2.6.6　毒性試験の概要文の目次

2.6.6.1　まとめ..... 2
2.6.6.2　単回投与毒性試験..... 3
2.6.6.3　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）..... 3
2.6.6.3.1　げっ歯類の反復投与毒性試験..... 3
2.6.6.3.1.1　RasH2 野生型マウスを用いた用量設定反復投与試験..... 3
2.6.6.4　遺伝毒性試験..... 4
2.6.6.5　がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）..... 5
2.6.6.5.1　RasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間投与試験..... 5
2.6.6.6　生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）..... 6
2.6.6.7　局所刺激性試験..... 6
2.6.6.8　その他の毒性試験..... 6
2.6.6.9　考察及び結論..... 7
2.6.6.10　図表..... 8
引用文献一覧..... 8

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

ダロルタミドは、強力かつ選択的なアンドロゲン受容体シグナル伝達阻害薬であり、「遠隔転移を有しない去勢抵抗性前立腺癌」（以下 nmCRPC）の効能・効果で 2020 年 1 月に承認され、その後、「遠隔転移を有する前立腺癌」の効能・効果が 2023 年 2 月に承認されている。

本申請は、アンドロゲン受容体陽性の根治切除不能な進行・再発の唾液腺癌に対する効能・効果を追加する承認事項一部変更承認申請である。ダロルタミドはこれまで前立腺癌の効能・効果で開発を行ってきたため、女性患者も含む唾液腺癌患者への適応を想定した胚・胎児発生毒性試験は実施していない。しかしながら、本追加効能・効果において、ダロルタミドはゴセレリン酢酸塩[1)]を含む LH-RH アゴニストとの併用下でのみ投与される。ゴセレリン酢酸塩を含む LH-RH アゴニストは妊婦又は妊娠している可能性のある女性は投与禁忌と規定されており、妊婦又は妊娠している可能性のある女性へのダロルタミドの投与は想定されないこと、更に、ダロルタミド同様の抗アンドロゲン薬は妊娠動物への投与により胎児への悪影響が報告され、ダロルタミドについても妊娠動物への投与は胎児に悪影響を及ぼす可能性が否定できないことから、胚・胎児発生毒性試験の実施は不要と判断した。

一方、がん原性試験は ICH S9 ガイドライン上求められていないが、初回承認時における欧州医薬品庁（EMA）の要求に基づき RasH2 トランスジェニックマウスを用いた短期がん原性試験が実施され、当該試験成績は海外規制当局へ提出されていることから、用量設定予備試験を含めた一連の試験成績を本追加効能・効果において提出資料（添付資料）とした。追加実施された一連の毒性試験一覧を表 2.6.6.1- 1 に示す。本項（2.6.6）では、追加実施された RasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間反復強制経口投与による短期がん原性試験及びその用量設定試験の成績をまとめた。

なお、初回承認時に提出した毒性試験成績は初回承認時申請資料（以下、CTD-nmCRPC）2.4、2.6.6 及び 2.6.7 を参照のこと。

表 2.6.6.1- 1　追加実施された毒性試験一覧

Study type	Species/strain	Route of admin.	Doses (mg/kg/day)	GLP compli.	Data source & Report No.
REPEAT-DOSE TOXICITY					
7-day DRF study + TK	Mouse, 001178-W (wild type) RasH2	PO (gavage)	0 BID, 500 QD, 1000 (500 BID), 1000 QD	No	4.2.3.2.1 R-14082
4-week DRF repeat dose study + TK	Mouse, 001178-W (wild type) RasH2	PO (gavage)	0 BID, 100 (50 BID), 500 (250 BID), 1000 (500 BID), 1000 QD	Yes	4.2.3.2.2 R-14086
CARCINOGENICITY					
26-week carcinogenicity study + TK	Mouse, 001178-T (hemizygous) RasH2	PO (gavage)	0 BID, 100 (50 BID), 500 (250 BID), 1000 (500 BID)	Yes	4.2.3.4.2.1 R-14202

Admin.: administration; compli.: compliance; DRF : Dose range finding; TK : Toxicokinetics;
BID : Twice daily; QD : Once daily

RasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間反復強制経口投与による短期がん原性試験では、雌雄各群 25 例の RasH2 トランスジェニックマウスに、0、50、250 又は 500mg/kg のダロルタミドを 1 日 2 回ずつ（BID；投与間隔約 8 時間）連日 26 週間反復強制経口投与した。その結果、500mg/kg BID の最高用量までダロルタミド投与に関連した死亡、一般症状、体重及び体重増加量、摂餌量、剖検所見、器官重量への影響及び病理組織学的変化は認められず、ダロルタミド投与に関連した特定の腫瘍型及び発生率の増加は認められなかった。したがって、ダロルタミドは 500mg/kg BID（1000mg/kg/日）までがん原性を示さなかった。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

試験は実施されていない。

2.6.6.3　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.3.1　げっ歯類の反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.1　RasH2 野生型マウスを用いた用量設定反復投与試験

参照項目：4.2.3.2.1　R-14082

4.2.3.2.2　R-14086

RasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間反復強制経口投与によるがん原性試験の用量設定のために、RasH2 野生型マウスを用いた 7 日間及び 4 週間強制反復投与による 2 つの用量設定反復投与試験を実施した。

最初の 7 日間反復強制経口投与によるパイロット毒性評価及びトキシコキネティクス（TK）試験（4.2.3.2.1　R-14082）では、RasH2 野生型マウスに、ダロルタミドの高用量の 1 日 1 回又は 2 回反復強制経口投与時の忍容性及びダロルタミド、(*S,R*)-ダロルタミド（以下、SR 体）、(*S,S*)-ダロルタミド（以下、SS 体）及び血中の主要代謝物であるケト-ダロルタミド（以下、M-1）の TK を検討した。動物は 1 日 1 回投与群（QD；第 2 及び 4 群）又は 1 日 2 回投与群（BID；第 1 及び 3 群）に分け、1 回投与容量を 5mL/kg 群（第 1、2 及び 3 群）又は 10mL/kg（第 4 群）とし、溶媒には 0.5%（w/v）メチルセルロース及び 0.5%（v/v）Tween 80 含有 RO 水[a)]を用いた。第 1～4 群におけるダロルタミドの 1 日投与量は 0、500、1000（500 BID）及び 1000mg/kg（1000mg/kg QD）と設定した。各群には毒性評価用動物として雌雄各 5 例ずつに加えて TK 評価用動物雌雄各 9 例ずつを割り付けた。生存率、一般症状、体重、摂餌量、剖検所見及び器官重量に基づいて毒性を評価し、血液試料より TK を評価した。

