

文中表1 被験物質に起因すると思われる変化

Organs Findings	Fate	Scheduled sacrifice							
	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg/day)	0	5	20	80	0	5	20	80
	Number of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Duodenum									
Distention		0	0	0	4	0	0	0	2
Jejunum									
Distention		0	0	0	6	0	0	0	9
Ileum									
Distention		0	0	0	8	0	0	0	9
Liver									
Whitish patch, right lateral lobe		0	0	0	0	0	0	0	2
Enlargement, right lateral lobe		0	0	0	0	0	0	0	1
Mesenteric lymph node									
Enlargement		0	0	0	0	0	0	0	2

小腸（十二指腸～回腸）の拡張が 80 mg/kg/day 群の雌雄のほぼ全例で認められた。また、腸間膜リンパ節の腫大が同群の雌 2 例（#50407, #50410）で、肝臓外側右葉の白色斑が雌 2 例（#50404, #50409）でみられ、このうち雌 1 例（#50404）では外側右葉の腫大が認められた。

この他、精巣及び精巣上体の両側性の小型化が 80 mg/kg/day 群の雄 1 例（#10410）、片側精巣上体の結節が 5 mg/kg/day 群の雄 1 例（#10209）で認められ、病理組織学的にはそれぞれ中等度のび慢性精細管萎縮並びに軽微な間細胞の過形成、中等度の精巣上体管腔内精子の減少、精巣上体の軽微な精子肉芽腫であった。これらの変化はいずれも 1 例のみの発現で、自然発生性にも認められる変化であることから被験物質とは関連しないものと判断した。

7.11 病理組織学的検査

結果を Table 11 及び Appendix 10 に示す。

被験物質に起因すると思われる変化が雌雄の十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、腎臓、肺、脾臓、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、大腿骨骨髓、胸骨骨髓、胸腺、並びに雌の胃に認められた。

【被験物質に起因する空胞化】

被験物質に起因する空胞化に関連する変化が、雌雄の十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、腎臓、肺、脾臓、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、大腿骨骨髓、胸骨骨髓に認められた。その発現状況を文中表 2～5 に示す。

文中表2 空胞化に関連する変化(消化器系)

Organs Findings	Fate Sex Dose (mg/kg/day) Grade	Scheduled sacrifice							
		Male				Female			
		0	5	20	80	0	5	20	80
Duodenum		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Vacuolation, mucosal epithelium	1	0	0	3	9	0	0	0	9
Accumulation, foam cell, lamina propria	1	0	0	1	0	0	0	1	1
	2	0	0	0	10	0	0	0	9
Cell infiltration, neutrophil, lamina propria	1	0	0	0	4	0	0	0	6
	2	0	0	0	2	0	0	0	0
Jejunum		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Vacuolation, mucosal epithelium	1	0	2	5	10	0	0	3	9
Accumulation, foam cell, lamina propria	1	0	1	1	0	0	0	3	0
	2	0	0	9	7	0	0	7	6
	3	0	0	0	3	0	0	0	4
Cell infiltration, neutrophil, lamina propria	1	0	0	0	3	0	0	0	1
	2	0	0	0	1	0	0	0	3
Regeneration, mucosal epithelium	2	0	0	0	1	0	0	0	3
Ileum		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Vacuolation, mucosal epithelium	1	0	10	10	7	0	10	10	10
Accumulation, foam cell, lamina propria	1	0	8	0	0	0	8	3	0
	2	0	1	10	10	0	0	7	10
Cell infiltration, neutrophil, lamina propria	1	0	0	2	4	0	0	0	7
	2	0	0	0	1	0	0	0	2
Regeneration, mucosal epithelium	1	0	0	0	0	0	0	0	2
Hyperplasia, mucosal epithelium	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Cecum		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Vacuolation, mucosal epithelium	1	0	0	7	10	0	0	3	10
Colon		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Vacuolation, mucosal epithelium	1	0	0	0	2	0	0	0	2
Rectum		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Vacuolation, mucosal epithelium	1	0	0	1	10	0	0	1	10
Liver		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Vacuolation, hepatocyte, diffuse	1	0	0	0	3	0	0	0	3
	2	0	0	0	7	0	0	0	7
Vacuolation, bile ductal epithelium	1	0	0	10	10	0	0	10	10
Vacuolation, Kupffer cell	1	0	0	1	10	0	0	6	10
Necrosis, hepatocyte, focal	2	0	0	0	0	0	0	0	2

<, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate

消化管：十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸，直腸の粘膜上皮の空胞化が認められた。同変化は，雄の空腸，雌雄の回腸では 5 mg/kg/day 以上の群で，雄の十二指腸，雌の空腸，雌雄の盲腸，直腸では 20 mg/kg/day 以上の群で，雌の十二指腸，雌雄の結腸では 80 mg/kg/day 群に認められた。また，十二指腸，空腸，回腸の粘膜固有層に泡沫細胞の集簇が認められた。同変化は雄の空腸，雌雄の回腸では 5 mg/kg/day 以上の群で，雌雄の十二指腸，雌の空腸では 20 mg/kg/day 以上の群で認められた。これらの変化は用量の増加に伴って発生頻度及び程度が増強し，小腸では，粘膜固有層の好中球浸潤，粘膜上皮の再生または過形成といった細胞傷害とその修復を示唆する変化を伴っていた。

肝臓：肝細胞，胆管上皮，クッパー細胞の空胞化が認められた。同変化は，胆管上皮，クッパー細胞では 20 mg/kg/day 以上の群で，肝細胞では 80 mg/kg/day 群で認められ，用量の増加にともなって発生頻度または程度が増強した。このうち，肉眼的変化のみられた 80 mg/kg/day 群の雌 2 例では外側右葉の肝細胞の空胞化の程度が強く，白色斑領域に一致して軽度の限局性の肝細胞壊死が認められた。

文中表3 空胞化に関連する変化(泌尿器系)

Organs Findings	Fate Sex Dose (mg/kg/day) Grade	Scheduled sacrifice							
		Male				Female			
		0	5	20	80	0	5	20	80
Kidney		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Vacuolation, proximal tubular epithelium	1	0	0	0	7	0	0	0	7
Vacuolation, distal tubular epithelium	1	0	0	0	4	0	0	0	9
Vacuolation, epithelial cell, glomerulus	1	0	0	0	3	0	0	0	7

<>, Number of animals examined

1, Minimal

腎臓：近位尿細管上皮，遠位尿細管上皮，糸球体上皮細胞の空胞化が 80 mg/kg/day 群で認められた。

文中表4 空胞化に関連する変化(呼吸器系)

Organs Findings	Fate Sex Dose (mg/kg/day) Grade	Scheduled sacrifice							
		Male				Female			
		0	5	20	80	0	5	20	80
Lungs (and bronchus)		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Accumulation, foam cell, alveolus	1	1	0	1	3	0	0	0	0
	2	0	0	0	7	0	0	0	10

<>, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild

肺：肺胞内の泡沫細胞の集簇が対照群を含む 20 mg/kg/day 以上の群に認められた。同変化はラットでは自然発生性にみられる変化であることから，程度の強い例（グレード 2）のみられた 80 mg/kg/day 群のみ被験物質の影響と判断した。

文中表5 空胞化に関連する変化(リンパ系, 造血器系)

Organs Findings	Fate Sex Dose (mg/kg/day) Grade	Scheduled sacrifice							
		Male				Female			
		0	5	20	80	0	5	20	80
Spleen		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Accumulation, foamy macrophage	1	0	0	10	0	0	0	10	0
	2	0	0	0	7	0	0	0	7
	3	0	0	0	3	0	0	0	3
Vacuolation, macrophage, marginal zone	1	0	0	10	10	0	0	10	10
Cell infiltration, neutrophil	1	0	0	0	9	0	0	0	7
Necrosis, macrophage	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Mesenteric lymph node		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Accumulation, foamy macrophage, sinus	1	0	6	6	1	0	2	9	1
	2	0	0	4	9	0	0	1	9
Cell infiltration, neutrophil, sinus	1	0	0	0	0	0	0	0	4
Necrosis, macrophage, sinus	1	0	1	1	7	0	0	1	4
	2	0	0	1	1	0	0	0	2
Mandibular lymph node		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Accumulation, foamy macrophage, sinus	1	0	0	0	5	0	0	0	7
Bone marrow (femur)		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Increase, hematopoietic cell, granulocytic	1	0	0	0	2	0	0	0	4
Bone marrow (sternum)		<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>	<10>
Increase, hematopoietic cell, granulocytic	1	0	0	0	2	0	0	0	6

