

Appendix 6

Organ Weight

B120719

Sex: Female Day(s) Relative to Start Date

500 mg/kg	Organ Weights (Monkey)												
	Submand. GL (L) (g)	Submand. GLs (L)Ratio (^3%)	Submand. GL (R) (g)	Submand. GLs (R)Ratio (^3%)	Submand. GLs (g)	Submand. GLs Ratio (^3%)	Lungs (g)	Lungs Ratio (%)	Heart (g)	Heart Ratio (%)	Liver (g)	Liver Ratio (%)	Spleen (g)
	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR
50401	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50402	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[MOR : Death or Moribundity.]

[Dose level was changed from 500 mg/kg to 250 mg/kg on Day 5. ]

## Appendix 6

## Organ Weight

B120719

Sex: Female Day(s) Relative to Start Date

500 mg/kg	Organ Weights (Monkey)												
	Spleen Ratio (%)	Pancreas (g)	Pancreas Ratio (%)	Kidney (L) (g)	Kidney (L) Ratio (%)	Kidney (R) (g)	Kidney (R) Ratio (%)	Kidneys (g)	Kidneys Ratio (%)	Adrenal (L) (mg)	Adrenal (L) Ratio (^-3%)	Adrenal (R) (mg)	Adrenal (R) Ratio (^-3%)
	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR
50401	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50402	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[MOR : Death or Moribundity.]

[Dose level was changed from 500 mg/kg to 250 mg/kg on Day 5. ]

Appendix 6

Organ Weight

B120719

Sex: Female Day(s) Relative to Start Date

500 mg/kg	Organ Weights (Monkey)									
	Adrenals (mg)	Adrenals Ratio (^3%)	Ovary (L) (mg)	Ovary (L)Ratio (^3%)	Ovary (R) (mg)	Ovary (R)Ratio (^3%)	Ovaries (mg)	Ovaries Ratio (^3%)	Uterus (g)	Uterus Ratio (^3%)
	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR	MOR
50401	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50402	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[MOR : Death or Moribundity.]

[Dose level was changed from 500 mg/kg to 250 mg/kg on Day 5. ]

---

Animal:	10101	Sex:	Male
Material:	P092	Dose:	0 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Absent

---

Animal:	10102	Sex:	Male
Material:	P092	Dose:	0 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Present

Lungs (And Bronchus) : Brownish Change

---

Animal:	10103	Sex:	Male
Material:	P092	Dose:	0 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Absent

---

Animal:	50101	Sex:	Female
Material:	P092	Dose:	0 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Present

Lungs (And Bronchus) : Cyst

---

Animal:	50102	Sex:	Female
Material:	P092	Dose:	0 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Absent

---

Animal:	50103	Sex:	Female
Material:	P092	Dose:	0 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

[Dose level was changed from 500 mg/kg to 250 mg/kg on Day 5. ]

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Absent

---

Animal:	10201	Sex:	Male
Material:	P092	Dose:	50 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Absent

---

Animal:	10202	Sex:	Male
Material:	P092	Dose:	50 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Absent

---

Animal:	10203	Sex:	Male
Material:	P092	Dose:	50 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Absent

---

Animal:	50201	Sex:	Female
Material:	P092	Dose:	50 mg/kg
		Removal Reason:	Moribund Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	10 (2)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**Necropsy Findings : Present  
Thymus : Small  
Adrenal : Enlargement; bilateral  
Whole Body : Dehydration

---

Animal:	50202	Sex:	Female
Material:	P092	Dose:	50 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**Necropsy Findings : Present  
Thymus : Small

[Dose level was changed from 500 mg/kg to 250 mg/kg on Day 5. ]

---

**Gross Pathology Observations [Correlation] (Continued):**

Adrenal : Enlargement; bilateral

---

Animal:	50203	Sex:	Female
Material:	P092	Dose:	50 mg/kg
		Removal Reason:	Scheduled Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**Necropsy Findings : Present  
Thymus : Small  
Adrenal : Enlargement; bilateral

