# フェニル酪酸グリセロール
## ラヴィクティ内用液 1.1 g/mL

## 第 2 部 CTD の概要
## 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
## 2.6.6 毒性試験の概要文

## 株式会社オーファンパシフィック

## 略号一覧表

| 略語・略号 | 略していない表現（英語） | 略していない表現（日本語） |
|---|---|---|
| ADI | acceptable daily intake | 許容 1 日摂取量 |
| ALP | alkaline phosphatase | アルカリホスファターゼ |
| ALT | alanine aminotransferase | アラニンアミノトランスフェラーゼ |
| AST | aspartate aminotransferase | アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ |
| AUC | area under the concentration vs. time curve | 血中濃度－時間曲線下面積 |
| $AUC_{\infty}$ | Area under the curve from time of dosing extrapolated to infinity | 無限大まで外挿したときの AUC |
| $AUC_{last}$ | area under the curve from the time of dosing to the time of the last observation | 測定した最終時点までの AUC |
| BUN | blood urea nitrogen | 血液尿素窒素 |
| CHO | chinese hamster ovary | チャイニーズハムスター卵巣 |
| $C_{max}$ | maximum concentration of the drug after dosing | 投与後の最高血中濃度 |
| F | female | 雌 |
| FOB | functional observational battery | 機能観察総合評価法 |
| DG | day of gestation | 妊娠からの日数 |
| GGT | gamma glutamyltransferase | γ グルタミルトランスフェラーゼ |
| GPB | glycerol phenylbutyrate | フェニル酪酸グリセロール |
| HPBL | human peripheral blood lymphocytes | ヒト末梢血リンパ球 |
| HPN-100 | investigational ingredient code of GPB | HPN-100（GPB の治験薬コード） |
| M | male | 雄 |
| MTD | maximum tolerated dose | 最大耐量 |
| NaPBA | sodium phenylbutyrate | フェニル酪酸ナトリウム |
| NC | not calculable | 計算不可 |
| ND | not determined | 決定せず |
| NE | not evaluated | 評価せず |
| NOAEL | no observed adverse effect level | 無毒性量 |
| PAA | phenylacetic acid | フェニル酢酸 |
| PAG | phenylacetylglycine | フェニルアセチルグリシン |
| PAGN | phenylacetylglutamine | フェニルアセチルグルタミン |
| PBA | phenylbutyrate | フェニル酪酸 |
| PBG | phenylbutyrylglycine | フェニルブチリルグリシン |
| PBGN | phenylbutyrylglutamine | フェニルブチリルグルタミン |
| PND | postnatal day | 出生後日数 |
| RBC | red blood cell | 赤血球 |
| s | second | 秒 |
| SAP | scientific advisory panel | 科学諮問委員会 |
| TK | toxicokinetic | トキシコキネティクス |
| $T_{max}$ | time to $C_{max}$ | 投与後の最高血中濃度到達時間 |
| UCD | urea cycle disorder | 尿素サイクル異常症 |

# 目次

頁
略号一覧表 2
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 10
2.6.6.2.1 ラットを用いた GPB の単回投与毒性試験 10
2.6.6.2.2 サルを用いた GPB の単回投与毒性試験 10
2.6.6.3 反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.1.1 マウスを用いた GPB の 14 日間反復経口投与毒性試験 12
2.6.6.3.1.2 マウスを用いた GPB の 13 週間反復経口投与毒性試験 12
2.6.6.3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.2.1 ラットを用いた GPB の 14 日間反復経口投与毒性試験 12
2.6.6.3.2.2 ラットを用いた GPB の 13 週間反復経口投与毒性試験 13
2.6.6.3.2.3 ラットを用いた GPB の 26 週間反復経口投与毒性試験 14
2.6.6.3.3 サルを用いた反復投与毒性試験 15
2.6.6.3.3.1 サルを用いた GPB の 14 日間反復経口投与毒性試験 15
2.6.6.3.3.2 サルを用いた GPB の 13 週間反復経口投与毒性試験 16
2.6.6.3.3.3 サルを用いた GPB の 52 週間反復経口投与毒性試験 17
2.6.6.4 遺伝毒性試験 19
2.6.6.4.1 GPB の遺伝毒性試験 19
2.6.6.4.1.1 GPB の細菌を用いた復帰突然変異試験 19
2.6.6.4.1.2 GPB のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 19
2.6.6.4.1.3 GPB のラット小核試験 19
2.6.6.4.2 PBA の遺伝毒性試験 20
2.6.6.4.2.1 PBA の細菌を用いた復帰突然変異試験 20
2.6.6.4.2.2 PBA の CHO 細胞を用いた染色体異常試験 20
2.6.6.4.2.3 PBA のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 20
2.6.6.4.3 PAA の遺伝毒性試験 21
2.6.6.4.3.1 PAA の細菌を用いた復帰突然変異試験 21
2.6.6.4.3.2 PAA の CHO 細胞を用いた染色体異常試験 21
2.6.6.4.4 PAGN の遺伝毒性試験 21
2.6.6.4.4.1 PAGN の細菌を用いた復帰突然変異試験 21
2.6.6.4.4.2 PAGN の CHO 細胞を用いた染色体異常試験 21
2.6.6.4.5 PAG の遺伝毒性試験 22
2.6.6.4.5.1 PAG の細菌を用いた復帰突然変異試験 22
2.6.6.4.5.2 PAG の CHO 細胞を用いた染色体異常試験 22
2.6.6.5 がん原性試験 23
2.6.6.5.1 長期がん原性試験 23
2.6.6.5.1.1 GPB のラットを用いた 24 ヵ月がん原性試験 23

2.6.6.5.2 中期がん原性試験 25
2.6.6.5.2.1 CByB6F1 マウスを用いた 5 日間用量設定試験 25
2.6.6.5.2.2 CByB6F1 マウスを用いた 28 日間用量設定試験 25
2.6.6.5.2.3 GPB の rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験 25
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 27
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 27
2.6.6.6.1.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 27
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 27
2.6.6.6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験） 27
2.6.6.6.2.2 ラットを用いた胚・胎児発生試験（本試験） 28
2.6.6.6.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験） 29
2.6.6.6.2.4 ウサギを用いた胚・胎児発生試験（本試験） 29
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 30
2.6.6.6.3.1 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 30
2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験 31
2.6.6.6.4.1 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（用量設定試験） 31
2.6.6.6.4.2 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（本試験） 31
2.6.6.7 局所刺激性試験 34
2.6.6.8 その他の毒性試験 35
2.6.6.8.1 光毒性 35
2.6.6.8.2 代謝物 35
2.6.6.8.3 不純物 35
2.6.6.9 考察及び結論 37
2.6.6.10 図表 48
2.6.6.11 参考文献 49

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 2.6.6.1 まとめ

フェニル酪酸グリセロール（GPB；別名 glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)（GT4P）、HPN-100）は、エステル結合を介してグリセロール骨格に結合した 3 分子の 4 - フェニル酪酸(PBA)を含むトリグリセリドである。経口摂取されると、消化管で主にリパーゼによってグリセロール骨格から PBA が放出される［[redacted]2009 試験、[redacted]3091[redacted] 試験］。GPB は PBA プロドラッグであり、活性体である PAA のプレプロドラッグである。

PBA は PAA に変換された後、残余窒素と結合することで薬効を示す。霊長類ではグルタミンと結合し、フェニルアセチルグルタミン(PAGN)として、またげっ歯類ではグリシンと結合してフェニルアセチルグリシン(PAG)として尿中に排泄される[Moldave K, 1957]。このことから、毒性試験に用いる非げっ歯類としてサルを選択した。

申請に際し、GLP に準拠して一連の毒性試験を実施した。一般毒性試験として、ラット及びサルを用いた単回経口投与毒性試験、並びにマウス 13 週間まで、ラット 26 週間まで及びサル 52 週間までの反復経口投与毒性試験を実施した。また、ICH ガイドラインに準拠した遺伝毒性バッテリー試験及び生殖発生毒性試験を実施した。遺伝毒性試験としては、GPB の Ames 試験、染色体異常試験、*in vivo* ラット小核試験を実施した。また、PBA、PAA、PAGN 及び PAG について、*in vitro* 遺伝毒性試験、すなわち、Ames 試験及び染色体異常試験を実施した。生殖発生毒性試験として、ラットにおける受胎能及び初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギにおける胚・胎児発生試験、並びにラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。さらに GPB の幼若動物に対する影響について、新生児ラットを用いた毒性試験で評価した。GPB について実施した毒性試験は、表 2.6.6-1 に示した。代謝物 PBA、PAA、PAGN 及び PAG については、上述の GPB の各種 *in vivo* 毒性試験及び *in vitro* 遺伝毒性試験で評価した。

表 2.6.6-1 GPB の毒性試験一覧

| 試験種及び投与期間 | 投与経路 | 動物種 |
|---|---|---|
| 単回投与毒性試験 | 強制経口投与 | ラット |
| | 経鼻経口投与 | サル |
| 反復投与毒性試験 | | |
| 14 日間 | 強制経口投与 | マウス、ラット |
| 28 日間 | 強制経口投与 | マウス |
| 14 日間 | 経鼻経口投与 | サル |
| 13 週間 | 強制経口投与 | マウス、ラット |
| 13 週間 | 経鼻経口投与 | サル |
| 26 週間 | 強制経口投与 | ラット |
| 52 週間 | 経鼻経口投与 | サル |
| 遺伝毒性試験 | | |
| Ames 試験 | *In vitro* | ネズミチフス菌、大腸菌 |
| 染色体異常試験 | *In vitro* | ヒトリンパ球 |
| 小核試験 | 強制経口投与 | ラット |
| がん原性試験 | | |
| 26 週間 | 強制経口投与 | トランスジェニックマウス |
| 2 年間 | 強制経口投与 | ラット |
| 生殖発生毒性試験 | | |
| 受胎能及び初期胚発生 | 強制経口投与 | ラット |
| 胚・胎児発生試験 | 強制経口投与 | ラット、ウサギ |
| 出生前後の発生並びに母体機能 | 強制経口投与 | ラット |
| 幼若動物 | 強制経口投与 | ラット |

GPB：フェニル酪酸グリセロール

**単回投与毒性**

ラット及びサルを用いて、GPB の単回経口投与毒性試験を実施した。概略の致死量はラットでは 1.2 g/kg 及びサルでは 6.5 g/kg 超であった。

**反復投与毒性**

マウス、ラット及びサルを用いて GPB の反復経口投与毒性試験を実施した。

マウスを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験において、最小致死量は雌雄とも 2.0 g/kg/日であった。高用量では投与に起因した一般状態の変化が認められた。マウスを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験では、0.90 g/kg/日以上の群で肝重量の増加及び小葉中心性の肝細胞肥大が認められたが適応性の変化と考えられた。マウス 14 日間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 0.9 g/kg/日、マウス 13 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 1.2 g/kg/日と判断された。

ラットを用いた、14 日間、13 週間及び 26 週間反復経口投与毒性試験において、雌雄ともに 1.2 g/kg/日までの投与で投与に起因した死亡例は認められなかった。高用量群（0.9 及び 1.2 g/kg/日）では、体重及び体重増加量の低値が認められた。そのほか、脾臓の組織学的変化や関連する血液学的検査値の変化が認められたが、毒性とは判断されなかった。その他は肝細胞の染色性の変化、肝重量の変化及び血液生化学的検査値の変動などの肝への影響が認められたが、適応性の変化と考えられた。ラット 14 日間反復投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 0.65 g/kg/日、ラット 13 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雄で 0.9 g/kg/日、雌で 1.2 g/kg/日、ラット 26 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雄で 0.65 g/kg/日、雌で 1.2 g/kg/日と判断された。

サルを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験において、2.5 g/kg/日及び 3.5 g/kg/日群では瀕死例が認められた。サルを用いた 13 週間及び 52 週間反復経口投与毒性試験においては 1.75 g/kg/日（13 週間）又は 1.5 g/kg/日（52 週間）までの投与で死亡例は認められなかったが、52 週間反復経口投与毒性試験の 1.5 g/kg/日群では一般状態の変化及び体重増加量の減少により一時休薬を要した。GPB 投与群では血液学的検査値の変化や尿 pH の低下、血液学的検査値と関連した脾臓の病理組織の変化などの変化が認められたが、毒性とは判断されなかった。その他には、適応性の肝細胞肥大と関連した用量依存的な肝重量の増加が認められた。サル 14 日間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 1 g/kg/日、サル 13 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 1.25 g/kg/日、サル 52 週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雌雄とも 1.1 g/kg/日と判断された。

**遺伝毒性**

GPB は、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球（HPBL）を用いた染色体異常試験及びラットを用いた *in vivo* 小核試験において陰性であった。

PBA、PAA、PAGN 及び PAG について細菌を用いた復帰突然変異試験では陰性であった。PBA、PAA、PAGN 及び PAG についてチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いて染色体異常試験を実施したところ、PAA、PAGN 及び PAG は陰性であったが、PBA では代謝活性化条件下、細胞毒性の認められる 1080 μg/mL の濃度で染色体の構造異常が認められた。PBA については、HPBL を用いた染色体異常試験を実施し、本試験では染色体異常は認められなかった。以上のことから GPB をヒトに投与したときの遺伝毒性のリスクは低いと判断された。

**がん原性**

rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験において、最高用量の 1.00 g/kg/日までの投与量で投薬に関連する腫瘍発現の増加は認められなかった。

Crl:CD(SD)ラットを用いた 2 年間反復経口投与がん原性試験において、投与に関連して膵腺房細胞腺腫/腺癌、副腎皮質腺腫/腺癌、甲状腺濾胞細胞腺腫/腺癌、ジンバル腺癌、良性子宮内膜間質ポリープ及び子宮頸部悪性神経鞘腫が認められた。また、投与に関連した非腫瘍性病変として、膵腺房細胞の過形成、副腎皮質束状帯細胞の肥大、甲状腺濾胞細胞の過形成、子宮内膜増殖、肝細胞の塩基性細胞巣及び網膜萎縮などが認められた。コンカレント対照群での腫瘍発生率を考慮した場合、腫瘍増加に対する統計学的な無毒性量は、雄で 0.21 g/kg/日及び雌で 0.30 g/kg/日と判断された。

ラットがん原性試験の結果から GPB のヒトでのリスクアセスメントを行う目的で、スポンサ

ーとは独立した科学諮問委員会（SAP）が実施された。SAP は、以下の理由により GPB はヒトにおける発がん性リスクにはならないと結論した：

- GPB 及びその代謝物に遺伝毒性がないこと
- マウス、サル及びラットの反復投与毒性試験において同種の腫瘍又は前腫瘍病変が認められないこと
- 高用量投与で認められたいずれの腫瘍も対照群でも背景病変で認められる病変であり低い発生率で試験の後期に発生していること
- 対照群及び投与群で認められた腫瘍はおおむね当該試験施設の背景データ若しくは文献値の範囲内であること
- ジンバル腺は相同組織がヒトに無いこと
- 膵、甲状腺及び子宮で認められた増殖性病変はラット特有であることが文献的に知られていること
- ラットの子宮頸部の神経鞘腫はヒトで同様の腫瘍の発生がないこと
- 正常ラットに長期間高用量反復投与した状態は患者に投薬する状況とは代謝状態が大きく異なること

**生殖発生毒性**

生殖発生毒性試験として、雌雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。

雌雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、雌雄ともに 1.2 g/kg/日あるいは雄のみに 1.2 g/kg/日を投与した場合に死亡胚数の増加が認められた。本試験における親動物の一般毒性に対する無毒性量は雌雄とも 0.65 g/kg/日、親動物の生殖機能及び初期胚発生に対する無毒性量は雌雄ともに 0.9 g/kg/日と判断された。

妊娠ラットを用いた胚･胎児発生毒性試験において、母体の毒性が認められる 0.65 及び 0.9 g/kg/日群において、胎児体重の減少と骨格の異常（変異、発育遅延）を有する胎児数の増加が認められた。なお、0.9 g/kg/日群においては、尾の奇形（索状尾、短尾）の軽微な増加が認められたが、統計学的有意差は無かった。本試験での母体の一般毒性に対する無毒性量は 0.3 g/kg/日、胚・胎児の発生に対する無毒性量も 0.3 g/kg/日と判断された。

妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験において、0.35 g/kg/日までの用量で母体への毒性、胚・胎児に対する毒性は認められなかった。本試験での母体の一般毒性に対する無毒性量は本試験での最高用量の 0.35 g/kg/日、胚・胎児の発生に対する無毒性量も 0.35 g/kg/日と判断された。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において、0.6 g/kg/日群及び 0.9 g/kg/日群において母動物（F0）の体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。また、0.9 g/kg/日群では妊娠期間の延長と出生児体重の減少が認められた。出生児（F1）の生存率、発育、性成熟、学習及び記憶、生殖能に影響は無かった。以上のことから、F0 母動物の一般毒性に対する無毒性量は 0.3 g/kg/日、生殖能に対する無毒性量は 0.6 g/kg/日、次世代（F1）の出生前及び出生後の発生に対する無毒性量は 0.9 g/kg/日と判断された。

**幼若動物を用いた毒性試験**

幼若ラットへの影響を調べるために、生後 2-50 日の間の投与（Part A）及び生後 2 日から妊娠

20 日までの投与（Part B）を行い、発達及び生殖に対する有害作用を評価した。

Part A では、投与に関連した死亡、一般状態の変化、体重の変化及び離乳後の摂餌量の変化はなかった。1.2 g/kg/日群において、白血球数、好中球数及びリンパ球数の減少、AST、ALT 及びアルブミン/グロブリン比の増加が認められた。幼若ラットにおける無毒性量は 0.9 g/kg/日と判断された。Part B では、最低用量の 0.65 g/kg/日から胎児体重の低値が、母体毒性が生じる 0.9 g/kg/日から胎児の外表の変化の増加が認められた。本試験での発生毒性に関する無毒性量は 0.65 g/kg/日未満と判断された。

**代謝物**

GPB のヒトでの主要代謝物は PBA、PAA 及び PAGN であり、これらについては、GPB の各種毒性試験及び個別の *in vitro* 遺伝毒性試験において評価した。

**不純物**

GPB の実際の不純物又は分解物、並びに潜在的な不純物についてルールベース及び統計ベースの相補的な *in silico* 法により変異原性評価を実施した。

潜在的な不純物のうち、クラス 1 不純物が 2 種類及びクラス 3 不純物が 6 種類確認された。クラス 1 不純物について添加試験を実施し、GPB に含まれる両化合物は理論上許容 1 日摂取量（ADI）を超えないことが確認され、本薬の製造でのいずれの規格においても管理する必要はないものと判断した。クラス 3 不純物は、これらの化合物の化学的安定性及び分配係数に基づき、本薬の製造でのいずれの規格においても管理する必要はないものと判断した。

本薬合成における実際の不純物については、*in silico* 評価の結果、全ての実際の不純物はクラス 5 に分類されたことから、ICH Q3 ガイドラインに従って非変異原性化合物として管理される。

不純物M* を除き、毒性試験で使用した原薬に含まれる不純物の量は計算上規格値の上限値でのヒトの曝露量を超えることから、毒性試験で評価されたと判断した。 不純物M* については、生体内で類縁物質A*とメタノールに代謝されると想定されることから十分に安全と判断した。

**光毒性**

GPB は 290～700 nm の範囲の光を吸収しないため、光反応性が無いと考えられる。代謝物である PBA は、GPB の部分構造であるため同様に光反応性が無いと判断した。

また、[$^{14}$C]GPB を用いた薬物動態試験においてサル単回経口投与時の眼球及び皮膚中の放射能濃度は低くかつ速やかに減少し、蓄積性は認められなかった［CTD 4.2.2.2-3］。さらに、本薬の安全性に係る臨床試験成績並びに米国及び欧州での市販後安全性情報において、光毒性に関連する有害事象は認められておらず、臨床における光毒性の懸念は低いと判断した。

## 2.6.6.2　単回投与毒性試験

### 2.6.6.2.1　ラットを用いた GPB の単回投与毒性試験

［試験番号：[redacted]10001、資料番号：4.2.3.1-1、概要表 2.6.7-7、概要表 2.6.5-11］

雌雄各群 3 例の CD(SD)IGS BR ラットに 0（コーン油）、0.45、0.65、0.9、1.2、1.5、2.3 及び 4.5 g/kg の GPB を上げ下げ法デザインで単回強制経口投与し、一般状態観察、体重、摂餌量、血漿中のアンモニア及びアミノ酸濃度をモニタリングし、14 日後に剖検を行った。サテライト動物を用い、血漿中及び尿中のトキシコキネティクスを評価した。

GPB の投与に関連した死亡は、1.2 g/kg 群の雄 1 匹、1.5 g/kg 群の雄 1 匹及び雌 1 匹、2.3 g/kg 群の雄 3 匹及び雌 2 匹、4.5 g/kg 群の雄 3 匹及び雌 3 匹に認められた。GPB 投与群の雄では、投与 24 時間後に用量依存的に血漿アンモニア濃度が高くなった（対照群の最大 3 倍）。いずれの用量レベルにおいても、アミノ酸プロファイルに対する GPB の影響は認められなかった。

トキシコキネティクス解析では PBA、PAA 及び PAG の測定した最終時点までの血中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{last}$）及び投与後の最高血中濃度（$C_{max}$）はおおむね投与量に依存して増加した。PBA、PAA、及び PAG の投与後の最高血中濃度到達時間（$T_{max}$）は、それぞれ投与後約 1～2 時間、2～24 時間、及び 1～24 時間であった。GPB は血漿中では検出されなかった。PBA、PBGN、PBG、PAA、PAGN 及び PAG はいずれも尿中に検出された。なお、PAA、PAGN 及び PAG は体内に存在する天然成分であり、溶媒対照動物の尿からも検出された。

以上の結果より、ラットにおける概略の致死量は 1.2 g/kg と判断された。

### 2.6.6.2.2　サルを用いた GPB の単回投与毒性試験

［試験番号：[redacted]10003、資料番号：4.2.3.1-2、概要表 2.6.7-8、概要表 2.6.5-16］

雌雄カニクイザルを用いて、GPB の急性経口毒性の評価を行った。漸増投与のフェーズ（第 1 相）と MTD での状態観察のフェーズ（第 2 相）に分けて実施した。第 1 相では、雌雄サル各 1 例に、0（コーン油）、0.45、0.65、0.9、1.2、1.8、2.4、3.5、4.5 及び 6.5 g/kg を漸増強制経口投与し、一般状態を観察した。投与間の休薬期間は 1～6 日間とした。6.5 g/kg の投与後 6 日間休薬し、同じ 2 匹のサルに試験の第 2 相として 6.5 g/kg の GPB を単回強制経口投与し、MTD に達したことを確認した。投与後 14 日間にわたり一般状態、体重、血漿アンモニア及びアミノ酸プロファイルについてモニターし、その後剖検した。GPB、PBA、PAA、PAGN、PBGN、GPB 及びビス - 及びモノ - エステルのトキシコキネティクス解析のため、第 1 相及び第 2 相試験の間に、投与後 24 時間の血漿及び尿を採取した。

第 1 相では、いずれの投与量においても雌雄とも生存した。GPB 投与と関連すると考えられる一般状態の変化として、各投与後に排泄物の異常（粘液状便、軟便又は下痢）が認められた。また、6.5 g/kg の投与から 6～8 時間後に、嘔吐、活動低下及び傾眠が生じた。雌動物では、1 例で投与の 8 時間後に振戦が発生した。第 1 相の間に体重、血漿アンモニア及び血漿中アミノ酸組成には GPB 投与に関連した影響は認められなかった。

6.5 g/kg が第 2 相（MTD フェーズ）の用量として選択された。両動物に 6.5 g/kg の用量で単回経口投与したところ、両動物とも 14 日後の予定剖検時まで生存した。GPB に関連すると考えられる一般状態の変化として、嘔吐、粘液状便、排便減少及び食欲減退が認められた。第 2 相試験においても、体重、血漿アンモニア、血漿中アミノ酸組成に GPB 投与に関連した影響は認められなかった。剖検でも明らかな影響は認められなかった。

トキシコキネティクス解析では、PBA、PAA 及び PAGN の総曝露量（$AUC_{last}$ 及び $C_{max}$）はおおむね投与量に依存して増加した。代謝物の $T_{max}$ は、PBA では投与約 1～6 時間後、PAA では投与 1～12 時間後及び PAGN では投与 2～24 時間後であった。また、尿中には PBA、PAA 及び PAGN が検出され、そのうち PAGN は特に多かった。PAG 及び PBG は検出されなかった。なお、PAGN は本種におけるアミノ酸代謝の内因性代謝産物であることから、PAGN は溶媒対照動物からの尿にも検出された。いずれの TK パラメータにも明らかな性差は認められなかった。

以上の結果より、サルにおける概略の致死量は 6.5 g/kg 超と判断された。

### 2.6.6.3 反復投与毒性試験

マウス、ラット及びサルを用いて表 2.6.6-1 に示した反復投与毒性試験を実施した。

#### 2.6.6.3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験

##### 2.6.6.3.1.1 マウスを用いた GPB の 14 日間反復経口投与毒性試験

［試験番号：[redacted]10007、資料番号：4.2.3.2-1、概要表 2.6.7-10］

雌雄各群 5 例の Crl:CD1(ICR)マウスに 0（コーン油）、0.65、0.9、1.2 及び 2.0 g/kg/日の GPB を 14 日間反復経口投与した。検査項目は、TK 測定、一般状態、体重及び摂餌量、及び剖検とした。

2.0 g/kg/日投与群のうち、雄 4 例及び雌 4 例が Day10 までの間に死亡した。これらの死亡は被験物質起因と判断された。これらの動物では、一般状態観察において、低体温、排便減少、皮膚アトニー、活動低下、平衡機能障害、眼瞼下垂、浅呼吸、努力呼吸及び軟便が認められた。生存例でも同様の所見が認められたが、生存例では試験期間中に各群で散発的に認められたのみであった。被験物質に起因した体重及び摂餌量の減少が 2.0 g/kg/日投与群で認められた。剖検では本薬投与に関連した所見は認められなかった。

##### 2.6.6.3.1.2 マウスを用いた GPB の 13 週間反復経口投与毒性試験

［試験番号：[redacted]10008、資料番号：4.2.3.2-3、概要表 2.6.7-12、概要表 2.6.5-17］

雌雄各群 10 例の Crl:CD1(ICR)マウスに 0（コーン油）、0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日の GPB を 13 週間反復経口投与した。検査項目は、TK 測定、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。機能観察総合評価法（FOB）変法による神経行動学的検査、並びに眼科学的検査も併せて実施した。

被験物質投与に関連した死亡及び一般状態の変化は認められなかった。体重、摂餌量、眼科学的検査、FOB 変法、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理解剖学的検査では被験物質投与の影響は認められなかった。肝の相対及び絶対重量が雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群、並びに雌の 1.2 g/kg/日群で増加した。病理組織学的検査では、小葉中心性肝細胞肥大が雄の全 GPB 投与群で認められた。肝重量の増加は病理組織学的検査で認められた小葉中心性肝細胞肥大と関連しており、これらは適応性の変化であり毒性ではないと考えられた。また、同じく雄の腎臓で尿細管拡張が認められたが、被験物質投与に起因しない自然発生の病変であると判断された。

TK 解析において、PBG、PAGN 及び PBGN の血漿中濃度はほとんど定量限界値（1 μg/mL）以下であり、TK パラメータは、PBA、PAA 及び PAG について算出した。PBA、PAA 及び PAG の $C_{max}$ 及び AUC はおおむね用量の増加に伴って増加した。また、Day 0 と Day 90 の比較では 90 日で曝露が低い傾向にあった。また、TK パラメータに明らかな性差はなかった。

本試験条件下での GPB の無毒性量は、雌雄ともに最高用量の 1.2 g/kg/日と判断された。

#### 2.6.6.3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験

##### 2.6.6.3.2.1 ラットを用いた GPB の 14 日間反復経口投与毒性試験

［試験番号：[redacted]10002、資料番号：4.2.3.2-4、概要表 2.6.7-13、概要表 2.6.5-20］

雌雄各群 10 例の Crl:CD®(SD)IGS BR ラットに 0（コーン油）、0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日の GPB を 14 日間反復経口投与した。検査項目は、TK 測定、一般状態、FOB 変法による神経行動学的検査、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、血漿中アンモニア濃度、尿検査、臓器重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。

試験期間中死亡例は認められなかった。0.9 及び 1.2 g/kg/日群では一般状態の変化として、活動性の低下、平衡機能障害、筋協調性障害及び筋緊張が試験の初期 4 日間の投与 1 時間後の検査で認められた。FOB は Day 0（投与初日）及び Day 13 に実施した雌雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群で、低覚醒、正向反射の異常、歩行の障害、立ち上がり回数の低下及び体温の低下が認められた。雄の 1.2 g/kg/日群では、軽度な体重増加量の減少が見られたが、体重値及び摂餌量に明らかな変化は認められなかった。

雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群及び雌の全 GPB 投与群で血小板数が低値又は低値傾向を示した。雌の 1.2 g/kg/日群では、赤血球数及びヘマトクリット値が低値を示した。血液生化学的検査では投薬による明らかな変化は認められなかったが、血漿アンモニア濃度は雄の GPB 投与群で用量依存的に高い傾向を示した。尿検査では尿量の増加と尿 pH の低下が全 GPB 投与群で認められた。肝重量の増加及び胸腺重量の低下は、雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群、並びに雌の 1.2 g/kg/日群で認められた。肝重量の増加及び胸腺重量の低下については病理組織学的変化を伴っておらず、毒性学的に意義が低いものと判断された。

TK パラメータは、PBA、PAA、PAGN 及び PAG について算出した。PBA、PAA 及び PAG の $C_{max}$ 及び AUC はおおむね用量の増加に伴って増加した。また、Day 0 と Day 13 の比較では PBA 及び PAA は Day13 で曝露が低い傾向にあったが、PAG は Day 13 はやや高かった。また、TK パラメータに明らかな性差はなかった。

眼科学的検査、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査では投与に起因した毒性変化は認められなかった。

本試験条件下での GPB の無毒性量は、雌雄ともに 0.65 g/kg/日と判断された。

### 2.6.6.3.2.2 ラットを用いた GPB の 13 週間反復経口投与毒性試験

［試験番号：[redacted]10009、資料番号：4.2.3.2-5、概要表 2.6.7-14、概要表 2.6.5-21］

雌雄各群 10 例の Crl:CD(SD)ラットに 0（コーン油）、0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日の GPB を 13 週間反復経口投与した。検査項目は、TK 測定、一般状態、FOB 変法による神経行動学的検査、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、血漿中アンモニア濃度、尿検査、臓器重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。

試験期間中死亡例は認められなかった。筋硬直が雌雄の 0.65 g/kg/日以上の群で、また活動性の低下が雌の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群で認められたが、投与初期の 3-4 日のみの所見であり毒性学的な意義は低いと判断された。雄の 0.9 g/kg/日以上の群で体重の低値、雄の 1.2 g/kg/日群では摂餌量の低値も認められ、1.2 g/kg/日で毒性学的に意義があると判断された。血液学的検査においては、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値の低下、血小板数の減少及び活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮などの変化が雌雄の 0.65 g/kg/日以上の群で認められた。また、血液生化学的検査では、雄の 0.65 g/kg/日以上の群で総タンパク及びグロブリン値の低下、雌雄の 0.9 g/kg/日群及び雌の 1.2 g/kg/日群でアルカリフォスファターゼ（ALP）の増加が認められた。尿検査では雌の 1.2 g/kg/日群で尿量の増加及び雌の 0.65 g/kg/日以上の群で尿 pH の低下が認められた。これらの臨床病理学的検査の変化はラットにおける正常範囲に収まる変化であり、病理組織学的な変化を伴わないことから毒性学的に意義が低いと判断された。肝の相対重量の増加が雄の 1.2 g/kg/日群及び雌の 0.65 g/kg/日以上の群で認められた。絶対重量では統計学的有意差が無く、病理組織学的な変化を伴っておらず毒性学的に意義が低いと判断された。また、そのほかの臓器においても被験物質に起因した病理組織学的な変化はなかった。眼科学的検査及び病理解剖学的検査

では投与に起因した毒性変化は認められなかった。

TK パラメータは、PBA、PAA 及び PAG について算出した。PBG、PAGN 及び PBGN の血漿中濃度はほとんど定量限界値（1 μg/mL）以下であった。PBA、PAA 及び PAG の $C_{max}$ 及び AUC はおおむね用量の増加に伴って増加した。また、Day 0 と Day 87 の比較では PBA は Day87 の方が低く、PAA は明らかな差が無く PAG は Day87 の方がやや高かった。また、TK パラメータに明らかな性差はなかった。

本試験条件下での GPB の無毒性量は、雄では 0.9 g/kg/日及び雌では最高用量の 1.2 g/kg/日と判断された。

### 2.6.6.3.2.3 ラットを用いた GPB の 26 週間反復経口投与毒性試験

［試験番号：[redacted]71001、資料番号：4.2.3.2-6、概要表 2.6.7-15、概要表 2.6.5-22］

雌雄各群 15 例の Crl:CD(SD)ラットに 0（コーン油）、0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日の GPB を 26 週間反復経口投与した。検査項目は、TK 測定、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。

投与期間中投与に関連した死亡例は認められなかった。GPB 投与群では、口周囲、腹側頸部、前肢への付着物、耳介、顔面及び前肢の赤色化が散発的に見られた。また、投与初期に活動性の低下や筋緊張が認められた。これらの一般状態の変化は、毒性学的に意義は低いと判断された。

雌雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群では、対照群と比較して体重が低値であった。摂餌量には影響が無かった。眼科学的検査では異常は認められなかった。

雌雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群では、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン値及び血小板数が低く、網状赤血球数値が高かった。活性化部分トロンボプラスチン時間がわずかに短く、プロトロンビン時間がわずかに長い傾向にあった。これらの血液学的検査値の変動は、施設の背景値の範囲内であることから毒性とはみなされなかった。雄の GPB 投与全群で血清タンパク質及びグロブリン値の低値が認められ、用量依存的な A/G 比の増加も認められた。雄の GPB 投与全群でアルカリホスファターゼ（ALP）の高値が Week12 及び 26 のいずれでも認められたが、雌では Week12 でのみ高値であった。雄の 1.2 g/kg/日群の Week 12 及び雌の 1.2 g/kg/日群の Week26 では血液尿素窒素（BUN）がわずかに高かったが、他の時点及び他の用量では対照群と同等かやや低かった。雄の 0.65 及び 0.9 g/kg/日群で ALT 活性が高い傾向にあったが、個体差が著しく対照群との統計学的有意差は無く用量依存性もなかった。ALT 活性は雌では上昇している個体が有ったが、減少している個体もあった。AST 活性及びγグルタミルトランスフェラーゼ（GGT）活性も同様に用量依存性は無く、群により又は時点により高値であった。電解質の変化として、リンの高値、カルシウム、カリウム及びナトリウムの低値などが認められた。GPB 投与群ではグルコース及びコレステロール値の低値も認められたが、いずれも施設の背景値の範囲内であった。尿検査では、軽微な尿 pH の低下又は低下傾向と尿量の増加が GPB の全投与群で認められた。

雌雄の全投与群で腎の相対重量（体重比、脳比）が高かった。絶対重量では軽微な高値傾向はあったが明らかな変化ではなかった。雌の全投与群で肝の絶対重量の増加が認められ、雄の全投与群でも同様の傾向であった。相対重量（体重比）では全投与群で統計学的に有意な高値であった。

病理組織学的検査では投与に起因した変化は肝及び脾で認められた。肝では肝細胞の染色性の変化（好酸性の均質の細胞質）が認められたが、肝細胞の傷害性の変化は認められなかった。脾臓では褐色色素（ヘモジデリン）の沈着が全投与群で雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群、並びに雌の

1.2 g/kg/日群で軽微から軽度のリンパ球の減少が認められた。

TK パラメータは、PBA、PAA 及び PAG について算出した。PBG、PAGN 及び PBGN の血漿中濃度はほとんど定量限界値（1 μg/mL）以下であった。PBA、PAA 及び PAG の $C_{max}$ 及び AUC はおおむね用量の増加に伴って増加した。また、Day 0 と Day 177 の比較では PBA は Day 177 の方が低く、PAA は明らかな差が無く、PAG は Day177 の方がやや高かった。また、蓄積性は認められず TK パラメータに明らかな性差はなかった。

投与に起因した毒性変化は、雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群で認められた体重（及び体重増加量）の低値であった。他に認められた投与に起因した変化は、施設の背景値の範囲内であるか肝や腎での代謝の亢進による適応性の変化であり、軽微な毒性学的な意義が低い変化であると判断された。本試験条件下での GPB の無毒性量は、雄では 0.65 g/kg/日及び雌では最高用量の 1.2 g/kg/日と判断された。

### 2.6.6.3.3 サルを用いた反復投与毒性試験

#### 2.6.6.3.3.1 サルを用いた GPB の 14 日間反復経口投与毒性試験

［試験番号：[redacted]2-105、資料番号：4.2.3.2-7、概要表 2.6.7-16、概要表 2.6.5-23］

雌雄各群 3 例のカニクイザルに 0（コーン油）、1.0、2.5 及び 3.5 g/kg/日の GPB を 14 日間反復経口投与した。ただし、雌の対照群については 2 例とした。検査項目は、TK 測定、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。

2.5 g/kg/日群の雌 1 例（Day 2）、2.5 g/kg/日群の雄 1 例（Day 5）及び 3.5 g/kg/日群の雌 1 例（Day 8）の計 3 匹について、瀕死状態のため安楽死させた。これらの動物では、活動性の低下、運動失調、嘔吐、円背位又は側臥位、振戦及び可聴性努力呼吸などが観察された。血液学的検査では、赤血球系のパラメータの減少及びリンパ球数の減少及び好中球数の増加が認められた。血液生化学的検査では、AST、ALT、ALP、BUN、クレアチニン、無機リン、アルブミンとトリグリセリドの増加、カルシウムナトリウム及び塩素の低下が認められた。剖検及び病理組織学的検査で死因を明らかにすることはできなかった。

雌雄の 2.5 及び 3.5 g/kg/日群では一般状態の増悪が認められたことから、人道的見地から Day 9 に安楽死させた。これらの動物では、円背位、削痩、振戦、運動失調、活動性の低下、臥位、餌を含む嘔吐、流涎、肛門周囲の黄色物又は油状物、黒色便、便の減少又は無便、茶褐色尿、可聴性呼吸、努力呼吸及び油状の被毛汚染、並びに摂餌量の減少が認められた。これらの所見は 3.5 g/kg/日群では Day 1 から認められた。これらの早期剖検例の病理組織学的検査では GPB 投与に関連する変化は認められなかった。

1.0 g/kg/日群では、一般状態の変化として円背位、活動性の低下、餌を含む嘔吐、摂餌量の低下及び黒色便が認められた。これらの所見は散発的に認められた。雌の全 GPB 投与群において、投与開始 1 週目に体重の減少が認められた。1.0 g/kg/日投与群では、14 日の投与終了後の最終体重の低値は軽微（対照群に対して雄で 0.1 kg 及び雌で 0.2 kg の低値）であった。眼科学的検査及び心電図では異常所見は認められなかった。

1.0 g/kg/日群の計画剖検時には、血液学的には変化は認められなかった。雄の 1.0 g/kg/日群では血液生化学的検査において、軽度な AST 及びトリグリセリドの高値とリンの低値が認められた。雌の 1.0 g/kg/日群では、軽微なカルシウム及びカリウムの低値が認められた。

1.0 g/kg/日群及び Day 9 に剖検した動物の剖検及び病理組織学的検査では GPB 投与に関連した

所見は認められなかった。毒性標的臓器は明らかにならなかった。

TK 検査では、GPB、PBG、PBGN 及び PAG は検出されなかった。TK パラメータは、PBA、PAA 及び PAGN について算出した。PBA、PAA 及び PAGN の $C_{max}$ 及び $AUC_{last}$ はおおむね用量の増加に伴って増加した。中又は高用量では、血中濃度のばらつきが認められたが、毒性の影響であると考えられた。また、TK パラメータに明らかな性差はなかった。

本試験条件下で、GPB の 2.5 g/kg/日以上の用量は毒性が強いことが明らかになった。GPB の無毒性量は、雌雄ともに 1 g/kg/日であると判断された。

### 2.6.6.3.3.2 サルを用いた GPB の 13 週間反復経口投与毒性試験

［試験番号：[redacted]10010、資料番号：4.2.3.2-8、概要表 2.6.7-17、概要表 2.6.5-24］

雌雄各群 4 例のカニクイザルに 0（コーン油）、0.75、1.25 及び 1.75 g/kg/日の GPB を 13 週間反復経口投与した。検査項目は、TK 測定、一般状態、FOB による神経行動学的検査、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。

試験期間中死亡例は認められなかった。また、投与に起因した眼科学的検査及び心電図の異常は認められなかった。一般状態の変化として、雄の 1.25 及び 1.75 g/kg/日群及び雌の GPB 投与全群で食欲の低下が認められた。また、雌の 1.75 g/kg/日群の 1 例で振戦、活動量の低下、平衡感覚の異常、筋攣縮、筋協調性の低下、蒼白及び努力性呼吸が認められたため、本個体では Day 7 より投与を中断した。Day 8 までに振戦以外の症状は回復し、Day 10 より投与を再開した。他の雌 2 例（1.25 及び 1.75 g/kg/日群）で間欠性の振戦が生じたが、他の変化は伴っていなかった。雄の 1.25 及び 1.75 g/kg/日群では軽微な体重の減少が認められた。FOB 検査では、前述の雌 2 例での振戦を除き被験物質投与による影響は認められなかった。

血液学的検査では、赤血球数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値、血小板数の減少及び単球数の増加、尿検査では尿 pH の低下が認められたが、いずれも変化の程度が正常の範囲内であり、用量依存性もないことなどから毒性学的には意義が低い変化であると判断された。血液生化学的検査では変化は認められなかった。

臓器重量検査では雄の全 GPB 投与群で胸腺重量の減少と用量依存的な肝重量の増加が認められた。肝重量の増加は雌でも認められたが用量依存性は明確でなかった。病理組織学的検査では、雌雄の全 GPB 投与群で小葉中心性の肝細胞の肥大、雄の全 GPB 投与群と雌の 1.25 及び 1.75 g/kg/日群で軽度な骨髄の脂肪浸潤及び雄の全投与群と雌の 1.75 g/kg/日群で胸腺のリンパ球減少が認められた。

以上のように、0.75 及び 1.25 g/kg/日で認められた臨床病理学的変化及び病理組織学的変化はいずれも軽微で毒性学的な意義は低いものと判断された。

TK パラメータは、PBA、PAA 及び PAGN について算出した。PAG、PBG、PAGN 及び PBGN の血漿中濃度はほとんど定量限界値（1 μg/mL）以下であった。PBA、PAA 及び PAGN の $C_{max}$ 及び AUC はおおむね用量の増加に伴って増加した。また、Day 0 と Day 89 の比較では PBA は明らかな差が無く、PAA は Day 89 の方が低く、PAGN は Day 0 と Day 89 で同等か Day89 でやや低かった。また、TK パラメータに明らかな性差はなかった。

本試験条件下での GPB の無毒性量は、雌雄ともに 1.25 g/kg/日と判断された。

### 2.6.6.3.3.3　サルを用いたGPBの52週間反復経口投与毒性試験

［試験番号：[redacted]71002、資料番号：4.2.3.2-9、概要表 2.6.7-18、概要表 2.6.5-25］

雌雄各群8例のカニクイザルに0（コーン油）、0.7、1.1及び1.5 g/kg/日のGPBを52週間反復経口投与した。検査項目は、TK測定、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。

試験期間中死亡例は認められなかった。また、投与に起因した、眼科学的検査及び心電図の異常は認められなかった。1.5 g/kg/日群では投与初期 6 ヵ月の間に投与に起因した一般状態の変化が認められた。認められた変化としては、活動性の低下、平衡機能障害、円背位、削痩、皮膚アトニー、皮膚の蒼白又は冷感及び呼吸数の増加などであった。これらの所見が認められたため、1.5 g/kg/日群は投与初期6ヵ月の間のうち4から7日間休薬した。それぞれの休薬期間に症状は改善し、投薬を再開した後は計画剖検時まで投薬を継続可能であった。食欲不振は全GPB投与群（及び少数の対照群）で投与初期6ヵ月間に認められた。発生率は初期1ヵ月の1.5 g/kg/日群で最も高かった。26週間以降では一般状態の変化は認められなかった。

投与初期 1 週間で対照群を含む雌雄全ての群で体重が減少した。雄の 1.1 g/kg/日群と雌雄の1.5 g/kg/日群では試験期間を通じて体重増加量が対照群と比較して少なかった。体重への影響は雄で強く、Week52 での雄の 1.5 g/kg/日群の体重は対照群より 22%低く毒性変化とみなされた。

1.1及び1.5 g/kg/日群では、Week 12及びWeek 25の検査で赤血球数、ヘモグロビン値及びヘマトクリット値が低かった。Week 51 の検査ではこれらの値は雄では投与前の値と同等まで回復したが、雌の 1.5 g/kg/日群ではやや低値であった。雄の 1.5 g/kg/日群では網状赤血球数の高値も認められた。血小板数は、雄の 1.5 g/kg/日群及び雌の 1.1 及び 1.5 g/kg/日群で Week 12 及び Week 25の検査で対照群と比較してやや低値であった。これらの変化は Week 12 から Week 25 の間で増悪はなく、Week 51 の検査までにおおむね正常値又は非常に軽微な変化となった。骨髄の病理組織学的検査では明らかな変化が認められなかったことから骨髄は毒性標的臓器ではないと判断された。

血液生化学的検査において、全ての GPB 投与群のビリルビン値が低かった。雄の全ての GPB投与群において、Week 12 の GGT 活性検査値が低かった。雄の 1.1 g/kg/日群では Week 12、Week 25 及び Week 51 の検査、1.5 g/kg/日群では Week 25 と Week 51 の検査でトリグリセリド値が高かった。雄の 1.5 g/kg/日群では Week12 の検査でカリウム値が低く、塩素値がやや高かった。

尿検査では、GPB 投与に起因した変化として、Week 12、Week 25 及び Week51 に全ての GPB 投与群で pH の低値とケトン体の陽性反応が見られた。

病理解剖学的検査では投与に起因した変化は認められなかった。肝重量及び腎重量は対照群と比較して GPB 投与群で高かった。

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査で認められた変化、並びに肝重量及び腎重量の増加は GPB 及びその代謝物の負荷による生理学的な適応性変化と考えられ、毒性学的に意義は低いと考えられた。

病理組織学的には、Week 26 及び Week 52 の検査において雌雄の全 GPB 投与群で軽微から中程度の用量依存的な小葉辺縁帯肝細胞の肥大が認められた。少数の肝細胞のアポトーシスが肥大した肝細胞の間に認められたが、明らかな肝細胞の壊死や変性は認められなかった。少数例の雄で脾臓の褐色色素の沈着が認められた。雌の脾臓では褐色色素の沈着は認められなかった。

TK パラメータは、PBA、PAA 及び PAGN について算出した。PAG、PBG、PAGN 及び PBGN の

血漿中濃度はほとんど定量限界値（1 μg/mL）以下であった。PBA、PAA 及び PAGN の $C_{max}$ 及び $AUC_{Last}$ はおおむね用量の増加に伴って増加した。また、Day 0 と Day 180 の比較では PBA 及び PAA は明らかな差が無く、PAGN は Day 180 で 2 倍程度高かった。また、TK パラメータに明らかな性差はなかった。

本試験条件下での GPB の無毒性量は、雌雄ともに 1.1 g/kg/日と判断された。

## 2.6.6.4 遺伝毒性試験

### 2.6.6.4.1 GPB の遺伝毒性試験

#### 2.6.6.4.1.1 GPB の細菌を用いた復帰突然変異試験

［試験番号：[redacted]2-100、資料番号：4.2.3.3.1-1、概要表 2.6.7-19］

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535、TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で GPB の突然変異誘発性を評価した（10～5000 µg/plate）。

その結果、いずれの条件下においても復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、GPB は細菌を用いた復帰突然変異試験において遺伝子突然変異を誘発しないと結論した。

#### 2.6.6.4.1.2 GPB のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

［試験番号：[redacted]2-101、資料番号：4.2.3.3.1-2、概要表 2.6.7-20］

ヒト末梢血リンパ球（HPBL）細胞を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で 3 時間又は非存在下で 22 時間処理し、GPB の染色体異常誘発性を評価した。

1 回目の染色体異常試験において、S9 mix 存在下及び非存在下のいずれも処理時間は 3 時間とし、処理開始から約 22 時間後に採取した。被験物質の濃度は 6.78 から 1000 µg/mL とした。S9 mix 非存在下では 82.4 から 343 µg/mL 及び S9 mix 存在下では 118 から 343 µg/mL の濃度の標本について染色体異常の解析を行った。これらの標本において、染色体異常、多倍体又は核内倍化（endoreduplication）の有意な増加は確認されなかった。

2 回目の confirmatory 試験は、S9 mix 非存在下の処理時間は約 22 時間及び S9 mix 存在下の処理時間は 3 時間とし、処置開始から約 22 時間後に採取した。被験物質の濃度は、S9 mix 非存在下では 3.13 から 500 µg/mL 及び S9 mix 存在下では 50.0 から 500 µg/mL とした。S9 mix 非存在下の 250 から 425 µg/mL 及び S9 mix 存在下の 300 から 500 µg/mL の濃度の標本について染色体異常の解析を行った。これらの標本において、染色体異常、多倍体又は核内倍化の有意な増加は確認されなかった。

GPB は、代謝活性化の有無に関わらず HPBL 細胞での染色体異常を誘発しないと判断された。

#### 2.6.6.4.1.3 GPB のラット小核試験

［試験番号：[redacted]2-102、資料番号：4.2.3.3.2-1、概要表 2.6.7-30］

雄の CD(SD)BR ラットに、0（コーン油）、0.5、1.0 及び 2.0 g/kg の用量で GPB を単回強制経口投与した。60 mg/kg のシクロホスファミド投与群を陽性対照群として使用した。動物は投与後 24 時間及び 48 時間に骨髄細胞を採取するために剖検した。その後、骨髄中の多染性赤血球について小核の頻度を顕微鏡下で観察した。

本試験において死亡例は無かったが、1.0 g/kg 又は 2.0 g/kg 群では投与 1 時間後に運動失調と活動性の低下が観察された。GPB は骨髄に対して細胞毒性は示さなかった（PCE：NCE 比に影響は無かった）。それぞれの時点において、対照群と比較して GPB 投与群における小核を有する多染性赤血球の増加は認められなかった。

GPB は雄の CD(SD)ラットにおいて、小核を有する多染性赤血球の有意な増加を誘発せず、生体内で染色体異常を引き起こさないと判断された。

### 2.6.6.4.2 PBA の遺伝毒性試験

#### 2.6.6.4.2.1 PBA の細菌を用いた復帰突然変異試験

［試験番号：[redacted]A.503[redacted]、資料番号：4.2.3.3.1-3、概要表 2.6.7-21］

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で PBA の突然変異誘発性を評価した（50～5000 µg/plate）。

その結果、いずれの条件下においても復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、PBA は細菌を用いた復帰突然変異試験において遺伝子突然変異を誘発しないと結論した。

#### 2.6.6.4.2.2 PBA の CHO 細胞を用いた染色体異常試験

［試験番号：[redacted]A.331[redacted]、資料番号：4.2.3.3.1-4、概要表 2.6.7-22］

CHO 細胞を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で 4 時間又は非存在下で 20 時間処理し、PBA の染色体異常誘発性を評価した。

技術的な問題で初回の試験結果は報告されなかった。2 回目の染色体異常試験は、S9 mix 非存在下で 4 時間及び 20 時間、S9 mix 存在下で 4 時間細胞を処理した。被験物質の濃度は、S9 mix 存在下 4 時間及び非存在下 4 時間では 243 から 1260 µg/mL、S9 mix 非存在下 20 時間では 12 から 760 µg/mL とした。全ての細胞は処理開始 20 時間後に採取した。鏡検する用量は、細胞毒性（細胞増殖指数が 50%以上減少する最低濃度とその下の 2 濃度）に基づいて選択した。

S9 mix 非存在下 4 時間及び 20 時間曝露群では構造異常を有する細胞は、いずれの濃度においても溶媒対照に比べて有意な増加を示さなかった（$p>0.05$、フィッシャーの正確検定）。S9 mix 存在下 4 時間曝露条件では、1080 µg/mL での濃度で溶媒対照と比べて構造的異常を有する細胞の比率は統計学的に有意な増加を示した（7.0%）（$p \leq 0.05$、フィッシャーの正確検定）。コクラン・アーミテージの傾向検定も有意であった（$p \leq 0.05$）。いずれの濃度でも溶媒対照と比較して数的異常の増加は認められなかった（$p>0.05$、フィッシャーの正確検定）。1080 µg/mL（+S9 mix）での細胞増殖指数は対照群に対して 46%であった。

以上より、PBA は S9 mix 代謝活性化系存在下において、細胞毒性を起こす濃度で CHO 細胞の染色体の構造異常を誘発すると判断された。

#### 2.6.6.4.2.3 PBA のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

［試験番号：[redacted]A.341[redacted]、資料番号：4.2.3.3.1-5、概要表 2.6.7-23］

HPBL 細胞を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で 4 時間又は非存在下で 20 時間処理し、PBA の染色体異常誘発性を評価した。

被験物質の濃度は、S9 mix 存在下 4 時間及び非存在下 4 時間では 210 から 1640 µg/mL、S9 mix 非存在下 20 時間では 85 から 1640 µg/mL とした。全ての細胞を処理開始 20 時間後に採取した。S9 mix 非存在下 20 時間曝露条件の鏡検する用量は、細胞分裂指数（細胞分裂指数が 50%以上減少する最低濃度とその下の 2 濃度）に基づいて選択した。S9 mix 存在下 4 時間及び非存在下 4 時間曝露条件では、50%細胞毒性や被験物質の析出が認められなかったため鏡検最高濃度は 1640 µg/mL とした。

いずれの条件下及び濃度においても、被験物質処理による染色体の構造異常又は数的異常の増加は認められなかった（$p>0.05$、フィッシャーの正確検定）。

以上より、PBA は代謝活性化の有無に関わらず、HPBL 細胞での染色体異常を誘発しないと判

断された。

#### 2.6.6.4.3 PAA の遺伝毒性試験

##### 2.6.6.4.3.1 PAA の細菌を用いた復帰突然変異試験

［試験番号：[redacted]B.503[redacted]、資料番号：4.2.3.3.1-6、概要表 2.6.7-24］

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535、TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で PAA の突然変異誘発性を評価した（50～5000 μg/plate）。

その結果、いずれの条件下においても復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、PAA は細菌を用いた復帰突然変異試験において遺伝子突然変異を誘発しないと結論した。

##### 2.6.6.4.3.2 PAA の CHO 細胞を用いた染色体異常試験

［試験番号：[redacted]B.331[redacted]、資料番号：4.2.3.3.1-7、概要表 2.6.7-25］

CHO 細胞を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で 4 時間又は非存在下で 20 時間処理し、PAA の染色体異常誘発性を評価した。

いずれの処理条件においても濃度は 116 から 1360 μg/mL とした。50%細胞毒性や被験物質の析出が認められなかったため鏡検最高濃度は 1360 μg/mL とした。

