



**DG2013-03**  
**代謝物定量法の段階的アプローチ**

---

- 内村隆秀 (株)中外医科学研究所
- 小関望 杏林製薬(株)
- 薩川正広 科研製薬(株)
- 橋本義孝 小野薬品工業(株)
- 真弓剛 田辺三菱製薬(株)
- 安田穰 (株)東レリサーチセンター
- 横井宏之 大塚製薬(株)
- 丹羽誠(リーダー) 日本化薬(株)

# トピック選択の経緯

- 4th JBF Trial DG-2の「今後の議論に向けた意見」で希望するトピックの一つとして挙げられた。
  - 段階的アプローチ
    - 初期開発段階への適用
    - 代謝物測定への適用
    - 組織内濃度測定への適用
  - マトリックスについて
    - 動物の系統, 人種差, 性差
    - 溶血の影響, 食事(摂食)成分を含むマトリックスの影響
  - Microsampling and DBS
- 2013年10月～2014年3月は, 「代謝物測定への適用」を取り上げて活動した.



# 背景

---

段階的アプローチについて

- 段階的アプローチは、EBF及びGBCで検討されたTiered Approachのことであるが、どのように「段階」を構築するか、段階の途中で得たデータが評価可能であるものなのかはコンセンサスに達していない。
- 段階的アプローチについての検討の進展と成熟化のため、将来の足掛かりとなるべく議論を始める必要がある。
- DG内の予備討議では、以下の期待が寄せられた。
  - 臨床開発の初期段階で代謝物のリスクを評価し、問題があれば早期に手を打つことが可能となる。
  - 段階的アプローチを活用して早く・速く動き、その結果から毒性リスクのある代謝物を早く・安くピックアップすることが可能となる。

# 段階的アプローチ・既存の解釈

- 定義～日本のBMVガイドライン
  - 開発の段階が進むにつれて、確認項目及びその内容をフルバリデーションに近づけていく手法
- 目的～GBC HT A-2より
  - 生体試料中薬物濃度測定法の検証レベルを合理的に設定する.
  - バイオアナリシスの新しい課題(組織中濃度測定, 生体分子のLC/MS, マイクロサンプリング)に対して, 現実的な対応を可能にする.
  - データの使われ方に見合ったデータの品質を満たしつつ, 効率的に分析データを提供する.

# 用語・定義の整理

---

## 重点検討課題1

用語	定義
Absolute quantification 絶対定量法	標準品で調製した検量線にて、濃度値を算出する定量法
Relative quantification 相対定量法	装置のレスポンス等を用いて、検体間の比較を行うための定量法
Reference standard 標準品	分析対象物質を定量分析する上で基準となるものであり、主に検量線用標準試料やQC試料の調製に用いられる
Method validation 分析法の妥当性評価	絶対定量を行うために、標準品で調製した検量線、QC試料を用いて、BMV-GLに規定される分析法の確認を実施すること
Method qualification 分析法の限定的妥当性評価	絶対定量を行うために、標準品で調製した検量線、QC試料を用いて、分析法の確認を限定的な内容として実施すること

用語	定義
Validated method	BMV-GLに規定される分析法の確認を実施した定量法
Qualified method	絶対定量を行うために標準品で調製した検量線, QC試料を用いて限定された分析法の確認を実施した定量法
Research method	放射能, NMR, UV等により濃度値が推定された溶液等を標準物質として用いて調製した検量線にて, 分析法の確認を実施した定量法
Screening method	装置のレスポンスを用いて, 分析法の確認を実施した定量法

# 定量法の段階的アプローチ分類表

分類	Screening method	Research method	Qualified method	Validated method
イメージ	相対定量	濃度の推定	目的とする評価が実施可能な, 真度・精度を有する絶対定量法	BMV-GLおよびSOPに準拠して確立された絶対定量法
標準物質	-	濃度値が推定値として得られている標準品溶液等	分析証明書以上	BMV-GLおよびSOPに準拠、未変化体はCOA付き標準品
定量法開発	必要に応じて限定的な定量法確立を実施する			必須
測定試験前定量法性能評価	必須でない. 定量法確立と測定試験でのデータを信頼する		推奨	BMV-GLおよびSOPに準拠 (pre-study validation)

# 定量法の段階的アプローチ分類表

分類	Screening method	Research method	Qualified method	Validated method
測定前 定量法確立および 測定試験での 検量線	-	必須。ただし、少数の検量線試料(>3ポイント)も許容される	必須。少数の検量線試料数は(>3ポイント)も許容されるが、定量範囲が100倍を超える場合は6ポイント以上を推奨する	BMV-GLおよびSOPに準拠
測定試料と同じ マトリックスの検量線 および QC試料	-	推奨	使用する。入手困難な場合は代用マトリックスを使用することも可能	BMV-GLおよびSOPに準拠

# 定量法の段階的アプローチ分類表

分類	Screening method	Research method	Qualified method	Validated method
QC試料	-		推奨	BMV-GLおよびSOPに準拠
定量法確立および測定試験での判定基準	目的に応じて、判定基準を±15/20%より広げることができる。判定基準を事前に決めることが推奨されるが、後付けで決めることも場合により可能である		目的に応じて、判定基準を±15/20%より広げることができる	BMV-GLおよびSOPに準拠
日内・日間再現性	日内再現性/精度のみ	日内再現性/真度, 精度 (1run)		BMV-GLおよびSOPに準拠

# 定量法の段階的アプローチ分類表

分類	Screening method	Research method	Qualified method	Validated method
選択性	測定試験でのBlank sampleの結果を用いる			BMV-GLおよびSOPに準拠
併用薬の影響	不要			BMV-GLおよびSOPに準拠
抽出効率	-	不要		BMV-GLおよびSOPに準拠
内標準物質	-	推奨	必須	BMV-GLおよびSOPに準拠
キャリアオーバー	試料採取の順番で分析を行う。測定毎に高濃度試料に続きBlankサンプルを分析する			BMV-GLおよびSOPに準拠
マトリクス効果	評価する種間でマトリクス効果が無いことを示す	ISを使用している場合は、測定間のISのレスポンスを比較する		BMV-GLおよびSOPに準拠

# 定量法の段階的アプローチ分類表

分類	Screening method	Research method	Qualified method	Validated method
生体試料中 各種安定性		必要に応じて実施		BMV-GLおよび SOPに準拠
Stock/ working solution 安定性		必要に応じて実施		BMV-GLおよび SOPに準拠
生データの 正確な記録		実施		BMV-GLおよび SOPに準拠
報告前の 生データQC		実施		BMV-GLおよび SOPに準拠
定量法の 記載/ 報告書		実験ノートもしくは報告書に記載する		BMV-GLおよび SOPに準拠
測定値の 報告		実験ノートもしくは報告書に記載する		BMV-GLおよび SOPに準拠

# 医薬品開発段階に応じた代謝物定量法の *tiered approach*

## 重点検討課題2

# Analysis of metabolite in *preclinical phase*

Stage	Screening	Research	Qualified	Validated
	親化合物のみで代謝物測定は実施せず	代謝物検索(MS)とLC-UVによる半定量(標準品なし)	代謝物定量(標準品あり、ただしCoAなし)	フルバリデーション (CoAあり)
<i>In vivo</i>				
小動物	Cassette or single PK	Single PK	PK/PD model Pre-GLP	GLP TK
Large animal		Single PK	PK/PD model Pre-GLP	GLP TK
			放射能標識体(3H)を用いたさらなる代謝物検索と定量 (キメラマウス等)	
<i>In vitro</i>	代謝安定性(血漿、ミクロソーム、肝細胞)	ミクロソーム、肝細胞による代謝	ヒト動態予測のための種差とアニマルスケールアップ	
			→臨床試験での分析対象物質の決定	

# Analysis of metabolite in clinical phase

Phase 0	Phase I	Phase II / III
例) マイクロドーズ試験	単回・反復投与試験	患者PK試験
未変化体の定量は Qualified or validated	未変化体の定量は Validated	未変化体の定量は Validated
	GLP試験と分析対象物質は 同じ(主に親化合物のみ、プ ロドラッグを除く)	PK/PD試験 分析対象物質: 未変化体の み(PD目的)、または代謝物も
代謝物検索	代謝物検索実施	ヒトマスバランス試験で実施
代謝物の定量は qualified method	代謝物の定量はqualified method (for MIST)	代謝物の定量はvalidated method
	現状尿中濃度測定は validated method	現状尿中濃度測定は validated method

**提案:** 尿中濃度は、血漿中などの薬効や毒性に直接関与する濃度測定値ではなく、排泄されたものの濃度測定値であるため、**尿中の代謝物分析はGBC基準に基づき、Qualified methodとしたい。**

# When to Use a Given Tier – per *Preclinical to Clinical Phase*

## Preclinical Phase

### 1. Screening

Ex) Cassette dosing

No metabolite analysis

### 2. Research (PK/PD)

Ex) Single PK (several species)

Metabolite research & semi-quantify (uv)  
→ No reference standard of metabolite(s)

Metabolite(s) synthesis

Depend on the activity or amount

### 3. Pre-GLP Tox

Non-GLP study

Qualified method

Assessment of metabolite exposure level for GLP study

Metabolite(s) without CoA?

### 4. IND GLP Tox

GLP study

Validated method

TK analysis (with or without metabolite)

Metabolite(s) with CoA

Decision of analyte(s) in clinical studies

In vitro metabolite research

Species difference  
Animal scale up (in vitro & vivo)

RI (<sup>3</sup>H) synthesis  
in vivo study

Research further metabolite and quantification

## Clinical Phase

### Phase 0

Qualified method (?)

Ex)  $\mu$  dose study Dose linearity?

Preliminary metabolite research

### Phase I

Single dose study

Multiple dose study

Known Metabolite(s) quantification by validated method

Metabolite research in human

Qualified method

### Phase II / III

PK in patients

Validated method

Human mass balance study

Human specific metabolite(s) research

Further metabolite(s) quantification depend on the amount and activity

Validated method

NDA!

