

8. 考察

P092 をラット (Ctrl: CD (SD), 雌雄各 5 匹/群) に, 0, 50, 150 及び 500 mg/kg/day の用量で, 単回経口投与し, 発現する毒性変化を確認した.

一般状態観察において, 50 mg/kg/day 以上の群の雌雄で下痢が, 投与後約 2 時間~第 3 日に一過性ないし継続して認められた.

150 mg/kg/day 群の雄及び 500 mg/kg/day 群の雌雄で体重の増加抑制が認められ, 500 mg/kg/day 群の雌雄では摂餌量の減少が認められた.

病理解剖検査では, 験物質投与に起因すると思われる変化は認められなかった.

トキシコキネティクス測定において, P092 の C_{max} 及び AUC_{0-24h} は, 投与量の増加に伴い増加した. また, C_{max} 及び AUC_{0-24h} に明らかな性差は認められなかった.

以上の結果から, 本実験条件下での P092 の最小致死量は, 雌雄とも 500 mg/kg/day 以上であると考えられる.

9. 特記事項

9.1 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

投与液安定性確認において、0.05 mg/mL 被験物質投与液の調製直後における濃度が許容範囲を外れた。原因は希釈操作の誤りと考えられた。このため、0.05 mg/mL 被験物質投与液を再調製した。濃度分析の結果、許容範囲を満たし、安定性確認が可能になったことから、試験の信頼性に及ぼす影響はないものと判断した。

9.2 試験計画書に従わなかったこと

実験終了後の被験物質は、全て試験委託者に返却することになっていたが、他試験に使用する可能性があることから、全て試験施設の被験物質管理責任者に移管した。しかし、実験は終了しており、試験の信頼性に影響はないものと判断した。

Annex 1 : 分析証明書 (分析証明書番号 : P120567-COA2)

P120567-COA2

分析証明書

分析証明書番号 : P120567-COA2
 試験委託者 : 国立大学法人岐阜大学
 試験番号 : P120567
 表題 : P092 の特性試験及び保存安定性試験
 試験施設 : 三菱化学メディエンス株式会社 熊本研究所
 適用 GLP : 厚生省令第 21 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」
 (平成 9 年 3 月 26 日, 一部改正 厚生労働省令第 114 号, 平成 20 年 6 月 13 日)
 被験物質 : P092
 ロット番号 : E5Z6K
 保管条件 : 冷蔵 (1-10 °C), 遮光, 密封, 窒素封入
 保管場所 : 被験物質保管室 J009 内の薬用冷蔵庫
 入手日 : 2012 年 11 月 02 日
 分析日 : 2012 年 11 月 06 日 (被験物質の使用日)
 試験結果 :

試験項目	判定基準	結果	判定
性状 (色, 形状)	なし (観察結果を報告する)	白色の粉末	—
確認試験 (IR)	なし (測定結果を報告する)	IR 測定結果を図 1 に示した	—
純度 ^{*1}	95.0%以上 (HPLC 面積%)	99.2%	適
<備考>			
*1 繰り返し 3 回測定 of 平均値を結果に記載した。			

試験責任者: 2012 年 11 月 13 日

佐藤 保夫



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 安全性 4 グループ

Annex 1 : 分析証明書 (分析証明書番号 : P120567-COA2)

P120567-COA2

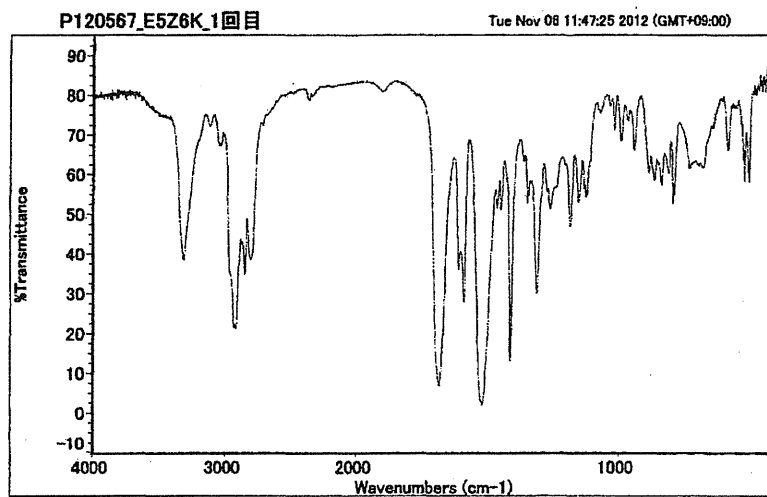


図 1 IR スペクトル(ロット番号 : ESZ6K)