---

Animal:	10301	Sex:	Male
Material:	P092	Dose:	150 mg/kg
		Removal Reason:	Death
		Study Day (Week) of Death:	14 (2)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**Necropsy Findings : Present  
Thymus : Small  
Adrenal : Enlargement; bilateral

---

Animal:	10302	Sex:	Male
Material:	P092	Dose:	150 mg/kg
		Removal Reason:	Death
		Study Day (Week) of Death:	14 (2)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**Necropsy Findings : Present  
Thymus : Small  
Adrenal : Enlargement; bilateral

---

Animal:	10303	Sex:	Male
Material:	P092	Dose:	150 mg/kg
		Removal Reason:	Moribund Sacrifice
		Study Day (Week) of Death:	14 (2)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**Necropsy Findings : Present  
Stomach : Reddish Patch; mucosa, many  
Adrenal : Enlargement; bilateral  
Whole Body : Dehydration

---

Animal:	50301	Sex:	Female
Material:	P092	Dose:	150 mg/kg

---

[Dose level was changed from 500 mg/kg to 250 mg/kg on Day 5. ]

---

Removal Reason: Scheduled Sacrifice  
Study Day (Week) of Death: 15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Present  
Adrenal : Enlargement; bilateral

---

Animal: 50302 Sex: Female  
Material: P092 Dose: 150 mg/kg  
Removal Reason: Scheduled Sacrifice  
Study Day (Week) of Death: 15 (3)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Absent

---

Animal: 50303 Sex: Female  
Material: P092 Dose: 150 mg/kg  
Removal Reason: Death  
Study Day (Week) of Death: 12 (2)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Present  
Thymus : Small  
Adrenal : Enlargement; bilateral

---

Animal: 10401 Sex: Male  
Material: P092 Dose: 500 mg/kg  
Removal Reason: Intermittent Scheduled Sacrifice  
Study Day (Week) of Death: 11 (2)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Present  
Adrenal : Enlargement; bilateral

---

Animal: 10402 Sex: Male  
Material: P092 Dose: 500 mg/kg  
Removal Reason: Intermittent Scheduled Sacrifice  
Study Day (Week) of Death: 11 (2)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Present  
Adrenal : Enlargement; bilateral

---

Animal: 10403 Sex: Male  
Material: P092 Dose: 500 mg/kg  
Removal Reason: Death

---

[Dose level was changed from 500 mg/kg to 250 mg/kg on Day 5. ]

---

Study Day (Week) of Death: 7 (1)

---

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Present  
Stomach : Reddish Patch; mucosa, many  
Thymus : Small  
Adrenal : Enlargement; bilateral

---

Animal: 50401

Sex: Female

Material: P092

Dose: 500 mg/kg

Removal Reason: Death

Study Day (Week) of Death: 8 (2)

**Gross Pathology Animal Details:**

Animal Comment: Death at the prosectorium

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Present  
Colon : Dark Reddish Patch; mucosa, many  
Rectum : Dark Reddish Patch; mucosa, many  
Adrenal : Enlargement; bilateral  
Whole Body : Dehydration

---

Animal: 50402

Sex: Female

Material: P092

Dose: 500 mg/kg

Removal Reason: Death

Study Day (Week) of Death: 5 (1)

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Present  
Stomach : Reddish Patch; mucosa, many  
Colon : Dark Reddish Patch; mucosa, many  
Rectum : Dark Reddish Patch; mucosa, many  
Whole Body : Dehydration

---

Animal: 50403

Sex: Female

Material: P092

Dose: 500 mg/kg

Removal Reason: Intermittent Scheduled Sacrifice

Study Day (Week) of Death: 11 (2)

**Gross Pathology Observations [Correlation]:**

Necropsy Findings : Absent

---

[Dose level was changed from 500 mg/kg to 250 mg/kg on Day 5.]



