - All functions are normal, unless altered directly by the experimental procedure;
Sedation Level 1 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact, and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;
Sedation Level 2 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Sedation Level 3 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.
Veterinary assessment was sought after approximately 1 h of sedation at Level 1 or 2, and at onset of sedation at Level 3.

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 In vitro 試験：重要な試験以外の試験

Test Article: zuraolone (SGE-00797)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Concentration	Noteworthy Findings	Study Numbe/ [Location in CTD]
Salmonella – E. Coli/Mammalian Microsome Assay Screening Assay					
Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2 *uvrA*	In vitro (DMSO)	2 days	1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000 and 5000 µg/plate (±S9)	≥100 µg/plate: precipitates observed in TA1537 (-S9) and all strains (+S9). ≥500 µg/plate (-S9): precipitates observed in TA98, TA100, TA1535, and WP2 *uvrA*. 5000 µg/plate: cytotoxicity was observed in TA98 (±S9), TA1535 (±S9), and TA1537 (+S9). SAGE-217 was not mutagenic (±S9), up to precipitating and/or cytotoxic concentrations. No increases in the number of revertant colonies in any strain (±S9) as compared to the vehicle control.	SSN-01235 [4.2.3.3-04]
In Situ Micronucleus Screening Assay					
CHO cells (CHO-WBL)	In vitro (DMSO)	20 hours (-S9); 3 hours (+S9)	Definitive Assay 1 3.20, 6.40, 12.8, 25.6, 51.3, 102.5, 205 and 410 µg/mL (±S9) Definitive Assay 2 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 and 1.6 µg/mL (-S9)	Definitive Assay 1 ≥12.8 µg/mL (-S9): severe cytotoxicity (few viable cells or cytotoxicity ≥65%) 25.6 µg/mL (+S9): cytotoxicity (59%) at the highest concentration scored for micronuclei ≥51.3 µg/mL: precipitates observed (±S9) and severe cytotoxicity (+S9) Definitive Assay 2 1.6 µg/mL (-S9): cytotoxicity (51%) but no severe cytotoxicity SAGE-217 was negative for inducing micronuclei (±S9), up to cytotoxic concentrations.	SSN-01234 [4.2.3.2-05]

CHO = Chinese hamster ovary; DMSO = dimethylsulfoxide; S9 = microsomal liver preparations

2.6.7.8.2 細菌を用いる復帰突然変異試験：重要な試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		
Test for Induction of: Reverse mutation of bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 1	**Study No.** SSN-01032
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**No. of Replicate Cultures:** 3	**Location in CTD:** 4.2.3.3-01
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Cultured:** 3.3 to 11.2 × 10^8 cells/plate	**GLP Compliance:** Yes
Vehicles: For Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO)	**For Positive Controls:** DMSO, except sterile water for SA	**Date of Treatment:** [redacted]-20[redacted]
Treatment: Plate incorporation for 48 to 72 hours.		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
Without Activation	Negative control (DMSO)	100 µL/plate	15	84	10	6	28
	Zuranolone	15	12	81	13	7	33
		50	10	82	9	7	26
		150[a]	14	79	12	5	28
		500[b]	11	77	9	6	21
		1500[c]	11	78	7	5	20
		5000[d]	8	73	15	3	19
	2NF	1.0	146	ND	ND	ND	ND
	SA	1.0	ND	599	333	ND	ND
	9AAD	75	ND	ND	ND	323	ND
	MMS	1000	ND	ND	ND	ND	188
With Activation	Negative control (DMSO)	100 µL/plate	24	107	14	10	37
	Zuranolone	15	22	95	15	10	43
		50	23	104	14	12	27
		150[a]	30	94	12	9	32
		500[b]	28	100	13	9	34
		1500[c]	24	99	14	8	41
		5000[d]	15	94	14	6	24
	2AA	1.0	265	ND	97	ND	ND
		2.0	ND	751	ND	55	ND
		15	ND	ND	ND	ND	356

2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; 9AAD = 9-aminoacridine; DMSO = dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MMS = methyl methanesulfonate; ND = not determined; SA = sodium azide; S9 = microsomal liver preparations

a Non-interfering particulate and normal background for all strains.

b Non-interfering particulate for all strains. Normal background for TA98, TA100, TA1537, and WP2*uvr*A. Background obscured by particulate for TA1535.

c Non-interfering particulate and background obscured by particulate for all strains.

d Interfering particulate and background obscured by particulate for all strains.

2.6.7.8.3 細菌を用いる復帰突然変異試験 (2)：重要な試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		
Test for Induction of: Reverse mutation of bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 1	**Study No.** SSN-01675
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**No. of Replicate Cultures:** 3	**Location in CTD:** 4.2.3.3-02
Metabolizing System: human liver S9 prepared with 3'phosphoadenosine-5'-phosphosulfate (PAPS)	**No. of Cells Analyzed/Cultured:** between 10^6 and 10^8 cells plated	**GLP Compliance:** Yes
Vehicles: For Test Article: Dimethylsulfoxide (DMSO) **For Positive Controls:** DMSO		**Date of Treatment:** [redacted]-20[redacted]
Treatment: Plate incorporation for 48 hours.		
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
Without Activation	Negative control (DMSO)	100 µL (+ PAPS)/plate	15	ND	ND	ND	ND
		100 µL/plate	14	101	9	6	34
	ICR	0.5	ND	ND	ND	247	ND
	2NF	2.5 (+ PAPS)	1088	ND	ND	ND	ND
		2.5	1281	ND	ND	ND	ND
	SA	1.0	ND	291	403	ND	ND
	NQNO	2.0	ND	ND	ND	ND	725
With Activation	Negative control (DMSO)	100 µL (15% S9 + PAPS)/plate	27	100	11	8	48
		100 µL (15% S9) /plate	22	108	11	4	ND
		100 µL (30% S9) /plate	ND	ND	ND	ND	42
	Zuranolone	1.5 (15% S9 + PAPS)	24	104	9	8	38
		5.0 (15% S9 + PAPS)	24	90	11	8	29
		15 (15% S9 + PAPS)	25	105	9	5	43
		50 (15% S9 + PAPS)	24	108	12	8	21
		150 (15% S9 + PAPS)[a]	28	115	13	7	40
		500 (15% S9 + PAPS)[a]	32	110	10	8	37
		1500 (15% S9 + PAPS)[a]	27	98	9	8	38
		5000 (15% S9 + PAPS)[b]	-	-	-	-	-
	2AA	2.5 (15% S9)	2572	465	260	78	ND
		5.0 (30% S9)	ND	ND	ND	ND	483

2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; DMSO = dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; ICR = ICR-191 acridine; ND = not determined; NQNO = 4-nitroquinoline-N-oxide; PAPS = 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate; SA = sodium azide; S9 = microsomal liver preparations

[a] Precipitates present.

[b] Interfering precipitates present, plates not counted.

2.6.7.8.4 ほ乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験：重要な試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Assay in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells		
Test for Induction of: Chromosomal aberration	**No. of Independent Assays:** 1	**Study No.** SSN-01033
Strains: CHO cells	**No. of Replicate Cultures:** 2	**Location in CTD:** 4.2.3.3-03
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Cultured:** 100	**GLP Compliance:** Yes
Vehicles: For Test Article: Dimethyl sulfoxide (DMSO)	**For Positive Controls:** sterile distilled water	**Date of Treatment:** [redacted]-20[redacted]
Treatment: 20 hours (-S9); 4 hours + 16 hours recovery period (±S9)		
Cytotoxic Effects: 54% at 25 µg/mL treated for 20 hours (-S9)		
Genotoxic Effects: None		

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity	Aberrant Cells		Aberrations per Cell [mean (SD)][a]	Total Polyploid Cells
			Cell Growth Inhibition (%)	Numerical (%)[b]	Structural (%)[c]		(%)[d]
Without Activation (20-hour treatment)	**Negative control (DMSO)**	N/A	N/A	1.5	0.5	0.005 (0.071)	1.5
	Zuranolone	5	19	1.5	0.0	0.000 (0.000)	1.5
		15	28	1.5	0.0	0.000 (0.000)	1.5
		25	54	2.0	2.5	0.025 (0.157)	2.0
	MMC	0.1	51	2.0	10.0 B	0.125 (0.413)	2.0
With Activation (4-hour treatment + 16-hour recovery)	**Negative control (DMSO)**	N/A	N/A	2.0	0.5	0.005 (0.071)	2.0
	Zuranolone	15	-12	2.0	0.0	0.000 (0.000)	1.5
		30	28	3.5	0.5	0.005 (0.071)	1.5
		45	45	2.0	2.0	0.020 (0.140)	1.5
	CP	5	49	2.5	25.0 B	0.370 (0.747)	2.5
Without Activation (4-hour treatment + 16-hour recovery)	**Negative control (DMSO)**	N/A	N/A	1.0	0.0	0.000 (0.000)	1.0
	Zuranolone	20	-18	3.5	0.0	0.000 (0.000)	3.5
		40	-7	2.0	0.0	0.000 (0.000)	2.0
		50	47	4.0 A	0.0	0.000 (0.000)	3.0
	MMC	0.2	14	2.5	15.0 B	0.150 (0.359)	2.5

CHO = Chinese hamster ovary; CP = cyclophosphamide; DMSO = dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MMC = mitomycin C; N/A = not applicable; S9 = microsomal liver preparations; SD = standard deviation
Fisher's Exact test: A = $p \leq 0.05$; B = $p \leq 0.01$
a Severely damaged cells counted as 10 aberrations. Does not include cells with only gaps.
b Does not include endoreduplicated cell.
c Includes polyploid and endoreduplicated cells.
d Does not include cells with only gaps.

2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 げっ歯類を用いる小核試験：重要な試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: *In Vivo* Micronucleus Assay in Rats		
Test for Induction of: Micronuclei in bone marrow	**Treatment Schedule:** Single dose	**Study No.** SSN-01034
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Sampling Time:** 24 and 48 hours postdose	**Location in CTD:** 4.2.3.3-06
Age at dosing: 7 weeks at initiation of dosing	**Method of Administration:** Oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Cell Evaluated: PCEs from bone marrow	**Vehicle/Formulation:** 100% Labrasol	**Date of Dosing:** [redacted]-20[redacted]
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000 PCEs		
Special Features: None		
Toxic/Cytotoxic Effects: No mortality occurred at any dose level during the course of the definitive assay. Clinical signs included piloerection or diarrhea in animals treated at 22.5 mg/kg, and piloerection, lethargy, diarrhea or prostration in animals treated at 30 mg/kg. All other animals appeared normal throughout the observation period.		
Genotoxic Effects: None		
Evidence of Exposure: In 2-week, 13-week and 26-week oral toxicity studies conducted in Sprague Dawley rats, the exposure was proven.		

Sampling Time	Test Article	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	PCE : TE [mean (SD)]	Number MN-PCEs / 1000 PCE [mean (SD)]
24 hours	**Negative control (vehicle:** Labrasol**)**	N/A	M:5	0.427 (0.03)	1.0 (0.00)
	Zuranolone	3	M:5	0.439 (0.03)	0.5 (0.50)
		10	M:5	0.435 (0.04)	0.4 (0.42)
		22.5	M:5	0.448 (0.03)	0.5 (0.35)
		30	M:5	0.432 (0.02)	0.3 (0.45)
	Cyclophosphamide	40	M:5	0.326 (0.02)	26.0 (3.59) A
48 hours	**Negative control (vehicle:** Labrasol**)**	N/A	M:5	0.458 (0.04)	0.7 (0.45)
	Zuranolone	22.5	M:5	0.436 (0.03)	0.6 (0.42)
		30	M:5	0.451 (0.03)	0.5 (0.35)

GLP = Good Laboratory Practice; Labrasol = PEG-8 caprylic/capric glycerides; MN-PCE = micronucleated polychromatic erythrocytes; N/A = not applicable; PCE(s) = polychromatic erythrocyte(s); SD = standard deviation; TE = total erythrocytes (polychromatic erythrocytes + normochromatic erythrocytes)
Kastenbaum-Bowman tables: A = $p \leq 0.05$

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 がん原性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type [rasH2]	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	Escalating Dose Phase: 15, 30, 100, 300, 1000	Escalating Dose Phase: 3M, 3F	Escalating Dose Phase: 300	Escalating Dose Phase: 1000	Escalating Dose Phase (Phase A): Mortality at 1000 mg/kg in 1M (sacrificed *in extremis*) on Day 2; clinical signs in this animal included ↓ activity, ataxia, hypersensitive to touch, eyelids partially/completely closed (both eyes), skin warm to touch (whole body), shallow breathing, ↑ respiratory effort, hunched posture, and clonic convulsions. Clinical findings were consistent with dose-dependent sedation[a] (Phase 2 [mild] ≤100 mg/kg, Phase 2 to 3 sedation ≥300 mg/kg), which is an exaggerated pharmacologic effect of SAGE-217. 100 mg/kg: ↑ activity ≥300 mg/kg: ↑ or ↓ activity, hypersensitivity to touch, tremors, vocalization, shallow breathing, and ↓ body weight. 1000 mg/kg: lateral or ventral recumbency, impaired righting reflex, ataxia, loss of skin elasticity, skin cold to touch, eyelids partially/completely closed (both eyes), and ↓food consumption.	SSN-02394 [4.2.3.2-01]

F = female; M = male; PVP-VA = polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer;
a Sedation is graded based on the following characteristics:
Phase 1 (Normal) - All functions are normal;
Phase 2 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact that is sufficient to prevent entrapment or injury and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;
Phase 3 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Phase 4 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.

Species/ Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. Per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Ji	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized	Repeated Dose Phase: 5 days	Repeated Dose Phase:	Repeated Dose Phase:	Repeated Dose Phase:	Repeated Dose Phase (Phase B): Mortalities at 500 mg/kg: - 3 main study animals - 1F found dead on Day 2 and 2M	SSN-02394 [4.2.3.2-01]

c Wild Type [rasH2]	water)		0, 50, 150, 500	6M, 6F (42M, 42F) [a]	ND	euthanized *in extremis* on Day 3 (gavage error) and Day 5, respectively, and - 9 TK animals - 6M (including one gavage error-related death) and 3F (including one gavage error-related death) between Days 2 and 5. Clinical signs prior to mortality included ↓ activity, tremors, ventral or lateral recumbency, eyelids partially/completely closed (both eyes), skin discolored pink (entire body), ataxia, vocalization, carriage low, breathing difficult, shallow, slow, or irregular, increased respiratory effort, hunched posture, righting reflex impaired, righting reflex lost, loss of skin elasticity, dehydration, piloerection, skin cold to touch or warm to touch, hypersensitivity, circling/pacing, weakness, clonic and/or tonic convulsions, and twitching. Clinical signs were consistent with dose-dependent sedation[b] (Phase 2 [mild] at 50 mg/kg and Phase 2 to 3 [moderate] at ≥150 mg/kg), which is an exaggerated pharmacologic effect of SAGE-217. ≥50 mg/kg: ↑ activity, ataxia, tremors, ventral recumbency, ↓ body weight (in M at ≥50 mg/kg and in F at ≥150 mg/kg). ≥150 mg/kg: Eyelids partially or completely closed, lateral recumbency, piloerection, hunched posture, skin cold to touch, ↓ body weight (F), ↓ food consumption (in M at 150 mg/kg and in M and F at 500 mg/kg), and ↓ in absolute reticulocyte counts (in M at 150 mg/kg and in M and F at 500 mg/kg). 500 mg/kg: Loss of skin elasticity, skin discolored pink or pale, righting reflex impaired or lost, vocalization, carriage low, difficult/ irregular/shallow/slow breathing, twitching, ↓ in lymphocyte counts, neutrophils, and monocytes, and ↑ in albumin (F), globulin (F), and urea nitrogen (1M). MTD: 150 mg/kg <u>TK (plasma)</u>: Day 1: C_{max} (M/F): 824/856, 800/921, and 1240/1190 ng/mL at 50, 150, and 500 mg/kg, respectively. $AUC_{0\text{-}12hr}$ (M/F): 4330/4190, 7750/8510, and 12 600/10 600 ng·hr/mL at 50, 150, and 500 mg/kg, respectively. Day 5:	

						C_{max} (M/F): 839/1380, 1020/1580, and 3930/8230 ng/mL at 50, 150, and 500 mg/kg, respectively. $AUC_{0\text{-}12hr}$ (M/F): 3520/4980, 10 400/10 300, and 18 400/ 17 900 ng·hr/mL at 50, 150, and 500 mg/kg, respectively.	

$AUC_{0\text{-}12hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 12 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; hr = hour(s); M = male; MTD = maximum tolerated dose; NOAEL = no observed adverse effect level; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer; TK = toxicokinetics

a An additional set of animals served as toxicokinetic satellite animals for the vehicle control and/or SAGE-217 groups (3/sex/timepoint).

b Sedation is graded based on the following characteristics:
Phase or grade 1 (Normal) - All functions are normal;
Phase or grade 2 (Mild) - Animal is conscious and had positional control/righting reflex intact that is sufficient to prevent entrapment or injury and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;
Phase or grade 3 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Phase or grade 4 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.

