

6.11 残余試料の取扱い

冷凍（-80°C，許容範囲：-60°C以下）保存した測定残分試料（以下）は，代謝物分析の候補試料として，2015年3月12日に関連する薬物動態試験（試験番号：B150130，株式会社LSIメディアエンス 鹿島研究所）に移管した。

血液：測定残分（6.9.1項），約2 mL（6.9.4項）

血漿，血球，脳及び脳脊髄液：残分全量

投与後168時間までの尿：約15 mL

投与後168時間までの糞懸濁液：約30 mL

その他の測定残分試料及び露光終了後の切片は，冷凍（-20°C，許容範囲：-40~-15°C）保存し，試験終了までに廃棄した。

6.12 コンピュータシステムの使用

血液，血漿，脳及び脳脊髄液中放射能濃度，尿，糞及び呼気中放射能排泄率並びにケージ洗浄液及び屠体中放射能は，薬物動態試験支援システム ADMESUPPORT Ver. 2.1（富士通）を用いて算出した。

当該システムの試験情報には，群に関する情報，核種に関する情報，動物購入に関する情報，投与に関する情報，採取項目に関する情報及び測定予定に関する情報等を登録した。

血液，血漿，脳及び脳脊髄液中放射能濃度は P092 フリー体換算濃度として算出した。尿，糞及び呼気中放射能排泄率並びにケージ洗浄液及び屠体中放射能は，投与放射能に対する百分率（% of dose）として算出した。

(1) データのオンライン収集

重量（g）：投与時体重，投与実績重量，解剖時体重，尿，糞，呼気捕集液，ケージ洗浄液，屠体，脳，脳脊髄液

放射能測定値（dpm）：尿，糞，呼気捕集液，ケージ洗浄液，屠体，血液，血漿，脳，脳脊髄液

(2) データのオフライン収集

容量又は重量：投与液（6.5.3項，g），血液（mL），血漿（mL）

放射能測定値（dpm）：投与液（6.5.3項）

サンプルオキシダイザー放射能回収率（%）

6.13 薬物速度論的解析

6.9.1項の血液中放射能濃度推移を薬物動態解析ソフトウェア Phoenix WinNonlin 6.3（Pharsight Corporation as part of Certara）の Non-compartmental analysis により解析し，次頁の薬物動態パラメータを算出した。

【薬物動態パラメータ及び算出方法】

| 薬物動態パラメータ | | |
|----------------------|----------------------|----------------|
| 最終報告書での表記 | | WinNonlin での表記 |
| C ₀ | 時間 0 に外挿した初期血液中放射能濃度 | C0 |
| t _{1/2} | 消失半減期 | HL_Lambda_z |
| AUC _{0-t} | 血液中放射能濃度－時間曲線下面積 | AUClast |
| AUC _{0-inf} | 血液中放射能濃度－時間曲線下面積 | AUCINF_obs |
| CL _{total} | 全身クリアランス | Cl_obs |
| Vd _{ss} | 定常状態の分布容積 | Vss_obs |
| MRT _{0-inf} | 平均滞留時間 | MRTINF_obs |

t_{1/2} の計算に使用した時点は、血液中放射能濃度推移の結果を基に設定した。

具体的には、WinNonlin で自動設定された区間をそのまま採用した。

6.14 試験結果の算出及び表示

6.9.1, 6.9.2 及び 6.9.4 項の個体別値は Appendix に表示した。平均値及び標準偏差 (Mean ± SD) は、薬物動態試験支援システム又は Microsoft Excel 2010 (Microsoft) により算出し、Appendix に表示した。

個体別値 3 例中 2 例以上が検出限界値未満の値の場合は、平均値を算出せず、ND (Not detected) と表示した。

6.9.3 項の各ラジオルミノグラムにおける血液及び組織中放射能濃度は Appendix に表示した。全身ラジオルミノグラム及び切片の画像はそれぞれ Figure 及び Appendix に表示した。ラジオルミノグラムには、目視で放射能分布が確認できる代表的な組織又は特定可能な組織について、該当する組織名を表示した。

各組織中放射能濃度の算出に際し、PSL 値が検量線最高濃度を超えた場合は、定量上限以上とし、AUQ (Above the Upper limit of Quantification) と表示した。PSL 値が定量下限未満の場合には BLQ (Below the Lower limit of Quantification) と表示した。目視で確認及び特定できない組織は NA (Not applicable) と表示した。各ラジオルミノグラム (3 又は 4 切片) における血液及び各組織中放射能濃度の平均値 (NA は含めず) を Microsoft Excel 2010 により算出し Appendix に表示した。ただし、NA 及び AUQ 又は BLQ のみの組織については、平均値は算出せず、AUQ 又は BLQ と表示した。

血液中放射能濃度に対する各組織中放射能濃度の比率 (K_B 値) を Microsoft Excel 2010 により算出し、Table に表示した。組織中放射能濃度が AUQ 又は BLQ の場合には、K_B 値は算出せず、NC (Not calculated) と表示した。

Table には Appendix に示した Mean ± SD (6.9.3 項については個別値) を表示し、Figure (血液中放射能濃度) は Table に示した値に基づいて Microsoft Excel 2010 により作成した。

試験結果の表示単位、表示桁数は次頁の表の通りとした。試験結果は表示桁数の 1 桁下で四捨五入して表示した。標準偏差は平均値と同じ桁までを表示した。

| 試験結果 | 表示単位 | 表示桁数 |
|---|-------------|-----------|
| 被験物質及び投与液の放射化学的純度 HPLC 回収率 | % | 小数点以下 1 桁 |
| 投与液の放射能濃度 | MBq/mL | 小数点以下 3 桁 |
| 投与液中放射能濃度の対設定濃度比 CV, RE | % | 小数点以下 1 桁 |
| 血液及び血漿中放射能濃度 | ng eq./mL | 小数点以下 1 桁 |
| 検量線血液試料及び組織中放射能濃度 | ng eq./g | 小数点以下 1 桁 |
| r (6.9.3.5 項) | -- | 小数点以下 5 桁 |
| K _B 値 | -- | 小数点以下 2 桁 |
| 排泄率 ケージ洗浄液及び屠体中放射能量 | % of dose | 小数点以下 1 桁 |
| C ₀ | ng eq./mL | 小数点以下 1 桁 |
| t _{1/2} , MRT _{0-inf} | h | 小数点以下 1 桁 |
| AUC _{0-t} , AUC _{0-inf} | ng eq.·h/mL | 整数 |
| CL _{total} | mL/h/kg | 整数 |
| Vd _{ss} | mL/kg | 整数 |

