

Table 11 Dilution Integrity

<Rat>

Analyte	Dilution	Concentration (ng/mL)				Accuracy (%)	Precision (%)	
		Nominal	Measured	Mean	SD			
P092	5	800	819.1	785.9	788.2	22.4	98.5	2.8
			758.2	797.7				
			780.1	780.1				
			824.7	786.6				
			775.4	797.1				
	20	800	804.9	793.9	797.1	18.8	99.6	2.4
			775.4	797.1				
			804.9	793.9				
			775.4	797.1				
			804.9	793.9				

SD: Standard deviation

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

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

<Monkey>

Analyte	Dilution	Concentration (ng/mL)				Accuracy (%)	Precision (%)	
		Nominal	Measured	Mean	SD			
P092	5	800	750.4	721.9	721.4	17.7	90.2	2.5
			703.8	711.4				
			719.4	719.4				
			768.1	737.2				
			741.1	749.3				
	20	800	749.0	750.9	749.3	11.9	93.7	1.6
			741.1	749.3				
			749.0	750.9				
			741.1	749.3				
			749.0	750.9				

SD: Standard deviation

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

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

Table 12 Post-preparative Stability in Rat Blood at 4°C

<Rat>					
Analyte	Concentration (ng/mL)			Mean	Accuracy (%)
	Nominal	Storage period	Measured		
P092	10	Just after preparation	9.980	10.08	100.8
			10.16		
			10.11		
		6 h	9.988	10.04	100.4
			9.757		
			10.38		
		12 h	9.172	9.511	95.1
			9.322		
			10.04		
		24 h	9.329	9.624	96.2
			9.641		
			9.903		
	48 h	8.883	9.538	95.4	
		9.745			
		9.985			
	800	Just after preparation	827.1	837.8	104.7
			837.7		
			848.7		
		6 h	853.6	839.0	104.9
			843.6		
			819.8		
		12 h	827.4	810.6	101.3
			808.1		
			796.2		
24 h		869.1	848.7	106.1	
		857.0			
		820.0			
48 h	891.5	846.4	105.8		
	874.3				
	773.5				

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

Table 13 Post-preparative Stability in Monkey Blood at 4°C

<Monkey>							
Analyte	Concentration (ng/mL)			Mean	Accuracy (%)		
	Nominal	Storage period	Measured				
P092	10	Just after preparation	9.492	9.587	95.9		
			9.424				
			9.844				
		6 h	9.580	9.364	93.6		
			9.424				
			9.088				
		12 h	8.781	8.755	87.6		
			8.535				
			8.950				
		24 h	8.581	9.031	90.3		
			9.174				
			9.338				
		48 h	9.065	9.367	93.7		
			9.430				
			9.605				
		P092	800	Just after preparation	851.3	852.2	106.5
					850.5		
					854.9		
6 h	793.9			799.5	99.9		
	807.1						
	797.4						
12 h	758.5			762.3	95.3		
	777.2						
	751.1						
24 h	763.4			787.7	98.5		
	816.0						
	783.8						
48 h	740.5			792.8	99.1		
	861.5						
	776.4						

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

Table 14 Freeze and Thaw Stability at -80°C

<Rat>

Analyte	Concentration (ng/mL)			Mean	Accuracy (%)
	Nominal	Cycle	Measured		
P092	10	Just after preparation	9.306	9.018	90.2
			9.221		
			8.527		
		7.903			
	800	Just after preparation	750.6	758.9	94.9
			774.9		
			751.1		
		719.5			
800	3 cycles	7.495	7.682	76.8	
		7.647			
		683.2			
	682.1				

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

<Monkey>

Analyte	Concentration (ng/mL)			Mean	Accuracy (%)
	Nominal	Cycle	Measured		
P092	10	Just after preparation	9.355	9.108	91.1
			9.031		
			8.938		
		9.083			
	800	Just after preparation	819.0	827.3	103.4
			818.8		
			844.0		
		769.5			
800	3 cycles	7.957	8.229	82.3	
		7.647			
		744.7			
	755.1				

