

6.8 データの取り扱い

検量線の作成と定量値の算出は、LC/MS/MS装置付属の解析ソフトウェア「Analyst」(Ver. 1.4.2, AB SCIEX)を用いた。定量値の単位は“ng/mL”として下表に従った。なお、精度算出時等、計算の過程で得られる数値は四捨五入しなかった。

項目	表示方法
定量値	Analyst で算出し、有効数字 4 桁で表示した (有効数字 5 桁目を四捨五入した)。
平均値	Microsoft Excel 2010 で算出し、定量値と同様に有効数字 4 桁で表示した (有効数字 5 桁目を四捨五入した)。
標準偏差	Microsoft Excel 2010 で算出し、平均値と同じ位で表示した。
ピーク面積	Analyst で算出し、整数で表示した (小数第 1 位を四捨五入した)。
%表記値	Microsoft Excel 2010 で算出し、小数第 1 位まで表示した (小数第 2 位を四捨五入した)。

7. 結果及び考察

7.1 ラット血液分析法の結果

7.1.1 選択性

Blank 中の P092 及び IS 溶出位置に夾雑ピークは認められなかった。本結果より本分析法は P092 及び IS に対して選択性があると判断した (Table 1)。

7.1.2 検量線の直線性

濃度範囲 5~1000 ng/mL における 8 点検量線用標準試料溶液の真度は 92.9%~109.0% であり、直線性の許容基準を満たした (Table 2)。Figure 1 に典型的なクロマトグラムを示した。

7.1.3 キャリーオーバー

定量上限試料注入直後に Blank を測定した結果、P092 及び IS 溶出位置にキャリーオーバーは認められなかった (Table 4)。

7.1.4 定量下限

選択性における Blank の P092 の溶出位置にピークは認められず、日内再現性における LLOQ QC (5 ng/mL) の真度は 88.3%、精度は 7.1% であり、許容基準を満たした (Table 5)。以上より定量下限を 5 ng/mL に設定した。

7.1.5 日内再現性

LLOQ QC-1 (5 ng/mL) の真度及び精度は 88.3% 及び 7.1%、Low QC-1 (10 ng/mL) の真度及び精度は 95.9% 及び 2.6%、Middle QC-1 (50 ng/mL) の真度及び精度は 94.8% 及び 1.1%、High QC-1 (800 ng/mL) の真度及び精度は 91.4% 及び 0.9% であり、いずれの濃度においても許容基準を満たした (Table 5)。

本結果より同日測定における分析法の再現性が保証された。

7.1.6 日間再現性

LLOQ QC-1 (5 ng/mL) の真度及び精度は 93.1% 及び 6.9%、Low QC-1 (10 ng/mL) の真度及び精度は 100.9% 及び 4.7%、Middle QC-1 (50 ng/mL) の真度及び精度は 93.4% 及び 2.1%、High QC-1 (800 ng/mL) の真度及び精度は 97.8% 及び 5.5% であり、いずれの濃度においても許容基準を満たした (Table 7)。

本結果より日毎の測定における分析法の再現性が保証された。

7.1.7 回収率及びマトリックス効果

P092 の Matrix factor の精度は 10 ng/mL では 4.2%、800 ng/mL では 4.4%、IS の Matrix factor の精度は 10 ng/mL では 2.6%、800 ng/mL では 2.9% であり、P092 及び IS のいずれの濃度においても許容基準を満たした (Table 9)。以上の結果より、動物個体間の変動が定量に影響を与えないことが保証された。

7.1.8 希釈妥当性

High QC-3 (800 ng/mL) をブランク血液で 5 倍希釈した時の定量値 (平均値) の真度及び精度は 98.5%及び 2.8%であった。同 QC サンプルをブランク血液で 20 倍希釈した時の定量値 (平均値) の真度及び精度は 99.6%及び 2.4%であった (Table 11)。

