

## 6.8 試験項目及び試料採取

試験項目及び群構成を下表に示す。

試験項目	投与経路	用量 (フリー体として)、 投与液量	投与回数	採取 時点	評価 動物数	動物番号
6.8.1 血液及び血漿中 放射能濃度	IV	1 mg/0.5 mL/kg/回	4回	-	1	01101
				4回		
6.8.2 組織中放射能濃度	IV	1 mg/0.5 mL/kg/回	1回	28 days (672 h)	1	02102

- : 経時的に試料を採取した。

\*1 : 6.8.1 項における最終時点の採血終了後、6.8.2 項に供した。

### 6.8.1 血液及び血漿中放射能濃度

投与後、下記の採取時点毎に無麻酔下において、橈側皮静脈又は大腿静脈から約 0.5 mL 又は約 10 mL (3 回投与後 1 及び 24 時間並びに 4 回投与後 1, 24 及び 168 時間) を採血した。

#### 【採取時点】

各回投与後 5 分, 15 分, 1, 4, 8, 24, 96, 168 時間 (次回投与前)

血液は、採血管 (ベノジェクト II 真空採血管, ヘパリンナトリウム処理済み, テルモ) に採取, 混合した。放射能測定用試料として血液 100  $\mu$ L ( $n=1$ ) をバイアルに分取して 6.10 項において放射能を測定し, 血液中放射能濃度を求めた。

10 mL 採血した血液については, 約 3 mL を冷凍 ( $-80^{\circ}\text{C}$ , 許容範囲:  $-60^{\circ}\text{C}$  以下) 保存した。残りの血液は遠心分離 ( $4^{\circ}\text{C}$ , 3,000 rpm  $\times$  10 min, CF7D2, 日立工機) し, 血漿を得た。血漿 100  $\mu$ L ( $n=1$ ) をバイアルに分取して 6.10 項において放射能を測定し, 血漿中放射能濃度を求めた。測定残分の血漿は冷凍 ( $-80^{\circ}\text{C}$ , 許容範囲:  $-60^{\circ}\text{C}$  以下) 保存した。

血液及び血漿は可能な限り保冷下で取り扱った。

血漿分離後の血球は廃棄した。

### 6.8.2 組織中放射能濃度

動物番号 01101 については, 6.8.1 項における所定の採血終了後, 本項に供し, 投与後 168 時間の血液及び血漿中放射能濃度の測定結果を共有した。

動物番号 02102 においては, 所定の採取時点に無麻酔下で, 大腿静脈から約 10 mL を採血した。血液は, 採血管 (ベノジェクト II 真空採血管, ヘパリンナトリウム処理済み) に採取, 混合した。放射能測定用試料として血液 100  $\mu$ L ( $n=1$ ) をバイアルに分取して 6.10 項において放射能を測定し, 血液中放射能濃度を求めた。約 3 mL の血液を冷凍 ( $-80^{\circ}\text{C}$ , 許容範囲:  $-60^{\circ}\text{C}$  以下) 保存した。

残りの血液は遠心分離 ( $4^{\circ}\text{C}$ , 3,000 rpm  $\times$  10 min, CF7D2) し, 血漿を得た。血漿 100  $\mu$ L

(n = 1) をバイアルに分取して 6.10 項において放射能を測定し、血漿中放射能濃度を求めた。測定残分の血漿は冷凍 (-80°C, 許容範囲: -60°C 以下) 保存した。

血液及び血漿は可能な限り保冷下で取り扱った。

血漿分離後の血球は廃棄した。

採血終了後、動物はペントバルビタールナトリウム (ソムノペンチル) を 20~30 mg/kg の用量で静脈内投与し、全身麻酔下、頸動脈より放血し、安楽死させたのち下記組織を摘出した。

#### 【採取試料】

—	血液	A	肝臓
—	血漿	A	副腎
A	大脳	A	腎臓
A	小脳	A	脾臓
A	延髄	A	膵臓
C	脊髄	A	精巣
—	脳脊髄液	C	皮膚
B	下垂体	C	骨格筋 (大腿筋)
A	眼球	C	骨
A	顎下腺	C	白色脂肪 (精巣周辺)
C	腸間膜リンパ	C	褐色脂肪 (背部)
A	心臓	—	胆汁 (胆嚢内)
A	肺		