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

Table 15 Short-term Stability in Rat Blood in a Refrigerator

<Rat>					
Analyte	Concentration (ng/mL)			Mean	Accuracy (%)
	Nominal	Storage period	Measured		
P092	10	Just after thawing	8.494	8.394	83.9
			8.123		
			8.566		
		6 h	8.865		
			8.594		
			8.389		
	24 h	8.710			
		8.730			
		8.822			
	800	Just after thawing	710.3	696.5	87.1
			695.1		
			684.0		
6 h		658.6			
		651.5			
		650.7			
24 h	736.0				
	713.2				
	723.8				

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

Table 16 Short-term Stability in Monkey Blood in a Refrigerator

<Monkey>					
Analyte	Concentration (ng/mL)			Mean	Accuracy (%)
	Nominal	Storage period	Measured		
P092	10	Just after thawing	8.149	8.167	81.7
			8.284		
			8.067		
	6 h		7.786	7.707	77.1
			7.543		
			7.792		
	24 h		7.842	7.875	78.8
			7.954		
			7.830		
	800	Just after thawing	761.9	755.9	94.5
			745.0		
			760.8		
	6 h		791.4	777.2	97.1
			768.0		
			772.1		
24 h		753.1	746.9	93.4	
		736.7			
		750.8			

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

Table 17 Long-term Stability in Rat Blood at -80°C

<Rat>					
Analyte	Concentration (ng/mL)			Mean	Accuracy (%)
	Nominal	Storage period	Measured		
P092	10	Just after preparation	9.306	9.018	90.2
			9.221		
			8.527		
		29 days	6.971	6.960	
			6.908		
			7.002		
	800	Just after preparation	750.6	758.9	94.9
			774.9		
			751.1		
		29 days	624.2	623.7	
625.8					
		621.0		78.0	

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

Table 18 Long-term Stability in Monkey Blood at -80°C

<Monkey>					
Analyte	Concentration (ng/mL)			Mean	Accuracy (%)
	Nominal	Storage period	Measured		
P092	10	Just after preparation	9.355	9.108	91.1
			9.031		
			8.938		
	29 days		7.688	7.898	79.0
			7.978		
			8.028		
	800	Just after preparation	819.0	827.3	103.4
			818.8		
			844.0		
			690.7		
29 days		621.9	676.1	84.5	
		715.8			

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

Table 19 Standard and IS Solutions Stability at Room Temperature

Analyte	Concentration	Storage period	Peak area		Residual rate (%)
			Measured	Mean	
P092	Stock solution (200 µg/mL)	Just after preparation (Initial)	1846	1821	--
			1829		
			1787		
	24 h		2043	1958	107.6
			1846		
			1986		
Working solution (5 ng/mL)	Just after preparation (Initial)		1957	1880	--
			1849		
			1834		
	24 h		1949	1952	103.8
			1869		
			2037		
IS	Stock solution (100 µg/mL)	Just after preparation (Initial)	236546	236635	--
			235422		
			237937		
	24 h		261265	247209	104.5
			242891		
			237471		
Working solution (500 ng/mL)	Just after preparation (Initial)		245305	241698	--
			239066		
			240722		
	24 h		236040	240570	99.5
			236750		
			248921		

Residual rate (%) = mean value after storage/mean initial value×100

--: Not applicable

Table 20 Standard and IS Solutions Stability in a Refrigerator

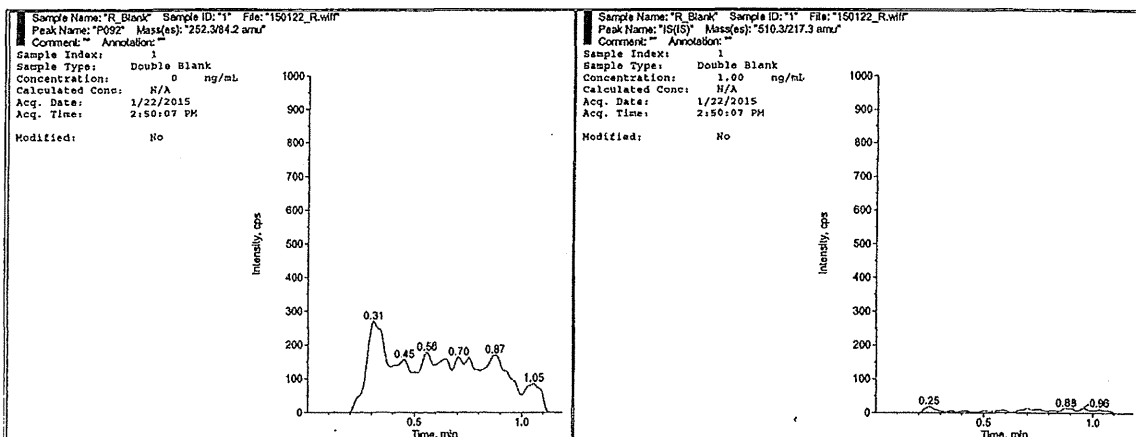
Analyte	Concentration	Storage period	Peak area		Residual rate (%)
			Measured	Mean	
P092	Stock solution (200 µg/mL)	Just after preparation (Initial)	2986	2781	--
			2671		
		32 days	2687	2669	96.0
			2922		
	Working solution (5 ng/mL)	Just after preparation (Initial)	2572	2715	98.5
			2514		
		32 days	2768	2757	--
			2729		
IS	Stock solution (100 µg/mL)	Just after preparation (Initial)	2774	266977	--
			2762		
		32 days	266017	264963	99.2
			261085		
	Working solution (500 ng/mL)	Just after preparation (Initial)	249998	275166	--
			269115		
		32 days	280939	273373	99.3
			275444		
		269388			
		277657			
		273073			

