

Table 13 Standard and IS solutions stability at room temperature

Analyte	Concentration	Storage period	Peak area		Residual rate (%)
			Measured	Mean	
P092	200 µg/mL	Just after preparation (Initial)	1463614	1526702	--
			1555480		
			1561012		
	5 ng/mL	24 h	1628367	1629351	106.7
			1611341		
			1648344		
IS	100 µg/mL	Just after preparation (Initial)	2245	2314	--
			2172		
			2526		
	200 ng/mL	24 h	2012	2059	89.0
			2162		
			2003		
IS	100 µg/mL	Just after preparation (Initial)	1245450	1238790	--
			1218980		
			1251939		
	200 ng/mL	24 h	1261322	1287423	103.9
			1306199		
			1294747		
IS	200 ng/mL	Just after preparation (Initial)	167995	166328	--
			166422		
			164566		
	200 ng/mL	24 h	164390	162779	97.9
			162678		
			161269		

Residual rate (%) = mean value after storage/mean initial value × 100

--: not applicable

Table 14-1 Standard and IS solutions stability in a refrigerator (7 days)

Analyte	Concentration	Storage period	Peak area		Residual rate (%)
			Measured	Mean	
P092	200 µg/mL	Just after preparation (Initial)	1742024	1702308	--
			1622866		
			1742033		
	7 days		1744376	1728823	101.6
			1739375		
			1702717		
5 ng/mL	Just after preparation (Initial)	1037	1147	--	
		1231			
		1172			
7 days		1021	1069	93.3	
		1079			
		1108			
IS	100 µg/mL	Just after preparation (Initial)	1440403	1419988	--
			1437319		
			1382242		
	7 days		1387983	1386629	97.7
			1380265		
			1391639		
200 ng/mL	Just after preparation (Initial)	160564	159843	--	
		160997			
		157969			
7 days		153147	152146	95.2	
		151018			
		152272			

Residual rate (%) = mean value after storage/mean initial value × 100

--: not applicable

Table 14-2 Standard and IS solutions stability in a refrigerator (34 days)

Analyte	Concentration	Storage period	Peak area		Residual rate (%)
			Measured	Mean	
P092	200 µg/mL	Just after preparation (Initial)	1620696	1655962	--
			1701622		
			1645569		
	5 ng/mL	34 days	1684246	1667833	100.7
			1678360		
			1640894		
IS	100 µg/mL	Just after preparation (Initial)	914	930	--
			960		
			915		
	200 ng/mL	34 days	1186	1055	113.4
			933		
			1045		
IS	100 µg/mL	Just after preparation (Initial)	1665108	1652250	--
			1646228		
			1645415		
	200 ng/mL	34 days	1673665	1671653	101.2
			1665150		
			1676144		
IS	200 ng/mL	Just after preparation (Initial)	222068	221285	--
			221158		
			220629		
	200 ng/mL	34 days	223237	221657	100.2
			222069		
			219664		

Residual rate (%) = mean value after storage/mean initial value × 100

--: not applicable

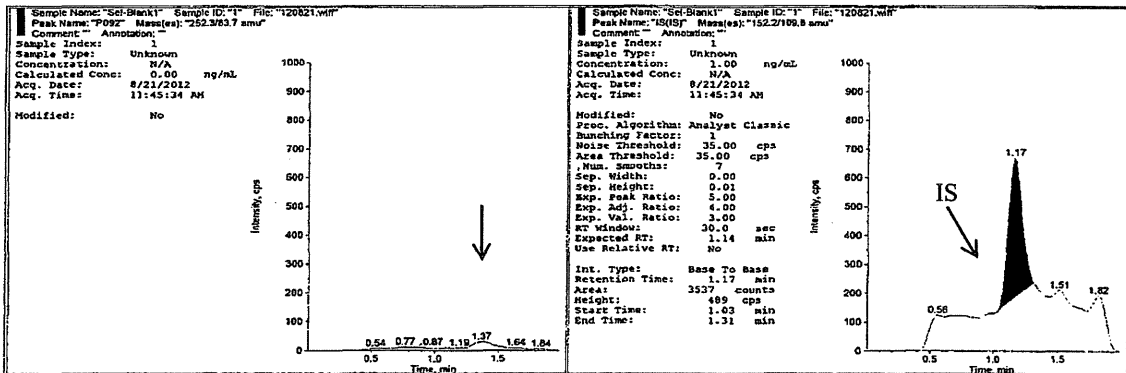
Table 14-3 Standard and IS solutions stability in a refrigerator (97 days)