試験成績の概略を 2.6.7.6 に示す。薬剤投与に関連した一般症状、体重及び体重増加量の変化はいずれの用量群にも認められなかった。1000mg/kg QD 投与雄動物で軽度な摂餌量の増加がみられたが、500mg/kg BID 投与雄動物には認められなかった。摂餌量の変化については、変化の程度が軽度で、1000mg/kg QD 投与雄動物及び 500mg/kg BID 投与雄動物共に動物の健康状態への影響は認められなかったことから毒性所見とは判断しなかった。また、一般症状観察にて試験 4 及び 7 日目に 500mg/kg BID 群雄 2 例に左側後肢の不使用（うち 1 例は腫脹を伴う）が観察されたことから、予後不良との判断で動物愛護の観点から切迫殺された。他の動物に同様の症状は認められず、用量相関性も認められなかったことから、薬剤投与に関連したものとは判断しなかった。したがって、本試験の無毒性量は雌雄共に 500mg/kg BID 又は 1000mg/kg QD と推定された。TK 結果として、ダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 の $AUC_{(0-24)}$ は全般的に用量比例性を下回る増加傾向を示し、最大の曝露量は 500mg/kg BID（1000mg/kg/日）で認められた。ダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 の $AUC_{(0-24)}$ は雄に比して雌でわずかに高かった。

更に、がん原性試験の用量設定試験として、RasH2 野生型マウスを用いた GLP 適用下での 4 週間反復強制経口投与毒性及び TK 試験（4.2.3.2.2　R-14086）を実施した。動物は 1 日 1 回 QD（第 5 群）又は 1 日 2 回 BID（第 1～4 群；同日 2 回の投与間隔は約 8 時間）に分け、4 週間の反復強制経口投与を行った。先の 7 日間試験同様に、ダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 の TK も検討した。ダロルタミドの用量（1 回投与量）は、0、50、250 及び 500mg/kg BID（第 1～4 群）及び

---

a）RO 水とは逆浸透膜にて塩素などの不純物をほとんど除去した精製水である。

1000mg/kg QD と設定した（1 日投与量；0、100、500、1000 及び 1000mg/kg/日）。溶媒には 0.5%（w/v）メチルセルロース及び 0.5%（v/v）Tween 80 含有 RO 水を用いた。動物は各群雌雄各 10 例の毒性評価用動物に加えて各群雌雄 6 例（対照第 1 群）、12 例（ダロルタミド投与第 2～4 群）又は 9 例（ダロルタミド投与第 5 群）の TK 評価用動物に群分けした。生存率、一般症状、体重、摂餌量、臨床病理学的検査及び解剖病理学的検査所見に基づいて毒性を評価し、血液試料より TK を評価した。

試験成績を 2.6.7.7.1 に示す。500mg/kg BID 及び 1000mg/kg QD までの投与終了時計画殺動物において、薬剤投与に関連した生存率、体重変化量、摂餌量、血液学的検査値、臨床病理学的検査値、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査所見への影響は認められなかった。なお、試験 2 日目に対照群雄 2 例（毒性及び TK 評価群各 1 例ずつ）、250mg/kg BID 群雄 3 例（毒性評価群 1 例及び TK 評価群 2 例）及び 1000mg/kg QD 群雄 1 例、試験 8 及び 10 日目に 1000mg/kg QD 群の雄及び雌各 1 例ずつの計 8 例が切迫殺されたが、ダロルタミド投与と関連したものとは判断しなかった[b)]。また、雌雄 1000mg/kg QD 群で摂餌量及び体重増加量の軽度増加がみられたが、毒性所見ではないと考えられた。血液学的検査においては、1000mg/kg QD 群の雌にヘモグロビン濃度のわずかな高値が、雌の 250mg/kg BID 以上の投与群に MCH のわずかな増加がみられたが、いずれも軽度で関連する造血組織等に病理学的異常は認められなかったことから、毒性所見とはみなさなかった。血液生化学的検査では、雄の 1000mg/kg QD 群にカリウム濃度の軽度な増加がみられたが、片性のみの影響で変化の程度は小さく、腎臓等に病理組織学的異常所見がみられなかったことから、毒性所見とは判断しなかった。器官重量では両 1000mg/kg/日群に精巣上体重量の軽度減少（前立腺重量には影響なし）、雄のすべての投与群に腎臓重量の減少及び胸腺重量の増加、雌のすべての投与群に脾臓重量の増加がみられたが、片性のみ又は絶対重量のみの変化であるか、用量に伴った変化ではなかった又は変化の程度が大きくなかったこと、並びに病理組織学的変化を伴わなかったことから、薬剤投与に関連した重量変化及び毒性所見とは判断しなかった。最高用量の 500mg/kg BID 及び 1000mg/kg QD 投与まで毒性所見は認められなかったことから、本試験の無毒性量は 500mg/kg BID 又は 1000mg/kg QD と推定された。

500mg/kg BID 群での試験 28 日目のダロルタミドの平均 C_{max} 及び平均 $AUC_{(0-24)}$ は雄で 8880ng/mL 及び 90500h･ng/mL であり、雌で 11300ng/mL 及び 146000h･ng/mL であった。1000mg/kg QD 投与群の試験 28 日目におけるダロルタミドの平均 C_{max} 及び平均 $AUC_{(0-24)}$ は雄で 11600ng/mL 及び 99500h･ng/mL であり、雌で 11400ng/mL 及び 104000h･ng/mL であった。500mg/kg BID と 1000mg/kg/日 QD の用量間では曝露量の増加が認められず、曝露の飽和に達していたことから、1 日 2 回投与による 1000mg/kg/日の用量が技術的に投与可能な最大用量であると考えられた。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

新たな試験は実施されていない。

---

b) これらの切迫殺動物では一般症状として左右いずれかの後肢の不使用が観察され、剖検で脛骨骨折がみられた。脛骨骨折は、病理組織学的に出血、好中球性炎症及び／又は筋線維の変性又は再生と関連していた。これら 8 例の切迫殺の成因としては、対照群にも観察されていること、用量相関性が認められず、薬剤投与に関連するような病理組織学的所見は観察されず、何例かの動物では投与開始前から骨折が存在した可能性が高いこと、投与期間終了時計画殺動物には同様の一般症状（片側後肢の不使用）は観察されていないことから、使用した RasH2 マウスの自然発生性の骨病変に関連した可能性が高いと解釈した。

2.6.6.5　がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.5.1　RasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間投与試験

