目次

目次 1
Tables 3
略語一覧及び用語の定義 7
1. 概要 10
2. 単回投与毒性試験 15
3. 反復投与毒性試験 16
3.1 げっ歯類 16
3.1.1 マウス 16
3.1.1.1 野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスにおける 5 日間及び 28 日間強制経口投与試験 16
3.1.2 ラット 19
3.1.2.1 雌 Sprague Dawley ラットにおける 14 日間経口投与最大耐量毒性試験 19
3.1.2.2 Sprague Dawley ラット 14 日間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験 19
3.1.2.3 Sprague Dawley ラット 13 週間強制経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 21
3.1.2.4 Sprague Dawley ラット 26 週間（強制）経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 23
3.2 非げっ歯類 26
3.2.1 マーモセットにおける sepiapterin の 14 日間（強制）経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験 26
3.2.2 マーモセットにおける sepiapterin の 13 週間（強制）経口投与毒性試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験 29
3.2.3 マーモセット 9 ヵ月間（強制）経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 31
4. 遺伝毒性試験 35
4.1 In vitro 遺伝毒性試験 35
4.1.1 Sepiapterin の細菌を用いる復帰突然変異試験 35
4.1.2 培養ヒトリンパ球を用いた in vitro ほ乳類染色体異常試験 35
4.2 In vivo 遺伝毒性モデル 37
4.2.1 Sepiapterin を投与した雄 Sprague Dawley ラットにおける小核及び DNA 損傷誘発性の評価 37
5. がん原性 39
5.1 がん原性試験 39
5.1.1 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスにおける sepiapterin の 26 週間経口投与がん原性試験 39
5.1.2 ラット 2 年間がん原性試験 41
5.2 証拠の重み付け 42
5.2.1 重み付けの評価：sepiapterin による発がんリスクの要約 42
5.2.2 重み付けの評価：詳細な裏付け 43
5.2.2.1 医療上のニーズが満たされていない重篤な疾患について考慮すべき事項 43

5.2.2.2 標的分子の生物学的特性 44
5.2.2.3 サプロプテリンの潜在的クラスエフェクト評価及び長期臨床使用 44
5.2.2.4 遺伝毒性 45
5.2.2.5 慢性毒性試験から得られた病理組織学的データ 45
5.2.2.6 副次的薬理試験 48
5.2.2.7 ホルモン作用 48
5.2.2.8 免疫調節作用 49
5.2.2.9 Sepiapterin の臨床試験 49
5.2.2.10 重み付け評価の結論 49
6. 生殖発生毒性 50
6.1 ラットにおける sepiapterin の（強制）経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 50
6.2 胚・胎児発生に関する試験 51
6.2.1 Sepiapterin の（強制）経口投与によるラット胚・胎児発生に関する用量設定試験 51
6.2.2 Sepiapterin の強制経口投与によるラット胚・胎児発生に関する試験 52
6.2.3 ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の経口投与（胃チューブ）による胚・胎児発生に関する用量設定試験 54
6.2.4 ウサギにおける sepiapterin の経口投与（胃チューブ）による胚・胎児発生に関する試験 55
6.3 出生前及び出生後の発生に関する試験 57
6.3.1 ラットにおける行動／機能評価を含む出生前及び出生後の発生に関する sepiapterin の（強制）経口投与試験 57
6.4 幼若動物 59
6.4.1 新生児 Sprague Dawley ラット 6 日間強制経口投与薬物動態試験 59
6.4.2 Sepiapterin の幼若ラット 10 週間（強制）経口投与試験及び 4 週間回復性試験 61
7. 局所刺激性試験 65
8. その他の毒性試験 66
8.1 免疫毒性試験 66
8.2 薬物乱用傾向 66
8.3 代謝物試験 66
8.4 不純物 66
8.4.1 原薬 66
8.4.2 製剤 67
8.4.3 原薬のクラス 3 不純物 CC-02 及び CC-14 の細菌を用いる変異原性試験 68
8.4.3.1 [redacted]（CC-02）の細菌を用いた復帰突然変異試験 68

8.4.3.2 [redacted]（CC-14）の細菌を用いる復帰突然変異試験 69
8.4.4 不純物の安全性確認 70
8.4.4.1 申請規格 70
8.4.4.2 Sprague Dawley ラット 28 日間毒性試験 PTC923-2021-007 試験における不純物の安全性確認試験 70
8.4.4.3 Sprague Dawley ラット 28 日間毒性試験 PTC923-2023-044 試験における不純物の安全性確認試験 73
8.4.4.4 不純物の安全性確認試験の要約 75
8.4.5 不純物の遺伝毒性評価 76
8.4.6 Sepiapterin 製剤添加剤の安全性の根拠 80
8.5 光毒性評価 83
9. 考察及び結論 85
10. 参考文献 88
付録 1 Sepiapterin の毒性試験結果 92
付録 2 Sepiapterin の薬物乱用傾向 98

Tables

Table 1. Sepiapterin の毒性試験 11
Table 2. 野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 雌雄マウスにおける sepiapterin の 5 日間及び 28 日間強制経口投与試験の試験デザイン 16
Table 3. 野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 雌雄マウスにおける sepiapterin の 28 日間強制経口投与試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ 17
Table 4. 野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 雌雄マウスにおける sepiapterin の 28 日間強制経口投与試験の BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ 18
Table 5. 雌 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験の試験デザイン 19
Table 6. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及び 14 日間回復性試験の試験デザイン 20
Table 7. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及び 14 日間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ 20
Table 8. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及び 28 日間回復性試験の試験デザイン 21
Table 9. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及び 28 日間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ 22

Table 10. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 26 週間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験の試験デザイン 24
Table 11. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 26 週間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ 24
Table 12. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験の試験デザイン.....27
Table 13. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ 27
Table 14. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ 27
Table 15. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験の試験デザイン.....29
Table 16. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ 30
Table 17. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ 30
Table 18. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 9 ヵ月間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験の試験デザイン 31
Table 19. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 9 ヵ月間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ 32
Table 20. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 9 ヵ月間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ 32
Table 21. マーモセット 9 ヵ月間強制経口投与及び 4 週間回復性試験における投与開始時及び 38／39 週間の投与期間終了時の動物数 34
Table 22. Sepiapterin を強制経口投与した雄 Sprague Dawley ラットにおける小核及び DNA 損傷誘発性を評価する試験デザイン 37
Table 23. Sepiapterin を強制経口投与した雄 Sprague Dawley ラットにおける小核及び DNA 損傷誘発性を評価する試験における sepiapterin 及び BH_4 の血漿中濃度の平均値.....37
Table 24. CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合体マウスにおける 26 週間がん原性試験.....39
Table 25. 雌雄 CByB6F1/J 野生型雑種非トランスジェニックマウスにおける 26 週間強制経口投与がん原試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ 40
Table 26. 雌雄 CByB6F1/J 野生型雑種非トランスジェニックマウスにおける 26 週間強制経口投与がん原性試験における BH_4（未補正）のトキシコキネティクスパラメータ 40
Table 27. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の試験デザイン 50

Table 28. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する用量設定試験の試験デザイン.....51
Table 29. 雌雄 Sprague Dawley ラットに sepiapterin を強制経口投与したときの胚・胎児発生に関する用量設定試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ.....52
Table 30. 妊娠雌 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による胚・胎児発生試験の試験デザイン.....52
Table 31. 妊娠雌 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ.....53
Table 32. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する用量設定試験の試験デザイン.....54
Table 33. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による胚・胎児発生用量設定試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ.....54
Table 34. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による胚・胎児発生用量設定試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ.....55
Table 35. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける胃チューブ投与による sepiapterin の胚・胎児発生に関する試験の試験デザイン.....56
Table 36. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による胚・胎児発生試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ.....56
Table 37. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による胚・胎児発生試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ.....56
Table 38. 妊娠雌 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による出生前及び出生後の発生に関する試験の試験デザイン.....58
Table 39. 生後日齢 4 から PND9 までの雌雄新生児 Sprague Dawley ラットを対象とした sepiapterin6 日間強制経口投与薬物動態試験の試験デザイン.....59
Table 40. 生後日齢 4 日から PND9 日までの雌雄新生児 Sprague Dawley ラットを対象とした sepiapterin6 日間強制経口投与薬物動態試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ.....60
Table 41. 生後日齢 4 日から PND9 日までの雌雄新生児 Sprague Dawley ラットに sepiapterin を 6 日間強制経口投与した薬物動態試験におけるベースライン値で補正した BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ.....60
Table 42. 雌雄の新生児 Sprague Dawley ラットを用いた出生日齢 4 から出生日齢 70 までの seiapterin の 10 週間強制経口投与試験の試験デザイン.....61
Table 43. 生後日齢 4 日の雌雄新生児 Sprague Dawley ラットを対象とした sepiapterin10 週間強制経口投与試験における sepiapterin 30 mg/kg/日のトキシコキネティクスパラメータ.....62
Table 44. 雌雄の新生児 Sprague Dawley ラットに出生日齢 4 日から出生日齢 70 日まで seiapterin の 10 週間強制経口投与試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ.....62

Table 45. 生後日齢 4 日から PND70 日までの雌雄新生児 Sprague Dawley ラットを対象とした sepiapterin10 週間強制経口投与試験におけるベースライン値で補正した BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ 63
Table 46. Sepiapterin の原薬及び製剤の申請規格 70
Table 47. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間不純物安全性確認試験の試験デザイン 71
Table 48. Sepiapterin 原薬中の規格設定された不純物（[redacted]）並びにバッチ [redacted] の原薬の規格設定された不純物及び製剤の分解生成物のレベル 71
Table 49. バッチ [redacted] 中の sepiapterin 原薬の不純物／製剤中の分解生成物及びバッチ [redacted] 中の原薬の不純物の安全性確認レベル並びに規格 72
Table 50. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間ラット不純物安全性確認試験における sepiapterin 原薬及び製剤の規格並びに安全性確認レベルに基づく不純物及び分解物生成物の安全域 73
Table 51. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間不純物安全性確認試験の試験デザイン 73
Table 52. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間不純物安全性確認試験における sepiapterin 原薬の規格設定された不純物及び製剤の規格設定された分解生成物のレベル 74
Table 53. 規格設定された原薬の不純物及び規格設定された製剤の分解生成物の安全性確認レベル 75
Table 54. Sepiapterin 原薬及び製剤の規格並びに雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間不純物安全性確認試験における安全性確認レベルに基づく不純物及び分解生成物の安全域 75
Table 55. 雌雄 Sprague Dawley ラットに sepiapterin を強制経口投与した 28 日間の試験における規格及び安全性確認レベルに基づいた不純物及び分解生成物の安全域 76
Table 58. Sepiapterin の添加剤の小児における 1 日最大曝露量及び EuPFI STEP データベースの限度値 81
Table 59. Sepiapterin の添加剤の成人 1 日最大曝露量及び IIG データベースの限度値 82
Table 60. Sepiapterin の光毒性評価の確定試験で使用した濃度（µg/mL） 83
Table 61. Sepiapterin の光毒性評価における確定試験の結果 84
Table 62. Sepiapterin の反復投与試験の要約 85
Table 63. Sepiapterin の毒性試験結果 92

略語一覧及び用語の定義

略語又は特殊な用語	用語	説明
$\%AUC_{Extrap}$	% area under the concentration-time curve extrapolated from time of last measurable concentration to infinity	最終測定可能濃度時点から無限大時間まで外挿した濃度-時間曲線下面積（%）
–UVR	without UVR exposure	UVR 曝露なし
+UVR	with UVR exposure	UVR 曝露あり
ADI	acceptable daily intake	1 日摂取許容量
API	active pharmaceutical ingredient	医薬品有効成分
ATH	atypical hyperplasia	異型過形成
AUC	area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose	投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}last}$	area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last quantifiable measurement or the last sample collection time	0 時間から最終定量可能時点又は最終検体採取時点までの濃度-時間曲線下面積
BH_4	tetrahydrobiopterin	テトラヒドロビオプテリン
BQL	below quantifiable limits	定量限界未満
BUN	blood urea nitrogen	血中尿素窒素
Carc	carcinogenicity	がん原性試験
CAS	Controlled Substances Act	規制物質法
CNS	central nervous system	中枢神経系
Conc	concentration	濃度
DALA	Drug Abuse Liability Assessment	薬物乱用傾向評価
DI	deionized	脱イオン化
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DP	drug product	製剤
DPBS	Dulbecco’s phosphate-buffered saline	ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水
DRF	dose range-finding	用量設定
DS	drug substance	原薬
E. coli	*Escherichia coli*	大腸菌
ECG	electrocardiogram	心電図
ee	enantiomeric excess	エナンチオマー過剰率
eGFR	estimated glomerular filtration rate	推算糸球体濾過量
EMS	ethyl methanesulfonate	メタンスルホン酸エチル
EuPFi	European Paediatric Formulation Initiative	（欧州で行われている小児用剤形の開発を推進するためのイニシアチブ）
F	female	女性／雌
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価法
GD	gestation day	妊娠日齢
GRAS	generally regarded as safe	（一般に安全とみなされている）
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ID	identification	識別子
IIG	Inactive Ingredient Guide	不活性成分ガイド
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
LOAEL	lowest observed adverse effect level	最小毒性量

略語又は特殊な用語	用語	説明
M	male	男性／雄
MAD	Mutual Acceptance of Data	データの相互受入れ
max	maximum	最大値
MDD	maximum daily dose	1 日最大投与量
MI	mitotic index	分裂指数
MN	micronucleus	小核試験
MN-PCE	micronucleated polychromatic erythrocytes	小核を有する多染性赤血球
MPE	mean photo effect	平均光効果
MRHD	maximum recommended human dose	ヒト最大推奨用量
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NA	not applicable	該当せず
NC	not calculated	算出せず
ND	not determined	未確定
NMT	not more than	以下
No.	number	動物数
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no observed effect level	無影響量
NRR	no reportable result	報告可能な結果なし
OD_{540}	optical density using 540-nm filter	540 nm フィルターを用いた吸光度
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PAH	phenylalanine hydroxylase	フェニルアラニン水酸化酵素
PCE	polychromatic erythrocyte	多染性赤血球
Phe	phenylalanine	フェニルアラニン
PIF	photoirritancy factor	光刺激因子
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PKU	phenylketonuria	フェニルケトン尿症
PKUDOS	PKU Demographics, Outcomes and Safety	PKU の人口統計学的特性、転帰及び安全性登録
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (Japan)	医薬品医療機器総合機構（日本）
PND	postnatal day	出生後日数
(Q)SAR	quantitative structure activity relationship	定量的構造活性相関
RRT	relative retention time	相対保持時間
R-SP	R enantiomer of sepiapterin	Sepiapterin の R エナンチオマー
Rsq	goodness-of-fit statistic	適合度統計量
S	sepiapterin	sepiapterin
S9	metabolic activation system	代謝活性化系
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*	ネズミチフス菌
SOC	System Organ Class	器官別大分類
SR	sepiapterin reductase	Sepiapterin 還元酵素
STEP	Safety and Toxicity for Paediatrics	小児における安全性及び毒性
TEAE	treatment-emergent adverse event	試験治療下で発現した有害事象
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T_{last}	time to last measurable plasma concentration	最終測定可能血漿中濃度到達時間
TTC	threshold of toxicological concern	毒性学的懸念の閾値

略語又は特殊な用語	用語	説明
UVR	ultraviolet radiation	紫外線照射
WHO	World Health Organization	世界保健機関
WMS	wasting marmoset syndrome	消耗性マーモセット症候群
WOE	Weight of Evidence	証拠の重み付け

1. 概要

Sepiapterin（旧名 PTC923 及び CNSA-001）の毒性試験プログラムは、ICH ガイドラインに従って実施した試験で構成された。主要な毒性試験は、米国 FDA の GLP 規則（21 CFR Part 58）又は経済協力開発機構（OECD）の GLP 原則［C(97)186/Final］に従って、OECD のデータ相互受入れ（MAD）プログラムの加盟国の一つで実施された。探索的試験は、試験実施施設の標準操作手順書を遵守して実施した。各 in vivo 試験で使用した動物数は、規制要件、統計学的検出力及び／又は過去のデータの利用可能性に基づき、試験の目的を達成するために必要な最小数と考えられ、各動物施設の施設内動物実験委員会のガイドラインの範囲内にあった。

Sepiapterin の予定臨床投与経路は経口であるため、動物での毒性試験は経口投与経路を用いて実施した。ヒトでは、経口投与された sepiapterin は速やかに吸収され、テトラヒドロビオプテリン（BH_4）に速やかに代謝されるため、全身循環血中の BH_4 が顕著かつ速やかに増加する（Smith 2019）。薬物動態（PK）データから、マウス、ラット、ウサギ、マーモセット、カニクイザル及びイヌを含む評価したすべての非臨床動物種において、経口経路で投与された sepiapterin は速やかに BH_4 に変換されることが示されている（試験の概要はモジュール 2.6.4 に示す）。

遺伝配列及び酵素活性が動物種間で評価されており、ラットとヒトの間で強い類似性が認められている。ラットとヒトの間では、sepiapterin 還元酵素（SR）（sepiapterin から BH_4 への変換の主要な酵素）の遺伝子に 74%の配列相同性があり（Wu 2020）、SR 及びジヒドロ葉酸還元酵素活性は、マウス、イヌ、ブタに比べてラットで高いことが示されている（Katoh 1974）。フェニルアラニン水酸化酵素（PAH、sepiapterin の標的酵素）は、ラットとヒトで 96%という高い配列類似性がある（Flydal 2019）。ヒトとラットの PAH にはいくつかの構造的な違いがあるが、PAH モノマーの構造は類似している。

ヒトで最も多く認められる循環血中代謝物がラット及びマーモセットでも認められることから、両動物種を毒性試験の主要な動物種として選択した。マーモセットの PK データでは、ヒトと同様に、sepiapterin は速やかに BH_4 に代謝されることが示されており、経口投与後の sepiapterin の血漿中濃度は定量下限（LLOQ）に近く、まれにしか測定可能な濃度が認められなかった。ラットにおいても、sepiapterin は速やかに BH_4 に変換されることが示されており、sepiapterin 濃度は速やかに LLOQ 未満に低下する。

投与製剤サンプル及び血漿サンプルの分析には、バリデートされた方法を用いた。試験で使用する製剤の濃度範囲を設定するため、香料を添加した懸濁溶媒である Medisca® Oral Mix™及び Medisca® Oral Plus®（以下それぞれ、Oral Mix 及び Ora Plus）で調製した投与製剤の均一性及び安定性を確認した。生体試料分析は、sepiapterin 及び BH_4 の確立された安定性限度内で実施された。

Sepiapterin で実施したすべての毒性試験の要約表を Table 1 及びモジュール 2.6.7、表 2.6.7.1 に示す。

Table 1. Sepiapterin の毒性試験

試験の種類	動物種／系統	ROA	濃度又は用量 [a]（投与期間）	試験番号（GLP 適合状況）
単回投与毒性試験				
試験は実施しなかった。				
反復投与毒性試験				
5 日間及び 28 日間げっ歯類	マウス／野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic	経口	A 期：0、30、100、300、1,000 mg/kg/日（5 日間） B 期：0、300、1,000、4,000 mg/kg/日（28 日間）	PTC923-2023-053（GLP）
14 日間げっ歯類	ラット／CD	経口	0、30、60、120、240 mg/kg/日（14 日間）	16I0231S-X01（非 GLP）
14 日間げっ歯類	ラット／Sprague Dawley	経口	0、100、300、1,000 mg/kg/日（14 日間）	CNSA-TOX-001-2017（GLP）
13 週間げっ歯類	ラット／Sprague Dawley	経口	0、30、100、300 mg/kg/日（13 週間）	CNSA-TOX-001-2018（GLP）
26 週間げっ歯類	ラット／Sprague Dawley	経口	0、30、100、200 mg/kg/日 [b]（26 週間）	PTC923-2020-003（GLP）
14 日間非げっ歯類	サル／マーモセット	経口	0、100、300、1,000 mg/kg/日（14 日間）	CNSA-TOX-002-2017（GLP）
13 週間非げっ歯類	サル／マーモセット	経口	0、30、100、300 mg/kg/日（13 週間）	CNSA-TOX-002-2018（GLP）
9 ヵ月間非げっ歯類	サル／マーモセット	経口	0、30、100、300 mg/kg/日（9 ヵ月間）	PTC923-2020-004（GLP）
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	In vitro	312.5、625、1,250、2,500、5,000 μg/プレート（±S9）（48～72 時間）	CNSA-TOX-003-2017（GLP）
ほ乳類染色体異常試験	培養ヒトリンパ球	In vitro	0.031、0.063、0.125、0.25、0.5、1 mM（-S9）（3 時間及び 20 時間）[c] 0.031、0.063、0.125、0.25、0.5、0.75、1 mM（+S9）（3 時間）[c]	CNSA-TOX-004-2017（GLP）
In vivo 小核試験及びコメット試験	ラット／Harlan Sprague Dawley	経口	0、100、300、1,000、2,000 mg/kg/日（3 日間）	CNSA-TOX-005-2017（GLP）
がん原性試験				
26 週間がん原性試験	マウス／CByB6F1 **がん原性試験：**	経口	M：0、30、100、300 mg/kg/日	PTC923-2023-070（GLP）

試験の種類	動物種／系統	ROA	濃度又は用量[a] （投与期間）	試験番号 （GLP 適合状況）
	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic **TK**：CByB6F1/J 野生型、雑種、非トランスジェニック		F：0、100、300、1000 mg/kg/日 陽性対照ウレタン：500 mg/kg/日	
20[redacted]年[redacted]月[redacted]日の PMDA 相談での合意に基づき、市販後にラット 2 年間がん原性試験結果を提出予定である。がん原性について証拠の重み付け評価は 5.2 項に示す。				
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／Sprague Dawley	経口	0、30、100、300 mg/kg/日（M：交配 28 日前～安楽死、F：交配 15 日前～GD7 まで）	PTC923-2022-028（GLP）
DRF 胚・胎児発生に関する試験	ラット／Sprague Dawley	経口	0、100、300、1,000 mg/kg/日[d]（GD7～GD17）	PTC923-2021-005（非 GLP）
胚・胎児発生に関する試験	ラット／Sprague Dawley	経口	0、100、300、1,000 mg/kg/日（GD7～GD17）	PTC923-2021-023（GLP）
DRF 胚・胎児発生に関する試験	ウサギ／ニュージーランド白色	経口	0、100、300、1,000 mg/kg/日[d]（GD7～GD19）	PTC923-2021-006（非 GLP）
胚・胎児発生に関する試験	ウサギ／ニュージーランド白色	経口	0、100、300、1,000 mg/kg/日（GD7～GD19）	PTC923-2021-024（GLP）
出生前及び出生後の発生に関する試験	ラット／Sprague Dawley	経口	0、30、100、300 mg/kg/日［GD6～分娩後 20 日（同腹児あり）又は GD24（同腹児なし）］	PTC923-2023-048（GLP）
幼若動物	ラット／Sprague Dawley（新生児）	経口	0、10、30、100 mg/kg/日[d,e]（PND4～PND9）	PTC923-2020-006（GLP）
幼若動物毒性試験	ラット／Sprague Dawley	経口	0、5、10、30 mg/kg/日（PND4～PND28） 0、30、100、300 mg/kg/日（PND29～PND70）	PTC923-2023-045（GLP）
局所刺激性試験				
経口投与ではこの試験は必要としない。				
その他の毒性試験				
免疫毒性試験				
試験は不要と考えられた。				
薬物乱用傾向評価				
追加の乱用傾向試験は不要とされた（8.2 項、付録 2）。				
代謝物試験				
追加試験は不要と考えられた。				
不純物				
(Q)SAR リスク評価：DS	NA	NA	NA	[redacted]報告書（非 GLP）
(Q)SAR リスク評	NA	NA	NA	PTC923-2023-057

試験の種類	動物種／系統	ROA	濃度又は用量 [a] （投与期間）	試験番号 （GLP 適合状況）
価：DS				（非 GLP）
(Q)SAR リスク評価：DS	NA	NA	NA	PTC923-2023-074 （非 GLP）
(Q)SAR リスク評価：DS	NA	NA	NA	PTC923-2024-126 （非 GLP）
(Q)SAR リスク評価：DP	NA	NA	NA	PTC923-2022-037 （非 GLP）
細菌を用いる復帰突然変異試験：CC-02	ネズミチフス菌 大腸菌	In vitro	最高 5,000 μg/プレート（DRF） 最高 1,000 μg/プレート（変異原性試験）	PTC923-2021-025 （GLP）
細菌を用いる復帰突然変異試験：CC-14	ネズミチフス菌 大腸菌	In vitro	最高 5,000 μg/プレート（DRF） 最高 1,000 μg/プレート（変異原性試験）	PTC923-2021-026 （GLP）
不純物の安全性確認	ラット／Sprague Dawley	経口	DS：0、100 mg/kg/日 DP：0、100、300 mg/kg/日（28 日間）	PTC923-2021-007 （GLP）
不純物の安全性確認	ラット／Sprague Dawley	経口	DS：0、100 mg/kg/日 エナンチオマー：5.6 mg/kg/日（28 日間）	PTC923-2023-044 （GLP）
光毒性試験				
光毒性評価	BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞	In vitro	1.78、3.16、5.62、10、17.8、31.6、56.2、111 μg/mL	PTC923-2021-010 （GLP）

略語：DP＝製剤、DRF＝用量設定、DS＝原薬、F＝雌、GD＝妊娠日齢、M＝雄、NA＝該当せず、NOAEL＝無毒性量、NOEL＝無影響量、PK＝薬物動態、PMDA＝医薬品医療機器総合機構、PND＝生後日齢、(Q)SAR＝定量的構造活性相関、ROA＝投与経路、S9＝代謝活性化系、TK＝トキシコキネティクス

[a] NOAEL は下線を引いて示す。

[b] この試験では NOEL を決定し、下線を引いて示した。

[c] S9 mix 存在下では、いずれの用量でも染色体異常は認められなかった。一方、S9 mix 非存在下では、0.25、0.5 及び 1 mM の用量で 20 時間処理により染色体の構造異常が認められ、3 時間処理では、「不確か（equivocal）」であった。

[d] いずれの用量でも sepiapterin の忍容性は良好であった。

[e] この PK 試験では、NOAEL は決定しなかった。

Sepiapterin の毒性試験の主要な所見を付録 1（Table 61）に記載し、以下に要約する。

- ラットで最長 26 週間（6 ヵ月間）、マーモセットでは最長 39 週間（9 ヵ月間）の反復投与一般毒性試験を実施した。いずれのマーモセット反復投与試験においても、sepiapterin に関連した有害所見は認められなかった。ラット（13 週間及び 26 週間試験）では、100 mg/kg/日以上（26 週間試験）及び 300 mg/kg/日（13 週間試験）で、腎集合管に結晶沈着を伴う腎尿細管の変性・再生が認められた。ラット 13 週間試験における 300 mg/kg/日での腎臓の変化は部分的に可逆的であり、ラット 26 週間試験における腎臓の変化は部分的（100 mg/kg/日）～完全に（200 mg/kg/日）可逆的であった。
- In vitro 細菌を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類細胞を用いる肝代謝系存在下 in vitro 染色体異常試験、並びに 2,000 mg/kg/日での in vivo 小核（MN）試験及びコメット試験を含む一

連の遺伝毒性試験で、sepiapterin は陰性であった。ヒトリンパ球を肝代謝系非存在下 in vitro で連続処理したときに染色体異常が誘発されたが、in vivo MN 試験及びコメット試験の結果は陰性であったことから、sepiapterin に遺伝毒性はないと考えられた。

- CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合体雄マウスにおける 300 mg/kg/日までの用量及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合体雌マウスにおける 1000 mg/kg/日までの用量における 26 週間トランスジェニックマウスがん原性試験では、発がん性作用及び非腫瘍性病理組織学的所見は認められなかった。また、入手可能なすべてのデータの証拠の重み付け（WOE）評価により、sepiapterin の発がんリスクは極めて低いと結論付けた。
- 300 mg/kg/日（評価した最高用量）までの用量で sepiapterin は、ラットの受胎能を低下させず、着床までの初期胚発生にも影響を及ぼさなかった。
- 1,000 mg/kg/日（評価した最高用量）までの用量で sepiapterin は、妊娠ラット及びウサギの胚・胎児発生に有害作用を示さなかった。
- ラットの出生前及び出生後の発生に関する試験では、300 mg/kg/日（評価した最高用量）までの用量で sepiapterin は有害作用を示さなかった。
- 幼若ラット毒性試験では、30/300 mg/kg/日（評価した最高用量）までの用量で sepiapterin は有害作用を示さなかった。この試験では、幼若ラットに生後日齢（PND）4 日～PND28 は 30 mg/kg/日の用量で、PND29～PND70 は 300 mg/kg/日の用量で sepiapterin を投与した。
- 一般毒性試験において、免疫系に対して sepiapterin に関連した影響は認められなかったことから、特定の免疫毒性試験は実施しなかった。
- 入手可能なすべてのデータから、sepiapterin 依存性が発現する可能性は極めて低いと結論付けた。また、追加の乱用傾向試験は不要とされた。
- Sepiapterin 原薬（DS）中の製造工程由来不純物及び製剤（DP）中の分解生成物で、ICH の安全性確認が必要となる閾値を超えるものについては、毒性試験で安全性が確認されている。また、遺伝毒性不純物の評価も行い、入手可能な安全性及び品質データから、市販予定の新規有効成分バッチに関連する明らかなヒトに対する変異原性リスクはないことが示されている。
- In vitro 光毒性試験に基づくと、sepiapterin に光毒性はなかった。

総合すると、得られているデータから、小児及び成人フェニルケトン尿症（PKU）の治療薬として予定の臨床用量で sepiapterin の安全性が裏付けられる。

2. 単回投与毒性試験

Sepiapterin の単回投与毒性試験は実施していない。

3. 反復投与毒性試験

3.1 げっ歯類

3.1.1 マウス

3.1.1.1 野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスにおける 5 日間及び 28 日間強制経口投与試験

PTC923-2023-053 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.7A）

Tg.RasH2 マウスの GLP26 週間がん原性試験の実施に先立って、野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスを用いて探索的 GLP 試験を実施し、sepiapterin を 5 日間（A 期）及び 28 日間（B 期）経口投与したときの sepiapterin 及び BH_4 の潜在的な毒性及びトキシコキネティクス（TK）特性を検討した。

9～12 週齢のマウスの各群に、Table 2 に示す用量で sepipeterin を 1 日 1 回強制経口投与した。5 日間試験（A 期）の用量は、雄 CD-1 マウスを用いた非 GLP PK 試験（PTC923-2023-046、概要をモジュール 2.6.4 に示す）に基づき設定した。なお、この非 GLP PK 試験では、300 mg/kg までの用量で sepiapterin を単回経口投与しても臨床徴候は認められなかった。この試験では、sepiapterin は速やかに BH_4 に変換され、BH_4 の血漿中曝露量は用量の増加に伴って増加したが、用量比を下回った。したがって、PTC923-2023-053 試験の A 期では 300 mg/kg/日までの用量を設定したが、より高用量での忍容性を検討するため、この A 期に 1,000 mg/kg/日の高用量を追加した。

Table 2. 野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 雌雄マウスにおける sepiapterin の 5 日間及び 28 日間強制経口投与試験の試験デザイン

A 期（5 日間）					
群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数	
				本試験	
				M	F
1	対照 [a]	0	0	5	5
2	Sepiapterin	30	3	5	5
3	Sepiapterin	100	10	5	5
4	Sepiapterin	300	30	5	5
5	Sepiapterin	1,000	100	5	5

B 期（28 日間）							
群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数			
				本試験		TK 試験	
				M	F	M	F
6	対照 [a]	0	0	10	10	6	6
7	Sepiapterin	300	30	10	10	36	36
8	Sepiapterin	1,000	100	10	10	36	36
9	Sepiapterin	4,000	400	10	10	36	36

略語：F＝雌、M＝雄、TK＝トキシコキネティクス
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

A 期における試験の評価には、死亡率、一般状態、体重及び体重増加量が含まれた。B 期における試験の評価項目は、これらの評価に加え、臨床病理学的パラメータ（血液学的検査及び血液生化学検査）、臓器重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査などであった。TK 評価用の血液サンプル

を B 期の一部の TK 動物から Day 1 及び Day 28 に採取し、sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の TK プロファイルを評価した。

A 期

A 期では、sepiapterin に関連した死亡及び臨床徴候及び体重に対する影響は認められなかった。したがって、1,000 mg/kg/日までの用量では sepiapterin の経口投与の臨床的忍容性は良好であった。

B 期

A 期において、sepiapterin に関連する所見及び体重減少が認められなかったことから、B 期では用量段階として 300、1,000 及び 4,000 mg/kg/日を設定した。マウスに経口投与するのに適した均一な投与製剤で投与可能な最高濃度（400 mg/mL）に基づき、投与可能な最高用量は 4,000 mg/kg/日であった。

定量可能な sepiapterin 濃度が得られる時点が限られていたため、算出した TK パラメータ及び用量曝露関係は、得られたデータ及び観察された全般的傾向に基づいて評価した。最終測定可能血漿中濃度までの時間（T_{last}）は、各用量及び各投与日でまちまちであったことから sepiapterin の C_{max} 値及び濃度-時間曲線下面積（AUC）値を用量間及び投与日間で比較する際の解釈は慎重に行うべきである。

Sepiapterin 全身曝露量は、全体的に性別とは無関係だと思われた。ただし、sepiapterin 濃度が測定可能であった時点は限られており、個々の測定値も大きな相違があった。また、sepiapterin 総曝露量は、BH_4 曝露量と比較すると少量（2%未満）にすぎなかった。したがって、sepiapterin の C_{max} 及び投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）の考察には、雌雄の併合データを使用する。マウスに sepiapterin を連日経口投与したときは、Day 1 及び Day 28 ともに、用量の増加に伴う sepiapterin の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ の増加はほとんど又は全く認められなかった。Sepiapterin 全身曝露量に、sepiapterin の反復投与による一定の変化は認められなかった（Table 3）。

内因性 BH_4 濃度は、Day 1 の投与前の全サンプル及び対照動物の Day 1 及び Day 28 で測定可能であった。Day 1 及び Day 28 において、用量の増加に伴う C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ の増加は、ほとんど又は全く認められなかった。BH_4 全身曝露量には、sepiapterin の反復投与による一定の変化は認められなかった。BH_4 の全身曝露量に性差は認められなかった。Sepiapterin の全身曝露量と比較すると、BH_4 の全身曝露量（C_{max}）は、Day 1 には最高約 80～82 倍、Day 28 には最高約 35～47 倍であった（Table 4）。

Table 3. 野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 雌雄マウスにおける sepiapterin の 28 日間強制経口投与試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
7	300	1	M	3.0	23.9	170
			F	3.0	103.0	382
8	1,000	1	M	3.0	44.7	143
			F	1.0	91.7	792
9	4,000	1	M	1.0	55.8	463

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
			F	12.0	101.0	1,260
7	300	28	M	1.0	118.0	318
			F	1.0	211.0	992
8	1,000	28	M	3.0	85.4	573
			F	3.0	159.0	1,060
9	4,000	28	M	1.0	86.7	482
			F	6.0	196.0	1,520

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、F＝雌、M＝雄

Table 4. 野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic 雌雄マウスにおける sepiapterin の 28 日間強制経口投与試験の BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
7	300	1	M	3.0	4,680	23,300
			F	3.0	5,460	25,900
8	1,000	1	M	3.0	4,590	23,500
			F	3.0	5,330	46,500
9	4,000	1	M	1.0	5,310	49,400
			F	3.0	5,380	47,200
7	300	28	M	3.0	5,360	35,100
			F	3.0	6,230	48,200
8	1,000	28	M	3.0	5,510	46,700
			F	3.0	5,230	49,700
9	4,000	28	M	3.0	4,810	47,000
			F	3.0	6,880	58,400

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、F＝雌、M＝雄

Day 21 に死亡が確認された TK 4,000 mg/kg/日群の雌 1 匹を除き、全動物が B 期の予定の試験終了時まで生存した。なお、この死亡例は、剖検の結果から、強制経口投与の過誤が原因だと確認された。

Sepiapterin に関連する一般状態は、4,000 mg/kg/日群で認められた橙色の糞及び 1,000 mg/kg/日以上の群で認められた黄色の乾燥物のみであり、これらの所見は、排泄物中に sepiapterin 及び／又はその代謝物が存在することを反映していた。B 期の 1,000 mg/kg/日群及び 4,000 mg/kg/日群の雄において、Day -1～Day 29 に sepiapterin に関連した平均体重増加量の減少が認められたが、平均体重は、対照群と比較して大きな差は生じなかった。

血液学的パラメータには、sepiapterin に関連した変化は認められなかった。Sepiapterin に関連した血液生化学検査の所見として、全投与群の雌で総蛋白、アルブミン及びアルブミン／グロブリン比の軽度上昇がみられた。これらの所見に一致する解剖学的所見は認められず、有害ではないと考えられた。

300、1,000 又は 4,000 mg/kg/日の用量で 28 日間投与したときは、sepiapterin に関連した剖検所見、器官重量の変化及び病理組織学的所見は認められなかった。

以上の結果に基づき、無毒性量（NOAEL）は 4,000 mg/kg/日であった。この用量で Day 28 における sepiapterin の C_{max} の平均値は、雄で 86.7 ng/mL、雌で 196 ng/mL であった。Sepiapterin の血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値は、雄で 482 h•ng/mL、雌で 1,520 h•ng/mL であった。NOAEL を投与したときの

Day 28 における BH_4 の C_{max} の平均値は、雄で 4,810 ng/mL、雌で 6,880 ng/mL であった。BH_4 の血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値は、雄で 47,000 h•ng/mL、雌で 58,400 h•ng/mL であった。

3.1.2 ラット

3.1.2.1 雌 Sprague Dawley ラットにおける 14 日間経口投与最大耐量毒性試験

16I0231S-X01 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.6）

この非 GLP 試験の目的は、雌 Sprague Dawley ラットに sepiapterin を 14 日間連日強制経口投与したときの、sepiapterin の安全性を評価し、可能であれば最大耐量（MTD）を決定することであった。この試験では TK 評価を実施しなかった。

Table 5 に示すように、動物には sepiapterin を 14 日間投与した。十分な全身曝露量が得られる用量を選択した。

Table 5. 雌 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	雌動物数
1	対照 [a]	0	0	2
2	Sepiapterin	30	27	2
3	Sepiapterin	60	27	2
4	Sepiapterin	120	27	2
5	Sepiapterin	240	27	2

[a] 0.5%カルボキシメチルセルロース添加クエン酸緩衝液を投与した。

試験の評価項目は、死亡率、一般状態、体重、臨床病理学的検査（血液学的検査及び血液生化学検査）、器官重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査などであった。

試験終了時まで全動物は体重増加を示し、生存していた。いずれの投与群でも、健康異常及び sepiapterin に対する有害な反応は認められなかった。臨床病理学的検査、肉眼的観察及び病理組織学的検査で異常所見は認められなかった。14 日間連日経口投与したときは、240 mg/kg/日まで sepiapterin の忍容性は良好であった。

3.1.2.2 Sprague Dawley ラット 14 日間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験

CNSA-TOX-001-2017 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.7A）

この GLP 適合試験の目的は、Sprague Dawley ラットに sepiapterin を 14 日間経口投与したときの sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の潜在的な標的臓器毒性及び TK プロファイルを明らかにすること、並びに、14 日間の回復期間後に sepiapterin に関連する影響の可逆性を評価することであった。中枢神経系（CNS）／末梢神経系の行動及び呼吸機能に対する sepiapterin の影響も評価した。

Table 6 に示すように、6 週齢の Sprague Dawley［Crl:CD(SD)IGS］ラットの各群に sepiapterin を 14 日間連日強制経口投与した。この試験の用量は、検討した最高用量である 240 mg/kg/日が MTD であった CD ラットの非 GLP 14 日間試験（16I0231S-X01 試験、3.1.2.1 項に記載）に基づいて設定した。また、Sprague Dawley ラットの 2 日間試験では、600 mg/kg/日の用量で臨床的忍容性が認められた。したがって、14 日間 GLP 毒性試験では用量として 100、300 及び 1,000 mg/kg/日を設定した。

Table 6. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及び 14 日間回復性試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数					
				主試験		回復性試験		TK	
				M	F	M	F	M	F
1	対照 [a]	0	0	10	10	5	5	3	3
2	Sepiapterin[b]	100	6.67	10	10	0	0	6	6
3	Sepiapterin[b]	300	20	10	10	0	0	6	6
4	Sepiapterin[b]	1,000	66.67	10	10	5	5	6	6

略語： API＝有効成分、F＝雌、M＝雄、TK＝トキシコキネティクス
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。
[b] Oral Mix 中 API／添加剤を 24.3／75.7%の割合で混合した製剤を投与した。

試験の評価項目は、死亡率、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査及び尿検査）、眼科学的検査、機能観察総合評価（FOB）（雄）、呼吸機能モニタリング（雌）、器官重量及び肉眼的観察などであった。第 1 群及び第 4 群の動物から採取した組織の包括的なリストについて病理組織学的検査を実施した。肉眼的に異常が認められ、標的臓器と考えられる臓器（すなわち、下顎リンパ節及び坐骨神経）は、第 2 群及び第 3 群の動物でも評価した。TK 評価用の血液サンプルは、TK 群の一部の動物から Day 1 及び Day 14 に採取した。

全身循環血中の sepiapterin は極めて低濃度であった。すなわち、全投与群を通じ大部分のサンプルで LLOQ 未満であり、残りのサンプルでも LLOQ に極めて近かった。したがって、血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析は BH_4 に限定した。BH_4 のトキシコキネティクスパラメータを Table 7 に要約する

Table 7. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及び 14 日間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	100	1	M	2.0	1,860	13,000
		1	F	2.0	1,210	8,610
3	300	1	M	4.0	2,850	27,800
		1	F	2.0	2,150	14,400
4	1,000	1	M	4.0	4,930	47,800
		1	F	2.0	3,720	31,000
2	100	14	M	2.0	1,730	10,900
		14	F	2.0	1,760	8,340
3	300	14	M	2.0	3,440	24,600
		14	F	2.0	4,110	25,600
4	1,000	14	M	4.0	2,990	28,900
		14	F	2.0	3,630	29,500

略語： $AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロビオプテリン、F＝雌、M＝雄

要約すると、雌雄ともに Day 14 の BH_4 全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は、用量の増加に伴って増加した。100 mg/kg/日から 300 mg/kg/日（用量を 3 倍に増量）では 2.6 倍の増加が認められたが、300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日（用量を 3 倍に増量）では、1.2 倍しか増加しなかった。これらのデータから、BH_4 は非線形の動態を示すことが示唆され、300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日への増加

に伴い、曝露量が飽和した可能性が高いと考えられた。BH_4 の曝露量に明らかな性差は認められなかった。Day 1 と比較して、Day 14 に BH_4 の蓄積は認められなかった。

試験期間中に死亡は認められなかった。試験期間中、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理学的検査、眼科学的検査、臓器重量、肉眼的観察所見及び病理組織学的検査の各所見に有害な影響は認められなかった。FOB 評価及び呼吸機能評価に変化は認められなかった（FOB 及び呼吸パラメータはモジュール 2.6.2 に記載）。

最高用量でも sepiapterin に関連する有害な変化が認められなかったことから、NOAEL は 1,000 mg/kg/日と判断された。この用量を投与したときの Day 14 の BH_4 の C_{max} の平均値は、雄が 2,990 ng/mL、雌が 3,630 ng/mL であり、BH_4 の血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値は、雄が 28,900 h•ng/mL、雌が 29,500 h•ng/mL であった。

3.1.2.3 Sprague Dawley ラット 13 週間強制経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験

CNSA-TOX-001-2018 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.7B）

この GLP 適合試験の目的は、Sprague Dawley ラットに sepiapterin を 13 週間連続経口投与したときの sepiapterin の潜在的な標的臓器毒性並びに sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の TK プロファイルを明らかにすること、さらに、28 日間の回復期間後の sepiapterin に関連した影響の可逆性を検討することであった。行動及び呼吸機能に及ぼす sepiapterin の影響も評価した。

Table 8 に示すように、6 週齢の Sprague Dawley ラットの各群に sepiapterin を 13 週間強制経口投与した。この試験の用量は、先に実施したラット反復投与毒性試験において、1,000 mg/kg/日までの用量で忍容性が良好で有害所見が認められなかったこと（16I0231S-X01 試験、3.1.2.1 項に記載、CNSA-TOX-001-2017 試験、3.1.2.2 項に記載）、及び Sprague Dawley ラットの TK データから、300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日に増量しても BH_4 濃度の上昇がほとんど又は全く認められなかった（曝露量の飽和）こと（CNSA-TOX-001-2017 試験、3.1.2.2 項に記載）に基づいて設定した。したがって、この試験では最高用量を 300 mg/kg/日に設定した。

Table 8. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及び 28 日間回復性試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数					
				主試験		回復性試験		TK	
				M	F	M	F	M	F
1	対照 [a]	0	0	10	10	5	5	3	3
2	Sepiapterin[b]	30	2	10	10	0	0	6	6
3	Sepiapterin[b]	100	6.67	10	10	0	0	6	6
4	Sepiapterin[b]	300	20	10	10	5	5	6	6

略語：API＝有効成分、F＝雌、M＝雄、TK＝トキシコキネティクス
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。
[b] Oral Mix 中 API／添加剤を 24.3／75.7%の割合で混合した製剤を投与した。

試験の評価項目は、死亡率、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査及び尿検査）、眼科学的検査、FOB 評価（雌）、呼吸機能モニタリング

（雄）、器官重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査などであった。Day 1 及び Day 91 に、サテライト群の投与動物において、sepiapterin 及びその活性代謝物 BH_4 の TK を評価した。

Day 91 では、全身循環血中の sepiapterin は極めて低濃度であった。すなわち、検討した血漿サンプルの大部分で LLOQ（11.1 ng/mL）未満であり、sepiapterin が検出されるサンプルがまれにあったが、LLOQ に極めて近かった（11.2～37.2 ng/mL）。したがって、血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析は BH_4 に限定した。BH_4 の血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析の要約を Table 9 に示す。

Table 9. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及び 28 日間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	30	1	M	2.0	447	3,160
		1	F	4.0	308	2,060
3	100	1	M	4.0	1,080	7,790
		1	F	4.0	1,020	6,450
4	300	1	M	4.0	2,480	21,700
		1	F	4.0	2,860	17,000
2	30	91	M	2.0	683	4,030
		91	F	2.0	601	2,930
3	100	91	M	2.0	1,400	9,790
		91	F	2.0	2,380	9,340
4	300	91	M	2.0	2,750	23,100
		91	F	2.0	3,630	20,900

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、F＝雌、M＝雄

Day 1 の投与前の多くのサンプル及び対照動物の一部で（内因性物質として予想されたとおり）BH_4 が検出され、ベースライン値は、24.2～43.5 mg/mL（LLOQ＝22.2 ng/mL）であった。Day 91 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ に基づくと、BH_4 濃度の上昇は用量比を下回り、用量の増加に伴い吸収過程が飽和した可能性が高いと考えられた。13 週間にわたる反復投与では、いくらかの蓄積性の証拠が認められた。Sepiapterin 投与後の BH_4 曝露量に意義のある性差は認められなかった。

この試験では、sepiapterin に関連した死亡は認められなかった。Day 87 に対照群の雄 1 匹が死亡した。Day 67 に高用量群（300 mg/kg/日）の雄 1 匹を切迫屠殺し、この動物にはリンパ腫が認められた。いずれの死亡例も sepiapterin の投与とは関連がないと判断された。

安楽死させた 300 mg/kg/日群の雄では、リンパ腫が多くの組織に浸潤していた。リンパ腫は対照群の雌 1 匹の盲腸にも認められ、発現率は低かったことから、当該リンパ腫は、sepiapterin 投与とは関連がないと判断された。

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、凝固検査、尿検査及び眼科学的検査の各パラメータに毒性学的に意義のある sepiapterin に関連した影響は認められなかった。単回投与後に FOB 評価パラメータ及び呼吸機能評価に sepiapterin に関連した影響は認められなかった（FOB 及び呼吸パラメータはモジュール 2.6.2 に記載）。

剖検では、消化管及び腎臓に sepiapterin に関連した所見が認められた。100 及び 300 mg/kg/日投与群では、消化管の所見として胃、十二指腸、空腸、回腸及び／又は盲腸の内腔に柔らかい及び／又はクリーム状の物質が認められたが、この所見に対応する病理組織学的所見は認められなかった。消化管の所見は 28 日間の回復期間終了までに完全に回復した。これらの所見は有害ではないと判断された。

腎臓の主な肉眼的観察所見として、300 mg/kg/日群の雌雄の腎臓に蒼白部及び斑状腎（mottled kidney）、及び 300 mg/kg/日群の雌で腎臓重量の増加（最大 13.3%）が認められた。投与期間終了時（Day 90）に 300 mg/kg/日群の雄で血清尿素及び血清クレアチニン濃度の平均値が軽微に高値を示し（対照群平均値の最大 1.2 倍）、回復期間終了時（Day 120）でも血清クレアチニン値は高値のままであった（対照群平均値の 1.2 倍）。

雄雌とも、腎臓の肉眼的観察所見は、尿細管変性の組織病理学的所見を伴っていた。尿細管変性はほとんどが軽微又は軽度で、300 mg/kg/日群のみにみられ（評価した雄 9 匹中 5 匹、雌 10 匹中 7 匹）、中等度の変性は雄 2 匹で認められた。尿細管変性を認めた動物の一部で、尿細管結晶が認められた（雄 5 匹及び雌 4 匹）。

28 日間の回復期間後も、300 mg/kg/日群（雄 4 匹及び雌 3 匹）の腎臓の尿細管変性は持続していたが、重症度は軽減されたことから（雄 1 匹の軽度変性を除くすべての動物で軽微）、部分的な可逆性が示された。腎臓の尿細管結晶は認められず、完全に回復したことが示された。高用量群の雌では腎臓重量の増加が持続した。

300 mg/kg/日群の雌雄の腎臓で認められた部分的に可逆性の有害所見に基づき、NOAEL は 100 mg/kg/日であった。この用量で Day 91 における BH_4 の C_{max} は雄で 1,400 ng/mL、雌で 2,380 ng/mL、及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 9,790 h•ng/mL、雌で 9,340 h•ng/mL であった。

3.1.2.4 Sprague Dawley ラット 26 週間（強制）経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

PTC923-2020-003 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.7C）

この GLP 適合試験の目的は、Sprague Dawley ラットに sepiapterin を 26 週間連日経口投与したときの sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の毒性及び TK プロファイルを明らかにすること、並びに 4 週間の回復期間後に変化の可逆性を評価することであった。

Table 10 に示すように、6.5 週齢の Sprague Dawley ラットの各群に sepiapterin を 26 週間強制経口投与した。この試験の用量は、ラット 13 週間試験（CNSA-TOX-001-2018 試験、3.1.2.3 項に記載）に基づいて設定した。13 週間試験では、剖検で 300 mg/kg/日群の腎臓に有害な変化が認められ、NOAEL は 100 mg/kg/日であった。したがって、この試験では最高用量を 200 mg/kg/日に設定した。

Table 10. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 26 週間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数					
				主試験		回復性試験		TK	
				M	F	M	F	M	F
1	対照 [a]	0	0	15	15	5	5	3	3
2	Sepiapterin	30	3	15	15	0	0	9	9
3	Sepiapterin	100	10	15	15	5	5	9	9
4	Sepiapterin	200	20	15	15	5	5	9	9

略語：F＝雌、M＝雄、TK＝トキシコキネティクス
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

試験の評価項目は、死亡率、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査及び尿検査）、眼科学的検査、器官重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査などであった。TK 評価用の血液サンプルは、TK 群の一部の動物から Day 1、Day 91 及び Day 182 に採取した。

Sepiapterin を単回投与後及び反復投与後の血漿中 sepiapterin 濃度は、大部分のサンプルで LLOQ 未満であった。したがって、血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析は BH_4 に限定した。 BH_4 の血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析の要約を Table 11 に示す。

Table 11. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の 26 週間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	30	1	M	4.0	689	5,010
		1	F	1.0	615	4,120
3	100	1	M	4.0	1,780	11,700
		1	F	4.0	2,060	11,900
4	200	1	M	4.0	3,320	21,400
		1	F	2.0	3,140	21,200
2	30	91	M	4.0	623	4,540
		91	F	2.0	796	3,910
3	100	91	M	4.0	1,490	11,300
		91	F	2.0	1,920	10,400
4	200	91	M	4.0	2,440	20,200
		91	F	2.0	2,580	12,900
2	30	182	M	2.0	710	4,830
		182	F	2.0	915	4,410
3	100	182	M	4.0	1,680	14,000
		182	F	2.0	1,770	9,590
4	200	182	M	4.0	2,380	24,100
		182	F	2.0	3,200	18,100

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロビオプテリン、F＝雌、M＝雄

すべての sepiapterin 投与群の雌雄で得られた Day 1 の BH_4 投与前濃度は、対照群で得られたベースラインの内因性 BH_4 濃度の平均値と同等であった。内因性 BH_4 濃度は雄ラットの方がわずかに高かった。Sepiapterin の単回投与後及び反復投与後は、雌雄ラットともに血漿中 BH_4 濃度は用量の増加に伴って上昇した。BH_4 曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）は雌雄で同程度であり、30～200 mg/kg/日の

用量で Day 1、Day 91 及び Day 182 では、概ね用量比をわずかに下回って増加した。Sepiapterin を 30～200 mg/kg/日の用量範囲で 182 日間連日投与した後は、雌雄とも BH_4 の蓄積は認められなかった。

26 週間の投与期間及び 4 週間の回復期間の終了時は、sepiapterin に関連した死亡率並びに一般状態、体重、摂餌量、臓器重量、血液学的検査、凝固検査、尿検査及び眼科学的検査の各パラメータに及ぼす影響は認められなかった。

投与期間終了時には、30 mg/kg/日群及び 100 mg/kg/日投与群の雌雄並びに 200 mg/kg/日投与群の雌に sepiapterin に関連した血液生化学的検査値の変化は認められなかった。200 mg/kg/日群の雄（15 匹中 4 匹）で認められた sepiapterin に関連した血液生化学検査値の変化には、血清尿素高値（対照群平均値の 1.7～2.6 倍）及び血清クレアチニン高値（対照群平均値の 1.6～2.2 倍）があった。回復期間終了時には、血清尿素及び血清クレアチニンを含むすべての血液生化学的パラメータが対照群と同等の値に戻っていた。

投与期間終了時の肉眼的観察で、sepiapterin の投与に関連すると判断された変化として、100 mg/kg/日群（雄 15 匹中 2 匹、雌 15 匹中 2 匹）及び 200 mg/kg/日群（雄 15 匹中 5 匹、雌 15 匹中 3 匹）の腎臓で暗色巣（dark focus）、表面不整、斑状・蒼白部及び／又は変色が認められた。これらの肉眼的観察所見は、腎臓における尿細管変性・再生、線維化及び炎症の組織病理学的所見と一致していた。さらに、200 mg/kg/日群の雄 1 匹では、膀胱が肥大して内腔にベージュ色の多数の結石を認め、肉眼的に尿管拡張（両側）を認めた。回復期間終了時には、100 mg/kg/日を投与した雌 1 匹で両側腎腫大、腎臓の表面不整及び退色が認められた。しかし、100 mg/kg/日群又は 200 mg/kg/日群の雄及び 200 mg/kg/日群の雌に肉眼的観察所見は認められなかった。

投与期間終了時の剖検で、sepiapterin の投与に関連した変化が、100 mg/kg/日群（雄 15 匹中 1 匹、雌 15 匹中 2 匹）及び 200 mg/kg/日群（雄 15 匹中 6 匹、雌 15 匹中 4 匹）の雌雄腎臓で認められた。これらの病理組織学的変化には、細胞障害とその後の修復を示唆する尿細管変性/再生（軽微～顕著）、結晶の存在に対する物理的反応による乳頭内の軽微から軽度の前腫瘍性ではない尿細管上皮過形成（単純性過形成）を伴う尿細管変性/再生領域の遠位乳頭集合管および管内の両染性結晶の沈着（軽微～軽微）、間質性炎症（軽微～中等度）、間質性線維症（軽微～軽度）、尿細管拡張（軽微～軽度）、低頻度の腎盂内の結晶（軽微）が含まれ、sepiapterin 投与による結晶性腎症の誘発を裏付けるものであった。病理担当者及びピアレビュー病理専門家は、腎尿細管過形成（単純性過形成）は sepiapterin と関連があるが、前がん性ではないと結論づけた（PTC923-2020-003「病理専門家の報告書」）。

また、sepiapterin は 200 mg/kg/日群の雄で膀胱肥大を伴う膀胱結石形成を誘発し、それによって、尿路上皮の適応性変化（過形成及び扁平上皮化生）並びに尿流出路の部分的閉塞を引き起こすことによって、膀胱、尿管、及び腎盂の拡張をもたらし、その結果、腎盂腎炎をきたした可能性がある（Cohen 2018a）。

中等度～高度の尿細管変性・再生（尿細管の結晶の有無を問わない）並びにそれに伴う中等度の炎症及び軽微～軽度の腎線維症の腎所見は、変化の重症度及び慢性度（腎線維化）から、有害所見だと判断された。

投与期間終了時には、100 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 200 mg/kg/日群の雌において、軽微な好塩基性を示す尿細管の増加の発現率が対照群をわずかに上回ったが、これはおそらく、背景の好塩基性を示す尿細管の増加の悪化によるものと考えられ、重症度は軽微であったことから毒性所見ではないと判断された。同様に、200 mg/kg/日群の雄 3 匹の肝臓で、小葉中心性肝細胞空胞化の発現率及び重症度が高くなり、sepiapterin に関連するが、重症度そのものは低かったために有害ではないと判断された。

