

3. 測定

3.1 測定方法

- 1) ELISA plates の各 well に Coating antibody solution を 50 μ L/well 分注した.
- 2) 各 well に PBS を 50 μ L/well 分注した.
- 3) プレートシールで各 well を覆い, 37°C で 2 時間反応させた.
- 4) 各 well を Wash Buffer で計 6 回洗浄した (350 μ L/well \times 6). 洗浄後, プレートを逆さまにしてペーパータオルなどにプレートを押しつけ, well 内の液を取り除いた.
- 5) 各 well に Blocking buffer を 200 μ L/well 分注した.
- 6) プレートシールで各 well を覆い, 37°C で 1 時間反応させた (ブロッキング).
- 7) 試料に 1/20 量の CSB を加えた後, Dilution buffer で 2 又は 10 倍に希釈した.
- 8) Blocking buffer を取り除き, 対応表で指定した well に Dilution buffer (Blank), Standard (STD 1~7) 及び試料を 100 μ L/well 分注した.
- 9) プレートシールで各 well を覆い, 4°C で 1 晩反応させた.
- 10) 各 well を Wash Buffer で計 6 回洗浄した (350 μ L/well \times 6). 洗浄後, プレートを逆さまにしてペーパータオルなどにプレートを押しつけ, well 内の液を取り除いた.
- 11) 各 well に Biotinylated detection antibody solution を 100 μ L/well 分注した.
- 12) プレートシールで各 well を覆い, 37°C で 1 時間反応させた.
- 13) 各 well を Wash Buffer で計 6 回洗浄した (350 μ L/well \times 6). 洗浄後, プレートを逆さまにしてペーパータオルなどにプレートを押しつけ, well 内の液を取り除いた.
- 14) 各 well に SPP conjugate solution を 100 μ L/well 分注した.
- 15) プレートシールで各 well を覆い, 37°C で 1 時間反応させた.
- 16) 各 well を Wash Buffer で計 6 回洗浄した (350 μ L/well \times 6). 洗浄後, プレートを逆さまにしてペーパータオルなどにプレートを押しつけ, well 内の液を取り除いた.
- 17) 各 well に TMB substrate solution を 100 μ L/well 分注した.
- 18) プレートシールで各 well を覆い, 室温/遮光で 20 分間反応させた.
- 19) 各 well に Stop solution を 100 μ L/well 分注し, 振盪した.
- 20) 30 分以内にマイクロプレートリーダーで各ウェルの吸光度 (測定波長: 450 nm) を測定した. 濃度算出にはデータ管理ソフト (SF6) を用いた.

3.2 濃度算出方法

濃度算出にはデータ管理ソフト (SF6) を用いた. 各 Standard 及び試料の吸光度から Blank の吸光度を差し引いた補正吸光度を求め, 各標準溶液の濃度 (X) と 2 重測定した補正平均吸光度 (Y) から回帰式を算出した. 算出した回帰式に各試料の補正平均吸光度を代入して測定値 (pg/mL) を算出した. 測定値は小数点以下 3 桁を報告値とした. 標準溶液の濃度範囲を超えた試料については Dilution buffer で試料を希釈して測定をやり直した. 標準溶液の濃度範囲を下回った試料については「2 pg/mL 未満」として報告した.

カニクイザル血漿中 TM5509 濃度測定法

1. 標準物質

1.1 標準物質

投与に用いる被験物質を使用した。

1.2 内標準物質

名称: レトロゾール (以下 IS)
 製造元: Shigma-Aldrich
 ロット番号: 032M4706V
 保存条件: 遮光, 気密, 冷蔵 (許容範囲: 2.0~8.0°C, 実測値: 3.7~6.0°C)
 保存場所: 被験物質保管室の保冷庫
 残余分の処置: 試験から除外し, 被験物質管理責任者の管理下に移管した。

2. 生体試料

被験物質: TM5509
 分析対象: TM5509
 保存場所: フリーザー室の超低温フリーザー又はメディカルフリーザー
 保存条件: 凍結 (許容範囲: 超低温フリーザーは-95°C~-65°C, メディカルフリーザーは-50°C~-20°C, 測定終了までの実測値: 投与 1 日サンプルは-86.3°C~-81.4°C, 投与 28 日サンプルは-33.9°C~-30.6°C)