Annex 2 : 分析証明書 (分析証明書番号 : P120567-COA8)

P120567-COA8

分析証明書

分析証明書番号 : P120567-COA8
 試験委託者 : 国立大学法人岐阜大学
 試験番号 : P120567
 表題 : P092 の特性試験及び保存安定性試験
 試験施設 : 三菱化学メディエンス株式会社 熊本研究所
 適用 GLP : 厚生省令第 21 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」
 (平成 9 年 3 月 26 日, 一部改正 厚生労働省令第 114 号, 平成 20 年 6 月 13 日)
 被験物質 : P092
 ロット番号 : E5Z6K
 保管条件 : 冷蔵 (1-10 °C), 遮光, 密封, 窒素封入
 保管場所 : 被験物質保管室 J009 内の薬用冷蔵庫
 入手日 : 2012 年 11 月 02 日
 分析日 : 2013 年 02 月 21 日 (被験物質の使用日)
 試験結果 :

試験項目	判定基準	結果	判定
性状 (色, 形状)	なし (観察結果を報告する)	白色の粉末	—
確認試験 (IR)	なし (測定結果を報告する)	IR 測定結果を図 1 に示した	—
純度 ^{*1}	95.0%以上 (HPLC 面積%)	99.1%	適

<備考>
*1 繰り返し 3 回測定の平均値を結果に記載した。

試験責任者: 2013 年 2 月 27 日

佐藤 保夫



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 安全性 4 グループ

Annex 2 : 分析証明書 (分析証明書番号 : P120567-COA8)

P120567-COA8

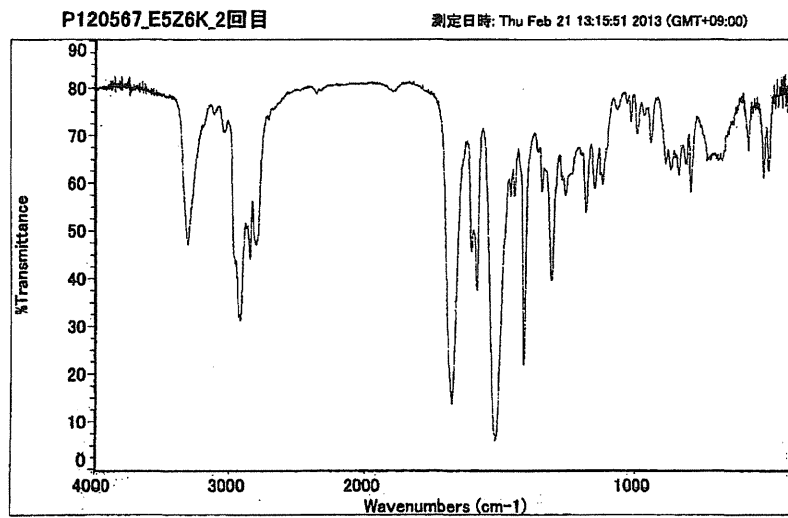


図 1 IR スペクトル(ロット番号 : E5Z6K)

Annex 3 : Certificate of Analysis (Certification No.: B120716-001)

Certification No. B120716-001

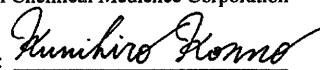
Certificate of Analysis

November 29, 2012

Kashima Laboratory

Mitsubishi Chemical Medicine Corporation

Chief Analyst:



Kunihiro Konno

Analyst:

Junko Ohnuki

Kenichi Minato

Naomi Ogishima

Study No.: B120716
 Test Substance: P092
 Lot No.: E5Z6K
 GLP: MHW, Ordinance No. 21, "Standards for Conduct of Nonclinical Studies on the Safety of Drugs" (Dated March 26, 1997; partial revision: Ordinance No. 114, MHLW, dated June 13, 2008)

Description of Analysis: Confirmation of stability and homogeneity of P092 in dosing formulations [Vehicle: 0.5w/v% methylcellulose solution] (Nominal concentration: 0.05 mg/mL and 100 mg/mL)

Analysis: HPLC

Storage Conditions: The dosing formulations were stored in a refrigerator (4.2°C to 6.2°C) for 3 days and 9 days under light-resistant condition in hermetic container and then stored at room temperature (17.5°C to 21.1°C) for 24 hours under light-resistant condition in hermetic container.