参照項目：4.2.3.4.2.1　R-14202

ダロルタミドのがん原性を RasH2 トランスジェニック（001178-T 半接合体）マウスを用いた 26 週間反復投与試験で評価した。ダロルタミドの投与量は先の用量設定試験成績（2.6.6.3.1.1）を基に、0、50、250 及び 500mg/kg BID の投与量を第 1～4 群に設定し、8 時間±15 分の投与間隔で 1 日 2 回約 26 週間反復強制経口投与した（1 日投与量：0、100、500 及び 1000mg/kg/日）。各群雌雄 25 例を毒性評価用動物に、更に各群雌雄 8 例を TK 評価用動物に群分けした。溶媒には 0.5%（w/v）メチルセルロース及び 0.5%（v/v）Tween 80 含有 RO 水を用いた。加えて第 5 群として、雌雄各 10 例を陽性対照 N-Methyl-N-Nitrosourea（MNU）投与群に設定し、75mg/kg/日の用量を 1 回（投与初日）腹腔内投与した。生存率、一般症状、体重、摂餌量及び解剖病理学的検査所見に基づいて毒性及びがん原性を評価した。血液試料より限定的な TK、すなわちダロルタミド、SR 体、SS 体及び M-1 の最高血漿中濃度 C_{max} のみを測定した。

試験成績の詳細を 2.6.7.10.1 に示す。

ダロルタミド投与に関連した生存率、体重及び体重増加量、摂餌量、一般症状、器官重量、腫瘍発生、肉眼的及び病理組織学的検査所見への影響は認められなかった。なお、陰性対照群雄 1 例（毒性評価群；他の動物に置き換えて試験継続）及び 50mg/kg BID 群雄 1 例の計 2 例が試験 12 及び 75 日目に、一般状態不良により動物愛護の観点で各々切迫殺されたが、これらは先の用量設定試験（2.6.6.3.1.1）でみられたものと同様に薬剤投与に関連しない成因（自然発生性の片側後肢の骨病変に関連した可能性が高い）によると考えられた。また、雄のすべての投与終了後計画殺群（100、500 及び 1000mg/kg/日群）に腎臓重量（絶対／相対）の軽度な減少がみられたが、病理組織学的検査所見に重量減少に関連した変化は認められなかったこと、重量に用量相関性が認められなかったこと及び変化の程度が小さいことから、ダロルタミド投与に関連した変化ではないと考えられた（RasH2 トランスジェニックマウスにおけるバリエーション範囲内の変化である可能性が高い）。

陽性対照 MNU 投与群では予測されたように、悪性リンパ腫、組織球肉腫、血管肉腫（大腿二頭筋、皮膚又は皮下識）及び扁平上皮癌（膣、皮膚又は皮下識、前胃）などの発生又は発生率の増加が認められた。一方、ダロルタミド投与に関連した腫瘍の発生率や腫瘍型への影響は認められず、また、非腫瘍性病変の発生にもダロルタミド投与に関連した影響は認められなかった。したがって、ダロルタミドは 1000mg/kg/日（500mg/kg BID）までの用量を RasH2 トランスジェニックマウスへ約 26 週間反復強制経口投与した短期発がん性試験において、がん原性は認められなかった。1000mg/kg/日（500mg/kg BID）を反復経口投与 182 日目の C_{max} は、雄で 7490ng/mL、雌で 7620ng/mL であった。この時の雄マウスでの曝露量は、健康成人男性への 600mg/kg BID 投与時と比較して、ダロルタミドとして 0.9～1.3 倍、M-1 として 2.1～2.3 倍高かった。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

試験は実施されていない。

2.6.6.7　局所刺激性試験

新たな試験は実施されていない。

2.6.6.8　その他の毒性試験

新たな試験は実施されていない。

2.6.6.9　考察及び結論

ダロルタミドは500mg/kg BID（1000mg/kg/日）までの用量をRasH2トランスジェニックマウスへ26週間反復強制経口投与した短期がん性試験においてがん原性を示さなかった。

＜胚・胎児発生毒性試験を実施しない妥当性について＞

ダロルタミドはこれまで前立腺癌の効能・効果で開発を行ってきたため、女性患者への投与を想定した胚・胎児発生毒性試験は実施していない。しかしながら、唾液腺癌の追加効能・効果において、ダロルタミドはゴセレリン酢酸塩[1)]を含むLH-RHアゴニストとの併用下でのみ投与される。LH-RHアゴニストは妊婦又は妊娠している可能性のある女性は投与禁忌と規定されており、ダロルタミドも妊婦又は妊娠している可能性のある女性への投与は想定されないことから、胚・胎児発生毒性試験の実施は不要と判断した。

更に、ダロルタミド同様の抗アンドロゲン薬は妊娠動物への投与により胎児への悪影響（エンザルタミドではマウス胚・胎児発生毒性試験で胎児に肛門生殖突起間距離の短縮及び口蓋裂の発生が、ビカルタミドではラット試験で胎児に肛門生殖突起間距離の短縮が観察されている等）[2)]が報告されている。したがって、ダロルタミドについても妊娠動物への投与は胎児に悪影響を及ぼす可能性が否定できないため、妊婦及び妊娠している可能性のある女性への投与は推奨されない。

＜雌動物における反復投与毒性試験成績及び曝露量について＞

ラットに最大1000mg/kg/日（500mg/kg BID）を26週間まで、イヌに最大400mg/kg/日（200mg/kg BID）を39週間まで反復経口投与したところ良好な忍容性が示され、雌雄共に最高用量まで毒性所見は認められなかった。ラット26週間反復投与時及びイヌ39週間反復投与時の最高用量（無毒性量）投与時の全身曝露量〔$AUC_{(0-24)}$〕は、ラット試験ではダロルタミドとして雄及び雌それぞれ135000及び292000h･ng/mL、M-1として雄及び雌それぞれ139000及び253000h･ng/mLであり、イヌ試験ではダロルタミドとして雄及び雌それぞれ206000及び217000h･ng/mL、M-1として雄及び雌それぞれ152000及び166000h･ng/mLであった（CTD-nmCRPC 2.6.6参照）。いずれの試験においても雌動物では雄動物よりも曝露量がわずかに高かった。

ダロルタミド600mg BIDを女性に投与後の薬物動態成績は限定的であるが、健康成人女性におけるダロルタミド及びM-1の曝露は健康成人男性に比して$AUC_{(0-24)}$として1.5～1.7倍高かった（nmCRPC-CTD 2.7.4.5.1.2参照）。したがって、女性に対しても男性と同程度の安全域があり（表2.6.6.9- 1）、非臨床毒性試験結果から、危惧すべき毒性所見はないことが示唆された。

表2.6.6.9- 1　ラット及びイヌにおける長期反復投与毒性試験における無毒性量でのダロルタミド及びM-1の全身曝露量とヒトへの投与時のおおよその安全域（雌雄別）