いずれの条件下及び濃度においても、被験物質処理による染色体の構造異常又は数的異常の増加は認められなかった（p>0.05、フィッシャーの正確検定）。

以上より、PAA は代謝活性化の有無に関わらず、CHO 細胞での染色体異常を誘発しないと判断された。

#### 2.6.6.4.4 PAGN の遺伝毒性試験

##### 2.6.6.4.4.1 PAGN の細菌を用いた復帰突然変異試験

［試験番号：[redacted]J.503[redacted]、資料番号：4.2.3.3.1-8、概要表 2.6.7-26］

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535、TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で PAGN の突然変異誘発性を評価した（50～5000 μg/plate）。

その結果、いずれの条件下においても復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、PAGN は細菌を用いた復帰突然変異試験において遺伝子突然変異を誘発しないと結論した。

##### 2.6.6.4.4.2 PAGN の CHO 細胞を用いた染色体異常試験

［試験番号：[redacted]J.331[redacted]、資料番号：4.2.3.3.1-9、概要表 2.6.7-27］

CHO 細胞を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で 4 時間又は非存在下で 20 時間処理し、PAGN の染色体異常誘発性を評価した。いずれの処理条件においても濃度は 520 から 2643 μg/mL とした。50%細胞毒性や被験物質の析出が認められなかったため鏡検最高濃度は 2643 μg/mL とした。

いずれの条件下及び濃度においても、被験物質処理による染色体の構造異常又は数的異常の増加は認められなかった（p>0.05、フィッシャーの正確検定）。

以上より、PAGN は代謝活性化の有無に関わらず、CHO 細胞での染色体異常を誘発しないと判断された。

### 2.6.6.4.5 PAG の遺伝毒性試験

#### 2.6.6.4.5.1 PAG の細菌を用いた復帰突然変異試験

［試験番号：[redacted]K.503[redacted]、資料番号：4.2.3.3.1-11、概要表 2.6.7-28］

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）を用い、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で PAG の突然変異誘発性を評価した（50～5000 μg/plate）。

その結果、いずれの条件下においても復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、PAG は細菌を用いた復帰突然変異試験において遺伝子突然変異を誘発しないと結論した。

#### 2.6.6.4.5.2 PAG の CHO 細胞を用いた染色体異常試験

［試験番号：[redacted]K.331[redacted]、資料番号：4.2.3.3.1-10、概要表 2.6.7-29］

CHO 細胞を用いて、ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で 4 時間又は非存在下で 20 時間処理し、PAG の染色体異常誘発性を評価した。いずれの処理条件においても濃度は 80 から 1932 μg/mL とした。50%細胞毒性や被験物質の析出が認められなかったため鏡検最高濃度は 1932 μg/mL とした。いずれの条件下及び濃度においても、被験物質処理による染色体の構造異常又は数的異常の増加は認められなかった（$p>0.05$、フィッシャーの正確検定）。

以上より、PAG は代謝活性化の有無に関わらず、CHO 細胞での染色体異常を誘発しないと判断された。

### 2.6.6.5 がん原性試験

#### 2.6.6.5.1 長期がん原性試験

##### 2.6.6.5.1.1 GPB のラットを用いた 24 ヵ月がん原性試験

［試験番号：[redacted]71007、資料番号：4.2.3.4.1-1、概要表 2.6.7-32］

雌雄各 65 例の Crl:CD(SD)ラットに、雄は 0（脱イオン水）、0（コーン油）、0.07、0.21 及び 0.65 g/kg/日、雌は 0（脱イオン水）、0（コーン油）、0.10、0.30 及び 0.90 g/kg/日の GPB を 24 ヵ月反復経口投与してがん原性を評価した。評価項目は、トキシコキネティクス、一般状態、体重、摂餌量、触知腫瘍検査、臓器重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。

対照群と投与群の間で死亡率/生存率に差は認められなかった。

投与に起因した一時的な一般状態の変化が雌雄の高用量（雄：0.65 g/kg/日、雌：0.90 g/kg/日）で投与の初期 Day1 から Day5 に認められた。これらの変化としては、活動性の低下、筋緊張及び筋協調性障害などが挙げられる。また、これらの群では、試験期間を通じて透明、黄色、赤色又は褐色物質が口周囲、腹部及び肛門生殖器周囲に認められ、また耳介の赤色化も認められた。中用量から高用量（雄：0.21 から 0.65 g/kg/日、雌：0.30 から 0.90 g/kg/日）群では、被験物質に関連した黄色物が泌尿生殖器周辺に認められた。

雌雄の高用量群では被験物質に起因した体重の低値が認められた。雄の 0.65 g/kg/日群では Week 16 から Week 104 にかけて脱イオン水対照群と比較して約 3%から 8%の低値、雌の 0.90 g/kg/日群では Week 16 から Week 100 にかけて脱イオン水対照群と比較して約 5%から 16%の低値であった。雌の体重の低値は毒性と判断された。

GPB 投与に関連した腫瘍として、雄の 0.21 及び 0.65 g/kg/日群並びに雌の 0.30 及び 0.90 g/kg/日群で認められた膵臓腺房細胞腺腫/腺癌、雄の 0.21 及び 0.65 g/kg/日群並びに雌の 0.90 g/kg/日群で認められた副腎皮質腺腫/腺癌、雄の 0.65 g/kg/日群及び雌の 0.90 g/kg/日群で認められた甲状腺濾胞腺腫/腺癌、雄の 0.21 及び 0.65 g/kg/日群並びに雌の 0.90 g/kg/日群で認められたジンバル腺癌、雌の 0.90 g/kg/日群で認められた良性子宮間質ポリープ及び雌の 0.30 g/kg/日群で認められた子宮頸部の悪性神経鞘腫が挙げられる。投与起因の腫瘍について表 2.6.6-2 に要約した。

表 2.6.6-2 GPB のラット 24 ヵ月がん原性試験で認められた投与に関連した腫瘍

| | Males | | | | | Females | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Dose (g/kg/day):** | **0[b]** | **0[c]** | **0.07** | **0.21** | **0.65** | **0[b]** | **0[c]** | **0.10** | **0.30** | **0.90** |
| Adrenal Cortex[a] | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Adenoma | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 7*† |
| Carcinoma | 1 | 0 | 1 | 4* | 5*† | 0 | 2 | 1 | 2 | 3 |
| Carcinoma/adenoma | 2 | 1 | 3 | 5* | 6 | 1 | 3 | 3 | 3 | 10*† |
| Pancreas[a] | 64 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Adenoma, acinar cell | 1 | 1 | 0 | 3 | 8*† | 0 | 0 | 0 | 0 | 6*† |
| Carcinoma, acinar cell | 0 | 0 | 0 | 0 | 6*† | 0 | 0 | 0 | 2 | 6*† |
| Carcinoma/adenoma, acinar cell | 1 | 1 | 0 | 3 | 14*† | 0 | 0 | 0 | 2 | 12*† |
| Thyroid Gland[a] | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Adenoma, follicular cell | 0 | 1 | 3 | 3 | 6* | 0 | 1 | 1 | 2 | 9*† |
| Carcinoma, follicular cell | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 5*† |
| Carcinoma/adenoma, follicular cell | 2 | 3 | 4 | 4 | 7 | 0 | 2 | 3 | 4 | 14*† |
| Uterus[a] | – | – | – | – | – | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Polyp, endometrial stromal | – | – | – | – | – | 2 | 1 | 5 | 4 | 12*† |
| Zymbal's Gland[a] | 62 | 56 | 62 | 59 | 58 | 63 | 64 | 64 | 65 | 62 |
| Carcinoma | 1 | 1 | 2 | 5 | 5 | 0 | 1 | 1 | 2 | 5*† |
| Cervix[a] | – | – | – | – | – | 65 | 65 | 65 | 65 | 64 |
| Schwannoma, malignant | – | – | – | – | – | 2 | 0 | 1 | 8* | 1 |

– = not present; GPB = glycerol phenylbutyrate.
[a]: Number examined. [b]: Water control. [c]: Corn oil control. *: Statistically significant when compared with water control group and/or corn oil control group. † Statistically significant for dose response when compared with water control group and/or corn oil control group

その他に、GPB 投与群でやや高い発生率を示した腫瘍があったが、これらについてはそれぞれ以下の理由で投与起因とはみなされなかった : 1) 発生率が対照群と比較して統計学的な有意差が無かった、2) 施設の背景データの範囲内であった、3) 用量依存性が無かった、4) 一般的な（common）腫瘍であった又は 5) 低頻度の稀な（rare）腫瘍であった。投与起因とみなされなかった腫瘍には以下のものが挙げられる：組織球肉腫、乳腺癌、乳腺線維腺腫、肝細胞腺腫及び肝細胞癌、眼のメラノーマ、褐色脂肪腫及び神経鞘腫（全身）。

GPB 投与に関連した非腫瘍性病変として以下のものが挙げられ、一部は上述の腫瘍性病変の前がん病変とみなされる：雄の 0.65 g/kg/日群及び雌の 0.90 g/kg/日群で認められた膵腺房細胞過形成、雄の 0.65 g/kg/日群及び雌の 0.30 及び 0.90 g/kg/日群で認められた副腎束状帯の巣状肥大、雌雄の全投与群で認められた甲状腺の濾胞細胞の過形成、雌の 0.90 g/kg/日群で認められた子宮内膜過形成、雌の 0.30 及び 0.90 g/kg/日群で認められた肝細胞の好塩基性細胞巣、並びに雌の 0.90 g/kg/日で認められた網膜萎縮。

TK 検査では、代謝物である PBA、PAA 及び PAG の血中 $C_{max}$ 及び AUC はおおむね用量の上昇に併せて上昇したが、個体差が大きく用量差も大きくないことから一部は用量間で重なりが認め

られた。

以上より、試験施設ではラットがん原性試験での発がん性に対する GPB の無毒性量は雄で 0.07 g/kg/日及び雌で 0.21 g/kg/日と判断された。一方で、本試験の対照群においては 1%を超える腫瘍が認められており、これらを考慮すると GPB の無毒性量は雄で 0.21 g/kg/日及び雌で 0.30 g/kg/日と判断された。本試験で認められた腫瘍に関しては 2.6.6.9 項にて考察する。

### 2.6.6.5.2 中期がん原性試験

#### 2.6.6.5.2.1 CByB6F1 マウスを用いた 5 日間用量設定試験

［試験番号：[redacted]2G3R[redacted]、資料番号：4.2.3.2-2、概要表 2.6.7-9］

雌雄各群 5 例の CByB6F1 ハイブリッドマウスに 0（コーン油）、0.60、0.90、1.20、1.50 及び 2.00 g/kg/日の GPB を 5 日間反復経口投与した。死亡率、一般状態及び体重を基に毒性を評価した。雌では上述の用量では MTD が得られなかったため、雌の各群 3 例に 0、2.00、3.00、4.00 及び 5.00 g/kg の用量で追加の 5 日間反復投与試験を実施した。

初回の試験では、1.50 g/kg/日及び 2.00 g/kg/日の雄では自発運動の低下、運動失調及び努力性呼吸などの一般状態の変化が認められ、その後 1.5 g/kg/日群の 2 例及び 2.00 g/kg/日群の 3 例が死亡した。雌では投与初日に 1.5 g/kg/日群の 5 例中 1 例に自発運動の低下が認められたが、他には一般状態の変化は認められず死亡例もなかった。

雌の 2 回目の試験では、試験した全用量で死亡が認められた。2.00 g/kg/日群では 3 例中 1 例、3.00 g/kg/日では 3 例中 2 例、並びに 4.00 g/kg/日及び 5.00 g/kg/日では各々3 例中 3 例が死亡した。一般状態の変化は初回試験の雄マウスの場合と同様であり、運動失調、運動活性の低下、衰弱、努力性呼吸及び浅速呼吸が認められた。

#### 2.6.6.5.2.2 CByB6F1 マウスを用いた 28 日間用量設定試験

［試験番号：[redacted]2G3R[redacted]、資料番号：4.2.3.2-2、概要表 2.6.7-11］

雌雄各群 10 例の CByB6F1 マウスに、雄には 0（コーン油）、0.60、0.90 及び 1.20 g/kg/日、雌には 0（コーン油）、0.9、1.25 及び 2.0 g/kg/日の GPB を 28 日間反復経口投与した。検査項目は、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。

雌の 2.0 g/kg/日投与群では瀕死例が投与初日に多発したため翌日全例を安楽死させた。他の群では、雌の 1.5 g/kg/日投与群の 1 例で痂皮、雄の 1.20 g/kg/日投与群の 5 例で自発運動低下が認められたのみであった。体重、体重増加量、摂餌量、臓器重量、血液学的検査、血液性格的検査、剖検及び病理組織学的検査において、投与に関連した毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

TK パラメータは、PBA、PAA 及び PAG について、ノンコンパートメント解析を用いて算出した。PBA、PAA 及び PAG の $C_{max}$ 及び AUC はおおむね用量の増加に伴って増加したが、雄では 0.9 g/kg/日群と 1.20 g/kg/日の間に差は無かった。TK パラメータに明らかな性差はなかった。

rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験のための MTD は、雄で 0.9 g/kg/日及び雌で 1.2 g/kg/日と判断された。

#### 2.6.6.5.2.3 GPB の rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験

［試験番号：[redacted]7G8R[redacted]、資料番号：4.2.3.4.2-1、概要表 2.6.7-31］

雌雄各群 25 例の CByB6F1 ヘミ接合 rasH2 Tg マウスに GPB の 0（注射用水）、0.60 及び 1.00 g/kg/日を 26 週間反復経口投与してがん原性を評価した。本試験の用量は、28 日間用量設定試験の試験成績を参考にして設定した。トキシコキネティクスには、非トランスジェニックマウスを用いた。陽性対照として Day1、3 及び 5 にウレタン 1.00 g/kg を腹腔内投与した。検査項目は、一般状態、体重、摂餌量、臓器重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査とした。

主試験群及びトキシコキネティクス群のいずれにおいても用量依存的な死亡率の増加は認められなかった。主試験群のうち雌の溶媒対照群の 1 例、雄の 0.60 g/kg/日の 1 例及び雌の 1.00 g/kg/日の 2 例が死亡した。溶媒対照群の 1 例では、鼻腔、肺、気管支及び気管に及ぶ多中心性悪性中皮腫が死因と考えられた。雄の 1 例の死亡例は脊髄の軸索変性が死因と判断された。また、雌の高用量の死亡例のうち、1 例は悪性多発性リンパ腫及び 1 例は肝での原発性血管肉腫と判断されたが、いずれの死亡も投与とは関係が無いものと判断された。

投与に関連して認められた一般状態の変化としては Day12 までの間に GPB 投与全群で認められた投与後の活動性の増加のみであった。雌の高用量（1.00 g/kg/日）群では統計学的に有意な体重及び体重増加量の高値が認められた。摂餌量、臓器重量、病理解剖学的検査では投与に起因した変化は認められなかった。Day 184 において、代謝物として PBA、PAA 及び PAG が血漿中に認められた。これらの代謝物の濃度は 28 日間用量設定試験で認められた血漿中濃度と同等であった。

溶媒（水）対照群と比較して、GPB 投与群において発生率が統計学的に有意に増加した腫瘍は無かった。陽性対照群においては死亡率の増加とともに肺、脾臓において腫瘍発生率の増加が認められた。

以上より, CByB6F1 ヘミ接合 rasH2 Tg マウスに GPB を 26 週間反復経口投与した結果、1.00 g/kg/日までの投与量でがん原性は認められなかった.

## 2.6.6.6 生殖発生毒性試験

### 2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

#### 2.6.6.6.1.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

［試験番号：[redacted]Y00011、資料番号：4.2.3.5.1-1、概要表 2.6.7-34］

雌雄各 25 例の Crl:CD(SD)ラットに、0（コーン油）、0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日の GPB を交配から着床までの期間投与した。雄は交配前 28 日前から 2 度の交配期間（GPB 投与雌、無処置雌）を通じて解剖前日まで投与した。GPB 投与雌は交配 15 日前から妊娠 7 日（DG7）まで強制経口投与し、DG13 に帝王切開した。無処置雌は GPB 投与雄との交配期間を経て DG13 に帝王切開した。検査項目は、生存率、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、性周期観察、交尾能、病理解剖学的検査、臓器重量及び精子検査とした。

投与に起因した死亡は認められなかった。一般状態の変化として、雄の 0.65 g/kg/日以上の群で流涎、脱毛、軟便/液状便、腹部被毛の尿による汚染及び色素性鼻漏、0.9 g/kg/日以上の群で低姿勢（low carriage）、活動性の低下、立毛、被毛の汚れ（ungroomed coat）、色素涙、ラッセル音及び運動失調が認められた。雌では 0.65 g/kg/日以上の群で筋硬直、0.65 及び 1.2 g/kg/日群で色素性鼻漏、0.9 g/kg/日以上の群で流涎、並びに 1.2 g/kg/日群で運動失調、活動性の低下、低姿勢及び腹部被毛の尿による汚染が認められた。

雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群では、体重が対照群と比較して有意な低値を示した。摂餌量は初期に低値を示したが、その後は高値を示す時点もあった。雄の交尾、授受胎能に関するパラメータに投与の影響は無かった。解剖学的にも投与の影響は認められなかった。精巣（≥0.9 g/kg/日）及び肝（0.65 g/kg/日）の相対重量が高値を示した。精子検査では投与の影響は認められなかった。

雌の GPB 投与群では 0.9 g/kg/日以上の群で妊娠中の体重が有意に低かった。妊娠期間中明らかな摂餌量の変化はなかった。性周期、交配率及び受胎率に関するパラメータに投与の影響は無く、剖検でも投与の影響は認められなかった。0.65 g/kg/日以上の群で肝の相対重量が有意に重かった。妊娠率は 0.65 g/kg/日群で 80%であり、他の群ではいずれも 92%であった。1.2 g/kg/日群では、母体当たりの生存胚数が有意に少なく死亡胚数が多かった。他の帝王切開パラメータ又は同腹児パラメータには影響は認められなかった。

無処置群の雌（雄のみ GPB 投与）では、妊娠率は、雄の投与量の順（0、0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日）に、それぞれ 96%、88%、84%及び 76%であった。1.2 g/kg/日群の母体当たりの生存胚数は有意に少なく、死亡胚数は有意に多かった。他のパラメータには雄への投与の影響は見られなかった。

以上のことから、雌雄の一般状態に対する GPB の無毒性量は 0.65 g/kg/日、雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に対する無毒性量は 0.9 g/kg/日と判断した。

### 2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

#### 2.6.6.6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験）

［試験番号：[redacted]Y00007、資料番号：4.2.3.5.2-1、概要表 2.6.7-35］

胚・胎児発生試験のための用量設定試験を実施した。妊娠ラット各群 8 例に 0（コーン油）、0.65、0.9、1.2 及び 1.5 g/kg/日の GPB を妊娠 7 日から妊娠 17 日まで投与した。妊娠 21 日目に母動物を帝王切開して胚・胎児発生への影響について検討した。

いずれの動物も計画剖検時まで生存し、剖検では解剖学的な病変は認められなかった。GPB 投与に起因する一般状態の変化として、0.65 g/kg/日以上の群で筋硬直、運動失調、四肢の広がり

（splayed limbs）、低姿勢（low carriage）及び活動性の低下、0.9 g/kg/日以上の群で皮膚の冷感、1.5 g/kg/日群で流涙、色素性鼻漏、正向反射の障害及び色素涙が認められた。1.2 g/kg/日以上の群では体重の減少、0.65 及び 0.9 g/kg/日群では体重増加量の減少が認められた。投与期間終了後（妊娠 18-21 日）では、1.5 g/kg/日群のみで体重増加量の減少が認められた。摂餌量は 1.2 及び 1.5 g/kg/日群で投与期間中低かった。肝重量は用量依存的に高かった。

1.2 g/kg/日の 1 例を除き、全てのラットが妊娠した。胎盤には異常はなかった。着床後死亡（早期吸収及び後期吸収）は 1.2 及び 1.5 g/kg/日群で増加した。1.5 g/kg/日群の 1 例では、全胚が吸収胚であった。0.65 g/kg/日以上の群で胎児体重の減少が認められた。1.5 g/kg/日群では母動物 2 例において、それぞれ 1 例ずつ胎児の短尾が認められた。他には外表検査で異常は認められなかった。

トキシコキネティクスでは、$C_{max}$ 及び AUC はおおむね用量の増加に伴って増加した。

以上の結果に基づき、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量は、0、0.3、0.65 及び 0.9 g/kg/日とした。

### 2.6.6.6.2.2 ラットを用いた胚・胎児発生試験（本試験）

［試験番号：[redacted]Y00008、資料番号：4.2.3.5.2-2、概要表 2.6.7-36］

雌の Crl:CD(SD)ラット各群 25 例に、0（コーン油）、0.3、0.65 及び 0.9 g/kg/日の GPB を妊娠 7 日から妊娠 17 日まで投与した。妊娠 21 日目に母動物を帝王切開して胚・胎児発生への影響について検討した。

全動物が計画剖検時まで生存した。

0.9 g/kg/日群で活動性の低下及び四肢の広がりが生じた。被験物質投与による剖検所見は無かった。

0.65 及び 0.9 g/kg/日群では、妊娠 7 日から妊娠 10 日にかけて体重増加の有意な低値が認められた。体重はその後回復したものの、これらの用量の体重増加量は投与期間を通じて対照群より有意に低かった。投与期間終了後には体重増加量は対照群と同等まで回復した。体重増加量と関連して、これらの群では妊娠 7 日から妊娠 10 日にかけて摂餌量が対照群と比較して低値であった。

0.65 及び 0.9 g/kg/日群では、用量依存的かつ有意な絶対及び相対（体重比）肝重量の高値が認められた。

0.65 及び 0.9 g/kg/日群では、胎児体重が有意に低かった。その他の帝王切開時のパラメータには影響が無かった。胚・胎児死亡の増加は無かった。母動物当たりの再吸収数、死亡又は吸収胚の数は全群を通じて同等であった。

0.3 g/kg/日群では、投与に起因した奇形又は変異などの形態異常は認められなかった。0.65 及び 0.9 g/kg/日群では、形態異常を有する胎児数及び母動物当たりの形態異常を有する胎児数の比率が有意に上昇した。形態異常を有する母動物の数は 0.9 g/kg/日群でのみ有意であった。胎児の形態異常には、0.65 及び 0.9 g/kg/日群での各種変異の増加、並びに 0.9 g/kg/日群での軽度な尾の異常（短尾又は索状尾）が挙げられる。母動物の毒性量である 0.65 及び 0.9 g/kg/日群で認められた変異は、頸肋骨、過剰胸椎及び発育遅延（尾椎、中手骨、腰椎、中足骨、前肢及び後肢の指骨の平均骨化部位数の減少）が挙げられる。0.9 g/kg/日群で認められた尾の異常（短尾又は索状尾）は、統計学的には有意でなく、施設の背景値をわずかに超えたのみであった。なお、中間用量 0.65 g/kg/日群の 1 例で無尾が認められているが投与との関連性は不明であった。他には投与に起因した外表、内臓及び骨格の形態異常は認められなかった。

本試験での母体の一般毒性に対する無毒性量は 0.3 g/kg/日、胚・胎児の発生に対する無毒性量も 0.3 g/kg/日と判断された。

### 2.6.6.6.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験）

［試験番号：[redacted]Y00009、資料番号：4.2.3.5.2-3、概要表 2.6.7-33、概要表 2.6.7-37］

New Zealand White ウサギを用いて胚・胎児発生試験のための用量設定試験を実施した。

本試験では 3 相（Part A、Part A extension 及び Part B）の試験を実施した。Part A では非妊娠ウサギに 0、0.5、1.0、1.5 及び 2.0 g/kg/日の GPB を 5 日間反復経口投与した。Part A で認められた毒性に基づき 16 頭の非妊娠ウサギを追加し、Part A extension として 0.1、0.3、0.5 及び 0.7 g/kg/日の GPB を投与した。Part A 及び Part A extension の結果を踏まえ、妊娠ウサギを用いた Part B では GPB の投与量を 0（コーン油）、0.2、0.4 及び 0.6 g/kg/日とし、妊娠 7 日～妊娠 19 日（DG7-19）にかけて胃チューブを用いて反復強制経口投与した（n=5/群）。

Part B での検査項目は、生存率、一般状態、体温、母動物の体重及び体重増加量、摂餌量、剖検、並びにトキシコキネティクスとした。生存例について DG29 に帝王切開を実施し、胸腔、腹腔及び骨盤腔の内臓の肉眼的検査を実施した。胎児の体重を測定し、外表異常の検査及び性別の判定を実施した。

0.6 g/kg/日群の妊娠ウサギは DG21 までに全て死亡若しくは安楽死させた。0.4 g/kg/日群の 1 匹は DG18 に一般状態の悪化、体重の減少及び摂餌量の減少に基づき安楽死させた。死亡若しくは安楽死させた動物での主な一般状態の変化は、糞便の変化（便減少/無便、軟便又は液状便）、活動性の低下、運動失調、呼吸亢進、皮膚の冷感、流涙、頻呼吸、眼瞼下垂、紅眼、削痩、眼周囲膜の蒼白、鼻周囲汚れ、徐呼吸及び脱水などであった。0.4 g/kg/日群の生存例では一般状態の変化は便の減少が 1 例で 1 度認められたのみであった。0.2 g/kg/日群では明らかな一般状態の変化はなかった。

体重、体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。0.2 及び 0.4 g/kg/日群の体重増加量は対照群と比較して、投与期間の DG7-20 の期間及び投与後を含めた DG7-29 の期間のいずれにおいても用量依存的に減少した。DG20 と DG29 の体重値で見た場合には軽微な低値であった。摂餌量は 0.2、0.4 及び 0.6 g/kg/日群で DG7-20 の期間で低値であり、投与後を含めた DG7-29 の期間でも（0.2 及び 0.4 g/kg/日群）低値であった。

計画剖検例の母動物は剖検時には異常は認められなかった。0.4 及び 0.6 g/kg/日群の早期剖検例では、心の退色、肺の赤色化、横隔膜ヘルニア、暗色胸水、肝の退色、脾臓の変形、腎の退色及び胆のうの拡張などが認められた。

DG29 までの生存例では全例が妊娠していた。0.4 g/kg/日群の胎児体重は対照群と比較してやや低かった（9.7%減）。体重以外では、帝王切開パラメータ、同腹児パラメータ又は胎児のパラメータには異常は認められなかった。0.4 g/kg/日群の外表検査では奇形又は変異は認められなかった。

TK 検査では、GPB 用量の上昇に伴いおおむね代謝物（PBA、PAA、PAG）の曝露は上昇した。

以上の結果より、ウサギを用いた胚・胎児発生試験の最高用量は 0.4 g/kg/日未満と判断した。

### 2.6.6.6.2.4 ウサギを用いた胚・胎児発生試験（本試験）

［試験番号：[redacted]Y00010、資料番号：4.2.3.5.2-4、概要表 2.6.7-38］

New Zealand White ウサギを用いて GPB の胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。1 群 20 匹の妊娠ウサギに DG7 から DG19 まで GPB を 0、0.15、0.25 及び 0.35 g/kg/日の用量で 1 日 1 回経口

投与した。

検査項目は、生存率、一般状態、母動物の体重及び体重増加量、摂餌量、剖検、並びにトキシコキネティクスとした。生存例について DG29 に帝王切開を実施し、胸腔、腹腔及び骨盤腔の内臓の肉眼的検査を実施した。胎児の体重を測定し外表、内臓及び骨格異常の検査、並びに性別の判定を実施した。

投与に起因した流産、早産又は母動物の死亡は無かった。0、0.15、0.25 及び 0.35 g/kg/日群のそれぞれでの妊娠数は、17、18、18 及び 15 であった。投与に起因した一般状態、体重、体重増加量、摂餌量及び剖検の異常は認められず、帝王切開パラメータにも異常は認められなかった。いずれの投与群においても胎児体重への影響は無く、外表、内臓、骨格の奇形又は変異への影響は認められなかった。

TK 検査では、GPB 用量の上昇に伴いおおむね代謝物（PBA、PAA、PAG）の $C_{max}$ 及び AUC は上昇した。

以上の結果より、ウサギを用いた胚・胎児発生試験において母動物に対する無毒性量及び胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも最高用量の 0.35 g/kg/日と判断した。

### 2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

#### 2.6.6.6.3.1 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

［試験番号：[redacted]Y00012、資料番号：4.2.3.5.3-1、概要表 2.6.7-39］

GPB の出生前及び出生後の発生、並びに母体の機能に関して Crl:CD(SD)ラットを用いて検討した。1 群当たり 25 匹のラットに、DG7 から哺育 20 日（DL20）まで GPB を 0（コーン油）、0.3、0.6 及び 0.9 g/kg/日の用量で反復経口投与した。母動物（F0）には出産後哺育をさせ、哺育後に 1 群当たり雌雄各 25 匹の子動物（F1）を無作為に選抜した。F1 には GPB を投与しなかった。F1 出生後約 90 日齢の時点で、母動物に同用量が投与された動物同士交配させた。F1 雌について DG21 に帝王切開し検査した。

F0 動物の観察項目は、死亡率、流産、早産、一般状態、体重増加量、摂餌量及び母性行動とした。妊娠期間、胎児数及び子の生存率についても評価した。F1 について、離乳前には体重、生存率、子の数及び一般状態を観察した。離乳後には、生存率、一般状態、体重、摂餌量、性比、性成熟（膣開口、亀頭包皮分離）、身体及び機能的発達について評価した。交配後には、DG21 の帝王切開まで一般状態、摂餌量及び体重増加量について評価した。F1 雌について帝王切開後に卵巣及び子宮について妊娠状況を確認し、黄体数及び着床状況について検査した。

F0 母動物は計画剖検時まで生存した。GPB 投与に起因する変化として、0.9 g/kg/日群では運動失調、自発運動の低下、低姿勢及び軽度の脱水が認められた。0.6 及び 0.9 g/kg/日群で妊娠期間中有意な体重及び体重増加量の低値が認められた。授乳期の体重増加量には群間で明確な差は無かった。0.9 g/kg/日群では妊娠期間中摂餌量も低かったが、授乳時には差は無かった。妊娠率には投与の影響は無く、また妊娠した動物は全て分娩した。0.9 g/kg/日群では妊娠期間の延長が認められ、また出生児の体重も低かった（DL 4-21）。他の出産に関わるパラメータについては投与の影響は無かった。

F1 出生児の 0.9 g/kg/日群では、生後 22、29、36、43 及び 57 日後の検査で体重が対照群と比較して低値であった。雌雄ともに体重増加量には統計学的な有意差は無かった。F1 出生児の摂餌量には GPB 投与の影響は無かった。F1 出生児では受動回避テスト及び水迷路試験に有意な影響は

無かった。また、性成熟、交配及び授受胎に関するパラメータに影響は無かった。

F1 動物の妊娠率、帝王切開パラメータ及び同腹児パラメータには F0 動物への GPB 投与の影響は認められなかった。

以上の結果から F0 母動物に対する一般状態に対する無毒性量は 0.3 g/kg/日及び発生毒性に関する無毒性量は 0.6 g/kg/日と判断された。F1 出生児の機能発達及び生殖機能に対する無毒性量は最高用量の 0.9 g/kg/日と判断された。

### 2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験

#### 2.6.6.6.4.1 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（用量設定試験）

［試験番号：[redacted]U00006、資料番号：4.2.3.5.4-1、概要表 2.6.7-40、概要表 2.6.7-41］

雌雄各 8 例の新生児 Crl:CD(SD) ラットに GPB を 0（コーン油）、0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日の用量で生後 2 日（PND2）から PND15 の間反復経口投与した。PND16 に病理解剖学的検査を実施し、頭部の横断切片を作成し水頭症の検査を実施した。

上記試験（initial study）では明らかな毒性が認められなかったため、extension study を高用量で実施した。Extension study では、雌雄各群 7 例の新生児ラットに GPB を 1、2、4 及び 6 g/kg/日の用量で PND2 から PND34 の間反復経口投与した。検査項目は、initial、extension ともにトキシコキネティクス、生存率、一般状態及び体重とし、extension study では摂餌量も測定した。

Initial study では、1.2 g/kg/日の最高用量まで、一般状態や体重に及ぼす影響が認められず、死亡例もなかった。Extension study では、2 g/kg/日以上の群で死亡例及び一般状態の悪化が認められた。2 g/kg/日群では 14 例中 4 例が死亡し、4 及び 6 g/kg/日群では PND14 までに全例が死亡又は安楽死の対象となった。4 g/kg/日以上の群では、脱水、皮膚の冷感、呼吸困難、衰弱、削痩、活動性の低下、正向反射の障害又は消失、全身性の痙攣、喘鳴、徐呼吸、持続性吸息（apneusis）及び尾の痂皮などの一般状態の変化が認められた。

TK 検査では、GPB 用量の上昇に伴いおおむね代謝物（PBA、PAA、PAG）の $C_{max}$ 及び AUC は上昇した。

以上の結果から、本試験の用量は 0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日とした。

#### 2.6.6.6.4.2 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（本試験）

［試験番号：[redacted]U00007、資料番号：4.2.3.5.4-2、概要表 2.6.7-42、概要表 2.6.7-43］

GPB の新生児ラットに対する影響を検討するために、新生児 SD ラットに生後 2 日（PND2）から交配、妊娠まで GPB を投与した。

Part A

雌雄各 25 匹の新生児ラットに、GPB を 0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日の用量で PND2 から PND50 までの間反復経口投与した。対照群（雄 24 匹及び雌 25 匹）にはコーン油を投与した。雌雄の各群各時点 3 匹のサテライト群から最終投与（PND50）後に血液を採取し、曝露を評価した。

毒性評価項目は、生存率、一般状態、体重及び体重増加量、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、病理解剖学的検査、並びに病理組織学的検査とした。

GPB 投与に起因した死亡や一般状態の変化はなかった。体重、体重増加量及び摂餌量（離乳後）は群間で差が無かった。1.2 g/kg/日群では、白血球数、好中球数及びリンパ球数が低値であり、投与に起因すると考えられた。ただし、好中球数を除き施設の背景値の範囲内であった。

雌の全投与群において AST 及び ALT 値がわずかに高かった。1.2 g/kg/日群ではアルブミン/グ

ロブリン比が対照群の 10%程度高かった。これらの変化は変化の程度が軽微であり施設の背景値の範囲であることから毒性とは判断されなかった。他の血液生化学的検査値は群間で明確な差が無かった。

対照群と比較して、雌雄の 1.2 g/kg/日群の副腎重量及び雌の 1.2 g/kg/日群の卵巣重量が低かった。これらの重量変化には病理組織学的変化を伴わなかった。病理解剖学的検査では特段の所見は認められなかった。病理組織学的検査では、全 GPB 投与群で軽微から軽度の肝の胆管周囲の細胞浸潤が認められた。GPB 投与に起因して何らかの影響があったものと考えられるが、光学顕微鏡レベルでは明確とならなかった。一方、後述の Part B では肝の病理組織学的検査で GPB 投与に起因する変化は認められなかったことから、Part A で認められた肝の変化は回復性であり、毒性とはみなされなかった。

Part A の試験条件下における GPB の幼若ラットにおける無毒性量は、0.9 g/kg/日と判断された。

Part B

雌雄各 25 匹の新生児（F1）ラットに、GPB を 0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日の用量で PND2 から妊娠 20 日まで（雌）、あるいは交配終了（PND 127-129）まで（雄）の間反復経口投与した。対照群（雌雄各 25 匹）にはコーン油を投与した。生後 96 から 100 日の時点で、同用量の雌 1 例に対して雄 1 例で同居させ交配させた。毒性評価項目は、生存率、一般状態、体重及び体重増加量、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、病理解剖学的検査、並びに病理組織学的検査とした。また、性成熟、活動量、驚愕反射、受動回避、水迷路試験及び生殖能について検査した。

GPB 投与に起因する死亡例又は一般状態の変化は認められなかった。雄の 0.9 及び 1.2 g/kg/日群では対照群と比較して体重値及び体重増加量が低値であった。雌では PND2 から交配までの期間では体重及び体重増加量に対照群と差が無かったが、妊娠期間から剖検するまでの間の体重増加量は低値であった。雌雄とも摂餌量には群間に差は認められなかった。臨床検査では、雌雄の 1.2 g/kg/日群で軽微な血小板数の減少、プロトロンビン時間の延長及びアルブミン/グロブリン比の上昇が認められた。また、全投与群でトリグリセリド値も高かった。なお、1.2 g/kg/日群の雌で統計学的に有意な AST 及び ALT の上昇があったと最終報告書には記載されているが、Appendix のデータでは AST 及び ALT の明確な上昇は報告されていない。剖検では、投与に起因した変化は認められなかった。雌雄の投与群で複数の臓器で絶対重量が低かったが、体重比では対照群と同等であった。精巣上体の変化を除くこれらの変化については、病理組織学的な変化を伴っておらず、投与に直接起因するものではないと考えられた。一方、心臓（0.9 及び 1.2 g/kg/日）、脳（1.2 g/kg/日）、肝臓（全投与群）及び腎臓（全投与群）の相対臓器重量は対照群よりも重かった。肝臓及び腎臓については、雌の全 GPB 投与群で絶対重量も重かった。肝臓及び腎臓重量については、一般毒性試験でも認められている変化であり、GPB の投与に起因する適応性の変化と考えられた。GPB の投与に起因した病理組織学的所見は Part B では認められなかった。Part A の肝で認められた肝の胆管周囲の細胞浸潤は Part B では認められなかった。

雄の亀頭包皮分離には群間で差は認められなかったが、1.2 g/kg/日群の雌で膣開口日が有意に遅延した。活動性、音響驚愕反射及び学習能力（受動回避、水迷路）には GPB の影響は無かった。交配数及び交配までの時間についても群間で差は無かった。0、0.65、0.9 及び 1.2 g/kg/日群でそれぞれで 23、18、18、16 匹が妊娠した。0.9 及び 1.2 g/kg/日群の同腹児数及び生存胎児数は対照群と比較して少なかった。早期吸収、総吸収数及び着床後死亡比は全 GPB 群で有意に増加した。胎

児体重は全 GPB 群で対照群と比較して低かった。対照群及び 0.65 g/kg/日群では外表の異常は認められなかった。0.9 g/kg/日群では 3 例及び 0.12 g/kg/日群では 7 例の胎児で外表の異常（臍ヘルニア及び尾の異常（短尾又は索状尾））が認められ、母動物の毒性と関連していると考えられた。なお、中間用量 0.9 g/kg/日群の 1 例で無尾が認められているが投与との関連性は不明であった。TK 検査では、GPB 用量の上昇に伴いおおむね代謝物（PBA、PAA 及び PAG）の $C_{max}$ 及び AUC は上昇した。TK パラメータに明らかな性差は無かった。

Part B の試験条件下における GPB の幼若ラットにおける無毒性量は、一般毒性に関しては 0.65 g/kg/日、学習記憶能力に対しては最高用量の 1.2 g/kg/日、性成熟、交配及び授受胎能に対しては 0.9 g/kg/日と判断された。胎児体重の低値から、発生に対する無毒性量は 0.65 g/kg/日未満であると考えられたが、母動物の毒性に起因するものであり、胎児に対して選択的な毒性を有するものではないと考えられた。

### 2.6.6.7 局所刺激性試験

臨床適用経路が経口投与であるため、局所刺激性試験は実施しなかった。

## 2.6.6.8 その他の毒性試験

### 2.6.6.8.1 光毒性

GPB は 290～700 nm の範囲の光を吸収しない［CTD 2.3.S.3.1］ため、光反応性が無いと考えられる。代謝物である PBA は、GPB の部分構造であるため同様に光反応性が無いと判断した。

$^{14}C$ をベンゼン環部位（1 分子 3 か所）にラベルした GPB を用いた薬物動態試験（分布）においてサル単回経口投与時の眼球及び皮膚中の放射能濃度は低く、かつ速やかに減少し、蓄積性は認められなかった［CTD 4.2.2.2-3］。さらに、本薬の安全性に係る臨床試験では光毒性に関連する有害事象は認められておらず､欧米の市販後の情報でも光毒性が疑われた事例は 1 例のみであり、臨床における光毒性の懸念は低いと判断した。

### 2.6.6.8.2 代謝物

GPB のヒトでの主な代謝物は PBA、PAA 及び PAGN である。これらの代謝物については、一連の GPB の毒性試験の中及び PBA、PAA 及び PAGN の *in vitro* 遺伝毒性の中で評価した。

### 2.6.6.8.3 不純物

GPB の実際の不純物又は分解物、並びに化学合成に関連する潜在的な不純物、出発物質及び中間体について、ICH M7(R1)ガイドラインに従ってルールベース（Derek Nexus）及び統計ベース（Case Ultra）の相補的な *in silico* 法により変異原性評価を実施した。評価結果は［CTD2.3.S.3.2.3.4］に記載した。

潜在的な不純物のうち、クラス 1 不純物が 2 種類（不純物A* 並びに不純物B* ）、クラス 3 不純物が 6 種類（不純物C* ，不純物D* ，不純物E* ，不純物F＊ ，不純物G* 及び 不純物H* ）確認された。クラス 1 不純物は、既知の遺伝毒性物質[IARC, ][IARC, ]であり、本薬製造中に生成する可能性は否定できないがこれまで検出されたことはない。クラス 1 不純物について添加試験を実施し、GPB に含まれる両化合物は理論上 75 ppb (ADI)を超えないことが確認され、本薬の製造でのいずれの規格においても管理する必要はないものと判断した。クラス 3 不純物はいずれも化学合成に関連する潜在的な不純物であり Derek Nexus 又は Case Ultra のうち一方、あるいは双方で陽性予測結果が得られているか、既知の毒性学的な懸念のある構造を含む化合物である。これらの化合物の化学的安定性及び分配係数に基づき、本薬の製造でのいずれの規格においても管理する必要はないものと判断した。

本薬合成における実際の不純物については、*in silico* 評価の結果、全ての実際の不純物はクラス 5 に分類されたことから ICH Q3 ガイドラインに従って管理される。ICH Q3A、Q3B ガイドラインによると、原薬の一日の投与量が 2 g を超える場合、原薬において安全性確認が必要な不純物の閾値は 0.05%、製剤において安全性確認が必要な不純物の閾値は 0.15%とされている。GPB の 1 日の投与量は 2 g を超える場合があること、本剤の場合は原薬と製剤が同一であることから、より厳しい基準である原薬中の濃度 0.05%を閾値として考慮し、規格値が 0.05%を超える不純物についてサルの反復投与毒性試験の使用原薬における不純物の濃度と規格値を比較した（表 2.6.6-3）。



*: 新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6-3　サル毒性試験使用原薬における不純物の量と各不純物の規格値の比較

| 不純物 | 規格値（%） | 13 週ロット分析値（%） | ヒトの最大曝露量 [a]（mg/kg/日） | サルの最大曝露量 [b]（mg/kg/日） |
|---|---|---|---|---|
| 不純物I* | ≤0.4 | 0.33 | 1.9712 | 5.775 |
| 不純物J* | ≤0.3 | 0.13 | 1.4784 | 2.275 |
| 不純物K* | ≤0.8 | 0.27 | 3.9424 | 4.725 |
| 不純物L* | ≤1.0 | 0.67 | 4.9280 | 11.725 |
| 不純物M* | ≤0.3 | NE | 1.4784 | unknown |

NE：測定せず。
[a]: ヒトの最大投与量を 11.2 mg/m$^2$/日=12.32 g/ m$^2$/日=492.8 mg/kg/日とした。体表面積当たり投与量から体重当たり投与量には、FDA ガイダンス[FDA, 2005]の子供の数値（1/25）を用いた。
[b]: サル 13 週間反復投与毒性試験最高用量=1.75 g/kg/日を用いた。

毒性試験で用いた原薬中に含まれる不純物の濃度は規格値を下回っていたものの、不純物M*　以外の不純物についてヒトとの投与量比を考慮すると、13 週間反復投与毒性試験において最高用量では規格値を超えて曝露されたと計算されることから、これらの不純物についてはサルで評価されていると判断された。

不純物M*　（規格値 0.3%以下）については毒性試験に使用された原薬では測定されていないため、生体への影響を考察した。

不純物M*　は体内ではエステル結合部位が加水分解され、類縁物質A* とメタノールになると想定される。メタノールは、食品中、特に果実や野菜に天然に含まれる物質であり、本邦での国民平均摂取量[MHLW, 2019]は 1.14～1.93 mg/kg/日を超えると推定されている。メタノールは消化管から速やかに吸収され、主に肝臓においてホルムアルデヒド、次いでギ酸、さらに二酸化炭素へと連続的に酸化され、排泄される。大量のメタノールを摂取した場合、毒性を発現するのはギ酸である。

本薬の人での最大投与量を 493 mg/kg/day とした場合、不純物M*　の規格値が 0.3%、分子量は [redacted]、メタノールの分子量は 32.04 のため、ヒト最大投与量におけるメタノールの曝露量は 0.266 mg/kg/日となる。

NTP [NTP, 2003]ではヒトにおけるメタノールの曝露の上限を 25 mg/kg/日とし、EPA[EPA, 2013]ではメタノールのラットの一般毒性試験における NOAEL を 500 mg/kg/日としており、また他の毒性試験の結果も考慮したうえでメタノールの RfD（reference dose：一生涯ヒトが毎日暴露を受けても有害影響のリスクがないと推測される摂取量）を 2 mg/kg/日に設定している。また WHO[WHO, 1997]は、メタノールを 20 mg/kg 以下の量で経口摂取した場合でも、通常体内に存在する量以上のギ酸の蓄積は起こらないと報告している。以上、不純物M*　から生成されるメタノールは食品中に含まれるメタノールの 1/5 から 1/7 程度であり、また無毒性量や規制上限値と比較しても極めて微量であり、臨床におけるリスクの懸念はないと考えられた。類縁物質A* については評価済みであり、不純物　不純物M*　に関する追加の毒性評価は必要ないと判断した。

*: 新薬承認情報提供時に置き換え

## 2.6.6.9 考察及び結論

GPB の安全性評価として、単回経口投与毒性試験、反復経口投与毒性試験、遺伝毒性試験，がん原性試験，生殖発生毒性試験及び幼若動物を用いた毒性試験を実施した。

本剤の使用にあたっては、被験者の病状により投与量が調節される。臨床試験［HPN-100-006 試験］での GPB の平均投与量は 13.5 g/日（196.1 mg/kg/日及び 7.6 g/m$^2$/日）であり、このときの平均 $AUC_{0\text{-}24}$ は PBA、PAA 及び PAGN でそれぞれ 433、447、1127 µg•h/mL であった。活性代謝物である PAA の曝露の観点から、臨床使用においては十分な安全域があるものと判断された（表 2.6.6-4）。

表 2.6.6-4 毒性試験の無毒性量における AUC とヒト臨床第三相試験での AUC の比較

| Study | Species | NOAEL Dose | | AUC at NOAEL (µg·h/mL) | | Exposure margins[a, b] | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | (g/kg) | (g/m$^2$) | PBA | PAA | PBA | PAA |
| 14-day | Rat | 0.65 | 3.9 | 124–141[d] | 507–751[d] | 0.3 | 1.1–1.7 |
| | Monkey | 1.0 | 12 | 702–707[d] | 2634–4278[d] | 1.6 | 6.0–9.6 |
| 13-week | Mouse | 1.2 | 3.6 | 112–208[c] | 2085–2338[c] | 0.3–0.5 | 4.7–5.2 |
| | Rat | 0.9 (M) | 5.4 | 105[e] | 3371[e] | 0.2 | 7.5 |
| | | 1.2 (F) | 7.2 | 159[e] | 4579[e] | 0.4 | 10.2 |
| | Monkey | 1.25 | 15 | 525–607[c] | 2492–2982[c] | 1.2–1.4 | 5.5–6.7 |
| 26-week | Rat | 0.65 (M) | 3.9 | 172[c] | 2584[c] | 0.4 | 5.8 |
| | | 1.2 (F) | 7.2 | 102[c] | 7416[c] | 0.2 | 16.5 |
| 52-week | Monkey | 1.1 | 13.2 | 505–592[c] | 2204–2794[c] | 1.2–1.4 | 4.9–6.3 |
| Carcinogen-icity | Mouse | 1.0 (M) | 3.0 | 126[g] | 1504[g] | 0.3 | 3.4 |
| | | 1.0 (F) | 3.0 | 136[g] | 2137[g] | 0.3 | 4.8 |
| | Rat | 0.21 (M) | 1.26 | 71.51[c] | 425[c] | 0.2 | 1.0 |
| | | 0.30 (F) | 1.8 | 231[c] | 1618[c] | 0.5 | 3.6 |
| Develop-mental toxicity | Rats | 0.3 | 1.8 | 94[f] | 1558[f] | 0.2 | 3.5 |
| | Rabbits | 0.35 | 4.4 | 49[f] | 2298[f] | 0.1 | 5.1 |
| Juvenile toxicity | Neonatal rats | 0.90 (general) | 5.4 | 235-271[f] | 3339-4911[f] | 0.5–0.6 | 7.5-11.0 |
| | | < 0.65 (dev) | < 3.9 | < 231–267[f] | < 2738–3304[f] | < 0.5–0.6 | < 6.1–7.4 |

AUC = area under the concentration curve; F = female; M = male; NE = not evaluated; NOAEL = no observed adverse effect level; PAA = phenylacetate; PBA = phenylbutyrate.

[a] Relative to PBA, $AUC_{0\text{-}24}$ of 433 µg·h/mL and PAA $AUC_{0\text{-}24}$ of 447 µg·h/mL at steady state from clinical study HPN-100-006

[b] AUC animal/AUC human

[c] $AUC_{Last}$ (=$AUC_{0\text{-}24\ h}$)

[d] $AUC_{0\text{-}t}$ (=$AUC_{0\text{-}24\ h}$)

[e] $AUC_{Last}$ (=$AUC_{0\text{-}48\ h}$)

[f] $AUC_{ALL}$

[g] 10/9 times of AUClast at 0.9 mg/kg/day group in [redacted] 2G3R[redacted] study (CTD 4.2.3.2.2)

### 一般毒性試験

一般毒性試験において、GPB 投与に起因して肝臓、中枢神経系及び造血系に影響が認められた。これらの影響は軽微、散発的及び代償性の変化のいずれかであり、毒性学的な意義は低く、ヒトのリスクとはならないと考えられた。これらの変化について以下で議論する。

肝臓

いずれの動物種においても肝重量の増加が認められた。肝重量の増加は軽微から軽度の肝細胞の肥大を伴っていた。反復投与毒性試験において認められた肝臓の変化を表 2.6.6-5 に示した。

GPB は尿素サイクル異常症（UCD）に用いられる PBA のプロドラッグであり、PAA のプレプロドラッグである。ほ乳類では、尿素サイクルは肝臓において機能する。GPB は肝臓において剰余窒素の排出のための代替手段を供与する代謝に作用し、アンモニアなどの毒性窒素代謝物の蓄積を防止する。サルでは、PAA は肝臓中でフェニルアセチルコエンザイム A 酵素を経てグルタミン抱合を受け、PAGN が生成する代謝反応の基質である。サル以外の哺乳動物では、抱合されるのはグリシンで生成物は PAG である。PAGN（又は PAG）は尿中に排出される。

GPB 投与により生じた肝臓の病理組織学的変化又は肝重量の増加は、上述の代謝反応酵素の誘導により生じたものと判断された。

表 2.6.6-5 GPB を投与した、マウス、ラット及びサルにおける肝臓の変化

| Study Duration | Species | Doses | Anatomic Liver Changes | Histopathological Correlates |
|---|---|---|---|---|
| 13 weeks | Mouse | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg | ↑ liver weight (relative and absolute) (0.9 and 1.2 g/kg, M; 1.2 g/kg, F) | Minimal centrilobular hepatocellular hypertrophy (≥ 0.65 g/kg, M; 1.2 g/kg, F) |
| 14 days | Rat | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | ↑ liver weight (relative and absolute) (0.9 and 1.2 g/kg, M/F) | None |
| 13 weeks | Rat | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | ↑ liver:body weight ratio (1.2 g/kg, M; ≥0.65 g/kg, F)<br>↑ liver:brain weight ratio (1.2 g/kg, F) | None |
| 26 weeks | Rat | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | ↑ liver weight (absolute) (≥ 0.65 g/kg, F)<br>↑ liver:body weight ratio (≥ 0.65 g/kg, M/F)<br>↑ liver:brain weight ratio (≥0.65 g/kg, F) | Mild/minimal cytoplasmic alterations (lower ribosomal density, loss of punctate staining, diffuse hepatocyte glycogen staining) (≥ 0.65 g/kg, M/F) |
| 14 days | Monkey | 0, 1.0, 2.5, and 3.5 g/kg/day | None | None |
| 13 weeks | Monkey | 0, 0.75, 1.25, and 1.75 g/kg/day | ↑ liver weight (in absolute and relative) (≥ 0.75 g/kg, M/F) (dose related, M) | Minimal to mild centrilobular hepatocellular hypertrophy (≥ 0.75 g/kg, M/F) |
| 52 weeks | Monkey | 0, 0.7, 1.1, 1.5 g/kg | ↑ liver weight (absolute) (1.5 g/kg, F)<br>↑ liver:body weight ratio (≥ 0.7 g/kg, M; 1.5 g/kg, F) | Minimal to moderate periportal hepatocellular hypertrophy (≥ 0.7 g/kg/day, M/F).<br>Minimal hepatocellular apoptosis (1.1 g/kg, F; 1.5 g/kg, M) |

GPB = glycerol phenylbutyrate; F = female; M = male.