7. 結果及び考察

7.1 投与液の放射能濃度及び均一性

投与当日（投与液調製日）の投与前及び投与終了後における投与液の放射能濃度及び均一性の測定結果を Appendix 1 に示す。

放射能濃度は設定濃度の 90.0～110.0%の範囲内であり，設定通りに調製されたことが確認された。また，放射能濃度測定時の変動係数（CV）は 5.0%以内であり，均一であることが確認された。

7.2 投与液中 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ ・マレイン酸塩の放射化学的純度

投与当日（投与液調製日）の投与前及び投与終了後における投与液中 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ ・マレイン酸塩の放射化学的純度の測定結果を Appendix 2 に示す。

投与前及び投与終了後のいずれにおいても放射化学的純度は 95.0%以上であり，かつ HPLC への注入放射能はほぼ完全に回収されたことから，投与液中 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ ・マレイン酸塩は投与終了まで放射化学的に安定であったことが確認された。

7.3 血液中放射能濃度

$[^{14}\text{C}]\text{P092}$ ・マレイン酸塩を雄性ラットに 1 mg/kg（フリー体換算）の用量で単回静脈内投与したときの血液中放射能濃度を Table 1 及び Figure 1 に示し，薬物動態パラメータを Table 1 に示す。また，これらの個体別値を Appendix 3 に示す。

血液中放射能濃度は投与後 5 分に 298.3 ng eq./mL を示したのち，投与後 24 時間では 37.4 ng eq./mL，さらに投与後 336 時間では 3.8 ng eq./mL まで低下した。時間 0 に外挿した初期血液中放射能濃度 (C_0)，消失半減期 ($t_{1/2}$) 及び血液中放射能濃度－時間曲線下面積 (AUC_{0-t} 及び $\text{AUC}_{0-\text{inf}}$) はそれぞれ 366.3 ng eq./mL，91.9 h，5697 及び 6212 ng eq.·h/mL であり，全身クリアランス (CL_{total})，定常状態の分布容積 (Vd_{ss}) 及び平均滞留時間 ($\text{MRT}_{0-\text{inf}}$) はそれぞれ 169 mL/h/kg，20922 mL/kg 及び 126.1 h であった。

7.4 尿，糞及び呼気中放射能排泄

$[^{14}\text{C}]\text{P092}$ ・マレイン酸塩を雄性ラットに 1 mg/kg（フリー体換算）の用量で単回静脈内投与したときの放射能の尿，糞及び呼気中累積排泄率並びにケージ洗浄液及び屠体中放射能を Table 2 に示し，これらの個体別値を Appendix 4 に示す。

投与後 24 時間までの尿及び糞中にはそれぞれ投与放射能の 2.5%及び 11.5%が排泄され，投与後 336 時間までの尿及び糞中にはそれぞれ投与放射能の 12.3%及び 85.2%が排泄された。

投与後 336 時間までのケージ洗浄液を含めた放射能の総排泄率は 99.6%であり，屠体中放射能（投与放射能の 15.6%）を加えた放射能の総回収率は 115.2%であった（8.1 項参照）。なお，放射能の呼気中排泄は認められなかった。

静脈内投与された放射能の大部分は糞中に排泄され，ラットにおける $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ ・マレイン酸塩の主排泄経路は糞中排泄であることが示された。また，投与後 336 時間においても体内に投与放射能の 15.6%が残存しており， $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ 及び/又はその代謝物には組織残留性があり，体外への排泄は緩徐であると考えられた。

7.5 定量的全身オートラジオグラフィ (QWBA)

7.5.1 検量線

検量線の相関係数 (r) を Appendix 5 に示し, 検量線血液試料の各切片における PSL_B から back calculate して求めた検量線血液試料の各放射能濃度の全 IP の平均濃度の相対誤差 (RE) 及び全 IP 間の変動係数 (CV 値) を Appendix 6 に示す.

全ての検量線の相関係数 (r) が 0.99 以上であることを確認した.

PSL_B から back calculate して求めた検量線血液試料の各放射能濃度において, 全 IP の平均濃度の RE 及び全 IP 間の CV 値がいずれも ±20% 以内 (検量線最低濃度では ±30% 以内) であることを確認した.

7.5.2 組織中放射能濃度 (QWBA)

[¹⁴C]P092・マレイン酸塩を雄性ラットに 1 mg/kg (フリー体換算) の用量で単回静脈内投与したときの組織中放射能濃度を Table 3 に示し, 各ラジオルミノグラムにおける血液及び組織中放射能濃度を Appendix 7~Appendix 10 に示す. また, ラジオルミノグラム及び切片の画像をそれぞれ Figure 2~Figure 5 及び Appendix 11~Appendix 14 に示す.

投与後 1 時間においては, 甲状腺, 心臓, 肺及び脾臓で放射能濃度は定量上限以上 (AUQ, >3928.2 ng eq./g) であった. 次いで副腎 (3599.1 ng eq./g, K_B 値 17.93), 腎臓 (3206.0 ng eq./g, K_B 値 15.97), 腸間膜リンパ節 (3133.3 ng eq./g, K_B 値 15.61), 肝臓 (2260.6 ng eq./g, K_B 値 11.26) 及び下垂体 (2050.7 ng eq./g, K_B 値 10.22) で高い放射能濃度が認められた. その他の組織においては K_B 値が 10 未満であり, 大脳中放射能濃度は 17.0 ng eq./g (K_B 値 0.08) であった.

投与後 24 時間においては, 脾臓, 副腎及び腎臓で放射能濃度は AUQ であった. 次いで腸間膜リンパ節 (3302.5 ng eq./g, K_B 値 56.74), 甲状腺 (3236.4 ng eq./g, K_B 値 55.61), 肺 (2955.2 ng eq./g, K_B 値 50.78), 下垂体 (2675.5 ng eq./g, K_B 値 45.97) 及び顎下腺 (2541.2 ng eq./g, K_B 値 43.66) で高い放射能濃度が認められた. その他の組織においては K_B 値が 40 未満であり, 大脳中放射能濃度は 13.4 ng eq./g (K_B 値 0.23) であった.

投与後 168 時間においては, 脾臓で放射能濃度は AUQ であった. 次いで下垂体 (3405.2 ng eq./g, K_B 値 228.54), 副腎 (3352.6 ng eq./g, K_B 値 225.01), 腸間膜リンパ節 (2342.1 ng eq./g, K_B 値 157.19) 及び胸腺 (1541.2 ng eq./g, K_B 値 103.44) で高い放射能濃度が認められた. その他の組織においては K_B 値が 100 未満であり, 大脳中放射能濃度は 18.3 ng eq./g (K_B 値 1.23) であった.