<>, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate

脾臓：濾胞辺縁帯のマクロファージの空胞化及び泡沫マクロファージの集簇が 20 mg/kg/day 以上の群で認められ、用量の増加に伴って発生頻度又は程度が増強し、80 mg/kg/day 群では好中球浸潤が認められた。また、80 mg/kg/day 群の雌 1 例では集簇した泡沫マクロファージが壊死に陥る像が認められた。

腸間膜リンパ節：洞内の泡沫マクロファージの集簇が 5 mg/kg/day 群以上で認められ、用量の増加にともなって発生頻度ならびに程度が増強した。また、洞マクロファージの壊死が 5 mg/kg/day 以上の群の雄、20 mg/kg/day 以上の群の雌で、洞内への好中球浸潤が 80 mg/kg/day 群の雌で認められた。

下顎リンパ節：洞内の泡沫細胞の集簇が 80 mg/kg/day 群で認められた。

大腿骨骨髓及び胸骨骨髓：顆粒球系の造血亢進が 80 mg/kg/day 群で認められた。

なお、ナイル青染色では、80 mg/kg/day 群の雄 2 例ともに空腸粘膜上皮の空胞及び固有層の泡沫細胞に一致して陽性反応（赤～青紫色）が認められ、脂質の細胞質内蓄積が疑われたが、肝臓や腎臓では反応が明らかでなく、空胞化が同一物質の蓄積によるものかは判断できなかった。また、ルクソール・ファスト・ブルー染色では、いずれの組織においても空胞及び泡沫細胞に一致して陽性反応（暗青色～青紫色）は認められなかった。

【ストレスに起因すると思われる変化】

胸腺の軽微なリンパ球核崩壊像の増加が 80 mg/kg/day 群の雄 3 例, 雌 2 例でみられ, 軽微な腺胃粘膜上皮の単細胞壊死が 80 mg/kg/day 群の雌 1 例で認められた。

このほか種々の組織変化が対照群を含む各群で認められた。しかし, それらはラットでは自然発生性に発現する変化であり, その発現状況に明らかな群間差がみられないことから, 被験物質とは関連のない変化と判断した。

7.12 トキシコキネティクス (TK) 測定

結果を Figure 1, 2, Table 12 及び Appendix 11 に示す。

P092 を 5, 20, 及び 80 mg/kg/day の用量で初回投与後の C_{max} 及び T_{max} は, 雄においてそれぞれ BLQ, 7.78 ng/mL 及び 1.0 h, 28.8 ng/mL 及び 1.0 h, 雌においてそれぞれ BLQ, 9.39 ng/mL 及び 1.0 h, 18.8 ng/mL 及び 2.0 h であった。 AUC_{0-24h} は雄においてそれぞれ 0, 28.1, 及び 244 ng·h/mL, 雌においてそれぞれ 0, 42.8, 及び 128 ng·h/mL であった。

P092 を 5, 20, 及び 80 mg/kg/day の用量で反復投与後の C_{max} 及び T_{max} は, 雄においてそれぞれ BLQ, 17.5 ng/mL 及び 0.8 h, 23.9 ng/mL 及び 1.3 h, 雌においてそれぞれ BLQ, 29.3 ng/mL 及び 0.8 h, 39.3 ng/mL 及び 3.7 h であった。 AUC_{0-24h} は雄においてそれぞれ 9.13, 169, 及び 349 ng·h/mL, 雌においてそれぞれ 2.97, 252, 及び 477 ng·h/mL であった。

平均血漿中濃度, C_{max} , 及び AUC_{0-24h} は用量の増加に伴い増加した。反復投与後は 80 mg/kg/day 群の雄の C_{max} を除き, いずれも増加する傾向が見られた。また, 明らかな性差は見られなかった。

8. 考察

P092 をラット (CrI: CD (SD), 雌雄各 10 匹/群) に, 0, 5, 20 及び 80 mg/kg/day の用量で, 4 週間反復経口投与し, 発現する毒性変化を評価した。

一般状態観察において, 80 mg/kg/day 群の雄 2 例及び雌 4 例で投与直後の流涎が投与期間後期に認められた。

5 mg/kg/day 以上の群の雌, 20 mg/kg/day 以上の群の雌雄で体重の増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。尿検査において, 80 mg/kg/day 群の雌雄で尿量の増加傾向, 尿比重, 尿電解質の濃度及び排泄量の減少又は減少傾向が認められた。

