

Appendix 13 Body Weight TK Satellite group B120720

Sex: Female Bodyweight (g)

5 mg/kg	Day(s) Relative to Start Date								
	1	4	8	11	15	18	22	25	28
60201	179.0	181.5	191.7	189.8	199.5	216.6	225.2	233.5	238.4
60202	164.2	165.3	179.2	181.1	194.4	206.1	217.4	225.2	232.1
60203	165.1	173.9	190.3	198.5	208.6	223.6	231.6	240.9	248.1

Appendix 13 Body Weight TK Satellite group B120720

Sex: Female Bodyweight (g)

20 mg/kg	Day(s) Relative to Start Date								
	1	4	8	11	15	18	22	25	28
60301	167.5	172.1	190.7	208.8	223.1	233.9	244.1	229.0	249.9
60302	163.8	167.9	188.0	202.9	215.5	224.2	238.4	243.3	245.0
60303	162.2	167.0	175.5	192.5	203.7	202.4	212.9	224.8	227.5

Appendix 13 Body Weight TK Satellite group B120720

Sex: Female Bodyweight (g)

80 mg/kg	Day(s) Relative to Start Date								
	1	4	8	11	15	18	22	25	28
60401	164.1	166.3	184.5	193.3	202.8	209.8	219.7	228.5	236.1
60402	185.2	183.3	203.0	207.5	216.3	222.1	231.2	217.1	233.1
60403	160.9	159.8	176.8	187.2	199.9	207.2	213.8	226.5	229.5

信 頼 性 保 証 証 明 書


試験委託者 : 国立大学法人岐阜大学
 表 題 : P092 のラットを用いる4週間反復経口投与毒性試験
 試験番号 : B120720

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。

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)

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	2012年11月20日 ～2012年11月21日	2012年11月21日	2012年11月21日
(再調査)	2012年11月21日	2012年11月21日	2012年11月21日
コンピュータプロトコール	2012年11月21日	2012年11月21日	2012年11月21日
コンピュータプロトコール	2012年11月27日	2012年11月27日	2012年11月27日
試験計画書変更書 (1)	2012年11月27日	2012年11月27日	2012年11月27日
試験計画書変更書 (2)	2012年12月25日	2012年12月25日	2012年12月25日
試験実施状況			
動物入荷,体重測定	2012年11月21日	2012年11月21日	2012年11月21日
被験物質投与液の調製	2012年11月27日	2012年11月27日	2012年11月27日
被験物質投与液の濃度, 均一性分析	2012年11月27日	2012年11月27日	2012年11月27日
眼科学的検査	2012年11月27日	2012年11月27日	2012年11月27日
群分け	2012年11月27日	2012年11月27日	2012年11月27日
投与, 一般状態観察, TK採血	2012年11月28日	2012年11月28日	2012年11月28日
摂餌量測定	2012年12月05日	2012年12月05日	2012年12月05日
分析前処理, TK測定	2012年12月17日	2012年12月17日	2012年12月17日
尿検査	2012年12月19日	2012年12月19日	2012年12月19日
器官重量の測定, 病理解剖検査	2012年12月26日	2012年12月26日	2012年12月26日
血液学的検査	2012年12月26日	2012年12月26日	2012年12月26日
血液生化学的検査	2012年12月26日	2012年12月26日	2012年12月26日
病理組織学的検査	2013年01月07日	2013年01月07日	2013年01月07日
試験資料・最終報告書			
試験資料・最終報告書草案	2013年03月06日 ～2013年03月11日	2013年03月11日	2013年03月11日
(再調査)	2013年03月13日	2013年03月13日	2013年03月13日
試験資料・最終報告書	2013年03月14日	2013年03月14日	2013年03月14日

2013年 3月 14日
 信頼性保証部門責任者



 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

9. サル血漿中 P092 濃度測定法

バリデーション

B120712

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式会社 鹿島研究所
2013年1月30日
試験責任者 木元 かなえ 

最終報告書

サル血漿中 P092 濃度測定法バリデーション

(試験番号 : B120712)

三菱化学メディエンス株式会社

1. 陳述書

表 題： サル血漿中 P092 濃度測定法バリデーション

試験番号： B120712

本試験は下記の基準に従って実施され、本報告書はその結果を正しく記載したものである。

「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)

