TABLE OF CONTENTS

1 背景及び概観 6
1.1 物理化学的特性の概要 6
1.2 製剤の概要 6
1.3 生物薬剤学試験の概要 9
1.3.1 溶出試験 9
1.3.2 食事の影響 10
1.4 生体試料分析法 10
1.4.1 ヒト血漿中におけるオザニモドの分析法のバリデーション（025998 試験、モジュール 5.3.1.4-1） 19
1.4.2 ヒト尿中におけるオザニモド、RP101075 及び RP101442 の分析法のバリデーション（026847 試験、モジュール 5.3.1.4-2） 20
1.4.3 ヒト血漿中におけるオザニモド、RP101075、RP101442 及び RP101988 の分析法バリデーション（178930 試験、モジュール 5.3.1.4-3） 21
1.4.4 ヒト血漿中におけるオザニモド、RP101075、RP101442、RP101988 及び RP101124 の分析法のバリデーション（182665 試験、モジュール 5.3.1.4-4） 22
1.4.5 ヒト血漿中における RP101075 の分析法バリデーション（183775 試験、モジュール 5.3.1.4-5） 23
1.4.6 ヒト血漿中における CC112273 の分析法バリデーション（185723 試験、モジュール 5.3.1.4-6） 24
1.4.7 ヒト血漿中における CC112273、CC1084037 及び RP112289 の分析法バリデーション（187077 試験、モジュール 5.3.1.4-7） 24
1.4.8 Triton ® X-100 で処理したヒト尿中におけるオザニモド及び RP101988 の分析法バリデーション（184117 試験、モジュール 5.3.1.4-8） 25
1.4.9 Triton ® X-100 で処理したヒト尿中における RP101075 の分析法バリデーション（184120 試験、モジュール 5.3.1.4-9） 26
1.4.10 Triton ® X-100 で処理したヒト尿中における CC112273 の分析法バリデーション（185783 試験、モジュール 5.3.1.4-10） 26
1.4.11 ヒト血漿中のオザニモド及び RP101988 の蛋白結合率の分析法バリデーション（184010 試験、モジュール 5.3.1.4-11） 27
1.4.12 ヒト血漿中の RP101075 の蛋白結合率の分析法バリデーション（184011 試験、モジュール 5.3.1.4-12） 28
1.4.13 ヒト血漿中の CC112273 の蛋白結合率の分析法バリデーション（186630 試験、モジュール 5.3.1.4-13） 28
1.4.14 ヒト血漿中のオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の蛋白結合率の分析法バリデーション（189791 試験、モジュール 5.3.1.4-14） 29

Approved v2.0

1.4.15 ヒト血漿中のオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の分析法のバリデーション（187269 試験、モジュール 5.3.1.4-15） 29
1.5 ヒト血小板中における MAO-B 活性の薬力学的評価（RPC01-1914 試験、モジュール 5.3.3.4-8） 30
2 個々の試験結果の要約 31
2.1 健康成人を対象にオザニモド単回経口投与後の薬物動態に及ぼす食事の影響を評価するランダム化 3 期クロスオーバー試験（RPC01-1901 試験、モジュール 5.3.3.4-1） 31
3 全試験を通しての結果の比較と解析 34
3.1 比較溶出試験 34
3.2 食事の影響 34
4 付録 35
APPENDIX 1 025998 試験：ヒト血漿中におけるオザニモド分析法のバリデーション 35
APPENDIX 2 026847 試験：ヒト尿中におけるオザニモド、RP101075 及び RP101442 の分析法のバリデーション 36
APPENDIX 3 178930 試験：ヒト血漿中におけるオザニモド、RP101075、RP101442 及び RP101988 の分析法のバリデーション 38
APPENDIX 4 182665 試験：ヒト血漿中におけるオザニモド、RP101075、RP101442、RP101988、及び RP101124 の分析法のバリデーション 40
APPENDIX 5 183775 試験：ヒト血漿中における RP101075 の分析法のバリデーション 43
APPENDIX 6 185723 試験：ヒト血漿中における CC112273 の分析法のバリデーション 44
APPENDIX 7 187077 試験：ヒト血漿中における CC112273、CC1084037 及び RP112289 の分析法のバリデーション 46
APPENDIX 8 184117 試験：ヒト尿中におけるオザニモド及び RP101988 の分析法のバリデーション 48
APPENDIX 9 184120 試験：ヒト尿中における RP101075 の分析法のバリデーション 51
APPENDIX 10 185783 試験：ヒト尿中における CC112273 の分析法のバリデーション 53
APPENDIX 11 184010 試験：ヒト血漿/PBS（1:1）中におけるオザニモド及び RP101988 の分析法のバリデーション 55
APPENDIX 12 184011 試験：ヒト血漿/PBS（1:1）中における RP101075 の分析法のバリデーション 57
APPENDIX 13 186630 試験：ヒト血漿/PBS（1:1）中における CC112273 の分析法のバリデーション 58