	Darolutamide				M-1			
	Male		Female		Male		Female	
	AUC	MoE/M-vol	AUC	MoE/F-vol[a]	AUC	MoE/M-vol	AUC	MoE/F-vol[a]
Rat 26W study	135,000	2.3	292,000	3.0	139,000	1.1	253,000	1.1
Dog 39W study	206,000	3.6	217,000	2.2	152,000	1.2	166,000	0.7

AUC: $AUC_{(0-24)}$ h･ng/mL, MoE: Margine of Exposure, M-vol: Male volunteer, F-vol: Female volunteer,
a: Mean AUCs in female volunteer (97920 & 224060) are conservatively estimated as mean AUCs in male volunteer (57600 & 131800) x 1.7

2.6.6.10　図表

図表は本文中に適切に記載した。

引用文献一覧

1) ゾラデックス®3.6mg デポ；2022 年 6 月改訂（第 1 版）添付文書

2) イクスタンジカプセル 40mg／エンザルタミド、2.4.非臨床に関する概括評価（p.22）；アステラス製薬株式会社（2014）医薬品医療機器総合機構：公開申請資料概要

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表

Test Article: BAY 1841788 (darolutamide)

Overview of Toxicological Studies with BAY 1841788

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Report No.	Location in CTD
Single Dose Toxicity - NA							
Repeat Dose Toxicity							
Mouse, wild type RasH2	Oral, gavage	7 days	0[a] (Control), 500 (Low), 500/500[a] (High -1), 1000 (High -2)	No	[redacted] USA	R-14082	4.2.3.2.1
Mouse, wild type RasH2	Oral, gavage	4 weeks	0[a], 100[a], 500[a], 1000[a], 1000[b]	Yes	[redacted] USA	R-14086	4.2.3.2.2
Genotoxicity - NA							
Carcinogenicity							
Mouse, hemizygous RasH2	Oral, gavage	26 weeks (at least 26 weeks)	0[a], 100[a], 500[a], 1000[a] [positive control: 75 (single intraperitrial dosing); N-methyl-N-nitrosourea (MNU)]	Yes	[redacted] USA	R-14202	4.2.3.4.2.1
Reproductive and Development Toxicity - NA							
Local Tolerance - NA							
Other Studies - NA							

Abbreviations: NA = not applicable,
a: Animals were dosed twice daily (approximately 8 hours ± 15 minutes apart).
b: Doses were administered once daily.

2.6.7.2 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: BAY 1841788 (darolutamide)

Overview of Toxicokinetics Studies with BAY 1841788

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Report No.	Location in CTD
Repeat Dose Toxicity						
Mouse, wild type RasH2	Oral, gavage	7 days	0[a] (Control), 500 (Low), 500/500[a] (High -1), 1000 (High -2)	No	R-14082	4.2.3.2.1
Mouse, wild type RasH2	Oral, gavage	4 weeks	0[a], 100[a], 500[a], 1000[a], 1000[b]	Yes	R-14086	4.2.3.2.2
Carcinogenicity						
Mouse, hemizygous RasH2	Oral, gavage	26 weeks (at least 26 weeks)	0[a], 100[a], 500[a], 1000[a] [positive control: 75 (single intraperitoneal dosing); N-methyl-N-nitrosourea (MNU)]	Yes	R-14202	4.2.3.4.2.1

a: Animals were dosed twice daily (approximately 8 hours ± 15 minutes apart).
b: Doses were administered once daily.

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

Test Article: BAY 1841788 (darolutamide)

Overview of Toxicokinetics Data in Pivotal Studies

Daily dose	Unit	Sex	Total exposure				Report No.	Location in CTD
			C_{max}		$AUC_{(0-24)}$			
			[ng/mL]	MoE	[h· ng/mL]	MoE		
Mice								
100	[mg/kg]	M	7380	2.2	67000	1.2	R-14086	4.2.3.2.2
		F	6690	2.0	66800	1.2		
		M	4100	1.2			R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	4100	1.2				
500		M	7180	2.2	95900	1.7	R-14086	4.2.3.2.2
		F	11800	3.5	136000	2.4		
		M	5350	1.6			R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	5450	1.6				
1000[a]		M	8880	2.7	90500	1.6	R-14086	4.2.3.2.2
		F	11300	3.4	146000	2.5		
1000		M	11600	3.5	99500	1.7		
		F	11400	3.4	104000	1.8		
1000[a]		M	7490	2.2			R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	7620	2.3				
Human								
600 x 2[b]	[mg/day]	M	3330	1	57600	1		nmCRPC-CTD 5.3.3.4.1

Test Article: BAY 1896951 (S,R-darolutamide)

Overview of Toxicokinetics Data in Pivotal Studies (Continued)

Daily dose	Unit	Sex	Total exposure		Report No.	Location in CTD
			C_{max}[ng/mL]	$AUC_{(0-24)}$ [h·ng/mL]		
Mice						
100	[mg/kg]	M	6600	58000	R-14086	4.2.3.2.2
		F	5560	53700		
		M	3550		R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	3370			
500		M	6260	81800	R-14086	4.2.3.2.2
		F	9620	110000		
		M	4530		R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	4480			
1000[a]		M	7620	75400	R-14086	4.2.3.2.2
		F	9100	116000		
1000		M	10000	86300		
		F	9420	85100		
1000[a]		M	6370		R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	6340			

Test Article: BAY 1896952 (S,S-darolutamide)

Overview of Toxicokinetics Data in Pivotal Studies (Continued)

Daily dose	Unit	Sex	Total exposure		Report No.	Location in CTD
			C_{max}[ng/mL]	$AUC_{(0-24)}$ [h·ngm/L]		
Mice						
100	[mg/kg]	M	875	8710	R-14086	4.2.3.2.2
		F	1200	12900		
		M	560		R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	777			
500		M	1120	13900	R-14086	4.2.3.2.2
		F	2180	26400		
		M	846		R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	968			
1000[a]		M	1400	14800	R-14086	4.2.3.2.2
		F	2280	30200		
1000		M	1540	13400		
		F	1980	18500		
1000[a]		M	1120		R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	1270			

Test Article: BAY 1896953 (keto-darolutamide)

Overview of Toxicokinetics Data in Pivotal Studies (Continued)

