

15.10.2. 解析

心電図の解析は、長時間心電図解析装置（HS 1000 システム，フクダエム・イー工業株式会社）を用いて行った。心電図について、投与前（投与約 1 時間前），持続投与開始後 10，40，70 及び 180 分，持続投与終了後 2，4，8 及び 18 時間（計 9 時点）の各波の持続時間（PR，QRS，QT，RR，QTc*；連続 5 拍の平均値）を測定した。採用する心電図波形は投与開始後 10 及び 40 分については予定時刻の前後 2 分，その他の計測時点は予定時刻の前後 5 分間から，基線が安定し，かつ，同時刻を代表している部分を採用した。また，測定時点における前後 2 分間の心電図について期外収縮，房室ブロック等の不整脈の発現状況を解析した。なお，各波の持続時間の解析時点は，投与が静脈内への 3 時間持続投与であることから設定した。

$$* : QTc = QT / \sqrt{RR}$$

15.11. 血圧及び心拍数の計測

15.11.1. 送信器埋込手術

投与開始 28 日前に血圧測定用のテレメトリー用送信器（TA11PA-D70，DATA SCIENCES, INC.）の埋込手術を行った。動物は，ペントバルビタールナトリウム溶液（ソムノペンチル[®]，シェリング・プラウアニマルヘルス社）20 mg/kg の前腕橈側皮静脈内投与による麻酔下で腹部を除毛後，皮膚，腹壁の順に切開した。続いて送信器本体を腹膜と腹筋の間に埋込み，皮下を介して大腿動脈から腹大動脈内へカテーテルを挿入した。なお，感染防止のため抗生物質（結晶ペニシリン G カリウム，明治製菓株式会社）を手術日は術部及び大腿筋に，術後 3 日間は大腿筋に 1 万単位/kg/day（0.5 mL/kg）を投与した。

15.11.2. 測定時期

テレメトリーシステム（Dataquest ART, DATA SCIENCES INTERNATIONAL, INC.）を用いて，収縮期血圧（SBP），拡張期血圧（DBP）及び平均血圧（MBP*）並びに心拍数（HR）を各投与前日から投与終了後 18 時間取得した。

$$* : \text{平均血圧} ; MBP = (SBP + 2DBP) / 3$$

15.11.3. データの取得及び処理

全例について取得した血圧及び心拍数から必要なデータを採取した。それらについて，投与前（投与約 1 時間前～投与直前），持続投与開始後 0～10，30～40，60～70 及び 170

～180分、持続投与終了後1～2、3～4、7～8及び17～18時間（計9時点）の血圧、心拍数を測定した。1分毎に30秒間測定したSBP、DBP、MBP及び心拍数の平均値について、投与中は10分間、投与前及び投与終了後は60分間分をそれぞれ集計しデータとした。

血圧波形にアーチファクトがあるものは集計しなかった。また、集計に使用しない部分のデータは参考データとした。なお、測定時点は心電図解析と同様の理由により設定した。

15.11.4. 呼吸数の計測

全例について、テレメトリーシステムで計測した血圧波形を用いて呼吸数を測定した。呼吸数は、投与前（投与約1時間前）、持続投与開始後10、40、70及び180分、持続投与終了後2、4、8及び18時間（計9時点）を測定した。採用する呼吸数は、投与開始後10及び40分については予定時刻から前後2分、その他の測定時点は予定時刻から前後5分間で、その時点を代表する30秒間について計測し、1分間のデータに換算した。血圧波形の基線の変動により生じる山の数を呼吸数とした。

15.11.5. データ統計学的処理

定量データについてMicrosoft® EXCEL 2000 Windows版（Version 9）を用いて平均値と標準偏差の算出を行った。

心電図の波形計測値、心拍数及び血圧の実測値について、Microsoft Windows版SAS® 9.1.3を用いて統計解析を行った。まず、各データの経時推移について、MIXEDプロシジャを用いて経時測定型分散分析を行い、用量（DOSE）効果及び用量と投与後時間（TIME）の交互作用（DOSE×TIME）を検討した。有意水準は5%とした。その結果、いずれの項目とも経時測定型分散分析で統計学的有意差が認められなかったため、測定時点ごとにDunnnettの検定は実施しなかった。

