

## 2. 目次

1. 陳述書 .....	2
2. 目次 .....	3
3. 試験実施概要 .....	7
3.1 表題 .....	7
3.2 試験番号 .....	7
3.3 試験目的 .....	7
3.4 適用ガイドライン .....	7
3.5 適用 GLP .....	7
3.6 試験委託者 .....	7
3.7 試験受託者 .....	7
3.8 試験施設 .....	7
3.8.1 名称及び所在地 .....	7
3.8.2 試験責任者 .....	8
3.8.3 分担責任者 .....	8
3.8.4 主な試験従事者 .....	8
3.8.5 試験日程 .....	8
3.8.6 保存 .....	8
3.8.7 保存する資料 .....	8
3.9 その他 .....	9
4. 試験責任者署名 .....	10
5. 要約 .....	11
6. 材料及び方法 .....	12
6.1 被験物質 .....	12
6.1.1 名称 .....	12
6.1.2 ロット番号 .....	12
6.1.3 純度 .....	12
6.1.4 性状 .....	12
6.1.5 提供者 .....	12
6.1.6 保存条件 .....	12
6.1.7 取扱上の注意 .....	12
6.1.8 安定性の確認 .....	12
6.1.9 残余被験物質の処理 .....	12
6.2 媒体 .....	12
6.2.1 名称 .....	12
6.2.2 試薬 .....	12
6.2.3 媒体の調製法 .....	13
6.2.4 保存条件 .....	13

6.3	投与液	13
6.3.1	調製方法及び頻度	13
6.3.2	保管条件	13
6.3.3	安定性確認及び均一性確認	13
6.3.4	濃度及び均一性確認	13
6.4	投与液中の被験物質濃度分析方法	14
6.4.1	高速液体クロマトグラフ (HPLC) 操作条件	14
6.4.2	使用機器	14
6.4.3	標準溶液の調製	14
6.4.4	試料溶液の調製	15
6.4.5	HPLC 測定及び濃度算出	15
6.5	試験動物	15
6.5.1	動物種	15
6.5.2	種	15
6.5.3	性別	15
6.5.4	系統選択の理由	15
6.5.5	購入先	15
6.5.6	仕出国	16
6.5.7	入荷日	16
6.5.8	入荷時年齢	16
6.5.9	輸入検疫・馴化	16
6.5.10	移管動物数	16
6.5.11	投与前検査	16
6.5.12	投与时年齢	16
6.5.13	投与时体重	16
6.5.14	群分け	16
6.5.15	動物の識別	17
6.5.16	余剰動物の取扱	17
6.6	飼育環境	17
6.6.1	飼育室	17
6.6.2	飼育環境	17
6.6.3	飼育器材	17
6.6.4	収容動物数	18
6.6.5	飼料	18
6.6.6	飲用水	18
6.7	群構成	19
6.7.1	投与用量及びその設定理由	19
6.8	投与	19
6.8.1	投与経路	19

6.8.2	投与経路の選択理由 .....	19
6.8.3	投与液量 .....	19
6.8.4	投与回数 .....	20
6.8.5	投与回数の選択理由 .....	20
6.8.6	投与方法 .....	20
6.8.7	投与方法の選択理由 .....	20
6.9	観察・検査項目 .....	20
6.9.1	一般状態 .....	20
6.9.2	体重 .....	20
6.9.3	摂餌量 .....	20
6.9.4	病理解剖検査 .....	20
6.9.5	試験終了動物の取扱 .....	21
6.10	トキシコキネティクス (TK) 測定 .....	21
6.10.1	採血及び TK 測定試料の採取 .....	21
6.10.2	血漿中 P092 濃度の測定方法 .....	22
6.10.3	薬物動態パラメータの算出 .....	28
6.10.4	残余 TK 測定試料の処理 .....	28
6.11	統計学的解析 .....	28
6.12	コンピュータシステムの使用 .....	28
7.	結果 .....	29
7.1	死亡・瀕死 .....	29
7.2	一般状態 .....	29
7.3	体重 .....	29
7.4	摂餌量 .....	29
7.5	トキシコキネティクス (TK) 測定 .....	29
8.	考察 .....	31
9.	特記事項 .....	32
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 .....	32
9.2	試験計画書に従わなかったこと .....	32

#### List of Annexes

Annex 1	分析証明書 (分析証明書番号 : P120567-COA2) .....	33
Annex 2	分析証明書 (分析証明書番号 : P120567-COA8) .....	35
Annex 3	Certificate of Analysis (Certification No.: B120716-001) .....	37
Annex 4	Certificate of Analysis (Certification No.: B120717-001) .....	38

