

表3-1 ラットを用いた単回経口投与毒性試験

		処置群 (0.5 w/v % メチルセルロース水溶液)		投与群 (50 mg/kg/day)		投与群 (150 mg/kg/day)		投与群 (500 mg/kg/day)	
		雄 (n=5)	雌 (n=5)	雄 (n=5)	雌 (n=5)	雄 (n=5)	雌 (n=5)	雄 (n=5)	雌 (n=5)
一般状態	投与後8日	正常	正常	下痢が2例で投与後約8時間に一過性に認められた。	下痢が1例で投与後約8時間に一過性に認められた。	下痢が4例で投与後約4時間～第2日に一過性又は継続して認められた。	下痢が4例で投与後約4時間～8時間に一過性に認められた。	下痢が全例で投与後約2時間～第3日に一過性ないし重症に認められた。	下痢が全例で投与後約2時間～第2日に一過性ないし重症に認められた。
体重	投与後15日	正常	正常	体重の低値傾向及び体重増加量の低値が第2日に認められた。	正常	体重及び体重増加量の低値傾向が第2日に認められた。一方、第4日には低位な体重増加の高値が認められたが、一過性的変化であり、回復状態と考えられることから毒性学的意義は低いと判断した。	第15日に有意な体重増加量の低値が認められたが、500 mg/kg/day投与ではみられない変化であることから、投与物質投与とは関連のない変化と判断した。	体重の低値が第2日～第8日に、体重増加量の低値が第2日～第4日に認められた。一方、第8日には低位な体重増加の高値が認められたが、一過性的変化であり、回復状態と考えられることから毒性学的意義は低いと判断した。	体重の低値が第2日～第4日に、体重増加量の低値又は低値傾向が第2日～第4日に認められた。一方、第8日には低位な体重増加の高値が認められたが、一過性的変化であり、回復状態と考えられることから毒性学的意義は低いと判断した。
摂餌量	投与後15日	正常	正常	正常	正常	正常	正常	摂餌量の減少が第4日に認められた。	摂餌量の減少が第4日に認められた。
眼科検査									
血液検査									
血液生化学検査									
剖検	投与後第15日	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
器官重量									
病理組織学的検査									
トキシコキネティクス	投与後24時間			Cmax:25.1 ng/mL Tmax:3.0h AUC0-24h:161 ng·h/mL	Cmax:22.9 ng/mL Tmax:2.0h AUC0-24h:126 ng·h/mL	Cmax:36.6 ng/mL Tmax:2.0h AUC0-24h:349 ng·h/mL	Cmax:29.1 ng/mL Tmax:1.0h AUC0-24h:182 ng·h/mL	Cmax:73.4 ng/mL Tmax:8.8h AUC0-24h:451 ng·h/mL 平均血中濃度、Cmax、及びAUC0-24hは用量の増加に伴い増加した。	Cmax:33.6 ng/mL Tmax:1.0h AUC0-24h:326 ng·h/mL 平均血中濃度、Cmax、及びAUC0-24hは用量の増加に伴い増加した。

ラットにおける単回経口投与毒性試験の成績(試験番号:B120716)の概要

動物種、系統、週齢	ラット、Crl:CD(SD)、6週齢									
	経口投与									
投与方法	雄		雌		雄		雌		雄	
投与量(mg/kg/day)	50		150		500					
動物数	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
死亡動物	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
一般状態	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
下痢	—	—	2/5	1/5	4/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5
摂餌量	—	—	—	—	—	—	1	1	1	1
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血漿中薬物濃度*										
Cmax (ng/mL)	NE	NE	25.1	22.9	36.6	29.1	73.4	33.6		
Tmax (h)	NE	NE	3.0	2.0	2.0	1.0	8.8	1.3		
AUC0-24h (h·ng/mL)	NE	NE	161	126	349	182	451	326		
経路致死量	D 500 mg/kg									

a:0.5 w/v % メチルセルロース水溶液
b:有所見例数/検査
例数
c:3匹/群で実施
—:所見なし
NE:検査せず

表3-2 ラットを用いた4週間反復経口投与毒性試験(試験番号:B120720)の概要

系統、週齢 方法	ラット、Cr:CD(SD)、6週齢 経口投与								投与用量(mg/kg/日)		媒体対照*		5		20		60	
	媒体対照*		5		20		80		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
用量(mg/kg/日)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
病理解剖学的検査	十二指腸の拡張 空腸の拡張 回腸の拡張 精巢の小型化 精巣上体の小型化 精巣上体の結節 膵膵膵リンパ節の腫大 肝臓外側右葉の白色斑 肝臓外側右葉の腫大 腎臓重量 心臓(実/相対) 肺(実/相対) 肝臓(実/相対) 脾臓相対重量 胸腺重量 精巣上体相対重量 腎臓相対重量 唾液腺重量 前立腺重量 腎臓相対重量 腎臓相対重量 卵巣相対重量																	
学的検査	小坂数 モグロビン濃度 マクログリン値 状赤血球数 血球数 好中球数 好酸球数 好塩基球数 リンパ球数 単球数 状赤血球比率 中球比率 好酸球比率 好塩基球比率 リンパ球比率 単球比率 CV CH 他																	
生化学的検査	蛋白 G比 アルブミン濃度 アルブミン比率 γグロブリン濃度 γグロブリン比率 グロブリン濃度 グロブリン比率																	
薬学系	リグリセライド -CHO ルコース L K LAT 他																	
血液系	血液系 Cmax (µg/mL) Tmax(hr) AUC0-24hr(µg/mL)																	
無毒性量	5 mg/kg/日未満																	

1 w/v % メテルセルロース水溶液
 *開始前から認められた異常を除く
 †量相関性が認められないことから偶発的なものと判断した
 ‡意な結晶出現率の低下がみられたが、低下であることから、毒性学的意義は低いと考えられた
 §意な尿蛋白及び結晶出現率の低下がみられたが、いずれも低下であることから、毒性学的意義は低いと考えられた
 †及びAPTTの短縮が認められたが、短縮であることから毒性学的意義は低いと考えられた
 †後投与の背景データ付近の軽微な変化であり、投与物質投与とは関連のない変化と判断した
 †ATの減少が認められたが、減少であることから毒性学的意義は低いと考えられた
 †意なALP、カルシウム、α1-グロブリン濃度の減少及び有意なカリウムの増加、いずれも試験投与の背景データ付近の軽微な変化であり、投与物質投与とは関連のない変化と判断した
 †意なナトリウム及びα1-グロブリン比率の増加がみられたが、いずれも試験投与の背景データ付近の軽微な変化であり、物質投与とは関連のない変化と判断した
 †後投与の背景データ付近の軽微な変化であることから、体重の低値によるものと考えられ、投与物質投与とは関連のないと判断した
 †変化は1割のみの発現で、自然発生性にも認められる変化であることから投与物質とは関連のないものと判断した