中枢神経系

一般毒性試験では、振戦、平衡障害及び筋協調運動障害など中枢神経系への影響と思われる変化が認められた。総じてこれらは群中の少数の動物で散発的に生じ、また一過性であった。振戦はサルの 1.25 g/kg/日以上の群で認められた。安全性薬理試験の項でも述べたが、サルにおける神経行動学的機能に対する無毒性量は 1 g/kg である。毒性試験で認められた中枢神経系への影響は一過性であり、また総じて無毒性量（表 2.6.6-4 参照）を超えた量で認められたものであり、ヒトでのリスクとはならないと考えられた。中枢神経系の変化について表 2.6.6-6 に示した。

表 2.6.6-6 GPB を投与した、マウス、ラット及びサルにおける中枢神経系の変化

| Study Duration | Species | Doses | Relevant Clinical Signs |
|---|---|---|---|
| Single dose | Rat | 0, 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.5, 2.3, or 4.5 g/kg | ≥ 0.65 at 1 and 3 h post-dosing. ≥ 0.9 g/kg (5.4 g/m$^2$): hypoactivity, prostration, rigid muscle tone, impaired equilibrium and muscle coordination, and abnormal respiration |
| Single dose | Monkey | 0, 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.8, 2.4, 3.5, 4.5, and 6.5 g/kg | 6.5 g/kg: a single incidence of tremors occurred in 1 female 8 h after dosing |
| 14 days | Mouse | 0, 0.65, 0.9, 1.2, and 2.0 g/kg/day | ≥ 0.65 g/kg: hypothermia, hypoactivity, impaired equilibrium, shallow or labored respiration, ptosis<br><br>Findings generally only noted for 1 or 2 animals sporadically |
| 13 weeks | Mouse | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | None |
| 14 days | Rat | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | 0.9 and/or 1.2 g/kg: 1 h after dosing during the first 4 days of administration–included hypoactivity, impaired equilibrium, impaired muscle coordination, and rigid muscle tone<br><br>0.9 and/or 1.2 g/kg: 2 h after dosing on the 1$^{st}$ and 13$^{th}$ days of dosing–increased incidences of low arousal, abnormal righting reflex, impaired mobility and gait, decreased rearing, and lower body temperature |
| 13 weeks | Rat | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | ≥ 0.65 g/kg (both sexes): rigid muscle tone<br>≥ 0.9 g/kg (females): hypoactivity<br><br>These signs only occurred during the first 3–4 days of dosing; thus, they were not considered adverse. |
| 26 weeks | Rat | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | ≥ 0.9 g/kg: rigid muscle tone (females only)<br>1.2 g/kg: hypoactivity<br><br>These signs only occurred during the first day of dosing. |

表 2.6.6-6 GPB を投与した、マウス、ラット及びサルにおける中枢神経系の変化（続き）

| Study Duration | Species | Doses | Relevant Clinical Signs |
|---|---|---|---|
| 14 days | Monkey | 0, 1.0, 2.5, and 3.5 g/kg/day | ≥2.5 g/kg: hypoactivity, ataxia, tremors, audible or labored breathing |
| 13 weeks | Monkey | 0, 0.75, 1.25, and 1.75 g/kg/day | 1.75 g/kg: tremors, hypoactivity, impaired equilibrium, twitching, impaired muscle coordination, labored respiration in 1 female<br><br>1.25 and 1.75 g/kg: single occurrences of intermittent tremors in 1 additional female at each dose (not accompanied by any other remarkable changes) |
| 52 weeks | Monkey | 0, 0.7, 1.1, and 1.5 g/kg/day | 1.5 g/kg: hypoactivity, impaired use of hindlimb, impaired equilibrium in both sexes, and increased respiration rate in 1 male |

**造血系**

一般毒性試験において、造血系に軽微な変化が認められた。これらの軽微な変化は特筆すべき病理組織学的変化を伴わなかった。このためこれらの変化は毒性学的に意義が低く、ヒトのリスクを示すものではないと考えられた（表 2.6.6-7）。

軽度な造血系細胞の減少は、ラット及びサルにおいて GPB の反復投与後に生じた。ラットの 14 日間投与試験では、1.2 g/kg/日の投与量群で胸腺重量の減少が雄のみで認められたが、病理組織学的変化は伴っておらず、長期試験（13 週及び 26 週）では胸腺重量の減少は認められなかった。サルでは、13 週間投与後に雌雄の 1.75 g/kg/日群の各 1 例で胸腺が小さく、軽微なリンパ球減少を伴っていた。同試験の雄の 0.75 g/kg/日以上の群、雌の 1.25 g/kg/日以上の群では胸骨骨髄において軽度の脂肪浸潤が認められた。脂肪浸潤は造血系細胞が脂肪細胞によって置換されたものであるが、M/E 比（骨髄球系/赤芽球系比）には影響が無かった。サルの 52 週間試験では胸腺の変化は認められなかった。

表 2.6.6-7 GPB を投与した、マウス、ラット及びサルにおける造血系の変化

| Study Duration | Species | Doses | Hematopoietic System Changes | Histopathological Correlates |
|---|---|---|---|---|
| 14 days | Rat | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | Blood cell indices:<br>↓ Platelets (0.9 and 1.2 g/kg/day, M and ≥0.65 g/kg, F)<br>↓ RBCs and hematocrit (0.9 and 1.2 g/kg/day, F)<br><br>Organ changes:<br>↓ Thymus and adrenal weights (1.2 g/kg/day, M) | None |

表 2.6.6-7 GPB を投与した、マウス、ラット及びサルにおける造血系の変化（続き）

| Study Duration | Species | Doses | Hematopoietic System Changes | Histopathological Correlates |
|---|---|---|---|---|
| 13 weeks | Rat | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | Blood cell indices:<br>↓ RBCs (≥ 0.65 g/kg, M/F)<br>↓ Hemoglobin and hematocrit (≥ 0.9 g/kg, M; ≥ 0.65 g/kg, F)<br>↓ Platelets (≥ 0.9 g/kg, M)<br>↑ Monocytes (1.2 g/kg, M/F)<br>↓ Eosinophils (1.2 g/kg, M)<br><br>Organ changes: None | None |
| 26 weeks | Rat | 0, 0.65, 0.9, and 1.2 g/kg/day | Blood cell indices:<br>↓ RBCs and eosinophils (≥ 0.65 g/kg, M;<br>≥ 0.9 g/kg, F)<br>↓ Hematocrit and hemoglobin (≥ 0.65 g/kg, M/F)<br>↓ Platelets (1.2 g/kg, M)<br>↑ Monocytes (≥ 0.9 g/kg, F)<br><br>Organ changes: None | Spleen: minimal to moderate brown pigment (≥ 0.65 g/kg, M/F); minimal to mild lymphoid depletion<br>(≥ 0.65 g/kg, M); mild erythroid depletion in 1 F at 1.2 g/kg/day |
| 13 weeks | Monkey | 0, 0.75, 1.25, and 1.75 g/kg/day | Blood cell indices:<br>↓ RBCs, hemoglobin, hematocrit (1.25 g/kg, M)<br>↓ Platelets (0.75 and 1.75 g/kg, F)<br>↑ monocytes (1.75 g/kg, F)<br><br>Organ changes:<br>↓ Thymus weight (≥ 0.75 g/kg, M)<br>Lymph nodes enlarged and discolored (dark red) (1.75 g/kg, F) | Thymus: mild lymphoid depletion (≥ 0.75 g/kg, M; 1.75 g/kg, F)<br><br>Inguinal lymph nodes: hemorrhage (acute), histiocytosis and/or sinus dilatation in axillary and/or inguinal lymph nodes in<br>3 females at 1.75 g/kg. In one female, the changes noted in the inguinal lymph node were due to draining of hemorrhage fluid (from menstruation) from the uterus and cervix. In the other cases, the tissue of drainage was not identified.<br><br>Sternal marrow: mild fatty infiltrate characterized by replacement of hematopoietic elements by adipocytes<br>(≥ 0.75 g/kg, M; ≥ 1.25 g/kg, F). No change in myeloid:erythroid ratio. |
| 52 weeks | Monkey | 0, 0.7, 1.1, and 1.5 g/kg/day | Blood cell indices:<br>↓ RBCs (1.5 g/kg, M/F)<br>↑ Reticulocytes (≥ 1.1 g/kg, M)<br>↓ Hemoglobin (1.5 g/kg, M)<br>↓ Platelets (≥ 1.1 g/kg, F)<br><br>Organ changes: None | Spleen: brown pigment (≥ 1.1 g/kg, M) |

RBC = red blood cell; M = male; F = female.

**遺伝毒性**

GPB は *in vitro*（細菌を用いた復帰突然変異試験、染色体異常試験）及び *in vivo*（ラット小核試験）のいずれにおいても変異原性を示さなかった。

同様に PBA、PAA、PAGN 及び PAG は細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性を示さず、PAA、PAGN 及び PAG は染色体異常試験でも陰性であった。PBA は CHO 細胞を用いた染色体異常試験において、細胞毒性濃度（1080 μg/mL）において染色体の構造異常を誘発したが、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験では染色体異常を誘発しなかった。以上のことから、GPB をヒトに投与したときの遺伝毒性のリスクは低いと判断された。

**がん原性**

GPB は雌雄 rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間反復投与がん原性試験において 1.00 g/kg/日までの用量でがん原性を示さなかった。

ラット 2 年間がん原性試験において、腫瘍増加に対する統計学的な無毒性量は、雄では 0.21 g/kg/日及び雌では 0.30 g/kg/日であった。投与に関連して膵腺房細胞腺腫/腺癌、副腎皮質腺腫/腺癌、甲状腺濾胞細胞腺腫/腺癌、ジンバル腺癌、良性子宮内膜間質ポリープ及び子宮頸部悪性神経鞘腫が認められた。また、投与に関連した非腫瘍性病変として、膵腺房細胞の過形成、副腎皮質束状帯細胞の肥大、甲状腺濾胞細胞の過形成、子宮内膜増殖、肝細胞の塩基性細胞巣及び網膜萎縮などが認められた。

ラットがん原性試験の結果から GPB の患者でのリスクアセスメントを行う目的で、スポンサーとは独立した SAP が設置された［報告書番号 [redacted]7-002、4.2.3.4.1.2］。SAP は、以下の理由により GPB はヒトにおける発がん性リスクを惹起しないと結論した。

**副腎皮質：**

副腎皮質の増殖病変は、老齢ラットの内分泌組織における最も一般的な所見の一つとして認められる非特異的な病変である[Ribelin WE, 1984]。一方、副腎皮質腺癌はヒトでは非常に稀であり、化学物質誘発によるものは知られていない。非遺伝毒性物質による、げっ歯類の内分泌腫瘍（エストロゲン誘発を除く）は、ヒトの内分泌組織における発がん性には外挿性がないことが示されている[Cohen SM, 2004]。

**膵臓**

膵腺房細胞の増殖はラットに特有の反応であるとされている[Dominick MA, 1990][Klaunig JE, 2003]。ラット膵腺房細胞膜上でのコレシストキニン（CCK）受容体の存在はヒトを含む他の動物とは異なっており、また CCK は膵腺房細胞の分裂を促進するが他の動物では異なっているなど、差異がある。また、ラットの膵臓腫瘍は主に腺房細胞から生じるが、ヒトを含む他の種では膵臓の癌の 90%以上が膵管部分から、10%未満が膵臓内分泌組織（膵島）から生じ、腺房細胞からはほとんど生じない[Maronpot RR, 2004]。さらに、ヒトにおける稀な腺房細胞癌はラットのような病因をたどらない。すなわち、ヒトにおいて膵腺房細胞の過形成や腺腫は腺房細胞癌の前駆病変ではない。

**甲状腺**

ラットに、医薬品を含む様々な化学物質を与えたときに甲状腺腫瘍の発生率が増加することはよく知られている。このようなラットにおける甲状腺腫瘍はヒトに外挿性が無いことが広く認識されている[Alison RH, 1994][Williams GM, 2007][Cohen SM, 2004]。GPB を投与したラットにおいて、肝臓重量の増加が認められており、全体的な代謝亢進が示唆されている。このような状況下

で甲状腺ホルモンはより速く分解され、TSH による甲状腺濾胞上皮の刺激が増加し、増殖変化が生じる可能性が高い。このメカニズムはヒトには関連性が無いことが知られている[McClain RM, 1995]。ラットでは甲状腺結合グロブリンが欠如しており、ラットとヒトの甲状腺ホルモンの動態には明確な差異があることに起因していると考えられている。

**子宮病変**

子宮内膜間質ポリープは、老齢ラットの子宮における最も一般的な増殖病変である[Brown HR, 1993]。内膜ポリープは特定の腫瘍や他の特異的な病理学的変化に伴って生じることはない。また、ポリープ形成とホルモン刺激との関連もなく[Brown HR, 1993]、特定の医薬品の種類（薬効分類）との関連性もない[Greaves P, 2007]。さらに、ヒトではラットの内膜間質ポリープに組織学的に相同な病変は無い。したがって、この病変はヒトの発がん性リスクを示唆しない。

**ジンバル腺**

げっ歯類ではジンバル腺腫瘍は稀な腫瘍である。しかし、ヒトには対応する臓器は存在しない[Cohen SM, 2004]。米国国家毒性プログラム（NTP）は、ジンバル腺の腫瘍、包皮腺及び陰核腺の腫瘍が非遺伝毒性物質を用いたがん原性で認められた場合にも、これらの臓器がヒトに存在しないことからヒトの発がんリスクを示唆しないとの認識を示している。

**子宮頸部神経鞘腫**

本試験では、中用量（300 mg/kg）群の子宮頸部に悪性神経鞘腫の増加が非用量依存的に観察された。低用量及び高用量群での子宮頸部悪性神経鞘腫の発生率は対照群と同等であった。SAP は、中用量群での子宮頸部悪性神経鞘腫の増加には用量依存性が無いことから、この悪性神経鞘腫は化合物投与に起因せず、ヒトへの外挿性は無いと結論した。

SAP での評価に加えて、米国での以前の申請者である Hyperion 社内において本試験結果がさらに評価されている［報告書 HYP 20[redacted]-002、4.2.3.4.1.3］。2 年間ラットがん原性試験における腫瘍発生率の統計解析には、自然発生腫瘍について「Rare」（<1%）又は「Common」（>1%）の区別をするために、試験施設である[redacted] の対照群の背景データを用いた。背景データでは「Rare」とされた腫瘍のうち、今回の試験で用いた（コンカレント）対照群において、1%を超えた腫瘍がいくつか見られた。雄では副腎皮質（腺癌、腺癌+腺腫）及び膵臓（腺房細胞腺腫、腺房細胞癌+腺腫)、雌では副腎皮質（腺癌）、子宮頸部（神経鞘腫）、甲状腺（濾胞細胞癌）及びジンバル腺（癌）である。無毒性量の決定上で重要となったのは、雄の副腎皮質であった。雄の副腎の癌腫のコンカレント対照群での発生率は Control 1 群で 1.5%、癌腫+腺腫の発生率は Control 1 群で 3%及び Control 2 群で 1.5%であった。今回のコンカレント対照群での発生率に基づき副腎皮質の腫瘍を Common（>1%）とみなした場合には、[redacted]71007 試験の統計学的クライテリアを用いると無毒性量は低用量ではなく中用量となる。これは長期がん原性試験の統計解析に対する FDA のガイダンス（FDA Guidance for Industry: Statistical Aspects of the Design, Analysis, and Interpretation of Chronic Rodent Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals 2001）[FDA, 2001]に記載の方法である。すなわち、今回のがん原性試験の中で、ペアワイズ検定に危険率として Rare 腫瘍であれば 0.05 及び Common 腫瘍であれば 0.01 を用いて評価した。副腎腫瘍は、Rare 腫瘍とされて危険率 0.05 で判断がなされたがコンカレント対照群で認められた発生率から Common とみなした場合には、危険率 0.01 で判断するのが妥当であり統計学的に有意差が認められる用量は雄で 0.65 g/kg/日（ペアワイズ検定、傾向検定とも）となる。また、同様に、雌の子宮頸部の神経鞘腫についてコンカレント対照群で認められた発生率から Common とみなした場合には、中用量 0.30 g/kg/日で認め

られた腫瘍の発生数は統計学的には有意でなくなる。薬剤の影響を調べる試験において最も重要視される対照は、コンカレント対照群であることは科学界での合意事項と考えられる[Keenan C, 2009]。以上から、最終的にラットがん原性試験での発がん性に対する GPB の無毒性量は雄で 0.21 g/kg/日及び雌で 0.30 g/kg/日と判断された。

PBA 及び PAA は広範な種類の生物学的活性を有していること、また、長期間のグリシンの枯渇によって代謝状態が異常となっている可能性があることから、ラット特異的な腫瘍形成のモードオブアクションが成立しているかもしれない。ラットとヒトのいずれにおいても PBA から PAA が生成される一方、ヒトにおいては PAGN が生成されグルタミンの低下を引き起こす。グルタミンの低下は抗がん作用として研究されている既知のメカニズムである。一方ラットで生じる PAG はグリシン枯渇を引き起こし得るが、これはヒトでは生じない。ラットにおいて影響を受けた組織の数から、あるいは個々の腫瘍間で相互関係が知られているものもあることから、今回の結果は総合的に考察する必要性がある。今回のラットがん原性試験における所見は、正常の窒素が補充されていない動物において最高用量での高曝露が持続的な薬理作用を起こし、代謝の変化が持続したことによる異常な反応を示していると考えられる。GPB は、反復投与毒性試験において肝臓に適応性の変化（肥大、細胞質の変化）を誘発することが示されており、これはおそらく PBA の PAA へのβ酸化に対する代謝要求の増加及び PAA から PAG へのグリシン抱合の増加に関連する変化である。

さらに、2 年間ラット反復投与毒性試験における血漿中濃度と被験者における血漿中濃度を比較したところ安全域が認められた。統計学的に有意な腫瘍増加が認められた 0.65 g/kg/日（雄）及び 0.9 g/kg/日（雌）の活性体である PAA の遊離体の血漿中曝露は、ヒトでの PAA の遊離体の曝露のそれぞれ 16 倍及び 29 倍であった（表 2.6.6-8）。

以上のことから、ラット 2 年間がん原性試験で認められた腫瘍の増加は UCD 患者における発がん性のリスクにはならないと判断した。

表 2.6.6-8 ラットがん原性試験及び UCD 患者における血漿中濃度の比較

| Dosage | PAA ($AUC_{last}$) | Margin | $PAA_{free}$ | Margin |
|---|---|---|---|---|
| **Males** | | | | |
| 70 mg/kg/day | 63.15 | < 1 | 49.83 | < 1 |
| 210 mg/kg/day | 425.39 | 1.0 | 335.63 | 1.8 |
| 650 mg/kg/day | 3993.13 | 8.9 | 3150.58 | 16 |
| **Females** | | | | |
| 100 mg/kg/day | 160.18 | < 1 | 126.38 | < 1 |
| 300 mg/kg/day | 1618.0 | 3.6 | 1276.6 | 6.7 |
| 900 mg/kg/day | 7106.03 | 16 | 5606.66 | 29 |

AUC = area under the curve; $AUC_{last}$ = total plasma exposure at the last measurable concentration; PAA = phenylacetate; UCD = urea cycle disorder.
All human values are based on the $AUC_{0-24}$ of 447 µg·h/mL (Phase 3 clinical study HPN-100-006) with a free fraction $AUC_{0-24}$ of 191.76.

### 生殖発生毒性

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、雌雄とも生殖発生に関する無毒性量は 0.9 g/kg/日であった。雄に 1.2 g/kg/日を投与した場合に、GPB 投与/非投与のいずれ

の雌と交配させた場合においても死亡胚数の増加が認められた。

ラット胚･胎児発生試験においては､母体の毒性が認められる 0.65 及び 0.9 g/kg/日群において、胎児体重の減少及び骨格の異常（変異、発育遅延）を有する胎児数の増加が認められた。また、0.9 g/kg/日群において尾の奇形（索状尾、短尾）の軽微な増加が認められたが、統計学的有意差は無かった。これらの変化は妊娠初期に母体の体重増加の減少や摂餌量の減少が生じたときにおこる変化として知られている変化である[Chernoff N, 2008]。本試験の母動物の一般毒性における無毒性量は 0.3 g/kg/日であり、0.9 g/kg/日群では、活動性低下などの中枢症状、体重増加量の減少などの母動物の毒性が認められ、PAA の DG17 における曝露量（AUC）は 6336 μg•hr/mL であり、ヒト臨床における曝露量（HPN-100-006 試験; 447 μg•hr/mL）を 10 倍以上超えた用量であった。同様に、幼若動物を用いた試験（[redacted]U0007 試験）の 1.2 g/kg/日群では胎児に尾の異常などが認められているが、体重増加量が対照群と比較して低く、PND50 の AUC は 8504 μg•hr/mL であり、ヒト臨床における曝露量を 10 倍以上超えた用量であった。医薬品非臨床試験ガイドライン解説［医薬品非臨床試験ガイドライン研究会 2024］によると「母動物に重篤な毒性を引き起こす投与量での胚・胎児の死亡及び形態異常の発現については、ヒトのリスクとして評価する意義は限定的と考えられる」とされている。これらのことからこれらのラット胚・胎児発生試験における尾の変化は詳細な発現機序は不明なものの、母動物への毒性による二次的な変化と判断し、毒性学的に意義のある催奇形性とは判断しなかった。

ウサギ胚・胎児発生試験において、GPB は 0.35 g/kg/日までの用量で投与に関連した外表、内臓及び骨格異常の増加を示さなかった。母体及び発生毒性に関する無毒性量は 0.35 g/kg/日であった。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生、並びに母体の機能に関する試験において、0.6 g/kg/日群及び 0.9 g/kg/日群における母動物（F0）の体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。また、0.9 g/kg/日群では妊娠期間の延長と出生児体重の減少が認められた。出生児（F1）の生存率、発育、性成熟、学習及び記憶、並びに生殖能に影響は無かった。以上のことから、F0 母動物の一般毒性に対する無毒性量は 0.3 g/kg/日、生殖能に対する無毒性量は 0.6 g/kg/日、次世代 F1）の出生前及び出生後の発生に対する無毒性量は 0.9 g/kg/日と判断された。

幼若動物を用いた試験では、新生児に生後 2 日から 50 日（PND 2-50）の間投与する試験及び PND2 から妊娠 20 日（DG20）まで投与する試験を実施した。PND50 までの投与では、白血球数、好中球数及びリンパ球数の減少、AST、ALT 及び A/G 比の上昇が 1.2 g/kg/日群で認められた。副腎及び卵巣重量の低値が 1.2 g/kg/日群で認められたが、病理組織学的所見を伴わなかった。病理組織学的には、GPB の全投与群で肝の辺縁帯での軽度な細胞浸潤が認められた。幼若ラットにおける GPB の無毒性量は 0.9 g/kg/日と判断された。DG20 までの投与試験では、雄の 0.9 g/kg/日以上の群で体重及び体重増加量の低値、雌では全 GPB 投与群で妊娠時の体重増加量が低値であった。また、1.2 g/kg/日群で膣開口の遅延、血小板数の減少、プロトロンビン時間の延長、A/G 比及びトリグリセリド値の高値が認められた。全 GPB 投与群で、生殖発生に関するパラメータに影響が認められた。外表の異常（臍ヘルニア及び尾の異常）が母体の毒性が認められる 0.9 及び 1.2 g/kg/日群で認められた。本試験における性成熟及び授受胎能に関する無毒性量は 0.9 g/kg/日、発生毒性に関する無毒性量は 0.65 g/kg/日未満と判断された。

**結論**

以上のように、一般毒性試験において、GPB 投与に起因して肝臓、中枢神経系及び造血系に影

響が認められた。これらの影響は軽微、散発的又は代償性の変化のいずれかであり、毒性学的な意義は低く、ヒトのリスクとはならないと考えられた。遺伝毒性のリスクは無かった。ラット 2 年間がん原性試験において、種々の腫瘍が認められたものの患者のリスクとはならないと判断された。生殖発生毒性では、母動物への影響のある用量において胎児体重などに影響が認められたが、催奇形性は無く実臨床における大きな懸念は無いと考えられた。

### 2.6.6.10 図表

本文中に示した。

## 2.6.6.11 参考文献

Alison RH, Capen CC, and Prentice DE.: Neoplastic lesions of questionable significance to humans. Toxicol Pathol. 1994; 22(2): 179-186.

Brown HR, Leininger JR: Alterations of the Uterus. In: Mohr U, Dungworth DL, Capen CC.: Pathobiology of the Aging Rat. International Life Sciences Institute. Washington DC. 1993; pp. 377-388.

Chernoff N, Rogers EH, Gage MI, and Francis BM.: The relationship of maternal and fetal toxicity in developmental toxicology bioassays with notes on the biological significance of the "no observed adverse effect level". Reprod Toxicol. 2008 Feb; 25(2): 192-202.

Cohen SM. Human carcinogenic risk evaluation: an alternative approach to the two-year rodent bioassay. Toxicol Sci. 2004 Aug; 80(2): 225-229.

Dominick MA, Bobrowski WF, Metz AL.: Proliferative exocrine pancreatic lesions in aged Wistar rats. Toxicol Pathol. 1990; 18(3): 423-426.

Environmental Protection Agency (USA): TOXICOLOGICAL REVIEW OF METHANOL (NONCANCER) In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS), EPA, 2013, p15.

Food and Drug Administration: Guidance for Industry: Statistical Aspects of the Design, Analysis, and Interpretation of Chronic Rodent Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals. 2001.

Food and Drug Administration: Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. 2005.

Greaves P. 2007. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. Elsevier Academic Press. San Diego CA. third ed. pp677-689.

IARC: International Agency for Research on Cancer. [redacted]. IARC Monogr Identif Carcinog Hazards Hum [redacted].

IARC: International Agency for Research on Cancer. [redacted]. In: Some Industrial chemicals. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. [redacted].

Keenan C, Elmore S, Francke-Carroll S, Kemp R, Kerlin R, Peddada S, et al.: Best practices for use of historical control data of proliferative rodent lesions. Toxicol Pathol. 2009 Aug; 37(5): 679-693.

Klaunig JE, Babich MA, Baetcke KP, Cook JC, Corton JC, David RM, et al.: PPARalpha agonist-induced rodent tumors: modes of action and human relevance. Crit Rev Toxicol. 2003; 33(6): 655-780.

Maronpot RR, Flake G, Huff J. Relevance of animal carcinogenesis findings to human cancer predictions and prevention. Toxicol Pathol. 2004 Mar-Apr; 32 Suppl 1: 40-48.

McClain RM.: Mechanistic considerations for the relevance of animal data on thyroid neoplasia to human risk assessment. Mutat Res. 1995 Dec;333(1-2):131-142.

Ministry of Health, Labour and Welfare 厚生労働省食品規格部会: 酒精飲料中のメタノールの取り扱いについて, 2019. https://www.mhlw.go.jp/content/11121000/000547053.pdf

Moldave K, and Meister A.: Synthesis of phenylacetylglutamine by human tissue. J Biol Chem. 1957 Nov; 229(1): 463-476.

National Toxicology Program (USA): NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Methanol. NTP CERHR MON2003 Sep; (8): i-III35

Ribelin WE. The effects of drugs and chemicals upon the structure of the adrenal gland. Fundam Appl Toxicol. 1984 Feb; 4(1): 105-119.

Williams GM, Iatropoulos MJ, and Enzmann HG,: Principles of Testing for Carcinogenic Activity. In: Hayes AW.: Principles and Methods of Toxicology 5th Edition. CRC Press. 2007; pp1271-1316.

World Health Organization: Environmental Health Criteria196: Methanol, Geneva. 1997 https://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc196.htm#SectionNumber:1.7

# フェニル酪酸グリセロール
## ラヴィクティ内用液 1.1 g/mL

## 第 2 部 CTD の概要
## 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
## 2.6.7 毒性試験概要表

## 株式会社オーファンパシフィック

## 略号一覧表

| 略語・略号 | 略していない表現（英語） | 略していない表現（日本語） |
|---|---|---|
| ALP | alkaline phosphatase | アルカリホスファターゼ |
| ALT | alanine aminotransferase | アラニンアミノトランスフェラーゼ |
| AST | aspartate aminotransferase | アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ |
| AUC | area under the concentration vs. time curve | 血中濃度－時間曲線下面積 |
| $AUC_{\infty}$ | Area under the curve from time of dosing extrapolated to infinity | 無限大まで外挿したときの AUC |
| $AUC_{last}$ | area under the curve from the time of dosing to the time of the last observation | 測定した最終時点までの AUC |
| BUN | blood urea nitrogen | 血液尿素窒素 |
| CHO | chinese hamster ovary | チャイニーズハムスター卵巣 |
| $C_{max}$ | maximum concentration of the drug after dosing | 投与後の最高血中濃度 |
| DMSO | dimethylsulfoxide | ジメチルスルホキシド |
| F | female | 雌 |
| DG | day of gestation | 妊娠からの日数 |
| GGT | gamma glutamyltransferase | γグルタミルトランスフェラーゼ |
| GPB | glycerol phenylbutyrate | フェニル酪酸グリセロール |
| HPBL | human peripheral blood lymphocytes | ヒト末梢血リンパ球 |
| HPN-100 | investigational ingredient code of GPB | HPN-100（GPB の治験薬コード） |
| IU | international unit | 国際単位 |
| LC-MS/MS | liquid chromatography-tandem mass spectrometry | 液体クロマトグラフィータンデム質量分析 |
| M | male | 雄 |
| MTD | maximum tolerated dose | 最大耐量 |
| N/A | not applicable | 該当せず |
| NaPBA | sodium phenylbutyrate | フェニル酪酸ナトリウム |
| NC | not calculable | 計算不可 |
| ND | not determined | 決定せず |
| NE | not evaluated | 評価せず |
| NOAEL | no observed adverse effect level | 無毒性量 |
| NZW | New Zealand White | ニュージーランドホワイト |
| PAA | phenylacetic acid | フェニル酢酸 |
| PAG | phenylacetylglycine | フェニルアセチルグリシン |
| PAGN | phenylacetylglutamine | フェニルアセチルグルタミン |
| PBA | phenylbutyrate | フェニル酪酸 |
| PBG | phenylbutyrylglycine | フェニルブチリルグリシン |
| PBGN | phenylbutyrylglutamine | フェニルブチリルグルタミン |
| PND | postnatal day | 出生後日数 |
| PT | prothrombin time | プロトロンビン時間 |
| RBC | red blood cell | 赤血球 |
| s | second | 秒 |
| SAP | scientific advisory panel | 科学諮問委員会 |
| $T_{1/2}$ | half life | 半減期 |
| TK | toxicokinetic | トキシコキネティクス |
| TID | three times a day | 1 日 3 回（投与） |
| $T_{max}$ | time to $C_{max}$ | 投与後の最高血中濃度到達時間 |
| UCD | urea cycle disorder | 尿素サイクル異常症 |

# 目次

頁
略号一覧表 2
2.6.7 毒性試験概要表 4
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 15
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 17
2.6.7.4 毒性試験：使用ロット 35
2.6.7.5 単回投与毒性試験 38
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 44
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 46
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 84
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 114
2.6.7.10 がん原性試験 115
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 123
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 126
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 130
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 143
2.6.7.15 新生児を用いた試験 149
2.6.7.16 局所刺激性試験 160
2.6.7.17 その他の毒性試験 161

# 2.6.7 毒性試験概要表

## 2.6.7.1 毒性試験：一覧表

表 2.6.7-1 GPB の毒性試験一覧表

| **Overview** | | | | | | **Test Article: (GPB)** | **Glycerol Phenylbutyrate** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Type of Study** | **Species and Strain** | **Method of Administration** | **Duration of Dosing** | **Doses (g/kg)** | **GLP Compliance** | **Testing Facility** | **Study Number** | **Location** |
| Single-Dose Toxicity | Rats/Crl:CD® (SD)IGS BR | Oral/gavage | Single dose | 0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.5, 2.3 and 4.5 | Yes[a] | [redacted] | [redacted]10001 | [4.2.3.1-1] |
| Single-Dose Toxicity | Monkeys/ Cynolmolgus | Oral/gavage (nasogastric intubation) | Single dose | Phase 1[b] (Escalating Dose): 0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.8, 2.4, 3.5, 4.5 and 6.5 Phase 2 (MTD): 6.5 | Yes[a,c] | [redacted] | [redacted]10003 | [4.2.3.1-2] |
| Repeat-Dose Toxicity | Mice/ CByB6F1 hybrid | Oral/gavage | 5 days | 0 (corn oil), 0.6, 0.9, 1.2, 1.5 and 2.0 | Yes | [redacted] | [redacted]2G3R | [4.2.3.2-2] |
| Repeat-Dose Toxicity | Mice/ CByB6F1 hybrid | Oral/gavage | 5 days | 0 (corn oil), 2.0, 3.0, 4.0, and 5.0 | Yes | [redacted] | [redacted]2G3R | [4.2.3.2-2] |
| Repeat-Dose Toxicity | Mice/Crl: CD1® ICR | Oral/gavage | 14 days | 0 (corn oil), 0.65, 0.90, 1.2 and 2.0 | Yes | [redacted] | [redacted]10007 | [4.2.3.2-1] |

表 2.6.7-1　GPB の毒性試験一覧表（続き）

| Type of Study | Species and Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Doses (g/kg) | GLP Compliance | Testing Facility | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Repeat-Dose Toxicity | Mice/ CByB6F1 hybrid | Oral/gavage | 28 days | Males: 0 (corn oil), 0.60, 0.90, and 1.20<br><br>Females: 0 (corn oil), 0.90, 1.50, and 2.00 | Yes | [redacted] | [redacted] 2G3R | [4.2.3.2-2] |
| Repeat-Dose Toxicity | Mice/Crl: CD1® ICR | Oral/gavage | 13 weeks | 0 (corn oil), 0.65, 0.90 and 1.2 | Yes | [redacted] | [redacted] 10008 | [4.2.3.2-3] |
| Repeat-Dose Toxicity | Rats/ Crl:CD® (SD)IGS BR | Oral/gavage | 14 days | 0 (corn oil), 0.65, 0.9 and 1.2 | Yes | [redacted] | [redacted] 10002 | [4.2.3.2-4] |
| Repeat-Dose Toxicity | Rats/Crl:CD (SD) | Oral/gavage | 13 weeks | 0 (corn oil), 0.65, 0.9 and 1.2 | Yes[d] | [redacted] | [redacted] 10009 | [4.2.3.2-5] |
| Repeat-Dose Toxicity | Rats/Crl:CD (SD) | Oral/gavage | 26 weeks | 0 (corn oil), 0.65, 0.9 and 1.2 | Yes | [redacted] | [redacted] 71001 | [4.2.3.2-6] |

表 2.6.7-1　GPB の毒性試験一覧表（続き）

| Type of Study | Species and Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Doses (g/kg) | GLP Compliance | Testing Facility | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Repeat-Dose Toxicity | Monkeys/ Cynomolgus | Oral/Nasogastric intubation | 14 days | *Phase 1* Day 1: 0 (corn oil), 1, 5 and 10 Day 2: 0, 1, 2.5 and 5 *Phase 2* 0 (corn oil), 1, 2.5 and 3.5 | Yes | [redacted] | [redacted]2-105 | [4.2.3.2-7] |
| Repeat-Dose Toxicity | Monkeys/ Cynomolgus | Oral/Nasogastric intubation | 13 weeks | 0 (corn oil), 0.75, 1.25 and 1.75 | Yes[d] | [redacted] | [redacted]10010 | [4.2.3.2-8] |
| Repeat-Dose Toxicity | Monkeys/ Cynomolgus | Oral/Nasogastric intubation | 52 weeks | 0 (corn oil), 0.7, 1.1 and 1.5 | Yes | [redacted] | [redacted]71002 | [4.2.3.2-9] |
| Genotoxicity | *S. typhimurium*/ TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli*/ WP2*uvr*A | *In vitro* | 52 ± 4 hour incubation With or without S9 activation | 0 (DMSO), 10.0, 33.3, 100, 333, 1000 and 5000 µg/plate | Yes | [redacted] | [redacted]2-100 | [4.2.3.3.1-1] |

表 2.6.7-1 GPB の毒性試験一覧表（続き）

| Type of Study | Species and Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Doses (g/kg) | GLP Compliance | Testing Facility | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotoxicity | Human lymphocytes | *In vitro* | Initial assay: 3 hour incubation with or without activation<br><br>Confirmatory assay: ~22 hour incubation without activation, 3 hour incubation with activation | Initial assay: 0 (DMSO), 82.4, 168, 240, and 343 µg/mL without activation and 118, 168, 240, and 343 µg/mL with activation<br><br>Confirmatory assay: 0 (DMSO), 250, 300, 350, and 42 µg/mL without activation and 300, 350, 425, and 500 µg/mL with activation | Yes | [redacted] | [redacted]2-101 | [4.2.3.3.1-2] |
| Genotoxicity | Rats/Crl:CD (SD)BR | Oral/gavage | Dose range-finding assay: Single dose with a 2 day observation period<br><br>Micronucleus assay: 24 or 48 hours | Dose range-finding assay: 0.5, 1, and 2<br><br>Micronucleus assay: 0 (corn oil), 0.5, 1, and 2 | Yes | [redacted] | [redacted]2-102 | [4.2.3.3.2-1] |

表 2.6.7-1 GPB の毒性試験一覧表（続き）

| Type of Study | Species and Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Doses (g/kg) | GLP Compliance | Testing Facility | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Carcinogenicity | Mice/ Tg.rasH2 | Oral/gavage | 26 weeks | 0 (water), 0 (water), 0.60, 1.0 | Yes | [redacted] | [redacted]7G8R | [4.2.3.4.2-1] |
| Carcinogenicity | Rats/ Crl:CD (SD) | Oral/gavage | 2 years | Males: 0 (water), 0 (corn oil), 0.07, 0.21, and 0.65; Females: 0 (water), 0 (corn oil), 0.10, 0.30, and 0.90 | Yes | [redacted] | [redacted]71007 | [4.2.3.4.1-1] |
| FEED | Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | M: 28 Days prior to mating through sacrifice F: 15 days prior to mating through DG 7 | 0 (corn oil), 0.65, 0.9, 1.2 | Yes | [redacted] | [redacted]Y00011 | [4.2.3.5.1-1] |
| EFD (Dose Range Finding) | Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | DG 7 to 17 | 0 (corn oil), 0.65, 0.9, 1.2, 1.5 | Yes | [redacted] | [redacted]Y00007 | [4.2.3.5.2-1] |
| EFD | Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | DG 7 to 17 | 0 (corn oil), 0.3, 0.65, 0.9 | Yes | [redacted] | [redacted]Y00008 | [4.2.3.5.2-2] |
| EFD (Dose Range Finding) | Rabbits/ Hra: (NZW) SPF | Oral/gavage | DG 7 to 19 | 0 (corn oil), 0.2, 0.4, 0.6 | Yes | [redacted] | [redacted]Y00009 | [4.2.3.5.2-3] |

表 2.6.7-1 GPB の毒性試験一覧表（続き）

| Type of Study | Species and Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Doses (g/kg) | GLP Compliance | Testing Facility | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| EFD | Rabbits/ Hra: (NZW) SPF | Oral/gavage | DG 7 to 19 | 0 (corn oil), 0.15, 0.25, 0.35 | Yes | [redacted] | [redacted]Y00010 | [4.2.3.5.2-4] |
| PPND | Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | DG 7 to LD 20 or until DG 24 for rats not delivering a litter | 0 (corn oil), 0.3, 0.6, 0.9 | Yes | [redacted] | [redacted]Y00012 | [4.2.3.5.3-1] |
| Juvenile Toxicity: Dose Range Finding | Neonatal Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | Initial study: PND 2-15<br><br>Extension study: PND 2-34 | Initial: 0 (corn oil), 0.65, 0.9, 1.2<br><br>Extension: 1, 2, 4, 6 | Yes | [redacted] | [redacted]U00006 | [4.2.3.5.4-1] |
| Juvenile Toxicity | Neonatal Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | Parts A&B: 0, 0.65, 0.9, 1.2 | Part A: PND 2-50<br><br>Part B: Males: PND 2 through PND 127 to 129 Females: PND 2 through DG 20 | Yes | [redacted] | [redacted]U00007 | [4.2.3.5.4-2] |

DMSO= dimethyl sulfamethoxazole, EFD: Embyo-fetal development, FEED: Fertility and early embryo development, GLP=good laboratory practices, MTD=maximum tolerated dose, PPND: Pre- and postnatal development, SD=standard deviation

[a]: Study was GLP, with the exception of the analyses of the dosing formulations were not conducted according to GLP standards.

[b]: Animals were dosed once at a given dose level. After 1 – 6 days without dosing, the dose was increased.

[c]: Study was GLP, with the exception of the Plasma Analysis Data and Report were not prepared according to GLP standards.

[d]: The study was GLP, with the exception of the plasma amino acid analysis was not performed according to GLP standards.

表 2.6.7-2　PBA、PAA、PAGN、及び PAG の毒性試験一覧表

| **Overview** | | | | | | **Test Articles: 4-phenylbutyrate (PBA), Phenylacetic Acid (PAA), and Phenylacetylglutamine (PAGN)** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Type of Study/Test Article** | **Species and Strain** | **Method of Administration** | **Duration of Dosing** | **Doses** | **GLP Compliance** | **Testing Facility** | **Study Number** | **Location** |
| Genotoxicity/ PBA | *S.typhimurium*/ TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli*/ WP2*uvr*A | *In vitro* | 48-72 hour incubation<br><br>With or without S9 activation | 0 (DMSO), 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate | Yes[a] | [redacted] | [redacted]A. 503 | [4.2.3.3.1-3] |
| Genotoxicity/ PBA | Chinese hamster ovary cells | *In vitro* | Initial toxicity and chromosome aberration assays: 4- hour incubation with or without S9 activation; 20-hour incubation without activation | Toxicity assay: 0 (DMSO), 0.164, 0.492, 1.64, 4.92, 16.4, 49.2, 164, 492, and 1640 µg/mL Chromosome aberration assay: 0 (DMSO), 243, 486, 970, 1080, 1150, 1200, and 1260 µg/mL | Yes[a] | [redacted] | [redacted]A. 331 | [4.2.3.3.1-4] |

表 2.6.7-2 PBA、PAA、PAGN、及び PAG の毒性試験一覧表（続き）

| Type of Study/Test Article | Species and Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Doses | GLP Compliance | Testing Facility | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotoxicity/ PBA | human peripheral blood lymphocytes | *In vitro* | Initial toxicity and chromosome aberration assays: 4- hour incubation with or without S9 activation; 20-hour incubation without activation | Toxicity assay: 0 (DMSO), 210, 419, 840, 1080, 1320 and 1640 µg/mL Chromosome aberration assay: 0 (DMSO), 85, 165, 327, 419, 512, 650, 840, 1080, 1320 and 1640 µg/mL | Yes[a] | [redacted] | [redacted]A.341 | [4.2.3.3.1-5] |
| Genotoxicity/ PAA | *S. typhimurium*/ TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli*/ WP2*uvr*A | *In vitro* | 48-72 hour incubation With or without S9 activation | 0 (DMSO), 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate | Yes[a] | [redacted] | [redacted]B. 503[redacted] | [4.2.3.3.1-6] |

表 2.6.7-2 PBA、PAA、PAGN、及び PAG の毒性試験一覧表（続き）

| Type of Study/Test Article | Species and Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Doses | GLP Compliance | Testing Facility | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotoxicity/ PAA | Chinese hamster ovary cells | *In vitro* | Initial toxicity and chromosome aberration assays: 4- hour incubation with or without S9 activation; 20-hour incubation without activation | Toxicity assay: 0 (DMSO), 0.136, 0.408, 1.36, 4.08, 13.6, 40.8, 136, 408, and 1360 µg/mL Chromosome aberration assay: 0 (DMSO), 116, 233, 466, 666, 950, and 1360 µg/mL | Yes[a] | [redacted] | [redacted]B. 331[redacted] | [4.2.3.3.1-7] |
| Genotoxicity/ PAGN | *S. typhimurium*/ TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli*/ WP2*uvr*A | *In vitro* | 48-72 hour incubation With or without S9 activation | 0 (water), 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate | Yes[a] | [redacted] | [redacted]J. 503[redacted] | [4.2.3.3.1-8] |

表 2.6.7-2 PBA、PAA、PAGN、及び PAG の毒性試験一覧表（続き）

| Type of Study/Test Article | Species and Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Doses | GLP Compliance | Testing Facility | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotoxicity/ PAGN | Chinese hamster ovary cells | *In vitro* | Initial toxicity and chromosome aberration assays: 4- hour incubation with or without S9 activation; 20-hour incubation without activation | Toxicity assay: 0 (water), 0.2643, 0.793, 2.643, 7.93, 26.43, 79.3, 264.3, 793, 2643 µg/mL<br><br>Chromosome aberration assay: 0 (water), 520, 1040, 1480, 2110, and 2643 µg/mL | Yes[a] | [redacted] | [redacted]J. 331 | [4.2.3.3.1-9] |
| Genotoxicity/ PAG | *S. typhimurium*/ TA98, TA100, TA1535, TA1537 *E. coli*/ WP2*uvr* A | *In vitro* | 48-72 hour incubation<br><br>With or without S9 activation | 0 (water), 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate | Yes[a] | [redacted] | [redacted]K. 50 3[redacted] | [4.2.3.3.1-11] |

表 2.6.7-2 PBA、PAA、PAGN、及び PAG の毒性試験一覧表（続き）

| Type of Study/Test Article | Species and Strain | Method of Administration | Duration of Dosing | Doses | GLP Compliance | Testing Facility | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotoxicity/ PAG | Chinese hamster ovary cells | *In vitro* | Initial toxicity and chromosome aberration assays: 4- hour incubation with or without S9 activation; 20-hour incubation without activation | Toxicity assay: 0 (water), 0.2643, 0.793, 2.643, 7.93, 26.43, 79.3, 264.3, 793, 2643 µg/mL<br><br>Chromosome aberration assay: 0 (water), 80, 162, 324, 460, 660, 950, 1350, 1932 µg/mL | Yes[a] | [redacted] | [redacted]K. 331 | [4.2.3.3.1-10] |

DMSO= dimethyl sulfamethoxazole, GLP=good laboratory practices, MTD=maximum tolerated dose, SD=standard deviation
[a]: Study was GLP, except that the analyses of the test article and dosing formulations were not conducted according to GLP standards.

## 2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7-3 GPB のトキシコキネティクス試験一覧表

| **Overview of Toxicokinetics Studies** | | | | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Type of Study** | **Test System** | **Method of Administration** | **Doses (g/kg)** | **GLP Compliance** | **Study Number** | **Location** |
| Single Dose Oral Toxicity Study | Rats | Oral/Gavage | 0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.5, 2.3 and 4.5 | Yes[a] | [redacted]10001 | [4.2.3.1-1] |
| Single Dose Oral Toxicity Study | Monkeys | Oral/Gavage (nasogastric intubation) | Phase 1[d] (Escalating Dose): 0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.8, 2.4, 3.5, 4.5, and 6.5<br>Phase 2 (MTD): 6.5 | Yes[a,b] | [redacted]10003 | [4.2.3.1-2] |
| 28-Day Oral Toxicity Study | Mice | Oral/Gavage | Male: 0 (corn oil), 0.60, 0.90, and 1.20<br>Female: 0 (corn oil), 0.90, 1.50, and 2.00 | Yes | [redacted]2G3R[redacted] | [4.2.3.2-2] |
| 13-Week Oral Toxicity Study | Mice | Oral/Gavage | 0 (corn oil), 0.65, 0.90 and 1.2 | Yes | [redacted]10008 | [4.2.3.2-3] |
| 14-Day Oral Toxicity Study | Rats | Oral/Gavage | 0 (corn oil), 0.65, 0.9 and 1.2 | Yes | [redacted]10002 | [4.2.3.2-4] |
| 13-Week Oral Toxicity Study | Rats | Oral/Gavage | 0 (corn oil), 0.65, 0.9 and 1.2 | Yes[c] | [redacted]10009 | [4.2.3.2-5] |
| 26-Week Oral Toxicity Study | Rats | Oral/Gavage | 0 (corn oil), 0.65, 0.9 and 1.2 | Yes | [redacted]71001 | [4.2.3.2-6] |
| 14-Day Oral Toxicity | Monkeys | Oral/Nasogastric intubation | *Phase 1*<br>Day 1: 0 (corn oil), 1, 5 and 10<br>Day 2: 0 (corn oil), 1, 2.5 and 5<br>*Phase 2*<br>0 (corn oil), 1, 2.5 and 3.5 | Yes | [redacted]2-105 | [4.2.3.2-7] |
| 13-Week Oral Toxicity | Monkeys | Oral/Nasogastric intubation | 0 (corn oil), 0.75, 1.25 and 1.75 | Yes[c] | [redacted]10010 | [4.2.3.2-8] |

表 2.6.7-3 GPB のトキシコキネティクス試験一覧表（続き）

| Type of Study | Test System | Method of Administration | Doses (g/kg) | GLP Compliance | Study Number | Location |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 52-Week Oral Toxicity | Monkeys | Oral/Nasogastric intubation | 0 (corn oil), 0.7, 1.1 and 1.5 | Yes[c] | [redacted]71002 | [4.2.3.2-9] |
| Carcinogenicity | Rats | Oral/gavage | Male: 0.07, 0.21, and 0.65<br>Female: 0.10, 0.30, and 0.90 | Yes | [redacted]71007 | [4.2.3.4.1-1] |
| EFD (Dose Range Finding) | Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | 0, 0.65, 0.9, 1.2, 1.5 | Yes | [redacted]Y00007 | [4.2.3.5.2-1] |
| EFD | Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | 0 (corn oil), 0.3, 0.65, 0.9 | Yes | [redacted]Y00008 | [4.2.3.5.2-2] |
| EFD (Dose Range Finding) | Rabbits/ Hra: (NZW) SPF | Oral/gavage | 0 (corn oil), 0.2, 0.4, 0.6 | Yes | [redacted]Y00009 | [4.2.3.5.2-3] |
| EFD | Rabbits/ Hra: (NZW) SPF | Oral/gavage | 0 (corn oil), 0.15, 0.25, 0.35 | Yes | [redacted]Y00010 | [4.2.3.5.2-4] |
| Juvenile Toxicity: Dose Range Finding | Neonatal Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | Initial:<br>0 (corn oil), 0.65, 0.9, 1.2<br><br>Extension: 1, 2, 4, 6 | Yes | [redacted]U00006 | [4.2.3.5.4-1] |
| Juvenile Toxicity | Neonatal Rats/ CRL:CD (SD) | Oral/gavage | Part A:<br>PND 2-50<br><br>Part B:<br>Males: PND 2 through PND 127 to 129<br>Females: PND 2 through DG 20 | Yes | [redacted]U00007 | [4.2.3.5.4-2] |

EFD: Embyo-fetal development, GLP=good laboratory practices, GPB=glycerol phenylbutyate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], SD=standard deviation
[a]: Study was GLP, with the exception of the analyses of the dosing formulations were not conducted according to GLP standards.
[b]: Study was GLP, with the exception of the Plasma Analysis Data and Report were not prepared according to GLP standards.
[c]: The study was GLP, with the exception of the plasma amino acid analysis was not performed according to GLP standards.
[d]: Animals were dosed once at a given dose level. After 1 – 6 days without dosing, the dose was increased.