Daily dose	Unit	Sex	Total exposure				Report No.	Location in CTD
			C_{max}		$AUC_{(0-24)}$			
			[ng/mL]	MoE	[h·ng/mL]	MoE		
Mice								
100	[mg/kg]	M	22300	2.8	241000	1.8	R-14086	4.2.3.2.2
		F	21700	2.7	257000	1.9		
		M	10500	1.3			R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	11600	1.5				
500		M	24800	3.1	346000	2.6	R-14086	4.2.3.2.2
		F	43700	5.5	544000	4.1		
		M	16400	2.1			R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	11600	1.5				
1000[a]		M	32500	4.1	373000	2.8	R-14086	4.2.3.2.2
		F	42300	5.3	595000	4.5		
1000		M	29500	3.7	370000	2.8		
		F	41700	5.2	414000	3.1		
1000[a]		M	26700	3.3			R-14202	4.2.3.4.2.1
		F	27900	3.5				
Human								nmCRPC-CTD
600 x 2[b]	[mg/day}	M	7980	1	131800	1		5.3.3.4.1

a: 500 mg/kg BID
b: Study result in male volunteers submitted for first indication in nmCRPC.
MoE = margins of exposure (when compared to the human plasma levels)
BAY 1841788 / ODM-201 [darolutamide = (S,R)-darolutamide + (S,S)-darolutamide]

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: BAY 1841788 (darolutamide)

Drug Substance – Characteristics of Batches used in Toxicological Pivotal Studies

				Organic Impurities				
Batch No.	**Purity**	**(*R*,*R*)-darolutamide**	**(*S*,*S*)-darolutamide**	**不純物A***	**Any unspecified**	**Total organic impurities**	**Type of Study**	**Location in CTD (Report No.)**
Proposed Specification	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]		
1992730	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Repeated dose toxicity, 4 weeks Carcinogenicity	4.2.3.2.2 (R-14086) 4.2.3.4.2.1 (R-14202)

[redacted]

-

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験

Test Article: BAY 1841788 (darolutamide)

Repeat Dose Toxicity - Non-pivotal Studies

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing, Doses	Gender (No. per Group)	NOAEL [mg/kg/day]	Noteworthy findings	Location in CTD (Report No.)
Mouse/ RasH2 (001178-W [wild type], CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic)	Oral gavage (0.5% (w/v) aqueous Methylcellulose with 0.5% (v/v) Tween 80 in reverse osmosis water)	7 days 0[a] (Control), 500 (Low), 500/500[a] (High -1), 1000 (High -2)	M/F (5/5; Toxicology, 9/9: Toxicokinetics)	1000	No treatment-related effects were observed in all group[b]. For systemic exposure (AUC), an overall trend towards a less than dose-proportional increase occurred. From 500 to 1000 mg/kg/dose QD, the increase was slightly less-than-dose proportional. The highest exposure was observed in animals administered 500 mg/kg/dose BID (1000 mg/kg/day). - 1000 mg/kg/dose, males: mean food consumption increased (as non-adverse finding)	4.2.3.2.1 (R-14082)

a: Animals in the control and High-1 groups, were dosed twice daily (approximately 8 hours ± 15 minutes apart).
b: On Day 4, one male administered 500 mg/kg BID in the toxicokinetic subgroup was sacrificed due to loss of limb movement for the left hind leg and swollen appearance. On Day 7, one toxicity male administered 500 mg/kg BID was sacrificed due to loss of limb movement for the hind left leg. Clinical observations of loss of limb movement, which resulted in unscheduled sacrifice, for these animals were not likely test item related due to the lack of similar clinical observations in surviving animals and lack of a dose response.

2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験

2.6.7.7.1 RasH2 野生型マウスにおける 4 週間反復経口投与試験

Report Title:	A 4-Week Once or Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with BAY 1841788 in 001178-W (Wild Type) RasH2 Mice
Report No.:	R-14086
Location in CTD:	4.2.3.2.2
Test Article:	BAY 1841788 (darolutamide)
Species/Strain:	Mice/ RasH2 (001178-W [wild type], CByB6F1- Tg[HRAS]2Jic)
Initial age:	10 weeks
Duration of Dosing:	4 weeks
Duration of Postdose:	-
Method of Administration:	Oral, gavage
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) aqueous Methylcellulose with 0.5% (v/v) Tween 80 in reverse osmosis water
Special features:	N/A
NOAEL	500 mg/kg BID or 1000 mg/kg QD
Study No.:	T104865-4
GLP compliance:	Yes
Date of 1st dose:	[redacted] 20[redacted]

Gender	(Control)[a] M	(Low)[a] M	(Mid)[a] M	(High BID)[a] M	(High QD)[a] M	(Control)[a] F	(Low)[a] F	(Mid)[a] F	(High BID)[a] F	(High QD)[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	1000	0	100	500	1000	1000
[mg/kg/dose]	0	50	250	500	1000	0	50	250	500	1000
Number of Animals Main Group	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Number of Animals TK Group	6	12	12	12	9	6	12	12	12	9
Toxicokinetics – Summary of Exposure in Steady State										
BAY 1841788 (darolutamide)										
Day 1; C_{max} [ng/mL]	N/C	5960	14100	17900	14400	N/C	6250	18200	25600	22900
$AUC_{(0-24)}$ [ng·h/mL]	N/C	43600	123000	140000	104000	N/C	48500	201000	230000	209000
Day 28; C_{max} [ng/mL]	N/C	7380	7180	8880	11600	N/C	6690	11800	11300	11400
$AUC_{(0-24)}$ [ng·h/mL]	N/C	67000	95900	90500	99500	N/C	66800	136000	146000	104000

4 weeks Repeated-dose study in RasH2 wild type mice **Test Article:** BAY 1841788 (darolutamide) Report No.: R-14086