3. バリデーション概要

以下に示す結果は, 「LC-MS/MS法によるサル血漿中TM5509 の濃度測定法バリデーション試験」 (株式会社イナリサーチ, 試験番号: TK13151) ¹⁾にて確認されている。

測定方法及びバリデーション結果は次のとおりである。

前処理法: 除たんぱく法
 検量線範囲: 0.5~50 µg/mL
 検量線の種類: ピーク面積を用いた内標準法, 直線回帰 (Weight 1/x²)
 再現性: 日内及び日間再現性
 オートサンプル内安定性: 設定 10°C で 24 時間安定
 血漿中安定性: (1) 室温にて 24 時間安定
 (2) 凍結 (-30°C) 及び融解を 5 回繰り返した後で安定
 (3) 凍結 -30°C 条件下で 13 日間安定
 回収率: TM5509: 80.1%~84.5%
 IS: 96.7%
 マトリックス効果: 影響なし

希釈妥当性: プール血漿を用いて 100 倍
 キャリーオーバー: 影響なし
 標準原液及び標準溶液の安定性: 遮光, 気密, 室温 (1~30°C) 条件下で調製後 14 日間
 内標準原液及び内標準溶液の安定性: 遮光, 気密, 冷蔵 (1~8°C) 条件下で調製後 14 日間

4. LC-MS/MS装置

LC: Prominence UFLC system (株式会社 島津製作所)
 MS/MS: API 3000 (AB SCIEX)
 データ管理: Analyst Ver.1.4.2 (AB SCIEX)

5. 使用血漿

2 週間以上投薬履歴のないカニクイザル (中国産), 雄 3 匹及び雌 12 匹からヘパリンナトリウム処理した器具を用いて採血し, 遠心分離後プールした血漿を使用した (以下プール血漿).

保存条件: 凍結 (-95°C~-65°C)
 保存場所: フリーザー室の超低温フリーザー
 使用期限: 採取後 1 年間

6. 試薬及び試液の調製

6.1 試薬

アセトニトリル: HPLC 用 (関東化学株式会社)
 メタノール: HPLC 用 (和光純薬工業株式会社)
 ぎ酸アンモニウム: 特級 (和光純薬工業株式会社)
 ぎ酸: LC/MS 用 (和光純薬工業株式会社)
 ジメチルスルホキシド (以下 DMSO): 分光分析用 (関東化学株式会社)
 超純水: 水道水を蒸留水製造装置 (オートスチル WG25, ヤマト科学株式会社) 及び超純水製造装置 (Autopure WT100, ヤマト科学株式会社) で精製した水

6.2 試液の調製

10 mmol/L ぎ酸アンモニウム水溶液:
 ぎ酸アンモニウム 0.630 g に超純水 1000 mL を加えて混和した.
 保存条件: 気密, 室温 (許容範囲: 1~30°C)
 使用期限: 調製後 1 週間

移動相: 10 mmol/L ぎ酸アンモニウム水溶液 825 mL とアセトニトリル 675 mL を混和した。調製後、超音波照射しながら、アスピレーターで減圧にし、小さな気泡が勢いよく出なくなるまで脱気した。

保存条件: 気密, 室温 (許容範囲: 1~30°C)

使用期限: 調製後 2 週間

ニードル洗浄液 (0.1%ぎ酸含有メタノール溶液):

メタノール 1000 mL にぎ酸 1 mL を加えて混和した。

保存条件: 気密, 室温 (許容範囲: 1~30°C)

使用期限: 調製後 2 週間

7. 測定方法

7.1 標準溶液の調製

7.1.1 検量線用標準溶液の調製

TM5509 を 0.04000 g 秤量し DMSO で溶解し、正確に 10 mL とし、4000 µg/mL の検量線用標準原液を調製した (以下 STD-SS)。STD-SS を次表に従い DMSO で希釈して 5~500 µg/mL の検量線用標準溶液を調製した (8 濃度, 以下 STD-WSn)。