組織 A : 組織の全量を採取し、その一部を放射能測定に供した組織

組織 B : 組織の全量を採取し、その全量を放射能測定に供した組織

組織 C : 組織の一部を採取し、その一部を放射能測定に供した組織

脳脊髄液はマイジェクター (27G×1/2", 1 mL, テルモ) を用いて採取し、6.10 項において放射能を測定して脳脊髄液中放射能濃度を求めた。

胆汁は胆嚢から注射針 (21G×1 1/2", テルモ) を装着した注射筒 (5 mL, テルモ) を用いて採取し、6.10 項において放射能を測定して胆汁中放射能濃度を求めた。

組織は生理食塩液で洗浄し、濾紙片により付着水分を除いた。

採取した試料について 6.10 項において放射能を測定し、組織中放射能濃度を求めた。

全重量が測定可能な組織 (組織 A, B 及び胆汁) については、測定した組織全重量に基づき投与放射能 (動物番号 01101 については 4 回投与した合計放射能量) に対する分布率 (組織中放射能分布率) を算出した。血液、骨格筋、皮膚及び白色脂肪については、組織全重量をそれぞれ体重の 6.0%[1], 41.4%[1], 9.4%[1] 及び 7.8%[1] として組織中放射能分布率を算出した。

大脳、小脳、脳脊髄液、肝臓及び肺の測定残分は冷凍 (-80°C, 許容範囲: -60°C 以下) 保存した。

採取した試料は採取当日に組織重量を測定し、放射能測定試料を調製した。

組織摘出後の屍体及び血漿分離後の血球は廃棄した。

## 6.9 代謝物分析

6.9.1 項に示す分析試料について、代謝物組成をラジオ HPLC により確認した。

### 6.9.1 分析試料

試料	採取項目	備考
血液	6.8.1 項	4 検体 (3 及び 4 回投与後 1 及び 24 時間)
大脳	6.8.2 項	2 検体 (単回投与後 28 日及び 4 回投与後 168 時間)

### 6.9.2 前処理法及び分析条件

分析試料の前処理方法、ラジオ HPLC 条件、標準溶液調製及び結果の表示等、代謝物分析に関する全ての事項については、「 $[^{14}\text{C}]$ P092・マレイン酸塩の代謝物組成分析予備試験 (試験番号 B140810, 株式会社 L S I メディエンス)」に準じた。

### 6.10 放射能の測定

tSIE (transformed Spectral Index of External standard) 法によりクエンチング補正を行う液体シンチレーションカウンター (Tri-Carb 2300TR, PerkinElmer) を用い、放射能を測定した。測定は各バイアル当たり 5 分間、1 回とし、バックグラウンド値は測定試料と同一のシンチレーションカクテルのみを 5 分間、1 回測定して得られた dpm 値とした。このバックグラウンド値を差し引いてネットのカウント値とした。なお、放射能の検出限界はバックグラウンド値の 2 倍とした。

以下に測定試料調製法を示す。

#### 6.10.1 投与液

一部 (50  $\mu\text{L}$ ,  $n=3$ ) を分取、秤量し、メタノールで希釈して、50 mL に定容した。希釈液 1 mL をバイアルに分取 (各  $n=1$ ) し、シンチレーションカクテル (Clear-Sol I, ナカライテスク) を 5 mL 加えて混合した。

#### 6.10.2 放射化学的純度測定用試料

一部 (5  $\mu\text{L}$ ,  $n=1$ ) をバイアルに分取し、Flo-Scint II を 5 mL 加えて混合した。

#### 6.10.3 HPLC 溶出液

##### (1) 放射化学的純度の確認 (6.4.4 項)

全重量を測定し、10 mL ( $n=1$ ) をバイアルに分取、秤量し、Flo-Scint II を 5 mL 加えて混合した。

##### (2) 代謝物分析 (6.9 項)

全重量を測定し、10~15 mL ( $n=1$ ) をバイアルに分取、秤量し、Ultima-Flo M を 5 mL 加えて混合した。

#### 6.10.4 血液

組織溶解剤（バイオメリット専用組織溶解液，ナカライテスク）を 1 mL 加え，組織溶解装置（バイオメリット，積水メディカル）で約 30 分間処理したのち，シンチレーションカクテル（Hionic-Fluor, PerkinElmer）を 15 mL 加えて混合した。

#### 6.10.5 血漿

約 1 mL の精製水を加えて希釈したのち，Clear-sol I を 10 mL 加えて混合した。

#### 6.10.6 脳脊髄液

一部（n = 1）をバイアルに分取，秤量して，Clear-sol I を 10 mL 加えて混合した。

#### 6.10.7 胆汁

全重量を測定したのち，一部（n = 1）をバイアルに分取，秤量して，Clear-sol I を 10 mL 加えて混合した。

#### 6.10.8 組織 A

組織全重量を測定した。解剖用剪刀により粗砕したのち，約 0.1 g（n = 1）をバイアルに分取，秤量した。組織溶解剤を 1 mL 加え，組織溶解装置で約 30 分間処理したのち，Hionic-Fluor を 15 mL 加えて混合した。