## 2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績

| **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | **Overview of Toxicokinetics Data** | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg)** | **Mice** | | **Rats** | | **Monkeys** | | **Study Duration** | **GLP Compliance** | **Study Number** |
| | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | | | |
| **Single Dose Oral Toxicity Study** $AUC_{0\text{-}t}$ [b] (hr·µg/mL) | | | | | | | | | [redacted] 10001[a,g] 10003[b,g,h] |
| **PBA** | | | | | | | | | |
| 0.45 | | | 436.2 | 232.0 | 359.0 | 149.8 | Single dose | Yes | |
| 0.65 | | | 524.4 | 874.9 | 386.5 | 304.4 | Single dose | Yes | |
| 0.9 | | | 1490.5 | 1333.0 | 663.4 | 316.7 | Single dose | Yes | |
| 1.2 | | | 1429.9 | 1419.3 | 460.8 | 508.2 | Single dose | Yes | |
| 1.5 | | | 3985.3 | 2481.5 | | | Single dose | Yes | |
| 1.8 | | | | | 852.2 | 518.3 | Single dose | Yes | |
| 2.3 | | | 17352.0 | 6887.5 | | | Single dose | Yes | |
| 2.4 | | | | | 552.1 | 580.4 | Single dose | Yes | |
| 3.5 | | | | | 934.8 | 891.6 | Single dose | Yes | |
| 4.5 | | | 890.7 | 2494.2 | 638.4 | 884.5 | Single dose | Yes | |
| 6.5 (Phase 1) | | | | | 1133.7 | 997.7 | Single dose | Yes | |
| 6.5 (Phase 2) | | | | | 903.2 | 949.1 | Single dose | Yes | |
| **PAA** | | | | | | | | | |
| 0.45 | | | 508.4 | 406.7 | 1899.0 | 334.9 | Single dose | Yes | |
| 0.65 | | | 1375.6 | 1355.7 | 2179.0 | 859.3 | Single dose | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| 0.9 | | | 3214.6 | 4150.7 | 5040.8 | 1060.2 | Single dose | Yes | |
| 1.2 | | | 6842.0 | 8211.9 | 4684.2 | 3421.7 | Single dose | Yes | |
| 1.5 | | | 9666.9 | 6497.9 | | | Single dose | Yes | |
| 1.8 | | | | | 8784.6 | 2665.1 | Single dose | Yes | |
| 2.3 | | | 28985.9 | 20560.0 | | | Single dose | Yes | |
| 2.4 | | | | | 8507.6 | 5080.4 | Single dose | Yes | |
| 3.5 | | | | | 6368.2 | 5424.4 | Single dose | Yes | |
| 4.5 | | | 139.7 | 889.2 | 6245.2 | 3810.4 | Single dose | Yes | |
| 6.5 (Phase 1) | | | | | 27049.0 | 3171.7 | Single dose | Yes | |
| 6.5 (Phase 2) | | | | | 6544.9 | 4852.0 | Single dose | Yes | |
| **PAG** | | | | | | | | | |
| 0.45 | | | 83 | 132 | | | Single dose | Yes | |
| 0.65 | | | 142 | 159 | | | Single dose | Yes | |
| 0.9 | | | 324 | 179 | | | Single dose | Yes | |
| 1.2 | | | 382 | 288 | | | Single dose | Yes | |
| 1.5 | | | 295 | 387 | | | Single dose | Yes | |
| 2.3 | | | 2298 | 3054 | | | Single dose | Yes | |
| 4.5 | | | 18 | 58 | | | Single dose | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **PAGN** | | | | | | | | | |
| 0.45 | | | | | 230.2 | 93.8 | Single dose | Yes | |
| 0.65 | | | | | 324.2 | 171.6 | Single dose | Yes | |
| 0.9 | | | | | 503.3 | 288.8 | Single dose | Yes | |
| 1.2 | | | | | 457.7 | 373.8 | Single dose | Yes | |
| 1.8 | | | | | 563.7 | 374.3 | Single dose | Yes | |
| 2.4 | | | | | 671.0 | 510.7 | Single dose | Yes | |
| 3.5 | | | | | 878.9 | 603.5 | Single dose | Yes | |
| 4.5 | | | | | 750.6 | 949.4 | Single dose | Yes | |
| 6.5 (Phase 1) | | | | | 1390.4 | 1379.0 | Single dose | Yes | |
| 6.5 (Phase 2) | | | | | 790.1 | 381.7 | Single dose | Yes | |

表 2.6.7-4　GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **14-Day Oral Toxicity Study** $AUC_{0\text{-}t}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | | [redacted]10002[a] 2-105[b] |
| **PBA (Day 0[a]/1[b])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 507 | 567 | | | 14 Days | Yes | |
| 0.90 | | | 794 | 784 | | | 14 Days | Yes | |
| 1 | | | | | 491 | 617 | 14 Days | Yes | |
| 1.2 | | | 1719 | 1607 | | | | Yes | |
| 2.5 | | | | | 912 | 1481 | 14 Days | Yes | |
| 3.5 | | | | | 942 | 542 | 14 Days | Yes | |
| **PAA (Day 0[a]/1[b])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 966 | 891 | | | 14 Days | Yes | |
| 0.90 | | | 2036 | 1355 | | | 14 Days | Yes | |
| 1 | | | | | 3488 | 5353 | 14 Days | Yes | |
| 1.2 | | | 2530 | 5346 | | | 14 Days | Yes | |
| 2.5 | | | | | 8168 | 16105 | 14 Days | Yes | |
| 3.5 | | | | | 9031 | 6090 | 14 Days | Yes | |
| **PAG (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 237 | 236 | | | 14 Days | Yes | |
| 0.90 | | | 529 | 512 | | | 14 Days | Yes | |
| 1.2 | | | 630 | 516 | | | 14 Days | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **PAGN (Day 1)** | | | | | | | | | |
| 1 | | | | | 700 | 808 | 14 Days | Yes | |
| 2.5 | | | | | 854 | 2025 | 14 Days | Yes | |
| 3.5 | | | | | 956 | 733 | 14 Days | Yes | |
| **PBA (Day 13/14[d])** | | | | | | | | | |
| 0.56 | | | 124 | 141 | | | 14 Days | Yes | |
| 0.90 | | | 143 | 329 | | | 14 Days | Yes | |
| 1 | | | | | 707 | 702 | 14 Days | Yes | |
| 1.2 | | | 178 | 175 | | | 14 Days | Yes | |
| **PAA (Day 13/14[d])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 751 | 507 | | | 14 Days | Yes | |
| 0.90 | | | 1987 | 1355 | | | 14 Days | Yes | |
| 1 | | | | | 2634 | 4278 | 14 Days | Yes | |
| 1.2 | | | 2668 | 2734 | | | 14 Days | Yes | |
| **PAG (Day 13[d])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 524 | 282 | | | 14 Days | Yes | |
| 0.90 | | | 808 | 894 | | | 14 Days | Yes | |
| 1.2 | | | 1061 | 1041 | | | 14 Days | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **PAGN (Day 13/14[d])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 2.35 | 0 | | | 14 Days | Yes | |
| 0.90 | | | 8.66 | 0.80 | | | 14 Days | Yes | |
| 1 | | | | | 674 | 1058 | 14 Days | Yes | |
| 1.2 | | | 11.1 | 6.75 | | | 14 Days | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **28-Day Oral Toxicity Study** $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | | [redacted] 2G3R[redacted] |
| **PBA (Day 27)** | | | | | | | | | |
| 0.6 | 58.10 | | | | | | 28 Days | Yes | |
| 0.9 | 113.47 | 122.60 | | | | | 28 Days | Yes | |
| 1.2 | 110.23 | | | | | | 28 Days | Yes | |
| 1.5 | | 236.04 | | | | | 28 Days | Yes | |
| **PAA (Day 27)** | | | | | | | | | |
| 0.6 | 120.70 | | | | | | 28 Days | Yes | |
| 0.9 | 1354.10 | 1923.07 | | | | | 28 Days | Yes | |
| 1.2 | 1317.32 | | | | | | 28 Days | Yes | |
| 1.5 | | 2727.27 | | | | | 28 Days | Yes | |
| **PAG (Day 27)** | | | | | | | | | |
| 0.6 | 92.96 | | | | | | 28 Days | Yes | |
| 0.9 | 197.02 | 188.33 | | | | | 28 Days | Yes | |
| 1.2 | 188.60 | | | | | | 28 Days | Yes | |
| 1.5 | | 222.25 | | | | | 28 Days | Yes | |

表 2.6.7-4　GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **13-Week Oral Toxicity Study** $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | | [redacted] 10008[c] [redacted] 10009[a,i] [redacted] 10010[b] |
| **PBA (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | 119.0 | 220.9 | 814 | 663 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 0.75 | | | | | 550 | 443 | 13 Weeks | Yes | |
| 0.90 | 209.7 | 230.5 | 873 | 907 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.2 | 447.2 | 508.6 | 1831 | 1561 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.25 | | | | | 971 | 675 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.75 | | | | | 1124 | 920 | 13 Weeks | Yes | |
| **PAA( Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | 429.0 | 1587.5 | 3621 | 3627 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 0.75 | | | | | 1896 | 2444 | 13 Weeks | Yes | |
| 0.90 | 1268.0 | 1902.1 | 4719 | 3939 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.2 | 4217.6 | 9986.0 | 11420 | 9689 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.25 | | | | | 6982 | 5185 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.75 | | | | | 10100 | 8760 | 13 Weeks | Yes | |
| **PAG (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | 604.0 | 166.9 | 471 | 232 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 0.90 | 2689.7 | 226.6 | 559 | 409 | | | 13 Weeks | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **13-Week Oral Toxicity Study** $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | | [redacted] 10008[c] [redacted] 10009[a,i] [redacted] 10010[b] |
| **PBA (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | 119.0 | 220.9 | 814 | 663 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 0.75 | | | | | 550 | 443 | 13 Weeks | Yes | |
| 0.90 | 209.7 | 230.5 | 873 | 907 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.2 | 447.2 | 508.6 | 1831 | 1561 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.25 | | | | | 971 | 675 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.75 | | | | | 1124 | 920 | 13 Weeks | Yes | |
| **PAA( Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | 429.0 | 1587.5 | 3621 | 3627 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 0.75 | | | | | 1896 | 2444 | 13 Weeks | Yes | |
| 0.90 | 1268.0 | 1902.1 | 4719 | 3939 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.2 | 4217.6 | 9986.0 | 11420 | 9689 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.25 | | | | | 6982 | 5185 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.75 | | | | | 10100 | 8760 | 13 Weeks | Yes | |
| **PAG (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | 604.0 | 166.9 | 471 | 232 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 0.90 | 2689.7 | 226.6 | 559 | 409 | | | 13 Weeks | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| 1.2 | 4373.8 | 490.0 | 660 | 463 | | | 13 Weeks | Yes | |
| **PAGN (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.75 | | | | | 746 | 611 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.25 | | | | | 1075 | 769 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.75 | | | | | 1365 | 946 | 13 Weeks | Yes | |
| **PBA (Day 90/87/89[e])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | 117.5 | 74.3 | 133 | 193 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 0.75 | | | | | 637 | 404 | 13 Weeks | Yes | |
| 0.90 | 167.8 | 137.1 | 105 | 159 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.2 | 208.2 | 112.1 | 160 | 246 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.25 | | | | | 525 | 607 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.75 | | | | | 926 | 677 | 13 Weeks | Yes | |
| **PAA (Day 90/87/89[e])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | 770.2 | 988.6 | 2651 | 3448 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 0.75 | | | | | 465 | 1988 | 13 Weeks | Yes | |
| 0.90 | 1165.4 | 1654.5 | 3371 | 4579 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.2 | 2338.3 | 2085.4 | 5442 | 5932 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.25 | | | | | 2492 | 2982 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.75 | | | | | 7735 | 7081 | 13 Weeks | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **PAG (Day 90/87[e])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | 233.0 | 145.5 | 395 | 548 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 0.90 | 458.1 | 183.0 | 495 | 848 | | | 13 Weeks | Yes | |
| 1.2 | 783.0 | 224.0 | 1044 | 1107 | | | 13 Weeks | Yes | |
| **PAGN (Day 89)** | | | | | | | | | |
| 0.75 | | | | | 719 | 640 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.25 | | | | | 1179 | 1075 | 13 Weeks | Yes | |
| 1.75 | | | | | 2510 | 1848 | 13 Weeks | Yes | |

表 2.6.7-4　GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **26-Week Oral Toxicity Study** $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | | [redacted] 71001[a] [redacted] 71002[b,f] |
| **PBA (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 598 | 461 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 0.7 | | | | | 420 | 458 | 26 Weeks | Yes | |
| 0.90 | | | 799 | 809 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.1 | | | | | 670 | 613 | 26 Weeks | Yes | |
| 1.2 | | | 1326 | 1235 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.5 | | | | | 974 | 758 | 26 Weeks | Yes | |
| **PAA( Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 3151 | 2661 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 0.7 | | | | | 2592.9 | 1454 | 26 Weeks | Yes | |
| 0.90 | | | 4131 | 4469 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.1 | | | | | 3699.4 | 2709 | 26 Weeks | Yes | |
| 1.2 | | | 8634 | 9895 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.5 | | | | | 9397.3 | 5254 | 26 Weeks | Yes | |
| **PAG (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 277 | 214 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 0.90 | | | 424 | 397 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.2 | | | 476 | 481 | | | 26 Weeks | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **PAGN (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.7 | | | | | 536 | 503 | 26 Weeks | Yes | |
| 1.1 | | | | | 785 | 650 | 26 Weeks | Yes | |
| 1.5 | | | | | 1238 | 1140 | 26 Weeks | Yes | |
| | | | | | | | | | |
| **PBA Day (177/180[f])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 172 | 230 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 0.7 | | | | | 533.9 | 507 | 26 Weeks | Yes | |
| 0.90 | | | 187 | 320 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.1 | | | | | 679.0 | 650 | 26 Weeks | Yes | |
| 1.2 | | | 178 | 103 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.5 | | | | | 663.0 | 712 | 26 Weeks | Yes | |
| **PAA Day (177/180[f])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 2584 | 2588 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 0.7 | | | | | 1709 | 2427 | 26 Weeks | Yes | |
| 0.90 | | | 4043 | 4949 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.1 | | | | | 3274 | 3428 | 26 Weeks | Yes | |
| 1.2 | | | 6378 | 7416 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.5 | | | | | 6872 | 6949 | 26 Weeks | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **PAG Day (177[d])** | | | | | | | | | |
| 0.65 | | | 403 | 401 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 0.90 | | | 720 | 713 | | | 26 Weeks | Yes | |
| 1.2 | | | 985 | 1129 | | | 26 Weeks | Yes | |
| **PAGN (177/180[e])** | | | | | | | | | |
| 0.7 | | | | | 706 | 980 | 26 Weeks | Yes | |
| 1.1 | | | | | 1233 | 1289 | 26 Weeks | Yes | |
| 1.5 | | | | | 1779 | 2074 | 26 Weeks | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **52-Week Oral Toxicity Study** $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | | [redacted]71002 |
| **PBA (Day 358)** | | | | | | | | | |
| 0.7 | | | | | 622 | 370 | 52 Weeks | Yes | |
| 1.1 | | | | | 505 | 592 | 52 Weeks | Yes | |
| 1.5 | | | | | 609 | 529 | 52 Weeks | Yes | |
| **PAA (Day 358)** | | | | | | | | | |
| 0.7 | | | | | 2398 | 364 | 52 Weeks | Yes | |
| 1.1 | | | | | 2204 | 2794 | 52 Weeks | Yes | |
| 1.5 | | | | | 9910 | 4200 | 52 Weeks | Yes | |
| **PAGN (Day 358)** | | | | | | | | | |
| 0.7 | | | | | 738 | 438 | 52 Weeks | Yes | |
| 1.1 | | | | | 1027 | 1401 | 52 Weeks | Yes | |
| 1.5 | | | | | 1844 | 1396 | 52 Weeks | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| **2-Year Oral Toxicity Study** $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | | [redacted]71007 |
| **PBA (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.07 | | | 23.47 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.10 | | | | 38.75 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.21 | | | 47.30 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.30 | | | | 111.57 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.65 | | | 341.76 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.90 | | | | 710.31 | | | 2 Years | Yes | |
| **PAA (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.07 | | | 38.67 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.10 | | | | 105.93 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.21 | | | 287.82 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.30 | | | | 519.88 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.65 | | | 1914.00 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.90 | | | | 2892.00 | | | 2 Years | Yes | |
| **PAG (Day 0)** | | | | | | | | | |
| 0.07 | | | 26.61 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.10 | | | | 35.68 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.21 | | | 75.53 | | | | 2 Years | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| 0.30 | | | | 104.98 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.65 | | | 263.32 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.90 | | | | 469.71 | | | 2 Years | Yes | |
| **PBA (Day 364)** | | | | | | | | | |
| 0.07 | | | 23.91 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.10 | | | | 99.04 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.21 | | | 71.51 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.30 | | | | 230.66 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.65 | | | 111.11 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.90 | | | | 290.78 | | | 2 Years | Yes | |
| **PAA (Day 364)** | | | | | | | | | |
| 0.07 | | | 63.15 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.10 | | | | 160.18 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.21 | | | 425.39 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.30 | | | | 1618.01 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.65 | | | 3993.13 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.90 | | | | 7106.03 | | | 2 Years | Yes | |
| **PAG (Day 364)** | | | | | | | | | |
| 0.07 | | | 66.27 | | | | 2 Years | Yes | |

表 2.6.7-4 GPB のトキシコキネティクス試験成績（続き）

| Study Name, Metabolite, Timepoint and Dose (g/kg) | Mice | | Rats | | Monkeys | | Study Duration | GLP Compliance | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | M | F | M | F | M | F | | | |
| 0.10 | | | | 98.78 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.21 | | | 154.04 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.30 | | | | 269.76 | | | 2 Years | Yes | |
| 0.65 | | | 810.28 | | | | 2 Years | Yes | |
| 0.90 | | | | 972.53 | | | 2 Years | Yes | |

$AUC_{last}$=area under the curve from the time of dosing to the last measurement, $AUC_{0-t}$=area under the curve from the time of dosing to the last quantifiable timepoint, F=female, GPB=glyceryl phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], GLP=good laboratory practices, M=male, MTD=maximum tolerated dose, PBA=phenylbutyric acid, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetyl glycine, PAGN=phenylacetylglutamine, SD=standard deviation

[a]: Study was conducted in rats.
[b]: Study was conducted in monkeys.
[c]: Study was conducted in mice.
[d]: 14-day toxicity studies: no TK analysis was performed in mice, final TK bleeds were Day 13 for rats, and Day 14 for monkeys.
[e]: 13-week toxicity studies: final TK bleeds were performed on Day 90 for mice, Day 87 for rats, and Day 89 for monkeys.
[f]: 26-week toxicity studies: final TK bleeds were performed on Day 177 for rats, interim TK bleed at Day 180 for monkeys (26-week interim analysis from the 52-week study).
[g]: Study was GLP, with the exception of the analyses of the dosing formulations were not conducted according to GLP standards.
[h]: Study was GLP, with the exception of the Plasma Analysis Data and Report were not prepared according to GLP standards.
[i]: Study was GLP, with the exception of the plasma amino acid analysis was not performed according to GLP standards.

## 2.6.7.4　毒性試験：使用ロット

表 2.6.7-5　毒性試験使用ロット（Batch No.）

| **Drug Substance** | | | | | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Batch No.** | **Purity (%)** | **Specified Impurities** | | | | |
| PROPOSED SPECIFICATION:[b] | ≥[redacted]% | [redacted][a] | [redacted] | [redacted] ppm | **Study Number** | **Type of Study** |
| [redacted] | 98.15 | NMT 0.005% | | 59 ppm | [redacted]10001 | Single Dose Oral Toxicity in Rats |
| [redacted] | 98.15 | NMT 0.005% | | 59 ppm | [redacted]10003 | Single Dose Oral Toxicity in Monkeys |
| [redacted][c] | 100.9 | | | | [redacted].2G3R[redacted] | 5-Day Range Finding in Mice |
| [redacted] | 99 | | NMT 0.005% | 80 ppm | [redacted]10007 | 14-Day Oral Toxicity in Mice |
| [redacted][c] | 100.9 | | | | [redacted]2G3R[redacted] | 28-Day Oral Toxicity in Mice |
| [redacted] | 98.55 | | NMT 0.005% | 10 ppm | [redacted]10008 | 13-Week Oral Toxicity in Mice |
| [redacted] | 98.15 | NMT 0.005% | | 59 ppm | [redacted]10002 | 14-Day Oral Toxicity in Rats |
| [redacted] | 99 | | NMT 0.005% | 80 ppm | [redacted]10009 | 13-Week Oral Toxicity in Rats |
| [redacted][c] | 99.7 | | | | [redacted]71001 | 26-Week Oral Toxicity in Rats |
| [redacted] | 98.90 | | | 127 ppm | [redacted]2-105 | 14-Day Oral Toxicity in Monkeys |
| [redacted] | 98.55 | | NMT 0.005% | 10 ppm | [redacted]10010 | 13-Week Oral Toxicity in Monkeys |
| [redacted][c] | 99.7 | | | | [redacted]71002 | 52-Week Oral Toxicity in Monkeys |
| [redacted] | 98.15 | NMT 0.005% | | 59 ppm | [redacted]2-100 | Ames Assay |
| [redacted] | 98.46 | <0.002% | | 87 ppm | [redacted]2-100 | Ames Assay |
| [redacted] | 98.15 | NMT 0.005% | | 59 ppm | [redacted]2-101 | Chromosome Aberration Assay |
| [redacted] | 98.46 | <0.002% | | 87 ppm | [redacted]2-101 | Chromosome Aberration Assay |
| [redacted] | 98.15 | NMT 0.005% | | 59 ppm | [redacted]2-102 | Rat Micronucleus Assay |

表 2.6.7-5　毒性試験使用ロット（Batch No.）（続き）

| Drug Substance | | | | | Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Batch No.** | **Purity (%)** | **Specified Impurities** | | | | |
| PROPOSED SPECIFICATION:[b] | ≥[redacted]% | [redacted][a] | [redacted] | [redacted] ppm | **Study Number** | **Type of Study** |
| [redacted][c] | 100.9 | | | | [redacted]7G8R[redacted] | 26-Week Carcinogenicity in Mice |
| [redacted][c] | 99.7 | | | | [redacted]71007 | 2-Year Carcinogenicity in Rats |
| [redacted][c] | 99.8 | | | | [redacted]Y00011 | FEED |
| [redacted][c] | 99.8 | | | | [redacted]Y00007 | EFD (Dose Range Finding) |
| [redacted][c] | 99.8 | | | | [redacted]Y00008 | EFD |
| [redacted][c] | 99.8 | | | | [redacted]Y00009 | EFD (Dose Range Finding) |
| [redacted][c] | 99.8 | | | | [redacted]Y00010 | EFD |
| [redacted][c] | 99.7 | | | | [redacted]Y00012 | PPND |
| [redacted][c] | 99.7 | | | | [redacted]U00006 | Juvenile Toxicity: Dose Range Finding |
| [redacted][c] | 99.7 | | | | [redacted]U00007 | Juvenile Toxicity |

EFD: Embyo-fetal development, FEED: Fertility and early embryo development,GPB=glyceryl phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], NMT=not more than, PPND: Pre- and postnatal development.

Note: specifications reflect the specifications in place at time of testing and not the proposed commercial specifications

[a]: Specification for [redacted] is NMT [redacted]%

[b]: Specifications were inconsistent between Certificates of Analysis, therefore only the results that apply to each study are presented in the table.

[c]: Certificates of Analysis for Lot Numbers [redacted], [redacted], and [redacted] contained information for related substances and unknown substances but did not contain information on heavy metals or residual solvents. This information for related and unknown substances for these batches is listed in the table below.

表 2.6.7-6　毒性試験に使用した原薬の不純物の要約

| Drug Substance | | Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Result | | | |
| **Parameter** | **Specification** | **Batch No. [redacted]** | **Batch No. [redacted]** | **Batch No. [redacted]** | **[redacted]** |
| Purity | ≥[redacted]% | 99.7% | 99.8% | 100.9% | 98.12 |
| Related Substances | | | | | |
| 類縁物質A* | NMT [redacted]% ([redacted]%)[a] | 0.06% | 0.04% | 0.02% | 0.32% |
| 不純物Q* | NMT [redacted] ([redacted]%)[a] | ND | ND | ND | ND |
| 不純物R* | NMT [redacted]% ([redacted]%)[a] | 0.02% | 0.03% | 0.03% | ND |
| 不純物I* | NMT [redacted]% ([redacted]%)[a] | 0.13% | 0.17% | 0.14% | 0.33% |
| 不純物J* | NMT [redacted]% ([redacted]%)[a] | 0.41% | 0.08% | 0.06% | 0.13% |
| 不純物N* | NMT [redacted]% ([redacted]%)[a] | ND | ND | ND | ND |
| 不純物O* | NMT [redacted]% ([redacted]%)[a] | ND | ND | ND | ND |
| 不純物K* | NMT [redacted]% ([redacted]%)[a] | 0.21% | 0.11% | 0.03% | 0.27% |
| 不純物L* | NMT [redacted]% ([redacted]%)[a] | 0.24% | 0.13% | 0.04% | 0.67% |
| Unknown | NMT [redacted]% ([redacted]%)[a] | RRT 0.386: 0.04%<br>RRT 0.801: 0.02%<br>RRT: 0.887: 0.12%<br>RRT 0.918: 0.05% | RRT 0.34: 0.03%<br>RRT 0.79: 0.04%<br>RRT: 0.97: 0.03% | RRT 0.86: 0.04% | RRT 0.74: 0.06%<br>RRT 0.76: <0.05%<br>RRT 0.79: 0.09%<br>RRT 0.91 <0.05% |
| Total Impurities | NMT [redacted]% ([redacted]%) | 1.30% | 0.66% | 0.36% | 1.88% |

GPB=glyceryl phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], ND=not detected, NMT=not more than, RRT=relative retention time.
[a]: Specifications are listed from the Certificate of Analysis for Batch [redacted] and for [redacted] (in parenthesis) and reflect specifications in place at time of testing. In Certificate of Analysis for Batch [redacted], "for information only" is listed as the specification for these parameters



*: 新薬承認情報提供時に置き換え

## 2.6.7.5 単回投与毒性試験

表 2.6.7-7 ラットを用いた GPB の単回投与毒性試験

| | | | | Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species /Strain** | **Method of Administration (Vehicle/ Formulation)** | **Doses (g/kg)** | **Gender and No. per Group** | **Observed Maximum Nonlethal Dose (g/kg)** | **Approximate Lethal Dose (g/kg)** | **Noteworthy Findings** | **Study Number** |
| Rats/Crl: CD (SD) IGS BR | Oral/Gavage | 0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.5, 2.3 and 4.5 | 3/sex/group (main study)<br><br>9/sex/group (toxicokinetic groups) | 0.9 | 1.2 | GPB was well tolerated at doses up to 0.65 g/kg. There were no treatment-related effects on food consumption. No macroscopic findings were observed at necropsy.<br>**Mortality:**<br>0.45 g/kg: 1 F[a]<br>1.2 g/kg: 1 M<br>1.5 g/kg: 1 M / 1 F<br>2.3 g/kg: 3 M / 2 F<br>4.5 g/kg: 3 M / 3 F<br>**Clinical Observations**<br>≥ 0.65 g/kg: Hypoactivity (M: 3 hours post dose)<br>≥ 0.9 g/kg: Hypoactivity (F: 3 hours post dose); impaired equilibrium (M: 1 hour post dose)<br>1.2 g/kg: Hypoactivity, shallow respiration, and impaired equilibrium (M: during the 14 day observation period following dosing)<br>1.2 and 1.5 g/kg: Impaired muscle coordination (M/F: 3 hours post dose)<br>1.2, 1.5, and 2.3 g/kg: Impaired equilibrium (M/F: 3 hours post dose)<br>≥ 1.2 g/kg: Hypoactivity (M/F: 1 hour post dose); impaired equilibrium (F: 1 hour post dose) | [redacted]10001 [4.2.3.1-1] |

表 2.6.7-7 ラットを用いた GPB の単回投与毒性試験（続き）

| Species /Strain | Method of Administration (Vehicle/ Formulation) | Doses (g/kg) | Gender and No. per Group | Observed Maximum Nonlethal Dose (g/kg) | Approximate Lethal Dose (g/kg) | Noteworthy Findings | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Rats/ Crl:CD (SD) IGS BR | Oral/Gavage | 0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.5, 2.3 and 4.5 | 3/sex/group (main study)<br><br>9/sex/group (toxicokinetic groups) | 0.9 | 1.2 | *Continued from previous page*<br><br>**Clinical Observations (cont.)**<br>1.5 g/kg: Impaired muscle coordination (M/F: 1 hour post dose); rigid muscle tone (F: 1 hour post dose)<br>2.3 g/kg: Shallow respiration (F: 3 hours post dose); hypoactivity, impaired muscle coordination, and impaired equilibrium (F: during non dosing period)<br>≥ 2.3 g/kg: Prostration (M/F: 3 hours post dose); shallow respiration (M: 3 hours post dose)<br>4.5 g/kg: Labored respiration (M: 3 hours post dose); gasping (F: 3 hours post dose)<br>**Body weight gains/Body weight loss:**<br>1.2 g/kg: ↓ Day 0 – 6. (M: body weight loss)<br>1.5 g/kg: ↓ Day 0 – 6. (M/F: Body weight gain)<br>**Plasma ammonia:** Levels increased in a dose related manner on Day 1.<br>**Urine metabolites:** PBA, PBGN, PBG, PAA, PAGN, and PAG were all detected.<br><br>*Continued on next page* | [redacted] 10001 |

表 2.6.7-7 ラットを用いた GPB の単回投与毒性試験（続き）

<table>
<tr><th>Species /Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Doses (g/kg)</th><th>Gender and No. per Group</th><th>Observed Maximum Nonlethal Dose (g/kg)</th><th>Approximate Lethal Dose (g/kg)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td>Rats/ Crl:CD (SD) IGS BR<br><br>Cont.</td><td>Oral/Gavage</td><td>0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.5, 2.3, and 4.5</td><td>3/sex/group (main study)<br><br>9/sex/group (toxicokinetic groups)</td><td>0.9</td><td>1.2</td><td>Continued from previous page<br><br>Toxicokinetic Results for PBA:
<table>
<tr><th>Sex</th><th>Dose (g/kg)</th><th>$C_{max}$</th><th>$AUC_{last}$ (µg•h/mL)</th></tr>
<tr><td>F</td><td>0.9</td><td>616.0</td><td>1333.0</td></tr>
<tr><td></td><td>1.2</td><td>400.0</td><td>1419.3</td></tr>
<tr><td></td><td>2.3</td><td>932.7</td><td>6887.5</td></tr>
<tr><td>M</td><td>0.9</td><td>470.7</td><td>1490.5</td></tr>
<tr><td></td><td>1.2</td><td>295.7</td><td>1429.9</td></tr>
<tr><td></td><td>2.3</td><td>1387.0</td><td>17352.0</td></tr>
</table>
Toxicokinetic Results for PAA:
<table>
<tr><th>Sex</th><th>Dose (g/kg)</th><th>$C_{max}$</th><th>$AUC_{last}$ (µg•h/mL)</th></tr>
<tr><td>F</td><td>0.9</td><td>718.0</td><td>4150.7</td></tr>
<tr><td></td><td>1.2</td><td>684.0</td><td>8211.9</td></tr>
<tr><td></td><td>2.3</td><td>1530.0</td><td>20560.0</td></tr>
<tr><td>M</td><td>0.9</td><td>300.6</td><td>3214.6</td></tr>
<tr><td></td><td>1.2</td><td>454.1</td><td>6842.0</td></tr>
<tr><td></td><td>2.3</td><td>2010.0</td><td>28985.9</td></tr>
</table>
Continued on next page</td><td>[redacted]10001</td></tr>
</table>

表 2.6.7-7 ラットを用いた GPB の単回投与毒性試験（続き）

| | | | | Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species /Strain** | **Method of Administration (Vehicle/ Formulation)** | **Doses (g/kg)** | **Gender and No. per Group** | **Observed Maximum Nonlethal Dose (g/kg)** | **Approximate Lethal Dose (g/kg)** | **Noteworthy Findings** | **Study Number** |
| Rats/ Crl:CD (SD) IGS BR<br><br>*Cont.* | Oral/Gavage | 0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.5, 2.3, and 4.5 | 3/sex/group (main study)<br><br>9/sex/group (toxicokinetic groups) | 0.9 | 1.2 | *Continued from previous page*<br><br>**Toxicokinetic Results for PAG:**<br><br>Sex / Dose (g/kg) / $C_{max}$ / $AUC_{last}$ (µg•h/mL)<br>F / 0.9 / 16.8 / 179<br>1.2 / 30.3 / 288<br>2.3 / 305.0 / 3054<br>M / 0.9 / 18.0 / 324<br>1.2 / 24.9 / 382<br>2.3 / 185.2 / 2298 | [redacted] 10001 |

$C_{max}$=maximum plasma concentration, F=female, GPB=glyceryl phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], M=male, MTD=maximum tolerated dose, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetylglycine, PAGN=phenylacetylglutamine, PBA=phenylbutyric acid, PBGN= phenylbutyrylglutamine, PBG= phenylbutyrylglycine,
SD=standard deviation
a Death not considered test article related.

表 2.6.7-8 サルを用いた GPB の単回投与毒性試験

| | | | | Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species/ Strain** | **Method of Administration (Vehicle/ Formulation)** | **Doses (g/kg)** | **Gender and No. per Group** | **Observed Maximum Nonlethal Dose (g/kg)** | **Approximate Lethal Dose (g/kg)** | **Noteworthy Findings** | **Study Number** |
| Monkey/ Cyno-molgus | Oral/Gavage (nasogastric intubation)<br><br>In Phase 1, animals were administered a single dose of test article followed by a 1 – 6 day washout period. At the completion of the washout period, the next highest dose was administered.<br><br>In Phase 2, the dose was administered followed by a 14-day observation period. | Phase 1 (Escalating Dose): 0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.8, 2.4, 3.5, 4.5 and 6.5<br><br>Phase 2 (MTD): 6.5 | 1/sex/group | 6.5 | No deaths reported | No mortality was observed. There were no treatment-related effects on body weight, macroscopic findings, or plasma ammonia levels in either phase.<br><br>**Clinical signs:**<br>*Phase 1*<br>0.45, 0.65, 1.2, 3.5, 6.5 g/kg: Abnormal excreta in males<br>0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.8, 2.4, 4.5 and 6.5 g/kg: Abnormal excreta in females<br>6.5 g/kg: Hypoactivity (M/F); sleeping (M); tremors (F: 8 hours post dose); emesis (M/F)<br>*Phase 2*<br>6.5 g/kg: Emesis (M/F); mucoid feces (M); decreased defecation (F); decreased appetite (F)<br><br>**Urine Metabolites:** PBA, PAA, and PAGN were detected in the urine. PAGN was detected in significant quantities, but it is a metabolic product of amino acid metabolism and was also detected in vehicle control animals.<br><br>*Continued on next page* | [redacted]10003 [4.2.3.1-2] |

表 2.6.7-8 サルを用いた GPB の単回投与毒性試験（続き）

| Species/ Strain | Method of Administration (Vehicle/ Formulation) | Doses (g/kg) | Gender and No. per Group | Observed Maximum Nonlethal Dose (g/kg) | Approximate Lethal Dose (g/kg) | Noteworthy Findings | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Monkey/ Cyno-molgus | Oral/Gavage (nasogastric intubation)<br><br>In Phase 1, animals were administered a single dose of test article followed by a 1 – 6 day washout period. At the completion of the washout period, the next highest dose was administered.<br><br>In Phase 2, the dose was administered followed by a 14-day observation period. | Phase 1 (Escalat-ing Dose): 0 (corn oil), 0.45, 0.65, 0.9, 1.2, 1.8, 2.4, 3.5, 4.5 and 6.5<br><br>Phase 2 (MTD): 6.5 | 1/sex/group | 6.5 | No deaths reported | *Continued from previous page*<br><br>**Toxicokinetic results for PBA:**<br>Sex / Dose (g/kg) / $C_{max}$ (µg/mL) / $AUC_{last}$ (µg•h/mL)<br>F / 4.5 / 57.1 / 884.5<br>6.5 / 209 / 997.7<br>M / 4.5 / 96.8 / 634.8<br>6.5 / 108.0 / 1133.7<br><br>**Toxicokinetic results for PAA:**<br>Sex / Dose (g/kg) / $C_{max}$ (µg/mL) / $AUC_{last}$ (µg•h/mL)<br>F / 4.5 / 292.0 / 3810.4<br>6.5 / 409.0 / 3171.7<br>M / 4.5 / 527.0 / 6245.2<br>6.5 / 1740 / 27049.0<br><br>**Toxicokinetic results for PAGN:**<br>Sex / Dose (g/kg) / $C_{max}$ (µg/mL) / $AUC_{last}$ (µg•h/mL)<br>F / 4.5 / 89.5 / 949.4<br>6.5 / 161.0 / 1379.0<br>M / 4.5 / 82.5 / 750.6<br>6.5 / 69.6 / 1390.4 | [redacted] 10003 |

$C_{max}$=maximum plasma concentration, F=female, GPB=glyceryl phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], M=male, MTD=maximum tolerated dose, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetylglycine, PAGN=phenylacetylglutamine, PBA=phenylbutyric acid, PBGN= phenylbutyrylglutamine, PBG= phenylbutyrylglycine, SD=standard deviation

## 2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

表 2.6.7-9 GPB の反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

| **Nonpivotal Studies** | | | | | | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species/ Strain** | **Method of Administration (Vehicle/ Formulation)** | **Duration of Dosing** | **Doses (g/kg)** | **Gender and No. Per Group** | **NOAEL (g/kg)** | **Noteworthy Findings** | **Study Number** |
| Mice/ CByB6F1 hybrid | Oral/Gavage | 5 days | *Initial dose ranging study:*<br>0 (corn oil), 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, and 2.0<br><br>*Repeat dose ranging study*:[a]<br>0 (corn oil), 2.0, 3.0, 4.0, and 5.0 | *Initial dose ranging study:*<br>5/sex/group<br>*Repeat dose ranging study*:[a]<br>3 F/group | NP | *Initial 5-day dose ranging study*<br>**Mortality:**<br>1.5 g/kg: 2 M<br>2.0 g/kg: 3 M<br><br>**Clinical Signs:**<br>1.5 g/kg: Decreased motor activity in 1 surviving male and 1 female (Day 1 only); labored breathing in decedent males<br>≥1.5 g/kg: Decreased motor activity and ataxia in decedent males<br><br>**Body Weight:**<br>2.0 g/kg: ↓ 6-10% in decedent male mice<br>*Repeat 5-day dose ranging study*[a]<br><br>**Mortality:**<br>2.0 g/kg: 1 F<br>3.0 g/kg: 2 F<br>4.0 g/kg: 3 F<br>5.0 g/kg: 3 F<br><br>**Clinical Signs:**<br>≥3.0 g/kg: Ataxia, decreased motor activity, prostration, labored breathing and rapid and shallow breathing in females<br>*Continued on next page* | [redacted]2G3R[redacted]<br>［4.2.3.2-2］ |

表 2.6.7-9 GPB の反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

| Species/ Strain | Method of Administration (Vehicle/ Formulation) | Duration of Dosing | Doses (g/kg) | Gender and No. Per Group | NOAEL (g/kg) | Noteworthy Findings | Study Number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mice/ CByB6F1 hybrid<br><br>*Continued* | Oral/Gavage | 5 days | *Initial dose ranging study:*<br>0 (corn oil), 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, and 2.0<br><br>*Repeat dose ranging study*:[a]<br>0 (corn oil), 2.0, 3.0, 4.0, and 5.0 | *Initial dose ranging study:*<br>5/sex/group<br><br>*Repeat dose ranging study*:[a]<br>3 F/group | NP | *Continued from previous page*<br><br>**Body Weight:**<br>3.0 g/kg: ↓ 10.6% in 1 surviving female | [redacted]2G3R[redacted] |

F=Female, GPB=glyceryl phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], M = Male, NP=Not provided
[a]: A repeat 5-day dose ranging study with larger doses was conducted in female mice only because a MTD was not identified for females in the initial 5-day dose ranging study.

## 2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

表 2.6.7-10 マウスを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** A 14-Day Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study in Mice Administered Glyceryl tri-(4-phenylbutyrate) (GT4P) | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | |
| **Species/Strain:** Mice/Crl:CD1 (ICR) | **Duration of Dosing:** 14 days | **Study No.** [redacted]10007 |
| **Initial Age:** 10 weeks (Groups 1-4); 12 weeks (Group 5) | **Duration of Postdose:** None | **Location in CTD:** ［4.2.3.2-1］ |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration:** Oral/Gavage | |
| | **Vehicle/Formulation:** 100% corn oil for controls; GPB was administered neat. | **GLP Compliance:** Yes |
| **Special Features:** None. | | |
| **No Observed Adverse Effect Level:** 0.90 g/kg/day | | |

| **Daily Dose (g/kg/day)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.90** | | **1.2** | | **2.0** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **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:** | | | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 1[a] | 0 | 2[a] | 1[a] | 0 | 1[a] | 4 | 4 |
| **Cumulative Body Weight Changes (g)[b]** | | | | | | | | | | |
| Day 0 – 3 | -0.3 ± 0.57 | -0.1 ± 0.53 | -0.8 ± 0.19 | 0.4 ± 1.11 | -0.7 ± 1.32 | 0.5 ± 0.65 | 0.0 ± 0.49 | -0.3 ± 0.59 | -2.7 ± 1.27 | -1.5 ± 0.0 |
| Day 0 – 7 | -0.3 ± 0.81 | 0.2 ± 0.75 | 0.3 ± 0.39 | 0.3 ± 0.57 | -1.2 ± 1.95 | 0.9 ± 0.50 | -0.3 ± 1.67 | -0.2 ± 0.53 | -4.7 ± 3.11 | -0.9 ± 0.0 |
| Day 0 -10 | -0.6 ± 1.04 | 0.4 ± 0.42 | 0.0 ± 0.66 | 1.4 ± 1.25 | -1.0 ± 1.85 | 1.1 ± 0.27 | -0.4 ± 0.88 | 0.3 ± 0.61 | -1.3 ± 0.0 | -1.7 ± 0.0 |
| Day 0 – 14 | -0.4 ± 1.06 | 1.0 ± 0.50 | 0.1 ± 0.31 | 0.7 ± 0.96 | -0.7 ± 1.22 | 1.3 ± 0.74 | -0.4 ± 0.74 | 0.0 ± 0.74 | -1.1 ± 0.0 | -2.2 ± 0.0 |
| **Food Consumption (%)[d]** | 5.2 ± 0.74 g | 5.7 ± 1.06 g | ↓ 9.6 (4.7 ± 0.94 g) | ↓ 11 (5.1 ± 1.25 g) | ↓ 13 (4.5 ± 0.82 g) | ↑ 26 (7.2 ± 4.47 g) | ↓ 3.8 (5.0 ± 0.42 g) | ↓ 18 (4.7 ± 0.80 g) | ↓ 44 (2.9 ± 0.71 g) | ↓ 42 (3.3 ± 0.0 g) |

表 2.6.7-10 マウスを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg/day)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.90** | | **1.2** | | **2.0** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 5** | **F: 5** | **M: 5** | **F: 5** | **M: 5** | **F: 5** | **M: 5** | **F: 5** | **M: 5** | **F: 5** |
| **Clinical Observations**[c] | | | | | | | | | | |
| Extremities cool to the touch | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| At time of Dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 1 Hour Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 8 Hours Post Dose | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Body cool to touch | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| At time of Dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 1 Hour Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 3 |
| 8 Hours Post Dose | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 |
| Decreased defecation | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 |
| At time of dosing | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 4 | 1 |
| Dermal Atonia | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| At time of Dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 1 Hour Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 8 Hours Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Hypoactivity | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 1 | 0 | 2 | 2 | 0 |
| At time of Dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| 1 Hour Post Dose | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 4 | 4 |
| 8 Hours Post Dose | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 5 | 5 |

表 2.6.7-10 マウスを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg/day) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.90 | | 1.2 | | 2.0 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 5** | **F: 5** | **M: 5** | **F: 5** | **M: 5** | **F: 5** | **M: 5** | **F: 5** | **M: 5** | **F: 5** |
| Impaired Equilibrium | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 Hour Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 8 Hours Post Dose | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Partial Close of the Left Eye | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Partial Close of the Right Eye | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Shallow Respiration | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| At time of Dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 1 Hour Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 Hours Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| Labored respiration | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 8 Hours Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| Soft Feces | | | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| At time of Dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |

- No noteworthy findings / no treatment related changes, F=female, M=male, NE=not evaluated GPB=glycerol phenylbutyrate (formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate), GT4P= glyceryl tri-(4-phenylbutyrate).

[a]: Deaths were possible intubation errors and not considered to be test article-related.

[b]: Cumulative body weight change data reported as mean ± SD.

[c]: Data presented is the number of animals affected.

[d]: Control group values are mean ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses. Only values from Days 0 – 3 are presented. No other changes were observed.

表 2.6.7-11　CByB6F1 マウスを用いた GPB の 28 日間反復投与毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) [GT4P]: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity And Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice With A Preliminary 5 Day Range-finding Toxicity Study | | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** |
| **Species/Strain:** Mice/CByB6F1 hybrid | **Duration of Dosing:** 28 days | **Study No.** [redacted] 2G3R[redacted] |
| **Initial Age:** 8 weeks | **Duration of Postdose:** None | **Location in CTD:** [ 4.2.3.2-2] |
| **Date of First Dose:** M: [redacted] 20[redacted]<br>F: [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration:** Oral/Gavage | |
| | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | **GLP Compliance:** Yes |

**Special Features:** Blood was collected for toxicokinetic analysis from 3 animals/sex at 0, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 hours post dosing on Day 27.

**No Observed Adverse Effect Level:** 0.90 g/kg[a] (males), 1.50 g/kg (females)

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.60** | **0.90** | | **1.20** | **1.50** | **2.00[b]** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Main Study Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **F: 10** |
| **Number of TK Animals** | **M: 6** | **F: 6** | **M: 24** | **M: 24** | **F: 24** | **M: 24** | **F: 24** | **F: 24** |
| **Day 27 Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | - | - | 58.10 | 113.47 | 122.60 | 110.23 | 236.04 | NC |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | - | - | 120.70 | 1354.10 | 1923.07 | 1317.32 | 2727.27 | NC |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAG | - | - | 92.96 | 197.02 | 188.33 | 188.60 | 222.25 | NC |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 34 |
| **Body Weight (%)** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Food Consumption (%)** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| Decreased motor activity[c] | - | - | 1 | 1 | - | 5 | 2 | 9 |
| Prostration | - | - | - | - | - | - | - | 5 |
| Labored breathing | - | - | - | - | - | - | - | 2 |
| **Hematology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Serum Chemistry** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Organ Weights (%)** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Histopathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |

$AUC_{last}$=area under the curve from the time of dosing to the last measurement, F=female, GLP=good laboratory practices, GPB=glycerol phenylbutyrate (formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate), GT4P= glyceryl tri-(4-phenylbutyrate).M=male, NC=not calculated, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetylglycine, PBA=phenylbutyric acid

[a]: Limit of absorption. b Due to high mortality on Day 1 in high dose females (2000 mg/kg/day), all main study and TK females in that group were sacrificed on Day 2 after dosing. Plasma samples were not available for toxicokinetic analysis. c Decreased motor activity was observed on Day 2-3 only in males and on Day 1-2 only in females.

表 2.6.7-12　マウスを用いた GPB の 13 週間反復投与毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** A 13-Week Oral (Gavage) Toxicity And Toxicokinetic Study In Mice Administered Glyceryl tri-(4-Phenylbutyrate) [GT4P] | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | |
| **Species/Strain:** Mice/Crl:CD1®(ICR) | **Duration of Dosing:** 13 weeks | **Study No.** [redacted]10008 |
| **Initial Age:** 8 weeks | **Duration of Postdose:** None | **Location in CTD:** [4.2.3.2-3] |
| **Date of First Dose:** M: [redacted] 20<br>F: [redacted] 20 | **Method of Administration:** Oral/Gavage | |
| | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | **GLP Compliance:** Yes |

**No Observed Adverse Effect Level:** 1.20 g/kg/day

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.90** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Main Study Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** |
| **Number of TK Animals** | **M: 36** | **F: 36** | **M: 36** | **F: 36** | **M: 36** | **F: 36** | **M: 36** | **F: 36** |
| **Day 0 Toxicokinetics:** $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 119.0 | 220.9 | 209.7 | 230.5 | 447.2 | 508.6 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 429.0 | 1587.5 | 1268.0 | 1902.1 | 4217.6 | 9986.0 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAG | NE | NE | 604.0 | 166.9 | 2689.7 | 226.6 | 4373.8 | 490.0 |
| **Day 90 Toxicokinetics:** $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 117.5 | 74.3 | 167.8 | 137.1 | 208.2 | 112.1 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 770.2 | 988.6 | 1165.4 | 1654.5 | 2338.3 | 2085.4 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAG | NE | NE | 233.0 | 145.5 | 458.1 | 183.0 | 783.0 | 224.0 |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 1[a] | 1[a] | 0 | 1[a] | 0 | 0 |
| **Body Weight (%)**[b] | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Food Consumption (%)** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Modified Functional Observational Battery** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Clinical Observations** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Ophthalmoscopy** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology** | - | - | - | - | - | - | - | - |

表 2.6.7-12 マウスを用いた GPB の 13 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.90 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Main Study Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** |
| **Serum Chemistry** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Organ Weights (%)** | | | | | | | | |
| Liver weights[b] | 2.145 ± 0.309 g | 1.567 ± 0.129 g | ↑ 3 (2.198 ± 0.238 g) | ↑ 2 (1.596 ± 0.123 g) | ↑ 16 (2.494 ± 0.199 g)* | ↑ 3 (1.612 ± 0.135 g) | ↑ 15 (2.466 ± 0.329 g)* | ↑ 15 (1.802 ± 0.367 g) |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| Centrilobular hepatocellular hypertrophy | 0 | 0 | 1 | 0 | 6 | - | 4 | 1 |

$AUC_{last}$= area under the curve from the time of dosing to the last measurement, F=female, GLP=good laboratory practices, GPB=glycerol phenylbutyrate (formerly glyceryl tri- (4-phenylbutyrate), GT4P= glyceryl tri-(4-phenylbutyrate), M=male, NE=not evaluated, PBA=phenylbutyric acid, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetylglycine
[a]: These deaths were not considered to be test-article related.
[b]: For controls, means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown with mean values ± SD in parentheses.
- No noteworthy findings / no treatment related changes.
*: Statistically significantly ($p<0.05$ or 0.01 using Dunnett's test) different from control group. Number indicates percent difference from the control absolute organ weights.

表 2.6.7-13 ラットを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** A 14-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) (GT4P) in Rats | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | |
| **Species/Strain:** Rats/Crl:CD®(SD)IGS BR | **Duration of Dosing:** 14 days | **Study No.** [redacted]10002 |
| **Initial Age:** 7 weeks | **Duration of Postdose:** None | **Location in CTD:** ［4.2.3.2-4］ |
| **Date of First Dose:** [redacted]20[redacted] | **Method of Administration:** Oral/gavage | |
| | **Vehicle/Formulation:** 100% Corn oil | **GLP Compliance:** Yes |

**Special Features:** For toxicokinetic analysis an additional 9 rats/sex/group were treated with 0.65, 0.9 and 1.2 g/kg/day. Blood samples were collected from 3 animals/sex/group at 0, 1, 2, 4, 8, and 24 hours after dosing on study days 0 and 13.

**No Observed Adverse Effect Level:** 0.65 g/kg/day

| **Daily Dose (g/kg/day)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** |
| **Day 0 Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| $AUC_{0-t}$ (hr·µg/mL) for PBA | NA | NA | 507 | 567 | 794 | 784 | 1719 | 1607 |
| $AUC_{0-t}$ (hr·µg/mL) for PAA | NA | NA | 966 | 891 | 2036 | 1355 | 2530 | 5346 |
| $AUC_{0-t}$ (hr·µg/mL) for PAG | NA | NA | 237 | 236 | 529 | 512 | 630 | 516 |
| $AUC_{0-t}$ (hr·µg/mL) for PAGN | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |
| **Day 13 Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| $AUC_{0-t}$ (hr·µg/mL) for PBA | NA | NA | 124 | 141 | 143 | 329 | 178 | 175 |
| $AUC_{0-t}$ (hr·µg/mL) for PAA | NA | NA | 751 | 507 | 1987 | 1355 | 2668 | 2734 |
| $AUC_{0-t}$ (hr·µg/mL) for PAG | NA | NA | 524 | 282 | 808 | 894 | 1061 | 1041 |
| $AUC_{0-t}$ (hr·µg/mL) for PAGN | NA | NA | 2.35 | 0.000 | 8.66 | 0.799 | 11.1 | 6.75 |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Cumulative Body Weight Changes (g)[c]** | | | | | | | | |
| Weeks 0 - 1 | 41±8.6 | 19±4.6 | 39±7.7 | 14±4.6 | 38±11.6 | 19±4.3 | 29±5.2* | 16±7.5 |
| Weeks 0 - 2 | 73±18.2 | 26±5.3 | 71±12.8 | 24±5.0 | 71±20.2 | 29±5.9 | 55±6.6* | 26±10.6 |

表 2.6.7-13 ラットを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** |
| **Food Consumption (%)** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Clinical Observations**[b] | | | | | | | | |
| Hypoactivity | 0 | 0 | 1 | 0 | 10 | 9 | 10 | 9 |
| Impaired equilibrium | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 | 6 | 9 |
| Impaired muscle coordination | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 8 | 10 | 10 |
| Rigid muscle tone | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 |
| **Ophthalmoscopy** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology**[c] | | | | | | | | |
| Platelets ($10^3$/μL) | 1197±148 | 1233±179 | 1105±158 | 933±248** | 910±116** | 1047±128 | 948±90.7** | 907±82.1** |
| Red Blood Cells ($10^6$/μL) | 6.91±0.387 | 7.07±0.343 | 6.83±0.225 | 6.84±0.470 | 6.94±0.352 | 6.80±0.219 | 6.92±0.307 | 6.43±0.525** |
| Hematocrit (%) | 40.3±2.22 | 40.5±2.19 | 39.5±1.40 | 39.6±3.06 | 40.7±2.51 | 39.1±1.80 | 40.7±1.69 | 36.9±3.27* |
| **Serum Chemistry** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Urinalysis**[c] | | | | | | | | |
| pH | 6.1±0.32 | 5.4±0.34 | 5.3±0.35** | 5.1±0.21 | 5.3±0.26** | 5.2±0.34 | 5.5±0.44** | 5.1±0.16 |
| Urine volume (mL) | 5.3±3.02 | 2.1±1.20 | 10.4±7.96 | 2.5±0.85 | 10.5±6.75 | 5.7±4.64 | 14.0±10.01 | 7.8±6.12** |
| **Organ Weights (%)**[a] | | | | | | | | |
| Liver | | | | | | | | |
| Absolute | 9.35± 1.23 g | 6.35 ± 0.467 g | ↑ 6.6 (9.97 ± 1.30 g) | ↑ 1.6 (6.45 ± 0.770 g) | ↑ 14 (10.64 ± 1.60 g) | ↑ 10 (7.00 ± 0.941 g) | ↑ 8.0 (10.10 ± 0.949 g) | ↑ 9.9 (6.98 ± 0.453 g) |
| Relative | 3.233 ±0.175 g | 3.366 ±0.156 g | ↑ 5.8 (3.422 ±0.253 g) | ↑ 1.4 (3.414 ± 0.224 g ) | ↑ 15 (3.705 ±0.286 g)** | ↑ 7.2 (3.610 ± 0.339 g) | ↑ 18 (3.815 ±0.175 g)** | ↑ 10 (3.701 ± 0.0986 g)** |

表 2.6.7-13 ラットを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** |
| Thymus | | | | | | | | |
| Absolute | 0.5002 ± 0.0683 g | 0.4210 ± 0.0537 g | ↑ 0.76 (0.5040 ± 0.0564 g) | ↑ 4.5 (0.440 ± 0.1294 g) | ↓ 8.5 (0.4579 ± 0.152 g) | ↑ 3.6 (0.4361 ± 0.0959 g) | ↓ 25 (0.3729 ± 0.0490 g)** | ↓ 20 (0.3377 ± 0.1124 g) |
| Relative | 0.174 ± 0.0212 g | 0.224 ± 0.0279 g | ↑ 0.57 (0.175 ± 0.0247 g) | ↑ 5.4 (0.236 ± 0.0691 g) | ↓ 9.2 (0.158 ± 0.0452 g) | 0 (0.224 ± 0.0382 g) | ↓ 18 (0.142 ± 0.0216 g) | ↓ 20 (0.180 ± 0.0612 g) |
| Adrenal Glands | | | | | | | | |
| Absolute | 0.0564 ± 0.00853 g | 0.0690 ± 0.01147 g | ↓ -6.6 (0.0527 ± 0.0082 g) | ↓ 2.9 (0.0670 ± 0.00974 g) | ↓ 12 (0.0498 ± 0.00439 g) | ↓ 8.8 (0.0629 ± 0.1075 g) | ↓ 19 (0.0459 ± 0.00772 g) | ↓ 7.1 (0.0641 ± 0.00991 g) |
| Relative | 0.020 ± 0.0038 g | 0.037 ± 0.0056 g | ↓ 10 (0.018 ± 0.0026 g) | ↓ 2.7 (0.036 ± 0.0047 g) | ↓ 15 (0.017 ± 0.0011 g) | ↓ 14 (0.032 ± 0.0036 g) | ↓ 15 (0.017 ± 0.0023 g) | ↓ 8 (0.034 ± 0.0048 g) |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Histopathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Additional Examinations**[c] | | | | | | | | |
| Plasma Ammonia (μg/dL) | 187.0 ±112.2 | 376.5 ±86.6 | 193.6 ±94.8 | 469.9 ±261 | 235.2 ±145.2 | 347.0 ±171 | 301.2 ±108.1 | 272.3 ±130.2 |

表 2.6.7-13 ラットを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** |
| **Functional Observational Battery** | | | | | | | | |
| Low arousal | | | | | | | | |
| Day 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 2 | 2 |
| Day 13 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 3 | 0 |
| Abnormal righting reflex | | | | | | | | |
| Day 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 3 |
| Day 13 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Soft/flabby muscle tone | | | | | | | | |
| Day 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Day 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Impaired mobility | | | | | | | | |
| Day 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| Day 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Abnormal gait | | | | | | | | |
| Day 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 |
| Day 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Decreased rearing counts[c] | | | | | | | | |
| Day 0 | 5.6±3.21 | 15.2±4.76 | 5.8±3.03 | 8.6±4.51* | 1.8±2.95 | 6.0±2.0** | 2.6±2.41 | 5.2±3.56** |
| Day 13 | 5.2±2.17 | 12.6±4.16 | 13.0±6.89 | 10.6±6.58 | 3.0±2.45 | 7.4±1.67 | 4.8±5.72 | 7.6±3.78 |
| Decreased body temperature[c] (°C) | | | | | | | | |
| Day 0 | 37.3±0.46 | 37.9±0.42 | 37.2±0.72 | 37.6±0.50 | 35.9±1.02* | 36.5±0.40 | 35.2± 1.04** | 35.9±1.82* |
| Day 13 | 37.6±0.29 | 37.4±0.22 | 37.7±1.02 | 37.7±0.63 | 37.2±0.61 | 37.6±0.38 | 37.3±0.57 | 38.2±0.37* |

F=female, GPB=glycerol phenylbutyrate (formerly glycerol tri-4(phenylbutyrate), GT4P=glyceryl tri-(4-phenylbutyrate), GLP=good laboratory practices, M=male, NA=not applicable, PBA=phenylbutyric acid, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetylglycine, PAGN=phenylacetylglutamine

- No noteworthy findings / no treatment related findings

* $p<0.05$, Dunnett's test, ** $p<0.01$, using Dunnett's test.

[a]: Controls are presented as group means (g) ± SD. All other groups are presented as percent change from controls with group means ± SD in parentheses.

[b]: Clinical observations at 1 hour post dose. c Mean ± SD

表 2.6.7-14 ラットを用いた GPB の 13 週間反復投与毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** A 13-Week Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats Administered Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) [GT4P] | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | |
| **Species/Strain:** Rats/Crl:CD(SD) | **Duration of Dosing:** 13 weeks | **Study No.** [redacted]**10009** |
| **Initial Age:** 8 weeks | **Duration of Postdose:** None | **Location in CTD:** [ 4.2.3.2-5] |
| **Date of First Dose:** M: [redacted] 20[redacted] F: [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration:** Oral/gavage | |
| | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | **GLP Compliance:** Yes[a] |

**Special Features:** For toxicokinetic analysis, blood samples were collected from 9 animals/sex/group prior to dosing, and at 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 and 48 hours post dose on Study Days 0 and 87.