検量線用標準溶液名	調製濃度 (µg/mL)	採取した標準溶液	採取量 (mL)	調製量 (mL)
STD-WS8	500	STD-SS	2.5	20
STD-WS7	250	STD-WS8	5	10
STD-WS6	100	STD-WS7	4	10
STD-WS5	75	STD-WS7	3	10
STD-WS4	50	STD-WS6	5	10
STD-WS3	25	STD-WS4	5	10
STD-WS2	10	STD-WS3	4	10
STD-WS1	5	STD-WS2	5	10

STD-SS 及び STD-WSn は次の条件で保存した。

保存条件: 遮光, 気密, 室温 (許容範囲: 1~30°C, 実測値: 16.4~26.9°C)

保存場所: 第 1 サンプル処理室

保存期限: 調製後 14 日間

7.1.2 内標準溶液の調製

IS を 0.00600 g 秤量し、アセトニトリルで溶解し、正確に 20 mL とし、IS 標準原液を調製した (300 µg/mL, 以下 IS-SS)。

IS-SS を 10 mL 採取し、アセトニトリルで正確に 100 mL とし、IS 溶液を調製した (30 µg/mL, 以下 IS-WS) IS-WS は次の条件で保存した。

保存条件: 遮光, 気密, 冷蔵 (許容範囲: 1~8°C, 実測値: 2.8~5.6°C)

保存場所: 第 1 サンプル処理室の保冷库

保存期限: 調製後 14 日間

7.1.3 QC試料用標準溶液の調製

TM5509 を 0.04000 g 秤量し DMSO で溶解し、正確に 10 mL とし、4000 µg/mL の QC 試料（以下 QC）用標準原液を調製した（以下 QC-SS）。QC-SS を次表に従い DMSO で希釈して 10～400 µg/mL の QC 試料用標準溶液を調製した（3 濃度、以下 QC-WSn）。

QC 試料用標準溶液名	調製濃度 (µg/mL)	採取した標準溶液	採取量 (mL)	調製量 (mL)
QC-WS3	400	QC-SS	1	10
QC-WS2	50	QC-WS3	5	40
QC-WS1	10	QC-WS2	2	10

QC-SS 及び QC-WSn は次の条件で保存した。

保存条件:	遮光, 気密, 室温 (許容範囲: 1～30°C, 実測値: 16.4～26.9°C)
保存場所:	第 1 サンプル処理室
保存期限:	調製後 14 日間

7.2 試料の調製

7.2.1 ブランク試料の調製

プール血漿 30 µL に DMSO を 3 µL 加え、ブランク試料を調製した（以下 DB）。前処理の際、IS-WS を加えず、アセトニトリルを加えた。

7.2.2 ゼロ試料の調製

プール血漿 30 µL に DMSO を 3 µL 加え、ゼロ試料を調製した（以下 B）。前処理の際に IS-WS を加えた。

7.2.3 検量線用試料の調製

次表に従い、検量線用試料を調製した（以下 STDn）。

検量線用試料名	採取した検量線用標準溶液	採取量 (µL)	プール血漿量 (µL)	検量線用試料濃度 (µg/mL)
STD8	STD-WS8	3	30	50
STD7	STD-WS7	3	30	25
STD6	STD-WS6	3	30	10
STD5	STD-WS5	3	30	7.5
STD4	STD-WS4	3	30	5
STD3	STD-WS3	3	30	2.5
STD2	STD-WS2	3	30	1
STD1	STD-WS1	3	30	0.5

7.2.4 QC試料の調製

次表に従い、測定精度管理用試料を調製した（n=2, 以下 QCn）。

QC 試料名	採取した QC 試料用標準溶液	採取量 (µL)	プール血漿量 (µL)	QC 試料濃度 (µg/mL)
QC3	QC-WS3	3	30	40
QC2	QC-WS2	3	30	5
QC1	QC-WS1	3	30	1