#### 6.10.9 組織 B

バイアルに分取，秤量した。組織溶解剤を 1 mL 加え，組織溶解装置で約 30 分間処理したのち，Hionic-Fluor を 15 mL 加えて混合した。

#### 6.10.10 組織 C

組織の一部を採取した。解剖用剪刀により粗砕したのち，約 0.1 g（n = 1）をバイアルに分取，秤量した。組織溶解剤を 1 mL 加え，組織溶解装置で約 30 分間処理したのち，Hionic-Fluor を 15 mL 加えて混合した。

#### 6.10.11 抽出液及び HPLC 試料（6.9 項）

全重量を測定したのち，一部（n = 1）をバイアルに分取，秤量し，Ultima-Flo M を 5～10 mL 加えて混合した。

#### 6.11 残余試料の取扱い

測定残分の以下の試料は冷凍（-80°C，許容範囲：-60°C 以下）保存し，血液及び大脳は 6.9 項の代謝物分析に供した。これらの残分については，試験終了までに代謝物検討試料として 2015 年 3 月 18 日に関連する薬物動態試験（試験番号：B150151，株式会社 L S I メディエンス 鹿島研究所）に移管した。

血液（10 mL 採血した時点）：約 3 mL

血漿：残分全量

大脳，小脳，脳脊髄液，肝臓，肺：残分全量

その他の冷凍（-20℃，許容範囲：-40～-15℃）保存した残分についても 2015 年 3 月 18 日に薬物動態試験（試験番号：B150151）に移管した。

## 6.12 コンピュータシステムの使用

血液，血漿及び組織中放射能濃度並びに組織中放射能分布率は，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を登録した。

血液，血漿及び組織中放射能濃度は P092 フリー体換算濃度として算出し，組織中放射能分布率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）：投与実績重量，組織

放射能測定値（dpm）：血液，血漿，組織

### (2) データのオフライン収集

容量又は重量：投与液（6.4.3 項，g），血液（mL），血漿（mL），体重（g）

放射能測定値（dpm）：投与液（6.4.3 項）

## 6.13 薬物速度論的解析

動物番号 01101 における各回投与後 168 時間までの血液及び血漿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，以下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，血漿中放射能濃度	C0
$t_{1/2}$	消失半減期	HL_Lambda_z
$AUC_{0-t}$	血液，血漿中放射能濃度－時間曲線下面積	AUClast
$AUC_{0-inf}$	血液，血漿中放射能濃度－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，血液及び血漿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

試験結果の表示単位，表示桁数は以下の通りとし，表示桁数の 1 桁下で四捨五入して表示し

た. 6.8.2 項において, 血漿中放射能濃度に対する各組織中放射能濃度の比率 ( $K_p$  値) を Microsoft Excel 2010 (Microsoft) により算出した. 組織中放射能濃度が検出限界値未満 (ND, Not detected) の場合には,  $K_p$  値は算出せず, NC (Not calculated) と表示した.

6.9 項で求めた各放射性ピークの面積百分率 (% Peaks) は, ラジオクロマトグラム解析ソフトウェア FLO-ONE により算出した. その他の値の算出には, Microsoft Excel 2010 を用いた. 各試料中代謝物の定量値は下式(a)~(c)に従って算出した.

(a) 組成比 (% in analysis sample)

$$= \text{面積百分率 (\% Peaks)} \times \text{HPLC 試料への回収率} \times 1/100$$

(b) 未変化体及び代謝物の血液中濃度 (P092 フリー体換算濃度, ng eq./mL)

$$= \text{血液中放射能濃度} \times \text{組成比} \times 1/100$$

(c) 未変化体及び代謝物の大脳中濃度 (P092 フリー体換算濃度, ng eq./g)

$$= \text{大脳中放射能濃度} \times \text{組成比} \times 1/100$$

代謝物番号 (M-No.) が付与されない放射性ピークの定量値はまとめて「Others」として表示した. Others の面積百分率は, M-No.が付与された放射性ピーク (P092 を含む) の合算値を 100%から差し引いて算出した. Others の組成比, 血液及び大脳中濃度は上式(a)~(c)に従って算出した.