投与後 336 時間においては, 脾臓で最も高い放射能濃度 (3122.5 ng eq./g) が認められ, K_B 値は 312.25 であった. 次いで副腎 (2257.4 ng eq./g, K_B 値 225.74), 下垂体 (1646.0 ng eq./g, K_B 値 164.60), 胸腺 (1631.5 ng eq./g, K_B 値 163.15), 骨髄 (1387.8 ng eq./g, K_B 値 138.78), ハーダー氏腺 (1375.9 ng eq./g, K_B 値 137.59) 及び腸間膜リンパ節 (1132.5 ng eq./g, K_B 値 113.25) で高い放射能濃度が認められた. その他の組織においては K_B 値が 100 未満であり, 大脳中放射能濃度は 21.0 ng eq./g (K_B 値 2.10) であった. また, 小脳中放射能濃度は定量下限未満 (BLQ) であった.

いずれの時点においても, 大部分の組織に放射能が検出され, 特に甲状腺, 心臓, 肺, 腎臓,

副腎及び脾臓では定量上限以上 (AUQ) の放射能濃度が認められた。多くの組織において放射能濃度は投与後 1 又は 24 時間で最高値を示したが、下垂体では投与後 168 時間、大脳、ハーダー氏腺及び胸腺では投与後 336 時間で最高値を示した。以上の結果から、 ^{14}C]P092 及び/又はその代謝物の組織移行性は高いことが示唆された。

7.6 血液、血漿、脳及び脳脊髄液中放射能濃度

^{14}C]P092・マレイン酸塩を雄性ラットに 1 mg/kg (フリー体換算) の用量で単回静脈内投与したときの投与後 1, 24 及び 168 時間における血液、血漿、脳及び脳脊髄液中放射能濃度を Table 4 に示し、これらの個体別値を Appendix 15~Appendix 17 に示す。

血液及び血漿中放射能濃度は投与後 1 時間に最高値 (それぞれ 74.2 及び 7.1 ng eq./mL) を示し、その後経時的に減少して、血漿中放射能濃度は投与後 168 時間で検出限界値未満 (ND) となった。脳中放射能濃度は投与後 1 時間以降徐々に増加して投与後 168 時間に最高値 (37.2 ng eq./g) を示した。脳脊髄液中放射能濃度は、いずれの測定時点においても ND であった。

投与後 1 及び 24 時間の血液中放射能濃度は血漿中放射能濃度の約 10 倍の値であり、 ^{14}C]P092 及び/又はその代謝物の血球成分への高い移行性が示唆された。また、脳中放射能濃度は投与後 168 時間で最高値を示したことから ^{14}C]P092 及び/又はその代謝物の脳組織への移行は比較的緩徐であることが推察された。

8. 特記事項

8.1 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

尿、糞及び呼気中放射能排泄において、屠体中放射エネルギーを加えた放射能の総回収率が 115.2% に達した。放射能の総回収率が 100%を超えたため、投与液の放射能濃度、投与量、試料採取量、薬物動態システムでの計算等を見直したが、いずれも問題なかった。液体シンチレーションカウンターにおける測定誤差も一因と考えられるが原因は不明である。

放射能の総回収率が約 15%過剰な結果ではあるが、主排泄経路、排泄速度及び体内残留性等の評価は可能であり、本件は試験の信頼性に大きな影響を与えないと判断した。

8.2 試験計画書に従わなかったこと

なし。

Table 1 Radioactivity concentrations and pharmacokinetic parameters in blood after single intravenous administration of [^{14}C]P092 maleate to male rats at 1 mg/kg as free base

| Time/Parameter | Radioactivity concentration (ng eq./mL) |
|------------------------------------|--|
| | Mean \pm SD |
| 5 min | 298.3 \pm 26.3 |
| 30 min | 108.0 \pm 17.2 |
| 1 h | 82.5 \pm 14.6 |
| 2 h | 66.3 \pm 13.2 |
| 4 h | 52.1 \pm 6.5 |
| 8 h | 45.6 \pm 5.1 |
| 24 h | 37.4 \pm 6.5 |
| 48 h | 34.1 \pm 9.4 |
| 96 h | 21.3 \pm 6.8 |
| 168 h | 12.3 \pm 5.2 |
| 240 h | 6.7 \pm 2.6 |
| 336 h | 3.8 \pm 2.0 |
| C_0 (ng eq./mL) | 366.3 \pm 41.2 |
| $t_{1/2}$ (h) ^{a)} | 91.9 \pm 9.1 |
| AUC _{0-t} (ng eq.·h/mL) | 5697 \pm 1513 |
| AUC _{0-inf} (ng eq.·h/mL) | 6212 \pm 1794 |
| CL _{total} (mL/h/kg) | 169 \pm 42 |
| Vd _{ss} (mL/kg) | 20922 \pm 4642 |
| MRT _{0-inf} (h) | 126.1 \pm 22.4 |

Data are expressed as the mean \pm SD of three animals.

a) The $t_{1/2}$ was automatically calculated by WinNonlin.

Table 2 Cumulative radioactivity excretions in urine, feces, and expired air after single intravenous administration of [¹⁴C]P092 maleate to male rats at 1 mg/kg as free base

| Time (h) | Cumulative radioactivity excretion (% of dose) | | | | |
|------------------------------|--|------------|-------------|--------------|-------------|
| | Urine | Feces | Expired air | Cage washing | Total |
| 0-24 | 2.5 ± 0.9 | 11.5 ± 4.1 | -- | 0.2 ± 0.1 | 14.3 ± 4.9 |
| -48 | 4.7 ± 1.4 | 29.8 ± 5.0 | -- | 0.6 ± 0.0 | 35.1 ± 6.4 |
| -72 | 6.5 ± 1.9 | 43.2 ± 6.6 | -- | 0.8 ± 0.1 | 50.4 ± 8.5 |
| -96 | 7.9 ± 2.2 | 52.8 ± 6.8 | ND | 0.9 ± 0.1 | 61.6 ± 9.0 |
| -120 | 8.9 ± 2.4 | 59.5 ± 6.4 | -- | 1.0 ± 0.1 | 69.4 ± 8.8 |
| -144 | 9.8 ± 2.7 | 65.0 ± 5.8 | -- | 1.1 ± 0.2 | 76.0 ± 8.4 |
| -168 | 10.5 ± 2.8 | 69.3 ± 5.5 | ND | 1.2 ± 0.2 | 81.0 ± 8.2 |
| -240 | 11.7 ± 3.1 | 78.4 ± 3.4 | -- | 1.4 ± 0.3 | 91.6 ± 6.2 |
| -336 | 12.3 ± 3.3 | 85.2 ± 1.6 | -- | 2.0 ± 0.7 | 99.6 ± 4.2 |
| Residues in carcass at 336 h | | | | | 15.6 ± 4.3 |
| Total recovery | | | | | 115.2 ± 0.3 |

Data are expressed as the mean ± S.D. of three animals.