血液学的検査において, 20 mg/kg/day 以上の群の雌雄で血小板数の増加が認められた。20 mg/kg/day 群の雄, 80 mg/kg/day 群の雌雄でヘモグロビン濃度, ヘマトクリット値の減少がみられ, 80 mg/kg/day 群の雌雄で MCV 及び MCH の減少が認められた。さらに 80 mg/kg/day 群の雌雄で白血球数の増加に伴う好中球数, 好中球比率, リンパ球数及び単球数の増加, 並びに好酸球比率及びリンパ球比率の減少又は減少傾向が認められた。好中球数の増加は 20 mg/kg/day 群の雌でも認められた。好塩基球比率及び好塩基球数の増加が 80 mg/kg/day 群の雌で認められた。これらの変化は 80 mg/kg/day 群の雌雄の病理組織学的検査で認められた大腿骨骨髓及び胸骨骨髓の顆粒球系の造血亢進と関連のある変化と考えられた。

血液生化学的検査において, 20 mg/kg/day 以上の群の雌雄で総蛋白, A/G 比, アルブミン比率及びアルブミン濃度の減少, α_2 -グロブリン比率及び α_2 -グロブリン濃度, β -グロブリン比率及び β -グロブリン濃度の増加又は増加傾向, 20 mg/kg/day 以上の群の雌でグルコースの減少, 20 mg/kg/day 群の雌及び 80 mg/kg/day 群の雌雄で総コレステロール及びリン脂質の減少が認められた。これらの変化は, 摂餌量の減少と関連のある変化と推察された。また, 80 mg/kg/day 群の雌雄で尿素窒素の増加が認められた。尿素窒素の増加は, クレアチニンの増加がみられず, 腎臓にも傷害性の組織変化がないことから, 毒性学的意義は低いと考えられた。80 mg/kg/day 群の雌でトリグリセライドの増加が認められた。トリグリセライドの増加は病理組織学的検査で認められた諸臓器の空胞化と関連のある変化と考えられた。

器官重量測定において, 80 mg/kg/day 群の雌雄で肝臓の実重量及び相対重量の増加又は増加傾向が認められた。肝重量の増加は, 病理組織学的検査で認められた肝臓の空胞化と関連のある変化と考えられた。

病理組織学的検査では, 雌雄で消化管, 肝臓, 腎臓, 肺, 脾臓, 腸間膜リンパ節, 下顎リンパ節, 大腿骨骨髓, 胸骨骨髓の空胞化又は空胞化に関連する変化が認められた。これらの空胞化はリン脂質症と推察された。また, 胸腺の軽微なリンパ球核崩壊像の増加が 80 mg/kg/day 群の雌雄でみられ, 軽微な腺胃粘膜上皮の単細胞壊死が 80 mg/kg/day 群の雌で認められた。80 mg/kg/day 群では雌雄ともに体重増加の抑制傾向が認められていることから, これらはストレスに起因する変化と考えられた。

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。初回投与と比較して最終回投与の C_{\max} 及び AUC_{0-24h} が 80 mg/kg/day 群の雄の C_{\max} を除き、いずれも増加する傾向が見られた。

以上の結果から、摂餌量の減少を伴う体重増加抑制及び消化管の空胞化が 5 mg/kg/day 群で認められたことから、本実験条件下での P092 の無毒性量は、雌雄とも 5 mg/kg/day 未満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 なし

9.2 試験計画書に従わなかったこと

- (1) 試験計画書では被験物質投与液の調製頻度を「投与前に1回」と記載していたが、実際には、4日間～7日間の頻度で調製した。しかし、明らかな誤記載であり、安定性及び均一性を確認した範囲で調製し、投与を実施していることから、試験の信頼性に与える影響はないものと判断した。
- (2) 試験計画書では尿検査の色調について、統計学的解析をすることになっていたが、実際には実施しなかった。しかし、明らかな誤記載であり、色調に異常はみられなかったことから、試験の信頼性に与える影響はないものと判断した。
- (3) 保存用被験物質を除いた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、試験の信頼性に与える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