#### List of Figures

Figure 1	Mean Plasma Concentration Time Profiles of P092 .....	39
Figure 2	Relationship between the dose and $C_{max}$ or $AUC_{0-120h}$ of P092 .....	40

## List of Tables

Table 1	Clinical Sign - Summary .....	41
Table 2	Body Weight - Summary .....	47
Table 3	Food Consumption - Summary.....	49
Table 4	Plasma Concentrations and Toxicokinetic Parameters .....	53

## List of Appendices

Appendix 1	Clinical Sign .....	55
Appendix 2	Body Weight .....	79
Appendix 3	Food Consumption .....	87
Appendix 4	Calibration standards on each analytical day.....	103
Appendix 5	Incurred Sample Reanalysis (ISR) .....	104

信頼性保証証明書 .....	105
----------------	-----

最終ページ : 105

### 3. 試験実施概要

#### 3.1 表題

P092 のカニクイザルを用いる単回経口投与毒性試験

#### 3.2 試験番号

B120717

#### 3.3 試験目的

P092 をカニクイザルに単回経口投与し、その影響について検討する。さらに、投与後の P092 の血漿中濃度を測定し、その推移を検討する。

#### 3.4 適用ガイドライン

医薬品の製造（輸入）承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて（薬審 1 第 24 号，平成元年 9 月 11 日）

単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について（薬新薬第 88 号，平成 5 年 8 月 10 日）

トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンスについて（薬審第 443 号，平成 8 年 7 月 2 日）

#### 3.5 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）

#### 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 分担責任者**

投与液分析：紺野 邦裕

キシコキネティクス (TK) 測定：松元 さなえ

**3.8.4 主な試験従事者**

動物移管，馴化：	天野 秀人
群分け，個体識別：	中舘 豊
投与液の調製：	鈴木 芙美恵
投与液分析：	湊 健一
投与：	小倉 宏之
一般状態観察：	天野 秀人
体重測定：	細田 秀勝
摂餌量測定：	平嶋 昂
TK 採血：	細田 秀勝
TK 測定：	近藤 友香里

**3.8.5 試験日程**

試験開始：	2013 年 1 月 10 日
動物移管：	2013 年 1 月 11 日
群分け：	2013 年 1 月 15 日
投与日：	2013 年 1 月 17 日
TK 採血：	2013 年 1 月 17, 18, 20, 22 日
観察期間終了：	2013 年 1 月 31 日
試験終了：	本最終報告書への試験責任者署名日とする。

**3.8.6 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。なお、コンピュータシステムに格納されたデータについては、三菱化学メディエンス株式会社 熊本研究所 安全性研究棟 ホストコンピュータ室 (A007) のホストコンピュータ内に保管する。

**3.8.7 保存する資料**

(1) 試験計画書

- (2) 被験物質に関する資料
- (3) 使用動物に関する資料
- (4) 試験結果に関する資料
- (5) 通信文書等の記録文書
- (6) 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：2013-0006）を得た。

4. 試験責任者署名

表 題： P092 のカニクイザルを用いる単回経口投与毒性試験

試験番号： B120717

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 をカニクイザル（雌雄各 3 頭/群）に、0, 250, 500 及び 1000 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。なお、対照群（0 mg/kg/day）には媒体（0.5 w/v% メチルセルロース水溶液）のみを投与した。また、単回投与時の P092 の血漿中濃度の推移を検討した。

その結果、被験物質投与に起因した死亡あるいは瀕死動物は認められなかった。

一般状態観察において、嘔吐、軟便又は下痢（水様下痢を含む）が 250 mg/kg/day 以上の群の雌雄で認められた。1000 mg/kg/day 群の雌 1 例では、無便も認められた。

体重の減少が 500 mg/kg/day 群の雌 2 例で第 4 日に、1000 mg/kg/day 群の雄 2 例で第 2 及び 4 日に、1000 mg/kg/day 群の雌 1 例で第 4 日～第 15 日に認められた。

摂餌量の減少又は減少傾向が、250 mg/kg/day 群の雌及び 500 mg/kg/day 以上の群の雌雄で第 2 日～4 日に認められた。このうち、500 mg/kg/day 群の雌 1 例では第 5 日～第 7 日、1000 mg/kg/day 群の雄 1 例では第 5 日、1000 mg/kg/day 群の雌 1 例では第 5 日～第 15 日にも摂餌量の減少が認められた。