Residual rate (%) = mean value after storage/mean initial value×100

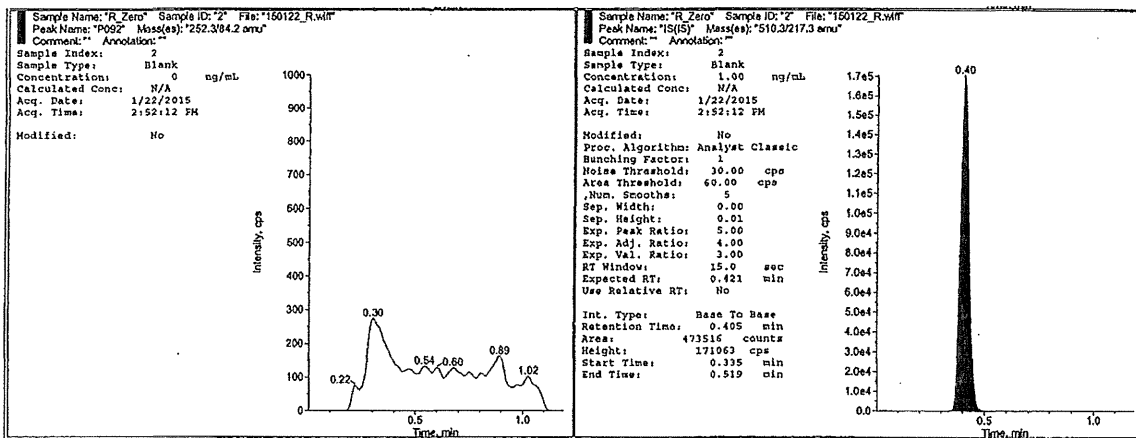
--: Not applicable

Figure 1 Typical Chromatograms of P092 and IS in Rat Blood

(1) Blank



(2) Zero



(3) LLOQ (5 ng/mL)