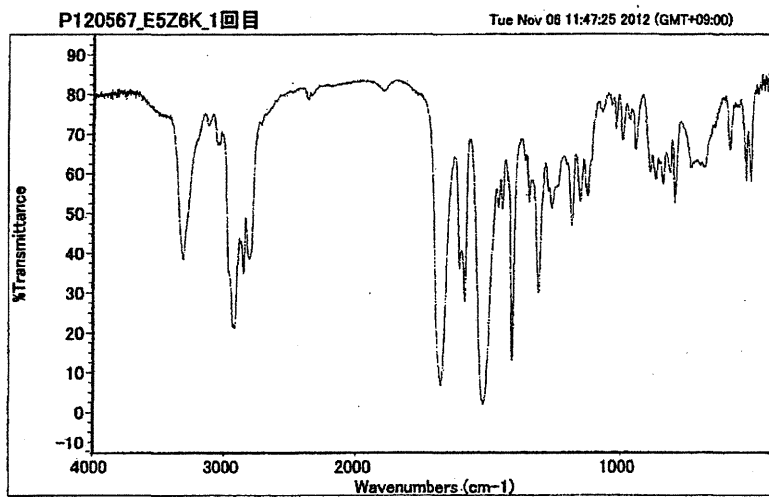


図 1 IR スペクトル(ロット番号 : E5Z6K)

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 of 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

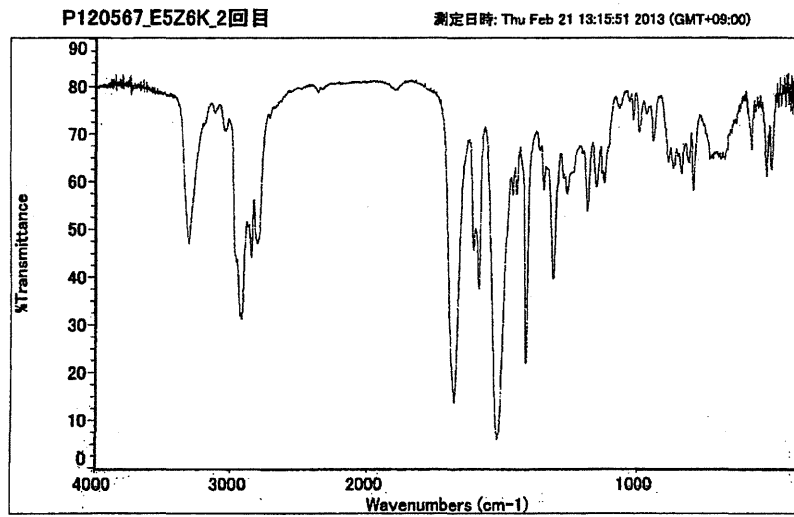


図 1 IR スペクトル(ロット番号 : E5Z6K)

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

Certification No. B120716-001

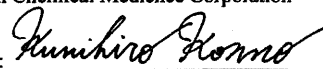
Certificate of Analysis

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.: ESZ6K
 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.: B120720-001)

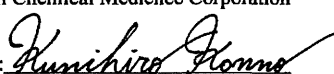
Certification No. B120720-001

Certificate of Analysis

November 29, 2012

Kashima Laboratory

Mitsubishi Chemical Medicine Corporation

Chief Analyst: 

Kunihiro Konno

Analyst: Naomi Ogishima

Study No.: B120720
 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% MC]
 (Nominal concentration: 0.5 mg/mL, 2 mg/mL, and 8 mg/mL)

Analysis: HPLC
 Date of Analysis: November 27, 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 (%)
0.5	Top 0.521	0.522 \pm 0.0095	1.8	104.4
	Middle 0.532			
	Bottom 0.513			
2	Top 2.06	2.05 \pm 0.015	0.7	102.5
	Middle 2.05			
	Bottom 2.03			
8	Top 8.32	8.36 \pm 0.040	0.5	104.5
	Middle 8.35			
	Bottom 8.40			

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

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

Annex 5 : Certificate of Analysis (Certification No.: B120720-002)

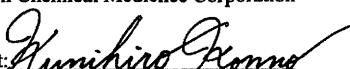
Certification No. B120720-002

Certificate of Analysis

December 26, 2012

Kashima Laboratory

Mitsubishi Chemical Medicine Corporation

Chief Analyst: 

Kunihiro Konno

Analyst: Naomi Ogishima

Study No.: B120720
 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% MC]
 (Nominal concentration: 0.5 mg/mL, 2 mg/mL, and 8 mg/mL)

Analysis: HPLC
 Date of Analysis: December 21, 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 (%)
0.5	Top 0.489	0.483 \pm 0.0085	1.8	96.6
	Middle 0.473			
	Bottom 0.486			
2	Top 2.01	2.00 \pm 0.040	2.0	100.0
	Middle 1.96			
	Bottom 2.04			
8	Top 8.21	8.23 \pm 0.044	0.5	102.9
	Middle 8.20			
	Bottom 8.28			