以上の結果より、20 倍までの希釈妥当性が保証された。

7.1.9 測定実測試料の安定性

Low QC-1 (10 ng/mL) における真度は、調製直後、オートサンプラ内 6, 12, 24 及び 48 時間保存後でそれぞれ 100.8%, 100.4%, 95.1%, 96.2%及び 95.4%であった。High QC-1 (800 ng/mL) における真度は、調製直後、オートサンプラ内 6, 12, 24 及び 48 時間保存後でそれぞれ 104.7%, 104.9%, 101.3%, 106.1%及び 105.8%であった。(Table 12)。

いずれの濃度においても安定性の許容基準を満たし、測定実測試料中の P092 は 4°C に設定されたオートサンプラ中にて 48 時間まで安定であることが保証された。

7.1.10 凍結融解安定性

Low QC-2 (10 ng/mL) における真度は、調製直後及び凍結融解 3 回後でそれぞれ 90.2%及び 76.8%であった。High QC (800 ng/mL) における真度は、調製直後及び凍結融解 3 回後でそれぞれ 94.9%及び 86.9%であった (Table 14)。

High QC (800 ng/mL) においては許容基準を満たすものの、Low QC-2 (10 ng/mL) においては凍結融解 3 回後の安定性のみ許容基準を満たさなかった。

よって、本結果からラット血液中 P092 の -80°C における凍結融解安定性を評価できないと判断した (8.1 項参照)。

7.1.11 短期安定性

Low QC-2 (10 ng/mL) における真度は、融解直後、冷蔵 6 及び 24 時間放置後で 83.9%, 86.2% 及び 87.5%であった。High QC (800 ng/mL) における真度は、融解直後、冷蔵 6 及び 24 時間放置後で 87.1%, 81.7%及び 90.5%であった (Table 15)。

Low QC-2 (10 ng/mL) の冷蔵 6 及び 24 時間放置後、High QC (800 ng/mL) の融解直後及び冷蔵 24 時間放置後においては安定性の許容基準を満たすものの、Low QC-2 (10 ng/mL) の調製直後、High QC (800 ng/mL) の冷蔵 6 時間放置後においては安定性の許容基準を満たさなかった。

継時的な定量値の減少傾向はみられないものの、本結果からラット血液中 P092 の冷蔵安定性を評価できないと判断した (8.1 項参照)。

7.1.12 長期安定性

Low QC-2 (10 ng/mL) における真度は、調製直後及び 29 日後で、90.2%及び 69.6%であった。High QC-2 (800 ng/mL) における真度は、調製直後及び 29 日後で、94.9%及び 78.0%であった。(Table 17)。

いずれの濃度においても安定性の許容基準を満たさなかった。

凍結融解安定性及び短期安定性の結果から、血液試料の分取に問題がある可能性が示されて

いる点から、ラット血液中 P092 の長期保存安定性を評価できないと判断した（8.1 項参照）。

7.1.13 標準試料溶液及び IS 試料溶液の安定性

<室温における安定性>

室温下にて 24 時間放置した標準試料原液（200 µg/mL）及び標準試料溶液（5 ng/mL）の残存率は、それぞれ 107.6%及び 103.8%であり、安定性の許容基準を満たした。また、室温下にて 24 時間放置した ISSS（100 µg/mL）及び ISWS（500 ng/mL）の残存率は、104.5%及び 99.5%であり、安定性の許容基準を満たした。以上の結果より、標準試料原液、標準試料溶液、ISSS 及び ISWS は、室温下にて 24 時間まで安定であることが保証された（Table 19）。

<冷蔵における安定性>

冷蔵にて 32 日間保存した標準試料原液（200 µg/mL）及び標準試料溶液（5 ng/mL）の残存率は、それぞれ 96.0%及び 98.5%であり、安定性の許容基準を満たした。また冷蔵にて 32 日間保存した ISSS（100 µg/mL）及び ISWS（500 ng/mL）の残存率は、それぞれ 99.2%及び 99.3%であり、安定性の許容基準を満たした。以上の結果より、標準試料原液、標準試料溶液、ISSS 及び ISWS は、冷蔵下にて 32 日間安定であることが保証された（Table 20）。

7.2 サル血液分析法の結果

7.2.1 選択性

Blank 中の P092 及び IS 溶出位置に夾雑ピークは認められなかった。本結果より本分析法は P092 及び IS に対して選択性があると判断した（Table 1）。