試験結果	表示単位	表示桁数
投与液の放射化学的純度	%	小数点以下 1 桁
HPLC 回収率		
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	%	小数点以下 1 桁
CV		
血液及び血漿中放射能濃度	ng eq./mL	小数点以下 1 桁
組織中放射能濃度	ng eq./g	小数点以下 1 桁
$K_p$ 値	--	小数点以下 2 桁
組織中放射能分布率	% of dose	小数点以下 2 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
前処理回収率	%	小数点以下 1 桁
代謝物定量値 (組成比)	% in analysis sample	小数点以下 1 桁
代謝物定量値 (未変化体及び代謝物の血液又は大脳中濃度)	ng eq./mL or g	小数点以下 1 桁

## 7. 結果及び考察

### 7.1 投与液の放射能濃度及び均一性

投与液の放射能濃度及び均一性の測定結果を Appendix 1 に示す。

4 回調製した投与液の放射能濃度はいずれも設定濃度の 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%以下であり，いずれの投与液も均一であることが確認された。

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

4 回目調製ロットの投与終了後における投与液中 $^{14}\text{C}$ ]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。

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，投与液中の $^{14}\text{C}$ ]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。したがって，同条件で調製した 1～3 回目ロットの投与液中 $^{14}\text{C}$ ]P092・マレイン酸塩の投与終了までの安定性も問題なかったと判断した。

### 7.3 血液及び血漿中放射能濃度

$^{14}\text{C}$ ]P092・マレイン酸塩を雄性サルに 1 mg/kg（フリー体換算）の用量を 1 回/1 週間の頻度で 4 回静脈内投与したときの初回，2，3 及び 4 回投与後の血液及び血漿中放射能濃度及び薬物動態パラメータを Table 1 に示す。また，初回及び 4 回投与後の血液及び血漿中放射能濃度推移を Figure 1 に示し，初回，2，3 及び 4 回投与後の血液中放射能濃度推移を Figure 2 に示す。

初回投与後の血液中放射能濃度は，投与後 5 分に 558.1 ng eq./mL を示したのち，投与後 168 時間では 42.5 ng eq./mL まで低下した。反復投与により血液中放射能濃度は上昇し，4 回目投与後 5 分値及び 168 時間値は，初回投与時のそれぞれ 1.1 及び 2.3 倍となった。

血漿中放射能濃度も血液中放射能濃度と同様に反復投与により上昇し，4 回目投与後 5 分値及び 168 時間値は，初回投与時のそれぞれ 1.5 及び 2.1 倍となった。

2，3 及び 4 回投与後の放射能濃度－時間曲線下面積（ $\text{AUC}_{0-t}$ ）は，血液については初回投与時のそれぞれ 1.7，1.8 及び 2.3 倍に増加し，血漿については初回投与時のそれぞれ 1.6，2.0 及び 2.1 倍に増加した。一方，消失半減期（ $t_{1/2}$ ）は投与回数増加に伴う大きな変動はなく，各回投与後の血液及び血漿中放射能濃度の  $t_{1/2}$  はそれぞれ 145.7～191.4 及び 261.8～580.2 h であった。

### 7.4 組織中放射能濃度

$^{14}\text{C}$ ]P092・マレイン酸塩を雄性サルに 1 mg/kg（フリー体換算）の用量を 1 回/1 週間の頻度で 4 回静脈内投与したときの 4 回投与後 168 時間における組織中放射能濃度及び組織中放射能分布率（4 回投与した合計放射エネルギーに対する分布率）をそれぞれ Table 2 及び Table 3 に示す。

また， $^{14}\text{C}$ ]P092・マレイン酸塩を雄性サルに 1 mg/kg（フリー体換算）の用量で単回静脈内投与後 28 日（672 時間）における組織中放射能濃度及び組織中放射能分布率をそれぞれ Table 4

及び Table 5 に示した。

4 回目投与後 168 時間においては、脾臓に最も高い放射能濃度 (57370.8 ng eq./g) が認められ、 $K_p$  値は 731.77 であった。次いで、腸間膜リンパ (34848.9 ng eq./g,  $K_p$  値 444.50), 副腎 (25016.2 ng eq./g,  $K_p$  値 319.08) 及び肺 (24565.6 ng eq./g,  $K_p$  値 313.34) で高い放射能濃度が認められた。大脳中放射能濃度は 463.4 ng eq./g ( $K_p$  値 5.91) であった。小脳、延髄及び脊髄における  $K_p$  値は 3.52~5.31 であり、脳脊髄液中の放射能は検出限界未満 (ND) であった。最も高い放射能分布率を示した組織は骨格筋 (8.04%) であり、次いで、肝臓 (5.09%), 皮膚 (3.75%) 及び肺 (2.14%) であった。