Analyte	Concentration	Storage period	Peak area		Residual rate (%)
			Measured	Mean	
P092	200 µg/mL	Just after preparation (Initial)	4227559	4184000	--
			4266067		
			4058374		
		97 days	4163205	4186025	100.0
			4152798		
			4242071		
IS	5 ng/mL	Just after preparation (Initial)	3029	2808	--
			2738		
			2657		
		97 days	2843	2841	101.2
			2720		
			2961		
IS	100 µg/mL	Just after preparation (Initial)	2380923	2399847	--
			2407622		
			2410997		
		97 days	2390060	2370649	98.8
			2352486		
			2369402		
IS	200 ng/mL	Just after preparation (Initial)	320952	347673	--
			360239		
			361827		
		97 days	358956	361143	103.9
			363382		
			361092		

Residual rate (%) = mean value after storage/mean initial value × 100

--: not applicable

(1) Blank sample



(3) LLOQ sample (5 ng/mL)

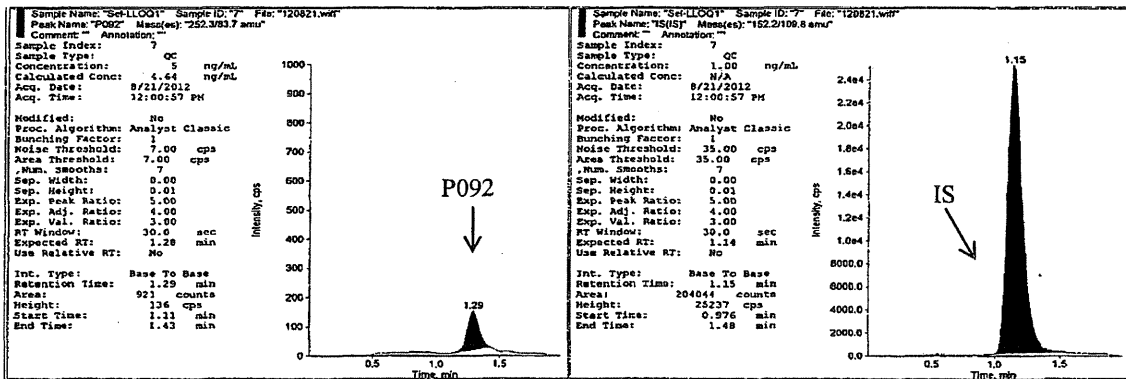


Figure 1 Typical chromatograms of selectivity

信頼性保証証明書

試験委託者：岐阜大学

表題：ラット血漿中P092濃度測定法バリデーション

試験番号：B120711


本試験は下記の基準に従って実施され、本最終報告書は、試験の方法、結果が正確に記載されていることを保証する。調査の内容、調査日および報告日を以下に示す。

「申請資料の信頼性の基準」

(薬事法施行規則第43条, 平成16年7月9日)

調査内容	調査日	報告日	
		試験責任者	運営管理者
試験計画書			
試験計画書 (再調査)	2012年08月13日 2012年08月15日	2012年08月13日 2012年08月15日	2012年08月13日 2012年08月15日
試験計画書変更書 (1)	2012年08月15日	2012年08月15日	2012年08月15日
試験計画書変更書 (2)	2012年08月21日	2012年08月21日	2012年08月21日
試験計画書変更書 (2) (再調査)	2012年08月21日	2012年08月21日	2012年08月21日
試験資料・最終報告書			
試験資料・最終報告書草案	2012年12月11日 ~2012年12月25日	2012年12月25日	2012年12月25日
試験資料・最終報告書	2013年01月29日	2013年01月29日	2013年01月29日


2013年1月29日
信頼性保証部門責任者

東川 国男 

東川 国男
三菱化学メディエンス株式会社
鹿島研究所

資料2 非臨床試験

5. 「ラットを用いる単回経口投与毒性試験」 のための予備試験

本写しは原本と相違ありません
三菱化学メディエンス(株) 鹿島研究所
2013年3月14日
試験責任者 中館豊 

最終報告書

P092 のラットを用いる単回経口投与予備試験

(試験番号 : B120965)