ND: Not detected

--: Not determined

Table 3 Radioactivity concentrations in tissues after single intravenous administration of [¹⁴C]P092 maleate to male rats at 1 mg/kg as free base

| Tissue | Radioactivity concentration (ng eq./g) | | | |
|-----------------------|--|----------------|-----------------|-----------------|
| | 1 h | 24 h | 168 h | 336 h |
| Blood | 200.7 (1.00) | 58.2 (1.00) | 14.9 (1.00) | 10.0 (1.00) |
| Cerebrum | 17.0 (0.08) | 13.4 (0.23) | 18.3 (1.23) | 21.0 (2.10) |
| Cerebellum | 15.2 (0.08) | 12.7 (0.22) | 10.0 (0.67) | BLQ (NC) |
| Pituitary | 2050.7 (10.22) | 2675.5 (45.97) | 3405.2 (228.54) | 1646.0 (164.60) |
| Spinal cord | 20.6 (0.10) | 17.5 (0.30) | 15.0 (1.01) | 17.3 (1.73) |
| Eyeball | 81.3 (0.41) | 115.6 (1.99) | 38.5 (2.58) | 26.3 (2.63) |
| Harderian gland | 486.6 (2.42) | 632.0 (10.86) | 1026.5 (68.89) | 1375.9 (137.59) |
| Submaxillary gland | 1374.1 (6.85) | 2541.2 (43.66) | 1060.4 (71.17) | 791.6 (79.16) |
| Thyroid | AUQ (NC) | 3236.4 (55.61) | 875.6 (58.77) | 646.9 (64.69) |
| Thymus | 668.2 (3.33) | 1149.8 (19.76) | 1541.2 (103.44) | 1631.5 (163.15) |
| Heart | AUQ (NC) | 968.0 (16.63) | 140.5 (9.43) | 82.4 (8.24) |
| Lung | AUQ (NC) | 2955.2 (50.78) | 716.9 (48.11) | 426.0 (42.60) |
| Liver | 2260.6 (11.26) | 1980.6 (34.03) | 387.1 (25.98) | 250.5 (25.05) |
| Kidney | 3206.0 (15.97) | AUQ (NC) | 724.8 (48.64) | 435.8 (43.58) |
| Adrenal | 3599.1 (17.93) | AUQ (NC) | 3352.6 (225.01) | 2257.4 (225.74) |
| Spleen | AUQ (NC) | AUQ (NC) | AUQ (NC) | 3122.5 (312.25) |
| Pancreas | 1781.7 (8.88) | 2022.7 (34.75) | 278.3 (18.68) | 151.3 (15.13) |
| Prostate | 517.7 (2.58) | 882.7 (15.17) | 462.1 (31.01) | 391.8 (39.18) |
| Testis | 20.2 (0.10) | 31.4 (0.54) | 30.2 (2.03) | 30.8 (3.08) |
| Epididymis | 115.9 (0.58) | 125.0 (2.15) | 65.5 (4.40) | 66.9 (6.69) |
| Seminal vesicle | 10.4 (0.05) | 28.7 (0.49) | 25.7 (1.72) | 12.3 (1.23) |
| Skin | 179.2 (0.89) | 262.0 (4.50) | 217.2 (14.58) | 161.7 (16.17) |
| Skeletal muscle | 1993.4 (9.93) | 554.4 (9.53) | 67.5 (4.53) | 41.8 (4.18) |
| Bone (femur) | 150.8 (0.75) | 112.1 (1.93) | 17.8 (1.19) | 32.2 (3.22) |
| Bone marrow (femur) | 1454.3 (7.25) | 2268.9 (38.98) | 1377.5 (92.45) | 1387.8 (138.78) |
| White adipose tissue | 86.5 (0.43) | 90.5 (1.55) | 20.1 (1.35) | 10.4 (1.04) |
| Brown adipose tissue | 288.7 (1.44) | 1257.4 (21.60) | 243.9 (16.37) | 80.1 (8.01) |
| Bladder | 207.0 (1.03) | 424.5 (7.29) | 138.0 (9.26) | 50.3 (5.03) |
| Mesenteric lymph node | 3133.3 (15.61) | 3302.5 (56.74) | 2342.1 (157.19) | 1132.5 (113.25) |
| Stomach | 1158.8 (5.77) | 1022.9 (17.58) | 183.5 (12.32) | 117.2 (11.72) |
| Small intestine | 713.6 (3.56) | 1588.2 (27.29) | 309.8 (20.79) | 171.2 (17.12) |
| Large intestine | 578.3 (2.88) | 996.0 (17.11) | 223.2 (14.98) | 84.7 (8.47) |

Values in parentheses are expressed as the ratio of tissue concentration to blood concentration (K_B).

AUQ: Above the upper limit of quantification (> 3928.2 ng eq./g)

BLQ: Below the lower limit of quantification (< 7.5 ng eq./g)

NC: Not calculated

Table 4 Radioactivity concentrations in blood, plasma, brain, and cerebrospinal fluid after single intravenous administration of [¹⁴C]P092 maleate to male rats at 1 mg/kg as free base

| Tissue | Radioactivity concentration (ng eq./mL or g) | | |
|---------------------|--|------------|------------|
| | 1 h | 24 h | 168 h |
| Blood | 74.2 ± 14.7 | 30.7 ± 5.5 | 11.0 ± 2.1 |
| Plasma | 7.1 ± 0.4 | 3.6 ± 0.8 | ND |
| Brain | 23.9 ± 2.4 | 33.1 ± 1.5 | 37.2 ± 2.2 |
| Cerebrospinal fluid | ND | ND | ND |

Data are expressed as the mean ± SD of three animals.

ND: Not detected

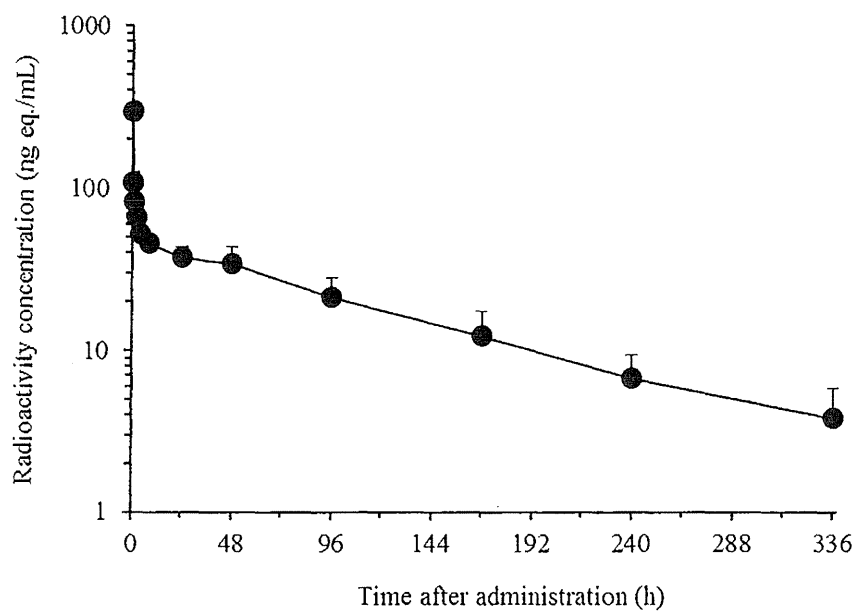


Figure 1 Radioactivity concentrations in blood after single intravenous administration of [^{14}C]P092 maleate to male rats at 1 mg/kg as free base

Data are expressed as the mean + SD of three animals.