単回投与後 28 日 (672 時間) においては、腸間膜リンパに最も高い放射能濃度 (6078.2 ng eq./g) が認められ、 $K_p$  値は 392.14 であった。次いで、副腎 (3784.6 ng eq./g,  $K_p$  値 244.17), 脾臓 (3030.6 ng eq./g,  $K_p$  値 195.52), 肺 (2585.8 ng eq./g,  $K_p$  値 166.83) 及び膵臓 (2446.3 ng eq./g,  $K_p$  値 157.83) で高い放射能濃度が認められた。大脳中放射能濃度は 115.9 ng eq./g ( $K_p$  値 7.48) であった。小脳、延髄及び脊髄における  $K_p$  値は 3.16~6.14 であり、脳脊髄液中の放射能は ND であった。最も高い放射能分布率を示した組織は骨格筋 (3.31%) であり、次いで、肝臓 (1.97%) 及び皮膚 (1.80%) であった。

大部分の組織において、放射能濃度は血漿よりも高く、特に、脾臓、腸間膜リンパ、副腎及び肺では顕著に高い濃度の放射能が認められ、 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$  及び/又はその代謝物は組織移行性が高いことが示唆された。また、単回投与後 28 日においても、脳脊髄液を除く全ての組織に放射能が検出され、 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$  及び/又はその代謝物の組織からの消失は緩徐であると考えられた。

## 7.5 代謝物分析

### 7.5.1 前処理回収率及びラジオ HPLC 測定での回収率

各試料の前処理回収率を Table 6 に示す。

血液 (3 及び 4 回投与後 1 及び 24 時間) を前処理したとき、溶媒への抽出率は 90.1~100.1%, HPLC 試料への回収率は 89.8~93.7%, ラジオ HPLC で測定したときの回収率は 98.5~107.3% であった。

大脳 (単回投与後 28 日及び 4 回投与後 168 時間) を前処理したとき、溶媒への抽出率はそれぞれ 76.1%及び 84.4%, HPLC 試料への回収率はそれぞれ 61.2%及び 66.0%, 回収率はそれぞれ 100.0%及び 98.9%であった。

### 7.5.2 代謝物組成

血液及び大脳における代謝物の定量結果をそれぞれ Table 7 及び Table 8 に示す。また各試料におけるラジオクロマトグラムをそれぞれ Figure 3 及び Figure 4 に示す。

#### 7.5.2.1 血液

3 及び 4 回投与後 1 及び 24 時間の血液試料中において、いずれも 3 種 (mBM-1~mBM-3) の放射性ピークが検出された。これらのピークのうち、mBM-3 (P092) が最も大きく、各回



投与後 1 時間における組成比 (% in analysis sample) はそれぞれ 80.2%及び 77.4% (それぞれ 196.3 及び 191.3 ng eq./mL) であり, 各回投与後 24 時間における組成比はそれぞれ 58.5%及び 61.1% (それぞれ 81.8 及び 101.6 ng eq./mL) であった.

#### 7.5.2.2 大脳

単回投与後 28 日及び 4 回投与後 168 時間の脳試料中において, いずれも 2 種 (mCM-1 及び mCM-2) の放射性ピークが検出された. これらのピークのうち, mCM-2 (P092) が最も大きく, 単回投与後 28 日における組成比は 53.9% (62.5 ng eq./g) であり, 4 回投与後 168 時間における組成比は 59.7% (276.6 ng eq./g) であった.

なお, P092 濃度を mol 単位に換算 (フリー体分子量: 502.70) すると, 単回投与後 28 日及び 4 回投与後 168 時間の脳中 P092 濃度はそれぞれ 0.124 及び 0.550 nmol/g となる.

血液及び大脳から抽出した放射能を HPLC にて分析した結果, ラジオクロマトグラム上, P092 がほぼ単一ピークとして検出され, 血液及び大脳中の放射能の主要成分は P092 未変化体であることが示唆された.