- ①小動物のPK試験（探索動態）→代謝物検索実施
  - ②動物*in vitro*, ③ヒト*in vitro*試験
  - ④大動物（イヌ又はサル）探索PK試験→代謝物検索実施
- ①～④で代謝物の選定. 量的な判断はUV



- ⑤スクリーニング毒性試験 → 高用容量下での代謝物検索
- ①～⑤をふまえてヒトでの検出が考えられる代謝物に当たりをつける  
少量でも代謝物標品を合成出来れば定量値の算出  
無ければUVベースで相対定量



前臨床移行決定

## 前臨床移行決定



⑥ 予備TK試験 (non-GLP) → 代謝物検索 (スクリーニング毒性試験データとの再現性を確認)

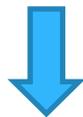
毒性が確認された用量での代謝物の扱いの検討

GLP試験での定量対象を選定。



⑦ GLP毒性試験

⑧ 前臨床薬物動態試験



## 臨床移行

- 科学的側面
- 基本となる試験→③ヒト*in vitro* (CYP系, 抱合体)
  - この試験において全く検出されない代謝物は, 定量対象にはならない
  - →前臨床では未変化体のみで定量法開発
- ③の試験で代謝物検出→場合分け
  - 1) ③で認められたピークが, ①, ②及び④で検出 (普遍的代謝物)
    - 量的評価が求められる: UV→相対定量→絶対定量
    - 量が多い→GLPでの定量対象となりうる→ Validated Method対応準備
    - 量が少ない→⑤又は⑥の結果を踏まえて 定量のレベル考察
    - 活性のある代謝物→Validated Method対応準備

- 2) ③で認められたピークが, ①, ④では検出されない. ⑤又は⑥の毒性用量で検出の場合.
- 判断が難しい. 毒性用量のみで検出しても, ヒト *in vitro* 系で生成しない場合は, 対応しない場合が多い.
  - 代謝物もある程度の信頼性を持った定量値がほしい (Qualified method 以上が必要か?).
- 3) ③でのみ検出されたピーク
- ヒト特有の代謝物と判断される場合 ⇒ Validated メソッド 対応必要
- 4) ③で認められたピークが抱合体の時
- ガイドライン上は定量の必要ないが, 本当にそれでいいのか?
  - ヒトでの生成量が多いと予想される場合は定量
  - アシルグルクロナイドの場合は注意が必要

- 戦略的側面: 基本スタンスは大きく2つ
  - 考え方A
    - 非臨床試験 *in vivo* / *in vitro* で検出された代謝物全てを合成し、バリデートされた定量 を行っていく。
    - 新たにヒト特有の代謝物が検出されない限りは問題が生じない。
    - 代謝物の問題を前倒し解決していく。
  - 考え方B
    - 明らかに代謝物が原因となるシビアな毒性が生じず、治験を安全に進めることができると主張できることを前提に、代謝物の安全性評価はPivotalまでに行えば問題ないと考える。
    - ヒト *vivo* の検索・半定量の結果をもって代謝物定量の方針を決める。
    - Validated assay の仕事を後ろ倒しし、その分の資源・時間を有効に使い、速くPOCに進める。

- Phase I実施時 (first in man) のときの測定対象
  - 基本的に未変化体のみ (プロドラッグなどの場合は活性体も測定) の場合が多い。
    - 速やかにPIIIに移行することを優先。
  - 臨床相互作用試験にも配慮し, 極力代謝物を定量しておく場合もある.
  - GLP TKで評価した代謝物は測定する場合が多い.

- ヒトの代謝物検索
  - PIの反復投与試験のサンプルで実施(血漿、尿)
    - 定常状態での代謝物検索を実施するため.
    - 標準品がある場合は同定と定量, 曝露量(MISTの10%)評価実施
    - ここで10%超過が確認されてから、GLP試験で代謝物の曝露評価を実施. その場合はFull validation. その後のPK試験は全て代謝物濃度測定を実施する。
    - 絶対定量とせず, PI反復の検体と動物の検体のピーク面積比で相对比较する手法もある. ヒトの方が曝露が多いものがあれば, それらに対して, 生合成標品, 合成標品を用いてのヒト検体の定量, マスバランスでの存在比確認等, ヒトでの定量的評価をどうするのかを考えていく. ヒトで総曝露の10%を超える目処が立ったものに関してGLPでのTK測定を実施. Pivotalまでにはマスバランス試験を実施, 総曝露の10%を超える代謝物をGLP TKで測定.

- ヒトマスバランス試験で新たな代謝物が発見された場合
  - 以降の臨床試験や、それまでに実施した臨床試験サンプルで可能な場合(倫理面などの理由で)濃度測定を実施. その場合はFull validation実施. その後のPK試験は全て代謝物濃度測定を実施する.
  - Phase 3時期に癌原性試験と特殊な毒性試験しか残さない開発手順の場合, TKの対応は難しい場合がある.
  - 後からPhase 1のサンプルを使用するのは手順・制度の面からも, 安定性の面からも難しい.
  - 実際には, 開発後期に臨床薬理試験を実施した場合には, そこから検体を得ることが多い.



# 代謝物標準物質に求める品質

## 重点検討課題3

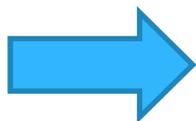
# 代謝物標準物質に求める品質

- バイオアナリシスを実行するにあたり、標準物質の確保は大きな課題.
- 開発初期には代謝物標準物質を確保できないという現実が、段階的アプローチを検討すべき理由の一つ.
- このDGでは、本来段階的アプローチにおける代謝物標準物質を検討すべきではあるものの...
- 予備討議時、それ以前に、メンバーの背景ごとに代謝物標準物質に求める品質がまちまちであるようだ、ということが判ってきた.
- ⇒ Validated assayでの使用を仮定した上で、代謝物標準物質に求める品質を調査検討することにした.

- 最低限必要な検討項目としては、何が挙げられるか。
  - 純度(又は含量)は定量するために必須。
  - 構造確認は理詰めでいくと必要だが、構造検討の実績があれば、ロットごとの保証は純度のみで良いのでは。
- 品質の検討方法: だいたい何種類の分析方法を用いるか。
  - NMRとHPLCを検討することが多いと考える。
  - NMRは構造確認のケースと含量のケースが想定される。
  - 化学的な懸念が無い場合、HPLCの保持時間(identity)と面比(purity)で評価することも可能ではないか。

- 代謝物標準品についての品質検討のポリシー: 詳細であるほうがよいのか, 一定レベルを満たせばよいのか.
  - 実務上は合成量に応じて, 検討項目を増やすことが可能. より確実な保証となる.
  - その代謝物の開発上の重要度に応じて合成量, 検討項目は決まる.
  - ほとんどの会社で何らかの規格・基準を設けているのではないか.
  - 開発段階に応じて, データを追加する会社と, そうでない会社が存在すると考えられる.

- 安定性の検討方法: 予め有効期限を決めるか, リテストを利用するか?
  - リテストで保証する.
  - 量に余裕がある場合, 安定性試験を実施し有効期限を設定する場合もありうる.



これらの討議から検証すべき論点を設定し, アンケートを作成した.

# JBFパートナーへのアンケート

- 予備討議で論点を絞り, JBFパートナーを対象としアンケートを実施した.
- 1回目: 2013年12月5日~13日
- 2回目: 2013年12月19日~27日
- 詳細な結果は別途掲示

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（品質の規格）

## <規格について>

- ✓ 代謝物標準物質の品質の規格については設けないとした回答が多い。  
⇒ 予備討議時の予想と異なり、規格設定には消極的な傾向。
- ✓ 規格を設定する動きは消極的であり、また、未回答が多い。  
⇒ 規格に対する考え方が纏まっていない？
- ✓ 規格を設定する場合、1ロットの実績から設定するとした回答と、実績によらず設定するとした回答は同数であり、3ロットの実績からの設定を想定する回答は無かった。
- ✓ 合成の難易度にもよるが、純度が高い(90%以上)代謝物標準物質を求める傾向が認められる。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（品質の保証方法）

## <保証方法について>

- ✓ 代謝物標準物質の品質については、どの回答でも何らかの保証・確認が必要としているが、保証するレベル(試験項目)は、異なっている。
- ✓ 保証するレベルは、開発段階に合わせて変更するポリシーの場合と、変更しない場合があるが、標準物質の合成量も保証するレベルに大きな影響を与えている。  
⇒ 量が多ければ、試験項目を増やせる？
- ✓ 代謝物標準物質の品質を保証するための試験項目としては、純度(含量)、水分、構造確認等、定量値に直接影響する情報が重要視されている。但し、構造確認は、イニシャル時のみ、行うケースが多い。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（安定性に関する考え方）

## <安定性について>

- ✓ 代謝物標準物質の品質を保証できる期間（有効期限・リテスト日）を設定するとした回答は非常に多く認められる。
- ✓ COAに有効期限を記載するかどうかは、海外の状況を参考にする傾向が強く認められる。
- ✓ リテスト日（≠有効期限）を設定し、標準品の品質を保証する考え方が多く認められる。
- ✓ 保存条件は、合成部門からの情報を基にするケースや、一律低温で保管するケースが多く認められる。



# まとめと今後

---

- 段階的アプローチとして想定される分析法・定量法のレベルについて整備，確認することができた。
- 医薬品開発の流れの中で，代謝物の検討状況に応じ，どのように代謝物定量法を整備すべきか，概ね共通認識に達した。
- 代謝物標準品に期待する品質のレベルについて，現状を把握することができた。

- 基本的には、医薬品の安全性と有効性を確保しつつ、研究開発生産性が向上する提言を行いたいと考えています。
- 国際調和の観点からも、尿試料分析のあり方については検討したいと考えます。
- 本日の討議結果も加味して、取りまとめ、及び今後の展開を検討します。