三菱化学メディエンス株式会社

1. 陳述書

表 題： P092 のラットを用いる単回経口投与予備試験

試験番号： B120965

本試験は、試験計画書及び標準操作手順書に従って実施したものである。

試験責任者：

2013 年 3 月 14 日

中館 豊



中館 豊

三菱化学メディエンス株式会社

創薬支援事業本部 試験研究センター

安全性研究部

2. 目次

1. 陳述書.....	2
2. 目次.....	3
3. 試験実施概要.....	6
3.1 表題.....	6
3.2 試験番号.....	6
3.3 試験目的.....	6
3.4 適用ガイドライン.....	6
3.5 適用 GLP.....	6
3.6 試験委託者.....	6
3.7 試験受託者.....	6
3.8 試験施設.....	6
3.8.1 名称及び所在地.....	6
3.8.2 試験責任者.....	6
3.8.3 主な試験従事者.....	6
3.8.4 試験日程.....	7
3.8.5 保存.....	7
3.8.6 保存する資料.....	7
3.9 その他.....	7
4. 試験責任者署名.....	8
5. 要約.....	9
6. 材料及び方法.....	10
6.1 被験物質.....	10
6.1.1 名称.....	10
6.1.2 ロット番号.....	10
6.1.3 提供者.....	10
6.1.4 保存条件.....	10
6.1.5 取扱上の注意.....	10
6.1.6 残余被験物質の処理.....	10
6.2 媒体.....	10
6.2.1 名称.....	10
6.2.2 試薬.....	10
6.2.3 媒体の調製法.....	10
6.2.4 保存条件.....	11
6.3 投与液.....	11
6.3.1 調製方法及び頻度.....	11
6.3.2 保管条件.....	11
6.4 試験動物.....	11

6.4.1	動物種.....	11
6.4.2	系統.....	11
6.4.3	系統選択の理由.....	11
6.4.4	微生物レベル.....	11
6.4.5	供給源.....	11
6.4.6	移管時週齢.....	11
6.4.7	移管動物数及び性別.....	12
6.4.8	検疫・馴化.....	12
6.4.9	投与時週齢.....	12
6.4.10	動物の識別.....	12
6.5	飼育環境.....	12
6.5.1	飼育室.....	12
6.5.2	飼育環境.....	12
6.5.3	飼育器材.....	12
6.5.4	収容動物数.....	13
6.5.5	飼料.....	13
6.5.6	飲用水.....	13
6.6	群構成.....	14
6.6.1	第1回.....	14
6.6.2	第2回.....	14
6.6.3	第3回.....	14
6.7	投与.....	14
6.7.1	投与経路.....	14
6.7.2	投与経路の選択理由.....	14
6.7.3	投与方法の選択理由.....	14
6.7.4	投与液量.....	14
6.7.5	投与回数・期間.....	15
6.7.6	投与方法.....	15
6.8	観察・検査項目.....	15
6.8.1	一般状態.....	15
6.8.2	体重.....	15
6.8.3	病理解剖検査.....	15
7.	結果.....	16
7.1	死亡・瀕死.....	16
7.2	一般状態.....	16
7.3	体重.....	16
7.4	病理解剖検査.....	16
8.	考察.....	17
9.	特記事項.....	18

9.1	予見することができなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態	18
9.2	試験計画書に従わなかつたこと	18

List of Tables

Table 1	Clinical Sign - Summary	19
Table 2	Body Weight	21
Table 3	Necropsy Findings - Summary	23

List of Appendices

Appendix 1	Clinical Sign	26
Appendix 2	Pathological Findings	34

最終ページ : 41

3. 試験実施概要

3.1 表題

P092 のラットを用いる単回経口投与予備試験

3.2 試験番号

B120965

3.3 試験目的

P092 をラットに単回経口投与し、毒性変化を惹起する用量とその変化の内容を検討する。

3.4 適用ガイドライン

なし

3.5 適用 GLP

なし

3.6 試験委託者

国立大学法人岐阜大学

〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1 番 1

委託責任者 桑田 一夫

TEL : 058-230-6143, FAX : 058-230-6144

3.7 試験受託者

三菱化学メディエンス株式会社

〒108-8559 東京都港区芝浦四丁目 2 番 8 号

3.8 試験施設

3.8.1 名称及び所在地

三菱化学メディエンス株式会社 鹿島研究所

〒314-0255 茨城県神栖市砂山 14 番地 1

3.8.2 試験責任者

中舘 豊

三菱化学メディエンス株式会社

創薬支援事業本部 試験研究センター 安全性研究部

TEL : 0479-46-7394, FAX : 0479-46-7505

3.8.3 主な試験従事者

動物移管 :