Group	Sex	Animal	Clinical Sign	Site	Day numbers relative to Start Date									
					-6 a.m.	-5 a.m.	-4 a.m.	-3 a.m.	-2 a.m.	-1 a.m.	1 Before dosing	1 Time 20	1 Time 30	
5	f	60101	No Abnormalities Detected		X	X	X	X	X	.	X	X	.	
			Vomitus (Dosing solution)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	X	
			Loose stool	.	.	.	.	.	X	.	.	.	.	
				60102	No Abnormalities Detected		X	X	X	X	X	X	X	X
					Diarrhea	.	.	.	.	.	.	.	.	.
				60103	No Abnormalities Detected		X	X	X	X	X	X	X	.
					Vomitus (Dosing solution)	.	.	.	.	.	.	.	.	X

Severity Codes: X = Present

Group 5 - 500 mg/kg

Time 20 , 1h after dosing; Time 30 , 4h after dosing; Time 40 , 24h after dosing;

---

Day numbers relative to Start Date

Group	Sex	Animal	Clinical Sign	Site	2 Time 40
5	f	60101	No Abnormalities Detected		.
			Vomitus (Dosing solution)		.
			Loose stool		.
			Diarrhea		X
		60102	No Abnormalities Detected		.
			Diarrhea		X
		60103	No Abnormalities Detected		X
			Vomitus (Dosing solution)		.

---

Severity Codes: X = Present

Group 5 - 500 mg/kg

Time 20 , 1h after dosing; Time 30 , 4h after dosing; Time 40 , 24h after dosing;

Sex: Female Bodyweight (kg)

500 mg/kg	Day(s) Relative to Start Date		
	-6	-1	1
60101	2.7	2.6	2.6
60102	2.9	2.8	2.8
60103	2.9	3.0	2.9

Date	Calibration curve			Back ground (% of LLOQ)			QC sample			
	Concentration (ng/mL)		%RE	Sample	Peak area		Concentration (ng/mL)			%RE
	Nominal	Measured			P092	IS	Nominal	No.	Measured	
2013/2/15	5	4.58	-8.4	Blank	0	0	10	1	8.66	-13.4
	10	9.12	-8.8		( 0.0 )	( 0.0 )		2	8.09	-19.1
	20	21.3	6.5	Zero	0	270953	50	1	49.9	-0.2
	50	48.5	-3.0		( 0.0 )	--		2	56.2	12.4
	100	- *	- *	LLOQ	2694	192404	800	1	869	8.6
	200	225	12.5					2	703	-12.1
	500	538	7.6							
	1000	939	-6.1							

RE: Relative error, LLOQ: Lower limit of quantification

%RE = (measured value - nominal value)/nominal value × 100

The value in parenthesis denotes peak area ratio (%) of back ground peak area to that in LLOQ.

--: Not applicable

\*: This standard was excluded because its %RE did not meet the criterion.

## 資料2 非臨床試験

### 13. 細菌を用いる復帰突然変異試験

B120713

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13日

試験責任者 藤本 遼



## 最終報告書

P092 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(試験番号：B120713)

三菱化学メディエンス株式会社

1. GLP 陳述書

表 題： P092 の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号： B120713

本試験は下記の基準に従い実施したものである。

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)

試験責任者：

2013 年 3 月 13 日

藤本 透



藤本 透

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3グループ

## 2. 目次

1. GLP 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
3.9 試験責任者 .....	6
3.10 分担責任者 .....	7
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. 材料および方法 .....	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 純度／含量 .....	10
6.1.4 性状 .....	10
6.1.5 保存条件 .....	10
6.1.6 保管場所 .....	10
6.1.7 提供者 .....	10
6.1.8 安定性の確認 .....	10
6.1.9 残余被験物質の処理 .....	10
6.2 対照物質 .....	10
6.2.1 陰性対照物質 .....	10
6.2.2 陽性対照物質 .....	11
6.3 試験菌株 .....	11
6.3.1 試験菌株 .....	11
6.3.2 試験菌株の選択理由 .....	12
6.3.3 試験菌株の保存 .....	12