16. 試験結果

16.1. 一般状態

一般状態の結果をTable 1に、検疫及び馴化中の一般状態の結果をAppendix1-1に示した。

A. No. 1の動物で、AcPepA低用量投与後4～5日に少量の餌こぼし、AcPepA高用量投与後1日に少量の食べ残しが観察された。

また、A. No. 2の動物で、AcPepA低用量投与日（投与前）に少量の食べ残し、投与後

1～4 及び 6 日に少量の餌こぼしが観察された。

いずれの結果も馴化中から散見されており、被験物質投与による影響ではないと判断した。

16.2. 行動観察

行動観察の結果を Table 2 に示した。

投与開始 1 時間前から投与終了後 6 時間までの行動観察の結果、いずれの用量においても投与による影響は認められなかった。

16.3. 体重

体重の推移を Table 3 に示した。

飼育期間中、全例で顕著な体重変動は認められなかった。

16.4. 長時間心電図検査

心電図各パラメータ (PR, QRS, QT, RR 及び QTc) の各群における実測値 (平均値 ± 標準誤差) を Fig. 1, Table 4-1 に、個別値を Appendix 2-1 に、統計解析の結果を Appendix 2-2 に示した。

統計解析の結果、20 及び 80 mg/kg の心電図の各パラメータについて、対照と比較して明らかな差は無く、統計学的有意差は認められなかった。

不整脈の検査結果を Table 4-2 に示した。

本被験物質に起因した不整脈は認められなかった。対照投与では、1 例 (A. No. 2) において、投与終了後 18 時間において、心室性期外収縮が 1 拍認められた。

16.5. 血圧及び心拍数

血圧 (SBP, DBP 及び MBP) 及び心拍数の各群における実測値を Fig. 2 及び Table 5 に、個別値を Appendix 3-1 に、統計解析の結果を Appendix 3-2 に示した。

統計解析の結果、20 及び 80 mg/kg の血圧及び心拍数について、対照と比較して明らかな差は無く、統計学的有意差は認められなかった。

16.6. 呼吸数

呼吸数の各群における実測値を Fig. 3 及び Table 6 に、個別値を Appendix 4-1 に、統計解析の結果を Appendix 4-2 に示した。

統計解析の結果、20 及び 80 mg/kg の呼吸数について、対照と比較して明らかな差は

無く、統計学的有意差は認められなかった。

17. 考察及び結論

対照, AcPepA の 20, 及び被験物質の溶解性 (4 mg/mL 生理食塩液) 及び臨床投与方法を考慮した最大投与量である 80 mg/kg をそれぞれサルにインフュージョン投与システムを用いて単回静脈内投与を行い, 心血管系, 呼吸数及び行動に及ぼす影響を検討した。

その結果, 心電図パラメータ (PR, QRS, QT, RR 及び QTc), 血圧 (SBP, DBP 及び MBP), 心拍数, 呼吸数及び行動観察のいずれも AcPepA 投与による影響は認められなかった。

以上より, AcPepA 80mg/kg 以下の用量では, 心血管系, 呼吸器系及び行動に及ぼす影響はないものと判断された。

18. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

18.1. 血圧, 心拍数, 呼吸数及び心電図のデータ取得時間の逸脱

第 1 回目の投与において, 投与終了後 18 時間のデータ取得中に飼育室管理作業を行ったため, 試験計画書から逸脱して, 予定の計測時点より約 1 時間早い投与終了後 17 時間の計測データを採用した。第 1 回目の投与は媒体 (生理食塩液) であり, 投与終了後 18 時間であったことから 1 時間の計測時間の差は, 試験の評価に影響を及ぼさないと判断した。