Gender	(Control)[a] M	(Low)[a] M	(Mid)[a] M	(High BID)[a] M	(High QD)[a] M	(Control)[a] F	(Low)[a] F	(Mid)[a] F	(High BID)[a] F	(High QD)[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	1000	0	100	500	1000	1000
[mg/kg/dose]	0	50	250	500	1000	0	50	250	500	1000
Number of Animals Main Group	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Number of Animals TK Group	6	12	12	12	9	6	12	12	12	9
Toxicokinetics – Summary of Exposure in Steady State (Continued)										
BAY 1896951 (S,R-darolutamide)										
Day 1; C_{max} [ng/mL]	N/C	5090	13000	16200	12100	N/C	4960	15100	21100	20100
$AUC_{(0-24)}$ [ng·h/mL]	N/C	38500	110000	124000	92400	N/C	38900	168000	190000	175000
Day 28; C_{max} [ng/mL]	N/C	6600	6260	7620	10000	N/C	5560	9620	9100	9420
$AUC_{(0-24)}$ [ng·h/mL]	N/C	58000	81800	75400	86300	N/C	53700	110000	116000	85100
BAY 1896952 (S,S-darolutamide)										
Day 1; C_{max} [ng/mL]	N/C	871	1470	1750	2290	N/C	1280	3050	4440	2870
$AUC_{(0-24)}$ [ng·h/mL]	N/C	4830	12600	15200	11000	N/C	9430	32200	39300	32900
Day 28; C_{max} [ng/mL]	N/C	875	1120	1400	1540	N/C	1200	2180	2280	1980
$AUC_{(0-24)}$ [ng·h/mL]	N/C	8710	13900	14800	13400	N/C	12900	26400	30200	18500
BAY 1896953 (keto-darolutamide)[b]										
Day1; C_{max} [ng/mL]	N/C	13900	35600	51800	32600	N/C	19000	71100	62600	61100
$AUC_{(0-24)}$ [ng·h/mL]	N/C	124000	346000	395000	297000	N/C	185000	670000	766000	721000
Day 28; C_{max} [ng/mL]	N/C	22300	24800	32500	29500	N/C	21700	43700	42300	41700
$AUC_{(0-24)}$ [ng·h/mL]	N/C	241000	346000	373000	370000	N/C	257000	544000	595000	414000
Noteworthy Findings										
Died/Sacrificed Moribund[c]	2	0	3	0	2	0	0	0	0	1
Clinical Observation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BW change										
Day 1-28 (g)	0.6	1.4	1.4	1.0	3.2*	0.5	0.8	0.7	1.0	1.9*
Food Consum. (%[d])	(g/animal/day)					(g/animal/day)				
Day 1-8	4.4	-13.6	-9.1	-4.5	11.4	2.9	20.7	6.9	24.1	20.7
Day 8-15	3.6	2.8	8.3	5.6	27.8*	2.9	13.8	27.6	41.4*	27.6*
Day 15-22	4.3	-7.0	-2.3	0	20.9*	3.3	6.1	15.2	78.8	36.4
Day 22-28	3.8	-5.3	-7.9	-5.3	23.7*	2.9	6.9	20.7	58.6	69.0

4 weeks Repeated-dose study in RasH2 wild type mice (Continued) **Test Article:** BAY 1841788 (darolutamide) Report No.: R-14086

Gender	(Control)[a] M	(Low)[a] M	(Mid)[a] M	(High BID)[a] M	(High QD)[a] M	(Control)[a] F	(Low)[a] F	(Mid)[a] F	(High BID)[a] F	(High QD)[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	1000	0	100	500	1000	1000
[mg/kg/dose]	0	50	250	500	1000	0	50	250	500	1000
Number of Animals Main Group	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	e
Hemoglobin (g/dL)	15.8	16.0	15.6	15.5	15.9	14.8	14.6	15.0	15.4	15.7*
MCH (pg)	14.6	14.6	14.6	14.6	14.8	14.7	14.7	15.0*	15.0*	15.2*
Serum Chemistry	-	-	-	-	f	-	-	-	-	-
K (mmol/L)	4.2	4.6*	4.4	4.5	4.9*	4.4	4.0	4.1	3.9	4.1
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epididymis (g)	0.1105	0.1004	0.1025	0.0984*	0.0942*					
Kidney (g)	0.4326	0.3900*	0.3875*	0.3534*	0.3829*	0.2811	0.2804	0.2879	0.2970	0.2919
Thymus (g)	0.0462	0.0584*	0.0584*	0.0600*	0.0694*	0.0527	0.0581	0.0538	0.0598	0.0548
Spleen (g)	0.0720	0.0731	0.0791	0.0747	0.0782	0.0690	0.0859*	0.0855*	0.0816*	0.0826*
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: No noteworthy findings, N/C: not calculated, GLP: Good Laboratory Practice, BID: Twice daily, QD: Once daily, BW: Body weight,
Consum.: consumption, $AUC_{(0\text{-}24)}$ = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose (also known as AUC_{all})
C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration, Statistical significance: * $p < 0.05$ (ANOVA and protected t-test)
LLOQ = Lower limit of quantification, 5.00 µg/L (BAY 1896951 and BAY 1896952) or 20.0 µg/L (BAY 1896953);
Since all data in control group was below LLOQ and no mean value was calculated, all mean value was mentioned as N/C in control group.
a: Animals in the Control, Low, Mid, and High-BID groups were dosed twice daily (8 hours ± 15 minutes apart) the second daily dose was based on the dosing start time of the first daily dose for each group/sex. Animals in the High-QD group were dosed once daily.
b: Dose-normalization for the metabolite keto-darolutamide was performed with its equivalent dose based on molecular weights of metabolite and parent darolutamide usingthe following dose concentrations 99.5 497, 995, 995 mg/kg/day for the 100 (low), 500 (mid), 1000 (High-BID), and 1000 (High-QD) mg/kg/day groups, respectively.
c: On Day 2 of the dosing phase, one control toxicity male, one control toxicokinetic male, one toxicity male and two toxicokinetic males administered 250 mg/kg/dose BID, and one toxicity male administered 1000 mg/kg/dose QD were sacrificed in a moribund condition. One toxicity male and one toxicity female administered 1000 mg/kg/dose QD were sacrificed in a moribund condition on Day 8 or 10, respectively. The cause of the moribund condition for these animals was attributed to bone fractures and considered not test item related.
d: For controls, group means are shown. For treated groups, percent difference from controls is shown. Statistical significance is based on the actual data.
e: Minimally higher hemoglobin concentration was noted in two females administered 1000 mg/kg/dose QD. These changes were considered to be non-adverse because they were of small magnitude, observed in individual animals, and had no pathological correlates.
f: Minimally higher potassium concentration was noted in males administered 1000 mg/kg/dose QD. This was considered to be non-adverse because it was minimal in magnitude and observed in only one sex, and without any pathological correlates.

2.6.7.8　　In Vitro 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.9　　In Vivo 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 RasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間強制経口投与によるがん原性試験

Report Title:	26-Week Twice-Daily Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with BAY 1841788 in 001178-T (Hemizygous) RasH2 Mice		
Report No.:	R-14202		
Location in CTD:	4.2.3.4.2.1		
Test Article:	BAY 1841788 (darolutamide)		
Species/Strain:	Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (rasH2 tg/wt, model 1178)	Study No.:	T104877-7
Initial age:	8 to 9 weeks	GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing[a]:	BID 26 weeks	Date of 1st dose:	[redacted] 20[redacted]
Duration of Postdose:	-		
Method of Administration:	Oral gavage (Groups 1-4) or intraperitoneal injection (Group 5)		
Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) aqueous Methylcellulose (Methocel A4C Premium, 400 cps) with 0.5% (v/v) Tween 80 in reverse osmosis water		
Special features:	N/A		
Positive Control Item:	N-methyl-N-nitrosourea (MNU)		
Positive Control Item Vehicle:	Acidified physiological saline		