6.3.4	試験菌株の遺伝的特性	12
6.3.5	菌懸濁液	12
6.4	培地	13
6.4.1	液体完全培地の調製	13
6.4.2	トップアガールの調製	13
6.4.3	最少グルコース寒天平板培地	14
6.5	S9 mix	14
6.5.1	S9	14
6.5.2	Cofactor mix	15
6.5.3	S9 mix	15
6.6	被験物質溶液および陽性対照物質溶液の調製	15
6.6.1	被験物質溶液の調製	15
6.6.2	陽性対照物質溶液	16
6.7	被験物質用量および陽性対照物質用量	17
6.7.1	被験物質用量	17
6.7.2	陽性対照物質用量	17
6.8	被験物質溶液の安定性確認	17
6.8.1	実施	17
6.8.2	媒体	18
6.8.3	濃度	18
6.8.4	期間および条件	18
6.9	被験物質溶液の濃度確認	18
6.9.1	実施	18
6.9.2	濃度	18
6.9.3	判定基準	18
6.9.4	判定	18
6.10	被験物質溶液の濃度確認方法	18
6.10.1	高速液体クロマトグラフ (HPLC) 装置	18
6.10.2	HPLC 操作条件	18
6.10.3	標準溶液の調製	19
6.10.4	試料溶液の調製	19
6.10.5	濃度の算出	19
6.11	復帰突然変異試験	20
6.11.1	試験法の選択	20
6.11.2	プレインキュベーション法	20
6.11.3	観察	20
6.11.4	コロニー計測	20
6.11.5	プレート数	20
6.11.6	結果の集計	20

6.11.7	無菌試験	20
6.11.8	実験の成立基準	21
6.11.9	試験結果の判定	21
6.11.10	再現性の確認	21
7.	結果	21
7.1	用量設定試験	21
7.2	本試験	21
7.3	無菌試験	22
8.	考察および結論	22
9.	参考文献	22
10.	特記事項	23
10.1	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	23
10.2	試験計画書に従わなかったこと	23
表 1	P092 の細菌を用いる復帰突然変異試験結果表 (用量設定試験)	24
表 2	P092 の細菌を用いる復帰突然変異試験結果表 (本試験)	25
Appendix 1	分析証明書 (No. P120567-COA2)	26
Appendix 2	分析証明書 (No. P120567-COA8)	28
Appendix 3	Certificate of Analysis (Certification No.: B120714-001)	30
Appendix 4	Certificate of Analysis (Certification No.: B120713-001)	31
Appendix 5	陰性 (溶媒) 対照値および陽性対照値の適正範囲	32
	信頼性保証証明書	33

(最終ページ : 33)

### 3. 試験実施概要

#### 3.1 表題

P092 の細菌を用いる復帰突然変異試験

#### 3.2 試験番号

B120713

#### 3.3 試験目的

ネズミチフス菌株および大腸菌株を用いる復帰突然変異試験を実施し、P092 の変異原性を検討する。

#### 3.4 適用ガイドライン

- (1) 医薬品の遺伝毒性試験および解釈に関するガイダンス  
(薬食審査発 0920 第 2 号, 平成 24 年 9 月 20 日)
- (2) 医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインについて  
(医薬審第 1604 号, 平成 11 年 11 月 1 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

岐阜大学  
岐阜県岐阜市柳戸 1 番 1  
委託責任者: 桑田 一夫

#### 3.7 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

#### 3.8 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

#### 3.9 試験責任者

藤本 透  
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 3 グループ

### 3.10 分担責任者

調剤分析 紺野 邦裕

### 3.11 試験従事者

液体完全培地の調製：	宮澤 直樹
軟寒天の調製：	宮澤 直樹
被験物質溶液の調製：	清水 優子
試験菌株の前培養：	宮澤 直樹
菌懸濁液の濁度測定：	宮澤 直樹
トップアガーの調製：	清水 優子
S9 mix の調製：	清水 優子
プレインキュベーション：	藤本 透, 清水 優子, 宮澤 直樹
プレートの観察：	清水 優子
コロニーカウント：	清水 優子
被験物質溶液の濃度確認の測定：	湊 健一

### 3.12 試験日程

試験開始日：	2013年1月22日
用量設定試験：	2013年1月29日～2013年2月1日
本試験：	2013年2月12日～2013年2月15日
試験終了日：	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。保存期間は最終報告書作成後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
- (2) 試験計画書変更書
- (3) 被験物質および対照物質に関する資料
- (4) 試験菌株に関する資料
- (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