試験責任者：

2013年 1月29日

松元 さなえ



松元 さなえ

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

分析代謝研究部 薬物分析1グループ

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 信頼性基準	6
3.6 信頼性保証部門による調査	6
3.7 試験委託者	6
3.8 試験受託者	6
3.9 試験施設	6
3.10 試験責任者	6
3.11 試験従事者	7
3.12 試験日程	7
3.13 保存	7
3.14 保存する資料	7
4. 試験責任者署名	8
5. 要約	9
6. 材料及び方法	10
6.1 測定対象標準物質	10
6.2 内標準物質 (IS)	10
6.3 試薬	10
6.4 ブランク血漿	10
6.5 サル血漿中 P092 濃度測定法	10
6.5.1 P092 標準試料溶液の調製	10
6.5.2 IS 試料溶液の調製	11
6.5.3 検量線用標準試料溶液の調製	11
6.5.4 バリデーション QC サンプルの調製	12
6.5.5 安定性確認用 QC サンプルの調製	12
6.5.6 前処理操作方法	12
6.5.7 分析条件	13
6.6 分析法バリデーション	13
6.6.1 特異性	13
6.6.2 検量線	14
6.6.3 キャリーオーバー	14
6.6.4 定量下限	14
6.6.5 日内再現性	15

6.6.6	日間再現性.....	15
6.6.7	回収率.....	15
6.6.8	希釈妥当性.....	15
6.6.9	測定実測試料の安定性.....	16
6.6.10	凍結融解安定性.....	16
6.6.11	短期室温安定性.....	16
6.6.12	長期安定性.....	16
6.7	データ解析.....	17
6.7.1	検量線の作成及び定量値の算出.....	17
6.7.2	定量値.....	17
6.7.3	ピーク面積.....	17
6.7.4	%表記値.....	17
7.	結果及び考察.....	18
7.1	分析法バリデーション.....	18
7.1.1	特異性.....	18
7.1.2	検量線.....	18
7.1.3	キャリーオーバー.....	18
7.1.4	定量下限.....	18
7.1.5	日内再現性.....	18
7.1.6	日間再現性.....	18
7.1.7	回収率.....	18
7.1.8	希釈妥当性.....	19
7.1.9	測定実測試料の安定性.....	19
7.1.10	凍結融解安定性.....	19
7.1.11	短期室温安定性.....	19
7.1.12	長期安定性.....	19
8.	特記事項.....	20
8.1	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.....	20
8.2	試験計画書に従わなかったこと.....	20

Tables and Figure

Table 1	Selectivity.....	21
Table 2	Calibration curve.....	22
Table 3	Carryover.....	23
Table 4	Lower limit of quantification.....	23
Table 5	Within-run accuracy and precision.....	24
Table 6	Between-run accuracy and precision.....	25
Table 7	Recovery.....	26
Table 8	Dilution suitability.....	26

Table 9	Post-preparative stability.....	27
Table 10	Freeze and thaw stability.....	28
Table 11	Short-term stability at room temperature.....	28
Table 12	Long-term stability.....	29
Figure 1	Typical chromatograms of selectivity.....	30
	信頼性保証証明書.....	31

最終項 : 31 ページ

3. 試験実施概要

3.1 表題

サル血漿中 P092 濃度測定法バリデーション

3.2 試験番号

B120712

3.3 試験目的

サル血漿中 P092 濃度を定量するための分析法の妥当性を検証する。

3.4 適用ガイドライン

Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation

(Center for Drug Evaluation and Research, Center for Veterinary Medicine, FDA, dated May 2001)

3.5 信頼性基準

「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)

3.6 信頼性保証部門による調査

試験計画書, 試験計画書変更書, 試験資料, 最終報告書草案及び最終報告書を調査し, 信頼性保証証明書を最終報告書に添付した。

3.7 試験委託者

岐阜大学

岐阜県岐阜市柳戸 1 番 1 (〒501-1193)

試験委託責任者: 桑田 一夫

3.8 試験受託者

三菱化学メディエンス株式会社

東京都港区芝浦四丁目 2 番 8 号 (〒108-8559)