トキシコキネティクス測定において、雄では、平均血漿中濃度、 $C_{max}$ 、及び  $AUC_{0-120h}$  は用量の増加に伴い増加した。雌では、中用量と高用量が同程度であった。中用量では、雌で暴露量が高い傾向にあったが、これ以外については明らかな性差はなかった。

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 1000 mg/kg/day 以上であると考えられる。

## 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

E5Z6K

#### 6.1.3 純度

99.2% (Annex 1 参照)

#### 6.1.4 性状

白色の粉末

#### 6.1.5 提供者

国立大学法人岐阜大学

#### 6.1.6 保存条件

冷蔵 (実測値 : 3.3°C~6.3°C, 許容範囲 : 1°C~10°C), 遮光, 密封 (窒素封入)

#### 6.1.7 取扱上の注意

保護メガネ, マスク, ゴム手袋を着用した.

#### 6.1.8 安定性の確認

試験委託者から安定性試験 (GLP 適用試験) の結果を入手し, 投与期間中の安定性を確認した (Annex 2 参照).

#### 6.1.9 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 : 2E85, 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、これをメスシリンダーに移し、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、6 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：4.2°C～6.3°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で投与前日に 1 回調製した。媒体（0.5 w/v% MC）を対照群の投与液として使用した。

- (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、100 mg/mL になるように正確にメスアップした。更に 100 mg/mL の投与液を媒体で段階希釈し、50 及び 25 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：4.4°C～6.0°C，許容範囲：1°C～10°C），遮光  
投与液は、調製後 1 日以内に使用した。

### 6.3.3 安定性確認及び均一性確認

試験施設で実施した「P092 のラットを用いる単回経口投与毒性試験（試験番号：B120716）」において、0.05 及び 100 mg/mL 被験物質投与液が冷蔵（許容範囲：1°C～10°C）・遮光下で調製後 9 日間、これに続く室温・遮光下で 24 時間安定かつ均一であることが確認されている（Annex 3 参照）。

### 6.3.4 濃度及び均一性確認

試験施設において、投与に用いた被験物質投与液の濃度及び均一性を確認した。各被験物質投与液の上層、中層及び下層の 3 点からサンプリングし、HPLC 法で濃度分析を行った。分

析方法は 6.4 項に示す。

各投与液の平均濃度の対設定濃度は 98.2%~104.0%，変動係数（C.V.値）は、1.0%~1.7%であり、許容範囲を満たした（Annex 4 参照）。

#### 許容範囲

濃度：測定値（濃度）の平均が設定濃度±10%以内であること。

均一性：測定値の精度（変動係数，C.V.値）が 10%以下であること。

### 6.4 投与液中の被験物質濃度分析方法

試験施設で実施した分析法バリデーション試験「P092 の投与液濃度確認のための分析法バリデーション」（試験番号：B120710）で検証された以下の方法に従って実施した。

#### 6.4.1 高速液体クロマトグラフ（HPLC）操作条件

カラム：	CAPCELL PAK C18 MG II, 5 μm, 150 mm×4.6 mm ID, 株式会社資生堂
カラム温度：	40°C
移動相 <sup>*1</sup> ：	1%過塩素酸ナトリウム（過塩素酸で pH2.5 に調整した）/アセトニトリル混液（55：45）
流速：	1 mL/min
検出波長：	UV 254 nm
注入量：	10 μL
オートサンプラ温度：	10°C
オートサンプラ洗浄液 <sup>*1</sup> ：	メタノール
測定時間：	10 分

\*1：減圧下超音波脱気した。

#### 6.4.2 使用機器

HPLC：	2695 Separations Module, Waters Corporation
検出器：	2487 Dual λ Absorbance Detector, Waters Corporation
システムマネージャ：	Empower 2 software, Waters Corporation

#### 6.4.3 標準溶液の調製

下表に従い標準溶液を調製した。

溶液略号	調製方法	濃度 (μg/mL)
SS	P092, 25 mg → 100 mL/メタノール <sup>*1</sup>	250
SS-1	SS, 1 mL → 25 mL/メタノール	10
ST-1	SS-1, 1 mL → 10 mL/メタノール	1
ST-2	SS-1, 2.5 mL → 10 mL/メタノール	2.5
ST-3	SS-1, 3 mL → 10 mL/メタノール	3