回復期間終了時、100 mg/kg/日群の雌 5 匹中 1 匹の腎臓では sepiapterin の投与に関連した病理組織学的変化が持続しており、中等度の尿細管変性・再生、中等度の間質性炎症、及び軽度の間質性線維症の存在を特徴とする、皮質から乳頭に及ぶ多数の合体した楔形（coalescing wedge）の部分が認められた。ただし、この動物では結晶及び尿細管過形成は認められなかったことから、部分的な回復が示唆された。この動物で認められた組織病理学的変化は有害で部分的に可逆性であると判断された。4 週間の回復期間後、100 mg/kg/日群及び 200 mg/kg/日群の雄並びに 200 mg/kg/日群の雌の腎臓に組織病理学的変化は認められなかった。このことから、100 mg/kg/日群の雌では部分的な回復が示され、200 mg/kg/日群の雌並びに 100 mg/kg/日群及び 200 mg/kg/日群の雄では完全な回復が示された。4 週間の回復期間後は、組織病理学的検査で認められていた雄の肝臓の sepiapterin に関連した肝細胞空胞化は認められず、このことからも、完全な回復が示された。

100 mg/kg/日以上の投与群の雌雄の腎臓で有害所見が認められたが、30 mg/kg/日群では認められなかったことから、無影響量（NOEL）は 30 mg/kg/日及び最小毒性量（LOAEL）は 100 mg/kg/日であった。NOEL（30 mg/kg/日）では、Day 182 の BH_4 の C_{max} は雄で 710 ng/mL、雌で 915 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 4,830 h•ng/mL、雌で 4,410 h•ng/mL であった。

3.2 非げっ歯類

3.2.1 マーモセットにおける sepiapterin の 14 日間（強制）経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験

CNSA-TOX-002-2017 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.7D）

この GLP 適合試験の目的は、マーモセットに sepiapterin を 14 日間連日経口投与したときの sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の潜在的な標的臓器毒性及び TK プロファイルを明らかにすること、並びに 14 日間の回復期間後に sepiapterin に関連する影響の可逆性を評価することであった。心血管機能に及ぼす sepiapterin の影響も、心電図（ECG）測定によって判定した。

Table 12 に示すように、2.2～7 歳齢のマーモセットの各群に sepiapterin を 14 日間強制経口投与した。この試験の用量は、先に実施したマーモセットのパイロット忍容性試験において、600 mg/kg 単回投与で忍容性が確認されたことに基づいて設定した。低用量として 100 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日を設定し、全用量範囲にわたり sepiapterin の毒性を明らかにした。

Table 12. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数			
				主試験		回復性試験	
				M	F	M	F
1	対照 [a]	0	0	3	3	2	2
2	Sepiapterin[b]	100	6.67	3	3	0	0
3	Sepiapterin[b]	300	20	3	3	0	0
4	Sepiapterin[b]	1,000	66.67	3	3	2	2

略語：API＝有効成分、F＝雌、M＝雄
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。
[b] Oral Mix 中 API／添加剤を 24.3／75.7%の割合で混合した製剤を投与した。

試験の評価項目は、瀕死／死亡率、ケージ外から一般状態観察、ハンドリングでの観察、体重、定性的摂餌量、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査及び血液生化学検査）、眼科学的検査、ECG 評価、器官重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査などであった。血漿中薬物濃度測定及び TK 測定用の血液サンプルを採取した。

Sepiapterin 及び BH_4 の血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析の要約をそれぞれ Table 13 及び Table 14 に示す。

Table 13. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）
2	100	1	M	2.0	64.2
		1	F	2.0	90.5
3	300	1	M	2.0	154
		1	F	2.0	106
4	1000	1	M	2.0	104
		1	F	2.0	331
2	100	14	M	2.0	42.2
		14	F	1.5	47.4
3	300	14	M	1.0	53.2
		14	F	1.0	69.7
4	1000	14	M	2.0	62.1
		14	F	2.0	54.3

略語：F＝雌、M＝雄

Table 14. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 14 日間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 14 日間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）[a]	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	100	1	M	1.0	1,697	7,877
		1	F	4.0	1,380	13,221
3	300	1	M	1.0	3,623	21,389
		1	F	2.0	5,670	23,301
4	1000	1	M	4.0	3,990	26,026
		1	F	4.0	12,127	99,082
2	100	14	M	2.0	1,993	10,174
		14	F	1.5	2,035	10,827

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）[a]	C_{max}（ng/mL）	AUC_{0-24h}（h•ng/mL）
3	300	14	M	2.0	5,247	17,996
		14	F	2.0	2,847	13,101
4	1000	14	M	2.0	3,527	19,102
		14	F	2.0	5,163	31,986

略語：AUC_{0-24h}＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロビオプテリン、F＝雌、M＝雄

Sepiapterin 及び BH_4 はいずれも定量可能な濃度で存在していた。Sepiapterin の吸収は速やかで（一般に T_{max} の中央値は 2 時間）、Day 1 及び Day 14 で同程度であり、性別及び用量に依存しないように見えた。Sepiapterin は 100 mg/kg/日群の雌を除き血漿から速やかに消失し、いずれの性別及び用量においても Day 1 と比較して Day 14 に sepiapterin の蓄積は認められなかった。

T_{last} は全動物間で 2～8 時間と顕著な変動があったことから、sepiapterin の AUC_{0-24h} 値は提示せず、sepiapterin についての考察は C_{max} に限定する。

概して、sepiapterin の C_{max} は、雌雄かつ Day 1 及び Day 14 ともに 100～300 mg/kg/日では用量比を下回って上昇する傾向があった。ただし、用量を 300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日と 3.33 倍に増加したときは、Cmax は用量比を上回ったり下回ったりと、Cmax の変化には一貫性がなかった。

Sepiapterin は速やかに BH_4 に代謝され、BH_4／sepiapterin 比は 4%未満であった。代謝の程度が、用量及び性別によって変動することはなかった。BH_4 全身曝露量の指標である C_{max} 及び AUC_{0-24h} は雌雄ともに Day 14 では用量の増加に伴って増加した。すなわち、用量を 100 mg/kg/日から 300 mg/kg/日（3 倍）に増加すると、雄ではそれぞれ、2.6 倍及び 1.8 倍の変化が、雌ではそれぞれ、1.4 倍及び 1.2 倍の変化が認められた。用量を 300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日（3.33 倍）に増加すると、雄ではそれぞれ、0.7 倍及び 1.1 倍の変化が、雌ではそれぞれ、1.8 倍及び 2.4 倍の変化が認められた。

Day 7 に 100 mg/kg/日群の雌 1 匹が死亡した。この動物では、Day 2～Day 7 の間に複数の日にわたり軟便、下痢、活動性低下及び被毛粗剛を認め、Day 7 では触ると冷たかった。死因は髄膜脳炎であった。この動物には両側性腎膿瘍が認められた。したがって、この脳病変の推定原因は、敗血症又は腎膿瘍による細菌性塞栓の可能性があったことから、sepiapterin とは関連がないと考えられた。

Sepiapterin に関連した有害な臨床徴候は認められなかった。14 日間の投与期間中、sepiapterin 投与群に尿及び糞便の変色が認められたが、これは被験物質製剤の色に起因するものであった。試験期間中、体重、摂餌量及び臓器重量に対する sepiapterin に関連した影響は認められず、眼及び心血管系に対する投与に関連した影響はなかった。臨床病理学的パラメータに及ぼす影響も認められなかった。

14 日間の投与期間終了時に、病理組織学的所見が 1,000 mg/kg/日群の雄 2 匹の脳（グリオーシス／神経膠症、軽微）及び雌 2 匹の腎臓［尿細管変性、糸球体障害／糸球体症、結晶（1 匹のみ）、混合細胞浸潤］で認められた。回復期間終了時に、1,000 mg/kg/日群の雌 1 匹の腎臓に軽度尿細管変性が認められた。これらの病理組織学的所見に関連した一般状態及び臨床病理学的所見は認められ

なかった。高用量群の雌の腎臓における病理組織学的所見は、sepiapterin の腎臓への沈着に関連すると考えられ、sepiapterin の直接的な腎毒性を示すものではなかった（Isobe 2012, Collins 2014）。雄の脳のグリオーシスは、sepiapterin の投与に関連しない自然発生の背景病変だと判断した（Butt 2015）。

有害所見が認められなかったことから、NOAEL は 1,000 mg/kg/日だと判断した。この用量での Day 14 における sepiapterin の C_{max} の平均値は、雄で 62.1 ng/mL、雌で 54.3 ng/mL であった。BH_4 の C_{max} の平均値は、雄で 3,527 ng/mL、雌で 5,163 ng/mL、BH_4 の血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値は、雄で 19,102 h•ng/mL、雌で 31,986 h•ng/mL であった。

3.2.2 マーモセットにおける sepiapterin の 13 週間（強制）経口投与毒性試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験

CNSA-TOX-002-2018 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.7E）

この GLP 適合試験の目的は、マーモセットに 13 週間連日経口投与したときの sepiapterin の潜在的な標的臓器毒性を明らかにすること、及び 28 日間の回復期間後に sepiapterin に関連する影響の可逆性を検討することであった。また、sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の TK プロファイルも評価した。

Table 15 に示すように、2.5～6 歳齢のマーモセットの各群に sepiapterin を 13 週間強制経口投与した。この試験の用量は、先に実施したマーモセット単回投与パイロット忍容性試験及び反復投与毒性試験（CNSA-TOX-002-2017 試験、3.2.1 項に記載）において、1000 mg/kg/日までの用量で忍容性が良好で有害所見が認められなかったこと、並びにマーモセットの TK データから、300 mg/kg/日から 1000 mg/kg/日に増量しても BH_4 濃度の上昇がほとんど又は全く認められなかったこと（曝露量の飽和）に基づいて設定した。したがって、この試験では最高用量を 300 mg/kg/日に設定した。

Table 15. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数			
				主試験		回復性試験	
				M	F	M	F
1	対照 [a]	0	0	4	4	2	2
2	Sepiapterin[b]	30	2	4	4	0	0
3	Sepiapterin[b]	100	6.67	4	4	0	0
4	Sepiapterin[b]	300	20	4	4	2	2

略語：API＝有効成分、F＝雌、M＝雄
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。
[b] Oral Mix 中 API／添加剤を 24.3／75.7%の割合で混合した製剤を投与した。

試験の評価項目は、瀕死／死亡率、ケージ外から一般状態観察、ハンドリングでの観察、体重、定性的摂餌量、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査及び血液生化学検査）、眼科学的検査、ECG 評価、器官重量、肉眼的観察及び病理組織学的検査などであった。血漿中薬物濃度測定及び TK 測定用の血液サンプルを採取した。

Sepiapterin 及び BH_4 の血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析の要約をそれぞれ Table 16 及び Table 17 に示す。

Table 16. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	30	1	M	2.0	40.6	184
			F	2.0	25.9	26.2
3	100	1	M	2.5	49.3	187
			F	4.0	51.3	174
4	300	1	M	2.0	77.7	325
			F	1.5	111	370
2	30	91	M	2.0	34.5	50.9
			F	1.5	14.7	5.10
3	100	91	M	2.0	77.4	156
			F	0.5	29.5	58.6
4	300	91	M	0.75	60.1	113
			F	1.0	26.2	75.2

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、F＝雌、M＝雄

Table 17. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 13 週間強制経口投与試験及びトキシコキネティクス並びに 28 日間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	30	1	M	1.5	623	5,374
			F	2.0	192	1,340
3	100	1	M	2.0	844	5,540
			F	2.0	728	4,753
4	300	1	M	1.0	1,029	6,763
			F	1.5	867	5,829
2	30	91	M	2.0	443	3,088
			F	1.5	313	2,077
3	100	91	M	2.0	2,457	7,611
			F	2.0	861	5,850
4	300	91	M	1.5	1,435	5,652
			F	2.0	1,345	8,970

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロビオプテリン、F＝雌、M＝雄

Sepiapterin を 30～300 mg/kg の用量で経口投与したとき、Day 1 及び Day 91 の sepiapterin 全身曝露量［C_{max} 及び 0 時間から最終定量可能測定時点又は最終試料採取時点までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}last}$）］は、雌雄ともに概ね用量比を下回って増加した。Day 1 から Day 91 までの蓄積量には雌雄で差があった。

Sepiapterin 投与後の代謝物 BH_4 の生成は速やかかつ広範であった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ として評価した代謝物 BH_4 の全身曝露量は用量の増加に伴って増加し、一部では用量比例性が認められたが、Day 1 及び Day 91 ではほとんどの場合に用量比を下回って増加した。雌では、Day 1～Day 91 に明らかに BH_4 の集積が認められたが、雄では明確な傾向は認められなかった。最低用量（30 mg/kg）

では、BH_4 の蓄積は雄では認められなかったが、高用量（100 mg/kg 及び 300 mg/kg）では、BH_4 濃度は Day 1 と比較して Day 91 でほぼ同じかより高値であった。

この試験では、sepiapterin に関連した死亡は認められなかった。第 1 群の対照群の雌 1 匹が Day 19 に死亡したことが確認され、第 3 群の 100 mg/kg/日の雄 1 匹及び雌 1 匹でそれぞれ Day 30 及び Day 85 に死亡が認められた。これらの動物の死因は衰弱消耗で、これは、マーモセットでよくみられる自然発症疾患で（Otovic 2015）、sepiapterin に関連したものではなかった。

Sepiapterin に関連した毒性の臨床徴候、並びに体重及び摂餌量に及ぼす影響は認められなかった。投与期間及び／又は回復期間の期間中及び終了時に眼及び心血管系に及ぼす sepiapterin に関連した影響は認められなかった。投与 13 週間後又は 4 週間回復期間後の剖検において、臨床病理学的パラメータ及び臓器重量に sepiapterin 関連の影響は認められず、sepiapterin に関連した肉眼的観察所見及び病理組織学的所見も認められなかった。

この試験では、sepiapterin に関連した毒性が認められなかったことから、NOAEL は 300 mg/kg/日であった。この用量での Day 91 における sepiapterin の C_{max} の平均値は、雄で 60.1 ng/mL、雌で 26.2 ng/mL、sepiapterin の血漿中 $AUC_{0\text{-}last}$ の平均値は、雄で 113 h•ng/mL、雌で 75.2 h•ng/mL であった。BH_4 の C_{max} の平均値は、雄で 1,435 ng/mL、雌で 1,345 ng/mL、BH_4 の血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値は雄で 5,652 h•ng/mL、雌で 8,970 h•ng/mL であった。

3.2.3 マーモセット 9 ヵ月間（強制）経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

PTC923-2020-004 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.7F）

この GLP 適合試験の目的は、マーモセットに sepiapterin を 9 ヶ月間以上連日経口投与したときの sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の毒性及び TK プロファイルを明らかにすること、並びに 4 週間の回復期間後に変化の可逆性を評価することであった。

Table 18 に示すように、1.0～6.9 歳齢のマーモセットの各群に sepiapterin を 39 週間強制経口投与した。この試験の用量は、マーモセット 13 週間反復投与毒性試験（CNSA-TOX-002-2018 試験、3.2.2 項に記載）で、検討した最高用量である 300 mg/kg/日で忍容性が良好であり、有害所見が認められなかったことに基づいて設定した。したがって、この試験では最高用量を 300 mg/kg/日に設定した。

Table 18. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 9 ヵ月間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数			
				主試験		回復性試験	
				M	F	M	F
1	対照 [a]	0	0	6	6[b]	2	2[c]
2	Sepiapterin	30	3	6	6	0	0
3	Sepiapterin	100	10	6[d]	6	0	0
4	Sepiapterin	300	30	6	6	2	2[e]

略語：F＝雌、M＝雄
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

[b] 主試験の第 1 群に雌 1 匹を追加し、死亡した動物と入れ替えた。この動物への投与は Day 1 に開始し、38 週間投与した。
[c] 試験開始後、回復群の第 1 群に雌 1 匹を追加した。この動物への投与は Day 1 に開始し、Day 251（Week 35）に切迫屠殺した。
[d] 主試験の第 3 群に雄 1 匹を追加し、死亡した動物と入れ替えた。この動物への投与は Day 1 に開始し、38 週間投与した。
[e] 回復群の第 4 群に雌 1 匹を追加し、傷害動物と入れ替えした。この動物への投与は Day 1 に開始し、38 週間投与した。

試験の評価項目は、瀕死／死亡率、ケージ外から一般状態観察、ハンドリングでの観察、体重及び体重変化、定性的摂餌量、臨床病理学的検査（血液学的検査及び血液生化学検査）、ECG 評価、並びに死亡又は切迫屠殺した動物の剖検所見であった。血漿中薬物濃度測定及び TK 測定用の血液サンプルを採取した。

Sepiapterin 及び BH_4 の血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析の要約をそれぞれ Table 19 及び Table 20 に示す。

Table 19. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 9 ヵ月間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	30	1	M	NC	NC	NC
			F	NC	NC	NC
3	100	1	M	0.5	42.3	140
			F	0.5	23.1	NC
4	300	1	M	1.5	77.7	415
			F	2.0	79.2	293
2	30	169	M	NC	NC	NC
			F	NC	NC	NC
3	100	169	M	12.5	33.0	NC
			F	1.5	12.3	NC
4	300	169	M	1.5	15.4	NC
			F	NC	NC	NC
2	30	273	M	NC	NC	NC
			F	NC	NC	NC
3	100	273	M	1.0	40.9	72.8
			F	NC	NC	NC
4	300	273	M	2.0	24.6	86.6
			F	2.0	25.9	NC

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、F＝雌、M＝雄、NC＝計算せず

Table 20. 雌雄マーモセットにおける sepiapterin の 9 ヵ月間強制経口投与試験及び 4 週間回復性試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	30	1	M	2.0	1,260	6,090
			F	2.0	998	6,300
3	100	1	M	2.0	2,560	12,700
			F	1.5	2,610	12,200
4	300	1	M	2.0	2,900	20,000
			F	2.0	3,150	21,500

群	用量（mg/kg/日）	Day	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	AUC_{0-24h}（h•ng/mL）
2	30	169	M	2.0	905	6,510
			F	2.0	675	4,470
3	100	169	M	2.0	1,940	9,940
			F	1.5	2,280	10,100
4	300	169	M	2.0	2,800	17,500
			F	4.0	3,120	17,800
2	30	273	M	2.0	1,100	6,480
			F	4.0	928	8,470
3	100	273	M	2.0	2,040	11,900
			F	1.0	1,580	7,980
4	300	273	M	2.0	3,430	24,200
			F	2.0	3,060	14,900

略語：AUC_{0-24h}＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、F＝雌、M＝雄

血漿中 sepiapterin 濃度は、限られた時点の一部の動物で測定可能であった。血漿中濃度が用量に伴って上昇した Day 1 を除き、全体的に sepiapterin の C_{max} に用量増加に伴う明確な傾向は認められなかった。Sepiapterin は速やかに吸収され、速やかに BH_4 に変換される。最高血漿中 sepiapterin 濃度には、投与後 2 時間以内に到達した。単回投与後（Day 1）及び反復投与後（Week 25 及び Week 39）後の BH_4 曝露量（C_{max} 及び AUC）は、30～300 mg/kg/日の用量で雌雄ともに概ね用量比を下回って増加した。Sepiapterin を 39 週間連日投与したときは、sepiapterin 及び BH_4 の蓄積性は認められず、全体的に性差もなかった。

試験期間中に、sepiapterin に関連した死亡は認められなかった。Table 21 に要約するように、試験中動物 12 匹が死亡するか又は切迫屠殺した。

対照群の雄 1 匹は、左後肢の開放骨折のために安楽死させた。計画剖検日（Day 274）に 100 mg/kg/日群の雌 1 匹の死亡が認められたが、原因は TK 分析用の血液採取による合併症だと考えられた。

他の死亡及び切迫屠殺の動物はいずれも、下痢を起こし、その結果体重が減少して死亡に至った。下痢とそれに伴う体重減少はマーモセットでよくみられ、消耗性マーモセット症候群（WMS）として知られる症状と関連していると考えられる（Ludlage and Mansfield 2003, Otovic 2015, Kramer 2019）。これらの動物の病理組織学的検査では、死因は不明、又は WMS でよく認められる敗血症、肺炎又は大腸の粘膜潰瘍によるものであった（Kramer 2019）。さらに、死亡率は、対照群と全 sepiapterin 投与群で同程度であったことから、sepiapterin に関連した死亡とは考えられなかった。

公表文献では、WMS はマーモセットに高頻度でみられる背景疾患の 1 つであることが示されている。消耗性マーモセット症候群は、この動物種に特有の疾患で、コモンマーモセットの管理における最も深刻な問題の 1 つである。WMS の主な症状は、体重減少、筋肉量の減少及び慢性的な下痢などであり、飼育下のマーモセットの死亡の 50%～80%に WMS が関与する（Yoshimoto 2016, Korte and Everitt 2019）。マーモセットでは計画外の死亡が起こる可能性があることを考慮して、この試験は十分な動物数を用いてデザインされた（Ludlage and Mansfield 2003）。

Table 21. マーモセット 9 ヵ月間強制経口投与及び 4 週間回復性試験における投与開始時及び 38／39 週間の投与期間終了時の動物数

用量（mg/kg/日）	投与開始時の雄動物数	投与期間終了時の雄動物数	計画外の死亡（試験日）	投与開始時の雌動物数	投与期間終了時の雌動物数	計画外の死亡（試験日）
対照	8	7	62	9	6	29, 51, 251
30	6	5	178	6	4	233, 273
100	7	6	27	6	4	264, 274
300	8	8	NA	9	7	32, 103

略語：NA＝該当せず

試験期間中、sepiapterin に関連した臨床徴候は認められなかった。また、体重、摂餌量及び臨床病理学的パラメータに及ぼす影響も認められなかった。この試験中又は終了時に、眼毒性又は心血管毒性の所見は認められなかった。臓器重量、剖検及び病理組織学的検査において、sepiapterin 関連した影響は認められなかった。

この試験では、sepiapterin に関連した毒性が認められなかったことから、NOAEL は 300 mg/kg/日であった。この用量で Week 39 における sepiapterin の C_{max} の平均値は、雄で 24.6 ng/mL、雌で 25.9 ng/mL であった。未変化体の血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ 平均値は、雄で 86.6 h•ng/mL であったが、雌では算出できなかった。Week 39 の BH_4 の C_{max} の平均値は、雄及び雌でそれぞれ 3,430 ng/mL 及び 3060 ng/mL、血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値は、雄及び雌でそれぞれ 24,200 h•ng/mL 及び 14,900 h•ng/mL であった。

4. 遺伝毒性試験

4.1 In vitro 遺伝毒性試験

4.1.1 Sepiapterin の細菌を用いる復帰突然変異試験

CNSA-TOX-003-2017 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.8A）

ネズミチフス菌（*S. typhimurium*）TA1535、TA1537、TA98、TA100 及び TA102 の 5 つの菌株を用いる復帰突然変異試験では、Aroclor 1254 で誘発したラット肝臓のポストミトコンドリア画分（S9 画分）から調製した代謝活性化系（S9）の存在下及び非存在下で sepiapterin を試験した。

試験はプレート法を用いて 2 段階で実施した。

- 予備毒性試験（第 1 段階） – 変異原性試験の用量範囲の設定に使用
- 変異原性試験（第 2 段階） – sepiapterin の変異原性能の評価に使用

予備的試験及び変異原性試験では、ジメチルスルホキシド（DMSO）を用いて 100 mg/mL の濃度で sepiapterin 標準溶液を調製した。

予備毒性試験では、TA98 株、TA100 株及び TA102 株を用いて代謝活性化系 S9 存在下及び非存在下で、10、100、500、1,000、2,500 及び 5,000 µg/プレートで sepiapterin を試験した。復帰変異コロニー数の減少及び／又は細菌叢の菲薄化に基づき、毒性を評価した。

いずれの用量でも、復帰変異体の採点のときにペトリ皿に沈殿物は認められなかった。S9 mix の有無にかかわらずいずれの用量でも、使用した 3 つの菌株に対する顕著な毒性（復帰突然変異体数の減少又は細菌叢の菲薄化）は認められなかった。予備試験で被験物質は溶けやすく毒性を示さなかったことから、主実験の最高用量は 5,000 µg/プレートとした。

主変異原性試験では、プレート法により 5 つの菌株、TA1535、TA1537、TA98、TA100 及び TA102 を用いて S9 ミックスの存在及び非存在下で、312.5、625、1,250、2,500 及び 5,000 µg/プレートで sepiapterin を試験した。溶媒及び陽性対照の平均復帰突然変異体数は判定基準を満たし、各菌株及び試験条件につき 5 段階の分析可能な用量があった。試験を有効とするすべての判定基準に適合した。

ネズミチフス菌株を用いた復帰突然変異試験では、ラット肝代謝活性化系の存在下及び非存在下のいずれにおいても、本試験の実験条件下で、sepiapterin は変異原性を示さなかった。

4.1.2 培養ヒトリンパ球を用いた in vitro ほ乳類染色体異常試験

CNSA-TOX-004-2017 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.8B）

Sepiapterin の染色体異常誘発能を、Aroclor™ 誘発ラット肝（S9）から調製したミクロソーム酵素の存在下及び非存在下で培養ヒトリンパ球を用いて評価した。

予備試験と確認試験の 2 つの試験を実施した。予備毒性試験の用量は、名目濃度 47.44 mg/mL の標準溶液を用いて、S9 mix 存在下及び非存在下とも 0.0016、0.0041、0.01、0.026、0.064、0.16、0.4

及び 1 mM に設定した。S9 mix 非存在下で 3 時間及び 20 時間処理したときは、分裂指数（MI）の顕著な減少が認められなかったことから示されるように、検討したいずれの用量においても細胞毒性は認められなかった。S9 mix 存在下で 3 時間処理したときは、0.0041 mM から軽微～顕著な MI の減少が認められたが、用量反応関係の明確な証拠は認められなかった（MI が最大 66%減少）。0.4 mM 以上の用量での MI の減少は、確実に細胞毒性に関連したものと考えられた（MI が 44%～66%減少）。予備試験で被験物質は溶けやすく、重度の細胞毒性を示さないことが明らかになったことから、主実験の最高用量は 1 mM に設定した。

確認試験の用量は、3 時間及び 20 時間処理で、S9 mix 非存在下では 0.031、0.063、0.125、0.25、0.5 及び 1 mM とし、S9 mix 存在下では、0.031、0.063、0.125、0.25、0.5、0.75 及び 1 mM とした。処理期間の開始時又は終了時のいずれにおいても、すべての用量で培養培地中に沈殿は認められなかった。S9 mix 非存在下で 3 時間及び 20 時間処理したときは、MI の顕著な減少が認められなかったことから示されるように、検討したいずれの用量においても細胞毒性は認められなかった。したがって、分裂中期の分析に設定した用量は、3 時間及び 20 時間処理ともに 0.25、0.5 及び 1 mM であった。

3 時間処理では、0.5 mM 及び 1 mM で染色体構造異常を有する細胞の頻度がわずかに増加した。これらの用量での発現頻度（それぞれ 4.3%及び 3.3%）は、溶媒対照の背景データの範囲（0.0%～2.0%）をわずかに上回り、溶媒対照と比較して統計的有意性が認められた（$p<0.05$）。用量反応関係が認められなかったため、これらの結果は陽性反応及び陰性反応のどちらの基準も満たしておらず、結果は「不確か」と判断された。

20 時間処理では、染色体構造異常を有する細胞の発現頻度に用量に比例した上昇が認められた。0.25、0.5 及び 1 mM の発現頻度（それぞれ、5.3%、22.0%及び 35.0%）は、溶媒対照の背景データの範囲（0.0%～3.5%）を上回った（溶媒と比較して 0.5 mM 及び 1 mM で $p<0.001$）。これらの結果は陽性反応の基準を満たした。

S9 mix 存在下では、0.063、0.125、0.5 及び 1 mM の用量で MI がわずかに減少したが、用量反応関係の明確な証拠は認められなかった（MI が 25%～37%減少）。細胞毒性の一貫した証拠が認められなかったため、分裂中期の解析では、用量を 0.25、0.5 及び 1 mM に設定した。1 mM では、染色体の構造異常を有する細胞の発現頻度（3.0%）が溶媒対照（2.7%）及び溶媒対照の背景データの範囲（0.0%～2.5%）をわずかに上回った。

ただし、溶媒対照も溶媒対照の背景データの範囲をわずかに上回っていた。溶媒対照と比較して統計的有意差が認められず、用量反応関係も認められなかったことから、この MI の軽微な増加に生物学的意義はないと考えられた。染色体構造異常を有する細胞の出現頻度にその他の増加は認められなかった。以上の結果は、陰性反応の判定基準を満たすと判断された。

結論として、本試験の実験条件下で sepiapterin は、ラット肝 S9 の存在下で培養ヒトリンパ球に染色体異常を誘発しなかった。代謝活性化系の非存在下では、sepiapterin の 20 時間の連続処理後に染色体構造異常が誘発された。一方、短時間（3 時間）の処理後の結論は「不確か（equivocal）」であった。

4.2 In vivo 遺伝毒性モデル

染色体異常試験で in vitro シグナルが認められたため（4.1.2 項）、ICH S2(R1)の勧告に従い（ICH 2012）、ラットを用いて 2 種類の in vivo ほ乳類毒性評価（MN 試験及びコメット試験）を実施した。

4.2.1 Sepiapterin を投与した雄 Sprague Dawley ラットにおける小核及び DNA 損傷誘発性の評価

CNSA-TOX-005-2017 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.9）

この GLP 適合試験の目的は、雄ラットにおいて小核形成及び DNA 損傷（コメット試験）の 2 種類の遺伝毒性評価を実施することであった。

雄 Harlan Sprague Dawley ラットを 6 つの指定用量群の 1 つに割り付けた。動物には、sepiapterin の 4 段階用量のうちの 1 用量、溶媒対照（Oral Mix）又はメタンスルホン酸エチル（EMS）を連続 3 日間連日強制経口投与した（Table 22）。

Table 22. Sepiapterin を強制経口投与した雄 Sprague Dawley ラットにおける小核及び DNA 損傷誘発性を評価する試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	動物数	性別
1	溶媒（陰性対照）[a]	0	5	M
2	Sepiapterin	100	5	M
3	Sepiapterin	300	5	M
4	Sepiapterin	1,000	5	M
5	Sepiapterin	2,000	5	M
6	EMS（陽性対照）	150	5	M

略語：EMS＝メタンスルホン酸エチル、M＝雄
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

最終投与後約 3 時間（±30 分）に動物を安楽死させた。小核の発現頻度を評価するために血液を採取し、コメット試験により DNA 損傷を評価するために肝臓を採取した。全動物が最終剖検まで生存した。溶媒対照群と比較して、sepiapterin 投与群の動物に毒性の臨床徴候並びに体重及び体重増加量の意義のある変化は認められなかった。

最終投与後約 3 時間にラットから血液を 1 回採取し、sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の血漿中全身曝露を確認した（Table 23）。

Table 23. Sepiapterin を強制経口投与した雄 Sprague Dawley ラットにおける小核及び DNA 損傷誘発性を評価する試験における sepiapterin 及び BH_4 の血漿中濃度の平均値

群	投与	用量（mg/kg/日）	平均 sepiapterin 濃度（ng/mL）	平均 BH_4 濃度（ng/mL）
1	溶媒（陰性対照）[a]	0	LLOQ	94.5
2	Sepiapterin	100	LLOQ	3,892
3	Sepiapterin	300	13.4	7,440
4	Sepiapterin	1,000	29.6	23,280
5	Sepiapterin	2,000	23.9	12,072
6	EMS（陽性対照）	150	LLOQ	79.1

略語：BH_4＝テトラヒドロビオプテリン、EMS＝メタンスルホン酸エチル、LLOQ＝定量下限
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

MN 試験では、いずれの用量でも sepiapterin 投与群の雄ラットにおいて小核を有する多染性赤血球（MN-PCE）の発現頻度の増加は認められず、用量反応性も認められなかった。多染性赤血球（PCE）の発現頻度に対する影響が認められなかったことから、骨髄細胞毒性はないことが示された。陽性対照物質 EMS の投与により、MN-PCE の誘導並びに PCE 発現頻度の意義のある減少が認められた。

DNA 損傷誘発性を評価するコメット試験で唯一認められた変化は、sepiapterin の 1,000 mg/kg/日（中用量）群のラットの肝臓における%tail DNA で測定した DNA 損傷陽性細胞が溶媒対照群と比較してわずかではあるが統計的有意に増加したことであった。この影響に用量依存性はなく、すべての群で%tail DNA は、陰性対照データの範囲内（過去の陰性対照の平均値未満）に十分収まっていたため、この結果は生物学的に意味のあるものではないと判断された。陽性対照物質 EMS の投与により、肝臓の%tail DNA が統計学的に有意に増加したが、これは陽性対照の背景データの範囲内であった。

S2(R1)（ICH 2012）の記載のとおり、2 種類の適切な in vivo 試験（CNSA-TOX-005-2017 試験）で、sepiapterin 及び代謝物 BH_4 の曝露が得られた上で、陰性の結果が示されたことは、重要な遺伝毒性リスクがないことを証明するのに十分であったと判断する。

5. がん原性

5.1 がん原性試験

5.1.1 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスにおける sepiapterin の 26 週間経口投与がん原性試験

試験 PTC923-2023-070（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.10）

本 GLP 準拠試験の目的は、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合体マウスに 26 週間以上強制経口投与したときの sepiapterin の潜在的発がん性を明らかにすること、及び TK 相では、CByB6F1/J 野生型雑種非トランスジェニックマウスを用いて sepiapterin 及び BH_4 の TK 特性を明らかにすることであった。

Table 24 に概要を示すように、マウス（6～10 週齢）の各群に、sepiapterin、溶媒対照（Oral Mix）、水対照（逆浸透脱イオン水）又は陽性対照（ウレタン）を 26 週間投与した。この 26 週間がん原性試験で使用されたマウスの系統、試験デザイン及び用量は、FDA と協議し、がん原性評価委員会の同意を得た上で、野生型 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスを用いた sepiapterin の 5 日間／28 日間反復投与試験（3.1.1.1 項）で、sepiapterin を 300、1000 及び 4000 mg/kg/日の用量で 28 日間投与したときに忍容性が確認という結果に基づいて決定した。Day 1 及び Day 28 ともに sepiapterin の用量増加に伴う sepiapterin 及び BH_4 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 値の増加はほとんど又はまったく認められなかった。ただし、雄マウスでは、1000 mg/kg/日以上の用量で体重増加量の減少が見られたため、300 mg/kg/日を高用量として選択した。したがって、本試験の最高用量は、雄マウスでは 300 mg/kg/日、雌マウスでは 1000 mg/kg/日となった。

陽性対照であるウレタンは、トランスジェニックマウスの安定性及びこのトランスジェニックマウスモデルのがん原性検出感度を確認するために使用した。腹腔内曝露経路及びウレタンの用量 500 mg/kg/日用量は、この陽性対照物質の標準的な使用法に基づいて選択した。

Table 24. CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合体マウスにおける 26 週間がん原性試験

群	投与 [a]	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	使用マウス数			
				Carc 試験 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic tra トランスジェニック		TK 試験 CByB6F1/J 野生型、雑種非トランスジェニック	
				M	F	M	F
1	溶媒対照 Oral Mix	0	0	25	25	4	4
2	水対照	0	0	25	25	4	4
3	Sepiapterin	30	3	25	NA	18	NA
4	Sepiapterin	100	10	25	25	18	18
5	Sepiapterin	300	30	25	25	18	18
6	Sepiapterin	1000	100	NA	25	NA	18
7[b]	ウレタン（陽性対照）	500	50	10	10	NA	NA

略語：Carc＝がん原性、F＝雌、M＝雄、NA＝該当せず、TK＝トキシコキネティクス
[a] 注記がある場合を除き、強制経口投与。

[b] 1 日 1 回 3 日間腹腔内注射

試験の評価項目は、生死、一般状態、体重及び体重変化量、剖検、病理組織学的検査、並びに生存率及び腫瘍発生率の統計解析などであった。血漿中薬物濃度測定及び TK 評価のために血液サンプルを採取した。

投与製剤のサンプルはすべて、プロトコールで規定された濃度及び均一性の合格基準を満たした。

Sepiapterin 及び補正前 BH4 の血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析の要約をそれぞれ、Table 25 及び Table 26 に示す。

Table 25. 雌雄 CByB6F1/J 野生型雑種非トランスジェニックマウスにおける 26 週間強制経口投与がん原試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	試験日	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	AUC_{0-24h}（h•ng/mL）
3	30	180	M	NC	NC	NC
4	100	180	M	1.0	23.2	85.1
			F	1.0	132	448
5	300	180	M	1.0	31.4	127
			F	3.0	264	1,140
6	1000	180	F	3.0	173	1,330

略語：AUC_{0-24h}＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、F＝雌、M＝雄、NC＝該当せず

Table 26. 雌雄 CByB6F1/J 野生型雑種非トランスジェニックマウスにおける 26 週間強制経口投与がん原性試験における BH_4（未補正）のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	試験日	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	AUC_{0-24h}（h•ng/mL）
3	30	180	M	1.0	1,130	5.670
4	100	180	M	3.0	2,530	14.500
			F	3.0	2,910	13,700
5	300	180	M	3.0	5,180	34,500
			F	3.0	4,820	29,600
6	1000	180	F	3.0	6,340	46,900

略語：AUC_{0-24h}＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、F＝雌、M＝雄
注：BH_4 補正データのトキシコキネティクスパラメータはモジュール 2.6.7、表 2.6.7.3 及び表 2.6.7.10 に示す。

Sepiapterin の全身曝露量は性別に依存しており、100 及び 300 mg/kg では一貫して雌のほうが高値であった。雄では、sepiapterin の C_{max} 及び AUC_{0-24h} 値は、100 から 300 mg/kg への用量増加に伴い用量比を下回って増加した。雌では、Day 180 の sepiapterin の C_{max} 及び AUC_{0-24h} 値は、100～300 mg/kg 及び 300 から 1000 mg/kg の用量増加に伴い用量比を下回って増加した。30 mg/kg 群の雄では sepiapterin の血漿中濃度が定量限界未満（BQL）であったため、TK プロファイルは算出できなかった。

BH_4（ベースライン補正又は未補正）の全身曝露量は、100 及び 300 mg/kg では性別に依存しなかった。雄では、Day 180 の BH_4（ベースライン補正又は未補正）の C_{max} 値は、30 から 100 mg/kg 及び 100 から 300 mg/kg への用量増加に伴い用量比を下回って増加した。一方、AUC_{0-24h} は、30 から

100 mg/kg 及び 100 から 300 mg/kg への用量加に伴いほぼ用量比例的に増加した。雌では、Day 180 の BH_4（ベースライン補正値又は未補正）の C_{max} 値は、30 から 100 mg/kg 及び 100 から 300 mg/kg への用量増加に伴い用量比を下回って増加した。一方、$AUC_{0\text{-}24h}$ は、30 から 100 mg/kg への用量増加に伴いほぼ用量比例的に増加し、300 から 1000 mg/kg の用量増加に伴い用量を下回って増加した。Day 180 の BH_4（未補正）の全身曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 値）は、雄マウスでは sepiapterin 全身曝露量の最大 272 倍、雌マウスでは sepiapterin 全身曝露量の最大 36.6 倍であった。Day 180 のベースライン補正後の BH_4 全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$ 値）は、雄マウスでは sepiapterin 全身曝露量の最大 262 倍、雌マウスでは最大 36.3 倍であった。

Sepiapterin 投与は生存に影響を及ぼさず、sepiapterin に関連した一般状態は、雄雌ともに 100 mg/kg/日以上の用量で観察されたケージ内の乾燥した黄色物質の所見に限られ、これは排泄物中に sepiapterin 及び／又はその代謝物が存在することを反映している。

Sepiapterin に関連した体重増加量及び体重に対する影響は、Day -1～Day 183 の期間に sepiapterin 投与群の雌における悪影響でない用量依存的な総体重増加量の増加に限られ、その結果、終了時の平均体重がわずかに高値となった（溶媒対照と比較して最大 9.3%増加）。ウレタン投与群の Day -1～Day 92 の平均体重増加量は、対照群及び全ての sepiapterin 投与群よりも大きく、Day 92 ではこの陽性対照群でより高値の体重が多く認められた。

Sepiapterin に関連した剖検所見並びに顕微鏡検査で腫瘍性所見及び非腫瘍性所見は認められなかった。ウレタン投与陽性対照マウスでは、顕微鏡検査で予想された腫瘍性変化が認められ、肺腫瘍（主に気管支肺胞腺腫）発生率は雌雄とも 100%で、脾臓血管肉腫発生率は雄で 80%及び雌で 50%であった。

溶媒対照群及び水対照群と比較して、早期死亡については雌雄ともに統計的に有意な増加は認められなかった。

腫瘍発生率に統計的に有意な増加傾向は認められなかった。

CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合体雄マウスに sepiapterin を 30、100 又は 300 mg/kg/日の用量で又は CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合体雌マウスに 100、300 又は 1000 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回約 26 週間強制経口投与したときは、いずれの用量でも忍容性は良好で、生存に影響はなく、がん原性作用も認められなかった。Sepiapterin 投与群のマウスで、非腫瘍性の病理組織学的所見も認められなかった。

5.1.2 ラット 2 年間がん原性試験

ラット 2 年間がん原性試験は、医薬品医療機器総合機構（PMDA）との合意（20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日機構相談）に基づき、日本での新薬承認申請後に提出する。発がん性に関する WOE は 5.2 項に記載されている。

Sepiapterin による発がんリスクの WOE 評価では、発がんリスクは極めて低いと結論付けられており、トランスジェニックマウスにおける 26 週間がん原性試験の結果（5.1.1 項）によって WOE の結論（5.2 項）が確認された。

5.2 証拠の重み付け

5.2.1 重み付けの評価：sepiapterin による発がんリスクの要約

包括的な WOE 評価から、以下の知見に基づき、sepiapterin の発がんリスクは極めて低いと結論づけた。

- Sepiapterin 及び BH_4 は天然に存在する内因性補因子である。
- 非臨床及び臨床データから、sepiapterin を経口投与したときは、sepiapterin は速やかに BH_4 に変換されるために、sepiapterin 全身曝露量は極めて少ないことが示されている。
- 文献では、sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の作用機序及び細胞経路、並びに合成 BH_4（サプロプテリン）について実施されたがん原性試験に基づき、BH_4 ががん原性を示さないことが十分に確立されている。
- サプロプテリンの長期臨床使用による発がんリスクは報告されていない。
- 細菌を用いた in vitro 復帰突然変異試験、肝代謝活性化系存在下でほ乳類細胞を用いた in vitro 染色体異常試験、並びに in vivo 小核試験及びコメット試験を含む一連の遺伝毒性試験の結果に基づくと、sepiapterin は遺伝毒性を示さない。
- トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験では、sepiapterin を CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合体雄マウスに 30、100 又は 300 mg/kg/日の用量で、又は CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic ヘミ接合体雌マウスに 100、300 又は 1000 mg/kg/日の用量で経口投与した（1 日 1 回）。Sepiapterin 投与マウスに非腫瘍性の病理組織学的所見も認められなかった。
- Sepiapterin の慢性毒性試験（ラット 6 ヵ月間及びマーモセット 9 ヵ月間試験）において、オンターゲット及びオフターゲットの発がん性の懸念を示唆する sepiapterin に関連した前腫瘍性変化は認められなかった。
- Sepiapterin の反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験では、内分泌及び生殖器の異常（かく乱）並びに免疫調節作用は認められなかった。Sepiapterin にオフターゲット毒性は認められなかった。
- Sepiapterin の終了及び現在実施中の臨床試験において、安全性上の懸念は報告されていない。

5.2.2 重み付けの評価：詳細な裏付け

5.2.2.1 医療上のニーズが満たされていない重篤な疾患について考慮すべき事項

Sepiapterin の予定する適応症は、小児及び成人におけるフェニルケトン尿症（PKU）の治療である。PKU は重篤な遺伝性疾患であり、無治療のまま放置すると重度の不可逆的な神経学的機能障害および知的障害を引き起こす。PKU 患者では、治療開始が 4 週間遅れるごとに IQ が約 4 ポイント低下する。これは、血中 Phe 濃度上昇による神経学的損傷が生後すぐに始まることを明確に示す（Smith 1990）。さらに、早期に治療を受けた患者では、重要な期間（0～12 歳）の平均生涯 Phe 濃度と IQ との間に有意な相関が認められ（r=0.34; 95%CI、-0.42～-0.25）、Phe が 100 µmol/L 増加するごとに IQ が 1.9～4.1 ポイント低下すると予測されている（Waisbren 2007）。

現在までに、血中 Phe 濃度の低下に基づき、PKU 治療薬としてサプロプテリン（日本ではビオプテン顆粒、日本以外では Kuvan）及びペグバリアーゼ（パリンジック皮下注）の 2 剤が承認されてるが、PKU 患者には依然として重大な制限が存在する。

- サプロプテリンには、奏効率が低い（血中 Phe 濃度低下率 30%以上が被験者の約 20%～30%）（Burton 2007, Levy 2007b）、cPKU 患者では有効性がほとんど又は全く認められない、Phe 耐性及び患者の食事制限緩和能を裏付けるデータが限られるといった限界がある。
- ペグバリアーゼには、第一選択薬でなく、小児患者は適応外という限界がある。さらに、ペグバリアーゼは注射薬であり、長期の用量漸増期間に加えてその有用性を制限する安全性及び忍容性上の重要な配慮を必要とする。

PKU 患者において、Phe 制限食遵守は困難であり、血中 Phe 値の管理が不十分となる。Phe 制限食及び 2 種類の既承認薬にもかかわらず、PKU 患者の約 2/3 は、日本における推奨ガイドラインの範囲内への持続的血中 Phe 濃度低下を達成しない（Jurecki 2017、新生児マススクリーニング対象疾患等診療ガイドライン 2019）。したがって、広範な PKU 集団において安全かつ有効で、血中 Phe 濃度を至適範囲内にコントロールしながら意味のある食事制限緩和を可能にする新薬へのニーズが依然として存在する。

Sepiapterin は、変異型フェニルアラニン水酸化酵素（PAH）タンパクの薬理学的シャペロンとして作用すると同時に、PAH の必須補因子である BH4 の細胞内濃度を上昇させるという二重の作用機序を有するため、既存の治療薬を上回るベネフィットが得られる。重要なこととして、sepiapterin は BH4 投与無効バリアントにおいて PAH 活性を回復させる。これは、PAH への sepiapterin の結合部位が BH4 の結合部位と異なることを反映している可能性が高い（Gersting 2023、Barroso 2024）。Sepiapterin の臨床試験において、BH4 投与無効 PAH バリアントを有する複数の被験者で、sepiapterin が反応するという結果がこのことを裏付ける（PTC923-MD-003-PKU 試験、CTD2.5、Table 2）。さらに、サプロプテリンと比較したとき、重要な組織における BH4 曝露量は、sepiapterin を投与したときの方が大きかった（16H0208S-X01/6016-2880 試験; Module 2.6.4, Section 3.1.1）。これは、腸管からの吸収、in vivo での安定性、細胞膜を介した輸送、酸化に対する感受性

及び血液脳関門の通過性が改善されたことによる（Sawabe 2004、Sawabe 2005、Ohashi 2011）。全体として、sepiapterin は、古典的 PKU 患者を含む他の薬物療法では効果が認められない PKU 患者の血中 Phe を効果的に減少させる。

以上のことから、重篤な消耗性疾患の治療に関する ICH S1B（R1）ガイドライン（医薬審発 0310 第 1 号）に従い、sepiapterin の早期入手を促進し、重大なアンメットメディカルニーズ抱える患者に治療上の有益性をもたらすために、ラットを用いた 2 年間のがん原性試験試験は製造販売承認取得後に実施することとした。

5.2.2.2 標的分子の生物学的特性

作用機序

外因性 sepiapterin は、BH_4 の天然前駆体である内因性 sepiapterin と構造的かつ生物学的に同一の新規化学物質である。Sepiapterin の作用機序をモジュール 2.6.2 に記述する。

作用機序に基づくと、生涯にわたり sepiapterin に曝露されても発がん性の危険性を示唆する兆候はみられない。

5.2.2.3 サプロプテリンの潜在的クラスエフェクト評価及び長期臨床使用

5.2.2.3.1 Sepiapterin 全身曝露量

Sepiapterin は細胞内に速やかに取り込まれ、サルベージ経路を介して速やかに BH_4 に代謝される（Sawabe 2008）。これまでに得られた非臨床及び臨床データから、合成 sepiapterin の経口投与後は、内因性 sepiapterin で起こる変換と同様に、速やかに BH_4 に変換されることが確認されており、したがって、sepiapterin 全身曝露はほとんどない。

5.2.2.3.2 潜在的クラスエフェクト

Sepiapterin は代謝物 BH_4 に速やかに変換されること、及び sepiapterin 全身曝露は極めて少ないことから、BH_4 の発がん性を評価する方が適切である。

BH_4 に発がん性がないことは十分に確立されている（Friedrich and Olejniczak 2011, Joppi 2013）。さらに、sepiapterin は in vivo で速やかに BH_4 に変換されるために、サプロプテリン二塩酸塩で実施されているがん原性試験（ラット 104 週間及びマウス 78 週間試験）は、関連付けられる（KUVAN USPI 2021）。

Greim らは、動物実験で褐色細胞腫を誘発する物質がヒトで同様の腫瘍を誘発するという兆候はないと結論づけた（Greim 2009）。

サプロプテリンの 2 年間ラットがん原性試験における NOAEL は 250 mg/kg/日であったが、BH4 曝露量は sepiapterin を投与した PKU 患者で認められた BH4 曝露量を上回っており、このことが sepiapterin の発がん性に関する WOE 評価の要因であると考えられている。

5.2.2.3.3 サプロプテリンの長期臨床使用

サプロプテリンが奏効する日本人 PKU 患者 85 例にサプロプテリンを 0.2～17.4 年間投与した市販後調査研究では、患者の 50.6%が 4 歳未満で投与を開始したが、がん関連の有害事象の兆候は認められなかった（Tamura 2022）。

さらに、長期サプロプテリンレジストリ［PKU Demographics, Outcomes and Safety（PKUDOS）registry］で収集されたデータを調査し、7 年間のサプロプテリン曝露に関する安全性データを提示した研究では、がん関連の有害事象／副作用の兆候がないことが示された（Longo 2015）。

5.2.2.4 遺伝毒性

4 項に記載したように、ICH 業界向けガイダンス S2(R1)「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス」（ICH 2012）の基準に基づくと、遺伝毒性の可能性を示す証拠はない。

5.2.2.5 慢性毒性試験から得られた病理組織学的データ

ラット及びマーモセットの慢性毒性試験（それぞれ 3.1.2.4 項及び 3.2.3 項に概要を示す）において、オンターゲット又はオフターゲットの発がん性の懸念を示唆する sepiapterin に関連した前腫瘍性変化は認められなかった。

ラット 6 ヵ月間投与試験のがん原性評価で認められたいくつかの注目すべき変化については、以下に述べるように、さらに評価を行った。

5.2.2.5.1 腎臓

ラット 6 ヵ月間慢性毒性試験では、100 mg/kg/日以上の用量で、腎集合管に結晶沈着を伴う腎尿細管の変性・再生が認められた。

結晶尿は実験動物及びヒトで発生するが、ときに二次性腎症を伴うことがある（Perazella and Herlitz 2021）。高濃度のイオン及び分子が尿管を移動することにより基質過飽和及び結晶核形成の可能性が高まり、そのために腎内で結晶沈着が起きる。固有の特性により、結晶は腎外で析出し、腎内に沈着する。結晶尿が生じる曝露量は、ヒトにおける結晶尿及び結晶尿の後遺症のリスクを検討するのに不可欠である。

ラット 6 ヵ月間投与試験で、100 mg/kg/日以上の用量で腎集合管に結晶沈着を伴う尿細管変性・再生がみられた。このときの BH_4 の平均曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$、雌雄併合）はそれぞれ、1,725 ng/mL 及び 11,795 h•ng/mL で、最大推奨臨床用量（MRHD）での C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ のそれぞれ、約 5 倍及び約 4 倍に相当する。

ラットでみられた腎臓の所見は、用量及び曝露量に比例しており、30 mg/kg/日の低用量では認められなかった。このときの BH_4 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$（雌雄併合）は、それぞれ 810.5 ng/mL 及び 4,620 h•ng/mL であり、安全域は C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ で MRHD のそれぞれ約 2.4 倍及び約 2 倍であった。マーモセットの 9 ヵ月間投与試験では 300 mg/kg/日までの用量で腎臓の所見は認められず、安全域は C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ で MRHD のそれぞれ、約 9.5 倍及び約 6 倍であった。

ラットでみられた腎臓の所見は、尿細管の変性・再生領域を特徴とした。これは、細胞傷害及びその後の修復を示す所見である。変性尿細管には、脱落上皮細胞及び炎症細胞からなる細胞円柱がときに認められた。腎臓のその他の変化としては、軽微～中等度の間質性炎症、線維症及び尿細管拡張で、これらは主に尿細管変性・再生領域で認められた。重要なことは、遠位乳頭集合管内に軽微～軽度の尿細管上皮細胞過形成（単純性過形成）を伴う尿細管結晶の沈着が認められたことである。

観察された変化に基づき、この尿細管過形成は、投与に関連した腎臓内の炎症及び結晶の存在に対する二次的反応・適応反応だと判断された。結晶がもはや存在しない回復動物では、乳頭管過形成病変が認められなかったことから、この所見は反応性・適応性であることが裏付けられた。重要なことは、この種の単純性尿細管過形成は、結晶が無くなれば、完全に可逆的となり正常な形態となることで、前腫瘍性変化ではないと考えられている（Frazier 2012, Seely 2017, Frazier and Seely 2019）。腎臓の病理専門家は、尿細管過形成は単純性で前腫瘍性ではないと結論づけた（PTC923-2020-003「病理専門家の報告書」）。

毒性病理学会の INHAND の泌尿器系に関する文書及びラットを用いた非臨床安全性評価試験の米国国家毒性プログラム（National Toxicology Program）では、2 種類の尿細管過形成が認められている（Frazier 2012, Seely and Brix 2014）。そのうち、尿細管過形成（単純性）は非前腫瘍性とみなされ、もう一方の異型過形成（ATH）は腎尿細管細胞腫瘍の推定前腫瘍性病変である（Frazier 2012, Seely 2018, Frazier and Seely 2019）。単純性尿細管過形成は、一般に増殖した尿細管細胞の単層として観察される。単純性尿細管過形成は通常、化合物誘発性尿細管変性に関連する反応、又は細胞傷害領域における再生性・反応性過形成として認められ、腎臓の尿細管ネフロン系全体にみられることがある。それに対し ATH は、「近位尿細管細胞」の複雑な多細胞性で限局性の尿細管病変から成り、特徴的なわずかに好塩基性に染まる細胞を伴って増殖する。厳密な基準では、ATH は線維血管要素によって浸潤されて、その結果生じた尿細管病変は、形態学的に連続体上の腎細胞腺腫となり、腎細胞癌に至る可能性がある（Frazier 2012）。ATH 及び腎腫瘍（腺腫）は、主に皮質又は髄質外層の外帯に発生する。がん原性試験を含む様々な時点で実施した直接の試験経験及び／又は数百件ものラット試験のレビューでは、乳頭集合管又は集合細管の部位を含む遠位ネフロンではこれまでに ATH 及び腎尿細管細胞腫瘍が認められたことはない（Seely 2023）。

このラット試験での尿細管過形成は、上述のとおり、遠位乳頭ネフロンにおける結晶沈着に対する反応として出現する単純性だと考えられた。この試験では、sepiapterin の 6 ヵ月間連日投与後に ATH 及び尿細管細胞腫瘍は認められなかった。

ラット 6 ヵ月間試験では、腎臓の病理組織学的変化に加えて、臨床病理学的変化も認められた。200 mg/kg/日群の雄（15 匹中 4 匹）で認められた sepiapterin に関連した血液生化学検査値の変化には、血清尿素高値（対照群平均値の 1.7～2.6 倍）及び血清クレアチニン高値（対照群平均値の 1.6～2.2 倍）があった。回復期間終了時には、血清尿素及び血清クレアチニンを含むすべての血液生化学的パラメータが対照群と同等の値に戻っていた。

腎臓の解剖学的構造に違いがあるため（ヒトは多乳頭、げっ歯類は単乳頭）、様々な腎毒素に対する反応には、動物種間及び性別間でも顕著な差が認められることが多い。化学物質又はその代謝物は、ヘンレ係蹄及び遠位ネフロンで濃縮されるため、尿細管内腔で結晶化することがある。ラットの系統によって尿路結石の生じ易さが異なり、これが薬剤誘発性結晶形成のし易さに反映される可能性がある（Tannehill-Gregg 2009）。尿中タンパク質濃度、イオン濃度（カルシウム、マグネシウム、リン酸塩）及び pH などの尿の特性も結晶形成に影響する可能性がある。げっ歯類はヒトよりも尿中のタンパク質濃度がはるかに高く、このタンパク質が尿ろ液中の原薬の溶解性に影響を及ぼすだけでなく、結晶形成の核として作用する可能性がある。ラット及びマウスの尿の浸透圧は 1500～2650 mOsmol/kg H_2O であるが、ヒトの浸透圧は通常 650 mOsmol/kg H_2O である（Yang and Bankir 2005）。げっ歯類とヒトの腎臓の生理及び病理の違いを考慮すると、ラット 26 週間試験で認められた腎所見の意義は不明である。

Sepiapterin のすべての臨床試験で、クレアチニン、血中尿素窒素（BUN）、推定糸球体濾過率（eGFR）及び尿検査など、腎病変を示唆する臨床検査パラメータについて被験者を定期的に評価した。現時点までに、sepiapterin のいずれの臨床試験でも、腎臓の病態を示唆する臨床的に意義のある臨床検査値の変化は認められていない。

さらに、sepiapterin の臨床開発プログラム全体（2024 年 6 月 30 日のデータカット時点）で、器官別大分類（SOC）「腎および尿路障害」に属する、試験治療下で発現した有害事象（TEAE）の発現率は極めて低く、PTC923-MD-003-PKU 試験と PTC923-MD-004-PKU 試験の併合データでは、TEAE は被験者 4 例（1.8%）で 6 件のみが報告されており、内訳は、着色尿が被験者 3 例（1.4%）で 5 件、蛋白尿が被験者 1 例（0.5%）で 1 件であった。6 件の事象はすべて軽度（グレード 1）であった。