Date of Preparation: November 16, 2012
 Date of Analysis: November 16, 20, and 26, 2012

Results: The concentrations of P092 in the dosing formulations are shown in the table below. Results indicated that the dosing formulations were stable under the storage conditions.^a We confirmed that the homogeneity was within the acceptable range.^b

Concentration		Date		November 16, 2012		November 20, 2012		November 26, 2012	
		Initial		After 3 days+24 hours		After 9 days+24 hours			
0.05 mg/mL	Measured Concentration (mg/mL)	Top	0.0511	Top	0.0497	Top	0.0531		
		Middle	0.0518	Middle	0.0494	Middle	0.0521		
		Bottom	0.0533	Bottom	0.0498	Bottom	0.0493		
	Mean(mg/mL)	0.0521		0.0496		0.0515			
	C.V. (%)	2.1		0.4		3.8			
Ratio to initial concentration (%)		-		95.2		98.8			
100 mg/mL	Measured Concentration (mg/mL)	Top	101	Top	101	Top	103		
		Middle	101	Middle	100	Middle	105		
		Bottom	102	Bottom	101	Bottom	105		
	Mean(mg/mL)	101		101		104			
	C.V. (%)	0.6		0.6		1.2			
Ratio to initial concentration (%)		-		100.0		103.0			

a: Ratio to initial concentration, acceptable range: 90% to 110%

b: Coefficient of variation (C.V.), acceptable range: equal to or less than 10%

Annex 4 : Certificate of Analysis (Certification No.: B120716-002)

Certification No. B120716-002

Certificate of Analysis

November 29, 2012

Kashima Laboratory

Mitsubishi Chemical Medience Corporation

Chief Analyst:



Kunihiko Konno

Analyst:

Kenichi Minato

Study No.: B120716
 Test Substance: P092
 Lot No.: E5Z6K
 GLP: MHW, Ordinance No. 21, "Standards for Conduct of Nonclinical Studies on the Safety of Drugs" (Dated March 26, 1997; partial revision: Ordinance No. 114, MHLW, dated June 13, 2008)

Description of Analysis: Confirmation of concentration and homogeneity of P092 in dosing formulations
 [Vehicle: 0.5 w/v% methylcellulose solution]
 (Nominal concentration: 5 mg/mL, 15 mg/mL, and 50 mg/mL)

Analysis: HPLC
 Date of Analysis: November 20, 2012
 Results: The concentrations of P092 in the dosing formulations are shown in the table below. We confirmed that the obtained data were within the permissible range.^{a, b}

Nominal concentration (mg/mL)	Measured concentration (mg/mL)	Mean \pm S.D. (mg/mL)	C.V. (%)	Ratio to nominal concentration (%)
5	Top 5.16	5.17 \pm 0.061	1.2	103.4
	Middle 5.12			
	Bottom 5.24			
15	Top 15.5	15.4 \pm 0.15	1.0	102.7
	Middle 15.2			
	Bottom 15.4			
50	Top 52.6	52.4 \pm 0.32	0.6	104.8
	Middle 52.0			
	Bottom 52.5			