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

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

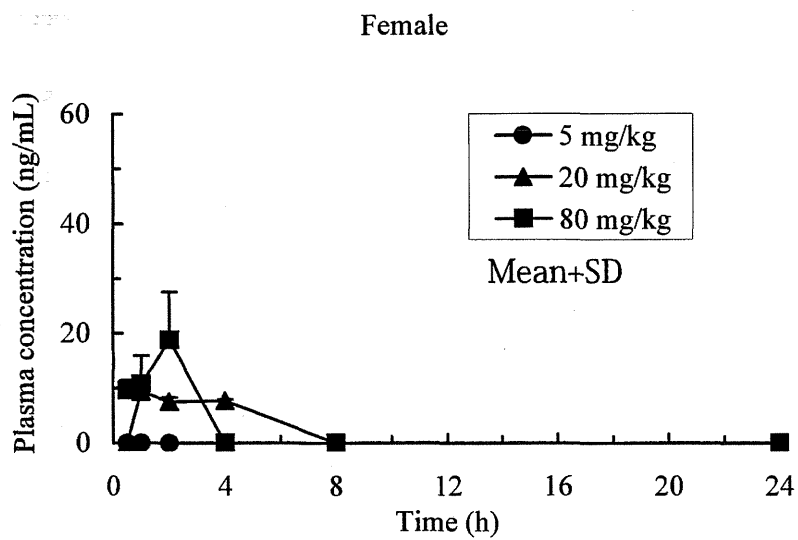
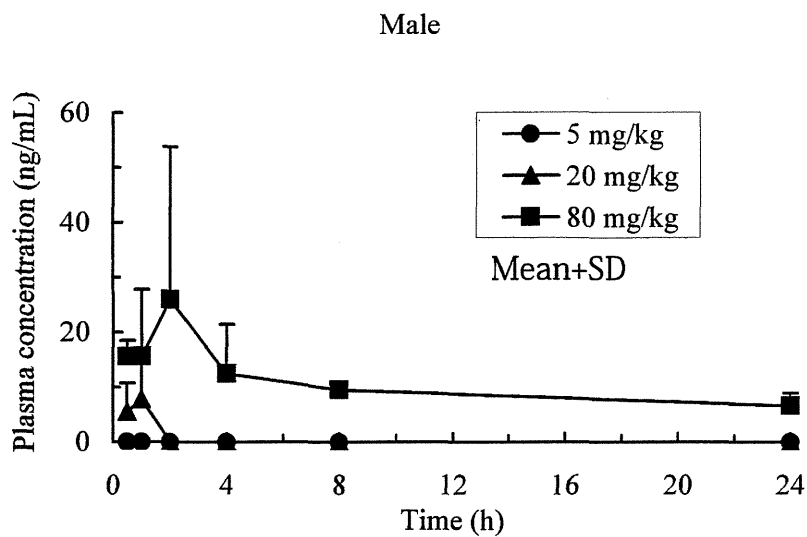


Figure 1 Mean Plasma Concentration Time Profiles of P092 (Day 1)