2.6.7.10.2 マウスがん原性試験：用量設定試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A 28-Day Oral Toxicity Study in CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type [rasH2] Mice			
Species/Strain: Mouse/ CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Wild Type [rasH2]	**Duration of Dosing:** 4 weeks	**Duration of Postdose:**N/A	**Study No.** SSN-02546
Initial Age: Approximately 6 weeks at receipt	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.2-02
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Sedation assessments			
NOAEL: 100 mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**		**30**		**100**		**300/200[a]**	
Toxicokinetics [b]										
No. Evaluated			M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 28**	N/A	N/A	713	1280	1350	1320	1250	1470
	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	**Day 28**	N/A	N/A	1830	2490	3320	4170	7500	7320
Noteworthy Findings										
No. Evaluated			M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	0	0	0	2[e, f]	1[g, f]
Body Weight (%) [f]	**Week 1**		26.11 g	20.40 g	-0.50	+0.64	-3.75	-1.62	-12.75 B	-1.96
	Week 4		26.58 g	21.43 g	+2.0	+8.0	+1.9	+3.8	+2.8	+6.8
Food Consumption (%) [f]	**Week 1 to 2**		4.0 g	3.3 g	+12.50 A	+39.39 B	-75.00 B	-24.24 A	-62.50 B	-27.27 B
	Week 2 to 3		4.3 g	3.4 g	+6.98	+47.06 B	-20.93 B	+8.82	-27.91 B	+2.94
	Week 3 to 4		3.6 g	3.2 g	+22.22 B	+68.75 B	+36.11 B	+59.38 B	+30.56 B	+46.88 B
Clinical Observation [g]										
	Activity									
	Increased		0	0	0	0	3	3	2	0
	Decreased		0	0	0	0	1	0	5	1
	Ataxia		0	0	0	0	0	0	1	1
	Breathing									
	Irregular		0	0	0	0	0	0	0	1
	Shallow		0	0	0	0	0	0	1	1
	Slow		0	0	0	0	0	0	1	0
	Carriage (low)		0	0	0	0	0	0	2	1
	Dehydration[h]		0	0	0	0	0	0	5	0
	Eyes (eyelids)									
	Partially/completely closed		0	0	0	0	0	0	0	1

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**		**30**		**100**		**300/200[a]**	
	Hunched posture		0	0	0	0	0	0	1	1
	Hypersensitive		0	0	0	0	0	0	1	0
	Lateral or sternal recumbency[h]		0	0	0	0	0	0	2	0
	Skin (cold to touch)		0	0	0	0	0	0	2	1
	Tremors		0	0	0	0	5	2	10	8
	Twitching (entire body)		0	0	0	0	3	2	7	6
Sedation Assessment (Number of Animals Affected)[i, j]										
	Phase 2	(Mild)	0	0	1	1	10	10	10	10
	Phase 3	(Moderate)	0	0	0	0	0	0	10	9
Urinalysis			–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology			–	–	–	–	–	–	–	–
Blood Chemistry			–	–	–	–	–	–	–	–
Organ Weight (%) [f]										
Liver[k]	**Absolute**		1.236 g	1.007 g	-6.1	-1.7	-6.0	-6.9	-5.0	-4.4
	Relative to body weight		4.979%	4.858%	-6.3 A	-3.7	-6.5 A	-4.3	-6.1 A	-5.1
	Relative brain weight		2.728%	2.189%	-4.5	+0.7	-4.4	-4.7	-2.9	-2.6
Gross Pathology			–	–	–	–	–	–	–	–
Histopathology										
Liver[l]	Vacuolation, decreased									
		Minimal	0	0	6	3	7	6	4	3
		Mild	0	0	0	0	0	0	1	1

- = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; hr = hour(s); M = male; N/A = not applicable; PVP-VA = polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer

ANOVA & Dunnett's: A = $p < 0.05$; B = $p < 0.01$

a Due to mortalities at 300 mg/kg, the dose was reduced to 200 mg/kg/day starting Day 7.

b An additional 51 animals/sex/treatment group (and 6 animals/sex in the control group) plus 2 additional animals/sex/group as possible replacement animals served as toxicokinetic satellite animals (1 to 4/sex/group/timepoint).

c Two (2) males were euthanized *in extremis* on Days 4 and 6; no cause of death could be determined microscopically for these animals.

d In addition to the mortalities in main study animals, 13M and 2F toxicokinetic animals were euthanized *in extremis* between Days 3 and 8. Clinical/veterinary observations prior to early termination included decreased activity, tremors, ataxia, hunched posture, eyelids partially/completely closed (both eyes), breathing shallow, slow, or irregular, increased respiratory effort, increased abdominal effort during respiration, righting reflex impaired, lateral or sternal recumbency, twitching (often entire body), limbs splayed, carriage low (or high in one case), thinness, loss of skin elasticity, dehydration, skin cold to touch, and unkempt appearance. The limited gross necropsies conducted for the toxicokinetic animals indicated no evidence of gavage-related trauma or errors.

e One (1) female was euthanized *in extremis* on Day 4; no cause of death could be determined microscopically for this animal.

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

g In addition to the clinical signs in main study animals, circling, rocking, and unkempt appearance were observed at the high dose in 3M+1F, 1M, and 3M+1F toxicokinetic animals, respectively.

h Veterinary observations in main study animals.

i Animals were monitored intermittently (every 2h) for signs of sedation through return to Phase 2 (mild) of sedation daily during Week 1 and weekly thereafter. Documentation of sedation monitoring was only recorded in the study for animals that reached a score of Phase 2 or higher.

j Sedation is graded based on the following characteristics:
Phase 1 (Normal) - All functions are normal;
Phase 2 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact that is sufficient to prevent entrapment or injury and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity;
Phase 3 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position;
Phase 4 (Severe) - Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.
k The liver weight changes (non-dose-related decrease in males) were considered an indirect/secondary effect of decreased hepatocyte vacuolation in the livers.
l The microscopic findings in the liver were morphologically consistent with decreased glycogen storage which was likely related to decreased food consumption. Decreased hepatocyte glycogen storage is a common finding in animals with decreased food consumption and was not associated with any other microscopic or clinical pathology findings and was considered to be non-adverse.

2.6.7.10.3 マウスがん原性試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A 26-Week Oral Oncogenicity Study in CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Mice		
Species/Strain: Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic[a]	**Duration of Dosing:** 26 weeks	**Study No.** SSN-02759
Initial Age: 7 to 8 weeks at initiation of dosing	**Method of Administration:** Oral gavage	**Location in CTD:** 4.2.3.4-02
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water	**GLP Compliance:** Yes
Treatment of Controls: Vehicle, water, or NMU (via single IP injection; as positive control)		
Basis for High-Dose Selection: In a GLP-compliant study (SSN-02546 [4.2.3.2-02]), SAGE-217 was administered by oral gavage to male and female mice (CByB6F1-Tg(HRAS)2JIC Wild Type [rasH2]) at dose levels of 30, 100, or 300/200 mg/kg/day for 4 weeks. SAGE-217-related mortality was observed in the 300/200 mg/kg/day group on or between Days 3 to 8, necessitating the lowering of the dose to 200 mg/kg/day on Day 7. Sedation, an extension of the anticipated pharmacologic activity of SAGE-217, was noted at dose-dependent severities and incidences at ≥30 mg/kg/day. The no-observed-adverse-effect-level was considered to be 100 mg/kg/day, based on the early mortality observed at 300/200 mg/kg/day. The dose level of 200 mg/kg/day was tolerated from Day 9 to Day 28 with remaining animals surviving to scheduled necropsy.		
Special Features: None		

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Vehicle)**		**0 (Water)**		**10**		**30**		**100**		**75 (NMU)**	
Toxicokinetics[b]														
No. Evaluated			M:6	F:6	M:0	F:0	M:51	F:51	M:51	F:51	M:51	F:51	M:0	F:0
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 1**	N/A	N/A	NT	NT	525	757	845	993	1040	1070	NT	NT
		Day 182	N/A	N/A	NT	NT	370	399	550	1530	1140	1430	NT	NT
	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	**Day 1**	N/A	N/A	NT	NT	1870	2010	4360	4270	8860	7820	NT	NT
		Day 182	N/A	N/A	NT	NT	1300	1110	2540	2450	5320	4820	NT	NT
Noteworthy Findings														
No. Examined	**At start**		25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
	Died/Sacrificed Moribund		0	0	1[c]	1[c]	0	2[d]	1[e]	1[e]	0	4[f]	8[g]	7[h]
	Terminal Sacrifice		25	25	24	24	25	23	24	24	25	21	7	8
Survival (%)			100	100	96	96	100	92	96	96	100	84	47	53
Body Weight (%)[i]	**Week 26**		30.89 g	23.55 g	31.47 g	24.53 g	+1.26 / -0.60	+3.99 / -0.16	-2.04 / -3.84	+9.55 A / +5.18	+5.21 / +3.27	+15.4 1 B / +10.8 0 B	+18.5 2 / +16.3 3	+15.5 4 / +10.9 3
Body Weight Change (%)	**Week -1 to 26**		26.65	20.83	29.24	26.25	28.20	26.24	24.17	33.06	32.44	40.10	50.10	40.40
Food Consumption (%)[i]	**Week 25 to 26**		4.7 g	3.5 g	4.3 g	3.7 g	-6.38 / +2.33	+20.0 0 B / +13.5 1 B	+12.7 7 B / +23.2 6 B	+60.0 0 B / +51.3 5 B	-70.21 B / -67.44 B	-37.14 B / -40.54 B	-4.26 / +4.65	+34.2 9 / +27.0 3
Gross Pathology			–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
No. Animals with Neoplastic Lesions[j]**:**														

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (Water)		10		30		100		75 (NMU)	
Cavity, Abdominal	Carcinoma, Squamous Cell, Malignant, Secondary	0	NE	0	NE	0	NE	0	NE	0	NE	1	NE
Harderian Glands	Adenocarcinoma, Malignant, Primary	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1
	Adenoma, Benign, Primary	1	2	2	0	0	0	0	4	0	0	0	2
Large Intestine, Rectum	Carcinoma, Squamous Cell, Malignant, Secondary	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Lung	Adenoma, Bronchiolar Alveolar, Benign, Primary	0	2	1	1	3	0	3	0	1	2	1	1
	Carcinoma, Bronchiolar Alveolar, Malignant, Primary	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Multicentric Neoplasm	Hemangioma, Benign, Multicentric	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	Hemangiosarcoma, Malignant, Multicentric	2	1	3	2	2	2	1	1	1	3	1	0
	Lymphoma, Malignant, Multicentric	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	9	7
Nose	Carcinoma, Adenosquamous, Malignant, Primary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pancreas	Carcinoma, Squamous Cell, Malignant, Secondary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Skin/Skin, Subcutis	Adenocarcinoma, Malignant, Primary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Carcinoma, Squamous Cell, Malignant, Primary	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	Papilloma, Benign, Primary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Primary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Stomach	Carcinoma, Squamous Cell, Malignant, Primary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Papilloma, Benign, Primary	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	13	12
Thymus	Thymoma, Benign, Primary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Thymoma, Malignant, Primary	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
Tongue	Papilloma, Benign, Primary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Uterus with Cervix	Polyp, Endometrial Stromal, Benign, Primary	NE	0	NE	0	NE	0	NE	0	NE	0	NE	1
Histopathology –Non-Neoplastic Lesions													
Mammary Gland	Hyperplasia, lobular												
	Minimal	N/A	2	N/A	3	N/A	2	N/A	10	N/A	5	N/A	0
	Mild	N/A	1	N/A	2	N/A	0	N/A	0	N/A	6	N/A	0
	Moderate	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	2	N/A	0

Daily Dose (mg/kg)			0 (Vehicle)		0 (Water)		10		30		100		75 (NMU)	
Ovaries	Hypertrophy, corpora lutea													
		Mild	N/A	4	N/A	5	N/A	6	N/A	10	N/A	14	N/A	0
		Moderate	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	2	N/A	7	N/A	0

- = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; N/A = not applicable; NE = not examined; NMU = N-nitroso-N-methylurea; NT = not tested; PVP-VA = polyvinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer

ANOVA with Multiple Comparisons: A = $p<0.05$; B = $p<0.01$

a Main study groups used CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (hemizygous) [rasH2] mice, while toxicokinetic groups used CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (non-transgenic, Taconic model 001178-W) mice.

b An additional 51 animals + 2 animals as possible replacement/sex/treatment group (and 6 animals + 2 animals as possible replacement /sex/vehicle control group) served as toxicokinetic satellite animals (3/sex/timepoint).

c The probable cause of death was multicentric hemangiosarcoma.

d The probable causes of death were skin, subcutis carcinoma (squamous cell, malignant, primary) for 1 animal and undetermined for 1 animal.

e The cause of death was undetermined.

f The probable causes of death were multicentric hemangiosarcoma in 3 animals and undetermined for 1 animal.

g The probable causes of death were multicentric lymphoma for 6 animals, stomach carcinoma (squamous cell, malignant, primary) for 1 animal, and undetermined for 1 animal.

h The probable causes of death were multicentric lymphoma for 6 animals and stomach carcinoma (squamous cell, malignant, primary) for 1 animal

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

2.6.7.10.4 ラットがん原性試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: An Oral Gavage 104-Week Oncogenicity Study in Male and Female Sprague Dawley Rats		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 104 weeks	**Study No.** SSN-01992
Initial Age: 8 weeks at initiation of dosing	**Method of Administration:** Oral gavage	**Location in CTD:** 4.2.3.4-01
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water	**GLP Compliance:** Yes
Treatment of Controls: Vehicle or water		
Basis for High-Dose Selection: In a 13-week toxicology study (SSN-01403[4.2.3.2-08]), SAGE-217 was administered by oral gavage at dose levels of 0.8, 2.5, 8, or 30 mg/kg/day to male rats and 0.15, 0.5, 1.5, or 5 mg/kg/day to female rats. The no observed adverse effect levels were 30 mg/kg/day for males (highest dose tested) and 1.5 mg/kg/day for females, based on a single SAGE-217-related mortality in the 5 mg/kg/day group females. There were no SAGE-217-related effects on food consumption, or hematology, coagulation, serum chemistry, and urinalysis parameters. There were no SAGE-217-related ophthalmic, gross, or microscopic findings.		
Special Features: None		