**No Observed Adverse Effect Level:** 0.90 g/kg/day for males and 1.20 g/kg/day for females

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Main Study Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** |
| **Number of TK Animals** | **M: 9** | **F: 9** | **M: 9** | **F: 9** | **M: 9** | **F: 9** | **M: 9** | **F: 9** |
| **Day 0 Toxicokinetics:** $AUC_{last}$( hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 814 | 663 | 873 | 907 | 1831 | 1561 |
| $AUC_{last}$( hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 3621 | 3627 | 4719 | 3939 | 11420 | 9689 |
| $AUC_{last}$( hr·µg/mL) for PAG | NE | NE | 471 | 232 | 559 | 409 | 660 | 463 |
| **Day 87 Toxicokinetics:** $AUC_{last}$( hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 133 | 193 | 105 | 159 | 160 | 246 |
| $AUC_{last}$( hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 2651 | 3448 | 3371 | 4579 | 5442 | 5932 |
| $AUC_{last}$( hr·µg/mL) for PAG | NE | NE | 395 | 548 | 495 | 848 | 1044 | 1107 |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | 0 | 1[b] | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Body Weight (%)[c]** | 571 ± 59.9 g | 290 ± 30.2 g | ↓ 6.5 (534 ± 49.9) | ↑ 1.4 (294 ± 43.1) | ↓ 10 (512 ± 44.1)* | ↓ 1.7 (285 ± 29.1) | ↓ 19 (462 ± 44.7)** | ↑ 1.0 (293± 48.7) |

F=female, GPB=glycerol phenylbutyrate (formerly glycerol tri-4(phenylbutyrate), GT4P=glyceryl tri-(4-phenylbutyrate), GLP=good laboratory practices, M=male, NE=not evaluated, PBA=phenylbutyric acid, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetylglycine, PAGN=phenylacetylglutamine

[a]: Study was GLP with the exception of the plasma amino acid analysis.

[b]: Death was not considered test article related.

[c]: Control data is presented as mean (g) ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, Dunnett's test.

表 2.6.7-14　ラットを用いた GPB の 13 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Main Study Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** |
| **Food Consumption (%)[d]** | | | | | | | | |
| Week 0 -1 | 22 ± 2.6 g/day | 13 ± 5.7 g/day | ↑ 4.5 (23 ± 2.3) | ↑ 7.7 (14 ± 3.8) | 0 (22 ± 1.3) | ↓ 7.7 (12 ± 2.7) | ↓ 14 (19 ± 2.1)** | ↓ 7.7 (12 ± 2.4) |
| **Functional Observational Battery** | | | | | | | | |
| Low arousal | | | | | | | | |
| Week 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Week 12 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| Rigid muscle tone | | | | | | | | |
| 1 Hour Post Dose | 0 | 0 | 2 | 7 | 2 | 9 | 1 | 10 |
| Hypoactivity | | | | | | | | |
| 1 Hour Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 10 |
| **Ophthalmoscopy** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology** | | | | | | | | |
| Red blood cell counts ($10^6$/μL) | 9.02 ± 0.406 | 8.49 ± 0.451 | 8.54 ± 0.448* | 7.62 ± 0.427** | 8.43 ± 0.413** | 7.90 ± 0.484* | 8.56 ± 0.296** | 7.72 ± 0.456** |
| Hemoglobin (g/dL) | 15.7 ± 0.55 | 15.8 ± 0.70 | 15.4 ± 0.48 | 13.9 ± 0.76** | 15.1 ± 0.52* | 14.5 ± 0.53* | 15.1 ± 0.53* | 14.3 ± 0.55** |
| Hematocrit (%) | 51.2 ± 2.05 | 50.3 ± 2.39 | 49.1 ± 1.82 | 43.5 ± 2.41** | 48.8 ± 2.20* | 46.5 ± 1.73** | 48.7 ± 2.00* | 45.4 ± 1.72** |
| Platelet counts ($10^3$/μL) | 1082 ± 110 | 994 ± 99.6 | 984 ± 120.7 | 945 ± 168.3 | 924 ± 118* | 1022 ± 212 | 895 ± 131** | 870 ± 87.5 |
| APTT (s) | 19.0 ± 1.25 | 17.2 ± 1.53 | 17.6 ± 0.81 | 15.6 ± 1.60 | 17.4 ± 1.85* | 16.6 ± 2.16 | 16.7 ± 1.40** | 15.9 ± 1.80 |

[d]: Data is for Week 0 – 1 only. No other changes in food consumption were observed. Control groups are presented as mean (g/day) ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.　* $p<0.05$, ** $p<0.01$, Dunnett's test

表 2.6.7-14 ラットを用いた GPB の 13 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Main Study Animals** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** | **M: 10** | **F: 10** |
| **Serum Chemistry** | | | | | | | | |
| Total protein (g/dL) | 7.4 ± 0.26 | 7.9 ± 0.61 | 6.8 ± 0.18** | 8.1 ± 0.73 | 6.7 ± 0.31** | 7.5 ± 0.61 | 6.6 ± 0.38** | 7.8 ± 0.31 |
| Globulin (g/dL) | 3.1 ± 0.21 | 2.7 ± 0.21 | 2.5 ± 0.14** | 2.8 ± 0.30 | 2.5 ±0.22** | 2.6 ± 0.18 | 2.3 ± 0.28 ** | 2.5 ± 0.21 |
| A/G ratio | 1.41 ± 0.133 | 1.92 ± 0.202 | 1.71 ± 0.111** | 1.92 ± 0.192 | 1.75 ± 0.167** | 1.89 ± 0.230 | 1.94 ± 0.214** | 2.11 ± 0.219 |
| Alkaline Phosphatase (U/L) | 84 ± 15.1 | 44 ± 11.5 | 110 ± 31.0 | 56 ± 20.8 | 134 ± 28.0** | 75 ± 24.0** | 163 ± 34.5** | 65 ± 22.9 |
| **Urinalysis** | | | | | | | | |
| Urine volume (mL) | 10.1 ± 6.37 | 6.1 ± 4.12 | 10.0 ± 5.52 | 7.1 ± 4.23 | 11.6 ± 4.67 | 8.8 ± 3.36 | 14.0 ± 15.03 | 11.8 ± 3.68** |
| pH | 6.6 ± 0.28 | 6.4 ± 0.47 | 6.4 ± 0.41 | 5.8 ± 0.35* | 6.0 ± 0.58 | 5.8 ± 0.49* | 6.1 ± 1.13 | 5.8 ± 0.48* |
| **Organ Weights (%)[d]** | | | | | | | | |
| Liver (relative to body) | 2.986 ± 0.262 g/100 g | 3.023 ± 0.331 g/100 g | ↑ 2.5 (3.061 ± 0.150) | ↑ 14 (3.443 ± 0.269)* | ↑ 7.6 (3.212 ± 0.242) | ↑ 15 (3.485 ± 0.284)* | ↑ 13 (3.378 ± 0.224) ** | ↑ 31 (3.958 ± 0.396)** |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Histopathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |

[d]: Control groups are presented as mean ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.
* p<0.05, ** p<0.01, Dunnett's test.
- No noteworthy findings / no treatment related findings

## 表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study Of Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) [HPN-100] In Sprague-Dawley Rats | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | |
| **Species/Strain:** Rats/Crl:CD(SD) | **Duration of Dosing:** 26 weeks | **Study No.** [redacted]71001 |
| **Initial Age:** 8 weeks | **Duration of Postdose:** None | **Location in CTD:** ［4.2.3.2-6］ |
| **Date of First Dose:** M: [redacted] 20[redacted]; F: [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration:** Oral/gavage | |
| | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | **GLP Compliance:** Yes |

**Special Features:** For toxicokinetic analysis, blood samples were collected from 3 animals/sex in the control group at 4 hours post dose and from 12 animals/sex at 0.65-1.0 g/kg/day prior to dosing, and at 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 hours post dose on Study Days 0 and 177.

**No Observed Adverse Effect Level:** 0.65 g/kg/day for males and 1.20 g/kg/day for females

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Main Study Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Number of TK Animals** | **M: 3** | **F: 3** | **M: 12** | **F: 12** | **M: 12** | **F: 12** | **M: 12** | **F: 12** |
| **Day 0 Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 597.6 | 461.1 | 799.4 | 808.8 | 1325.8 | 1234.5 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 3151.3 | 2661.1 | 4130.6 | 4469.3 | 8633.6 | 9894.5 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAG | NE | NE | 277.2 | 213.9 | 423.7 | 396.7 | 476.3 | 480.8 |
| **Day 177 Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 171.5 | 230.3 | 187.2 | 320.0 | 177.6 | 102.4 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 2583.6 | 2588.0 | 4043.0 | 4949.1 | 6378.1 | 7416.0 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAG | NE | NE | 403.1 | 401.1 | 719.8 | 713.0 | 985.2 | 1128.5 |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | 2[a] | 1[a] | 0 | 0 | 0 | 0 | 1[a] | 0 |
| **Body Weight (%)[b] Week 21** | 608±53.2 | 334±27.4 | ↓3.9 (584±46.2) | ↓4.5 (319±25.7) | ↓10.7** (543±52.2) | ↓7.2* (310±32.8) | ↓13.3** (527±61.7) | ↓8.1* (307±19.7) |
| **Body Weight (%)[b] Week 26** | 638±62.9 | 350±31.8 | ↓5.0 (606±49.9) | ↓5.1 (332±27.4) | ↓12.5** (558±68.0) | ↓8.3* (321±31.2) | ↓15.7** (538±65.2) | ↓9.7** (316± 20.5) |
| **Body Weight Change (g)[c]** | 353±49.5 | 153±27.3 | 323±44.1 | 133±28.9 | 279±60.8** | 122±24.1** | 258±50.0** | 118±17.2** |
| **Food Consumption** | - | - | - | - | - | - | - | - |

[a]: Death was not considered test article related. [b]: Control groups are presented as mean ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.
[c]: Weeks 0 to 26; Data are presented as mean (g) ± SD.
* p<0.05, ** p<0.01 Dunnett's test. - No noteworthy finding. $AUC_{last}$= area under the curve from the time of dosing to the last measurement, F=female, GLP=good laboratory practices, GPB=glycerol phenylbutyrate, M=male, NE=not evaluated, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetylglycine, PBA=phenylbutyric acid, SD=standard deviation, TK=toxicokinetic

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Clinical Observations**[d] | | | | | | | | |
| Wet clear material around mouth | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |
| At time of dosing | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 11 | 10 | 12 | 11 | 13 | 8 |
| Wet yellow material around mouth | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |
| At time of dosing | 0 | - | 0 | - | 2 | - | 0 | - |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 4 | 2 | 7 | 8 | 8 | 4 |
| Wet yellow material, ventral neck | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 4 | 3 | 5 |
| Dried yellow material around mouth | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| At time of dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 6 | 4 | 8 | 11 | 7 | 8 |
| Dried yellow material, ventral neck | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 |

[d] Data represent the number of animals exhibiting the clinical sign. Dashes(-) indicate that the finding was not noted during examination and was thus not listed as a clinical observation for the particular sex and time period. If an observation period is not listed (i.e. time of dosing), the finding was not noted.

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Clinical Observations**[d] | | | | | | | | |
| Wet red material around mouth | | | | | | | | |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 2 | 1 | 3 | 2 | 3 | 0 |
| Dried red material around mouth | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | - | 0 | - | 1 | - | 0 | - |
| At time of dosing | 2 | - | 0 | - | 1 | - | 1 | - |
| 3 hours post dosing | 1 | 0 | 10 | 9 | 10 | 10 | 10 | 7 |
| Dried red material ventral neck | | | | | | | | |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| Dried clear material around mouth | | | | | | | | |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 4 | 2 | 6 | 5 | 5 | 2 |
| Wet clear material forelimb(s) | | | | | | | | |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Wet yellow material forelimb(s) | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |
| Dried yellow material forelimbs | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |
| Reddened facial area | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 1 | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 1 | 5 | 12 | 7 | 10 | 13 |
| Reddened left ear | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| At time of dosing | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 15 | 5 | 15 | 10 | 15 | 11 |

[d] Data represent the number of animals exhibiting the clinical sign. Dashes(-) indicate that the finding was not noted during examination and was thus not listed as a clinical observation for the particular sex and time period. If an observation period is not listed (i.e. time of dosing), the finding was not noted.

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Clinical Observations**[d] | | | | | | | | |
| Reddened right ear | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| At time of Dosing | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 15 | 5 | 15 | 10 | 15 | 11 |
| Reddened left forelimb | | | | | | | | |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 12 | 4 | 13 | 4 | 15 | 3 |
| Reddened right forelimb | | | | | | | | |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 12 | 4 | 13 | 4 | 15 | 3 |
| Reddened left hindlimb | | | | | | | | |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 11 | 3 | 13 | 4 | 15 | 4 |
| Reddened right hindlimb | | | | | | | | |
| 3 hours post dosing | 0 | 0 | 11 | 3 | 13 | 4 | 15 | 4 |
| Rigid muscle tone | | | | | | | | |
| 3 Hours Post Dose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 8 | 8 |
| Hypoactivity | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exam | - | 1 | - | 0 | - | 0 | - | 0 |
| At time of Dosing | - | 1 | - | 0 | - | 0 | - | 0 |
| 3 Hours Post Dose | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 4 |

[d] Data represent the number of animals exhibiting the clinical sign. Dashes(-) indicate that the finding was not noted during examination and was thus not listed as a clinical observation for the particular sex and time period. If an observation period is not listed (i.e. time of dosing), the finding was not noted.

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Ophthalmoscopy** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology[b]** | | | | | | | | |
| Red blood cell counts ($10^6$/μL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 9.15± 0.452 | 8.27± 0.419 | ↓5.8 (8.62±0.387**) | ↓3.3 (8.00±0.315) | ↓7.1 (8.50±0.428**) | ↓6.9 (7.70±0.485**) | ↓10.3 (8.21±0.545**) | ↓6.2 (7.76±0.443**) |
| Week 26 | 8.95± 0.339 | 8.12± 0.374 | ↓3.8 (8.61±0.359) | ↓3.7 (7.82±0.250) | ↓7.0 (8.32±0.428**) | ↓5.2 (7.70±0.610**) | ↓10.3 (8.03±0.510**) | ↓5.9 (7.64±0.364**) |
| Hematocrit (%) | | | | | | | | |
| Week 12 | 47.6±2.53 | 44.2± 2.41 | ↓5.9 (44.8±1.63**) | ↓2.0 (43.3±1.77) | ↓5.5 (45.0±1.78**) | ↓5.7 (41.7±2.16**) | ↓8.8 (43.4±1.80**) | ↓4.5 (42.2±1.91**) |
| Week 26 | 45.9±1.62 | 43.2± 1.61 | ↓4.8 (43.7±1.95**) | ↓3.7 (41.6±1.27*) | ↓5.7 (43.3±1.77**) | ↓5.8 (40.7±2.73**) | ↓9.4 (41.6±1.94**) | ↓6.5 (40.4±1.21**) |
| Hemoglobin (g/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 16.4±0.64 | 15.4±0.79 | ↓6.7 (15.3±0.37**) | ↓1.9 (15.1±0.50) | ↓6.7 (15.3±0.56**) | ↓5.8 (14.5±0.65**) | ↓9.8 (14.8±0.62**) | ↓5.2 (14.6±0.66**) |
| Week 26 | 15.8±0.50 | 15.2± 0.63 | ↓5.1 (15.0±0.48**) | ↓3.9 (14.6±0.45*) | ↓7.0 (14.7±0.70**) | ↓6.6 (14.2±0.83**) | ↓10.1 (14.2±0.68**) | ↓7.2 (14.1±0.42**) |
| Platelets ($10^3$/μL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 1119±123.6 | 1152±199.3 | ↓7.5 (1035±128.4) | ↓5.8 (1085±94.4) | ↓6.3 (1049±195.6) | ↓12.2 (1011±288.6) | ↓18.1 (916±116.1**) | ↓11.5 (1020±115.1) |
| Week 26 | 1108±134.0 | 1093± 179.9 | ↑1.6 (1126±122.5) | ↓5.3 (1035±104.7) | ↑0.9 (1118±150.3) | ↓12.0 (962±281.1) | ↓9.9 (998±134.0) | ↓15.6 (923±104.4) |
| Reticulocytes ($10^3$/μL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 137.1±25.39 | 111.1±17.44 | ↓7.5 (126.8±24.42) | ↑21.9 (135.4±41.75) | ↑8.0 (148.0±43.90) | ↑36.5 (151.6±50.87) | ↑5.9 (145.2±53.96) | ↑15.8 (128.7±52.03) |
| Week 26 | 93.7± 10.59 | 64.4±9.49 | ↓15.7 (79.0±14.48) | ↑20.3 (77.5±44.46) | ↑1.8 (95.4±33.31) | ↑8.9 (70.1±22.46) | ↑22.8 (115.1±100.11) | ↑16.1 (74.8±34.30) |

- No noteworthy finding.
* $p<0.05$, ** $p<0.01$ Dunnett's test.
[b]: Control groups are presented as mean ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.
[d]: Data represent the number of animals exhibiting the clinical sign. Dashes(-) indicate that the finding was not noted during examination and was thus not listed as a clinical observation for the particular sex and time period. If an observation period is not listed (i.e. time of dosing), the finding was not noted.

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Hematology continued[b]** | | | | | | | | |
| APTT (seconds) | | | | | | | | |
| Week 26 | 21.6±1.86 | 21.3±1.61 | ↓6.5 (20.2±1.53*) | ↓2.3 (20.8±1.89) | ↓7.4 (20.0±1.09*) | ↓8.9 (19.4±1.81*) | ↓11.1 (19.2±1.17**) | ↓6.1 (20.0±1.40) |
| PT (seconds) | | | | | | | | |
| Week 26 | 15.4±0.93 | 14.0±0.47 | ↓1.9 (15.1±0.67) | ↑5.0 (14.7±0.49**) | ↓1.3 (15.2±0.90) | ↑2.1 (14.3±0.58) | ↓1.9 (15.1±0.65) | ↑5.7 (14.8±0.58**) |
| **Serum Chemistry[b]** | | | | | | | | |
| ALP (U/L) | | | | | | | | |
| Week 12 | 95±34.8 | 61±21.6 | ↑25.3 (119±29.8) | ↑37.7 (84±26.2) | ↑46.3 (139±32.7**) | ↑39.3 (85±25.5*) | ↑64.2 (156±24.3**) | ↑ 42.6 (87±30.8*) |
| Week 26 | 69±24.2 | 42±15.0 | ↑42.0 (98±42.0*) | ↑42.9 (60±28.5) | ↑62.3 (112±23.0**) | ↑54.8 (65±26.4) | ↑100.0 (138±22.5**) | ↑45.2 (61±23.5) |
| ALT (U/L) | | | | | | | | |
| Week 12 | 40±5.8 | 45±16.4 | ↑115.0 (86±183.0) | ↓2.2 (44±16.6) | ↑82.5 (73±110.9) | ↑97.8 (89±117.4) | ↑5.0 (42±11.7) | ↑24.4 (56±55.7) |
| Week 26 | 41±7.8 | 51±13.7 | ↑409.8 (209±511.8) | ↑0.0 (51±28.0) | ↑122.0 (91±154.8) | ↑149.0 (127±124.4**) | ↑68.3 (69±103.2) | ↓23.5 (39±6.6) |
| AST (U/L) | | | | | | | | |
| Week 12 | 80±15.2 | 86±34.8 | ↑90.0 (152±291.1) | ↓9.3 (78±19.4) | ↑36.3 (109±110.3) | ↑50.0 (129±124.5) | ↑2.5 (82±16.8) | ↑7.0 (92±63.0) |
| Week 26 | 78±19.2 | 97±41.1 | ↑287.2 (302±687.4) | ↓11.3 (86±37.2) | ↑83.3 (143±184.7) | ↑68.0 (163±121.5*) | ↑39.7 (109±76.8) | ↓22.7 (75±12.6) |
| GGT (U/L) | | | | | | | | |
| Week 12 | 0.7±0.46 | 1.1±0.63 | ↑14.3 (0.8±0.77) | ↑0.0 (1.1±0.80) | ↑14.3 (0.8±0.66) | ↑36.4 (1.5±1.04) | ↑0.0 (0.7±0.58) | ↑36.4 (1.5±0.95) |
| Week 26 | 0.3±0.28 | 0.5±0.40 | ↑200.0 (0.9±1.00) | ↑0.0 (0.5±0.35) | ↑133.3 (0.7±0.91) | ↑140.0 (1.2±1.26) | ↑100.0 (0.6±0.53) | ↑20.0 (0.6±0.41) |

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ Dunnett's test.
[b]: Control groups are presented as mean ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Serum Chemistry continued[b]** | | | | | | | | |
| BUN (mg/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 14.4±1.99 | 17.0±2.35 | ↓7.6 (13.3±2.79) | ↓16.5 (14.2±2.68*) | ↑9.7 (15.8±2.18) | ↓4.7 (16.2±2.37) | ↑17.4 (16.9±2.84*) | ↑2.4 (17.4±3.35) |
| Week 26 | 13.6±1.65 | 15.5±3.35 | ↓8.8 (12.4±1.35) | ↓9.0 (14.1±2.02) | ↑4.4 (14.2±1.83) | ↑3.9 (16.1±5.26) | ↑9.6 (14.9±2.26) | ↑18.1 (18.3±3.99) |
| Total Protein (g/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 6.8±0.20 | 7.4±0.47 | ↓4.4 (6.5±0.27**) | ↓2.7 (7.2±0.40) | ↓5.9 (6.4±0.30**) | ↑0.0 (7.4±0.44) | ↓7.4 (6.3±0.26**) | ↓1.4 (7.3±0.32) |
| Week 26 | 6.9±0.17 | 7.9±0.55 | ↓4.3 (6.6±0.26**) | ↓3.8 (7.6±0.47) | ↓5.8 (6.5±0.31**) | ↓5.1 (7.5±0.40) | ↓7.2 (6.4±0.25**) | ↓5.1 (7.5±0.31) |
| Globulin (g/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 2.5±0.15 | 2.4±0.23 | ↓16.0 (2.1±0.19**) | ↓8.3 (2.2±0.24) | ↓24.0 (1.9±0.31**) | ↓4.2 (2.3±0.26) | ↓24.0 (1.9±0.28**) | ↓8.3 (2.2±0.24) |
| Week 26 | 2.7±0.20 | 2.6±0.28 | ↓11.1 (2.4±0.27**) | ↓7.7 (2.4±0.29) | ↓22.2 (2.1±0.23**) | ↓7.7 (2.4±0.38) | ↓22.2 (2.1±0.37**) | ↓11.5 (2.3±0.21) |
| A/G Ratio | | | | | | | | |
| Week 12 | 1.70± 0.136 | 2.14±0.229 | ↑21.2 (2.06±0.186*) | ↑5.1 (2.25±0.235) | ↑37.6 (2.34±0.422**) | ↑7.0 (2.29±0.342) | ↑42.4 (2.42±0.454**) | ↑9.3 (2.34±0.298) |
| Week 26 | 1.58± 0.175 | 2.08±0.226 | ↑16.5 (1.84±0.228) | ↑5.8 (2.20±0.284) | ↑29.1 (2.04±0.269*) | ↑5.3 (2.19±0.397) | ↑37.3 (2.17±0.732**) | ↑10.6 (2.30±0.232) |

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ Dunnett's test.
[b]: Control groups are presented as mean ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Serum Chemistry continued[b]** | | | | | | | | |
| Phosphorous (mg/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 7.1±0.69 | 6.4±0.84 | ↑4.2 (7.4±0.97) | ↑7.8 (6.9±0.72) | ↑5.6 (7.5±0.61) | ↑3.1 (6.6±0.86) | ↑15.5 (8.2±0.71**) | ↑10.9 (7.1±0.72) |
| Week 26 | 6.0±0.51 | 5.6±0.58 | ↑1.7 (6.1±0.77) | ↑1.8 (5.7±0.44) | ↑3.3 (6.2±0.63) | ↓3.6 (5.4±0.90) | ↑5.0 (6.3±0.68) | ↑12.5 (6.3±0.74*) |
| Calcium (mg/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 11.0±0.32 | 11.2±0.40 | ↓3.6 (10.6±0.33**) | ↓2.7 (10.9±0.43) | ↓2.7 (10.7±0.31*) | ↓1.8 (11.0±0.42) | ↓4.5 (10.5±0.27**) | ↓1.8 (11.0±0.55) |
| Week 26 | 10.9±0.21 | 11.5±0.34 | ↓4.6 (10.4±0.20**) | ↓5.2 (10.9±0.27**) | ↓3.7 (10.5±0.27**) | ↓6.1 (10.8±0.46**) | ↓5.5 (10.3±0.28**) | ↓6.1 (10.8±0.50**) |
| Potassium (mEq/L) | | | | | | | | |
| Week 12 | 4.75± 0.357 | 4.33±0.452 | ↓3.2 (4.60±0.339) | ↑0.7 (4.36±0.274) | ↓2.5 (4.63±0.368) | ↓8.8 (3.95±0.426*) | ↓4.2 (4.55±0.248) | ↓8.8 (3.95±0.301*) |
| Week 26 | 4.60± 0.268 | 3.97±0.557 | ↑0.7 (4.63±0.318) | ↓0.3 (3.96±0.304) | ↑3.5 (4.76±0.340) | ↓3.3 (3.84±0.473) | ↑0.7 (4.63±0.329) | ↓6.5 (3.71±0.370) |
| Sodium (mEq/L) | | | | | | | | |
| Week 12 | 144±1.4 | 144±1.7 | ↑0.7 (145±1.2) | ↑0.0 (144±1.5) | ↑0.0 (144±1.6) | ↓0.7 (143±2.1) | ↑0.0 (144±2.8) | ↓0.7 (143±2.7) |
| Week 26 | 145±1.0 | 144±1.2 | ↑0.0 (145±1.6) | ↓0.7 (143±2.2) | ↓0.7 (144±2.0) | ↓0.7 (143±1.4) | ↓0.7 (144±1.8) | ↓1.4 (142±2.3**) |

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ Dunnett's test.
[b]: Control groups are presented as mean ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Serum Chemistry continued[b]** | | | | | | | | |
| Glucose (mg/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 116±10.0 | 118±13.4 | ↓12.1 (102±10.1**) | ↓11.9 (104±11.8**) | ↓13.8 (100±9.7**) | ↓12.7 (103±11.0**) | ↓5.2 (110±7.3) | ↓10.2 (106±9.1*) |
| Week 26 | 115±9.1 | 110±8.9 | ↓8.7 (105±9.1*) | ↓6.4 (103±10.3) | ↓7.0 (107±7.4*) | ↓10.0 (99±8.4*) | ↓3.5 (111±8.6) | ↓4.5 (105±10.7) |
| Cholesterol (mg/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 69±16.8 | 92±22.8 | ↓10.1 (62±13.1) | ↑3.3 (95±20.1) | ↓23.2 (53±8.1**) | ↑10.9 (102±15.5) | ↓34.8 (45±7.3**) | ↑7.6 (99±22.0) |
| Week 26 | 79±21.6 | 105±24.1 | ↓11.4 (70±20.7) | ↓5.7 (99±15.5) | ↓26.6 (58±10.9**) | ↓4.8 (100±18.9) | ↓38.0 (49±9.7**) | ↓16.2 (88±15.8) |
| **Urinalysis** | | | | | | | | |
| pH | | | | | | | | |
| Week 12 | 6.3±0.32 | 6.0±0.00 | 5.9±0.21** | 5.8±0.25 | 5.6±0.28** | 5.8±0.32* | 5.6±0.21** | 5.7±0.24** |
| Week 26 | 6.2±0.25 | 6.0±0.00 | 6.1±0.18 | 5.9±0.28 | 5.9±0.44 | 5.7±0.25** | 5.9±0.39 | 5.9±0.23 |
| Volume (mL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 5.7±3.39 | 3.8±2.51 | 13.7± 7.12** | 7.9±3.29** | 10.7±4.30 | 7.6±2.97** | 14.7± 7.86** | 11.3± 4.24** |
| Week 26 | 8.8±5.36 | 7.6±5.85 | 17.3±12.58 | 12.7±7.20 | 17.1±9.04 | 14.9±8.71 | 23.7±15.38** | 21.3±15.29** |

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ Dunnett's test.
[b]: Control groups are presented as mean ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Organ Weights[b]** | | | | | | | | |
| Kidney (g) | 4.05±0.40 | 2.30±0.33 | ↑11.6 (4.52±0.41*) | ↑10.4 (2.54±0.24) | ↑2.7 (4.16±0.42) | ↑10.9 (2.55±0.34) | ↑3.2 (4.18±0.58) | ↑10.9 (2.55±0.24) |
| Kidney (g/100 g final body weight) | 0.669± 0.085 | 0.695± 0.068 | ↑17.9 (0.789± 0.056**) | ↑18.1 (0.821± 0.063**) | ↑19.0 (0.796± 0.071**) | ↑22.7 (0.853± 0.071**) | ↑25.0 (0.836± 0.072**) | ↑24.9 (0.868±0.062**) |
| Kidney (g/100 g brain weight) | 183.06± 15.84 | 116.52± 15.85 | ↑17.5 (215.01± 19.67**) | ↑11.6 (130.04± 14.83) | ↑11.0 (203.27± 16.86*) | ↑12.7 (131.35± 16.88*) | ↑11.0 (203.14± 20.84*) | ↑14.2 (133.03± 12.34*) |
| Liver (g) | 15.85± 1.91 | 8.78±1.50 | ↑6.8 (16.92± 1.84) | ↑12.4 (9.87±0.91*) | ↑1.3 (16.06±2.61) | ↑ 16.6 (10.24±1.10*) | ↑4.4 (16.55± 2.34) | ↑18.6 (10.41± 1.02**) |
| Liver (g/100 g final body weight) | 2.61±0.25 | 2.65±0.28 | ↑13.2 (2.95±0.21**) | ↑20.4 (3.19±0.20**) | ↑17.0 (3.05± 0.24**) | ↑29.8 (3.44± 0.23**) | ↑27.1 (3.31± 0.36**) | ↑34.0 (3.55± 0.25**) |
| Liver (g/100 g brain weight) | 716.92± 90.60 | 445.52 ± 74.90 | ↑12.1 (803.84± 81.71) | ↑13.3 (504.99± 56.21*) | ↑9.5 (784.70± 117.76) | ↑18.7 (528.88± 63.13**) | ↑12.5 (806.26± 106.88) | ↑22.0 (543.56± 51.35**) |

表 2.6.7-15 ラットを用いた GPB の 26 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** | **M: 15** | **F: 15** |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Histopathology (Scheduled Necropsy)** | | | | | | | | |
| Liver | | | | | | | | |
| Alteration cytoplasmic | 0 | 0 | 11 | 8 | 12 | 12 | 13 | 14 |
| Minimal | 0 | 0 | 9 | 8 | 5 | 11 | 3 | 9 |
| Mild | 0 | 0 | 2 | 0 | 7 | 1 | 10 | 5 |
| Spleen | | | | | | | | |
| Brown pigment | 1 | 1 | 3 | 6 | 9 | 7 | 13 | 10 |
| Minimal | 1 | 1 | 2 | 6 | 4 | 5 | 4 | 5 |
| Mild | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 2 | 5 | 5 |
| Moderate | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0 |
| Lymphoid Depletion | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 2 | 1 |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Erythroid Depletion | | | | | | | | |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ Dunnett's test.
[b]: Control groups are presented as mean (g) ± SD. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses.

表 2.6.7-16 サルを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** 14-Day Nasogastric Intubation Toxicity and Toxicokinetic Study with Glyceryl tri-(4-phenylbutyrate) (GT4P) in Cynomolgus Monkeys | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | |
| **Species/Strain:** Monkeys/Cynomolgus | **Duration of Dosing:** 14 days | **Study No.** [redacted]**2-105** |
| **Initial Age:** 2.5 to 4 years | **Duration of Postdose:** None | **Location in CTD:** ［4.2.3.2-7］ |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] (Phase 1); [redacted] 20[redacted] (Phase 2) | **Method of Administration:** Oral/Nasogastric | |
| | **Vehicle/Formulation:** Corn oil for controls; GPB administered neat | **GLP Compliance:** Yes |

**Special Features:** Due to excessive toxicity, the initial doses were reduced, thus the study was conducted in 2 phases. In Phase 1, animals were administered doses of 0, 1, 5, and 10 g/kg/day. Within 13 hours post dose, animals in the mid- and high-dose groups exhibited clinical signs of toxicity and some animals required euthanasia. On Day 2, doses were reduced to 0, 1, 2.5, and 5 g/kg/day and clinical signs of toxicity persisted in the mid- and high-dose groups; 2 high dose females required euthanasia. Dosing was discontinued and after a washout period (Days 3-14), Phase 2 began with doses of 0, 1, 2.5, and 3.5 g/kg/day. Data presented below is for Phase 2 only. During Phase 2, blood samples for toxicokinetic analysis were collected on Days 1 and 14 prior to dosing and at 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 hours post-dose, and on Day 9, samples was collected from all animals at 3 hours post dose (TK parameters were not calculated for Day 9 data).

**No Observed Adverse Effect Level:** 1 g/kg/day

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)[a]** | | **1** | | **2.5** | | **3.5** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 3** | **F: 2[a]** | **M: 3** | **F: 3** | **M: 3** | **F: 3** | **M: 3** | **F: 3** |
| **Day 1 Toxicokinetics:** $AUC_{last}$(μg·hr/mL) for PBA | NE[b] | NE[b] | 491±133 | 617±175 | 912±262 | 1481±967 | 942±682 | 542±146 |
| $AUC_{last}$(μg·hr/mL) for PAA | NE[b] | NE[b] | 3488±1633 | 5353± 1743 | 8168± 3360 | 16105± 11257 | 9031±8081 | 6090±3012 |
| $AUC_{last}$(μg·hr/mL) for PAGN | NE[b] | NE[b] | 700±247 | 808±340 | 854±234 | 2025±1469 | 956±513 | 733±331 |
| **Day 14 Toxicokinetics:** $AUC_{last}$(μg·hr/mL) for PBA | NE[b] | NE[b] | 707±183 | 702±194 | NE[b] | NE[b] | NE[b] | NE[b] |
| $AUC_{last}$(μg·hr/mL) for PAA | NE[b] | NE[b] | 2634±3757 | 4278± 4598 | NE[b] | NE[b] | NE[b] | NE[b] |
| $AUC_{last}$(μg·hr/mL) for PAGN | NE[b] | NE[b] | 674±250 | 1058±614 | NE[b] | NE[b] | NE[b] | NE[b] |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 3[c] | 3[c] | 3[c] | 3[c] |

表 2.6.7-16 サルを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (mg/kg)** | **0 (Control)** | | **1** | | **2.5** | | **3.5** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 3** | **F: 2** | **M: 3** | **F: 3** | **M: 3** | **F: 3** | **M: 3** | **F: 3** |
| **Body Weight Change (kg)[d]** | 0.0±0.17 | 0.0±0.14 | -0.1±0.06 | -0.2±0.15 | -0.4±0.07* | -0.3±0.07* | -0.4±0.10* | -0.3±0.06* |
| **Body Weight (kg) [d]** | 3.9±0.78 | 3.1±0.35 | 3.4±0.51 | 2.7±0.10 | 3.3±0.07 | 2.5±0.00 | 3.4±0.44 | 2.8±0.50 |
| **Clinical Observations (N)** | | | | | | | | |
| Hunched posture | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 |
| Hypoactivity | 1 | 0 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 |
| Qualitative food consumption | | | | | | | | |
| Low | 0 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| None | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 3 | 3 |
| Feces | | | | | | | | |
| Black feces | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| Few feces | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 |
| No feces | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| Non-formed feces | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| Oil | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 3 | 1 |
| Oily anal discharge | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Discharge | | | | | | | | |
| Oily anal discharge | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| Yellow anal discharge | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Vomitus | | | | | | | | |
| Containing food | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Foamy | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Tremors | | | | | | | | |
| Front Limbs | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Entire Body | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |

表 2.6.7-16 サルを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (mg/kg)** | **0 (Control)** | | **1** | | **2.5** | | **3.5** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 3** | **F: 2** | **M: 3** | **F: 3** | **M: 3** | **F: 3** | **M: 3** | **F: 3** |
| Ataxia | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| Oily haircoat | | | | | | | | |
| Generalized | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 3 |
| Entire body | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| Respiration | | | | | | | | |
| Audible | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Labored | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 |
| Recumbency | | | | | | | | |
| Dorsal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Lateral | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Sternal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Thin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| Red discharge unknown source | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Excessive Salivation | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| **Ophthalmoscopy** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Electrocardiography** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology**[e] | | | | | | | | |
| Absolute lymphocytes ($10^3$/UL) | 8.5±3.65 | 5.4±1.98 | 6.8±2.68 | 7.8±4.67 | 5.6±0.28 | 2.7±0.99 | 5.4±1.25 | 3.3±3.89 |
| Absolute neutrophils ($10^3$/UL) | 4.1±1.47 | 4.0±0.14 | 3.7±1.65 | 4.1±1.12 | 5.6±3.04 | 3.6±2.12 | 6.7±2.72 | 3.2±1.34 |
| Red blood cells ($10^6$/UL) | 4.59±0.34 | 4.42±0.191 | 4.50±0.28 | 4.15±0.38 | 4.66±0.09 | 4.18±0.29 | 4.67±0.47 | 4.54±0.32 |
| Reticulocytes (%) | 3.1±0.23 | 2.5±1.34 | 3.0±0.75 | 2.7±0.21 | 1.6±0.78 | 1.6±1.20 | 2.1±0.26 | 1.4±0.57 |
| Absolute reticulocytes ($10^3$/μL) | 145.6± 15.79 | 110.2± 62.01 | 134.2±26.08 | 111.4± 17.68 | 70.6± 36.06 | 64.4±44.97 | 100.2±22.13 | 62.3±21.00 |

表 2.6.7-16 サルを用いた GPB の 14 日間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (mg/kg) | 0 (Control) | | 1 | | 2.5 | | 3.5 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 3** | **F: 2** | **M: 3** | **F: 3** | **M: 3** | **F: 3** | **M: 3** | **F: 3** |
| **Serum Chemistry[e]** | | | | | | | | |
| AST (U/L) | 35±4.2 | 37±4.9 | 51±5.1* | 41±7.0 | 66±55.9 | 40±19.1 | 64±43.4 | 44±2.8 |
| Triglycerides (mg/dL) | 24±4.4 | 42±6.4 | 48±7.8* | 49±24.3 | 39±37.5 | 49±21.2 | 27±9.5 | 87±5.7 |
| Inorganic Phosphorus (mg/dL) | 6.6±0.89 | 4.3±0.00 | 4.6±0.55* | 5.4±1.21 | 5.4±1.63 | 3.5±0.14 | 5.4±1.44 | 4.2±1.63 |
| Urea nitrogen (mg/dL) | 16±6.0 | 16±0.0 | 16±1.2 | 16±2.1 | 17±4.2 | 21±1.4 | 11±5.7 | 22±1.4 |
| Calcium (mg/dL) | 10.0±0.78 | 9.3±0.07 | 9.9±0.26 | 10.3±0.26* | 11.6±0.07 | 9.7±0.00 | 10.5±0.51 | 9.5±0.49 |
| Potassium (mEq/L) | 4.5±0.45 | 4.0±0.00 | 4.2±0.23 | 4.7±0.17* | 4.8±0.21 | 4.4±0.21 | 4.9±0.42 | 4.6±0.14 |
| **Urinalysis[f]** | | | | | | | | |
| Specific gravity | 1.031± 0.017 | 1.032± 0.016 | 1.058±0.005 | 1.046± 0.030 | NE | NE | NE | NE |
| pH | 7.2±0.58 | 7.8±0.35 | 6.2±0.76 | 5.8±0.76 | NE | NE | NE | NE |
| **Organ Weights** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Histopathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |

$AUC_{last}$= area under the curve from the time of dosing to last measurement , AST= alanine aminotransferase, F=female, GLP=good laboratory practices, GPB=glycerol phenylbutyrate (formerly glyercyl tri-(4-phenylbutyrate), GT4P=glyceryl tri-(4-phenylbutryate), M=male, NE=not evaluated, PBA=phenylbutyric acid, PAA=phenylacetic acid, PAGN=phenylacetylglutamine, TK=toxicokinetic

* $p \leq 0.05$, Dunnett's test.

- No noteworthy findings / no treatment related findings

[a]: 1 High dose female was removed from the control group before commencement of Phase 2 because of an abnormal clinical chemistry finding in pre-phase 2 clinical pathology evaluation.

[b]: NE Not evaluated. Plasma drug levels were below quantifiable limits (< 1.000 µg/mL) for control samples. Mid and high dose groups were sacrificed before Day 14.

[c]: 1 F at 2.5 and 3.5 g/kg were sacrificed moribund on Day 2 and Day 8, respectively. 1 M at 2.5 g/kg was sacrificed moribund on Day 5. Due to increasing signs of toxicity in all remaining animals at ≥2.5 g/kg, these groups were terminated for humane reasons on Day 9.

[d]: Body weight change data is from Day 1 to 15 for control and low dose groups, and from Day 1 to 8 for mid and high dose groups. Bodyweight data is from Day 15 for control and low dose and from Day 8 for mid and high doses.

[e]: Hematology and serum chemistry data for control and low dose groups is for Day 15, and for mid and high dose groups for Day 9.

[f]: Urinalysis was only performed on Day 15 in control and 1 g/kg/day animals.

表 2.6.7-17 サルを用いた GPB の 13 週間反復投与毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** A 13-Week Oral (Nasogastrically) Study Administered Glyceryl Tri- (4-Phenylbutyrate) [GT4P] In Cynomolgus Monkeys | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | |
| **Species/Strain:** Monkeys/Cynomolgus | **Duration of Dosing:** 13 weeks | **Study No.** [redacted]10010 |
| **Initial Age:** 2 to 2.5 years | **Duration of Postdose:** None | **Location in CTD:** [4.2.3.2-8] |
| **Date of First Dose:** M: [redacted] 20[redacted] F: [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration:** Oral/ Nasogastric intubation | |
| | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | **GLP Compliance:** Yes[d] |

**Special Features:** Samples for toxicokinetic analysis were taken on Study Days 0 and 89 at 0, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 hours post dose.

**No Observed Adverse Effect Level:** 1.25 g/kg/day

| **Daily Dose (mg/kg)** | **0 (Control)** | | **0.75** | | **1.25** | | **1.75** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 4** | **F: 4** | **M: 4** | **F: 4** | **M: 4** | **F: 4** | **M: 4** | **F: 4** |
| **Day 0 Toxicokinetics:** $AUC_{last}$(hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 550±103 | 443±138 | 971±357 | 675±268 | 1124±241 | 920±124 |
| $AUC_{last}$(hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 1896±1035 | 2444±1382 | 6982±3884 | 5185±4406 | 10100±5165 | 8760±2766 |
| $AUC_{last}$(hr·µg/mL) for PAGN | NE | NE | 746±251 | 611±153 | 1075±400 | 769±333 | 1365±293 | 946±165 |
| **Day 89 Toxicokinetics:** $AUC_{last}$(hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 637±253 | 404±121 | 525±132 | 607±177 | 926±179 | 677±195 |
| $AUC_{last}$(hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 465±329 | 1988±2310 | 2492±2624 | 2982±3682 | 7735±4934 | 7081±6667 |
| $AUC_{last}$(hr·µg/mL) for PAGN | NE | NE | 719±357 | 640±396 | 1179±835 | 1075±544 | 2510±629 | 1848±799 |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Died or Sacrificed Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Cumulative Body Weight Changes (%)[a]** | 178 ± 85.6 | 80 ± 53.8 | ↓ 6 (167 ± 99.2) | ↓ 45 (45 ± 49.5) | ↓ 78 (39 ± 145.7) | ↓ 28 (58 ± 89.4) | ↓ 108 (-15 ± 210) | ↓ 55 (36 ± 221) |

表 2.6.7-17　サルを用いた GPB の 13 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (mg/kg)** | **0 (Control)** | | **0.75** | | **1.25** | | **1.75** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M:** | **F:** | **M:** | **F:** | **M:** | **F:** | **M:** | **F:** |
| **Functional Observational Battery** | | | | | | | | |
| Tremors | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| **Clinical Observations**[c] | | | | | | | | |
| Inappetence[b] | -- | + | -- | + | + | + | + | + |
| Tremors (intermittent) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Tremors (continuous) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Hypoactivity | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Impaired muscle coordination | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Twitching | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Body pallor | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Labored respiration | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Impaired equilibrium | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| **Ophthalmoscopy** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Electrocardiography** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology** (Week 13) | | | | | | | | |
| Platelets ($10^3/\mu L$) | 384 ± 61.7 | 415 ± 48.8 | 432 ± 93.0 | 317 ± 23.6* | 354 ± 89.9 | 370 ± 59.7 | 302 ± 90.4 | 332 ± 19.6* |
| Red blood cells ($10^6l/\mu L$) | 5.19 ± 0.301 | 5.01 ± 0.307 | 5.09 ± 0.273 | 4.65 ± 0.338 | 4.48 ± 0.388* | 4.70 ± 0.505 | 4.86 ± 0.221 | 4.28 ± 0.135 |
| Hemoglobin (g/dL) | 12.1 ± 0.49 | 11.8 ± 0.66 | 11.4 ± 1.03 | 11.1 ± 0.70 | 10.4 ± 0.58** | 11.1 ± 1.32 | 11.4 ± 0.26 | 10.5 ± 0.59 |
| Hematocrit (%) | 37.3 ± 1.68 | 37.5 ± 2.85 | 36.6 ± 3.48 | 35.8 ± 3.63 | 31.8 ± 1.73** | 35.0 ± 5.03 | 35.6 ± 0.81 | 32.9 ± 2.32 |
| **Serum Chemistry** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Urinalysis** (Week 13) | | | | | | | | |
| pH | 8.0 ± 0.91 | 7.3 ± 0.65 | 7.5 ± 0.91 | 6.5 ± 0.71 | 7.1 ± 1.11 | 5.4 ± 0.25** | 5.9 ± 0.75* | 5.4 ± 0.48** |

表 2.6.7-17 サルを用いた GPB の 13 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (mg/kg) | 0 (Control) | | 0.75 | | 1.25 | | 1.75 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M:** | **F:** | **M:** | **F:** | **M:** | **F:** | **M:** | **F:** |
| **Organ Weights (%)** | | | | | | | | |
| Liver | 49.98 ± 5.52 g | 44.41 ± 1.32 g | ↑ 7 (53.32 ± 3.91) | ↑ 24 (55.17 ± 6.17) | ↑ 12 (56.08 ± 6.85) | ↑ 16 (51.44 ± 4.22) | ↑ 22 (60.92 ± 10.23) | ↑ 22 (53.94 ± 8.78) |
| Thymus | 4.17 ± 1.68 g | 2.90 ± 0.436 g | ↓ 38 (2.60 ± 0.254) | ↑ 0.7 (2.92 ± 1.09) | ↓ 35 (2.70 ± 0.638) | ↑ 25 (3.62 ± 1.31) | ↓ 36 (2.67 ± 1.33) | ↑ 4.1 (3.02 ± 2.43) |
| **Gross Pathology** | | | | | | | | |
| Small Thymus | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| Centrilobular hepatocellular hypertrophy | 0 | 0 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 |
| Fatty infiltrate in bone marrow | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 2 | 4 | 3 |
| Lymphoid depletion in the thymus | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 | 2 | 3 |

$AUC_{last}$= area under the curve from the time of dosing to last measurement , AST= alanine aminotransferase, F=female, GLP=good laboratory practices, GPB=glycerol phenylbutyrate (formerly glyercyl tri-(4-phenylbutyrate), GT4P=glyceryl tri-(4-phenylbutryate), M=male, NE=not evaluated, PBA=phenylbutyric acid, PAA=phenylacetic acid, PAGN=phenylacetylglutamine, TK=toxicokinetic

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, Dunnett's test.

-: No noteworthy findings / no treatment related findings

[a]: Body weight changes are for Weeks 0 – 13. Control group data represent the mean value ± SD. All other groups present the % change from control with the mean ± SD values in parentheses.

[b]: Inappetence was recorded as present (+) or absent (--). Inappetence was noted when animals were housed socially, so it was not possible to determine the exact number of animals that this affected.

[c]: At the high dose level, one female displayed intermittent tremors, hypoactivity, impaired equilibrium, twitching, continuous tremors, body pallor, labored respiration, and impaired muscle coordination. Dosing for this animal was discontinued on Day 7 until all signs (except tremors) subsided on Day 8. Dosing was resumed on Day 10.

[d]: Study was GLP compliant with the exception of the plasma amino acid analysis.

表 2.6.7-18 サルを用いた GPB の 52 週間反復投与毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** A 12-Month Oral (Nasogastric) Toxicity Study Of Glyceryl Tri (4-Phenylbutyrate) [HPN-100] In Cynomolgus Monkeys | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) |
| **Species/Strain:** Monkeys/Cynomolgus | **Duration of Dosing:** 52 weeks | **Study No.** [redacted]71002 |
| **Initial Age:** 2 to 4 years | **Duration of Postdose:** None | **Location in CTD:** ［4.2.3.2-9］ |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration:** Oral/ Nasogastric intubation | |
| | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | **GLP Compliance:** Yes |

**Special Features:** 4/sex euthanized after 26 weeks of dosing and 4/sex euthanized after 52 weeks of dosing. Samples for toxicokinetic analysis were taken on Study Days 0, 180, and 358 at prior to dosing and at 1, 2, 4, 6, 8, 12, and 24 hours post dose.