♂/群で実施
 †該所見あり
 †: 低値、いずれも媒体対照群との比較
 †見なし
 †査せず

消化管: 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、雄の十二指腸、雌雄の結腸では80 mg/kg/day群に認められた。
 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、雄肝臓、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、用量の増加とともに発生頻度または程度が増強した。腎臓: 近位尿管上皮、遠位尿管上皮、糸球体上皮細胞の空胞化が80 mg/kg/day群で認められた。
 肺: 肺胞内の泡沫細胞の集積が対照群を含む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もみられる変化であることから、程度の低い前(グレード2)のみ認められた80 mg/kg/day群の存在投与物質の影響と判断した。
 膵臓: 膵膵膵リンパ節の空胞化及び泡沫マクロファージの集積が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群では膵膵膵リンパ節、膵内の泡沫マクロファージの集積が5 mg/kg/day群以上で認められ、用量の増加とともに発生頻度ならびに程度が増強した。また、膵マクロファージの集積が5 mg/kg/day以上の群の雄、20 mg/kg/day以上の群の雌で、膵内への好中球浸潤が80 mg/kg/day群の雄で認められた。下顎リンパ節: 膵内の泡沫細胞の集積が80 mg/kg/day群で認められた。
 大腿骨骨髓及び肋骨骨髓: 顆粒球系の造血亢進が80 mg/kg/day群で認められた。

血液系	Day 1	Day 28	NE	NE	BLO	BLO	7.78	9.39	28.8	18.8
Cmax (µg/mL)	Day 1	Day 28	NE	NE	BLO	BLO	17.5	29.3	23.9	39.3
Tmax(hr)	Day 1	Day 28	NE	NE	---	---	1.0	1.0	1.0	2.0
AUC0-24hr(µg/mL)	Day 1	Day 28	NE	NE	---	---	0.8	0.8	1.3	3.7
	Day 1	Day 28	NE	NE	---	---	28.1	42.8	244	128
	Day 28	NE	NE	---	---	9.13	2.97	169	252	349

表3-3 サルを用いた単回経口投与毒性試験

	対照群 (0.5 w/v %メチルセルロース水溶液)		投与群 (250 mg/kg/day)		投与群 (500 mg/kg/day)		投与群 (1000 mg/kg/day)	
	雄(n=3)	雌(n=3)	雄(n=3)	雌(n=3)	雄(n=3)	雌(n=3)	雄(n=3)	雌(n=3)
一般状態	投与後 正常	投与後 正常	嘔吐、軟便又は下痢(水様下痢を含む)が認められた。嘔吐は2例で投与後約2時間~4時間、軟便又は下痢(水様下痢を含む)は、2例で投与後約8時間~第3日に認められた。	嘔吐、軟便又は下痢(水様下痢を含む)が認められた。嘔吐は全例で投与後約2時間~4時間に、軟便又は下痢(水様下痢を含む)は、全例で投与後約9時間~第3日に認められた。なお、雄1例で第1日に軟便がみられたが、摂食量や体重では異常は認められず、偶発的な変化であると判断した。	嘔吐、軟便又は下痢(水様下痢を含む)が認められた。嘔吐は全例で投与後約4時間~8時間に一過性に認められた。軟便又は下痢(水様下痢を含む)は、全例で投与後約8時間~第4日に一過性に認められた。	嘔吐、軟便又は下痢(水様下痢を含む)が認められた。嘔吐は全例で投与後約2時間~第2日に一過性に認められた。軟便又は下痢(水様下痢を含む)は、全例で投与後約8時間~第11日に一過性に認められた。	嘔吐、軟便又は下痢(水様下痢を含む)が認められた。嘔吐は全例で投与後約2時間~第2日に一過性に認められた。軟便又は下痢(水様下痢を含む)は、全例で投与後約8時間~第4日に一過性に認められた。	嘔吐、軟便又は下痢(水様下痢を含む)が認められた。嘔吐は2例で投与後約8時間~一過性に認められた。軟便又は下痢(水様下痢を含む)は、2例で投与後約8時間~第8日に一過性に認められた。また、1例では、無便が第9日~第15日まで認められた。
体重	投与後 正常	投与後 正常	正常	正常	正常	体重の減少が2例で第4日に認められた。	体重の減少が2例で第2日及び第4日に認められた。	体重の減少が1例で第4日から第15日に認められた。
摂食量	投与後 正常	投与後 正常	正常	個体別では、摂食量の減少又は減少傾向が1例、第2日に認められた。	個体別では、摂食量の減少又は減少傾向が2例で、第1日~第3日もしくは第2日~第3日に認められた。	個体別では、摂食量の減少又は減少傾向が2例で第2日~4日に認められた。個体別では、摂食量の減少又は減少傾向が、第1日~第7日、第1日~第4日、あるいは第2日~第4日に認められた。	個体別では1例で第2日~第5日に摂食量の減少又は減少傾向が認められた。	摂食量の減少又は減少傾向が第2日~4日に認められた。個体別では、摂食量の減少又は減少傾向が第1日~第15日、第1日~第3日、第1日及び第3日に認められた。
眼科検査	投与後							
血液生化学検査	投与後							
剖検	投与後							
器官重量	投与後							
病理組織学的検査	投与後							
トキシコキネティクス	投与直後		Cmax:13.8 ng/mL Tmax:4.0 h AUC0-120h:339 ng·h/mL	Cmax:12.1 ng/mL Tmax:5.3 h AUC0-120h:507 ng·h/mL	Cmax:23.1 ng/mL Tmax:5.3 h AUC0-120h:1400 ng·h/mL	Cmax:39.7 ng/mL Tmax:10.7 h AUC0-120h:3237 ng·h/mL	Cmax:51.1 ng/mL Tmax:16.7 h AUC0-120h:3792 ng·h/mL	Cmax:54.5 ng/mL Tmax:26.7 h AUC0-120h:3324 ng·h/mL 雄においては、中用量と高用量では同程度であった。中用量では、雄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。