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Vehicle)**		**0 (Water)**		**2**	**0.2**	**6**	**0.6**	**20**	**1.5**
Toxicokinetics[a]												
No. Evaluated			M:3	F:3	M:3	F:3	M:9	F:9	M:9	F:9	M:9	F:9
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 1**	N/A	N/A	N/A	N/A	105	37.8	263	101	422	248
		Day 363	N/A	N/A	N/A	N/A	202	65.9	305	168	457	307
	AUC_{0-24hr} (ng·hr/mL)	**Day 1**	N/A	N/A	N/A	N/A	581	356	2040	1040	4450	2560
		Day 363	N/A	N/A	N/A	N/A	2280	828	4430	2100	6430	4560
Noteworthy Findings												
No. Examined	**At start**		70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
	Died/Sacrificed Moribund		50[b]	46[c]	49[d]	49[e]	53[f]	55[g]	50[h]	47[i]	54[j]	46[k]
	Terminal Sacrifice[l]		20	24	21	21	17	15	20	23	16	24
Survival (%) [l]			29	34	30	30	24	21	29	33	23	34
Body Weight (%) [m]	**Week 56**		898.9 g	436.6 g	899.5 g	432.5 g	+0.99 / +0.92	-1.17 / -0.23	-2.37 / -2.43	-4.44 / -3.54	-6.13 A / -6.19 A	-2.29 / -1.36
	Week 72		916.9 g	471.9 g	917.4 g	487.6 g	+0.62 / +0.57	+1.63 / -1.64	-1.70 / -1.75	-2.08 / -5.23	-7.75 A/ -7.80 A	+0.40 / -2.83
Food Consumption (%) [m]	**Week 55 to 56**		30.2 g	18.8 g	29.9 g	17.7 g	-4.97 / -4.01	-6.38 / -0.56	-5.96 / -5.02	-5.32 / +0.56	-8.94 A / -8.03	-6.38 / -0.56
	Week 71 to 72		28.0 g	19.4 g	28.7 g	20.2 g	-0.71 / -3.14	-7.22 / -10.89 A	-0.71 / -3.14	-8.76 / -12.38 B	-27.14 B / -28.92 B	-6.70 / -10.40 A
Gross Pathology			–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
No. Animals with Neoplastic Lesions[n]**:**												
Adrenal Glands	Adenoma, Cortical, Benign, Primary		1	0	0	1	2	1	1	2	1	2
	Myelolipoma, Benign, Primary		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (Water)		2	0.2	6	0.6	20	1.5
	Pheochromocytoma, Benign, Primary	6	1	12	0	9	0	10	1	5	1
	Pheochromocytoma, Malignant, Primary	2	0	1	0	2	0	2	0	2	0
Bone	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Primary	1	NE	0	NE	0	NE	0	NE	0	NE
Bone, Femur	Schwannoma, Malignant, Secondary	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Brain	Carcinoma, Pars Distalis, Malignant, Secondary	0	1	0	3	0	2	0	3	0	1
	Glioma, Malignant, Primary	2	0	0	1	1	1	2	0	1	0
	Granular Cell Tumor, Malignant, Primary	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	Pituicytoma, Pars Nervosa, Malignant, Secondary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Clitoral Glands	Adenoma, Benign, Primary	NE	0	NE	1	NE	0	NE	0	NE	0
Coagulating Glands	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	NE	1	NE	0	NE	0	NE	0	NE
Ears	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Primary	0	NE	0	0	0	NE	0	NE	1	0
Epididymides	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	NE	2	NE	0	NE	0	NE	0	NE
Eyes	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Harderian Glands	Adenoma, Benign, Primary	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Primary	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidneys	Lipoma, Benign, Primary	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1
Lacrimal Glands, Exorbital	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Large Intestine, Colon	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Larynx	Carcinoma, Follicular Cell, Malignant, Secondary	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver	Adenoma, Hepatocellular, Benign, Primary	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (Water)		2	0.2	6	0.6	20	1.5
	Carcinoma, Hepatocellular, Malignant, Primary	1	0	2	0	1	0	0	0	1	0
Lung	Adenoma, Bronchiolar Alveolar, Benign, Primary	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Carcinoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Papilloma, Benign, Primary	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Schwannoma, Malignant, Secondary	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph Node, Mandibular	Carcinoma, Follicular Cell, Malignant, Secondary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Schwannoma, Malignant, Secondary	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph Node, Mesenteric	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Mammary Gland	Adenocarcinoma, Malignant, Primary	0	17	0	26	2	17	1	21	0	27
	Adenoma, Benign, Primary	0	2	0	1	0	1	0	1	0	1
	Carcinosarcoma, Malignant, Primary	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
	Fibroadenoma, Benign, Primary	3	35	0	22	0	31	3	39	1	34
	Sarcoma, Stromal, Malignant, Primary	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
Mediastinum/Pleura	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Primary	0	NE	0	0	0	0	1	NE	0	NE
	Schwannoma, Malignant, Primary	0	NE	0	0	0	0	0	NE	1	NE
Mesentery/Peritoneum	Lipoma, Benign, Primary	0	0	0	1	0	NE	0	0	0	NE
	Liposarcoma, Malignant, Primary	0	1	0	0	0	NE	0	0	0	NE
	Mesothelioma, Malignant, Primary	0	0	2	0	0	NE	0	0	0	NE
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Primary	0	0	0	0	0	NE	0	1	0	NE
	Schwannoma, Malignant, Primary	0	0	0	0	1	NE	0	0	1	NE
Multicentric Neoplasm	Hemangiosarcoma, Malignant,	1	NE	1	1	2	1	0	0	0	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (Water)		2	0.2	6	0.6	20	1.5
	Multicentric										
	Lymphoma, Malignant, Multicentric	0	NE	1	0	1	1	0	2	1	1
	Sarcoma, Histiocytic, Malignant, Multicentric	0	NE	1	1	0	1	0	0	0	1
Nose	Adenoma, Benign, Primary	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	Carcinoma, Squamous Cell, Malignant, Primary	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ovaries	Sex-Cord/Stromal Tumor, Benign, Primary	NE	0	NE	0	NE	0	NE	1	NE	0
Pancreas	Adenoma, Acinar Cell, Benign, Primary	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
	Adenoma, Acinar-Islet Cell, Benign, Primary	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Adenoma, Islet Cell, Benign, Primary	4	1	4	2	4	0	2	2	0	1
	Carcinoma, Islet Cell, Malignant, Primary	1	1	0	1	1	0	2	1	0	0
	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Parathyroid Glands	Adenoma, Benign, Primary	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0
	Carcinoma, Malignant, Primary	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Pharynx	Papilloma, Squamous Cell, Benign, Primary	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Pituitary Gland	Adenoma, Pars Distalis, Benign, Primary	43	53	40	54	50	52	37	56	37	48
	Adenoma, Pars Intermedia, Benign, Primary	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Carcinoma, Pars Distalis, Malignant, Primary	0	1	0	3	0	2	0	3	0	1
	Pituicytoma, Pars Nervosa, Malignant, Primary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Preputial Glands	Adenoma, Benign, Primary	0	NE	0	NE	0	NE	0	NE	1	NE
Prostate Gland	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	NE	1	NE	0	NE	0	NE	0	NE
Salivary Gland, Mandibular	Leiomyosarcoma, Malignant, Primary	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (Water)		2	0.2	6	0.6	20	1.5
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Schwannoma, Malignant, Secondary	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Seminal Vesicles	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	NE	1	NE	0	NE	0	NE	0	NE
Skin/Subcutis	Adenoma, Basal Cell, Benign, Primary	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Adenoma, Sebaceous Cell, Benign, Primary	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0
	Carcinoma, Basal Cell, Malignant, Primary	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
	Carcinoma, Squamous Cell, Malignant, Primary	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Carcinoma, Undifferentiated, Malignant, Primary	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Fibroma, Benign, Primary	2	0	4	1	3	0	2	1	4	0
	Fibrosarcoma, Malignant, Primary	2	1	2	0	0	0	2	1	0	1
	Hair Follicle Tumor, Benign, Primary	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1
	Keratoacanthoma, Benign, Primary	1	0	2	0	1	0	2	0	2	1
	Leiomyosarcoma, Malignant, Primary	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Lipoma, Benign, Primary	3	1	1	0	0	0	2	0	0	0
	Melanoma, Amelanotic, Malignant, Primary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Osteosarcoma, Malignant, Primary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Papilloma, Squamous Cell, Benign, Primary	2	0	2	1	2	0	2	0	0	0
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Primary	2	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	Schwannoma, Malignant, Primary	2	0	1	1	1	1	1	0	1	1
Small Intestine, Duodenum	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Small Intestine, Ileum	Leiomyosarcoma, Malignant, Primary	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (Water)		2	0.2	6	0.6	20	1.5
Small Intestine, Jejunum	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Spinal Cord	Glioma, Malignant, Secondary	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Stomach, Glandular	Adenocarcinoma, Malignant, Primary	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Stomach, Nonglandular	Papilloma, Squamous Cell, Benign, Primary	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Testes	Adenoma, Leydig Cell, Benign, Primary	0	NE	0	NE	0	NE	0	NE	1	NE
	Carcinoma, Leydig Cell, Malignant, Primary	0	NE	0	NE	1	NE	0	NE	0	NE
	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	NE	2	NE	0	NE	0	NE	0	NE
Thymus	Thymoma, Benign, Primary	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Thymoma, Malignant, Primary	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Thyroid Gland	Adenoma, C-Cell, Benign, Primary	10	12	7	10	6	10	8	8	4	14
	Adenoma, Follicular Cell, Benign, Primary	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Carcinoma, C-Cell, Malignant, Prima	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	Carcinoma, Follicular Cell, Malignant, Primary	1	1	0	0	1	1	1	1	1	2
Tongue	Carcinoma, Squamous Cell, Malignant, Primary	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Tooth/Teeth	Odontoma, Benign, Primary	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Urinary Bladder	Leiomyoma, Benign, Primary	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
	Leiomyosarcoma, Malignant, Primary	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Mesothelioma, Malignant, Secondary	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Uterus with Cervix	Granular Cell Tumor, Benign, Primary	NE	1	NE	0	NE	0	NE	1	NE	0
	Polyp, Endometrial Stromal, Benign, Primary	NE	4	NE	3	NE	5	NE	0	NE	5
	Sarcoma, Endometrial Stromal, Malignant, Primary	NE	0	NE	3	NE	0	NE	0	NE	2
	Schwannoma, Malignant, Primary	NE	0	NE	0	NE	1	NE	0	NE	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (Water)		2	0.2	6	0.6	20	1.5
Vagina	Granular Cell Tumor, Benign, Primary	NE	2	NE	1	NE	0	NE	0	NE	0
	Polyp, Benign, Primary	NE	0	NE	1	NE	0	NE	0	NE	0
	Sarcoma, Endometrial Stromal, Malignant, Secondary	NE	0	NE	0	NE	0	NE	0	NE	1
Zymbal's Gland	Adenoma, Zymbals Gland, Benign, Primary	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Carcinoma, Zymbals Gland, Malignant, Primary	0	0	1	0	1	0	0	0	2	0
	Sarcoma, Undifferentiated, Malignant, Secondary	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Histopathology – Non-Neoplastic Lesions		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

- = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; N/A = not applicable; NE = not examined; NMU = N-nitroso-N-methylurea; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer
ANOVA with Multiple Comparisons: A = $p<0.05$; B = $p<0.01$

a An additional 9 animals + 2 animals as possible replacement/sex/treatment group (and 3 animals + 2 animals as possible replacement /sex/vehicle control group) served as toxicokinetic satellite animals (3/sex/timepoint).

b The probable causes of death were bone tumor in 1 animal, brain tumor for 2 animals, kidney degeneration/necrosis/mineralization in 1 animal, nose/oral tumor in 1 animal, pituitary tumor in 21 animals, sarcoma (type undetermined) in 1 animal, schwannoma in 1 animal, skin inflammation/necrosis in 1 animal, skin tumor in 1 animal, undetermined in 11 animals, urogenital inflammation/obstruction/calculi in 2 animals, subacute/chronic foot/feet inflammation (moderate or marked) in 2 animals, and fungus/yeast in nose lumen (moderate or marked) in 5 animals.

c The probable causes of death were aspiration of foreign material in 1 animal, inflammation/septicemia in 1 animal, lipoma/liposarcoma in 1 animal, mammary tumor in 17 animals, nose/oral tumor in 1 animal, pituitary tumor in 22 animals, skin tumor in 1 animal, uterus tumor in 1 animal, and fungus/yeast in nose lumen (marked) in 1 animal.

d The probable causes of death were aspiration of foreign material in 1 animal, fibrosarcoma/fibroma in 1 animal, histiocytic sarcoma in 1 animal, liver tumor in 1 animal, lymphoid tumor in 1 animal, mesothelioma in 1 animal, pituitary tumor in 20 animals, skin tumor in 2 animals, undetermined in 13 animals, urogenital inflammation/obstruction/calculi in 1 animal, axonal/myelin sciatic nerve degeneration (marked) in 1 animal, and fungus/yeast in nose lumen (mild or moderate) in 6 animals.

e The probable causes of death were aspiration of foreign material in 2 animals, mammary tumor in 14 tumors, pituitary tumor in 28 animals, schwannoma in 1 animal, uterus tumor in 2 animals, nerve degeneration in 1 animal, and brain ventricle hemorrhage (moderate) in 1 animal.

f The probable causes of death were aspiration of foreign material in 2 animals, fibrosarcoma/fibroma in 2 animals, hemangiosarcoma/hemangioma in 1 animal, diaphragm hernia in 1 animal, liver inflammation/necrosis in 1 animal, pituitary tumor in 22 animals, probable dosing injury in 1 animal, sarcoma (type undetermined) in 1 animal, schwannoma in 2 animals, undetermined in 16 animals, zymbals gland tumor in 1 animal, parathyroid tumor in 1 animal, and fungus/yeast in nose lumen (moderate or marked) in 2 animals.

gThe probable causes of death were accidental injury in 1 animal, brain tumor in 1 animal, mammary tumor in 16 tumors, pituitary tumor in 30 animals, schwannoma in 2 animals, skin inflammation/necrosis in 1 animal, undetermined in 3 animals, and uterus tumor in 1 animal.

h The probable causes of death were adrenal gland angiectasis/cystic degeneration/necrosis in 1 animal, aspiration of foreign material in 4 animals, brain tumor in 2 animals, fibrosarcoma/fibroma in 1 animal, lipoma/liposarcoma in 1 animal, liver inflammation/necrosis in 1 animal, mammary tumor in 1 animal, pituitary tumor in 10 animals, sarcoma (type undetermined) in 1 animal, skin inflammation/necrosis in 1 animal, skin tumor in 1 animal, thymus tumor in 1 animal, thyroid tumor in 1 animal, undetermined in 18 animals, urogenital inflammation/obstruction/calculi in 2 animals, subacute/chronic foot/feet inflammation (moderate) in 1 animal, and fungus/yeast in nose lumen (mild, moderate, or marked) in 3 animals.

i The probable causes of death were mammary tumor in 13 animals, pituitary tumor in 31 animals, skin inflammation/necrosis in 1 animal, undetermined in 1 animal, and fungus/yeast in nose lumen (moderate) in 1 animal.

j The probable causes of death were aspiration of foreign material in 5 animals, brain tumor in 1 animal, liver inflammation/necrosis in 1 animal, liver tumor in 1 animal, lymphoid tumor in 1 animal, malocclusion in 1 animal, pituitary tumor in 15 animals, sarcoma (type undetermined) in 1 animal, schwannoma in 2 animals, thyroid tumor in 1 animal, undetermined in 17

animals, urogenital inflammation/obstruction/calculi in 1 animal, zymbals gland tumor in 2 animals, subacute/chronic tibiofemoral joint inflammation (moderate) in 1 animal, axonal/myelin sciatic nerve degeneration (moderate) in 1 animal, and fungus/yeast in nose lumen (mild) in 3 animals.

k The probable causes of death were aspiration of foreign material in 1 animal, brain tumor in 1 animal, fibrosarcoma/fibroma in 1 animal, mammary tumor in 19 animals, pituitary tumor in 18 animals, sarcoma (type undetermined) in 1 animal, schwannoma in 1 animal, skin inflammation/necrosis in 2 animals, undetermined in 1 animal, and uterus tumor in 1 animal.

l Based on FDA correspondence as stated in the study protocol, females at 0.2 mg/kg/day were terminated on Day 624 (89 weeks) because only 15 animals remained in this dose group. All females in the study were terminated on Days 635 and 636 (90 weeks) because 20 animals remained in the water control female group, and all males in the study were terminated on Days 644 and 646 (92 weeks) because 20 animals remained in the vehicle control male group. In addition, dosing had previously ceased per FDA correspondence for the following individual groups when they reached 20 animals remaining: Day 588 (Week 84) for 20 mg/kg/day males.

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

n There were no test article-related increases in neoplasm incidence in either sex. The most common tumor types in all dose groups were benign pars distalis adenomas of the pituitary gland (both sexes) and benign fibroadenomas and malignant adenocarcinomas of the mammary gland (females).