- グレード 1 の TEAE である蛋白尿が 60 mg/kg 群で発現したが、sepiapterin 投与とは関連がないと判断された。
- 5 件の着色尿の TEAE は、sepiapterin と関連ありと判断された。着色尿、すなわち、sepiapterin 服用患者では尿が黄橙色になるが、おそらくプテリンによるものと考えられる。吸収されずに排泄される sepiapterin が、sepiapterin を服用した患者の尿（及び便）が変色する原因である可能性が高い。この所見の発現率は極めて低く、グレード 1 であり、臨床的な意義はないと判断された。

これまでに実施された初期～後期臨床試験の安全性データからは、sepiapterin 投与による腎リスクは示されていない。

Sepiapterin の臨床試験で腎臓に関連した重要な所見は認められなかったことから、ラット腎臓でみられた所見に関連したヒトでの発がんリスクは極めて低いと考えられる。

5.2.2.5.2 下垂体

ラット 6 ヵ月間慢性毒性試験では、200 mg/kg/日を投与した主試験で計画安楽死させた雄 2 匹及び回復性試験で計画安楽死させた雌 1 匹に、良性下垂体前葉腺腫が認められた。これらの動物の他

の臓器に前腫瘍性所見は認められなかった。雄（主試験及び回復性試験）での下垂体腺腫の発生率（10%）は、2021 年に Crl:CD(SD)ラットの下垂体腺腫に関して比較可能な試験から抽出された単一試験（ラット 6 ヵ月慢性試験最終報告書として報告）における既存の対照データ（0.00%～9.52%）の上限であった。さらに最近（2023）の研究室による既存の対照データの抽出では、この試験で認められた発生率（10%）は、比較可能な試験の発生率の範囲内（0.00%～15.00%）にあった。対照群と比較して高用量群では、下垂体の増殖性病変及び／又は前腫瘍性病変の全発生率に有意な上昇が認められなかったことから、これらの腫瘍はこの週齢の実験用 Sprague Dawley ラットでは偶発性、自然発生性である可能性が非常に高く、過去の対照データベースの範囲内であると考えられた。

過形成及び新生物は実験用ラットの下垂体前葉でよく認められ、高齢のげっ歯類では最も一般的な増殖状態の一部を構成している。これらの病変の発生率は、試験間及びラット系統間で顕著に異なっていると報告されている。例えば、最も多く使用されるラット系統における前葉腺腫の発生率は、Sprague Dawley ラットで 39%と報告されている。一般に、この前葉腺腫の発生率は雄よりも雌の方が高い。下垂体腺腫は、若齢ラットでも最もよくみられる腫瘍の 1 つであることにも注意が重要である（Remick and Brown 2018）。

5.2.2.6 副次的薬理試験

94 種の特有のオフターゲットアッセイを用いて、in vitro で sepiapterin とのオフターゲット相互作用及び乱用の可能性のリスクを評価した（PTC923-2021-003 試験）。この in vitro 試験には、87 種類のアッセイからなる安全性パネルが含まれており、このパネルには業界が提案する 44 種類のすべての標的及び追加の副次的薬物動力学的標的が含まれていた。また、この in vitro 試験には、44 種類のアッセイからなる薬物乱用パネルも含まれていた（うち 37 種類のアッセイは 87 種類のアッセイからなる安全性パネルと重複していた）（Bowes 2012）。計 94 種の特有のオフターゲットアッセイは、sepiapterin 10 µM とのインキュベーションにより実施した。検討したいずれの受容体に対しても、50%を超える阻害及び刺激は認められなかった。インキュベーション時の sepiapterin 濃度が、最大治療用量の 60 mg/kg を投与したとき予測される約 2.8 ng/mL（11.8 nM）の血漿中 C_{max} の約 847 倍であることを考慮すると、検討した副次的薬力学的標的のいずれとも臨床的に意味のある相互作用を起こす可能性は低いと考えられた。

5.2.2.7 ホルモン作用

Sepiapterin による内分泌かく乱に関連する有害作用は認められなかった。

子宮・卵巣重量をはじめとする臓器重量の sepiapterin に関連した変化及び特定の内分泌に対する作用を示唆する血液生化学的パラメータの変化は認められなかった。甲状腺及び生殖器などの内分泌感受性臓器には、sepiapterin に関連した剖検及び病理組織学的変化は認められなかった。

雌雄受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、300 mg/kg/日までの用量で、雌雄親動物に対する毒性徴候は認められず、雌雄の交配能及び受胎能パラメータ、発情性評価、卵巣及び子宮パラメータへの影響も認められなかった。

ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験では、1,000 mg/kg/日までの用量で母体毒性及び胚・胎児発生毒性は認められなかった。

したがって、ヒトに関連する可能性のある内分泌及び生殖器の異常（かく乱）の兆候はなかった。

5.2.2.8 免疫調節作用

ICH 業界向けガイダンス S8「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」（ICH 2005）の基準に基づくと、免疫調節作用の証拠は認められなかった。

現在までに sepiapterin の 1,000 mg/kg/日までの用量で Sprague Dawley ラットでは最長 26 週間の期間及びマーモセットでは最長 9 ヵ月の期間で実施された GLP 毒性試験では、血液学的検査及び臨床生化学検査に sepiapterin に関連した変化は認められていない（ただし、腎臓が唯一の標的臓器であることから、BUN 及びクレアチニンの可逆的増加は除く）。免疫系臓器所見並びに免疫組織（リンパ節、脾臓、胸腺、骨髄など）の病理組織学的検査に変化は認められなかった。感染、免疫抑制及び免疫亢進に関連する可能性のある所見は認められなかった。

したがって、sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 は免疫調節作用を示さないと考えられる。

5.2.2.9 Sepiapterin の臨床試験

完了した及び進行中のすべての臨床試験（モジュール 2.5 参照）において、sepiapterin は安全で忍容性が良好である。様々な重症度の PKU 患者の全年齢群において、60 mg/kg/日までの用量で、sepiapterin の良好な安全性プロファイルが継続して示されている。これまでに、がん関連の有害事象は報告されていない。

5.2.2.10 重み付け評価の結論

WOE 評価から、製品クラスにおいてこれまでヒトに関連すると考えられる発がん性の重大な証拠がないことが示された。さらに、sepiapterin について以下のことが示されている。発がんリスクを示唆する遺伝毒性及び構造活性相関がない。トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験では、sepiapterin 投与したマウスにおいて生存に影響を及ぼさず、がん原性作用がなく、非腫瘍性病理組織学的所見も認められなかった。反復投与毒性試験においてヒトに関連する前がん病変、内分泌及び生殖器の異常（かく乱）、免疫調節作用、及びオフターゲット毒性を示す所見がない。局所組織反応及びその他の病態生理学的反応をもたらす未変化体及び代謝物の蓄積性がない。さらに臨床試験では、治療用量で幅広い PKU 患者集団において意味のある臨床的効果が得られ、安全で忍容性も良好であることが証明されている。したがって、WOE から、sepiapterin の発がんリスクは極めて低いことが示唆された。

6. 生殖発生毒性

6.1 ラットにおける sepiapterin の（強制）経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

PTC923-2022-028 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.12）

この GLP 適合試験の目的は、同居前から交配及び着床までの期間に雌雄 Sprague Dawley ラットに sepiapterin を投与したときの毒性作用及び／又は障害を検討することであった。

Table 27 に示すように、75 日齢（雄）及び 83 日齢（雌）の Sprague Dawley ラットの各群に sepiapterin を 1 日 1 回強制経口投与した。本試験の用量は、先に実施したラット反復投与毒性試験（3.1 項）に基づいて設定した。この先行試験では、300 mg/kg/日までの用量の忍容性は概して良好であり、所見は主に軽度から中等度の可逆的な腎臓の病理組織学的変化に限られていた。Sprague Dawley ラットの TK データでは、300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日に増量しても BH_4 濃度の上昇はほとんど又は全く認められなかった（曝露量の飽和）。したがって、300 mg/kg/日を超える投与は不要と考えられ、この試験の高用量は 300 mg/kg/日に設定した。

雄への投与は同居 28 日前から開始し、同居期間中及び安楽死前日まで継続した。雌への投与は同居 15 日前から開始し、同居期間中及び妊娠日齢（GD）7 日まで継続した。生存ラットは全匹、同居終了後（雄）又は GD13（雌）に安楽死させた。

Table 27. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数	
				M	F
1	対照 [a]	0	0	22	22
2	Sepiapterin	30	3	22	22
3	Sepiapterin	100	10	22	22
4	Sepiapterin	300	30	22	22

略語：F＝雌、M＝雄
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

試験の評価項目は、死亡率、一般状態、体重・体重増加量、摂餌量、性周期の評価、交配能、卵巣・子宮検査、器官重量及び肉眼的観察であった。

いずれの用量でも、sepiapterin 関連した死亡は認められなかった。100 mg/kg/日群の雄 1 匹が Day 39（試験 Week 6）に、300 mg/kg/日群の雄 1 匹が Day 5（試験 Week 1）に死亡した。これらの動物に臨床徴候は認められず、体重にも特記すべき所見はなかった。剖検時に肉眼的観察所見は認められなかった。死因は特定できなかったが、死亡例は各用量群で 1 例のみであり、両死亡動物の生存中に一般状態の観察及び剖検で所見が認められなかったことから、死亡は sepiapterin と関連がないと判断された。

この試験中、雌雄のラットに sepiapterin に関連した有害な臨床徴候並びに体重、体重増加量及び摂餌量の変化は認められなかった。同居前性周期の評価期間中、性周期数及び平均性周期長に sepiapterin に関連した変化は認められなかった。雄及び雌の交配能及び受胎能パラメータに対して

sepiapterin に関連した影響は認められなかった。これらのパラメータは投与群間で同等で、対照群と有意差はなかった。

雌雄ラットともにいずれの用量においても、sepiapterin に関連した剖検所見及び臓器重量の差は認められなかった。また、いずれの用量においても、卵巣及び子宮パラメータに対する sepiapterin に関連した影響は認められなかった。これらの結果に基づき、一般毒性に関する雌雄親動物の NOAEL は 300 mg/kg/日であった。この試験では生殖パラメータに及ぼす影響が認められなかったことから、生殖に関する NOAEL も 300 mg/kg/日であった。

6.2 胚・胎児発生に関する試験

6.2.1 Sepiapterin の（強制）経口投与によるラット胚・胎児発生に関する用量設定試験

PTC923-2021-005 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.11）

この非 GLP 試験の目的は、以降に実施する Sprague Dawley ラットの胚・胎児発生試験における sepiapterin の用量設定を可能にすること、並びに着床から硬口蓋閉鎖まで雌ラットを sepiapterin に曝露したときの妊娠雌ラット及び胚・胎児の発生に及ぼす sepiapterin の影響を予備的に評価することであった。Sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の TK プロファイルも評価した。

Table 28 に示すように、9～11 週齢の同時期に交配させた妊娠 Sprague Dawley ラットの各群に GD7～GD17 まで sepiapterin を 1 日 1 回強制経口投与した。この試験の用量は、先に実施した 14 日間反復投与毒性試験（NSA-TOX-001-2017 試験、3.1.2.2 項に記載）で、1,000 mg/kg/日までの用量で忍容性が良好であったことに基づいて設定した。

Table 28. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する用量設定試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	雌動物数	
				主試験	TK
1	対照 [a]	0	0	6	3
2	Sepiapterin	100	10	6	6
3	Sepiapterin	300	30	6	6
4	Sepiapterin	1,000	100	6	6

略語：TK＝トキシコキネティクス
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

試験の評価項目は、母動物の生死、一般状態、体重・体重変化、摂餌量、卵巣・子宮の検査、剖検、及び胎児の評価（胎児の体重、性別及び外表評価）であった。第 1～4 群に割り付けられたラットで生存例はすべて GD17／18（TK 試験）又は GD21（主試験）に安楽死させた。TK 評価群に割り付けられた雌から GD7 及び GD17 に血液サンプルを採取した。

個々のサンプルの血漿中 sepiapterin 濃度は概して LLOQ 未満又は LLOQ 付近であった。したがって、血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析は BH_4 に限定した。BH_4 の血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析の要約を Table 29 に示す。

Table 29. 雌雄 Sprague Dawley ラットに sepiapterin を強制経口投与したときの胚・胎児発生に関する用量設定試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	GD	中央値	平均値	
			T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	100	7	2.0	1,380	11,300
3	300	7	4.0	2,990	19,900
4	1,000	7	2.0	2,670	25,100
2	100	17	4.0	976	6,450
3	300	17	2.0	2,000	14,100
4	1,000	17	2.0	2,420	19,200

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、GD＝妊娠日齢

最高 BH_4 濃度（T_{max}）は、いずれの sepiapterin 用量でも GD7 及び GD17 の投与後 2 時間又は 4 時間に認められた。BH_4 曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は、両測定時点で概ね用量の増加に伴い増加したが、曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）の増加は、特に 300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日の増量では用量比を下回った。GD17 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は GD7 と比較して低値を示す傾向があった。

いずれの用量でも sepiapterin の忍容性は良好であった。いずれの用量でも、死亡率、母動物の平均体重、体重変化、摂餌量、平均妊娠子宮重量、肉眼的観察、卵巣、子宮及び同腹児のパラメータ、並びに胎児の外表検査に sepiapterin に関連した影響は認められなかった。

全体として、1,000 mg/kg/日（雌における GD17 での BH_4 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ がそれぞれ 2,420 ng/mL 及び 19,200 h•ng/mL に相当する用量）まで母体毒性及び胚・胎児発生毒性は認められなかった。

6.2.2 Sepiapterin の強制経口投与によるラット胚・胎児発生に関する試験

PTC923-2021-023 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.13A）

本 GLP 試験の目的は、妊娠 Sprague Dawley ラットの器官形成期に 1 日 1 回 sepiapterin を投与したときの母体毒性及び胚・胎児発生に対する潜在的影響を評価することであった。さらに、sepiapterin は全身循環血中で検出される量が極めて少ないか、LLOQ 未満であることが予想されたため、TK 解析は sepiapterin の代謝産物 BH_4 についてのみ実施した。

Table 30 に示すように、11～13 週齢の同時期に交配させた妊娠 Sprague Dawley ラットの各群に GD7～GD17 まで sepiapterin を強制経口投与した。この試験の用量は、ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験で、1,000 mg/kg/日までの用量で母体毒性及び胚・胎児毒性が認められなかったことに基づいて設定した（PTC923-2021-005 試験、6.2.1 項に記載）。

Table 30. 妊娠雌 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による胚・胎児発生試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	雌動物数	
				主試験	TK
1	対照 [a]	0	0	22	3
2	Sepiapterin	100	10	22	6
3	Sepiapterin	300	30	22	7

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	雌動物数	
				主試験	TK
4	Sepiapterin	1,000	100	22	6

略語：TK＝トキシコキネティクス
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

母体毒性の評価は、死亡率、一般状態、体重、摂餌量、肉眼的観察及び帝王切開所見（卵巣及び子宮の検査）に基づいて行った。胚・胎児発生毒性の評価は、胎児体重、胎児の性別、並びに外表、内臓及び骨格形態評価に基づいて実施した。GD7 及び GD17 に TK 群に割り付けられたラットのうち母動物から血液サンプルを採取し、sepiapterin 及び BH_4 の血漿中濃度を測定した。

Sepiapterin の単回投与後（GD7）及び反復投与後（GD17）の血漿中 sepiapterin 濃度は概ね LLOQ 未満であった。したがって、血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析は BH_4 に限定した。BH_4 のトキシコキネティクスパラメータの要約を Table 31 に示す。

Table 31. 妊娠雌 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

用量（mg/kg/日）	GD	中央値	平均値	
		T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
100	7	2.0	1,680	11,000
300	7	4.0	3,160	23,400
1,000	7	4.0	3,200	29,500
100	17	2.0	1,360	8,360
300	17	2.0	2,520	17,700
1,000	17	2.0	3,410	26,900

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、GD＝妊娠日齢

BH_4 の曝露量（$AUC_{0\text{-}last}$ 及び C_{max}）は、100～1,000 mg/kg/日の用量範囲で概ね用量比を下回って増加した。単回及び反復投与後、BH_4 の最高濃度には投与後 2～4 時間で到達した。BH_4 の蓄積性は認められなかった。GD17 の BH_4 曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は、GD7 と比較して低用量（100 mg/kg/日）及び中用量（300 mg/kg/日）で約 20%減少した。減少程度は高用量の 1,000 mg/kg/日では小さかった。

1,000 mg/kg/日までの用量で、死亡率並びに母動物の平均体重、平均体重増加量及び平均摂餌量に対して sepiapterin に関連した影響は認められなかった。補正体重/補正体重増加量及び妊娠子宮重量の変化、並びに生殖能及び帝王切開パラメータに対する影響など、sepiapterin に関連した臨床的及び肉眼的観察所見はなかった。

すべての妊娠動物は、剖検時に生存胎児を有していた。胎児の平均体重に sepiapterin に関連した影響は認められなかった。1,000 mg/kg/日までの用量では、sepiapterin に関連した胎児の外表、内臓及び骨格の奇形又は変異は認められなかった。

以上の結果に基づき、母動物及び胚・胎児発生の NOAEL は 1,000 mg/kg/日と判断された。この用量で GD17 における母動物の BH_4 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、それぞれ 3,410 ng/mL 及び 26,900 h•ng/mL であった。

6.2.3 ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の経口投与（胃チューブ）による胚・胎児発生に関する用量設定試験

PTC923-2021-006 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.11）

この非 GLP 試験の目的は、以降に実施するウサギの胚・胎児発生試験における sepiapterin の用量設定を可能にすること、並びに着床から硬口蓋閉鎖まで雌ウサギを sepiapterin に曝露したときの妊娠ウサギ及び胚・胎児の発生に及ぼす sepiapterin の影響を予備的に評価することであった。Sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の TK 特性も明らかにした。

Table 32 に示すように、7 ヵ月齢の同時期に交配させた妊娠ニュージーランド白色［Hsd:Hra(NZW)SPF］雌ウサギの各群に GD7～GD19 まで 1 日 1 回胃チューブを用いて sepiapterin を経口投与した。この試験の用量は、先に実施したラット 14 日間反復投与毒性試験において、1,000 mg/kg/日までの用量で忍容性が良好であったことに基づいて設定した（CNSA-TOX-001-2017 試験、3.1.2.2 項に記載）。

Table 32. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する用量設定試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	雌動物数
1	対照 [a]	0	0	6
2	Sepiapterin	100	10	6
3	Sepiapterin	300	30	6
4	Sepiapterin	1,000	100	6

[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

試験の評価項目は、母動物の生死、一般状態、体重・体重変化、摂餌量、卵巣・子宮の検査、剖検及び胎児の評価（胎児の体重、性別及び外表評価）であった。すべての投与群の動物は GD29 に安楽死させた。GD7 及び GD19 に各群雌 3 匹から血液サンプルを採取し、sepiapterin 及び BH_4 の血漿中濃度を測定した。

Sepiapterin 及び BH_4 の血漿中濃度データのノンコンパートメント TK 解析の要約をそれぞれ Table 33 及び Table 34 に示す。

Table 33. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による胚・胎児発生用量設定試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	GD	中央値	平均値	
			T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	100	7	1.0	356	969
3	300	7	1.0	805	3,350
4	1,000	7	2.0	1,530	8,460
2	100	19	1.0	403	636
3	300	19	2.0	558	1,750
4	1,000	19	2.0	1,140	4,890

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、GD＝妊娠日齢

Table 34. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による胚・胎児発生用量設定試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	GD	中央値	平均値	
			T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	100	7	1.0	1,600	8,510
3	300	7	2.0	3,720	24,100
4	1,000	7	2.0	4,380	39,100
2	100	19	2.0	1,210	4,780
3	300	19	2.0	2,160	12,200
4	1,000	19	2.0	2,840	20,300

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、GD＝妊娠日齢

GD7 及び GD19 の sepiapterin 及び BH_4 の C_{max} 到達時間（T_{max}）は、用量にかかわらず投与後 1 時間又は 2 時間であった。$AUC_{0\text{-}24h}$ を指標としたときの sepiapterin 全身曝露量は、GD7 及び GD19 では用量の増加に伴って上昇し、100 mg/kg/日から 300 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日の増量では、ほぼ用量比例性を示した。$AUC_{0\text{-}24h}$ を指標としたときの BH_4 全身曝露量は、GD7 及び GD19 では用量の増加に伴って上昇し、100 mg/kg/日から 300 mg/kg/日の増量ではほぼ用量比例性を示したが、300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日の増量では用量比を下回った。

いずれの用量でも sepiapterin の忍容性は良好であった。死亡率、母動物の平均体重、平均妊娠子宮重量、肉眼的観察、卵巣、子宮及び同腹児のパラメータ、並びに胎児の外表検査に sepiapterin に関連した影響は認められなかった。100 mg/kg/日以上では、妊娠初期の母動物の平均体重増加量が低値であった。また、100 mg/kg/日以上では、同じ投与時期で摂餌量の低値も認められた。母動物の平均体重増加量及び摂餌量の低値は、母動物の体重に有意な差が認められなかったことから、有害ではないと判断された。

全体として、1,000 mg/kg/日（雌 GD19 における sepiapterin の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 値がそれぞれ 1,140 ng/mL 及び 4,890 h•ng/mL、BH_4 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ 値がそれぞれ 2,840 ng/mL 及び 20,300 h•ng/mL に相当する用量）まで、母動物及び胚・胎児発生に及ぼす有害な影響は認められなかった。

6.2.4 ウサギにおける sepiapterin の経口投与（胃チューブ）による胚・胎児発生に関する試験

PTC923-2021-024 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.13B）

本 GLP 試験の目的は、妊娠ウサギの器官形成期（GD7～GD19）に sepiapterin を投与したときの母体毒性及び潜在的な胚・胎児発生に対する影響を評価することであった。また、妊娠ウサギにおける sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の TK プロファイルも明らかにした。

Table 35 に示すように、6～7 ヵ月齢の同時期に交配させた妊娠ニュージーランド白色［Hsd:Hra(NZW)SPF］雌ウサギの各群に、GD7～GD19 まで 1 日 1 回胃チューブを用いて sepiapterin を経口投与した。この試験の用量は、ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験で、1,000 mg/kg/日までのすべての用量で sepiapterin の忍容性があったこと、及び、100 mg/kg/日以上の用量で投与初期

に、母動物の摂餌量及び体重増加量に一過性の有害ではない影響が認められたことに基づいて設定した（PTC923-2021-006 試験、6.2.3 項に記載）。

Table 35. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける胃チューブ投与による sepiapterin の胚・胎児発生に関する試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	雌動物数
1	対照 [a]	0	0	20
2	Sepiapterin	100	10	20
3	Sepiapterin	300	30	20
4	Sepiapterin	1,000	100	21

[a]溶媒（Oral Mix）を投与した。

母体毒性の評価は、死亡率、一般状態、体重、摂餌量、肉眼的観察及び帝王切開所見（卵巣及び子宮の検査）に基づいて行った。胚・胎児発生毒性の評価は、胎児体重、胎児の性別、並びに外表、内臓及び骨格形態評価に基づいて実施した。GD7 及び GD19 に各群 3 匹の母動物から血液サンプルを採取し、sepiapterin 及び BH_4 の血漿中濃度を測定した。

Sepiapterin 及び BH_4 のトキシコキネティクスパラメータの要約をそれぞれ Table 36 及び Table 37 に示す。

Table 36. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による胚・胎児発生試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ

用量（mg/kg/日）	GD	中央値	平均値	
		T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
100	7	1.0	345	1,100
300	7	1.0	669	2,800
1,000	7	2.0	1,240	7,800
100	19	1.0	266	642
300	19	2.0	576	1,650
1,000	19	2.0	707	3,340

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、GD＝妊娠日齢

Table 37. 妊娠雌ニュージーランド白色ウサギにおける sepiapterin の胃チューブ投与による胚・胎児発生試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

用量（mg/kg/日）	GD	中央値	平均値	
		T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
100	7	2.0	1,410	8,180
300	7	4.0	2,550	17,700
1,000	7	4.0	4,580	35,700
100	19	2.0	1,020	5,080
300	19	2.0	1,680	9,400
1,000	19	4.0	2,310	16,300

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、GD＝妊娠日齢

Sepiapterin の単回投与後（GD7）及び反復投与後（GD19）、100～1,000 mg/kg/日の用量範囲では sepiapterin 及び BH_4 の曝露量（$AUC_{0\text{-}last}$ 及び C_{max}）は概ね用量比を下回って増加した。単回投与後及び反復投与後の最高濃度には、sepiapterin では投与後 1～2 時間、BH_4 では投与後 2～4 時間で到達した。Sepiapterin 及び BH_4 の蓄積性は認められなかった。GD19 の sepiapterin 及び BH_4 の曝露量は、いずれの用量でも GD7 の曝露量よりも減少した。

1,000 mg/kg/日までの用量で、sepiapterin に関連した臨床徴候及び母動物の平均体重に対して sepiapterin に関連した影響は認められなかった。100 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日では、母体の平均体重増加量に対する sepiapterin に関連した影響は認められなかった。

1,000 mg/kg/日群では、母動物の平均体重が GD7 から GD10 の間に一過性かつ有害ではない減少を示し、これは摂餌量が GD7 比較して GD8 及び GD8 と比較して GD9 に減少したことに一致していた。また、100 mg/kg/日群及び 300 mg/kg/日群では、対照群と比較して投与開始時（GD7～GD8）に平均摂餌量の一過性で有害ではない減少が認められた。しかし、試験期間を通じて平均体重は対照群と同等であり、平均摂餌量は他のすべての投与時期及び投与期間中を通じて同程度であった。したがって、これらの一過性の影響は有害ではないと判断された。

1,000 mg/kg/日までの用量で、補正体重／補正体重増加量及び妊娠子宮重量の変化、並びに生殖能及び帝王切開パラメータに対する影響など、sepiapterin 関連した肉眼的観察所見は認められなかった。

すべての妊娠動物は、剖検時に生存胎児を有していた。胎児の平均体重に sepiapterin に関連した影響は認められなかった。1,000 mg/kg/日までの用量では、sepiapterin に関連した胎児の外表、内臓及び骨格の奇形又は変異は認められなかった。

以上の結果に基づき、母動物及び胚・胎児発生の NOAEL は 1,000 mg/kg/日と判断された。この用量で GD19 における母動物の sepiapterin の Cmax 及び AUC0-24h は、それぞれ 707 ng/mL 及び 3,340 h• ng/mL、BH_4 の Cmax 及び AUC0-24h はそれぞれ 2,310 ng/mL 及び 16,300 h• ng/mL であった。

6.3 出生前及び出生後の発生に関する試験

6.3.1 ラットにおける行動／機能評価を含む出生前及び出生後の発生に関する sepiapterin の（強制）経口投与試験

PTC923-2023-048 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.14）

この GLP 適合試験の目的は、着床から授乳・離乳まで雌 Sprague Dawley ラットを sepiapterin に曝露したときの妊娠雌ラット及び出生児の発達に及ぼす sepiapterin の潜在的影響を検出することであった。F1 世代の出生児の性成熟まで観察を継続した。

Table 38 に示すように、約 9～11 週齢の同時期に交配させた妊娠 Sprague Dawley ラットからなる各群に sepiapterin を GD6～分娩後 Day 20 まで（同腹児を出産したラット）又は GD24（同腹児を出産しなかったラット）まで 1 日 1 回強制経口投与した。F1 世代の出生児には、sepiapterin 及び／又は対照物質の製剤を直接投与しなかった。

この試験の用量は、先に実施したラット反復投与毒性試験（3.1.2 項）において、300 mg/kg/日までの用量での忍容性は概して良好であり、病理組織学的所見は、100 mg/kg/日以上の用量で認められた腎臓の軽度～中等度の可逆的所見にほぼ限られていたことに基づいて設定した。また、ラット胚・胎児発生試験（PTC923-2021-023 試験、6.2.2 項に記載）では、1,000 mg/kg/日までの用量で

sepiapterin に関連した有害な所見は認められなかった。同様に、ラット受胎能試験では 300 mg/kg/日までの用量で忍容性が認められた（PTC923-2022-028 試験、6.1 項に記載）。先に実施したラット試験の薬物動態データでは、300 mg/kg/日から 1,000 mg/kg/日に増量しても BH_4 濃度の上昇はほとんど又は全く認められていない（曝露量の飽和）。したがって、この試験では、300 mg/kg/日を超える用量は不要だと判断し、高用量を 300 mg/kg/日に設定した。

Table 38. 妊娠雌 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による出生前及び出生後の発生に関する試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	雌動物数
1	対照 [a]	0	0	22
2	Sepiapterin	30	3	22
3	Sepiapterin	100	10	22
4	Sepiapterin	300	30	22

[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

F0 世代のラットでは以下の項目について評価した：母動物の生死、一般状態、体重及び体重増加量、摂餌量、自然分娩の観察所見、卵巣・子宮の検査及び肉眼的観察。

F1 世代では以下のパラメータ及び項目について評価した：生死、一般状態、体重・体重増加量、摂餌量、離乳前の反射及び身体発達、性成熟、性周期、生殖能、行動評価（自発運動量、聴覚性驚愕馴化及び Morris 水迷路）、卵巣・子宮の検査並びに肉眼的観察。

F0 世代の雌全匹が予定の安楽死まで生存した。

妊娠及び授乳期間中に、sepiapterin に関連した母動物の一般状態並びに体重、体重増加量及び平均摂餌量の変化はなかった。自然分娩及び同腹児の観察所見は、いずれの用量でも sepiapterin の影響を受けなかった。剖検では、sepiapterin に関連した母動物の肉眼的病変は認められなかった。

F1 児では、sepiapterin に関連した死亡は認められなかった。離乳後は、0 mg/kg/日群の雄 1 匹が PND76 に死亡した。この雄では有害な臨床徴候は認められず、離乳後の体重増加量及び摂餌量は同じ用量群の他のラットと同等であった。剖検時に肉眼で見える病変は認められなかった。死亡例はこの 1 例のみで、対照群で発生したことから、母動物への sepiapterin 投与との関連はないと判断された。離乳後のその他の F1 世代の雌雄は全匹計画剖検時に生存していた。

離乳前の F1 出生児には、sepiapterin に関連した一般状態、並びに平均体重に及ぼす影響は認められなかった。出生児の反射及び身体発達パラメータに sepiapterin に関連した影響は認められなかった。離乳前の期間中に死亡した出生児、及び試験継続が選択されず離乳時に安楽死させた出生児において、sepiapterin に関連した肉眼的病変は認められなかった。

F1 世代の雌雄ラットでは sepiapterin に関連した一般状態並びに体重及び体重増加量の変化は認められなかった。母動物への sepiapterin の投与は、F1 雄ラットの平均包皮分離日及び F1 雌ラットの平均膣開口日に影響を及ぼさなかった。F1 世代の雌雄ラットでは、母動物に投与したいずれの用量でも、聴覚性驚愕反応、自発運動量及び学習・記憶（Morris 水迷路）に統計的な有意差及び毒性学的に重要な差は認められなかった。剖検時に、F1 世代の雌雄ラットに sepiapterin に関連した肉眼的病変は認められなかった。

F0 母動物に sepiapterin を投与しても、いずれの用量においても F1 世代の雌雄ラットの交配能及び受胎能に影響は認められなかった。F1 世代の雌では、卵巣・子宮の検査で所見は認められなかった。

まとめると、F0 世代の雌では、300 mg/kg/日までの用量で母動物における sepiapterin の忍容性は良好であったことから、母体毒性の NOAEL は 300 mg/kg/日であった。母動物への sepiapterin の投与は、いずれの用量でも離乳前及び離乳後の F1 世代ラットの成長及び発達に影響を及ぼさなかった。F1 世代ラットの反射・身体発達の評価、性成熟、神経行動学的機能及び生殖機能に及ぼす影響は認められなかった。以上のデータに基づき、強制経口投与による sepiapterin の発生、成長及び生殖に関する NOAEL も 300 mg/kg/日であった。

6.4 幼若動物

6.4.1 新生児 Sprague Dawley ラット 6 日間強制経口投与薬物動態試験

PTC923-2020-006 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.15A）

この GLP 適合試験の目的は、PND4～PND9 の新生児 Sprague Dawley ラットに sepiapterin を 100 mg/kg/日までの用量で経口投与したときの sepiapterin の TK プロファイルを明らかにすることであった。パイロット試験 PTC923-2020-005（モジュール 2.6.4 で考察）において、PND4～PND9 に 100 mg/kg/日を投与した新生児ラットでは、sepiapterin の忍容性は良好であった。

Table 39 に示すように、4 日齢の新生児 Sprague Dawley ラットの各群に sepiapterin を 1 日 1 回 6 日間強制経口投与した。用量は、新生児のパイロット試験で、PND9 に 100 mg/kg/日を投与したときの曝露量に基づいて設定した。

Table 39. 生後日齢 4 から PND9 までの雌雄新生児 Sprague Dawley ラットを対象とした sepiapterin6 日間強制経口投与薬物動態試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	新生児数	
				M	F
1	対照 [a]	0	0	10	10
2	Sepiapterin[b]	10	2	80	80
3	Sepiapterin[b]	30	6	80	80
4	Sepiapterin[b]	100	20	80	80

略語：API＝有効成分、F＝雌、M＝雄
[a] 溶媒（Oral Mix）を投与した。
[b] Oral Mix 中 API／添加剤を 24.3／75.7%の割合で混合した製剤を投与した。

投与期間を通じて、死亡、一般状態観察及び体重測定を含む評価を実施した。薬物動態評価用の最終血液サンプルを PND4 及び PND9 に採取した。その後、出生児はそれ以上の検査はせずに処分した。

Sepiapterin の血漿中濃度データ及び sepiapterin の代謝物である BH_4 のベースライン値で補正した血漿中濃度データのノンコンパートメント PK 解析の要約をそれぞれ Table 40 及び Table 41 に示す。

Table 40. 生後日齢 4 日から PND9 日までの雌雄新生児 Sprague Dawley ラットを対象とした sepiapterin6 日間強制経口投与薬物動態試験における sepiapterin のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	PND	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	10	4	M	0.5	73.3	164
		4	F	0.5	45.3	103
3	30	4	M	0.5	274	727
		4	F	0.5	359	480
4	100	4	M	1.0	687	3,330
		4	F	1.0	734	2,610
2	10	9	M	0.5	181	NRR
		9	F	0.5	148	ND
3	30	9	M	0.5	176	NRR
		9	F	0.5	328	ND
4	100	9	M	0.5	3,380	2,750
		9	F	0.5	1,120	3,450

略語：AUC＝濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、$\%AUC_{Extrap}$＝最終測定可能濃度時点から無限大時間まで外挿した濃度-時間曲線下面積（%）、F＝雌、M＝雄、ND＝未測定、NRR＝報告可能な結果なし、PND＝生後日齢、Rsq＝適合度統計量
注：R^2 が 0.8 未満及び／又は無限大時間まで外挿した AUC が総面積の 20%超（$\%AUC_{Extrap}$ が 25%超）であった場合に NRR と表示した。
測定値が 3 回の連続した定量可能な濃度未満であった場合に ND と表示した。

Table 41. 生後日齢 4 日から PND9 日までの雌雄新生児 Sprague Dawley ラットに sepiapterin を 6 日間強制経口投与した薬物動態試験におけるベースライン値で補正した BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	PND	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	10	4	M	4.0	813	7,190
		4	F	4.0	757	6,440
3	30	4	M	4.0	2,220	21,700
		4	F	4.0	2,140	20,500
4	100	4	M	4.0	7,280	75,800
		4	F	4.0	6,070	62,400
2	10	9	M	4.0	786	8,880
		9	F	4.0	760	9,090
3	30	9	M	4.0	2,550	25,200
		9	F	4.0	3,390	30,400
4	100	9	M	4.0	9,410	90,300
		9	F	4.0	8,340	84,700

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、F＝雌、M＝雄、PND＝生後日齢

PK 解析により、成熟 Sprague Dawley ラットと同様に、新生児ラットでも、sepiapterin は速やかに BH_4 に変換されることが確認された。この試験の完全な PK 結果をモジュール 2.6.4 に示す。

新生児ラットのこの試験では、100 mg/kg/日までの用量で sepiapterin の忍容性は良好で、sepiapterin に関連した死亡及び体重への影響は認められなかった。

6.4.2 Sepiapterin の幼若ラット 10 週間（強制）経口投与試験及び 4 週間回復性試験

PTC923-2023-045 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.15B）

この GLP 適合試験の目的は、幼若ラットに PND4～PND70 まで sepiapterin を 1 日 1 回経口投与したときの sepiapterin の潜在的毒性を明らかにすること、及び sepiapterin 及びその代謝物 BH_4 の TK パラメータを評価することであった。

Table 42 に示すように、4 日齢の Sprague Dawley ラットの各群に sepiapterin を強制経口投与した。PND4～PND70 の投与期間を通じて曝露量が一定となるように用量を設定した。新生児ラット 6 日間 PK 試験（PTC923-2020-006 試験）では、sepiapterin から BH_4 への変換は急速かつ広範であり、成熟ラットと同様であった。ただし、BH_4 のベースライン値は、成熟ラットと比較して新生児ラットでは約 4 倍高値であった。出生児ラット試験の PND9 での 30 mg/kg/日群及び 100 mg/kg/日群の BH_4 の $AUC_{0\text{-}24h}$ は、成熟ラットの 13 週間試験の Day 1（42 日齢）及び Day 91 の値に比べて約 10 倍高値であった。さらに、反復投与したときの PND4～PND9 までの投与前 BH_4 濃度に用量依存的な上昇が認められ、新生児ラットにおける BH_4 の蓄積性が示された。したがって、幼若ラットを用いた毒性試験では、新生児と成熟ラットの曝露量が等価となるように、PND4～PND28 は約 10 倍低い用量で投与を開始し、PND29～PND70 は成熟ラットと等価の用量まで増量した。Sprague Dawley ラットの TK データから、300 mg/kg/日と 1,000 mg/kg/日で BH_4 濃度の上昇がほとんど又は全く認められなかった（曝露量の飽和）ことから、PND29 に開始した高用量として 300 mg/kg/日を設定した（CNSA-TOX-001-2017 試験、3.1.2.2 項に記載）。

Table 42. 雌雄の新生児 Sprague Dawley ラットを用いた出生日齢 4 から出生日齢 70 までの seiapterin の 10 週間強制経口投与試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	幼若動物数					
				主試験		回復性試験		TK	
				M	F	M	F	M	F
1	対照 [a]	0	0	10	10	20	20	8	8
2	Sepiapterin	5/30[b]	0.5/3.0[b]	10	10	20	20	28	28
3	Sepiapterin	10/100[b]	1.0/10[b]	10	10	20	20	28	28
4	Sepiapterin	30/300[b]	3.0/30[b]	10	10	20	20	28	28

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、F＝雌、M＝雄、PND＝生後日齢、TK＝トキシコキネティクス

[a] 溶媒（Oral Mix）及び／又は Ora Plus を投与した。

[b] 用量は、PND4～PND28 は 5、10、30 mg/kg/日、PND29～PND70 は 30、100、300 mg/kg/日とした。

試験の評価項目は雌雄動物とも、死亡率、一般状態、体重・体重増加量、摂餌量、性成熟、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査、血液生化学的検査及び尿検査）、行動評価（自発運動量、聴覚性驚愕馴化、及び Morris 水迷路）、器官重量、骨長・骨密度測定、肉眼的観察並びに病理組織学的検査などであった。主試験群及び回復群の雄では、精子運動性、精子濃度及び精子の形態を評価した。回復群の雌では、性周期を評価した。TK 評価用の血漿サンプルは、TK 試験に割り付けられた雌雄出生児から PND29 に採取した。

PND4 では、高用量の 30/300 mg/kg/日群を除き、sepiapterin 濃度は LLOQ（11.1 ng/mL 未満）付近又はそれ未満であった（Table 43）。

Table 43. 生後日齢 4 日の雌雄新生児 Sprague Dawley ラットを対象とした sepiapterin10 週間強制経口投与試験における sepiapterin 30 mg/kg/日のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	PND	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}last}$（h•ng/mL）
4	30	4	M	6	105	451
			F	2	681	1,530

略語：$AUC_{0\text{-}last}$＝0 時点から定量可能な最終測定時点又は最終検体採取時点までの濃度-時間曲線下面積、F＝雌、M＝雄、PND＝生後日齢

BH_4 の TK パラメータを Table 44（補正なし）及び Table 45（ベースライン値補正あり）に示す。ベースライン値で補正した BH_4 の T_{max} の平均値に用量依存性は認められなかった。PND4 では、ベースライン値で補正した BH_4 の AUC 値は、評価した全用量範囲（5～30 mg/kg）において、雄ラットでは用量に比例して増加し、雌ラットでは用量比を上回って増加した。雌ラットでは、PND4 の AUC 値の増加は、5 mg/kg から 10 mg/kg の増量では用量比例性を示したが、10 mg/kg から 30 mg/kg の増量では用量比を上回った。ただし、30 mg/kg/日群の個体間変動は他の投与群に比べて大きかった。雌雄ラットにおいて、PND29 のベースライン値で補正した BH_4 の曝露量は概ね用量に比例して増加し、PND70 には、ベースライン値で補正した BH_4 曝露量は概ね用量比を下回って増加した。曝露量に一定の性差は認められなかった。

Table 44. 雌雄の新生児 Sprague Dawley ラットに出生日齢 4 日から出生日齢 70 日まで seiapterin の 10 週間強制経口投与試験における BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	PND	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	5	4	M	6	398	4,900
			F	4	291	3,820
3	10	4	M	6	743	7,780
			F	4	646	7,850
4	30	4	M	6	1,480	22,000
			F	6	4,010	39,900
2	30	29	M	2	628	4,960
			F	2	626	4,790
3	100	29	M	4	1,810	14,000
			F	4	1,940	14,600
4	300	29	M	4	3,850	27,800
			F	4	4,460	31,000
2	30	70	M	2	741	4,410
			F	2	505	3,220
3	100	70	M	2	1,390	8,960
			F	2	1,430	6,530
4	300	70	M	2	1,750	12,300
			F	2	1,780	10,800

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、F＝雌、M＝雄、PND＝生後日齢
注：PND4 及び PND28 の用量は 5、10 及び 30 mg/kg/日、 PND29 及び PND70 の用量は 30、100 及び 300 mg/kg/日とした。

Table 45. 生後日齢 4 日から PND70 日までの雌雄新生児 Sprague Dawley ラットを対象とした sepiapterin10 週間強制経口投与試験におけるベースライン値で補正した BH_4 のトキシコキネティクスパラメータ

群	用量（mg/kg/日）	PND	性別	中央値	平均値	
				T_{max}（時間）	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}24h}$（h•ng/mL）
2	5	4	M	6	351	3,770
			F	4	244	2,710
3	10	4	M	6	695	6,640
			F	4	598	6,710
4	30	4	M	6	1,430	20,900
			F	6	3,960	38,800
2[a]	30	29	M	-	-	-
			F	-	-	-
3	100	29	M	4	1,750	12,800
			F	4	1,890	13,400
4	300	29	M	4	3,790	26,600
			F	4	4,400	29,800
2	30	70	M	2	670	2,830
			F	2	434	1,710
3	100	70	M	2	1,320	7,300
			F	2	1,360	4,580[b]
4	300	70	M	2	1,680	10,200[c]
			F	2	1,700	9,220

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0\text{-}last}$＝0 時点から定量可能な最終測定時点又は最終検体採取時点までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、F＝雌、M＝雄、PND＝生後日齢、TK＝トキシコキネティックス、T_{last}＝最終測定可能濃度時点

[a] 第 2 群（30 mg/kg/日）の動物では、平均濃度が 5 ng/mL（ベースライン値を差し引いた値の 10%）を超えたのは 2 時点しかなかったため、TK 解析は実施しなかった。

[b] $AUC_{0\text{-}last}$ を示す。T_{last}＝6 時間。

[b] $AUC_{0\text{-}last}$ を示す。T_{last}＝12 時間。

注：PND4 及び PND28 の用量は 5、10 及び 30 mg/kg/日、PND29 及び PND70 の用量は 30、100 及び 300 mg/kg/日とした。

対照動物における BH_4 の存在を補正するために、各試験日のベースライン値は、すべての TK 解析から除外した。

試験期間中に sepiapterin に関連した死亡は認められなかった。試験期間中に計 12 匹（雄 8 匹及び雌 4 匹）が死亡したか又は早期に安楽死させた。これらの死亡はいずれも用量依存性がなく（30/300 mg/kg/日投与群では死亡例なし）、また、死亡例の大多数が投与期間の早期に発現し、投与操作に起因するものであったことから、sepiapterin と関連するとは考えられなかった。

Sepiapterin に関連した臨床徴候並びに体重、体重増加量及び摂餌量に及ぼす影響は認められなかった。性成熟及び自発運動量、聴覚性驚愕反応及び学習・記憶（Morris 水迷路）などの行動評価に sepiapterin に関連した影響は認められなかった。

回復期間中の雌の性周期数及び平均周期長に影響はみられず、投与期間及び回復期間の終了時の雄の精子密度、精子運動性及び精子の形態にも影響はみられなかった。

投与期間及び回復期間の終了時の血液学的検査、凝固検査、血液生化学的検査及び尿検査などの臨床病理学的検査では、sepiapterin に関連した影響は認められなかった。投与期間及び回復期間の終了時に、sepiapterin に関連した肉眼的観察所見は認められず、また、投与期間及び回復期間の終了時に、大腿骨長、骨測定値、骨密度測定、臓器重量及び病理組織学的所見に及ぼす影響もなかった。

雌雄幼若ラットにおける sepiapterin の NOAEL は 30/300 mg/kg/日であった。PND70 における BH_4 の C_{max} 値は、雄及び雌でそれぞれ 1,750 ng/mL 及び 1,780 ng/mL、BH_4 の補正 $AUC_{0\text{-}24h}$ 値は、雄及び雌でそれぞれ 12,300 hr•ng/mL 及び 10,800 h•ng/mL であった。

7. 局所刺激性試験

Sepiapterin は経口投与されるため、局所刺激性試験は不要と考えられる。

8. その他の毒性試験

8.1 免疫毒性試験

Sepiapterin の特定の免疫毒性試験は実施しなかった。

8.2 薬物乱用傾向

Sepiapterin の薬物乱用傾向に関する WOE 評価（付録 2）では、以下のエビデンスに基づき、sepiapterin の依存性が発現する可能性は極めて低いと思われると結論づけた。Sepiapterin とサプロプテリンは同じ薬物クラス（BH_4 濃度を増加させることにより、フェニルアラニンを減少させる BH_4 モジュレーター）に属している。サプロプテリンは発売されてから 15 年を超えているが、乱用に関連する所見は報告されていない。ヒトでは、sepiapterin の治療濃度では、ドーパミン及びセロトニンの放出及び代謝回転への影響は認められていない。Sepiapterin 投与後に報告された最高細胞外濃度での BH_4 の安全係数は、ドーパミン放出を誘導するのに必要な BH_4 量の 7142 倍超であり、sepiapterin の治療域の C_{max} を挟む用量を用いた sepiapterin の非臨床臨床試験では、CNS に関連した所見は認められなかった。

8.3 代謝物試験

Sepiapterin の主要代謝物である BH_4 は、in vivo 毒性試験で評価されている。

マウス、ラット、サル及びヒトをはじめとする各動物種の代謝経路は質的に類似している。まとめると、以上のデータから、ヒト循環血中の最も多い代謝物は、非臨床試験の動物種でも認められることが確認された。

8.4 不純物

8.4.1 原薬

出発物質、中間体及び sepiapterin 原薬（DS）の既知／潜在的な不純物について ICH M7 に準拠した定量的構造活性相関［(Q)SAR］評価を 4 回実施した。これらの不純物については、3.2.S.3.2 項「不純物」に記載する。最初の評価（[redacted] Report）は、エキスパートルールベースシステム DEREK 6.0.0 Nexus 2.2.0 及び統計モデル Leadscope Model Applier Version 2.4.1-36/2.4.2-1 を用いて実施した。2 回目の評価（PTC923-2023-057 試験）では、sepiapterin DS 中の追加の不純物についてエキスパートルールベースシステム Leadscope v2022.0.0.31 及び統計モデル Leadscope Bacterial Mutation 統計ベース(Q)SAR モデル v2 を用いて行った。3 回目の評価（PTC923-2023-074 試験）では、sepiapterin DS 中の追加の不純物について、エキスパートルールベースシステム Leadscope v 2022.0.2.3 及び統計モデル Leadscope Bacterial Mutation statistical-based (Q)SAR model v2 を用いて行った。4 回目の評価（Study PTC923-2024-126 試験）では、sepiapterin DS 中の追加不純物について、エキスパートルールベースシステム Leadscope v2023.0.0.15 及び統計モデル Leadscope Bacterial Mutation statistical-based (Q)SAR model v2 を用いて行った。

4 回の評価を通して合計 45 の化合物をスクリーニングした。懸念されるコホートからの不純物で、クラス 1（既知の変異原性発がん物質）と特定されたものはなかった。合計 13 の化合物がクラ

ス 5（警告構造なし）に分類され、29 の化合物がクラス 4（変異原性の警告構造を有するが、変異原性がないことが知られている DS 中又は DS に関連する化合物と同じ警告構造）であるとみなされた。残りの 3 の化合物のうち、 1 つはクラス 2（既知の変異原性物質）、2 つはクラス 3（警告構造を有し、DS の構造とは関係しない警告構造であり、変異原性試験のデータが存在しない）であるとみなされた。

既知の変異原性（クラス 2）化合物は以下の通りである。

- CC-69（[redacted]）– [redacted]（CC-05）の合成の中間体

CC-69 は、さまざまな有機溶媒に高い溶解性を有するため、3.2.S.3.2 項「不純物」に記載されているパージファクターの計算に基づき、DS 製造プロセスにおいて完全に除去されることが想定されている。

2 種類の警告（クラス 3）化合物は以下のとおりである。

- CC-02[redacted]］– [redacted]（CC-05）合成の中間体
- CC-14[redacted]］– [redacted]（CC-05）合成の中間体

クラス 3 不純物の管理戦略は、3.2.S.3.2 項「不純物」に記載のとおり、摂取許容量に加えて、添加実験による不純物除去や挙動評価又は科学的リスクアセスメントなどの追加データに基づいて確立された。

CC-02 の摂取許容量は、毒性学的懸念の閾値（TTC）である 1.5 µg/日を用いて算出される。Sepiapterin の 1 日最大投与量 60 mg/kg（60 kg の平均体重では 3,600 mg/日）に基づくと、TTC は（1.5 µg/3.6 g）＝0.41 ppm と算出される。CC-02 の管理は CC-07/15 中間体の規格に含まれ、ICH M7 ガイドライン（ICH 2023)）のオプション 2 の管理に準じて、判定基準は TTC 限度値（0.41 ppm 以下）であった。

CC-14 の管理は CC-05 [redacted]の規格に含まれ、ICH M7 ガイドラインのオプション 2 の管理に準じて、基準は TTC 限度値（0.41 ppm 以下）であった。

8.4.2 製剤

4 種類の分解生成物（CC-06、CC-49、CC-75 及び CC-77）の ICH M7 準拠(Q)SAR 評価（PTC923-2022-037 試験）は、DEREK 6.0.0 Nexus 2.2.0 及び Leadscope Model Applier Version 2.4.1-36/2.4.2-1 を用いて実施し、モジュール 3、3.2.P.5.5「不純物の特性」に記載した。スクリーニングした 4 種類の化合物のうち、2 種類の化合物はクラス 5（警告構造なし）及び 2 種類の化合物がクラス 4（変異原性の警告構造を有するが、変異原性がないことが知られている DS 中又は DS に関連する化合物と同じ警告構造）に分類された。

8.4.3 原薬のクラス 3 不純物 CC-02 及び CC-14 の細菌を用いる変異原性試験

8.4.3.1 [redacted]（CC-02）の細菌を用いた復帰突然変異試験

PTC923-2021-025 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.18B2a）

この GLP 適合試験の目的は、プレート法を利用した in vitro 細菌を用いる復帰突然変異試験において CC-02 潜在的な変異原性能を検討することであった。変異原性試験には、ネズミチフス菌の 4 種類の試験菌株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）並びに 1 種類の大腸菌の試験菌株（WP2 *uvrA*）を用いた。CC-02 の原液は、アセトンを用いて用量設定試験では 50 mg/mL まで、変異原性試験では 10 mg/mL までの濃度で調製した。

変異原性試験は、フェノバルビタール／5, 6-ベンゾフラボン誘発ラット肝 S9 代謝活性化系の存在下及び非存在下で各濃度 3 回ずつ実施した。

用量設定試験では、プレート法を用いて、1.0、5.0、10、50、100、500、1,000 及び 5,000 µg/プレートで CC-02 を試験した。代謝活性化の存在下及び非存在下で、TA100 株及び WP2 *uvrA* 株の両株の 5000 µg/プレートで沈殿物が認められた。代謝活性化系の存在下及び非存在下で TA100 株の 1000 µg/プレート以上で細胞毒性が認められた。溶媒対照と比較して復帰変異コロニー数の増加が認められたのは、TA100 株において代謝活性化系非存在下で 50、100 及び 500 µg/プレート並びに代謝活性化系の存在下で 500 µg/プレートであった。

変異原性試験は、CC-02 を 1.0、2.5、5.0、10、25、50、100、250、500 及び 1,000 µg/プレートでプレート法により試験した。代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株においても沈殿は認められなかった。細胞毒性（背景細菌叢及び／又は平均復帰変異コロニー数の減少）が認められたのは、代謝活性化系非存在下で TA98 株の 5 µg/プレート、代謝活性化系の存在下及び非存在下で TA100 株の 500 µg/プレート以上、並びに代謝活性化系非存在下で TA1535 株及び TA1537 株の 1000 µg/プレートであった。溶媒対照と比較して、陽性反応を示す平均復帰変異コロニー数の増加が認められたのは、TA100 株において代謝活性化系非存在下で 50、100 及び 250 µg/プレート及び代謝活性化系存在下で 250 µg/プレート、並びに代謝活性化系存在下で TA1537 株の 500 µg/プレートであった。

溶媒及び陽性対照から得られたデータから、代謝活性化系存在下及び非存在下における化学的変異原物質を検出する本試験系の妥当性及び感度が証明された。

以上のデータは、CC-02 が本試験条件下で、代謝活性化系存在下及び非存在下でのサルモネラ菌 TA100 株並びに代謝活性化系存在下での TA1537 株において変異原性陽性であるという結論を裏付ける。CC-02 は、本試験条件下で、代謝活性化の存在下及び非存在下でのサルモネラ菌 TA98 株及び TA1535 株、代謝活性化系非存在下での TA1537 株、並びに代謝活性化系存在下及び非存在下での大腸菌 WP2 *uvrA* 株においては変異原性陰性である。

したがって、CC-02 は、本試験において変異原性誘発能は陽性であると考えられる。

8.4.3.2 [redacted]（CC-14）の細菌を用いる復帰突然変異試験

PTC923-2021-026 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.18B2b）

この GLP 適合試験における in vitro 細菌を用いる復帰突然変異試験では、CC-14 の変異原性を評価した。変異原性試験には、ネズミチフス菌の 4 種類の試験菌株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）並びに 1 種類の大腸菌の試験菌株（WP2 *uvrA*）を用いた。CC-14 の原液は、DMSO を用いて用量設定試験では 50 mg/mL まで、変異原性試験では 10 mg/mL までの濃度で調製した。変異原性試験は、フェノバルビタール／5, 6-ベンゾフラボン誘発ラット肝 S9 代謝活性化系の存在下及び非存在下で各濃度 3 回ずつ実施した。

用量設定試験では、プレート法を用いて、1.0、5.0、10、50、100、500、1,000 及び 5,000 µg/プレートで CC-14 を試験した。代謝活性化系の存在下及び非存在下で、TA100 株及び WP2 *uvrA*¥株の両株の 1,000 µg/プレート以上で沈殿物が認められた。細胞毒性（背景細菌叢及び／又は復帰変異コロニー数の減少）が認められたのは、代謝活性化系非存在下で TA100 株の 500 µg/プレート以上、代謝活性化系存在下で TA100 株の 1000 µg/プレート以上、並びに代謝活性化系存在下及び非存在下で WP2 *uvrA* 株の 5,000 µg/プレートであった。

変異原性試験は、CC-14 を 5.0、10、25、50、100、250、500 及び 1,000 µg/プレートでプレート法により試験した。いずれの菌株においても代謝活性化系の有無にかかわらず 1,000 µg/plate の用量で沈殿が認められた。細胞毒性（背景細菌叢及び／又は平均復帰変異コロニー数の減少）が認められたのは、TA98 株において代謝活性化系非存在下で 50 µg/プレート及び 250 µg/プレート以上、代謝活性化系の在下で TA1537 株で 250 µg/プレート、代謝活性化系存在下で TA98 株及び TA1535 株の 500 µg/プレート以上、代謝活性化系非存在下で TA100 株及び TA1535 株の 500 µg/プレート以上、並びに代謝活性化系存在下で TA100 株の 1,000 µg/プレートであった。溶媒対照と比較して平均復帰変異コロニー数の増加が認められたのは、代謝活性化系非存在下で TA1537 株での 250 µg/プレート及び 500 µg/プレートであった。

溶媒及び陽性対照から得られたデータから、代謝活性化系存在下及び非存在下における化学的変異原物質を検出する本試験系の妥当性及び感度が証明された。

以上のデータは、CC-14 が本試験条件下で、代謝活性化系非存在下でのサルモネラ菌 TA1537 株において変異原性陽性であるという結論を裏付ける。CC-14 は、本試験条件下で、代謝活性化系存在下及び非存在下でのサルモネラ菌 TA98 株、TA100 株及び TA1535 株、代謝活性化系存在下での TA1537 株、並びに代謝活性化系存在下及び非存在下での大腸菌 WP2 *uvrA* 株においては変異原性陰性である。

したがって、CC-14 は、本試験における変異原性誘発能は陽性であると考えられる。

8.4.4 不純物の安全性確認

DS 及び DP に関連する不純物の安全性確認は、開発中に追加のバッチが製造されたときに実施し、不純物プロファイルへの理解を深めた。不純物の安全性を確認するために実施した毒性試験の概要を以下に示す。