カニクイザルにおける単回経口投与毒性試験の成績(試験番号:B120717)の概要

動物種、系統、週齢	サル/カニクイザル/3~4歳齢							
	投与方法		250		500		1000	
投与量(mg/kg/day)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数	3	3	3	3	3	3	3	3
死亡動物	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態								
下痢	—	—	—	2/3	3/3	—	3/3	2/3 ^b
軟便	—	1/3	—	2/3	—	—	—	—
嘔吐	—	—	—	2/3	—	—	3/3	2/3
無便	—	—	—	—	—	—	—	1/3
体重								
減少	—	—	—	—	—	2/3	2/3	1/3
摂食量	—	—	—	—	—	—	—	—
剖検	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
血漿中薬物濃度								
Cmax (ng/mL)	NE	NE	13.8	12.1	23.1	39.7	51.1	54.5
Tmax (h)	NE	NE	4.0	5.3	5.3	10.7	16.7	26.7
AUC _{0-24h} (ng·h/mL)	NE	NE	339	507	1400	3237	3792	3324

投与量 > 1000 mg/kg

a: 0.5 w/v %メチルセルロース水溶液

b: 有所見例数/検査例数

—: 所見なし

NE: 検査せず

表3-4 サルを用いた2週間反復経口投与毒性試験

	対照群 (0.5 ml/kg サルセルロース水溶液)		投与群 (50 mg/kg/day)		投与群 (100 mg/kg/day)		投与群 (500/250 mg/kg/day)	
	雄(n=3)	雌(n=3)	雄(n=3)	雌(n=3)	雄(n=3)	雌(n=3)	雄(n=3)	雌(n=3)
一般状態	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常
体重	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常
餌摂取	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常
血液検査	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常
血液生化学検査	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常
肝臓	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常
腎臓重量	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常	投与後 正常
脳脊髄液中 アミロイド 前駆体 の検査	投与後	投与後	投与後	投与後	投与後	投与後	投与後	投与後
トキシコキ ネディクス	投与後	投与後	投与後	投与後	投与後	投与後	投与後	投与後

表3-4 サルを用いた2週間反復経口投与毒性試験(試験番号:B120719)の概要

動物種・年齢		サル・カニクイザル、3~4歳齢							
投与方法		経口投与							
投与用量 (mg/kg/日)		媒体対照*		50		150		500/250 ^b	
動物数		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
死亡動物		—	—	—	—	2/3	1/3	1/3 ^c	—
一般状態									
瀕死状態 ^d		—	—	—	1/3	1/3	—	—	2/3
自発運動の低下		—	—	—	1/3	1/3	—	—	—
横臥		—	—	—	—	—	—	1/3	2/3
下痢		—	—	1/3	2/3	2/3	2/3	3/3	3/3
軟便		—	—	—	—	1/3	1/3	2/3	1/3
無便		—	—	—	3/3	2/3	—	2/3	1/3
嘔吐		—	—	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
体重		—	—	↓	↓	↓	↓	↓	↓
摂餌量		—	—	↓	↓	↓	↓	↓	↓
眼科学的検査		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
尿検査		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
血液学的検査									
瀕死解剖動物	赤血球数	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	血小板数	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	ヘモグロビン濃度	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	ヘマトクリット値	—	—	—	—	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	白血球数	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	—
	リンパ球比率	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	APTT (延長)	—	—	—	O(1/1)	—	—	—	O(1/1)
生存動物	赤血球数	—	—	—	—	—	—	—	↓(2/2)
	血小板数	—	—	↓(2/3)	↓(2/2)	—	↓(2/2)	↓(2/2)	—
	ヘモグロビン濃度	—	—	—	—	—	—	↓(2/2)	—
	ヘマトクリット値	—	—	—	—	—	—	↓(1/2)	—
	白血球数	—	—	—	↓(2/2)	—	—	↓(2/2)	—
	好中球数	—	—	—	↓(2/2)	—	—	↓(2/2)	—
	好中球比率	—	—	—	↓(2/2)	—	—	↓(2/2)	—
リンパ球比率	—	—	—	↓(2/2)	—	—	↓(2/2)	—	
APTT (延長)	—	—	—	—	—	—	O(2/2)	—	
MCV	—	—	—	—	—	—	↓(2/2)	—	
血液生化学的検査									
瀕死解剖動物	総蛋白	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
	A/G比	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
	α1グロブリン濃度	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
	α2グロブリン濃度	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
	βグロブリン濃度	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
	尿素窒素	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	トリグリセリド	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
	LDH	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	クレアチニン	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	ALAT	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
	ASAT	—	—	—	↓(1/1)	—	—	—	↓(1/1)
	IP	—	—	—	↓(1/1)	—	—	—	↓(1/1)
	T-CHO	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
	グルコース	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
	PL	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/1)
生存動物	CK	—	—	—	↓(1/1)	—	—	—	↓(1/1)
	K	—	—	—	↓(1/1)	—	—	—	↓(1/1)
	Na	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	Cl	—	—	—	↓(1/1)	↓(1/1)	—	—	↓(1/1)
	尿素窒素	—	—	—	↓(2/2)	—	↓(1/2)	↓(2/2)	↓(1/1)
	トリグリセリド	—	—	—	—	—	—	↓(2/2)	—
	LDH	—	—	—	↓(2/2)	—	↓(2/2)	—	↓(1/1)
	クレアチニン	—	—	—	↓(1/2)	—	↓(1/2)	↓(1/2)	↓(1/1)
	ALAT	—	—	—	↓(1/2)	—	↓(2/2)	—	↓(1/1)
	ASAT	—	—	—	—	—	↓(1/2)	—	↓(1/1)
IP	—	—	—	—	—	—	↓(1/2)	—	
CK	—	—	—	↓(2/2)	—	↓(2/2)	—	↓(1/1)	
K	—	—	—	—	—	—	—	↓(1/2)	
Na	—	—	↓(2/3)	↓(2/2)	↓(2/2)	↓(2/2)	↓(2/2)	↓(1/1)	
Cl	—	—	↓(2/3)	↓(2/2)	↓(2/2)	↓(2/2)	↓(2/2)	↓(1/1)	
病理剖検的検査									
死亡又は瀕死解剖動物	胃(粘膜炎の赤色斑)	—	—	—	—	1/3	—	1/1	1/2
	結腸(粘膜炎の暗赤色斑)	—	—	—	—	—	—	—	2/2
	直腸(粘膜炎の暗赤色斑)	—	—	—	—	—	—	—	2/2
	胸腺(小型化)	—	—	—	1/1	2/3	1/1	1/1	—
	副腎(腫大)	—	—	—	1/1	3/3	1/1	1/1	1/2
計画解剖動物	脱水	—	—	—	1/1	1/3	—	—	2/2
	胸腺(小型化)	—	—	—	2/2	該当なし	—	—	—
器官重量									
瀕死解剖動物	胸腺	—	—	—	—	↓(1/1)	—	—	—
	副腎	—	—	—	—	↓(1/1)	—	—	—
生存動物	肝臓	—	—	—	↓(2/2)	—	↓(2/2)	↓(2/2)	↓(1/1)
	副腎	—	—	—	↓(2/2)	—	↓(2/2)	↓(2/2)	↓(1/1)
脳脊髄中薬物濃度(ng/mL)									
単回投与後(500mg/kg/day)		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	BLQ
反復投与後*		BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	59.1(1/3)	199(1/3)	209(1/3)	BLQ
無毒性量		50 mg/kg/day未満							