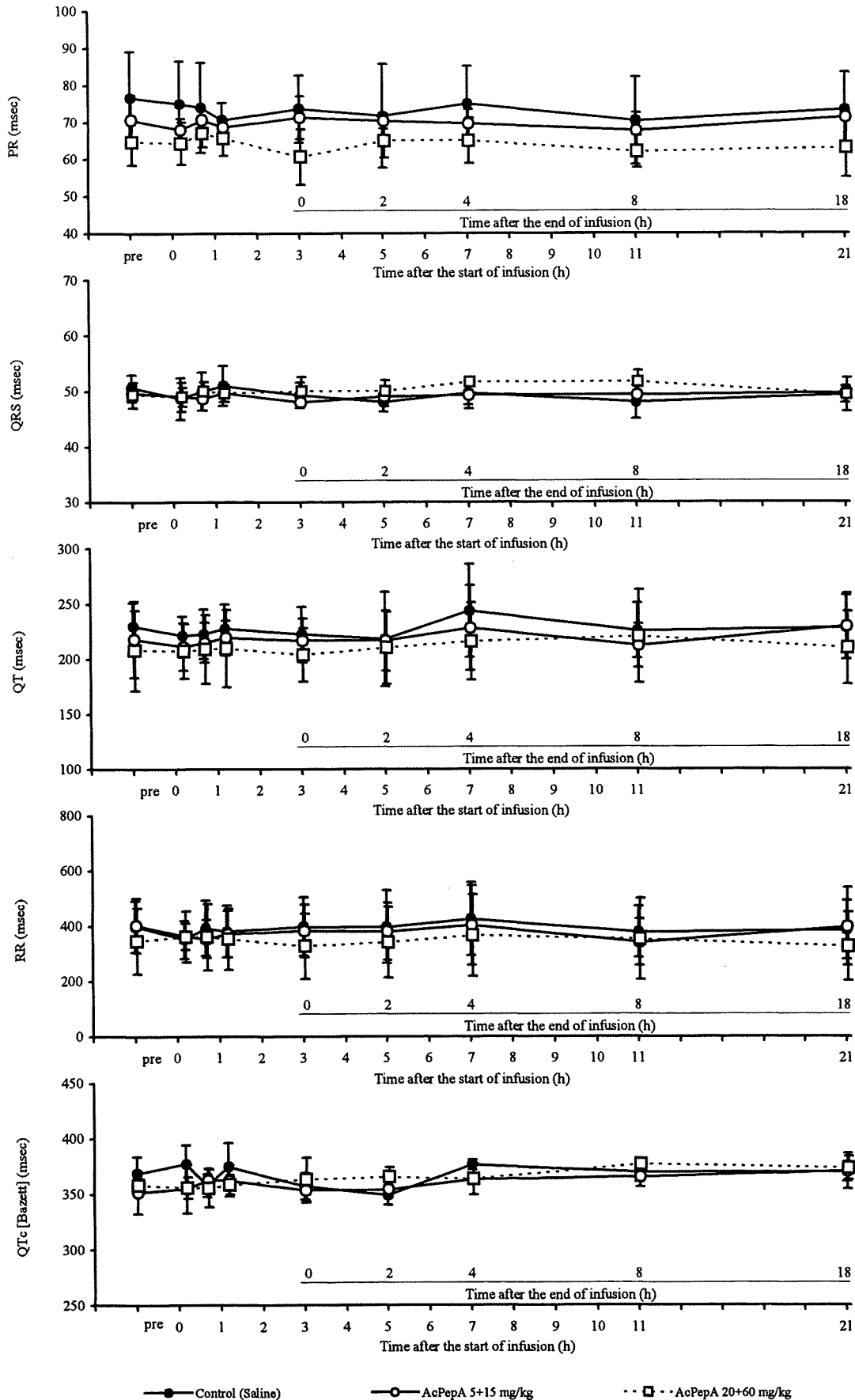


Fig 1 Electrocardiography in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA
 Data are the mean \pm standard deviations of 3 animals.
 No significant difference was found among each group.