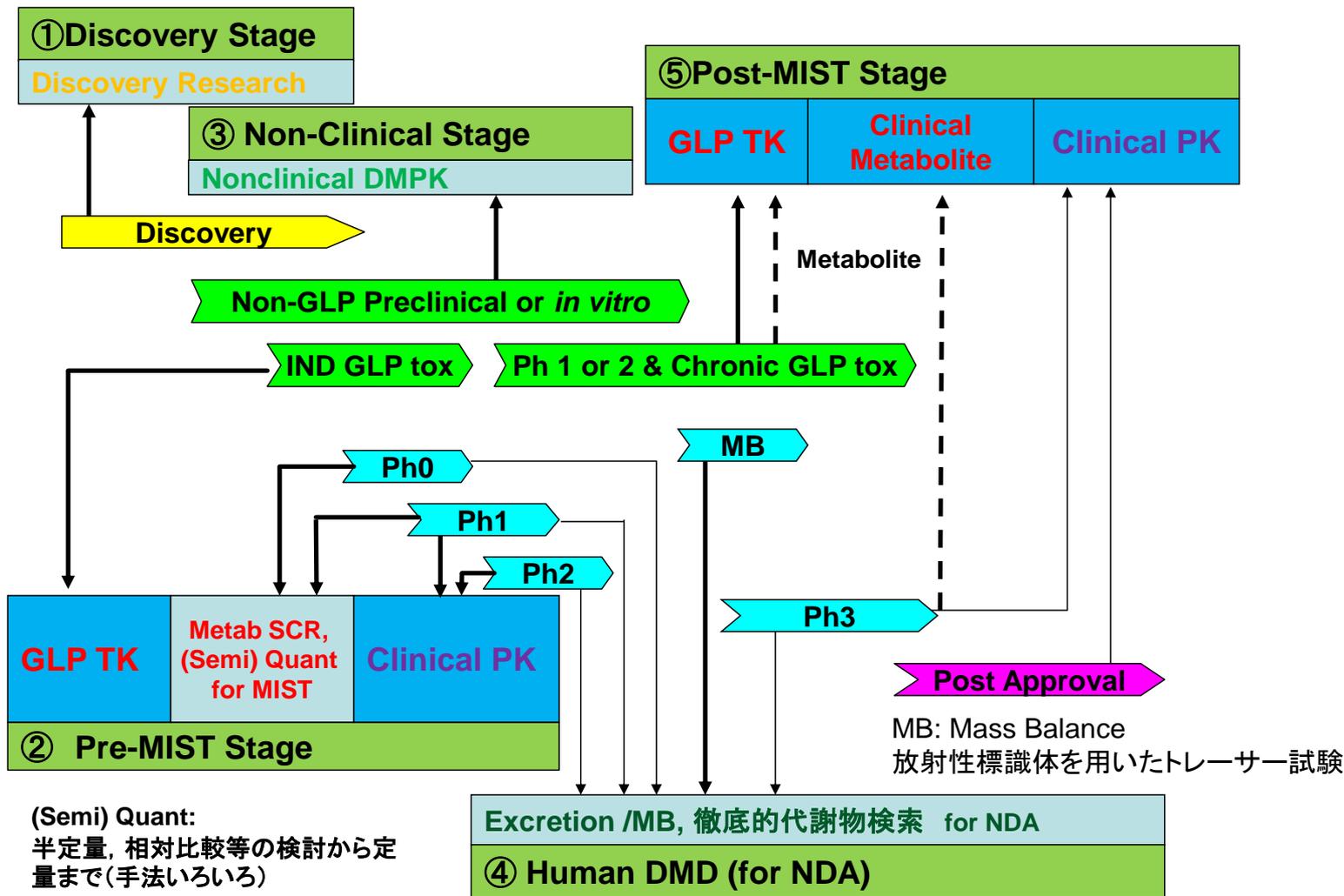


# 参考資料

---



# 医薬品開発における生体試料分析 / 動態関連タスクの整理



<http://bioanalysisforum.jp/>

## 各段階における定量法レベル

Stage	開発上の位置づけ	場合分け	分析法に求められるもの	Plasma Parent Drug	Other Matrix Parent Drug	Plasma Metabolite	Other Matrix Metabolite
① Discovery	候補化合物探索	—	Proper Candidate Selection	SCL ⇒ (RES) ⇒ QUAL			
② Pre-MIST	First in Man, 動物とヒトの比較	臨床PK, BE, TK	BA, BE, Exposure / Validated	VAL	(VAL) <sup>*1</sup>	(VAL) <sup>*2</sup>	(VAL) <sup>*3</sup>
		代謝物早期評価	Human - Animal Comparison	—	—	SCL ⇒ QUAL	SCL ⇒ QUAL
③ NonGLP NonClinical	毒性以外の非臨床試験	—	Proper Profiling of Animal PK / DMD	QUAL	QUAL	QUAL	QUAL
④ Human DMD	ヒトでの生体内運命	—	Proper Profiling of Human DMD	QUAL	QUAL	QUAL	QUAL
⑤ Post-MIST	患者集団での評価	臨床後期PK	Patient Population PK / Validated	VAL	(VAL) <sup>*1</sup>	(VAL) <sup>*2</sup>	(VAL) <sup>*3</sup>
	代謝物の暴露量検証	重要代謝物PK/TK	Metabolite PK, Exposure / Validated	—	—	VAL	VAL
		重要でない代謝物	Proper Profiling of Metabolite PK	—	—	QUAL	QUAL

SCL: Screening Method. , RES: Research Method, QUAL: Qualified Method, VAL: Validated Method

\*1: 血中 PK 取得できないなどで尿中 PK が必要な場合, 毒性学的に組織内 TK 必要な場合

\*2: 未変化体 PK 取得できないなどで代謝物 PK が必要な場合, 毒性学的に代謝物 TK 必要な場合

\*3: \*1\*2 の組み合わせ

どのアイテムを NDA データ (⇒ regulated bioanalysis) と位置付けるかは, 各社の戦略であり, 一概に論じることが難しい。

# 各段階における定量法レベル

## DG内討議内容

- Qualified MethodとValidated Method
  - 会社が求める頑健性により, Qualified Method ⇒ Validated Methodのグレードアップはありうる(以下全てにあてはまる).
- 血漿の未変化体測定法
  - TK, BE, 臨床PKはValidated Method
  - 非臨床PKはQualified Method
- 血漿vsその他のマトリックスでの扱い
  - その他のマトリックスは, 基本的にはQualified.
  - 場合分けとして, TK, BE, 臨床PKで組織や尿データが必要な場合はValidated Method
  - Phase1の尿は, 排泄(ADME)試験の性質のため, この「臨床PK」とはとらえない

# 各段階における定量法レベル

## DG内討議内容

- 代謝物の扱い
  - 場合分けとして代謝物毒性評価TK, 代謝物BE, 活性代謝物PKなどのケース(主に血漿)はValidated Method
  - Pre-MISTはScreening Method (手法いろいろ)⇒状況によりQualified Method で定量の流れ
  - Post-MISTは, 重要代謝物の暴露評価はValidated Method, その他の測定がある場合はQualified Method

# 尿中濃度データの使われ方と分析信頼性

## DG内討議内容

- 尿中濃度データ・組織中濃度データについて、常に血中濃度データと同じ信頼性が必要か？
- GBC HT A-2では、non-plasma matrixはQualified Methodでよいとしている。
- 尿中濃度は、血漿中濃度のような薬効や毒性に直接関与する濃度測定値ではなく、排泄されたものの濃度測定値であるため、Validated Methodを必須としないとする考えも理解できる。
  - 排泄率を把握するための尿中濃度測定は、BEのように後発医薬品の有効性安全性を直接担保する役割になく、TKや血中PKと異なり、開発中の治験の安全性を直接担保する役割にもない。
  - 例外的に、未変化体の血中濃度測定が困難で、代わりに未変化体の尿中濃度測定を行う場合(TK, BE, 臨床PK目的)は、当然にValidated Method必須となる。

# 尿中濃度データの使われ方と分析信頼性

## DG内討議内容

- 尿中排泄が重要でない状況の場合、どこまで測定すべき？
- 例えば、尿中排泄率が1%に満たない化合物の場合⇒Mass balanceを将来的に実施するのであれば、Phase 1では Validated Methodでなくてもよいのではないか（Phase 1で測定を計画しないこともありうる）。
  - このような場合、尿中濃度測定データは、開発中の治験の安全性にほとんど寄与しないと考えられる。
- 対照的に、尿中排泄が主排泄経路である場合、早期に信頼性が高いデータを取得することが有益とも考えられる。
  - 早期に正確な腎クリアランスを把握することで、開発上のいろいろな問題に対処することが可能となり、場合によっては開発中の治験の安全性にも貢献する。

➡ 最低線をQualified Methodと考え、必要に応じてValidated Methodを用いる、というスタンスが適切ではないか

## 開発過程における代謝物標準物質の適切配置

分類	定量の目的	求められる標準物質のレベル(推奨)
Screening method	相対定量	—
Research method	濃度の推定	濃度値が推定値として得られている標準品溶液等
Qualified method	目的とする評価が実施可能な、真度・精度を有する絶対定量	分析証明書(≠COA)以上
Validated method	BMV-GLおよびSOPに準拠して確立された絶対定量	BMV-GLおよびSOPに準拠、(未変化体はCOA付き)

測定目的	分析方法	どう違うのか？
安全性評価の対象となる代謝物のTKデータの所得	a. Validated method	a. 規制当局は安全性評価の対象となる代謝物の曝露量評価をバリデートされた測定法で行うことを要求するであろう。
安全性評価の対象となる代謝物のヒトPKデータの所得	a. Validated method	

測定目的	分析方法	どう違うのか？
ヒトと動物の曝露量比較 / 動物の曝露量はヒトを超えているか / 代謝物投与の毒性試験の実施判断	a. Validated method b. Qualified method c. Research method	a. ヒトと動物の定量値の比較を行うことで大小関係が正確に評価できる。 b. ヒトと動物の定量値の比較を行うことで大小関係が判断できるが、確度はaより劣る。 c. ヒトと動物のPeak responseの比較を行うことで大小関係が判断できる。確度はa, bより劣る。

測定目的	分析方法	どう違うのか？
どの代謝物が 安全性評価の 対象となるか？ ／ヒト血漿中の 総AUCの10%以 上を示す代謝物 の決定	a. Radioactive tracer study  b. Validated method  c. Qualified method  d. Research method	a. 適切な放射標識体を用いることで確度の 高い判断ができる。  b. 複数の代謝物の定量値を得ることで10% 以下である代謝物を確定できる。10%以 上の代謝物の確度(網羅性)はaより劣る。  c. bと同様の手法であるが確度はa,bより劣 る。  d. 複数の代謝物のPeak responseを踏まえて 評価するが、確度はa,b,cよりも劣る。

## 代謝物定量方法の比較

## -いつ、どの方法を使いますか？なぜ？-

測定目的	分析方法	どう違うのか？
どの代謝物をDDIのために評価すべきか？ ／ヒト血漿中で未変化体AUCの25%以上かつ総AUCの10%以上を占める代謝物	a. Mass balance study b. Validated method c. Qualified method d. Research method	a. 適切な放射標識体を用いることで確度の高い判断ができる。 b. 未変化体と代謝物濃度の比較で未変化体に対する割合は確定できる。総AUCの10%の判断はひとつ前のポスターと同様。 c. bと同様であるが、確度はbより劣る。 d. 未変化体と代謝物のPeak Responseの比較で評価するが確度はa,b,cよりも劣る。