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	GD6 to 17	0, 1, 4, 7.5, 15, 30, 100 (main study) + 7.5, 15, 30, 100 (TK)	5F (main study) + 6F (TK)	The 100 mg/kg/day group was terminated on GD8 as a result of 4/5 main F and 2/6 TK F found dead on GD6, GD7, or GD8. Sedation was dose-dependent in severity and incidence. Grade 2 (mild) sedation was observed at all dose levels and in control (1F). Grade 3 (moderate) and grade 4 (severe) was observed at ≥7.5 mg/kg/day. ≥7.5 mg/kg/day: Clinical signs of eye discharge. Decreased body weight (GD6 toGD7), body weight gains (GD6 to GD9), and food consumption (GD9 to GD18). 15 mg/kg/day: 2/6 TK Fs found dead on GD6 soon after blood collection. Clinical signs of abnormal gait and excess salivation. Tan area on medial liver lobe and 2 brown firm areas on caudal lung lobe in 1F at maternal necropsy. 30 mg/kg/day: 1/5 main F found dead on GD9 and 1/5 main F euthanized due to adverse clinical signs on GD19. Clinical signs of twitches, irregular respiratory rate, hyperreactivity, vaginal discharge, excess salivation, suspected dehydration, and limited use of hindlimbs. Decreased body weight (GD6 to GD9), body weight gains (dosing period). Increased early resorptions (slight) and postimplantation loss. Decreased number of live fetuses and fetal body weights All treated rats were pregnant and there were no other findings in any Caesarean-sectioning or litter parameters. All fetuses appeared normal at gross external examination. NOAEL = 4 (maternal) and 15 (developmental) mg/kg/day TK (plasma): GD6: C_{max}: 684, 794, 902, and 1450 ng/mL for 7.5, 15, 30, and 100 mg/kg/day, respectively. AUC_{last}: 9270, 14 200, 15 500, and 24 800 ng·hr/mL for 7.5, 15, 30, and 100 mg/kg/day, respectively.	SSN-01408[a] [4.2.3.5-03]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Rabbit/ New Zealand White	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	Toxicity Phase: Day 1 to 7 Pregnant Phase: GD7 to 19	Toxicity Phase: 5, 20, 100, 500, 1000 Pregnant Phase: 0, 50, 150, 500	Toxicity Phase: 3F (non-pregnant) for 5 and 20 mg/kg/day groups and 2F for the other groups Pregnant Phase: 6F	Toxicity Phase: 5 to 100 mg/kg/day: Increased body weight gain ≥500 mg/kg/day: Sedation (dose-dependent) tended to continue longer as dose period progressed; maximum grade 3 (moderate) and 4 (severe) for 500 and 1000 mg/kg/day, respectively. Clinical signs of lying on the side. Decreased body weight gain and food consumption (dose-dependent). 1000 mg/kg/day: Clinical signs of tremors, ungroomed fur, partly closed eyes (ptosis), uncoordinated movement, clear eye discharge, slight or moderate excess salivation, shallow breathing, and decreased or irregular respiratory rate. Highly variable plasma concentrations of SAGE-217 between animals could be related to TK sampling schedule differences among groups. Pregnant Phase: ≥50 mg/kg/day: Sedation grade 2 (mild). Decreased body weight gain (entire dose period for all groups and postdose period for ≥150 mg/kg/day groups) and food consumption (postdose period). 500 mg/kg/day: Clinical signs of ungroomed fur. All rabbits were pregnant and normal at necropsy. No treatment-related effects on Caesarean-sectioning or litter parameters. There were no treatment-related fetal gross external or visceral alterations. NOAEL = <50 (maternal) and 500 (developmental) mg/kg/day TK (plasma): Toxicity Phase (Days 4 and 2 for 5 and 20 mg/kg/day, respectively; Day 1 for all other dose levels): C_{max}: 2.14, 31.3, 31.0, 1.48, and 1.54 ng/mL for 5, 20, 100, 500, and 1000 mg/kg/day, respectively. AUC_{last}: 10.9, 194, 170, 6.17, and 5.60 ng·hr/mL for 5, 20, 100, 500, and 1000 mg/kg/day, respectively. Pregnant Phase (GD7) C_{max}: 12.1, 6.15, and 43.9 ng/mL for 50, 150, and 500 mg/kg/day, respectively.	SSN-01410 [4.2.3.5-05]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
					AUC_{last}: 157, 75.9, and 751 ng·hr/mL for 50, 150, and 500 mg/kg/day, respectively. Pregnant Phase (GD19): C_{max}: 10.3, 22.7, and 56.9 ng/mL for 50, 150, and 500 mg/kg/day, respectively. AUC_{last}: 143, 101, and 930 ng·hr/mL for 50, 150, and 500 mg/kg/day, respectively.	
Mouse/Crl:CD1 (ICR)	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	GD6 to 15	0, 30, 100, 300, 450	Main group: 6F TK group: 6F (vehicle control), 42F (30, 100, 300, 450 mg/kg/day group)	The single female (1/6F, main group) in 450 mg/kg/day group was euthanized in extremis on GD7, noted with tremors, shallow and labored breathing, skin pallor, cold to touch, low carriage, lying on side, and decreased activity following dosing on GD6 and/or the detailed physical ezamination on GD7, and mild to moderate sedation during this time. This female was internally normal at necropsy. The 3/42F (TK group) in 450 mg/kg/day group were euthanized in extremis between GD6 and 14, noted with labored or abnormal breathing, lying on side, decreased activity, incoordibnation, tremors, hunched posture, erected fur, abnormal gait, and/or twitching prior to euthanasia. All of these females were internally normal at necropsy. Sedation was dose-dependent in severity and incidence. Grade 2 (mild) sedation was observed at all dose levels. Grade 3 (moderate) was observed at ≥100 mg/kg/day, grade 4 (severe) was observed at 1 female in 450 mg/kg/day on GD10. Clinical observations related to the sedative effects of SAGE-217 were noted in all SAGE-217-treated groups at 1 and/or 4 hours following dose administration and were generally dose-dependent in severity and incidence. Tremors (slight to moderate), incoordination (slight to severe), low carriage, and decreased activity were noted at all SAGE-217 doses. Labored or shallow breathing, lying on side, and twitches were noted at ≥100 mg/kg/day, hunched posture and skin pallor were noted at 300 and 450 mg/kg/day, and abnormal gait was noted at 100 mg/kg/day. In the 450 mg/kg/day group, mean body weight gains were lower than the control group throughout the dosing period (GD 6–16). As a result, mean absolute body weights in this group were up to 7.4% lower than the control group during GD 15–16. Following the cessation of dosing (GD 16–18), mean body weight gain in the 450 mg/kg/day group was comparable to the control group and mean absolute body weight was 4.3% lower on GD 18.	SSN-16602 [4.2.3.5-11]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
					Mean adjusted body weight and adjusted body weight gain in the 450 mg/kg/day group were also lower than the control group. All mice were pregnant and normal at necropsy. No treatment-related effects on Caesarean-sectioning or litter parameters. All fetuses appeared normal at gross external examination. TK (plasma): GD6: C_{max}: 997, 1300, 1520, and 1400 ng/mL for 30, 100, 300, and 450 mg/kg/day, respectively. AUC_{last}: 5600, 12 400, 15 500, and 18 000 ng·hr/mL for 30, 100, 300, and 450 mg/kg/day, respectively. GD15: C_{max}: 655, 803, 1000, and 1100 ng/mL for 30, 100, 300, and 450 mg/kg/day, respectively. AUC_{last}: 3390, 5100, 8800, and 10 600 ng·hr/mL for 30, 100, 300, and 450 mg/kg/day, respectively.	

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GD = gestation day; M = male; NOAEL = no observed adverse effect level; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer; TK = toxicokinetics

[a] The Final Report and the Short Form Final Report Amendment are for the same study and constitute the final report and the description of what is amended; therefore, they should be reviewed together.

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

2.6.7.12.1 雄性ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A Fertility and Early Embryonic Development Study by Oral (Gavage) Administration in Male Rats		
Design similar to ICH 4.1.1: Yes	**Duration of Dosing:** M: 28 days prior to mating with untreated females, through mating, and until termination; Total 51 to 52 days.	**Study No.** SSN-01854
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		
Initial Age: 69 days (males), 60 days (untreated females) at receipt		**Location in CTD:** 4.2.3.5-02
Day of Mating: Study Day 28	**Day of Caesarean section:** Gestation Day 13	**GLP Compliance :** Yes
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
Special Features: 10-week recovery assessment (15 control and high-dose males were re-mated with naïve females 6 weeks after cessation of dosing). Sperm motility and concentration evaluated.	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water	
NOAEL: F_0 paternal toxicity: 10 mg/kg/day; F_0 male fertility and reproductive function: 30 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Toxicokinetics[a]						
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day** 28	N/A	227	404	450
	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	**Day** 28	N/A	1580	4540	3540
F0 Males						
No. Males Evaluated			**25**	**25**	**25**	**25**
Noteworthy Findings						
Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	2[b]
Clinical Observation (Number Affected)						
	Sedation					
	Grade 2	**(Mild)**	0	0	25	25
	Grade 3	**(Moderate)**	0	0	9	23
	Grade 4	**(Severe)**	0	0	2	4
	Hyperreactivity to touch or sound		0	0	5	12
	Impaired righting reflex		0	0	2	5
	Cold to touch		0	0	2	3
	Rales		0	0	1	2
	Labored breathing		0	0	0	2
Body Weight (%) [c,d]	**Day 8 (Before Pairing)**		417.4 g	-3	-2	-5 B
	Day 49		567.0 g	-4	-4	-4
Body Weight Gain (g)[d]	**Day 1-8 (Before Pairing)**		44.7	36.3 B	35.9 B	26.2 B

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	3	10	30
	Day 1-49	194.2	173.5 A	171.8 A	169.4 A
Food Consumption (%) [c]	**Day 1-28**	30.5 g/day	-1	-14 B	-18 B
No. of Males Cohabited		25	25	25	23
Mean No. Days Prior to Mating		2.7	2.6	3.4	3.3
No. of Males that Mated		25	25	25	21
No. of Fertile Males (No. Females Pregnant)		25	24	24	21
Sperm Evaluations		–	–	–	–
Necropsy Observations					
No. Evaluated		**10**	**10**	**10**	**10**
Organ Weights (%)		–	–	–	–
Gross Pathology		–	–	–	–
Sperm Evaluations		–	–	–	–
Recovery Males					
No. Evaluated		**15**	**15**	**15**	**13**
Body Weight (%) [c, d]	**Day 56**[c]	580.0 g	-3	-4	-8 B
	Day 119	688.7 g	-3	-3	-6
Food Consumption (%)[c]	**Day 49-56**	30.4 g/day	-11 A	-17 B	-27 B
No. of Males Cohabited		15	0	0	13
Mean No. Days Prior to Mating		2.1	N/A	N/A	1.8
No. of Males that Mated		15	N/A	N/A	13
No. of Fertile Males (No. Females Pregnant)		14	N/A	N/A	12
Sperm Evaluations		–	–	–	–
Necropsy Observations					
No. Evaluated		15	15	15	13
Organ Weights (%)[c, d]					
Prostate	**Absolute**	1.5312 g	-35 B	+0.2	-35 B
	Relative to body weight	0.223 %	-34 B	+2	-32 B
	Relative to brain weight	68.5%	-35 B	-1	-34 B
Naïve Females					
No. Evaluated		**25**	**25**	**25**	**23**
No. of Pregnant Females		25	24	24	21
No. Aborted or with Total Resorption of Litter		0	0	0	0
Mean No. Corpora Lutea		18.0	16.8	17.4	16.9
Mean No. Implantations		17.0	15.8	16.9	15.7
Mean % Preimplantation Loss		6.0	5.2	3.5	7.4
Mean No. Live Conceptuses		16.5	15.0	15.8	14.4 A
Mean No. Resorptions		0.5	0.9	1.1	1.3 A
No. Dead Conceptuses		13	21	26	27
Mean % Postimplantation Loss		3.0	6.2	6.8	9.2 B
Recovery Naïve Females					

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
No. Evaluated	**15**	**0**	**0**	**13**
No. of Pregnant Females	14	N/A	N/A	12
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	N/A	N/A	0
Mean No. Corpora Lutea	16.8	N/A	N/A	16.8
Mean No. Implantations	16.1	N/A	N/A	15.5
Mean % Preimplantation Loss	4.5	N/A	N/A	5.8
Mean No. Live Conceptuses	14.8	N/A	N/A	14.7
Mean No. Resorptions	1.3	N/A	N/A	0.8
No. Dead Conceptuses	18	N/A	N/A	10
Mean % Postimplantation Loss	7.6	N/A	N/A	5.5

- = no noteworthy findings; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; F_0 = parental generation; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; N/A = not applicable; PVPVA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer

Unspecified statistical test (Dunnett's Test or Dunn's): A = $p \leq 0.05$, B = $p \leq 0.01$.

a An additional 6 animals/treatment group (and 3 animals in the control group dosed for 28 days) served as toxicokinetic satellite animals (3/timepoint).

b Both deaths were considered related to SAGE-217 because they occurred at the highest dose tested and were accompanied by SAGE-217-related effects. One male was found dead approximately 7 hours after dose administration on Day 5. Clinical signs observed for this animal included grade 2 (mild) sedation on Days 1 to 4, grade 3 (moderate) sedation on Days 1 to 3 and Day 5, and grade 4 (severe) sedation on Day 4. Another male was found dead approximately 7.5 hours after dose administration on Day 9. Clinical signs observed for this animal included grade 2 sedation on Days 1 to 2 and Day 5, grade 3 sedation on Days 1 and 3 to Day 8, grade 4 sedation on Day 4 and Days 8 to 9, and decreased motor activity, impaired righting reflex, and cold to touch on Day 9. For both males, body weights and food consumption were unremarkable and no abnormalities were detected at necropsy.

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

d There were no SAGE-217-related effects on terminal body weights (for both dosing and recovery periods) at any dose level.

e The reduction in body weight on Day 56 was not a true body weight loss, but was rather due to the mean body weights of the animals selected for necropsy at the end of the dose period being higher than the mean body weights of the animals selected for the recovery period (558 g and 528 g on Day 49, respectively). Of the 13 animals selected for the recovery period, only 2 lost weight (3 and 12 g) from Days 49 to 56.

f The decreased absolute and relative prostate weights were considered unrelated to SAGE-217 because they were limited to the recovery period and not dose-dependent.

2.6.7.12.2 雌性ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A Fertility and Early Embryonic Development Study by Oral (Gavage) Administration to Female Rats		
Design similar to ICH 4.1.1: Yes	**Duration of Dosing:** F: 15 days prior to mating, during mating with untreated males, and until GD7	**Study No.** SSN-01853
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		
Initial Age: 62 days (females) at receipt (untreated breeder males not considered part of test system)		**Location in CTD:** 4.2.3.5-01
Day of Mating: Study Day 16	**Day of Caesarean section:** GD13	**GLP Compliance :** Yes
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water	
NOAEL: F_0 maternal toxicity: 3 mg/kg/day; F_0 female mating, fertility, and reproduction: 10 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Toxicokinetics[a]						
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**Day 15**	N/A	228	480	940
	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	**Day 15**	N/A	2360	5150	11 000
F0 Females						
No. Females Evaluated			**24**	**24**	**24**	**24**
Noteworthy Findings						
Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	2[b]
Clinical Observation (Number Affected)						
	Sedation					
	Grade 2	**(Mild)**	0	1	24	23
	Grade 3	**(Moderate)**	0	0	0	24
	Grade 4	**(Severe)**	0	0	0	11
	Hyperreactivity		0	3	19	22
	Twitches		0	0	0	17
	Ungroomed coat		0	0	0	4
	Chromodacryorrhea		0	0	0	2
	Mild dehydration		0	0	0	2
	Ataxia		0	0	0	1
	Gasping		0	0	0	1
	Urine-stained abdominal fur		0	0	0	1
Premating Body Weight (%)[c]	**Day 15**		264.1 g	+3	+4	+5
	GD 13		333.9 g	-1	-0.4	-0.4
Premating Body Weight Gain (g)			–	–	–	–
Gestation Body Weight Gain (g)[c]	**GD0-13**		63.0	52.7 B	53.6 A	50.6 B

	GD7-10	14.5	7.9 B	4.2 B	0.2 B
	GD7-13	29.2	24.0	19.0 B	15.6 B
Premating Food Consumption (%) [c]	**Day 1-8**	19.6 g/day	+1	-27 B	-20 A
	Day 1-15	18.8 g/day	+10	-24 B	-14
Gestation Food Consumption (%) [c]	**GD0-7**	23.0 g/day	+5	-50 B	-39 B
	GD7-13	23.4 g/day	-9	-43 B	-32 B
	GD0-13	23.1 g/day	0	-43 B	-31 B
Necropsy Observations					
Mean No. Estrous Cycles/Precohabitation		3.25	3.17	3.04	2.56
Rats Exhibiting Persistent Diestrus		1	2	0	8 A
Mean No. Days Prior to Mating		2.3	2.3	2.3	2.4
No. of Females Mated		24	24	24	23
No. of Pregnant Females		21	24	23	20
No. Aborted or with Total Resorption of Litter		0	0	0	0
Mean No. Corpora Lutea		17.4	17.0	17.4	17.0
Mean No. Implantations		16.2	15.5	16.3	15.3
Mean % Preimplantation Loss		6.7	8.3	6.0	10.6
Mean No. Live Conceptuses		15.8	15.0	15.1	14.6
Mean No. Resorptions		0.5	0.5	1.2	0.8
No. Dead Conceptuses		10	13	28	15
Mean % Postimplantation Loss		2.8	3.7	7.1 A	5.3

- = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; F_0 = parental generation; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; N/A = not applicable; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer
Unspecified statistical test (Dunnett's Test or Dunn's): A = $p \leq 0.05$, B = $p \leq 0.01$.

a An additional 6 animals/ treatment group (and 3 animals in the control group for 15 days) served as toxicokinetic satellite animals (3/timepoint).

b Both deaths were considered related to SAGE-217 because they occurred at the highest dose tested and were accompanied by SAGE-217-related effects. One female was found dead approximately 8.5 hours after dose administration on Day 1. Clinical signs observed for this animal included grade 3 (moderate) sedation and twitches. Another female was found dead on Gestation Day 3 after administration of the 19th daily dose. Clinical signs observed for this animal included twitches, hyperreactivity, and grade 2 (mild) to 4 (severe) sedation. Body weights and food consumption were unremarkable, and pregnancy status could not be determined due to the gestation age of this animal. For both females, no abnormalities were detected at necropsy.