**No Observed Adverse Effect Level:** 1.1 g/kg/day

| **Daily Dose (g/kg/day)** | **0 (Control)** | | **0.7** | | **1.1** | | **1.5** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** |
| **Day 0 Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 420.27± 125.06 | 458.19± 119.36 | 669.68± 115.43 | 612.97± 178.16 | 974.03± 330.13 | 757.72± 254.32 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 2592.9± 2103.6 | 1454.0± 1702.8 | 3699.4± 2234.5 | 2708.7± 1575.0 | 9397.3± 5214.2 | 5254.3± 3730.8 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAGN | NE | NE | 535.46± 223.42 | 502.91± 201.08 | 784.79± 230.21 | 649.78± 291.12 | 1237.62± 491.33 | 1140.47± 632.79 |
| **Day 180 Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 533.85± 66.31 | 506.86± 144.38 | 678.99± 117.36 | 650.44± 152.03 | 662.98± 244.86 | 711.73± 115.33 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 1708.6± 858.9 | 2428.6± 1174.1 | 3274.3± 1671.0 | 3428.3± 2312.8 | 6872.0± 3612.5 | 6949.4± 2847.4 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAGN | NE | NE | 706.07± 154.89 | 979.84± 279.54 | 1232.91± 312.61 | 1289.29± 772.16 | 1778.68± 299.08 | 2074.35± 718.96 |
| **Day 358 Toxicokinetics:** | | | | | | | | |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | NE | NE | 622.40± 73.27 | 370.02± 118.80 | 504.83± 176.37 | 592.39± 144.54 | 609.43± 152.77 | 529.26± 178.77 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | NE | NE | 2398.15± 1724.05 | 363.90± 429.62 | 2204.09± 1317.55 | 2794.24± 1812.30 | 9910.14± 8477.44 | 4199.69± 3517.77 |
| $AUC_{last}$( hr·µg/mL) for PAGN | NE | NE | 737.82± 251.74 | 437.54± 178.94 | 1026.48± 399.49 | 1400.51± 1087.04 | 1844.23± 144.45 | 1396.38± 993.15 |

表 2.6.7-18 サルを用いた GPB の 52 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg/day)** | **0 (Control)** | | **0.7** | | **1.1** | | **1.5** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** |
| **Noteworthy Findings:** | | | | | | | | |
| **Died/Euthanized Moribund** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Body Weight** | | | | | | | | |
| Body weight Week 52[a] | 4091±657.2 | 3008±564.9 | ↓14.7 (3489±414.3) | ↓2.8 (2924±269.6) | ↓10.1 (3676±452.5) | ↓8.4 (2756± 387.3) | ↓21.8 (3201±431.3) | ↓9.7 (2716±509.8) |
| Body weight change Week 0-1[b] | -17± 65.6 | -5±40.5 | -51± 43.4 | -68±34.4* | -52± 62.4 | -47±44.1 | -210±152.5** | -108±70.4** |
| Body weight change Week 0-52 | 1785±569.5 | 824±407.1 | 893±377.9* | 726± 252.4 | 1125±333.8 | 612± 424.6 | 640±269.1** | 573±420.0 |
| **Clinical Observations** | | | | | | | | |
| **Inappetence[c]** | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exam | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 | 3 |
| >210 minutes after dosing | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |
| Daily clinical observations | 2 | 3 | 2 | 3 | 1 | 3 | 4 | 4 |
| **Hypoactivity** | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Prior to dosing | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |
| 3 hours post-dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| >210 minutes after dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| **Impaired use of left hindlimb** | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |
| Prior to dosing | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |
| 3 hours post dosing | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |

表 2.6.7-18 サルを用いた GPB の 52 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg/day) | 0 (Control) | | 0.7 | | 1.1 | | 1.5 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** |
| **Hunched posture** | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| Prior to dosing | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |
| 3 hours post dosing | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |
| >210 minutes after dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| **Body pallor** | | | | | | | | |
| >210 minutes after dosing | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |
| **Impaired equilibrium** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| >210 minutes after dosing | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 2 | - |
| **Thinness** | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Prior to Dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| 3 hours post dosing | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 2 |
| >210 minutes after dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| **Dermal atonia** | | | | | | | | |
| Detailed Physical Exams | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |
| Prior to Dosing | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |
| 3 hours after dosing | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |
| >210 minutes after dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| **Cold to touch** | | | | | | | | |
| >210 minutes post dosing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| 3 hours post dosing | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |
| **Increased respiration rate** | | | | | | | | |
| >210 minutes post dosing | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 | - |

表 2.6.7-18 サルを用いた GPB の 52 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg/day)** | **0 (Control)** | | **0.7** | | **1.1** | | **1.5** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** |
| **Ophthalmoscopy** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Electrocardiography** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Hematology**[a] | | | | | | | | |
| Red Blood Cells ($10^6$/μL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 5.69±0.312 | 5.77±0.479 | ↑2.1 (5.81±0.387) | ↓0.7 (5.73±0.593 | ↓2.3 (5.56±0.325) | ↓8.5 5.28±0.200 | ↓9.8 (5.13±0.339**) | ↓7.6 (5.33±0.482) |
| Week 25 | 5.47±0.305 | 5.60±0.498 | ↑2.4 (5.60±0.312) | ↑0.2 (5.61±0.526) | ↓2.0 (5.36±0.261) | ↓7.1 (5.20±0.264) | ↓7.7 (5.05±0.309*) | ↓4.3 (5.36±0.280) |
| Week 51 | 5.43±0.296 | 5.37±0.480 | ↑2.2 (5.55±0.368) | ↑7.8 (5.79±0.341) | ↑2.6 (5.57±0.307) | ↓2.8 (5.22±0.272) | ↓3.7 (5.23±0.505) | ↓9.3 (4.87±0.244) |
| Hemoglobin (g/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 13.6±0.67 | 13.6±0.67 | ↑0.0 (13.6±0.64) | ↓2.2 (13.3±0.94) | ↓2.9 (13.2±1.00) | ↓7.4 (12.6±0.49) | ↓7.4 (12.6±0.47*) | ↓5.1 (12.9±1.01) |
| Week 25 | 13.5±0.57 | 13.4±0.99 | ↑0.7 (13.6±0.65) | ↓0.7 (13.3±0.89) | ↓3.0 (13.1±0.62) | ↓4.5 (12.8±0.86) | ↓6.7 (12.6±0.50*) | ↓1.5 (13.2±0.56) |
| Week 51 | 13.7±0.55 | 13.4±0.99 | ↓3.6 (13.2±0.75) | ↑5.2 (14.1±0.53) | ↑2.9 (14.1±0.30) | ↓3.7 (12.9±0.54) | ↓0.7 (13.6±0.69) | ↓6.7 (12.5±0.31) |
| Hematocrit (%) | | | | | | | | |
| Week 12 | 41.8±2.01 | 42.0±2.60 | ↓1.2 (41.3±2.45) | ↓1.9 (41.2±4.28) | ↓2.6 (40.7±3.18) | ↓7.6 (38.8±1.03) | ↓7.7 (38.6±2.13) | ↓5.5 (39.7±2.67) |
| Week 25 | 41.5±2.15 | 41.9±3.77 | ↓0.5 (41.3±2.59) | ↓0.2 (41.8±3.32) | ↓2.4 (40.5±2.19) | ↓5.0 (39.8±2.48) | ↓5.3 (39.3±1.44) | ↓1.0 (41.5±2.03) |
| Week 51 | 42.1±1.28 | 41.1±2.85 | ↓4.3 (40.3±3.24) | ↑8.3 (44.5±2.08) | ↑2.4 (43.1±1.50) | ↓3.2 (39.8±2.46) | ↑1.9 (42.9±3.70) | ↓6.3 (38.5±2.32) |
| Reticulocyte ($10^3$/μL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 50.0±11.57 | 62.1 ±19.13 | ↓8.4 (45.8±25.25) | ↑2.9 (63.9 ± 20.84) | ↓8.2 (45.9±9.99) | ↓30.3 (43.3 ±9.54) | ↑55.6 (77.8±41.09) | ↓13.8 (53.5±14.13) |
| Week 25 | 45.7±9.96 | 55.1 ±7.56 | ↑5.0 (48.0±14.49) | ↑19.2 (65.7 ±19.2) | ↑35.4 (61.9±17.78) | ↓0.9 (54.6 ±21.36) | ↑49.7 (68.4±20.88*) | ↑24.0 (68.3±23.77) |
| Week 51 | 44.1±2.91 | 62.1±21.22 | ↑14.5 (50.5±7.57) | ↑ 33.2 (82.7±25.12) | ↑52.4 (67.2±12.63*) | ↓ 27.7 (44.9±7.15) | ↑50.1 (66.2±15.88*) | ↑ 12.7 (70.0±45.07) |

表 2.6.7-18 サルを用いた GPB の 52 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg/day)** | **0 (Control)** | | **0.7** | | **1.1** | | **1.5** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** |
| Platelets ($10^3$/μL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 410±16.1 | 520±141.8 | ↑22.7 (503±83.5) | ↓1.7 (511±122.8) | ↑6.3 (436±122.3) | ↓35.6 (335±46.4**) | ↓21.0 (324±149.2) | ↓21.2 (410±65.4) |
| Week 25 | 414±39.7 | 517±161.6 | ↑16.9 (484±101.1) | ↑0.4 (519±119.1) | ↓4.8 (394±124.2) | ↓31.1 (356±46.7*) | ↓15.9 (348±137.8) | ↓33.5 (344±86.7*) |
| Week 51 | 373±52.4 | 481±108.0 | ↑17.4 (438±77.3) | ↑16.8 (562±189.5) | ↑22.3 (456±150.9) | ↓36.0 (308±50.2) | ↓24.9 (280±116.7) | ↓24.9 (361±38.8) |
| **Serum Chemistry** [a] | | | | | | | | |
| Bilirubin (mg/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 0.18±0.068 | 0.22±0.136 | ↓27.8 (0.13 ± 0.044) | ↓50.0 (0.11±0.033*) | ↓55.6 (0.08±0.030**) | ↓59.1 (0.09±0.024**) | ↓55.6 (0.08±0.018**) | ↓50.0 (0.11±0.031*) |
| Week 25 | 0.18±0.060 | 0.20±0.075 | ↓27.8 (0.13±0.035**) | ↓40.0 (0.12±0.029**) | ↓50.0 (0.09±0.016)** | ↓45.0 (0.11±0.031**) | ↓50.0 (0.09 ± 0.017**) | ↓40.0 (0.12±0.031**) |
| Week 51 | 0.16±0.045 | 0.19±0.044 | ↓25.0 (0.12±0.024) | ↓42.1 (0.11±0.043) | ↓50.0 (0.08±0.018**) | ↓31.6 (0.13±0.019) | ↓37.5 (0.10±0.014*) | ↓36.8 (0.12±0.054) |
| GGT (U/L) | | | | | | | | |
| Week 12 | 96.9±17.19 | 65.3±15.23 | ↓25.8 (71.9±23.50*) | ↓19.8 (52.4±11.38) | ↓31.0 (66.9± 21.92*) | ↓18.1 (53.5±8.88) | ↓36.6 (61.4±11.96**) | ↑34.0 (87.5±84.30) |
| Triglyceride (mg/dL) | | | | | | | | |
| Week 12 | 49±19.2 | 52±8.7 | ↑22.4 (60 ±10.1) | ↑11.5 (58±11.8) | ↑49.0 (73 ±19.5*) | ↑21.2 (63±22.2) | ↑18.4 (58±12.7) | ↑38.5(72±28.3) |
| Week 25 | 48±20.2 | 51±13.5 | ↑2.1 (49± 15.6) | ↑9.8 (56±13.3) | ↑54.2 (74±12.6**) | ↑25.5 (64±17.5) | ↑45.8 (70±12.1*) | ↑19.6 (61±9.8) |
| Week 51 | 39±7.1 | 53±12.6 | ↑30.8 (51 ±4.4) | ↑11.3 (59±6.5) | ↑97.4 (77±21.6*) | ↑3.8 (55±27.5) | ↑120.5 (86±19.1**) | ↑39.6 (74±30.2) |
| Potassium (mEq/L) | | | | | | | | |
| Week 12 | 4.97±0.518 | 5.21±0.655 | ↑1.6 (5.05±0.538) | ↓4.2 (4.99±0.741) | ↓6.8 (4.63±0.305) | ↓10.4 (4.67± 0.373) | ↓12.9 (4.33±0.619*) | ↓10.4 (4.67±0.286) |

表 2.6.7-18 サルを用いた GPB の 52 週間反復投与毒性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg/day)** | **0 (Control)** | | **0.7** | | **1.1** | | **1.5** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** |
| Chloride (mEq/L) | | | | | | | | |
| Week 12 | 109±1.5 | 109±2.2 | ↑0.0 (109±1.8) | ↑0.0 (109± 2.5) | ↑0.9 (110±2.3) | ↑0.9 (110±1.9) | ↑2.8 (112±3.0*) | ↑0.9 (110±2.1) |
| Week 25 | 109±2.5 | 109±2.4 | ↓0.9 (108±2.9) | 0.0 (109± 2.6) | ↑2.8 (112 ± 2.6) | ↑0.9 (110 ±1.6) | ↑2.8 (112 ± 3.2) | ↑1.8 (111 ± 1.7) |
| Week 51 | 109±3.2 | 111±2.6 | ↓0.9 (110±2.2) | ↓0.9 (110± 4.1) | ↑0.9 (110 ± 3.0) | ↑0.9 (110 ±2.5) | ↑2.8 (112 ± 2.9) | ↑0.9 (112 ± 2.5) |
| **Urinalysis** | | | | | | | | |
| pH | | | | | | | | |
| Week 12 | 7.6±0.69 | 7.7±0.59 | 5.8±0.26** | 5.9±0.23** | 6.0 ±0.53** | 6.2±0.59** | 5.6 ±0.44** | 6.0±0.85** |
| Week 25 | 7.4±0.52 | 7.7±0.84 | 5.9±0.42** | 5.9±0.35** | 6.0±0.46** | 6.1±0.44** | 5.8±0.27** | 5.7±0.37** |
| Week 51 | 8.5±0.00 | 8.5±0.00 | 6.3±0.50** | 6.4±0.48** | 6.9±0.75** | 6.8±0.50** | 5.8±0.29** | 5.8±0.29** |
| Ketones (Week 12, 25, 51) | - | - | + | + | + | + | + | + |
| **Organ Weights (%)** | | | | | | | | |
| Liver | | | | | | | | |
| Absolute weight (g) | 62.83±12.28 | 53.55±7.97 | ↑21.0 (76.04±16.09) | ↑18.8 (63.64±8.68) | ↑17.4 (73.77±7.74) | ↑19.6 (64.06±8.06) | ↑26.6 (79.55 ±10.07) | ↑44.2 (77.21±8.38**) |
| Relative to body weight (g/100 g final bodyweight) | 1.755±0.087 | 1.988±0.073 | ↑31.9 (2.315 ±0.208**) | ↑20.2 (2.389 ±0.213) | ↑44.6 (2.538 ±0.155**) | ↑27.7 (2.538±0.238) | ↑68.8 (2.963 ±0.216**) | ↑61.3 (3.206 ±0.537**) |
| Kidney | | | | | | | | |
| Absolute weight (g) | 13.67±2.44 | 11.20±0.59 | ↑17.4 (16.05 ±2.60) | ↑6.3 (11.91±1.06) | ↑1.2 (13.84±2.17 ) | ↑14.0 (12.77 ±1.20) | ↑8.2 (14.79±2.48) | ↑7.8 (12.07±1.69) |
| Relative to body weight (g/100 g final bodyweight) | 0.384±0.034 | 0.422±0.067 | ↑28.1 (0.492±0.032*) | ↑6.4 (0.449± 0.039) | ↑24.0 (0.476 ±0.065) | ↑19.9 (0.506±0.034) | ↑43.5 (0.551 ± 0.078**) | ↑19.2 (0.503±0.108) |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |

表 2.6.7-18 サルを用いた GPB の 52 週間反復投与毒性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg/day) | 0 (Control) | | 0.7 | | 1.1 | | 1.5 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Number of Animals** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** | **M: 8** | **F: 8** |
| **Histopathology** | | | | | | | | |
| **Liver** | | | | | | | | |
| Hepatocyte Hypertrophy | | | | | | | | |
| Week 26 | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 3 | 4 | 4 | 4 | 0 | 0 |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 |
| Week 52 | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 1 | 4 | 3 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| Mild | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| Moderate | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Hepatocellular Apoptosis | | | | | | | | |
| Week 52 | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 |
| **Spleen** | | | | | | | | |
| Brown Pigment | | | | | | | | |
| Week 26 | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Week 52 | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |

$AUC_{last}$= area under the curve from the time of dosing to last measurement , AST= alanine aminotransferase, F=female, GLP=good laboratory practices, HPN-100=glycerol phenylbutyrate (formerly glycerol tri-(4-phenylbutyrate), M=male, NE=not evaluated, PBA=phenylbutyric acid, PAA=phenylacetic acid, PAGN=phenylacetylglutamine, TK=toxicokinetic
NE Not evaluated
* Significantly different from the control group ($p<0.05$) using Dunnett's test.
** Significantly different from the control group ($p<0.01$) using Dunnett's test.
- No noteworthy findings / no treatment related findings
[a]: Control group data represent the mean value ± SD. All other groups present the % change with the mean ± SD values in parentheses.
[b]: Data represent the mean value ± SD.

## 2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

表 2.6.7-19 GPB の細菌を用いた復帰突然変異試験

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Report Title:** *Salmonella-Escherichia coli*/Mammalian-Microsome Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay with GT4P | | | | | | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** | |
| **Test for Induction of:** Reverse mutations | | **No. of Independent Assays:** 2 | | | | **Study No.** [redacted]**2-100** | |
| **Strains:** *S. typhimurium* strains: TA98, TA100, TA1535, TA1537; *E. coli* strain: WP2*uvr*A | | **No. of Replicate Cultures:** 3 | | | | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-1］ | |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Plated/Culture:** NA | | | | | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** DMSO | **For Positive Controls:** | | | | **GLP Compliance:** Yes | |
| **Treatment:** Plate incorporation methodology: plates incubated for 52 ± 4 hours at 37 ± 2°C. | | | | | | **Date of Treatment:** [redacted]20[redacted] | |
| **Cytotoxic Effects:** None | | | | | | | |
| **Genotoxic Effects:** None | | | | | | | |
| **Metabolic Activation** | **Test Article** | **Concentration or Dose Level ( µg )** | **TA98** | **TA100** | **TA1535** | **TA1537** | **WP2*uvr*A** |
| **Dose Range-finding Study** | | | | | | | |
| With Activation | Vehicle Control | -- | NE | 111 | NE | NE | 10 |
| | GT4P | 6.67 | NE | 86 | NE | NE | 17 |
| | | 10.0 | NE | 102 | NE | NE | 15 |
| | | 33.3 | NE | 84 | NE | NE | 16 |
| | | 66.7 | NE | 90 | NE | NE | 24 |
| | | 100 | NE | 68 | NE | NE | 24 |
| | | 333 | NE | 99 | NE | NE | 24 |
| | | 667 | NE | 91[a] | NE | NE | 18 |
| | | 1000 | NE | 79[a] | NE | NE | 23[a] |
| | | 3330 | NE | 95[a] | NE | NE | 24[a] |
| | | 5000 | NE | 137[a] | NE | NE | 28[a] |

表 2.6.7-19 GPB の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Without Activation | Vehicle Control | -- | | 72 | NE | NE | 18 |
| | GT4P | 6.67 | NE | 61 | NE | NE | 19 |
| | | 10.0 | NE | 59 | NE | NE | 35 |
| | | 33.3 | NE | 56 | NE | NE | 18 |
| | | 66.7 | NE | 75 | NE | NE | 26 |
| | | 100 | NE | 63 | NE | NE | 20 |
| | | 333 | NE | 58 [a] | NE | NE | 7 [a] |
| | | 667 | NE | 73[a] | NE | NE | 12 [a] |
| | | 1000 | NE | 98 [a] | NE | NE | 8 [a] |
| | | 3330 | NE | 84 [a] | NE | NE | 11 [a] |
| | | 5000 | NE | 95 [a] | NE | NE | 24 [a] |
| **Plate Incorporation Assay #1** | | | | | | | |
| With Activation | Vehicle Control | -- | 18±2 | 129±22 | 11±2 | 9±2 | 17±6 |
| | GT4P | 10.0 | 28±6 | 118±16 | 8±2 | 6±1 | 18±6 |
| | | 33.3 | 23±5 | 114±8 | 11±6 | 4±2 | 16±2 |
| | | 100 | 21±2 | 113±6 | 12±6 | 6±2 | 15±4 |
| | | 333 | 19±0 | 122 ±2[a] | 12±4 [a] | 6±3 | 13±4 |
| | | 1000 | 23±6 | 135 ±11[a] | 11±3 [a] | 5±3 [a] | 9±1 [a] |
| | | 5000 | 15 ±6[a] | 156±9 [a] | 14±5 [a] | 8±2 [a] | 17±4 [a] |
| | Positive Controls[b] | | 429±58 | 1130±137 | 150±24 | 251±77 | 546±56 |

表 2.6.7-19 GPB の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Without Activation | Vehicle Control | -- | 14±6 | 118±3 | 15±1 | 4±1 | 17±2 |
| | GT4P | 10.0 | 11±1 | 87±11 | 17±2 | 3±2 | 19±7 |
| | | 33.3 | 11±3 [a] | 105±13 [a] | 9±1 [a] | 5±2 [a] | 15±1 [a] |
| | | 100 | 12±5 [a] | 105±13 [a] | 12±3 [a] | 5±1 [a] | 14±2 [a] |
| | | 333 | 12±5 [a] | 108±4 [a] | 11±3 [a] | 4±3 [a] | 15±6 [a] |
| | | 1000 | 11±2 [a] | 120±9 [a] | 12±5 [a] | 2±2 [a] | 10±2 [a] |
| | | 5000 | 9±3 [a] | 115±13 [a] | 13±1 [a] | 4±1 [a] | 19±2 [a] |
| | Positive Controls[c] | | 397±31 | 1236±99 | 943±33 | 576±88 | 280±41 |
| **Plate Incorporation Assay #2** | | | | | | | |
| With Activation | Vehicle Control | -- | 21±5 | 118±14 | 15±2 | 10±1 | 21±6 |
| | GT4P | 10.0 | 17±7 | 118±11 | 18±2 | 9±1 | 13±2 |
| | | 33.3 | 20±8 | 120±26 | 13±3 | 11±6 | 17±2 |
| | | 100 | 19±10 | 120±19 | 11±3 | 11±2 | 12±2 |
| | | 333 | 19±3 [a] | 125±11 [a] | 10±5 [a] | 10±1 [a] | 14±4 [a] |
| | | 1000 | 18±6 [a] | 130±8 [a] | 12±6 [a] | 7±1 [a] | 13±4 [a] |
| | | 5000 | 19±4 [a] | 106±8 [a] | 16±2 [a] | 8±3 [a] | 11±2 [a] |
| | Positive Controls[b] | | 395±22 | 973±20 | 136±43 | 150±52 | 558±134 |

表 2.6.7-19 GPB の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Without Activation | Vehicle Control | -- | 20±4 | 74±10 | 11±3 | 4±2 | 16±2 |
| | GT4P | 10.0 | 17±8 | 70±9 | 11±1 | 7±2 | 16±4 |
| | | 33.3 | 14±3 | 79±1 | 12±5 | 4±1 | 18±3 |
| | | 100 | 19±6 [a] | 83±3 [a] | 11±4 [a] | 9±1 [a] | 13±4 [a] |
| | | 333 | 18±1 [a] | 73±10 [a] | 14±0 [a] | 8±2 [a] | 17±2 [a] |
| | | 1000 | 10±5 [a] | 84±9 [a] | 16±4 [a] | 8±3 [a] | 17±4 [a] |
| | | 5000 | 7±3 [a] | 83±17 [a] | 11±1 [a] | 5±3 [a] | 13±1 [a] |
| | Positive Controls[c] | | 333 ± 25 | 1445±195 | 1036±90 | 883±37 | 437±53 |

DMSO= dimethylsulfoxide, GPB=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutryate)], GLP=good laboratory practices GT4P= glyceryl tri-(4- phenylbutryate) (now referred to as glycerol phenylbutyrate), NA=not applicable, NE=not evaluated

[a]: Test article precipitation was noted, but did not interfere with scoring.

[b]: TA98: benzo[a]pyrene (2.5 µg/plate); TA100, TA1535, TA1537: 2-aminoanthracene (2.5 µg/plate); WP2uvrA: 2-aminoanthracene (25.0 µg/plate)

[c]: TA98: 2-nitrofluorene (1.0 µg/plate); TA100, TA1535: sodium azide (2.0 µg/plate); TA1537: ICR-191 (2.0 µg/plate); WP2uvrA: 4-nitroquinoline-N-oxide (1.0 µg/plate)

表 2.6.7-20 GPB のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** Chromosomal Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes | | | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** |
| **Test for Induction of:** Chromosomal aberrations | | **No. of Independent Assays:** 2 | **Study No.** [redacted]**2-101** |
| **Strains:** Human lymphocytes | | **No. of Replicate Cultures:** 2 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-2］ |
| **Metabolizing System:** Rat liver S9 | | **No. of Cells Analyzed/Culture:** 100 | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** DMSO | **For Positive Controls:** Deionized water | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** In the initial assay, doses were incubated with the test article with and without activation for 3 hours and cultures were harvested at ~22 hours. In the confirmatory assay, doses were incubated for ~22 hours without activation and 3 hours with activation. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |

**Cytotoxic Effects:** In the initial assay, slight hemolysis was observed prior to wash at concentrations ≥ 240 µg/mL without activation, and ≥ 343 µg/mL with activation. In cultures treated with ≥ 300 µg/mL with activation in the confirmatory assay, hemolysis was seen prior to wash.

**Genotoxic Effects:** None

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | % Mitotic Index Reduction[a] | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Gaps | Simple Breaks | chte | chre | mab | Totals[c] | | Judgment[b] |
| | | | | | | | | | g- | g+ | |
| **Initial Assay** | | | | | | | | | | | |
| Without Activation | Negative Control (RPMI 1640) | -- | -- | 1.0 | -- | -- | 0.5 | -- | 0.5 | 1.5 | - |
| | Vehicle Control (DMSO) | 10.0 µL/mL | 0 | 2.0 | -- | -- | -- | -- | 0.0 | 2.0 | - |
| | Positive Control (MMC) | 1.00 µg/mL | -- | 9.6 | 22.4 | 11.2 | -- | -- | 29.6 | 33.6 | + |
| | GT4P | 82.4 | 34 | 1.0 | -- | -- | -- | -- | 0.0 | 1.0 | - |
| | | 168 | 43 | 3.0 | 0.5 | -- | 0.5 | -- | 1.0 | 3.5 | - |
| | | 240 | 36 | 0.5 | 0.5 | -- | -- | -- | 0.5 | 1.0 | - |
| | | 343 | 49 | 2.0 | -- | -- | 0.5 | -- | 0.5 | 2.5 | - |

表 2.6.7-20 GPB のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | % Mitotic Index Reduction[a] | Gaps | Simple Breaks | chte | chre | mab | Totals[c] | | Judgment[b] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | g- | g+ | |
| With Activation | Negative Control (RPMI 1640) | -- | -- | 3.5 | 1.5 | -- | -- | -- | 1.5 | 5.0 | - |
| | Vehicle Control (DMSO) | 10.0 µL/mL | 0 | 2.0 | 1.0 | -- | -- | -- | 1.0 | 3.0 | - |
| | Positive Control (CP) | 25 µg/mL | -- | 12.0 | 27.0 | 3.0 | 1.0 | -- | 29.0 | 37.0 | + |
| | GT4P | 118 | 22 | 1.5 | 1.0 | -- | -- | -- | 1.0 | 2.0 | - |
| | | 168 | 24 | 5.0 | 0.5 | -- | -- | -- | 0.5 | 5.5 | - |
| | | 240 | 32 | 3.0 | 2.5 | -- | -- | -- | 2.5 | 5.0 | - |
| | | 343 | 32 | 1.0 | 1.5 | -- | -- | -- | 1.5 | 2.5 | - |

表 2.6.7-20 GPB のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | % Mitotic Index Reduction[a] | Gaps | Simple Breaks | chte | chre | mab | Totals[c] | | Judgment[b] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | g- | g+ | |
| **Confirmatory Assay** | | | | | | | | | | | |
| Without Activation | Negative Control (RPMI 1640) | -- | -- | 1.0 | -- | -- | -- | -- | 0.0 | 1.0 | - |
| | Vehicle Control (DMSO) | 10 µL/mL | 0 | 1.5 | 1.5 | -- | -- | -- | 1.5 | 3.0 | - |
| | Positive Control (MMC) | 0.300 µg/mL | -- | 4.0 | 20.0 | 9.6 | -- | -- | 28.8 | 29.6 | + |
| | GT4P | 250 | 17 | -- | 0.5 | -- | -- | -- | 0.5 | 0.5 | - |
| | | 300 | 37 | -- | 3.0 | 0.5 | -- | -- | 3.5 | 3.5 | - |
| | | 350 | 66 | 1.0 | 2.0 | -- | -- | -- | 2.0 | 3.0 | - |
| | | 425 | 57 | 0.5 | 2.0 | -- | -- | -- | 2.0 | 2.5 | - |
| With Activation | Negative Control (RPMI 1640) | -- | -- | 1.0 | 1.0 | -- | 0.5 | -- | 1.5 | 2.5 | - |
| | Vehicle Control (DMSO) | 10 µL/mL | 0 | 1.0 | -- | -- | -- | -- | 0.0 | 1.0 | - |
| | Positive Control (CP) | 25 µL/mL | -- | 6.0 | 22.0 | 1.0 | -- | -- | 23.0 | 28.5 | + |
| | GT4P | 300 | -- | 1.0 | 1.0 | -- | -- | -- | 1.0 | 2.0 | - |
| | | 350 | -- | 0.5 | 1.0 | -- | -- | -- | 1.0 | 1.5 | - |
| | | 425 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 0.0 | 0.0 | - |
| | | 500 | 2 | 0.5 | 1.5 | 0.5 | -- | -- | 2.0 | 2.5 | - |

CHRE=chromosome exchange, CHTE=chromatid exchange, CP=cylcophosphamide, DMSO=dimethylsulfoxide, GPB=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutryate)], GLP=good laboratory practices GT4P=glyceryl tri-(4-phenylbutyrate), MAB=multiple aberrations (>4), MMC=mitomycin c, RPMI=culture medium
- Negative
+ Positive
[a]: % Mitotic Index Reduction as compared to the vehicle control.
[b]: Significantly greater in -g than the vehicle control, p≤ 0.01.
[c]: –g= % of cells with chromosome aberrations; +g= % of cells with chromosome aberrations + % of cells with gaps

表 2.6.7-21 PBA の細菌を用いた復帰突然変異試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** Bacterial Reverse Mutation Assay | | | **Test Article: 4-Phenylbutyric Acid (PBA)** |
| **Test for Induction of:** Reverse mutations | | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** [redacted] **A.503**[redacted] |
| **Strains:** *S. typhimurium* strains: TA98, TA100, TA1535, TA1537; *E. coli* strain: WP2*uvr*A | | **No. of Replicate Cultures:** 3 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-3］ |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Plated/Culture:** NA | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** DMSO | **For Positive Controls:** DMSO or water | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** Plate incorporation methodology: plates incubated for 48 to 72 hours at 37 ± 2°C. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |
| **Cytotoxic Effects:** None | | | |
| **Genotoxic Effects:** None | | | |

| **Metabolic Activation** | **Test Article** | **Concentration or Dose Level ( µg )** | **TA98** | **TA100** | **TA1535** | **TA1537** | **WP2*uvr*A** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Initial Assay** | | | | | | | |
| Without Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 13±1 | 109±14 | 14±3 | 10±2[a] | 24±6 |
| | PBA | 1.5 | 16±1 | 96±3 | 13±5 | NE | 19±3 |
| | | 5.0 | 19±4 | 90±6 | 9±1 | NE | 17±3 |
| | | 15 | 14±2 | 97±6 | 13±1 | NE | 17±8 |
| | | 50 | 13±3 | 93±17 | 11±6 | 10±2[a] | 25±3 |
| | | 150 | 16±5 | 92±9 | 13±1 | 17±4[a] | 13±1 |
| | | 500 | 14±1 | 93±6 | 4±1 | 12±2[a] | 23±4 |
| | | 1500 | 12±6 | 85±5 | 8±1 | 18±1[a] | 24±1 |
| | | 5000 | 10±3 | 80±2 | 9±6 | 10±7[a] | 14±3 |
| | Positive Controls[b] | -- | 155±28 | 632±49 | 645±81 | 1386±71[a] | 456±19 |

表 2.6.7-21 PBA の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| With Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 26±8 | 100±8 | 9±1 | 19±3 | 34±9 |
| | PBA | 1.5 | 30±3 | 96±8 | 11±0 | 15±9 | 47±10 |
| | | 5.0 | 21±2 | 97±15 | 16±1 | 12±1 | 47±13 |
| | | 15 | 23±6 | 94±23 | 8±2 | 11±2 | 46±6 |
| | | 50 | 27±1 | 123±14 | 13±4 | 17±3 | 39±4 |
| | | 150 | 29±3 | 116±1 | 15±0 | 13±3 | 37±1 |
| | | 500 | 29±1 | 108±8 | 17±10 | 21±3 | 27±6 |
| | | 1500 | 21±1[d] | 127±5 | 14±6 | 15±2 | 39±3 |
| | | 5000 | 13±1[d] | 107±14[d] | 7±3[d] | 4±1[d] | 20±1[d] |
| | Positive Controls[e] | -- | 249±31 | 495±40 | 65±11 | 73±10 | 281±24 |

表 2.6.7-21 PBA の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Confirmatory Assay** | | | | | | | |
| Without Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 16±7 | 100±24 | 5±3 | 10±1 | 20±4 |
| | PBA | 50 | 24±6 | 92±7 | 8±1 | 14±3 | 31±2 |
| | | 150 | 22±6 | 86±4 | 10±4 | 12±1 | 34±8 |
| | | 500 | 22±10 | 83±9 | 10±1 | 14±4 | 36±2 |
| | | 1500 | 16±5 | 84±9 | 10±3 | 13±5 | 37±12 |
| | | 5000 | 19±2 | 102±5 | 11±2 | 13±2 | 22±4 |
| | Positive Controls[b] | -- | 181±8 | 515±19 | 531±30 | 1237±127 | 342±32 |
| With Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 26±6 | 112±8 | 9±2 | 12±2 | 37±8 |
| | PBA | 50 | 22±8 | 97±16 | 15±3 | 14±4 | 27±3 |
| | | 150 | 28±4 | 120±3 | 11±6 | 16±4 | 32±5 |
| | | 500 | 32±4 | 110±18 | 8±3 | 15±3 | 36±6 |
| | | 1500 | 28±7 | 114±16 | 15±4 | 10±4 | 30±11 |
| | | 5000 | 21±4 | 105±12 | 7±3 | 11±3 | 21±1 |
| | Positive Controls[c] | -- | 235±45 | 717±42 | 59±8 | 39±8 | 197±16 |

DMSO=dimethylsulfoxide, NE=not evaluated, PBA=phenylbutyrate
[a]: Results from a repeat assay; only doses of 50 to 5000 µg were evaluated.
[b]: TA98: 2-nitrofluorene (1.0 µg); TA100 and TA1535: sodium azide (1.0 µg); TA1537: 9-aminoacridine (75 µg); WP2uvrA: methyl methanesulfonate (1000 µg)
[c]: TA98, TA1535, and TA1537: 2-aminoanthracene (1.0 µg); TA100: 2-aminoanthracene (2.0 µg); WP2uvrA: 2-aminoanthracene (15 µg)
[d]: Precipitation observed

表 2.6.7-22 PBA の CHO 細胞を用いた染色体異常試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test | | | **Test Article: 4-phenylbutyric Acid (PBA)** |
| **Test for Induction of:** Chromosomal aberrations | | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** [redacted] **A.331**[redacted] |
| **Strains:** CHO cells | | **No. of Replicate Cultures:** 2 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-4］ |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Analyzed/Culture:** 100 | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** DMSO | **For Positive Controls:** Distilled water | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** Cultures were incubated with varying concentrations of the test article with and without S9 activation for 4 hours and without activation for 20 hours. All cultures were harvested at 20 hours. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |

**Cytotoxic Effects:** In the preliminary toxicity assay, substantial toxicity (i.e., at least 50% cell growth inhibition, relative to the solvent control) was observed at 1640 µg/mL in both the non-activated and S9-activated 4-hour exposure groups, and at dose levels ≥ 492 µg/mL in the non-activated 20-hour continuous exposure group.

**Genotoxic Effects:** The percentage of cells with structural aberrations in the S9-activated 4-hour exposure group was statistically increased (7.0%) relative to solvent control at 1080 µg/mL ($p \leq 0.05$, Fisher's Exact test). The Cochran-Armitage test was also positive for a dose response ($p \leq 0.05$).

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration (µg/mL) | Cell growth index (%) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| Without Activation (4 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 100 | 10.1 | 1.5 | 0.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (MMC) | 0.2 | 59 | 8.0 | 2.0 | 13.0** | A: 0<br>B: 0 | A: 2<br>B: 6 | A: 3<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | 0.130±0.338 |
| | PBA | 486 | 100 | 9.8 | 2.5 | 0.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 1080 | 70 | 9.9 | 1.0 | 0.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 1200 | 49 | 9.3 | 0.5 | 0.5 | A: 0<br>B: 1 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |

表 2.6.7-22 PBA の CHO 細胞を用いた染色体異常試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration (µg/mL) | Cell growth index (%) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| With Activation (4 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 100 | 13.4 | 1.5 | 2.5 | A: 1<br>B: 0 | A:1<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 2<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | 0.030±0.198 |
| | Positive Control (CP) | 10 | 31 | 3.5 | 1.5 | 26.0** | A: 0<br>B: 0 | A: 7<br>B: 4 | A: 7<br>B: 11 | A: 3<br>B: 2 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.340±0.623 |
| | PBA | 486 | 102 | 12.2 | 1.5 | 0.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 970 | 69 | 11.6 | 1.5 | 1.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.010±0.100 |
| | | 1080 | 46 | 11.6 | 3.0 | 7.0* | A: 1<br>B: 3 | A: 7<br>B: 5 | A: 0<br>B: 2 | A: 0<br>B: 1 | A: 1<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | 0.085±0.344 |
| Without Activation (20 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 100 | 14.1 | 2.0 | 2.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 2<br>B: 2 | A: 0<br>B: 0 | 0.020±0.140 |
| | Positive Control (MMC) | 0.1 | 65 | 7.7 | 2.0 | 19.0** | A: 0<br>B: 1 | A: 7<br>B: 5 | A: 1<br>B: 1 | A: 1<br>B: 0 | A: 2<br>B: 0 | A: 1<br>B: 3 | 0.210±0.456 |
| | PBA | 95 | 83 | 13.9 | 3.0 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | | 190 | 73 | 14.2 | 2.0 | 1.5 | A: 0<br>B: 2 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | 0.015±0.122 |
| | | 380 | 48 | 14.6 | 3.0 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | 0.005±0.071 |

CHO=Chinese hamster ovary, CP=Cyclophosphamide, CSBr= Chromosome breaks, CTBr=Chromatid breaks, CTEx=Chromatid exchange figures, Dic=Dicentric chromosome, DMSO=Dimethylsulfoxide, GLP=good laboratory practices, MI=Mitotic index, MMC=Mitomycin C, Num=Numerical aberrations, PBA=phenylbutyrate, Str=Structural aberrations
* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$ (Fisher's Exact test)
[a]: Mitotic Index = (cells in mitosis/500 cells scored) x 100

表 2.6.7-23 PBA のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test | | | **Test Article: 4-phenylbutyric Acid (PBA)** |
| **Test for Induction of:** Chromosomal aberrations | | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** [redacted] **A.341**[redacted] |
| **Strains:** Human peripheral blood lymphocytes | | **No. of Replicate Cultures:** 2 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-5］ |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Analyzed/Culture:** 100 | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** DMSO | **For Positive Controls:** Distilled water | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** Cultures were incubated with varying concentrations of the test article with and without S9 activation for 4 hours and without activation for 20 hours. All cultures were harvested at 20 hours. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |

**Cytotoxic Effects:** In the non-activated 20-hour exposure group, selection of doses for microscopic analysis was based on mitotic inhibition (the lowest dose with at least 50% reduction in mitotic index, relative to the solvent control and two lower doses). In the non-activated and S9-activated 4 hour exposure groups, due to lack of both test article precipitation in the treatment medium and at least 50% toxicity, the highest dose level evaluated was 1640 µg/mL. Two additional lower dose levels were included in the evaluation

**Genotoxic Effects: None.**

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| Without Activation (4 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 9.4 | 0 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (MMC) | 0.6 | 5.1 | 0 | 18 | A: 0<br>B: 1 | A: 8<br>B: 4 | A: 3<br>B: 4 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.190±0.042 |
| | PBA | 210 | 8.7 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 419 | 8.3 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 840 | 8.8 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 1080 | 9.3 | 0 | 1 | A: 0<br>B: 1 | A: 1<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.010 ± 0.000 |
| | | 1320 | 7.9 | 0 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.007 |
| | | 1640 | 8.4 | 0 | 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 2 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.015±0.007 |

表 2.6.7-23 PBA のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| With Activation (4 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 11 | 0.5 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (CP) | 0.6 | 3.6 | 0 | 10 | A: 2<br>B: 0 | A: 3<br>B: 5 | A: 1<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.100±0.000 |
| | PBA | 210 | 10.6 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 419 | 10.9 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 840 | 10.7 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 1080 | 10.3 | 0.5 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.007 |
| | | 1320 | 8.6 | 0 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 1640 | 7.3 | 0 | 1.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 5<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.030±0.028 |

表 2.6.7-23 PBA のヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| Without Activation (20 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 10.7 | 0 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (MMC) | 0.6 | | Not | Done | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | PBA | 85 | 10.3 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 165 | 9.3 | 0 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 327 | 9 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 419 | 8.3 | 1 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 512 | 8 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| With Activation (20 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | | Not | Done | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | Positive Control (MMC) | 0.6 | 7.5 | 0 | 12 | A: 1<br>B: 0 | A: 1<br>B: 3 | A: 5<br>B: 4 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.130±0.014 |
| | PBA | 650 | 5.2 | 0 | 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.010±0.000 |
| | | 840 | 4.1 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 1080 | 2.8 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 1320 | 3.1 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |
| | | 1640 | 1.8 | Not | Scored | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | A:<br>B: | |

CHO=Chinese hamster ovary, CP=Cyclophosphamide, CSBr= Chromosome breaks, CTBr=Chromatid breaks, CTEx=Chromatid exchange figures, Dic=Dicentric chromosome, DMSO=Dimethylsulfoxide, GLP=good laboratory practices, MI=Mitotic index, MMC=Mitomycin C, Num=Numerical aberrations, PBA=phenylbutyrate, Str=Structural aberrations

表 2.6.7-24 PAA の細菌を用いた復帰突然変異試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** Bacterial Reverse Mutation Assay | | | **Test Article: Phenylacetic Acid (PAA)** |
| **Test for Induction of:** Reverse mutations | | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** [redacted] **B.503**[redacted] |
| **Strains:** *S. typhimurium* strains: TA98, TA100, TA1535, TA1537; *E. coli* strain: WP2*uvr*A | | **No. of Replicate Cultures:** 3 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-6］ |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Plated/Culture:** NA | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** DMSO | **For Positive Controls:** DMSO or water | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** Plate incorporation methodology: plates incubated for 48 to 72 hours at 37 ± 2°C. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |
| **Cytotoxic Effects:** Toxicity, as reductions in revertant counts, was observed at 5000 µg per plate with some test conditions. | | | |
| **Genotoxic Effects:** None | | | |

| **Metabolic Activation** | **Test Article** | **Concentration or Dose Level ( µg )** | **TA98** | **TA100** | **TA1535** | **TA1537** | **WP2*uvr*A** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Initial Assay** | | | | | | | |
| Without Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 11±4 | 119±11 | 11±0 | 3±2 | 30±10 |
| | PAA | 1.5 | 10±6 | 112±18 | 7±3 | 8±4 | 19±1 |
| | | 5.0 | 14±1 | 96±4 | 11±3 | 5±1 | 18±6 |
| | | 15 | 4±1 | 111±6 | 12±4 | 7±1 | 25±1 |
| | | 50 | 15±12 | 99±9 | 7±3 | 5±1 | 20±0 |
| | | 150 | 24* | 87±13 | 7±5 | 5±1 | 22±2 |
| | | 500 | 16±6 | 95±3 | 9±1 | 6±4 | 20±1 |
| | | 1500 | 14±6 | 85±4 | 4±1 | 6±0 | 18±1 |
| | | 5000 | 6±1 | 76±28 | 7±6 | 4±0 | 14±5 |
| | Positive Controls[b] | -- | 205±10 | 599±23 | 491* | 428±49 | 375±4 |

表 2.6.7-24 PAA の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| With Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 22±3 | 125±11 | 12±3 | 8±4 [a] | 30±8 |
| | PAA | 1.5 | 24±1 | 119±11 | 10±1 | NE | 38±1 |
| | | 5.0 | 18±7 | 125±14 | 12±1 | NE | 26±8 |
| | | 15 | 25±3 | 119±2 | 7±5 | NE | 24±6 |
| | | 50 | 18±6 | 144±26 | 13±6 | 7±1 [a] | 33±6 |
| | | 150 | 28±1 | 121±6 | 9±6 | 9±1 [a] | 26±4 |
| | | 500 | 23±6 | 119±4 | 8±2 | 14±0 [a] | 27±4 |
| | | 1500 | 29±13 | 131±4 | 13±2 | 11±6 [a] | 29±4 |
| | | 5000 | 21±2 | 95±15 | 10±7 | 9±2 [a] | 19±2 |
| | Positive Controls[c] | -- | 219±27 | 605±8 | 51±1 | 30±5 [a] | 222±13 |

表 2.6.7-24　PAA の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| **Confirmatory Assay** | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Metabolic Activation** | **Test Article** | **Concentration or Dose Level ( µg )** | **TA98** | **TA100** | **TA1535** | **TA1537** | **WP2*uvr*A** |
| Without Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 14±2 | 91±2 | 7±2 | 5±1 | 26±3 |
| | PAA | 50 | 10±3 | 91±11 | 12±2 | 7±2 | 31±4 |
| | | 150 | 16±6 | 88±11 | 15±2 | 6±2 | 26±7 |
| | | 500 | 11±2 | 93±12 | 10±4 | 4±1 | 31±13 |
| | | 1500 | 10±4 | 87±9 | 11±2 | 5±3 | 24±7 |
| | | 5000 | 7±2 | 97±5 | 11±3 | 2±2 | 9±2 |
| | Positive Controls[b] | -- | 231±10 | 429±10 | 519±115 | 299±17 | 307±19 |
| With Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 15±4 | 103±16 | 13±2 | 8±3 | 37±10 |
| | PAA | 50 | 19±8 | 105±11 | 12±6 | 7±2 | 27±12 |
| | | 150 | 21±3 | 125±17 | 11±2 | 8±5 | 28±9 |
| | | 500 | 16±3 | 121±13 | 11±3 | 5±1 | 25±7 |
| | | 1500 | 9±4 | 120±7 | 11±5 | 6±2 | 26±6 |
| | | 5000 | 8±3 | 91±15 | 10±3 | 2±2 | 17±6 |
| | Positive Controls[c] | -- | 262±25 | 823±147 | 58±3 | 31±14 | 144±8 |

DMSO= dimethylsulfoxide, NE Not evaluated PAA=phenylacetate

***** One of the two plates analyzed was contaminated, the loss of this test article-treated plate does not invalidate the results since the ramining plate at this dose level and those above and below this dose level are consistent with the historical negative control value.

[a]: Results from a retest assay, only doses of 50 to 5000 µg were evaluated

[b]: TA98: 2-nitrofluorene (1.0 µg); TA100 and TA1535: sodium azide (1.0 µg); TA1537: 9-aminoacridine (75 µg); WP2uvrA: methyl methanesulfonate (1000 µg)

[c]: TA98, TA1535, and TA1537: 2-aminoanthracene (1.0 µg); TA100: 2-aminoanthracene (2.0 µg); WP2uvrA: 2-aminoanthracene (15 µg)

表 2.6.7-25 PAA の CHO 細胞を用いた染色体異常試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test | | | **Test Article: Phenylacetic Acid (PAA)** |
| **Test for Induction of:** Chromosomal aberrations | | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** [redacted] **B.331**[redacted] |
| **Strains:** CHO cells | | **No. of Replicate Cultures:** 2 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-7］ |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Analyzed/Culture:** 100 | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** DMSO | **For Positive Controls:** Distilled water | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** Cultures were incubated with varying concentrations of the test article with and without S9 activation for 4 hours and without activation for 20 hours. All cultures were harvested at 20 hours. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |
| **Cytotoxic Effects:** None | | | |
| **Genotoxic Effects:** None | | | |

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| Without Activation (4 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 5.6 | 0.5 | 0.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (MMC) | 0.2 | 4.5 | 1.5 | 15.0* | A: 0<br>B: 0 | A: 4<br>B: 3 | A: 0<br>B: 5 | A: 0<br>B: 0 | A: 2<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | 0.150±0.359 |
| | PAA | 666 | 5.9 | 1.0 | 0.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 950 | 6.2 | 1.5 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | | 1360 | 6.0 | 2.5 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |

表 2.6.7-25 PAA の CHO 細胞を用いた染色体異常試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| With Activation (4 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 10.3 | 0.0 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | Positive Control (CP) | 10 | 2.9 | 0.5 | 16.0* | A: 0<br>B: 0 | A: 7<br>B: 4 | A: 5<br>B: 4 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.300±1.106 |
| | PAA | 666 | 10.0 | 2.0 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | | 950 | 10.3 | 1.0 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | | 1360 | 10.1 | 1.0 | 1.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | 0.015±0.122 |
| Without Activation (20 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 9.5 | 0.5 | 0.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (MMC) | 0.1 | 7.0 | 2.5 | 14.0* | A: 0<br>B: 0 | A: 4<br>B: 5 | A: 3<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 1 | A: 1<br>B: 0 | 0.150±0.386 |
| | PAA | 666 | 9.2 | 1.5 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | | 950 | 7.7 | 2.0 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | | 1360 | 7.5 | 1.0 | 0.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |

CHO=Chinese hamster ovary, CP=Cylcophosphamide, CSBr= Chromosome breaks, CTBr=Chromatid breaks, CTEx=Chromatid exchange figures, Dic=Dicentric chromosome, DMSO=Dimethylsulfoxide, GLP=good laboratory practices, MI=Mitotic index, MMC=Mitomycin C, Num=Numerical aberrations, PAA=phenylacetate, Str=Structural aberrations

*: $p \leq 0.01$ (Fisher's Exact test)

[a]: Mitotic Index = (cells in mitosis/500 cells scored) x 100

表 2.6.7-26 PAGN の細菌を用いた復帰突然変異試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** Bacterial Reverse Mutation Assay | | | **Test Article: Phenylacetylglutamine (PAGN)** |
| **Test for Induction of:** Reverse mutations | | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** [redacted] **J.503**[redacted] |
| **Strains:** *S. typhimurium* strains: TA98, TA100, TA1535, TA1537; *E. coli* strain: WP2*uvr*A | | **No. of Replicate Cultures:** 3 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-8］ |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Plated/Culture:** NA | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** Water | **For Positive Controls:** DMSO or water | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** Plate incorporation methodology: plates incubated for 48 to 72 hours at 37 ± 2°C. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |
| **Cytotoxic Effects:** None | | | |
| **Genotoxic Effects:** None | | | |

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Initial Assay** | | | | | | | |
| Without Activation | Vehicle Control (water) | -- | 12±4 | 100±5 | 7±4 | 5±1 | 32±6 |
| | PAGN | 1.5 | 10±0 | 83±12 | 6±1 | 2±1 | 36±4 |
| | | 5.0 | 8±3 | 101±0 | 10±6 | 3±0 | 27±4 |
| | | 15 | 10±2 | 86±2 | 6±4 | 1±0 | 28±0 |
| | | 50 | 11±0 | 98±1 | 5±1 | 4±0 | 37±7 |
| | | 150 | 7±5 | 94±10 | 9±6 | 5±1 | 29±1 |
| | | 500 | 12±4 | 92±13 | 4±1 | 5±1 | 27±13 |
| | | 1500 | 10±1 | 103±7 | 7±3 | 1±0 | 32±8 |
| | | 5000 | 10±1 | 86±1 | 9±7 | 3±0 | 30±6 |
| | Positive Controls[a] | -- | 242±13 | 552±8 | 406±35 | 429±11 | 318±4 |

表 2.6.7-26 PAGN の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| With Activation | Vehicle Control (water) | -- | 19±6 | 141±1 | 13±2 | 8±3 | 41±4 |
| | PAGN | 1.5 | 24±6 | 140±17 | 10±1 | 7±3 | 33±7 |
| | | 5.0 | 30±15 | 137±25 | 12±1 | 4±4 | 48±1 |
| | | 15 | 27±0 | 128±24 | 9±6 | 5±2 | 29±8 |
| | | 50 | 27±1 | 138±0 | 11±1 | 4±0 | 39±16 |
| | | 150 | 22±7 | 145±7 | 14±1 | 9±1 | 42±6 |
| | | 500 | 23±4 | 135±1 | 10±5 | 7±6 | 40±11 |
| | | 1500 | 24±6 | 142±23 | 11±6 | 4±0 | 29±13 |
| | | 5000 | 24±1 | 118±9 | 10±0 | 4±1 | 29±0 |
| | Positive Controls[b] | -- | 179±37 | 560±98 | 46±1 | 37±16 | 218±31 |

表 2.6.7-26 PAGN の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Confirmatory Assay** | | | | | | | |
| Without Activation | Vehicle Control (water) | -- | 14±3 | 81±10 | 14±3 | 6±1 | 32±8 |
| | PAGN | 50 | 12±4 | 92±16 | 9±5 | 4±1 | 26±4 |
| | | 150 | 15±5 | 89±5 | 13±5 | 8±4 | 26±5 |
| | | 500 | 14±4 | 101±5 | 14±1 | 6±3 | 29±3 |
| | | 1500 | 11±2 | 104±13 | 14±1 | 8±1 | 28±4 |
| | | 5000 | 14±4 | 111±6 | 15±3 | 4±0 | 23±5 |
| | Positive Controls[a] | -- | 314±76 | 746±239 | 636±522 | 707±101 | 192±11 |
| With Activation | Vehicle Control (water) | -- | 22±3 | 151±14 | 18±6 | 9±2 | 24±4 |
| | PAGN | 50 | 24±1 | 145±4 | 13±5 | 12±5 | 23±10 |
| | | 150 | 22±5 | 164±12 | 14±6 | 6±2 | 32±8 |
| | | 500 | 19±1 | 160±13 | 14±7 | 14±1 | 31±9 |
| | | 1500 | 24±3 | 162±31 | 11±6 | 8±4 | 26±10 |
| | | 5000 | 19±3 | 175±1 | 16±6 | 12±6 | 23±3 |
| | Positive Controls[b] | -- | 298±18 | 750±77 | 124±52 | 42±11 | 87±18 |

DMSO= dimethylsulfoxide, NE Not evaluated PAGN=phenylacetylglutamine
[a]: TA98: 2-nitrofluorene (1.0 µg); TA100 and TA1535: sodium azide (1.0 µg); TA1537: 9-aminoacridine (75 µg); WP2uvrA: methyl methanesulfonate (1000 µg)
[b]: TA98, TA1535, and TA1537: 2-aminoanthracene (1.0 µg); TA100: 2-aminoanthracene (2.0 µg); WP2uvrA: 2-aminoanthracene (15 µg)

表 2.6.7-27　PAGN の CHO 細胞を用いた染色体異常試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test | | | **Test Article: Phenylacetylglutamine (PAGN)** |
| **Test for Induction of:** Chromosomal aberrations | | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** [redacted] **J.331**[redacted] |
| **Strains:** CHO cells | | **No. of Replicate Cultures:** 2 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-9］ |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Analyzed/Culture:** 100 | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** Water | **For Positive Controls:** Distilled water | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** Cultures were incubated with varying concentrations of the test article with and without S9 activation for 4 hours and without activation for 20 hours. All cultures were harvested at 20 hours. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |
| **Cytotoxic Effects:** None | | | |
| **Genotoxic Effects:** None | | | |

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| Without Activation (4 hour) | Vehicle Control (water) | -- | 11.1 | 2.0 | 0.0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (MMC) | 0.2 | 9.3 | 1.5 | 14.0* | A: 2<br>B: 1 | A: 5<br>B: 4 | A: 3<br>B: 2 | A: 0<br>B: 1 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.160±0.420 |
| | PAGN | 1480 | 11.2 | 2.5 | 0.0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 2110 | 10.2 | 2.5 | 0.5 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | | 2643 | 11.0 | 3.5 | 0.5 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | 0.005±0.071 |

表 2.6.7-27 PAGN の CHO 細胞を用いた染色体異常試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| With Activation (4 hour) | Vehicle Control (water) | -- | 11.8 | 2.5 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | Positive Control (CP) | 10 | 3.2 | 1.0 | 28.0* | A: 6<br>B: 5 | A: 16<br>B: 13 | A: 5<br>B: 5 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.390±0.695 |
| | PAGN | 1480 | 11.8 | 3.5 | 1.5 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B:1 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | 0.015±0.122 |
| | | 2110 | 11.5 | 3.5 | 2.0 | A: 1<br>B: 0 | A: 1<br>B: 1 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | 0.020±0.140 |
| | | 2643 | 8.8 | 5.0 | 3.0 | A: 3<br>B: 3 | A: 3<br>B: 1 | A: 0<br>B: 2 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.030±0.171 |
| Without Activation (20 hour) | Vehicle Control (water) | -- | 12.8 | 1.0 | 0.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (MMC) | 0.1 | 9.7 | 1.0 | 14.0* | A: 1<br>B: 2 | A: 5<br>B: 7 | A: 2<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.150±0.386 |
| | PAGN | 1480 | 13.9 | 2.0 | 0.5 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.071 |
| | | 2110 | 13.1 | 2.0 | 1.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | 0.010±0.100 |
| | | 2643 | 12.9 | 3.0 | 1.0 | A: 0<br>B: 0 | A: 2<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.010±0.100 |

CHO=Chinese hamster ovary, CP=Cylcophosphamide, CSBr= Chromosome breaks, CTBr=Chromatid breaks, CTEx=Chromatid exchange figures, Dic=Dicentric chromosome, DMSO=Dimethylsulfoxide, GLP=good laboratory practices, MI=Mitotic index, MMC=Mitomycin C, Num=Numerical aberrations, PAA=phenylacetate, Str=Structural aberrations

* $p \leq 0.01$ (Fisher's Exact test)

[a]: Mitotic Index = (cells in mitosis/500 cells scored) x 100

表 2.6.7-28 PAG の細菌を用いた復帰突然変異試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** Bacterial Reverse Mutation Assay | | | **Test Article: Phenylacetylglycine (PAG)** |
| **Test for Induction of:** Reverse mutations | | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** [redacted] **K.503**[redacted] |
| **Strains:** *S. typhimurium* strains: TA98, TA100, TA1535, TA1537; *E. coli* strain: WP2*uvr*A | | **No. of Replicate Cultures:** 3 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-11］ |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Plated/Culture:** NA | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** DSMO | **For Positive Controls:** DMSO | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** Plate incorporation methodology: plates incubated for 48 to 72 hours at 37 ± 2°C. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |
| **Cytotoxic Effects:** None | | | |
| **Genotoxic Effects:** None | | | |

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Initial Assay** | | | | | | | |
| Without Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 13±0 | 94±1 | 14±1 | 9±1 | 22±4 |
| | PAG | 1.5 | 16±1 | 84±16 | 14±3 | 10±4 | 14±3 |
| | | 5.0 | 14±4 | 75±4 | 8±1 | 8±1 | 26±4 |
| | | 15 | 14±1 | 77±1 | 11±4 | 8±1 | 29±3 |
| | | 50 | 15±0 | 75±3 | 10±2 | 6±3 | 30±4 |
| | | 150 | 12±4 | 79±8 | 9±1 | 6±1 | 22±10 |
| | | 500 | 13±1 | 71±4 | 7±3 | 4±1 | 26±9 |
| | | 1500 | 18±1 | 76±20 | 11±0 | 6±1 | 22±4 |
| | | 5000 | 16±1 | 106±NA | 8±1 | 7±0 | 21±6 |
| | Positive Controls[a] | -- | 235±14 | 685±10 | 547±16 | 570±87 | 234±13 |

表 2.6.7-28 PAG の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| With Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 17±3 | 132±19 | 10±4 | 10±4 | 37±4 |
| | PAG | 1.5 | 22±6 | 134±1 | 8±0 | 8±4 | 39±14 |
| | | 5.0 | 19±5 | 110±1 | 12±1 | 10±8 | 36±3 |
| | | 15 | 20±1 | 107±8 | 10±2 | 4±1 | 40±8 |
| | | 50 | 24±3 | 143±8 | 9±1 | 8±1 | 42±14 |
| | | 150 | 19±1 | 122±4 | 8±1 | 9±6 | 37±6 |
| | | 500 | 23±1 | 108±27 | 8±6 | 7±3 | 23±0 |
| | | 1500 | 17±4 | 132±16 | 16±11 | 12±1 | 26±3 |
| | | 5000 | 20±2 | 111±11 | 13±5 | 11±2 | 27±10 |
| | Positive Controls[b] | -- | 307±8 | 812±37 | 75±2 | 59±21 | 260±28 |

表 2.6.7-28 PAG の細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level ( µg ) | TA98 | TA100 | TA1535 | TA1537 | WP2*uvr*A |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Confirmatory Assay** | | | | | | | |
| Without Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 20±4 | 87±7 | 13±4 | 5±1 | 25±9 |
| | PAG | 50 | 14±3 | 90±19 | 10±1 | 4±3 | 18±3 |
| | | 150 | 16±5 | 88±14 | 13±4 | 7±2 | 25±3 |
| | | 500 | 19±10 | 89±8 | 10±5 | 8±4 | 21±2 |
| | | 1500 | 15±2 | 93±10 | 14±6 | 3±3 | 23±3 |
| | | 5000 | 15±4 | 89±16 | 11±2 | 4±1 | 23±5 |
| | Positive Controls[a] | -- | 175±5 | 788±42 | 571±18 | 202±43 | 337±19 |
| With Activation | Vehicle Control (DMSO) | -- | 17±1 | 127±7 | 130±7 | 7±2 | 28±6 |
| | PAG | 50 | 21±5 | 137±7 | 11±3 | 8±4 | 27±7 |
| | | 150 | 19±6 | 131±20 | 11±4 | 10±4 | 30±6 |
| | | 500 | 24±1 | 125±3 | 8±5 | 7±2 | 22±2 |
| | | 1500 | 21±5 | 115±12 | 14±4 | 9±3 | 27±10 |
| | | 5000 | 17±6 | 129±8 | 11±3 | 4±3 | 22±11 |
| | Positive Controls[b] | -- | 295±8 | 664±19 | 56±13 | 50±7 | 254±16 |

DMSO= dimethylsulfoxide, NE Not evaluated PAGN=phenylacetylglutamine
[a]: TA98: 2-nitrofluorene (1.0 µg); TA100 and TA1535: sodium azide (1.0 µg); TA1537: 9-aminoacridine (75 µg); WP2uvrA: methyl methanesulfonate (1500 µg)
[b]: TA98, TA1535, and TA1537: 2-aminoanthracene (1.0 µg); TA100: 2-aminoanthracene (2.0 µg); WP2uvrA: 2-aminoanthracene (15 µg)

表 2.6.7-29 PAG の CHO 細胞を用いた染色体異常試験

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Report Title:** *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test | | | **Test Article: Phenylacetylglicinc (PAG)** |
| **Test for Induction of:** Chromosomal aberrations | | **No. of Independent Assays:** 1 | **Study No.** [redacted] **K.331**[redacted] |
| **Strains:** CHO cells | | **No. of Replicate Cultures:** 2 | **Location in CTD:** ［4.2.3.3.1-10］ |
| **Metabolizing System:** S9 | | **No. of Cells Analyzed/Culture:** 100 | |
| **Vehicles:** | **For Test Article:** DSMO | **For Positive Controls:** Distilled water | **GLP Compliance:** Yes |
| **Treatment:** Cultures were incubated with varying concentrations of the test article with and without S9 activation for 4 hours and without activation for 20 hours. All cultures were harvested at 20 hours. | | | **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted] |
| **Cytotoxic Effects:** None. | | | |
| **Genotoxic Effects:** None | | | |

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (μg/mL) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| Without Activation (4 hour) | Vehicle Control (DSMO) | -- | 8.8 | 0 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (MMC) | 0.2 | 6.6 | 0 | 12 | A: 1<br>B: 0 | A: 7<br>B: 2 | A: 1<br>B: 3 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | 0.140±0.028 |
| | PAG | 950 | 8.2 | 0 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 1350 | 7.1 | 0 | 0.5 | A: 0<br>B: 1 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.007 |
| | | 1932 | 7.7 | 1.5 | 2 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 2 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | 0.020±0.000 |

表 2.6.7-29 PAG の CHO 細胞を用いた染色体異常試験（続き）

| Metabolic Activation | Test Article | Concentration or Dose Level (µg/mL) | MI (%)[a] | Aberrent Cells (%) | | Structural Chromosome Aberrations | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Num | Str | Gaps | CTBr | CTEx | CSBr | Dic | Ring | Avg. Per Cell |
| With Activation (4 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 8.9 | 0 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (CP) | 10 | 2.0 | 1 | 15 | A: 1<br>B: 0 | A: 4<br>B: 7 | A: 1<br>B: 1 | A: 5<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | 0.190±0.014 |
| | PAG | 950 | 8.4 | 2 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.007 |
| | | 1350 | 7.3 | 0 | 0.5 | A: 0<br>B: 0 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.007 |
| | | 1932 | 8.2 | 0 | 1.5 | A: 0<br>B: 1 | A: 1<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | 0.015±0.007 |
| Without Activation (20 hour) | Vehicle Control (DMSO) | -- | 10.3 | 0.5 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | Positive Control (MMC) | 0.1 | 7.1 | 0 | 10 | A: 0<br>B: 1 | A: 4<br>B: 2 | A: 1<br>B: 3 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.100±0.000 |
| | PAG | 950 | 9.3 | 0 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 1350 | 9.8 | 0 | 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.000±0.000 |
| | | 1932 | 10.2 | 0 | 0.5 | A: 1<br>B: 0 | A: 0<br>B: 1 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | A: 0<br>B: 0 | 0.005±0.007 |

CHO=Chinese hamster ovary, CP=Cylcophosphamide, CSBr= Chromosome breaks, CTBr=Chromatid breaks, CTEx=Chromatid exchange figures, Dic=Dicentric chromosome, DMSO=Dimethylsulfoxide, GLP=good laboratory practices, MI=Mitotic index, MMC=Mitomycin C, Num=Numerical aberrations, PAG=phenylacytylglycine, Str=Structural aberrations
* $p \leq 0.01$ (Fisher's Exact test)
[a]: Mitotic Index = (cells in mitosis/500 cells scored) x 100

## 2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

表 2.6.7-30 GPB のラット小核試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** *In Vivo* Rat Micronucleus Assay | | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** |
| **Test for Induction of:** Micronucleated polychromatic erythrocytes | **Treatment Schedule:** Single dose | **Study No.** [redacted]**2-102** |
| **Species/Strain:** Rats/CD (SD) BR | **Sampling Time:** Sacrificed at 24 and 48 hours | **Location in CTD:** [4.2.3.3.2-1] |
| **Age:** Approximately 8 weeks old | **Method of Administration:** Oral/Gavage | |
| **Cells Evaluated:** Polychromatic erythrocytes (PCE) | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | **GLP Compliance:** Yes |
| **No. of Cells Analyzed/Animal:** ≥ 2000 PCEs | | **Date of Dosing:** [redacted] 20[redacted] |

**Special Features:** In the dose range finding assay, both male and female rats were observed for up to 2 days for clinical signs of toxicity and mortality. In the micronucleus assay, bone marrow was extracted after 24 or 48 hours in males only.