a: 0.5 w/v % メチルセルロース水溶液

b: 500mg/kg/dayで投与を開始したが、状態の悪化が懸念されたため、5日目から250mg/kg/dayの投与量とし、投与期間も10日間とした。

c: 有所見例数/検査例数

d: 瀕死状態となった動物については、同日に瀕死期解剖を実施した。

e: 脳脊髄中薬物濃度の数字はいずれも1例の動物のみの数値であり、他の動物では全て検出限界以下であった。

BLQ: 検出限界以下

O: 当該所見あり

↓: 高値、↑: 低値、いずれも媒体対照群との比較

—: 所見なし

NE: 検査せず

表3-5 その他の毒性試験

試験名	試験方法			試験結果	
	実験モデル	細胞/動物	実験方法 および投与方法		用量
1. 細菌を用いる復帰突然変異試験	In vitro	TA98, TA1537, TA100, TA1535, WP2uvrA	プレインキュベーション法(S9mix-(+),(-))	0.5~5000 μg/plate	S9 mixの有無にかかわらず、いずれの試験菌株においても被験物質処理群における復帰変異コロニー数は陰性(溶媒)対照値の2倍未満であった。以上の結果から、P092は本試験条件下において変異原性を有さない(陰性)と結論した。
2. 哺乳動物の培養細胞を用いる染色体異常試験	In vitro	チャイニーズハムスター肺由来CHL/IU	3日間培養(S9mix-(+),(-))	1.95-500 μg/mL	被験物質の染色体異常誘発性を検討するため、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を実施した。 標本観察の結果、構造異常細胞および数的異常細胞の出現頻度は、いずれの処理条件においても5%未満であった。 陰性対照群および陽性対照群では、染色体異常細胞の出現頻度は期待通りの値を示し、当試験が技術的に成立していることが示された。 従って、P092は、当試験条件下においてCHL/IU細胞に対する染色体異常誘発性を有しないと結論した。

表-4 吸収・分布・代謝・排泄に関する資料

試験名	試験方法		試験結果																																																														
	試験系	試験方法																																																															
1. 血中推移 (P092塩酸塩、 単回経口投与)	In vivo	雌雄ラット (n=3)にP092塩 酸塩を単回経口 投与したときの 血漿中P092濃度 を測定した。	<p>用量</p> <p>30mg/kg, 300mg/kg</p> <p>Tmax:雌雄ともに20分 Cmax:雄 7.1 mg/L(30mg/kg), 69.8 mg/L(300mg/kg) 雌 13.7 mg/L(30mg/kg), 68.6 mg/L(300mg/kg) t1/2 雄 63.3分(30mg/kg), 108.5分(300mg/kg) 雌 88.1分(30mg/kg), 143.4分(300mg/kg)</p>																																																														
2. 血中推移 (P092リン酸 塩、単回経口投 与)	In vivo	雄ラット(n=3) にP092リン酸塩 を単回経口投与 したときの血漿 中P092濃度を測 定した。	<p>用量</p> <p>15mg/kg, 60mg/kg, 250mg/kg</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">投与群</th> <th colspan="3">単回投与</th> </tr> <tr> <th>C_{max} (mg/L)</th> <th>t_{max} (h)</th> <th>AUC_{0-24h} (mgh/L)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>15 mg/kg</td> <td>2.20</td> <td>0.5</td> <td>3.16</td> </tr> <tr> <td>60 mg/kg</td> <td>9.61</td> <td>0.5</td> <td>12.0</td> </tr> <tr> <td>250 mg/kg</td> <td>85.3</td> <td>0.5</td> <td>142</td> </tr> </tbody> </table> <p>平均値 (n=3)、- : 測定値なし</p>	投与群	単回投与			C _{max} (mg/L)	t _{max} (h)	AUC _{0-24h} (mgh/L)	15 mg/kg	2.20	0.5	3.16	60 mg/kg	9.61	0.5	12.0	250 mg/kg	85.3	0.5	142																																											
投与群	単回投与																																																																
	C _{max} (mg/L)	t _{max} (h)	AUC _{0-24h} (mgh/L)																																																														
15 mg/kg	2.20	0.5	3.16																																																														
60 mg/kg	9.61	0.5	12.0																																																														
250 mg/kg	85.3	0.5	142																																																														
3. 血中推移 (P092塩酸塩、 単回/反復経口 及び静脈内投 与)	In vivo	ラットにP092塩 酸塩を単回/反 復(14日)で経口 又は静脈内投与 を行い、血中半 減期を測定し た。	<p>経口投与 : 30mg/kg, 300mg/kg 静脈内投与 : 125mg/kg, 500mg/kg</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="3">投与量 (mg/kg)</th> <th colspan="6">血漿中 P092 の半減期 (時間)</th> </tr> <tr> <th colspan="3">単回投与</th> <th colspan="3">反復投与</th> </tr> <tr> <th colspan="2">経口投与</th> <th>経口投与</th> <th colspan="2">静脈内投与</th> <th>経口投与</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>雄</td> <td>雌</td> <td>雄</td> <td>雌</td> <td>雄</td> <td>雌</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>-</td> <td>-</td> <td><1.05*</td> <td><1.06*</td> <td>0.68</td> <td>0.63</td> <td><1.47*</td> <td><1.08*</td> </tr> <tr> <td>125</td> <td>0.76</td> <td>0.61</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0.68</td> <td>0.63</td> <td><0.72*</td> <td><0.72*</td> </tr> <tr> <td>300</td> <td>-</td> <td>-</td> <td><1.81*</td> <td><2.39*</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>500</td> <td>0.64</td> <td>0.59</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0.63</td> <td>0.63</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table> <p>* : 最初の測定時点である投与後 20 分 (最高濃度) からの半減期。C_{max}は投与後 20 分-2 時間 の間にあると推定されるため、半減期は記載値より小さいと推察する。</p>	投与量 (mg/kg)	血漿中 P092 の半減期 (時間)						単回投与			反復投与			経口投与		経口投与	静脈内投与		経口投与		雄	雌	雄	雌	雄	雌	30	-	-	<1.05*	<1.06*	0.68	0.63	<1.47*	<1.08*	125	0.76	0.61	-	-	0.68	0.63	<0.72*	<0.72*	300	-	-	<1.81*	<2.39*	-	-	-	-	500	0.64	0.59	-	-	0.63	0.63	-	-
投与量 (mg/kg)	血漿中 P092 の半減期 (時間)																																																																
	単回投与				反復投与																																																												
	経口投与		経口投与	静脈内投与		経口投与																																																											
	雄	雌	雄	雌	雄	雌																																																											
30	-	-	<1.05*	<1.06*	0.68	0.63	<1.47*	<1.08*																																																									
125	0.76	0.61	-	-	0.68	0.63	<0.72*	<0.72*																																																									
300	-	-	<1.81*	<2.39*	-	-	-	-																																																									
500	0.64	0.59	-	-	0.63	0.63	-	-																																																									