7.2.2 検量線の直線性

濃度範囲 5~1000 ng/mL における 8 点検量線用標準試料溶液の真度は 92.6%~107.0%であり、直線性の許容基準を満たした（Table 3）。Figure 2 に典型的なクロマトグラムを示した。

7.2.3 キャリーオーバー

定量上限試料注入直後に Blank を測定した結果、P092 及び IS 溶出位置にキャリーオーバーは認められなかった（Table 4）。

7.2.4 定量下限

選択性における Blank の P092 の溶出位置にピークは認められず、日内再現性における LLOQ QC（5 ng/mL）の真度は 96.4%、精度は 4.9%であり、許容基準を満たした（Table 6）。以上より定量下限を 5 ng/mL に設定した。

7.2.5 日内再現性

LLOQ QC-1（5 ng/mL）の真度及び精度は 96.4%及び 4.9%、Low QC-1（10 ng/mL）の真度及び精度は 96.0%及び 1.7%、Middle QC-1（50 ng/mL）の真度及び精度は 95.3%及び 1.4%、High QC-1（800 ng/mL）の真度及び精度は 92.5%及び 1.7%であり、いずれの濃度においても許容

基準を満たした (Table 6) .

本結果より同日測定における分析法の再現性が保証された.

7.2.6 日間再現性

LLOQ QC-1 (5 ng/mL) の真度及び精度は 95.3%及び 6.5%, Low QC-1 (10 ng/mL) の真度及び精度は 96.7%及び 2.4%, Middle QC-1 (50 ng/mL) の真度及び精度は 93.8%及び 1.7%, High QC-1 (800 ng/mL) の真度及び精度は 99.7%及び 5.9%であり, いずれの濃度においても許容基準を満たした (Table 8) .

本結果より日毎の測定における分析法の再現性が保証された.

7.2.7 回収率及びマトリックス効果

P092 の Matrix factor の精度は 10 ng/mL では 5.0%, 800 ng/mL では 1.9%, IS の Matrix factor の精度は 10 ng/mL では 2.2%, 800 ng/mL では 2.1%であり, P092 及び IS のいずれの濃度においても許容基準を満たした (Table 10) . 以上の結果より, 動物個体間の変動が定量に影響を与えないことが保証された.

7.2.8 希釈妥当性

High QC-3 (800 ng/mL) をブランク血液で 5 倍希釈した時の定量値 (平均値) の真度及び精度は 90.2%及び 2.5%であった. 同 QC サンプルをブランク血液で 20 倍希釈した時の定量値 (平均値) の真度及び精度は 93.7%及び 1.6%であった (Table 11) .

以上の結果より, 20 倍までの希釈妥当性が保証された.

7.2.9 測定実測試料の安定性

Low QC-1 (10 ng/mL) における真度は, 調製直後, オートサンプル内 6, 12, 24 及び 48 時間保存後でそれぞれ 95.9%, 93.6%, 87.6%, 90.3%及び 93.7%であった. High QC-1 (800 ng/mL) における真度は, 調製直後, オートサンプル内 6, 12, 24 及び 48 時間保存後でそれぞれ 106.5%, 99.9%, 95.3%, 98.5%及び 99.1%であった (Table 13) .

いずれの濃度においても安定性の許容基準を満たし, 測定実測試料中の P092 は 4°C に設定されたオートサンプル中にて 48 時間まで安定であることが保証された.

7.2.10 凍結融解安定性

Low QC-2 (10 ng/mL) における真度は, 調製直後及び凍結融解 3 回後でそれぞれ 91.1%及び 82.3%であった. High QC (800 ng/mL) における真度は, 調製直後及び凍結融解 3 回後でそれぞれ 103.4%及び 94.6%であった (Table 14) .

High QC (800 ng/mL) においては許容基準を満たすものの, Low QC-2 (10 ng/mL) においては凍結融解 3 回後の安定性のみ許容基準を満たさなかった.

よって, 本結果からラット血液中 P092 の -80°C における凍結融解安定性を評価できないと判断した (8.1 項参照) .