船越 武

投与液の調製：	鈴木 芙美恵
投与：	船越 武
一般状態観察：	船越 武
体重測定：	船越 武
麻酔：	船越 武
剖検：	隈部 志野

3.8.4 試験日程

試験開始：	2012年9月25日
動物移管：	2012年9月25日，10月4日
投与：	2012年9月26日（第1回） 2012年9月27日（第2回） 2012年10月5日（第3回）
試験終了：	本最終報告書への試験責任者署名日とする。

3.8.5 保存

次項に示す試験関係資料を試験施設の資料保存室に保存する。保存期間は試験終了後10年間とし、以後の保存は試験委託者と協議の上、決定する。

3.8.6 保存する資料

- (1) 試験計画書
- (2) 試験計画書変更書 (No. 1)
- (3) 被験物質に関する資料
- (4) 使用動物に関する資料
- (5) 試験結果に関する資料
- (6) 通信文書等の記録文書
- (7) 最終報告書

3.9 その他

本試験の実施に際し、「動物実験に関する指針（三菱化学メディエンス株式会社 試験研究センター）」に基づき、動物実験委員会審査及び試験研究センター長の承認（承認番号：2012-0599）を得た。

4. 試験責任者署名

表 題： P092 のラットを用いる単回経口投与予備試験

試験番号： B120965

試験責任者：

2013 年 3 月 14 日

中館 豊 

中館 豊
三菱化学メディエンス株式会社
創薬支援事業本部 試験研究センター
安全性研究部

5. 要約

P092 をラット (Cri: CD (SD), 雌雄各 1 匹/群) に, 100, 500, 1000 及び 2000 mg/kg/day の用量で, 単回経口投与し, 現れる毒性変化を確認した。

その結果, 死亡又は瀕死が 2000 mg/kg/day の雄で第 2 日, 雌で第 3 日, 1000 mg/kg/day の雄で第 3 日, 雌で第 5 日, 500 mg/kg/day の雄で第 4 日に認められた。

死亡又は瀕死動物の一般状態では, 下痢が第 2 日～第 5 日に認められた。2000 mg/kg/day の雄では流涙及び不整呼吸が第 2 日に, 500 mg/kg/day の雄及び 1000 mg/kg/day の雌では鼻の周囲の汚れ及び肛門周囲の汚れが第 3～5 日に認められた。生存動物では, 下痢が 500 mg/kg/day 群の雌で第 4 日に認められた。

体重の減少が死亡又は瀕死動物では第 2 日以降に認められた。100 mg/kg/day 群の雌雄及び 500 mg/kg/day 群の雌では, 第 2 日以降に体重の減少又は増加抑制が認められた。

病理解剖検査では消化管 (胃～結腸) の拡張が 500 mg/kg/day の雄及び 1000 mg/kg/day 以上の雌雄で認められた。また, 胸腺の小型化及び副腎の腫大が 500 mg/kg/day の雄及び 1000 mg/kg/day の雌, 脾臓の小型化が 1000 mg/kg/day の雌で認められた。更に, 前胃の白色斑が 500 及び 1000 mg/kg/day の雌で認められた。

以上の結果から, 500 mg/kg/day と 100 mg/kg/day の中間付近の用量が反復投与する際の高用量として適切であると判断した。2 週間反復投与試験では, 高用量を 250 mg/kg/day とし, 公比約 4 で 80 及び 20 mg/kg/day を設定する。

6. 材料及び方法

6.1 被験物質

6.1.1 名称

P092

6.1.2 ロット番号

7J7XB

6.1.3 提供者

国立大学法人岐阜大学

6.1.4 保存条件

冷蔵（許容範囲：1°C～10°C），遮光，密封（窒素封入）

6.1.5 取扱上の注意

保護メガネ，マスク，ゴム手袋を着用した。

6.1.6 残余被験物質の処理

全て試験施設の被験物質管理責任者に移管した（9.2 項参照）。

6.2 媒体

6.2.1 名称

0.5 w/v%メチルセルロース水溶液（略称：0.5 w/v% MC）

6.2.2 試薬

メチルセルロース（ロット番号：WER5404，MC と略す，MC400，和光純薬工業株式会社）
日本薬局方注射用水（ロット番号：K2B91，略称：注射用水，株式会社大塚製薬工場）