資料 2

開発候補物の製剤・製品の規格、
製造工程記録一式、及び安定性試験

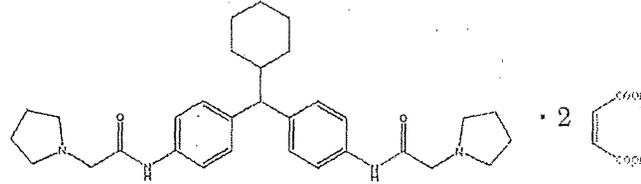
1. 規格 (案)

製品試験(案)

製品名：P092 マレイン酸塩

1. 化学名：
N,N'-((Cyclohexylmethylene)di-4,1-phenylene)bis(2-(1-pyrrolidine)acetamide
Dimaleate

2. 構造式：



3. 示性式： $C_{31}H_{42}N_4O_2 \cdot 2C_4H_4O_4$
4. 試験方法：日本薬局方 (JP) に準じる。
5. 本品を乾燥したものを定量するとき、P092 マレイン酸塩 99%以上含む。
6. 性状：本品は白色の粉末である。本品はメタノールに溶けやすく水およびエタノールにやや溶けにくい。本品は吸湿性が強い。
7. 確認試験：本品を乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法の KBr 錠剤法により試験を行い、本品のスペクトルと標準品のスペクトルを比較するとき、両者のスペクトルは同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。
8. 確認試験：本品 0.10g をメタノール 3mL に溶かし試料溶液とする。別にマレイン酸 105.3mg を水 10mL に溶かし標準溶液とする。これらの液について薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。試料溶液および標準溶液 5 μ L ずつ薄層クロマトグラフィー用薄層板 (Silicagel 70F254) にスポットする。次にジエチルエーテル/メタノール/酢酸/水溶液 (70 : 20 : 7 : 3) を展開溶媒として約 12cm 展開したのち薄層板を風乾する。これに紫外線を照射するとき試料溶液から得た 2 個のスポットのうち 1 個のスポットは標準溶液から得たスポットと同じ程度の濃さでありそれらの Rf 値は等しい。
9. 確認試験：本品 10~50mg を重ジメチルスルホキシド 0.5~1.0mL に溶かし、NMR 試料管に入れ核磁気共鳴スペクトル測定装置でプロトン及びカーボン NMR を測定する。
10. pH：本品 1.0g を新たに煮沸して冷却した水 100mL に溶かした液の pH は 3.5~5.0 である。
11. 純度試験：溶状 本品 1.0g を熱水 20mL に溶かすとき、液は無色わずかな微濁である。
12. 純度試験：塩化物 本品 1.0g をネスラー管にとり、水に溶かし 40mL とする。これに希硝酸 6mL、0.1mol/L 硝酸銀溶液 1mL 及び水を加えて 50mL とする。これを検液とし、試験を行う。比較液は、0.01mol/L 塩酸 0.28mL に希硝酸 6mL、0.1mol/L 硝酸銀溶液 1mL 及び水を加えて 50mL とする。
13. 純度試験：重金属 本品 1.0g をとり第 3 法により操作し試験を行う。比較液には鉛標準液 2.0mL を加える(20ppm 以下)。
14. 純度試験：類縁物質
本品を減圧デシケータ (シリカゲル) で 60 $^{\circ}$ C、24 時間以上乾燥し、その約 10mg をアセトニトリル 1 容量と水 1 容量を混合した溶液 20mL に溶かし試料溶液とする。この液 1mL を正確に取りアセトニトリル 1 容量と水 1 容量を混合した溶液を加えて正確に 100mL とし標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 10 μ L ずつを正確に取り、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行う。それぞれの液の各々のピーク面積を自動積分法により測定するとき試料溶液の P092 以外のピークの合計面積は標準溶液の P092 のピーク面積より大きくない。

試験条件

検出器、カラム、移動相および流量は P092 の試験条件を準用する。

面積測定範囲：P092の保持時間の2.5倍

システム適合性試験

システムの性能及びシステムの再現性はP092のシステム適合性を準用する。

15. 水分：10%以下 (0.1g、メタノール、容量滴定法)

16. 強熱残分：0.1%以下 (1.0g)