\*1：超音波処理を実施した。

#### 6.4.4 試料溶液の調製

下表に従い試料溶液を調製した。なお、投与液は攪拌しながら分取した (n=3)。

投与液 (mg/mL)	調製方法			溶液 略号	最終濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	最終 希釈倍率	
25	投与液,	1 mL	→	100 mL/メタノール <sup>*1</sup>	A	2.5	10000
	A,	1 mL	→	100 mL/メタノール	B		
50	投与液,	1 mL	→	100 mL/メタノール <sup>*1</sup>	C	2.5	20000
	C,	1 mL	→	20 mL/メタノール	D		
	D,	1 mL	→	10 mL/メタノール	E		
100	投与液,	1 mL	→	100 mL/メタノール <sup>*1</sup>	F	2.5	40000
	F,	1 mL	→	40 mL/メタノール	G		
	G,	1 mL	→	10 mL/メタノール	H		

\*1: 超音波処理を実施した。

#### 6.4.5 HPLC 測定及び濃度算出

標準溶液 (ST-1, ST-2 及び ST-3 ; 6.4.3 項参照) 及び試料溶液 (B, E 及び H ; 6.4.4 項参照) を 6.4.1 項の条件に設定した HPLC に注入し、クロマトグラム上の P092 のピーク面積を測定した。標準溶液の濃度及びそのピーク面積から検量線を作成した。検量線、試料溶液から得られたピーク面積及び希釈倍率から投与液中の P092 濃度 (測定値) を算出した。測定値の平均値、対設定値及び変動係数を算出した。検量線の作成、投与液中の P092 濃度 (測定値)、測定値の平均値、対設定値及び変動係数の計算は Microsoft Excel 2003 (Microsoft Corporation) を用いて行った。

### 6.5 試験動物

#### 6.5.1 動物種

サル

#### 6.5.2 種

カニクイザル (*Macaca fascicularis*)

#### 6.5.3 性別

雌雄

#### 6.5.4 系統選択の理由

非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。

#### 6.5.5 購入先

株式会社日本医科学動物資材研究所

**6.5.6 仕出国**

ベトナム社会主義共和国（生産業者：NAFOVANNY）

**6.5.7 入荷日**

雄：2012年5月10日

雌：2012年5月9日

**6.5.8 入荷時年齢**

雌雄とも3～4歳齢

**6.5.9 輸入検疫・馴化**

指定動物（サル）の検査場所指定施設である当試験施設で、30日間以上の輸入検疫期間を含めて検疫・馴化を6週間以上行い、健康状態が良好であることを確認した動物を本試験へ移管した。

**6.5.10 移管動物数**

雌雄各14頭

**6.5.11 投与前検査**

動物移管後、投与前検査として以下の検査を群分けまでに実施した。観察及び検査方法は、6.9項に従った。

- ・一般状態観察（毎日）
- ・体重測定（動物移管日、群分け日）
- ・摂餌量測定（毎日）

**6.5.12 投与时年齢**

雄：4～5歳齢

雌：4歳齢

**6.5.13 投与时体重**

雄：3.2～3.6 kg

雌：2.5～2.8 kg

**6.5.14 群分け**

(1) 実施日

雌雄とも投与の2日前

(2) 動物選抜

投与前検査の検査の結果から、低体重のため毒性評価に適さないと考えられた雌2例(#59002,

#59008) を除外し, その他の動物 (雄 14 例及び雌 12 例) を群分けに使用した.

### (3) 動物の振り分け

群分け日の体重に基づいて, 体重層別化無作為抽出法により各群の平均体重がほぼ均一になるように動物を群分けした. 雌雄各 12 頭を使用した.

#### 6.5.15 動物の識別

個体識別は入れ墨番号 (動物生産施設の個体番号) により行った. また, 個体管理は, 入れ墨番号, 試験施設の個体番号, ケージ番号及び本試験での動物番号の対応表を用いて行った.

動物のケージには以下の情報を記載したラベルを付けた.

群分け前: 試験番号, ケージ番号, 群分け前の動物番号 (検疫番号; 雄: 19001~19014, 雌: 59001~59014), 入れ墨番号, 性別及び試験施設の個体番号

群分け後: 試験番号, ケージ番号, 被験物質名, 投与用量, 動物番号 (6.7 項参照), 入れ墨番号, 性別及び試験施設の個体番号

#### 6.5.16 余剰動物の取扱

余剰動物は投与日に試験から除外した.