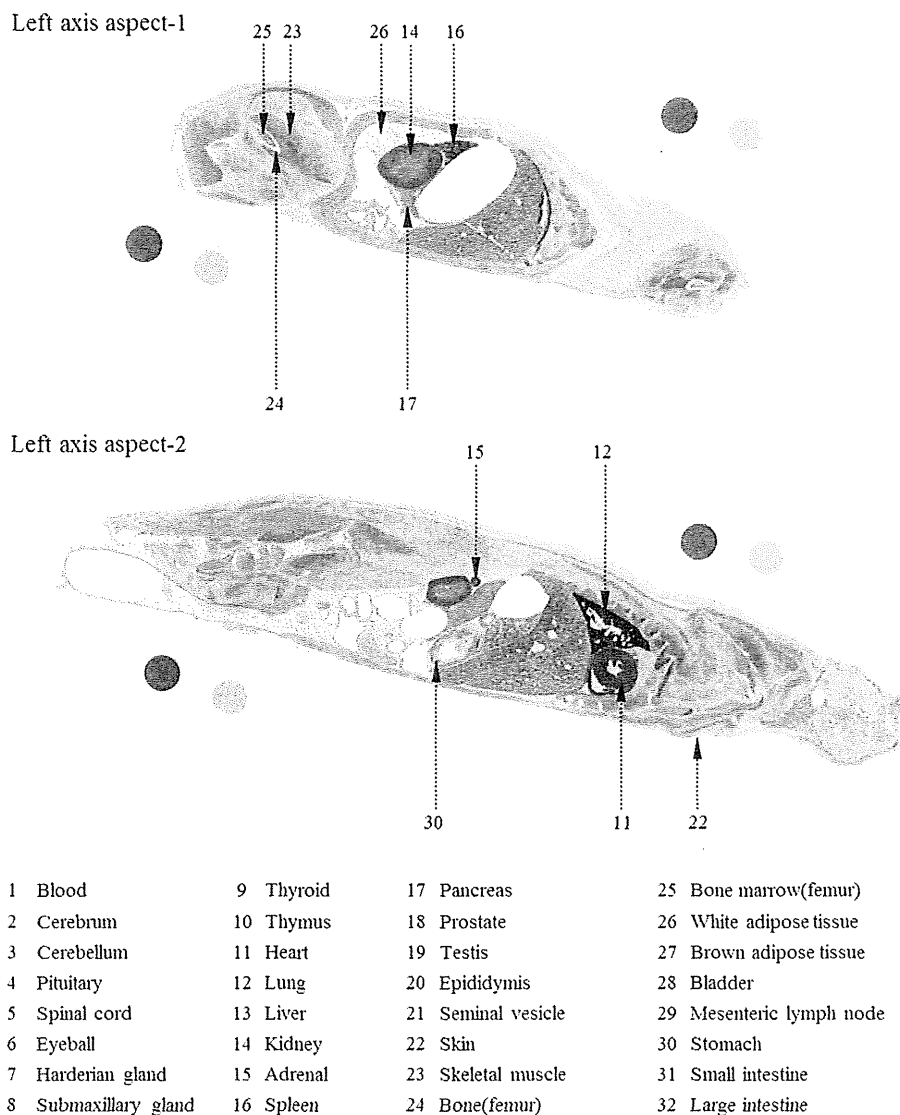
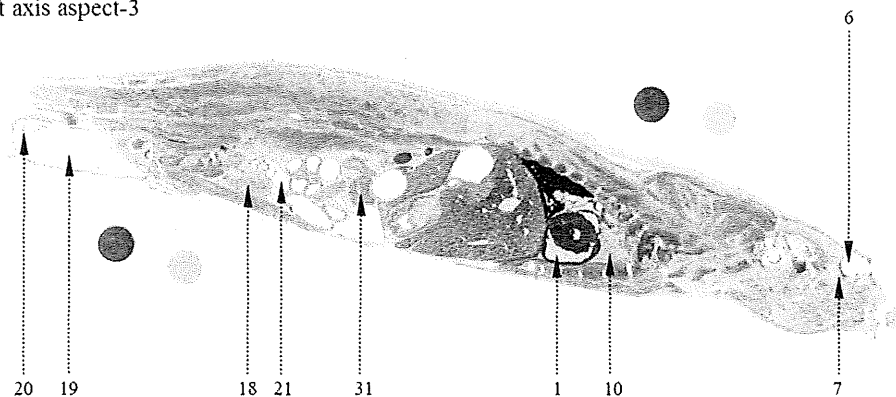
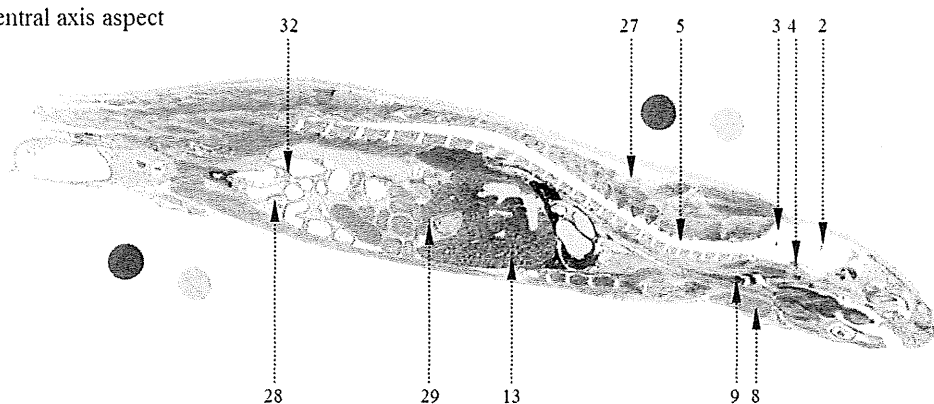


Figure 2 Radioluminograms showing radioactivity distribution 1 h after single intravenous administration of [^{14}C]P092 maleate to a male rat at 1 mg/kg as free base