7.3 TK試料の調製

生体試料 30 μL に DMSO を 3 μL 加えた。なお、TK 試料を希釈する際はプール血漿を使用して 2~10 倍希釈した。

7.4 試料の前処理

次のフローチャートに従い、アセトニトリルによる除たんぱく法にて前処理を行った。

各種試料

↓ ← IS-WS 250 μL (ただし, DB はアセトニトリル 250 μL)

撹拌

↓

遠心 (10000 \times g, 5 min, 4°C)

↓

10 mmol/L ぎ酸アンモニウム水溶液 250 μL を入れたバイアルに上清 10 μL を加えた

↓

撹拌

↓

LC-MS/MS 試料

7.5 LC条件

分析カラム: InertSustain C18 (2.1 I.D. \times 50 mm, HP 3 μm) (GL サイエンス)

カラム温度: 設定 40°C

移動相: 10 mmol/L ぎ酸アンモニウム水溶液/アセトニトリル (55/45, v/v)

スイッチングバルブのタイムプログラム

時間 (分)	移動相
0.0~0.6	Divert to waste
0.6~3.0	Elute to mass spectrometer
3.0~3.5	Divert to waste

流量: 0.3 mL/min

オートサンプリング温度: 設定 10°C

注入量: 3 μL

測定時間: 3.5 min

ニードル洗浄液: 0.1%ぎ酸含有メタノール溶液

測定順序:

- 1) DB
- 2) B
- 3) STD
- 4) QC
- 5) TK 試料
- 6) QC

7.6 MS/MS条件

Ion source:	Turbo Spray
Scan type:	MRM
Polarity:	Negative
Resolution:	Q1: Unit, Q3: Unit
Monitoring ion:	TM5509: m/z 350 → m/z 306
	IS: m/z 284 → m/z 242
Dwell:	500 msec
Parameters:	NEB: 6, CUR: 6, CAD: 12, TEM: 550, IS (Ion Spray Voltage) : -4500

8. 算出方法及び採用基準

8.1 検量線

Analyst を用いて、得られた検量線試料のクロマトグラムから、IS に対する TM5509 のピーク面積比を求め、検量線濃度とピーク面積比との関係から、重み付け $1/x^2$ を用いて最小二乗法により検量線（回帰直線）を作成し、検量線の回帰式及び相関係数（ r ）を求めた。また、Analyst 内で STD の測定濃度及び調製濃度から次式（1）を用いて、逆回帰で得られた検量線試料濃度の相対誤差（以下 RE）を算出した。

$$\text{RE 値 (\%)} = [(\text{測定濃度} - \text{調製濃度}) / \text{調製濃度}] \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

【採用基準】

相関係数（ r ）：	0.9900 以上（実際は 0.9987～0.9999）
RE 値：	定量下限濃度，±20%以内（実際は-1.7～4.4%） その他の濃度，±15%以内（実際は-8.5～8.0%）
特記事項：	定量下限濃度（STD1）及び検量線最高濃度（STD8）以外の検量線濃度の RE 値が判定基準外となった場合は、最高 2 濃度まで除外できることとしたが、該当例はなかった。

8.2 QC試料

Analyst を用いて QC 試料の測定濃度及び調製濃度から（1）の式を用いて RE 値を算出した。

【採用基準】

6 本中 4 本以上の RE 値が±15%以内であり、かつ 1 濃度の内 1 本以上の RE 値が±15%以内（結果：適合）

8.3 TK試料

Analyst を用いて試料のクロマトグラムから IS に対する TM5509 のピーク面積比を求め、回帰式に代入してそれぞれの血漿中濃度を求めた。

以下に作表の際の数値の取扱いを規定した。

- 1) 測定濃度が定量下限濃度未満の場合は「BLQ」（Below the lower limit of quantification）と表示した。
- 2) 各群の雌雄別に採血時点ごと、血漿中濃度の平均値及び標準偏差を算出した。