## 6.6 飼育環境

### 6.6.1 飼育室

サル飼育室 (13154 室)

### 6.6.2 飼育環境

#### 6.6.2.1 温度

23.7°C~26.7°C (許容範囲: 23.0°C~29.0°C)

#### 6.6.2.2 相対湿度

45.9%~70.2% (許容範囲: 35.0%~75.0%)

#### 6.6.2.3 換気

10~30 回/時, オールフレッシュエア供給

#### 6.6.2.4 照明時間

12 時間/日 (7:00~19:00) 点灯

### 6.6.3 飼育器材

#### 6.6.3.1 ケージ

ステンレス製ケージ (680W×608/658D×770H mm, トキワ科学器械株式会社)

ケージは毎日水洗した.

### 6.6.3.2 給餌器

ステンレス製給餌器（トキワ科学器械株式会社）

給餌器は毎日水洗した。

### 6.6.3.3 給水装置

自動給水装置（トキワ科学器械株式会社）

### 6.6.3.4 架台

ステンレス製水洗式架台（2段，トキワ科学器械株式会社）

架台は毎日水洗した。

### 6.6.3.5 エンリッチメント

動物福祉向上のために，金属製玩具を使用した。

## 6.6.4 収容動物数

1頭/ケージ

## 6.6.5 飼料

### 6.6.5.1 種類

サル用固型飼料，CMK-2（Lot No. K2092 及び K2102，日本クレア株式会社）

### 6.6.5.2 給餌法

制限給餌（100 g/日，1日1回給餌）

投与日は投与後約2時間の一般状態観察後に，その他の期間は10:00～15:00に給餌し，翌朝に残存している飼料を回収，廃棄した。ただし，投与前日の夕方（投与の約18時間前）から投与後2時間までは給餌しなかった。

### 6.6.5.3 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。

## 6.6.6 飲用水

### 6.6.6.1 種類

5 μm フィルター濾過後，紫外線照射した水道水

### 6.6.6.2 給水法

自由摂取

### 6.6.6.3 分析

株式会社三菱化学アナリティックで水質検査を定期的（2回/年）に実施し、その分析値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。

## 6.7 群構成

群	被験物質	投与用量 (mg/kg/day)	投与液量 (mL/kg/day)	投与液 濃度 (mg/mL)	動物数（動物番号）	
					雄	雌
1	対照 <sup>*1</sup>	0	10	0	3 (10101～10103)	3 (50101～50103)
2	P092	250	10	25	3 (10201～10203)	3 (50201～50203)
3	P092	500	10	50	3 (10301～10303)	3 (50301～50303)
4	P092	1000	10	100	3 (10401～10403)	3 (50401～50403)

\*1：0.5 w/v% MC を投与

### 6.7.1 投与用量及びその設定理由

投与用量は250、500及び1000 mg/kg/日とした。加えて媒体のみを投与する対照群を設けた。被験物質の投与用量は、「P092のカニクイザルを用いる単回経口投与予備試験」（試験番号：B121072）の結果に基づいて設定した。雌雄カニクイザルに100、250及び500 mg/kg/日の用量で単回投与した結果、一般状態観察において100 mg/kg/日以上群で吐物（泡状物又は投与液）が投与後30分～投与後6時間に、100 mg/kg/日以上群の雄及び500 mg/kg/日群の雌で下痢又は軟便が投与後6時間～第3日にみられた。

以上の結果から、500 mg/kg/日においても軽度な毒性変化のみであったことから、より明らかな毒性兆候が予想される1000 mg/kg/日を高用量に設定し、公比2で500及び250 mg/kg/日を設定した。

## 6.8 投与

### 6.8.1 投与経路

経口（強制経口投与）

### 6.8.2 投与経路の選択理由

予定臨床適用経路に準じた。

### 6.8.3 投与液量

10 mL/kg

投与日に測定した体重に基づいて、各個体の投与液量を算出した。

#### 6.8.4 投与回数

1回

#### 6.8.5 投与回数の選択理由

毒性試験のガイドラインに従った。

#### 6.8.6 投与方法

ディスポーザブルシリンジ及び経口カテーテルを用いて強制的に胃内に経口投与した。投与は10:00～10:46に行った。なお、投与に際しては、投与液をマグネチックスターラーで攪拌しながら分取した。