a: Ratio to nominal concentration, permissible range: 90% to 110%

b: Coefficient of variation (C.V.), permissible range: equal to or less than 10%

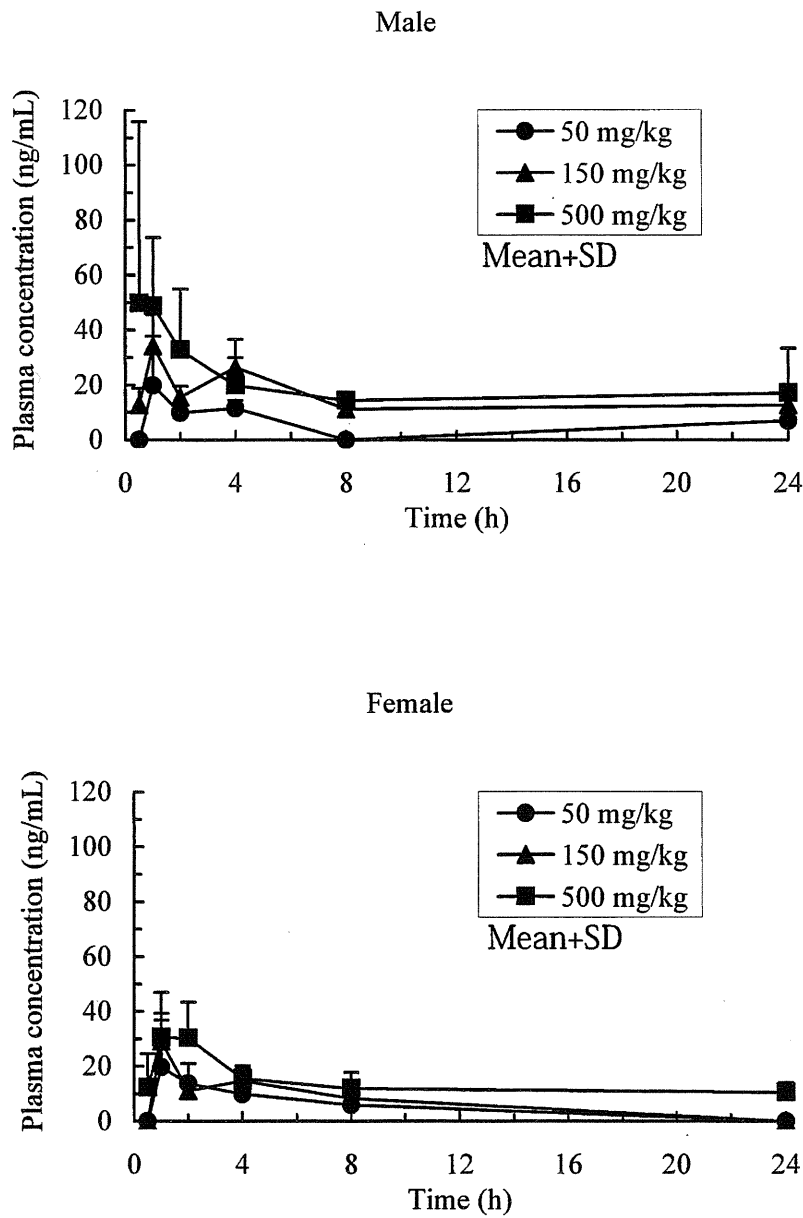


Figure 1 Mean Plasma Concentration Time Profiles of P092

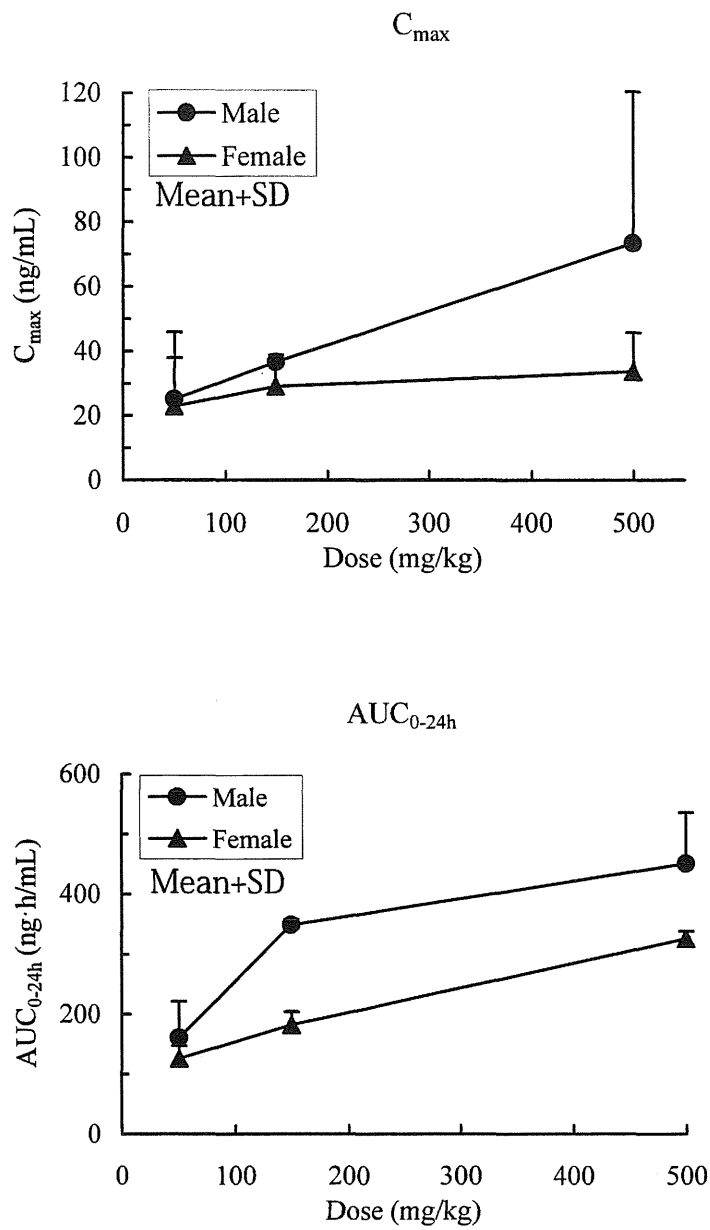


Figure 2 Relationship between the dose and C_{max} or AUC_{0-24h} of P092

Table 1 Clinical Sign - Summary

B120716

			Day numbers relative to Start Date												
Group	Sex	Clinical Sign	1 Before dosing	1 Time 10	1 Time 20	1 Time 30	1 Time 40	1 Time 50	2 a.m.	3 a.m.	4 a.m.	5 a.m.	6 a.m.	7 a.m.	
1	m	ANIMALS ALIVE	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		ANIMALS NORMAL	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
2	m	ANIMALS ALIVE	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		ANIMALS NORMAL	5	5	5	5	5	3	5	5	5	5	5	5	
		Diarrhea	2	
3	m	ANIMALS ALIVE	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		ANIMALS NORMAL	5	5	5	5	3	2	4	5	5	5	5	5	
		Diarrhea	2	3	1	
4	m	ANIMALS ALIVE	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		ANIMALS NORMAL	5	5	5	4	4	0	4	4	5	5	5	5	
		Diarrhea	.	.	.	1	1	5	1	1	

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 50 mg/kg Group 3 - 150 mg/kg Group 4 - 500 mg/kg

Time 10 : About 0.5 hours after dosing; Time 20 : About 1 hours after dosing; Time 30 : 2 hours after dosing; Time 40 : About 4 hours after dosing; Time 50 : About 8 hours after dosing;