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

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 ラット胚・胎児発生に関する試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study by Oral (Gavage) Administration to Rats		
Design similar to ICH 4.1.3: Yes	**Duration of Dosing:** 12 days (GD6–GD17)	**Study No.** SSN-01409
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Day of Mating:** GD0	**Location in CTD:** 4.2.3.5-04
Initial Age: 61 to 76 days at arrival on GD1, GD2, or GD3	**Day of Caesarean section:** GD21	
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water	
NOAEL: F0 dams: Maternal Toxicity: 2.5 mg/kg/day F1 litter: Developmental Toxicity: 7.5 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg, as free form)			**0 (Control)**	**2.5**	**7.5**	**22.5**
Dams						
Toxicokinetics[a]						
No. Evaluated			3	8	8	8
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**GD6**	N/A	310	737	1240
		GD17	N/A	281	656	1210
	AUC_{last} (ng·hr/mL)	**GD6**	N/A	3710	10 300	18 500
		GD17	N/A	3710	9380	18 700
Noteworthy Findings						
No. Pregnant			23	23	23	23
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	3[b]
No. Aborted or with Total Resorption Loss			0	0	0	3
Clinical Observation (No. Animals Affected)						
	Sedation					
	Grade 2	**(Mild)**	0	20	23	22
	Grade 3	**(Moderate)**	0	0	7	23
	Grade 4	**(Severe)**	0	0	0	10
	Convulsions		0	0	0	7
	Hyperreactivity		0	1	5	15
	Dehydrated Suspected		0	0	0	2
	Thin Appearance		0	0	0	1
	Fur, Staining, Yellow		0	0	0	8
	Fur, Ungroomed		0	0	0	1
	Eye, Discharge		0	0	3	6

Daily Dose (mg/kg, as free form)			0 (Control)	2.5	7.5	22.5
	Breathing, Abnormal Sounds		0	0	0	4
	Breathing, Labored		0	0	0	1
	Vagina, Discharge Liquid		0	0	0	2
	Vagina, Discharge Mucoid		0	0	0	3
	Twitches		0	0	3	8
Necropsy Observations						
Lung	Discoloration; dark, mottled, red		0	0	0	1[c]
Body Weight (%)		GD18	324.5 g	+0.3	-0.5	-5.4 B
		GD21	373.6 g	-0.1	-1.0	-8.5 B
Body Weight Gain (g, %) [d]		GD6-18	+95.8 g	+1.3	-2.3	-17.2 B
		GD18-21	+49.1 g	-2.9	-4.9	-29.1 B
		GD0-21	+178.0 g	-2.0	-3.5	-19.2 B
Food Consumption (g, %) [d]		GD6-18	26.61 g/animal/day	-10.4 B	-12.2 B	-37.4 B
		GD18-21	29.45 g/animal/day	-11.46	-17.47 A	-34.41 B
Gravid Uterine and Corrected Body Weights						
Body Weights on GD21 (g)			373.6	373.1	369.7	341.8 B
Gravid Uterine Weight on GD21 (g)			96.20	98.19	99.21	83.11 A
Corrected Body Weight on GD21 (g, %) [d]			277.41 g	-0.89	-2.50	-6.77 B
Corrected Body Weight Change from GD6 to 21 (g, %) [d]			+48.72 g	-4.53	-15.82	-36.59 B
Corrected Body Weight Change from GD0 to 21			81.76 g	-6.69	-11.29	-25.77 B
Mean No. Corpora Lutea			13.4	13.5	13.4	12.7
Mean No. Implantations			12.9	13.2	13.0	12.4
Mean % Preimplantation Loss			3.49	2.03	2.73	2.62
F1 Litters						
No. Litters Evaluated			23	23	23	20
Mean No. Live Fetuses			12.1	12.6	12.7	11.1
Mean No. Resorptions			0.8	0.6	0.3	1.3
No. Dead Fetuses			0	0	0	0
Mean % Post-implantation Loss			5.68	4.53	2.76	9.99
Fetal Sex Ratio (Male/Male + Female)			55.19	52.46	49.34	52.50
Mean Fetal Body Weight (sex combined, g)			5.943	5.789	5.793	5.424 B
Fetal Anomalies in No. Live Fetuses (Litters):						
Gross External – No. Examined			278 (23)	290 (23)	291 (23)	222 (20)
Malformations – Total No. Affected			0 (0)	1 (1)	1 (1)	5 (4 A)
	Eye bulge, Depressed		0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
	Head/neck, Exencephaly		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	Umbilicus, Herniated		0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
	Tail, Absent		0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
	Tail, Fleshy tab		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	Tail, Short		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)

Daily Dose (mg/kg, as free form)	0 (Control)	2.5	7.5	22.5
Tail, Thread-like	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Visceral Anomalies – No. Examined	134 (23)	137 (23)	134 (23)	107 (20)
Malformations – Total No. Affected	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
Lens, Absent	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Lens, Small	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Retina, Fold	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
Skeletal Anomalies – No. Examined	144 (23)	153 (23)	151 (23)	115 (20)
Variations – Total No. Affected	10 (7)	13 (8)	7 (3)	19 (12)
Ischium, Incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Pubis, Incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Rib, Misshapen	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
Frontal, Misshapen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Squamosal, Misshapen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Supraoccipital, Misshapen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Tympanic annulus, Incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Zygomatic arch, Misshapen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Sternebra, Bipartite ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Sternebra, Fused	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (2)
Sternebra, Misshapen	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (2)
Caudal vertebra, Incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
Caudal vertebra, Misaligned	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Cervical centrum, Unilateral ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Lumbar centrum, Bipartite ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
Lumbar centrum, Misaligned	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Lumbar centrum, Unilateral ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Sacral arch, Absent	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Sacral arch, Incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Sacral arch, Misshapen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Sacral arch, Small	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
Sacral centrum, Bipartite ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Sacral centrum, Misshapen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Sacral centrum, Unilateral ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Sacral centrum, Unossified	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
Thoracic arch, Misshapen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Thoracic arch, Small	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (2)
Thoracic centrum, Bipartite ossification	6 (4)	5 (4)	3 (2)	10 (7)
Thoracic centrum, Incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Thoracic centrum, Misshapen	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Thoracic centrum, Unilateral ossification	0 (0)	0 (0)	1 (1)	4 (3)

Daily Dose (mg/kg, as free form)	0 (Control)	2.5	7.5	22.5
Thoracic centrum, Unossified	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Malformations – Total No. Affected	0 (0)	0 (0)	3 (2)	6 (5 A)
Rib, Absent	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (1)
Rib, Fused	0 (0)	0 (0)	1 (1)	3 (2)
Interparietal, Absent	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Caudal vertebra, Absent	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Lumbar arch, Fused	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Lumbar vertebra, Hemivertebra	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Sacral arch, Fused	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Sacral centrum, Fused	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Thoracic arch, Fused	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (1)
Thoracic centrum, Absent	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Thoracic centrum, Fused	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Thoracic vertebra, Absent	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
Thoracic vertebra, Hemivertebra	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Fetal Ossification – Mean No. Sites				
Tarsals	0.06	0.03	0.02	0
Metatarsals	4.98	4.94	4.96	4.71 B
Hindlimb Phalanges	7.14	7.04	7.32	6.15 B
Total Affected with Any Alteration Fetuses (Litters)	10 (7)	14 (9)	9 (4)	23 (11)
Total Affected with Any Malformation Fetuses (Litters)	0 (0)	1 (1)	3 (2)	10 (6)

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F_0 = parental generation; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; N/A = not applicable; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer

Dunnett's or Dunn or Fisher's Exact 2 Sided Tests: A = $p \leq 0.05$, B = $p \leq 0.01$.

a An additional 8 animals/treatment group (and 3 animals/sex in the control group dosed for 12 days) served as toxicokinetic satellite animals (4 treatment or 3 control animals/timepoint).

b Three (3) main animals were found dead on GD6, GD10, and GD17. Clinical observations for these animals included sedation grades 2 (mild), 3 (moderate), and/or 4 (severe) sedation. At necropsy, all tissues appeared normal except mottled dark red lung lobes in 1 animal. All animals were pregnant (2 animals had 12 or 16 embryos in utero, and another animal had 11 late resorptions and 1 early resorption in utero). In addition, 2 satellite toxicokinetic animals were found dead on GD6. Both animals were pregnant and had sedation grades 2 and 3, along with no necropsy findings.

c This animal was one of the premature decedents.

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

2.6.7.13.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study by Oral Administration to Pregnant Rabbits		
Design similar to ICH 4.1.3: Yes	**Duration of Dosing:13 days (** GD7–GD19)	**Study No.** SSN-02116
Species/Strain: Rabbits/New Zealand White	**Day of Mating:** GD0	**Location in CTD:** 4.2.3.5-06
Initial Age: 4 to 6 months at arrival	**Day of Caesarean section:** GD29	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water	
NOAEL: F0 dam: Maternal Toxicity: 25 mg/kg/day F1 litter: Developmental Toxicity: 125 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**25**	**125**	**500**
Dams						
Toxicokinetics [a]						
No. Evaluated			25	25	25	25
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**GD7**	N/A	21.1[b]	19.8	16.9
		GD19	N/A	11.0[c]	39.1[d]	21.1
	AUC_{last} (ng·hr/mL)	**GD7**	N/A	256[b]	395	233
		GD19	N/A	291[e]	663[d]	260
Noteworthy Findings						
No. Pregnant			23	24	24	23
No. Died or Sacrificed Moribund			1[f]	0	1[f]	3[g]
No. Aborted or with Total Resorption Loss			0	0	0	0
Clinical Observation (No. Animals Affected)						
	Sedation					
	Grade 2	**(Mild)**	7	13	24	25
	Grade 3	**(Moderate)**	0	0	3	15
	Grade 4	**(Severe)**	0	0	0	3
	Lying on Side		0	0	1	2
	Fur, Ungroomed		1	1	2	4
	Eye, Partly Closed		0	0	0	2
	Breathing, Abnormal Sounds		0	0	0	1
	Breathing, Labored		0	0	0	2
	Respiratory Rate Decreased		0	0	0	1
	Feces, Output Decreased		0	0	0	3
	Lack of/Impair Righting Reflex		0	0	0	1
	Twitches		0	0	0	2
Necropsy Observations			–	–	–	–
Body Weight (%)		**GD10**	3789.96 g	-0.83	-2.90	-5.07 A

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	25	125	500
	GD20	3899.50	-0.74	-.2.45	-3.23
	GD24	3998.19 g	-2.01	-4.04	-5.91 B
	GD29	4066.96 g	-2.10	-3.65	-5.92 B
Body Weight Gain (g, %) [h]	**GD7-10**	+95.87 g	-17.3	-89.4 A	-171.1 B
	GD7-20	+205.41 g	-6.9	-40.1	-45.3 A
	GD20-24	+98.68 g	-52.2	-67.1 B	-111.9 B
	GD20-29	+167.46 g	-33.7	-31.6	-68.6
Food Consumption (g, %) [h]	**GD7-10**	169.5 g/animal/day	-5.0	-16.5 A	-38.2 B
	GD10-13	151.1 g/animal/day	-8.9	-8.0	-18.3
	GD20-24	103.4 g/animal/day	-12.0	-23.3 B	-43.2 B
	GD24-29	99.6 g/animal/day	-10.6	-18.8 A	-43.6 B
	GD20-29	103.4 g/animal/day	-12.0	-23.3 B	-43.2 B
	GD7-29	125.5 g/animal/day	-7.9	-11.1 A	-20.1 B
Gravid Uterine and Corrected Body Weights					
Body Weights on GD29 (g)		4066.96	3981.58	3918.50	3826.22 B
Gravid Uterine Weight on GD29 (g)		610.04	616.79	549.08	568.63
Corrected Body Weight on GD29 (%) [h]		3456.92 g	-2.66	-2.53	-5.77 A
Corrected Body Weight Change from GD7-29 (%) [h]		-237.17 g	+32.64	+ 31.34	+ 70.23 B
Mean No. Corpora Lutea		12.1	12.3	11.8	12.3
Mean No. Implantations		10.8	11.6	10.8	11.3
Mean % Pre-implantation Loss		10.67	5.43	9.17	6.95
F1 Litters					
No. Litters Evaluated		23	24	23	20
Mean No. Live Fetuses		10.4	11.2	9.8	10.7
Mean No. Resorptions		0.4	0.4	1.0	0.6
Mean No. Dead Fetuses		0	0	0	0
Mean % Post-implantation Loss		2.85	3.66	9.15	5.97
Fetal Sex Ratio (Male/Male + Female)		47.70	52.82	50.39	48.75
Mean Fetal Body Weight (sex combined, g)		40.687	38.399	39.204	36.723
Fetal Anomalies: No. Live Fetuses Evaluated (Litters)		240 (23)	268 (24)	225 (23)	214 (20)
Gross External		–	–	–	–
Visceral Anomalies		–	–	–	–
Skeletal Anomalies		–	–	–	–
Fetal Ossification Sites		–	–	–	–

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F_0 = parental generation; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; N/A = not applicable; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer

Dunnett's or Dunn or Fisher's Exact 2 Sided Tests: A = $p \leq 0.05$, B = $p \leq 0.01$.

a An additional 4 animals/treatment group (and 3 animals/sex in the control group dosed for 13 days) served as toxicokinetic satellite animals (4 treatment or 3 control animals/timepoint). Concentrations were highly variable between animals; 2 animals in each group had higher exposures with the other 2 having little or no exposure.

b N = 1 due to BQL concentrations in 3 other animals.
c N = 2 due to BQL concentrations in 2 other animals.
d N = 3 due to BQL concentrations in 1 other animal.
e N = 1 due to $r^2 < 0.80$ or $AUC_{extrap} > 20\%$ in 1 animal and BQL concentrations in 2 other animals.
f One (1) main animal in the control group was euthanized on GD23 due to body weight loss and reduced food consumption. One (1) main animal in the 125 mg/kg/day group was euthanized on GD14 due to adverse clinical signs, body weight loss, and reduced food consumption. These deaths were considered unrelated to SAGE-217 because they were secondary to reduced food consumption that began during the acclimation period and occurred in the control group.
g One (1) animal was found dead on GD16 and 1 animal was euthanized due to adverse clinical signs on GD10. These deaths were considered related to SAGE-217 because they occurred in the highest dose tested and were accompanied by SAGE-217-related effects (grade 4 [severe] sedation). One (1) animal was found dead on GD10; this death was considered to be due to a presumed gavage error and unrelated to SAGE-217.
h For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the % differences).

2.6.7.13.3 マウス胚・胎児発生に関する試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study by Oral Administration to Pregnant Mice		
Design similar to ICH 4.1.3: Yes	Duration of Dosing:10 days (GD6–GD15)	Study No. SSN-100396
Species/Strain: Mice/Crl: CD1 (ICR)	Day of Mating: GD0	Location in CTD: 4.2.3.5-12
Initial Age: 13 to 14 weeks	Day of Caesarean section: GD18	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage	
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water	
NOAEL: F0 dam: Maternal Toxicity: 100 mg/kg/day* F1 litter: Developmental Toxicity: 100 mg/kg/day * SSN-100396 (Location in CTD: 4.2.3.5-12) stated that the NOAEL for maternal toxicity was 300 mg/kg/day. However, the applicant considered that the suppression of body weight gain of the maternal animals in the 300 mg/kg/day group was a toxicity findings and NOAEL for maternal toxicity should be 100 mg/kg/day.		

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
Dams						
Toxicokinetics						
No. Evaluated			6	33 [a]	35	35
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**GD6**	N/A	942	1070	1270
		GD15	N/A	583	748	1010
	AUC_{last} (ng·hr/mL)	**GD6**	N/A	2620	6360	15 200
		GD15	N/A	1870	5500	7980
Noteworthy Findings						
No. Pregnant			18	21	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund			0	2[b]	2[c]	0
No. Aborted or with Total Resorption Loss			0	0	0	0
Clinical Observation (No. Animals Affected)						
	Sedation					
	Grade 2	**(Mild)**	0	23	22	22
	Grade 3	**(Moderate)**	0	10	22	22
	Grade 4	**(Severe)**	0	1	2	8
	Tremors (Generalized)	**(Slight)**	0	6	9	13
		(Moderate)	0	0	6	4
		(Severe)	0	1	4	6
	Respiratory Rate Abnormal, Decreased		0	3	14	21
	Respiratory Rate Abnormal, Increased		0	1	6	7
	Respiratory Rate Abnormal, Irregular		0	3	11	15
	Breathing, Labored		0	2	9	11
	Breathing, Shallow		0	0	1	1
	Hunched Posture		0	7	14	20

Daily Dose (mg/kg)			0 (Control)	30	100	300
	Loss of Consciousness		0	0	0	2
	Fur, Erected		0	0	0	4
	Eye, Partly Closed		0	2	5	16
	Uncoordinated	(Slight)	0	20	20	22
		(Moderate)	0	3	13	17
		(Severe)	0	0	8	18
	Low Carriage		0	7	22	22
	Abnormal Gait		0	10	22	22
	Lying on Side		0	2	8	17
	Activity Decreased		0	23	22	22
	Twitches (Generalized)	(Slight)	0	13	22	22
		(Moderate)	0	6	8	16
		(Severe)	0	1	3	14
Necropsy Observations			–	–	–	–
Body Weight (%) [d]		GD6	32.40 g	2.75	0.85	-0.57
		GD9	34.31 g	1.82	0.30	-2.87
		GD12	40.49 g	-1.40	-1.92	-7.39 B
		GD15	48.41 g	0.16	-2.73	-7.92 A
		GD16	52.14 g	0.72	-2.97	-9.31 B
		GD18	58.65 g	3.82	0.37	-4.58
Body Weight Gain (g)		GD6-9	1.91	1.61	1.74	1.11
		GD9-12	6.18	4.99 A	5.30	4.18 B
		GD12-15	7.92	8.56	7.45	7.08
		GD15-16	3.73	4.03	3.64	2.72 A
		GD6-16	19.74	19.19	17.99	15.07 B
		GD16-18	6.94	8.38 A	8.28	8.68 B
Gravid Uterine and Corrected Body Weights						
Body Weights on GD18 (g)			58.65	60.89	58.87	55.97
Gravid Uterine Weight on GD18 (g)			22.07	23.10	21.09	20.47
Corrected Body Weight on GD18 (%) [d]			36.34 g	2.95	3.98	-2.32
Corrected Body Weight Change from GD0 to 18 (%) [d]			6.41 g	9.96	21.93	-13.91
Mean No. Corpora Lutea			15.9	17.3	15.9	16.5
Mean No. Implantations			14.2	14.1	14.0	14.7
Mean % Pre-implantation Loss			10.53	17.84	11.96	11.01
F1 Litters						
No. Litters Evaluated			17	19	18	20
Mean No. Live Fetuses			12.9	13.3	12.6	13.6
Mean No. Resorptions			1.2	0.8	1.4	1.1
Mean No. Early Resorptions			1.1	0.7	1.0	0.7
Mean No. Late Resorptions			0.2	0.1	0.4	0.5