**8. 参考資料**

- [1] R. J. Lutz, et. al., Drug Metab. Disp., 12, 529 (1984)

**9. 特記事項**

**9.1 予見することができなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態なし.**

**Table 1** Radioactivity concentrations and pharmacokinetic parameters in blood and plasma after 1st, 2nd, 3rd, and 4th intravenous administration of [<sup>14</sup>C]P092 maleate to a male monkey at 1 mg/kg/week as free base

Time/Parameter	Radioactivity concentration (ng eq./mL)							
	1st administration		2nd administration		3rd administration		4th administration	
	Blood	Plasma	Blood	Plasma	Blood	Plasma	Blood	Plasma
5 min	558.1	119.8	579.8	153.1	738.3	214.3	632.7	182.1
15 min	228.5	64.6	307.6	99.6	372.0	132.0	407.9	135.2
1 h	133.5	39.4	193.6	75.5	244.8	107.1	247.2	113.7
4 h	91.7	38.7	152.9	78.7	182.7	106.3	199.3	109.6
8 h	75.2	37.5	157.2	80.3	171.5	105.2	193.7	110.3
24 h	71.4	47.9	100.1	73.6	139.8	107.9	166.3	120.7
96 h	53.4	48.9	107.5	78.4	80.6	81.2	127.6	87.3
168 h	42.5	36.6	70.3	62.3	88.6	70.6	98.7	78.4
C <sub>0</sub> (ng eq./mL)	869.9	162.8	794.5	189.6	1038.0	272.7	787.0	211.1
t <sub>1/2</sub> (h) <sup>a)</sup>	191.4	371.0	145.7	580.2	147.1	261.8	191.3	292.5
AUC <sub>0-t</sub> (ng eq.·h/mL)	9991	7555	17251	12393	18043	14804	23334	16140
AUC <sub>0-inf</sub> (ng eq.·h/mL)	21726	27143	32030	64538	36845	41469	50576	49221
CL <sub>total</sub> (mL/h/kg)	46	37	31	15	27	24	20	20
V <sub>dss</sub> (mL/kg)	12590	19537	6720	12825	6217	9125	5403	8570
MRT <sub>0-inf</sub> (h)	273.5	530.3	215.2	827.7	229.1	378.4	273.2	421.8

a) The t<sub>1/2</sub> was automatically calculated by WinNonlin.

**Table 2** Radioactivity concentrations in tissues 168 h after 4th intravenous administration of [<sup>14</sup>C]P092 maleate to a male monkey at 1 mg/kg/week as free base

Tissue	Radioactivity concentration (ng eq./mL or g)	
Blood	98.7	( 1.26 )
Plasma	78.4	( 1.00 )
Cerebrum	463.4	( 5.91 )
Cerebellum	275.6	( 3.52 )
Medulla oblongata	416.6	( 5.31 )
Cerebrospinal fluid	ND	( NC )
Spinal cord	296.0	( 3.78 )
Pituitary	13146.0	( 167.68 )
Eyeball	453.2	( 5.78 )
Submaxillary gland	13010.0	( 165.94 )
Mesenteric lymph nodes	34848.9	( 444.50 )
Heart	4671.6	( 59.59 )
Lung	24565.6	( 313.34 )
Liver	14109.5	( 179.97 )
Adrenal	25016.2	( 319.08 )
Kidney	11566.4	( 147.53 )
Spleen	57370.8	( 731.77 )
Pancreas	13986.2	( 178.40 )
Testis	2879.4	( 36.73 )
Skin	1644.8	( 20.98 )
Skeletal muscle	801.0	( 10.22 )
Bone	50.2	( 0.64 )
White adipose tissue	1113.9	( 14.21 )
Brown adipose tissue	14916.2	( 190.26 )
Bile	12191.1	( 155.50 )

Values in parentheses are expressed as the ratio of tissue concentration to plasma concentration ( $K_p$ ).

ND: Not detected

NC: Not calculated

**Table 3** Radioactivity distribution in tissues 168 h after 4th intravenous administration of [ $^{14}\text{C}$ ]P092 maleate to a male monkey at 1 mg/kg/week as free base

Tissue	Radioactivity distribution (% of dose)
Blood <sup>a)</sup>	0.14
Cerebrum	0.13
Cerebellum	0.01
Medulla oblongata	0.00
Pituitary	0.01
Eyeball	0.01
Submaxillary gland	0.22
Heart	0.34
Lung	2.14
Liver	5.09
Adrenal	0.07
Kidney	1.05
Spleen	0.94
Pancreas	0.54
Testis	0.20
Skin <sup>a)</sup>	3.75
Skeletal muscle <sup>a)</sup>	8.04
White adipose tissue <sup>a)</sup>	2.11
Bile	0.11
<b>Total</b>	<b>24.90</b>

a) The whole weights of the blood, skin, skeletal muscle, and white adipose tissue were assumed as 6.0%, 9.4%, 41.4%, and 7.8% of body weight, respectively.