Approved v2.0

APPENDIX 14 189791 試験：ヒト血漿/PBS（1:1）中におけるオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の分析法のバリデーション 59
APPENDIX 15 187269 試験：ヒト血漿中におけるオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の分析法のバリデーション 61
APPENDIX 16 分析法の干渉評価の要約 63
APPENDIX 17 INCURRED SAMPLE REANALYSIS（ISR）の概要（オザニモド、CC112273 及び CC1084037） 64

Approved v2.0

LIST OF TABLES

Table 1.2-1: 本申請の臨床データパッケージに含まれる臨床試験で使用したオザニモド製剤 7

Table 1.4-1: 臨床試験に用いた生物学的分析法及び分析法性能の概要 11

Table 1.4-2: オザニモド、CC112273 及び CC1084037 の長期保存試験の概要 18

Table 2.1-1: オザニモド及び RP101988 の PK パラメータに対する食事の影響の統計学的評価 33

Approved v2.0

用語及び略号一覧

略号	英語	日本語
AUC	area under the plasma concentration-versus-time curve	血漿中濃度時間曲線下面積
AUC0-inf	area under the concentration-versus-time curve from time of dosing and extrapolated to infinity	時間 0 から無限時間後まで外挿した濃度時間曲線下面積
CI	confidence interval	信頼区間
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CV	coefficient of variation	変動係数
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPLC/MS/MS	high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry	高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
LC/MS/MS	liquid chromatography/tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限値
LS	least squares	最小二乗
NSB	nonspecific binding	非特異的結合
PBS	phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
PD	pharmacodynamic	薬力学
PK	pharmacokinetic	薬物動態
RE	relative error	相対誤差
RMS	relapsing forms of multiple sclerosis or relapsing multiple sclerosis	再発型の多発性硬化症又は再発性多発性硬化症
UC	ulcerative colitis	潰瘍性大腸炎
UPLC/MS/MS	ultra performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry	超高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法

1 背景及び概観

オザニモド（ozanimod、開発コード：RPC1063、BMS-986374）は、ビアリール骨格を有するオキサジアゾール系低分子化合物であり、スフィンゴシン 1-リン酸受容体のサブタイプ 1（$S1P_1$）と 5（$S1P_5$）に対する経口調節薬である。

本概要は、中等症～重症の UC の治療薬としての承認申請に関連するオザニモドの物理化学的及び生物薬剤学的特性、生物薬剤学に関する情報として in vitro 溶出試験及び食事の影響を評価した第 1 相試験（RPC01-1901 試験）の結果について記載する。製剤は経口投与用の硬ゼラチンカプセル剤であり、含量はオザニモドとしてそれぞれ 0.23 mg、0.46 mg 及び 0.92 mg（オザニモド塩酸塩として 0.25 mg、0.5 mg 及び 1.0 mg）である。各用量の製剤における製剤量及び成分量の詳細は【モジュール 2.3.P.1、Table P.1-1】を参照のこと。また本概要では、血漿及び尿などの生体試料中のオザニモド及びその代謝物の定量に用いた分析法の概要を示す。