Table 1 Clinical Sign - Summary

B120716

Day numbers relative to Start Date

Group	Sex	Clinical Sign	8 a.m.
1	m	ANIMALS ALIVE	5
		ANIMALS NORMAL	5
2	m	ANIMALS ALIVE	5
		ANIMALS NORMAL	5
		Diarrhea	.
3	m	ANIMALS ALIVE	5
		ANIMALS NORMAL	5
		Diarrhea	.
4	m	ANIMALS ALIVE	5
		ANIMALS NORMAL	5
		Diarrhea	.

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 50 mg/kg Group 3 - 150 mg/kg Group 4 - 500 mg/kg

Time 10 : About 0.5 hours after dosing; Time 20 : About 1 hours after dosing; Time 30 : 2 hours after dosing; Time 40 : About 4 hours after dosing; Time 50 : About 8 hours after dosing;

Table 1 Clinical Sign - Summary

B120716

Group	Sex	Clinical Sign	Day numbers relative to Start Date												
			1 Before dosing	1 Time 10	1 Time 20	1 Time 30	1 Time 40	1 Time 50	2 a.m.	3 a.m.	4 a.m.	5 a.m.	6 a.m.	7 a.m.	
1	f	ANIMALS ALIVE	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		ANIMALS NORMAL	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2	f	ANIMALS ALIVE	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		ANIMALS NORMAL	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5
		Diarrhea	1
3	f	ANIMALS ALIVE	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		ANIMALS NORMAL	5	5	5	5	3	3	5	5	5	5	5	5	5
		Diarrhea	2	2
4	f	ANIMALS ALIVE	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		ANIMALS NORMAL	5	5	5	3	1	1	3	5	5	5	5	5	5
		Diarrhea	.	.	.	2	4	4	2