17. 定量法

本品及びP092標準品を減圧デシケータ（シリカゲル）で60℃、24時間以上乾燥し、その約40mgずつを正確に量り、それぞれに内標準溶液5mLを正確に加えた後、アセトニトリル1容量と水1容量を混合した溶液、100mLに溶かし試料溶液及び標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液5 μ Lにつき次の条件で高速液体クロマトグラフィーにより試験を行い、内標準物質のピーク面積に対するP092のピーク面積の比QT及びQSを求める。

$$\text{P092の量 (mg)} = \text{MS} \times \text{QT/QS}$$

MS：P092標準品の秤取量 (mg)

内標準溶液：パラオキシ安息香酸ブチルのアセトニトリル1容量と水1容量の混合溶液 (5→1000)

試験条件

検出器：紫外可視吸光光度計（測定波長：254nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル充填カラム

(Inertsil ODS-2、4.6mmI.D.×250mm または同等のカラム)

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相A：アセトニトリル1000mLにトリフルオロ酢酸2.0mLを加え混ぜる。

移動相B：水1000mLにトリフルオロ酢酸2.0mLを加え混ぜる。

移動相条件：アセトニトリル：移動相Bを20:80から開始して、20分間の直線グラジエント法で60:40にし、その後30分間保つ。

流量：本品の保持時間が約15分になるように調整する。試料溶液注入量：5 μ L

分析時間：50分間

システム適合性

システムの適合性

標準溶液2 μ Lにつき、上記の条件で操作するとき、P092、内標準物質の順に溶出しその分離度は6以上である。

システムの再現性

標準溶液5 μ Lにつき、上記の条件で試験を6回繰り返すとき、内標準物質のピーク面積に対するP092のピーク面積の比の相対標準偏差は1.0%以下である。

18. 非水滴定：本品を減圧デシケータ（シリカゲル）で60℃、24時間以上乾燥し、その約0.5gを精密に量り、酢酸25mLに溶かした後、アセトニトリル25mLを加えてよく混ぜる。0.1mol/L過塩素酸・酢酸溶液で電位差滴定を行う。同様の方法で空試験を行い、補正する。

0.1mol/L過塩素酸 1ml=36.742mg C₃₁H₄₂N₄O₂ · 2 C₄H₄O₄

20. 融点：USPに準拠 (USP<741>Apparatus II 相当)

製品検査項目

	製造時検査項目	安定性試験時検査項目 全検査は0ヶ月のみ 月数により項目を変更する。
外観	○	○毎回検査
IR	○	○1年ごと
TLC	○	○0ヶ月のみ
pH	○	○毎回検査
溶状	○	○毎回検査
塩化物	○	○0ヶ月のみ
重金属	○	○0ヶ月のみ
類縁物質	○	○毎回検査
水分	○	○毎回検査
強熱残分	○	○0ヶ月のみ
定量	○	○毎回検査
非水滴定	—	○1年ごと
融点	○	○東京化成で検査
HNMR	—	○1年ごと
XRD	—	○1年ごと

*性状の確認は行わない。

*規格値は暫定的なものであり実績を確認してから設定する。

*融点は、JP法では測定できないため東京化成で金属ブロック方式で検査する。

*サンプル量、濃度、注入量については標準物質の製造量との関係もあり変動する可能性がある。

2. 製造工程

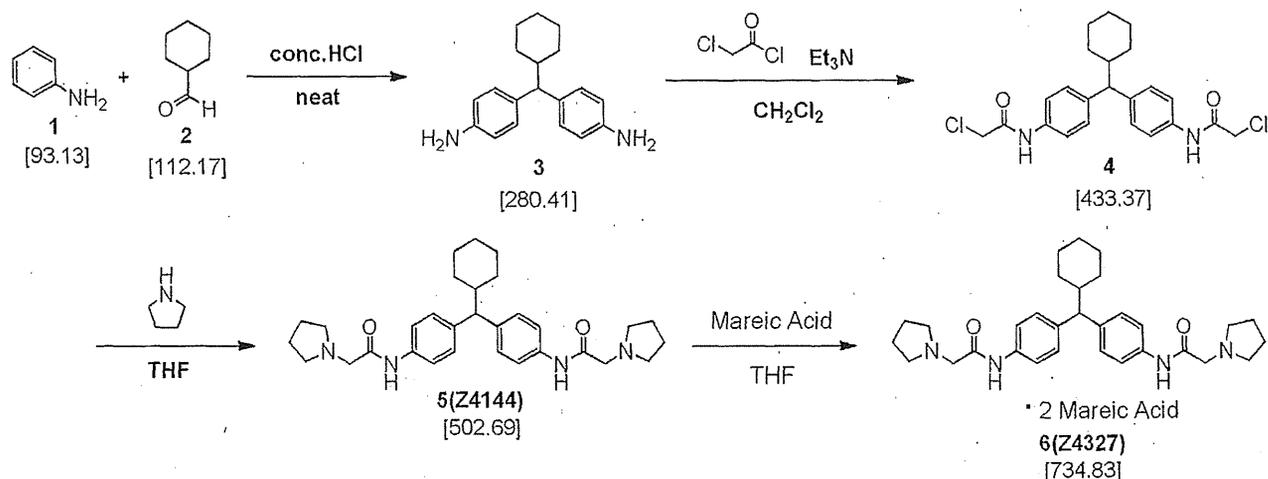
Z4327 *N,N*-[(Cyclohexylmethylene)di-4,1-phenylene]-

bis[2-(1-pyrrolidinyl)acetamide] Dimaleate(注射用水使用)製造報告書

2014年3月10日

東京化成工業 深谷技術研究所

三山 波砂



《第一工程》

反応容器に Aniline(1)1.17 kg(12.5mol)、Cyclohexanecarboxaldehyde(2)0.35kg(3.12mol)を仕込み、窒素置換した。これに室温下、濃塩酸 7.8g(0.08mol)を滴下した。反応液を5時間加熱還流した後、反応液にジエチレングリコール 1.5kg、水酸化ナトリウム水溶液 13g を加え、過剰の Aniline を留去した。これにトルエン 1.9L、塩酸水 2.2kg を加え分液した後、水層より目的物を析出させた。析出物を回収し、真空乾燥(45℃、63 時間)することにより、3 426g (y.48.7%)を得た。