8.4.4.1 申請規格

DS 及び DP の申請規格を Table 46 に示す。

Table 46. Sepiapterin の原薬及び製剤の申請規格

原薬の不純物			
不純物名		規格（Area %）	規格（%w/w）
[redacted]	CC-49	[redacted]	[redacted]
[redacted]	CC-77	[redacted]	[redacted]
[redacted]	CC-06	[redacted]	[redacted]
[redacted]	CC-80	[redacted]	[redacted]
[redacted]	CC-10	[redacted]	[redacted]
[redacted]	CC-11	[redacted]	[redacted]
エナンチオマー（[redacted]SP）	CC-18	[redacted]	[redacted]
製剤の分解生成物			
不純物名		**規格（Area %）**	**規格（%w/w）**
[redacted]	CC-75	[redacted]	[redacted]
[redacted]	CC-77	[redacted]	[redacted]
[redacted]	CC-49	[redacted]	[redacted]
[redacted]	CC-06	[redacted]	[redacted]

略語：ee＝エナンチオマー過剰率、[redacted]、[redacted]SP＝sepiapterin の[redacted]エナンチオマー
[a] 規格はキラル純度（% ee）＝[redacted]に基づく。
出典：3.2.S.4.1 項「規格及び試験法」、3.2.P.5.1 項「規格及び試験方法」

8.4.4.2 Sprague Dawley ラット 28 日間毒性試験 PTC923-2021-007 試験における不純物の安全性確認試験

PTC923-2021-007 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.18B3a）

不純物又は分解生成物の安全性確認戦略は、DS（バッチ[redacted]）及び DP（バッチ[redacted]）を用いた Sprague Dawley ラットにおける専用の不純物安全性確認試験（GLP）に基づいている。

この試験の目的は、ラットに 28 日間連日経口投与したときの sepiapterin 及び不純物又は分解生成物の潜在的毒性を明らかにすることであった。

雌雄 Sprague Dawley ラットの各群に、Table 47 に示す用量で sepiapterin［DP 又は DS、有効成分（API）］又は対照物質（脱イオン水又は Oral Mix）を強制経口投与した。

Table 47. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間不純物安全性確認試験の試験デザイン

群	投与	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	動物数	
				M	F
1	対照物質 1（脱イオン水）	0	0	10	10
2	Sepiapterin（DP）	100	10	10	10
3	Sepiapterin（DP）	300	30	10	10
4	対照物質 2（Oral Mix）	0	0	10	10
5	Sepiapterin（DS）	100	10	10	10

略語：DI＝脱イオン化、DP＝製剤、DS＝原薬、F＝雌、M＝雄

試験の評価項目は、死亡率、一般状態、体重・体重変化、摂餌量、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査及び尿検査）、眼科学的検査、器官重量、肉眼的観察、及び病理組織学的検査などであった。

Sepiapterin の DP 及び DS は、すべての用量で忍容性が良好であった。死亡は認められず、一般状態、平均体重、平均体重増加量、摂餌量、臨床病理学的評価、眼科学的検査、肉眼的観察及び病理組織学的検査において sepiapterin の DP 又は DS に関連した影響は認められなかった。

甲状腺重量低値が、sepiapterin DS 100 mg/kg/日群の雄及び sepiapterin DP 300 mg/kg/日群の雌で認められた。ただし、sepiapterin 関連した甲状腺重量低値を裏付ける病理組織学的及び肉眼的所見は認められなかったため、これらの変化は有害ではないと判断された。

以上の結果から、雌雄の一般毒性に対する NOAEL は、sepiapterin の DP で 300 mg/kg/日、DS で 100 mg/kg/日であった。

それぞれ、モジュール 3、3.2.S.4.1「規格及び試験法」及びモジュール 3、3.2.P.5.1「規格及び試験法」に基づいて設定した DS の不純物及び DP の分解生成物の規格を Table 46 に示す。

PTC923-2021-007 試験に用いた DS 又は DP 中の規格設定された不純物又は分解生成物のレベルを Table 48 に示す。

Table 48. Sepiapterin 原薬中の規格設定された不純物（[redacted]）並びにバッチ[redacted]の原薬の規格設定された不純物及び製剤の分解生成物のレベル

DS		
不純物 ID	不純物レベル（Area %）	バッチ
CC-49（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-77（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-06（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-10（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-11（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
DP		
分解生成物 ID	分解生成物レベル（Area %）	バッチ
CC-49（[redacted]）	[redacted]	[redacted]

略語：DP＝製剤、DS＝原薬、ID＝識別子、[redacted]
出典：PTC923-2021-007 試験最終試験報告書付録、分析証明書

8.4.4.2.1 原薬の規格設定された不純物及び製剤の規格設定された分解生成物の安全性確認レベルの算出法

PTC923-2021-007 試験で使用したバッチ[redacted]中の DS の規格設定された不純物及び DP の規格設定された分解生成物、並びにバッチ[redacted]中の DS の規格設定された不純物の安全性確認レベルを決定し、結果を Table 49 に示した。

DS 中の不純物及び DP 中の分解生成物の安全性確認レベルは、以下に示す式及び数値を用いて、動物の NOAEL 及び体表面積補正係数からヒト等価用量（FDA 2005, Nair and Jacob 2016）及び不純物／分解生成物の相対的寄与率を算出した。

- 安全性確認レベル（%） $= \frac{\text{NOAEL}\left[\frac{\text{mg}}{\text{kg}}\right]\times\text{DP 中の分解生成物の割合（\%）}}{\text{1 日最大投与量（MDD）}\times\text{体表面積補正係数（6.1666）}}$
- 安全性確認レベル（%） $= \frac{\text{NOAEL}\left[\frac{\text{mg}}{\text{kg}}\right]\times\text{DS 中の不純物の割合（\%）}}{\text{1 日最大投与量（MDD）}\times\text{体表面積補正係数（6.1666）}}$
- NOAEL＝300 mg/kg/日（バッチ[redacted]）、100 mg/kg/日（バッチ[redacted]）
- 1 日最大投与量（MDD）=60 mg/kg/日

Table 49. バッチ[redacted]中の sepiapterin 原薬の不純物／製剤中の分解生成物及びバッチ[redacted]中の原薬の不純物の安全性確認レベル並びに規格

不純物又は分解生成物の ID	安全性確認レベル（Area %）	規格（Area %）
DS		
CC-49（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-77（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-06（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-10（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-11（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
DP		
CC-49（[redacted]）	[redacted]	[redacted]

略語：DP＝製剤、DS＝原薬、ID＝識別子、[redacted]

8.4.4.2.2 アロメトリックスケーリングに基づく安全域の算出

安全域は、PTC923-2021-007 試験において NOAEL の用量で投与したときの不純物及び分解生成物のレベル、申請する最高臨床用量である 60 mg/kg/日に対するアロメトリックスケーリングによる補正を用いた相対量、並びに DS 又は DP の規格に基づいて算出した。安全域の計算式を以下に、NOAEL 値を 8.4.4.2.1 項に示す。

- 安全域＝［動物の NOAEL（mg/kg）×不純物（%）］/［臨床用量（mg/kg）×不純物の規格レベル（%）×体表面積補正係数（6.1666）］
- 安全域＝［動物の NOAEL（mg/kg）×分解生成物（%）］/［臨床用量（mg/kg）×不純物の規格レベル（%）×体表面積補正係数（6.1666）］

不純物及び分解生成物の安全域を Table 50 に示す。

Table 50. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間ラット不純物安全性確認試験における sepiapterin 原薬及び製剤の規格並びに安全性確認レベルに基づく不純物及び分解物生成物の安全域

不純物又は分解生成物の ID	不純物又は分解生成物（Area %）	規格値（Area %）	安全域
DS			
CC-49（[redacted]）	[redacted]	[redacted]	6.5
CC-77（[redacted]）	[redacted]	[redacted]	1.4
CC-06（[redacted]）	[redacted]	[redacted]	1.1
CC-10（[redacted]）	[redacted]	[redacted]	1.0
CC-11（[redacted]）	[redacted]	[redacted]	1.1
DP			
CC-49（[redacted]）	[redacted]	[redacted]	2.2

略語：DP＝製剤、DS＝原薬、ID＝識別子、[redacted]

8.4.4.3 Sprague Dawley ラット 28 日間毒性試験 PTC923-2023-044 試験における不純物の安全性確認試験

PTC923-2023-044 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.18B3b）

不純物又は分解生成物の安全性確認戦略は、Sprague Dawley ラットを用いた専用の不純物安全性確認試験（GLP）に基づいている。

この試験の目的は、ラットに 28 日間連日強制経口投与したときの sepiapterin 及び不純物又は分解生成物の潜在的毒性を明らかにすることであった。

Table 51 に示すように、雌雄 Sprague Dawley ラットの各群に不純物／分解生成物を添加したバッチ又は無添加のエナンチオマーのバッチを投与した。

Table 51. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間不純物安全性確認試験の試験デザイン

群	投与（バッチ No.）	用量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	調整後の投与濃度（mg/mL）[a]	動物数	
					M	F
1	対照溶媒	0	0	0	10	10
2	Sepiapterin（[redacted]）	100	10	12.5	10	10
3	Sepiapterin（[redacted]）	100	10	12.6	10	10
4	Sepiapterin（[redacted]）	100	10	12.7	10	10
5	Sepiapterin（[redacted]）	100	10	NA	10	10
6	Sepiapterin（[redacted]）	5.6	1.12	2.21	10	10

略語：F＝雌、M＝雄、NA＝該当なし、No.＝番号
[a] 投与濃度は、適用される補正係数を用いて、水分含量又は要求される不純物／分解生成物の安全性確認レベルで調整した。第 2 群は 1.25 で調整した。第 3 群は 1.26 で調整した。第 4 群は 1.27 で調整した。第 5 群は調整しなかった。第 6 群は 1.97 で調整した。
[b] 溶媒（Oral Mix）を投与した。

試験の評価項目は、死亡率、一般状態、体重・体重変化、摂餌量、臨床病理学的検査（血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査及び尿検査）、眼科学的検査、器官重量、肉眼的観察、及び病理組織学的検査などであった。

DS の不純物／DP の分解生成物を添加した sepiapterin 及び sepiapterin（エナンチオマー）は、すべての用量で忍容性があった。死亡は認められず、一般状態、平均体重、平均体重変化量、摂餌量、臨床病理学的検査、眼科学的検査、平均器官重量の変化、肉眼的観察及び病理組織学的検査に及ぼす影響はなかった。

以上の結果から、雌雄の一般毒性に対する NOAEL は、100 mg/kg/日（sepiapterin DS）又は 5.6 mg/kg/日（エナンチオマー）であった。

それぞれ、モジュール 3、3.2.S.4.1「規格及び試験法」及びモジュール 3、3.2.P.5.1「規格及び試験法」に基づいて設定した DS の不純物及び DP の分解生成物の規格を Table 46 に示す。

PTC923-2023-044 試験で使用した DS 又は DP 中の規格設定された不純物又は分解生成物のレベルを Table 52 に示す。

Table 52. 雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間不純物安全性確認試験における sepiapterin 原薬の規格設定された不純物及び製剤の規格設定された分解生成物のレベル

DS		
不純物 ID	**不純物レベル（Area %）**	**バッチ**
CC-80（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
DP		
分解生成物 ID	**分解生成物レベル（Area %）**	**バッチ**
CC-75（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-77（[redacted]）		
CC-06（[redacted]）		
エナンチオマー		
エナンチオマーID	**キラル純度（%ee）**	**バッチ**
CC-18（[redacted]SP）	[redacted]	[redacted]

略語：DP＝製剤、DS＝原薬、ee＝エナンチオマー過剰率、ID＝識別子、[redacted]、[redacted]SP＝sepiapterin の[redacted]エナンチオマー
出典：PTC923-2023-044 試験最終試験報告書付録、分析証明書

8.4.4.3.1 規格設定された原薬の不純物及び規格設定された製剤の分解生成物の安全性確認レベルの算出法

PTC923-2023-044 試験で使用したバッチ中の DS の規格設定された不純物及び DP の規格設定された分解生成物について安全性確認レベルを決定し、結果を Table 53 に示した。

DS 中の不純物及び DP 中の分解生成物の安全性確認レベルは、8.4.4.2.1 項の式を用いて算出した。NOAEL 及び MDD を以下に示す。

- バッチ[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]の NOAEL＝100 mg/kg/日
- バッチ[redacted]の NOAEL＝5.6 mg/kg/日

・ MDD＝60 mg/kg/日

Table 53. 規格設定された原薬の不純物及び規格設定された製剤の分解生成物の安全性確認レベル

不純物／分解生成物の ID	安全性確認レベル（Area %）	規格（Area %）
DS		
CC-80（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
DP		
CC-75（[redacted]）	[redacted]	[redacted]
CC-77（[redacted]）		
CC-06（[redacted]）		
エナンチオマー		
エナンチオマーID	**安全性確認レベル（Area %）**	**規格（Area %）**
CC-18（[redacted]SP）	[redacted]	[redacted]

略語：DP＝製剤、DS＝原薬、ID＝識別子、[redacted]、[redacted]、[redacted]SP＝sepiapterin の[redacted]エナンチオマー

8.4.4.3.2 アロメトリックスケーリングに基づく安全域の算出

安全域は、PTC923-2023-044 試験において NOAEL の用量で投与したときの不純物及び分解生成物のレベル、申請する最高臨床用量である 60 mg/kg/日に対するアロメトリックスケーリングによる補正を用いた相対量、並びに DS 又は DP の規格に基づいて算出した。安全域の算出式を 8.4.4.2.2 項に示す。

不純物及び分解生成物の安全域を Table 54 に示す。

Table 54. Sepiapterin 原薬及び製剤の規格並びに雌雄 Sprague Dawley ラットにおける sepiapterin の強制経口投与による 28 日間不純物安全性確認試験における安全性確認レベルに基づく不純物及び分解生成物の安全域

不純物／分解生成物の ID	不純物又は分解生成物（Area %）	規格値（Area %）	安全域
DS			
CC-80（[redacted]）	1.2	[redacted]	1.1
DP			
CC-75（[redacted]）	1.8	[redacted]	1.3
CC-77（[redacted]）	3.5		3.0
CC-06（[redacted]）	6.7		1.4
エナンチオマー			
エナンチオマーID	**面積%**	**規格値（Area %）**	**安全域**
CC-18（[redacted]SP）	[redacted][a]	[redacted]	1.5

略語：DP＝製剤、DS＝原薬、ee＝エナンチオマー過剰率、ID＝識別子、[redacted]、[redacted]、[redacted]SP＝sepiapterin の[redacted]エナンチオマー、S＝sepiapterin
[a] [redacted]SP エナンチオマーは、バッチ[redacted]で[redacted]% ee と報告されている。
注：ee＝(R-S)/(R+S)

8.4.4.4 不純物の安全性確認試験の要約

DS 及び DP 中の不純物、分解生成物及びエナンチオマーの安全域は、規格並びにラット 28 日間試験 PTC923-2021-007 試験及び PTC923-2023-044 試験における安全性確認レベルに基づいて算出し、要約を Table 55 に示す。

Table 55. 雌雄 Sprague Dawley ラットに sepiapterin を強制経口投与した 28 日間の試験における規格及び安全性確認レベルに基づいた不純物及び分解生成物の安全域

DS の不純物				
不純物名		規格 (Area %)	安全性確認レベル (Area %)	安全域
[redacted]	CC-49	[redacted]	[redacted]	6.5
	CC-77			1.4
	CC-06	[redacted][a]		1.1
	CC-80			1.1
	CC-10			1.0
[redacted]	CC-11	[redacted]	[redacted]	1.1
DP の分解生成物				
不純物名		**規格 (Area %)**	**安全性確認レベル (Area %)**	**安全域**
[redacted]	CC-75	[redacted]	[redacted]	1.3
	CC-77			3.0
	CC-49			2.2
	CC-06	[redacted][a]		1.4
エナンチオマー				
エナンチオマー		**規格 (Area %)**	**安全性確認レベル (Area %)**	**安全域**
CC-18（[redacted]SP）		[redacted]	[redacted]	1.5

略語：DP＝製剤、DS＝原薬、NMT＝以下、[redacted]、[redacted]SP＝sepiapterin の[redacted]エナンチオマー
[a] 原薬では、規格を[redacted]%に設定する。製剤では、規格を[redacted]%又は相当の値に設定する。

ラット 28 日間毒性試験に基づき、すべての不純物の安全性確認レベルは、モジュール 3、3.2.S.4.1「規格及び試験法」及びモジュール 3、3.2.P.5.1「規格及び試験法」で提案された規格を上回る。

8.4.5 不純物の遺伝毒性評価

Sepiapterin に含まれるの規格設定されたすべての不純物の遺伝毒性については、下記の試験及び計算に基づいて十分に評価され、いずれも遺伝毒性又はがん原性を示さないと判断した。

医薬品規制調和国際会議（ICH）M7(R2)に準拠した定量的構造活性相関（[Q]SAR）評価を sepiapterin 原薬及び製剤のすべての不純物／分解生成物について実施し、専門的経験に基づくルールベースの方法（DEREK 又は Leadscope）、統計ベースの方法及びパラメータ（Leadscope）に遺伝毒性及びげっ歯類がん原性データベースを加えて検索を実施した（Leadscope SAR genetox 及び Leadscope SAR carcinogenicity）。Sepiapterin の規格設定された不純物はすべて、警告構造を有しないか、警告構造を有するが変異原性もしくは発がん性のないことを示す十分なデータが存在するクラス 5（CC-75、CC-77、CC-06、CC-11、CC-18 及び R-鏡像体）であるか、又は警告構造を有するが、試験によって変異原性がないことが示されている原薬と同じ警告構造であるクラス 4（CC-76、CC-49、CC-80 及び CC-10）であった。

これらの不純物を含む sepiapterin 原薬について、血液標本中の幼若赤血球（多染性赤血球［PCE］）の小核出現頻度を求めることによる染色体異常誘発活性及びラット肝細胞中の DNA 損傷を検出することによる遺伝毒性を評価する in vivo 試験で検討した（CNSA-TOX-005-2017 試験：4.2.1 項）。本試験で経口投与した sepiapterin には Table 56 に示すレベルで規格設定された不純物が

存在していた。本試験の結果は評価した最高用量（2000 mg/kg/日）まで陰性であり、その用量でのこれら 7 種類の規格設定された不純物（CC-49、CC-77、CC-06、CC-80、CC-10、CC-11 及び CC-18）の安全性確認レベルは申請資料に記載の規格値の 1.1～75 倍であった。

さらに、規格設定された不純物が存在している sepiapterin 原薬について、Tg.rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験で検討した（PTC923-2023-070 試験）。規格設定された不純物が存在する sepiapterin を Tg.rasH2 マウスに 26 週間強制経口投与したとき、検討した最高用量である 1000 mg/kg/日までの用量でがん原性作用は認められなかった。この試験で投与した sepiapterin には Table 57 に示すレベル 7 で規格設定された不純物すべて存在していた。1000 mg/kg/日では、全 7 種類の規格設定された不純物（CC-49、CC-77、CC-06、CC-80、CC-10、CC-11 及び CC-18）の安全性確認レベルは申請資料に記載の規格値の 1.7～10.8 倍であった。

さらに、製剤の分解生成物である CC-77、CC-49 及び CC-06 は原薬から生じた不純物である。また、製剤の分解生成物である CC-75 は CC-77（原薬の不純物）の酸化体であり、CC-75（酸化体）と CC-77（還元体）は製剤中に共存する。CC-76（製剤の分解生成物）は、加熱条件下で CC-06（原薬の不純物）の異性化によって生成され、CC-06 と構造的に類似している。

以上のデータに基づき、sepiapterin の規格設定された不純物及び分解生成物（CC-49、CC-75、CC-77、CC-06、CC-80、CC-10、CC-11 及び CC-18）はいずれも遺伝毒性又はがん原性を示さないと判断した。

Table 56. Sprague-Dawley ラットを用いた in vivo 小核／コメット試験に基づく不純物の安全性確認

Sepiapterin 毒性試験における染色体異常誘発性に対する無影響用量 (mg/kg)	不純物	**毒性試験 Lot の不純物レベル (%w/w)**	**毒性試験不純物の無影響量 (mg/kg)[a]**	**安全性確認レベル (%w/w)[b]**	**原薬（該当する場合は製剤）の規格値 (%w/w)**	**安全性確認レベル (%) vs 原薬（該当する場合は製剤）の規格値 (%w/w)**	**毒性確認 GLP 試験**
2000	CC-49	[redacted]	0.6	[redacted]	[redacted]	10-fold (4-fold)	Evaluation of Micronuclei and DNA Damage in Sprague-Dawley Rats Administered CNSA-001 Batch No. [redacted]
	CC-77	[redacted]	3.4	[redacted]	[redacted]	23-fold (9.5-fold)	
	CC-06	[redacted]	5.2	[redacted]	[redacted]	7.2-fold (2.9-fold)	
	CC-80	[redacted]	0.2	[redacted]	[redacted]	1.1-fold	
	CC-10	[redacted]	0.4	[redacted]	[redacted]	3.3-fold	
	CC-11	[redacted]	3.2	[redacted]	[redacted]	3.1-fold	
	CC-18	[redacted]	22.4	[redacted]	[redacted]	75-fold	

略語: GLP, Good Laboratory Practice
a 原薬バッチデータに基づく in vivo 小核／コメット試験からの不純物量(mg/kg/day)
b 安全性確認レベル (%) = 毒性試験 Lot の不純物レベル(%) * ([ラット染色体異常誘発性に対する無影響量(mg/kg)] / [ヒト用量レベル(mg/kg)])
出典: Study CNSA-TOX-005-2017

Table 57.　Tg.rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験に基づく不純物の安全性確認

Sepiapterin 毒性試験におけるがん原性に対する無影響用量 (mg/kg)	不純物	**毒性試験 Lot の不純物レベル(%w/w)**	**毒性試験不純物の無影響量 (mg/kg)a**	**安全性確認レベル (%w/w)b**	**原薬（該当する場合は製剤）の規格値 (%w/w)**	**安全性確認レベル (%) vs 原薬（該当する場合は製剤）の規格値 (%w/w)**	**毒性確認 GLP 試験**
1000	CC-49	[redacted]	0.3	[redacted]	[redacted]	5-fold (2-fold)	26-week carcinogenicity study in Tg.rasH2 mice Batch No: [redacted]
	CC-77	[redacted]	0.4	[redacted]	[redacted]	2.8-fold (1.1-fold)	
	CC-06	[redacted]	3.5	[redacted]	[redacted]	4.8-fold (1.9-fold)	
	CC-80	[redacted]	0.3	[redacted]	[redacted]	1.7-fold	
	CC-10	[redacted]	0.3	[redacted]	[redacted]	2.5-fold	
	CC-11	[redacted]	11	[redacted]	[redacted]	10.8-fold	
	CC-18	[redacted]	2	[redacted]	[redacted]	6.6-fold	

略語: GLP, Good Laboratory Practice
a 原薬バッチデータに基づく Tg.rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験からの不純物量(mg/kg/day)
b 安全性確認レベル (%) = 毒性試験 Lot の不純物レベル(%) * ([マウスがん原性試験無影響量(mg/kg)] / [ヒト用量レベル(mg/kg)])
出典: Study PTC923-2023-070

8.4.6 Sepiapterin 製剤添加剤の安全性の根拠

小児及び成人患者の年齢に関連した添加剤のリスク評価を実施した。公表文献及び関連データベース［欧州小児用製剤イニシアチブ（EuPFI）小児向け安全性及び毒性（STEP）データベース及び米国 FDA 添加剤ガイド（IIG）など］に記載されている非臨床及び臨床試験からの毒性情報に基づき、1 日あたり最大量の sepiapterin を服用する小児及び成人患者で摂取される各添加剤の 1 日総投与量では、小児及び成人に安全性リスクはないものと予想される（Table 58 及び Table 59）。

Table 58. Sepiapterin の添加剤の小児における 1 日最大曝露量及び EuPFI STEP データベースの限度値

添加剤	Sepiapterin 中の添加剤の 1 日最大量（mg/kg/日）				小児臨床試験及び非臨床試験で使用した添加剤の最大値（mg/kg/日）（参考）	小児臨床試験及び非臨床試験における評価時の年齢	EuPFI STEP データベースに基づく 1 日摂取許容量（EuPFI ウェブサイトには 2024 年 2 月にアクセス）
	生後 0～6 ヵ月未満	生後 6～12 ヵ月未満	生後 12～24 ヵ月未満	2 歳以上			
Sepiapterin	7.5	15	30	60	NA	NA	NA
イソマル水和物	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	5000（FAO/WHO 1985）	子宮内曝露及びその後生後 1 年間投与したラット	見当たらず
結晶セルロース	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	506（EFSA 2018）	幼児（ヒト）	規定なし
D-マンニトール	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	100（Dupont 1992）	5～35 ヵ月齢の小児（ヒト）	規定なし
クロスカルメロースナトリウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	506（EFSA 2018）	幼児（ヒト）	規定なし
キサンタンガム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	500（Woodard 1973）	ラット 3 世代繁殖試験	最大 1.2 g/L
軽質無水ケイ酸	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	800（Newberne and Wilson 1970）	80～100 g の幼若ラット、4 週間投与	規定なし
スクラロース	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	3000（Goldsmith 2000）	30～33 日齢ラット、26 週間	0～15 mg/kg 体重
ステアリン酸マグネシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	2500（Søndergaard 1980）	幼若ラット（週齢不明）	割当てなし

略語：EuPFi＝European Paediatric Formulation Initiative、max＝最大値、NA＝該当せず、STEP＝Safety and Toxicity of Excipients for Pediatrics（小児用製剤の添加剤の安全性及び毒性）

Table 59. Sepiapterin の添加剤の成人 1 日最大曝露量及び IIG データベースの限度値

添加剤	Sepiapterin 60 mg/kg/日中の添加剤の1日最大量		臨床試験及び非臨床試験で評価した添加剤の最高量（参考）	臨床試験及び非臨床試験における被験者及び評価時の年齢	IIG データベースに基づく市販経口製剤で使用される最大レベル（mg/単位）（FDA ウェブサイトには 2024 年 10 月にアクセス）
	mg/kg/日 [a]	mg/日			
イソマル水和物	[redacted]	[redacted]	66,000 mg/日（Livesey 2001）	成人（ヒト）	1,718.71
結晶セルロース	[redacted]	[redacted]	45,000 mg（Oku 2008）	成人女性（ヒト）	4,441
D-マンニトール	[redacted]	[redacted]	7,500 mg/kg/日（Aridol 2009）	ラット及びマウス 2 年間がん原性試験	14,594
クロスカルメロースナトリウム	[redacted]	[redacted]	30,000 mg/kg（SCF 1998）	成人（ヒト）	560
キサンタンガム	[redacted]	[redacted]	12,900 mg（Eastwood 1987）	成人男性（ヒト）	352
軽質無水ケイ酸	[redacted]	[redacted]	50 mg/kg（Cho 2009）	幼若マウス	5,000
スクラロース	[redacted]	[redacted]	667 mg（Grotz 2003）	成人男女（ヒト）	264
ステアリン酸マグネシウム	[redacted]	[redacted]	元素マグネシウム 128 mg（Harrison 2007）	成人女性（ヒト）	629

略語：IIG＝不活性化成分ガイド、max＝最大値
[a] 平均体重を 60 kg として算出した。

イソマル水和物

イソマル水和物は砂糖の代替品で、主として物理的性質が糖に似ているという理由で使用される糖アルコールの一種である（FAO/WHO 1985, McNutt and Sentko 2003）。イソマル水和物が完全に加水分解されると、ブドウ糖（50%）、ソルビトール（25%）及び D-マンニトール（25%）が生成される。

イソマル水和物は食品添加物であり、米国 FDA により一般に安全と認められている（GRAS）。世界保健機関（WHO）は、イソマル水和物の 1 日摂取許容量（ADI）を設定する必要はないと判断した。この結論は、毒性試験で示されたイソマル水和物の低毒性により裏付けられる。イソマル水和物を子宮内曝露から 1 年間継続してラットの飼料に 10%までの濃度（約 5,000 mg/kg 体重に相当）で混餌投与したときは、毒性作用は誘発されなかった。

ただし、ヒトでは 1 日あたり 20～30 g の高摂取量で緩下作用が認められた（Lee A 2002）。

患者に投与されるイソマル水和物の推定 1 日最大曝露量（mg/日）は[redacted]mg/日で、平均体重 60 kg の患者では[redacted]mg/kg/日である。この値はヒトでの緩下作用に関連すると考えられる用量の[redacted]分の 1 である。この値は、ラットを用いた 1 年間反復投与毒性試験における NOAEL の[redacted]分の 1 でもある。したがってこの場合、イソマル水和物への潜在的な最大曝露量は患者に安全性リスクはないものと予想される。

8.5 光毒性評価

PTC923-2021-010 試験（モジュール 2.6.7、表 2.6.7.18C）

この GLP 適合試験の目的は、sepiapterin 曝露と紫外線を照射した（+UVR）BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞の生存率を、紫外線を照射しないで（-UVR）sepiapterin 曝露させた線維芽細胞の生存率と比較した生存率の相対低下率として、sepiapterin の光毒性を評価することであった。プロメタジンを陽性対照として使用した。

溶解性評価から、pH 6.7～7.0 で Ca^{2+}及び Mg^{2+}イオンを添加した 1% DMSO／ダルベッコリン酸緩衝液（DPBS）中の被験物質の溶解限界値は 100 µg/mL であることが明らかとなった。この用量設定試験では、細胞毒性及び光毒性の 50%阻害濃度（IC_{50}）には到達しなかった。

確定試験に使用した sepiapterin 及びプロメタジンの濃度を Table 60 に示す。

Table 60. Sepiapterin の光毒性評価の確定試験で使用した濃度（µg/mL）

被験物質	確定試験 1 及び 2							
プロメタジン	0.100	0.316	1.00	3.16	10.0	31.6	100	178
Sepiapterin	1.78	3.16	5.62	10	17.8	31.6	56.2	111[a]

[a] 治験実施計画書で定めた濃度（100 µg/mL）となるように調製した。

確定的試験では、Schott WG 320 1 mm フィルターを装備したキセノンアークソーラーシミュレータからの 5 J/cm² の UVA 及び 23 mJ/cm² の UVB に細胞を曝露させた。

確定試験の結果を Table 61 に記載する。

Table 61. Sepiapterin の光毒性評価における確定試験の結果

被験物質	IC_{50} (μg/mL) – UVR	IC_{50} (μg/mL) +UVR	PIF[a]	MPE[b]	光毒性[c]	UVR 生存率[d]	OD_{540}[e]
プロメタジン	115.438	0.705	166.728	0.707	あり	84	0.434
Sepiapterin（試験 1）	到達せず	到達せず	*1	0.333	なし	85	0.404
Sepiapterin（試験 2）	到達せず	到達せず	*1	0.323	なし	90	0.446

略語：-UVR＝UVR 曝露なしの細胞毒性、+UVR＝UVR 暴露ありの光毒性、IC_{50}＝50%阻害濃度、MPE＝平均光効果、PIF＝光刺激係数、OD_{540}＝540 nm フィルターを用いた吸光度、UVR＝紫外線照射

[a] PIF＝*1：IC_{50}（-UVR）及び IC_{50}（+UVR）のいずれもに到達しなかった（被験物質は細胞毒性又は光毒性を示さなかった）ことから、光毒性の可能性はないことが示された。この場合、正式な PIF＝*1 を用いて結果の特性を評価する。

[b] MPE： 平均光効果：「光毒性あり」の基準は MPE が 0.150 以上である。

[c] 「光毒性ありの基準は PIF が 5.000 以上である。

[d] 基準は 80%超である。

[e] 基準は 0.400 以上である。

OECD 432 で推奨されている 540 nm フィルター（OD_{540}）を用いた細胞生存率及び吸光度の基準、並びにプロメタジンの細胞毒性及び光毒性の基準に適合し、試験が有効であったことが示された。

確定試験に使用した DMSO を用いた原液の分析結果は、確定試験 2 の最低濃度である 0.178 mg/mL のサンプル（134%）を除き、治験実施計画書で規定した濃度の基準を満たした。治験実施計画書に規定された判定基準からのずれは試験結果の解釈に影響しなかった。より高濃度（判定基準内）で光毒性が認められなかったことから、最低濃度が潜在的な光毒性作用に及ぼす影響は極めて小さいことが確認されるためである。

光刺激係数（PIF）及び平均光作用（MPE）の評価項目を用いて、sepiapterin の光毒性を評価した。細胞毒性及び光毒性の IC_{50} 値に基づいて PIF を算出したところ、光毒性のエビデンスは認められなかった。明（+UVR）条件及び暗（-UVR）条件のいずれでも IC_{50} に達しなかったため、結果は正式な PIF は「*1」とした。これは、化合物が光毒性を示さないことを明示するものである。

光毒性を評価するために用いた 2 番目の方法は MPE であり、これは、明条件と暗条件で得られた用量反応曲線の差を比較計算する（基本的に曲線下面積の比較）。照射プレートの吸光度が低かったために、MPE 値が 0.150 以上となったが、UVR 曝露プレートの吸光度は評価した全濃度を通じて一貫しており、非曝露プレートよりも低値であったため、これは光毒性反応によるものではなかった。ソフトウェアはこの差を算出し、陽性対照でみられるような真の用量依存性の反応はないにもかかわらず、「陽性」の結果を返した。用量設定試験においても、この非用量依存性の傾向がかすかに見受けられた。UVR 曝露プレートにおけるこの吸光度低下の理由は不明であるが、最終的にこの in vitro 試験では、sepiapterin は光毒性を示さないと判断された。

したがって、1% DMSO 添加 DPBS 中の sepiapterin は、検討した最高濃度（111 μg/mL）まで、ニュートラルレッド取込み光毒性試験で光毒性を示さなかった。

9. 考察及び結論

Sepiapterin の非臨床試験から、本剤の毒性及び安全性を包括的に評価することが可能である。本プログラムでは、反復投与毒性、遺伝毒性、生殖発生毒性、幼若動物毒性及び光毒性を評価した。

反復投与試験の要約及び毒性学的に懸念される所見を Table 62 に示す。

Table 62. Sepiapterin の反復投与試験の要約

動物種	投与期間	NOAEL（mg/kg/日）	BH_4 の TK パラメータ（NOAEL）	標的臓器（用量）	
ラット	14 日間（14 日間回復期間）	1000	C_{max}： M： 2,990 ng/mL F：3,630 ng/mL $AUC_{0\text{-}24h}$： M：28,900 h•ng/mL F：29,500 h•ng/mL	なし	
ラット	13 週間（28 日間回復期間）	100	C_{max}： M：1,400 ng/mL F：2,380 ng/mL $AUC_{0\text{-}24h}$： M：9,790 h•ng/mL F：9,340 h•ng/mL	**腎臓（300 mg/kg/日）**	
				投与期間終了時（M 及び F）： 軽微～軽度の尿細管変性 尿細管結晶 腎臓重量の増加 血清尿素／クレアチニン高値	**回復期間終了時（M 及び F）：** 軽微な尿細管変性 腎臓重量の増加 血清クレアチニン高値
ラット	26 週間（6 ヵ月間）（4 週間回復期間）	30	C_{max}： M：710 ng/mL F：915 ng/mL $AUC_{0\text{-}24h}$： M：4,830 h•ng/mL F：4,410 h•ng/mL	**腎臓（100 mg/kg/日及び 200 mg/kg/日）**	
				投与期間終了時（M 及び F）： 中等度～高度尿細管変性・再生 尿細管変性・再生領域における軽微～軽度の両染性結晶 軽微～軽度の尿細管過形成 中等度の間質性炎症 軽微～軽度の間質性腎線維症 血清尿素／クレアチニン高値	**回復期間終了時（100 mg/kg/日は 1F のみ）：** 中等度の尿細管変性・再生 中等度の間質性炎症 軽度の間質性腎線維症
サル	14 日間（14 日間回復期間）	1,000	C_{max}： M：3,527 ng/mL F：5,163 ng/mL $AUC_{0\text{-}24h}$： M：19,102 h•ng/mL F：31,986 h•ng/mL	なし	
サル	13 週間（28 日間回復期間）	300	C_{max}： M：1,435 ng/mL F：1,345 ng/mL $AUC_{0\text{-}24h}$： M：5,652 h•ng/mL F：8,970 h•ng/mL	なし	

動物種	投与期間	NOAEL（mg/kg/日）	BH_4 の TK パラメータ（NOAEL）	標的臓器（用量）
サル	39 週間（9 ヵ月間）（4 週間回復期間）	300	C_{max}： M：3,430 ng/mL F：3,060 ng/mL $AUC_{0\text{-}24h}$： M：24,200 h•ng/mL F：14,900 h•ng/mL	なし

略語：$AUC_{0\text{-}24h}$＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、F＝雌、M＝雄、NOAEL＝無毒性量、TK＝トキシコキネティックス

詳細を Table 62 に示すように、ラット 13 週間及び 26 週間試験で腎臓に毒性学的に意義のある所見が認められた。

ラット 13 週間試験では、腎臓の所見としては、300 mg/kg/日群で結晶沈着を伴う又は伴わない尿細管変性、腎臓重量の増加、並びに血清尿素及び血清クレアチニンの増加が認められた。4 週間の回復期間終了後、尿細管変性は部分的に回復し、血清尿素濃度の増加も回復したが、腎臓重量の増加及び血清クレアチニン高値は持続していた。

慢性毒性試験の 100 mg/kg/日群及び 200 mg/kg/日群の雌雄で、最長 26 週間の連日投与後に同様の有害な腎変化が認められた。腎臓の有害な変化は、中等度～顕著な尿細管変性及び再生で、この所見は、細胞傷害及びその後の修復を示している（Frazier 2012）。また、腎臓の遠位乳頭集合管内の尿細管での結晶沈着、中等度の間質性炎症、並びに軽微～軽度の腎線維症も認められた。
200 mg/kg/日群の腎臓で有害所見が認められた雄では、血清尿素及び血清クレアチニンの高値が認められた。26 週間試験では、結晶沈着は軽微～軽度の尿細管上皮細胞過形成（単純性過形成）を伴っていた。単純性過形成は一般に、増殖性尿細管細胞の単層として観察され、化合物誘発性尿細管変性に関連する反応、又は細胞損傷領域における再生性・反応性過形成として認められ、腎臓の尿細管ネフロン系全体にみられることがある（Frazier 2012）。したがって、ラット 26 週間試験でみられたこの単純性過形成は、腎臓における sepiapterin に関連した炎症及び結晶の存在に対する二次的反応・適応反応だと考えられた。結晶がもはや存在しない回復動物では、乳頭管過形成病変が認められなかったことから、この所見は反応性・適応性であることが裏付けられた。重要なことは、不可逆的で尿細管腺腫の必須前駆体である異型尿細管過形成とは対照的に、この種の単純性尿細管過形成は、結晶が無くなれば、完全に可逆的となり正常な形態となることで、前腫瘍性変化ではないと判断される。（Frazier 2012, Seely 2017, Frazier and Seeley 2019）。

4 週間の回復期間後は、100 mg/kg/日群及び 200 mg/kg/日群の雄及び 200 mg/kg/日群の雌の腎臓に、sepiapterin に関連した変化は認められず、完全に回復したことが示された。腎臓の有害所見として、中等度の尿細管変性、中等度の間質性炎症及び軽度の間質性線維症が 100 mg/kg/日群の雌 1 匹にのみに認められたが、これらの所見は部分的に可逆性であった。上述したように、結晶及び尿細管過形成はいずれの回復動物でも認められなかった。

300 mg/kg/日までの用量で、長期間（最長 9 ヵ月間）sepiapterin を投与したマーモセットの腎臓及び他の臓器に所見は認められなかった。なお、この用量で BH_4 の $AUC_{0\text{-}24h}$ は 19,550 h•ng/mL であった（腎所見が認められたラットでの曝露量の約 1.7 倍）。

ラット試験で認められた腎臓の所見は可逆的であり、モニタリング可能であった。

ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生、ラット及びウサギの胚・胎児発生、ラットの出生前及び出生後の発生に悪影響は認められなかった。さらに、幼若ラットを用いた毒性試験でも、sepiapterin の有害作用は認められなかった。

細菌を用いる復帰突然変異（Ames）試験の結果が陰性であったこと、並びに MN 試験及びコメット試験を含む 2 つの評価項目を用いた in vivo ラット遺伝毒性試験の結果が陰性であったことから、sepiapterin に遺伝毒性はない。

トランスジェニックマウスを用いて実施した sepiapterin の 26 週間がん原性試験では、sepiapterin 投与マウスにおいて生存に影響を及ぼさず、がん原性作用がなく、非腫瘍性病理組織学的所見も認められなかった。これらの結論は、sepiapterin の発がんリスクは極めて低いと結論づけた WOE の結論と一致する。。

In vitro 光毒性試験に基づくと、sepiapterin に光毒性はなかった。

ほ乳類反復投与毒性試験において、免疫系に対して sepiapterin に関連した影響は認められなかったことから、免疫毒性評価は実施しなかった。

代謝物 BH_4 の評価も含めた化学（構造活性評価、抽出、変換、昇華及び溶解性）、非臨床安全性データ（毒性及び安全性薬理）、PK データ、臨床データ、薬理活性並びに文献データなどの WOE 評価から、sepiapterin の乱用可能性は極めて低いと結論づけた。したがって、追加の乱用傾向試験は不要とされた。

製造工程由来不純物が sepiapterin DS 中に認められたが、毒性試験で適切に安全性が確認された。さらに、sepiapterin DP の潜在的分解生成物についても毒性試験で安全性が確認された。Sepiapterin の実際の不純物及び潜在的な変異原性不純物のリスク評価を ICH M7 ガイドライン（ICH 2023）に従って実施した。安全性及び品質データから、ヒトに対する明らかな変異原性リスクはないことが示された。

結論として、sepiapterin の毒性プロファイルが包括的に特徴づけられた。総合すると、種々の毒性試験から、小児及び成人 PKU 患者の治療に申請する sepiapterin の最高用量 60 mg/kg/日の使用を支持する安全性プロファイルが確認された。

10. 参考文献

Aridol. (2009). "FDA Pharmacology/Toxicology Review and Evaluation: Aridol (inhaled Mannitol)." Retrieved 5 March 2024, from https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2010/022368Orig1s000PharmR.pdf.

Barroso, M, Hutwelker, W, Goebel, I, Appl, B, Laubach, NC, Muntau, AC, et al. (2024). Investigating the Pharmacological Chaperone Effect of Sepiapterin in Phenylketonuria. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism; 03-06 September 2024, Porto, Portugal.

Bowes, J, Brown, AJ, Hamon, J, Jarolimek, W, Sridhar, A, Waldron, G and Whitebread, S. Reducing Safety-Related Drug Attrition: The Use of In Vitro Pharmacological Profiling. Nat Rev Drug Discov 2012;11(12):909-922.

Burton, BK, Grange, DK, Milanowski, A, Vockley, G, Feillet, F, Crombez, EA, et al. The Response of Patients With Phenylketonuria and Elevated Serum Phenylalanine to Treatment With Oral Sapropterin Dihydrochloride (6R-tetrahydrobiopterin): A Phase II, Multicentre, Open-Label, Screening Study. J Inherit Metab Dis 2007;30(5):700-707.

Butt, MT, Whitney, KM, Davis, W, Akella, S, Parker, S and Foley, GL. Microscopic Background Changes in Brains of Cynomolgus Monkeys. Toxicol Pathol 2015;43(4):513-518.

Cho, M, Cho, W, Choi, M, Kim, S, Han, B, Kim, S, et al. The Impact of Size on Tissue Distribution and Elimination by Single Intravenous Injection of Silica Nanoparticles. Toxicol Lett 2009;189:177-183.

Cohen, SM. Crystalluria and Chronic Kidney Disease. Toxicol Pathol 2018a;46(8):949-955.

Cohen, SM. Screening for human urinary bladder carcinogens: two-year bioassay is unnecessary. Toxicol Res (Camb) 2018b;7(4):565-575.

Collins, MG, Rogers, NM, Jesudason, S, Kireta, S, Brealey, J and Coates, PT. Spontaneous Glomerular Mesangial Lesions in Common Marmoset Monkeys (Callithrix jacchus): A Benign Non-Progressive Glomerulopathy. J Med Primatol 2014;43(6):477-487.

Dominick, MA, White, MR, Sanderson, TP, Van Vleet, T, Cohen, SM, Arnold, LE, et al. Urothelial carcinogenesis in the urinary bladder of male rats treated with muraglitazar, a PPAR alpha/gamma agonist: Evidence for urolithiasis as the inciting event in the mode of action. Toxicol Pathol 2006;34(7):903-920.

Dupont, C, Moreno, J, Barau, E, Bargaoui, K, Thiane, E and Plique, O. Effect of Diosmectite on Intestinal Permeability Changes in Acute Diarrhea: A Double-Blind Placebo-Controlled Trial. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1992;14:413-419.

Eastwood, M, Brydon, W and Anderson, D. The Dietary Effects of Xanthan Gum in Man. Food Addit Contam 1987;4:17-26.

EFSA, Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food, Younes, M, Aggett, P, Aguilar, F, Crebelli, R, et al. Re-Evaluation of Celluloses E 460(i), E 460(ii), E 461, E 462, E 463, E 464, E 465, E 466, E 468 and E 469 as Food Additives. EFSA J 2018;16(1):e05047.

FAO/WHO (1985). Food and Agriculture Organization (FAO)/World Health Organization (WHO). Expert Committee on Food Additives: Expert Committee on Food Additives. Summary of Toxicological Data of Certain Food Additives Series 20: Isomalt (64519-82-0).

FDA (2005). Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. CDER.

Flydal, MI, Alcorlo-Pages, M, Johannessen, FG, Martinez-Caballero, S, Skjaerven, L, Fernandez-Leiro, R, et al. Structure of Full-Length Human Phenylalanine Hydroxylase in Complex With Tetrahydrobiopterin. Proc Natl Acad Sci U S A 2019;116(23):11229-11234.

Frazier, K and Seeley, J (2019). Urinary System. In Toxicologic Pathology: Nonclinical Safety Assessment. P. Sahota, J. Popp, P. Bouchard, J. Hardisty and C. Gopinath, CMC Press/Taylor and Francis.

Frazier, KS and Seely, JC (2019). Urinary System. In: Toxicologic Pathology: Nonclinical Safety Assessment (2nd ed).

Frazier, KS, Seely, JC, Hard, GC, Betton, G, Burnett, R, Nakatsuji, S, et al. Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Urinary System. Toxicol Pathol 2012;40(4 Suppl):14S-86S.

Friedrich, A and Olejniczak, K. Evaluation of Carcinogenicity Studies of Medicinal Products for Human Use Authorised Via the European Centralised Procedure (1995-2009). Regul Toxicol Pharmacol 2011;60(2):225-248.

Gersting, S, Barroso, M, Etzold, S and Smith, N. The Effects of the Pharmacological Chaperone Sepiapterin on Phenylalanine Hydroxylase Activity of Common Variants in Phenylketonuria. Genetics in Medicine Open 2023;1(1):17.

Goldsmith, L. Acute and Subchronic Toxicity of Sucralose. Food Chem Toxicol 2000;38:S53-69.

Greaves, P (2012). Histopathology of Preclinical Toxicity Studies: Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation; Academic Press.

Greim, H, Hartwig, A, Reuter, U, Richter-Reichhelm, H and Thielmann, H. Chemically Induced Pheochromocytomas in Rats: Mechanisms and Relevance for Human Risk Assessment. Crit Rev Toxicol 2009;39:695-718.

Grotz, V, Henry, R, McGill, J, Prince, M, Shamoon, H, Trout, J and Pi-Sunyer, F. Lack of Effect of Sucralose on Glucose Homeostasis in Subjects with Type 2 Diabetes. J Am Diet Assoc 2003;103:1607-1612.

Harrison, V, Fawcus, S and Jordann, E. Magnesium Supplementation and Perinatal Hypoxia: Outcome of a Parallel Group Randomised Trial in Pregnancy. BJOG 2007;114:994-1002.

ICH. (2005). "S8 Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals." from https://database.ich.org/sites/default/files/S8_Guideline_0.pdf.

ICH. (2012). "S2(R1): Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use." from https://database.ich.org/sites/default/files/S2_R1_Guideline.pdf.

ICH. (2023). "M7(R2): Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk." from https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_M7%28R2%29_Guideline_Step4_2023_0216_0.pdf.

Isobe, K, Adachi, K, Hayashi, S, Ito, T, Miyoshi, A, Kato, A and Suzuki, M. Spontaneous Glomerular and Tubulointerstitial Lesions in Common Marmosets (Callithrix jacchus). Vet Pathol 2012;49(5):839-845.

Joppi, R, Bertele, V and Garattini, S. Orphan Drugs, Orphan Diseases. The First Decade of Orphan Drug Legislation in the EU. Eur J Clin Pharmacol 2013;69(4):1009-1024.

Jurecki, ER, Cederbaum, S, Kopesky, J, Perry, K, Rohr, F, Sanchez-Valle, A, et al. Adherence to Clinic Recommendations Among Patients With Phenylketonuria in the United States. Mol Genetics Metab 2017;120(3):190-197.

Katoh, S, Arai, Y, Taketani, T and Yamada, S. Sepiapterin Reductase in Blood of Various Animals and of Leukemic Rats. Biochim Biophys Acta 1974;370:378-388.

Korte, S and Everitt, J (2019). The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research; American College of Laboratory Animal Medicine Series.

Kramer, JA (2019). Diseases of the Gastrointestinal System. In The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research. R. Marini, L. Wachtman, S. Tardif, K. Mansfield and J. Fox, Elsevier:213-230.

KUVAN USPI. (2021). "KUVAN United States Prescribing Information." Retrieved 09 September 2022, 2022, from https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/022181s020,205065s006lbl.pdf.

Lee A, WD, Zumbe A, Storey DM. The Comparative Gastrointestinal Responses of Children and Adults Following Consumption of Sweets Formulated with Sucrose, Isomalt and Lycasin. Eur J Clin Nutr 2002;Aug:45(8):755-764.

Levy, HL, Milanowski, A, Chakrapani, A, Cleary, M, Lee, P, Trefz, FK, et al. Efficacy of Sapropterin Dihydrochloride (Tetrahydrobiopterin, 6R-BH4) for Reduction of Phenylalanine Concentration in Patients With Phenylketonuria: A Phase III Randomised Placebo-Controlled Study. Lancet 2007;370(9586):504-510.

Livesey, G. Tolerance of Low-Digestible Carbohydrates: A General View. Br J Nutr 2001;85:S7-16.

Longo, N, Arnold, G, Pridjian, G, Enns, G, Ficicioglu, C, Parker, S and Cohen-Pfeffer, J. Phenylketonuria Demographics, Outcomes and Safety Registry. Long-term safety and efficacy of sapropterin: the PKUDOS registry experience. Mol Genet Metab 2015;(4):557-563.

Ludlage, E and Mansfield, K. Clinical Care and Diseases of the Common Marmoset (Callithrix Jacchus). Comp Med 2003;53:369-382.

McNutt, K and Sentko, A (2003). Isomalt. In Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. B. Caballero, Academic Press:3401-3408.

Nair, AB and Jacob, S. A Simple Practice Guide for Dose Conversion Between Animals and Human. J Basic Clin Pharm 2016;7(2):27-31.

National Toxicology Program. Endocrine System-Adrenal Gland-Cortex-Hypertrophy. Retrieved 2023, from https://ntp.niehs.nih.gov/atlas/nnl/endocrine-system/adrenal-gland/Cortex-Hypertrophy.

Newberne, P and Wilson, R. Renal Damage Associated With Silicon Compounds in Dogs. Proc Natl Acad Sci USA 1970;65:872-875.

Ohashi, A, Sugawara, Y, Mamada, K, Harada, Y, Sumi, T, Anzai, N, et al. Membrane Transport of Sepiapterin and Dihydrobiopterin by Equilibrative Nucleoside Transporters: A Plausible Gateway for the Salvage Pathway of Tetrahydrobiopterin Biosynthesis. Mol Genet Metab 2011;102(1):18-28.

Oku, T, Hongo, R and Nakamura, S. Suppressive Effect of Cellulose on Osmotic Diarrhea Caused by Maltitol in Healthy Female Subjects. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 2008;54:309-314.

Otovic, P, Smith, S and Hutchinson, E. The Use of Glucocorticoids in Marmoset Wasting Syndrome. J Med Primatol 2015;44(2):53-59.

Perazella, MA and Herlitz, LC. The Crystalline Nephropathies. Kidney Int Rep 2021;6(12):2942-2957.

Remick, AK and Brown, DL (2018). Pituitary Gland. In Boorman's Pathology of the Rat, Elsevier:631-648.

Sawabe, K, Suetake, Y, Nakanishi, N, Wakasugi, KO and Hasegawa, H. Cellular Accumulation of Tetrahydrobiopterin Following Its Administration Is Mediated by Two Different Processes; Direct Uptake and Indirect Uptake Mediated by a Methotrexate-Sensitive Process. Mol Genet Metab 2005;86 Suppl 1:S133-S138.

Sawabe, K, Wakasugi, KO and Hasegawa, H. Tetrahydrobiopterin Uptake in Supplemental Administration: Elevation of Tissue Tetrahydrobiopterin in Mice Following Uptake of the Exogenously Oxidized Product 7,8-Dihydrobiopterin and Subsequent Reduction by an Anti-Folate-Sensitive Process. J Pharmacol Sci 2004;96(2):124-133.

Sawabe, K, Yamamoto, K, Harada, Y, Ohashi, A, Sugawara, Y, Matsuoka, H and Hasegawa, H. Cellular Uptake of Sepiapterin and Push-Pull Accumulation of Tetrahydrobiopterin. Mol Genetics Metab 2008;94(4):410-416.

SCF (1998). European Commission Scientific Committee for Food: Opinion On Use Of Cross-Linked Sodium Carboxymethyl Cellulose In Solid Dietary Supplements.

Seely, J, Hard, G and Blankenship, B (2018). Kidney. In Boorman's Pathology of the Rat, Elsevier Inc.:125–166.

Seely, JC. A Brief Review of Kidney Development, Maturation, Developmental Abnormalities, and Drug Toxicity: Juvenile Animal Relevancy. J Toxicol Pathol 2017;30(2):125-133.

Seely, JC. Personal Communication. 2023.

Seely, JC and Brix, A. (2014). "Atypical Tubule Hyperplasia. In: National Toxicology Program Nonneoplastic Lesion Atlas." from http//ntp.niehs.nih.gov/urinary/kidney/rtath/ondex.htm.

Smith, I, Beasley, MG and Ades, AE. Intelligence and Quality of Dietary Treatment in Phenylketonuria. Arch Dis Child 1990;65(5):472-478.

Smith, N, Longo, N, Levert, K, Hyland, K and Blau, N. Phase I Clinical Evaluation of CNSA-001 (Sepiapterin), a Novel Pharmacological Treatment for Phenylketonuria and Tetrahydrobiopterin Deficiencies, in Healthy Volunteers. Mol Genetics Metab 2019;126(4):406-412.

Søndergaard, D, Meyer, O and Würtzen, G. Magnesium Stearate Given Perorally to Rats. A Short Term Study. Toxicol 1980;17:51-55.

Tamura, M, Seki, S, Kakurai, Y, Chikada, S and Wada, K. Sapropterin for Phenylketonuria: A Japanese Post-Marketing Surveillance Study. Pediatr Int 2022;64:14939.

Tannehill-Gregg, SH, Dominick, MA, Reisinger, AJ, Moehlenkamp, JD, Waites, CR, Stock, DA, et al. Strain-Related Differences in Urine Composition of Male Rats of Potential Relevance to Urolithiasis. Toxicol Pathol 2009;37(3):293-305.

Waisbren, SE, Noel, K, Fahrbach, K, Cella, C, Frame, D, Dorenbaum, A and Levy, H. Phenylalanine Blood Levels and Clinical Outcomes in Phenylketonuria: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. Mol Genet Metab 2007;92(1-2):63-70

Woodard, G, Woodard, M, McNeely, WKP and Cronin, M. Xanthan Gum: Safety Evaluation by Two-Year Feeding Studies in Rats and Dogs and a Three-Generation Reproduction Study in Rats. Toxicol Appl Pharmacol 1973;24:30-36.

Wu, Y, Chen, P, Sun, L, Yuan, S, Cheng, Z, L., L, et al. Sepiapterin Reductase: Characteristics and Role in Diseases. J Cell Mol Med 2020;24:9495-9506.

Yang, B and Bankir, L. Urea and Urine Concentrating Ability: New Insights From Studies in Mice. Am J Physiol Renal Physiol 2005;288(5):F881-F896.

Yoshimoto, T, Niimi, K and Takahashi, E. Tranexamic Acid and Supportive Measures to Treat Wasting Marmoset Syndrome. Comp Med 2016;66(6):468-473.

新生児マススクリーニング対象疾患等診療ガイドライン. (2019). Retrieved 21 April 2025, from https://jsimd.net/pdf/newborn-mass-screening-disease-practice-guideline2019.pdf.