1.1 物理化学的特性の概要

オザニモドの物理化学的特性の詳細に関しては、【モジュール 2.3.S.1】を参照のこと。

1.2 製剤の概要

オザニモド塩酸塩製剤は即放性カプセルとして設計された。臨床開発の過程で 3 種類の製剤（製剤 1、製剤 2 及び製剤 3）が開発され、製剤 3 が承認申請用/市販用製剤である。

オザニモドの市販用カプセル剤の成分及び分量は【モジュール 2.3.P.1】、また製剤開発の詳細は、【モジュール 2.3.P.2.2】を参照のこと。

本申請に際して提出された臨床試験で使用された製剤の一覧を Table 1.2-1 に示す。

Approved v2.0

Table 1.2-1: **本申請の臨床データパッケージに含まれる臨床試験で使用したオザニモド製剤**

Protocol Number	Study Title	Strength (mg)	Formulation
RPCS 001（SAD/MAD）	A Phase 1, single center, randomized, double-blind, placebo-controlled, ascending, single and multiple dose, safety, tolerability, pharmacokinetic, and pharmacodynamic study of orally administered RPC1063 in healthy adult volunteers	0.092, 0.92	1, 2
RPC01-102（TQT）	A Phase 1, double-blind, randomized, placebo- and positive-controlled, parallel-group, nested crossover, thorough QT/QTc study to evaluate the effect of therapeutic and supratherapeutic multiple doses of RPC1063 on cardiac repolarization in healthy male and female subjects	0.23、0.92	1
RPC01-1001（RMS P1 Intensive PK/PD）	A Phase 1, multicenter, randomized, 12-week, open-label study to evaluate the multiple-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of RPC1063 in patients with relapsing multiple sclerosis	0.23、0.46、0.92	2
RPC01-1901 (Food Effect)	A randomized, three-period, crossover study of the effect of food on the pharmacokinetics of a single oral dose of RPC1063 in healthy adult subjects	0.92	2
RPC01-1902 (DDI with CYP3A/P-gp Modulators)	A Phase 1, open-label study to evaluate the effects of a strong cytochrome P450 3A and P-glycoprotein inhibitor (itraconazole) and inducer (rifampin) on the single-dose pharmacokinetics of RPC1063 in healthy adult subjects	0.23、0.92	2
RPC01-1903 (DDI with P-gp/BCRP Inhibitor)	A Phase 1, open-label study to evaluate the effect of cyclosporine, a strong inhibitor of both P-glycoprotein and breast cancer resistance protein, on the single-dose pharmacokinetics of RPC1063 in healthy adult subjects	0.23	2
RPC01-1904 (Hepatic Impairment)	A Phase 1, open-label study to characterize the pharmacokinetics and safety of a single oral dose of RPC1063 in subjects with hepatic impairment	0.23	2
RPC01-1905 (Japanese PK Bridging)	A Phase 1 study to evaluate the pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and tolerability of RPC1063 in healthy adult Japanese and Caucasian subjects	0.23、0.46、0.92	2
RPC01-1906 (Renal Impairment)	A Phase 1, open-label study to characterize the pharmacokinetics and safety of a single oral dose of ozanimod in subjects with end stage renal disease	0.23	2