7.2.11 短期安定性

Low QC-2 (10 ng/mL) における真度は、融解直後、冷蔵 6 及び 24 時間放置後で 81.7%, 77.1% 及び 78.8%であった。High QC (800 ng/mL) における真度は、融解直後、冷蔵 6 及び 24 時間放置後で 94.5%, 97.1%及び 93.4%であった (Table 16)。

High QC (800 ng/mL) では許容基準を満たすものの、Low QC-2 (10 ng/mL) においては安定性の許容基準を満たさなかった。

しかし、Low QC-2 (10 ng/mL) において継時的な定量値の減少傾向はみられていないことから、本結果からラット血液中 P092 の冷蔵安定性を評価できないと判断した (8.1 項参照)。

7.2.12 長期安定性

Low QC-2 (10 ng/mL) における真度は、調製直後及び 29 日後で、91.1%及び 79.0%であった。

High QC-2 (800 ng/mL) における真度は、調製直後及び 29 日後で、103.4%及び 84.5%であった。(Table 18)。いずれの濃度においても安定性の許容基準を満たさなかった。

凍結融解安定性及び短期安定性の結果から、血液試料の分取に問題がある可能性が示されている点から、ラット血液中 P092 の長期保存安定性を評価できないと判断した (8.1 項参照)。

8. 特記事項

8.1 ラット及びサル血液中凍結融解安定性、短期安定性及び長期安定性の評価

本試験において日内再現性、日間再現性及びその他のバリデーション項目については、全て真度及び精度が許容基準を満たす結果が得られており、分析法の妥当性には問題ないと判断した。

一方、ラット及びサル血液中の凍結融解安定性、短期安定性及び長期安定性においては、調製濃度に対する真度が許容基準を満たさない時点もしくは濃度が認められ、安定性を評価できない結果となった。しかし、凍結融解安定性及び短期安定性の調製直後もしくは融解直後に対する残存率は、 $100 \pm 15\%$ 以内と一概に安定性がないとは評価し難く、改めてバリデーションを実施し、再評価が必要と判断した。

8.2 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

該当事項なし

8.3 試験計画書に従わなかったこと

該当事項なし

Table 1 Selectivity

<Rat>

Blood No.	Sample	P092		IS	
		Peak area	Ratio (%)	Peak area	Ratio (%)
Male No. 1	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	2961	--	359182	--
Male No. 2	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	2811	--	361010	--
Male No. 3	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	2944	--	367765	--
Female No. 1	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	2639	--	360335	--
Female No. 2	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	2509	--	353281	--
Female No. 3	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	2635	--	368876	--

LLOQ: Lower limit of quantification

Ratio (%) = (peak area in Blank / peak area in LLOQ) × 100

--: Not applicable

<Monkey>

Blood No.	Sample	P092		IS	
		Peak area	Ratio (%)	Peak area	Ratio (%)
Male No. 1	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	3605	--	371884	--
Male No. 2	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	3782	--	384063	--
Male No. 3	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	3836	--	377626	--
Female No. 1	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	3253	--	370166	--
Female No. 2	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	3534	--	375268	--
Female No. 3	Blank	0	0.0	0	0.0
	LLOQ	3513	--	371919	--

LLOQ: Lower limit of quantification

Ratio (%) = (peak area in Blank / peak area in LLOQ) × 100

--: Not applicable

Table 2 Linearity of Calibration Curve in Rat Blood

<Rat>							
Analyte	Date	Calibration curve			Back ground (% of LLOQ)		
		Concentration (ng/mL)		Accuracy (%)	Sample	Peak area	
		Nominal	Measured			P092	IS
P092	2015/1/22	5	4.920	98.4	Blank	0	0
		10	10.50	105.0	(0.0) (0.0)		
		20	19.27	96.4	Zero	0	473516
		50	49.47	98.9	(0.0)	--	
		100	101.1	101.1	LLOQ	2716	453798
		200	204.0	102.0			
		500	504.2	100.8			
		1000	973.5	97.4			
P092	2015/1/26	5	5.063	101.3	Blank	0	0
		10	9.696	97.0	(0.0) (0.0)		
		20	19.88	99.4	Zero	137	397659
		50	49.58	99.2	(4.8)	--	
		100	109.0	109.0	LLOQ	2883	386211
		200	211.1	105.6			
		500	479.0	95.8			
		1000	929.4	92.9			
P092	2015/1/27	5	4.992	99.8	Blank	0	0
		10	10.14	101.4	(0.0) (0.0)		
		20	19.66	98.3	Zero	0	378827
		50	48.59	97.2	(0.0)	--	
		100	100.8	100.8	LLOQ	2880	368981
		200	207.4	103.7			
		500	508.0	101.6			
		1000	971.5	97.2			