# 代謝物標準物質に求める品質： アンケート結果

---

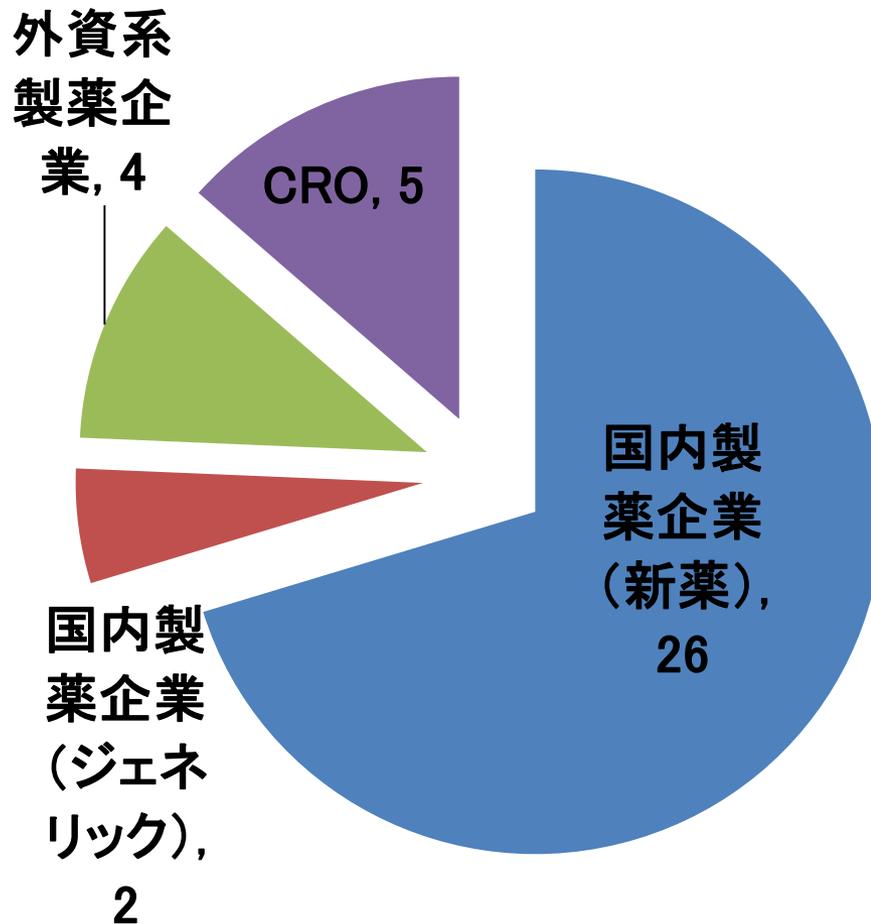
# 代謝物標準物質に求める品質： アンケート結果（第1回目）

2013年12月5日～13日

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

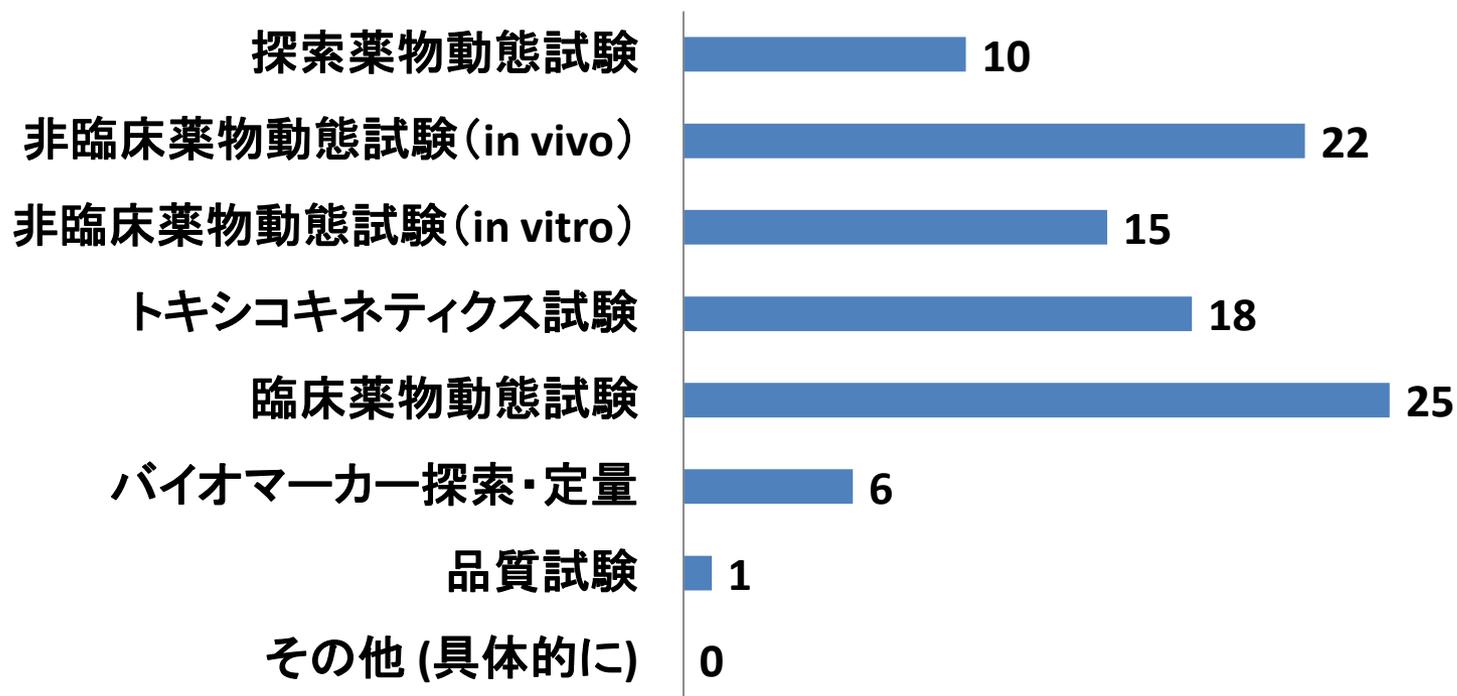
□ 現在の勤務先をお選びください。

国内製薬企業（新薬）	26
国内製薬企業 （ジェネリック）	2
外資系製薬企業	4
CRO	5
その他（具体的に）	0
<b>Total</b>	<b>37</b>



# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

□ 現在の主な業務内容をお選びください（複数選択可）。



## 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

- 本アンケートで使用する用語は、以下のように定義します（アンケート内の定義とお考えください）。
- BMVガイドライン
  - 「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」のこと。
- バリデートされた分析法
  - BMVガイドラインに従ってバリデーションを実施した分析法。
- COA (Certificate of Analysis, 分析証明書)
  - バリデートされた分析法で用意されるべき、標準物質の分析証明書（BMVガイドラインに記載）。
  - 「標準物質の品質は測定データに影響を及ぼすため、品質が保証された標準物質を使用しなければならない。使用する標準物質については、ロット番号、含量又は純度、及び保存条件を明らかにした分析証明書又はそれに代わる文書が必要である。入手先、化学構造及び有効期限等を明らかにしておくことが望ましい。」

## 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

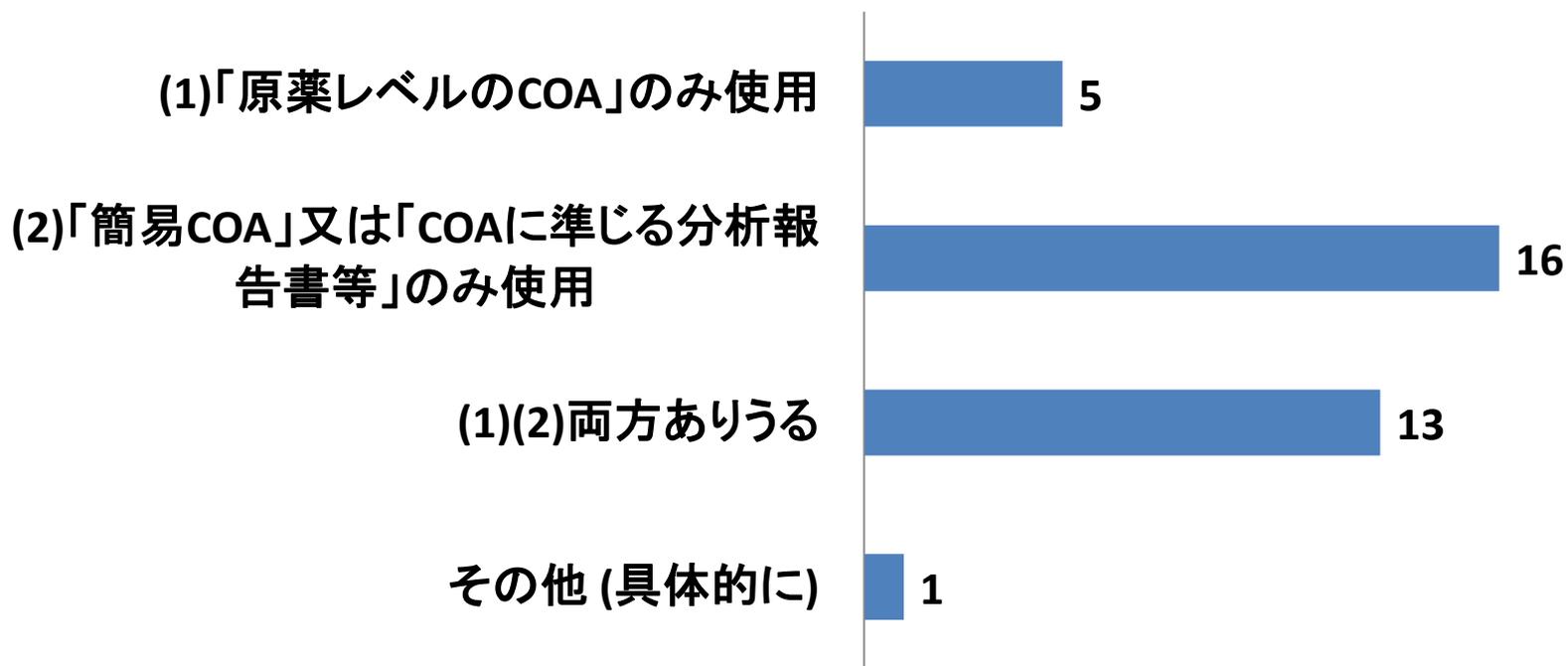
- 原薬レベルのCOA
  - 原薬の分析証明書を標準物質のCOAとする場合（未変化体では多くの場合あてはまる）、あるいは原薬の分析証明書からGLP試験用に被験物質の分析証明書を作成する場合のCOA.
- 簡易COA
  - （日本の）BMVガイドラインにいうCOAの要件を満たすものの、記載項目は最小限（ロット番号、含量又は純度、及び保存条件）に近いものにされるもの.
  - Specificationについて原薬と同様の設定手順（3ロットの実測値による合理化）を経ない場合もありうる（会社の品質管理体制によっては、業務上COAと定義しない場合もありうる）.
- COAに準じる分析報告書等
  - 「COA」という名称ではないとしても、内容的にCOAと同様の内容（少なくともロット番号、含量又は純度並びに保存条件）を含む分析報告書等（BMVガイドラインの「分析証明書又は『それに代わる文書』」でいうところの『それに代わる文書』に相当すると考えられるもの）.

## 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

- 「簡易COA」と「分析報告書」はCertificateのポリシーに基づく呼称の違いとも考えられ、実質的には本アンケート中では同等に扱うが、定義を明確にするため分けて記述した。
- (参考)COA又はそれに代わる文書とはみなされない物性情報
  - COAの要求される情報を持たない分析結果. 例えば, 合成部門における出検時の分析結果などで①ロット番号, ②含量又は純度, ③保存条件のうち, どれか一つでも確認できないもの.

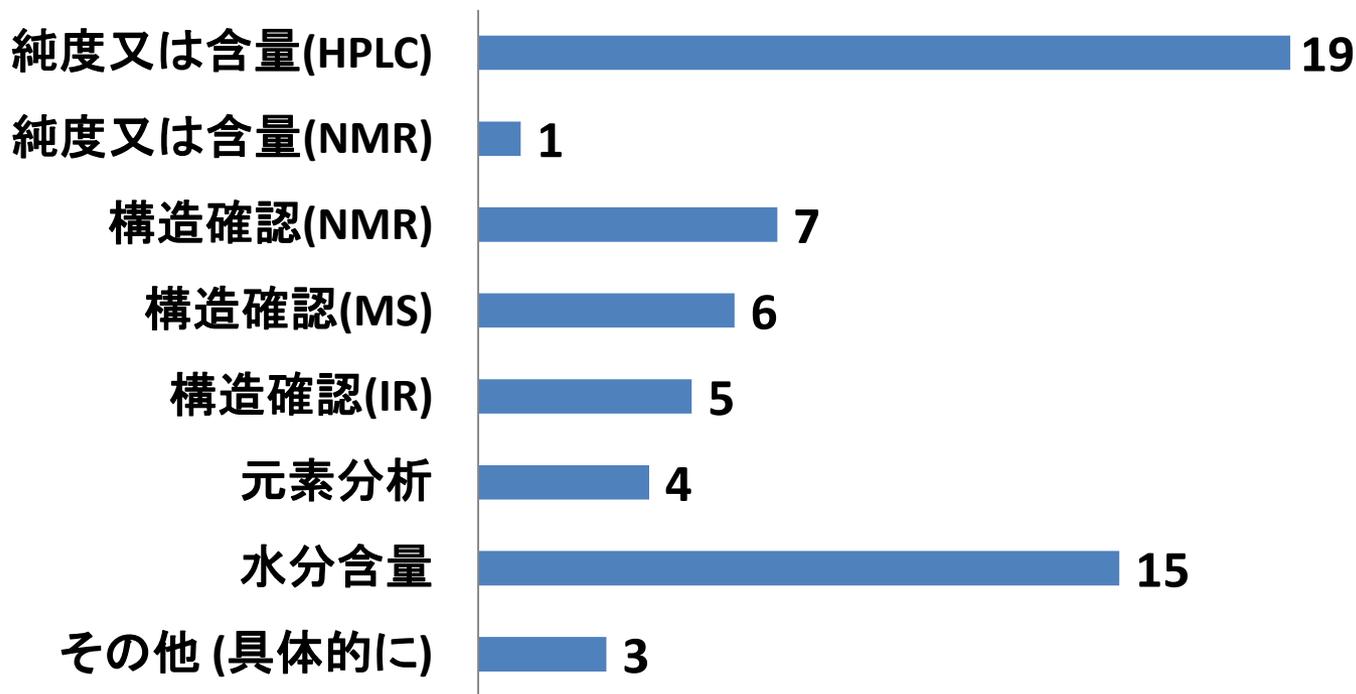
# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