- 3) 各時点において、BLQ の試料が 2 例以上の場合は、平均値及び標準偏差は「NC」 (Not calculated) と表示した。BLQ の試料が 1 例の場合は、BLQ を 0 $\mu\text{g/mL}$ として平均値と標準偏差を算出した。
- 4) 動物死亡による欠値の場合は「-」と表示し、平均値及び標準偏差の算出には用いなかった。
- 5) $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$ を算出する際、投与 1 日の投与前濃度及び BLQ は 0 $\mu\text{g/mL}$ とみなした。

8.4 TKパラメータ

各群の血漿中濃度から以下の TK パラメータを算出した。なお、すべての採血時点が BLQ の場合は「-」とした。

T_{max} :	最高薬物濃度到達時間 (実測値)
C_{max} :	最高薬物濃度 (実測値)
$\text{AUC}_{0-24\text{h}}$:	投与前から 24 時間までの濃度時間曲線下面積 (台形公式)

8.5 数値の取扱い

ピーク面積:	整数
濃度 ($\mu\text{g/mL}$) , $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$:	平均値, 切片及び傾き: 有効数字 3 桁 (4 桁目を四捨五入)
相関係数:	小数点以下 5 桁目を四捨五入
標準偏差:	平均値と同じ桁数に四捨五入
RE 値 (%) 及び T_{max} の平均値:	小数点以下 2 桁目を四捨五入

9. 再分析

9.1 再注入

再注入を行った試料はなかった。

9.2 再測定

分析結果において再測定を行う場合の基準を以下に示した。

- 1) 検量線が判定基準を満たさなかった場合
- 2) QC 試料が判定基準を満たさなかった場合
- 3) 装置の故障及び操作ミスが生じた場合
- 4) クロマトグラムに異常が見られた場合
- 5) TK 試料の測定値が検量線の上限を超えた場合
- 6) 希釈測定した TK 試料の測定値が検量線の下限を下回った場合
- 7) サンプルミスなどが疑われる場合並びに血漿中濃度推移の成績から妥当性を確認する必要があると判断された場合

投与 1 日の 2 例 (動物番号 RP6M01 及び RP6M02) の投与後 24 時間のサンプルが上記 5) に該当したため再測定を実施し、その結果を採用した。

10. 文献

- 1) 宮崎 博子. LC-MS/MS 法によるサル血漿中 TM5509 の濃度測定法バリデーション試験. 株式会社イナリサーチ最終報告書; 2013. 試験番号: TK13151. 試験委託者 東北大学.

信頼性保証陳述書

試験の表題：TM5509 のカニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験

試験番号：TK13152

上記試験は、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」（1997 年 3 月 26 日，一部改正 厚生労働省令第 114 号 2008 年 6 月 13 日）に従い，試験計画書及び標準操作手順書に則って行われたことを保証します。

また，最終報告書には試験の実施方法が正確に記載され，かつ，生データが正確に反映されていることを確認しました。

信頼性保証部門による調査は「信頼性保証陳述書（別紙）」に示す日程で行いました。なお，「信頼性保証陳述書（別紙）」プロセス調査記載の調査項目については，定期調査の結果をもって本試験の操作の保証としました。