Gender	Control M	Low M	Mid M	High M	MNU[a] M	Control F	Low F	Mid F	High F	MNU[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	75	0	100	500	1000	75
[mg/kg/dose]	0	50	250	500	75	0	50	250	500	75
Number of Animals Main Group	25	25	25	25	10	25	25	25	25	10
Number of Animals TK Group	8	8	8	8	N/A	8	8	8	8	N/A
Toxicokinetics – Summary of Exposure in Steady State										
BAY 1841788 (darolutamide)										
Day 85; C_{max} [ng/mL]	N/C	6170	11100	8480	N/A	N/C	5130	9510	7540	N/A
Day182; C_{max}[ng/mL]	N/C	4100	5350	7490	N/A	N/C	4100	5450	7620	N/A

Carcinogenicity study in RasH2 Tg mice **Test Article:** BAY 1841788 (darolutamide) Report No.: R-14202

Gender	Control M	Low M	Mid M	High M	MNU[a] M	Control F	Low F	Mid F	High F	MNU[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	75	0	100	500	1000	75
Number of Animals Main Group	25	25	25	25	10	25	25	25	25	10
Number of Animals TK Group	8	8	8	8	N/A	8	8	8	8	N/A
Toxicokinetics – Summary of Exposure in Steady State (Continued)										
BAY 1896951 (S,R-darolutamide)										
Day 85; C_{max} [ng/mL]	N/C	5390	9620	7330	N/A	N/C	4280	7940	6230	N/A
Day182; C_{max} [ng/mL]	N/C	3550	4530	6370	N/A	N/C	3370	4480	6340	N/A
BAY 1896952 (S,S-darolutamide)										
Day 85; C_{max} [ng/mL]	N/C	783	1520	1150	N/A	N/C	846	1550	1300	N/A
Day182; C_{max} [ng/mL]	N/C	560	846	1120	N/A	N/C	777	968	1270	N/A
BAY 1896953 (keto-darolutamide)[b]										
Day 85; C_{max} [ng/mL]	N/C	15000	40200	24500	N/A	N/C	14200	39600	30700	N/A
Day182; C_{max} [ng/mL]	N/C	10500	16400	26700	N/A	N/C	11600	16100	27900	N/A
Noteworthy Findings										
Died/Sacrificed Moribund[c]	1	3	0	0	8	2	0	1	1	7
Survival to Terminal Sacrifice (%)	96	92	100	100	20	92	100	96	96	30
Clinical Observation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	N/A	-	-	-	-	N/A
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- Kidney		d	d	d						
Number of animals	25	22	25	25	2	23/22	25	24	24/23	3
(mean g)	0.5136	0.4351*	0.4491*	0.4144*	0.5940	0.3089	0.3025	0.3007	0.3125	0.3139
(body weight %)	1.9342	1.6124*	1.5853*	1.5694*	2.0625	1.5297	1.4939	1.5088	1.4981	1.5616
Macroscopic Observations	-	-	-	-	e	-	-	-	-	e

Carcinogenicity study in RasH2 Tg mice (continued) **Test Article:** BAY 1841788 (darolutamide) Report No.: R-14202

Gender	Control M	Low M	Mid M	High M	MNU[a] M	Control F	Low F	Mid F	High F	MNU[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	75	0	100	500	1000	75
Histopathology					f					f
Number of Animals Examined	25	25	25	25	10	25	25	25	25	10
Neoplastic and Hyperplastic Lesions										
Hematolymphoid System										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	3	25	25	25	25	6
- M-Histiocytic sarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
- M-Lymphoma	0	0	0	0	2	0	0	0	0	6
Muscle, Biceps Femoris										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	1	25	25	25	25	0
- M-Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	N/A
Nasal Turbinate										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	0	25	25	25	25	0
- M-Carcinoma	0	0	0	1	N/A	0	0	0	0	N/A
Ovary										
Number of Animals Examined						25	25	25	25	0
- M-Hemangiosarcoma						0	0	0	1	N/A
Pancreas										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	0	25	25	25	25	0
- N-Hemangiosarcoma, metastatic	0	0	0	0	N/A	1	0	0	0	N/A
Pituitary										
Number of Animals Examined	25	25	25	24	0	25	25	25	25	0
- Hyperplasia, pars distalis, focal	0	1	1	0	N/A	0	0	0	0	N/A
Preputial Gland										
Number of Animals Examined	24	25	25	25	0					
- B-Hemangioma	0	0	0	1	N/A					
Adrenal, Cortex										
Number of Animals Examined	25	25	25	24	0	25	25	25	25	0
- Hyperplasia, focal	0	1	0	0	N/A	0	0	0	0	N/A
- Hyperplasia, subcapsular cell	17	19	15	13	N/A	24	23	24	22	N/A

Carcinogenicity study in RasH2 Tg mice (continued) **Test Article:** BAY 1841788 (darolutamide) Report No.: R-14202

Gender	Control M	Low M	Mid M	High M	MNU[a] M	Control F	Low F	Mid F	High F	MNU[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	75	0	100	500	1000	75
Neoplastic and Hyperplastic Lesions (Continued)										
Bone, Other										
Number of Animals Examined	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
- M-Sarcoma	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1	N/A	N/A
Colon										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	0	25	25	25	25	0
- N-Hemangiosarcoma, metastatic	0	0	0	0	N/A	1	0	0	0	N/A
Gall Bladder										
Number of Animals Examined	25	25	24	25	0	25	25	25	25	0
- N-Hemangiosarcoma, metastatic	0	0	0	0	N/A	1	0	0	0	N/A
Harderian Gland										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	0	25	25	25	25	0
- B-Adenoma	0	0	0	1	N/A	2	0	1	0	N/A
- M-Adenocarcinoma	0	1	0	0	N/A	0	0	0	0	N/A
Liver										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	2	25	25	25	25	1
- F-Neoplasm, hematolymphoid	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1
- Focus of cellular alteration, basophilic	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
Lung										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	0	25	25	25	25	0
- B-Adenoma, bronchiolo-alveolar	1	0	1	0	N/A	0	0	0	0	N/A
- M-Carcinoma, bronchiolo-alveolar	1	3	0	0	N/A	0	0	0	1	N/A
- Hyperplasia, angiomatous	0	0	0	1	N/A	0	0	0	0	N/A
- Hyperplasia, bronchiolo-alveolar	0	0	0	0	N/A	0	0	1	0	N/A

Carcinogenicity study in RasH2 Tg mice (continued) **Test Article:** BAY 1841788 (darolutamide) Report No.: R-14202