Approved v2.0

Table 1.2-1: 本申請の臨床データパッケージに含まれる臨床試験で使用したオザニモド製剤

Protocol Number	Study Title	Strength (mg)	Formulation
RPC01-1907 (DDI with Oral Contraceptive)	A Phase 1 study to characterize the effects of ozanimod on the pharmacokinetics of an oral contraceptive containing ethinyl estradiol and norethindrone in healthy adult females	0.23、0.92	2
RPC01-1908 (DDI with BB/CCB)	A Phase 1 study to characterize the pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction between ozanimod and propranolol or diltiazem in healthy adults	0.23	2
RPC01-1909 (Mass Balance)	A Phase 1, single-center, single-dose oral excretion balance study of [14C]-RPC1063 in healthy male adults	0.92 (10 mL of 0.092 mg/mL)	oral solution
RPC01-1910 (Cardiac Effects After Missed Doses)	A randomized, double-blind, placebo-controlled, adaptive, Phase 1 study to characterize the cardiac effects of ozanimod re-initiation after different drug washout intervals	0.23、0.46、0.92	2
RPC01-1911 (Multiple-dose PK in Japanese and Caucasians)	A Phase 1 study to characterize the pharmacokinetics and pharmacodynamics of ozanimod following administration of different multiple-dose regimens in healthy adult Caucasian and Japanese subjects	0.23、0.46、0.92	2
RPC01-1912 (DDI with CYP2C8/3A Modulators)	A Phase 1, randomized, parallel-group, open-label study to evaluate the effect of the modulators of the cytochrome P450 (CYP) 2C8 and/or 3A on the single-dose pharmacokinetics of ozanimod and CC112273 in healthy adult subjects	0.23、0.92	2
RPC01-1913 (DDI with Tyramine)	A Phase 1, randomized, double-blind, placebo- and positive-controlled study to evaluate the effect of ozanimod on pressor response to oral tyramine in healthy adult subjects	0.23、0.92	2
RPC01-1914 (DDI with Pseudoephedrine)	A Phase 1, randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the effect of ozanimod on blood pressure and heart rate response to pseudoephedrine in healthy adult subjects	0.23、0.92	2
RPC01-1915 (PK/PD)	A Phase 1, Multi-center, Extension Study to Further Evaluate the Safety, Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Ozanimod and Active Metabolites in Healthy Adult Subjects	NA[a]	NA[a]
RPC-1063-CP-001 (DDI with Cyclosporine)	A Phase 1, Randomized, Parallel-group, Open-label Study to Evaluate the Effect of Cyclosporine on the Single-dose Pharmacokinetics of Ozanimod and Major Active Metabolites in Healthy Adult Subjects	0.46	2

Approved v2.0

Table 1.2-1: **本申請の臨床データパッケージに含まれる臨床試験で使用したオザニモド製剤**

Protocol Number	Study Title	Strength (mg)	Formulation
RPC-1063-CP-004 (Hepatic Impairment)	A Phase 1, Multicenter, Open-Label Study to Evaluate the Effect of Mild or Moderate Hepatic Impairment on the Multiple-Dose Pharmacokinetics of Ozanimod	0.23、0.46、0.92	1
RPC-1063-CP-005 (DDI with Tyramine)	A Phase 1, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Active-Controlled (phenelzine), Comparator-Controlled (rasagiline), Multiple-Dose, Parallel-Group Study to Investigate the Pressor Effect of Oral Tyramine during Ozanimod Treatment in Healthy Adult Subjects	0.23、0.46、0.92	2
RPC01-202 (UC P2 Core/OLP Study)	A Phase 2, Multi-center, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Parallel-group Study to Evaluate the Clinical Efficacy and Safety of Induction Therapy with RPC1063 in Patients with Moderately to Severely Active Ulcerative Colitis	0.23、0.46、0.92	1, 2
RPC01-3103	A Phase 2/3, Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Oral Ozanimod to Evaluate Efficacy and Long-Term Safety in Japanese Subjects with Moderately to Severely Active Ulcerative Colitis	0.23、0.46、0.92	2
RPC01-3101	A Phase 3, Multi-center, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial of Oral RPC1063 as Induction and Maintenance Therapy for Moderate to Severe Ulcerative Colitis	0.23、0.92	2
RPC01-3102	A Phase 3, Multi-center, Open-label Extension Trial of Oral RPC1063 as Therapy for Moderate to Severe Ulcerative Colitis	0.23、0.46、0.92	2

[a] Safety data in 1912, 1913 and 1914 studies and PK/PD data in 1913 and 1914 studies were evaluated in this study, and no investigational product (IP) was administered in this study.