添付資料：信頼性保証陳述書（別紙）4 枚

本陳述書は添付資料を含め全 5 枚

2014 年 3 月 20 日
長野県伊那市西箕輪 2148 番地 188
株式会社イナリサーチ
信頼性保証部門責任者

柴野 隆司

柴野 隆司

信頼性保証陳述書（別紙）

試験番号： TK13152

調査タイプ： 試験の調査

下表の〔報告日〕は、運営管理者及び試験責任者への報告日を指します。

調査項目	調査日	報告日
試験計画書	09/05/13 - 09/06/13	09/06/13
被験物質等の保管	09/06/13	09/06/13
投与液の調製	09/06/13	09/06/13
投与液の分析（濃度及び均一性確認）	09/06/13	09/06/13
試験系の割り付けに係わる記録（大動物）	09/06/13	09/06/13
血液の処理（血液検査用）	09/06/13	09/06/13
便潜血検査	09/06/13	09/06/13
コンピュータプロトコール	09/09/13	09/09/13
試験計画変更書-1	09/09/13	09/09/13
一般状態観察	09/10/13	09/10/13
血液の処理（TK測定用）	09/10/13	09/10/13
採血（TK測定用）	09/10/13	09/10/13
動物、ケージ及びブラックへの識別方法	09/10/13	09/10/13
動物飼育管理	09/10/13	09/10/13
摂餌量測定	09/10/13	09/10/13
投与	09/10/13	09/10/13
サイトカインの測定	09/10/13	09/10/13
試験計画書（翻訳版）	09/10/13	09/10/13
試験計画変更書-2	09/12/13	09/12/13
試験計画書〔再調査〕	09/12/13	09/12/13
TK測定（標準溶液の調製，前処理，測定）	09/13/13 - 09/17/13	09/17/13
試験計画変更書-3	09/17/13	09/17/13
異常又は予見することができなかった事態	09/25/13	09/25/13
試験計画変更書-4	09/30/13	09/30/13

信頼性保証陳述書（別紙）

試験番号： TK13152

調査タイプ： 試験の調査

下表の〔報告日〕は、運営管理者及び試験責任者への報告日を指します。

調査項目	調査日	報告日
器官重量測定	10/08/13	10/09/13
剖検及び器官固定	10/08/13	10/09/13
電顕標本作製（前固定）	10/08/13	10/09/13
試験計画変更書-5	10/17/13	10/17/13
試験計画変更書-6	11/13/13	11/13/13
異常又は予見することができなかった事態	11/13/13	11/13/13
光顕標本作製（グラム染色）	11/13/13	11/13/13
異常又は予見することができなかった事態〔再調査〕	11/18/13	11/19/13
生データ	11/27/13 - 12/24/13	12/24/13
報告書案（図表）	11/27/13 - 12/24/13	12/24/13
報告書案（本文）	12/12/13 - 12/24/13	12/24/13
試験計画変更書-7	12/27/13	12/27/13
試験計画変更書-8	01/20/14	01/23/14
サイトカインの測定2	01/20/14 - 01/21/14	01/23/14
生データ〔再調査〕	01/24/14 - 01/27/14	01/27/14
異常又は予見することができなかった事態	01/27/14	01/27/14
生データ〔再調査〕	01/30/14	01/30/14
異常又は予見することができなかった事態〔再調査〕	01/30/14	01/30/14
報告書案（本文）〔再調査〕	02/04/14	02/04/14
試験計画変更書-9	02/04/14	02/04/14
報告書案（本文）〔再調査〕	02/19/14	02/19/14
生データ	02/20/14 - 02/21/14	02/21/14
報告書案（図表）	02/20/14 - 02/21/14	02/21/14
報告書案（本文）	02/20/14 - 02/21/14	02/21/14

信頼性保証陳述書（別紙）

試験番号： TK13152

調査タイプ： 試験の調査

下表の〔報告日〕は、運営管理者及び試験責任者への報告日を指します。

調査項目	調査日	報告日
生データ [再調査]	03/04/14	03/04/14
報告書案（本文） [再調査]	03/04/14	03/04/14
異常又は予見することができなかった事態	03/04/14	03/04/14
報告書案（図表）	03/11/14	03/11/14
試験計画変更書-10	03/13/14	03/13/14
報告書案（本文）	03/14/14	03/14/14
報告書案（本文） [再調査]	03/19/14	03/19/14
生データ	03/19/14	03/19/14
最終報告書	03/19/14 - 03/20/14	03/20/14

信頼性保証陳述書（別紙）

試験番号： TK13152

調査タイプ： プロセス調査

下表の〔報告日〕は、運営管理者及び試験責任者への報告日を指します。


調査項目	調査日	報告日
血液学的検査	08/22/13	08/22/13
血液生化学的検査	08/21/13	08/22/13
顕微鏡標本作製	08/02/13 - 08/13/13	08/16/13
病理組織学的検査	12/10/13	12/11/13

最終報告書

^{14}C -TM5509 の薬物動態試験業務
(^{14}C -TM5509 のサルにおける胆汁中排泄率の測定)

2014年2月27日

積水メディ
薬



試験番号 : AE-7245-G

試験表題 : ^{14}C -TM5509 の薬物動態試験業務
(^{14}C -TM5509 のサルにおける胆汁中排泄率の測定)