《第二工程》

反応容器に 3 426g(1.52mol)、塩化メチレン 4.6L、Triethylamine 362g(3.58mol)を仕込み、窒素置換した。これを氷冷し、Chloroacetylchloride 404g(3.58mol)を滴下した。そのまま3時間反応させた後、析出した結晶を回収し、塩化メチレンで3回懸洗することにより 4 の粗製 625g(粗収率 94.9%)を得た。これを THF/CPME 混合溶液を用いて再結晶し、4 515g(y.78.2%)を得た。

《第三工程》

反応容器に Pyrrolidine 373g(5.25mol)、THF 5.2L を仕込み、室温下 4 515g(1.19mol)を分割添加した。添加後、18 時間攪拌した後、反応液に酢酸エチル 4.1L、THF 4.8L、注射用水 4.8L を加えた。これを分液し、有機層を食塩水で洗浄した。有機層を MgSO₄ にて乾燥後ろ過し、ろ液を濃縮することにより 5 の粗製 580g(粗収率 96.8%)を得た。これを THF/Diisopropylether 混合溶液、続いて IPA 変性 EtOH を用いて再結晶し、5 を 450g(y.75.3%)得た。

《第四工程》

5 450g(0.89mol)を THF 9.5L に溶解し、氷冷下マレイン酸 229g(1.97mol)の THF 溶液を滴下した。滴下終了後、室温で4時間攪拌した。析出した結晶をろ取り、6 の粗製 719g(粗収率 109%)を得た。この粗製を無水エタノール-注射用水の混合溶液(30 : 1)から再結晶し、6 584g(y.88.9%、lot.FA5QJ)を得た。

東京化成株式会社

深谷工場試験グループ

試験依頼者(製造元)

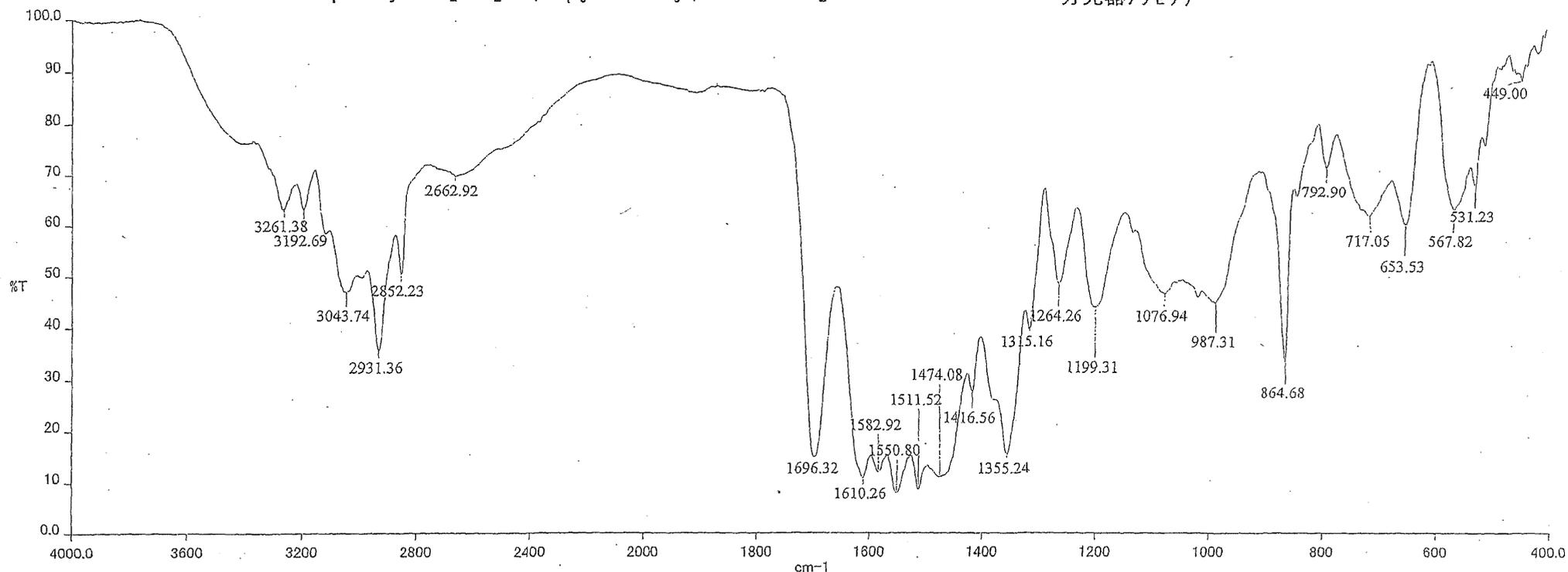
数量

分析者: Administrator

分光器アクセサリ

Z4327

N,N-[(Cyclohexylmethylene)di-4,1-phenylene]bis[2-(1-pyrrolidiny)acetamide]



- 91 -

Z43271401.pk

スペクトルファイル名: Z43271401.sp

スペクトルのパス名: C:\pel_data\spectra\FQCIR\Z43271401.sp

Z43271~1.SP 3595 4000.00 406.00 7.94 100.00 4.00 %T 4 2.00

測定日時: 2014年3月7日 11:27 東京 (標準時)

スキャン回数: 4

ゲイン:

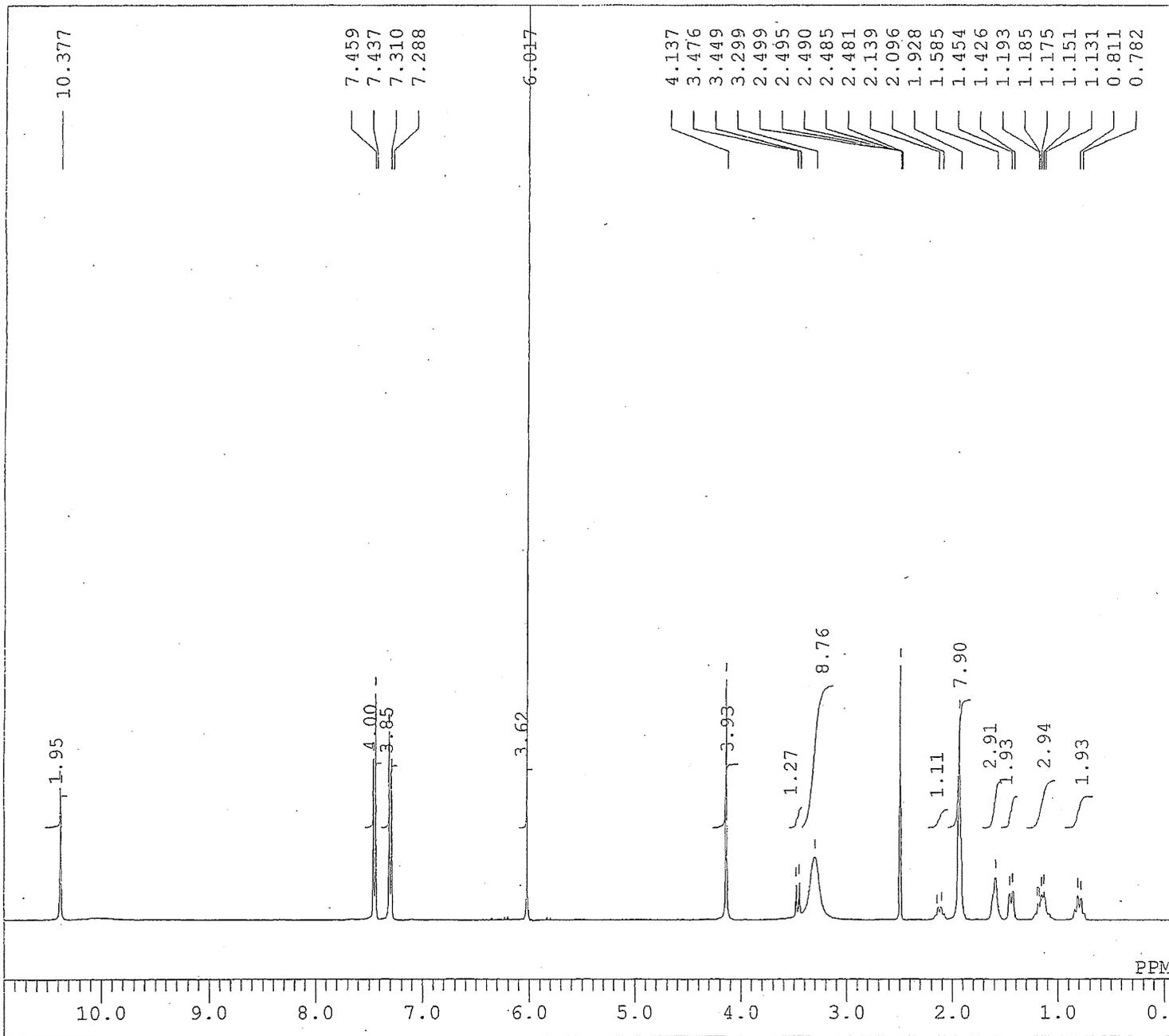
コメント: FA5QJ/KBr

記述:

Wavenumber (cm-1)	%T
3261.38	63.05
3192.69	63.09
3043.74	46.95
2931.36	35.57
2852.23	50.45
2662.92	69.74
1696.32	14.90
1610.26	10.84
1582.92	12.00
1550.80	7.94
1511.52	8.47
1474.08	11.01
1416.56	27.68
1355.24	15.45
1315.16	39.65
1264.26	48.77
1199.31	44.01
1076.94	46.58
987.31	44.86
864.68	33.78
792.90	71.72
717.05	62.00
653.53	60.21
567.82	63.28
531.23	68.10
449.00	89.20

FA5QJ

Z4327



DFILE GI1NM140214-1_PROTON-1.als
COMNT Z4327 Exp85 pump 0214
DATIM 14-02-2014 10:30:47
OBNUC 1H
EXMOD single_pulse.ex2
OBFRQ 399.78 MHz
OBSET 4.19 KHz
OBFIN 7.29 Hz
POINT 13107
FREQU 6002.31 Hz
SCANS 16
ACQTM 2.1837 sec
PD 5.0000 sec
PW1 5.70 usec
IRNUC 1H
CTEMP 20.6 c
SLVNT DMSO
EXREF 2.49 ppm
BF 0.12 Hz
RGAIN 44

FA5QJ

Z4327



試験成績書

2014年03月12日

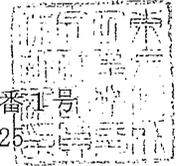
岐阜大学 御中

東京化成工業株式会社 品質保証部

〒103-0023

東京都中央区日本橋本町4丁目10番1号

TEL: 03(5640)8860、FAX: 03(5640)8025



製品名 : N, N' - [(シクロヘキシルメチレン)ジ-4, 1-フェニル]ピペリジン[2-(1-ヒドロキシエチル)アセトアミド]ニマリン カンエン					
製品コード : Z4327 CAS:	等級 :	製品ロット : FA5QJ	判定 : 合格	数量 : 500g	
項目	結果	規格値			
外観	白色粉末	白色の粉末			
IR	試験適合	KBr錠剤法で、標準品のスペクトルと同一波数に同様の強度の吸収			
TLC	試験適合	試料溶液から得られたスポットのうちの一つは標準溶液のスポットとRf値及び濃さが同等			
NMR (1H)	試験適合	標準品のスペクトルと同等のスペクトル			
pH	4.1	3.5 ~ 5.0			
熱水溶状	ほとんど澄明	熱水に対する5%溶液は無色でわずかな微濁あり			
塩化物(Cl)	試験適合	0.01 %以下			
重金属	試験適合	20 ppm以下			
ヒ素	試験適合	2 ppm以下			
類縁物質	試験適合	1 %以下			
水分	0.2 %	10 %以下			
強熱残分	0.1 %	0.1 %以下			
定量法	101.3 %	99 %以上			
純度(非水法)	100.2 %	99 %以上			
融点(分解)	152.5 deg-C				



平成 26 年 3 月 12 日

岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科

桑田 一夫 先生

東京化成工業株式会社
〒103-0023 東京都中央区日本橋本町4-10-1
営業本部 化成品部 小野 隆
TEL:03-5651-5171 FAX:03-5640-8021

書類送付のご案内

拝啓 毎度格別のお引き立てを賜り厚く御礼申し上げます。

下記の書類をお送りいたしますので、ご査収の程宜しくお願い申し上げます。

敬具

記

試験成績書 1部

チャート 1部

製造報告書 1部

MSDS 1部

以上