Left axis aspect-3



Central axis aspect



- | | | | |
|----------------------|------------|--------------------|--------------------------|
| 1 Blood | 9 Thyroid | 17 Pancreas | 25 Bone marrow(femur) |
| 2 Cerebrum | 10 Thymus | 18 Prostate | 26 White adipose tissue |
| 3 Cerebellum | 11 Heart | 19 Testis | 27 Brown adipose tissue |
| 4 Pituitary | 12 Lung | 20 Epididymis | 28 Bladder |
| 5 Spinal cord | 13 Liver | 21 Seminal vesicle | 29 Mesenteric lymph node |
| 6 Eyeball | 14 Kidney | 22 Skin | 30 Stomach |
| 7 Harderian gland | 15 Adrenal | 23 Skeletal muscle | 31 Small intestine |
| 8 Submaxillary gland | 16 Spleen | 24 Bone(femur) | 32 Large intestine |

Figure 2 Continued

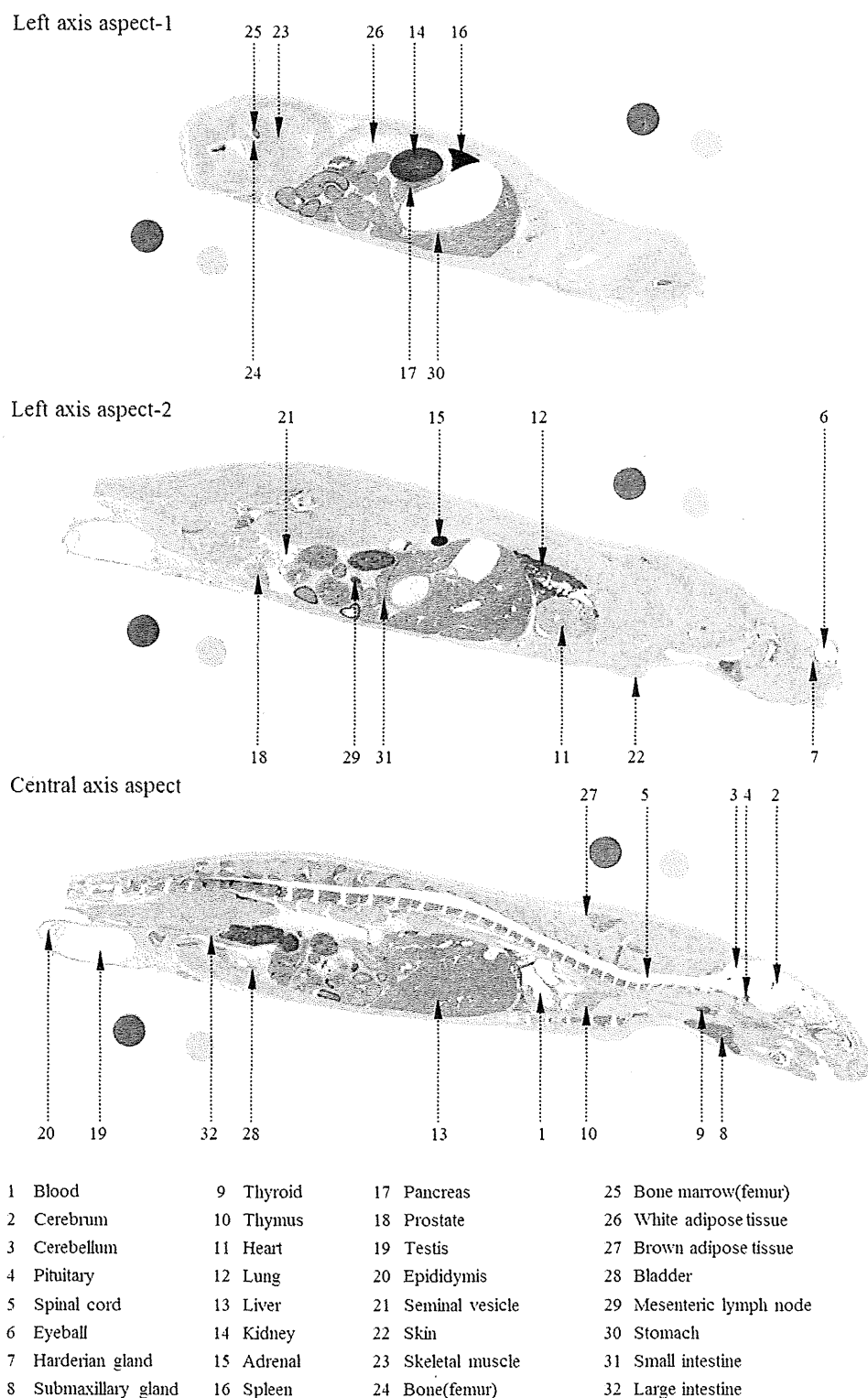


Figure 3 Radioluminograms showing radioactivity distribution 24 h after single intravenous administration of [^{14}C]P092 maleate to a male rat at 1 mg/kg as free base