試験委託者 : 東北大学 大学院医学系研究科
宮田 敏男

委託担当者 : 附属創生応用医学研究センター 分子病態治療学分野
段 孝

所在地 〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町 2-1
電話番号 022-717-8158
FAX 番号 022-717-8159

試験実施施設 : 積水メディカル株式会社 薬物動態研究所
所在地 〒319-1182 茨城県那珂郡東海村村松 2117 番地

運営管理者 : 薬物動態研究所 稲葉 厚弘

試験責任者 : 試験研究部 三次 孝一
電話番号 029-282-0232
FAX 番号 029-282-1681

試験期間 : 試験開始日 2013年9月27日
最終報告書提出日 2014年2月27日

試験従事者 : 薬物動態試験 市毛 一美
同上 鈴木 水成
同上 三宅 隆行
同上 菊地 貴徳
同上 千々和 博之
同上 伊藤 諭史

同上
純度検定
同上

沼田 知子
佐々木 亮
寺門 明美

試験に関する陳述

当試験は「申請資料の信頼性の基準 (薬事法施行規則第 43 条)」に従い実施した。また、当試験方法及び操作は、積水メディカル株式会社 薬物動態研究所 (以降 SMD と略す) 標準操作手順書に従って行った。

なお、当最終報告書は当施設において実施された試験結果に基づき作成されたものに相違ありません。

2014 年 2 月 27 日 三 次 孝 一

目次

	頁
試験に関する陳述.....	4
1 要約.....	7
2 試験目的.....	8
3 試験条件.....	8
3.1 標識被験物質.....	8
3.2 非標識被験物質.....	8
3.3 試験系.....	9
3.4 試験系の環境条件.....	9
3.5 投与液の調製及び投与方法.....	11
3.6 投与量及び投与放射エネルギー.....	12
3.7 主な使用機器及び試薬.....	13
4 試験方法.....	15
4.1 標識被験物質の純度検定 (Exp.1).....	15
4.2 胆汁中排泄率の測定 (Exp.2).....	16
5 試料及びデータの取扱い.....	18
5.1 試料の識別及び保存.....	18
5.2 放射能の測定方法.....	18
5.3 データ処理.....	19
6 再試験及び再測定.....	20
7 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可能性のある事態及び試験計画書に従わなかった事項.....	20
8 試験結果.....	21
8.1 Exp.1 標識被験物質の純度 (Table 1).....	21
8.2 Exp.2 胆汁中排泄率.....	21
9 考察.....	22
10 資料保存.....	22
11 TABLES.....	23
Table 1 Radiochemical Purity of ¹⁴ C-TM5509.....	24
Table 2 Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces after a single oral administration of ¹⁴ C-TM5509 to fasting male cynomolgus monkeys (dose: 5 mg/kg).....	25

Table 3	Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces after a single oral administration of ¹⁴ C-TM5509 to fasting male cynomolgus monkeys (dose: 20 mg/kg) 26
Table 4	Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces after a single oral administration of ¹⁴ C-TM5509 to fasting male cynomolgus monkeys (dose: 80 mg/kg) 27
Table 5	Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces after a single oral administration of ¹⁴ C-TM5509 to fasting male cynomolgus monkeys (dose: 300 mg/kg) ... 28
Appendix Table 1	Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces after a single oral administration of ¹⁴ C-TM5509 to fasting male cynomolgus monkeys (dose: 5 mg/kg)..... 29
Appendix Table 2	Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces after a single oral administration of ¹⁴ C-TM5509 to fasting male cynomolgus monkeys (dose: 20 mg/kg)..... 30
Appendix Table 3	Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces after a single oral administration of ¹⁴ C-TM5509 to fasting male cynomolgus monkeys (dose: 80 mg/kg)..... 31
Appendix Table 4	Cumulative excretion of radioactivity in bile, urine and feces after a single oral administration of ¹⁴ C-TM5509 to fasting male cynomolgus monkeys (dose: 300 mg/kg)..... 32