付録 1　Sepiapterin の毒性試験結果

Table 63. Sepiapterin の毒性試験結果

試験の種類 （試験番号）	GLP 適合状況	試験系	動物／群	濃度又は用量 [a] （投与期間）	BH_4 C_{max} （ng/mL） [b]	BH_4 AUC_{0-24h} （h•ng/mL） [b]	特筆すべき所見
単回投与毒性試験							
試験は実施しなかった。							
反復投与毒性試験							
CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスの 5 日間及び 28 日間強制経口投与試験 （PTC923-2023-053）	GLP	マウス／野生型トランスジェニック	A 期： 5M/5F、 B 期主試験 10M/10F、 B 期 TK： 36M/36F （0 mg/kg/日は 6M/6F）	A 期： 0、30、100、300、 1,000 mg/kg/日（5 日間） B 期：0、300、 1,000、4,000 mg/kg/日（28 日間）	M：4,810 F：6,880	M：47,000 F：58,400	なし
14 日間経口投与 MTD 毒性試験 （16I0231S-X01）	非 GLP	ラット／CD	2F	0、30、60、120、 240 mg/kg/日（14 日間）	NA	NA	なし
14 日間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験 （CNSA-TOX-001-2017）	GLP	ラット／ Sprague Dawley	主試験： 10M/10F、回復性試験： 0、1000 mg/kg/日：5M/5F、TK：6M/6F （0 mg/kg/日は 3M/3F）	0、100、300、 1,000 mg/kg/日（14 日間）	M：2,990、 F：3,630	M：28,900、 F：29,500	なし
13 週間強制経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 （CNSA-TOX-001-2018）	GLP	ラット／ Sprague Dawley	主試験： 10M/10F、回復性試験： 0、1000 mg/kg/日：5M/5F、TK：6M/6F （0 mg/kg/日は 3M/3F）	0、30、100、 300 mg/kg/日（13 週間）	M：1,400、 F：2,380	M：9,790、 F：9,340	300 mg/kg/日群の腎所見： • 尿細管変性、ほとんどが軽微～軽度（回復期間終了後は軽微） • 尿細管結晶（回復） • 腎臓重量の増加 • 血清尿素高値（回復） • 血清クレアチニン高値

試験の種類 （試験番号）	GLP 適合状況	試験系	動物／群	濃度又は用量 [a] （投与期間）	BH_4 C_{max} （ng/mL） [b]	BH_4 AUC_{0-24h} （h•ng/mL） [b]	特筆すべき所見
26 週間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 （PTC923-2020-003）	GLP	ラット／ Sprague Dawley	主試験： 15M/15F、 回復性試験： 0、100、 200 mg/kg/日： 5M/5F、 TK：9M/9F （0 mg/kg/日は 3M/3F）	0、30、100、 200 mg/kg/日 [c]（26 週間）	M：710、 F：915	M：4,830、 F：4,410	100 mg/kg/日群及び 200 mg/kg/日群の腎所見： • 中等度～高度の尿細管変性・再生（回復期間終了後は中等度） • 尿細管変性・再生領域における軽微～軽度の両染性結晶（回復） • 軽微～軽度の尿細管過形成（回復） • 中等度の間質性炎症 • 軽微～軽度の間質性腎線維症 • 血清尿素／クレアチニン高値（回復）
14 日間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験 （CNSA-TOX-002-2017）	GLP	サル／マーモセット	主試験：3M/3F、 回復性試験： 0、 1,000 mg/kg/日：2M/2F	0、100、300、 1,000 mg/kg/日（14 日間）	M：3,527、 F：5,163	M：19,102、 F：31,986	なし
13 週間強制経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 （CNSA-TOX-002-2018）	GLP	サル／マーモセット	主試験：4M/4F、 回復性試験： 0 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日：2M/2F	0、30、100、 300 mg/kg/日（13 週間）	M：1,435、 F：1,345	M：5,652、 F：8,970	なし
9 ヵ月強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 （PTC923-2020-004）	GLP	サル／マーモセット	主試験：6M／6F、 回復性試験： 0 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日：2M/2F	0、30、100、 300 mg/kg/日（9 ヵ月間）	M：3,430、 F：3,060	M：24,200、 F：14,900	なし

試験の種類 （試験番号）	GLP 適合状況	試験系	動物／群	濃度又は用量 [a] （投与期間）	BH_4 C_{max} （ng/mL） [b]	BH_4 $AUC_{0\text{-}24h}$ （h•ng/mL） [b]	特筆すべき所見
遺伝毒性試験							
In vitro 細菌を用いる復帰突然変異試験 （CNSA-TOX-003-2017）	GLP	ネズミチフス菌	NA	312.5、625、1,250、2,500、5,000 μg/プレート（±S9）（48～72 時間）	NA	NA	陰性対照
In vitro ほ乳類染色体異常試験 （CNSA-TOX-004-2017）	GLP	培養ヒトリンパ球	NA	0.031、0.063、0.125、0.25、0.5、1 mM（-S9）（3 時間及び 20 時間） [d] 0.031、0.063、0.125、0.25、0.5、0.75、1 mM（+S9）（3 時間） [d]	NA	NA	• S9 mix 存在下で染色体異常なし • S9 mix 非存在下（3 時間）では「不確か」 • S9 mix 非存在下（20 時間）で染色体異常あり
In vivo 小核試験及びコメット試験 （CNSA-TOX-005-2017）	GLP	ラット／Harlan Sprague Dawley	5M	0、100、300、1,000、2,000 mg/kg/日（3 日間）	NA	NA	最高 2,000 mg/kg/日： • 小核を有する多染性赤血球の出現頻度の増加なし • 肝臓における DNA 損傷の用量依存的な増加なし
がん原性試験							
26 週間強制経口投与がん原性試験 （(PTC923-2023-070)	GLP	マウス／CByB6F1 がん原性試験：CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic TK：CByB6F1/J 野生型、雑種、非トランスジェニック	がん原性：25M／/25F 陽性対照 10M／10F TK：対照 4M／4F Sepiapterin 18M／18F	M： 0、30、100、300 mg/kg/日 F：0、100、300、1000 mg/kg/日 陽性対照ウレタン：500 mg/kg/日	M 300 mg/kg/日：5,180 F 1000 mg/kg/日：6,340	M 300 mg/kg/日：34,500 F 1000 mg/kg/日：46,900	
ラット 2 年間がん原性試験は、PMDA との合意（20[redacted]年[redacted]月[redacted]日機構相談）に基づき、日本での新薬承認後に提出する。がん原性の証拠の重み付け評価は 5.2 項に示す。							

試験の種類 （試験番号）	GLP 適合状況	試験系	動物／群	濃度又は用量 [a] （投与期間）	BH_4 C_{max} （ng/mL） [b]	BH_4 AUC_{0-24h} （h•ng/mL） [b]	特筆すべき所見
生殖発生毒性試験							
Sepiapterin の強制経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 （PTC923-2022-028）	GLP	ラット／Sprague Dawley	22M/22F	0、30、100、300 mg/kg/日（M：交配 28 日前～安楽死、F：交配 15 日前～GD7）	NA	NA	なし
Sepiapterin の強制経口投与による胚・胎児発生に関する DRF 試験 （PTC923-2021-005）	非 GLP	ラット／Sprague Dawley	主試験：6F、TK：6F（0 mg/kg/日は 3F）	0、100、300、1,000 mg/kg/日 [e]（GD7～GD17）	F：2,420	F：19,200	なし
Sepiapterin の強制経口投与による胚・胎児発生に関する試験 （PTC923-2021-023）	GLP	ラット／Sprague Dawley	主試験：22F、TK：0 mg/kg/日：3F、100 mg/kg/日：6F、300 mg/kg/日：7F、1,000 mg/kg/日：6F	0、100、300、1,000 mg/kg/日（GD7～GD17）	F：3,410	F：26,900	なし
Sepiapterin の経口投与（胃チューブ）による胚・胎児発生に関する DRF 試験 （PTC923-2021-006）	非 GLP	ウサギ／ニュージーランド白色	6F	0、100、300、1,000 mg/kg/日 [e]（GD7～GD19）	F：2,840	F：20,300	なし
Sepiapterin の経口投与（胃チューブ）による胚・胎児発生に関する試験 （PTC923-2021-024）	GLP	ウサギ／ニュージーランド白色	0 mg/kg/日：20F、100 mg/kg/日：20F、300 mg/kg/日：20F、1,000 mg/kg/日：21F	0、100、300、1,000 mg/kg/日（GD7～GD19）	F：2,310	F：16,300	なし
Sepiapterin の強制経口投与による出生前及び出生後の発達に関する試験 （PTC923-2023-048）	GLP	ラット／Sprague Dawley	22F	0、30、100、300 mg/kg/日［GD6～分娩後 20 日（同腹児あり）又は GD24（同腹児なし）］	NA	NA	なし

試験の種類 （試験番号）	GLP 適合状況	試験系	動物／群	濃度又は用量 [a] （投与期間）	BH_4 C_{max} （ng/mL） [b]	BH_4 AUC_{0-24h} （h•ng/mL） [b]	特筆すべき所見
新生児 6 日間強制経口投与 PK 試験 （PTC923-2020-006）	GLP	ラット／Sprague Dawley（新生児）	80M/80F （0 mg/kg/日は 10M/10F）	0、10、30、100 mg/kg/日 [e,f]（PND4～PND9）	M：9,410、 F：8,340	M：90,300、 F：84,700	なし
幼若ラット 10 週間強制経口投与毒性試験 （PTC923-2023-045）	GLP	ラット／Sprague Dawley	主試験： 10M/10F、回復性試験： 20M/20F、 TK：28M/28F （0 mg/kg/日は 8M/8F）	0、5、10、30 mg/kg/日（PND4～PND28） 0、30、100、300 mg/kg/日（PND29～PND70）	M：1,750、 F：1,780	M：12,300、 F：10,800	なし
局所刺激性試験							
経口投与ではこの試験は必要としない。							
その他の毒性試験							
免疫毒性試験							
試験は不要と考えられた。							
薬物乱用傾向評価							
追加の乱用傾向試験は不要とされた（8.2 項及び付録 2）。							
代謝物試験							
追加試験は不要と考えられた。							
不純物							
(Q)SAR リスク評価：DS（[redacted] 報告書）	非 GLP	NA	NA	NA	NA	NA	• スクリーニングした不純物：15 • クラス 5 の不純物：13 • クラス 3 の不純物：2
(Q)SAR リスク評価：DS （PTC923-2023-057））	非 GLP	NA	NA	NA	NA	NA	• スクリーニングした不純物：15 • クラス 4 の不純物：15
(Q)SAR リスク評価：DS （PTC923-2023-074）	非 GLP	NA	NA	NA	NA	NA	• スクリーニングした不純物：12 • クラス 4 の不純物：12
(Q)SAR リスク評価：DS （PTC923-2024-126）	非 GLP	NA	NA	NA	NA	NA	• スクリーニングした不純物：3 • クラス 4 の不純物：2 • クラス 2 の不純物：1
(Q)SAR リスク評価：DP （PTC923-2022-037）	非 GLP	NA	NA	NA	NA	NA	• スクリーニングした不純物：4 • クラス 5 の不純物：2 • クラス 4 の不純物：2

試験の種類 （試験番号）	GLP 適合状況	試験系	動物／群	濃度又は用量 [a] （投与期間）	BH_4 C_{max} （ng/mL） [b]	BH_4 AUC_{0-24h} （h•ng/mL） [b]	特筆すべき所見
In vitro 細菌を用いる復帰突然変異試験： CC-02 （PTC923-2021-025）	GLP	ネズミチフス菌、 大腸菌	NA	最高 5,000 µg/プレート（DRF） 最高 1,000 µg/プレート（変異原性試験）	NA	NA	CC-02：陽性
In vitro 細菌を用いる復帰突然変異試験： CC-14 （PTC923-2021-026）	GLP	ネズミチフス菌、 大腸菌	NA	最高 5,000 µg/プレート（DRF） 最高 1,000 µg/プレート（変異原性試験）	NA	NA	CC-14：陽性
28 日間 in vivo 不純物の安全性確認試験 （PTC923-2021-007）	GLP	ラット／ Sprague Dawley	雄 10 匹/雌 10 匹	DS：0、100 mg/kg/日 DP：0、100、300 mg/kg/日（28 日間）	NA	NA	安全域は、申請出荷規格を十分に支持している。
28 日間 in vivo 不純物の安全性確認試験 （PTC923-2023-044）	GLP	ラット／ Sprague Dawley	雄 10 匹/雌 10 匹	DS：0、100 mg/kg/日 エナンチオマー：5.6 mg/kg/日（28 日間）	NA	NA	安全域は、申請出荷規格を十分に支持している。
光毒性試験							
In vitro 光毒性評価 （PTC923-2021-010）	GLP	BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞	NA	1.78、3.16、5.62、10、17.8、31.6、56.2、111 µg/mL	NA	NA	光毒性なし

略語： AUC_{0-24h}＝投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積、BH_4＝テトラヒドロプテリン、Conc＝濃度、DP＝製剤、DRF＝用量設定、DS＝原薬、F＝雌、GD＝妊娠日齢、M＝雄、MTD＝最大耐量、NA＝該当せず、NOAEL＝無毒性量、NOEL＝無影響量、PK＝薬物動態、PMDA＝医薬品医療機器総合機構、PND＝生後日齢、(Q)SAR＝定量的構造活性相関、S9＝代謝活性化系、TK＝トキシコキネティックス

[a] NOAEL は下線を引いて示す。

[b] NOAEL での平均値

[c] この試験では NOEL を決定し、下線を引いて示した。

[d] S9 mix の存在下では、いずれの用量でも染色体異常は認められなかった。一方、S9 mix の非存在下では、0.25、0.5 及び 1 mM の用量で 20 時間処理により染色体の構造異常が認められ、3 時間処理では「不確か」であった。

[e] いずれの用量でも sepiapterin の忍容性は良好であった。

[f] この PK 試験では NOAEL を決定しなかった。100 mg/kg/日でのトキシコキネティクスパラメータを示す。

付録 2　Sepiapterin の薬物乱用傾向

Sepiapterin
薬物乱用傾向評価

目次

1. 薬物乱用傾向評価 3
1.1. 作用機序 3
1.2. フェニルアラニン（Phe）代謝 4
1.3. Sepiapterin の非臨床試験 5
1.3.1. 乱用傾向の評価に関連する薬理試験 6
1.3.1.1. 結合アッセイ 6
1.3.1.2. 乱用傾向を評価する構造的活動データ 6
1.4. Sepiapterin の生化学検査及び製造 6
1.5. Sepiapterin の臨床試験 7
1.6. Sepiapterin に関連する公表されている試験 7
1.7. 乱用傾向に対するクラス効果の評価 9
1.8. 結論 9
2. 参考文献 10
APPENDIX A. COMPARISON OF SEPIAPTERIN STRUCTURE WITH THE STRUCTURES OF SCHEDULE I, II, III, AND IV DRUGS 13

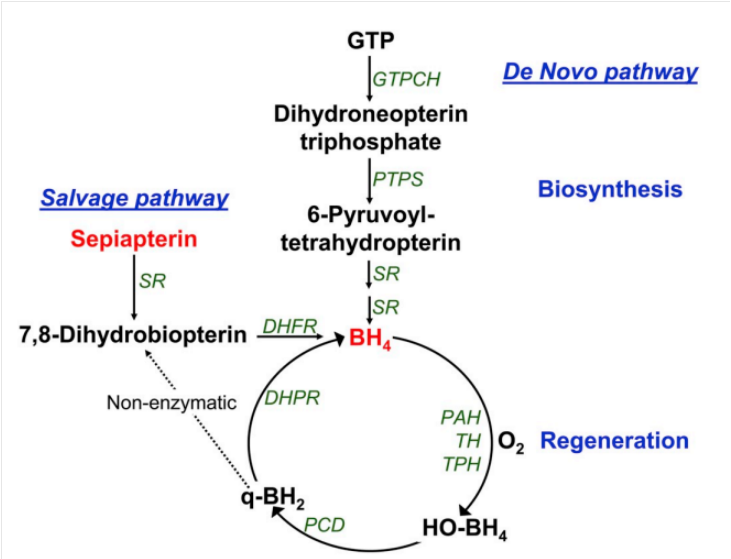
1. 薬物乱用傾向評価

Sepiapterin の乱用傾向の可能性を概説した関連データのレビューを実施した。具体的には、薬物依存に関連する神経伝達物質（例：ドパミン及びセロトニン）、sepiapterin の非臨床安全性データ、乱用傾向に関連する二次神経伝達物質の標的候補における sepiapterin の活性、関連文献、化学及び製造、並びに公的に入手可能な薬剤クラス関連データに対する sepiapterin 及び BH_4 の影響を検討し、以下に要約する。

1.1. 作用機序

外因性 sepiapterin（旧名 PTC923 及び CNSA-001）は、BH_4 の天然前駆体である内因性 sepiapterin と構造的及び生物学的に同等な新規化学物質である。Sepiapterin は、（1）BH_4 の内因性の天然前駆体、及び（2）PAH の天然状態立体構造に対する薬理学的活性シャペロンとして二重に機能し、熱変性に対する安定性を付与し、PAH 機能が長期化し、活性が強まる（図：1）（Gersting 2010, Gersting 2023）。PAH は、BH_4 を補因子として必須アミノ酸である Phe の Tyr への変換を促す最初の律速段階である。PKU を含むいくつかの疾患が BH_4 濃度の欠乏または低値と関連している。

図：1　テトラヒドロビオプテリンの生合成



略語：BH_4：テトラヒドロビオプテリン、DHFR：ジヒドロ葉酸還元酵素、GTP：グアノシン三リン酸、GTPCH：グアノシン三リン酸シクロヒドロラーゼ、PAH：フェニルアラニンヒドロキシラーゼ、PCD：プテリン-4a-カルビノールアミン脱水酵素、PTPS：6-ピルボイルテトラヒドロプテリン合成酵素、SR：Sepiapterin 還元酵素、TH：チロシンヒドロキシラーゼ、TPH：トリプトファンヒドロキシラーゼ
出典：（Smith 2019b）

複数の試験から、sepiapterin は細胞に速やかに吸収され、サルベージ経路を介して BH_4 に代謝され、BH_4 を細胞に送達するより効率的な方法であることが示されている（Hasegawa 2005, Sawabe 2008）。内因性の sepiapterin は、能動的トランスポーターを介して効率的に細胞内に輸送され、その後、プテリンサルベージ経路内で sepiapterin 還元酵素（SR）及びジヒドロ葉酸還元酵素による 2 段階の減少により細胞内 BH_4 に変換される（Nichol 1983, Curtius 1985）。Sepiapterin の BH_4 への急速かつほぼ完全な変換を考慮すると、代謝の運命は天然の補因子と同じであると考えられる。BH_4 の大部分が BH_4 再生経路に入る。健康被験者に BH_4 を経口投与したところ、10%未満が尿中及び糞便中にプテリン又はルマジン代謝物として回収され、大幅な再生や、組織への取り込み及び代謝が示唆された。トランスポーターの選択性により、細胞膜を通過する BH_4 の透過性は sepiapterin 又は BH_2 よりはるかに低い。細胞侵入の過程は平衡的であるが、次の理由により、sepiapterin の細胞取り込みは能動輸送として進行する。（a）サルベージ経路は BH_4 産生を強く支持し、（b）細胞内に限局した BH_4 は漏出しにくい（Ohashi 2011）。

その結果、sepiapterin は肝臓、脳及び末梢ニューロンなどの重要な組織において BH_4 の細胞内濃度を上昇させ、Phe 代謝並びに一酸化窒素、ドパミン及びセロトニンを含む神経伝達物質の産生を顕著に改善又は正常化させる（Sawabe 2008）。小児、青年及び成人における sepiapterin の薬理学的特性に、既知の又は予想される差はない（Bonafé 2001）。

入手可能な非臨床データ及び臨床データからも、経口投与後の sepiapterin の BH_4 への迅速な変換、したがって、sepiapterin の全身曝露量は最小限であることが示唆されている。BH_4 の尿中曝露量が sepiapterin より高かったことから、経口投与した sepiapterin の大半は、尿中への排泄前に吸収され、BH_4 に変換されることが示唆された。さらに、ラット及びマーモセットを用いた sepiapterin の反復投与毒性試験では、いずれの組織にも長期貯留及びその結果生じる病理組織学的変化を示すエビデンスは認められなかった。

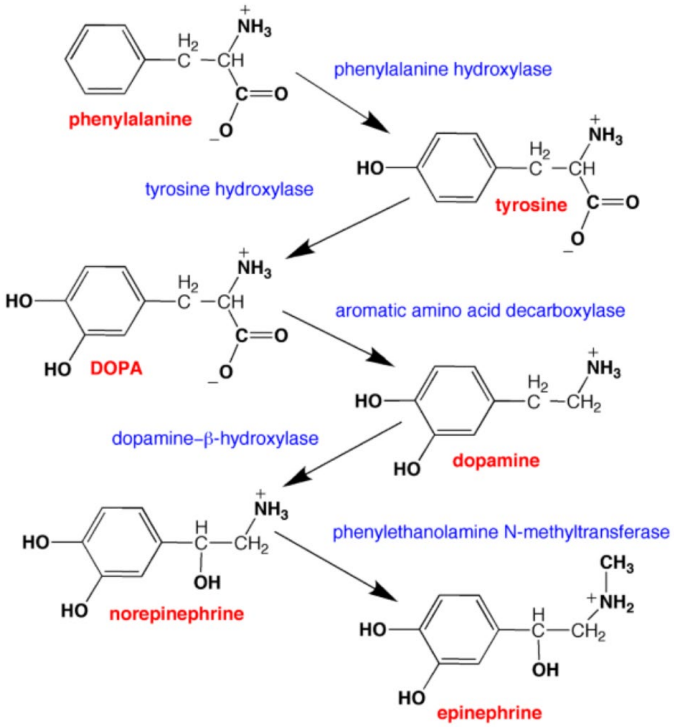
sepiapterin 又は BH_4 の補充により in vivo 及び様々な細胞系で抗腫瘍活性が得られるとする複数の報告がある（Melo 2011、Cardnell 2013、Rabender 2015、Rabender 2018、Gonçalves 2019）。ある試験では、BH_4 の増加が免疫を増強し、腫瘍増殖を阻害することが示された（Cronin 2018）。しかし、文献では、BH_4 の増加がフェロトーシスから癌細胞を保護する可能性があることが示された（Soula 2020）。要約すると、BH_4 濃度上昇とがん原性との間に許容された又は明らかな関連性はないが、BH_4 及び sepiapterin の抗腫瘍活性を裏付けるデータがある。

上記の作用機序に基づくと、sepiapterin の生涯曝露による乱用傾向の徴候はない。

1.2. フェニルアラニン（Phe）代謝

フェニルアラニン（Phe）代謝における sepiapterin の役割（図：2）は、その乱用傾向の可能性を評価する上で重要である。

図：2　　フェニルアラニン代謝



出典：Daubner 2011

Phe はドパミンの前駆体であり、薬物依存の発現に極めて重要な神経伝達物質である（Wise and Roblle 2020）。前述したように、sepiapterin は BH4 生合成のサルベージ経路における天然の内因性中間体であり、外因性に送達された sepiapterin は急速に代謝されて BH4 を産生する その後、BH_4 はフェニルアラニン水酸化酵素（PAH）活性を可能にし、PAH タンパクを分解から保護す

る。PAH は Phe をチロシンに変換する。律速酵素であるチロシン水酸化酵素（TH）はチロシンを L-3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン（L-DOPA）に変換し、L-DOPA は芳香族アミノ酸脱炭酸酵素を介してドパミンに変換する。ドパミン-β-水酸化酵素はドパミンをノルエピネフリンに水酸化し、フェニルエタノールアミン N-メチルトランスフェラーゼによりエピネフリンにメチル化される（Daubner 2011）。

PAH による Phe からチロシンへの変換は、薬物依存に関連する生体アミン（例：ドパミン）の前駆体である。sepiapterin が誘導する可能性のあるチロシンの増加及びそれに続く L-DOPA への変換は、ドパミンなどの生体アミンの生成につながる可能性があるが、TH 活性によって制限される可能性が高い（Daubner 2011）。TH によるチロシンの L-DOPA への変換は細胞外ドパミン及びノルアドレナリンによって阻害され、その結果、細胞外チロシンの上昇から生物原性アミンへの変換を調節する負のフィードバックループが生じる（Daubner 2011）。この負のフィードバックループの裏付けとして、Phe の投与により、当初は低用量で細胞外ドパミンが増加するが、最終的には Phe の用量が増加するにつれてラットの線条体におけるニューロンドパミン放出が減少するという所見がある。Phe 投与によるチロシン増加後のドパミン放出の阻害は、細胞質ドパミン濃度の上昇による TH 阻害によるものであった（During 1988）。

細胞外ドパミンは神経活動に影響を及ぼすが、細胞内ドパミンは分泌小胞に結合しているため、依存性及び乱用に関連するのは細胞外ドパミンであり、細胞内ドパミンではない（Wise and Roblle 2020）。以下に概説する複数の試験では、BH_4 投与後の細胞外ドパミンの増加が言及されている。以下に記載するように、測定されたと主張された細胞外ドパミンは、実際には利用された測定技術（微小透析法）によって破壊された細胞内ドパミンであり、細胞外ドパミン濃度の正常な機能に関連していた可能性が高い。

1.3. Sepiapterin の非臨床試験

ラット及びマーモセットを用いた 14 日間及び 13 週間毒性試験、ラットを用いた 26 週間試験及びマーモセットを用いた 9 ヵ月間毒性試験において、連日経口投与後の sepiapterin の安全性を評価した（表：1）。

表：1　　Sepiapterin の依存性試験

動物種（系統）	投与方法	投与期間	用量（mg/kg）	動物数／性別	NOAEL（mg/kg）	（試験番号）
CD［Crl:CD(SD)］ラット	強制経口投与	14 日間	0、30、60、120 又は 240	雌 10 匹	ND	16I0231S-X01
CD［Crl:CD(SD)］ラット	強制経口投与	14 日間及び 14 日間の回復期間	0、100、300 又は 1000	雄 71 匹 雌 71 匹	1000	CNSA-TOX-001-2017
[Crl:CD(SD)IGS]ラット	強制経口投与	13 週間及び 28 日間の回復期間	0、30、100 又は 300	雄 71 匹 雌 71 匹	100	CNSA-TOX-001-2018
[Crl:CD(SD)IGS]ラット	強制経口投与	26 週間及び 28 日間の回復期間	0、30、100 又は 200	雄 105 匹 雌 105 匹	30	PTC923-2020-003
サル／マーモセット	経口	14 日間及び 14 日間の回復期間	0、100、300 又は 1000	雄 20 匹 雌 20 匹	1000	CNSA-TOX-002-2017

動物種（系統）	投与方法	投与期間	用量（mg/kg）	動物数／性別	NOAEL（mg/kg）	（試験番号）
サル／マーモセット	経口	13 週間及び 28 日間の回復期間	0、30、100 又は 300	雄 20 匹 雌 20 匹	300	CNSA-TOX-002-2018
サル／マーモセット	経口	9 ヵ月間及び 28 日間の回復期間	0、30、100 又は 300	雄 28 匹 雌 28 匹	300	PTC923-2020-004

中枢神経系（CNS）機能は、ラットの 14 日間及び 13 週間の GLP 反復投与試験（それぞれ、CNSA-TOX-001-2017 試験及び CNSA-TOX-001-2018 試験）において直接評価した。溶媒又は sepiapterin を 100、300 若しくは 1000 mg/kg/日（CNSA-TOX-001-2017 試験）、並びに溶媒又は sepiapterin を 30、100 若しくは 300 mg/kg/日（CNSA-TOX-001-2018 試験）をラットに経口投与した。FOB は一連の観察評価項目から構成され、主試験のすべての雄（CNSA-TOX-001-2017 試験）及び主試験のすべての雌（CNSA TOX-001-2018 試験）を対象として実施した。sepiapterin に関連した量的又は質的な FOB 変化は認められなかった。統計学的有意性のあった変動（300 mg/kg/日を初回投与後 1 時間での前肢握力の用量非依存性の変化（CNSA TOX-001-2017 試験）をはじめとして、様々な群で認められた量的又は質的 FOB の変動は偶発的又は本モデルでは正常な変動だと判断された。

投与中又は投与中止（回復）後の sepiapterin の非臨床試験では、薬物誘発性依存の測定に関連する依存による臨床所見も、CNS 関連の臨床所見も記録されなかった。

1.3.1. 乱用傾向の評価に関連する薬理試験

1.3.1.1. 結合アッセイ

10 µmol/L 濃度の sepiapterin の結合又は酵素及び取込みアッセイを、重要な生物学的役割を果たすことが知られている 86 種類の受容体パネル（Cerep Safetyscreen 87 パネル）及び乱用の可能性に関与することが知られている 44 種類の受容体パネル（Cerep Drug abuse potential 44 パネル、そのうち 37 種類は 87 種類の安全性パネルと重複していた）と比較評価した（PTC923-2021-003 試験）。検討した濃度では、いずれの受容体に対しても有意な結合又は刺激（50%超）は認められなかった。インキュベーション時の sepiapterin 濃度が 10 µmol/L であることを考慮すると、目標最大治療用量である 60 mg/kg では、sepiapterin の血漿中 C_{max} が約 2.8 ng/mL（11.8 nM）と予測される約 847 倍であることから、sepiapterin が検討した副次的薬力学的標的のいずれかと臨床的に意義のある相互作用を示す可能性は低い。sepiapterin の低タンパク結合率（15.4%）に基づき、総 C_{max} を用いて治療 C_{max} に対する比を算出した。

1.3.1.2. 乱用傾向を評価する構造的活性データ

スケジュール I、II、III 及び IV の薬剤の構造と sepiapterin の構造を比較し、タニモトの類似性指標も作成した。スケジュール I、II、III 及び IV の薬剤は全て、構造が sepiapterin と異なっていた。タニモトの類似性スコアは全て 0.63 以下であり、カットオフ値である 0.85 以上であり、構造及び薬理活性が概して類似していると考えられる（Appendix A）。

1.4. Sepiapterin の生化学検査及び製造

Sepiapterin の抽出、変換、昇華及び溶解性を評価した。sepiapterin の合成に規制／対照物質は使用されていない。Sepiapterin は中等度の吸湿性を示す。相対湿度（RH）60～80%で約 7%の可逆的な水分摂取が認められた。Sepiapterin の融点は 223.3°C、プロテインキナーゼ A（pKa）は 1.27 及び 9.95 である。異なる溶媒及び水性溶媒を用いて、sepiapterin 原薬の溶解性を測定した。溶解度の結果を表：2 に示す。

表：2　　様々な溶媒に対する PTC923 の室温での溶解性

溶媒系	溶解性（mg/mL）
メタノール	1.7<S<3.4
エタノール	S<1.5
イソプロパノール	S<1.3
アセトン	S<1.8
メチルイソブチルケトン	S<2.0
酢酸エチル	S<2.5
酢酸イソプロピル	S<2.7
Tert-ブチルメチルエーテル	S<2.0
テトラヒドロフラン	S<1.9
2-メチルテトラヒドロフラン	S<2.0
1,4-ジオキサン	S<1.7
アセトニトリル	S<1.7
ジクロロメタン	S<1.5
クロロホルム	S<1.6
n-ヘプタン	S<2.1
トルエン	S<2.4
ジメチルアセトアミド	S>28.0
ジメチルスルホキシド	S>34.0
N-メチルピロリドン	S>48.0
水	1.4

略語：S：溶解性

1.5.　　Sepiapterin の臨床試験

全体として、脳脊髄液（CSF）中の BH_4 濃度を上昇させるのに十分な用量での sepiapterin の投与は、CSF 中の細胞外セロトニン（5-ヒドロキシインドール酢酸［5-HIAA］）及びドパミン（ホモバニリン酸［HVA］）の細胞外バイオマーカーに影響を及ぼさなかった（60 mg/kg の sepiapterin 投与患者）。これらの結果から、治療用量の sepiapterin の投与は、乱用傾向に関連する 2 つの神経伝達物質であるドパミン及びセロトニンの細胞外濃度に影響しないことが示唆され、治療患者では神経伝達物質障害を示唆する有害事象が発現しないことと相関する（Smith 2019a）。

sepiapterin の臨床試験では、生理的レベルを超えるチロシンを誘導せず、ひいては生体アミン産生を変化させないことが示されている。PKU 患者には、無作為化、二重盲検、プラセボ対照、第 III 相ピボタル試験である PTC923-MD-003-PKU 試験において、最大 60 mg/kg/日の用量で sepiapterin を投与した。本試験では、sepiapterin はプラセボと比較して Phe 濃度を低下させたが、sepiapterin 群とプラセボ対照群の間にチロシン濃度の差は認められなかった。

結論として、sepiapterin の臨床投与では、Tyr 濃度の有意な上昇や、生物学的アミン濃度の有意な変化は生じなかった。また、非臨床試験（FOB 評価）では行動障害は認められず、依存リスクは最小限である。

1.6.　　Sepiapterin に関連する公表されている試験

外因的に投与された BH_4 がげっ歯類の脳内のモノアミン濃度に与える効果は公開された文献研究で異なる。脳室内（ICV）投与により右室に注入した場合、生理的レベルを超える濃度の BH_4 は、後側線条体から採取した細胞外ドパミンに影響を及ぼさず（Nakahara 1988）、ラットの後側線条体に直接投与した場合、ドパミンのナトリウムチャネル依存性放出を刺激し（Koshimura 1990）、BH_4 及びアンフェタミンを投与した C57BL/6 J マウスでは動機付け行動が増強されることが報告されている（Fanet 2020）。特に、これらの試験では BH_4 を生理的レベルを超えて外因

性に投与した場合の影響が測定されたが、内部サルベージリサイクル経路では血漿及び組織中の BH_4 濃度が恒常性レベルに正常に維持される（Fanet 2020）。sepiapterin はサルベージ経路を介して BH_4 の前駆体として作用し、逆透析、ICV 又は非経口で投与した場合、合成 BH_4（以下に要約）の外因性投与を用いた試験では内因性脳 BH_4 濃度を上昇させることができない可能性が高い。60 mg/kg sepiapterin の治療投与後に測定したヒト CSF の BH_4 の細胞外濃度は、18.1 nmol/L（4.367 ng/mL）～35.1 nmol/L（8.477 ng/mL）であった（Smith 2019a）。これらの CNS BH_4 濃度を用いて、公表文献で報告された値に対する安全域を算出し、以下で検討した。

BH_4 は、ラットの線条体に逆透析で直接投与すると、250～1000 µM のマイクロモル濃度でドパミン放出を増加させ（Koshimura 1990）、ヒト試験で 60 mg/kg の sepiapterin 投与後に観察された CNS の BH_4 濃度の 7000～55000 倍だった（Smith 2019a）。ICV 投与による BH_4 の対側注入は線条体のドパミン濃度に影響を及ぼさず、TH（ドパミン合成の速度制限酵素）の阻害により、同じ試験で直接 BH_4 を投与後、ドパミン反応が低下した（Koshimura 1990）。これらの所見から、ドパミンの放出は、本試験のパラメータに基づく生理学的濃度を超える BH_4 の局所注入による可能性が示唆される。

別の試験では、BH_4 又は合成 sepiapterin を開始濃度 1 mM で逆透析によりラットの線条体に直接注入し、決定された用量は 30 µM（プローブ回収率は 3～4%と測定され、ヒトに 60 mg/kg を投与したときの濃度の 833～1667 倍）となった（Koshimora 1993）。Sepiapterin 及び BH_4 はいずれも測定したドパミン濃度を増加させ、TH 活性を阻害する α-メチル-p-チロシンの前処理により完全に回復した（Koshimora 1993）。測定したドパミンが細胞内ドパミンであるか、放出／細胞外ドパミンであるかどうかは判定しなかった。ドパミンの部位（細胞内と細胞外）は、sepiapterin と BH_4 の作用がいずれも細胞内であることに関連がある。おそらく、水疱性ドパミンプールは、sepiapterin 及び BH_4 の投与により増加し、その結果生じたプローブによる損傷などにより、逆透析によるドパミン測定値の増加に寄与した。

BH_4 及び sepiapterin がドパミン作動性神経伝達を十分変化させ、sepiapterin の投与が依存につながる可能性を判断する際には、コシムラ試験における技術的な短所を考慮する必要がある。コシムラ試験（Koshimura 1990, Koshimora 1993）では、ドパミンを動物の初回検査と同日に測定した。プローブ挿入の物理的損傷は治療に対する反応に影響を及ぼし、神経化学的環境を有害に変化させる可能性がある（Chefer 2009）。透析プローブの注入速度は高く（9.5 µL/分）、ドパミンの恒常性バランスが変化した可能性がある（Chefer 2009）。あいにく、脳内の BH_4 誘導ドパミン放出に対する BH_4 の末梢（CNS 外）投与の潜在的な影響は測定されなかった（Nakahara 1988, （Koshimura 1990）。

コシムラ試験（Koshimura 1990）で局所注入された BH_4 濃度（250～1000 µM）は、sepiapterin 60 mg/kg の治療投与後にヒト CSF で測定された細胞外濃度を 18.1 nmol/L（標準偏差［SD］3.0）～35.1 nmol/L（SD 10.0）上回った（Smith 2019a）。（Smith 2019a）が報告した sepiapterin 投与後の細胞外 BH_4 の最高濃度 35.1 nmol/L の安全域は、（Koshimura 1990）試験でドパミン放出を変化させるために必要な外因性 BH_4 の最小量の 7142 倍超であり、sepiapterin の投与はドパミン放出に影響を及ぼさないことを示唆している（Koshimura 1990, Smith 2019a）。50 mg/kg の BH_4 を腹腔内投与したマウスでは、動機付け行動の増加（手術パラダイムにおける食物に対する反応の増加）及び側坐核におけるアンフェタミン介在性のドパミン放出が、BH_4 によるドパミン合成及び貯蔵の増加によるものであった（Fanet 2020）。あいにく、この仮説は、α-メチル-p-チロシンなどのツールによる TH 活性の阻害（Koshimura 1990）、又は BH_4 の前投与及びレセルピン負荷後の排出の変化の可能性の測定（Florin 1995）で直接検証されなかった。レセルピンは投与後に水疱性ドパミン及びノルアドレナリンを枯渇させ、総ドパミンの指標となった可能性がある（Florin 1995）。

アンフェタミン投与は、2 つの機序、すなわちカルシウム依存性放出（ドパミントランスポーターの遮断による）及びドパミントランスポーターの偽基質としての作用（カルシウム非依存性放出）により、細胞外ドパミンの増加と関連する。細胞内に入ると、アンフェタミンは小胞の完全性を破壊し、ドパミンなどのニューロンの細胞外腔にモノアミンの堕胎を引き起こす（Freyberg 2016）。アンフェタミン投与前 3.5 時間にわたる BH_4 の前投与により、TH に対する

補因子がより多かったため、利用可能なドパミン小胞プールが増加した可能性がある。また、著者らは、アンフェタミンの単回投与による前投与後に、食事報酬に対するアンフェタミン誘発性反応の増加が BH_4 依存的に増強されたことを報告した。その効果は小さく、奏効率に対する効果は認められなかった。これは、増強の段階的スケジュールが速度依存的なスケジュールであり、アンフェタミンは通常、低用量で奏効率を用量依存的に増加させ、高用量では奏効率を低下させるため驚くべきことである（Thompson 1972）。Fanet らがアンフェタミンの用量を 2 回以上測定し、BH_4 投与後にアンフェタミンに対する用量感受性に変化があったかどうか判断していれば有用であった（Fanet 2020）。

Fanet 試験では、BH_4 の前投与はドパミンの基底濃度に影響を及ぼさなかったことから、BH_4 及びアンフェタミン投与後の細胞外ドパミンの増加は放出の可能性が高く、投与依存性であるという仮説が更に裏付けられた（Fanet 2020）。ドパミン作動性ニューロンは、強直性／ペースメーカー発火パターン及び反応の位相的パターンを示し、環境刺激又は薬理学的操作に反応して細胞外濃度が強直性又はペースメーカー様放出と比較して指数関数的に増加する（Grace 2000）。BH_4 の末梢投与は、細胞外ドパミンの基底濃度に影響を及ぼさなかったことから、ニューロンの強直発火中に放出が正味増加しないことが示唆された（Fanet 2020）。50 mg/kg BH_4 投与後、組織 1 L（pmol）/g 当たり約 250 ピコモルで脳内 BH_4 含量を測定した。Fanet が報告したこれらの濃度は、ドパミンの強直性放出を増加させるのに必要であると Koshimura らが報告した BH_4 濃度をはるかに下回っている（Koshimura 1990）。代替投与経路（強制経口投与など）による BH_4 の前投与は測定されなかったため、この BH_4 増強ドパミンの放出が非経口投与経路に依存するかどうかは不明である（Fanet 2020）。

1.7. 乱用傾向に対するクラス効果の評価

Sapropterin の合成型である Biopten®（sapropterin 二塩酸塩、第一三共）は、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ（PAH）アクチベーターであり、高フェニルアラニン血症（HPA）における血中フェニルアラニン（Phe）の減少を適応とし、日本での使用が承認されている（Biopten PI 2021）。Biopten（KUVAN）（10～20 mg/kg/日）は、63 ヵ国で HPA 治療に利用可能であり、世界中の 7800 例を超える患者に投与されていると報告されている。Biopten は、生後 1 ヵ月～50 歳の 600 例を超える患者を対象とした臨床試験で検討されている。よく見られた副作用（発現率 4%以上）は、頭痛、鼻漏、咽頭痛、下痢、嘔吐、咳嗽及び鼻閉であった（Biopten PI 2021）。市販後の副作用には、過敏症反応（アナフィラキシー及び発疹）、胃腸反応及び多動性が含まれる（Biopten PI 2021）。有害事象としての活動亢進は、Biopten が承認後の使用中に市販されてから 2 回報告されている。Biopten は規制物質ではない。違法バイオプテン乱用に関する公的に入手可能な報告は認められていない。したがって、合成 sapropterin は、長年にわたって乱用傾向が低く、市販製品であった長期においても不正流通リスクが低かったようである。

1.8. 結論

要約すると sepiapterin と Biopten は同じクラスに属するため（BH_4 調節薬は BH_4 の増加及び Phe 減少を促進）、15 年以上市販されても Kuvan に乱用関連の所見が認められなかったこと、ヒトにおける治療濃度の sepiapterin によるドパミン又はセロトニンの放出及び代謝回転に対する影響がないこと（Smith 2019a）、ドパミン放出誘導に必要な BH_4 の量に対する安全性指数が 7142 倍超であること、sepiapterin の治療的 C_{max} を含む用量範囲での非臨床及び臨床試験では CNS 関連所見が認められなかったことが示唆されており、sepiapterin 依存性の発現の可能性は極めて低いと考えられる。

2. 参考文献

Biopten PI. (2021). “Biopten ® Granules Japan Package Insert.”

Bonafé, L, Thöny, B, Leimbacher, W, Kierat, L and Blau, N. Diagnosis of Dopa-Responsive Dystonia and Other Tetrahydrobiopterin Disorders by the Study of Biopterin Metabolism in Fibroblasts. Clin Chem 2001;47(3):477-485.

Cardnell, R, Rabender, C, Ross, G, Guo, C, Howlett, E, Alam, A, et al. Sepiapterin Ameliorates Chemically Induced Murine Colitis and Azoxymethane-Induced Colon Cancer. J Pharmacol Exp Ther 2013;347:117-125.

Chefer, V, Thompson, A, Zapata, A and Shippenberg, T. Overview of Brain Microdialysis. Curr Protoc Neurosci 2009;7.

Cronin, SJF, Seehus, C, Weidinger, A, Talbot, S, Reissig, S, Seifert, M, et al. The Metabolite BH_4 Controls T-Cell Proliferation in Autoimmunity and Cancer. Nature 2018;572:E18.

Curtius, HC, Heintel, D, Ghisla, S, Kuster, T, Leimbacher, W and Niederwieser, A. Tetrahydrobiopterin Biosynthesis. Studies With Specifically Labeled (2H)NAD(P)H and 2H2O and of the Enzymes Involved. Eur J Biochem 1985;148(3):413-419.

Daubner, S, Le, TT and Wang, S. Tyrosine Hydroxylase and Regulation of Dopamine Synthesis. Arch Biochem Biophys 2011;506(1):1-12.

During, MJ, Acworth, IN and Wurtman, RJ. Phenylalanine Administration Influences Dopamine Release in the Rat's Corpus Striatum. Neurosci Lett 1988;93(1):91-95.

Fanet, H, Ducrocq, F, Tournissac, M, Oummadi, A, Lo, A, Bourrassa, P, et al. Tetrahydrobiopterin Administration Facilitates Amphetamine-Induced Dopamine Release and Motivation in Mice. Behav Brain Res 2020;379:112348.

Florin, S, Kuczenski, R and Segal, D. Effects of Reserpine on Extracellular Caudate Dopamine and Hippocampus Norepinephrine Responses to Amphetamine and Cocaine: Mechanistic and Behavioral Considerations. J Pharmacol Exp Ther 1995;274:231-241.

Freyberg, Z, Sonders, M, Aguilar, J, Hiranita, T, Karam, C, Flores, J, et al. Mechanisms of Amphetamine Action Illuminated Through Optical Monitoring of Dopamine Synaptic Vesicles in Drosophila Brain. Nat Commun 2016;7:10652.

Gersting, S, Barroso, M, Etzold, S and Smith, N. The Effects of the Pharmacological Chaperone Sepiapterin on Phenylalanine Hydroxylase Activity of Common Variants in Phenylketonuria. Genetics in Medicine Open 2023;1(1):17.

Gersting, SW, Staudigl, M, Truger, MS, Messing, DD, Danecka, MK, Sommerhoff, CP, et al. Activation of phenylalanine hydroxylase induces positive cooperativity toward the natural cofactor. J Biol Chem 2010;285(40):30686-30697.

Gonçalves, D, Xisto, R, Gonçalves, J, da Silva, D, Moura Soares, J, Icimoto, M, et al. Imbalance Between Nitric Oxide and Superoxide Anion Induced by Uncoupled Nitric Oxide

Synthase Contributes to Human Melanoma Development. Int J Biochem Cell Biol 2019;115:105592.

Grace, A. The Tonic/Phasic Model of Dopamine System Regulation and Its Implications for Understanding Alcohol and Psychostimulant Craving. Addiction 2000;95(8s2):119-128.

Hasegawa, H, Sawabe, K, Nakanishi, N and Wakasugi, OK. Delivery of Exogenous Tetrahydrobiopterin (BH_4) to Cells of Target Organs: Role of Salvage Pathway and Uptake of Its Precursor in Effective Elevation of Tissue BH_4. Mol Genetics Metab 2005;86 Suppl 1:S2-S10.

Koshimora, K, Ohue, T, Watanabe, Y and Miwa, S (1993). 6R-L-Erythro-5.6.7.8-Tetrahydrobiopterin: A Regulator of Neurotransmiller Release. In Chemistry and Biology of Pteridines and Folates. J. Ayling, M. Nair and C. Baugh; New York, Plenum**.** 338**:**313-319.

Koshimura, K, Miwa, S, Lee, K, Fujiwara, M and Watanabe, Y. Enhancement of Dopamine Release In Vivo From the Rat Striatum by Dialytic Perfusion of 6R-L-Erythro-5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin. J Neurochem 1990;54:1391-1397.

Melo, F, Molognoni, F, Morais, A, Toricelli, M, Mouro, M, Higa, E, et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Uncoupling as a Key Mediator of Melanocyte Malignant Transformation Associated with Sustained Stress Conditions. Free Radic Biol Med 2011;50:1263-1273.

Nakahara, D, Ozaki, N, Kaneda, N, Kiuchi, K, Okada, T, Ohta, T and Nagatsu, T. Intracerebrally Administered (6R)-L-erythro-tetrahydrobiopterin Does Not Affect Extracellular Levels of Dopamine and Serotonin Metabolites in Rat Striatum In Vivo During Measurement by Brain Micro-Dialysis. Neurochemistry International 1988;12:121-124.

Nichol, CA, Lee, CL, Edelstein, MP, Chao, JY and Duch, DS. Biosynthesis of Tetrahydrobiopterin by De Novo and Salvage Pathways in Adrenal Medulla Extracts, Mammalian Cell Cultures, and Rat Brain In Vivo. Proc Natl Acad Sci U S A 1983;80(6):1546-1550.

Ohashi, A, Sugawara, Y, Mamada, K, Harada, Y, Sumi, T, Anzai, N, et al. Membrane Transport of Sepiapterin and Dihydrobiopterin by Equilibrative Nucleoside Transporters: A Plausible Gateway for the Salvage Pathway of Tetrahydrobiopterin Biosynthesis. Mol Genetics Metab 2011;102(1):18-28.

Rabender, C, Alam, A, Sundaresan, G, Cardnell, R, Yakovlev, V, Mukhopadhyay, N, et al. The Role of Nitric Oxide Synthase Uncoupling in Tumor Progression. Mol Cancer Res 2015;13:1034-1043.

Rabender, C, Bruno, N, Alam, A, Sundaresan, G, Zweit, J and Mikkelsen, R. Sepiapterin Enhances Tumor Radio- and Chemosensitivities by Promoting Vascular Normalization. J Pharmacol Exp Ther 2018;365:536-543.

Sawabe, K, Yamamoto, K, Harada, Y, Ohashi, A, Sugawara, Y, Matsuoka, H and Hasegawa, H. Cellular Uptake of Sepiapterin and Push-Pull Accumulation of Tetrahydrobiopterin. Mol Genetics Metab 2008;94(4):410-416.

Smith, N, Longo, N, Levert, K, Hyland, K and Blau, N. Exploratory Study of the Effect of One Week of Orally Administered CNSA-001 (Sepiapterin) on CNS Levels of Tetrahydrobiopterin, Dihydrobiopterin and Monoamine Neurotransmitter Metabolites in Healthy Volunteers. Mol Genetics Metab Rep 2019a;21:100500.

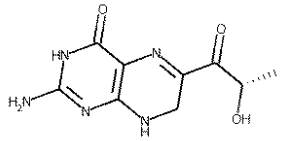
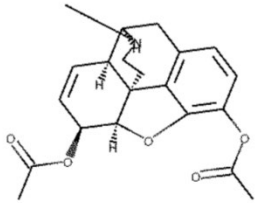
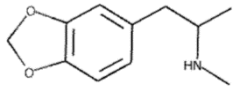
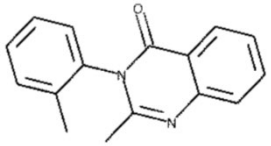
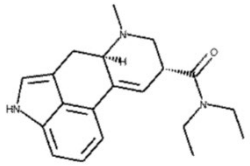
Smith, N, Longo, N, Levert, K, Hyland, K and Blau, N. Phase I Clinical Evaluation of CNSA-001 (Sepiapterin), a Novel Pharmacological Treatment for Phenylketonuria and Tetrahydrobiopterin Deficiencies, in Healthy Volunteers. Mol Genetics Metab 2019b;126(4):406-412.

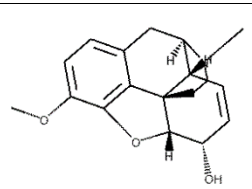
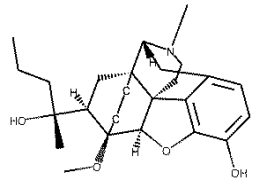
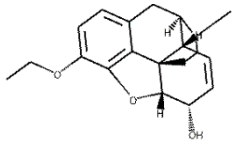
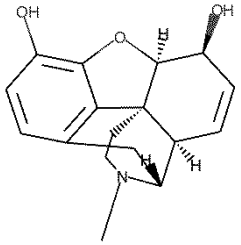
Soula, M, Weber, R, Zilka, O, Alwaseem, H, La, K, Yen, F, et al. Metabolic Determinants of Cancer Cell Sensitivity to Canonical Ferroptosis Inducers. Nat Chem Biol 2020;16:1351-1360.

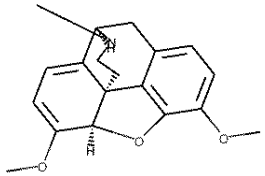
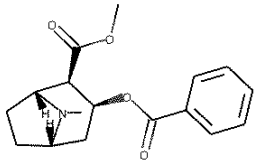
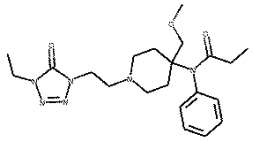
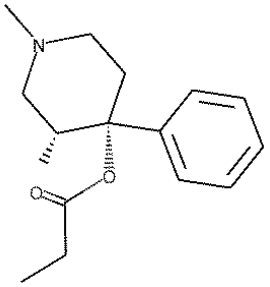
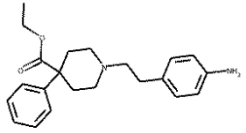
Thompson, T. Effects of d-Amphetamine on the “Breaking Point” of Progressive-Ratio Performance. Psychonomic Science 1972;29:282-284.

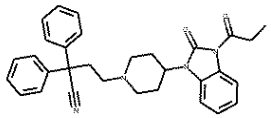
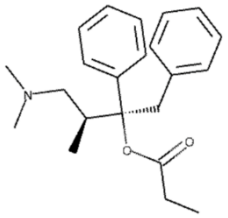
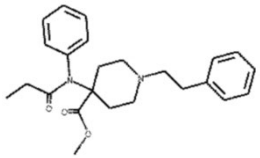
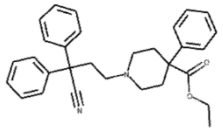
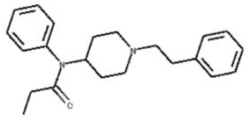
Wise, R and Roblle, M. Dopamine and Addiction. Annual Review of Psychology 2020;71:79-106.