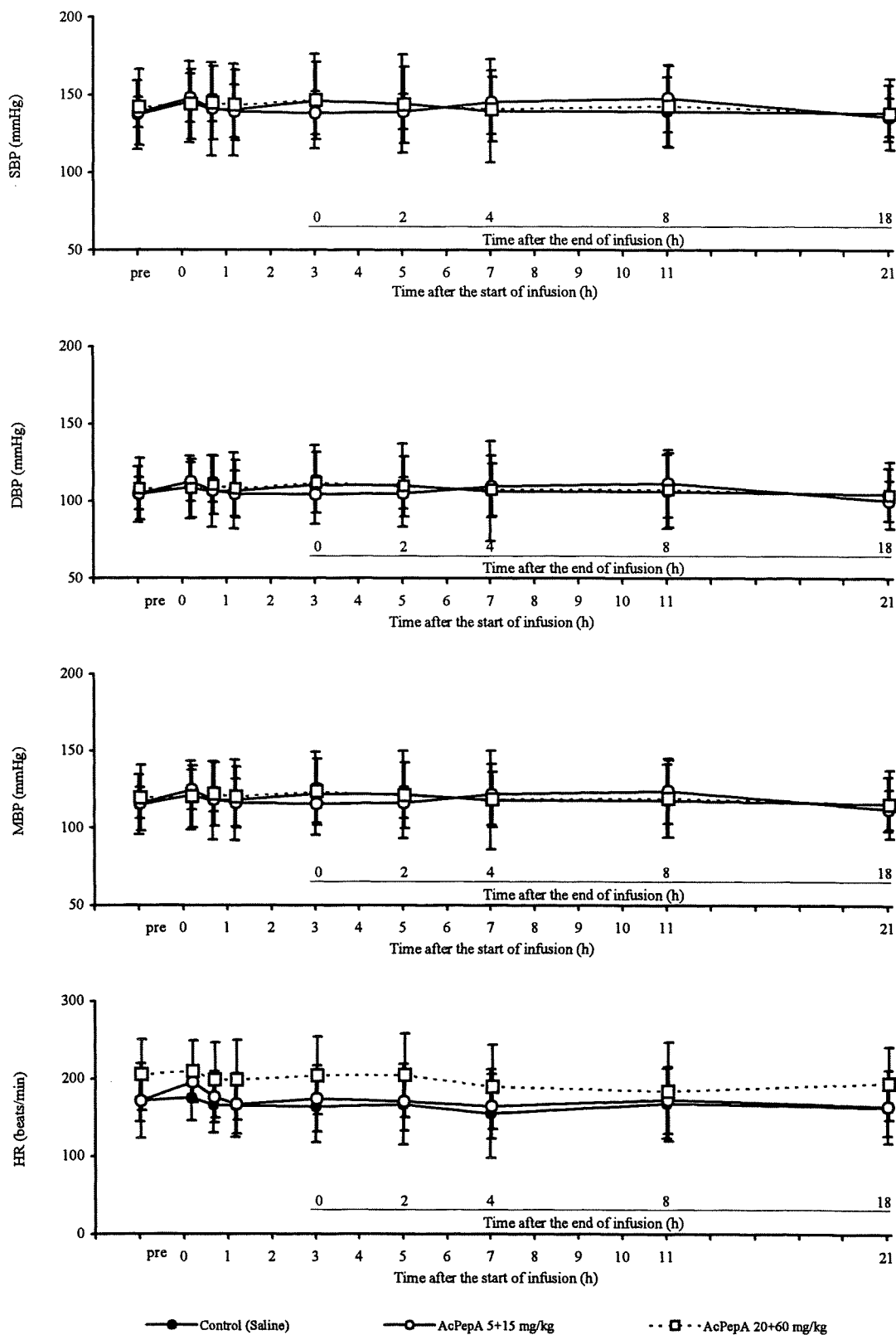


Fig 2 Blood pressure and heart rate in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA
 Data are the mean \pm standard deviations of 3 animals.
 No significant difference was found among each group.

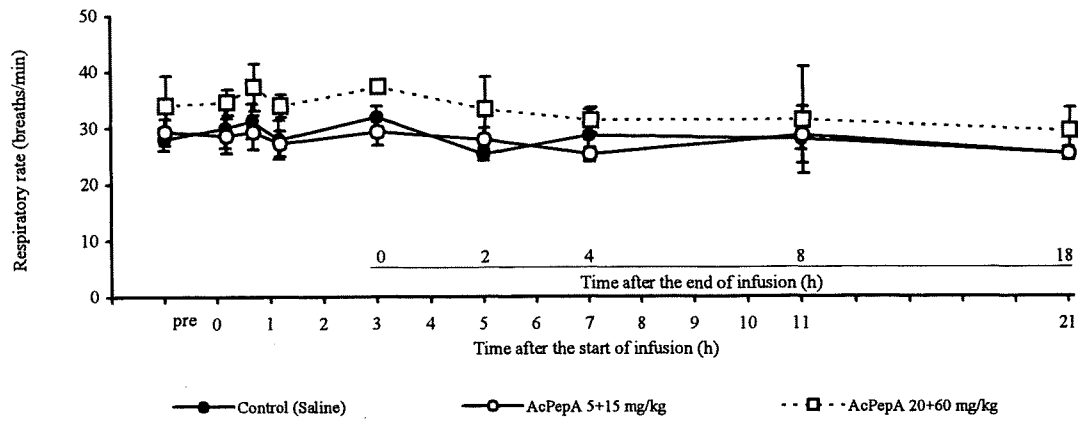


Fig 3 Respiratory rate in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA
 Data are the mean \pm standard deviations of 3 animals.
 No significant difference was found among each group.

Table 1 Clinical signs in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA

Test substance	Dose (mg/kg)		Animal No.	Time after dosing (day)							
	rapid (2min)	infusion (3h)		-1	0	1	2	3	4	5	6
Control (Saline)	0	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	-	-	-	-	-	-	-	-
			3	-	-	-	-	-	-	-	-
AcPepA	5	15	1		-	-	-	-	Fs+	Fs+	-
			2		Rf+	Fs+	Fs+	Fs+	Fs+	-	Fs+
			3		-	-	-	-	-	-	-
	20	60	1		-	Rf+					
			2		-	-					
			3		-	-					

-: No abnormalities, Rf: Residual feed, Fs: Feed spilling.