LLOQ: Lower limit of quantification

Accuracy (%) = measured value/nominal value×100

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

--: Not applicable

Table 2 Continued

<Rat>							
Analyte	Date	Calibration curve			Back ground (% of LLOQ)		
		Concentration (ng/mL)		Accuracy (%)	Sample	Peak area	
		Nominal	Measured			P092	IS
P092	2015/2/2	5	4.749	95.0	Blank	0	0
		10	10.89	108.9		(0.0)	(0.0)
		20	20.46	102.3	Zero	0	544952
		50	50.17	100.3		(0.0)	--
		100	100.8	100.8	LLOQ	2825	521527
		200	198.4	99.2			
		500	494.3	98.9			
		1000	945.9	94.6			
P092	2015/2/3	5	4.795	95.9	Blank	0	0
		10	10.64	106.4		(0.0)	(0.0)
		20	20.81	104.1	Zero	0	447614
		50	49.33	98.7		(0.0)	--
		100	101.6	101.6	LLOQ	2168	431549
		200	201.8	100.9			
		500	496.1	99.2			
		1000	933.8	93.4			
P092	2015/2/24	5	5.031	100.6	Blank	0	0
		10	9.896	99.0		(0.0)	(0.0)
		20	19.73	98.7	Zero	0	238764
		50	50.11	100.2		(0.0)	--
		100	103.2	103.2	LLOQ	2023	237036
		200	207.2	103.6			
		500	485.8	97.2			
		1000	975.6	97.6			

LLOQ: Lower limit of quantification

Accuracy (%) = measured value/nominal value×100

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

--: Not applicable

Table 3 Linearity of Calibration Curve in Monkey Blood

<Monkey>							
Analyte	Date	Calibration curve			Back ground (% of LLOQ)		
		Concentration (ng/mL)		Accuracy (%)	Sample	Peak area	
		Nominal	Measured			P092	IS
P092	2015/1/22	5	4.883	97.7	Blank	0	0
		10	10.32	103.2	(0.0) (0.0)		
		20	20.34	101.7	Zero	0	440700
		50	50.27	100.5	(0.0)	--	
		100	106.1	106.1	LLOQ	3314	430116
		200	200.7	100.4			
		500	489.0	97.8			
		1000	926.1	92.6			
P092	2015/1/26	5	4.850	97.0	Blank	0	0
		10	10.35	103.5	(0.0) (0.0)		
		20	20.81	104.1	Zero	0	384163
		50	50.75	101.5	(0.0)	--	
		100	101.8	101.8	LLOQ	3435	372657
		200	202.0	101.0			
		500	485.1	97.0			
		1000	940.8	94.1			
P092	2015/1/27	5	4.819	96.4	Blank	0	0
		10	10.70	107.0	(0.0) (0.0)		
		20	19.87	99.4	Zero	0	356628
		50	51.00	102.0	(0.0)	--	
		100	102.0	102.0	LLOQ	3240	334259
		200	202.8	101.4			
		500	483.2	96.6			
		1000	952.1	95.2			