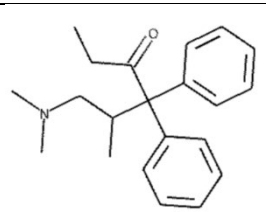
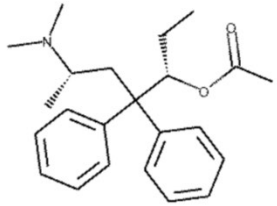
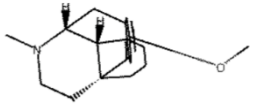
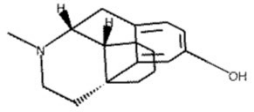
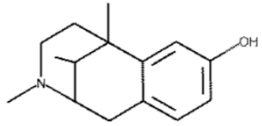
APPENDIX A. COMPARISON OF SEPIAPTERIN STRUCTURE WITH THE STRUCTURES OF SCHEDULE I, II, III, AND IV DRUGS

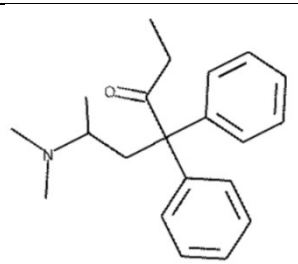
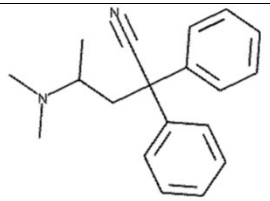
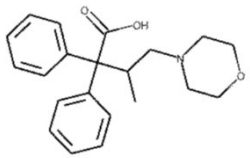
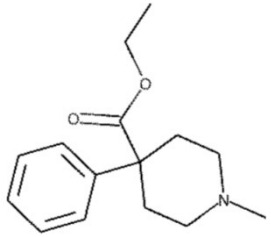
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
Not Applicable	PTC923		1
I	Heroin		0.48
I	3,4-Methylenedioxymethamphetamine		0.25
I	Methaqualone		0.60
I	LSD		0.53

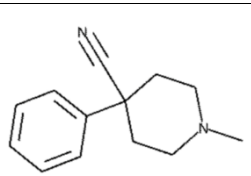
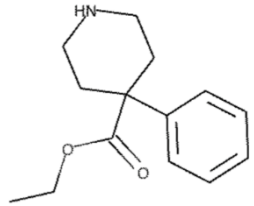
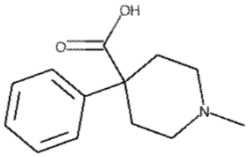
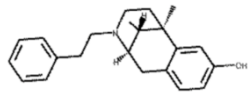
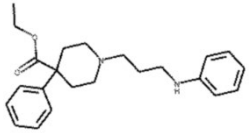
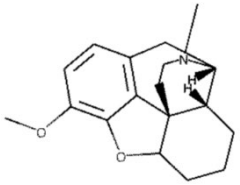
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	Codeine		0.45
II	Dihydroetorphine		0.43
II	Ethylmorphine		0.45
II	Morphine		0.46

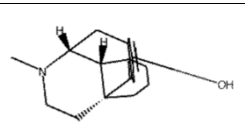
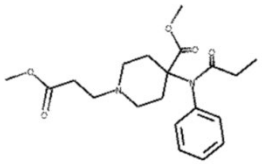
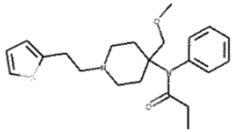
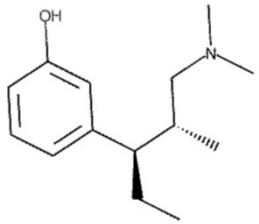
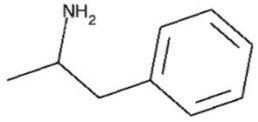
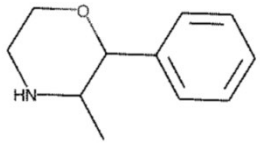
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	Thebaine		0.48
II	Cocaine		0.45
II	Alfentanil		0.58
II	Alphaprodine		0.28
II	Anileridine		0.26

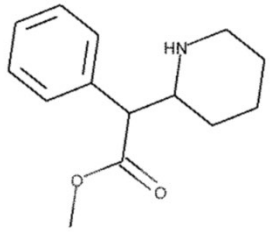
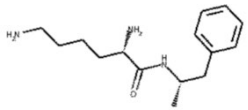
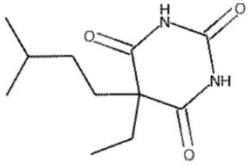
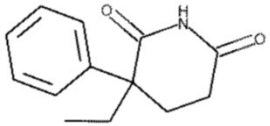
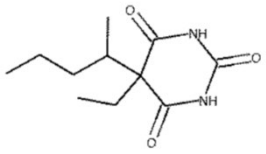
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	Benzitramide		0.59
II	Dextropropoxyphene		0.24
II	Carfentanil		0.40
II	Diphenoxylate		0.30
II	Fentanyl		0.29

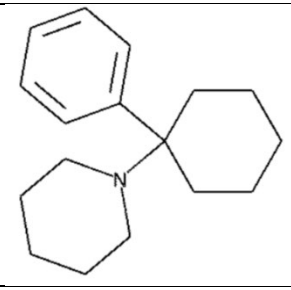
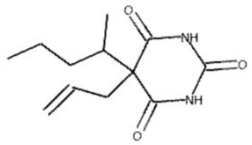
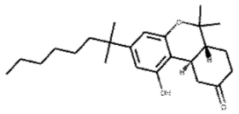
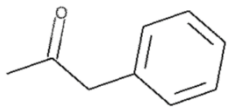
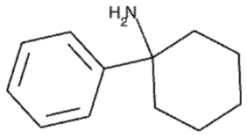
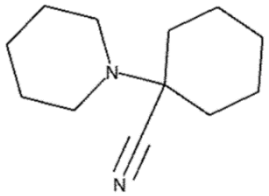
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	Isomethadone		0.21
II	Levo-alphacetylmethadol		0.25
II	Levomethorphan		0.31
II	Levorphanol		0.33
II	Metazocine		0.37

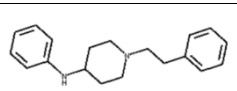
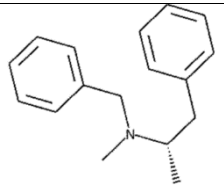
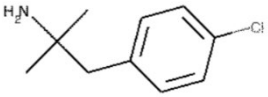
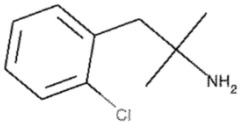
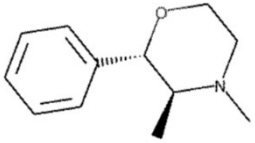
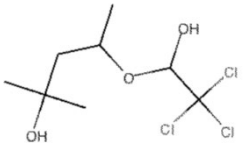
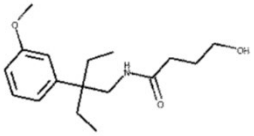
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	Methadone		0.20
II	Methadone-intermediate, 4-Cyano-2-dimethylamino-4,4-diphenyl-butane		0.18
II	Moramide-intermediate, 2-Methyl-3-morpholino-1,1-diphenylpropane-carboxylic acid		0.31
II	Pethidine		0.22

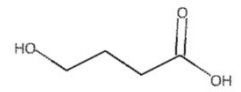
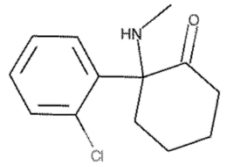
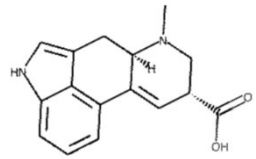
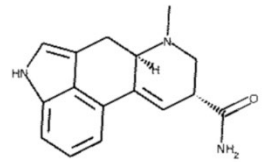
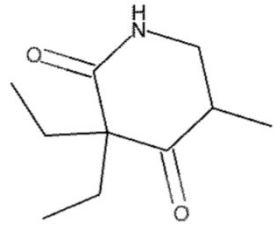
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	Pethidine-intermediate-A, 4-Cyano-1-methyl-4-phenylpiperidine		0.15
II	Pethidine-intermediate-B, Ethyl-4-phenylpiperidine-4-carboxylate		0.20
II	Pethidine-intermediate-C, 1-Methyl-4-phenylpiperidine-4-carboxylic acid		0.23
II	Phenazocine		0.37
II	Piminodine		0.25
II	Recemethorphan		0.39

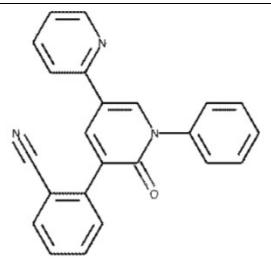
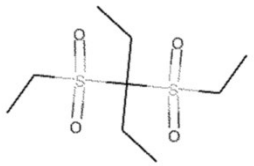
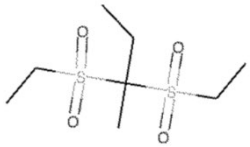
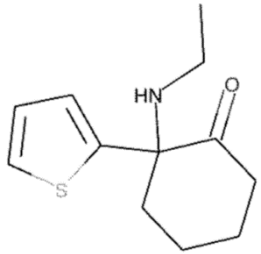
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	Racemorphan		0.33
II	Remifentanil		0.43
II	Sufentanil		0.31
II	Tapentadol		0.17
II	Amphetamine		0.07
II	Phenmetrazine		0.23

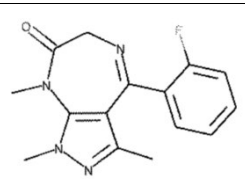
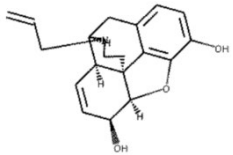
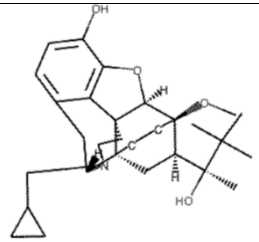
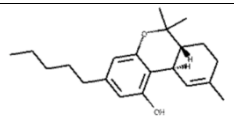
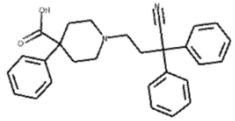
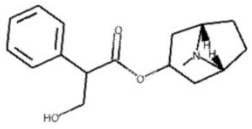
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	Methylphenidate		0.23
II	Lisdexamfetamine		0.27
II	Amobarbital		0.57
II	Glutethimide		0.39
II	Pentobarbital		0.58

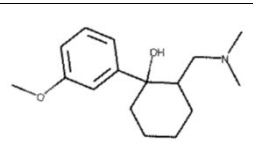
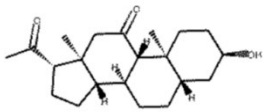
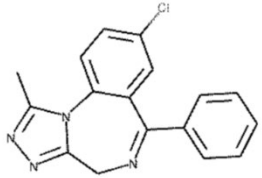
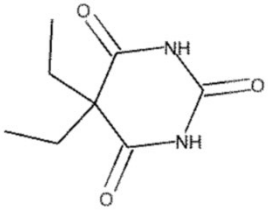
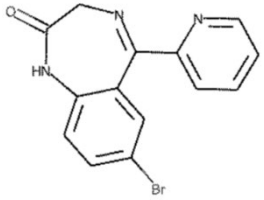
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	Phencyclidine		0.14
II	Secobarbital		0.58
II	Nabilone		0.40
II	Phenylacetone		0.05
II	1-Phenylcyclohexylamine		0.08
II	1-Piperidinocyclohexanecarbonitrile		0.14

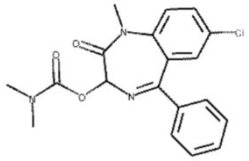
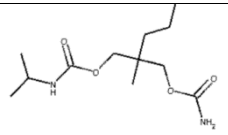
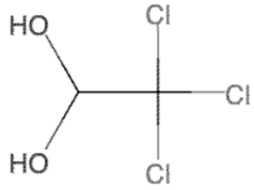
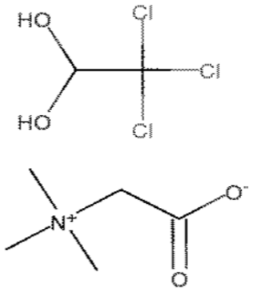
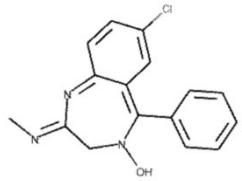
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
II	4-Anilino-N-phenethyl-4-piperidine		0.19
III	Benzphetamine		0.11
III	Chlorphentermine		0.09
III	Chlortermine		0.10
III	Phendimetrazine		0.26
III	Chlorhexadol		0.24
III	Embutramide		0.21

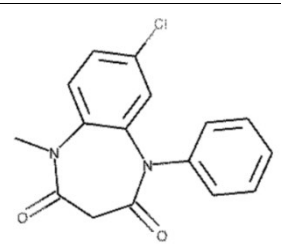
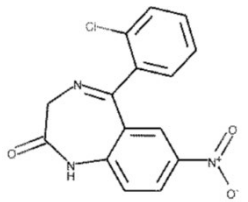
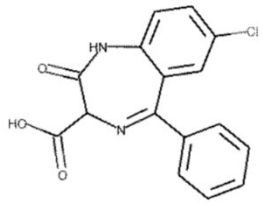
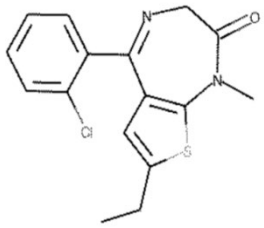
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
I / III	Gamma hydroxy butyric acid		0.07
III	Ketamine		0.24
III	Lysergic acid		0.51
III	Lysergic acid amide		0.53
III	Methyprylon		0.41

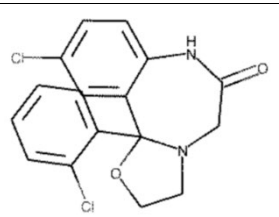
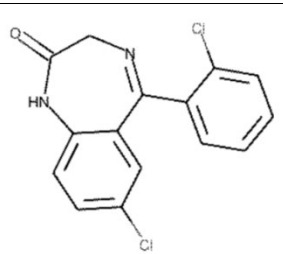
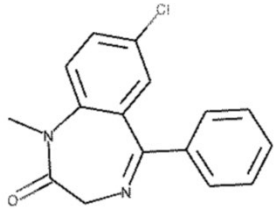
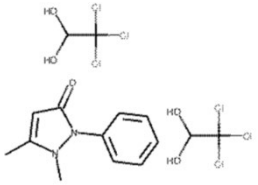
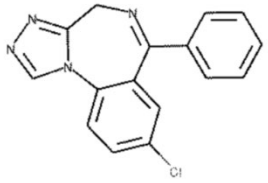
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
III	Perampanel		0.49
III	Sulfondiethylmethane		0.30
III	Sulfonethylmethane		0.30
III	Sulfonmethane		0.30
III	Tiletamine		0.22

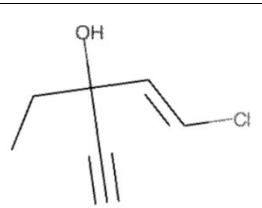
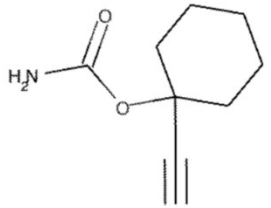
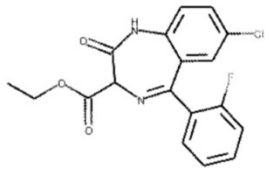
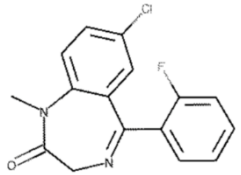
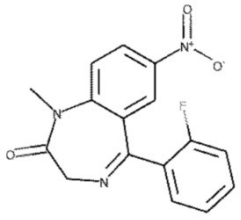
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
III	Zolazepam		0.63
III	Nalorphine		0.46
III	Buprenorphine		0.44
III	Dronabinol		0.39
IV	Difenoxin		0.31
IV	Atropine		0.34

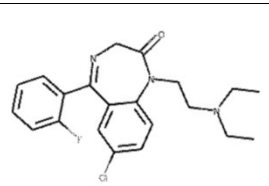
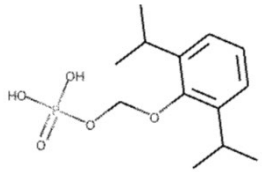
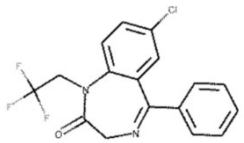
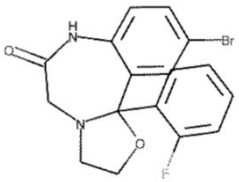
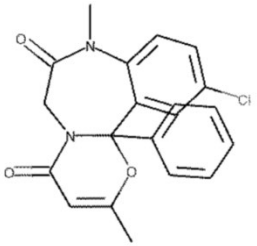
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	2-[(Dimethylamino)methyl]-1-(3-methoxyphenyl)cyclohexanol		0.23
IV	Alfaxalone		0.41
IV	Alprazolam		0.53
IV	Barbital		0.57
IV	Bromazepam		0.49

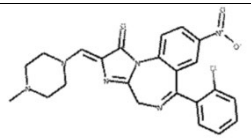
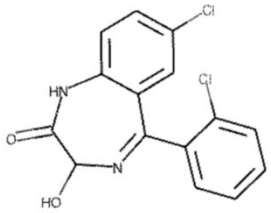
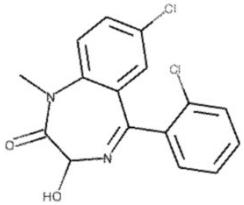
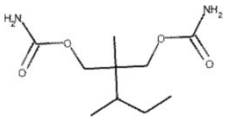
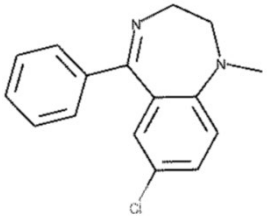
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Camazepam		0.62
IV	Carisoprodol		0.26
IV	Chloral hydrate		0.15
IV	Chloral betaine		0.24
IV	Chlordiazepoxide		0.62

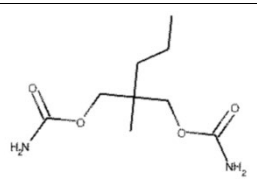
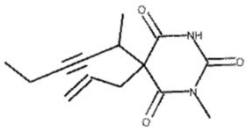
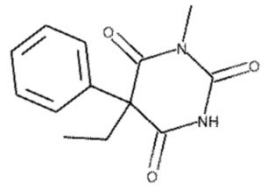
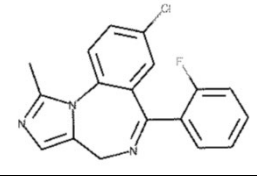
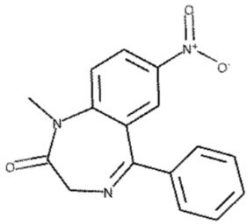
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Clobazam		0.56
IV	Clonazepam		0.53
IV	Clorazepate		0.62
IV	Clotiazepam		0.57

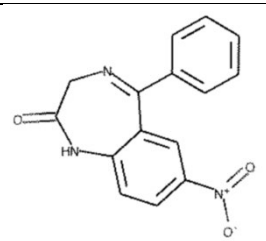
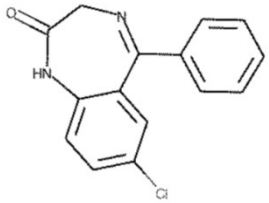
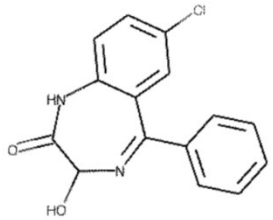
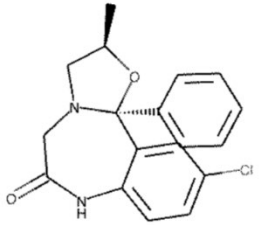
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Cloxazolam		0.54
IV	Delorazepam		0.50
IV	Diazepam		0.49
IV	Dichloralphenazone (a 1:2 mixture of antipyrine with chloral hydrate)		0.59
IV	Estazolam		0.50

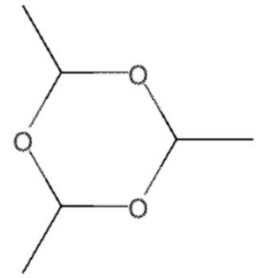
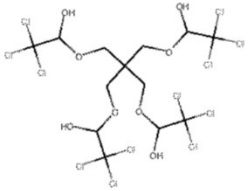
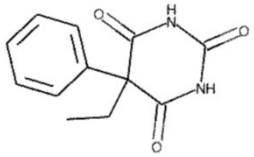
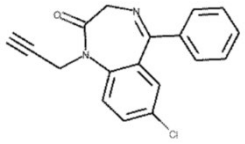
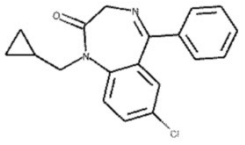
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Ethchlorvynol		0.09
IV	Ethinamate		0.17
IV	Ethyl loflazepate		0.62
IV	Fludiazepam		0.52
IV	Flunitrazepam		0.55

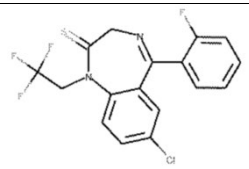
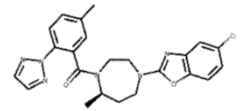
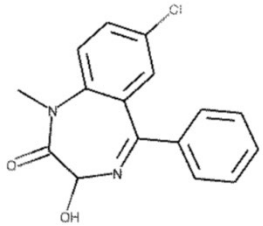
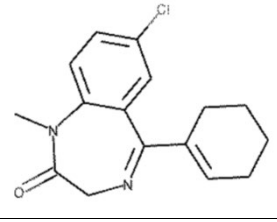
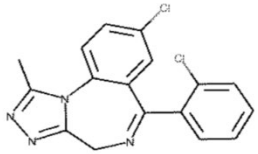
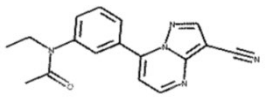
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Flurazepam		0.53
IV	Fospropofol		0.29
IV	Halazepam		0.52
IV	Haloxazolam		0.54
IV	Ketazolam		0.62

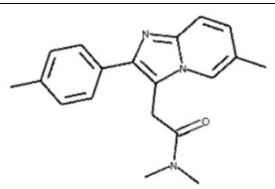
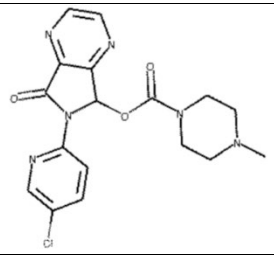
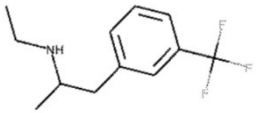
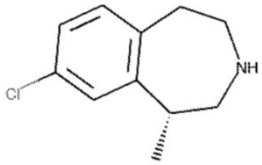
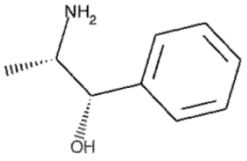
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Loprazolam		0.62
IV	Lorazepam		0.60
IV	Lormetazepam		0.60
IV	Mebutamate		0.24
IV	Medazepam		0.32

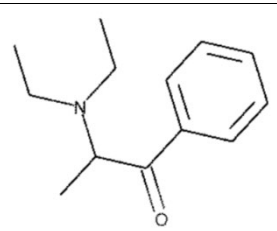
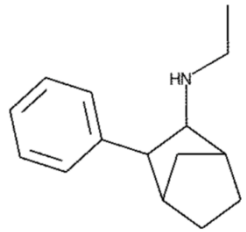
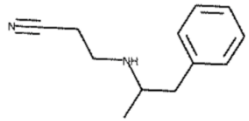
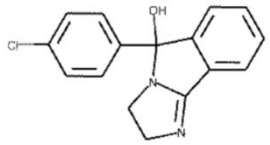
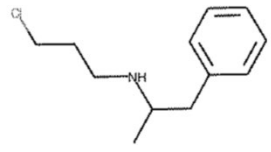
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Meprobamate		0.21
IV	Methohexital		0.61
IV	Methylphenobarbital		0.62
IV	Midazolam		0.48
IV	Nimetazepam		0.53

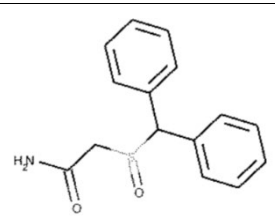
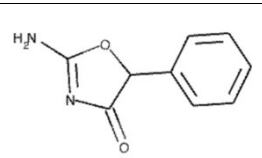
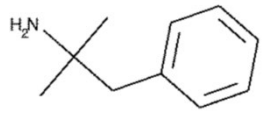
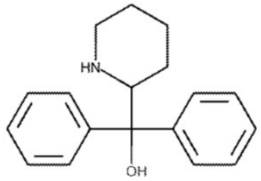
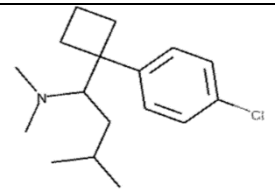
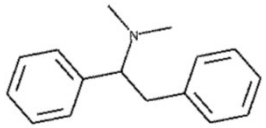
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Nitrazepam		0.51
IV	Nordiazepam		0.46
IV	Oxazepam		0.58
IV	Oxazolam		0.54

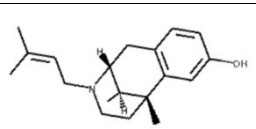
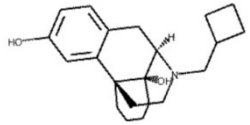
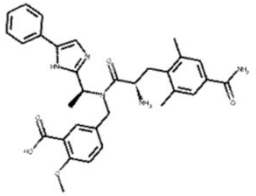
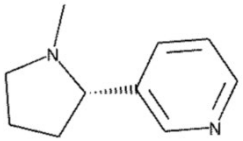
Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Paraldehyde		0.29
IV	Petrichloral		0.29
IV	Phenobarbital		0.59
IV	Pinazepam		0.48
IV	Prazepam		0.49

Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Quazepam		0.49
IV	Suvorexant		0.55
IV	Temazepam		0.59
IV	Tetrazepam		0.51
IV	Triazolam		0.54
IV	Zaleplon		0.48

Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Zolpidem		0.49
IV	Zopliclone		0.62
IV	Fenfluramine		0.16
IV	Lorcaserin		0.18
IV	Cathine		0.13

Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Diethylpropion		0.18
IV	Fencamfamin		0.26
IV	Fenproporex		0.11
IV	Mazindol		0.55
IV	Mefenorex		0.10

Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Modafinil		0.25
IV	Pemoline		0.54
IV	Phentermine		0.07
IV	Pipradrol		0.22
IV	Sibutramine		0.17
IV	1-Dimethylamino-1,2-diphenylethane		0.11

Schedule	Chemical Name	Chemical Structure	Tanimoto Index Similarity to Sepiapterin
IV	Pentazocine		0.38
IV	Butorphanol		0.40
IV	Eluxadoline		0.58
Unscheduled	Nicotine		0.17

目次

目次 1
略語一覧及び用語の定義 3
2.6.7.1 毒性試験の概要 5
2.6.7.2 トキシコキネティックス: トキシコキネティックス試験の概要 11
2.6.7.3 トキシコキネティックス: トキシコキネティックスデータの概要 13
2.6.7.4 毒性試験: 原薬および製剤 24
2.6.7.5 単回投与毒性試験 29
2.6.7.6 反復投与毒性試験: 非ピボタル試験 30
2.6.7.7 反復投与毒性試験: ピボタル試験 31
2.6.7.7A マウスにおける 5 日間及び 28 日間強制経口投与試験 31
2.6.7.7B ラット 14 日間強制経口投与毒性試験 33
2.6.7.7C ラット 13 週間強制経口投与毒性試験 35
2.6.7.7D ラット 26 週間強制経口投与毒性試験 38
2.6.7.7E マーモセットにおける 14 日間強制経口投与試験 42
2.6.7.7F マーモセットにおける 13 週間強制経口投与毒性試験 44
2.6.7.7G マーモセットにおける 9 ヵ月間強制経口投与毒性試験 46
2.6.7.8 遺伝毒性試験 In Vitro 48
2.6.7.8A 細菌を用いる復帰突然変異試験 48
2.6.7.8B 培養ヒトリンパ球を用いた in vitro ほ乳類染色体異常試験 49
2.6.7.9 遺伝毒性試験 In Vivo 52
2.6.7.10 がん原性試験 53
2.6.7.11 生殖発生毒性: 非ピボタル試験 57
2.6.7.12 生殖発生毒性: 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 58
2.6.7.13 生殖発生毒性: 胚・胎児発生に関する試験 60
2.6.7.13A An Embryo-Fetal Development Study in Rats 60
2.6.7.13B ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験 62
2.6.7.14 生殖発生毒性: 出生前及び出生後の発生に関する試験（母動物の機能を含む） 64
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 66
2.6.7.15A 新生児 Sprague Dawley ラット 6 日間強制経口投与薬物動態試験 66
2.6.7.15B Sepiapterin の幼若ラット 10 週間（強制）経口投与試験及び 4 週間回復性試験 67
2.6.7.16 局所刺激性試験 70
2.6.7.17 その他の毒性試験 71
2.6.7.17A その他毒性試験：薬物乱用性評価 71
2.6.7.18B その他の毒性試験　不純物 72
2.6.7.18B1 定量的構造活性相関リスク評価 72
2.6.7.18B1a 原薬不純物の定量的構造活性相関変異原性評価–[redacted] Report 72

2.6.7.18B1b原薬不純物／分解物の In Silico 定量的構造活性相関−PTC923-2023-057.....73
2.6.7.18B1c原薬不純物の In Silico 定量的構造活性相関 – PTC923-2023-074.....74
2.6.7.18B1d原薬不純物の In Silico 定量的構造活性相関– PTC923-2024-126.....75
2.6.7.18B1e製剤中不純物／分解物の ICH M7 に基づく In Silico 解析– PTC923-2022-037 76
2.6.7.18B2 原薬のクラス 3 不純物 CC-02 及び CC-14 の細菌を用いる変異原性試験 77
2.6.7.18B2a細菌を用いた CC−02 の In Vitro 復帰突然変異試験 – PTC923-2021-025.....77
2.6.7.18B2b細菌を用いた CC-14 の In Vitro 復帰突然変異試験 – PTC923-2021-026 79
2.6.7.18B3 不純物の安全性確認.....81
2.6.7.18B3aラット 28 日間毒性試験 PTC923-2021-007 試験における原薬および製剤不純物の安全性確認試験.....81
2.6.7.18B3bラット 28 日間毒性試験 PTC923-2023-044 試験における原薬および製剤不純物の安全性確認.....82
2.6.7.18C その他毒性試験 – ニュートラルレッド取り込み光毒性評価 83

略語一覧及び用語の定義

略語又は特殊な用語	用語	説明
2AM	2-anthramine	2-アンスラアミン
2NF	2-nitrofluorene	2-ニトロフルオレン
6-LP	6-lactoylpterin	6-ラクトイルプテリン
9AA	9-aminoacridine	9-アミノアクリジン
Admin	administration	投与
ANOVA	analysis of variance	分散分析
API	active pharmaceutical ingredient	有効成分
AUC	area under the plasma concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours	投与後 0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0–inf}$	area under the concentration-time curve from 0 to infinity (extrapolated)	0 時間から無限大時間までの濃度-時間曲線下面積（外挿）
$AUC_{0\text{-}last}$	area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration	0 時間から最終定量可能時点までの濃度-時間曲線下面積
$\%AUC_{Extrap}$	area under the concentration-time curve extrapolated from time to last measurable plasma concentration to infinity	最終測定可能濃度時点から無限大時間まで外挿した濃度-時間曲線下面積（%）
BaP	benzo(a)pyrene	ベンゾ(a)ピレン
BH_4	tetrahydrobiopterin	テトラヒドロビオプテリン
BL	baseline	ベースライン
BQL	below the quantifiable limit	定量限界以下
BW	body weight	体重
BWG	body weight gain	体重増加
CA^{2+}	calcium ion	カルシウムイオン
CPA	cyclophosphamide	シクロフォスファミド
D	Day	日
DI	deionized	脱イオン化
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DP	drug product	製剤
DPBS	Dulbecco’s phosphate buffered saline	ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水
DRF	dose range-finding	用量設定
DS	drug substance	原薬
DSP	deoxysepiapterin	デオキシセピアプテリン
e.e.	enantiomeric excess	エナンチオマー過剰率
eCTD	electronic Common Technical Document	電子的コモンテクニカルドキュメント
EMS	ethyl methanesulfonate, positive control	メタンスルホン酸エチル
F	female	女性／雌
F_0 and F_1	filial generation; F_0 and F_1 refer to the generation of animals with F_0 being the parental animals and F_1 being the offspring of the F_0 generation.	世代：F0 および F1 は、F0 が親動物、F1 が F0 世代の子孫である動物
FC	food consumption	摂餌
GD	Gestation Day	妊娠日齢
Grp	Group	グループ
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度

略語又は特殊な用語	用語	説明
J	joules	ジュール
LD	Lactation Day	授乳日
LLOQ	lower limit of quantitation	定量限界以下
M	male	男性／雄
Mg^{2+}	magnesium cation	マグネシウムカチオン
mJ	millijoules	ミリジュール
MMC	mitomycin C	マイトマイシン C
MN-PCE	micronucleated polychromatic erythrocytes	小核を有する多染性赤血球
MPE	mean photo effect	平均光効果
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
N	number evaluated	例数
NA	not applicable	該当せず
NaN3	sodium azide	アジ化ナトリウム
NC	not calculated or not conducted	算出せず
ND	not determined	未確定
NMT	not more than	以下
No.	number	動物数
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no observed effect level	無作用量
NRR	no reportable result	報告可能な結果なし
NT	not tested	試験せず
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
OD_{540}	absolute optical density	540 nm フィルターを用いた吸光度
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
Oral Mix	Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup	Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup
PCE	polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PIF	photoirritancy factor	光刺激因子
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (Japan)	医薬品医療機器総合機構
PND	Postnatal Day	出生後日数
(Q)SAR	quantitative structure activity relationship	定量的構造活性相関
R-SP	r-enantiomer sepiapterin	Sepiapterin の R エナンチオマー
Rec	recovery	回復
RRT	relative retention time	相対保持時間
Rsq	goodness-of-fit statistic	適合度統計量
S9	metabolic activation system	代謝活性化系
SAR	structure-activity relationship	構造活性相関
SD	standard deviation	標準偏差
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティックス
T_{last}	time to last measurable plasma concentration	最終測定可能血漿中濃度到達時間
US/USA	United States of America	米国

2.6.7.1 毒性試験の概要

Sepiapterin was formerly known as PTC923 and CNSA-001.

Overview						Test Article: Sepiapterin		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Admin**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)[a]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**eCTD Location**
Single-Dose Toxicity								
No studies were conducted.								
Repeat-Dose Toxicity								
Repeat-dose range-finding	Mouse/ Wild type, CByB6F1-Tg (HRAS)2Jic	Oral	5 days (Phase A) and 28 days (Phase B)	Phase A: 0, 30, 100, 300, 1000 Phase B: 0, 300, 1000, 4000	GLP	[redacted] USA	PTC923-2023-053	4.2.3.2
Repeat-dose	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)	Oral	14 days (2 weeks)	0, 30, 60, 120, 240[b]	Non-GLP	[redacted] USA	16I0231S-X01	4.2.3.2
Repeat-dose	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)	Oral	14 days (2 weeks)	0, 100, 300, 1000	GLP	[redacted] Canada	CNSA-TOX-001-2017	4.2.3.2
Repeat-dose	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)	Oral	13 weeks	0, 30, 100, 300	GLP	[redacted] Canada	CNSA-TOX-001-2018	4.2.3.2
Repeat-dose	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)	Oral	26 weeks (6 months)	0, 30, 100, 200[c]	GLP	[redacted] Canada	PTC923-2020-003	4.2.3.2
Repeat-dose	Monkey/ Marmoset	Oral	14 days (2 weeks)	0, 100, 300, 1000	GLP	[redacted] USA	CNSA-TOX-002-2017	4.2.3.2
Repeat-dose	Monkey/ Marmoset	Oral	13 weeks	0, 30, 100, 300	GLP	[redacted] USA	CNSA-TOX-002-2018	4.2.3.2
Repeat-dose	Monkey/ Marmoset	Oral	9 months (39 weeks)	0, 30, 100, 300	GLP	[redacted] USA	PTC923-2020-004	4.2.3.2

Overview						Test Article: Sepiapterin		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Admin**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)[a]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**eCTD Location**
Genotoxicity								
In Vitro Genotoxicity								
In vitro bacterial reverse mutation test	*Salmonella typhimurium (S. typhimurium)*	In vitro	48-72 hours incubation	312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate (±S9)	GLP	[redacted] France	CNSA-TOX-003-2017	4.2.3.3.1
In vitro mammalian chromosome aberration test	Cultured human lymphocytes	In vitro	3- and 20-hour incubation (-S9); 3-hour incubation (+S9)	0.031, 0.063, 0.125, 0.25, 0.5, 1 mM (-S9)[d] 0.031, 0.063, 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1 mM (+S9)[d]	GLP	[redacted] France	CNSA-TOX-004-2017	4.2.3.3.1
In Vivo Genotoxicity								
In vivo micronucleus and comet assay	Rat/Hsd Harlan Sprague Dawley	Oral	3 days	0, 100, 300, 1000, 2000	GLP	[redacted] USA	CNSA-TOX-005-2017	4.2.3.3.2
Carcinogenicity								
26-week Carcinogenicity	Mice/CByB6F1 **Carcinogenicity**: CByB6F1-Tg(HRAS)2JIC **TK**: CByB6F1/J wild-type, hybrid non-Tg	Oral	26 weeks	Male: 0, 30, 100, 300 mg/kg/day, Female: 0, 100, 300, 1000 mg/kg/day Positive control, urethane: 500 mg/kg/day	GLP	[redacted] USA	PTC923-2023-070	4.2.3.4.2

Overview						Test Article: Sepiapterin		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Admin**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)[a]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**eCTD Location**
Reproductive and Developmental Toxicity								
Fertility and embryo-fetal development	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	Oral	Males: 57 days (28 days prior to mating and continuing until euthanasia) Females: 15 days prior to mating through GD7	0, 30, 100, 300	GLP	[redacted] USA	PTC923-2022-028	4.2.3.5.1
Dose range-finding embryo-fetal development	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	Oral	GD7 through GD17	0, 100, 300, 1000[b]	Non-GLP	[redacted] USA	PTC923-2021-005	4.2.3.5.2
Embryo-fetal development	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	Oral	GD7 through GD17	0, 100, 300, 1000	GLP	[redacted] USA	PTC923-2021-023	4.2.3.5.2
Dose range-finding embryo-fetal development	Rabbit/ New Zealand White (Hsd:Hra[NZW] SPF)	Oral	GD7 through GD19	0, 100, 300, 1000[b]	Non-GLP	[redacted] USA	PTC923-2021-006	4.2.3.5.2
Embryo-fetal development	Rabbit/ New Zealand White (Hsd:Hra[NZW] SPF)	Oral	GD7 through GD19	0, 100, 300, 1000	GLP	[redacted] USA	PTC923-2021-024	4.2.3.5.2

Overview						Test Article: Sepiapterin		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Admin**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)[a]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**eCTD Location**
Pre- and postnatal development	Rat/ Crl:CD(SD) Sprague Dawley	Oral	GD6 through D20 postpartum; or GD24 for rats that did not deliver litter	0, 30, 100, 300	GLP	[redacted] USA	PTC923-2023-048	4.2.3.5.3
Studies in Juvenile Animals								
Juvenile rat	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS) (neonates)	Oral	PND4 through PND9	0, 10, 30, 100[b]	GLP	[redacted] Canada	PTC923-2020-006	4.2.3.5.4
Juvenile rat toxicity	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	Oral	PND4 through PND70	PND4 through PND28: 0, 5, 10, 30; PND29 through PND70: 0, 30, 100, 300	GLP	[redacted] USA	PTC923-2023-045	4.2.3.5.4
Local Tolerance								
No studies were required for oral dosing.								
Other Toxicity Studies								
Immunotoxicity								
No studies were considered necessary.								
Drug Abuse Liability Assessments								
No additional drug abuse liability studies are warranted (details provided in Module 2.6.6, Section 8.2 and Appendix 2).								
Metabolites Studies								
No additional studies were considered necessary.								
Impurities								
(Q)SAR risk assessment: DS	NA	NA	NA	NA	Non-GLP	[redacted] USA	[redacted] Report	4.2.3.7.6

Overview						Test Article: Sepiapterin		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Admin**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)[a]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**eCTD Location**
(Q)SAR risk assessment: DS	NA	NA	NA	NA	Non-GLP	[redacted] USA	PTC923-2023-057	4.2.3.7.6
(Q)SAR risk assessment: DS	NA	NA	NA	NA	Non-GLP	[redacted] USA	PTC923-2023-074	4.2.3.7.6
(Q)SAR risk assessment: DS	NA	NA	NA	NA	Non-GLP	[redacted] USA	PTC923-2024-126	4.2.3.7.6
(Q)SAR risk assessment: DP	NA	NA	NA	NA	Non-GLP	[redacted] USA	PTC923-2022-037	4.2.3.7.6
Bacterial reverse mutation assay: CC-02	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) and 1 *Escherichia coli* (*E. coli*) strain (WP2 *uvrA*)	In vitro	2 days	Up to 5000 µg/plate (dose range-finding assay) Up to 1000 µg/plate (mutagenicity assay)	GLP	[redacted] USA	PTC923-2021-025	4.2.3.7.6

Overview						Test Article: Sepiapterin		
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Admin**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)[a]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**eCTD Location**
Bacterial reverse mutation assay: CC-14	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) and 1 *Escherichia coli* strain (WP2 *uvrA*)	In vitro	2 days	Up to 5000 µg/plate (dose range-finding assay) Up to 1000 µg/plate (mutagenicity assay)	GLP	[redacted] USA	PTC923-2021-026	4.2.3.7.6
Impurity qualification	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)	Oral	28 days	DS: 0 (Oral mix), <u>100</u> DP: 0 (DI water), 100, <u>300</u>	GLP	[redacted] USA	PTC923-2021-007	4.2.3.7.6
Impurity qualification	Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)	Oral	28 days	DS: 0, <u>100</u> Enantiomer: 5.6	GLP	[redacted] USA	PTC923-2023-044	4.2.3.7.6
Phototoxicity								
Phototoxicity assessment	BALB/c 3T3 mouse fibroblasts	In vitro	NA	1.78, 3.16, 5.62, 10, 17.8, 31.6, 56.2, 111 µg/mL	GLP	[redacted] USA	PTC923-2021-010	4.2.3.7.7

Abbreviations: Admin, administration; D, Day; DI, deionized; DP, drug product; DRF, dose range-finding; DS, drug substance; eCTD, electronic Common Technical Document; GD, Gestation Day; NA, not applicable; NOAEL, no observed adverse effect level; NZW, New Zealand White; PK, pharmacokinetic(s); PMDA, Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (Japan);PND, Postnatal Day; (Q)SAR, quantitative structure-activity relationship; S9, metabolic activation system; TK, toxicokinetic(s); US/USA, United States of America

[a] The NOAEL is identified via underline.

[b] Sepiapterin was tolerated up to the highest dose tested; a NOAEL was not determined.

[c] A NOEL was determined for this study.

[d] No chromosomal aberration was noted with S9 mix at any dose; however, at doses 0.25, 0.5, and 1 mM without S9 mix, there were structural chromosomal aberrations after a 20-hour treatment and the conclusion remained equivocal after 3-hour treatment.

2.6.7.2 トキシコキネティックス: トキシコキネティックス試験の概要

Overview of Toxicokinetics Studies: The repeat-dose toxicology studies included characterization of the TK of sepiapterin and/or BH_4 following oral administration of sepiapterin. Serial blood samples were collected on 1 or 2 separate days for each study. A noncompartmental method was used to determine TK parameters from plasma concentration-time data.					**Test Article:** Sepiapterin	
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Doses (mg/kg)[a]**	**GLP Compliance**	**Study Number**	**eCTD Location**
5-day and 28-day repeat-dose range-finding toxicity study	Mouse/ Wild type, CByB6F1-Tg (HRAS)2Jic	Oral	Phase A: 0, 30, 100, 300, 1000 Phase B: 0, 300, 1000, 4000	GLP	PTC923-2023-053	4.2.3.2
14-day repeat-dose toxicity	Sprague Dawley rat	Oral	0, 100, 300, 1000	GLP	CNSA-TOX-001-2017	4.2.3.2
13-week repeat-dose toxicity	Sprague Dawley rat	Oral	0, 30, 100, 300	GLP	CNSA-TOX-001-2018	4.2.3.2
26-week repeat-dose toxicity	Sprague Dawley rat	Oral	0, 30, 100, 200[b]	GLP	PTC923-2020-003	4.2.3.2
14-day repeat-dose toxicity	Marmoset monkey	Oral	0, 100, 300, 1000	GLP	CNSA-TOX-002-2017	4.2.3.2
13-week repeat-dose toxicity	Marmoset monkey	Oral	0, 30, 100, 300	GLP	CNSA-TOX-002-2018	4.2.3.2
9-month repeat-dose toxicity	Marmoset monkey	Oral	0, 30, 100, 300	GLP	PTC923-2020-004	4.2.3.2
26-week carcinogenicity	Mice/CByB6F1/J Wild-type, Hybrid Non-Tg	Oral	Male: 0, 30, 100, 300 mg/kg/day, Female: 0, 100, 300, 1000 mg/kg/day Positive control, urethane: 500 mg/kg/day	GLP	PTC923-2023-070	4.2.3.4.2
Dose range-finding embryo-fetal development	Sprague Dawley rat	Oral	0, 100, 300, 1000[c]	Non-GLP	PTC923-2021-005	4.2.3.5.2
Embryo-fetal development	Sprague Dawley rat	Oral	0, 100, 300, 1000	GLP	PTC923-2021-023	4.2.3.5.2
Dose range-finding embryo-fetal development	New Zealand White rabbit	Oral	0, 100, 300, 1000[c]	Non-GLP	PTC923-2021-006	4.2.3.5.2
Embryo-fetal development	New Zealand White rabbit	Oral	0, 100, 300, 1000	GLP	PTC923-2021-024	4.2.3.5.2
6-day neonatal pharmacokinetic	Neonatal Sprague Dawley rats	Oral	0, 10, 30, 100[c]	GLP	PTC923-2020-006	4.2.3.5.4

Overview of Toxicokinetics Studies: The repeat-dose toxicology studies included characterization of the TK of sepiapterin and/or BH_4 following oral administration of sepiapterin. Serial blood samples were collected on 1 or 2 separate days for each study. A noncompartmental method was used to determine TK parameters from plasma concentration-time data.					**Test Article:** Sepiapterin	
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Doses (mg/kg)[a]**	**GLP Compliance**	**Study Number**	**eCTD Location**
10-week study with 4-week recovery	Juvenile Sprague Dawley rat	Oral	0, 5/30, 10/100, <u>30/300</u>	GLP	PTC923-2023-045	4.2.3.5.4

Abbreviations: BH_4, tetrahydrobiopterin; eCTD, electronic Common Technical Document; NOAEL, no observed adverse effect level; NOEL, no observed effect level; PK, pharmacokinetics; TK, toxicokinetic(s)

[a] The NOAEL is identified via underline.

[b] A NOEL was determined for this study.

[c] Sepiapterin was tolerated up to the highest dose tested; a NOAEL was not determined.

Note: All data are collected from the TK analysis associated with repeat-dose toxicology studies. Toxicokinetic parameters and additional information are included in supplemental tables that follow, one for each study and analyte.

2.6.7.3 トキシコキネティックス: トキシコキネティックスデータの概要

Overview of Toxicokinetics Data - Sepiapterin							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Mouse Wild-type CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic								
	Median		**Mean**						
30	NC	NA	NC	NA	NC	NA	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
100	1	1	23.2	132	85.1	448	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
300	3	3	23.9	103	170	382	28 days/D1	GLP	PTC923-2023-053
300	1	1	118	211	318	992	28 days/D28	GLP	PTC923-2023-053
300	1	3	31.4	264	127	1140	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
1000	3	1	44.7	91.7	143	792	28 days/D1	GLP	PTC923-2023-053
1000	3	3	85.4	159	573	1060	28 days/D28	GLP	PTC923-2023-053
1000	NA	3	NA	173	NA	1330	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
4000	1	12	55.8	101	463	1260	28 days/D1	GLP	PTC923-2023-053
4000	1	6	86.7	196	482	1520	28 days/D28	GLP	PTC923-2023-053
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Juvenile Sprague Dawley Rat								
	Median		**Mean**						
10	0.5	0.5	73.3	45.3	164	103	6 days/PND4	GLP	PTC923-2020-006
10	0.5	0.5	181	148	NRR	ND	6 days/PND9	GLP	PTC923-2020-006
30	0.5	0.5	274	359	727	480	6 days/PND4	GLP	PTC923-2020-006
30	0.5	0.5	176	328	NRR	ND	6 days/PND9	GLP	PTC923-2020-006
100	1	1	687	734	3330	2610	6 days/PND4	GLP	PTC923-2020-006

100	0.5	0.5	3380	1120	2750	3450	6 days/PND9	GLP	PTC923-2020-006
Overview of Toxicokinetics Data –Sepiapterin							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Juvenile Sprague Dawley Rat								
	Median		**Mean**						
30/300	6	2	105	681	451	1530	10 weeks/PND4	GLP	PTC923-2023-045
Overview of Toxicokinetics Data - Sepiapterin							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Pregnant New Zealand White Rabbit								
	Median		**Mean**						
100	NA	1	NA	356	NA	969	13 days/GD7	Non-GLP	PTC923-2021-006
100	NA	1	NA	403	NA	636	13 days/GD19	Non-GLP	PTC923-2021-006
100	NA	1	NA	345	NA	1100	13 days/GD7	GLP	PTC923-2021-024
100	NA	1	NA	266	NA	642	13 days/GD19	GLP	PTC923-2021-024
300	NA	1	NA	805	NA	3350	13 days/GD7	Non-GLP	PTC923-2021-006
300	NA	2	NA	558	NA	1750	13 days/GD19	Non-GLP	PTC923-2021-006
300	NA	1	NA	669	NA	2800	13 days/GD7	GLP	PTC923-2021-024
300	NA	2	NA	576	NA	1650	13 days/GD19	GLP	PTC923-2021-024
1000	NA	2	NA	1530	NA	8460	13 days/GD7	Non-GLP	PTC923-2021-006
1000	NA	2	NA	1140	NA	4890	13 days/GD19	Non-GLP	PTC923-2021-006
1000	NA	2	NA	1240	NA	7800	13 days/GD7	GLP	PTC923-2021-024
1000	NA	2	NA	707	NA	3340	13 days/GD19	GLP	PTC923-2021-024

Overview of Toxicokinetics Data - Sepiapterin							Test Article: Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	T_{max} (h)		C_{max} (ng/mL)		AUC_{0-24h} (h•ng/mL)		Study Duration/Time of Measurement	GLP Status	Study Number
	M	F	M	F	M	F			
	Species: Marmoset Monkey								
	Median		Mean						
30	2	2	40.6	25.9	184	26.2	13 weeks/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2018
30	2	1.5	34.5	14.7 (2)	50.9	5.10 (2)	13 weeks/D91	GLP	CNSA-TOX-002-2018
30	NC (1)	NC (1)	NC (1)	NC (1)	NC	NC	9 months/D1	GLP	PTC923-2020-004
30	NC	NC	NC	NC	NC	NC	9 months/D169 (Week 25)	GLP	PTC923-2020-004
30	NC	NC (1)	NC	NC (1)	NC	NC (1)	9 months/D273 (Week 39)	GLP	PTC923-2020-004
100	2	2	64.2	90.5	137	472	14 days/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2017
100	2	1.5	42.2	47.4	75.5	36.9	14 days/D14	GLP	CNSA-TOX-002-2017
100	2.5	4	49.3	51.3	187	174	13 weeks/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2018
100	2	0.5	77.4 (3)	29.5	156 (3)	58.6	13 weeks/D91	GLP	CNSA-TOX-002-2018
100	0.5 (4)	0.5 (2)	42.3 (4)	23.1 (2)	140 (2)	NC	9 months/D1	GLP	PTC923-2020-004
100	12.5 (2)	1.5 (2)	33.0 (2)	12.3 (2)	NC	NC	9 months/D169 (Week 25)	GLP	PTC923-2020-004
100	1 (5)	NC (1)	40.9 (5)	NC (1)	72.8 (3)	NC (1)	9 months/D273 (Week 39)	GLP	PTC923-2020-004
300	2	2	154	106	1236	264	14 days/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2017
300	1	1	53.2	69.7	149	392	14 days/D14	GLP	CNSA-TOX-002-2017
300	2	1.5	77.7	111	325	370	13 weeks/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2018
300	0.75	1	60.1	26.2	113	75.2	13 weeks/D91	GLP	CNSA-TOX-002-2018

Overview of Toxicokinetics Data - Sepiapterin							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Marmoset Monkey (Continued)								
	Median		**Mean**						
300	1.5 (6)	2 (6)	77.7 (6)	79.2 (6)	415 (5)	293 (6)	9 months/D1	GLP	PTC923-2020-004
300	1.5 (4)	NC (1)	15.4 (4)	NC (1)	NC (1)	NC (1)	9 months/D169 (Week 25)	GLP	PTC923-2020-004
300	2 (5)	2 (2)	24.6 (5)	25.9 (2)	86.6 (4)	NC	9 months/D273 (Week 39)	GLP	PTC923-2020-004
1000	2	2	104	331	391	1534	14 days/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2017
1000	2	2	62.1	54.3	170	218	14 days/D14	GLP	CNSA-TOX-002-2017

Overview of Toxicokinetics Data – BH_4							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Mouse CByB6F1/J Wild-type, Hybrid Non-Tg								
	Median		**Mean**						
30	1	NA	1130	NA	5670	NA	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
100	3	3	2530	2910	14500	13700	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
300	3	3	4680	5460	23300	25900	28 days/D1	GLP	PTC923-2023-053
300	3	3	5360	6230	35100	48200	28 days/D28	GLP	PTC923-2023-053
300	3	3	5180	4820	34500	29600	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
1000	3	3	4590	5330	23500	46500	28 days/D1	GLP	PTC923-2023-053
1000	3	3	5510	5230	46700	49700	28 days/D28	GLP	PTC923-2023-053
1000	NA	3	NA	6340	NA	46900	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
4000	1	3	5310	5380	49400	47200	28 days/D1	GLP	PTC923-2023-053
4000	3	3	4810	6880	47000	58400	28 days/D28	GLP	PTC923-2023-053

Overview of Toxicokinetics Data – BH_4							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Sprague Dawley Rat								
	Median		**Mean**						
30	2	4	447	308	3160	2060	13 weeks/D1	GLP	CNSA-TOX-001-2018
30	2	2	683	601	4030	2930	13 weeks/D91	GLP	CNSA-TOX-001-2018
30	4	1	689	615	5010	4120	26 weeks/D1	GLP	PTC923-2020-003
30	4	2	623	796	4540	3910	26 weeks/D91	GLP	PTC923-2020-003
30	2	2	710	915	4830	4410	26 weeks/D182	GLP	PTC923-2020-003
100	2	2	1860	1210	13000	8610	14 days/D1	GLP	CNSA-TOX-001-2017
100	2	2	1730	1760	10900	8340	14 days/D14	GLP	CNSA-TOX-001-2017
100	4	4	1080	1020	7790	6450	13 weeks/D1	GLP	CNSA-TOX-001-2018
100	2	2	1400	2380	9790	9340	13 weeks/D91	GLP	CNSA-TOX-001-2018
100	4	4	1780	2060	11700	11900	26 weeks/D1	GLP	PTC923-2020-003
100	4	2	1490	1920	11300	10400	26 weeks/D91	GLP	PTC923-2020-003
100	4	2	1680	1770	14000	9590	26 weeks/D182	GLP	PTC923-2020-003
200	4	2	3320	3140	21400	21200	26 weeks/D1	GLP	PTC923-2020-003
200	4	2	2440	2580	20200	12900	26 weeks/D91	GLP	PTC923-2020-003
200	4	2	2380	3200	24100	18100	26 weeks/D182	GLP	PTC923-2020-003
300	4	2	2850	2150	27800	14400	14 days/D1	GLP	CNSA-TOX-001-2017
300	2	2	3440	4110	24600	25600	14 days/D14	GLP	CNSA-TOX-001-2017
300	4	4	2480	2860	21700	17000	13 weeks/D1	GLP	CNSA-TOX-001-2018
300	2	2	2750	3630	23100	20900	13 weeks/D91	GLP	CNSA-TOX-001-2018

Overview of Toxicokinetics Data – BH_4							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Sprague Dawley Rat								
	Median		**Mean**						
1000	4	2	4930	3720	47800	31000	14 days/D1	GLP	CNSA-TOX-001-2017
1000	4	2	2990	3630	28900	29500	14 days/D14	GLP	CNSA-TOX-001-2017
Overview of Toxicokinetics Data – BH_4							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Pregnant Sprague Dawley Rat								
	Median		**Mean**						
100	NA	2	NA	1680	NA	11000	11 days/GD7	GLP	PTC923-2021-023
100	NA	2	NA	1360	NA	8360	11 days/GD17	GLP	PTC923-2021-023
100	NA	2	NA	1380	NA	11300	11 days/GD7	Non-GLP	PTC923-2021-005
100	NA	4	NA	976	NA	6450	11 days/GD17	Non-GLP	PTC923-2021-005
300	NA	4	NA	3160	NA	23400	11 days/GD7	GLP	PTC923-2021-023
300	NA	2	NA	2520	NA	17700	11 days/GD17	GLP	PTC923-2021-023
300	NA	4	NA	2990	NA	19900	11 days/GD7	Non-GLP	PTC923-2021-005
300	NA	2	NA	2000	NA	14100	11 days/GD17	Non-GLP	PTC923-2021-005
1000	NA	4	NA	3200	NA	29500	11 days/GD7	GLP	PTC923-2021-023
1000	NA	2	NA	3410	NA	26900	11 days/GD17	GLP	PTC923-2021-023
1000	NA	2	NA	2670	NA	25100	11 days/GD7	Non-GLP	PTC923-2021-005
1000	NA	2	NA	2420	NA	19200	11 days/GD17	Non-GLP	PTC923-2021-005

Overview of Toxicokinetics Data – BH_4							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Juvenile Sprague Dawley Rat								
	Median		**Mean**						
10	4	4	883	827	8870	8130	6 days/PND4	GLP	PTC923-2020-006
10	4	4	856	830	10600	10800	6 days/PND9	GLP	PTC923-2020-006
30	4	4	2290	2220	23400	22200	6 days/PND4	GLP	PTC923-2020-006
30	4	4	2620	3460	26900	32100	6 days/PND9	GLP	PTC923-2020-006
100	4	4	7350	6140	77500	64100	6 days/PND4	GLP	PTC923-2020-006
100	4	4	9480	8410	92000	86400	6 days/PND9	GLP	PTC923-2020-006
Overview of Toxicokinetics Data – Baseline Corrected BH_4							**Test Article:** Sepiapterin		
30	1	NA	1070	NA	4440	NA	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
100	3	3	2480	2860	13300	12500	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
10	4	4	813	757	7190	6440	6 days/PND4	GLP	PTC923-2020-006
10	4	4	786	760	8880	9090	6 days/PND9	GLP	PTC923-2020-006
30	4	4	2220	2140	21700	20500	6 days/PND4	GLP	PTC923-2020-006
30	4	4	2550	3390	25200	30400	6 days/PND9	GLP	PTC923-2020-006
100	4	4	7280	6070	75800	62400	6 days/PND4	GLP	PTC923-2020-006
100	4	4	9410	8340	90300	84700	6 days/PND9	GLP	PTC923-2020-006
300	3	3	5130	4770	33300	28400	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070
1000	NA	3	NA	6290	NA	45700	26 weeks/ Day 180	GLP	PTC923-2023-070

Overview of Toxicokinetics Data - BH_4							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Juvenile Sprague Dawley Rat								
	Median		**Mean**						
5 (Grp 2)	6	4	398	291	4900	3820	10 weeks/PND4	GLP	PTC923-2023-045
10 (Grp 3)	6	4	743	646	7780	7850	10 weeks/PND4	GLP	PTC923-2023-045
30 (Grp 4)	6	6	1480	4010	22000	39900	10 weeks/PND4	GLP	PTC923-2023-045
30 (Grp 2)	2	2	628	626	4960	4790	10 weeks/PND29	GLP	PTC923-2023-045
30 (Grp 2)	2	2	741	505	4410	3220	10 weeks/PND70	GLP	PTC923-2023-045
100 (Grp 3)	4	4	1810	1940	14000	14600	10 weeks/PND29	GLP	PTC923-2023-045
100 (Grp 3)	2	2	1390	1430	8960	6530	10 weeks/PND70	GLP	PTC923-2023-045
300 (Grp 4)	4	4	3850	4460	27800	31000	10 weeks/PND29	GLP	PTC923-2023-045
300 (Grp 4)	2	2	1750	1780	12300	10800	10 weeks/PND70	GLP	PTC923-2023-045
Overview of Toxicokinetics Data – Baseline Corrected BH_4							**Test Article:** Sepiapterin		
5 (Grp 2)	6	4	351	244	3770	2710	10 weeks/PND4	GLP	PTC923-2023-045
10 (Grp 3)	6	4	695	598	6640	6710	10 weeks/PND4	GLP	PTC923-2023-045
30 (Grp 4)	6	6	1430	3960	20900	38800	10 weeks/PND4	GLP	PTC923-2023-045
30 (Grp 2)[a]	NC	NC	NC	NC	NC	NC	10 weeks/PND29	GLP	PTC923-2023-045
30 (Grp 2)	2	2	670	434	2830	1710	10 weeks/PND70	GLP	PTC923-2023-045
100 (Grp 3)	4	4	1750	1890	12800	13400	10 weeks/PND29	GLP	PTC923-2023-045
100 (Grp 3)	2	2	1320	1360	7300	4580	10 weeks/PND70	GLP	PTC923-2023-045
300 (Grp 4)	4	4	3790	4400	26600	29800	10 weeks/PND29	GLP	PTC923-2023-045
300 (Grp 4)	2	2	1680	1700	10200	9220	10 weeks/PND70	GLP	PTC923-2023-045

Overview of Toxicokinetics Data – BH_4							Test Article: Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	T_{max} (h)		C_{max} (ng/mL)		AUC_{0-24h} (h•ng/mL)		Study Duration/Time of Measurement	GLP Status	Study Number
	M	F	M	F	M	F			
	Species: Pregnant New Zealand White Rabbit								
	Median		Mean						
100	NA	1	NA	1600	NA	8510	13 days/GD7	Non-GLP	PTC923-2021-006
100	NA	2	NA	1210	NA	4780	13 days/GD19	Non-GLP	PTC923-2021-006
100	NA	2	NA	1410	NA	8180	13 days/GD7	GLP	PTC923-2021-024
100	NA	2	NA	1020	NA	5080	13 days/GD19	GLP	PTC923-2021-024
300	NA	2	NA	3720	NA	24100	13 days/GD7	Non-GLP	PTC923-2021-006
300	NA	2	NA	2160	NA	12200	13 days/GD19	Non-GLP	PTC923-2021-006
300	NA	4	NA	2550	NA	17700	13 days/GD7	GLP	PTC923-2021-024
300	NA	2	NA	1680	NA	9400	13 days/GD19	GLP	PTC923-2021-024
1000	NA	2	NA	4380	NA	39100	13 days/GD7	Non-GLP	PTC923-2021-006
1000	NA	2	NA	2840	NA	20300	13 days/GD19	Non-GLP	PTC923-2021-006
1000	NA	4	NA	4580	NA	35700	13 days/GD7	GLP	PTC923-2021-024
1000	NA	4	NA	2310	NA	16300	13 days/GD19	GLP	PTC923-2021-024

Overview of Toxicokinetics Data – BH_4							**Test Article:** Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	**T_{max} (h)**		**C_{max} (ng/mL)**		**AUC_{0-24h} (h•ng/mL)**		**Study Duration/Time of Measurement**	**GLP Status**	**Study Number**
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**			
	Species: Marmoset Monkey								
	Median		**Mean**						
30	1.5	2	623	192	5374	1340	13 weeks/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2018
30	2	1.5	443	313	3088	2077	13 weeks/D91	GLP	CNSA-TOX-002-2018
30	2 (6)	2 (5)	1260 (6)	998 (5)	6090 (6)	6300 (5)	9 months/D1	GLP	PTC923-2020-004
30	2 (5)	2 (4)	905 (5)	675 (4)	6510 (5)	4470 (4)	9 months/D169 (Week 25)	GLP	PTC923-2020-004
30	2 (4)	4 (5)	1100 (4)	928 (5)	6480 (4)	8470 (4)	9 months/D273 (Week 39)	GLP	PTC923-2020-004
100	1	4	1697	1380	7877	13221	14 days/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2017
100	2	1.5	1993	2035	10174	10827	14 days/D14	GLP	CNSA-TOX-002-2017
100	2	2	844	728	5540	4753	13 weeks/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2018
100	2	2	2457 (3)	861	7611 (3)	5850	13 weeks/D91	GLP	CNSA-TOX-002-2018
100	2 (5)	1.5 (4)	2560 (5)	2610 (4)	12700 (5)	12200 (4)	9 months/D1	GLP	PTC923-2020-004
100	2 (5)	1.5 (6)	1940 (5)	2280 (6)	9940 (5)	10100 (6)	9 months/D169 (Week 25)	GLP	PTC923-2020-004
100	2 (4)	1 (5)	2040 (4)	1580 (5)	11900 (4)	7980 (4)	9 months/D273 (Week 39)	GLP	PTC923-2020-004
300	1	2	3623	5670	21389	23301	14 days/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2017
300	2	2	5247	2847	17996	13101	14 days/D14	GLP	CNSA-TOX-002-2017
300	1	1.5	1029	867	6763	5829	13 weeks/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2018
300	1.5	2	1435	1345	5652	8970	13 weeks/D91	GLP	CNSA-TOX-002-2018

Overview of Toxicokinetics Data – BH_4							Test Article: Sepiapterin		
Sepiapterin Dose mg/kg/day	T_{max} (h)		C_{max} (ng/mL)		AUC_{0-24h} (h•ng/mL)		Study Duration/Time of Measurement	GLP Status	Study Number
	M	F	M	F	M	F			
	Species: Marmoset Monkey (Continued)								
	Median		Mean						
300	2 (6)	2 (6)	2900 (6)	3150 (6)	20000 (6)	21500 (6)	9 months/D1	GLP	PTC923-2020-004
300	2 (6)	4 (2)	2800 (6)	3120 (2)	17500 (6)	17800 (2)	9 months/D169 (Week 25)	GLP	PTC923-2020-004
300	2 (8)	2 (5)	3430 (8)	3060 (5)	24200 (8)	14900 (5)	9 months/D273 (Week 39)	GLP	PTC923-2020-004
1000	4	4	3990	12127	26026	99082	14 days/D1	GLP	CNSA-TOX-002-2017
1000	2	2	3527	5163	19102	31986	14 days/D14	GLP	CNSA-TOX-002-2017

Abbreviations: AUC, area under the plasma concentration-time curve; AUC_{0-24h}, area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours; BH_4, tetrahydrobiopterin; D, Day; F, female; GD, Gestation Day; Grp, Group; M, male; N, number evaluated; NA, not applicable; NC, not calculated; ND, not determined; NRR, no reportable result; PND, Postnatal Day; Rsq, goodness-of-fit statistic; SD, standard deviation; TK, toxicokinetic(s)

[a] For Group 2, the 30 mg/kg/day animals only had 2 timepoints with mean concentration values that were greater than 5 ng/mL (10% of the baseline subtractions), so no TK analyses were performed.