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	30	100	300
Mean No. Dead Fetuses		0.1	0	0	0
Mean % Post-implantation Loss		9.69	5.53	10.02	7.60
Fetal Sex Ratio (Male/Male + Female)		53.94	51.60	47.76	53.07
Mean Fetal Body Weight (sex combined, g)		1.404	1.417	1.329	1.158 B
Fetal Anomalies: No. Live Fetuses Evaluated (Litters)					
Gross External–	No. Examined	218 (16)	253 (19)	227 (18)	272 (20)
Malformations –	Total No. Affected	1 (1)	1 (1)	3 (3)	11 (4)
	Palate, Cleft Palate	0 (0)	0 (0)	2 (2)	10 (3)
Visceral Anomalies –		–	–	–	–
Skeletal Anomalies	No. Examined	118 (17)	125 (19)	114 (18)	136 (20)
Variations –	Total No. Affected	73 (17)	70 (19)	72 (18)	91 (19)
	Frontal skull, Incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8 (2)
	Parietal bone, Incomplete ossification	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (2)
	Sternebra, Unossified	0 (0)	0 (0)	0 (0)	9 (3)
	Sternebra, Incomplete ossification	0 (0)	1 (1)	0 (0)	5 (3)
	Cervical centrum, Unossified	0 (0)	0 (0)	1 (1)	12 (3)
	Thoracic centrum, Unossified	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Malformations –	Total No. Affected	1 (1)	0 (0)	4 (4)	13 (4)
	Palatine bone, Split	0 (0)	0 (0)	2 (2)	9 (2)
	Skull, Multiple Variations	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1)

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F0 = parental generation; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; N/A = not applicable; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer

Anova & Dunnett or Kruskal-Wallis & Dumn, 2-Sided Test: A = $p \leq 0.05$, B = $p \leq 0.01$.

a Due to the death of 1 female on gestation day 6, an additional female was assigned to 30 mg/kg/day group for TK.

b Two (2) animals in the 30 mg/kg/day group (main study) were found dead on GD6 and 7. For 1 animal, there was no clinical findings noted prior to death, or no findings at necropsy. The other animal was noted with abnormal gait, decreased activity and slight twitches, and sedation (mild, grade2) at the 1-holur postdose on GD6, but there were no findings at necropsy. In addition, 1 animal in the 30 mg/kg/day group (TK) was found dead on GD6. Based on the lack of mortality in the 300 mg/kg/day group, the highest dose tested, these deaths were not considered SAGE-217 related.

c Two (2) animals in the 100 mg/kg/day froup (main study) were found dead on GD12 and 15. On the day prior to death (GD11), 1 animal was noted with low carriage, agnormal gait, and decreased activity at 1 and 4 hours postdose, and sedation (moderate, grade3) at 1 hour postdose, which decreased to mild (grade2) at 4 hours postdose, but there were no findings at necropsy. On the day propr to death (GD14), the other animal was noted with decreased activity, low carriage, and moderate incoordination at 1 and/or 4 hours postdose, and sedation (moderate, grade3) at 1 hour postdose, which increased to sever (grade4) at 4 hour postdose, but there were no findings at necropsy. Based on the lack of mortality in the 300 mg/kg/day group, the highest dose tested, these deaths were not considered SAGE-217 related.

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

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

2.6.7.14.1 ラット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

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A Perinatal/ Postnatal Development Study by Oral (Gavage) Administration in Rats		
Design similar to ICH 4.1.2: Yes	**Duration of Dosing:** GD6–LD20 **Day of Mating:** GD0	**Study No.** SSN-02585
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Method of Administration:** Oral gavage	**Location in CTD:** 4.2.3.5-07
Initial Age: 59 to 68 days at arrival on GD1, 2, or 3	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water	
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]	**Litters Culled/Not Culled:** Culled to 4/sex/litter	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Maternal sedation as part of clinical observations, and maternal and pup TK sampling.		
NOAEL: F0 dam: Maternal toxicity: 1 mg/kg/day F1 litters: Growth and Development: 1 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)			**0 (Control)**	**1**	**4**	**10**
Toxicokinetics[a]						
Zuranolone	**Plasma concentration (ng/mL) on L4**	**F0 Females**	N/A	168	460	ND[b]
		F1 litters	N/A	1.12	3.31	ND[b]
		F1/F0 ratio	N/A	0.006	0.007	ND[b]
	C_{max} for Fo Females (ng/mL)	**GD17**	N/A	223	500	912
		LD10	N/A	272	ND[c]	ND[b]
	AUC_{last} for F0 Females (ng·hr/mL)	**GD17**	N/A	2420	7030	10 400
		LD10	N/A	1860	ND[c]	ND[b]
F0 Females						
Noteworthy Findings						
No. Pregnant			24	24	24	24
No. Died or Sacrificed Moribund			1[d]	0	3[e]	10[f]
No. Total Litter Loss (No. Dams with No Liveborn Pups at Parturition)			0 (0)	0 (0)	~~2~~6[g] (2)	6[g] (1)
Clinical Observation [No. Animals Affected During Gestation; Lactation]						
	Sedation					
	Grade 2	**(Mild)**	0; 0	2; 8	24; 18	21; 12
	Grade 3	**(Moderate)**	0; 0	0; 0	0; 4	24; 13
	Grade 4	**(Severe)**	0; 0	0; 0	0; 1	0; 1
	Hyperreactivity to Touch and/or Sound		0; 0	0; 5	16; 8	15; 2
	Chromodacryorrhea		0; 0	0; 0	0; 0	9; 0
	Labored Breathing		0; 0	0; 0	0; 0	4; 1
	Rales		0; 0	0; 0	0; 0	3; 1
	Excess Salivation – Moderate		0; 0	0; 0	1; 0	2; 0

Daily Dose (mg/kg)			0 (Control)	1	4	10
	Tremors – Head or Whole Body		0; 0	0; 0	1; 3	2; 3
	Convulsion – Tonic Extensor		0; 0	0; 0	0; 0	1; 1
	Convulsions		0; 0	0; 0	0; 0	1; 0
	Gasping		0; 0	0; 0	0; 1	1; 2
Necropsy Observations			–	–	–	–
Gestation Body Weight (%) [h]		GD21	384.4 g	+0.78	+2.34	-2.13[i]
Lactation Body Weight (%) [h]		LD4	289.3 g	+1.73	+0.52[j]	-5.29
		LD7	296.5 g	+0.98	-1.38	-8.06 A
		LD21	305.7 g	+1.96	+1.08[j]	ND[b]
Lactation Body Weight Gain (g)		LD1-4	+11.6	+5.6[k]A	+2.9[j] B	+3.4[i] A
		LD4-7	+7.2	+5.1	+2.1[j]	+1.5[i]
Gestation Food Consumption (%) [h]		GD6-21	24.6 g	+3.66	-41.46 B	-52.44[i] B
Lactation Food Consumption (%) [h]		LD1-14	48.8 g[l]	+3.69	-9.84[j] A	ND[b]
		LD1-4	31.4 g[l]	+9.55	-2.55[j]	-40.76[i] B
		LD4-7	42.5 g	+3.06	-25.65[j] B	-49.18[i] B
		LD7-10	56.2 g	+0.89	-15.84[j] B	ND[b]
Mean Duration of Gestation (days)			22.7	23.0	23.0	23.0[i]
Abnormal Parturition			–	–	–	–
F1 Litters (Pre-weaning)						
No. Litters Evaluated			23	24	24	16[m]
No. Delivered Litters with At Least One Liveborn Pup[n]			23	24	20	14
Mean No. of Implantations			12.4	12.1	11.9	11.9
Mean No. Pups/Litter			11.8	11.4	10.2	10.8
Mean No. Live Born Pups/Litter			11.8	11.1	9.7	10.6
Mean No. Stillborn Pups/Litter			1	4	8	4
Postnatal Survival						
Gestation Index[o] (%)			100.0	100.0	90.9	93.3
Viability Index[p] (%)			99.3	97.0	79.0 B	55.4 B
Lactation Index[q] (%)			99.4	99.0	99.1	ND
Surviving Pups/Litter[r]		PND 1[s]	11.8	11.1	9.7 A	10.6
		PND 4 (precull)	11.7	10.8	7.9 B	5.6 B
		PND 4 (postcull)	7.9	8.0	6.7	4.7 B
		PND 10	7.9	8.0	6.8	2.7
		PND 21	7.9	7.9	6.8	0.0
Mean Pup Body Weights (g)[t]		LD1	7.3	7.3	7.1[u]	6.9 A
		LD10	23.8	23.9	22.1[v] A	19.4[v] A
		LD21	55.6	57.1	54.4[v]	ND[b]
Mean Pup Sex Ratios on PND0 (Male/Male+Female)[s]			48.8	52.1	53.8	62.7
Pup Clinical Observation (No. of Litters with Observations)						
	Not Nesting		0	0	2	5

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	1	4	10
	Not Nursing	0	0	1	4
	Cold to Touch	0	1	1	5
Pup Necropsy Observations		–	–	–	–
Necropsy of Dead, Stillborn, or Euthanized Pups (No. of pups with finding/No. Evaluated)					
No milk in stomach		1/3	3/12	10/24	18/29
F1 Males (Post-weaning)					
No. Males Evaluated		23	24	22	0
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	1[w]	N/A
Clinical Observation		–	–	–	N/A
Necropsy Observations		–	–	–	N/A
Body Weight Change (g)	**PND22-92**	+503.6	+506.1	+489.6	N/A
Food Consumption (%) [h]	**PND22-92**	59.6 g[x]	+0.84[x]	-6.04	N/A
	PND22-29	29.4 g[x]	-8.50	-16.67 B	N/A
	PND29-36	45.8 g	-10.70	-19.43	N/A
	PND36-43	55.8 g	-1.79	-11.83	N/A
Mean Age of Preputial Separation (Days)		–	–	–	N/A
Sensory Function (Acoustic Startle Response)		–	–	–	N/A
Motor Activity		–	–	–	N/A
Learning and Memory		–	–	–	N/A
Mean No. Days Prior to Mating		2.7	2.1	2.7	N/A
No. of Males that Mated		22	23[y]	21	N/A
No. of Fertile Males		21	23	20	N/A
F1 Females (Post-weaning)					
No. Females Evaluated		23	24	22	0
No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	N/A
Clinical Observation		–	–	–	N/A
Necropsy Observations		–	–	–	N/A
Premating Body Weights (g)	**PND22-92**	+233.1	+238.3	+240.7	N/A
Gestation Body Weight Change (g)	**GD0-13**	+63.0	+67.5	+64.0	N/A
Premating Food Consumption (%) [h]	**PND22-92**	40.5 g	+11.60	+12.84	N/A
Gestation Food Consumption (%) [h]	**GD0-13**	24.1 g[z]	+29.46[z] A	+12.45[z]	N/A
Mean Age of Vaginal Patency (Days)		–	–	–	N/A
Sensory Function (Acoustic Startle Response)		–	–	–	N/A
Motor Activity		–	–	–	N/A
Learning and Memory		–	–	–	N/A
Estrous Cycling		–	–	–	N/A
Mean No. Days Prior to Mating		3.0	2.1	2.6	N/A
No. of Females Sperm-Positive		22	23	22	N/A
No. of Pregnant Females		21	24[aa]	20	N/A

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1	4	10
Mean No. Corpora Lutea	17.5	17.4	16.5	N/A
Mean No. Implantations	16.6	16.0	15.5	N/A
Mean % Preimplantation Loss	5.0	7.9	5.9	N/A

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F_0 = parental generation; F_1 = first generation offspring; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation; LD = lactation day; ND = not determined; PND = postnatal day; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer; TK = toxicokinetics

Dunnett's or Dunn's: A = $p \leq 0.05$, B = $p \leq 0.01$

a An additional 8 animals/treatment group (and 4 animals/sex in the control group) served as toxicokinetic satellite animals (4 animals/time point).

b Due to adverse clinical signs and excessive mortality, no samples were collected from the 10 mg/kg/day group on LD4 or 10, and all surviving rats assigned to the 10 mg/kg/day group and their respective litters were euthanized on 19 Jul 2018 (L8 to 10).

c The animals in the 4 mg/kg/day group did not have bioanalytical blood samples collected on LD10 due to continued postweaning observation.

d One (1) main study control dam was found dead prior to dose administration on GD22, and 1 TK control dam was euthanized due to adverse clinical signs on GD22. Both deaths were considered to be due to dystocia and unrelated to SAGE-217 because it occurred in the control group.

e There were 3 dams in the 4 mg/kg/day group that were found dead or euthanized due to adverse clinical signs (including, but not limited to, cold to touch, dehydration, gasping, and severe sedation) from LD2 to 6. In addition, there were 6 dams (and 1 TK dam) in the 4 mg/kg/day group that were euthanized due to no surviving pups between LD1 and LD2.

f There were 9 dams (and 4 TK dams) in the 10 mg/kg/day group that were found dead or euthanized due to adverse clinical signs (including hyperreactivity and tremors, with chromodacryorrhea, labored breathing, rales, excess salivation, gasping, and convulsions) from GD6 to LD2. In addition, 1 dam was found dead on GD20 due to gavage error, but the total resorption of this litter was considered related to SAGE-217. There were 6 dams (and 3 TK dams) in the 10 mg/kg/day group that were euthanized due to no surviving pups between LD1 and LD4. One (1) TK dam in the 10 mg/kg/day group euthanized on GD25 was found to have a litter consisting of all early resorptions. As a result of the extent of mortality and total litter loss in the 10 mg/kg/day group, the dose group was terminated on LD8 to 10.

g Includes 2 dams at 4 mg/kg/day and 1 dam at 10 mg/kg/day, which were observed to have delivered a litter, however, no pups were present at the time of litter observations (pups were presumed cannibalized). These dams were not included in Dams with No Liveborn Pups at Parturition.

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

i N = 16 for Gestation Body Weight, Gestation Food Consumption GD6 to 21, or Mean Duration of Gestation. N = 7 for Lactation Body Weight Gain LD1 to 4 or Lactation Food Consumption LD4 to 7. N = 8 for Lactation Body Weight Gain LD4 to 7 or Lactation Food Consumption LD1 to 4. Excludes values for dams that were found dead or euthanized due to adverse clinical observations, no surviving pups or group termination, or excludes values that appeared incorrectly recorded or were not recorded, as well as those associated with spillage.

j N = 15 for Lactation Body Weight, Lactation Body Weight Gain LD1 to 4, Lactation Body Weight Gain LD4 to 7, Lactation Food Consumption LD1 to 14, or Lactation Food Consumption LD4 to 7. N = 14 for Lactation Food Consumption LD7 to 10. N = 16 for Lactation Food Consumption LD1 to 4. Excludes values for animals that were found dead or euthanized due to adverse clinical observations, no surviving pups or group termination; or excludes values that appeared incorrectly recorded or were not recorded, as well as those associated with spillage.

k N = 23. Excludes values that were not recorded.

l N = 22 for Lactation Food Consumption LD1 to 14. N = 20 for Lactation Food Consumption LD1 to 4. Excludes values that appeared incorrectly recorded or were not recorded, as well as those associated with spillage.

m Excludes values for rats that were found dead or euthanized (2 dams) due to adverse clinical observations during gestation.

n Excludes dams that were observed to have delivered a litter, however, no pups were present at the time of litter observations (pups were presumed cannibalized).

o Number of rats with live offspring/number of pregnant rats. Excludes 2 dams in the 4 mg/kg/day group and 1 dam in the 10 mg/kg/day group, which were observed to have delivered a litter; however, no pups were present at the time of litter observations (pups were presumed cannibalized).

p Number of live pups on Day 4 (preculling) postpartum/number of liveborn pups on Day 1 postpartum. Excludes pups that were euthanized on Day 2 postpartum due to death of dam: 10 pups from one litter and 3 pups from another litter in the 4 mg/kg/day group, and 10 pups from one litter and 17 pups from another litter in the 10 mg/kg/day group.

q Number of live pups on Day 21 (weaning) postpartum/number of live pups on Day 4 (postculling) postpartum. At 4 mg/kg/day, excludes 4 pups from a litter that were euthanized on Day 6 postpartum due to death of dam. At 10 mg/kg/day, all surviving pups were euthanized on Days 8, 9 or 10 postpartum due to group termination.

r For the 4 mg/kg/day group, N = 18, 17, and 17 for Days 4 (precull and postcull), 10, and 21, respectively. For the 10 mg/kg group, N = 12, 6, and 4 for Days 4 (precull and postcull), 10, and 21, respectively. Excludes values for dams that were found dead, euthanized due to adverse clinical observations or euthanized due to group termination.
s Includes liveborn pups and pups that died before weighing on Day 1 postpartum.
t Pup Body Weights are presented to capture LD1, LD10 (the last measure of the 10 mg/kg/day group), and LD21 (the end of the preweaning period and the end of dosing for the F_0 dams).
u N = 19. Excludes values for litters that had no surviving pups.
v N = 15 for the 4 mg/kg/day group. N = 2 for the 10 mg/kg/day group. Excludes values for litters that had no surviving pups. Excludes values for dams that were found dead, euthanized due to adverse clinical observations or euthanized due to group termination.
w One male animal in the 4 mg/kg/day group was found dead on PND61. This death was considered unrelated to SAGE-217 because it was a single death that was not accompanied by any SAGE-217 toxicity or clinical signs prior to death.
x N = 6 for the control group. N = 10 for the 1 mg/kg/day group. Excludes values that appeared incorrectly recorded or were associated with spillage.
y Excludes values for one male animal due to unable to determine which male animal mated with one of the female animals.
z N = 20 for the control or the 1 mg/kg/day groups. N = 18 for the 4 mg/kg/day group. Excludes values that appeared incorrectly recorded.
aa Includes values for one dam that did not have a confirmed mating date.