+: Small amount.

Table 2 Post-dose behavior in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA

Test substance	Dose (mg/kg)		Animal No.	Behavior
	rapid (2min)	infusion (3h)		
Control (Saline)	0	0	1	N
			2	N
			3	N
AcPepA	5	15	1	N
			2	N
			3	N
	20	60	1	N
			2	N
			3	N

N: No abnormalities.

Behaviors were observed by recorded DVD footage from 1 hour before dosing until 6 hours after end of infusion dosing.

Table 3 Body weights on the day of dosing in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA

Animal No.	Control (Saline)	AcPepA 5+15 mg/kg	AcPepA 20+60 mg/kg
1	3.15	3.09	3.26
2	2.92	2.89	2.94
3	3.17	3.14	3.25

Unit: kg.

Table 4-1 Electrocardiography in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA

Parameter	Test substance	Dose (mg/kg)		No. of animals		Time after the start of infusion (min)					Time after the end of infusion (h)				Dose [#] p value	Dose [#] Time p value
		rapid (2min)	infusion (3h)			pre	10	40	70	180	2	4	8	18		
PR (msec)	Control (Saline)	0	0	3	Mean	77	75	74	71	74	72	75	70	73	0.3942	0.7405
					SD	13	12	12	5	9	14	10	12	10		
	AcPepA	5	15	3	Mean	71	68	71	69	71	70	70	68	71		
					SD	7	3	1	2	6	2	4	5	1		
		20	60	3	Mean	65	64	67	66	61	65	65	62	63		
					SD	6	6	4	5	8	5	6	4	8		
QRS (msec)	Control (Saline)	0	0	3	Mean	51	49	50	51	49	48	50	48	49	0.3763	0.6608
					SD	2	4	3	4	2	2	2	3	2		
	AcPepA	5	15	3	Mean	50	49	49	50	48	49	49	49	50		
					SD	2	3	2	2	0	2	3	1	1		
		20	60	3	Mean	49	49	50	50	50	50	52	52	49		
					SD	2	2	2	2	3	2	1	2	3		
QT (msec)	Control (Saline)	0	0	3	Mean	230	221	223	228	223	218	244	226	228	0.5482	0.5843
					SD	21	17	22	22	25	43	42	25	29		
	AcPepA	5	15	3	Mean	218	211	215	219	217	217	228	212	230		
					SD	35	21	18	16	20	27	39	20	30		
		20	60	3	Mean	208	207	209	210	204	210	216	220	210		
					SD	36	25	31	35	24	33	35	42	33		
RR (msec)	Control (Saline)	0	0	3	Mean	399	352	393	381	399	396	426	378	386	0.5903	0.7483
					SD	93	69	100	93	105	131	132	92	106		
	AcPepA	5	15	3	Mean	403	363	354	372	383	380	403	341	397		
					SD	98	47	69	84	96	103	144	84	140		
		20	60	3	Mean	347	361	360	353	327	341	366	352	325		
					SD	119	93	119	111	118	128	148	147	124		
QTc [Bazett]	Control (Saline)	0	0	3	Mean	369	377	358	375	357	349	377	370	370	0.3773	0.1756
					SD	15	17	10	21	12	9	5	9	9		
	AcPepA	5	15	3	Mean	352	355	363	362	354	354	363	366	371		
					SD	19	22	11	14	11	7	2	9	16		
		20	60	3	Mean	358	356	356	359	363	365	364	377	373		
					SD	6	10	17	9	20	9	14	5	11		

Values are the mean and standard deviations of 3 animals.

[#] Statistical analyses of time-sequential analysis of variance using the SAS[®] MIXED procedure are shown. No significant difference was found.

Table 4-2 Cardiac arrhythmias in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA

Test substance	Dose (mg/kg)		Animal No.	Time after the start of infusion (min)					Time after the end of infusion (h)			
	rapid (2min)	infusion (3h)		pre	10	40	70	180	2	4	8	18
Control (Saline)	0	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	-	-	-	-	-	-	-	-	PVC 1 beat
			3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AcPepA	5	15	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	60	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Data are expressed as the cardiac arrhythmias observed for front and back 2 minutes of the measurement point.
 -: No noteworthy appearance of arrhythmia, PVC: Premature ventricular contraction.