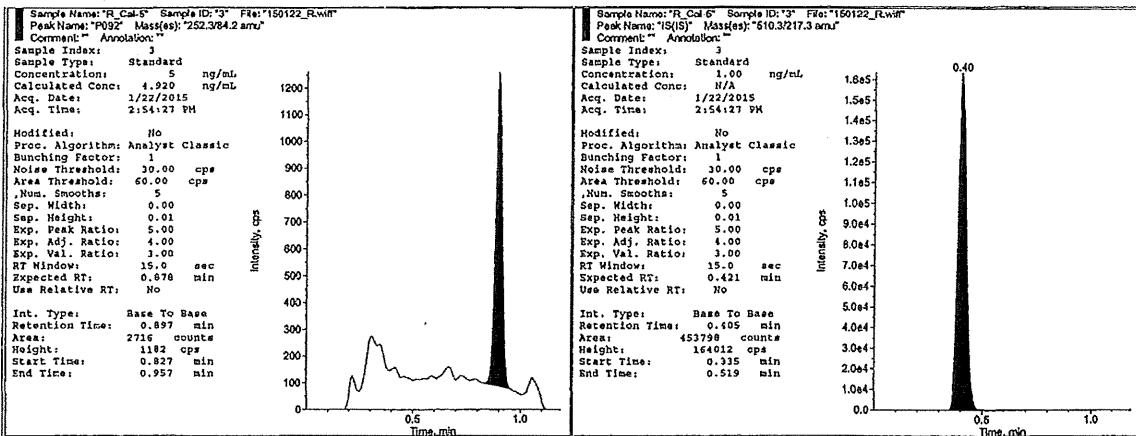
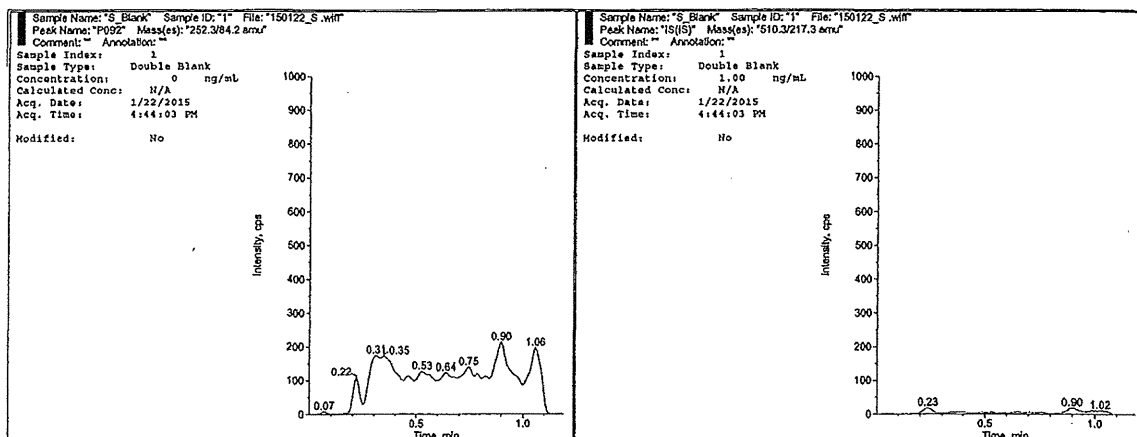
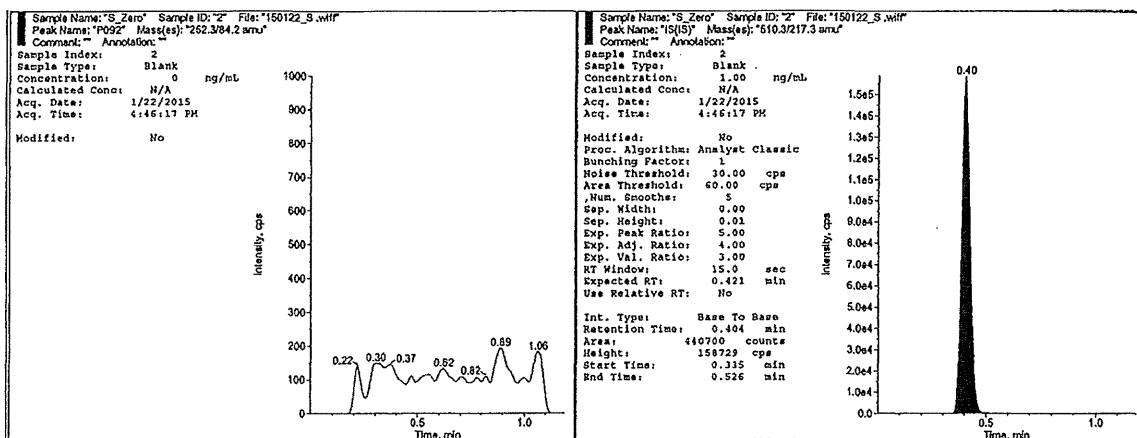