2.6.7.15 新生児を用いた試験

2.6.7.15.1 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Species/ Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in deionized water)	Phase A: 5 days starting on PND 7 or 22 Phase B :28 days starting on PND 7	Phase A: Preweaning (PND 7 to 11): 20, 40, 60, 100 Postweaning (PND 22 to 26): 20, 60, 80, 100 Phase B: 0, 3, 10, 30, 30[a]	Phase A: 3M, 3F Phase B: Main Study: 8M, 8F TK: 15M, 15F (PND 7 and 20); 9M, 9F (PND 34)	<u>Phase A: Preweaning Dose Administration</u> 20 mg/kg/day: Sedation (grade 3 [moderate]), clinical signs (uncoordinated movement and tremors), and changes in body weight. ≥40 mg/kg/day: Not tolerated and all pups euthanized 8 hours following a single dose due to sedation severity (grade 4 [severe]) and duration (≥8 hours) and/or clinical signs (cold to touch, decreased respiratory rate, or labored/shallow breathing). <u>Phase A: Postweaning Dose Administration</u> ≥20 mg/kg/day: Sedation (up to grade 3) and clinical signs (tremors, uncoordinated movement, partly closed eyes, low carriage, hyperreactivity, red eye discharge, splayed limbs, and shallowed breathing). ≥80 mg/kg/day: Sedation (up to grade 4). 100 mg/kg/day: 2F euthanized on PND 22 due to sedation grades 3 or 4 along with decreased respiratory rate, shallow breathing, or tremors. Other pups had clinical signs (tremors, suspected dehydration, ungroomed fur, shallow breathing, and decreased respiratory rate) and perforation in trachea (1F). <u>Phase B</u> ≥3 mg/kg/day: Dose-related sedation (up to grade 3 [moderate]). ≥10 mg/kg/day: Mortality in 2M and 1F of the 47 pups/sex. Clinical signs of cold to touch and suspected dehydration. Decreased body weight and weight gains. Decreased testes weights. 30 mg/kg/day: Mortality in 13M and 29F of the 64 pups/sex (excluding PND 7 TK pups). Sedation (up to grade 4 [severe]). Clinical signs of ungroomed fur, thin appearance, increased activity, tremors, abdominal distention, eyes partly closed, pale skin, labored breathing and shallow breathing, and lack of or impaired righting reflex. No noteworthy hematology, clinical chemistry, necropsy, and microscopic findings. NOAEL = 3 mg/kg/day	SSN-01406 [4.2.3.5-08]

					TK (plasma): PND 7: C_{max} (M/F): 201/182, 727/769, and 571/764 ng/mL for 3, 10, and 30 mg/kg/day, respectively. AUC_{last} (M/F): 1890/1830, 6150/6900, and 5160/8280 ng·hr/mL for 3, 10, and 30 mg/kg/day, respectively. PND 20: C_{max} (M/F): 162/314, 786/768, and 1010/1130 ng/mL for 3, 10, and 30 mg/kg/day, respectively. AUC_{last} (M/F): 1300/2110, 4870/5240, and 8270/9550 ng·hr/mL for 3, 10, and 30 mg/kg/day, respectively. PND 34/35: C_{max} (M/F): 109/291, 340/808, and 473/1040 ng/mL for 3, 10, and 30 mg/kg/day, respectively. AUC_{last} (M/F): 506/3240, 1580/8510, and 3550/12 600 ng·hr/mL for 3, 10, and 30 mg/kg/day, respectively.	

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; M = male; NOAEL = no observed adverse effect level; PND = postnatal day; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer; TK = toxicokinetics

a An additional group of pups was administered a dose level of 30 mg/kg/day beginning on PND 7. This group was included to allow for the possibility of increasing the dosage to 60 mg/kg/day after approximately two weeks of dose administration to adjust for differences in sensitivity to the test article at different ages. Based on the effects observed at 30 mg/kg/day, the dose level increase was not implemented.

2.6.7.15.2 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験：重要な試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: A 7-Week Juvenile Toxicity Study by Oral (Gavage) Administration to Rats with a 6-Week Recovery Period			
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** 7 weeks (PND 22 to 71)	**Duration of Postdose:** 6 weeks	**Study No.** SSN-02819
Initial Age: 22 days (at onset of treatment)	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.5-09
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water		**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Mating and reproductive performance was evaluated in a subset of rats following a 5-week treatment-free period.			
NOAEL: 10 (M) and 3/1 (F) mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg)[a]			**0 (Control)**		**3**	**3/1**	**10**	**10/3**	**30**	**30/10**
Toxicokinetics[b]										
No. Evaluated			M: 12	F: 12	M: 30	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30	F: 30
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	PND 22	N/A	N/A	317	277	637	700	998	975
		PND 35	N/A	N/A	135	349	305	669	446	975
		PND 71	N/A	N/A	271	240	506	497	568	783
	AUC_{0-t} (ng·hr/mL)	PND 22	N/A	N/A	1550	1210	3970	7700	13 700	11 500
		PND 35	N/A	N/A	525	3370	1720	9510	3340	14 100
		PND 71	N/A	N/A	1690	2610	3740	5440	4250	11 000
Noteworthy Findings										
No. Evaluated[b]			**M: 63**	**F: 63**	**M: 81**	**F: 81**	**M: 81**	**F: 81**	**M: 81**	**F: 81**
No. Died or Sacrificed Moribund			1[c]	0	0	0	1[d]	1[e]	13[f]	26[g]
No. Evaluated			**M: 51**	**F: 51**	**M: 51**	**F: 51**	**M: 51**	**F: 51**	**M: 51**	**F: 51**
Body Weight (%)[h]	**PND36**		171.7 g	144.1 g	-0.7	+0.2	-2.3	-2.8	-5.8 B	-5.2
	PND71		467.1 g	263.0 g	-1.1	-0.8	-1.9	+3.4	-5.2 B	+5.8
Body Weight Gains (g)	**PND22-25**		18.7	16.1	18.7	15.6	15.9 D	14.4 C	15.1 D	13.1 D
	PND25-29		29.6	24.5	29.1	23.6	29.5	23.7	26.5 B	23.4
	PND29-32		26.7	20.9	26.3	21.7	25.9	20.1	24.7 A	20.0
	PND22-71		409.9	207.5	404.1	205.5	400.1	216.9	385.3 B	223.3 B
Food Consumption (%)[h]	**PND22-29**		14.9 g/animal/day	14.1 g/animal/day	-6.4	-0.3	-2.2	-17.5	-44.5 B	-44.3 B
	PND29-36		26.4 g/animal/day	24.5 g/animal/day	-17.8	-19.0	-12.9	-23.7 A	-26.9 D	-34.5 B
	PND22-71		30.6 g/animal/day	26.0 g/animal/day	-4.2	+0.4	-4.4	-13.0	-11.6	-15.4
Clinical Observation (No. Affected)										
	Sedation									

Daily Dose (mg/kg)[a]			0 (Control)		3	3/1	10	10/3	30	30/10
	Grade 2	(Mild)	0	0	48	51	51	51	47	46
	Grade 3	(Moderate)	0	0	0	0	8	6	43	43
	Grade 4	(Severe)	0	0	0	0	0	0	17	12
	Tremors		0	0	0	0	0	0	3	3
	Breathing, Labored		0	0	0	0	0	1	4	0
	Breathing, Abnormal Sounds		0	0	0	2	2	2	16	7
	Breathing, Shallow		0	0	0	0	0	1	3	0
	Uncoordinated Gait		0	0	0	0	0	0	0	26
Sexual Maturation										
	Balano-Preputial Separation		–	N/A	–	N/A	–	N/A	–	N/A
	Vaginal Patency (mean age)		N/A	32.5	N/A	32.7	N/A	33.8	N/A	35.8 D
	Body Weight on Day of Sexual Maturation (%) [h]		N/A	118.5 g	N/A	+0.3	N/A	+4.1	N/A	13.8 B
Behavioral										
Motor Activity (Combined Interval; No. of Observations; LSMean)										
	Ambulation	PND 54±2	118.43	257.29	128.44	272.05	142.44	325.69	159.55	424.32 A
	Fine Movement	PND 54±2	538.33	721.60	637.67	819.63	652.71	1003.36 A	746.05 A	1249.12 A
Acoustic Startle Response and Habituation			–	–	–	–	–	–	–	–
Morris Water Maze Learning and Memory			–	–	–	–	–	–	–	–
Ophthalmoscopy			–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology			–	–	–	–	–	–	–	–
Coagulation			–	–	–	–	–	–	–	–
Blood Chemistry			–	–	–	–	–	–	–	–
Organ Weight			–	–	–	–	–	–	–	–
Gross Pathology			–	–	–	–	–	–	–	–
Histopathology			–	–	–	–	–	–	–	–
Additional Examinations										
Bone Length and Density			–	–	–	–	–	–	–	–
Recovery Evaluation-Noteworthy Findings										
Body Weight (%) [h]	PND78		507.3 g	271.9 g	-2.2	-0.5	-3.2	+2.5	-6.5 B	+3.5
	PND92		564.5 g	287.7 g	-1.8	+0.4	-2.9	+1.7	-5.3 A	+5.6
Reproductive Function										
Estrous Cycling			N/A	–	N/A	–	N/A	–	N/A	N/A

Daily Dose (mg/kg)[a]	0 (Control)		3	3/1	10	10/3	30	30/10
Mating	–	–	–	–	–	–	N/A	N/A
Fertility	–	–	–	–	–	–	N/A	N/A

- = no noteworthy findings; AUC_{0-t} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t postdose; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; N/A = not applicable; PND = postnatal day; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer;
ANOVA & Dunnett or Dunnett: A = $p<0.05$; B = $p<0.01$.
Kruskal-Wallis & Dunn or Dunn: C = $p<0.05$; D = $p<0.01$

a From PND22 to 35, both M and F were dosed with 0 (control), 3, 10, or 30 mg/kg/day. From PND36 to scheduled euthanasia, M continued dosing with 0 (control), 3, 10, or 30 mg/kg/day, and F dosed at 0 (control), 1, 3, or 10 mg/kg/day.

b A total of 63 controls/sex and 81 animals/sex for treated groups were originally designated to the study. The animals were divided into four subsets. Subset A (Main Study) has 10 animals/sex/group assigned to terminal necropsy. Subset B (Recovery Study) has 20 animals/sex/group assigned to behavioral testing and recovery necropsy. Subset C (Reproductive Study) has 20+1 animals/sex/group assigned to reproductive assessment and behavioral testing. Subset D (Toxicokinetic Study) has 3 animals/sex/timepoint; specifically, 6 animals/sex/control group or 15 animals/sex/treatment group for toxicokinetic evaluation on PND22, and 3 animals/sex/control group or 9 animals/sex/treatment group for toxicokinetic evaluation on PND35, and 3 animals/sex/control group or 6 animals/sex/treatment group for toxicokinetic evaluation on PND71. Due to unexpected mortality, 4M and 2F from high-dose Subset B were also utilized for PND 71 toxicokinetic blood sample collections. High-dose animals of Subset C (17M and 8F remaining) were reassigned to Subsets A (additional 4M and 3F) and B (additional 10F) upon consultation with the Study Director to get the appropriate number of animals for each desired endpoint. All subset reassignments were documented in the study report's raw data. Due to the low number of remaining high-dose F in Subset C, reproductive assessments were not recorded for this group.

c One (1) M in the control was found dead prior to dosing on PND60. This death was considered unrelated to SAGE-217 because it occurred in the control group.

d One (1) M was found dead approximately 3 hours postdose on PND59. This was considered unlikely related to SAGE-217 due to a lack of clinical signs or sedation for the week prior to the death, and the absence of other dose-related mortality during the last several weeks of the study.

e One (1) toxicokinetics F was euthanized due to adverse clinical signs on PND34.

f There were 12M found dead or euthanized within first 4 days of dose administration. Seven had severe sedation on the day of or prior to death. One (1) additional animal was found dead prior to dosing on PND56. At necropsy, this rat had dark, red, diffuse lung discoloration, indicating a gavage error; therefore, this death was considered unrelated to SAGE-217.

g There were 26F in the 30 mg/kg/day dose group across all Subsets found dead or euthanized due to adverse clinical signs between PND22 and PND35. Two of these animals had perforations in the esophagus or trachea consistent with a gavage error at necropsy. The remaining 24 deaths were considered SAGE-217 related.

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

2.6.7.15.3 幼若ラットにおけるズラノロンの神経変性に対する影響

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Report Title: An Oral (Gavage) Neurodegeneration Study with Toxicokinetics in Postnatal Day 7 Male and Female Sprague Dawley Rats			
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	**Duration of Dosing:** Single dose	**Duration of Postdose:** N/A	**Study No.** SSN-03751
Initial Age: 7 days (PND7) at dosing	**Method of Administration:** Oral gavage		**Location in CTD:** 4.2.3.5-10
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 2% w/v PVP-VA in deionized water		**GLP Compliance:** Yes
Treatment of Controls: Water, vehicle or MK-801 (via single IP injection; as positive control)			
Special Features: Amino Cupric Silver (AmCuAg) staining was performed to evaluate neurodegeneration in brain in rats.			
NOEL for neurodegeneration in brain in rats: 2.5 mg/kg			

Dose (mg/kg)			**0 (Water)**		**0 (Vehicle)**		**2.5**		**7.5**		**1 (MK-801)**	
Toxicokinetics												
No. Evaluated			M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 0	F: 0
Zuranolone	**C_{max} (ng/mL)**	**PND 7**	N/A	N/A	N/A	N/A	212	189	637	573	N/A	N/A
	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	**PND 7**	N/A	N/A	N/A	N/A	1760	1700	7240	6390	N/A	N/A
Noteworthy Findings												
No. Evaluated			M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 11[a]	F: 10	M: 10	F: 10
No. Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	0	0	0	1[a]	0	0	0
Body Weight (g)	**PND8**		19.9	19.6	20.4	19.6	19.9	19.6	19.2	18.8	16.9 A	16.4 B
Body Weight change (g)	**PND7-8**		2.3	2.7	2.9	2.6	2.3	2.7	1.2 C	1.7 C	-0.8 B	-0.4 B
Sedation Assessment (No. Affected)[b]												
2 hours postdose	**Grade 1**	**(Mild)**	0	0	0	0	4	3	1	6	1	2
	Grade 2	**(Moderate)**	0	0	0	0	0	0	8	2	3	2
	Grade 3	**(Severe)**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 hours postdose	**Grade 1**	**(Mild)**	0	0	0	0	4	4	4	3	4	3
	Grade 2	**(Moderate)**	0	0	0	0	0	0	7	7	3	2
	Grade 3	**(Severe)**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8 hours postdose	**Grade 1**	**(Mild)**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Grade 2	**(Moderate)**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Grade 3	**(Severe)**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observation (No. Affected)												
Hypoactivity												
2 hours postdose			0	0	0	0	0	0	8	5	1	2
4 hours postdose			0	0	0	0	0	0	7	7	3	3
Labored respiration												
2 hours postdose			0	0	0	0	1	0	2	0	0	0
Pale body												

Dose (mg/kg)	0 (Water)		0 (Vehicle)		2.5		7.5		1 (MK-801)	
2 hours postdose	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Cool body										
2 hours postdose	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
Neurodegeneration in the Subiculum-Severity Score[c,d]										
Level 5	0.2 (2)	0.3 (2)	0.3 (3)	0.4 (3)	0.5 (4)	0.4 (4)	0.6 (3)*	1.0 (5)*	1.8 (6)	1.3 (5)
Level 6	0.1 (1)	0.3 (3)	0.2 (2)	0.4 (2)	0.2 (2)	0.3 (3)	0.8 (3)*	2.0 (9)*	2.0 (9)	1.8 (6)
Level 7	0.6 (4)	0.9 (6)	0.8 (5)	0.4 (4)	1.1 (8)	0.1 (1)	1.5(7)	1.6 (8)	3.3 (10)	3.0 (9)
Level 8	0.8 (7)	1.0 (6)	0.8 (6)	0.8 (8)	0.7 (5)	0.7 (5)	1.9 (8)*	1.7 (8)	4.6 (10)	3.7 (10)
Neuronal disintegratione[e,f]										
not present	0	0	0	1	2	2	0	2	0	0
Grade 1	6	8	8	8	5	6	3	2	0	1
Grade 2	4	2	2	1	3	2	2	4	0	1
Grade 3	0	0	0	0	0	0	3	1	1	4
Grade 4	0	0	0	0	0	0	1	1	7	3
Grade 5	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1

$AUC_{0\text{-}24hr}$ = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; N/A = not applicable; PND = post-natal day; PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer

Two-sample t-test vs the vehicle control group: A = $p \leq 0.05$, B = $p<0.01$

Dunnett's test vs the vehicle control group: C = $p < 0.01$

a One male rat in 7.5 mg/kg group was found dead on Day1 (PND7) approximately 6 hours following dose administration. This animal was noted with pale and cool body and labored respiration approximately 2 hours following dose administration, and with moderate sedation and hypoactivity at approximately 4 hours postdose. There were no remarkable findings at the macroscopic examination at necropsy. An additional animal was added to 7.5 mg/kg group in the main study.

b Sedation is graded based on the following characteristics:

Sedation Grade 0 (Normal) - All functions are normal, unless altered directly by the experimental procedure.