LLOQ: Lower limit of quantification

Accuracy (%) = measured value/nominal value×100

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

--: Not applicable

Table 3 Continued

<Monkey>							
Analyte	Date	Calibration curve			Back ground (% of LLOQ)		
		Concentration (ng/mL)		Accuracy (%)	Sample	Peak area	
		Nominal	Measured			P092	IS
P092	2015/2/2	5	4.833	96.7	Blank	0	0
		10	10.46	104.6	(0.0) (0.0)		
		20	20.73	103.7	Zero	0	507263
		50	50.94	101.9	(0.0)	--	
		100	99.35	99.4	LLOQ	3537	484188
		200	201.3	100.7			
		500	484.2	96.8			
		1000	964.0	96.4			
P092	2015/2/3	5	5.030	100.6	Blank	0	0
		10	9.958	99.6	(0.0) (0.0)		
		20	19.41	97.1	Zero	0	455978
		50	51.73	103.5	(0.0)	--	
		100	98.09	98.1	LLOQ	3291	430263
		200	209.9	105.0			
		500	492.6	98.5			
		1000	977.4	97.7			
P092	2015/2/24	5	4.932	98.6	Blank	0	0
		10	10.19	101.9	(0.0) (0.0)		
		20	20.14	100.7	Zero	0	244491
		50	50.69	101.4	(0.0)	--	
		100	103.5	103.5	LLOQ	1846	222933
		200	195.8	97.9			
		500	480.5	96.1			
		1000	999.0	99.9			

LLOQ: Lower limit of quantification

Accuracy (%) = measured value/nominal value×100

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

--: Not applicable

Table 4 Carry-over

<Rat>

Sample	P092		IS	
	Peak area	Ratio (%)	Peak area	Ratio (%)
LLOQ-1	2716	--	453798	--
ULOQ-1	451871	--	435368	--
Blank-1	0	0.0	0	0.0
LLOQ-2	2675	--	449620	--
ULOQ-2	454289	--	445563	--
Blank-2	0	0.0	0	0.0
LLOQ-3	2702	--	442187	--
ULOQ-3	452380	--	440983	--
Blank-3	0	0.0	0	0.0

LLOQ: Lower limit of quantification, ULOQ: Upper limit of quantification

Ratio (%) = (peak area in Blank/peak area in LLOQ)×100

--: Not applicable

<Monkey>

Sample	P092		IS	
	Peak area	Ratio (%)	Peak area	Ratio (%)
LLOQ-1	3314	--	430116	--
ULOQ-1	528367	--	420706	--
Blank-1	0	0.0	0	0.0
LLOQ-2	3177	--	426841	--
ULOQ-2	534884	--	420500	--
Blank-2	0	0.0	0	0.0
LLOQ-3	3082	--	432822	--
ULOQ-3	538862	--	421605	--
Blank-3	0	0.0	0	0.0

LLOQ: Lower limit of quantification, ULOQ: Upper limit of quantification

Ratio (%) = (peak area in Blank/peak area in LLOQ)×100

--: Not applicable

Table 5 Within-run Accuracy and Precision in Rat Blood

<Rat>						
Analyte	Concentration (ng/mL)				Accuracy (%)	Precision (%)
	Nominal	Measured	Mean	SD		
P092	5	4.741	4.414	0.314	88.3	7.1
		4.637				
		4.112				
		4.050				
		4.528				
	10	9.432	9.593	0.249	95.9	2.6
		9.570				
		9.688				
		9.960				
		9.314				
	50	47.82	47.40	0.52	94.8	1.1
		47.79				
		46.65				
		47.68				
		47.08				
	800	732.2	731.3	6.5	91.4	0.9
		740.5				
		728.9				
		732.3				
		722.4				

SD: Standard deviation

Accuracy (%) = mean value/nominal value×100

Precision (%) = standard deviation/mean value×100

Table 6 Within-run Accuracy and Precision in Monkey Blood

<Monkey>						
Analyte	Concentration (ng/mL)				Accuracy (%)	Precision (%)
	Nominal	Measured	Mean	SD		
P092	5	4.680	4.821	0.237	96.4	4.9
		5.092				
		4.532				
		5.034				
		4.767				
	10	9.846	9.598	0.162	96.0	1.7
		9.647				
		9.413				
		9.559				
		9.526				
	50	46.49	47.65	0.67	95.3	1.4
		47.68				
		48.03				
		48.12				
		47.91				
800	737.1	740.2	12.9	92.5	1.7	
	759.1					
	745.9					
	725.3					
	733.6					