Figure 2 Typical Chromatograms of P092 and IS in Monkey Blood

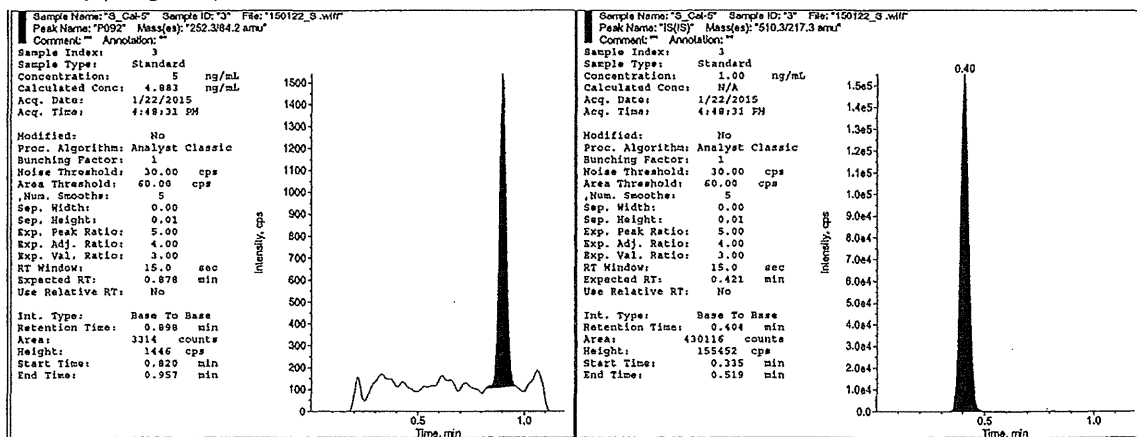
(1) Blank



(2) Zero



(3) LLOQ (5 ng/mL)



信 頼 性 保 証 証 明 書

試験委託者 : 国立大学法人岐阜大学
 表 題 : Bioanalytical Method Validation for Determination of P092 in Rat and
 Monkey Blood
 試験番号 : B141089

本試験は下記の基準に従って実施され、本最終報告書は、試験の方法、結果が正確に記載されていることを保証する。調査の内容、調査日および報告日を以下に示す。

(申請資料の信頼性の基準)

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律施行規則 第43条

調 査 内 容	調 査 日	報 告 日	
		試験責任者	運営管理者
試験計画書			
試験計画書	2015年01月22日	2015年01月22日	2015年01月22日
(再調査)	2015年01月23日	2015年01月23日	2015年01月23日
試験計画書変更書 (1)	2015年01月29日	2015年01月29日	2015年01月29日
試験計画書変更書 (2)	2015年03月02日	2015年03月02日	2015年03月02日
試験資料・最終報告書			
試験資料・最終報告書草案	2015年03月13日 ～2015年03月18日	2015年03月18日	2015年03月18日
(再調査)	2015年03月18日	2015年03月18日	2015年03月18日
試験資料・最終報告書	2015年03月19日	2015年03月19日	2015年03月19日

2015年 3月 19日
 信頼性保証部門責任者

東川国男

東川 国男
 株式会社L S Iメディエンス
 鹿島研究所

8. P092 マレイン酸塩の
ラットにおける
4週間間歇静脈内投与毒性試験

本写しは原本と相違ありません
㈱LSIメディエンス 鹿島研究所
2015年3月8日
試験責任者 大西 康之

最終報告書

P092・マレイン酸塩のラットにおける4週間間歇静脈内投与毒性試験

(試験番号：B140965)

株式会社LSIメディエンス

1. 目次

1.	目次	2
2.	試験実施概要	6
2.1	表題	6
2.2	試験番号	6
2.3	試験目的	6
2.4	適用ガイドライン	6
2.5	適用 GLP	6
2.6	試験委託者	6
2.7	試験受託者	6
2.8	試験施設	7
2.8.1	名称及び所在地	7
2.8.2	試験責任者	7
2.8.3	分担責任者	7
2.8.4	試験日程	7
2.8.5	保存	7
2.8.6	保存する資料	8
2.9	試験場所	8
2.9.1	名称及び所在地	8
2.9.2	実施項目	8
2.9.3	分担責任者	8
2.9.4	試験場所にて発生する資料の保存	8
2.10	その他	8
3.	試験責任者署名	9
4.	要約	10
5.	材料及び方法	11
5.1	被験物質	11
5.1.1	名称	11
5.1.2	ロット番号	11
5.1.3	換算係数（フリー体）	11
5.1.4	性状	11
5.1.5	提供者	11
5.1.6	保存条件	11
5.2	媒体	11
5.2.1	名称	11
5.3	投与液	11
5.3.1	調製方法及び頻度	11
5.4	試験動物	11