Table 5 Blood pressure and heart rate in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA

Parameter	Test substance	Dose (mg/kg)		No. of animals		Time after the start of infusion (min)					Time after the end of infusion (h)				Dose [#] <i>p</i> value	Dose× [#] Time <i>p</i> value	
		rapid (2min)	infusion (3h)			pre	10	40	70	180	2	4	8	18			
SBP (mmHg)	Control (Saline)	0	0	3	Mean	137	145	141	140	146	144	140	139	138	0.9760	0.4529	
					SD	22	26	30	30	31	32	33	22	18			
	AcPepA	5	15	3	Mean	139	148	141	139	138	139	145	148	136			
					SD	10	16	9	17	14	11	21	22	12			
			20	60	3	Mean	142	144	145	143	146	144	141	143			138
						SD	24	23	24	23	25	25	21	26			23
DBP (mmHg)	Control (Saline)	0	0	3	Mean	104	109	106	107	111	110	107	106	104	0.9558	0.6436	
					SD	18	20	23	25	26	27	32	24	17			
	AcPepA	5	15	3	Mean	105	113	107	105	104	105	110	112	100			
					SD	11	13	8	15	12	10	20	22	13			
			20	60	3	Mean	108	108	110	108	112	110	107	107			104
						SD	20	19	19	19	20	19	17	24			22
MBP (mmHg)	Control (Saline)	0	0	3	Mean	115	121	118	118	122	122	118	118	116	0.9674	0.5037	
					SD	19	22	26	26	27	28	32	24	18			
	AcPepA	5	15	3	Mean	116	125	118	116	116	116	122	124	112			
					SD	10	13	8	16	13	10	20	21	13			
			20	60	3	Mean	119	120	122	120	123	121	118	119			115
						SD	21	20	21	20	22	21	18	25			22
HR (mmHg)	Control (Saline)	0	0	3	Mean	172	175	166	165	164	167	155	168	163	0.3429	0.6941	
					SD	27	29	36	41	46	52	57	45	36			
	AcPepA	5	15	3	Mean	171	196	176	167	174	171	164	173	164			
					SD	48	21	33	38	43	37	42	43	47			
			20	60	3	Mean	205	209	198	198	204	204	189	184			194
						SD	46	40	49	51	50	54	54	64			47

Values are the mean and standard deviations of 3 animals.

[#] Statistical analyses of time-sequential analysis of variance using the SAS[®] MIXED procedure are shown.

No significant difference was found.

Table 6 Respiratory rate in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA

Parameter	Test substance	Dose (mg/kg)		No. of animals		Time after the start of infusion (min)					Time after the end of infusion (h)				Dose [#] <i>p</i> value	Dose ^{x#} Time <i>p</i> value
		rapid (2min)	infusion (3h)			pre	10	40	70	180	2	4	8	18		
Respiratory rate (breaths/min)	Control (Saline)	0	0	3	Mean	28.0	30.0	31.3	28.0	32.0	25.3	28.7	28.0	25.3	0.1115	0.7073
					SD	2.0	3.5	3.1	3.5	2.0	1.2	4.6	2.0	1.2		
	AcPepA	5	15	3	Mean	29.3	28.7	29.3	27.3	29.3	28.0	25.3	28.7	25.3		
					SD	2.3	3.1	3.1	2.3	2.3	2.0	1.2	5.0	1.2		
		20	60	3	Mean	34.0	34.7	37.3	34.0	37.3	33.3	31.3	31.3	29.3		
					SD	5.3	2.3	4.2	2.0	1.2	5.8	2.3	9.5	4.2		

Values are the mean and standard deviations of 3 animals.

[#] Statistical analyses of time-sequential analysis of variance using the SAS[®] MIXED procedure are shown. No significant difference was found.

Appendix 1-1 Clinical signs during quarantine and acclimation periods

Individual No.	Animal ¹⁾	Quarantine day													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
11257	3	-	Rf+++	Fs+	Fs+	Fs+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
04711	(Reserve)	-	Rf+++	Rf+	Rf+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
07359	1	-	Rf++	Fs+	Fs+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
07619	2	-	Rf+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			Nf												
Individual No.	Animal ¹⁾	Acclimation day													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
11257	3	-	Rf+	Rf+	Fs+	Fs+	-	-	Fs+	Fs+	-	-	-	-	-
04711	(Reserve)	-	Rf+++	Rf+	Fs+	-	-	-	Fs+	Fs+	Fs+	-	-	-	-
07359	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
07619	2	-	Rf++	Rf+	-	-	-	-	Fs+	Fs+	Fs+	Fs+	Fs+	-	-
			(ope)												
Individual No.	Animal ¹⁾	Acclimation day													
		15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
11257	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
04711	(Reserve)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
07359	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
07619	2	Fs+	-	-	Fs+	-	Fs+	Fs+	-	-	Rf+	Rf+	-	-	

-: No abnormalities, Rf: Residual feed, Fs: Feed spilling, Nf: No-feces, Df: Decrease in feces..