- 現在又は今までの業務(実際)を想定したとき、バリデートされた代謝物分析法に用いる「代謝物のCOA」について、記載内容のレベルはどのようにしているでしょうか。



# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

- 現在又は今までの業務(実際)を想定したとき、原薬レベルのCOAにおいては、代謝物標準品で「通常」記載する項目は何でしょうか(複数選択可)。選択肢に無い項目を実施する場合は、その他をチェックし、コメント欄に入力してください。



# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

## <その他(具体的に)>

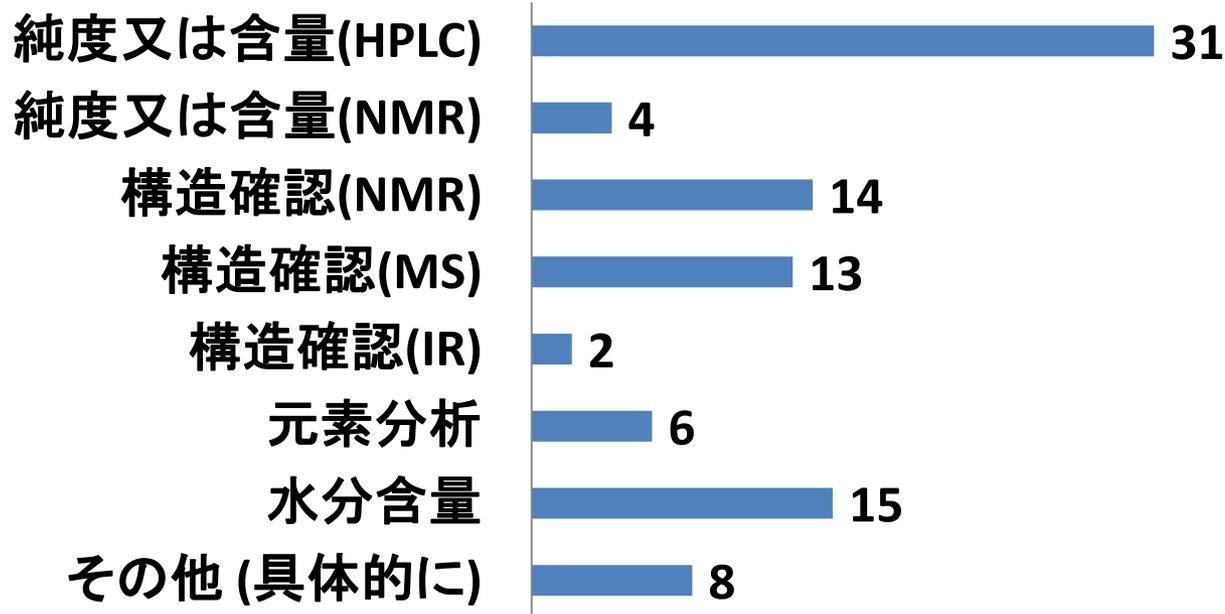
- ✓ GLP規格に設定された項目(原薬レベルのCOAが発行されるときはGLP試験の被験物質であるため).
- ✓ ロット番号、保存条件、使用期限.
- ✓ 構造確認(NMR)は合成時のCOAの時のみ取得しています.

## <コメント>

- ✓ 水分含量は依頼に応じて.
- ✓ 補正に必要な項目のみ. 高分子などの配列違いや精製時に含まれる酢酸濃度を除いては, 純度, 水分含量, フリー体比率のみ.
- ✓ CROであるため、ポリシーは委託者にしたがっており, 細かい内容については分かりません.
- ✓ COAとは別に, 塩換算係数を示す文書を作成している. 代謝物について原薬レベルのCOAを作成するのは, 毒性試験で代謝物を投与することになった場合なので, かなり限られる.

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

- 現在又は今までの業務(実際)を想定したとき、「簡易COA」又は「COAに準じる分析報告書等」において、代謝物標準品で「通常」記載する項目は何でしょうか(複数選択可)。選択肢に無い項目を実施する場合は、その他をチェックし、コメント欄に入力してください。



# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

簡易COAの記載項目：

＜その他（具体的に）＞

- ✓ 不純物，含量を補正するファクター
- ✓ 元素分析で理論値と一致しない場合は，水分含量など測定するよう  
しております。
- ✓ 光学異性体比
- ✓ Potency, Formula weight, Storage condition
- ✓ 性状（外観）
- ✓ 現状，臨床定量には簡易COAは使用しません。
- ✓ ロット番号，保存条件，使用期限

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

簡易COAの記載項目：

## <コメント>

- ✓ 元素分析の結果から水分含量を算出する時もある。
- ✓ 代謝物の合成量により、試験項目は変更になることがありますが、原則上記の通りです。
- ✓ 簡易的なCOAの場合、HPLC Area純度などはその化合物のために開発された測定系を用いるのか、合成部門などが確認のために使用しているジェネラルメソッドの測定系を用いているのか、各社がどのように対応しているのかを知りたいです。
- ✓ 高分子などの特別な化合物以外は、測定に関しては、必要十分であるから。
- ✓ 構造確認(IR)等を実施する場合もあるが、規定はされていない。
- ✓ 別の文書で、塩換算係数に関する文書を作成している。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

- 現在又は今までの業務(実際)を想定したとき、代謝物標準品COAの記載項目には、その代謝物の開発上の重要度が反映されますか。

そもそも分析法をバリデートする時点で重要と判断しているため、COAも充実した内容とする。 12

MISTガイダンスで言及される「ヒトで重要な代謝物」であることが「予想」される段階で分析バリデーションを実施するが、その時点ではCOAは最低限の内容とし、「ヒトで重要な代謝物」であることが「確定」した段階で、COAの内容を充実させる。 7

重要度にかかわらず最低限の情報で良い。 11

その他(具体的に) 2

## <その他(具体的に)>

- ✓ バリデートする代謝物の標準品の試験項目は社内の取り決めに従い実施していますので、バリデートするときまったものは一律の試験項目となります。
- ✓ CROであるので、依頼者の重要性に応じて対応。測定施設としては、ポリシーとしてきっちりと確認できるCOAを求める。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

- 現在又は今までの業務(実際)を想定したとき、合成量に余裕ができた場合、記載項目を追加しますか。

最低限の性能が確認出来ればよいので追加しない(重要な代謝物と判断され、その代謝物を被験物質として毒性試験が計画されても積極的に反映しない). 15

重要な代謝物と判断され、代謝物を被験物質とした毒性試験が計画され、被験物質になれば自動的に追加される。 13

より確実な保証を意図し、量的に可能であれば積極的に追加する。 1

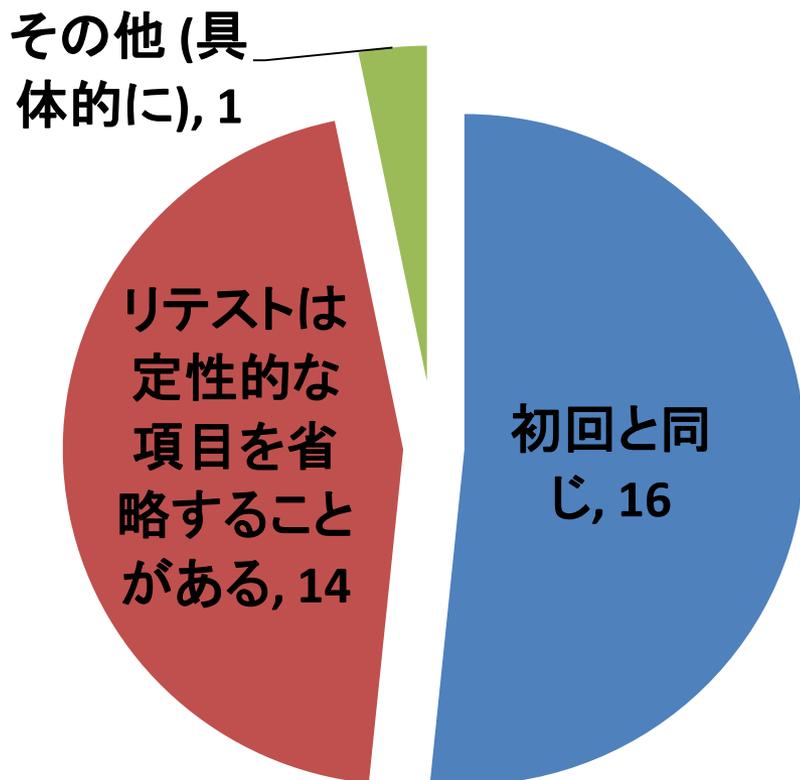
その他(具体的に) 3

## <その他(具体的に)>

- ✓ CROの立場上、依頼者の重要性に応じて対応。  
可能であるならばCOAを求めるが、測定施設としては最低限で確認は可能。
- ✓ 既に必要情報量は記載しているため。
- ✓ 委託者ポリシーによるため不明。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

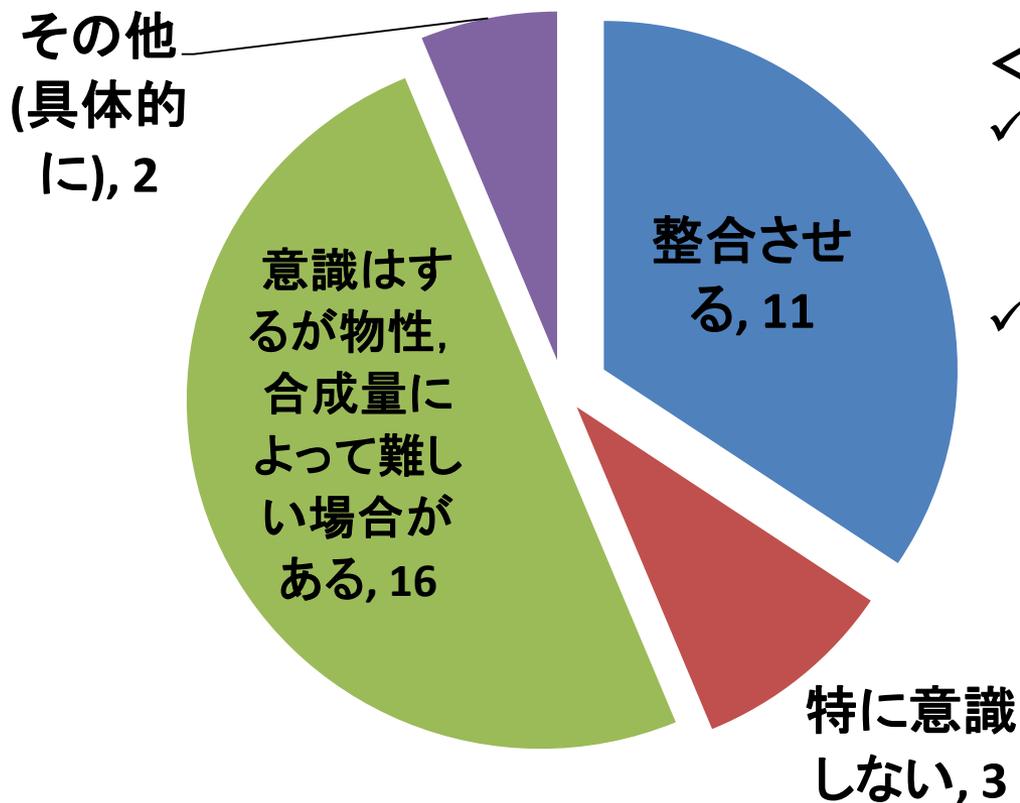
- 現在又は今までの業務(実際)を想定したとき、リテストを行い更新するCOAの記載項目は初回と同じですか。定性的な項目についてはリテストを省略することがありますか。