#### 6.8.7 投与方法の選択理由

サルに経口投与する方法として一般的に用いられており、被験物質を正確に投与できる。

#### 6.9 観察・検査項目

全動物について、下記の項目を検査した。

日の表記は、投与日を第1日とした。

##### 6.9.1 一般状態

動物移管日から観察終了日まで毎日、生死、外観、行動及び排泄物等の異常の有無及び程度を観察した。観察頻度及び時刻を以下に示した。

投与日： 1日6回（投与前、投与後約30分、1、2、4及び8時間）

投与日以外： 1日1回（午前中）

##### 6.9.2 体重

電子天秤（LDS-150H、島津製作所株式会社）を用いて、以下の日程で測定した。投与日は投与前に測定した。

測定日：動物移管日、群分け日、投与日（第1日）、第2、4、8、11、15日

##### 6.9.3 摂餌量

動物移管日から観察終了日まで毎日測定した。給餌（6.6.5.2項参照）の翌朝に残餌量（個数）を目測した。給餌量と残餌量（個数からグラム換算）から1日あたりの摂取量を算出した。ただし、投与前日は残餌量測定を給餌日の夕方に行い、1日あたりの摂取量を算出した。

算出した摂餌量を残餌量測定日（給餌日の夕方に回収した場合は翌日）の摂餌量として表記した。

##### 6.9.4 病理解剖検査

実施しなかった。

### 6.9.5 試験終了動物の取扱

第15日の観察・検査が終了した生存動物のうち、被験物質を投与した動物についてはペントバルビタールナトリウム（ソムノペンチル，共立製薬株式会社）の静脈内投与による麻酔下で，総頸動脈及び腋窩動静脈から放血して安楽死させた。対照群の動物については，試験から除外し，試験待機動物として飼育管理責任者に移管した。

### 6.10 トキシコキネティクス（TK）測定

P092 投与時の全身的暴露量の用量相関及び経時変化を検討するため，血漿中 P092 濃度を測定し，薬物動態パラメータ（ $C_{max}$ ， $T_{max}$  及び  $AUC_{0-120h}$ ）を算出した。

#### 6.10.1 採血及び TK 測定試料の採取

全動物から，無麻酔下で橈側皮静脈から約 0.5 mL/時点を採血し，血漿（TK 測定試料）を得た。採血はヘパリン加注射筒（ナトリウム塩）にて実施した。採取した血液は，採血後直ちにポリプロピレン（PP）製チューブに入れて氷冷し，速やかに遠心分離（約  $10000 \times g$ ，3 分，約  $4^{\circ}C$ ）して個体毎の血漿を得た。得られた血漿約 0.2 mL は PP 製チューブに入れ，直ちにドライアイスで保冷し，測定まで約  $-80^{\circ}C$ （実測値： $-88.8^{\circ}C \sim -77.1^{\circ}C$ ，許容範囲： $-60^{\circ}C$  以下）のフリーザー内で凍結保存した。

採血時点

投与後 1，2，4，8，24，72 及び 120 時間

総検体数：168 検体

### 6.10.2 血漿中 P092 濃度の測定方法

血漿中 P092 濃度の測定は、当試験施設で実施した「サル血漿中 P092 濃度測定法バリデーション」(試験番号：B120712)における分析法に従って実施した。P092 の安定性については、B120712 及び B120711\*にて以下の項目が確認されている。

項目	期間又は回数	参照試験
測定実測試料の安定性 (10°C)	36 時間	B120712
凍結融解安定性 (約-80°C)	3 回	
短期安定性 (室温)	4 時間	
長期安定性 (約-80°C)	32 日間	
P092 標準試料原液及び溶液 (室温) (200 µg/mL 及び 5 ng/mL)	24 時間	B120711*
P092 標準試料原液及び溶液 (冷蔵) (200 µg/mL 及び 5 ng/mL)	97 日間	
IS 試料原液及び溶液 (室温) (100 µg/mL 及び 200 ng/mL)	24 時間	
IS 試料原液及び溶液 (冷蔵) (100 µg/mL 及び 200 ng/mL)	97 日間	

\* : 「ラット血漿中 P092 濃度測定法バリデーション」(試験番号：B120711)

#### 6.10.2.1 測定対象標準物質

被験物質 (6.1 項) を使用した。

#### 6.10.2.2 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：15.3°C~21.9°C, 許容範囲：10°C~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
安定性の確認：	実施しない。クロマトグラム上において、P092 溶出位置に定量を妨害する夾雑ピークを与えないことを分析日毎に確認した。
取扱上の注意：	保護具 (ゴム手袋, 眼鏡及びマスク) 着用