+: Small amount, ++: Medium amount, +++: Large amount.

(ope): Operation for telemetry transmitter implanting.

1) Identification numbers after animal selection.

Appendix 1-2 Body weight during quarantine and acclimation periods

Individual No.	Animal ¹⁾ No.	Receipt day (Day 1)	Quarantine day 8	Quarantine day 14
11257	3	3.14	3.12	3.16
04711	(Reserve)	2.95	2.94	3.04
07359	1	3.20	3.10	3.11
07619	2	3.15	3.09	3.13

Individual No.	Animal ¹⁾ No.	Surgery day ²⁾ (Day 1)	Acclimation day 8	Acclimation day 14	Acclimation day 23	Selection day (Day 27)
11257	3	3.17	3.17	3.08	3.22	3.22
04711	(Reserve)	3.03	2.90	2.83	2.95	3.01
07359	1	3.14	3.10	3.06	3.12	3.15
07619	2	3.14	3.00	2.95	3.00	3.03

Unit: kg.

1) Identification numbers after animal selection.

2) Surgery day for telemetry transmitter implanting.

Appendix 2-1 Electrocardiography in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA

Parameter	Test substance	Dose (mg/kg)		Animal No.	Time after the start of infusion (min)					Time after the end of infusion (h)			
		rapid (2min)	infusion (3h)		pre	10	40	70	180	2	4	8	18
PR (msec)	Control (Saline)	0	0	1	91	88	88	76	84	86	86	84	84
				2	68	66	66	68	70	71	73	63	72
				3	71	71	68	68	67	58	66	64	64
	AcPepA	5	15	1	69	68	70	68	68	72	68	70	70
				2	78	71	70	67	68	68	74	71	72
				3	65	65	72	71	78	71	67	62	72
		20	60	1	58	58	66	64	53	64	62	59	60
				2	70	69	71	71	68	70	72	67	72
				3	66	66	64	62	61	61	61	60	57
QRS (msec)	Control (Saline)	0	0	1	52	46	48	48	48	50	52	51	48
				2	52	53	54	55	52	47	49	48	51
				3	48	47	48	50	48	47	48	45	49
	AcPepA	5	15	1	50	47	47	48	48	51	49	50	49
				2	51	52	51	51	48	48	52	49	51
				3	48	48	48	50	48	48	47	49	49
		20	60	1	48	48	48	48	47	48	51	50	46
				2	52	51	51	51	52	52	52	54	52
				3	48	48	51	50	51	50	52	51	50
QT (msec)	Control (Saline)	0	0	1	232	226	228	240	236	232	266	240	225
				2	250	236	242	241	238	252	270	240	259
				3	208	202	198	202	194	170	195	197	201
	AcPepA	5	15	1	196	198	195	205	200	192	205	198	202
				2	258	236	230	236	239	246	273	235	261
				3	200	200	220	217	212	212	207	203	226
		20	60	1	189	196	189	191	190	195	191	197	190
				2	250	236	245	250	232	248	256	269	248
				3	185	190	193	188	190	188	201	195	192
RR (msec)	Control (Saline)	0	0	1	385	334	400	388	438	429	486	444	350
				2	498	428	489	470	478	508	517	418	505
				3	314	293	290	285	280	252	274	273	302
	AcPepA	5	15	1	396	380	289	304	301	300	316	284	281
				2	504	399	426	466	488	496	569	437	552
				3	308	309	348	346	360	344	324	301	357
		20	60	1	297	365	322	317	256	276	277	274	257
				2	482	452	494	478	464	488	537	521	469
				3	261	267	265	264	262	259	284	261	250
QTc [Bazett] (msec)	Control (Saline)	0	0	1	383	396	360	394	362	355	382	360	380
				2	353	362	347	352	344	353	375	372	364
				3	371	374	367	379	366	339	373	377	366
	AcPepA	5	15	1	330	331	364	372	365	352	365	372	381
				2	364	374	352	346	343	349	362	355	352
				3	361	360	373	369	353	362	363	370	379
		20	60	1	352	350	344	349	377	371	363	376	375
				2	360	351	348	361	341	355	350	373	362
				3	363	367	375	366	372	370	378	382	383

Appendix 2-2 Statistical analyses of time-sequential analysis of variance on electrocardiography using the SAS® MIXED procedure

1. PR

Effect	NDF	DDF	F value	<i>p</i> value
Dose	2	4	1.19	0.3942
Time	7	42	0.99	0.4511
Dose × Time	14	42	0.72	0.7405