Sedation Grade 1 (Mild) - Animal is conscious and has positional control/righting reflex intact, and is able to move to food and water, but may still show signs of sedation, such as drowsiness, ataxia, or decreased activity.

Sedation Grade 2 (Moderate) - Animal is semi-conscious and all reflexes are present, but animal may not be able to control body position.

Sedation Grade 3 (Severe) – Animal is unconscious and in lateral recumbency. Some reflexes are still diminished or absent.

c Values are listed as the group average severity score followed by incidence out of 10 animals examined in parentheses. Average severity scores represent the sum of the grades in the group divided by group size (10). The asterisk (*) represent the average severity scores in the subiculum that are at least double the average severity scores of the higher of either of the two control groups (1 and 2).

d Data from the evaluation of the brain were organized into 10 levels and each level was defined based on landmarks within the brain sections as described below:

Level 1: Level of the Olfactory Bulb: The limits of Level 1 were defined as frontal cortex and olfactory bulb rostral to the caudate putamen region.

Level 2: Forebrain, Level of the Frontal Pole of the Cerebrum; The limits of Level 2 were defined as sections containing the caudate putamen region rostral to the corpus callosum.

Level 3: Forebrain, Level of the Rostral Corpus Callosum; The limits of Level 3 were defined as sections containing the caudate putamen region and the corpus callosum.

Level 4: Forebrain, Level of the Anterior Commissure; The limits of Level 4 were defined as sections containing the caudate putamen region and complete or nearly complete anterior commissure.

Level 5: Forebrain, Level of the Anterior Thalamus/Internal Capsule; The limits of the rostral thalamus (Level 5) were defined as sections containing third ventricle caudal to the anterior commissure to approximately the level of the median eminence. Ventral medial thalamus was that area just dorsal to the third ventricle. Dorsal lateral thalamus was the remainder of the thalamus dorsal and lateral to the ventral medial thalamus.

Level 6: Forebrain, Level of the Caudal Thalamus; The limits of Level 6 were defined as sections containing the third ventricle from a level approximately at the median eminence (rostral

border of Level 6) caudally to absence of the third ventricle/presence of the aqueduct.
Level 7: Level of the Midbrain, Rostral; The limits of Level 7 were defined as sections containing aqueduct, substantia nigra, and superior colliculus but generally rostral to the level of the pons.
Level 8: Level of the Midbrain, Caudal and Pons; The limits of Level 8 were defined as sections containing aqueduct, midbrain, superior colliculus, and pons, all rostral to the medulla oblongata pyramids.
Level 9: Level of the Cerebellum/Rostral Medulla Oblongata; The limits of Level 9 were defined as sections containing medulla oblongata/pyramids, inferior colliculus, and cerebellar peduncles.
Level 10: Level of the Cerebellum, Caudal Medulla Oblongata; The limits of Level 10 were defined as sections containing medulla oblongata caudal to the levels of the inferior colliculus.

e Neuronal disintegration assessed by Amino Cupric Silver staining was graded based on the following charasteristics;
Grade 1: Scattered, involving an estimated 1% of the total neurons in the region or structure
Grade 2: Scattered and occasionally clustered, involving an estimated 5% of the total neurons in the region or structure
Grade 3: Frequently clustered, involving up to 15% of the total neurons in the region or structure
Grade 4: Very frequently clustered, involving up to 40% of the total neurons in the region or structure
Grade 5: Abundant, involving more than 40% of the total neurons in the region or structure

f N = 10/sex/group, except for 7.5 mg/kg males where N = 9/group due to subiculum not being present or being obscured by artifact in the evaluated sections from one animal on subicum re-evaluation.

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当する試験なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 薬物乱用及び身体依存性に関する試験

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Drug Discrimination: Stimulus Generalization to Midazolam						
Rat/Lister Hooded	IP (30% HPβCD)	Single dose	0, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3	Main Study: 10M PK: 6-8M (12M in total)	Animals that were trained to discriminate 1 mg/kg midazolam from its vehicle (saline) demonstrated that 3 mg/kg SAGE-217 induced a discriminative stimulus similar to that of midazolam at 1 mg/kg. The 3 mg/kg SAGE-217 dose also significantly reduced the response rate, indicating this is the highest feasible dose for evaluation in male drug discrimination due to a reduction in the lever pressing rate. PK (plasma): C_{max}: 10.3, 65.8, 99.2, 172, and 219 ng/mL at 0.1, 0.3, 0.5, 1, and 3 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 34.1, 180, 271, 544, and 1160 ng·hr/mL at 0.1, 0.3, 0.5, 1, and 3 mg/kg, respectively.	SSN-02450 [4.2.3.7-01]
Rat/Lister Hooded	IP (30% HPβCD)	Single dose	0, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 2	Main Study: 12F PK: 3F (12F in total)	Animals that were trained to discriminate 1 mg/kg midazolam from its vehicle (saline) demonstrated that 2 mg/kg SAGE-217 induced a discriminative stimulus similar to that of midazolam at 1 mg/kg. The 2 mg/kg SAGE-217 dose also significantly reduced the response rate, indicating this is the highest feasible dose for evaluation in female drug discrimination due to a reduction in the lever pressing rate. PK (plasma): C_{max}: 43.5, 56.9, 178, 480, and 499 ng/mL at 0.1, 0.3, 0.5, 1, and 2 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 333, 689, 1820, 3520, and 6120 ng·hr/mL at 0.1, 0.3, 0.5, 1, and 2 mg/kg, respectively.	SSN-02904 [4.2.3.7-02]
Spontaneous Withdrawal						
Rat/Lister Hooded	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in water)	28 days	0, 2, 6, 20	Main Study: 10M PK: 2 or 3M	No withdrawal-related phenotypes (ie, no meaningful changes in physiological, neurobehavioral, and locomotor activity parameters), at C_{max} plasma concentrations up to 410 ng/mL. Positive control (CDP, a prototypical benzodiazepine) produced a withdrawal syndrome that was consistent with expected benzodiazepine withdrawal signs.	SSN-02451 [4.2.3.7-03]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
				(9M in total)	PK (plasma): Day 1: C_{max}: 121, 273, and 471 ng/mL at 2, 6, and 20 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 557, 1950, and 3140 ng·hr/mL at 2, 6, and 20 mg/kg, respectively. Day 14: C_{max}: 135, 271, and 381 ng/mL at 2, 6, and 20 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 958, 2100, and 3780 ng·h/rmL at 2, 6, and 20 mg/kg, respectively. Day 28: C_{max}: 163, 278, and 410 ng/mL at 2, 6, and 20 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 1140, 2510, and 4780 ng·hr/mL at 2, 6, and 20 mg/kg, respectively.	
Rat/Lister Hooded	Oral gavage (2% w/v PVP-VA in water)	28 days	0, 0.5, 1.5, 5	Main Study: 10F PK: 2 to 3F (8 to 9F in total)[a]	≤1.5 mg/kg/day: No withdrawal-related phenotypes (ie, no meaningful changes in physiological, neurobehavioral, and locomotor activity parameters), at C_{max} plasma concentrations up to 325 ng/mL. 5 mg/kg/day: Mild (and less marked than CDP) withdrawal (ie, decreased body weight compared to Day 29, and food consumption compared to vehicle between Days 30 to 32; spent significantly more time in arena margins between Days 29 to 33 and on Day 35; had fewer escape attempts; and had lower arousal on specific days during the discontinuation phase), at Day 28 C_{max} plasma concentration of 696 ng/mL. Positive control (CDP, a prototypical benzodiazepine) produced a withdrawal syndrome that was consistent with expected benzodiazepine withdrawal signs (ie, decreased body weight compared to vehicle on Days 32 and 33; spent significantly more time in arena margins compared to vehicle between Days 31 to 35; had salivation, chewing, elevated tail/body position and unusual behaviors including hopping, muzzle rubbing and licking arena towards the end of the treatment phase; had hunched posture, piloerection, scratching, chewing, elevated tail position and unusual behaviors such as licking arena, hopping and muzzle rubbing on specific days during the discontinuation phase). PK (plasma): Day 1: C_{max}: 117, 240, and 533 ng/mL at 0.5, 1.5, and 5 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 871, 2250, and 7320 ng·hr/mL at 0.5, 1.5, and 5 mg/kg, respectively.	SSN-02865[b] [4.2.3.7-04]

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
					Day 14: C_{max}: 111, 296, and 554 ng/mL at 0.5, 1.5, and 5 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 1050, 2650, and 6990 ng·hr/mL at 0.5, 1.5, and 5 mg/kg, respectively. Day 28: C_{max}: 137, 325, and 696 ng/mL at 0.5, 1.5, and 5 mg/kg, respectively. AUC_{last}: 1340, 3040, and 7770 ng·hr/mL at 0.5, 1.5, and 5 mg/kg, respectively.	
Self-Administration: Reinforcing Properties						
Rat/Lister Hooded	IV infusion (30% HPβCD)	Self-administered	0, 0.01, 0.03, 0.05 mg/kg/inf	8 or 9F	No maintenance of self-administration behavior with SAGE-217 in animals with a previous history of cocaine self-administration. Reference comparator (midazolam, Schedule IV benzodiazepine) showed modest reinforcing effects. PK (plasma): Day 1: Group Mean Concentrations (SEM): 108.2 (15.4), 261.4 (36.8), and 302.6 (50.7) ng/mL at 0.01, 0.03, and 0.05 mg/kg/inf, respectively. Day 2: Group Mean Concentrations (SEM): 38.6 (11.0), 107.9 (12.1), and 323.1 (78.4) ng/mL at 0.01, 0.03, and 0.05 mg/kg/inf, respectively.	SSN-02905[b] [4.2.3.7-05]

AUC_{last} = area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last quantifiable concentration; CDP = chlordiazepoxide; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; HPβCD = hydroxypropyl-beta-cyclodextrin; inf = infusion; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; M = male; PK = pharmacokinetic(s); PVP-VA = polyvinyl pyrrolidone-vinyl acetate copolymer; SEM = standard error of the mean

a One (1) PK animal in the 5 mg/kg/day group was found dead on Day 24; macroscopic examination was suggestive of gavage error.

b The Final Report and the Short Form Final Report Amendment are for the same study and constitute the final report and the description of what is amended; therefore, they should be reviewed together.

2.6.7.17.2 光毒性試験：In Vitro

Test Article: zuranolone (SAGE-217)

Test system	Treatment	Concentration	GLP Compliance	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
–	–	0.03 mg/mL	No	No absorbance was noted in the spectrum from 250 to 700 nm. The sole maximum region of absorbance was seen at approximately 200 to 250 nm, with a maximum at 214 nm. The MEC at 214 nm was 12,370 L/mol*cm. SAGE-217 does not have a MEC greater than 1000 L/mol*cm at wavelengths between 290 and 700 nm. Therefore, per ICH S10, Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals, SAGE-217 is not considered to be sufficiently photoreactive to result in direct phototoxicity.	SSN-03950 [4.2.3.7-15]

MEC = molecular extinction coefficient

2.6.7.17.3 不純物に関する試験：In Vitro

Test Article	Test system	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Concentration	GLP Compliance	Noteworthy Findings	Study Number [Location in CTD]
Genotoxicity							
化合物C	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro (200 Proof Ethanol)	2 days	6.25, 12.5, 25, 50, 100, 250 and 500 µg/plate (-S9) 50, 100, 250, 500, 1000, 2500 and 5000 µg/plate (+S9)	Yes	≥100 µg/plate: cytotoxicity was observed in TA98 and TA100 (-S9). ≥250 µg/plate: precipitates observed in all strains (-S9); cytotoxicity was observed in TA1535 and TA1537 (-S9). ≥500 µg/plate: precipitates observed in TA98 and TA1537 (+S9); cytotoxicity was observed in TA98 and TA100 (+S9). ≥1000 µg/plate: precipitates observed in all strains (+S9); cytotoxicity was observed in TA1537 (+S9). 化合物C was not mutagenic (±S9), up to precipitating and/or cytotoxic concentrations. No increases in the number of revertant colonies in any strain (±S9) as compared to the vehicle control.	SSN-02921 [4.2.3.7-06]
不純物A	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro (DMSO)	2 days	10, 25, 50, 100, 250, 500 and 1000 µg/plate (±S9)	Yes	≥100 µg/plate: precipitates observed in all strains (±S9). 1000 µg/plate: cytotoxicity was observed in TA98 (-S9). 不純物A was not mutagenic (±S9), up to precipitating and/or cytotoxic concentrations. No increases in the number of revertant colonies in any strain (±S9) as compared to the vehicle control.	SSN-02920 [4.2.3.7-07]
不純物B	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro (DMSO)	2 days	10, 25, 50, 100, 250, 500 and 1000 µg/plate (±S9)	Yes	≥100 µg/plate: precipitates observed in all strains (±S9). 1000 µg/plate: cytotoxicity was observed in TA1537 (-S9); reduction in the mean number of revertant colonies at 10 and 250 µg/plate in TA1537 was not dose related and therefore not considered biologically relevant. 不純物B was not mutagenic (±S9), up to precipitating and/or cytotoxic concentrations. No	SSN-02919 [4.2.3.7-08]

						increases in the number of revertant colonies in any strain (±S9) as compared to the vehicle control.	
不純物C	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro (200 Proof Ethanol)	2 days	10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500 and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	≥250 µg/plate: precipitates observed in TA98, TA1535 and TA1537 (-S9). ≥500 µg/plate: precipitates observed in all strains (-S9) and in WP2*uvrA* (+S9). ≥1000 µg/plate: precipitates observed in all strains (+S9). No cytotoxicity was observed in any strains (±S9). Mutagenicity was observed in TA100 at 5000 µg/plate (-S9) and at 250 and ≥1000 µg/plate (+S9).	SSN-03359 [4.2.3.7-09]
不純物D	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro (200 Proof Ethanol)	2 days	10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2500 and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	≥250 µg/plate: precipitates observed in all strains (±S9). No cytotoxicity was observed in any strains (±S9). . 不純物D was not mutagenic (±S9), up to precipitating concentrations. No increases in the number of revertant colonies in any strain (±S9) as compared to the vehicle control.	SSN-03358 [4.2.3.7-10]
不純物E	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro (DMSO)	2 days	100, 250, 500, 1000, 2500 and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	No precipitates or cytotoxicity was observed in any strains (±S9). Mutagenicity was observed at ≥250 µg/plate in WP2*uvrA* (±S9).	SSN-03357 [4.2.3.7-11]
不純物F	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro (DMSO)	2 days	100, 250, 500, 1000, 2500 and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	No precipitates or cytotoxicity were observed in any strains (±S9). Mutagenicity was observed at ≥2500 µg/plate in TA1537 (±S9) and at all concentrations in WP2*uvrA* (±S9).	SSN-03356 [4.2.3.7-12]
不純物G	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro (200 Proof Ethanol)	2 days	100, 250, 500, 1000, 2500 and 5000 µg/plate (±S9)	Yes	≥1000 µg/plate: precipitates observed in TA100, TA1535 and WP2*uvrA* (-S9) and in all strains (+S9); cytotoxicity was observed in TA1537 (+S9). ≥2500 µg/plate: precipitates observed in all strains (-S9).	SSN-03689 [4.2.3.7-13]

						不純物G was not mutagenic (±S9), up to precipitating and/or cytotoxic concentrations. No increases in the number of revertant colonies in any strain (±S9) as compared to the vehicle control.	
不純物H	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* WP2*uvrA*	In vitro (200 Proof Ethanol)	2 days	3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 and 2500 µg/plate (±S9)	Yes	≥250 µg/plate: precipitates observed in all strains (-S9) and in TA98, TA100 and WP2*uvrA* (+S9). ≥500 µg/plate: precipitates observed in all strains (+S9); cytotoxicity was observed in TA100 (±S9), TA1535 (-S9) and TA1537 (±S9). ≥1000 µg/plate: cytotoxicity was observed in TA98 (±S9) and TA1535 (+S9). 不純物H was not mutagenic (±S9), up to precipitating and/or cytotoxic concentrations. No increases in the number of revertant colonies in any strain (±S9) as compared to the vehicle control.	SSN-03690 [4.2.3.7-14]

DMSO = dimethylsulfoxide; S9 = microsomal liver preparations