<その他(具体的に)>  
✓ 委託者によって異なる。  
初回と同じ場合が多いが、  
少なくなっている場合もある。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

□ 1つのプロジェクト内で代謝物標準品を複数使用する場合、COA又はこれに代わる文書の記載レベルの整合をとりますか。



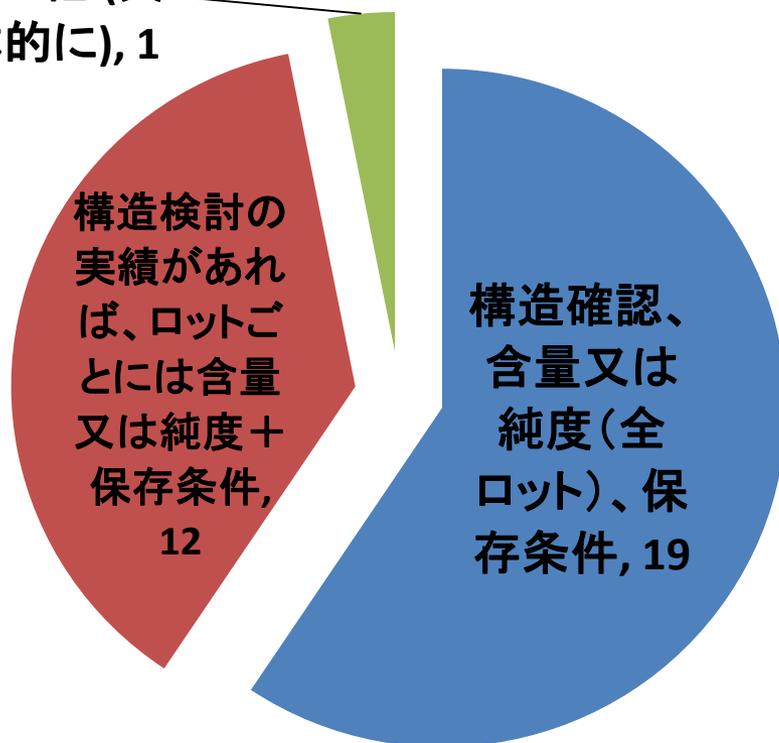
＜その他(具体的に)＞

- ✓ バリデートする代謝物の標準品とそれ以外の2種類の文書レベルが存在します。
- ✓ かなり整合がとれているケースが多いように思いますが、まれに整合なく変わっている場合があります。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第1回目）

- この質問では経験ではなく、お考えを伺いますが、代謝物標準物質の品質検討（COA又はCOAに準じる文書に反映）に、「最低限」必要な項目は何でしょうか。

その他（具体的に），1



<その他（具体的に）>

- ✓ 含量又は純度，保存条件，構造については，信頼性基準レベルの検討は不要で，合成時のものでよい。



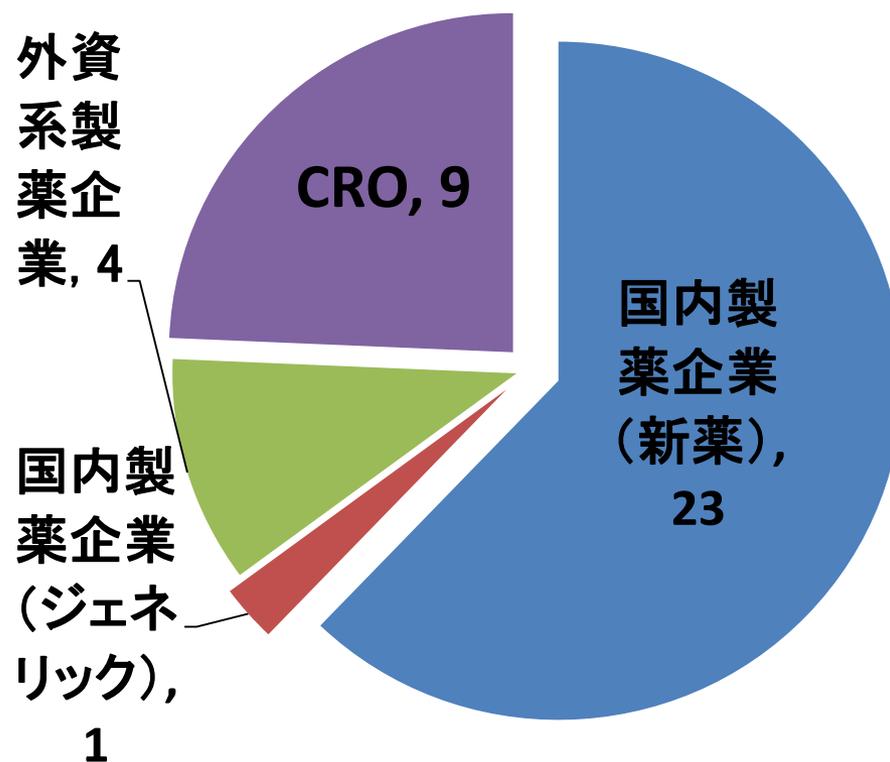
# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

2013年12月5日～13日

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

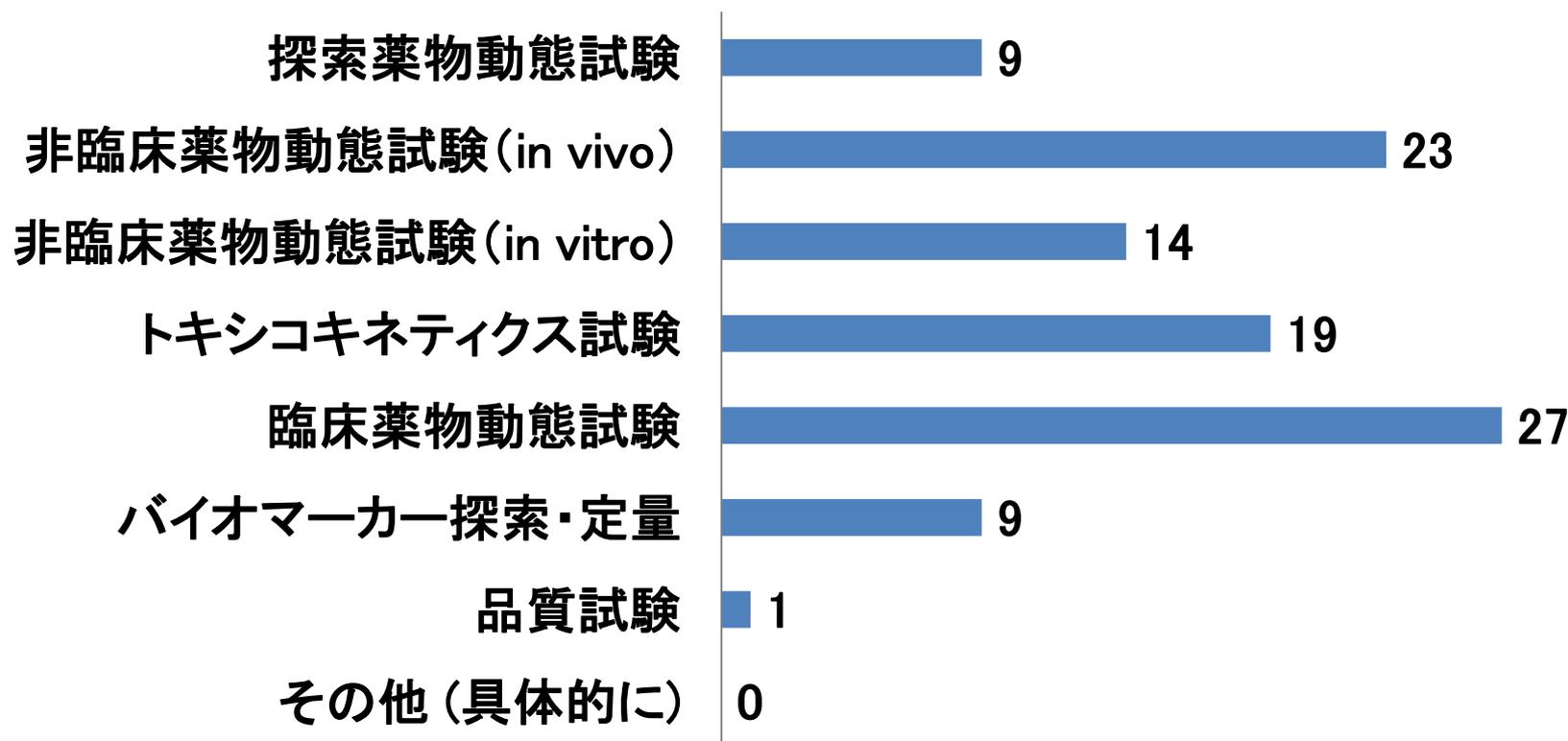
□ 現在の勤務先をお選びください。

国内製薬企業(新薬)	23
国内製薬企業 (ジェネリック)	1
外資系製薬企業	4
CRO	9
その他(具体的に)	0
<b>Total</b>	<b>37</b>



# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

□ 現在の主な業務内容をお選びください（複数選択可）。



# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

- 代謝物標準物質を想定したとき，社内的な純度又は含量の基準を設けていますか（「基準」とは，業務手順や社内コンセンサスとお考えください。次問の「規格」を常に設定する業務手順の場合は，そのまま規格とお考えいただいても結構です）。設けている場合は，コメント欄に基準（「〇%以上」など）を記載ください。

設けている	4
設けていない	30

<コメント詳細は次頁>

- ✓ 98%以上 (1)
- ✓ 95%以上 (2)
- ✓ 90%以上 (1)