SD: Standard deviation

Accuracy (%) = mean value/nominal value×100

Precision (%) = standard deviation/mean value×100

Table 7 Between-run Accuracy and Precision in Rat Blood

<Rat>							
Analyte	Concentration (ng/mL)					Accuracy (%)	Precision (%)
	Nominal	Run	Measured	Mean	SD		
P092	5	1	4.741	4.653	0.323	93.1	6.9
			4.637				
			4.112				
			4.050				
			4.528				
		5.198					
		4.905					
		4.956					
		4.695					
		4.942					
	10	2	4.431	10.09	0.48	100.9	4.7
			5.010				
			4.605				
			4.427				
			4.556				
		9.432					
		9.570					
		9.688					
		9.960					
		9.314					
3	10.16						
	10.37						
	10.77						
	10.48						
	10.89						
3	9.980	10.11					
	10.16						
	10.11						
	10.62						
	9.877						

SD: Standard deviation

Accuracy (%) = mean value/nominal value×100

Precision (%) = standard deviation/mean value×100

Table 7 Continued

<Rat>							
Analyte	Concentration (ng/mL)					Accuracy (%)	Precision (%)
	Nominal	Run	Measured	Mean	SD		
P092	50	1	47.82	46.69	1.00	93.4	2.1
			47.79				
			46.65				
			47.68				
			47.08				
			46.50				
	50	2	45.66	46.69	1.00	93.4	2.1
			45.85				
			45.68				
			45.00				
			46.54				
			46.25				
	50	3	48.09	46.69	1.00	93.4	2.1
			45.84				
			47.99				
			732.2				
			740.5				
			728.9				
800	2	732.3	782.5	43.3	97.8	5.5	
		722.4					
		779.5					
		785.3					
		781.3					
		787.2					
800	3	786.6	782.5	43.3	97.8	5.5	
		827.1					
		837.7					
		848.7					
		822.2					
		825.7					

SD: Standard deviation

Accuracy (%) = mean value/nominal value×100

Precision (%) = standard deviation/mean value×100

Table 8 Between-run Accuracy and Precision in Monkey Blood

<Monkey>							
Analyte	Concentration (ng/mL)					Accuracy (%)	Precision (%)
	Nominal	Run	Measured	Mean	SD		
P092	5	1	4.680	4.766	0.309	95.3	6.5
			5.092				
			4.532				
			5.034				
			4.767				
		5.119					
		4.747					
		4.627					
		5.100					
		5.213					
	10	2	4.092	9.665	0.233	96.7	2.4
			4.554				
			4.559				
			4.477				
			4.891				
		9.846					
		3	9.647				
			9.413				
			9.559				
			9.526				
9.907							
2	9.616						
	9.954						
	10.15						
	9.763						
	9.492						
3	9.424						
	9.844						
	9.382						
	9.459						

SD: Standard deviation

Accuracy (%) = mean value/nominal value×100

Precision (%) = standard deviation/mean value×100

Table 8 continued

<Monkey>							
Analyte	Concentration (ng/mL)					Accuracy (%)	Precision (%)
	Nominal	Run	Measured	Mean	SD		
P092	50	1	46.49	46.90	0.79	93.8	1.7
			47.68				
			48.03				
			48.12				
			47.91				
		47.15					
		45.93					
		46.72					
		46.80					
	46.20						
	46.49						
	47.59						
	46.40	3	46.37				
	45.65						
	737.1						
	800	1	759.1	797.5	47.0	99.7	5.9
			745.9				
			725.3				
733.6							
797.5							
799.8							
805.8		2	806.0				
804.4							
851.3							
850.5							
854.9	3	848.8					
841.8							