1.3 生物薬剤学試験の概要

オザニモドの生物薬剤学的な評価としては、主に in vitro 溶出試験及び食事の影響を評価した第 1 相試験（RPC01-1901 試験、モジュール 5.3.3.4-1）が行われた。

1.3.1 溶出試験

オザニモド塩酸塩製剤は即放性カプセルとして設計され、臨床開発の過程で 3 種類の製剤（製剤 1、製剤 2 及び製剤 3）が開発された。溶出試験において製剤 2（臨床試験用）及び製剤 3（承認申請用/

Approved v2.0

市販用製剤）の同じ含量のカプセル並びに製剤 2 の 0.23 mg カプセル及び 0.46 mg カプセルの同等性を評価した結果、製剤 2 及び製剤 3 の同じ含量のカプセル並びに製剤 2 の 0.23 mg カプセル及び 0.46 mg カプセルの溶出挙動は同等と判定された（3.1 項参照）。

1.3.2 食事の影響

食事（高脂肪食及び低脂肪食）によるオザニモドの曝露量の変化は認められなかった（RPC01-1901 試験、2.1 項参照）。ヒトにおける主要活性代謝物である CC112273 及び CC1084037 でのデータはないものの、食事は未変化体であるオザニモドの吸収にのみ影響を及ぼすことから（胃排出時間の遅延、胃腸 pH の変化、投与剤形との物理的又は化学的な相互作用等）、食事は当該代謝物の生成、分布及び消失に影響を及ぼさないと考えられた。なお、本試験で使用されたのは製剤 2（臨床試験用）であり、溶出試験にて承認申請用/市販用製剤である製剤 3 との同等性が確認されている（【モジュール 2.3.P.2】参照）。

以上より、食事の有無（空腹時又は食後）にかかわらずオザニモドを投与できることが裏付けられた（2.1 項参照）。

1.4 生体試料分析法

血漿中の測定された薬物関連化合物のうち、オザニモド、その代謝物 CC112273 及び CC1084037、及び RP101124 の循環血中の曝露量はそれぞれ総薬物関連曝露量の約 5%、66%、13%、及び 10%であり、オザニモド及びこれらの代謝物の曝露量を合わせると総薬物関連曝露量の 90%以上を占めた。代謝物 CC112273 及び CC1084037 はオザニモドと同様な薬理活性プロファイルを示し、RP101124 は薬理活性を示さなかった。本申請に含まれる臨床試験におけるオザニモドの生体試料中濃度測定に加え、一部の臨床試験では主要活性代謝物である CC112273 及び CC1084037 の生体試料中濃度を測定した。さらに RP101124 を含むその他の代謝物の生体試料中濃度も測定した。なお、血漿中のオザニモド及びその代謝物 CC112273（RP112273）、CC1084037（RP100798）、RP101988、RP112289、RP101075、RP101442 及び RP101124、また尿中のオザニモド、RP101988、RP101075、RP101442 及び CC112273 の定量は、バリデートされた LC/MS/MS を用いて行い、生体試料分析法のバリデーションは FDA ガイダンスに従い実施した。

本申請に含まれる臨床試験に用いた生物学的分析法及び分析法性能の概要を Table 1.4-1 に、各分析法の分析性能の要約を APPENDIX 1～APPENDIX 15 に示した。また、分析法の干渉評価を APPENDIX 16 に要約した。