6.2.3 媒体の調製法

- (1) 所定量の MC を正確に秤量した。
- (2) 調製量より少ない注射用水をビーカーに入れ，ホットマグネチックスターラーを用いて約 80°C に加熱した。加熱した注射用水を攪拌しながら，MC を少量ずつ加えて溶解させた。
- (3) 溶解後，室温になるまで冷まし，これをメートルグラスに移し，適宜注射用水を加えて 0.5 w/v% となるように定容した。
- (4) 調製した 0.5 w/v% MC を保存容器に入れ，1 日以内に使用した（使用期限：調製後 14 日間）。

6.2.4 保存条件

冷蔵（実測値：3.8°C～6.2°C，許容範囲：1°C～10°C）

6.3 投与液

6.3.1 調製方法及び頻度

被験物質投与液は，紫外線をカットした蛍光灯下投与前日あるいは投与日に調製した。

- (1) P092 を正確に秤量した。
- (2) 乳鉢及び乳棒を用いて被験物質を破碎し，媒体で洗い流しながらメートルグラスに移した。
- (3) この混合液に媒体を加え，200 又は 50 mg/mL になるように正確にメスアップした。更に 200 又は 50 mg/mL の投与液を媒体で段階希釈し，100 及び 10 mg/mL の投与液を調製した。
- (4) 調製後，投与液は褐色ガラス瓶に入れた。採取及び希釈などにおける操作はマグネチックスターラーで攪拌しながら行った。

6.3.2 保管条件

冷蔵（実測値：3.8°C～6.2°C，許容範囲：1°C～10°C），遮光
投与液は，調製後 2 日以内に使用した。

6.4 試験動物

6.4.1 動物種

ラット

6.4.2 系統

CrI:CD(SD)

6.4.3 系統選択の理由

げっ歯類を用いた毒性試験に広く使用されており，背景データが豊富である。

6.4.4 微生物レベル

SPF

6.4.5 供給源

日本チャールス・リバー株式会社

6.4.6 移管時週齢

6 及び 8 週齢

6.4.7 移管動物数及び性別

雌雄各4匹

6.4.8 検疫・馴化

試験施設において検疫・馴化が終了した動物を使用した。

6.4.9 投与時週齢

7及び8週齢

6.4.10 動物の識別

個体識別は尾に油性ペンで付した番号（動物番号の下3桁）で行った。

6.5 飼育環境

6.5.1 飼育室

ラット・マウス飼育室（2121室）

6.5.2 飼育環境

6.5.2.1 温度

22.5°C～23.6°C（許容範囲：19.0°C～25.0°C）

6.5.2.2 相対湿度

50.0%～60.2%（許容範囲：35.0%～75.0%）

6.5.2.3 換気

6～20回／時，オールフレッシュエアー供給

6.5.2.4 照明時間

12時間／日（7:00～19:00）点灯

6.5.3 飼育器材

6.5.3.1 ケージ

ステンレス製つり下げ型金網ケージ（195W×325D×180H mm，トキワ科学器械株式会社）
使用前滅菌：オートクレーブ滅菌

6.5.3.2 給餌器

固型用ステンレス製給餌器（トキワ科学器械株式会社）
使用前滅菌：オートクレーブ滅菌

6.5.3.3 給水装置

自動給水装置（トキワ科学器械株式会社）

6.5.3.4 架台

ステンレス製架台（トキワ科学器械株式会社，自動給水装置付）

使用前滅菌：オートクレーブ滅菌

6.5.3.5 糞尿トレイ

アルミニウム製トレイ（トキワ科学器械株式会社）

実験動物用床敷（ベータチップ，日本チャールス・リバー株式会社）を敷いて架台上（ケージの下）に設置した。

使用前滅菌：オートクレーブ滅菌（床敷含む）

6.5.3.6 エンリッチメント

動物福祉向上のために，オートクレーブ滅菌した玩具（アルミナボール）を使用した。

6.5.4 収容動物数

1 匹/ケージ

6.5.5 飼料

6.5.5.1 種類

実験動物用固型飼料（CR-LPF, Lot No. 120711 及び 120816, オリエンタル酵母工業株式会社, 放射線滅菌済み）

6.5.5.2 給餌法

自由摂取

6.5.5.3 汚染物質の確認

飼料の供給元から分析結果を入手し，使用したロットの残留農薬等の汚染物質濃度が，試験施設の標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

6.5.6 飲用水

6.5.6.1 種類

5 µm フィルター濾過後，紫外線照射した水道水

6.5.6.2 給水法

自由摂取