3.9 試験施設

三菱化学メディエンス株式会社 鹿島研究所

茨城県神栖市砂山 14 番地 1 (〒314-0255)

3.10 試験責任者

松元 さなえ

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 分析代謝研究部 薬物分析 1 グループ

TEL : 0479-46-4024, FAX : 0479-46-3173

E-mail : Matsumoto.Sanae@mm.medience.co.jp

3.11 試験従事者

明石 百恵

3.12 試験日程

試験開始	2012年8月10日
実験開始	2012年8月14日
実験終了	2012年11月27日
試験終了	本最終報告書への試験責任者署名日とする。

3.13 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。

3.14 保存する資料

- (1) 試験計画書及び試験計画書変更書
- (2) 測定対象標準物質及び内標準物質に関する資料
- (3) 試験結果に関する資料
- (4) 通信文書等の記録文書
- (5) 最終報告書

4. 試験責任者署名

表 題： サル血漿中 P092 濃度測定法バリデーション

試験番号： B120712

試験責任者：

2013年 1月 29日

松元 さなえ



松元 さなえ

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

分析代謝研究部 薬物分析1グループ

5. 要約

LC-MS/MS を用いたサル血漿中 P092 濃度測定のための分析法を確立し、バリデーションを実施した。

本法では、試料としてサル血漿 20 μ L を、内標準物質として p-アセトアミドフェノールを用い、前処理方法には OASIS HLB μ Elution 96-well plate を用いる固相抽出法を適用した。測定は、逆相系 HPLC、エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) 及びマルチリアクションモニタリング法 (MRM) により実施した。

本法における P092 の特異性について、雌雄各 3 個体から得られたサルブランク血漿中において、クロマトグラム上、P092 及び内標準物質のピークを妨害する成分は認められなかった。血漿中 P092 濃度算出のための検量線には、 $1/x$ (x : 血漿中 P092 濃度) の重み付き直線回帰式を採用し、濃度範囲 5~1000 ng/mL で良好な直線性を示した。定量上限からのキャリーオーバーは、P092 及び内標準物質のいずれも許容基準を満たした。

定量下限濃度 (5 ng/mL) の添加血漿試料を用いて再現性を確認した結果、真度と精度の許容基準を満たした。また、10、50 及び 800 ng/mL の添加血漿試料を用いて日内及び日間再現性を検討した結果、いずれの濃度においても真度と精度の許容基準を満たした。

10 及び 800 ng/mL の添加血漿試料を用いて得られた P092 の回収率はそれぞれ 76.5% 及び 85.5%、内標準物質の回収率はそれぞれ 33.7% 及び 35.7% (P092 濃度が 10 及び 800 ng/mL の場合それぞれで算出) であった。希釈妥当性においても 10 倍希釈において許容基準を満たした。

血漿試料を前処理した後の測定試料溶液中の P092 は、オートサンプラ中 (設定温度: 10°C) で 36 時間安定であった。サル血漿中の P092 は凍結・融解を 3 回まで繰り返しても安定であり、また、室温では 4 時間、約 -80°C での凍結保存では 1 ヶ月間 (32 日間) 安定であることが確認された。

以上の結果より、本法はサル血漿中 P092 濃度測定のための分析法として適用できるものと判断した。

6. 材料及び方法

6.1 測定対象標準物質

名称:	P092
ロット番号:	20120711
純度:	95.8%
補正係数:	0.958
	補正係数 = (純度/100)
保存条件:	室温 (実測値: 17.5~21.9°C, 許容範囲: 10~30°C)
保管場所:	被験物質保管場所 (41)
提供者:	岐阜大学
安定性の確認:	安定性に関する資料を入手し, 確認した.
取り扱い上の注意:	保護具 (ゴム手袋, 眼鏡及びマスク) 着用
残余標準物質の処置:	被験物質管理責任者へ移管した.