Approved v2.0

Table 1.4-1: 臨床試験に用いた生物学的分析法及び分析法性能の概要

Clinical Study Brief Name (CTD Module Location)	Analyte	Matrix	CRO	Method Number	Assay Performance (QC Accuracy, %RE)	Assay Performance (QC Precision, %CV)
RPCS001 SAD/MAD (Module 5.3.3.1-1)	RPC1063[a]	Plasma	[redacted]	025998-1	0.1 to 1.7	≤ 11.3
	RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.1	-7.63 to -5.00 (RPC1063) -3.33 to -0.313 (RP101075) -10.0 to -8.33 (RP101442) -3.22 to -1.46 (RP101988)	≤ 5.74 (RPC1063) ≤ 5.12 (RP101075) ≤ 3.23 (RP101442) ≤ 4.86 (RP101988)
	RPC1063, RP101442, RP101075[b]	Urine	[redacted]	026847-1	3.3 to 8.2 (RPC1063) -0.8 to 4.2 (RP101442) -2.0 to 6.0 (RP101075)	≤ 10.1 (RPC1063) ≤ 7.7 (RP101442) ≤ 10.9(RP101075)
RPC01-102 TQT (Module 5.3.4.1-1)	RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.1	-4.19 to -3.30 (RPC1063) -4.17 to -0.100 (RP101075) -3.75 to -1.00 (RP101442) -2.88 to 2.08 (RP101988)	≤ 5.57 (RPC1063) ≤ 9.57 (RP101075) ≤ 4.98 (RP101442) ≤ 6.22 (RP101988)
RPC01-1901 Food Effect (Module 5.3.3.4-1)	RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988, RP101124	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	3.00 to 7.63 (RPC1063) 0.833 to 6.94 (RP101075) -2.00 to 1.67 (RP101442) -2.50 to 0.833 (RP101988) -2.08 to 2.41 (RP101124)	≤ 7.24 (RPC1063) ≤ 10.5 (RP101075) ≤ 9.30 (RP101442) ≤ 7.54 (RP101988) ≤ 4.81 (RP101124)
RPC01-1902 DDI with CYP3A/P-gp Modulators (Module 5.3.3.4-2)	RPC1063, RP101442, RP101988, RP101124	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	1.67 to 6.69 (RPC1063) 1.09 to 2.50 (RP101442) -1.56 to -1.25 (RP101988) -1.25 to 1.25 (RP101124)	≤ 9.59 (RPC1063) ≤ 9.34 (RP101442) ≤ 7.62 (RP101988) ≤ 4.47 (RP101124)
	RP101075	Plasma	[redacted]	M06.RP101075.hup.1	-9.13 to -6.67	≤ 7.68

Approved v2.0

Table 1.4-1: 臨床試験に用いた生物学的分析法及び分析法性能の概要

Clinical Study Brief Name (CTD Module Location)	Analyte	Matrix	CRO	Method Number	Assay Performance (QC Accuracy, %RE)	Assay Performance (QC Precision, %CV)
RPC01-1903 DDI with P-gp/ BCRP Inhibitor (Module 5.3.3.4-3)	RPC1063, RP101442, RP101988, RP101124	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	6.67 to 8.00 (RPC1063) -0.313 to 4.17 (RP101442) -2.38 to 0.833 (RP101988) 0.833 to 3.00 (RP101124)	≤ 7.30 (RPC1063) ≤ 6.40 (RP101442) ≤ 6.80 (RP101988) ≤ 4.17 (RP101124)
RPC01-1904 Hepatic Impairment (Module 5.3.3.3-1)	RPC1063, RP101442, RP101988, RP101124	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	2.50 to 6.94 (RPC1063) -0.125 to 1.67 (RP101442) 2.59 to 4.79 (RP101988) -1.67 to 0.688 (RP101124)	≤ 11.0 (RPC1063) ≤ 6.60 (RP101442) ≤ 8.37 (RP101988) ≤ 5.97 (RP101124)
	RP101075	Plasma	[redacted]	M06.RP101075.hup.1	0.813 to 3.33	≤ 6.82
	RPC1063, RP101988	Plasma:Buffer 1:1	[redacted]	M06.RPC1063.hup.3	-6.81 to -5.00 (RPC1063) -12.3 to -0.500 (RP101988)	≤ 3.41 (RPC1063) ≤ 5.08 (RP101988)
	RP101075	Plasma:Buffer 1:1	[redacted]	M06.RP101075.hup.2	-6.40 to -3.06	≤ 5.14
	CC112273	Plasma	[redacted]	M06.RP112273.hup.1	-2.01 to 1.47	≤ 3.07
	CC112273	Plasma:Buffer 1:1	[redacted]	M06.RP112273.hup.2	-0.213 to 1.87	≤ 2.00
RPC01-1905 Japanese PK Bridging (Module 5.3.3.3-2)	RPC1063, RP101442, RP101988, RP101124	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	-4.17 to 5.13 (RPC1063) -3.75 to 6.50 (RP101442) -0.417 to 3.00 (RP101988) -4.17 to 5.00 (RP101124)	≤ 10.7 (RPC1063) ≤ 10.5 (RP101442) ≤ 6.63 (RP101988) ≤ 6.04 (RP101124)
	RP101075	Plasma	[redacted]	M06.RP101075.hup.1	-0.250 to 7.50	≤ 7.59