**Toxic/Cytotoxic Effects:** In the dose range finding assay, ataxia was observed in both sexes at doses of 1000 and 2000 mg/kg. At 2000 mg/kg, rats of both sexes were hypoactive. In the micronucleus assay only males were dosed and ataxia and hypoactivity were observed at doses of 1000 and 2000 mg/kg.

**Genotoxic Effects:** None

**Evidence of Exposure:** None

| Test Article | Dose (mg/kg) | No. of Animals | Harvest Time | % Micronucleated PCEs | Mean Ratio PCE : NCE |
|---|---|---|---|---|---|
| Vehicle (Corn oil) | 10 mL/kg | 5 | 24 hr | 0.07 ± 0.02 | 0.93 ± 0.05 |
| | 10 mL/kg | 5 | 48 hr | 0.02 ± 0.01 | 0.71 ± 0.03 |
| Positive (CP) | 60 mg/kg | 5 | 24 hr | 1.85 ± 0.31* | 0.66 ± 0.02** |
| GPB | 500 | 5 | 24 hr | 0.03 ± 0.01 | 0.87 ± 0.06 |
| | 1000 | 5 | 24 hr | 0.03 ± 0.01 | 0.87 ± 0.06 |
| | 2000 | 5 | 24 hr | 0.08 ± 0.03 | 0.94 ± 0.03 |
| | 2000 | 5 | 48 hr | 0.06 ± 0.02 | 0.73 ± 0.02 |

CP=cyclophosphamide, GLP=good laboratory practices, GPB=glycerol phenylbutyrate, NCE=normochromatic erythrocytes, PCE=polychromatic erythrocytes, SD=standard deviation
* Significantly greater than the corresponding vehicle control, $p \leq 0.01$.
** Significantly less than the corresponding vehicle control, $p \leq 0.05$.

## 2.6.7.10 がん原性試験

表 2.6.7-31 GPB の rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** HPN-100 (Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) [GT4P]: 26-Week Repeated Dose Oral Carcinogenicity Study in Tg.rasH2 Mice | | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** |
| **Species/Strain:** Mouse/ Tg.rasH2 (hemizygous) and CByB6F1 hybrid (non-transgenic littermate) | **Duration of Dosing:** 26 weeks | **Study No.** [redacted]7G8R[redacted] |
| **Initial Age:** 8-9 weeks old | **Method of Administration:** Oral/Gavage | **Location in CTD:** ［4.2.3.4.2-1］ |
| **Date of First Dose:** [redacted], 20[redacted] (Males); [redacted], 20[redacted] (Females) | **Vehicle/Formulation:** NP | |
| | **Treatment of Controls:** Sterile water for Injection (USP) | **GLP Compliance:** Yes |

**Basis for High-Dose Selection:** The high dose was based upon maximum tolerated dose (MTD) findings in a 28-day range finding study (AC24CV.2G3R.BTL; 表 2.6.7-11) The MTD was approximately 0.90 g/kg/day in males based on saturation of absorption toxicokinetics at a higher dose and 1.20 g/kg/day in females based on mortality, morbidity, and body weight loss observed at a higher dose.

**Special Features:** A group of 16 male and 15 females, administered Urethane (1.00 g/kg) as a positive control, showed statistically significant increases in the incidence of pulmonary tumors and hemangiosarcomas in both males and females. A separate exposure study with groups of CByB6F1 Hybrid mice (5/sex/dose) were similarly administered to confirm exposure of GPB metabolites following approximately 184 days of oral dosing. Results from this study showed that at 2 hours after the last dose (Day 184) plasma levels of PBA, PAA, and PAG were comparable to those observed in the 28-day range-finding study (AC24CV.2G3R.BTL; 表 2.6.7-11) and indicate adequate exposure in this study.

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control 1)** | | **0 (Control 2)** | | **0.60** | | **1.00** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Gender** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** |
| **Toxicokinetics: AUC** | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE | NE |
| **Number of Animals** | | | | | | | | |
| **At Start** | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| **Died/Sacrificed Moribund** | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| **Terminal Sacrifice** | 25 | 24 | 25 | 25 | 24 | 25 | 25 | 23 |
| **Survival (%)** | 100 | 96 | 100 | 100 | 96 | 100 | 100 | 92 |
| **Body Weight Gain[a] (g)** | 3.98 | 3.88 | 3.88 | 3.86 | 3.42 | 4.24 | 4.72 | 4.80* |
| **Body Weight (%)** | | | | | | | | |
| Day 22 | - | 18.64 | - | 18.48 | - | +1.5 | - | +4.7* |
| Day 29 | - | 19.34 | - | 19.08 | - | -0.1 | - | +4.7* |

表 2.6.7-31 GPB の rasH2 Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control 1) | | 0 (Control 2) | | 0.60 | | 1.00 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Gender** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** |
| **Body Weight (%)** | | | | | | | | |
| Day 36 | - | 19.55 | - | 19.39 | - | -1.9 | - | +3.5* |
| Day 43 | - | 19.53 | - | 19.47 | - | -0.6 | - | +3.1* |
| Day 50 | - | 19.90 | - | 19.74 | - | +0.7 | - | +3.5* |
| Day 57 | - | 20.66 | - | 20.49 | - | -0.5 | - | +3.8* |
| Day 64 | - | 20.64 | - | 20.32 | - | +0.7 | - | +6.6* |
| Day 71 | - | 20.38 | - | 20.40 | - | +0.1 | - | +3.8* |
| Day 78 | - | 20.77 | - | 20.85 | - | +1.1 | - | +4.9* |
| Day 85 | - | 20.50 | - | 20.51 | - | +2.3 | - | +7.5* |
| Day 92 | - | 20.62 | - | 20.72 | - | +2.9 | - | +6.2* |
| Day 106 | - | 21.22 | - | 21.19 | - | -0.7 | - | +4.1* |
| Day 113 | - | 20.98 | - | 21.18 | - | -0.3 | - | +4.6* |
| Day 120 | - | 21.70 | - | 21.57 | - | +0.7 | - | +4.8* |
| Day 155 | - | 22.06 | - | 21.95 | - | +1.6 | - | +5.7* |
| Day 169 | - | 22.14 | - | 22.30 | - | +1.5 | - | +4.1* |
| **Food Consumption (%)** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Clinical Signs** | | | | | | | | |
| Hyperactivity (Days)[b] | - | - | - | - | + (5-12) | + (3-8) | + (5-9) | + (3-8) |
| **Number of Animals with Neoplastic Lesions:** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **Noteworthy Findings:** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Gross Pathology** | - | - | - | - | - | - | - | - |
| **Histopathology – Non-Neoplastic Lesions** | - | - | - | - | - | - | - | - |

AUC=area under the curve from the time of dosing, F=female, GPB=glycerol phenylbutyrate (HPN-100), GLP=good laboratory practices, GT4P=glyceryl tri-(4- phenylbutyrate) (now referred to as glycol phenylbutyrate), NE=not evaluated, NP=not provided, M=male, MTD=maximum tolerated dose, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetylglycine, PBA=phenylbutyric acid, USP=United States Pharmacopeia, *-p<0.05 (ANOVA and Dunnett's T-Test) when compared to water control mice (Control 1 and Control 2 groups combined)
- Negative/No treatment-related effect, + Positive
[a]: Terminal body weight gain (Day 183)
[b]: The specified day(s) or date range during which hyperactivity was observed

表 2.6.7-32 GPB のラットを用いた 24 ヵ月がん原性試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title**: A 24-Month Oral (Gavage) Carcinogenicity Study of Glyceryl Tri (4-Phenylbutyrate) [HPN-100] in Rats | | **Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB)** |
| **Species/Strain:** Rat/Crl:CD(SD) | **Duration of Dosing:** 24 months[a] | **Study No.** [redacted] **71007** |
| **Initial Age:** 7 weeks | **Method of Administration:** Oral/Gavage | **Location in CTD**: [4.2.3.4.1-1] |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | |
| | **Treatment of Controls:** Water (control 1) or Corn oil (control 2) | **GLP Compliance:** Yes |

**Basis for High-Dose Selection:** Dosage levels were selected based on results from a prior 90-day toxicity study ([redacted]10009) and a prior 6-month toxicity study ([redacted]71001), both in Sprague Dawley rats. The setting of dose levels in the 2-year rat study were based on findings in repeat-dose studies where HPN- 100 was less well-tolerated in males. The MTD estimates were based primarily on a decrease in body weight gain, and lower body weights. The MTD was considered to be 650 mg/kg/day in males and 900 mg/kg/day in females. The other two levels, for each sex, were spaced in half-log intervals, typically used to assess a dose-response relationship in toxicology studies.

**Special Features:**

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control 1)** | | **0 (Control 2)** | | **0.07** | **0.10** | **0.21** | **0.30** | **0.65** | **0.90** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Gender** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** |
| **Toxicokinetics:** | | | | | | | | | | |
| Day 0: | | | | | | | | | | |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | - | - | - | - | 23.47 | 38.75 | 47.30 | 111.57 | 341.76 | 710.31 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | - | - | - | - | 38.67 | 105.93 | 287.82 | 519.88 | 1914.00 | 2892.00 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAG | - | - | - | - | 26.61 | 35.68 | 75.53 | 104.98 | 263.32 | 469.71 |
| Day 364: | | | | | | | | | | |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PBA | - | - | - | - | 23.91 | 99.04 | 71.51 | 230.66 | 111.11 | 290.78 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAA | - | - | - | - | 63.15 | 160.18 | 425.39 | 1618.01 | 3993.13 | 7106.03 |
| $AUC_{last}$ (hr·µg/mL) for PAG | - | - | - | - | 66.27 | 98.78 | 154.04 | 269.76 | 810.28 | 972.53 |
| **Number of Animals** | | | | | | | | | | |
| **At Start** | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| **Died/Sacrificed Moribund** | 40 | 46 | 48 | 45 | 47 | 42 | 46 | 47 | 48 | 47 |
| **Terminal Sacrifice** [a] | 25 | 19 | 17 | 20 | 18 | 23 | 19 | 18 | 17 | 18 |
| **Survival (%)**[a] | 38 | 29 | 26 | 31 | 28 | 35 | 29 | 28 | 26 | 28 |
| **Body Weight (%)**[b] | 608 g | 343 g | 632 g | 353 g | -0.2 | +2.0 | +0.8 | +1.7 | -4.9**^ | -5.5*^ |
| **Food Consumption (%)**[c] | 26 g/day | 20 g/day | 26 g/day | 19 g/day | +3.8 | +5.0^^ | 0.0 | +5.0*^ | 0.0 | +10.0*^ |

表 2.6.7-32 GPB のラットを用いた 24 ヵ月がん原性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control 1) | | 0 (Control 2) | | 0.07 | 0.10 | 0.21 | 0.30 | 0.65 | 0.90 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Gender** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** |
| **Palpable Masses** | | | | | | | | | | |
| Number of animals | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Number of animals with masses[d] | 16 | 36 | 13 | 36 | 20 | 38 | 18 | 42 | 26[†] | 31 |
| Number of animal with multiple masses[d] | 2 | 17 | 1 | 13 | 2 | 16 | 6 | 23 | 8[†] | 11 |
| **Number of Animals with Neoplastic Lesions:** | | | | | | | | | | |
| Adrenal Cortex[e] | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Adenoma | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 7 |
| Incidental | - | 1 | 1 | - | 2 | 2 | 1 | - | 1 | 5 |
| Scheduled sacrifice | 1 | - | - | 1 | - | - | - | 1 | - | 2 |
| Carcinoma | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 4 | 2 | 5 | 3 |
| Incidental | - | - | - | - | - | - | - | 2 | 1 | 1 |
| Fatal | 1 | - | - | 1 | 1 | - | - | - | 2 | 1 |
| Scheduled sacrifice | - | - | - | 1 | - | 1 | 4 | - | 2 | 1 |
| Cervix[e] | NA | 65 | NA | 65 | NA | 65 | NA | 65 | NA | 64 |
| Schwannoma, malignant | - | 2 | - | 0 | - | 1 | - | 8 | - | 1 |
| Fatal | - | 2 | - | 0 | - | - | - | 3 | - | - |
| Scheduled sacrifice | - | 0 | - | - | - | 1 | - | 5 | - | 1 |
| Pancreas[e] | 64 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Adenoma, acinar cell | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 8 | 6 |
| Incidental | 1 | - | - | - | - | - | 3 | - | 2 | 3 |
| Scheduled sacrifice | - | - | 1 | - | - | - | - | - | 6 | 3 |
| Carcinoma, acinar cell | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 6 | 6 |
| Incidental | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 | 3 |
| Fatal | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 2 | 1 |
| Scheduled sacrifice | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 2 | 2 |

表 2.6.7-32 GPB のラットを用いた 24 ヵ月がん原性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control 1) | | 0 (Control 2) | | 0.07 | 0.10 | 0.21 | 0.30 | 0.65 | 0.90 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Gender** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** |
| **Number of Animals with Neoplastic Lesions:** | | | | | | | | | | |
| Thyroid Gland[e] | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Adenoma, follicular cell | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | 1 | 3 | 2 | 6 | 9 |
| Incidental | - | - | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | - | 5 | 5 |
| Scheduled sacrifice | - | - | - | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 4 |
| Carcinoma, follicular cell | 2 | 0 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 5 |
| Incidental | - | - | 1 | - | 1 | 1 | 1 | 1 | - | - |
| Scheduled sacrifice | 2 | - | 1 | 1 | - | 1 | - | 1 | 1 | 5 |
| Uterus[e] | NA | 65 | NA | 65 | NA | 65 | NA | 65 | NA | 65 |
| Polyp, endometrial stromal | - | 2 | - | 1 | - | 5 | - | 4 | - | 12 |
| Incidental | - | 1 | - | 1 | - | 2 | - | 1 | - | 8 |
| Scheduled Sacrifice | - | 1 | - | - | - | 3 | - | 3 | - | 4 |
| Sarcoma, endometrial stromal | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 1 |
| Incidental | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 |
| Zymbal’s Gland[e] | 62 | 63 | 56 | 64 | 62 | 64 | 59 | 65 | 58 | 62 |
| Carcinoma | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 5 | 2 | 5 | 5 |
| Incidental | - | - | - | 1 | 1 | - | 2 | 1 | 2 | 2 |
| Fatal | 1 | - | 1 | - | 1 | - | 2 | - | 3 | 1 |
| Scheduled sacrifice | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 1 | - | 2 |

表 2.6.7-32 GPB のラットを用いた 24 ヵ月がん原性試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control 1)** | | **0 (Control 2)** | | **0.07** | **0.10** | **0.21** | **0.30** | **0.65** | **0.90** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Gender** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | | | |
| **Gross Pathology** | | | | | | | | | | |
| **Number of Animals Evaluated** | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Adrenal Gland | | | | | | | | | | |
| Mass | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 5 |
| Enlarged | 3 | 14 | 1 | 10 | 7 | 22 | 4 | 26 | 6 | 35 |
| Area, Dark Red | 1 | 10 | 1 | 4 | 1 | 7 | 3 | 5 | 4 | 4 |
| Mottled | 2 | 5 | 1 | 4 | 1 | 3 | 3 | 7 | 6 | 9 |
| Lobulated | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 10 | 0 | 14 | 0 | 21 |
| Cervix | | | | | | | | | | |
| Mass | NA | 2 | NA | 1 | NA | 0 | NA | 6 | NA | 4 |
| Enlarged | NA | 1 | NA | 1 | NA | 4 | NA | 2 | NA | 2 |
| Thickened | NA | 1 | NA | 1 | NA | 1 | NA | 2 | NA | 0 |
| Mammary Gland | | | | | | | | | | |
| Mass | 4 | 52 | 5 | 43 | 11 | 77 | 7 | 70 | 13 | 47 |
| Pancreas | | | | | | | | | | |
| Mass | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 6 | 5 |
| Nodule | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 7 | 5 |
| Skin | | | | | | | | | | |
| Mass | 10 | 5 | 8 | 9 | 10 | 8 | 12 | 10 | 17 | 13 |
| Uterus | | | | | | | | | | |
| Cyst(s) | NA | 9 | NA | 8 | NA | 18 | NA | 18 | NA | 26 |

表 2.6.7-32 GPB のラットを用いた 24 ヵ月がん原性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control 1) | | 0 (Control 2) | | 0.07 | 0.10 | 0.21 | 0.30 | 0.65 | 0.90 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Gender** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | | | |
| **Histopathology - Non-Neoplastic Findings** | | | | | | | | | | |
| Adrenal Cortex[e] | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Hypertrophy, focal, zona, fasciculata | 22 | 23 | 25 | 18 | 27 | 31 | 31 | 37 | 38 | 36 |
| Minimal | 11 | 4 | 14 | 9 | 11 | 3 | 9 | 1 | 7 | 0 |
| Mild | 8 | 15 | 9 | 5 | 12 | 15 | 16 | 16 | 16 | 7 |
| Moderate | 3 | 4 | 2 | 4 | 3 | 11 | 5 | 18 | 14 | 27 |
| Severe | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| Eye[e] | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Atrophy, retinal | 3 | 3 | 4 | 4 | 1 | 1 | 1 | 8 | 2 | 29 |
| Minimal | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 3 | 1 | 4 |
| Mild | 0 | 3 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 5 | 1 | 9 |
| Moderate | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 |
| Liver[e] | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Focus, basophilic cell | 17 | 19 | 13 | 17 | 13 | 23 | 10 | 32 | 17 | 40 |
| Minimal | 15 | 18 | 12 | 10 | 12 | 18 | 9 | 20 | 16 | 25 |
| Mild | 2 | 0 | 1 | 6 | 1 | 3 | 1 | 8 | 1 | 11 |
| Moderate | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 | 4 |
| Severe | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Pancreas[e] | 64 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Hyperplasia, acinal cell | 3 | 0 | 5 | 0 | 4 | 4 | 14 | 3 | 27 | 23 |
| Minimal | 2 | - | 4 | - | 3 | 3 | 9 | 2 | 9 | 7 |
| Mild | 1 | - | 1 | - | 1 | 1 | 5 | 1 | 8 | 10 |
| Moderate | 0 | - | 0 | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 6 |
| Severe | 0 | - | 0 | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Thyroid Gland[e] | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| Hyperplasia, follicular cell | 1 | 0 | 3 | 1 | 4 | 3 | 6 | 5 | 8 | 10 |
| Minimal | - | - | - | - | - | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 |
| Mild | 1 | - | 1 | 1 | 4 | 1 | 2 | 1 | 3 | 2 |
| Moderate | - | - | 2 | - | - | - | 1 | 1 | 1 | 3 |

表 2.6.7-32 GPB のラットを用いた 24 ヵ月がん原性試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control 1) | | 0 (Control 2) | | 0.07 | 0.10 | 0.21 | 0.30 | 0.65 | 0.90 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Gender** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** | **M** | **F** |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | | | |
| **Histopathology - Non-Neoplastic Findings** | | | | | | | | | | |
| Uterus[e] | NA | 65 | NA | 65 | NA | 65 | NA | 65 | NA | 65 |
| Hyperplasia, cystic, endometrial | - | 14 | - | 16 | - | 26 | - | 26 | - | 41 |
| Minimal | - | 8 | - | 9 | - | 11 | - | 8 | - | 10 |
| Mild | - | 5 | - | 6 | - | 12 | - | 13 | - | 19 |
| Moderate | - | 1 | - | 1 | - | 3 | - | 5 | - | 9 |
| Severe | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 3 |
| Zymbal’s Gland[e] | 62 | 63 | 56 | 64 | 62 | 64 | 59 | 65 | 58 | 62 |
| Hyperplasia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| Minimal | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - |
| Mild | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - |
| Moderate | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 | - |

$AUC_{last}$= area under the curve from the time of dosing to last measurement , F=female, GLP=good laboratory practices, GT4P=glyceryl tri-(4-phenylbutyrate) (now referred to as glycol phenylbutyrate [GPB or HPN-100]), M=male, NA=not applicable, PBA=phenylbutyric acid, PAA=phenylacetic acid, PAG=phenylacetylglycine, SD=standard deviation

† = p<0.05 when compared to control group 2 using Fisher’s Exact Test. * p<0.01 when compared to Control 1 using Dunnett's test. ** p<0.05 when compared to Control 1 using Dunnett's test. ^ p<0.01 when compared to Control 2 using Dunnett's test. ^^ p<0.05 when compared to Control 2 using Dunnett's test.

[a]: Approximately 70% of male (n=229) and female rats (n=227) were euthanized in extremis or found dead prior to the scheduled necropsy; therefore, due to the observed increase in mortality, all surviving females were sacrificed during Week 100 and all surviving males were sacrificed during Week 104.

[b]: At Week 26. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from Control 1 are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c]: At Week 25-26. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from Control 1 are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d]: Mass(es) present at the last observation.

[e]: Number of animals evaluated

## 2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

表 2.6.7-33 GPB の生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

| | | Nonpivotal Studies | | Test Article: Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Species/ Strain** | **Method of Administration (Vehicle/ Formulation)** | **Dosing Period** | **Doses g/kg** | **No. per Group** | **Noteworthy Findings** | **Study Number** |
| Rabbits/ Hra: (NZW)SPF | Oral Gavage<br><br>(Test article was administered neat as supplied) | Days 1-5 | 0 (corn oil), 0.75, 1.0, 1.5, and 2.0 | 2 non-pregnant females/group | No treatment related effect on body temperature at any dose.<br>**Mortality:**<br>≥ 1.0 g/kg: all animals were euthanized early or found dead.<br>**Clinical signs:**<br>0.75 g/kg: urine-stained fur, ungroomed coat and pale extremities.<br>0.75 to 1.5 g/kg: scant feces<br>1.0 g/kg: cold to touch, dyspnea, vocalization (in response to touch)<br>1.0 and 1.5 g/kg/day: decreased motor activity and ataxia<br>1.5 g/kg: respiratory distress (dyspnea and hypernea, rales), prostration, lost righting reflex, mydriasis, clear perinasal substance, ungroomed coat, excess salivation<br>2.0 g/kg: none prior to death<br>**Bodyweight:**<br>≥ 0.75 g/kg: bodyweight loss<br>**Food Consumption (surviving animals):**:<br>0.75 g/kg: ↓ food consumption<br>**Organ weight (surviving animals):**<br>0.75 g/kg: ↓ absolute liver weight<br>**Necropsy:**<br>2.0 g/kg: dark areas on thymus, clear red fluid in bladder (3-10 mL). | [redacted]Y00009<br>［4.2.3.5.2-3］<br>Part A |

表 2.6.7-33 GPB の生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

<table>
<tr><th>Species/ Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Dosing Period</th><th>Doses g/kg</th><th>No. per Group</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td>Rabbits/Hra: (NZW)SPF</td><td>Oral Gavage<br><br>(Test article was administered neat as supplied)</td><td>Days 1-5</td><td>0.1, 0.3, 0.5 and 0.7</td><td>4 non-pregnant females/group</td><td>No treatment related effect on body temperature at any dose. No adverse effects were noted at necropsy in surviving animals<br>Mortality:<br>0.7 g/kg: 1 rabbit euthanized due to adverse clinical signs<br>Clinical signs:<br>≥0.5 g/kg: scant feces<br><u>Early decedent animal:</u> cold to touch, hypernea, decreased motor activity, clear perinasal substance, scant feces, ataxia, prostrate, lacrimation, tachypnea, dyspnea<br>Bodyweight:<br>≥ 0.3 g/kg: ↓ bodyweight<br>Food Consumption::<br>≥ 0.3 g/kg: ↓ food consumption<br>Organ weight:<br>≥ 0.3 g/kg: ↓absolute and relative liver weight<br>Necropsy (decedent animal):<br>0.7 g/kg: pale heart<br>Toxicokinetics:<br><table><tr><td rowspan="2">Dose (g/kg)</td><td>$AUC_{All}$ (hr*µg/mL)</td><td></td><td>$C_{max}$ (µg/mL)</td><td></td></tr><tr><td colspan="4">PBA</td></tr><tr><td></td><td>Day 1</td><td>Day 5</td><td>Day 1</td><td>Day 5</td></tr><tr><td>0.1</td><td>14.3±4.4</td><td>18.2±6.2</td><td>7.0±2.8</td><td>9.9±2.6</td></tr><tr><td>0.3</td><td>72.0±70.6</td><td>70.9±19.4</td><td>26.5±30.5</td><td>24.8±4.1</td></tr><tr><td>0.5</td><td>190.8±90.5</td><td>231.4±150.8</td><td>57.0±31.6</td><td>53.7±44.9</td></tr><tr><td>0.7</td><td>342.7±76.1</td><td>223.0±96.0</td><td>77.9±20.9</td><td>30.4±30.9</td></tr></table>Continued on next page</td><td>[redacted]Y00009 Part A Extension</td></tr>
</table>

表 2.6.7-33 GPB の生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

<table>
<tr><th>Species/ Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Dosing Period</th><th>Doses g/kg</th><th>No. per Group</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td>Rabbits/Hra: (NZW)SPF</td><td>Oral Gavage (Test article was administered neat as supplied)</td><td>Days 1-5</td><td>0.1, 0.3, 0.5 and 0.7</td><td>4 non-pregnant females/group</td><td>*Continued from previous page*<br>**Toxicokinetics:**<br>
<table>
<tr><th rowspan="3">Dose (g/kg)</th><th colspan="4">PAA</th></tr>
<tr><th colspan="2">$AUC_{all}$ (hr•µg/mL)</th><th colspan="2">$C_{max}$ (µg/mL)</th></tr>
<tr><th>Day 1</th><th>Day 5</th><th>Day 1</th><th>Day 5</th></tr>
<tr><td>0.1</td><td>471.8± 206.2</td><td>454.6± 160.4</td><td>110.1±28.3</td><td>127.2± 17.9</td></tr>
<tr><td>0.3</td><td>863.6± 714.7</td><td>1765.6± 367.1</td><td>172.0±128.4</td><td>304.8± 50.2</td></tr>
<tr><td>0.5</td><td>5496.7± 2966.2</td><td>5076.8± 5228.9</td><td>372.9±97.0</td><td>482.5± 57.0</td></tr>
<tr><td>0.7</td><td>8187.8± 1962.5</td><td>12363.5± 8515.0</td><td>487.6±79.7</td><td>868.4± 228.0</td></tr>
</table>
<table>
<tr><th rowspan="3">Dose (g/kg)</th><th colspan="4">PAG</th></tr>
<tr><th colspan="2">$AUC_{all}$ (hr•µg/mL)</th><th colspan="2">$C_{max}$ (µg/mL)</th></tr>
<tr><th>Day 1</th><th>Day 5</th><th>Day 1</th><th>Day 5</th></tr>
<tr><td>0.1</td><td>42.4±17.8</td><td>23.6±8.5</td><td>7.3±3.1</td><td>6.0±2.1</td></tr>
<tr><td>0.3</td><td>39.0±26.5</td><td>57.0±13.3</td><td>6.8±3.3</td><td>9.7±2.7</td></tr>
<tr><td>0.5</td><td>167.9±53.5</td><td>234.1±267.1</td><td>11.7±4.2</td><td>19.9±4.1</td></tr>
<tr><td>0.7</td><td>249.4±67.6</td><td>565.2±362.4</td><td>15.0±5.9</td><td>29.4±6.3</td></tr>
</table>
</td><td>[redacted]Y00009 Part A Extension</td></tr>
</table>

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

表 2.6.7-34 GPB のラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** Fertility and General Reproduction Toxicity Study of HPN-100 following Oral Gavage Administration in Rats | | **Test Article**: Glycerol Phenylbutyrate (GPB) |
| **Design similar to ICH 4.1.1?** Yes | **Duration of Dosing: M:** 28 days prior to mating to sacrifice<br>**F:** 15 days prior to mating through DG 7 | **Study No.** [redacted]Y00011 |
| **Species/Strain:** Rat/Crl:CD(SD) | **Day of Mating:** DG 0 | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.1-1］ |
| **Initial Age:** 65 days | **Day of C-Section:** DG 13 | |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] (male rats) | **Method of Administration:** Oral (Gavage)<br>**Vehicle/Formulation:** Corn oil | **GLP Compliance:** Yes |

**Special Features:** Treated males were mated with both treated and untreated females. Sperm evaluation was performed.

**No Observed Adverse Effect Level:**

**$F_0$ Males:** 0.9 g/kg/day (reproductive toxicity), 0.65 g/kg/day (general toxicity)

**$F_0$ Females:** 0.9 g/kg day (reproductive toxicity), 0.65 g/kg/day (general toxicity)

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.65** | **0.9** | **1.2** |
|---|---|---|---|---|
| **Males** | | | | |
| No. Evaluated | 25 | 25 | 25 | 25 |
| No. Died or Sacrificed Moribund | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Clinical Observations: | | | | |
| Excess Salivation | 0 | 17** | 15** | 19** |
| Chromorhinorrhea | 2 | 8* | 8* | 14** |
| Low carriage | 0 | 0 | 1 | 13** |
| Decreased motor activity | 0 | 0 | 1 | 9** |
| Soft or liquid feces | 2 | 7 | 6 | 8 |
| Sparse hair coat | 1 | 5 | 6 | 6 |
| Urine-stained abdominal fur | 0 | 6 | 3 | 5 |
| Piloerection | 0 | 0 | 2 | 5** |
| Chromodacryorrhea | 1 | 0 | 1 | 3 |
| Rales | 0 | 1 | 0 | 3 |
| Ungroomed coat | 0 | 0 | 0 | 3** |
| Ataxia | 0 | 0 | 0 | 3** |

Dunnett's Test ** - p≤0.01 * - p≤0.05 Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

表 2.6.7-34 GPB のラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control Article) | 0.65 | 0.9 | 1.2 |
|---|---|---|---|---|
| **Males (continued)** | | | | |
| Necropsy Observations | - | - | - | - |
| Body Weight (%)[a] DS 91 | 592.0 ±42.1 g | ↓3.9 (569.1±44.8) | ↓8.4 (542.3±50.0**) | ↓12.1 (520.4±41.2**) |
| Body Weight Change DS 1 to 91 | 208.2±31.5 g | 185.1±37.2* | 159.5 ± 38.0** | 134.8 ± 33.7** |
| Food Consumption (%)[a] DS 1 to 91 | 26.9±1.8 g/day | ↑4.55 (28.1 ±2.5) | ↓0.8(26.7 ± 2.7) | ↓2.6 (26.2±2.3) |
| Mean No. Days Prior of Mating | 2.5 ± 1.1 | 2.6 ± 1.1 | 3.1 ± 2.6 | 2.7 ± 2.6 |
| No. of Males that Mated | 25 | 25 | 24 | 24 |
| No. of Fertile Males | 23 | 20 | 22 | 23 |
| Testis (Right) to Body Weight Ratio (%) | 0.291±0.025 | 0.307±0.030 | 0.313±0.057* | 0.329±0.026** |
| Testis (Left) to Body Weight Ratio (%) | 0.293±0.024 | 0.305±0.032 | 0.314±0.057 | 0.327±0.029** |
| Liver to Body Weight Ratio (%) | 3.464±0.202 | 3.834±0.324** | 3.824±0.265** | 4.029±0.324** |
| **Females (Treated)** | | | | |
| No. Evaluated | 25 | 25 | 25 | 25 |
| No. Died or Sacrificed Moribund | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Clinical Observations: | | | | |
| Decreased motor activity | 0 | 0 | 0 | 13** |
| Ataxia | 0 | 0 | 1 | 10** |
| Muscle rigidity | 0 | 2 | 5 | 5 |
| Low carriage | 0 | 0 | 0 | 4** |
| Urine stained abdominal fur[b] | 0 | 2 | 1 | 6** |
| Excess salivation[b] (slight) | 0 | 1 | 7** | 7** |
| Chromorhinorrhea[b] | 0 | 4** | 0 | 3** |
| Necropsy Observations | - | - | - | - |

DS=day of study, GLP=good laboratory practices, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutryate)], GPB=glycerol phenylbutyrate, SD=standard deviation
- No noteworthy findings.
[a]: For controls, group mean ± SD are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with mean ± SD in parenthesis.
[b]: Gestation period.
** p≤0.01 *p≤0.05 Dunnett's Test. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

表 2.6.7-34 GPB のラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control Article) | 0.65 | 0.9 | 1.2 |
|---|---|---|---|---|
| **Females (Treated)** | | | | |
| Premating Body Weight (%)[a] DS 15 | 281.6±26.8 g | ↓1.4 (277.7±25.1) | ↓5.7 (265.6±20.2*) | ↓6.3 (263.9±16.7*) |
| Gestation Body Weight (%)[a] DG 13 | 343.7±33.7 g | ↓1.7 (338.0±26.3) | ↓6.4 (321.6±27.0*) | ↓6.4 (321.6±23.4*) |
| Premating Food Consumption (%)[a] DS 1-15 | 20.0±2.5 g/day | ↓1.0 (19.8±2.7) | ↓8.5 (18.3±2.4*) | ↓14.5 (17.1±1.8**) |
| Gestation Food Consumption (%)[a] DG 8-13 | 26.2±3.5 g/day | ↑1.9(26.7±3.4) | ↓4.6 (25.0±3.0) | ↑0.0 (26.2±3.2) |
| Predosage Mean No. Estrous Cycles/14 days | 3.2 ± 0.8 | 3.1 ± 0.9 | 3.3 ± 0.6 | 3.0 ± 0.6 |
| Premating Mean No. Estrous Cycles/14 days | 3.2 ± 0.8 | 3.2 ± 0.8 | 3.1 ± 0.8 | 2.8 ± 0.9 |
| Mean No. Days Prior to Mating | 2.5 ± 1.1 | 2.6 ± 1.1 | 3.1 ± 2.8 | 2.8 ± 2.8 |
| No. of Females Sperm Positive | 25 | 25 | 25 | 25 |
| No. of Pregnant Females | 23 | 20 | 23 | 23 |
| Mean No. Copora Lutea | 16.7 ± 2.8 | 16.6 ± 2.3 | 15.4 ± 2.1 | 15.5 ± 2.3 |
| Mean No. Implantations | 15.5 ± 3.4 | 15.6 ± 2.0 | 14.3 ± 2.6 | 14.1 ± 3.0 |
| Mean % Preimplantation Loss | 7.9 | 5.7 | 6.8 | 9.2 |
| Mean No. Viable Embryos | 14.5 ± 3.8 | 14.0 ± 2.1 | 12.6 ± 2.5 | 11.6 ± 2.8** |
| Mean No. Nonviable Embryos | 1.0 ± 1.3 | 1.6 ± 1.2 | 1.7 ± 1.4 | 2.5 ± 1.4** |
| No. Dams with all Nonviable Embryos | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mean % Postimplantation Loss | 6.7 ± 9.8 | 9.9 ± 7.2 | 11.6 ± 9.3 | 17.4 ± 10.2** |
| Liver to Body Weight Ratio (%) | 4.680±0.288 | 5.040±0.299** | 4.903±0.323* | 5.131±0.328** |

DS=day of study, DG= Day of (presumed gestation), GPB=glycerol phenyblutryate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], HPN-100= glycerol phenylbutyrate
-: No noteworthy findings
** p≤0.01 *p≤0.05 Dunnett's Test. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[a]: For controls, group mean ± SD are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with mean ± SD in parenthesis.

表 2.6.7-34 GPB のラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

| **Females (Untreated)** | **0 (Control article)** | **0.65** | **0.9** | **1.2** |
|---|---|---|---|---|
| No. Evaluated | 25 | 24 | 24 | 25 |
| No. Died or Sacrificed Moribund | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Clinical Observations | - | - | - | - |
| Necropsy Observations | - | - | - | - |
| No. of Pregnant Females | 24 | 22 | 21 | 19 |
| No. Dams with any Nonviable Embryos | 17 | 20 | 15 | 18 |
| Mean No. Corpora Lutea | 15.8 ± 2.5 | 16.8 ± 2.3 | 15.3 ± 3.4 | 15.0 ± 1.5 |
| Mean No. Implantations | 15.3 ± 2.1 | 15.7 ± 1.5 | 14.9 ± 3.4 | 14.7 ± 1.4 |
| Mean % Preimplantation Loss | 2.5 | 5.8 | 3.6 | 2.0 |
| Mean No. Viable Embryos | 14.1 ± 2.3 | 14.2 ± 2.1 | 13.0 ± 3.2 | 12.0 ± 2.3* |
| Mean No. Nonviable Embryos | 1.2 ± 1.3 | 1.4 ± 1.0 | 1.9 ± 1.9 | 2.7 ± 1.5** |
| No. Dams with all Nonviable Embryos | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mean % Postimplantation Loss[c] | 7.6 ± 8.6 | 9.6 ± 8.4 | 12.0 ± 11.6 | 18.9 ± 11.3** |

-: No noteworthy findings, GPB=glycerol phenyblutryate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], GT4P= glyceryl tri-(4-phenylbutyrate) Dunnett's Test **- p≤0.01 *- p≤0.05 Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[c]: Percent dead or resorbed conceptuses per litter

## 2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

表 2.6.7-35 GPB のラットを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験）

| **Report Title:** Dosage-Range Developmental Toxicity Study of Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) (HPN-100) following Oral Gavage Administration in Gravid Rats | | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Design similar to ICH 4.1.3?** Yes | **Duration of Dosing:** DGs 7 through 17 | | **Study No.** [redacted]Y00007 | | |
| **Species/Strain:** Rat/Crl:CD(SD) | **Day of Mating:** DG 0 | | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.2-1］ | | |
| **Initial Age:** 65 days | **Day of C-Section:** DG 21 | | | | |
| **Date of First Dose:** [redacted]20[redacted] | **Method of Administration:** Oral (Gavage) | | **GLP Compliance:** Yes | | |
| **Special Features:** Range-Finding Study | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | | | | |
| **No Observed Adverse Event Level:** | | | | | |
| **$F_0$ Females:** <0.65 g/kg/day | **$F_1$ Litters:** <0.65 g/kg/day | | | | |
| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.65** | **0.9** | **1.2** | **1.5** |
| **Dams:** | | | | | |
| Toxicokinetics: Mean $AUC_{all}$ (hr*µg/mL) | | | | | |
| PAA (DG 7) | NA | 4824.5 | 6807.7 | 9234.8 | 15426.1 |
| PAA (DG 17) | NA | 3510.7 | 5602.7 | 5767.7 | 9219.1 |
| PAG (DG 7) | NA | 333.2 | 416.5 | 611.3 | 656.6 |
| PAG (DG 17) | NA | 547.0 | 662.9 | 848.6 | 1156.9 |
| PBA (DG 7) | NA | 684.6 | 1445.2 | 2102.8 | 5106.4 |
| PBA (DG 17) | NA | 219.2 | 364.5 | 357.9 | 598.6 |
| No. Pregnant (%) | 8 (100) | 8 (100) | 8 (100) | 7 (87.5) | 8 (100) |
| No. Died or Sacrificed Moribund | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| No. with Total Litter Resorption | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Clinical Observations: | | | | | |
| Ataxia | 0 | 4 | 8 | 8 | 8 |
| Low Carriage | 0 | 4 | 6 | 8 | 8 |
| Decreased Motor Activity | 0 | 1 | 5 | 7 | 8 |
| Muscle Rigidity | 0 | 5 | 7 | 7 | 8 |
| Splayed Forelimbs and/or Hindlimbs | 0 | 1 | 3 | 4 | 4 |

DG=Day of (presumed) gestation, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], NA=Not applicable

表 2.6.7-35 GPB のラットを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験）（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.65** | **0.9** | **1.2** | **1.5** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Dams (continued):** | | | | | |
| Clinical Observations : | | | | | |
| Cold to Touch | 0 | 0 | 4 | 4 | 3 |
| Lacrimation | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| Chromorhinorrhea | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| Impaired Righting Reflex | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Necropsy Observations | - | - | - | - | - |
| Body Weight DG 18 (%)[a] | 360.0±12.1 g | ↓2.4 (351.4±17.8) | ↓3.2 (348.5±15.6) | ↓7.1 (334.4±29.5) | ↓12.3 (315.9±27.4) |
| Body Weight Gain | | | | | |
| DG 7-10 (g) | 12.8 ± 3.5 | ↓52.3 (6.1 ± 8.6) | ↓90.6 (1.2 ± 3.5) | ↓133.6 (-4.3 ± 17.9) | ↓234.4 (-17.2 ± 20.1) |
| DG 7-18 (g) | 78.0 ± 9.2 | ↓9.1 (70.9 ± 13.6) | ↓15.3 (66.1 ± 8.4) | ↓35.0 (50.7 ± 19.8) | ↓45.9 (42.2 ± 28.3) |
| DG 18-21 (g) | 57.6 ± 8.2 | ↓1.7 (56.6±7.3) | ↑6.3 (61.2±11.4) | ↓1.7 (56.6±6.2) | ↓24.0 (43.8±21.7) |
| Feed Consumption (%)[a] DG 7-18 | 22.5 ± 1.3 g/day | ↓0.4 (22.4 ± 1.6) | ↓6.2 (21.1 ± 1.6) | ↓15.6 (19.0 ± 4.4) | ↓24 (17.1 ± 3.0) |
| Mean No. Corpora Lutea | 16.2 ± 1.3 | 15.6 ± 1.6 | 17.0 ± 1.8 | 16.7 ± 3.9 | 15.8 ± 1.7 |
| Mean No. Implantations | 15.1 ± 1.4 | 14.5 ± 1.2 | 16.6 ± 1.8 | 15.0 ± 2.2 | 15.1 ± 1.7 |
| Mean % Preimplantation Loss | 6.8 | 6.9 | 2.1 | 7.7 | 4.0 |
| Placenta normal N (%) | 8 (100) | 8 (100) | 8 (100) | 7 (100) | 7 (100) |
| Liver Weight (%)[a] | | | | | |
| Absolute | 14.43 ± 0.79 g | ↑4.9 (15.13 ± 1.16) | ↑9.9 (15.86±1.29) | ↑11.2 (16.04±2.02) | ↑12.1 (16.17±2.08) |
| Relative to Body Weight | 3.46 ± 0.18 g | ↑7.2 (3.71±0.17) | ↑11.8 (3.87±0.28) | ↑18.5 (4.10±0.33) | ↑30.1 (4.50±0.23) |

表 2.6.7-35 GPB のラットを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験）（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.65** | **0.9** | **1.2** | **1.5** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Litters:** | | | | | |
| No. Litters Evaluated | 8 | 8 | 8 | 7 | 7 |
| Mean No. Live Fetuses[b] | 14.5 ± 1.7 | 13.9 ± 1.6 | 16.2 ± 1.6 | 13.1 ± 3.5 | 11.0 ± 6.0 |
| Mean No. Resorptions | 0.6 ± 0.7 | 0.6 ± 1.1 | 0.4 ± 0.5 | 1.8 ± 2.2 | 5.4 ± 5.5 |
| No. of Litters with Dead Fetuses | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Dams with all Conceptuses Dead/ Resorbed N (%) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 1 (12.5) |
| Mean % Postimplantation Loss[c] | 4.2 ± 5.2 | 4.4 ± 7.2 | 2.1 ± 3.0 | 13.3 ± 17.9 | 30.9 ± 33.7 |
| Mean Fetal Body Weight (%)[a] | 5.30 ± 0.22 g | ↓5.3 (5.02 ± 0.2) | ↓11.9 (4.67±0.26) | ↓20.8 (4.20 ± 0.42) | ↓33.0 (3.55 ± 0.7) |
| Fetal Sex Ratios (% males) | 50.7 ± 11.2 | 48.8 ± 14.7 | 47.8 ± 9.5 | 42.8 ± 10.3 | 63.7 ± 14.0 |
| Gross External Fetal Anomalies | | | | | |
| Tail: Short | | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (28.6) |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (2.6) |

- No noteworthy findings.
[a]: For controls, group means ± SD are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with means ± SD in parenthesis.
[b]: From litters with one or more live fetuses. For the 1.5 g/kg group, the value is 9.6±6.8 when the litter with all conceptuses dead or resorbed is included.
[c]: Percent dead or resorbed conceptuses per litter

表 2.6.7-36 GPB のラットを用いた胚・胎児発生試験（本試験）

| **Report Title:** Oral (Gavage) Developmental Toxicity Study of Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) (HPN-100) in Gravid Rats | | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | |
|---|---|---|---|---|
| **Design similar to ICH 4.1.3?** Yes | **Duration of Dosing:** DGs 7 through 17 | | **Study No.** [redacted]Y00008 | |
| **Species/Strain:** Rat/Crl:CD(SD) | **Day of Mating:** DG 0 | | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.2-2］ | |
| **Initial Age:** 65 days | **Day of C-Section:** DG 21 | | | |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration:** Oral (Gavage) | | **GLP Compliance:** Yes | |
| **Special Features:** None | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | | | |
| **No Observed Adverse Event Level:** | | | | |
| **$F_0$ Females:** 0.3 g/kg/day | **$F_1$ Litters:** 0.3 g/kg/day | | | |
| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.3** | **0.65** | **0.9** |
| **Dams:** | | | | |
| Toxicokinetics: Mean $AUC_{all}$ (hr·µg/mL) | | | | |
| PAA (DG 7) | NA | 4244.03 | 5172.16 | 7192.33 |
| PAA (DG 17) | NA | 1557.83 | 4632.81 | 6336.22 |
| PAG (DG 7) | NA | 266.24 | 357.95 | 363.94 |
| PAG (DG 17) | NA | 287.74 | 570.83 | 591.47 |
| PBA (DG 7) | NA | 418.67 | 873.24 | 1197.92 |
| PBA (DG 17) | NA | 94.36 | 414.94 | 215.65 |
| No. Pregnant | 24 | 22 | 24 | 24 |
| No. Died or Sacrificed Moribund | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Clinical Observations: | | | | |
| Ataxia | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Decreased Motor Activity | 0 | 0 | 1 | 22** |
| Splayed Hindlimbs | 0 | 0 | 0 | 18** |
| Cold to Touch | 0 | 0 | 0 | 1 |

DG=Day of (presumed) gestation, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)], NA=Not applicable Dunnett's Test ** p≤0.01

表 2.6.7-36 GPB のラットを用いた胚・胎児発生試験（本試験）（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.3** | **0.65** | **0.9** |
|---|---|---|---|---|
| Necropsy Observations | - | - | - | - |
| Body Weight (%)[a] DG 18 | 358.7 ± 18.6 g | ↓0.9 (355.6±28.1) | ↓2.6(349.4±25.7) | ↓5.3 (339.8±18.0**) |
| Feed Consumption (%)[a] DG 7-18 | 25.2±1.8 g/day | ↑1.2 (25.5±2.6) | ↓0.4 (25.3±2.2) | ↓4.0 (24.2±2.1) |
| Mean No. Corpora Lutea | 16.2±2.0 | 16.3±1.5 | 16.1±3.0 | 15.2±2.5 |
| Mean No. Implantations | 15.8±1.9 | 15.3±2.9 | 14.8±4.2 | 14.7±3.0 |
| Mean % Preimplantation Loss | 2.8 | 5.8 | 8.8 | 4.9 |
| No. with All Conceptuses dead or Resorbed (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (4.2) | 0 (0.0) |
| No. with Any Resorptions (%) | 13 (54.2) | 7 (31.8) | 9 (37.5) | 12 (50.0) |
| Absolute Liver Weight (%)[a] | 14.86±1.58 g | ↑0.9 (14.99±1.46) | ↑10 (16.34±2.12**) | ↑14 (16.94±1.63**) |
| **Litters:** | | | | |
| No. Litters Evaluated | 24 | 22 | 23 | 24 |
| Mean No. Live Fetuses | 15.1±1.9 | 14.9±2.9 | 14.7±3.0 | 13.9±3.1 |
| Mean No. Resorptions | 0.6±0.6 | 0.4±0.7 | 0.6±0.9 | 0.8±1.1 |
| No. of Litters with Dead Fetuses | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Mean % Postimplantation Loss[b] | 4.0±4.2 | 2.8±4.6 | 4.5±6.6 | 5.3±6.9 |
| Mean Fetal Body Weight (%)[a] | 5.30±0.24 g | ↓1.5 (5.22±0.26) | ↓5.5 (5.01±0.25**) | ↓9.8 (4.78±0.44**) |
| Fetal Sex Ratios (% males) | 49.3±14.6 | 50.6±12.2 | 51.2±13.5 | 53.7±18.2 |
| Litters with Fetuses with any Alteration N (%) | 3 (12.5) | 8 (36.4) | 15* (65.2) | 21** (87.5) |
| Fetuses with any Alteration Observed N (%) | 3 (0.8) | 15 (4.6) | 38 (11.2) | 82** (24.6) |
| Mean % Fetuses with any Alteration/Litter (mean±SD) | 0.8±2.3 | 4.2±7.2 | 12.6±14.4** | 24.0±16.5** |