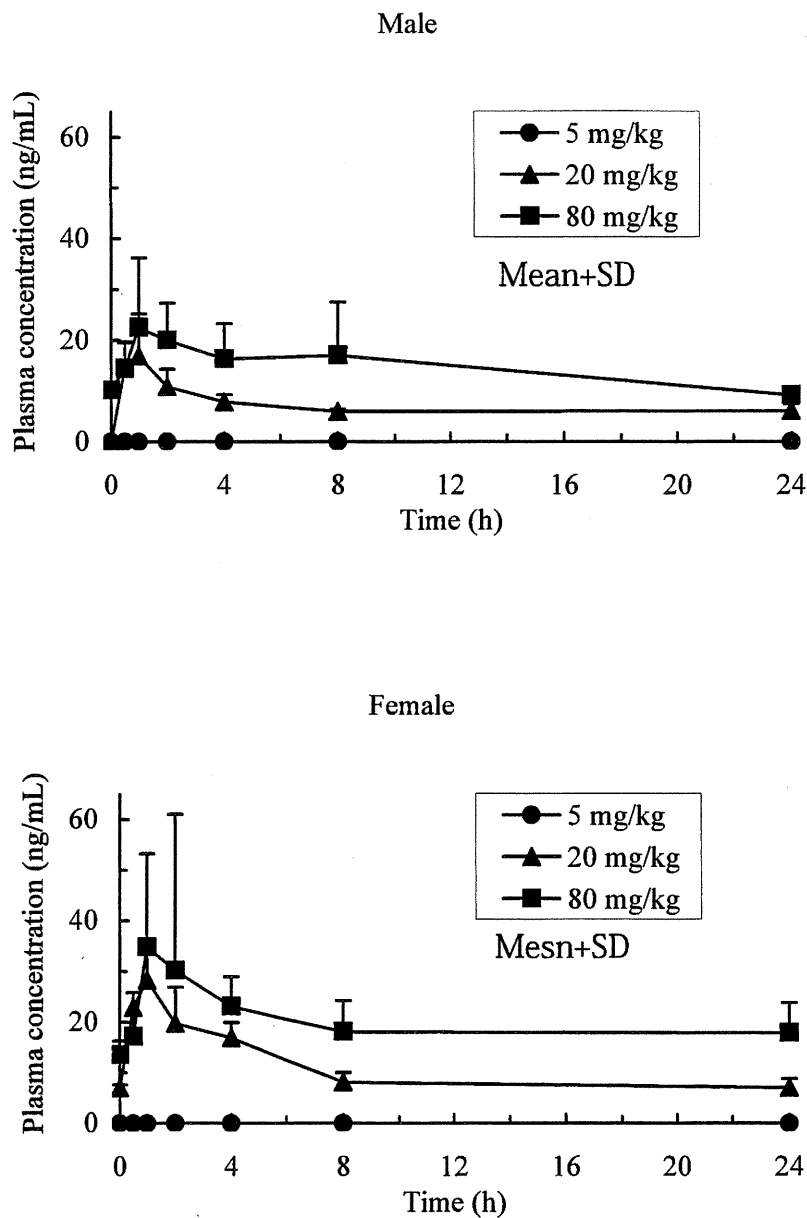


Figure 1 Mean Plasma Concentration Time Profiles of P092 (Day 28)