Gender	Control M	Low M	Mid M	High M	MNU[a] M	Control F	Low F	Mid F	High F	MNU[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	75	0	100	500	1000	75
Neoplastic and Hyperplastic Lesions (Continued)										
Thymus										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	10	25	24	25	25	10
- B-Thymoma	0	0	2	0	2	0	1	0	1	0
Thyroid										
Number of Animals Examined	25	25	25	24	0	25	25	25	25	0
- Hyperplasia, C-cell	0	0	0	0	N/A	1	0	0	0	N/A
Lymph Node, Mandibular										
Number of Animals Examined	22	25	25	25	1	25	25	25	25	2
- F-Neoplasm, hematolymphoid	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
Lymph Node, Mesenteric										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	1	24	25	25	25	2
- F-Neoplasm, hematolymphoid	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
- M-Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Lymph Node, Other										
Number of Animals Examined	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
- F-Neoplasm, hematolymphoid	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1
Rectum										
Number of Animals Examined	25	24	25	25	0	25	25	25	25	0
- M-Hemangiosarcoma, metastatic	0	0	0	0	N/A	1	0	0	0	N/A
Skin/Subcutis										
Number of Animals Examined	25	25	24	25	5	25	25	25	25	5
- B-Papilloma, squamous cell	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
- F-Neoplasm, hematolymphoid	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
- M-Carcinoma, basal cell	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
- M-Carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
- M-Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
- Hyperplasia, epidermis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Kidney										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	0	25	25	25	25	0
- Hyperplasia, angiomatous, focal	0	0	0	1	N/A	0	0	0	0	N/A

Carcinogenicity study in RasH2 Tg mice (Continued) **Test Article:** BAY 1841788 (darolutamide) Report No.: R-14202

Gender	Control M	Low M	Mid M	High M	MNU[a] M	Control F	Low F	Mid F	High F	MNU[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	75	0	100	500	1000	75
Neoplastic and Hyperplastic Lesions (Continued)										
Stomach, Glandular										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	7	25	25	25	25	3
- N-Hemangiosarcoma, metastatic	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Stomach, Nonglandular										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	7	25	25	25	25	4
- B-Papilloma, squamous cell	0	0	0	0	4	0	0	1	0	3
- M-Carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1
- M-Hemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spleen										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	6	25	25	25	24	6
- B-Hemangioma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
- F-Neoplasm, hematolymphoid	0	0	0	0	2	0	0	0	0	3
- M-Hemangiosarcoma	3	0	1	2	0	1	1	2	0	0
- Hyperplasia, angiomatous	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Tongue										
Number of Animals Examined	25	25	25	25	0	25	25	25	25	1
- B-Papilloma, squamous cell	0	0	0	0	N/A	0	0	0	0	1
Uterus										
Number of Animals Examined						25	25	25	25	1
- B-Hemangioma						0	0	0	0	1
- M-Hemangiosarcoma						0	0	0	0	1
- Hyperplasia, glandular cystic						5	4	0	6	0
Vagina										
Number of Animals Examined						25	25	25	25	1
- M-Carcinoma, squamous cell						0	0	0	0	1
Vascular Neoplasms (various sites)	4	1	1	3	0	2	1	2	1	0
- M-Hemangiosarcoma	4	0	1	2	N/A	2	1	2	1	N/A
- B-Hemangioma	0	1	0	1	N/A	0	0	0	0	N/A

Carcinogenicity study in RasH2 Tg mice (continued) **Test Article:** BAY 1841788 (darolutamide) Report No.: R-14202

Gender	Control M	Low M	Mid M	High M	MNU[a] M	Control F	Low F	Mid F	High F	MNU[a] F
Dose [mg/kg/day]	0	100	500	1000	75	0	100	500	1000	75
Non-neoplastic Lesions	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- = No noteworthy findings; BID = Twice daily dose (8 hours ± 15 minutes apart); C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; GLP = Good Laboratory Practices; N/A = Not applicable, N/C = Not calculated, , Statistical analysis: * $p < 0.05$ (ANOVA and Dunnett`test)

LLOQ = Lower limit of quantification, 5.00 µg/L (BAY 1896951 and BAY 1896952) or 20.0 µg/L (BAY 1896953);

Since all data in control group was below LLOQ except for each one male and female samples in 0.5-hours postdose which were slightly above the LLOQ,of BAY 1896951 or BAY 1896952 but this sporadic contamination considered no impact on toxicokinetic data, no mean value was calculated and mentioned as N/C in control group.

a Group 5 was dosed with one intraperitoneal dose of N-methyl-N-nitrosourea (MNU) on Day 1 of the dosing phase. These animals are included as positive controls to ensure animals supplied appropriately express oncogenes and respond to carcinogenic insult.

b Dose-normalization for the metabolite BAY1896953 was performed with its equivalent dose based on molecular weights of metabolite and parent BAY 1841788.

cNo darolutamide (BAY 1841788)- related mortality occurred. All unscheduled sacrifices and deaths in animals administered the Test Item were considered unrelated to BAY 1841788 and were attributed to limited use of hind limbs or neoplasms not related to the test article. The reduced survival (2 of 10 males, 3 of 10 females) of the animals administered the positive control item was related to the occurrence of malignant neoplasms including malignant lymphoma, histiocytic sarcoma, hemangiosarcoma (biceps femoris, skin/subcutis), and squamous cell carcinoma (vagina, skin/subcutis, nonglandular stomach), which were considered the cause of death or moribund condition.

d Males administered ≥50 mg/kg/dose BID had decreased relative and absolute kidney weights. Because the kidney weight variances were small, lacked microscopic correlates and dose dependency, they were not considered BAY 1841788-related but rather a function of organ weight variability.

e Macroscopic observations noted in positive control animals often correlated with the presence of neoplasms, which included (but were not limited to) malignant lymphoma of the thymus, spleen, liver, and one or more lymph node (correlative findings included large and/or discolored); squamous cell papilloma or carcinoma of the nonglandular stomach, vagina, and skin/subcutis (correlative findings included mass, and/or raised area); and hemangiosarcoma of the uterus (correlative findings included mass).

f Microscopic findings in positive control animals indicated a clear carcinogenic response, consistent with the expected effect of MNU in the RasH2 transgenic mouse model MNU-related malignant lymphoma, histiocytic sarcoma, hemangiosarcoma (biceps femoris, skin/subcutis), and squamous cell carcinoma (vagina, skin/subcutis, nonglandular stomach) were considered the cause of death or moribund condition. The occurrence of these neoplasms validated the presence of the transgene in the study mice.

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験

該当なし

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

該当なし

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：　胚・胎児発生に関する試験

該当なし

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

該当なし

2.6.7.15　新生児を用いた試験

該当なし

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当なし

2.6.7.17　その他の毒性試験

該当なし