6.2 内標準物質 (IS)

名称:	p-アセトアミドフェノール
ロット番号:	WEQ6871
分子量:	151.16
保存条件:	室温 (実測値: 17.5~21.9°C, 許容範囲: 10~30°C), 遮光
保管場所:	被験物質保管場所 (41)
製造元:	和光純薬工業株式会社
取り扱い上の注意:	保護具 (ゴム手袋, 眼鏡及びマスク) 着用

6.3 試薬

特級もしくは HPLC 用の試薬を使用した。水は超純水製造装置 (Elix-UV10, MILLI-Q Gradient-A10, メルク株式会社) で精製したものをを用いた。

6.4 ブランク血漿

動物種:	カニクイザル
投与歴:	なし
抗凝固剤:	ヘパリンナトリウム
入手先:	当研究所で飼育中の動物より採取した.
保存条件:	約-20°C (実測値: -29.3~-22.2°C, 許容範囲: -40~-15°C)

6.5 サル血漿中 P092 濃度測定法

同時期に当施設で実施した試験「ラット血漿中 P092 濃度測定法バリデーション」(試験番号: B120711) において調製した移動相, 試薬類, P092 標準試料原液及び溶液, IS 試料原液及び溶液を本試験においても使用した。

6.5.1 P092 標準試料溶液の調製

P092 を 10.4 mg (10.0/0.958 [補正係数]=10.4) 正確に量り, メタノールに溶解し, 全量を 50 mL とした (200 µg/mL) (ガラス製メスフラスコを使用)。溶解の際, 超音波処理を実施した。この溶液を P092 標準試料原液 (SS) とし, 次表に従ってメタノールで順次希釈し, 以

下の標準試料溶液を調製した。

P092 標準試料原液及び溶液はポリプロピレン (PP) 製容器にて冷蔵・遮光保存 (実測値: 3.9 ~ 6.4°C, 許容範囲: 1~10°C) した。これらの溶液は、調製後 2 日以内に使用した。

標準試料溶液 略称	標準試料溶液濃度 (ng/mL)	使用標準試料溶液 略称	使用量 (μ L)*	メタノール添 加量(μ L)*
WS-40000	40000	SS	200	800
WS-4000	4000	WS-40000	100	900
WS-1000	1000	WS-4000	250	750
WS-800	800	WS-4000	200	800
WS-500	500	WS-1000	500	500
WS-200	200	WS-1000	200	800
WS-100	100	WS-500	200	800
WS-50	50	WS-500	100	900
WS-20	20	WS-200	100	900
WS-10	10	WS-100	100	900
WS-5	5	WS-50	100	900

*: マイクロピペットを使用

6.5.2 IS 試料溶液の調製

IS を 5 mg 正確に量り、メタノールに溶解、全量を 50 mL として IS 試料原液 (100 μ g/mL) を調製した (ガラス製メスフラスコを使用)。この溶液を IS 試料原液 (ISSS) とし、次表に従ってメタノールで希釈し IS 試料溶液 (200 ng/mL, ISWS) を調製した。

ISSS は PP 製容器にて冷蔵・遮光保存 (実測値: 3.9~6.4°C, 許容範囲: 1~10°C) した。ISSS は、調製後 3 日以内に使用し、ISWS は用時調製とした。

IS 試料溶液 略称	IS 試料溶液濃度	使用 IS 試料溶液 略称	使用量 (μ L)*	メタノール添加量 (μ L)*
ISWS-1	5 μ g/mL	ISSS	50	950
ISWS	200 ng/mL	ISWS-1	40	960

*: マイクロピペットを使用

6.5.3 検量線用標準試料溶液の調製

PP 製マイクロチューブにブランク血漿 20 μ L を分取後、水/ギ酸 (1000:1, v/v) 400 μ L を添加し、ブランク試料、ゼロ試料についてはメタノールを 20 μ L、検量線用標準試料溶液 (C1 ~ C8) については、次表に従い P092 標準試料溶液を 20 μ L 添加した。

略称	血漿中濃度 (ng/mL)	P092 標準試料溶液略称
C1 (LLOQ)	5	WS-5
C2	10	WS-10
C3	20	WS-20
C4	50	WS-50
C5	100	WS-100
C6	200	WS-200
C7	500	WS-500
C8 (ULOQ)	1000	WS-1000

LLOQ: lower limit of quantification

ULOQ: upper limit of quantification

6.5.4 バリデーション QC サンプルの調製

PP 製マイクロチューブにブランク血漿 20 μ L を分取後、水/ギ酸 (1000:1, v/v) 400 μ L を添加し、次表に従い P092 標準試料溶液を 20 μ L 添加した。