**Table 4** Radioactivity concentrations in tissues 672 h after single intravenous administration of [<sup>14</sup>C]P092 maleate to a male monkey at 1 mg/kg as free base

Tissue	Radioactivity concentration (ng eq./mL or g)	
Blood	15.2	( 0.98 )
Plasma	15.5	( 1.00 )
Cerebrum	115.9	( 7.48 )
Cerebellum	49.0	( 3.16 )
Medulla oblongata	120.1	( 7.75 )
Cerebrospinal fluid	ND	( NC )
Spinal cord	95.1	( 6.14 )
Pituitary	1628.6	( 105.07 )
Eyeball	250.6	( 16.17 )
Submaxillary gland	1274.4	( 82.22 )
Mesenteric lymph nodes	6078.2	( 392.14 )
Heart	843.4	( 54.41 )
Lung	2585.8	( 166.83 )
Liver	1484.1	( 95.75 )
Adrenal	3784.6	( 244.17 )
Kidney	1122.2	( 72.40 )
Spleen	3030.6	( 195.52 )
Pancreas	2446.3	( 157.83 )
Testis	921.0	( 59.42 )
Skin	192.1	( 12.39 )
Skeletal muscle	80.3	( 5.18 )
Bone	15.4	( 0.99 )
White adipose tissue	136.2	( 8.79 )
Brown adipose tissue	1314.3	( 84.79 )
Bile	1552.6	( 100.17 )

Values in parentheses are expressed as the ratio of tissue concentration to plasma concentration ( $K_p$ ).

ND: Not detected

NC: Not calculated

**Table 5** Radioactivity distribution in tissues 672 h after single intravenous administration of [<sup>14</sup>C]P092 maleate to a male monkey at 1 mg/kg as free base

Tissue	Radioactivity distribution (% of dose)
Blood <sup>a)</sup>	0.09
Cerebrum	0.12
Cerebellum	0.00
Medulla oblongata	0.00
Pituitary	0.00
Eyeball	0.03
Submaxillary gland	0.14
Heart	0.18
Lung	0.95
Liver	1.97
Adrenal	0.03
Kidney	0.33
Spleen	0.28
Pancreas	0.31
Testis	0.39
Skin <sup>a)</sup>	1.80
Skeletal muscle <sup>a)</sup>	3.31
White adipose tissue <sup>a)</sup>	1.06
Bile	0.06
<b>Total</b>	<b>11.05</b>

a) The whole weights of the blood, skin, skeletal muscle, and white adipose tissue were assumed as 6.0%, 9.4%, 41.4%, and 7.8% of body weight, respectively.



**Table 6** Recovery of radioactivity in sample pretreatment and radio-HPLC measurement

Analysis sample	Number of dose	Time (h)	Recovery of radioactivity (%)		
			Extract <sup>*1</sup>	HPLC sample <sup>*2</sup>	HPLC column <sup>*3</sup>
Blood	3rd	1	96.3	93.7	97.8
		24	90.1	89.8	107.3
	4th	1	96.1	90.5	99.1
		24	100.1	93.3	98.5
Cerebrum	Single	672	76.1	61.2	100.0
	4th	168	84.4	66.0	98.9