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 50 mg/kg Group 3 - 150 mg/kg Group 4 - 500 mg/kg

Time 10 : About 0.5 hours after dosing; Time 20 : About 1 hours after dosing; Time 30 : 2 hours after dosing; Time 40 : About 4 hours after dosing; Time 50 : About 8 hours after dosing;

Table 1

Clinical Sign - Summary

B120716

Day numbers relative to Start Date

Group	Sex	Clinical Sign	8 a.m.
1	f	ANIMALS ALIVE	5
		ANIMALS NORMAL	5
2	f	ANIMALS ALIVE	5
		ANIMALS NORMAL	5
		Diarrhea	.
3	f	ANIMALS ALIVE	5
		ANIMALS NORMAL	5
		Diarrhea	.
4	f	ANIMALS ALIVE	5
		ANIMALS NORMAL	5
		Diarrhea	.

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 50 mg/kg Group 3 - 150 mg/kg Group 4 - 500 mg/kg

Time 10 : About 0.5 hours after dosing; Time 20 : About 1 hours after dosing; Time 30 : 2 hours after dosing; Time 40 : About 4 hours after dosing; Time 50 : About 8 hours after dosing;

Table 2 Body Weight - Summary

B120716

Bodyweight (g)

Sex: Male		Day(s) Relative to Start Date					
		1	2	4	8	11	15
0 mg/kg	Mean	166.98 ¹	196.38 ¹	216.34 ¹	253.94 ¹	282.14 ¹	316.88 ¹
	SD	5.94	6.58	6.39	6.84	7.62	7.09
	N	5	5	5	5	5	5
50 mg/kg	Mean	167.12	191.04	213.52	253.92	281.62	314.86
	SD	4.39	6.56	7.50	12.09	16.30	20.37
	N	5	5	5	5	5	5
150 mg/kg	Mean	166.46	184.86	210.26	251.74	282.98	320.62
	SD	5.38	6.35	10.14	12.30	16.20	19.58
	N	5	5	5	5	5	5
500 mg/kg	Mean	168.10	173.90 ^{dd2}	177.02 ^{dd2}	228.70 ^{dd2}	261.62	302.08
	SD	5.00	16.35	9.57	10.04	12.21	15.59
	N	5	5	5	5	5	5

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

1 [1 - Automatic Transformation: Identity]

2 [dd - Test: Dunnett 2 Sided p < 0.01]

Table 2 Body Weight - Summary

B120716

Bodyweight (g)

Sex: Female		Day(s) Relative to Start Date					
		1	2	4	8	11	15
0 mg/kg	Mean	137.96 ¹	162.68 ¹	170.60 ¹	188.96 ¹	203.28 ¹	219.36 ¹
	SD	5.45	7.68	8.51	13.59	13.41	16.00
	N	5	5	5	5	5	5
50 mg/kg	Mean	137.54	155.46	168.98	188.24	198.78	215.18
	SD	5.50	8.39	8.80	9.45	7.67	11.33
	N	5	5	5	5	5	5
150 mg/kg	Mean	137.72	155.24	170.90	195.32	210.44	217.08
	SD	6.26	4.69	8.81	16.00	26.47	25.85
	N	5	5	5	5	5	5
500 mg/kg	Mean	139.82	142.70 ^{dd2}	149.72 ^{dd2}	185.42	202.38	217.74
	SD	6.34	6.84	7.69	9.51	13.72	17.83
	N	5	5	5	5	5	5

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

1 [I - Automatic Transformation: Identity]

2 [dd - Test: Dunnett 2 Sided p < 0.01]

Table 3 Body Weight Gain - Summary

B120716

Absolute Weight Gain (g)