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

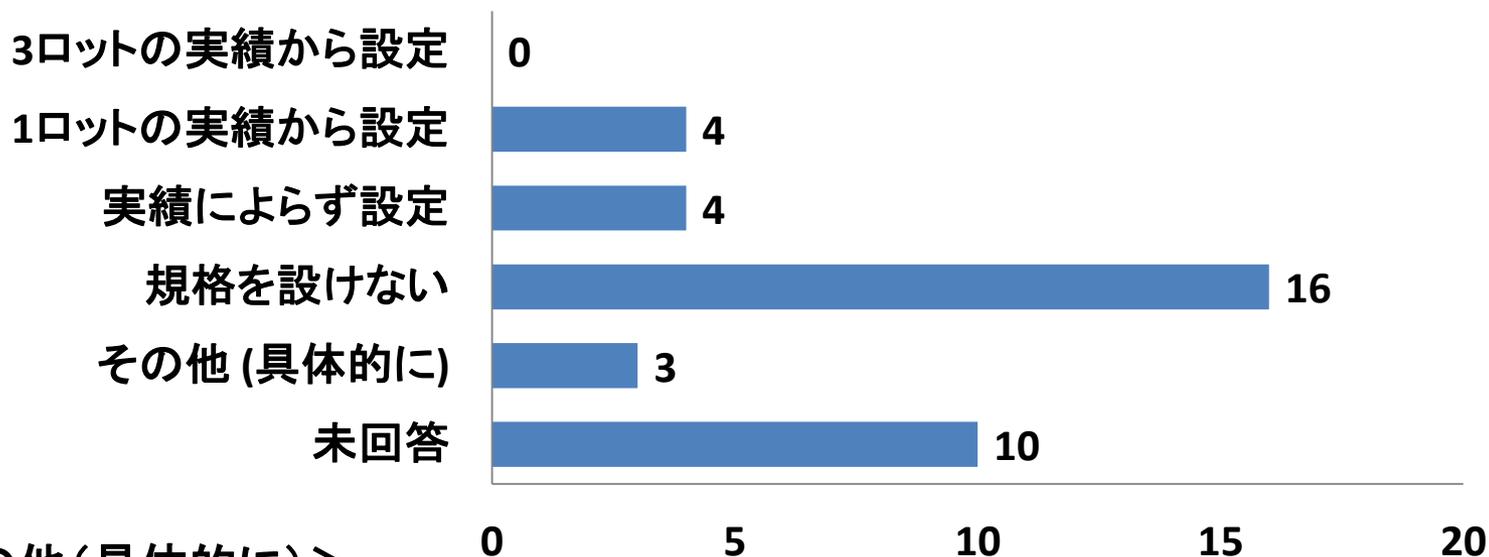
- 代謝物標準物質を想定したとき、社内的な純度又は含量の基準を設けていますか（「基準」とは、業務手順や社内コンセンサスとお考えください。次問の「規格」を常に 設定する業務手順の場合は、そのまま規格とお考えいただいても結構です）。設けている場合は、コメント欄に基準（「〇%以上」など）を記載ください。

## <コメント>

- ✓ 98%以上
- ✓ ただし、常識的な純度以上は必要と考える。
- ✓ 可能な範囲で高い純度で合成を依頼する。少なくとも90%以上であることが望ましい。
- ✓ 測定する必要がある代謝物の標準品はいつも、高純度のものが得られるわけではないので、基準は設けていません。
- ✓ 元素分析結果から95%以上となることがおおよその基準です。
- ✓ 95%以上。ただ、98%以上が望ましい。
- ✓ どうしても純度が上げられない、安定性が悪い化合物もある。
- ✓ 試験によりケースバイケースで対応しています。
- ✓ 委託者ポリシーに従う(CRO)。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

- 代謝物標準品の純度又は含量に「規格」を設けて管理する場合についてお伺いします。「規格」をどのように設定しますか。規格を設けない場合は、その旨ご回答ください。

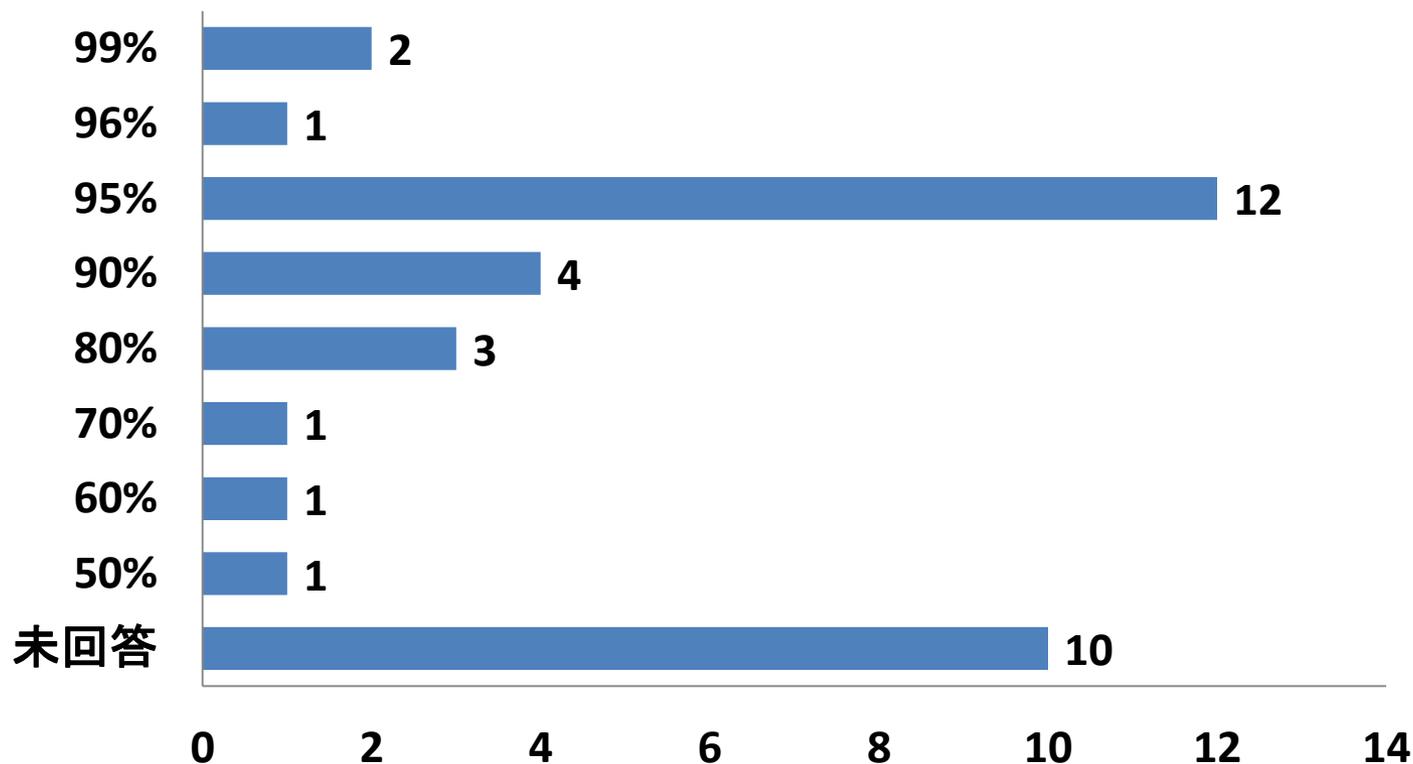


## <その他(具体的に)>

- ✓ 合成担当の部署が設定するため、具体的手順を存じ上げません。
- ✓ CMC関連部署のルールで規格を設けているが、具体的な内容を自部署では把握していない。
- ✓ 委託者ポリシーに従うので、どのように規定されているかについては不明(CRO)。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

- 仮に精製が難しい標準物質に遭遇した場合に、（秤量値の純度補正は行うとして）測定が信頼できるために最低限必要な純度はどのくらいと考えますか。（ ）%以上でお答えください。



# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

- 仮に精製が難しい標準物質に遭遇した場合に、（秤量値の純度補正は行うとして）測定が信頼できるために最低限必要な純度はどのくらいと考えますか。（ ）%以上でお答えください。

## <コメント>

- ✓ ただし、そのプロジェクトの開発段階による（95%以上と回答）。
- ✓ 不純物が測定対象に影響しないこと、安定であることが前提です（50%以上と回答）。
- ✓ 根拠はありません（90%以上と回答）。
- ✓ ケースバイケース
- ✓ 低純度の標準物質に遭遇したことがない（95%と回答）。
- ✓ 不純物が目的代謝物と区別でき、共存する物質が目的代謝物の含量に影響しない（目的代謝物が不安定だったり、不純物が目的代謝物に変換しない等）のであれば、実際には純度の下限は設定しなくてよいと考えます。感覚的に70%以上のものが合成できない物質は安定性にも問題があるように思われるため、前問では70%と回答しました。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

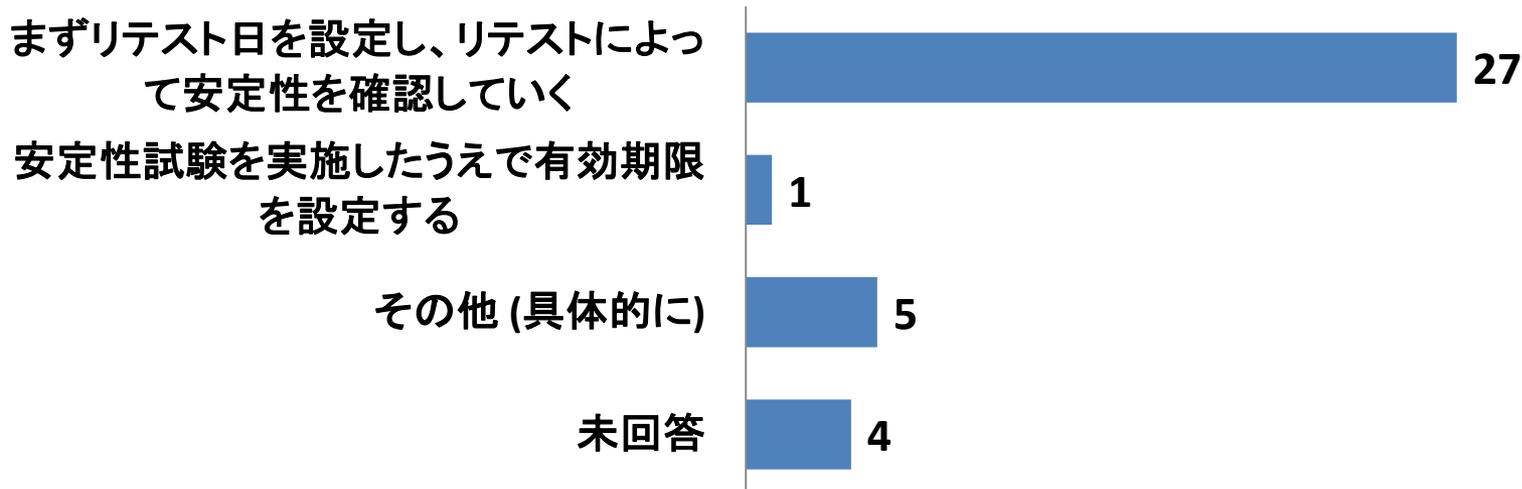
- 仮に精製が難しい標準物質に遭遇した場合に、（秤量値の純度補正は行うとして）測定が信頼できるために最低限必要な純度はどのくらいと考えますか。（ ）%以上でお答えください。