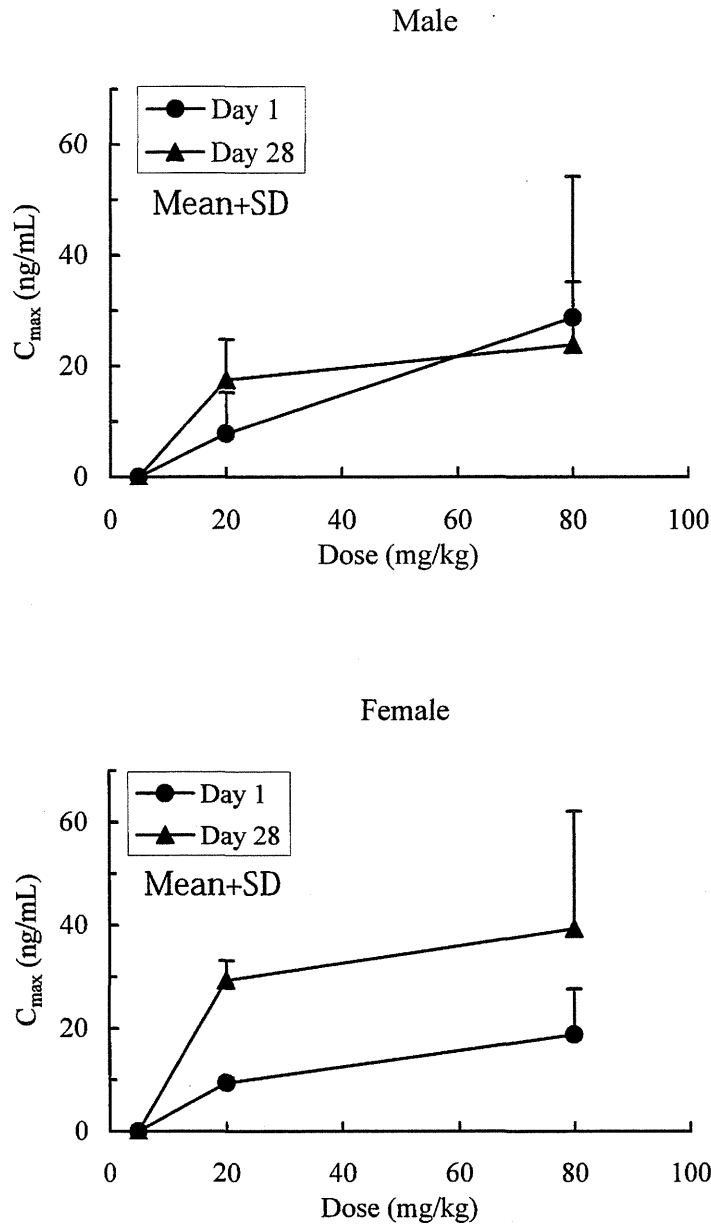


Figure 2 Relationship between the dose and C_{max} of P092

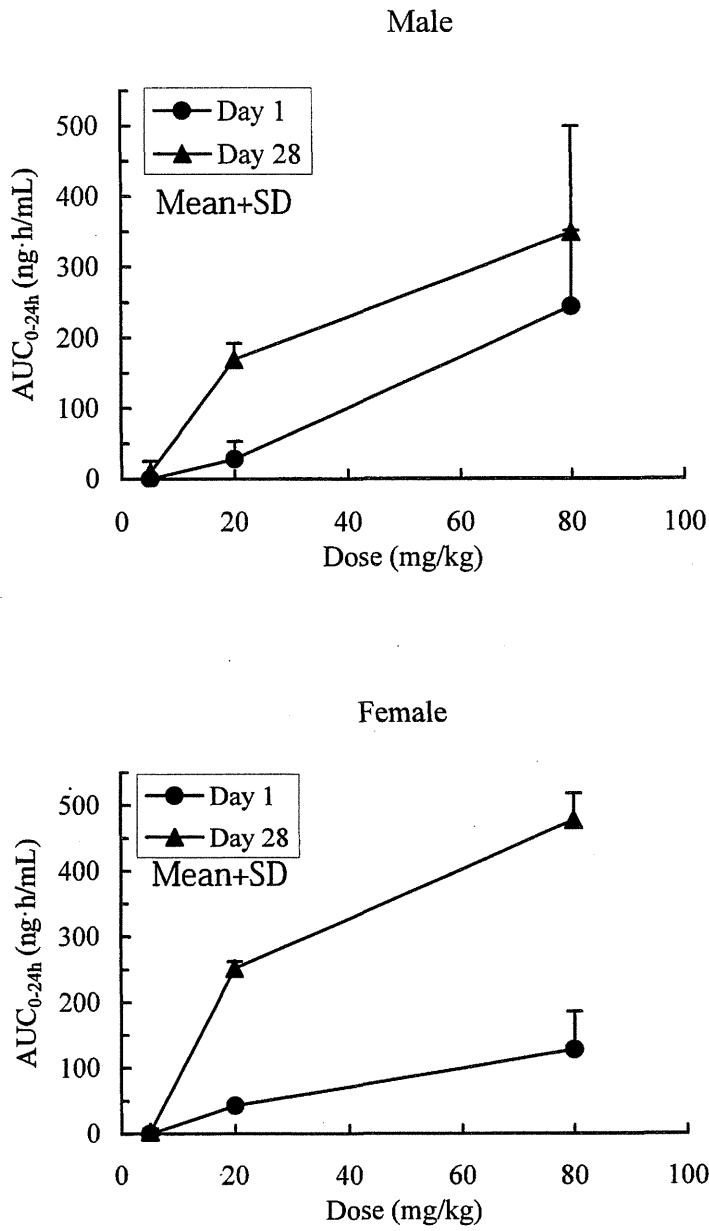


Figure 2 Relationship between the dose and AUC_{0-24h} of P092

Table 1

Clinical Sign - Summary

B120720

Group	Sex	Clinical Sign	Day numbers relative to Start Date											
			1 Before dosing	1 Time 10	2 Before dosing	2 Time 10	3 Before dosing	3 Time 10	4 Before dosing	4 Time 10	5 Before dosing	5 Time 10	6 Before dosing	6 Time 10
1	m	ANIMALS ALIVE	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		ANIMALS NORMAL	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
2	m	ANIMALS ALIVE	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		ANIMALS NORMAL	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
3	m	ANIMALS ALIVE	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		ANIMALS NORMAL	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
4	m	ANIMALS ALIVE	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		ANIMALS NORMAL	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Salivation

Group 1 - 0 mg/kg Group 2 - 5 mg/kg Group 3 - 20 mg/kg Group 4 - 80 mg/kg

Day 1 to 23: Time 10, About 2 hours after dosing

Day 24 to 28: Time 10 Just after dosing; Time 20, About 2 hours after dosing