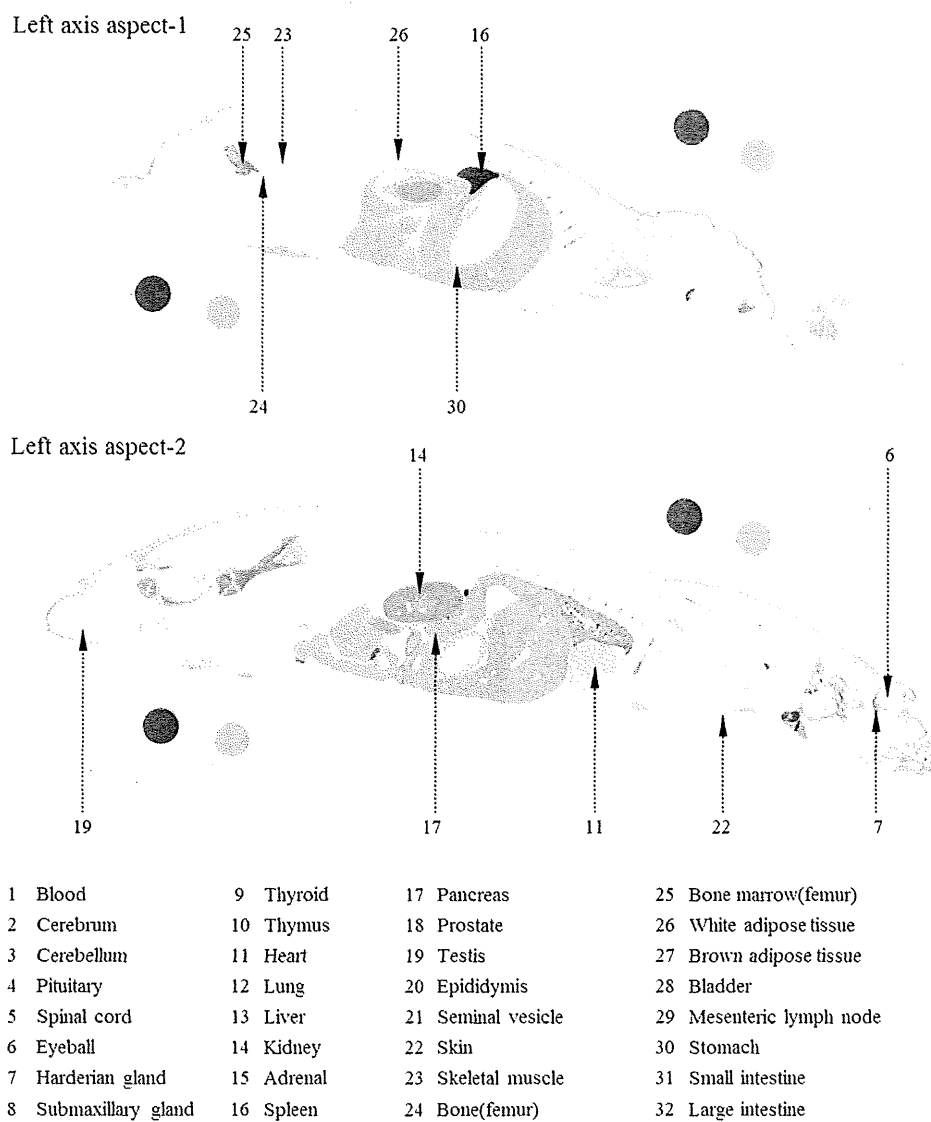


Figure 4 Radioluminograms showing radioactivity distribution 168 h after single intravenous administration of [^{14}C]P092 maleate to a male rat at 1 mg/kg as free base