2. QRS

Effect	NDF	DDF	F value	<i>p</i> value
Dose	2	4	1.26	0.3763
Time	7	42	0.73	0.6463
Dose × Time	14	42	0.80	0.6608

3. QT

Effect	NDF	DDF	F value	<i>p</i> value
Dose	2	4	0.70	0.5482
Time	7	42	3.03	0.0114
Dose × Time	14	42	0.88	0.5843

4. RR

Effect	NDF	DDF	F value	<i>p</i> value
Dose	2	4	0.60	0.5903
Time	7	42	1.04	0.4205
Dose × Time	14	42	0.71	0.7483

5. QTc

Effect	NDF	DDF	F value	<i>p</i> value
Dose	2	4	1.26	0.3773
Time	7	42	2.80	0.0173
Dose × Time	14	42	1.45	0.1756

NDF: Numerator degrees of freedom.

DDF: Denominator degrees of freedom.

Appendix 3-1 Blood pressure and heart rate in conscious monkeys treated intravenously with AcPepA

Parameter	Test substance	Dose (mg/kg)		Animal No.	Time after the start of infusion (min)					Time after the end of infusion (h)			
		rapid (2min)	infusion (3h)		pre	10	40	70	180	2	4	8	18
SBP (mmHg)	Control (Saline)	0	0	1	119	123	119	118	121	120	120	124	125
				2	130	139	128	129	137	133	121	129	131
				3	162	174	175	174	180	180	178	165	159
	AcPepA	5	15	1	134	132	133	125	127	130	135	136	129
				2	132	149	141	135	134	136	132	135	128
				3	150	163	150	158	154	152	169	173	150
		20	60	1	125	125	125	123	121	120	124	126	122
				2	131	138	138	139	147	142	134	129	127
				3	170	169	171	168	171	169	164	173	164
DBP (mmHg)	Control (Saline)	0	0	1	91	93	91	91	93	91	89	92	95
				2	97	102	95	94	99	99	87	93	94
				3	125	132	133	135	140	141	144	134	124
	AcPepA	5	15	1	104	101	102	95	97	100	103	105	99
				2	95	111	103	98	98	99	94	94	88
				3	116	126	116	122	118	117	132	136	114
		20	60	1	97	95	97	94	94	93	98	95	92
				2	96	100	102	101	109	105	97	92	91
				3	131	130	132	129	133	131	127	135	129
MBP (mmHg)	Control (Saline)	0	0	1	100	103	100	100	102	101	100	103	105
				2	108	114	106	106	112	110	99	105	106
				3	137	146	147	148	153	154	155	145	136
	AcPepA	5	15	1	114	112	112	105	107	110	114	116	109
				2	107	124	116	110	110	111	107	108	101
				3	127	138	127	134	130	128	144	148	126
		20	60	1	106	105	106	104	103	102	107	105	102
				2	108	113	114	114	121	117	109	104	103
				3	144	143	145	142	146	144	139	148	141
HR (beats/min)	Control (Saline)	0	0	1	167	172	154	159	149	145	132	147	174
				2	147	148	138	128	127	130	113	138	123
				3	201	206	206	209	215	226	220	220	193
	AcPepA	5	15	1	217	217	211	196	214	205	196	205	211
				2	121	175	146	124	129	131	117	124	117
				3	176	195	172	181	180	176	180	189	165
		20	60	1	239	237	229	231	233	237	221	221	219
				2	153	164	142	139	146	142	127	110	140
				3	223	227	223	225	233	234	220	220	224

Appendix 3-2 Statistical analyses of time-sequential analysis of variance on blood pressure and heart rate
using the SAS® MIXED procedure

1. SBP

Effect	NDF	DDF	F value	<i>p</i> value
Dose	2	4	0.02	0.9760
Time	7	42	1.90	0.0939
Dose × Time	14	42	1.02	0.4529

2. DBP

Effect	NDF	DDF	F value	<i>p</i> value
Dose	2	4	0.05	0.9558
Time	7	42	1.67	0.1430
Dose × Time	14	42	0.82	0.6436

3. MBP

Effect	NDF	DDF	F value	<i>p</i> value
Dose	2	4	0.03	0.9674
Time	7	42	1.86	0.1012
Dose × Time	14	42	0.96	0.5037

4. HR

Effect	NDF	DDF	F value	<i>p</i> value
Dose	2	4	1.42	0.3429
Time	7	42	4.15	0.0015
Dose × Time	14	42	0.77	0.6941

NDF: Numerator degrees of freedom.

DDF: Denominator degrees of freedom.