- No noteworthy findings. Dunnett's Test ** p≤0.01
DG=Day of (presumed) gestation, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)],
[a]: For controls, group means are shown. For treated groups, percent of control values are shown.
[b]: Percent dead or resorbed conceptuses per litter

表 2.6.7-36 GPB のラットを用いた胚・胎児発生試験（本試験）（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.3** | **0.65** | **0.9** |
|---|---|---|---|---|
| **Litters (Continued):** | | | | |
| Gross External Alterations | | | | |
| Tail, Short | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (4.3) | 2 (8.3) |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (0.3) | 2 (0.6) |
| Tail, Thread-like | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (8.3) |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (0.6) |
| Skeletal Alterations | | | | |
| Cervical Vertebrae: Cervical Rib Present at the 7$^{th}$ Cervical Vertebra | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 7 (31.8) | 14 (60.9)** | 20 (83.3)** |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 8 (4.7) | 27 (15.3) | 73 (42.2)** |
| Cervical Vertebrae: 6th Cervical Arch has the Appearance of the 7th | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 1 (4.2) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (8.3) |
| Fetal Incidence - N (%) | 1 (0.5) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 4 (2.3)** |
| Ribs: Thickened | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (4.3) | 4 (16.7)** |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (0.6) | 4 (2.3)** |
| Ribs: Wavy | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (8.7) | 1 (4.2) |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 4 (2.3)** | 1 (0.6) |

Dunnett’s Test ** p≤0.01

表 2.6.7-36 GPB のラットを用いた胚・胎児発生試験（本試験）（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control Article) | 0.3 | 0.65 | 0.9 |
|---|---|---|---|---|
| **Litters (Continued):** | | | | |
| Skeletal Alterations | | | | |
| Pelvis Pubis, Incompletely Ossified | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (8.3) |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 4 (2.3)** |
| Pelvis Ischium, Incompletely Ossified | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (4.2) |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 3 (1.7)** |
| Ossification Sites per Fetus per Litter | | | | |
| Vertebrae | | | | |
| Thoracic | 13.08±0.14 | 13.12±0.14 | 13.24±0.21* | 13.22±0.27* |
| Lumber | 5.92±0.14 | 5.87±0.14 | 5.76±0.21** | 5.77±0.27* |
| Caudal | 7.62±0.58 | 7.32±0.60 | 6.83±0.72** | 6.29±0.98** |
| Ribs (Pairs) | 13.04±0.08 | 13.09±0.11 | 13.18±0.17** | 13.18±0.24* |
| Forelimb | | | | |
| Metacarpals | 4.00±0.00 | 4.00±0.02 | 4.00±0.00 | 3.96±0.11* |
| Phalanges | 8.54±0.42 | 7.86±0.57** | 7.00±0.79** | 6.26±0.85** |
| Hindlimb | | | | |
| Metatarsals | 4.88±0.16 | 4.83±0.23 | 4.25±0.22** | 4.07±0.11** |
| Phalanges | 6.24±1.06 | 5.68±0.61 | 5.28±0.44** | 5.11±0.21** |

Dunnett’s Test, * p≤0.05 ** p≤0.01

表 2.6.7-37 GPB のウサギを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験）

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Report Title:** Dosage-Range Developmental Toxicity Study of Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) (HPN-100) following Oral (Stomach Tube) Administration in Rabbits | | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | |
| **Design similar to ICH 4.1.3?** Yes | **Duration of Dosing:** DGs 7 through 19 | | **Study No.** [redacted]Y00009 | |
| | **Day of Mating:** DG 0 | | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.2-3］ | |
| **Species/Strain:** Rabbit/Hra(NZW)SPF | **Day of C-Section:** DG 29 | | | |
| **Initial Age:** 5 ½ months | **Method of Administration:** Oral (Stomach Tube) | | **GLP Compliance:** Yes | |
| **Date of First Dose:** [redacted]20[redacted] | **Vehicle/Formulation:** Corn oil | | | |
| **Special Features:** This range-finding study was conducted in 3 phases. During the first 2 phases, non-pregnant animals were treated with GPB and assessed for toxicity. Data for non-pregnant animals are summarized in 2.6.7.11. Data for pregnant animals (phase 3) are below. | | | | |
| **No Observed Adverse Event Level:** | | | | |
| **$F_0$ Females:** 0.2 g/kg/day | | | | |
| **$F_1$ Litters:** 0.2 g/kg/day | | | | |
| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.2** | **0.4** | **0.6** |
| **Dams:** | | | | |
| Toxicokinetics: Mean $AUC_{all}$ (hr·μg/mL) | | | | |
| PAA (DG 7) | NA | 1623±339 | 1327±1052 | 10269±878 |
| PAA (DG 19) | NA | 1674±479 | 2995±466 | 5666±4067.9 |
| PAG (DG 7) | NA | 34.39±12.80 | 46.62±34.70 | 209.66±43.73 |
| PAG (DG 19) | NA | 44.45±13.54 | 76.81±27.72 | 222.15±96.02 |
| PBA (DG 7) | NA | 39.56±13.77 | 44.24±35.53 | 158.42±49.65 |
| PBA (DG 19) | NA | 28.81±15.55 | 64.80±26.66 | 51.95±32.00 |
| No. Pregnant | 5 | 5 | 5 | 5 |
| No. Died or Sacrificed Moribund | 0 | 0 | 1 | 5 |
| No. with Total Litter Resorption | 0 | 0 | 0 | NA |

DG=Day of (presumed) gestation, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenlbutyrate)], NA=Not applicable

表 2.6.7-37 GPB のウサギを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験）（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control Article) | 0.2 | 0.4 | 0.6 |
|---|---|---|---|---|
| **Dams (continued):** | | | | |
| Clinical Observations | | | | |
| Scant Feces | 0 | 0 | 2 | 5 |
| Ungroomed Coat | 1 | 1 | 1 | 4 |
| Dehydration Mild / Moderate | 0 | 0 | 1 | 4 |
| Soft or Liquid Feces | 1 | 0 | 1 | 3 |
| Decreased Motor Activity | 0 | 0 | 1 | 3 |
| Ataxia | 0 | 0 | 1 | 3 |
| Hyperpnea | 0 | 0 | 0 | 3 |
| No Feces in Cage Pan | 0 | 0 | 1 | 2 |
| Ptosis | 0 | 0 | 1 | 2 |
| Thin Body Condition | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Sclera: Red | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Lacrimation | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Pale Periorbital Membranes | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Perinasal Substance - Crusty Discharge | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Pale Extremities | 0 | 0 | 0 | 1 |
| White / Tan Discharge in Cage Pan | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Red and/or White Substance in Cage Pan | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Bradypnea | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Excessive Fur in Cage | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Left Ear: Scab | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Pale Mucus Membranes | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Cold to Touch | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Tachypnea | 0 | 0 | 1 | 0 |

表 2.6.7-37 GPB のウサギを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験）（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.2** | **0.4** | **0.6** |
|---|---|---|---|---|
| **Dams (continued):** | | | | |
| Necropsy Observations | | | | |
| Heart, pale | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Lungs: red or dark red lobes | 0 | 0 | 2 | 1 |
| Diaphragm, hernia | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Thoracic cavity, dark fluid | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Liver, tan areas on all lobes | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Spleen: | | | | |
| Misshapen | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Pitted areas | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Kidneys (bilateral), pale | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Gallbladder, large | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Body Weight (%)[a] | | | | |
| DG 20 | 3.80±0.13 kg | ↓5.0 (3.61 ± 0.29) | ↓7.9 (3.50 ± 0.14) | ↓23.9 (2.89[b]) |
| DG 29 | 3.97±0.14 | ↓6.3 (3.72±0.21) | ↓6.8 (3.70±0.12) | NA |
| Body Weight Change (kg) | | | | |
| DG 7-20 | 0.32±0.09 | ↓43.8 (0.18 ± 0.11) | ↓81.3 (0.06±0.03) | -0.70[b] |
| DG 7-29 | 0.50±0.12 | ↓42.0 (0.29±0.08) | ↓46.0 (0.27±0.05) | NA |
| Feed Consumption (%)[a] DG 7-20 | 154.0±16.1 g/day | ↓20.1 (123.0 ± 34.7) | ↓36.6 (97.6 ± 14.9) | ↓90.6 (14.5[b]) |
| Feed Consumption (%)[a] DG 7-29 | 142.6±15.8 g | ↓18.5 (116.2 ± 18.4) | ↓25.0 (106.9±11.4) | NA |
| Mean No. Corpora Lutea | 9.0 ± 0 | 9.6 ± 1.7 | 10.0 ± 1.8 | NA |
| Mean No. Implantations | 9.0 ± 0 | 8.6 ± 2.1 | 8.8 ± 2.1 | NA |
| Mean % Preimplantation Loss | 0.0 | 10.7 | 12.5 | NA |

HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-(4-phenlbutyrate)], NA=Not applicable
[a]: For controls, group means ± SD are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with means ± SD in parenthesis.
[b]: Standard deviation was not reported because value is for 1 animal. Excludes data for does that were found dead or euthanized early due to adverse clinical signs.

表 2.6.7-37 GPB のウサギを用いた胚・胎児発生試験（用量設定試験）（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control Article) | 0.2 | 0.4 | 0.6 |
|---|---|---|---|---|
| **Litters:** | | | | |
| No. Litters Evaluated | 5 | 5 | 4 | 0 |
| Mean No. Live Fetuses | 8.8 ± 0.4 | 8.2 ± 2.2 | 8.2 ± 2.5 | NA |
| Mean No. Resorptions | 0.2 ± 0.4 | 0.4 ± 0.5 | 0.5 ± 0.6 | NA |
| No. of Litters with Dead Fetuses | 0 | 0 | 0 | NA |
| Mean % Postimplantation Loss[c] | 2.2 ± 5.0 | 5.2 ± 7.6 | 7.0 ± 8.3 | NA |
| Mean Fetal Body Weight (%)[a] | 43.93 ± 4.26 g | ↑1.3 (44.50 ± 8.56) | ↓9.7 (39.69 ± 4.09) | NA |
| Fetal Sex Ratios (% males) | 65.6 ± 18.6 | 59.6 ± 19.8 | 34.4 ± 15.5 | NA |
| Gross External Fetal Anomalies | - | - | - | - |

- No noteworthy findings
DG=Day of (presumed) gestation, HPN-100=glycerol phenybutryrate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)]
[a]: For controls, group means ± SD are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with means ± SD in parenthesis.
[c]: Percent dead or resorbed conceptuses per litter.

表 2.6.7-38 GPB のウサギを用いた胚・胎児発生試験（本試験）

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Report Title:** Oral (Stomach Tube) Developmental Toxicity Study of Glyceryl Tri-(4- Phenylbutyrate (HPN-100) in Rabbits including a Toxicokinetic Evaluation | | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | |
| **Design similar to ICH 4.1.3?** Yes | **Duration of Dosing:** DGs 7 through 19 | | **Study No.** [redacted]Y00010 | |
| | **Day of Mating:** DG 0 | | | |
| **Species/Strain:** Rabbit/Hra(NZW)SPF | **Day of C-Section:** DG 29 | | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.2-4］ | |
| **Initial Age:** 5 ½ months | **Method of Administration:** Oral (Stomach Tube) | | | |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] | **Vehicle/Formulation:** Corn Oil | | **GLP Compliance:** Yes | |
| **Special Features:** None | | | | |
| **No Observed Adverse Event Level:** | | | | |
| **$F_0$ Females:** 0.35 g/kg/day | | | | |
| **$F_1$ Litters:** 0.35 g/kg/day | | | | |
| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.15** | **0.25** | **0.35** |
| **Dams:** | | | | |
| Toxicokinetics: Mean $AUC_{all}$ (hr·μg/mL) | | | | |
| PAA (DG 7) | NA | 864.22±280.16 | 1641.32±908.79 | 2832.28±29.86 |
| PAA (DG 19) | NA | 872.66±267.18 | 1555.84±496.60 | 2298.31±1269.59 |
| PAG (DG 7) | NA | 52.50±4.37 | 58.31±14.36 | 94.60±28.77 |
| PAG (DG 19) | NA | 48.36±2.38 | 67.64±17.57 | 78.96±24.72 |
| PBA (DG 7) | NA | 42.97±14.32 | 93.53±107.09 | 81.96±50.80 |
| PBA (DG 19) | NA | 31.52±8.54 | 62.46±19.84 | 49.44±27.22 |
| No. Pregnant | 17 | 18 | 18 | 16 |
| No. Died or Sacrificed Moribund | 0 | 0 | 0 | 1[a] |
| No. Aborted or with Total Resorption of Litter | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Clinical Observations | - | - | - | - |

- No noteworthy findings
DG=Day of (presumed) gestation, HPN-100=glycerol phenylbutryate [formerly glyceryl tri-(4-phenylbutyrate)],NA=Not applicable
[a]: Accidental death due to intubation error

表 2.6.7-38 GPB のウサギを用いた胚・胎児発生試験（本試験）（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.15** | **0.25** | **0.35** |
|---|---|---|---|---|
| **Dams:** | | | | |
| Necropsy Observations | - | - | - | - |
| Body Weight (%)[b] DG 20 | 3.39±0.22 kg | ↓1.2 (3.35±0.23) | ↓0.9 (3.42±0.22) | ↓0.9 (3.36±0.27) |
| Feed Consumption (%)[b] DG 7-20 | 172.6±10.2 g/day | ↓1.4 (170.2±23.5) | ↓0.9 (171.0±13.6) | ↓7.0 (160.5±29.1) |
| Mean No. Corpora Lutea | 8.8±1.1 | 8.1±1.2 | 9.0±1.9 | 8.3±1.6 |
| Mean No. Implantations | 8.2±1.1 | 7.2±2.2 | 8.7±2.0 | 7.9±1.3 |
| Mean % Preimplantation Loss | 6.8 | 11.9 | 3.7 | 4.1 |
| **Litters:** | | | | |
| No. Litters Evaluated | 17 | 18 | 18 | 15 |
| No. Live Fetuses | 8.0±1.2 | 7.0±2.1 | 8.3±2.0 | 7.6±1.2 |
| Mean No. Resorptions | 0.1±0.3 | 0.2±0.4 | 0.4±0.6 | 0.3±0.5 |
| No. of Litters with Dead Fetuses | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Mean % Postimplantation Loss[c] | 2.2±5.0 | 2.1±5.1 | 4.5±7.1 | 4.1±6.3 |
| Mean Fetal Body Weight (g) | 43.80±2.75 | 45.16±5.62 | 42.14±4.95 | 44.37±4.97 |
| Fetal Sex Ratios (% males) | 39.2±17.6 | 35.8±18.0 | 52.5±20.2* | 41.6±16.6 |
| Gross External Fetal Anomalies | - | - | - | - |
| Fetal Soft Tissue Alterations | - | - | - | - |
| Fetal Skeletal Alterations | - | - | - | - |

- No noteworthy findings
*Significantly different from controls; p≤0.05 DG=Day of (presumed) gestation
[b]: For controls, group means are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with mean±SD in parenthesis.
[c]: Percent dead or resorbed conceptuses per litter.

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

表 2.6.7-39 GPB のラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Report Title:** Oral (Gavage) Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Toxicity Study of Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) (HPN-100) in Rats, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation | | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) | |
| **Design similar to ICH 4.1.2?** Yes | **Duration of Dosing:** DG 7 to LD 20 or until DG 24 (for rats that did not deliver a litter) | | **Study No.** [redacted]Y00012 | |
| **Species/Strain:** Rat/Sprague-Dawley (Crl:CD(SD)) | **Day of Mating:** Day 0 | | | |
| **Initial Age:** 66 days | **Method of Administration:** Oral (Gavage) | | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.3-1］ | |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] | **Vehicle/Formulation:** Corn Oil | | | |
| **Special Features:** None | **Litters /Not Culled:** Not Culled[a] | | **GLP Compliance:** Yes | |
| **No Observed Adverse Effect Level** | | | | |
| **$F_0$ Females:** 0.3 g/kg/day for general toxicity, 0.6 g/kg/day for reproductive effects | | | | |
| **$F_1$ Males:** 0.9 g/kg/day | | | | |
| **$F_1$ Females:** 0.9 g/kg/day | | | | |
| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | **0.3** | **0.6** | **0.9** |
| **$F_0$ Females:** | | | | |
| No. Pregnant | 24 | 25 | 25 | 24 |
| No. Died or Sacrificed Moribund | 0 | 0 | 0 | 0 |
| No. Aborted or with Total Res. of Litter | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Clinical Observations | | | | |
| Ataxia | 0 | 0 | 1 | 22** |
| Decreased Motor Activity | 0 | 0 | 1 | 11** |
| Low Carriage | 0 | 0 | 1 | 5** |
| Mild Dehydration | 0 | 0 | 0 | 4** |

- No noteworthy findings. DG=day of gestation; HPN-100=glycerol phenylbutyrate {formerly glyceryl tri-(4-phenylbutryate)], LD=lactation day; PPD=postpartum day
Dunnett's Test *p<0.05 *p<0.01
[a]: F0 females were allowed to litter and raise young to weaning. At weaning, 25/sex/group were randomly selected for the F1 generation and the remaining pups were culled at that time.

表 2.6.7-39 GPB のラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | | **0 (Control Article)** | **0.3** | **0.6** | **0.9** |
|---|---|---|---|---|---|
| Necropsy Observations | | - | - | - | - |
| Gestation Body Weight DG 20[b] | | 371.1± 26.1 g | ↓1.2 (366.8±22.9) | ↓4.2 (355.4±22.4*) | ↓7.1 (344.8±18.7**) |
| Gestation Body Weight Change DG 0 to 20[b] | | 146.2±21.6 g | ↓3.1 (141.6±17.6) | ↓10.5 (130.8±17.2**) | ↓18.2 (119.6±15.3**) |
| Gestation Body Weight Change DG 7 to 20[b] | | 106±16.6 g | ↓2.3 (103.6±12.1) | ↓11.4 (93.9±14.9**) | ↓20.1 (84.7±13.8**) |
| Lactation Body Weight | | | | | |
| LD 1[b] | | 281.6±20.5 g | ↑1.6 (286.0±21.4) | ↓1.8 (276.6±17.4) | ↓4.2 (269.8±17.1*) |
| LD 4[b] | | 288.4±20.0 g | ↓0.4 (287.3±18.2) | ↓2.7 (280.6±17.6) | ↓5.5 (272.5±18.8**) |
| LD 7[b] | | 304.4±21.0 g | ↓1.4 (300.0±21.5) | ↓3.4 (294.2±17.2) | ↓4.9 (289.5±17.9*) |
| LD 21[b] | | 319.3±18.2 g | ↓0.7 (317.2±22.2) | ↑0.6 (321.1±18.3) | ↑0.3 (320.2±16.2) |
| Lactation Body Weight Change | | | | | |
| LD 1-4 | | - | - | - | - |
| LD 4-7 | | - | - | - | - |
| LD 1-21[b] | | 37.7±16.3 g | ↓17.2 (31.2±16.0) | ↑18.3 (44.6±13.1) | ↑33.7 (50.4±12.5**[c]) |
| Gestation Food Consumption DG 7 to 20[b] | | 21.9±2.3 g | ↑1.4 (22.2±2.0) | ↓4.6 (20.9±2.2) | ↓12.8 (19.1±1.9**) |
| Lactation Food Consumption LD 1 to 14[b] | | 49.8±7.2 g | ↓0.2 (49.7±5.4) | ↓2.4 (48.6±5.4) | ↓5.6 (47.0±4.2) |
| Mean Duration of Gestation (days) | | 22.6±0.5 | 22.4±0.5 | 22.8±0.4 | 23.0±0.3** |
| Abnormal Parturition | | - | - | - | - |
| **$F_1$ Litters: (Preweaning)** | | | | | |
| | No. Litters Evaluated | 24 | 25 | 25 | 24 |
| | Mean No. of Implantations | 14.7±1.7 | 14.0±1.8 | 13.7±2.1 | 14.5±1.2 |
| | Mean No. Pups/Litter | 13.7±1.9 | 13.3±1.8 | 12.7±2.6 | 13.7±1.1 |
| | Mean No. Liveborn Pups/Litter | 13.1±2.9 | 13.3±1.8** | 12.7±2.6** | 13.6±1.2** |
| | Mean No. of Litters with Stillborn Pups/Litter | 0.4±1.4 | 0.0±0.2** | 0.0±0.0** | 0.1±0.3** |

- No noteworthy findings. DG=day of gestation, LD=lactation day, PPD=postpartum day Dunnett's Test * p<0.05 ** p<0.01
[b]: For controls, group means ± SD are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with means ± SD in parenthesis.
[c]: Although statistically significant, this change was not considered related to treatment.

表 2.6.7-39 GPB のラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | | 0 (Control Article) | 0.3 | 0.6 | 0.9 |
|---|---|---|---|---|---|
| **$F_1$ Litters: (Preweaning) Continued** | | | | | |
| | No. of Surviving Pups/Litter (%)[d] | | | | |
| | PPD 4 | 12.9±2.8 (98.5) | 13.2 ±1.8 (99.2) | 12.5±2.6 (98.4) | 13.4±1.0 (98.5) |
| | PPD 21 | 12.8±2.8 (97.7) | 13.2±1.8 (99.2) | 12.5±2.6 (98.4) | 13.3±1.0 (97.8) |
| | No. of Total Litters Losses | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Pup Body Weight[b] | | | | |
| | PPD 4 | 9.5 ±1.0 g | ↓3.2 (9.2±0.7) | ↑1.1 (9.6±1.6) | ↓8.4 (8.7±1.0*) |
| | PPD 7 | 13.7±1.7 g | ↓3.6 (13.2±1.1) | ↑0.7 (13.8±2.4) | ↓10.2 (12.3±1.2**) |
| | PPD 14 | 27.1±4.1 g | ↓5.9 (25.5±1.9) | ↓3.0 (26.3±4.2) | ↓15.1 (23.0±2.0**) |
| | PPD 21 | 43.2±5.5 g | ↓6.5 (40.4±3.9) | ↓3.0 (41.9±7.4) | ↓13.9 (37.2±3.8**) |
| | Pup Sex Ratios PPD 21 (% males) | 48.2±13.7 | 49.0±12.8 | 48.5±17.5 | 47.1±10.8 |
| | Pup Clinical Signs | - | - | - | - |
| | Pup Necropsy Observations | - | - | - | - |
| **$F_1$ Males: (Postweaning)** | | | | | |
| | No. Evaluated Postweaning | 25 | 25 | 25 | 25 |
| | No. Died or Sacrificed Moribund | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | Clinical Observations | - | - | - | - |
| | Necropsy Observations | - | - | - | - |

- No noteworthy findings. DG=day of gestation, LD=lactation day, PPD=postpartum day Dunnett's Test * $p<0.05$ ** $p<0.01$
[b]: For controls, group means ± SD are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with means ± SD in parenthesis.
[d]: Percent of PPD 1 pup survival values.

表 2.6.7-39 GPB のラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | | 0 (Control Article) | 0.3 | 0.6 | 0.9 |
|---|---|---|---|---|---|
| **$F_1$ Males: (Postweaning) Continued** | | | | | |
| | Body Weight[b] | | | | |
| | PPD 22 | 46.6±5.5 g | ↓3.9 (44.8 ± 4.3) | ↑0.4 (46.8 ± 7.6) | ↓12.4 (40.8 ± 4.2**) |
| | PPD 29 | 91.5±9.7 g | ↓1.9 (89.8 ± 7.5) | ↓1.4 (90.2 ± 11.9) | ↓ 9.5 (82.8 ± 6.4**) |
| | PPD 36 | 151.0±15.4 g | ↓0.5 (150.2 ± 13.2) | ↓1.1 (149.3 ± 14.9) | ↓7.5 (139.6 ± 10.6**) |
| | PPD 43 | 214.0±21.6 g | ↑0.3 (214.6 ± 17.2) | ↓1.1 (211.7 ± 19.1) | ↓5.9 (201.4 ± 14.6*) |
| | PPD 57 | 331.4±27.2 g | ↑0.2 (332.1 ± 21.8) | ↓0.9 (328.5 ± 20.7) | ↓4.8 (315.5 ± 23.5*) |
| | Body Weight Change (PPD 22 - 92)[b] | 446.0±38.4 g | ↑0.63 (448.8±29.5) | ↑2.3 (456.4±40.1) | ↓2.1 (436.5±45.1) |
| | Food Consumption (PPD 22 - 92)[b] | 27.0±2.2 g | ↑0.7 (27.2±1.9) | ↓0.7 (26.8±1.4) | ↓2.6 (26.3±2.1) |
| | Preputial Separation | 46.8±2.5 | 46.4±2.3 | 46.6±2.3 | 46.6±2.2 |
| | Passive Avoidance Testing | - | - | - | - |
| | Watermaze Testing | - | - | - | - |
| | Mean No. Days Prior to Mating | 3.1±1.9 | 2.9±1.5 | 3.2±2.6 | 3.3±2.7 |
| | No. of Males that Mated | 22 | 25 | 22 | 23 |
| | No. of Fertile Males | 23 (95.8%) | 21 (84%) | 20 (87%) | 22 (91.7%) |
| | Testes Weight | - | - | - | - |
| | Epididymis Weight | - | - | - | - |
| **$F_1$ Females: (Postweaning)** | | | | | |
| | No. Evaluated | 25 | 25 | 25 | 25 |
| | Sacrificed Moribund | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | Delivered and Sacrificed | 1 | 0 | 1 | 1 |
| | Clinical Observations | - | - | - | - |
| | Necropsy Observations | - | - | - | - |

- No noteworthy findings. DG=day of gestation, LD=lactation day, PPD=postpartum day Dunnett's Test * $p<0.05$ ** $p<0.01$
[b]: For controls, group means ± SD are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with means ± SD in parenthesis.

表 2.6.7-39 GPB のラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

| Daily Dose (g/kg) | | 0 (Control Article) | 0.3 | 0.6 | 0.9 |
|---|---|---|---|---|---|
| **$F_1$ Females: (Postweaning)** | | | | | |
| | Premating Body Weight[b] | | | | |
| | PPD 22 to 92 | 230.9±17.7 g | ↑1.3 (233.9±23.5) | ↑7.9 (249±27.1**) | ↑2.6 (237.0±15.8) |
| | PPD 22 | 45.2 ± 5.5 g | ↓5.1 (42.9 ± 3.9) | ↑0.9 (45.6 ± 8.4) | ↓11.9 (39.8 ± 4.4**) |
| | PPD 29 | 86.0 ± 8.5 g | ↓3.6 (82.9 ± 7.0) | ↓0.9 (85.2 ± 10.5) | ↓9.0 (77.5 ± 6.5**) |
| | PPD 36 | 130.6 ± 10.1 g | ↓2.3 (127.6 ± 9.8) | ↑0.6 (131.4 ± 10.4) | ↓7.0 (121.5 ± 8.4**) |
| | PPD 43 | 166.0 ± 12.9 g | ↓2.0 (162.6 ± 13.1) | ↑2.3 (169.9 ± 12.5) | ↓5.2 (157.4 ± 9.1*) |
| | Gestation Body Weight (DG 21)[b] | 457.1±29.8 g | ↑3.1 (471.1±32.0) | ↑2.9 (470.5±40.0) | ↓1.2 (451.8±26.4) |
| | Premating Food Consumption (PPD 22 to 92)[b] | 19.8±1.8 g | 0 (19.8±1.7) | ↑3 (20.4±1.5) | ↓2 (19.4±1.3) |
| | Gestation Food Consumption (DG 0 to 21)[b] | 26.5±2.2 g | ↑4.5 (27.7±2.6) | ↑3 (27.3±2.8) | ↓1.1 (26.2±2.3) |
| | Mean Age of Vaginal Patency (days) | 32.2±1.8 | 31.4±1.7 | 31.8±2.6 | 31.4±2.2 |
| | Passive Avoidance Testing | - | - | - | - |
| | Watermaze Testing | - | - | - | - |
| | Mean No. Days Prior to Mating | 3.0±1.9 | 2.9±1.5 | 3.2±2.8 | 3.5±3.0 |
| | No. of Females Sperm Positive | 23 | 25 | 23 | 25 |
| | No. of Pregnant Females | 24 (96%) | 21 (84%) | 21 (91.3%) | 24 (96%) |
| | Mean No. Corpora Lutea | 15.9±1.7 | 16.8±2.0 | 17.4±2.2 | 15.7±3.0 |
| | Mean No. Implantations | 15.6±1.8 | 16.1±1.5 | 16.1±3.7 | 15.2±2.6 |
| | Mean % Preimplantation Loss | 2.1±5.1 | 3.6±5.8 | 7.3±19.9 | 2.7±5.8 |

- No noteworthy findings. DG=day of gestation, LD=lactation day, PPD=postpartum day Dunnett's Test * $p<0.05$ ** $p<0.01$

[b]: For controls, group means ± SD are shown. For treated groups, percent difference from control values are shown with means ± SD in parenthesis.

表 2.6.7-39 GPB のラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | | **0 (Control Article)** | **0.3** | **0.6** | **0.9** |
|---|---|---|---|---|---|
| **$F_2$ Litters:** | Mean No. Live Fetuses/Litter | 14.6±2.2 | 15.1±1.7 | 15.0±4.3 | 14.5±2.4 |
| | Mean No. Resorptions | 1.0±1.4 | 1.0±1.4 | 1.1±1.6 | 0.7±0.8 |
| | No. of Litters with Dead Conceptuses | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | No. Dead Conceptuses | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Mean % Postimplantation Loss | 6.2±9.6 | 6.0±8.1 | 9.3±14.5 | 4.3±5.1 |
| | Fetal Body Weights (g) | 5.48±0.38 | 5.36±0.36 | 5.12±0.59 | 5.28±0.30 |
| | Fetal Sex Ratios (% males) | 49.8±11.5 | 47.4±11.0 | 52.6±16.2 | 47.8±11.7 |
| | Fetal Anomalies | - | - | - | - |

- No noteworthy findings

## 2.6.7.15 新生児を用いた試験

表 2.6.7-40 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（用量設定試験）

| **Report Title:** Oral (Gavage) Repeated-Dose Range Finding Toxicity Study of Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) (HPN-100) in Neonatal Rats – Initial Study | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) |
|---|---|---|
| **Initial Study** | | |
| **Species/Strain:** Rat/Crl:CD(SD) | **Duration of Dosing:**<br>Initial Study: PND 2 through 15 | **Study No.** [redacted]U00006 |
| **Initial Age:** 2 days | **Method of Administration:** Oral (Gavage) | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.4-1］ |
| **Date of First Dose:**<br>Initial Study: [redacted] 2008 | **Vehicle/Formulation:** Corn Oil | **GLP Compliance:** Yes |
| **Special Features:** In this range finding study, an initial study was conducted with GPB doses of 0, 0.65, and 1.2 g/kg and an extension study was conducted with GPB doses of 1, 2, 4, and 6 g/kg. Data for the extension study is provided in 表 2.6.7-41. | | |

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sex: Number of Main Study Animals | **M:8** | **F:8** | **M:9[b]** | **F:8** | **M:9[b]** | **F:8** | **M:8** | **F:8** |
| Sex: Number of Toxicokinetic Animals | **M:0** | **F:0** | **M:36** | **F:36** | **M:36** | **F:36** | **M:36** | **F:36** |
| Toxicokinetics: Mean $AUC_{all}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | |
| PAA (PND 2) | NA | NA | 160.29 | 108.16 | 564.95 | 269.76 | 1333.75 | 700.61 |
| PAA (PND 15) | NA | NA | 964.17 | 497.91 | 1386.82 | 514.21 | 1366.00 | 4340.23 |
| PAG (PND 2) | NA | NA | 74.96 | 130.63 | 111.76 | 144.62 | 243.13 | 467.40 |
| PAG (PND 15) | NA | NA | 204.13 | 182.78 | 261.55 | 203.43 | 216.70 | 587.80 |
| PBA (PND 2) | NA | NA | 62.56 | 9.33 | 69.17 | 30.67 | 88.00 | 102.91 |
| PBA (PND 15) | NA | NA | 53.23 | 91.62 | 118.50 | 92.16 | 95.81 | 174.17 |
| Noteworthy Findings | | | | | | | | |
| Died or Sacrificed Moribund | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| Body Weight | 38.5 g | 37.7 g | - | - | - | - | - | - |

F=Female, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, NA=Not applicable, PND=Postnatal day
- No noteworthy findings
[a]: At end of dosing period (PND 16).
[b]: On PND 6, one male rat from the 0.65 g/kg was missing and one male rat from the 0.90 g/kg group was found dead. These rats were replaced.

表 2.6.7-40 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（用量設定試験）（続き）

**Initial Study**

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control Article)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number Evaluated** | **M:8** | **F:8** | **M:9[b]** | **F:8** | **M:9[b]** | **F:8** | **M:8[a]** | **F:8** |
| Clinical Observations | | | | | | | | |
| Decreased Motor Activity | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 | 1 |
| Cold to Touch | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 2 |
| Labored Breathing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Necropsy Observations | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Organ Weights (%)[c] | | | | | | | | |
| Liver | | | | | | | | |
| Absolute weight[c] | 1.42± 0.15 g | 1.42± 0.20 g | ↓6.34 (1.33±0.31) | ↑5.63 (1.50±0.35) | ↑11.27 (1.58±0.32) | ↑3.52 (1.47±0.41) | ↑11.97 (1.59±0.22) | ↑9.15 (1.55±0.19) |
| Relative to final body weight (%)[d] | 3.69± 0.24 g | 3.78± 0.32 g | ↑13.28 (4.18±0.42) | ↑8.47 (4.10±0.37) | ↑13.01 (4.17±0.24) | ↑11.11 (4.20±0.42) | ↑12.47 (4.15±0.28) | ↑20.63 (4.56±0.52) |
| Relative to brain weight (%)[d] | 102.4± 7.3 g | 107.8± 12.4 g | ↑3.61 (106.1±18.4) | ↑6.68 (115.0±17.4) | ↑20.51 (123.4±16.5) | ↑9.37 (117.9±25.0) | ↑15.33 (118.1±15.8) | ↑15.77 (124.8±9.6) |

F=Female, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, NA=Not applicable, PND=Postnatal day

[a]: 6 pups were evaluated at necropsy.

[b]: On PND 6, one male rat from the 0.65 g/kg was missing and one male rat from the 0.90 g/kg group was found dead. These rats were replaced.

[c]: For controls, group means are shown. For treated groups, percent of control values are shown.

[d]: Ratio (%) of liver weights to terminal body weights or brain weights.

表 2.6.7-41 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（用量設定試験：延長試験）

| **Report Title:** Oral (Gavage) Repeated-Dose Range Finding Toxicity Study of Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) (HPN-100) in Neonatal Rats - **Extension Study** | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) |
|---|---|---|
| **Extension Study** | | |
| **Species/Strain:** Rat/Crl:CD(SD) | **Duration of Dosing:** Extension:PND 2 through 34 | **Study No.** [redacted]U00006 |
| **Initial Age:** 2 days | **Method of Administration:** Oral (Gavage) | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.4-1］ |
| **Date of First Dose:**<br>Extension Study: [redacted] 20[redacted] | **Vehicle/Formulation:** Corn Oil | **GLP Compliance:** Yes |
| **Special Features:** In this portion of the range finding study, necropsy was not performed on terminally sacrificed animals. | | |

| **Daily Dose (g/kg)** | **1** | | **2** | | **4** | | **6** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number of Main Study Animals** | **M:7** | **F:7** | **M:7** | **F:7** | **M:7** | **F:7** | **M:7** | **F:8[b]** |
| Toxicokinetics: Mean $AUC_{all}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | |
| PAA (PND 34) | NA | NA | 5346.34 | 5388.53 | NA | NA | NA | NA |
| PAG (PND 34) | NA | NA | 585.60 | 603.60 | NA | NA | NA | NA |
| PBA (PND 34) | NA | NA | 242.23 | 278.00 | NA | NA | NA | NA |
| Noteworthy Findings | | | | | | | | |
| Died or Sacrificed Moribund | 1 | 0 | 1 | 3 | 7 | 7 | 7 | 8 |
| Body Weight Gains Reduced | - | - | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Feed Consumption[a] g/day | 12.9±0.6 | 11.3±0.8 | 11.6±0.9 | 12.3±0.0 | NA | NA | NA | NA |

F=Female, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, NA=Not applicable, PND=Postnatal day
-: No noteworthy findings, +: Reduced, ++: Severely reduced
[a]: Postweaning to sacrifice (PND 22 through 35).
[b]: One female pup was missing on PND 6 and was replaced.

表 2.6.7-41 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（用量設定試験：延長試験）（続き）

**Extension Study**

| **Daily Dose (g/kg)** | **1** | | **2** | | **4** | | **6** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number of Main Study Animals** | **M:7** | **F:7** | **M:7** | **F:7** | **M:7** | **F:7** | **M:7** | **F:8[b]** |
| Clinical Observations[c] | | | | | | | | |
| Dehydration (Mild / Moderate / Severe) | 1 | 1 | 2 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| Cold to Touch | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 2 |
| Gasping | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| Decreased Motor Activity | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 | 1 |
| Dyspnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Impaired Righting Reflex | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Emaciation or Thin Body | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| Lost righting Reflex | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Whole body: Twitches | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Bradypnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Apneusis | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |

F=Female, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, NA=Not applicable
[c]: The number of animals exhibiting finding

表 2.6.7-42 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（Part A）

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** Oral (Gavage) Repeated-Dose Toxicity Study of Glyceryl Tri-(4-Phenylbutyrate) (HPN- 100) in Neonatal Rats - **Part A** | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) |
| **Species/Strain:** Rat/Crl:CD(SD) | **Duration of Dosing:** Part A – PND 2 through 50 | **Study No.** [redacted]U00007 |
| **Initial Age:** 2 days | **Duration of Post Dose:** ≤1 day | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.4-2］ |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration:** Oral (Gavage) | **GLP Compliance:** Yes |

**Special Features:** This study was conducted in two parts performed in parallel. In Part A of this study, the effects of GPB administration were evaluated in neonatal rats from PND 2 – 50. Blood samples for toxicokinetic analysis were collected from 3 animals/sex in the GPB groups prior to dosing and at 1, 2, 4, 8, and 24 hours post dose on PND 50. In Part B, neonatal rats were treated from PND 2 through mating and day 20 of presumed gestation and effects were evaluated. Data for Part A are presented below. Data for Part B are presented in 表 2.6.7-43.

**No Observed Adverse Effect Level:** 0.9 g/kg/day

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number of Main Study Animals** | **M:24** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** |
| **Number of TK Animals** | **M:4** | **F:4** | **M:24** | **F:24** | **M:24** | **F:24** | **M:24** | **F:24** |
| Toxicokinetics: Mean $AUC_{all}$ (hr·µg/mL) | | | | | | | | |
| PAA (PND 50) | NA | NA | 2737.6 | 3304.1 | 3338.6 | 4911.4 | 7390.6 | 8504.3 |
| PAG (PND 50) | NA | NA | 425.3 | 455.8 | 471.5 | 558.2 | 753.2 | 767.2 |
| PBA (PND 50) | NA | NA | 231.1 | 266.7 | 235.0 | 271.4 | 267.7 | 334.6 |
| **Noteworthy Findings** | | | | | | | | |
| Died or Sacrificed Moribund[a] | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 |
| Body Weight | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Food Consumption | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Clinical Observations | - | - | - | - | - | - | - | - |

HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, NA=Not applicable, PAA=Phenylacetic acid, PBA=Phenylbutyric acid, PAG=Phenylacetylglycine
-: No noteworthy findings.
[a]: None of the early deaths were attributed to treatment with GPB.

表 2.6.7-42 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（Part A）（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number Animals** | **M:24** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** |
| Organ Weights | | | | | | | | |
| Ovaries[b] (g) | NA | 0.090± 0.016 | NA | ↓2.2 (0.088± 0.013) | NA | ↓16.7 (0.075± 0.019*) | NA | ↓23.3 (0.069± 0.014**) |
| Ovaries[c] (g/100 g terminal body weight) | NA | 0.048± 0.009 | NA | 0.050± 0.008 | NA | 0.042± 0.010 | NA | 0.039± 0.010* |
| Ovaries[c] (g/100 g brain weight) | NA | 5.0±0.9 | NA | 5.0±0.8 | NA | 4.2±1.0 | NA | 4.0±0.8** |
| Adrenals[b](g) | 0.052± 0.009 | 0.054± 0.008 | ↓15.4 (0.044± 0.006*) | 0.0 (0.054± 0.012) | ↓23.1 (0.040± 0.006**) | ↓7.4 (0.050± 0.009) | ↓23.1 (0.040± 0.010**) | ↓20.4 (0.043± 0.009*) |
| Adrenals[c] (g/100 g terminal body weight) | 0.022± 0.004 | 0.028± 0.006 | 0.018± 0.004 | 0.031± 0.008 | 0.017± 0.005* | 0.027± 0.006 | 0.016± 0.005** | 0.023± 0.006 |
| Adrenals[c] (g/100 g brain weight) | 2.7±0.5 | 3.0±0.5 | 2.4±0.3 | 3.0±0.7 | 2.2±0.3** | 2.8±0.6 | 2.2±0.5** | 2.5±0.5 |
| Hematology[b] | | | | | | | | |
| Total Leukocyte Count ($10^3$/μL) | 13.905± 1.754 | 11.308± 2.400 | ↓6.7 (12.972± 2.898) | ↓2.0 (11.082± 2.741) | ↓11.8 (12.263± 2.107) | ↓11.4 (10.021± 3.313) | ↓24.0 (10.567± 2.985*) | ↓18.9 (9.169± 1.960) |
| Neutrophils ($10^3$/μL) | 1.383± 0.529 | 1.116± 0.560 | ↓2.7 (1.346± 0.603) | ↓6.7 (1.030± 0.495) | ↓15.4 (1.170± 0.175) | ↓21.2 (0.880± 0.363) | ↓36.3 (0.881± 0.318*) | ↓31.0 (0.770± 0.189) |
| Lymphocytes ($10^3$/μL) | 11.744± 1.381 | 9.679± 2.004 | ↓6.7 (10.963± 2.302) | ↓2.2 (9.464± 2.448) | ↓11.4 10.406± 1.977) | ↓10.7 (8.643± 2.871) | ↓21.8 (9.179± 2.773*) | ↓17.8 (7.953± 1.854) |

Dunnett's test. * $p<0.05$, ** $p<0.01$

[a]: None of the early deaths were attributed to treatment with GPB.

[b]: Means ± SD are presented for control group. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

[c]: Mean ± SD shown for each group.

表 2.6.7-42 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（Part A）（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number of Animals** | **M:24** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** |
| Clinical Chemistry[b] | | | | | | | | |
| Aspartate Aminotransferase (U/L) | 75.4±8.8 | 65.8±5.1 | ↑0.8 (76.0±9.5) | ↑17.9 (77.6± 43.1) | ↑13.9 (85.9± 14.1) | ↑15.7 (76.1± 9.5*) | ↑8.4 (81.7±9.7) | ↑17.5 (77.3± 10.1*) |
| Alanine Aminotransferase (U/L) | 45.5±7.6 | 35.8±8.1 | ↓4.8 (43.3±6.9) | ↑20.9 (43.3± 22.2) | ↑14.9 (52.3± 12.2) | ↑25.4 (44.9±9.0) | ↑10.5 (50.3±9.6) | ↑21.2 (43.4± 6.3*) |
| Albumin / Globulin Ratio | 1.14±0.05 | 1.18±0.06 | ↑0.9 (1.15± 0.16) | ↑4.2 (1.23± 0.07) | ↑4.4 (1.19± 0.09) | ↑7.6 (1.27± 0.08*) | ↑9.6 (1.25± 0.13*) | ↑10.2 (1.30± 0.11*) |
| Gross Pathology | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Histopathology | | | | | | | | |
| Number Examined | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Liver | | | | | | | | |
| Periductal, mixed cellular infiltrate | | | | | | | | |
| Minimal | 0 | 0 | 3 | 4 | 3 | 8 | 2 | 5 |
| Mild | 0 | 0 | 7 | 6 | 7 | 2 | 8 | 5 |

Dunnett's Test: ** - p≤ 0.01 * - p≤ 0.05
-: No noteworthy findings.
HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, NA=Not applicable, PND=postnatal day
[b]: Means ± SD are presented for control group. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

表 2.6.7-43 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（Part B）

| | | |
|---|---|---|
| **Report Title:** Oral (Gavage) Repeated-Dose Toxicity Study of Glycerol Phenylbutyrate (GPB) in Neonatal Rats - **Part B** | | **Test Article:** Glycerol Phenylbutyrate (GPB) |
| **Species/Strain:** Rat/Crl:CD(SD) | **Duration of Dosing:** PND 2 through PND 127-129 (males); PND 2 through DG 20 (females) | **Study No.** [redacted]U00007 |
| **Initial Age:** 2 days | **Duration of Post Dose:** ≤1 day | **Location in CTD:** ［4.2.3.5.4-2］ |
| **Date of First Dose:** [redacted] 20[redacted] | **Method of Administration:** Oral (Gavage) | **GLP Compliance:** Yes |

**Special Features: Special Features:** This study was conducted in two parts performed in parallel. In Part A of this study, the effects of GPB administration were evaluated in neonatal rats from PND 2 – 50. Blood samples for toxicokinetic analysis were collected from 3 animals/sex in the GPB groups prior to dosing and at 1, 2, 4, 8, and 24 hours post dose on PND 50. In Part B, neonatal rats were treated from PND 2 through mating and day 20 of presumed gestation and effects were evaluated. Data for Part A are presented in 表 2.6.7-42. Data for Part B are presented below.

**No Observed Adverse Effect Level:** 0.65 g/kg/day for general toxicity; <0.65 g/kg/day for developmental toxicity.

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number of Main Study Animals** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** |
| Noteworthy Findings | | | | | | | | |
| Died or Sacrificed Moribund[a] | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| Clinical Observations | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Body Weight (g)[b] | | | | | | | | |
| Terminal (PND 127-129) | 572.3± 57.5 | NA | ↓3.2 (554.1± 66.2) | NA | ↓12.6 (500.2± 45.1**) | NA | ↓15.8 (481.6± 39.1**) | NA |
| DG 21 (+ gravid uterus) | NA | 458.7 ±39.6 | NA | ↓3.4 (443.0± 24.7) | NA | ↓9.9 (413.3± 37.6**) | NA | ↓13.9 (395.1± 27.3**) |
| DG 21 (- gravid uterus) | NA | 348.1 ±32.2 | NA | ↑0.5 (349.9± 21.8) | NA | ↓3.2 (336.9±29.6) | NA | ↓5.3 (329.6±27.7) |

Dunnett's test; * p<0.05, ** p<0.01. - No noteworthy findings / no treatment-related findings. HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, NA=Not applicable, PND=postnatal day, DG=day of gestation

[a]: None of the early deaths were attributed to treatment with GPB.

[b]: Mean ± SD shown for controls. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on % difference)

表 2.6.7-43 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（Part B）（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number of Main Study Animals** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** |
| Body Weight Change (g)[b] | | | | | | | | |
| PND 2-Termination (PND 127- 129) | 564.8± 57.2 | - | ↓3.2 (546.7± 65.8) | - | ↓12.7 (492.8± 44.9**) | - | ↓16.1 (474.1± 38.8**) | - |
| DG 0-21 (+ gravid uterus) | NA | 180.2± 23.3 | NA | ↓10.2 (161.8± 17.2*) | NA | ↓20.1 (144.0± 20.6**) | NA | ↓26.8 (131.9± 17.9**) |
| DG 0-21 (- gravid uterus) | NA | 69±19.9 | NA | ↓0.4 (68.7±13.0) | NA | ↓2.0 (67.6±16.8) | NA | ↓3.8 (66.4±16.2) |
| Food Consumption | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Hematology[c] | | | | | | | | |
| Platelets ($10^3/\mu L$) | 1167.2± 214.4 | 1183.8± 217.1 | 1146.8± 227.2 | 1023.8± 139.7 | 1075.0± 188.4 | 1061.2± 228.7 | 895.8± 202.9* | 936.8± 208.9* |
| Prothombin Time (sec) | 17.17± 0.37 | 15.56± 0.66 | 17.58± 0.65 | 16.03± 0.51 | 17.67± 0.94 | 16.18± 0.83 | 18.18± 0.53* | 16.76± 0.93* |
| Clinical Chemistry[c] | | | | | | | | |
| ALT | 47.2±7.4 | 41.8±6.4 | 58.7±18.1 | 45.5±5.7 | 123.3±171.9 | 55.0±17.9 | 56.6±22.7 | 43.6±7.2 |
| AST | 68.8±9.1 | 62.7±12.8 | 86.0±26.8 | 60.2±8.6 | 131.7±100.3 | 79.4±31.7 | 88.5±44.4 | 54.3±7.9 |
| Albumin/Globulin Ratio | 0.92± 0.06 | 0.93± 0.09 | 1.05± 0.05* | 0.97± 0.13 | 1.07± 0.06* | 1.03± 0.11 | 1.14± 0.08* | 1.04± 0.10 |
| Triglycerides (mg/dL) | 121.5± 34.1 | 206.2± 128.7 | 192.3± 62.0* | 431.6± 248.8 | 190.2± 76.6* | 462.9± 256.2* | 179.8± 51.6* | 521.8± 270.1* |

Dunnett's test; * $p<0.05$, ** $p<0.01$.
- No noteworthy findings / no treatment-related findings
HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, NA=Not applicable, PND=postnatal day, DG=day of gestation
[b]: Mean ± SD shown for controls. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on % difference)
[c]: Mean ± SD shown for each group.
[d]: Relative to terminal body weight or brain weight.

表 2.6.7-43 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（Part B）（続き）

| Daily Dose (g/kg) | 0 (Control) | | 0.65 | | 0.9 | | 1.2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number of Main Study Animals** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** |
| Organ Weights[c] | | | | | | | | |
| Liver[b] | | | | | | | | |
| Absolute weight | - | 16.21± 1.84 g | - | ↑22.8 (19.90± 1.83**) | - | ↑18.0 (19.13± 2.25**) | - | ↑ 19.9 (19.43± 1.84**) |
| Relative to body weight (g/100 g)[d] | 3.850± 0.283 g | 3.570± 0.202 g | ↑10.2 (4.243± 0.340**) | ↑26.9 (4.532± 0.362**) | ↑14.5 (4.410± 0.272**) | ↑31.7 (4.700± 0.263**) | ↑17.2 (4.514± 0.383**) | ↑36.6 (4.878± 0.350**) |
| Relative to brain weight (g/100 g)[d] | - | 813.1± 85.3 g | - | ↑27.5 (1037.0± 116.6**) | - | ↑23.2 (1002.1± 91.8**) | - | ↑28.2 (1042.3± 112.0**) |
| Kidney[b] | | | | | | | | |
| Absolute weight | - | 2.24± 0.16 g | - | ↑11.6 (2.50± 0.19*) | - | ↑10.7 (2.48± 0.28*) | - | ↑11.2 (2.49± 0.23*) |
| Relative to body weight (g/100 g)[d] | 0.717± 0.062 | 0.494± 0.018 | ↑7.1 (0.768± 0.048*) | ↑15.2 (0.569± 0.042**) | ↑10.5 (0.792± 0.055**) | ↑23.5 (0.610± 0.039**) | ↑11.3 (0.798± 0.053**) | ↑26.7 (0.626± 0.042**) |
| Brain[b] | | | | | | | | |
| Relative to body weight (g/100 g)[d] | 0.377± 0.045 | - | ↓1.1 (0.373± 0.032) | - | ↑5.6 (0.398± 0.042) | - | ↑10.6 (0.417± 0.035*) | - |
| Gross Pathology | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Histopathology | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Preputial Separation | - | NA | - | NA | - | NA | - | NA |
| Vaginal Patency (days postpartum)[b] | NA | 35.1±1.8 | NA | 36.6±2.3* | NA | 36.0±2.0 | NA | 37.1± 1.8** |
| Motor Activity | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Acoustic Startle Habituation | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Passive Avoidance Performance | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Water Maze Performance | - | - | - | - | - | - | - | - |

Dunnett's test; * p<0.05, ** p<0.01. - No noteworthy findings / no treatment-related findings HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, NA=Not applicable, PND=postnatal day, DG=day of gestation

[b]: Mean ± SD shown for controls. All other groups are presented as % change with mean ± SD in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on % difference)

[c]: Mean ± SD shown for each group. d Relative to terminal body weight or brain weight.

表 2.6.7-43 GPB の新生児ラットを用いた反復投与毒性試験（Part B）（続き）

| **Daily Dose (g/kg)** | **0 (Control)** | | **0.65** | | **0.9** | | **1.2** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sex: Number of Main Study Animals** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** | **M:25** | **F:25** |
| No. of Animals Mating | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Time to Mating | - | - | - | - | - | - | - | - |
| No. Pregnant | NA | 23 | NA | 18 | NA | 18 | NA | 16 |
| Litter Observations[b] | | | | | | | | |
| Litter Size | 15.0±2.2 | | 13.6±2.4 | | 12.0± 3.2** | | 11.1± 3.2** | |
| No. of Live Fetuses | 15.0±2.2 | | 13.6±2.4 | | 11.9± 3.3** | | 11.1± 3.2** | |
| Total Resorptions | 0.4±0.6 | | 1.6±1.5** | | 1.7±1.8** | | 2.2±1.6** | |
| Early Resorptions | 0.4±0.6 | | 1.6±1.5** | | 1.7±1.8** | | 1.9±1.4** | |
| Late Resorptions | 0±0 | | 0±0 | | 0± 0 | | 0.2±0.4* | |
| Postimplantation Loss (%) | 2.5±4.0 | | 10.3±9.3* | | 13.6± 14.0** | | 15.9± 11.6** | |
| Fetal Body Weights (g/litter) | 5.36±0.63 | | 4.62± 0.46** | | 4.17± 0.40** | | 3.55± 0.48** | |
| External Alterations | | | | | | | | |
| Umbilical Hernia | | | | | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | | 0 (0.0) | | 1 (5.6) | | 2 (12.5) | |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | | 0 (0.0) | | 1 (0.5) | | 2 (1.1) | |
| Tail, Thread-like | | | | | | | | |
| Litter Incidence - N (%) | 0 (0.0) | | 0 (0.0) | | 0 (0.0) | | 3 (18.8)** | |
| Fetal Incidence - N (%) | 0 (0.0) | | 0 (0.0) | | 0 (0.0) | | 4 (2.2)** | |

Dunnett's test; * $p<0.05$, ** $p<0.01$.
-: No noteworthy findings / no treatment-related findings
NA=Not applicable, HPN-100=glycerol phenylbutyrate [formerly glyceryl tri-4-phenylbutyrate)], M=Male, F=female
[b]: Mean ± SD shown for each group.

### 2.6.7.16 局所刺激性試験

該当する資料なし

## 2.6.7.17 その他の毒性試験

該当する資料なし