略称	血漿中濃度 (ng/mL)	P092 標準試料溶液略称
Low QC	10	WS-10
Middle QC	50	WS-50
High QC	800	WS-800

6.5.5 安定性確認用 QC サンプルの調製

PP 製マイクロチューブに次表の条件で P092 標準試料溶液を 20 μ L 分取、窒素乾固後、ブランク血漿を 20 μ L 添加、攪拌し、安定性確認用 QC サンプルを調製した。調製直後に使用しないものについては、分析時まで約 -80°C (実測値: -85.2°C ~ -65.3°C , 許容範囲: -60°C 以下) で保存した。

略称	血漿中濃度 (ng/mL)	P092 標準試料溶液略称
Low stability QC	10	WS-10
High stability QC	800	WS-800

6.5.6 前処理操作方法

- (1) PP 製マイクロチューブに血漿 20 μ L を分取した。
- (2) 水/ギ酸 (1000:1, v/v) 400 μ L を添加した。
- (3) メタノール 20 μ L を添加した
(検量線用標準試料溶液調製時は P092 標準試料溶液)。
- (4) ISWS (ブランク試料調製時はメタノール) 40 μ L を添加した。
- (5) ミキサーを用いて攪拌した。
- (6) 全量を Oasis HLB μ Elution plate (30 μm , Waters Corporation) にアプライした (プレートは、あらかじめメタノール 200 μ L 及び水/ギ酸 (1000:1, v/v) 200 μ L でコンディ

- ショニングした)。
- (7) 水／ギ酸 (1000:1, v/v) 200 μ L で洗浄した。
 - (8) メタノール 70 μ L で溶出した。
 - (9) 水／ギ酸 (1000:1, v/v) 140 μ L を添加, 攪拌後, 次項に従い測定した。

6.5.7 分析条件

装置

HPLC 装置 :	1100 (Agilent Technologies)
オートサンプラ :	SIL-20AC (Shimadzu Corporation)
質量分析装置 :	API 4000 (AB SCIEX)

HPLC 条件

カラム :	XBridge C18, 3.5 μ m, 3.0 mm I.D. \times 50 mm (Waters Corporation)
カラム温度 :	50°C
移動相 A :	水／ギ酸 (1000:1, v/v)
移動相 B :	メタノール／ギ酸 (1000:1, v/v)
	移動相 A, B を 4:6 の割合で HPLC で混合する。
流速 :	0.25 mL/min
注入量 :	10 μ L
オートサンプラ設定温度 :	10°C
ニードル洗浄溶媒 :	メタノール

MS/MS 条件

Ionization method :	ESI (Electrospray Ionization, Turbo Ion Spray)
Polarity :	Positive
Scan type :	MRM (Multiple reaction monitoring)
Ion spray voltage (IS) :	5500 V
Heater gas temperature (TEM) :	500°C
Nebulizer gas (GS1) :	Air, 50 psi
Heater gas (GS2) :	Air, 85 psi
Curtain gas flow (CUR) :	N ₂ , 18 psi
Collision gas flow (CAD) :	N ₂ , 4
Entrance potential (EP) :	10 V
Monitor ion :	P092: m/z 252 > 84 IS: m/z 152 > 110

6.6 分析法バリデーション

6.6.1 特異性

個別別ブランク血漿を雌雄各3個体ずつ用い, 個体ごとにブランク試料及びLLOQ試料をn=1で調製した。それぞれから測定実測試料をn=1で調製, 測定した。

<許容基準>

P092 及び IS の溶出位置に検出されるピークのピーク面積が, LLOQ 試料の P092 及び IS のピーク面積に対してそれぞれ 20.0 及び 5.0%未満であること。

6.6.2 検量線

ブランク試料，ゼロ試料及び8濃度の検量線用標準試料溶液をn=1で調製し，それぞれから測定実測試料をn=1で調製，測定した。

ブランク試料，ゼロ試料の2検体は，LC-MS/MS測定のバックグラウンド確認のために測定した。

検量線用標準試料溶液につき，P092のISに対するピーク面積比を，添加濃度に対し一次回帰して得られる直線を検量線とした。検量線には，1/xの重み付け（x：血漿中P092濃度）を用いた。各濃度における真度の指標として相対誤差（relative error：%RE）を算出した。

$$\text{相対誤差 (\%RE)} = \frac{\text{定量値} - \text{理論値}}{\text{理論値}} \times 100$$

<許容基準>

ブランク及びゼロ試料におけるP092及びISの溶出位置に夾雑ピークが検出されていないこと。検出された場合，夾雑ピークのピーク面積が，LLOQ試料のP092及びISのピーク面積に対してそれぞれ20.0及び5.0%未満であること。