5.4.1	動物種	11
5.4.2	系統	12
5.4.3	系統選択の理由	12
5.4.4	微生物レベル	12
5.4.5	供給源	12
5.4.6	購入時週齢	12
5.4.7	購入動物数及び性別	12
5.4.8	検疫・馴化	12
5.4.9	投与開始時週齢	13
5.4.10	投与開始時体重	13
5.4.11	動物選抜及び群分け	13
5.4.12	動物の識別	14
5.4.13	余剰動物の取扱	14
5.5	飼育環境	14
5.5.1	飼育室	14
5.5.2	飼育環境	14
5.5.3	飼育器材	15
5.5.4	収容動物数	16
5.5.5	飼料	16
5.5.6	飲用水	16
5.6	投与	16
5.6.1	投与経路・方法	16
5.6.2	投与経路の選択理由	17
5.6.3	投与方法の選択理由	17
5.6.4	投与液量	17
5.7	用量設定予備試験	17
5.7.1	試験デザイン	17
5.7.2	一般状態観察	17
5.7.3	体重測定	17
5.7.4	血液学的検査	17
5.7.5	血液生化学的検査	18
5.7.6	実験終了後動物の処置	18
5.7.7	予備試験の結果	18
5.8	本試験（4週間間歇静脈内投与試験）	19
5.8.1	試験デザイン	19
5.9	群構成	19
5.9.1	主試験群	19
5.9.2	TK サテライト群	19
5.10	観察・検査項目	19

5.10.1	一般状態	19
5.10.2	体重	20
5.10.3	摂餌量	20
5.10.4	尿検査	20
5.10.5	血液学的検査	21
5.10.6	血液生化学的検査	22
5.10.7	病理学的検査	23
5.11	トキシコキネティクス (TK) 測定	25
5.11.1	採血	25
5.11.2	血液中 P092 濃度の測定方法	25
5.11.3	残余 TK 測定試料の処理	31
5.12	統計学的解析	31
5.13	コンピュータシステムの使用	31
5.13.1	使用するコンピュータシステム	31
5.13.2	コンピュータシステムのプロトコール番号	31
6.	結果	32
6.1	死亡・瀕死	32
6.2	一般状態	32
6.3	体重	32
6.4	摂餌量	32
6.5	尿検査	32
6.6	血液学的検査	32
6.7	血液生化学的検査	33
6.8	器官重量	33
6.9	病理解剖検査	33
6.10	病理組織学的検査	33
6.11	トキシコキネティクス (TK) 測定	34
7.	考察	35

List of Tables

Table 1	Clinical Sign - Summary	36
Table 2	Body Weight - Summary	41
Table 3	Food Consumption - Summary	43
Table 4	Urinalysis - Summary	45
Table 5	Hematology - Summary	57
Table 6	Blood Chemistry - Summary	61
Table 7	Organ Weight - Summary	67
Table 8	Necropsy - Summary	73
Table 9	Histopathology - Summary	74

Table 10	Blood Concentration of P092	80
----------	-----------------------------------	----

List of Appendices

Appendix 1	Clinical Sign	85
Appendix 2	Body Weight	102
Appendix 3	Food Consumption	110
Appendix 4	Urinalysis	118
Appendix 5	Hematology	134
Appendix 6	Blood Chemistry	150
Appendix 7	Organ Weight	174
Appendix 8	Necropsy	190
Appendix 9	Histopathology	193
Appendix 10	Clinical Sign (TK satellite group)	203
Appendix 11	Body Weight (TK satellite group)	222
Appendix 12	Calibration Standard on Each Analytical Day	228
Appendix 13	Clinical Sign (Preliminary study)	229
Appendix 14	Body Weight (Preliminary study)	231
Appendix 15	Hematology (Preliminary study)	232
Appendix 16	Blood Chemistry (Preliminary study)	234

最終ページ : 234

2. 試験実施概要

2.1 表題

P092・マレイン酸塩のラットにおける4週間間歇静脈内投与毒性試験

2.2 試験番号

B140965

2.3 試験目的

P092・マレイン酸塩をラットに4週間間歇静脈内投与し、明らかな毒性変化を惹起する用量とその変化の内容、及び毒性変化の認められない用量を求め、また、動物において得られた全身的暴露と用量及び時間経過との関係を検討する。

2.4 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）

反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について（医薬審第655号，平成11年4月5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）

2.5 適用GLP

なし

2.6 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

2.7 試験受託者

株式会社L S I メディエンス

〒101-8517 東京都千代田区内神田一丁目13番4号