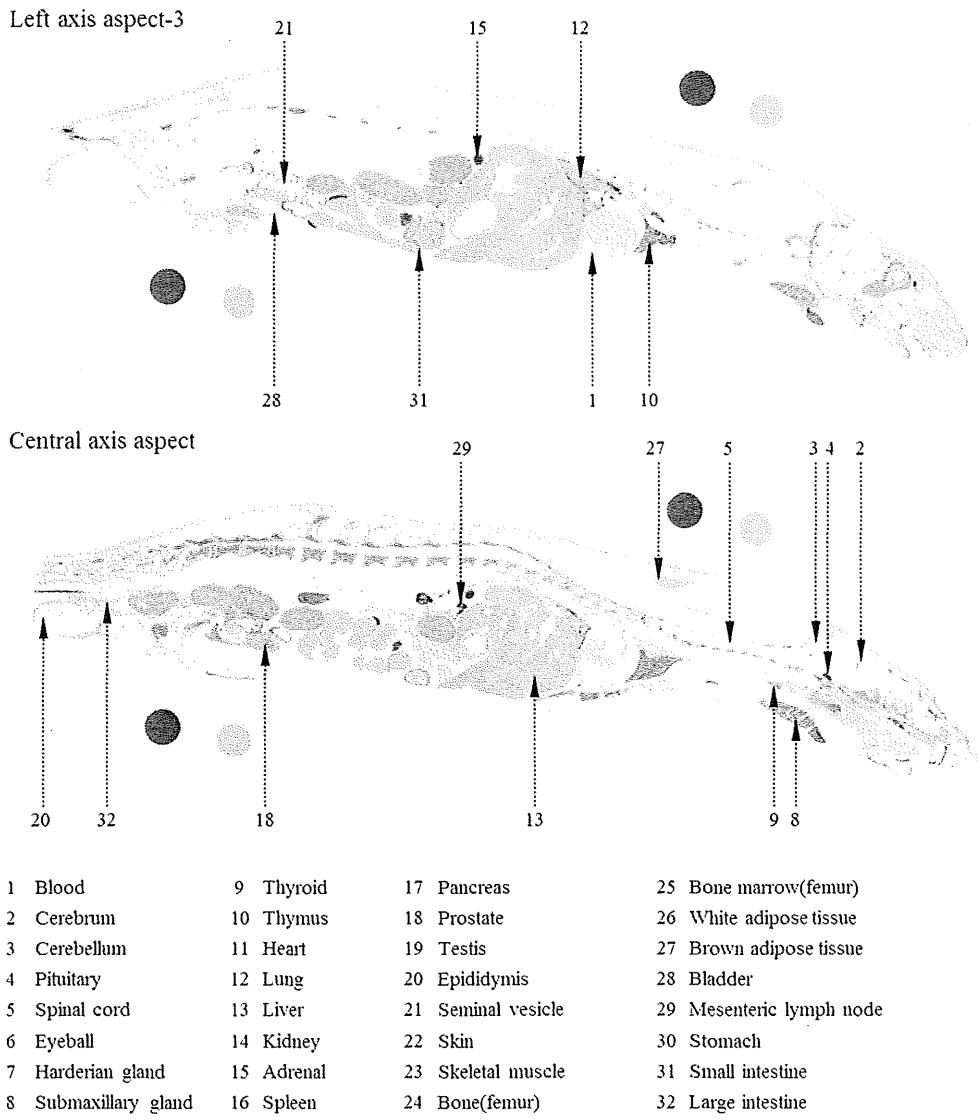


Figure 4 Continued

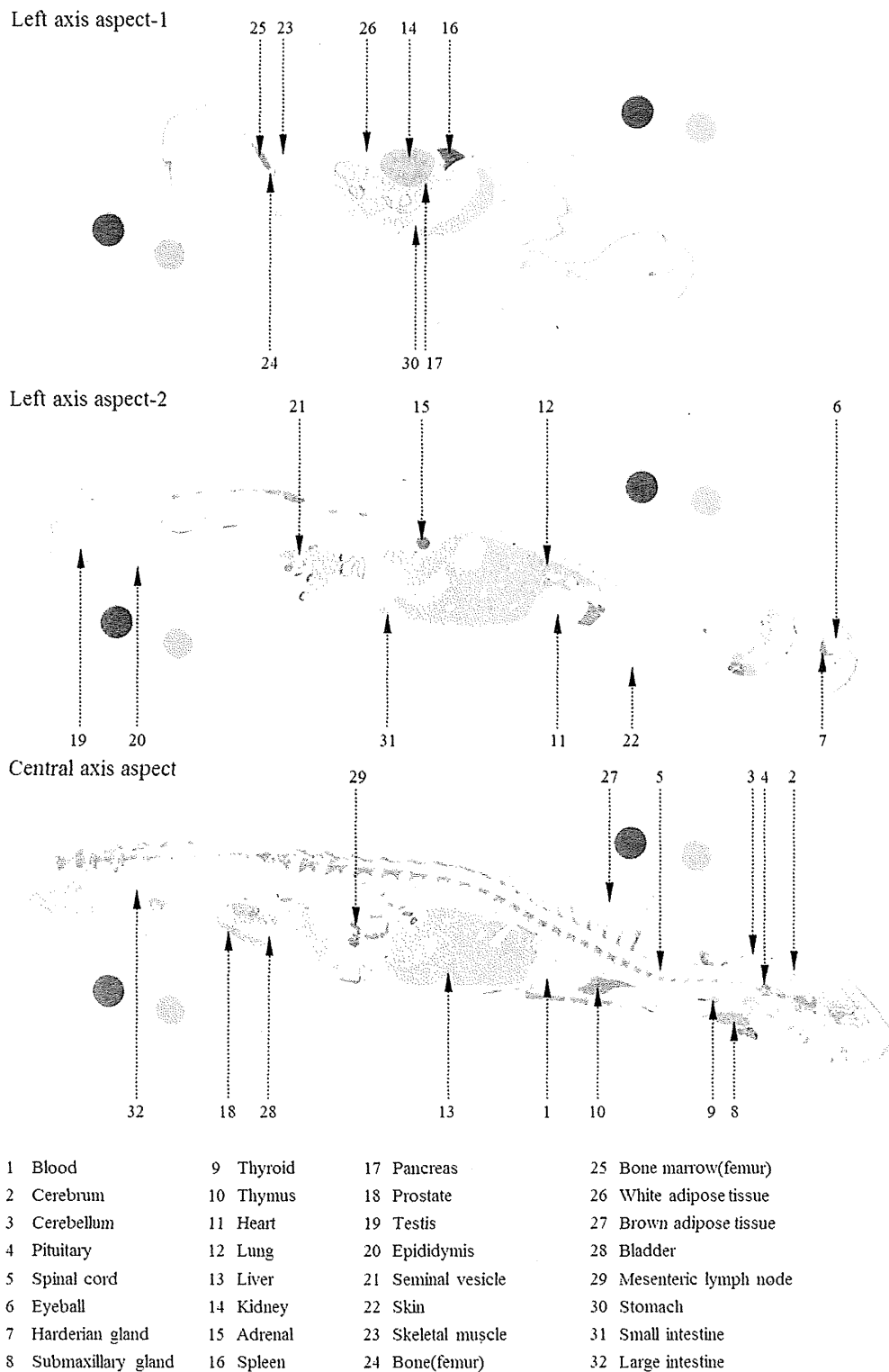


Figure 5 Radioluminograms showing radioactivity distribution 336 h after single intravenous administration of [¹⁴C]P092 maleate to a male rat at 1 mg/kg as free base

Appendix 1 Radioactivity concentrations of [¹⁴C]P092 maleate in dosing formulation

| Nominal concentration | Date of measurement | Radioactivity concentration | | | % of nominal concentration |
|-----------------------|---|-----------------------------|--------------------|--------|----------------------------|
| | | Individual value (MBq/mL) | Mean ± SD (MBq/mL) | CV (%) | |
| 0.2 mg/0.858 MBq/mL | Before administration (January 27, 2015) | 0.864 | 0.855 ± 0.017 | 2.0 | 99.7 |
| | | 0.836 | | | |
| | | 0.866 | | | |
| | After administration (January 27, 2015) | 0.831 | 0.841 ± 0.010 | 1.2 | 98.0 |
| | | 0.851 | | | |
| | | 0.841 | | | |

Appendix 2 Radiochemical purity of [¹⁴C]P092 maleate in dosing formulation

| Date of analysis | Sample | Detection ^{a)} | Retention time (min) | Radiochemical purity (%) | Recovery ^{b)} (%) |
|---|-------------------------------|-------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------------|
| Before administration (January 27, 2015) | Non-labeled standard solution | UV | 14.7 | -- | -- |
| | Dosing formulation | RI | 15.0 | 99.1 | 98.5 |
| After administration (January 27, 2015) | Non-labeled standard solution | UV | 14.7 | -- | -- |
| | Dosing formulation | RI | 14.9 | 99.2 | 102.3 |

a) UV: Absorbance (254 nm), RI: Radioactivity

b) Radioactivity recovery from HPLC system

--: Not applicable

Appendix 3 Radioactivity concentrations and pharmacokinetic parameters in blood after single intravenous administration of [¹⁴C]P092 maleate to male rats at 1 mg/kg as free base

| Time/Parameter | Radioactivity concentration (ng eq./mL) | | | Mean ± SD |
|------------------------------------|---|---------------------|---------------------|--------------|
| | Animal No. 01101 | Animal No. 01102 | Animal No. 01103 | |
| 5 min | 272.1 | 324.6 | 298.2 | 298.3 ± 26.3 |
| 30 min | 120.4 | 115.3 | 88.4 | 108.0 ± 17.2 |
| 1 h | 92.6 | 89.1 | 65.8 | 82.5 ± 14.6 |
| 2 h | 75.7 | 71.9 | 51.2 | 66.3 ± 13.2 |
| 4 h | 53.9 | 57.6 | 44.9 | 52.1 ± 6.5 |
| 8 h | 44.2 | 51.3 | 41.3 | 45.6 ± 5.1 |
| 24 h | 43.0 | 39.0 | 30.3 | 37.4 ± 6.5 |
| 48 h | 43.9 | 33.3 | 25.2 | 34.1 ± 9.4 |
| 96 h | 29.1 | 18.5 | 16.4 | 21.3 ± 6.8 |
| 168 h | 18.2 | 8.7 | 9.9 | 12.3 ± 5.2 |
| 240 h | 9.7 | 4.9 | 5.6 | 6.7 ± 2.6 |
| 336 h | 6.0 | 2.1 | 3.2 | 3.8 ± 2.0 |
| C ₀ (ng eq./mL) | 320.0 | 398.9 | 379.9 | 366.3 ± 41.2 |
| t _{1/2} (h) ^{a)} | 99.1 | 81.7 | 95.0 | 91.9 ± 9.1 |
| AUC _{0-t} (ng eq.·h/mL) | 7415 | 5113 | 4563 | 5697 ± 1513 |
| AUC _{0-inf} (ng eq.·h/mL) | 8273 | 5361 | 5001 | 6212 ± 1794 |
| CL _{total} (mL/h/kg) | 121 | 187 | 200 | 169 ± 42 |
| V _{dss} (mL/kg) | 17589 | 18953 | 26224 | 20922 ± 4642 |
| MRT _{0-inf} (h) | 145.5 | 101.6 | 131.2 | 126.1 ± 22.4 |

a) The t_{1/2} was automatically calculated by WinNonlin.

Animal No. 01101: Half-life, from 48 h to 336 h

Animal No. 01102: Half-life, from 168 h to 336 h

Animal No. 01103: Half-life, from 24 h to 336 h