検量線用標準試料溶液の8濃度中，定量下限及び上限を含む6濃度以上において，%REが±15.0%（LLOQでは±20.0%）以内であること。

LLOQ及びULOQ以外の濃度について，%REが±15.0%を満たさない場合は，当該濃度を除いて再度検量線を作成する。ただし，6濃度以上の検量線用標準試料溶液が含まれることとする。なお，重み付けを変更してはならない。

6.6.3 キャリーオーバー

ブランク試料，LLOQ及びULOQ試料をn=1で調製し，それぞれから測定実測試料をn=1で調製した。LLOQに続き，ULOQ試料を測定した後，ブランク試料を測定した。この一連の測定を3回繰り返した。

各測定実測試料は，検量線作成用に調製したものを使用した。

<許容基準>

ブランク試料におけるP092及びISの溶出位置に検出されるピークの面積が，LLOQ試料のP092及びISのピーク面積に対してそれぞれ20.0及び5.0%未満であること。

6.6.4 定量下限

特異性の確認において調製された6本のLLOQ試料を用いて評価した。それぞれからn=1で測定実測試料を調製し，1回測定した。同時に作成した検量線より得られた定量値の平均値及び標準偏差を用いて，%RE及び精度の指標として変動係数（Coefficient of variance：%CV）を算出した。

$$\text{変動係数 (\%CV)} = \frac{\text{定量値の標準偏差}}{\text{定量値の平均値}} \times 100$$

<許容基準>

%REが±20.0%以内かつ%CVが20.0%以下であること。

6.6.5 日内再現性

Low QC, Middle QC 及び High QC (各濃度 n=5) より, 測定実測試料を n=1 で調製, 測定した. 同時に作成した検量線から得られた定量値の平均値及び標準偏差を用いて%RE 及び%CV を算出した.

<許容基準>

%RE が±15.0%以内かつ%CV が 15.0%以下であること.

6.6.6 日間再現性

Low QC, Middle QC 及び High QC (各濃度 n=5) より, 測定実測試料を n=1 で 3 日間調製, 測定した. 同時に作成した検量線から得られた定量値 (各濃度 n=15) の平均値及び標準偏差を用いて%RE 及び%CV を算出した.

<許容基準>

%RE が±15.0%以内かつ%CV が 15.0%以下であること.

6.6.7 回収率

回収率用試料

Low QC 及び High QC (各濃度 n=3) より, 測定実測試料を n=1 で調製して, 1 回測定した.

回収率用標準試料

P092 標準試料溶液 (WS-10 又は WS-800, 各濃度 n=1) 20 µL, ISWS 40 µL, メタノール 10 µL 及び水/ギ酸 (1000:1, v/v) 140 µL を分取, 攪拌して調製した. 各溶液を 3 回測定した.

P092 及び IS について, 次式に従って回収率を算出した. さらに, 得られた個々の値を用いて回収率の平均値及び%CV を算出した.

回収率算出式

P092 の回収率(%)=(R_A/SR_A)×100

IS の回収率(%)=(R_{IS}/SR_{IS})×100

R_A : 回収率用試料の P092 ピーク面積

SR_A : 回収率用標準試料の P092 ピーク面積 (平均値)

R_{IS} : 回収率用試料の IS ピーク面積

SR_{IS} : 回収率用標準試料の IS ピーク面積 (平均値)

6.6.8 希釈妥当性

4000 ng/mL の添加血漿 10 µL にブランク血漿 90 µL を添加, 攪拌して 10 倍希釈したもの (n=3) より, 測定実測試料を n=1 で調製し, 測定した.

同時に作成した検量線から得られた濃度に希釈倍率を乗じて定量値を算出した.

4000 ng/mL の添加血漿の調製法 (用時調製) :