Note: Total number of animals with data are reported in parentheses within a parameter if different than total in group. NC with (N) is presented where mean could not be determined as only 1 animal had data; otherwise, NC indicates not calculated as no data were available.

For C_{max} and AUC_{0-24h}, the mean is reported. For T_{max}, the median is reported.

For values that are noted as NRR, Rsq was less than 0.8 and/or the extrapolation of the AUC to infinity represented more than 20% of the total area or $\%AUC_{Extrap}$ >25%.

For values that are noted as ND, values were less than 3 consecutive quantifiable concentrations.

Unless otherwise specified, BH_4 values are uncorrected for baseline.

2.6.7.4 毒性試験: 原薬および製剤

Drug Substance									Test Article: Sepiapterin	
Drug Substance Batch Number	Assay[b] (%w/w)	Specified Impurities (%area)							Study Number	Type of Study
		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Enantiomer ([redacted]SP)[c]		
		CC-49	CC-77	CC-06 ([redacted])	CC-80	CC-10	CC-11 ([redacted])	CC-18		
Specification[a]	[redacted]% to [redacted]%	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	16I0231S-X01	14-day repeat-dose oral toxicity rat range-finding study
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	CNSA-TOX-002-2017	14-day repeat-dose oral toxicity marmoset study (GLP)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	CNSA-TOX-001-2017	14-day repeat-dose oral toxicity rat study (GLP)
									CNSA-TOX-002-2017	14-day repeat-dose oral toxicity marmoset study (GLP)
									CNSA-TOX-005-2017	Comet and micronucleus test assay (GLP)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	CNSA-TOX-001-2018	13-week repeat-dose oral toxicity rat study (GLP)
									CNSA-TOX-002-2018	13-week repeat-dose oral toxicity marmoset study (GLP)
									PTC923-2020-006	6-day neonatal pharmacokinetic study (GLP)

2.6.7 毒性試験の概要表

Drug Substance									Test Article: Sepiapterin	
Drug Substance Batch Number	Assay[b] (%w/w)	Specified Impurities (%area)							Study Number	Type of Study
		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Enantiomer ([redacted]SP)[c]		
		CC-49	CC-77	CC-06 ([redacted])	CC-80	CC-10	CC-11 ([redacted])	CC-18		
Specification[a]	[redacted]% to [redacted]%	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2020-003	26-week repeat-dose oral toxicity rat study (GLP)
									PTC923-2020-004	9-month repeat-dose oral toxicity marmoset study (GLP)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2022-028	Fertility and embryo-fetal development study (GLP)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2021-005	Dose range-finding embryo-fetal development study
									PTC923-2021-006	Dose range-finding embryo-fetal development study
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2021-023	Embryo-fetal development study (GLP)
									PTC923-2021-024	Embryo-fetal development study (GLP)

Drug Substance									Test Article: Sepiapterin	
Drug Substance Batch Number	Assay[b] (%w/w)	Specified Impurities (%area)							Study Number	Type of Study
		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Enantiomer ([redacted]SP)[c]		
		CC-49	CC-77	CC-06 ([redacted])	CC-80	CC-10	CC-11 ([redacted])	CC-18		
Specification[a]	[redacted]% to [redacted]%	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-048	Prenatal and postnatal development study (GLP)
									PTC923-2023-045	Juvenile rat study (GLP)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-045	Juvenile rat study (GLP)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-053	5-day and 28-day dose range-finding toxicity study (GLP)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-070	26-week carcinogenicity study in CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic mice (GLP)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2021-007	28-day impurity qualification study in rats (GLP)
[redacted]	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2021-007	28-day impurity qualification study in rats (GLP)
[redacted]	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-044	28-day impurity qualification study in rats (GLP)
[redacted]	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-044	28-day impurity qualification study in rats (GLP)

2.6.7 毒性試験の概要表

Drug Substance									Test Article: Sepiapterin	
Drug Substance Batch Number	Assay[b] (%w/w)	Specified Impurities (%area)							Study Number	Type of Study
		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Enantiomer ([redacted]SP)[c]		
		CC-49	CC-77	CC-06 ([redacted])	CC-80	CC-10	CC-11 ([redacted])	CC-18		
Specification[a]	[redacted]% to [redacted]%	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-044	28-day impurity qualification study in rats (GLP)
[redacted]	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-044	28-day impurity qualification study in rats (GLP)
[redacted]	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-044	28-day impurity qualification study in rats (GLP)

Abbreviations: -, not reported; [redacted]; DS, drug substance; [redacted]; e.e., enantiomeric excess; [redacted]SP, [redacted]enantiomer sepiapterin

[a] Attributes are part of the proposed commercial specification for sepiapterin DS. Specified impurity specifications were reported as %area calculations for toxicology studies. The proposed commercial specifications are reported as %w/w calculations in Module 3, Specifications 3.2.S.4.1 and Module 3, Batch Analyses 3.2.S.4.4.

[b] Assay (anhydrous and solvent free basis).

[c] Enantiomeric impurity specification was reported as a %area calculation for toxicology studies. The proposed commercial specification is reported as %e.e. in Module 3, Specifications 3.2.S.4.1 and Module 3, Batch Analyses 3.2.S.4.4.

[d] Assay (as is basis).

2.6.7 毒性試験の概要表

Drug Product						Test Article: Sepiapterin	
Drug Product Batch Number	Specified Impurities (%area)					Study Number	Type of Study
	[redacted] CC-75		[redacted] CC-77	CC-49	CC-06 ([redacted])		
Specification[a]	[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2021-007	28-day impurity qualification study in rats (GLP)
[redacted]	[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-044	28-day impurity qualification study in rats (GLP)
[redacted]	[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-044	28-day impurity qualification study in rats (GLP)
[redacted]	[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-044	28-day impurity qualification study in rats (GLP)
[redacted]	[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	PTC923-2023-044	28-day impurity qualification study in rats (GLP)

Abbreviations: [redacted]; DP, drug product; [redacted]

[a] Attributes are part of the proposed commercial specification for sepiapterin DP. Specified impurity specifications were reported as %area calculations for toxicology studies. The proposed commercial specifications are reported as %w/w calculations in Module 3, Specifications 3.2.P.5.1 and Module 3, Batch Analyses 3.2.P.5.4.

2.6.7.5 単回投与毒性試験

No single-dose toxicity studies have been conducted with sepiapterin.

2.6.7.6 反復投与毒性試験: 非ピボタル試験

Nonpivotal Studies					**Test Article:** L-Sepiapterin				
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg)**	**Gender and Number Per Group**	**MTD (mg/kg)**	**GLP**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**	**eCTD Location**
Report Title: 14-Day Oral Dose MTD Toxicology Study in Female CD Rats (Non-GLP)									
Rat/ Crl:CD	Oral gavage (Citrate buffer with 0.5% carboxymethyl cellulose)	14 days	0, 30, 60, 120, 240	2 females per group	240	Non-GLP	No noteworthy findings at any dose.	16I0231S-X01	4.2.3.2

Abbreviations: eCTD, electronic Common Technical Document; MTD, maximum tolerated dose

2.6.7.7 反復投与毒性試験: ピボタル試験

2.6.7.7A マウスにおける 5 日間及び 28 日間強制経口投与試験

Report Title: A 5-Day and 28-Day Study of PTC923 by Oral Gavage in Wild Type CByB6F1-Tg (HRAS)2Jic Mice								**Test Article:** Sepiapterin	
Phase A (5-Day Study)									
Species/Strain: Mouse wild type (CByB6F1-Tg (HRAS)2Jic)		**Duration of Dosing:** 5 days (Phase A), 28 days (Phase B)						**Study No.:** PTC923-2023-053	
Age at Initiation of Dosing: **Phase A:** 9 weeks; **Phase B:** 12 weeks		**Duration of Postdose:** NA						**Location in eCTD:** 4.2.3.2	
Date of First Dose: **Phase A:** 24 April 2023 **Phase B:** 10 July 2023		**Method of Administration:** Oral gavage						**GLP Compliance:** GLP	
Vehicle/Formulation: Oral Mix									
Special Features: Two phases that include a 5-day study and a 28-day study with TK evaluations									
Phase A (5-Day Study)									
No Observed Adverse Effect Level: NA									
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**300**		**1000**	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Noteworthy Findings										
Mortality/Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight gains (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phase B (28-Day Study)										
No Observed Adverse Effect Level: 4000 mg/kg/day										
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**300**		**1000**		**4000**			
Number of Animals - Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10		
Number of Animals - TK	M: 6	F: 6	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36		
Toxicokinetics										
Sepiapterin D1 C_{max} (ng/mL)	BQL	BQL	23.9	103	44.7	91.7	55.8	101		
Sepiapterin D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	BQL	BQL	170	382	143	792	463	1260		
Sepiapterin D28 C_{max} (ng/mL)	BQL	BQL	118	211	85.4	159	86.7	196		
Sepiapterin D28 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	BQL	BQL	318	992	573	1060	482	1520		
BH_4 D1 C_{max} (ng/mL)	65.4[a]	73.2[a]	4680	5460	4590	5330	5310	5380		
BH_4 D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-	-	23300	25900	23500	46500	49400	47200		
BH_4 D28 C_{max} (ng/mL)	61.7[a]	71.3[a]	5360	6230	5510	5230	4810	6880		

Report Title: A 5-Day and 28-Day Study of PTC923 by Oral Gavage in Wild Type CByB6F1-Tg (HRAS)2Jic Mice							**Test Article:** Sepiapterin	
Phase A (5-Day Study)								
Species/Strain: Mouse wild type (CByB6F1-Tg (HRAS)2Jic)	**Duration of Dosing:** 5 days (Phase A), 28 days (Phase B)						**Study No.:** PTC923-2023-053	
BH_4 D28 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-	-	35100	48200	46700	49700	47000	58400
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		300		1000		4000	
Number of Animals - Main	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Number of Animals - TK	M: 6	F: 6	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36
Noteworthy Findings								
Mortality/number died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	1 (TK)
Clinical observations[b]								
Feces, abnormal color, orange	-	-	-	-	-	-	10	10
Material present, dry, yellow, slight	-	-	-	-	10	10	-	-
Material present, dry, yellow, moderate	-	-	-	-	10	-	10	10
Body weight (g)[c]	39.36	-	-	-	-4.62	-	-2.54	-
Body weight gain (%)[d]	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical chemistry[e,f]								
Total protein (g/dL)	-	4.54	-	1.05x*	-	1.06x*	-	1.05x*
Albumin (g/dL)	-	3.50	-	1.10x**	-	1.10x**	-	1.10x**
Albumin/Globulin ratio	-	3.40	-	1.20x*	-	1.16x	-	1.24x**
Organ weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology (N)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
Histopathology (N)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours; BH_4, tetrahydrobiopterin; BQL, below the quantifiable limit (<10 ng/mL); D, Day; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male; N, number evaluated; NA, not applicable; No., number; TK, toxicokinetic(s)

[a] Endogenous levels of BH_4 were measured in all predose samples obtained from treated animals on Day 1 and in all samples obtained from control animals on Days 1 and 28.

[b] These clinical observations were attributed to the presence of sepiapterin and/or its metabolites in the excreta.

[c] At end of treatment - for controls, group means are shown, for treated groups, percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d] There was a minimal sepiapterin-related reduction in mean body weight gain in males at ≥1000 mg/kg/day from Days -1 to 29 (ie, body weight gain of 1.29 and 1.67g for males at 1000 and 4000 mg/kg/day, respectively, compared to 4.12 g for control males).

[e] At end of treatment - for controls, group means are shown, for treated groups, multiples of control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples).

[f] Not considered adverse.

Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.

"-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.7B ラット 14 日間強制経口投与毒性試験

Report Title: CNSA-001 (Sepiapterin): A 14-Day Oral Gavage Toxicity Study Followed by a 14-Day Recovery Periods in Sprague Dawley Rats							**Test Article:** Sepiapterin	
Species/Strain: Rat (*Rattus norvegicus*)/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)			**Duration of Dosing:** 14 days				**Study No.:** CNSA-TOX-001-2017	
Initial Age: 6 weeks			**Duration of Postdose:** 14 days				**Location in eCTD:** 4.2.3.2	
Date of First Dose: 10 April 2017			**Method of Administration:** Oral gavage				**GLP Compliance:** GLP	
Vehicle/Formulation: Oral Mix								
Special Features: Respiratory physiology and functional observation battery were conducted during in-life period.								
No Observed Adverse Effect Level: 1000 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Number of Animals – Main/Recovery	M: 10/5	F: 10/5	M: 10/0	F: 10/0	M: 10/0	F: 10/0	M: 10/5	F: 10/5
Number of Animals - TK: BH_4	M: 3	F: 3	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
D1 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	1860	1210	2850	2150	4930	3720
D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	13000	8610	27800	14400	47800	31000
D14 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	1730	1760	3440	4110	2990	3630
D14 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	10900	8340	24600	25600	28900	29500
Noteworthy Findings								
Mortality/died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight change (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations								
Respiratory function	-	-	-	-	-	-	-	-
Functional observation battery	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: CNSA-001 (Sepiapterin): A 14-Day Oral Gavage Toxicity Study Followed by a 14-Day Recovery Periods in Sprague Dawley Rats							**Test Article:** Sepiapterin	
Species/Strain: Rat (*Rattus norvegicus*)/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)			**Duration of Dosing:** 14 days				**Study No.:** CNSA-TOX-001-2017	
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Number of Animals	**M: 18**	**F: 18**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 21**	**F: 21**
Postdose Evaluation								
Number evaluated	5	5	0	0	0	0	5	5
Histopathology	-	-	0	0	0	0	-	-

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BH_4, tetrahydrobiopterin; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male, NA, not applicable; NC, not calculated; No., number; TK, toxicokinetic(s)
Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.
"-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.7C ラット 13 週間強制経口投与毒性試験

Report Title: CNSA-001 (Sepiapterin): A 13-Week Oral Gavage Toxicity Study Followed by a 28-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats							**Test Article:** Sepiapterin	
Species/Strain: Rat (*Rattus norvegicus*)/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)			**Method of Administration:** Oral gavage				**Study No.**: CNSA-TOX-001-2018	
Date of First Dose: 15 May 2018			**Duration of Dosing:** 13 weeks				**Location in eCTD:** 4.2.3.2	
Age at First Dose: 6 weeks			**Duration of Postdose:** 28 days				**GLP Compliance:** GLP	
Reference Item/Vehicle: Oral Mix								
Special Features: General behavior of the central nervous system and respiratory function were conducted during in-life period.								
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**300**	
Number of Animals – Main/Recovery	M: 10/5	F: 10/5	M: 10/0	F: 10/0	M: 10/0	F: 10/0	M: 10/5	F: 10/5
Toxicokinetics BH_4 – Sex/Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
D1 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	447	308	1080	1020	2480	2860
D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	3160	2060	7790	6450	21700	17000
D91 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	683	601	1400	2380	2750	3630
D91 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	4030	2930	9790	9340	23100	20900
Noteworthy Findings								
Mortality/Died or Sacrificed Moribund	M: 1[A]	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 1[B]	F: 0
	[A] One control male was found dead on Day 87. [B] One male receiving 300 mg/kg/day was euthanized in extremis on Day 67 and had lymphoma infiltrating many tissues that was considered not related to sepiapterin.							
Clinical observations (Main and Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology (Main)	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight and Body Weight Change (%) (Main and Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%) (Main and Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Functional Observation Battery (Main)	-	-	-	-	-	-	-	-
Respiratory Function Monitoring (Main)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Main and Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation (Main and Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry (Main - Day 91)[a]								
Urea (mmol/L)	4.12	4.25	-9.47	-12.24	2.67	-5.18	18.69	-9.65
Creatinine (µmol/L)	34.0	41.4	-3.24	-3.86	-2.06	-5.56	9.12	1.21
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**300**	

Report Title: CNSA-001 (Sepiapterin): A 13-Week Oral Gavage Toxicity Study Followed by a 28-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats						**Test Article:** Sepiapterin		
Species/Strain: Rat (*Rattus norvegicus*)/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)			**Method of Administration:** Oral gavage			**Study No.**: CNSA-TOX-001-2018		
Number of Animals – Main/Recovery	M: 10/5	F: 10/5	M: 10/0	F: 10/0	M: 10/0	F: 10/0	M: 10/5	F: 10/5
Clinical chemistry (Recovery - Day 120)[a]								
Urea (mmol/L)	4.52	4.66	-	-	-	-	2.21	-0.86
Creatinine (µmol/L)	25.6	37.0	-	-	-	-	14.06*	-4.86
Urinalysis (Main and Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (g) (Main - Day 91)[a]								
Kidneys								
Absolute weight	3.92346	2.07968	0.40	5.16	-2.00	5.68	4.87	13.29**
Relative to body weight	0.53307	0.51695	-3.58	1.15	-0.94	4.83	4.36	9.64
Relative to brain weight	169.19525	99.59052	-2.40	3.16	-2.14	5.70	2.52	11.44
Organ Weights (g) (Recovery - Day 120)[a]								
Kidneys								
Absolute weight	3.92820	2.13350	-	-	-	-	5.51	5.79
Relative to body weight	0.51056	0.47815	-	-	-	-	-1.00	14.70*
Relative to brain weight	165.85000	97.96688	-	-	-	-	3.40	9.38
Macroscopic Observations (Main)								
Number of Animals Examined	9	10	10	10	10	10	9	10
Kidney								
Enlargement	0	0	0	0	0	0	1	0
Mottled	0	0	0	0	0	0	2	1
Pale area	0	0	0	1	1	1	4	6
Stomach								
Soft material	3	0	5	1	7	6	5	6
Creamy material	0	0	0	0	0	0	1	3
Duodenum								
Soft material	0	0	0	0	2	0	4	0
Creamy material	0	0	0	0	0	0	1	2
Jejunum								
Soft material	0	0	0	0	2	0	4	0
Creamy material	0	0	0	0	0	0	1	3
Ileum								
Soft material	0	0	0	0	2	0	4	1
Creamy material	0	0	0	0	0	0	1	3

Report Title: CNSA-001 (Sepiapterin): A 13-Week Oral Gavage Toxicity Study Followed by a 28-Day Recovery Period in Sprague Dawley Rats							**Test Article:** Sepiapterin	
Species/Strain: Rat (*Rattus norvegicus*)/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)			**Method of Administration:** Oral gavage				**Study No.**: CNSA-TOX-001-2018	
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**300**	
Number of Animals – Main/Recovery	M: 10/5	F: 10/5	M: 10/0	F: 10/0	M: 10/0	F: 10/0	M: 10/5	F: 10/5
Cecum								
Soft material	2	0	4	0	6	1	7	6
Kidney								
Degeneration, tubular	0	0	0	0	0	0	7	7
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	2
Mild	0	0	0	0	0	0	3	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0
Crystal, tubular	0	0	0	0	0	0	5	4
Minimal	0	0	0	0	0	0	5	4
Microscopic Observations (Recovery)								
Number of Animals Examined	5	5	-	-	-	-	5	5
Kidney								
Degeneration, tubular	0	0	-	-	-	-	4	3
Minimal	0	0	-	-	-	-	3	3
Mild	0	0	-	-	-	-	1	0

Abbreviations: AUC, area under the concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours; BH_4, tetrahydrobiopterin; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male; NA, not applicable; No., number

[a] Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.

Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.

"-" indicates that there were no noteworthy findings.

For this table, there were values that were not calculated due to nonqualifying parameters (points in the elimination phase <3, $R^2 \leq 0.9000$, and/or AUC extrapolated % >20%).

Statistical Analysis: Dunn test and *t*-test, *p≤0.05, **p≤0.01

2.6.7.7D ラット 26 週間強制経口投与毒性試験

Report Title: PTC923: A 26-Week Oral Gavage Toxicity Study with a 4-Week Recovery Period in Sprague Dawley Rats					**Test Article:** Sepiapterin			
Species/Strain: Rat (*Rattus norvegicus*)/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)		**Duration of Dosing:** 26 weeks			**Study No.:** PTC923-2020-003			
Initial Age: 6.5 weeks		**Duration of Postdose:** 4 weeks			**Location in eCTD:** 4.2.3.2			
Date of First Dose: 26 August 2020		**Method of Administration:** Oral gavage			**GLP Compliance:** GLP			
Vehicle/Formulation: Oral Mix™								
Special Features: None								
No Observed Effect Level: 30 mg/kg								
Lowest Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**200**	
Number of Total Animals	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Toxicokinetics - Number of Animals:	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
BH_4 D1 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	689	615	1780	2060	3320	3140
BH_4 D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	5010	4120	11700	11900	21400	21200
BH_4 D91 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	623	796	1490	1920	2440	2580
BH_4 D91 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	4540	3910	11300	10400	20200	12900
BH_4 D182 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	710	915	1680	1770	2380	3200
BH_4 D182 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	4830	4410	14000	9590	24100	18100
Noteworthy Findings								
Mortality/Died or Sacrificed Moribund	0	1[A]	0	0	0	0	0	0
	[A] One control female was terminated early on Day 35 due to poor clinical condition that was considered to be the result of a mammary gland adenocarcinoma.							
Clinical Observations (Main and Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology (Main)	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight and Body Weight Change (%) (Main, Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%) (Main, Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Main, Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation (Main, Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry (Main - Day 183)								
Urea (mmol/L)	4.52	5.64	-	-	-	-	5.93	5.58
Creatinine (µmol/L)	34.3	43.6	-	-	-	-	42.2	42.9

Report Title: PTC923: A 26-Week Oral Gavage Toxicity Study with a 4-Week Recovery Period in Sprague Dawley Rats							**Test Article:** Sepiapterin	
Species/Strain: Rat (*Rattus norvegicus*)/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)	**Duration of Dosing:** 26 weeks						**Study No.:** PTC923-2020-003	
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**200**	
Number of Animals	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Clinical Chemistry (Recovery - Day 211)								
Urea (mmol/L)	4.58	5.82	-	-	-	-	-	-
Creatinine (µmol/L)	37.0	44.2	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (g) (Main and Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations (Main)								
Number of Animals Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Kidney								
Dark focus, red; cortex; bilateral; many	0	0	0	0	0	1	0	0
Irregular surface; cortex, (unilateral/bilateral)	0	0	0	0	0	0	3	1
Mottled; cortex; bilateral	0	0	0	0	0	0	1	0
Pale area; beige; cortex; bilateral (few/many)	0	0	0	0	0	1	2	1
Pale area; beige; cortex; unilateral; single	0	0	0	0	2	0	0	1
Pale discoloration; beige; cortex; bilateral	0	0	0	0	0	2	1	0
Dilatation; bilateral; pelvis	0	0	0	0	0	0	1	0
Macroscopic Observations (Recovery)								
Number of Animals Examined	5	5	0	0	5	5	5	5
Kidney								
Enlargement, bilateral	0	0	0	0	0	1	0	0
Irregular surface cortex, bilateral	0	0	0	0	0	1	0	0
Pale discoloration; beige; cortex; bilateral	0	0	0	0	0	1	0	0
Microscopic Observations (Main)								
Number of Animals Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Kidney								
Degeneration/regeneration; tubular; (unilateral/bilateral)	0	0	0	0	1	1	5	2
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	1	1	1	1
Marked	0	0	0	0	0	0	2	0

Report Title: PTC923: A 26-Week Oral Gavage Toxicity Study with a 4-Week Recovery Period in Sprague Dawley Rats							**Test Article:** Sepiapterin	
Species/Strain: Rat (*Rattus norvegicus*)/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)	**Duration of Dosing:** 26 weeks						**Study No.:** PTC923-2020-003	
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**200**	
Number of Animals	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15**	**F: 15**
Fibrosis, interstitial (unilateral/bilateral)	0	0	0	0	0	1	3	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Mild	0	0	0	0	0	1	2	0
Crystals; amphophilic; tubular; (unilateral/bilateral)	0	0	0	0	0	0	4	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	1
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Crystals; amphophilic; renal pelvis; (unilateral)	0	0	0	0	0	1	0	1
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	1
Microscopic Observations (Main) (continued)								
Number of Animals Examined	15	14	15	15	15	15	15	15
Kidney (continued)								
Hyperplasia; tubular; papilla (unilateral/bilateral)	0	0	0	0	0	1	4	1
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Mild	0	0	0	0	0	1	3	1
Basophilia; tubular (unilateral/bilateral)	0	1	2	0	3	2	4	4
Minimal	0	1	2	0	3	2	4	4
Inflammation; mixed (unilateral/bilateral)	0	1	0	0	0	1	5	2
Minimal	0	1	0	0	0	0	2	1
Mild	0	0	0	0	0	1	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0
Dilatation; tubular; (unilateral/bilateral)	0	1	0	0	0	0	0	2
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Mild	0	1	0	0	0	0	0	0
Liver								
Vacuolation; hepatocellular	1	0	0	0	1	0	3	1
Minimal	1	0	0	0	1	0	2	1
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0

Report Title: PTC923: A 26-Week Oral Gavage Toxicity Study with a 4-Week Recovery Period in Sprague Dawley Rats							**Test Article:** Sepiapterin	
Species/Strain: Rat (*Rattus norvegicus*)/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS)	**Duration of Dosing:** 26 weeks						**Study No.:** PTC923-2020-003	
Microscopic Observations (Recovery)								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**200**	
Number of Animals Examined	5	5	0	0	5	5	5	5
Kidney								
Degeneration/regeneration; tubular	0	0	0	0	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
Fibrosis, interstitial	0	0	0	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0
Inflammation; mixed (unilateral/bilateral)	1	0	0	0	0	1	0	0
Minimal	1	0	0	0	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
Liver								
Vacuolation; hepatocellular	0	0	0	0	0	0	1	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0

Abbreviations: $AU_{C0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BH_4, tetrahydrobiopterin; D, Day; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male; NA, not applicable; No., number
Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.
"-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.7E　　マーモセットにおける 14 日間強制経口投与試験

Report Title: 14-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of PTC923 in Marmoset Monkeys With Toxicokinetics and a 14-Day Recovery Period					**Test Article:** Sepiapterin			
Species/Strain: Monkey/Marmoset	**Duration of Dosing:** 14 days				**Study No.:** CNSA-TOX-002-2017			
Initial Age: 2.2-7 years	**Duration of Postdose:** 14 days				**Location in eCTD:** 4.2.3.2			
Date of First Dose: 09 May 2017	**Method of Administration:** Oral gavage				**GLP Compliance:** GLP			
Vehicle/Formulation: Oral Mix								
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: 1000 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Number of Animals – Main/Recovery	**M: 3/2**	**F: 3/2**	**M: 3/0**	**F: 3/0**	**M: 3/0**	**F: 3/0**	**M: 3/2/**	**F: 3/2**
Toxicokinetics								
Sepiapterin D1 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	64.2	90.5	154	106	104	331
Sepiapterin D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	137	472	1236	264	391	1534
Sepiapterin D14 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	42.2	47.4	53.2	69.7	62.1	54.3
Sepiapterin D14 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	75.5	36.9	149	392	170	218
BH_4 D1 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	1697	1380	3623	5670	3990	12127
BH_4 D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	7877	13221	21389	23301	26026	99082
BH_4 D14 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	1993	2035	5247	2847	3527	5163
BH_4 D14 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	10174	10827	17996	13101	19102	31986
Noteworthy Findings								
Mortality/Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1[A]	0	0	0	0
	[A] One female receiving 100 mg/kg/day was found dead on Day 7 due to meningoencephalitis that was not considered to be related to sepiapterin administration.							
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	+[a]	+[b]

Report Title: 14-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of PTC923 in Marmoset Monkeys With Toxicokinetics and a 14-Day Recovery Period							**Test Article:** Sepiapterin	
Species/Strain: Monkey/Marmoset		**Duration of Dosing:** 14 days					**Study No.:** CNSA-TOX-002-2017	
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Number of Animals – Main/Recovery	**M: 3/2**	**F: 3/2**	**M: 3/0**	**F: 3/0**	**M: 3/0**	**F: 3/0**	**M: 3/2**	**F: 3/2**
Postdose Evaluation								
Number evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	+[c]

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BH_4, tetrahydrobiopterin; D, Day; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male, NA, not applicable; No., number

[a] Mild gliosis (incidental and unrelated to the administration of sepiapterin).

[b] Single female; tubular degeneration, glomerulopathy, mixed cell infiltrates and yellow crystals (changes likely related to test article precipitation).

[c] Mild tubular degeneration likely related to the precipitation of test article (based on results from the main study animal).

Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.

"-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.7Fマーモセットにおける 13 週間強制経口投与毒性試験

Report Title: 13-Week Oral (Gavage) Toxicity Study of PTC923 in Marmoset Monkeys With Toxicokinetics and a 28-Day Recovery Period					**Test Article:** Sepiapterin			
Species/Strain: Monkey/Marmoset		**Duration of Dosing:** 13 weeks			**Study No.:** CNSA-TOX-002-2018			
Initial Age: 2.5-7 years		**Duration of Postdose:** 28 days			Location in eCTD: 4.2.3.2			
Date of First Dose: 05 June 2018 (males) 07 June 2018 (females)		**Method of Administration:** Oral gavage			GLP Compliance: GLP			
Vehicle/Formulation: Oral Mix								
Special Features: None								
No Observed Adverse Effect Level: 300 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**300**	
Number of Animals – Main/Recovery	**M: 4/2**	**F: 4/2**	**M: 4/0**	**F: 4/0**	**M: 4/0**	**F: 4/0**	**M: 4/2**	**F: 4/2**
Toxicokinetics								
Sepiapterin D1 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	40.6	25.9	49.3	51.3	77.7	111
Sepiapterin D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	184	26.2	187	174	325	370
Sepiapterin D91 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	34.5	14.7[a]	77.4[b]	29.5	60.1	26.2
Sepiapterin D91 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	50.9	5.10[a]	156[b]	58.6	113	75.2
BH_4 D1 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	623	192	844	728	1029	867
BH_4 D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	5374	1340	5540	4753	6763	5829
BH_4 D91 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	443	313	2457[b]	861	1435	1345
BH_4 D91 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	3088	2077	7611[b]	5850	5652	8970
Noteworthy Findings:								
Mortality/Died or Sacrificed Moribund	0	1[A]	0	0	1[B]	1[B]	0	0
	[A] One control female was found dead on Day 19; the cause of death was inanition. [B] One male and 1 female receiving 100 mg/kg/day were found dead on Day 30 and Day 85, respectively; the cause of death for both animals was inanition and not related to sepiapterin administration.							
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**300**	
Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: 13-Week Oral (Gavage) Toxicity Study of PTC923 in Marmoset Monkeys With Toxicokinetics and a 28-Day Recovery Period						**Test Article:** Sepiapterin		
Species/Strain: Monkey/Marmoset		**Duration of Dosing:** 13 weeks				**Study No.:** CNSA-TOX-002-2018		
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	+[c]	-	-	+[c]	+[c]	-	-
Postdose Evaluation:								
Number evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{0\text{-}last}$, area under the concentration-time curve from time 0 to the last measured concentration; BH_4, tetrahydrobiopterin; D, Day; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male; NA, not applicable; No., number

[a] N=2

[b] N=3

[c] Inanition (incidental and unrelated to the administration of sepiapterin).

Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.

"-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.7G　　マーモセットにおける 9 ヵ月間強制経口投与毒性試験

Report Title: PTC923: A 9-Month Oral (Gavage) Toxicity Study With a 4-Week Recovery Period in Marmoset Monkeys						**Test Article:** Sepiapterin		
Species/Strain: Monkey/Marmoset	**Duration of Dosing:** 9 months (39 weeks 274 days)					**Study No.:** PTC923-2020-004		
Initial Age: 1.5-3.1 years, 1.0-4.7 years, 2.7-6.9 years of age at receipt	**Duration of Postdose:** 4 weeks					**Location in eCTD:** 4.2.3.2		
Date of First Dose: 17 November 2020	**Method of Administration:** Oral gavage					**GLP Compliance:** GLP		
Vehicle/Formulation: Oral Mix								
Special Features: Electrocardiogram evaluations, plasma drug levels, toxicokinetic modeling, 4-week Recovery Period for 0 mg/kg/day and 300 mg/kg/day, Days 281 through Day 302								
No Observed Adverse Effect Level: 300 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**300**	
Number of Animals:	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec
	6/2	6[A]/2[B]	6/0	6/0	6[C]/0	6/0	6/2	6/2[D]
	[A] One female added to replace a female that died was dosed for 38 weeks. [B] One female added after study start was sacrificed moribund on Day 251 (Week 35). [C] One male added to replace a male that died was dosed for 38 weeks. [D] One female added to replace an injured female was dosed for 38 weeks.							
Toxicokinetics:	Mean (N)							
Sepiapterin D1 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	NC (1)	NC (1)	42.3 (4)	23.1 (2)	77.7 (6)	79.2 (6)
Sepiapterin D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	NC	NC	140 (2)	NC	415 (5)	293 (6)
Sepiapterin D169 (Week 25) C_{max} (ng/mL)	NA	NA	NC	NC	33.0 (2)	12.3 (2)	15.4 (4)	NC (1)
Sepiapterin D169 (Week 25) $AUC_{0\text{-}24h}$(h•ng/mL)	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC (1)	NC (1)
Sepiapterin D273 (Week 39) C_{max} (ng/mL)	NA	NA	NC	NC (1)	40.9 (5)	NC (1)	24.6 (5)	25.9 (2)
Sepiapterin D273 (Week 39) $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	NC	NC (1)	72.8 (3)	NC (1)	86.6 (4)	NC
BH_4 D1 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	1260 (6)	998 (5)	2560 (5)	2610 (4)	2900 (6)	3150 (6)
BH_4 D1 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	6090 (6)	6300 (5)	12700 (5)	12200 (4)	20000 (6)	21500 (6)
BH_4 D169 (Week 25) C_{max} (ng/mL)	NA	NA	905 (5)	675 (4)	1940 (5)	2280 (6)	2800 (6)	3120 (2)
BH_4 D169 (Week 25) $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	6510 (5)	4470 (4)	9940 (5)	10100 (6)	17500 (6)	17800 (2)
BH_4 D273 (Week 39) C_{max} (ng/mL)	NA	NA	1100 (4)	928 (5)	2040 (4)	1580 (5)	3430 (8)	3060 (5)
BH_4 D273 (Week 39) $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	6480 (4)	8470 (4)	11900 (4)	7980 (4)	24200 (8)	14900 (5)
Noteworthy Findings: There were no adverse test article-related findings during the main study or during the recovery period in any parameter.								
Mortality/Died or Sacrificed Moribund	1	3	1	2	1	2	0	2
	No mortality was related to administration of sepiapterin.							
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: PTC923: A 9-Month Oral (Gavage) Toxicity Study With a 4-Week Recovery Period in Marmoset Monkeys							**Test Article:** Sepiapterin	
Species/Strain: Monkey/Marmoset	**Duration of Dosing:** 9 months (39 weeks 274 days)						**Study No.:** PTC923-2020-004	
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**300**	
Number of Animals:	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**
	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec	Main/Rec
	6/2	6[A]/2[B]	6/0	6/0	6[C]/0	6/0	6/2	6/2[D]
	[A] One female added to replace a female that died was dosed for 38 weeks. [B] One female added after study start was sacrificed moribund on Day 251 (Week 35). [C] One male added to replace a male that died was dosed for 38 weeks. [D] One female added to replace an injured female was dosed for 38 weeks.							
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	+[a]	+[a]	+[a]	+[a]	+[a]	+[a]	+[a]	+[a]

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours; BH_4, tetrahydrobiopterin; D, Day; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male; N, number evaluated; NA, not applicable; NC, not calculated or not conducted; No., number; Rec, recovery
Note: Total number of animals with data are reported in parentheses within a parameter if different than total in group. NC with (N) is presented where mean could not be determined as only 1 animal had data; otherwise, NC indicates not calculated as no data were available.
[a] During this study, there were 12 early deaths (unscheduled euthanasia and animals found dead). These early deaths had no consistent gross or microscopic changes, lacked a temporal pattern, and thus were considered unrelated to the administration of sepiapterin.
Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.
"-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.8 遺伝毒性試験 In Vitro

2.6.7.8A 細菌を用いる復帰突然変異試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Test						**Test Article:** Sepiapterin
Test for Induction of: Reverse mutation in *Salmonella typhimurium*		**No. of Independent Assays:** Single assay in 5 strains with and without metabolic activation				**Study No.:** CNSA-TOX-003-2017
Strains: TA1535, TA1537, TA98, TA100, and TA102		**No. of Replicate Cultures:** 3 plates per dose level				Location in eCTD: 4.2.3.3.1
Metabolizing System: Aroclor®-induced rat liver S9 mix		**No. of Cells Analyzed/Culture:** Not applicable				GLP Compliance: GLP
Vehicle for Controls: DMSO	For Test Article: DMSO	**For Positive Controls:** DMSO except MMC in water				Date of Treatment: 03 April 2017
Treatment: Test article or positive controls (without S9), NaN3, 9AA, 2NF, MMC; (with S9 mix) 2AM, BaP; Plate incorporation for 48-72 hours at 37°C						
Cytotoxic Effects: None at any dose level of test article						
Genotoxic Effects: Nonmutagenic alone or in the presence of S9						

Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Revertant Colony Counts (Mean±SD, N=3 plates/dose)** *Salmonella typhimurium*				
			TA1535	**TA1537**	**TA98**	**TA100**	**TA102**
Without	DMSO	0	8.7±2.1	7.3±1.5	17.7±2.5	124.3±24.5	422.7±13.2
	Sepiapterin	312.5	7.3±0.6	7.7±1.5	18.3±3.5	127±19.2	401.3±22.5
		625	7.3±3.5	8.3±2.1	13.3±6.7	126.7±23.9	425.7±30.4
		1250	9.0±1.0	8.7±0.6	17.3±2.5	120.3±12.7	405.0±16.1
		2500	10.0±6.0	5.7±3.2	16.0±7.0	136.0±9.0	421.7±12.9
		5000	5.7±3.8	6.3±3.1	23.7±3.2	136.3±10.7	455.0±17.0
	NaN3[a]	1	481.7±58.9	-	-	516.3±47.4	-
	9AA[a]	50	-	209±26.9	-	-	-
	2NF[a]	0.5	-	-	123.7±21.6	-	-
	MMC[a]	0.5	-	-	-	-	1741.7±46.3
With	DMSO	0	12.0±6.1	8.7±1.5	20.3±3.1	140.3±12.7	450.7±2.9
	Sepiapterin	312.5	12.3±8.3	7.7±1.5	24.3±2.9	135.7±12.3	450.7±6.1
		625	13.3±6.5	7.3±1.2	23.3±7.6	138.7±13.7	448.3±6.1
		1250	11.7±2.3	6.7±3.5	19.7±2.3	141.0±7.5	462.7±31.2
		2500	7.3±2.9	8.0±6.9	23.7±5.7	148.0±11.1	452.7±16.6
		5000	13.0±4.0	5.3±1.2	19.7±3.1	163.7±12.9	487.7±33.4
	2AM[a]	2	170.7±16.7	104.3±8.1	1259.0±105.0	-	-
		20	-	-	-	-	3095.3±325.6
	BaP[a]	5	-	-	-	1123.3±51.5	-

Abbreviations: 2AM, 2-anthramine; 2NF, 2-nitrofluorene; 9AA, 9-aminoacridine; BaP, benzo(a)pyrene; DMSO, dimethyl sulfoxide; eCTD, electronic Common Technical Document; MMC, mitomycin C; NaN3, sodium azide; No., number; S9, metabolic activation system; SD, standard deviation

[a] Positive control

2.6.7.8B 培養ヒトリンパ球を用いた in vitro ほ乳類染色体異常試験

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test in Cultured Human Lymphocytes				**Test Article:** Sepiapterin
Test for Induction of: Chromosome aberration		**No. of Independent Assays:** 1		**Study No.:** CNSA-TOX-004-2017
Cells: Human lymphocytes		**No. of Replicate Cultures:** 2 per dose level		**Location in eCTD:** 4.2.3.3.1
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 mix		**No. of Cells Analyzed/Culture:** Not applicable		**GLP Compliance:** GLP
Vehicle for Controls: DMSO	**For Test Article:** DMSO	**For Positive Controls:** Water		**Date of Treatment:** 03 April 2017
Treatment: Sepiapterin, MMC, or CPA				
Cytotoxic Effects: None of the test levels was considered cytotoxic.				
Genotoxic Effects: No chromosome aberration was noted with S9 mix at any dose; however, sepiapterin induced chromosome aberrations in cultured human lymphocytes in the absence of metabolic activation system following 20 hours of treatment and the conclusion remained equivocal after 3 hours of treatment.				
Chromosomal Aberrations				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level**	**% Cells with Chromosome Aberrations 3-Hour Treatment, 20 Hours Harvest**	**% Cells with Chromosome Aberrations 20-Hours Treatment, 20 Hours Harvest**
Without	DMSO	0	1.0	2.7
	Sepiapterin	0.25 mM	0.3	5.3
		0.5 mM	4.3*	22***
		1.0 mM	3.3*	35***
	MMC[a]	3-hour treatment: 2 µg/mL 20-hour treatment: 0.3 µg/mL	56***	37***
With	DMSO	0	2.7	NC
	Sepiapterin	0.25 mM	2.3	NC
		0.5 mM	2.3	NC
		1.0 mM	3.0	NC
	CPA[a]	12.5 µg/mL	27.0***	NC

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test in Cultured Human Lymphocytes				**Test Article:** Sepiapterin
Test for Induction of: Chromosome aberration		**No. of Independent Assays:** 1		**Study No.:** CNSA-TOX-004-2017
Cells: Human lymphocytes		**No. of Replicate Cultures:** 2 per dose level		**Location in eCTD:** 4.2.3.3.1
Mitotic Index (Preliminary Test)				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level**	**% Mitotic Index Reduction 3-Hour Treatment, 20 Hours Harvest**	**% Mitotic Index Reduction 20-Hour Treatment, 20 Hours Harvest**
Without	DMSO	0	-	-
	Sepiapterin	0.0016 mM	None	None
		0.0041 mM	None	9
		0.010 mM	None	None
		0.026 mM	None	21
		0.064 mM	None	None
		0.16 mM	None	None
		0.40 mM	None	25
		1 mM	None	17
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level**	**% Mitotic Index Reduction 3-Hour Treatment, 20 Hours Harvest**	
With	DMSO	0	-	
	Sepiapterin	0.0016 mM	22	
		0.0041 mM	61	
		0.010 mM	23	
		0.026 mM	5	
		0.064 mM	30	
		0.16 mM	19	
		0.40 mM	44	
		1 mM	66	

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test in Cultured Human Lymphocytes			**Test Article:** Sepiapterin
Test for Induction of: Chromosome aberration	**No. of Independent Assays:** 1		**Study No.:** CNSA-TOX-004-2017
Cells: Human lymphocytes	**No. of Replicate Cultures:** 2 per dose level		**Location in eCTD:** 4.2.3.3.1
Main Experiment: Mitotic Index			

Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level**	**% Mitotic Index Reduction 3-Hour Treatment, 20 Hours Harvest**	**% Mitotic Index Reduction 20-Hour Treatment, 20 Hours Harvest**
Without	DMSO	0	-	-
	Sepiapterin	0.031 mM	None	None
		0.063 mM	None	None
		0.125 mM	9	None
		0.25 mM	3	None
		0.5 mM	None	None
		1 mM	None	1
	MMC[a]	3-hour treatment: 2 µg/mL 20-hour treatment: 0.2 µg/mL	67	29
		3-hour treatment: 3 µg/mL 20-hour treatment: 0.3 µg/mL	74	42
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level**	**% Mitotic Index Reduction 3Hour Treatment, 20 Hours Harvest**	
With	DMSO	0	-	
	Sepiapterin	0.031 mM	19	
		0.063 mM	35	
		0.125 mM	37	
		0.25 mM	18	
		0.5 mM	25	
		0.75 mM	22	
		1 mM	29	
	CPA[a]	12.5 µg/mL	56	
		25 µg/mL	73	

Abbreviations: CPA, cyclophosphamide; DMSO, dimethyl sulfoxide; eCTD, electronic Common Technical Document; MMC, mitomycin C; NC, not conducted; No., number; S9, metabolic activation system

[a] Positive control

Note: "-" indicates that there were no noteworthy findings.

Statistical Analysis: X^2 test - *p<0.05, ***p<0.001

2.6.7.9 遺伝毒性試験 In Vivo

Report Title: Evaluation of Micronuclei and DNA Damage in Male Sprague Dawley Rats Administered PTC923		**Test Article:** Sepiapterin
Test for Induction of: Micronuclei and DNA damage	**Treatment Schedule:** Animals dosed for 3 consecutive days	**Study No.:** CNSA-TOX-005-2017
Species/Strain: Rat/Hsd Harlan Sprague Dawley	**Sampling Time:** 3 hours after final dose	**Location in eCTD:** 4.2.3.3.2
Initial Age: 6-7 weeks	Method of Administration: Oral gavage	
Cells Evaluated: Blood and liver	Vehicle/Formulation: Oral Mix	**GLP Compliance:** GLP
No. of Cells Analyzed/Animal: Comet: Minced liver; 20000 PCE for micronucleus test		**Date of Dosing:** 03 July 2017
Special Features: Both assays conducted in the same animals.		
Toxic/Cytotoxic Effects: None observed at any dose.		
Genotoxic Effects: None observed at any dose.		

Evidence of Exposure

Test Article	Dose (mg/kg/day)	Number of Animals	Sepiapterin Levels Mean±SD (ng/mL)	BH_4 Levels Mean±SD (ng/mL)	% PCE Mean±SEM	MN-PCE/1000 Mean±SEM	% Tail DNA Mean±SEM
Vehicle[a]	0	5	BQL	94.5±13	4.93±0.19	0.99±0.11	1.17±0.35
Sepiapterin	100	5	BQL	3892±1050	5.12±0.29	0.86±0.17	1.20±0.21
	300	5	13.4±2.0	7440±1809	5.09±0.17	1.04±0.15	1.52±0.29
	1000	5	29.6±10	23280±5723	5.43±0.38	0.85±0.09	3.13±0.37*
	2000	5	23.9±8.4	12072±5799	4.83±0.13	0.75±0.08	2.14±0.29
EMS	150	5	BQL	79.1±13	2.78±0.29*	2.83±0.27*	16.20±0.85*

Abbreviations: BH_4, tetrahydrobiopterin; BQL, below the quantifiable limit; eCTD, electronic Common Technical Document; EMS, ethyl methanesulfonate, positive control; MN-PCE, micronucleated polychromatic erythrocytes; No., number; PCE, polychromatic erythrocytes; SD, standard deviation

[a] Group 1 animals received vehicle, Medisca Oral Mix (flavored suspending vehicle).

Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.

* Statistically significant compared to the control mean (*t*-test).

2.6.7.10 がん原性試験

Report Title: A 26-Week Carcinogenicity Study of PTC923 by Oral Gavage in CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Mice		**Test Article:** Sepiapterin
Species/Strain: Mouse/CByB6F1	**Duration of Dosing:** 26 weeks	**Study No.** PTC923-2023-070
Initial Age at Dosing: 6 to 10 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage except positive control, which was IP injection	**Location in CTD:** 4.2.3.4.2
Date of First Dose: 14 Dec 2023		**GLP Compliance:** GLP
Vehicle/Formulation: ORAL MIX™/suspension	**Water Control:** Reverse osmosis deionized water	**Positive Control:** Urethane
Treatment of Controls: Control groups: Vehicle ORAL MIX™ and RODI water - oral gavage daily; Positive control urethane: Intraperitoneal injection on 3 separate days approximately 2 to 3 days apart within the first week.		
Basis for High-Dose Selection: Based on a previous 28-day study in mice at 300, 1000, and 4000 mg/kg/day, decreased body weight gain was observed in males at doses ≥1000 mg/kg/day; therefore, the high dose for males was selected to be 300 mg/kg/day. In females, the saturation of exposure to BH_4 (major metabolite) was observed and the high dose was selected to be 1000 mg/kg/day..		
Special Features: None		
Conclusion: Administration of sepiapterin by once daily oral gavage for approximately 26 weeks to CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic hemizygous male mice at dose levels of 30, 100, or 300 mg/kg/day or to CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic hemizygous female mice at dose levels of 100, 300, or 1000 mg/kg/day was well tolerated with no effects on survival and no carcinogenic effect at any dose level. There were also no non-neoplastic histopathology findings in sepiapterin-treated mice.		

Daily Dose (mg/kg)	**Control**				**Sepiapterin**						**Positive Control Urethane[a]**	
	0 (Vehicle ORAL MIX™)		**0 (Water)**		**30**	**100**		**300**		**1000**	**500**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**M**	**F**	**M**	**F**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals												
Carcinogenicity Mice (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	10	10
TK Mice (CByB6F1/J wild-type, hybrid non-Tg)	4	4	4	4	18	18	18	18	18	18	0	0
Toxicokinetics - Sepiapterin												
Sepiapterin D180 C_{max} (ng/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	23.2	132	31.4	264	173	NA	NA
Sepiapterin D180 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	85.1	448	127	1140	1330	NA	NA
Toxicokinetics – BH_4 (Uncorrected)[b]												
BH_4 D180 C_{max} (ng/mL)	-[b]	-[b]	-[b]	-[b]	1130	2530	2910	5180	4820	6340	NA	NA
BH_4 D180 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-[b]	-[b]	-[b]	-[b]	5670	14500	13700	34500	29600	46900	NA	NA
Toxicokinetics BH_4 (Corrected)[b]												
BH_4 D180 C_{max} (ng/mL)	-[b]	-[b]	-[b]	-[b]	1070	2480	2860	5130	4770	6290	NA	NA
BH_4 D180 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-[b]	-[b]	-[b]	-[b]	4440	13300	12500	33300	28400	45700	NA	NA

Report Title: A 26-Week Carcinogenicity Study of PTC923 by Oral Gavage in CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Mice			**Test Article:** Sepiapterin
Species/Strain: Mouse/CByB6F1	**Duration of Dosing:** 26 weeks		**Study No.** PTC923-2023-070
Initial Age at Dosing: 6 to 10 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage except positive control, which was IP injection		**Location in CTD:** 4.2.3.4.2
Date of First Dose: 14 Dec 2023			**GLP Compliance:** GLP

Daily Dose (mg/kg)	**Control**				**Sepiapterin**						**Positive Control Urethane[a]**	
	0 (Vehicle ORAL MIX™)		**0 (Water)**		**30**	**100**		**300**		**1000**	**500**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**M**	**F**	**M**	**F**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals												
Carcinogenicity	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	10	10
TK	4	4	4	4	18	18	18	18	18	18	0	0
Mortality/Number Died or Sacrificed Moribund												
Carcinogenicity	0	2	2	2	1	1	0	1	0	2	0	0
TK	0	0	0	0	2	1	1	0	2	0	NA	NA
Survival (%) of Carcinogenicity Animals	100	91	92	92	96	96	100	96	100	92	100	100
Clinical Observations[c]	Number of Animals With Observation											
Material present dry, yellow[c]	0	0	0	0	0	24	25	24	25	25	0	0
Body Weight (g) (%)[d]	Means (g)		Percent Differences From Control									
	-	26.77	-	27.18	-	-	5.76	-	6.87	9.30	-[e]	-[e]
Neoplastic Lesions – Sepiapterin Related												
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	10	10
No findings	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neoplastic Lesions – Incidental/Spontaneous[f]												
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	10	10
Gland, harderian												
Adenoma (benign)	0	2	2	1	0	0	1	0	0	2	NE	NE
Lung												
Bronchioloalveolar adenoma (benign)	5	1	1	1	2	3	1	1	0	2	10	10
Bronchioloalveolar carcinoma (malignant)	1	0	1	2	1	0	0	0	0	2	3	0
Gland, thyroid												
Follicular cell adenoma (benign)	0 (24)	0	0	0	1 (24)	0 (24)	0	0	0	0	NE	NE

Report Title: A 26-Week Carcinogenicity Study of PTC923 by Oral Gavage in CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Mice			**Test Article:** Sepiapterin
Species/Strain: Mouse/CByB6F1	**Duration of Dosing:** 26 weeks		**Study No.** PTC923-2023-070
Initial Age at Dosing: 6 to 10 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage except positive control, which was IP injection		**Location in CTD:** 4.2.3.4.2
Date of First Dose: 14 Dec 2023			**GLP Compliance:** GLP

Daily Dose (mg/kg)	**Control**				**Sepiapterin**						**Positive Control Urethane[a]**	
	0 (Vehicle ORAL MIX™)		**0 (Water)**		**30**	**100**		**300**		**1000**	**500**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**M**	**F**	**M**	**F**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals												
Carcinogenicity	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	10	10
TK	4	4	4	4	18	18	18	18	18	18	0	0
Skin												
Hemangiosarcoma (malignant)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	NE	NE
Papilloma, squamous cell (benign	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	NE	NE
Spleen												
Hemangiosarcoma (malignant)	0	2	1	0	2	1	0	1	2	1	8	5
Testis												
Hemangiosarcoma (malignant)	1	NA	0	NA	0	0	NA	0	NA	NA	NE	NA
Uterus/cervix												
Hemangiosarcoma (malignant	NA	0	NA	0	NA	NA	1	NA	1	0	NA	NE
Hemolymphoreticular tissue												
Lymphoma (malignant	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	NE	NE
Stomach												
Papilloma, squamous cell (benign)	0	1	0	0	0	0 (24)	0	0	0	0	NE	NE
Thymus												
Thymoma (benign)	0	0	0 (24)	0	0	0 (24)	2	0	0	0	NE	NE
Gland, mammary												
Adenosquamous carcinoma (malignant)	NE	0	1(1)	0	NE	NE	0 (24)	NE	0	0	NE	NE

Report Title: A 26-Week Carcinogenicity Study of PTC923 by Oral Gavage in CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Mice		**Test Article:** Sepiapterin
Species/Strain: Mouse/CByB6F1	**Duration of Dosing:** 26 weeks	**Study No.** PTC923-2023-070
Initial Age at Dosing: 6 to 10 weeks	**Method of Administration:** Oral gavage except positive control, which was IP injection	**Location in CTD:** 4.2.3.4.2
Date of First Dose: 14 Dec 2023		**GLP Compliance:** GLP

Daily Dose (mg/kg)	**Control**				**Sepiapterin**						**Positive Control Urethane[a]**	
	0 (Vehicle ORAL MIX™)		**0 (Water)**		**30**	**100**		**300**		**1000**	**500**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**M**	**F**	**M**	**F**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals												
Carcinogenicity	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	10	10
TK	4	4	4	4	18	18	18	18	18	18	0	0
Noteworthy Findings												
Gross Pathology												
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	10	10
Noteworthy findings	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Non-neoplastic Histopathology												
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	10	10
Noteworthy findings	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours; BH_4, tetrahydrobiopterin; D, day; CTD, Common Technical Document; F, female; IP, intraperitoneal; M, male; NA, not applicable; NC, not calculated; NE, not examined; TK, toxicokinetic(s)

[a] Dosed once daily on Days 1, 4, and 6 via intraperitoneal injection with positive control, urethane.