## <コメント(続き)>

- ✓ 代謝物標準物質を使用する測定法の精度，使用目的により，必要な純度は異なる(95%以上と回答)。
- ✓ 委託者ポリシーに従うのが原則ですが，もし仮に当社で規定するのであれば99%以上を目安にすると考えての回答。
- ✓ 純度補正を行ったとしても，純度の元になるデータが質量と比例するメソッド取得された保証がないので，確実ではないことが前提。20%以上の不確実さはとうてい許容できないと考えるから(80%以上と回答)。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

□ 代謝物標準品で通常行う安定性の検討方法はどのようなものでしょうか。

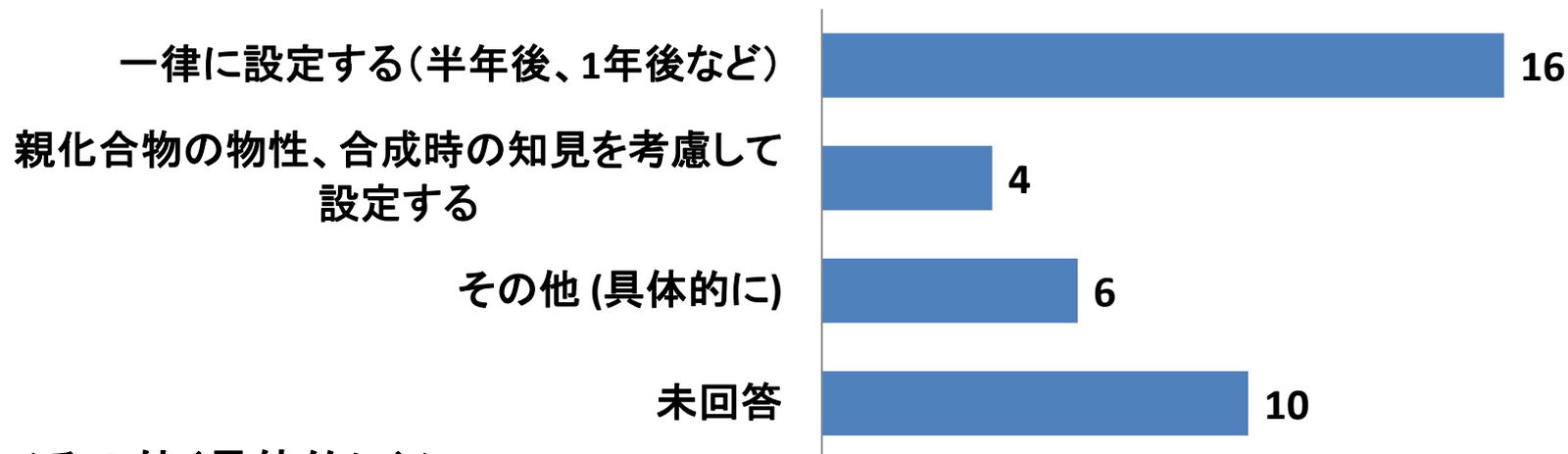


<その他(具体的に)>

- ✓ 委託先から安定性情報を提供いただく(CRO).
- ✓ 両方あるが、リテスト設定が多い(CRO).
- ✓ 定期的に分析し、試験前後での安定性を確認.
- ✓ 試験前後に品質試験を実施して担保する.
- ✓ 弊社では、安定性試験を実施したうえで有効期限を設定し、有効期限をリテスト期日としている.

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

□ リテスト日を設定する場合、どのように設定しますか。



＜その他(具体的に)＞

- ✓ おそらく1番の一律に設定ですが、未確認です。
- ✓ 最初は1年、その後、1年または2年毎。
- ✓ 特に設定はせず、代謝物標準品使用後に安定性を確認する。
- ✓ 試験開始/終了のタイミングで設定したり、親化合物の物性からリテスト日を設定することもある。
- ✓ 暫定リテスト期間として6か月。不安定であることが予想される化合物は3か月。その後安定性が確認されるごとに、Retest期間を延長する。6M→12M→24M。
- ✓ 最初は、安定性を短期間で確認し、順次リテスト日を設定し期間を延ばしていく。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

□ 代謝物標準品の保存条件はどのように決定しますか。

親化合物の物性、合成時の知見を考慮して設定する

17

常に安定性試験を実施しその結果から設定する

3

その他 (具体的に)

10

未回答

7

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

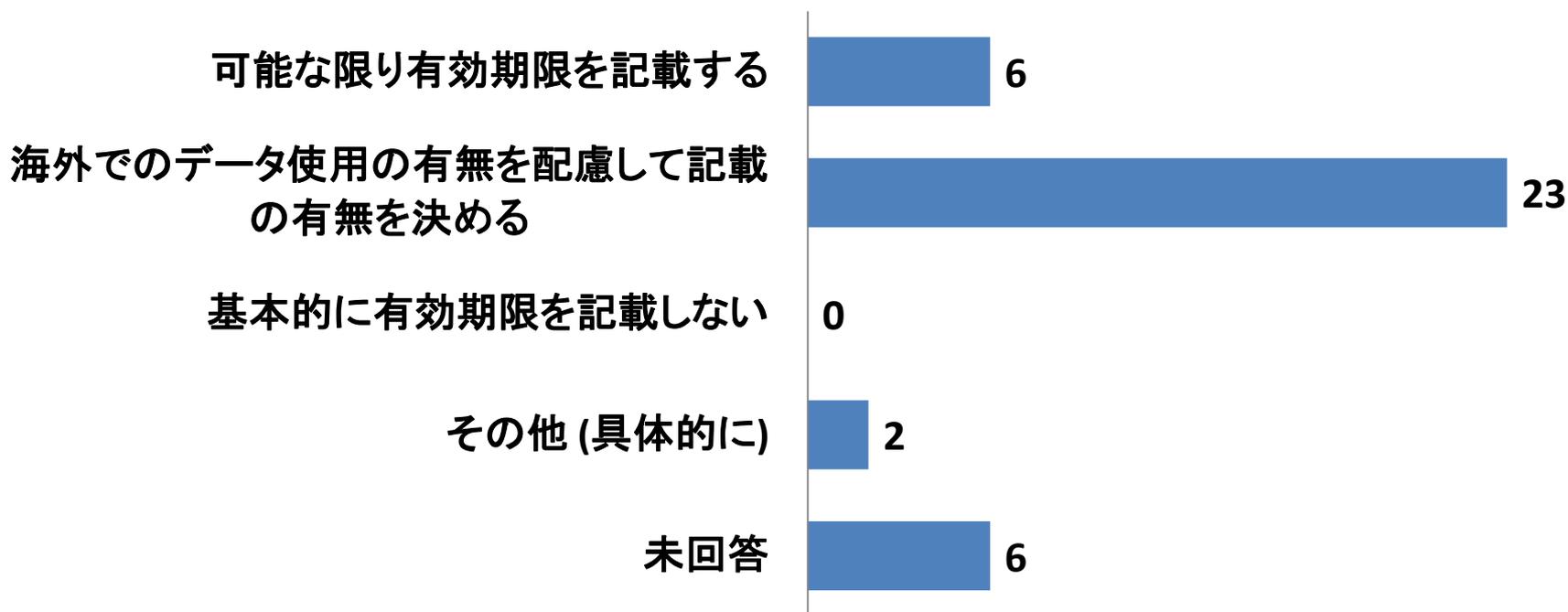
□ 代謝物標準品の保存条件はどのように決定しますか。

＜その他（具体的に）＞

- ✓ 委託先から条件を指示いただく（CRO）。
- ✓ 基本は、 $-15^{\circ}\text{C}$ 以下（親化合物の物性の知見を考慮して、 $-65^{\circ}\text{C}$ 以下の場合もあり）。
- ✓ 基本的に画一的条件で保存。
- ✓ 基本的に $-20^{\circ}\text{C}$ で保管している。
- ✓ 合成部門の指示。
- ✓ 製造部門からの情報をもとに設定している。
- ✓ 一律 $-20^{\circ}\text{C}$ で設定する。
- ✓ 代謝物の検索同定試験などで不安定であることが分かっている場合には親化合物よりも低温で保存する。
- ✓ Phase-I代謝物は「親化合物を考慮」抱合体の場合は「安定性試験を実施」。
- ✓ 原則 $2 - 8^{\circ}\text{C}$ で保存。安定性試験成績により、より保護的な温度で保管することもある。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

- 有効期限をCOA又はこれに代わる文書に記載することは、日本版BMVGLでは推奨にとどめられ、必須事項ではありません。一方、FDAのBMVガイダンス及びEMAのBMV-GLでは有効期限の記載を要求していると思われます。有効期限記載についてのスタンスはどのようにしていますか。



# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（第2回目）

- 有効期限をCOA又はこれに代わる文書に記載することは、日本版BMVGLでは推奨にとどめられ、必須事項ではありません。一方、FDAのBMVガイダンス及びEMAのBMV-GLでは有効期限の記載を要求していると思われます。有効期限記載についてのスタンスはどのようにしていますか。

## <自由記述>

- ✓ 何らかの形で、期限は設定すべきであるが、設定していない例が多い。
- ✓ 海外のガイドラインの解釈として、有効期限に代えてリテスト日が記載されていれば、問題ないと考えます。
- ✓ 再テストの実施予定日のみを記載。
- ✓ 代謝物についてはリテスト日で管理。
- ✓ 今後は有効期限を記載したCoAを作成していく。
- ✓ 試験成績書には、可能な限り、有効期限ではなくリテスト期日を記載するようにしている。



# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（まとめ）

---

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（品質の規格）

## <規格について>

- ✓ 代謝物標準物質の品質の規格については設けないとした回答が多い。  
⇒ 予備討議時の予想と異なり、規格設定には消極的な傾向。
- ✓ 規格を設定する動きは消極的であり、また、未回答が多い。  
⇒ 規格に対する考え方が纏まっていない？
- ✓ 規格を設定する場合、1ロットの実績から設定するとした回答と、実績によらず設定するとした回答は同数であり、3ロットの実績からの設定を想定する回答は無かった。
- ✓ 合成の難易度にもよるが、純度が高い(90%以上)代謝物標準物質を求める傾向が認められる。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（品質の保証方法）

## <保証方法について>

- ✓ 代謝物標準物質の品質については、どの回答でも何らかの保証・確認が必要としているが、保証するレベル(試験項目)は、異なっている。
- ✓ 保証するレベルは、開発段階に合わせて変更するポリシーの場合と、変更しない場合があるが、標準物質の合成量も保証するレベルに大きな影響を与えている。  
⇒量が多ければ、試験項目を増やせる？
- ✓ 代謝物標準物質の品質を保証するための試験項目としては、純度(含量)、水分、構造確認等、定量値に直接影響する情報が重要視されている。但し、構造確認は、イニシャル時のみ、行うケースが多い。

# 代謝物標準物質に求める品質： JBFアンケート結果（安定性に関する考え方）

## ＜安定性について＞

- ✓ 代謝物標準物質の品質を保証できる期間（有効期限・リテスト日）を設定するとした回答は非常に多く認められる。
- ✓ COAに有効期限を記載するかどうかは、海外の状況を参考にする傾向が強く認められる。
- ✓ リテスト日（≠有効期限）を設定し、標準品の品質を保証する考え方が多く認められる。
- ✓ 保存条件は、合成部門からの情報を基にするケースや、一律低温で保管するケースが多く認められる。