\*1: Recovery of radioactivity from analysis sample to extract

\*2: Recovery of radioactivity from analysis sample to HPLC sample

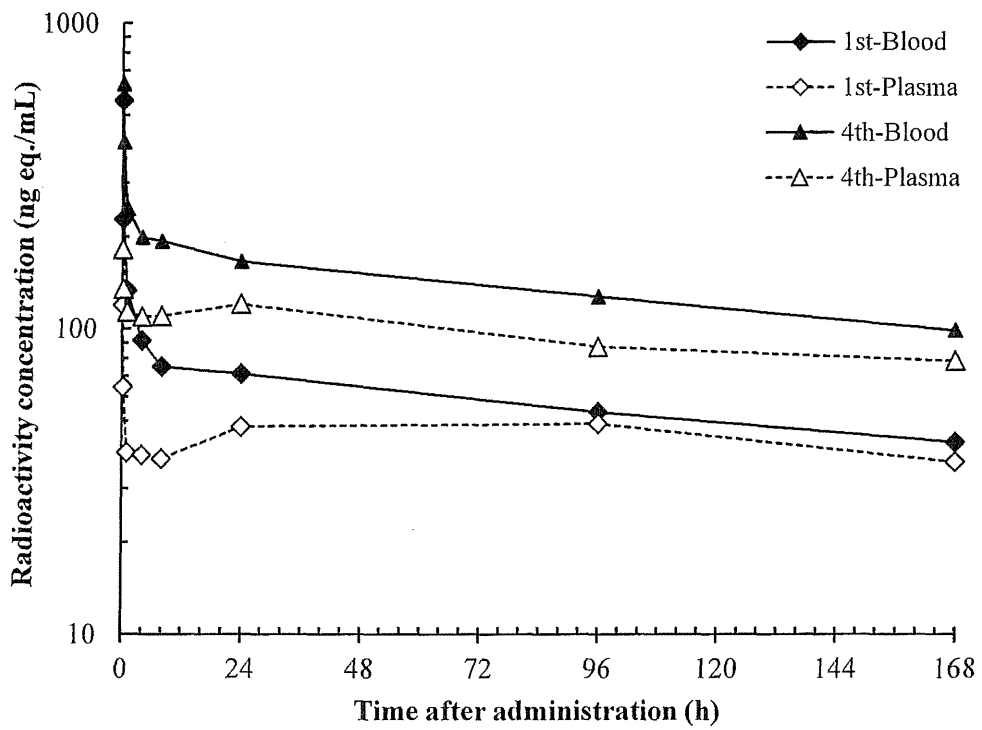
\*3: Recovery of radioactivity from HPLC column

**Table 7** Composition ratios and concentrations of radioactivity, P092, and its metabolites in blood 1 and 24 h after 3rd and 4th intravenous administration of [<sup>14</sup>C]P092 maleate to a male monkey at 1 mg/kg/week as free base

Analysis sample	Metabolite No.	Composition	% peaks [% in analysis sample] (ng eq./mL)			
			3rd administration		4th administration	
			1 h	24 h	1 h	24 h
Blood	mBM-1	Unknown	0.9	4.9	1.4	3.5
			[ 0.8 ]	[ 4.4 ]	[ 1.3 ]	[ 3.3 ]
			( 2.0 )	( 6.2 )	( 3.2 )	( 5.5 )
	mBM-2	Unknown	2.7	11.5	4.7	11.7
			[ 2.5 ]	[ 10.3 ]	[ 4.3 ]	[ 10.9 ]
			( 6.1 )	( 14.4 )	( 10.6 )	( 18.1 )
	mBM-3	P092	85.6	65.2	85.5	65.5
			[ 80.2 ]	[ 58.5 ]	[ 77.4 ]	[ 61.1 ]
		( 196.3 )	( 81.8 )	( 191.3 )	( 101.6 )	
Others	--	10.8	18.4	8.4	19.3	
		[ 10.1 ]	[ 16.5 ]	[ 7.6 ]	[ 18.0 ]	
		( 24.7 )	( 23.1 )	( 18.8 )	( 29.9 )	
Unextracted	--	--	--	--	--	
		[ 6.3 ]	[ 10.2 ]	[ 9.5 ]	[ 6.7 ]	
		( 15.4 )	( 14.3 )	( 23.5 )	( 11.1 )	
	Recovery (%)	93.7	89.8	90.5	93.3	
	Total radioactivity	( 244.8 )	( 139.8 )	( 247.2 )	( 166.3 )	

**Table 8** **Composition ratios and concentrations of radioactivity, P092, and its metabolites in cerebrum after single or 4th intravenous administration of [<sup>14</sup>C]P092 maleate to male monkeys at 1 mg/kg/week as free base**

Analysis sample	Metabolite No.	Composition	% peaks [% in analysis sample] (ng eq./g)	
			Single administration	4th administration
			672 h	168 h
Cerebrum	mCM-1	Unknown	4.4	3.5
			[ 2.7 ]	[ 2.3 ]
			( 3.1 )	( 10.7 )
	mCM-2	P092	88.0	90.4
			[ 53.9 ]	[ 59.7 ]
			( 62.5 )	( 276.6 )
	Others	--	7.6	6.1
[ 4.7 ]			[ 4.0 ]	
		( 5.4 )	( 18.5 )	
Unextracted	--	--	--	
		[ 38.8 ]	[ 34.0 ]	
		( 45.0 )	( 157.6 )	
Recovery (%)			61.2	66.0
Total radioactivity			( 115.9 )	( 463.4 )



**Figure 1** Radioactivity concentrations in blood and plasma after 1st and 4th intravenous administration of [ $^{14}\text{C}$ ]P092 maleate to a male monkey at 1 mg/kg/week as free base