SD: Standard deviation

Accuracy (%) = mean value/nominal value×100

Precision (%) = standard deviation/mean value×100

Table 9 Recovery and Matrix effect in Rat Blood

<Rat>								
Analyte	P092 Conc. (ng/mL)	Sample	Sample No.	Peak area	Matrix factor (%)			Precision (%)
					Individual	Mean	SD	
P092	10	Matrix effect sample	Male No. 1	5495	72.8	71.5	3.0	4.2
			Male No. 2	5350	70.8			
			Male No. 3	4995	66.1			
			Female No. 1	5516	73.0			
			Female No. 2	5664	75.0			
			Female No. 3	5398	71.5			
			Standard sample	--	6666			
		--	7995	--	--	--		
		--	7994	--	--	--		
		Mean	--	7552	--	--	--	--
	800	Matrix effect sample	Male No. 1	400660	64.5	64.1	2.8	4.4
			Male No. 2	412142	66.4			
			Male No. 3	373798	60.2			
			Female No. 1	379828	61.2			
Female No. 2			416192	67.0				
Female No. 3			406420	65.5				
Standard sample			--	622117	--			
	--	621488	--	--	--			
	--	619278	--	--	--			
	Mean	--	620961	--	--	--	--	
IS (500 ng/mL)	10	Matrix effect sample	Male No. 1	351737	93.0	95.7	2.5	2.6
			Male No. 2	366445	96.8			
			Male No. 3	367908	97.2			
			Female No. 1	373889	98.8			
			Female No. 2	361838	95.6			
			Female No. 3	349828	92.5			
			Standard sample	--	376377			
		--	377292	--	--	--		
		--	381444	--	--	--		
		Mean	--	378371	--	--	--	--
	800	Matrix effect sample	Male No. 1	341173	91.0	95.0	2.7	2.9
			Male No. 2	369331	98.5			
			Male No. 3	352600	94.1			
			Female No. 1	352320	94.0			
Female No. 2			355610	94.9				
Female No. 3			366428	97.7				
Standard sample			--	371161	--			
	--	376346	--	--	--			
	--	377110	--	--	--			
	Mean	--	374872	--	--	--	--	

SD: Standard deviation

Matrix factor (%) = (peak area of matrix effect sample/mean peak area of standard sample)×100

Precision (%) = standard deviation/mean value×100

--: Not applicable

Table 10 Recovery and Matrix effect in Monkey Blood

<Monkey>											
Analyte	P092 Conc. (ng/mL)	Sample	Sample No.	Peak area	Matrix factor (%)			Precision (%)			
					Individual	Mean	SD				
P092	10	Matrix effect sample	Male No. 1	6968	89.6	89.3	4.4	5.0			
			Male No. 2	7276	93.6						
			Male No. 3	7108	91.4						
			Female No. 1	7174	92.3						
			Female No. 2	6787	87.3						
			Female No. 3	6326	81.4						
			Standard sample	--	7214				--	--	--
			--	--	7890				--	--	--
			--	--	8219				--	--	--
	Mean	--	7774	--	--	--	--				
	800	Matrix effect sample	Male No. 1	500607	84.0	82.6	1.6	1.9			
			Male No. 2	481189	80.8						
			Male No. 3	501819	84.2						
			Female No. 1	482181	80.9						
			Female No. 2	497430	83.5						
Female No. 3			488203	81.9							
Standard sample			--	597399	--				--	--	
--			--	599632	--				--	--	
--			--	590372	--				--	--	
Mean	--	595801	--	--	--	--					
IS (500 ng/mL)	10	Matrix effect sample	Male No. 1	369015	102.3	100.7	2.2	2.2			
			Male No. 2	362268	100.4						
			Male No. 3	361360	100.1						
			Female No. 1	374253	103.7						
			Female No. 2	362008	100.3						
			Female No. 3	350578	97.2						
			Standard sample	--	360359				--	--	--
			--	--	360640				--	--	--
			--	--	361564				--	--	--
	Mean	--	360854	--	--	--	--				
	800	Matrix effect sample	Male No. 1	355781	95.5	95.9	2.0	2.1			
			Male No. 2	343588	92.2						
			Male No. 3	361985	97.1						
			Female No. 1	361521	97.0						
			Female No. 2	356955	95.8						
Female No. 3			364579	97.8							
Standard sample			--	373036	--				--	--	
--			--	373984	--				--	--	
--			--	370970	--				--	--	
Mean	--	372663	--	--	--	--					

SD: Standard deviation

Matrix factor (%) = (peak area of matrix effect sample/mean peak area of standard sample)×100

Precision (%) = standard deviation/mean value×100

--: Not applicable