Sex: Male		Day(s) Relative to Start Date				
		2	4	8	11	15
0 mg/kg	Mean	29.40 R ¹	19.96 R ¹	37.60 I ²	28.20 I ²	34.74 I ²
	SD	3.45	1.38	1.63	2.10	5.13
	N	5	5	5	5	5
50 mg/kg	Mean	23.92 d ³	22.48	40.40	27.70	33.24
	SD	3.91	2.67	5.34	4.81	4.51
	N	5	5	5	5	5
150 mg/kg	Mean	18.40 dd ⁴	25.40 d ³	41.48	31.24	37.64
	SD	2.09	3.91	2.69	4.36	4.86
	N	5	5	5	5	5
500 mg/kg	Mean	5.80 dd ⁴	3.12	51.68 dd ⁵	32.92	40.46
	SD	12.49	11.20	3.98	2.88	4.27
	N	5	5	5	5	5

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

1 [R - Automatic Transformation: Rank]
 3 [d - Test: Dunnett Non-Parametric 2 Sided p < 0.05]
 5 [dd - Test: Dunnett 2 Sided p < 0.01]

2 [I - Automatic Transformation: Identity]
 4 [dd - Test: Dunnett Non-Parametric 2 Sided p < 0.01]

Table 3 Body Weight Gain - Summary

B120716

Absolute Weight Gain (g)

Sex: Female		Day(s) Relative to Start Date				
		2	4	8	11	15
0 mg/kg	Mean	24.72 ¹	7.92 ¹	18.36 ¹	14.32 ¹	16.08 ¹
	SD	2.98	2.74	5.28	4.01	5.21
	N	5	5	5	5	5
50 mg/kg	Mean	17.92	13.52	19.26	10.54	16.40
	SD	3.47	2.04	3.53	5.37	4.50
	N	5	5	5	5	5
150 mg/kg	Mean	17.52	15.66	24.42	15.12	6.64 ^{d2}
	SD	3.53	6.59	7.55	10.69	3.80
	N	5	5	5	5	5
500 mg/kg	Mean	2.88 ^{dd3}	7.02	35.70 ^{dd3}	16.96	15.36
	SD	8.20	5.99	7.34	4.55	5.53
	N	5	5	5	5	5

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

1 [I - Automatic Transformation: Identity]
 3 [dd - Test: Dunnett 2 Sided p < 0.01]

2 [d - Test: Dunnett 2 Sided p < 0.05]

Table 4 Food Consumption - Summary

B120716

Food Mean Daily Consumption (g/day)

Sex: Male		Day(s) Relative to Start Date			
		1 → 4	4 → 8	8 → 11	11 → 15
0 mg/kg	Mean	27.89 ¹	29.96 ¹	28.89 ¹	30.82 ¹
	SD	0.93	0.46	1.03	1.20
	N	5	5	5	5
50 mg/kg	Mean	27.36	31.27	30.90	31.51
	SD	2.04	3.30	3.01	2.39
	N	5	5	5	5
150 mg/kg	Mean	25.19	31.49	32.24	31.48
	SD	1.93	2.21	2.32	2.48
	N	5	5	5	5
500 mg/kg	Mean	11.63 ^{dd2}	29.04	32.31	32.15
	SD	3.51	1.57	1.71	1.66
	N	5	5	5	5

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

1 [1 - Automatic Transformation: Identity]

2 [dd - Test: Dunnett 2 Sided p < 0.01]

Table 4 Food Consumption - Summary

B120716

Food Mean Daily Consumption (g/day)

Sex: Female		Day(s) Relative to Start Date			
		1 → 4	4 → 8	8 → 11	11 → 15
0 mg/kg	Mean	2170 ¹	22.23 ¹	21.94 ¹	22.60 ¹
	SD	1.17	1.33	1.22	1.26
	N	5	5	5	5
50 mg/kg	Mean	20.59	21.58	20.93	22.44
	SD	1.63	1.12	1.47	2.08
	N	5	5	5	5
150 mg/kg	Mean	19.65	23.23	22.87	21.48
	SD	1.30	2.71	4.46	2.22
	N	5	5	5	5
500 mg/kg	Mean	8.51 ^{dd2}	25.35	24.95	22.27
	SD	3.68	2.18	4.73	2.15
	N	5	5	5	5

Statistical Test: Generalised Anova/Ancova Test Transformation: Automatic

1 [I - Automatic Transformation: Identity]

2 [dd - Test: Dunnett 2 Sided p < 0.01]