[b] As expected, BH_4 plasma concentrations were quantifiable in all samples obtained from control animals on Day 180 since BH_4 is an endogenous molecule. For males, endogenous BH_4 plasma concentrations ranged from 29.8 to 38.9 ng/mL and from 48.6 to 55.0 ng/mL for Groups 1 and 2, respectively. For females, endogenous BH_4 plasma concentrations ranged from 54.6 to 54.9 ng/mL and from 60.8 to 71.2 ng/mL for Groups 1 and 2, respectively, on Day 180. Endogenous BH_4 plasma concentrations were quantifiable in all predose samples obtained from treated animals and ranged from 33.7 to 58.2 ng/mL for males and from 48.5 to 128 ng/mL for females on Day 180 without any dose level trends and were comparable to the values observed at 24 hours postdose.

[c] Reflects the presence of sepiapterin and/or its metabolite in the excreta.

[d] At end of treatment. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences are shown. Sepiapterin dose-related increase in overall body weight gain for sepiapterin-treated female groups from Days -1 to 183.

[e] Mean body weight gains from Days -1 to 92 in urethane-treated mice were greater than in both control groups and all sepiapterin-treated groups, resulting in higher body weights on Day 92, as is commonly observed with this positive control.

[f] Number indicates the number of animals with neoplastic lesions; the number in parentheses indicates the number of animals examined if all animals in the group were not examined. Urethane-treated positive control mice exhibited the expected microscopic neoplastic changes (ie, a 100% lung tumor incidence [primarily bronchioloalveolar adenoma] in both sexes and splenic hemangiosarcoma incidences of 80% and 50% in males and females, respectively).

Note: Vehicle Oral Mix was ORAL MIX™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup Oral Mix.

A dash "-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.11 生殖発生毒性: 非ピボタル試験

Species/ Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	Number per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Report Title: A Dose Range-Finding Embryo-Fetal Development Study of PTC923 by Oral (Gavage) in Rats						
Rat/ Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	Oral gavage (Oral Mix)	GD7 through GD17	0, 100, 300, 1000	Main: 6 female rats/group TK: 3 female rats (control) and 6 female rats (100, 300, 1000 mg/kg)	There were no sepiapterin-related maternal or embryo-fetal developmental toxicity at doses up to 1000 mg/kg/day, corresponding to BH_4 C_{max} and AUC_{0-24h} values on GD17 for pregnant female rats of 2420 ng/mL and 19200 h•ng/mL, respectively.	PTC923-2021-005
Report Title: A Dose Range-Finding Embryo-Fetal Development Study of PTC923 by Oral (Stomach Tube) in Rabbits						
Rabbit/ New Zealand White (Hsd:Hra[NZW] SPF)	Oral	GD7 through GD19	0, 100, 300, 1000	6 rabbits/group	Mean maternal body weight gain and food consumption were reduced at ≥100 mg/kg/day during early gestation, which were not considered to be adverse. Based on the absence of any maternal or embryo-fetal developmental toxicity at doses up to 1000 mg/kg/day, C_{max} and AUC_{0-24h} values on GD19 for pregnant female rabbits at 1000 mg/kg/day for sepiapterin were 1140 ng/mL and 4890 h•ng/mL, respectively, and BH_4 C_{max} and AUC_{0-24h} values were 2840 ng/mL and 20300 h•ng/mL, respectively.	PTC923-2021-006

Abbreviations: Admin., administration; AUC_{0-24h}, area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{0-last}, area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration; BH_4, tetrahydrobiopterin; BW, body weight; BWG, body weight gain; FC, food consumption; GD, Gestation Day; NZW, New Zealand White; TK, toxicokinetic(s)
Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.

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

Report Title: A Fertility and Early Embryonic Development Study of PTC923 Administered by Oral (Gavage) in Rats			**Test Article:** Sepiapterin Drug Product	
Design Similar to ICH 4.1.1? Yes	**Duration of Dosing:** **Males** - 28 days prior to mating through the day before euthanasia, for a total of 57 days **Females** - 15 days prior to mating through GD7		**Study No.:** PTC923-2022-028	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD])				
Initial Age: Males 75 days, females 83 days			**Location in eCTD:** 4.2.3.5.1	
Date of First Dose: 07 February 2022			**GLP Compliance:** GLP	
Method of Administration: Oral gavage	**Day of Mating:** GD0		**Day of Cesarean Section:** GD13	
Control Vehicle/Formulation: Oral Mix			**Dose Volume:** 10 mL/kg	
Special Features: None				
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Males** - General toxicity: 300 mg/kg/day; **Reproductive** - 300 mg/kg/day **F_0 Females** - Maternal toxicity: 300 mg/kg/day; **Reproductive** - 300 mg/kg/day				
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
Males - Number of Animals	22	22	22	22
Noteworthy Findings				
Mortality Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[a]	1[a]
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (%) – End of premating period	Group means (g)	Percent difference from control		
Day 25	480.2	2.3	1.8	-0.6
Day 57	593.8	1.3	0.6	-1.9
Body Weight Gain (%)	Group means (g)	Percent difference from control		
Days 1 to 57	252.6	2.1	1.5	-3.8
Food Consumption (%) (Recorded up to Cohabitation)	Group means (g/animal/day)	Percent difference from control		
Days 1 to 25	30.0	2.0	1.3	-3.0
Number of Males Paired	22	22	22	22
Number of Males That Mated	22	22	22	22
Number of Fertile Males	21	21	21	22
Necropsy Observations	-	-	-	-

Report Title: A Fertility and Early Embryonic Development Study of PTC923 Administered by Oral (Gavage) in Rats				**Test Article:** Sepiapterin Drug Product
Design Similar to ICH 4.1.1? Yes	**Duration of Dosing:**			**Study No.:** PTC923-2022-028
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	**Males** - 28 days prior to mating through the day before euthanasia, for a total of 57 days			
Initial Age: Males 75 days, females 83 days				**Location in eCTD:** 4.2.3.5.1
Date of First Dose: 07 February 2022	**Females** - 15 days prior to mating through GD7			**GLP Compliance:** GLP
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
Females - Number of Animals	22	22	22	22
Noteworthy Findings				
Mortality/Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	1	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (%) – End of premating period	Group means (g)	Percent difference from control		
Day 15	253.4	1.6	2.9	2.3
GD13	311.2	1.4	3.1	2.2
Body Weight Gain (%)	Group means (g)	Percent difference from control		
Days 1 to 15	14.8	10.1	18.2	21.6
GD0 to GD13	58.2	-1.2	7.0	2.6
Food Consumption (%)	Group means (g/animal/day)	Percent difference from control		
Days 1 to 15	17.4	1.3	2.0	1.4
GD0 to GD13	21.8	4.7	5.8	1.9
Mean Number of Estrous Cycles/14 Days	2.0	2.0	2.0	2.1
Mean Cycle Length	4.34	4.19	4.14	4.14
Mean Number of Days Prior to Mating	2.7	2.7	2.5	2.5
Number of Females Sperm Positive	22	22	21	22
Number of Pregnant Females	21	21	21	22
Number of Pregnant No Confirmed Day of Mating	0	0	1	0
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Mean Number of Corpora Lutea	15.3	17.2	16.2	16.5
Mean Number of Implantations	14.5	15.0	14.8	15.0
Mean Percent Preimplantation Loss	4.89	11.25	7.26	7.59
Mean Number of Live Embryos	14.0	14.3	14.2	14.4
Mean Number of Dead Embryos	0.4	0.7	0.6	0.6
Mean Percent Postimplantation Loss	2.97	4.52	4.00	3.98

Abbreviations: eCTD, electronic Common Technical Document; F in F_0, filial generation (see Note); GD, Gestation Day, No., number

[a] Death of this animal was considered unrelated to study drug due to it being a single occurrence at this dose and due to the absence of any in-life observations or necropsy findings.

Note: F_0 refers to the generation of animals with F_0 being the parental animals.

Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.

"-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.13 生殖発生毒性: 胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13A An Embryo-Fetal Development Study in Rats

Report Title: An Embryo-fetal Development Study of PTC923 by Oral Gavage in Rats			**Test Article:** Sepiapterin	
Design Similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD7 through GD17		**Study No.:** PTC923-2021-023	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	**Day of Mating:** GD0			
Initial Age: 11-13 weeks	**Day of Cesarean Section:** GD21		**Location in eCTD:** 4.2.3.5.2	
Date of First Dose: 22 December 2021	**Method of Administration:** Oral gavage		**GLP Compliance:** GLP	
Special Features: None	**Dose Volume:** 10 mL/kg			
No Observed Adverse Effect Level:	**Control/Formulation:** Oral Mix			
F_0 Females: 1000 mg/kg/day				
F_1 Litters: 1000 mg/kg/day				
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Number of Female Animals: Toxicity/TK	22/3	22/6	22/7	22/6
Toxicokinetics				
BH_4 GD7 C_{max} (ng/mL)	NA	1680	3160	3200
BH_4 GD7 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	11000	23400	29500
BH_4 GD17 C_{max} (ng/mL)	NA	1360	2520	3410
BH_4 GD17 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	8360	17700	26900
Noteworthy Findings				
Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	1	0
Clinical Observations	Number of animals with observation			
Discolored urine, yellow	0	16	24	28
Body Weight (%)	-	-	-	-
Body Weight Change (%)	Group means (g)	Percent difference from control		
GD7 through GD18	92	-	-	-
Food Consumption (%)	Group means (g/animal/day)	Percent difference from control		
GD7 through GD18	276	-	-	-
Number of Pregnant Females	21	22	21	22
Mean Number of Corpora Lutea	14.6	13.9	14.9	14.9
Mean Number of Implantation Sites	13.1	12.5	12.2	13.0
Mean Percent Preimplantation Loss	9.53	9.89	16.46	11.76
Litters				
Number Litters Evaluated	21	22	21	22
Mean Number of Live Fetuses	12.7	11.9	11.3	12.6
Mean Number of Total Resorptions	0.4	0.6	1.0	0.4

Report Title: An Embryo-fetal Development Study of PTC923 by Oral Gavage in Rats				**Test Article:** Sepiapterin
Design Similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD7 through GD17			**Study No.:** PTC923-2021-023
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	**Day of Mating:** GD0			
Mean Number of Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean Percent Postimplantation Loss	3.27	5.15	9.77	2.87
Mean Adjusted Fetal Body Weight (g)	5.866	5.809	5.771	6.014
Fetal Sex Ratios (% Males)	47.3	50.7	48.9	49.4
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Fetal Anomalies				
External anomalies	-	-	-	-
Fresh visceral anomalies	-	-	-	-
Skeletal anomalies	-	-	-	-

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours; eCTD, electronic Common Technical Document; F in F_0 and F_1, filial generation (see Note); GD, Gestation Day; NA, not applicable; TK, toxicokinetic(s)
Note: F_0 and F_1 refer to the generation of animals with F_0 being the parental animals and F_1 being the offspring of the F_0 generation.
Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.
"-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.13B　　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of PTC923 by Oral Gavage in Rabbits			**Test Article:** Sepiapterin	
Design Similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD7 through GD19		**Study No.:** PTC923-2021-024	
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White (Hsd:Hra [NZW] SPF)	**Day of Mating:** GD0			
Initial Age: 6-7 months at initiation of dosing	**Day of Cesarean Section:** GD29		**Location in eCTD:** 4.2.3.5.2	
Date of First Dose: 05 December 2021	**Dose Volume:** 10 mL/kg		**GLP Compliance:** GLP	
Method of Administration: Oral gavage	**Vehicle/Formulation:** Oral Mix			
Special Features: None				
No Observed Adverse Effect Level: F_0 Females: 1000 mg/kg/day/F_1 Litters: 1000 mg/kg/day				
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Number of Mated Female Animals	20	20	20	21
Toxicokinetics				
Sepiapterin GD7 C_{max} (ng/mL)	NA	345	669	1240
Sepiapterin GD7 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	1100	2800	7800
Sepiapterin GD19 C_{max} (ng/mL)	NA	266	576	707
Sepiapterin GD19 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	642	1650	3340
BH_4 GD7 C_{max} (ng/mL)	NA	1410	2550	4580
BH_4 GD7 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	8180	17700	35700
BH_4 GD19 C_{max} (ng/mL)	NA	1020	1680	2310
BH_4 GD19 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	5080	9400	16300
Noteworthy Findings				
Mortality/Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-
Body Weight Change- (%)	Group means (g)	Percent difference from control		
GD7 through GD20	181	+2	+25	-15
GD20 through GD29	166	+7	+17	+44*
Food Consumption (%)	Group means (g/animal/day)	Percent difference from control		
GD7 through GD8	131	-42***	-27*	-52***
GD8 through GD9	128	-17	-8	-31***
Number of Mated Female Animals	20	20	20	21
Number of Pregnant Females	19	17	19	19
Number Aborted or With No Viable Fetuses	0	0	0	0
Mean Number of Corpora Lutea	9.7	9.9	9.9	9.4
Mean Number of Implantation Sites	8.8	8.6	8.6	8.8
Mean Percent Preimplantation Loss	9.15	11.55	14.17	6.95
Litters				
Number Litters Evaluated	19	17	19	18
Mean Number of Live Fetuses	8.5	8.2	8.2	8.6
Mean Number of Total Resorptions	0.3	0.5	0.4	0.2
Mean Number of Dead Fetuses	0	0	0	0

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of PTC923 by Oral Gavage in Rabbits			**Test Article:** Sepiapterin	
Design Similar to ICH 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD7 through GD19		**Study No.:** PTC923-2021-024	
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White (Hsd:Hra [NZW] SPF)	**Day of Mating:** GD0			
Initial Age: 6-7 months at initiation of dosing	**Day of Cesarean Section:** GD29		**Location in eCTD:** 4.2.3.5.2	
Date of First Dose: 05 December 2021	**Dose Volume:** 10 mL/kg		**GLP Compliance:** GLP	
Method of Administration: Oral gavage	**Vehicle/Formulation:** Oral Mix			
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**100**	**300**	**1000**
Mean Percent Postimplantation Loss	3.86	5.95	4.61	1.92
Mean Adjusted Fetal Body Weight (g)	40.12	40.04	39.51	41.18
Fetal Sex Ratios (% Males)	49.4	51.3	49.0	47.3
Fetal Anomalies				
External anomalies	-	-	-	-
Fresh visceral anomalies	-	-	-	-
Skeletal anomalies	-	-	-	-

Abbreviations: ANOVA, analysis of variance; eCTD, electronic Common Technical Document; F in F_0 and F_1, filial generation (see Note); GD, Gestation Day; NA, not applicable; No., number; NZW, New Zealand White; TK, toxicokinetic(s)
Note: F_0 and F_1 refer to the generation of animals with F_0 being the parental animals and F_1 being the offspring of the F_0 generation.
Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.
"-" indicates that there were no noteworthy findings.
Statistical Analyses: ANOVA and Dunnett's test, *p≤0.05; ***p≤0.001

2.6.7.14 生殖発生毒性: 出生前及び出生後の発生に関する試験（母動物の機能を含む）

Report Title: An Oral (Gavage) Administration Study of the Effects of PTC923 on Pre- and Postnatal Development, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation in Rats				**Test Article:** Sepiapterin
Design Similar to ICH 4.1.2 Yes	**Duration of Dosing:** GD6 through LD20 for rats that delivered a litter or through GD24 for rats that did not deliver a litter			**Study No.:** PTC923-2023-048
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	**Day of Mating:** GD0			
Initial Age: 64 to 78 days	**Litters Culled:** PND4			**Location in eCTD:** 4.2.3.5.3
Date of First Dose: 19 March 2023	**Dose Volume:** 10 mL/kg			**GLP Compliance:** GLP
Method of Administration: Oral gavage	**Vehicle/Formulation:** Oral Mix			
Special Features: Postnatal behavior/function				
No Observed Adverse Effect Level: 300 mg/kg/day for F_0 Females, F_1 Males, and F_1 Females				
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
Number of Animals	22	22	22	22
Noteworthy Findings				
Mortality/Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Number of pregnant females:	22	22	22	21
Clinical observations	0	0	0	0
Body weight (%) - Gestation	Group means (g)	Percent difference from control		
GD20	370.0	-0.3	+3.3	+2.7
Body weight (%) - Lactation	Group means (g)	Percent difference from control		
LD21	326.9	-2.9	+0.7	+0.8
Body weight change (%) - Gestation	-	-	-	-
Body weight change (%) - Lactation	-	-	-	-
Food consumption (%) - Gestation	g/animal/day	Percent difference from control		
GD6 to GD18	26.2	+1.8	+1.7	+0.6
Food consumption (%) - Lactation	g/animal/day	Percent difference from control		
LD1 to LD14	50.12	+2.67	+1.58	+2.81
Mean duration of Gestation (days)	21.5	21.4	21.2	21.2
Number litters evaluated	22	22	22	21
Mean number of implantation sites	13.0	12.4	12.7	12.6
Mean number of liveborn pups/litter	11.9	11.6	11.4	11.6
Number of litters with stillborn pups	1	2	2	2
Viability index	97.95	98.92	100	100
Lactation index	99.35	100	100	100

Report Title: An Oral (Gavage) Administration Study of the Effects of PTC923 on Pre- and Postnatal Development, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation in Rats		**Test Article:** Sepiapterin
Design Similar to ICH 4.1.2 Yes	**Duration of Dosing:** GD6 through LD20 for rats that delivered a litter or through GD24 for rats that did not deliver a litter	**Study No.:** PTC923-2023-048
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	**Day of Mating:** GD0	

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**300**
Number of Animals	22	22	22	22
Number of total litter losses	0	0	0	0
Mean pup body weight (g) sexes combined PND21	60.58	61.03	59.49	60.09
Percent live male pups/litter PND21[a]	45.08	50.73	52.68	56.35*
Pup clinical signs	-	-	-	-
Pup reflex and physical development	-	-	-	-
Pup necropsy observations	-	-	-	-

Abbreviations: eCTD, electronic Common Technical Document; F in F_0 and F_1, filial generation (see Note); GD, Gestation Day; LD, Lactation Day; PND, Postnatal Day

[a] The statistically significant increase in live male pups per litter (%) on PND21 at 300 mg/kg/day was not considered to be sepiapterin-related because it was within the Historical Control range of the testing facility.

Note: F_0 and F_1 refer to the generation of animals with F_0 being the parental animals and F_1 being the offspring of the F_0 generation.

Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.

"-" indicates that there were no noteworthy findings or no data to report.

Statistical Significance: Kruskal-Wallis & Dunn, * p≤0.05

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

2.6.7.15A 新生児 Sprague Dawley ラット 6 日間強制経口投与薬物動態試験

Report Title: A 6-Day Oral Gavage Pharmacokinetic Study in Neonatal Sprague Dawley Rats		**Test Article:** Sepiapterin
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]IGS), Neonatal rats		**Study No.:** PTC923-2020-006
Initial Age: 4 days	**Duration of Dosing:** 6 days	**Location in eCTD:** 4.2.3.5.4
Date of First Dose: 22 October 2020	**Duration of Postdose:** None	**GLP Compliance:** GLP
Vehicle/Formulation: Oral Mix	**Method of Administration:** Oral gavage	**Special Features:** None

No Observed Adverse Effect Level: Sepiapterin was tolerated up to the highest dose tested; a NOAEL was not determined.

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**100**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 80**	**F: 80**	**M: 80**	**F: 80**	**M: 80**	**F: 80**
Toxicokinetics								
Sepiapterin PND4 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	73.3	45.3	274	359	687	734
Sepiapterin PND4 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	164	103	727	480	3330	2610
Sepiapterin PND9 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	181	148	176	328	3380	1120
Sepiapterin PND9 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	NRR	ND	NRR	ND	2750	3450
BH_4 PND4 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	883	827	2290	2220	7350	6140
BH_4 PND4 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	8870	8130	23400	22200	77500	64100
BH_4 PND9 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	856	830	2620	3460	9480	8410
BH_4 PND9 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	10600	10800	26900	32100	92000	86400
BL-corrected BH_4 PND4 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	813	757	2220	2140	7280	6070
BL-corrected BH_4 PND4 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	7190	6440	21700	20500	75800	62400
BL-corrected BH_4 PND9 C_{max} (ng/mL)	NA	NA	786	760	2550	3390	9410	8340
BL-corrected BH_4 PND9 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	NA	NA	8880	9090	25200	30400	90300	84700
Noteworthy Findings								
Mortality/Died or Sacrificed Moribund	1[a]	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations (Dam and Pups)	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%) (Dam and Pups)	-	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BH_4, tetrahydrobiopterin; BL, baseline; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male; NA, not applicable; ND, not determined; No., number; NRR, no reportable result; PND, Postnatal Day

[a] On PND4, a control male pup was found dead shortly following dose administration and prior to its scheduled blood collection. Prior to dose administration, the pup, suspected to have an empty stomach, was noted with moderate weakness, slight thinness, slight labored respiration, skin pallor, slight decreased activity, and was cold to touch. Between PND1 and PND4, the pup lost 0.9 g and was the smallest animal on study weighing 4.7 g on PND4. The pup's death was considered incidental and related to the poor condition, possibly exacerbated by the stress of the gavage procedure.

Note: Vehicle Oral Mix was Oral Mix™ (Flavored Suspending Vehicle)/Medisca® Syrup.

"-" indicates that there were no noteworthy findings.

Unless otherwise specified, BH_4 values are uncorrected for baseline.

2.6.7.15B Sepiapterin の幼若ラット 10 週間（強制）経口投与試験及び 4 週間回復性試験

Report Title: A 10-Week Study of PTC923 Administered by Oral (Gavage) in Juvenile Rats With a 4-Week Recovery Period						**Test Article:** Sepiapterin		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]), Juvenile rats	**Duration of Dosing:** PND4 to PND28 at 0, 5, 10, or 30 mg/kg/day or PND29 to PND70 at 0, 30, 100, and 300 mg/kg/day					**Study No.:** PTC923-2023-045		
Age at Initiation of Dosing: 2 to 3 days	**Dose Volume:** 10 mL/kg							
Date of First Dose: Main/Recovery: 29 April 2023 **TK:** 21 April 2023	**Vehicle/Formulation:** Oral Mix (Control group given Oral Mix till 24 and 25 June 2023 and then received Ora Plus).					**Location in eCTD:** 4.2.3.5.4		
Method of Administration: Oral gavage						**GLP Compliance:** GLP		
Special Features: Sexual maturation, Reproductive assessments, Behavioral assessments, Femur and bone evaluations, Recovery								
No Observed Adverse Effect Level: Males: 30/300 mg/kg/day; Females: 30/300 mg/kg/day								
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**5/30**		**10/100**		**30/300[a]**	
Number of Animals – Main/Recovery	M: 10/20	F: 10/20	M: 10/20	F: 10/20	M:10/20	F: 10/20	M: 10/20	F: 10/20
Number of Animals: TK	M: 8	F: 8	M: 28	F: 28	M: 28	F: 28	M: 28	F: 28
Sepiapterin PND4 C_{max} (ng/mL)	-	-	-[A]	-[A]	-[A]	-[A]	105	681
Sepiapterin PND4 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-	-	-[A]	-[A]	-[A]	-[A]	451	1530
[A] Sepiapterin concentration values were near or below the LLOQ<11.1 ng/mL, with the exception of the 300 mg/kg/day high-dose group on PND4.								
BH_4 PND4 C_{max} (ng/mL)	-	-	398	291	743	646	1480	4010
BH_4 PND4 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-	-	4900	3820	7780	7850	22000	39900
BH_4 PND29 C_{max} (ng/mL)	-	-	628	626	1810	1940	3850	4460
BH_4 PND29 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-	-	4960	4790	14000	14600	27800	31000
BH_4 PND70 C_{max} (ng/mL)	-	-	741	505	1390	1430	1750	1780
BH_4 PND70 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-	-	4410	3220	8960	6530	12300	10800
Baseline corrected BH_4 PND4 C_{max} (ng/mL)	-	-	351	244	695	598	1430	3960
Baseline corrected BH_4 PND4 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-	-	3770	2710	6640	6710	20900	38800
Baseline corrected BH_4 PND29 C_{max} (ng/mL)	-	-	-[B]	-[B]	1750	1890	3790	4400
Baseline corrected BH_4 PND29 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-	-	-[B]	-[B]	12800	13400	26600	29800
[B] The 30 mg/kg/day Group 2 animals only had 2 timepoints with mean concentration values >5 ng/mL (10% of baseline subtractions), so no TK analyses.								
Baseline corrected BH_4 PND70 C_{max} (ng/mL)	-	-	670	434	1320	1360	1680	1700
Baseline corrected BH_4 PND70 $AUC_{0\text{-}24h}$ (h•ng/mL)	-	-	2830	1710	7300	4580[b]	10200[c]	9220
Baseline corrected: To correct for the presence of BH_4 in control animals, a baseline value for each study day was removed from all concentration values for TK analyses.								
Noteworthy Findings								
Mortality/number died/sacrificed moribund	1	2	5	0	2	2	0	0
Main Study								
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight	Mean (g)		Percent difference from Control					
– Day 29 (End of Dosing)	98.27	88.75	-	-	-	-	-	-
Body weight gains	Mean (g)		Percent difference from Control					
– Days 22 to 29 (End of Dosing)	47.55	40.86	-	-	-	-	-	-
Food consumption (%)	Mean (g)		Percent difference from Control					
– Days 22 to 29 (End of Dosing)	12.6	11.9	-	-	-	-	-	-

Report Title: A 10-Week Study of PTC923 Administered by Oral (Gavage) in Juvenile Rats With a 4-Week Recovery Period						**Test Article:** Sepiapterin		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]), Juvenile rats	**Duration of Dosing:** PND4 to PND28 at 0, 5, 10, or 30 mg/kg/day or PND29 to PND70 at 0, 30, 100, and 300 mg/kg/day					**Study No.:** PTC923-2023-045		
Age at Initiation of Dosing: 2 to 3 days	**Dose Volume:** 10 mL/kg							
Sexual maturation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical pathology								
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Reproductive assessments - Male								
Sperm motility	-	-	-	-	-	-	-	-
Sperm concentration	-	-	-	-	-	-	-	-
Sperm morphology	-	-	-	-	-	-	-	-
Pathology								
Gross examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Femur length	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone evaluations and measurements	-	-	-	-	-	-	-	-
Ex vivo bone densitometry measurements	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Recovery Phase								
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight (%)	Mean (g)		Percent difference from Control					
– Day 92 (End of Recovery)	524.96	283.89	-	-	-	-	-	-
Body weight gains	Mean (g)		Percent difference from Control					
– Days to 71 to 92 (End of Recovery)	80.04	23.59	-	-	-	-	-	-
Food consumption (%)	Mean (g)		Percent difference from Control					
– Days 71 to 92 (End of Recovery)	34.3	27.9	-	-	-	-	-	-
Sexual maturation	-	-	-	-	-	-	-	-
Reproductive assessments - Female								
Estrous cycle evaluations	-	-	-	-	-	-	-	-
Reproductive assessments - Male								
Sperm motility	-	-	-	-	-	-	-	-
Sperm concentration	-	-	-	-	-	-	-	-
Sperm morphology	-	-	-	-	-	-	-	-
Behavioral assessments								
Motor activity	-	-	-	-	-	-	-	-
Acoustic startle habituation	-	-	-	-	-	-	-	-
Moris water maze	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical pathology								
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-

Report Title: A 10-Week Study of PTC923 Administered by Oral (Gavage) in Juvenile Rats With a 4-Week Recovery Period						**Test Article:** Sepiapterin		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD]), Juvenile rats	**Duration of Dosing:** PND4 to PND28 at 0, 5, 10, or 30 mg/kg/day or PND29 to PND70 at 0, 30, 100, and 300 mg/kg/day					**Study No.:** PTC923-2023-045		
Age at Initiation of Dosing: 2 to 3 days	**Dose Volume:** 10 mL/kg							
Clinical chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Pathology								
Gross examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Femur length	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone evaluations and measurements	-	-	-	-	-	-	-	-
Ex vivo bone densitometry measurements	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}24h}$, area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; $AUC_{0\text{-}last}$, area under the plasma concentration curve from time 0 to last sampled timepoint or last timepoint with measurable concentration; BH_4, tetrahydrobiopterin; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; LLOQ, lower limit of quantitation; M, male; No., number; PND, Postnatal Day; TK, toxicokinetic(s); T_{last}, time to last measurable plasma concentration

[a].For the 30/300 mg/kg/day dose group, the dose was 30 mg/kg/day from PND4 to PND28 and the dose increased to 300 mg/kg/day from PND29 to PND70.

[b] $AUC_{0\text{-}last}$ is presented; T_{last}=6 hours.

[c] $AUC_{0\text{-}last}$ is presented; T^{last}=12 hours.

Note: “-” indicates that there were no noteworthy findings or no data to report.

2.6.7.16 局所刺激性試験

Sepiapterin is administered orally, so no local tolerance studies are considered necessary.

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17A その他毒性試験：薬物乱用性評価

The dependence potential of sepiapterin appears extremely low. Weight of Evidence has been provided in Module 2.6.6, Section 8.2 and Appendix 2.

2.6.7.18B その他の毒性試験　不純物

2.6.7.18B1 定量的構造活性相関リスク評価

2.6.7.18B1a 原薬不純物の定量的構造活性相関変異原性評価–[redacted] Report

Report Title: (Q)SAR Mutagenicity Assessment of 14 Starting Materials, Intermediates, and Impurities in the Production of L-Sepiapterin per ICH M7 Guidelines	**Test Article:** Impurities of Sepiapterin API Drug Substance
	Study No.: [redacted] Report
	Location in eCTD: 4.2.3.7.6
	GLP Compliance: Non-GLP

Special Features: An ICH M7 compliant (Q)SAR assessment of starting materials, intermediates, and known/potential impurities was performed with DEREK 6.0.0 Nexus 2.2.0 and Leadscope Model Applier Version 2.4.1-36/2.4.2-1. A total of 15 compounds were screened.

Class	Definition
1	Known mutagenic carcinogens
2	Known mutagens with unknown carcinogenic potential (bacterial mutagenicity positive, no rodent carcinogenicity data)
3	Alerting structure, unrelated to the structure of the drug substance; no mutagenicity data
4	Alerting structure, same alert in drug substance or compounds related to the drug substance (eg, process intermediates), which have been tested and are nonmutagenic
5	No structural alerts, or alerting structure with sufficient data to demonstrate lack of mutagenicity or carcinogenicity

Test Substance	M7 Class Assignment	Impurity	M7 Class Assignment	Impurity	M7 Class Assignment
Sepiapterin DS	Not applicable	CC-01	5	CC-11	5
		CC-02	3	CC-12	5
		CC-03	5	CC-13	5
		CC-04	5	CC-14	3
		CC-05	5	CC-15	5
		CC-06	5	CC-27	5
		CC-07	5	CC-28	5
		-	-	CC-29	5

Abbreviations: API, active pharmaceutical ingredient; DS, drug substance; eCTD, electronic Common Technical Document; (Q)SAR, quantitative structure activity relationship
Note: “-” indicates no data.

2.6.7.18B1b　　原薬不純物／分解物の In Silico 定量的構造活性相関–PTC923-2023-057

Report Title: ICH M7 Compliant In Silico Assessment of Degradant Impurities of Sepiapterin PTC Study No: PTC923-2023-057				**Test Article:** Impurities of Sepiapterin	
				Study No: PTC923-2023-057	
An assessment aligned with ICH M7 guidelines was performed on the actual and potential impurities listed in the table below using the following (Q)SAR methodologies and systems				**Location in eCTD:** 4.2.3.7.6	
				GLP Compliance: Non-GLP	
Expert rule-based methodology and parameters		Leadscope Bacterial Mutation expert alerts v9; the domain assessment was turned on (System: Leadscope v2022.0.0.31) Carcinogenicity Cohorts of Concern Alerts v1 (System: Leadscope v2022.0.0.31)			
Statistical-based methodology and parameters		Leadscope Bacterial Mutation statistical-based (Q)SAR model v2; the domain assessment was turned on (System: Leadscope v2022.0.0.31)			
Genetic toxicity database used for searching		Leadscope SAR genetox 2022			
Rodent carcinogenicity database used for searching		Leadscope SAR carcinogenicity 2022			
These in silico methodologies follow the general validation principles set forth by the OECD. The Leadscope statistical-based methodologies and the Leadscope SAR databases were developed through a research collaboration agreement with the US FDA.					
The impurities were classified in accordance with the classification scheme defined by ICH (ICH, 2017):					
Class	**Definition**				
1	Known mutagenic carcinogens				
2	Known mutagens with unknown carcinogenic potential (bacterial mutagenicity positive, *no rodent carcinogenicity data)				
3	Alerting structure, unrelated to the structure of the drug substance; no mutagenicity data				
4	Alerting structure, same alert in drug substance or compounds related to the drug substance (eg, process intermediates), which have been tested and are nonmutagenic				
5	No structural alerts, or alerting structure with sufficient data to demonstrate lack of mutagenicity or carcinogenicity				
*Or other relevant positive mutagenicity data indicative of DNA-reactivity-related induction of gene mutations (eg, positive findings in in vivo gene mutation studies)					
Test Substance	**M7 Class Assignment**	**Impurities**	**M7 Class Assignment**	**Impurities**	**M7 Class Assignment**
Sepiapterin API	5	CC-10	4	CC-72	4
		CC-45	4	CC-75	4
		CC-46	4	CC-76	4
		CC-49	4	CC-77	4
		CC-53	4	CC-79	4
		CC-63	4	CC-80	4
				CC-81	4
		CC-71	4	-	-
The same alerts that were fired on the impurities are shared and fully contained alerts within sepiapterin. These structures were determined to be Class 4 impurities due to their similarity to sepiapterin, which was determined to be negative in the Bacterial Reverse Mutation Assay (Study Report 44913 MMO [CNSA-TOX-003-2017]).					

Abbreviations: API, active pharmaceutical ingredient; eCTD, electronic Common Technical Document; OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development; (Q)SAR, quantitative structure activity relationship; SAR, structure-activity relationship; US, United States
Note: “-” indicates no data.

2.6.7.18B1c　　原薬不純物の In Silico 定量的構造活性相関 – PTC923-2023-074

Report Title: ICH M7 Compliant In Silico Assessment of Impurities of Sepiapterin PTC Study No: PTC923-2023-074				**Test Article:** Impurities of Sepiapterin	
				Study No: PTC923-2023-074	
An assessment aligned with ICH M7 guidelines was performed on the actual and potential impurities listed in the table below using the following (Q)SAR methodologies and systems				**Location in eCTD:** 4.2.3.7.6	
				GLP Compliance: Non-GLP	
Expert rule-based methodology and parameters		Leadscope Bacterial Mutation expert alerts v9; the domain assessment was turned on (System: Leadscope v2022.0.2.3) Carcinogenicity Cohorts of Concern Alerts v1 (System: Leadscope v2022.0.2.3).			
Statistical-based methodology and parameters		Leadscope Bacterial Mutation statistical-based (Q)SAR model v2; the domain assessment was turned on (System: Leadscope v2022.0.2.3).			
Genetic toxicity database used for searching		Leadscope SAR genetox 2022			
Rodent carcinogenicity database used for searching		Leadscope SAR carcinogenicity 2022			
These in silico methodologies follow the general validation principles set forth by the OECD. The Leadscope statistical-based methodologies and the Leadscope SAR databases were developed through a research collaboration agreement with the US FDA.					
The impurities were classified in accordance with the classification scheme defined by ICH:					
Class	**Definition**				
1	Known mutagenic carcinogens				
2	Known mutagens with unknown carcinogenic potential (bacterial mutagenicity positive, *no rodent carcinogenicity data)				
3	Alerting structure, unrelated to the structure of the drug substance; no mutagenicity data				
4	Alerting structure, same alert in drug substance or compounds related to the drug substance (eg, process intermediates), which have been tested and are nonmutagenic				
5	No structural alerts, or alerting structure with sufficient data to demonstrate lack of mutagenicity or carcinogenicity				
*Or other relevant positive mutagenicity data indicative of DNA-reactivity-related induction of gene mutations (eg, positive findings in in vivo gene mutation studies)					
Test Substance	**M7 Class Assignment**	**Impurities**	**M7 Class Assignment**	**Impurities**	**M7 Class Assignment**
Sepiapterin API	5	CC-36	4	CC-78	4
		CC-37	4	CC-82	4
		CC-60	4	CC-83	4
		CC-67	4	CC-84	4
		CC-68	4	CC-85	4
		CC-70	4	CC-86	4
The same alerts that were fired on the impurities are shared and fully contained alerts within sepiapterin. These structures were determined to be Class 4 impurities due to their similarity to sepiapterin, which was determined to be negative in the Bacterial Reverse Mutation Assay (Study Report 44913 MMO [CNSA-TOX-003-2017]).					

Abbreviations: API, active pharmaceutical ingredient; eCTD, electronic Common Technical Document; OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development; (Q)SAR, quantitative structure-activity relationship; SAR, structure-activity relationship; US, United States

2.6.7.18B1d　　原薬不純物の In Silico 定量的構造活性相関– PTC923-2024-126

Report Title: ICH M7 Compliant In Silico Assessment of Impurities of Sepiapterin	**Test Article:** Impurities of Sepiapterin
	Study No: PTC923-2024-126
An assessment aligned with ICH M7 guidelines was performed on the actual and potential impurities listed in the table below using the following (Q)SAR methodologies and systems	**Location in eCTD:** 4.2.3.7.6
	GLP Compliance: Non-GLP

Expert rule-based methodology and parameters	Leadscope Bacterial Mutation expert alerts v9; the domain assessment was turned on (System: Leadscope v2023.0.0.15) Carcinogenicity Cohorts of Concern Alerts v1 (System: Leadscope v2023.0.0.15).
Statistical-based methodology and parameters	Leadscope Bacterial Mutation statistical-based (Q)SAR model v2; the domain assessment was turned on (System: Leadscope v2023.0.0.15).
Genetic toxicity database used for searching	Leadscope SAR genetox 2023
Rodent carcinogenicity database used for searching	Leadscope SAR carcinogenicity 2023

These in silico methodologies follow the general validation principles set forth by the OECD. The Leadscope statistical-based methodologies and the Leadscope SAR databases were developed through a research collaboration agreement with the US FDA.

The impurities were classified in accordance with the classification scheme defined by ICH [ICH M7 (R2)]:

Class	**Definition**
1	Known mutagenic carcinogens
2	Known mutagens with unknown carcinogenic potential (bacterial mutagenicity positive, *no rodent carcinogenicity data)
3	Alerting structure, unrelated to the structure of the drug substance; no mutagenicity data
4	Alerting structure, same alert in drug substance or compounds related to the drug substance (eg, process intermediates), which have been tested and are nonmutagenic
5	No structural alerts, or alerting structure with sufficient data to demonstrate lack of mutagenicity or carcinogenicity

*Or other relevant positive mutagenicity data indicative of DNA-reactivity-related induction of gene mutations (eg, positive findings in in vivo gene mutation studies)

Test Substance	**M7 Class Assignment**	**Impurities**	**M7 Class Assignment**
Sepiapterin API	5	CC-69	2
		CC-96	4
		CC-97	4

The same alerts that were fired on impurities CC-96 and CC-97 are shared and fully contained alerts within sepiapterin. These structures were determined to be Class 4 impurities due to their similarity to sepiapterin, which was determined to be negative in the Bacterial Reverse Mutation Assay (Study Report 44913 MMO [CNSA-TOX-003-2017]).

Abbreviations: API, active pharmaceutical ingredient; eCTD, electronic Common Technical Document; OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development; (Q)SAR, quantitative structure activity relationship; SAR, structureactivity relationship; US, United States

2.6.7.18B1e　　製剤中不純物／分解物の ICH M7 に基づく In Silico 解析– PTC923-2022-037

Report Title: ICH M7 Compliant In Silico Analysis of Degradant Impurities of Sepiapterin PTC Study No: PTC923-2022-037	**Test Article:** Sepiapterin Drug Substance
	Study No.: PTC923-2022-037
	Location in eCTD: 4.2.3.7.6
	GLP Compliance: Non-GLP

26 An assessment aligned with ICH M7 guidelines was performed on the actual and potential impurities listed in the table below using the following (Q)SAR methodologies and systems

Expert rule-based methodology and parameters	Leadscope Bacterial Mutation expert alerts v8; the domain assessment was turned on (System: Leadscope Model Applier v3.1.0.40) Carcinogenicity Cohorts of Concern Alerts v1 (System: Leadscope Model Applier v3.1.0.40)
Statistical-based methodology and parameters	Leadscope Bacterial Mutation statistical-based (Q)SAR model v2; the domain assessment was turned on (System: Leadscope Model Applier v3.1.0.40)
Genetic toxicity database used for searching	Leadscope SAR genetox 2021
Rodent carcinogenicity database used for searching	Leadscope SAR carcinogenicity 2021

These in silico methodologies follow the general validation principles set forth by the OECD. The Leadscope statistical-based methodologies and the Leadscope SAR databases were developed through a research collaboration agreement with the US FDA.

The impurities were classified in accordance with the classification scheme defined by ICH (ICH, 2017):

Class	**Definition**
1	Known mutagenic carcinogens
2	Known mutagens with unknown carcinogenic potential (bacterial mutagenicity positive, *no rodent carcinogenicity data)
3	Alerting structure, unrelated to the structure of the drug substance; no mutagenicity data
4	Alerting structure, same alert in drug substance or compounds related to the drug substance (eg, process intermediates), which have been tested and are nonmutagenic
5	No structural alerts, or alerting structure with sufficient data to demonstrate lack of mutagenicity or carcinogenicity

*Or other relevant positive mutagenicity data indicative of DNA-reactivity-related induction of gene mutations (eg, positive findings in in vivo gene mutation studies)

Test Substance	**M7 Class Assignment**	**Impurities**	**M7 Class Assignment**
Sepiapterin API	5	CC-75	5
		CC-77	5
		CC-49	4
		CC-06	4

The same alert that was fired on impurities RRT075 and RRT095, 261: aromatic amine(NH2) (polycycles with unknown activation) (Indeterminate), is a shared and fully contained alert within sepiapterin. Both structures were determined to be Class 4 impurities due to their similarity to sepiapterin, which was determined to be negative in the Bacterial Reverse Mutation Assay (Study Report 44913 MMO [CNSA-TOX-003-2017]).

Abbreviations: API, active pharmaceutical ingredient; eCTD, electronic Common Technical Document; OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development; (Q)SAR, quantitative structure activity relationship; SAR, structure-activity relationship; US, United States

2.6.7.18B2 原薬のクラス 3 不純物 CC-02 及び CC-14 の細菌を用いる変異原性試験

2.6.7.18B2a 細菌を用いた CC-02 の In Vitro 復帰突然変異試験 – PTC923-2021-025

Report Title: [redacted] (CC-02) Bacterial Reverse Mutation Assay			**Test Article:** [redacted] (CC-02)
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells		**No. of Independent Assays:** 1	**Study No.:** PTC923-2021-025
Strains: TA98, TA100, TA1535, TA1537, and WP2 *uvrA*		**No. of Replicate Cultures:** 3	**Location in eCTD:** 4.2.3.7.6
Metabolizing System: phenobarbital/5,6-benzoflavone-induced rat liver S9 metabolic activation system		**No. of Cells Analyzed/Culture:** Not applicable	**GLP Compliance:** GLP
Vehicles:	**For Test Article: Acetone**	**For Positive Controls:** DMSO	**Date of Treatment:** 13 December 2021
Treatment: Plate incorporation for 2 days			
Cytotoxic Effects: At 5 µg/plate in strain TA98 without metabolic activation; at ≥ 500 µg/plate in strain TA100 with and without metabolic activation; and at 1000 µg/plate in strains TA1535 and TA1537 without metabolic activation.			
Genotoxic Effects: At 50, 100, and 250 µg/plate without metabolic activation and at 250 µg/plate with metabolic activation in strain TA100; and at 500 µg/plate with metabolic activation in strain TA1537.			

Test Article	**Dose (µg/plate)**	**Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates±SD)**				
		Salmonella typhimurium				***Escherichia coli***
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
Without metabolic activation						
Control (acetone)	0.1 mL/plate	15±3	80±8	11±5	4±1	41±8
[redacted] CC-02)	1.0	15±6	100±8	17±7	5±2	40±9
	2.5	8±5	96±4	10±1	5±1	45±6
	5.0	7[a]±7	98±10	12±4	6±3	46±7
	10	10±3	96±22	14±4	2±2	38±6
	25	12±5	134±16	10±3	4±1	42±12
	50	11±3	184*±29	10±3	5±2	51±4
	100	12±2	250*±11	16±7	4±4	51±9
	250	15±2	535*±44	13±4	3±4	47±13
	500	11±2	-[b]	11±5	4±3	56±20
	1000	18[c]±6	-[b]	-[b]	-[b]	55±5
Positive controls						
2-Nitrofluorene	2.5	755*±149	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	533*±35	540*±56	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	64*±7	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	608*±71

Report Title: [redacted] (CC-02) Bacterial Reverse Mutation Assay					**Test Article:** [redacted] (CC-02)	
						Study No.: PTC923-2021-025
Test Article	**Dose (µg/plate)**	**Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates±SD)**				
		Salmonella typhimurium				***Escherichia coli***
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
With metabolic activation						
Control (acetone)	0.1 mL/plate	14±7	76±4	8±2	2±1	33±7
[redacted] CC-02)	1.0	15±8	83±4	8±5	5±2	49±12
	2.5	12±2	86±17	7±4	4±4	45±6
	5.0	13±2	78±11	12±5	4±2	37±3
	10	10±2	85±1	10±3	4±3	50±8
	25	11±6	79±5	10±7	4±3	41±6
	50	16±3	103±25	12±4	4±3	39±4
	100	14±3	138±9	9±2	4±3	56±15
	250	12±7	265*±20	11±3	5±2	58±3
	500	13±2	-[b]	10±3	6*±2	56±8
	1000	13±4	-[b]	18±12	5±1	71±9
Positive controls						
2-Aminoanthracene	2.5	2005*±438	616*±225	116*±27	46*±9	NT
2-Aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	245*±49

Abbreviations: DMSO, dimethyl sulfoxide; eCTD, electronic Common Technical Document; No., number; NT not tested, S9, metabolic activation system; SD, standard deviation
*Protocol criteria for a positive response met.
[a] Cytotoxicity: >50% reduction in mean revertant count when compared to the vehicle.
[b] Cytotoxicity: Reduced background lawn, plates not counted.
[c] Slightly reduced background lawn.
Note: Criteria for significance: 2-fold (TA100) and 3-fold (TA98, TA1535, TA1537, and WP2 *uvrA*) over controls.

2.6.7.18B2b　細菌を用いた CC-14 の In Vitro 復帰突然変異試験 – PTC923-2021-026

Report [redacted] (CC-14) Bacterial Reverse Mutation Assay					**Test Article:** [redacted] (CC-14)
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells			**No. of Independent Assays:** 1		**Study No.:** PTC923-2021-026
Strains: TA98, TA100, TA1535, TA1537, and WP2 *uvrA*			**No. of Replicate Cultures:** 3		**Location in eCTD:** 4.2.3.7.6
Metabolizing System: phenobarbital/5,6-benzoflavone-induced rat liver S9 metabolic activation system			**No. of Cells Analyzed/Culture:** Not applicable		**GLP Compliance:** GLP
Vehicles:	**For Test Article:** DMSO		**For Positive Controls:** DMSO		**Date of Treatment:** 13 December 2021
Treatment: Plate incorporation for 2 days					
Cytotoxic Effects: At 50 µg/plate in strain TA98 without metabolic activation; at 250 µg/plate in strain TA1537 with metabolic activation; at ≥250 µg/plate in strain TA98 without metabolic activation; at ≥500 µg/plate in strains TA98 and TA1535 with metabolic activation and in strains TA100 and TA1535 without metabolic activation; and at 1000 µg/plate in strain TA100 with metabolic activation.					
Genotoxic Effects: At 250 and 500 µg/plate in strain TA1537 without metabolic activation.					

Test Article	**Dose (µg/plate)**	**Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates±SD)**				
		Salmonella typhimurium				***Escherichia coli***
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
Without metabolic activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	14±3	84±10	7±1	3±1	43±2
[redacted] (CC-14)	5.0	9±5	75±11	8±3	5±2	47±8
	10	10±4	85±9	12±3	4±2	46±18
	25	15±3	87±11	11±1	4±1	48±11
	50	6[a]±4	81±11	9±3	4±4	41±3
	100	8±5	104±2	6±3	6±3	39±9
	250	3[a]±0	111±17	6±3	17*±3	54±9
	500	1[a]±1	-[b]	1[a]±0	15*[c]±1	54±8
	1000[d]	0[ac]±0	-[b]	-[b]	-[b]	40±14
Positive controls						
2-Nitrofluorene	2.5	753*±95	397*±36	685*±150	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	NT	NT	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	102*±14	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	999*±99

Report Title: [redacted] (CC-14) Bacterial Reverse Mutation Assay	**Test Article:** [redacted] (CC-14)
	Study No.: PTC923-2021-026
	Location in eCTD: 4.2.3.7.6
	GLP Compliance: GLP

Test Article	**Dose (µg/plate)**	**Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates±SD)**				
		Salmonella typhimurium				***Escherichia coli***
		TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
With metabolic activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	8±3	73±11	10±1	4±2	51±6
[redacted] (CC-14)	5.0	10±1	76±10	7±2	2±1	46±11
	10	8±3	82±6	7±1	4±2	52±4
	25	9±2	85±5	11±2	5±2	47±15
	50	8±1	84±5	6±3	2±2	58±5
	100	10±3	91±14	8±3	4±2	49±9
	250	4±2	101±19	5±1	1[a]±2	49±6
	500	0[a]±0	43±9	0[a]±0	8±3	45±7
	1000[d]	0[a]±0	10[ac]±8	0[a]±0	8[c]±2	45±8
Positive controls						
2-Aminoanthracene	2.5	719*±105	316*±49	112*±14	136*±29	NT
2-Aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	279*±56

Abbreviations: DMSO, dimethyl sulfoxide; eCTD, electronic Common Technical Document; No., number; NT, not tested; S9, metabolic activation system; SD, standard deviation

*Protocol criteria for a positive response met.

[a] Cytotoxicity: >50% reduction in mean revertant count when compared to the vehicle.

[b] Cytotoxicity: Reduced background lawn, plates not counted.

[c] Slightly reduced background lawn.

[d] Precipitates present.

Note: Criteria for significance: 2-fold (TA100) and 3-fold (TA98, TA1535, TA1537, and WP2 *uvrA*) over controls.

2.6.7.18B3 不純物の安全性確認

2.6.7.18B3a ラット 28 日間毒性試験 PTC923-2021-007 試験における原薬および製剤不純物の安全性確認試験

Report Title: 28-Day Toxicity Study of PTC923 and Structurally Identified Impurities or Degradants by Oral (Gavage) in Rats		**Test Article$_2$:** Sepiapterin API **Test Article$_1$:** Sepiapterin DP
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD])	**Duration of Dosing:** Study Day 1 through 28	**Study No.:** PTC923-2021-007
Initial Age: 62-64 days	**Duration of Postdose:** None	**Location in eCTD:** 4.2.3.7.6
Date of First Dose: 03 May 2021	**Method of Administration:** Oral gavage	**GLP Compliance:** GLP
Vehicle/Formulation[a]$_1$: DI water/Sepiapterin DP		
Vehicle/Formulation[a]$_2$: Oral Mix/Sepiapterin API		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 300 mg/kg/day for sepiapterin DP and 100 mg/kg/day for sepiapterin API		

Daily Dose (mg/kg)	**0 (DI Water)**		**100 (DP)**		**300 (DP)**		**0 (Oral Mix)**		**100 (API)**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Mortality/Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-		-		-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-		-		-	-
Body Weight D28 (%)[b]	452.2	269.6	+1.5	+0.3	+4.7	-3.4	434.7	264.3	+3.5	+1.5
Food Consumption (%) D1 to D28[b]	26.7	18.5	+1.8	+5.1	+7.7	-3.4	25.3	17.8	-2.1	-3.0
Clinical Pathology	-	-	-	-	-	-			-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-			-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-			-	-
Serum chemistry	-	-	-	-	-	-			-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-			-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[b]										
Thyroid gland										
Absolute weight	0.02659	0.02318	-4.40	-3.15	+0.49	-27.35*	0.02914	0.02180	-27.73*	-5.32
Percent body weight	0.00614	0.00921	-5.99	-3.14	-5.43	-25.61	0.00697	0.00862	-29.52*	-6.07
Percent brain weight	1.29690	1.20797	-5.92	-2.53	-3.61	-27.01*	1.39889	1.11222	-28.27*	-4.10
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations: ANOVA, analysis of variance; API, active pharmaceutical ingredient; D, Day; DI, deionized; DP, drug product; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male; No., number

[a] Sepiapterin DP (Test Article$_1$) was formulated using an appropriate amount of vehicle/control (DI water) to achieve the required dose level. Sepiapterin API (Test Article$_2$) was suspended in vehicle/control$_2$ (Oral Mix) to achieve the required dose level.

[b] For controls, group means are shown (body weights are expressed as grams/animal, food consumption is expressed as grams/animal/day, and absolute organ weights are expressed in grams). For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

*p<0.05 by ANOVA and Dunnett's test

Note: "-" indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.18B3b　　ラット 28 日間毒性試験 PTC923-2023-044 試験における原薬および製剤不純物の安全性確認

Report Title: A 28-Day Oral Gavage Impurity or Degradant Qualification Study of PTC923 in Sprague Dawley Rats									**Test Article$_2$:** Sepiapterin API **Test Article$_1$:** Sepiapterin DP			
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD[SD])			**Duration of Dosing:** Study Day 1 through 28						**Study No.:** PTC923-2023-044			
Initial Age: 8-9 weeks			**Duration of Postdose:** None						**Location in eCTD:** 4.2.3.7.6			
Date of First Dose: 20 February 2023			**Method of Administration:** Oral gavage						**GLP Compliance:** GLP			
Vehicle/Formulation: Oral Mix™												
Special Features: None												
No Observed Adverse Effect Level: Not applicable												
Treatment	**Vehicle**		**S-Sepiapterin**								**R-Sepiapterin**	
	Oral Mix™		**ES25002-3-P1**		**ES25002-4-P1**		**ES25002-5-P1**		**ES25002-6-P1**		**ET42357-16-P1**	
Group/Daily Dose (mg/kg)	**1/0**		**2/100**		**3/100**		**4/100**		**5/100**		**6/5.6**	
Number of Animals	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[b]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations: API, active pharmaceutical ingredient; DP, drug product; eCTD, electronic Common Technical Document; F, female; M, male; No. number
Note: “-” indicates that there were no noteworthy findings.

2.6.7.18C その他毒性試験 – ニュートラルレッド取り込み光毒性評価

Report Title: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of PTC923 in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts							**Test Article:** Sepiapterin **Study No.:** PTC923-2021-010	
Method of Administration: In vitro							**Location in eCTD:** 4.2.3.7.7	
Positive Control: Promethazine							**GLP Compliance:** GLP	
Vehicles: DMSO and DPBS with CA^{2+} and Mg^{2+}								
Sepiapterin and positive control solutions in DMSO were diluted in DPBS to achieve a final concentration of 1% DMSO in DPBS								
Assay Exposures: The cells were exposed to 5 J/cm^2 of UV-A and 23 mJ/cm^2 of UV-B from a xenon arc solar simulator equipped with a Schott WG 320 filter.								
Dose Concentrations (µg/mL)								
Promethazine	0.100	0.316	1.00	3.16	10.0	31.6	100	178
Sepiapterin	1.78	3.16	5.62	10	17.8	31.6	56.2	111 (prepared above protocol-specified concentration of 100 µg/mL)
Definitive Assay Results: Sepiapterin in 1% DMSO in DPBS did not demonstrate phototoxic potential								

Test Material	**IC_{50} (µg/mL) -UVR**	**IC_{50} (µg/mL) +UVR**	**PIF**	**MPE**	**Phototoxic Potential**	**UVR Percent Survival**	**OD_{540}**
Promethazine	115.438	0.705	166.728	0.707	Yes	84	0.434
Sepiapterin (Assay 1)	-[a]	-[a]	1[b]	0.333	No	85	0.404
Sepiapterin (Assay 2)	-[a]	-[a]	1[b]	0.323	No	90	0.446

Abbreviations: CA^{2+}, calcium ion; DMSO, dimethyl sulfoxide; DPBS, Dulbecco's phosphate buffered saline; IC_{50}, half maximal inhibitory concentration; J, joules; Mg^{2+}, magnesium cation; mJ, millijoules; MPE, mean photo effect (the criterion for "phototoxic" is MPE≥0.150); OD_{540}, absolute optical density (the criterion is ≥0.400); PIF, photoirritancy factor (the criterion for "phototoxic" is PIF≥5.000); UVR, ultraviolet radiation; -UVR, cytotoxicity without ultraviolet radiation exposure; +UVR, phototoxicity with ultraviolet radiation exposure

[a] IC_{50} not achieved.

[b] Both IC_{50}(-UVR) and IC_{50}(+UVR) were not achieved (the test article did not show cytotoxicity or phototoxicity), indicating a lack of phototoxic potential. In this case, a formal PIF of 1 is used to characterize the result.

Note: The criterion for "phototoxic": PIF≥5.000 and MPE≥0.150