Approved v2.0

Table 1.4-1: 臨床試験に用いた生物学的分析法及び分析法性能の概要

Clinical Study Brief Name (CTD Module Location)	Analyte	Matrix	CRO	Method Number	Assay Performance (QC Accuracy, %RE)	Assay Performance (QC Precision, %CV)
RPC01-1906 Renal Impairment (Module 5.3.3.3-3)	RPC1063, RP101442, RP101988, RP101124	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	3.00 to 4.17 (RPC1063) -1.94 to 5.42 (RP101442) 0.208 to 2.50 (RP101988) 0.00 to 1.00 (RP101124)	≤ 10.4 (RPC1063) ≤ 7.27 (RP101442) ≤ 10.6 (RP101988) ≤ 5.42 (RP101124)
	RP101075	Plasma	[redacted]	M06.RP101075.hup.1	-2.70 to 3.33	≤ 9.03
	RPC1063, RP101988	Plasma:Buffer 1:1	[redacted]	M06.RPC1063.hup.3	-4.00 to -2.50 (RPC1063) -9.58 to -4.50 (RP101988)	≤ 3.30 (RPC1063) ≤ 3.32 (RP101988)
	RP101075	Plasma:Buffer 1:1	[redacted]	M06.RP101075.hup.2	-3.70 to 0.833	≤ 9.75
	RPC1063, RP101988	Urine	[redacted]	M06.RPC1063.huu.1	-10.8 to -6.40 (RPC1063) -9.17 to -3.50 (RP101988)	≤ 4.28 (RPC1063) ≤ 6.84 (RP101988)
	RP101075	Urine	[redacted]	M06.RP101075.huu.1	4.00 to 6.50	≤ 5.93
	CC112273	Plasma	[redacted]	M06.RP112273.hup.1	-0.775 to 0.200	≤ 3.64
	CC112273	Plasma:Buffer 1:1	[redacted]	M06.CC112273.hup.2	-1.04 to 2.80	≤ 1.24
RPC01-1907 DDI with Oral Contraceptive (Module 5.3.3.4-4)	RPC1063, RP101988	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	-1.67 to 6.50 (RPC1063) 1.67 to 3.00 (RP101988)	≤ 10.2 (RPC1063) ≤ 9.28 (RP101988)
	RP101075	Plasma	[redacted]	M06.RP101075.hup.1	-8.80 to -5.83	≤ 8.07
RPC01-1908 DDI with BB/CCB (Module 5.3.3.4-5)	RPC1063, RP101988	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	1.67 to 7.00 (RPC1063) 3.13 to 9.00 (RP101988)	≤ 14.6 (RPC1063) ≤ 17.2 (RP101988)
	RP101075	Plasma	[redacted]	M06.RP101075.hup.1	-0.375 to 5.83	≤ 10.3

Approved v2.0

Table 1.4-1: 臨床試験に用いた生物学的分析法及び分析法性能の概要

Clinical Study Brief Name (CTD Module Location)	Analyte	Matrix	CRO	Method Number	Assay Performance (QC Accuracy, %RE)	Assay Performance (QC Precision, %CV)
RPC01-1909 Mass Balance (Module 5.3.3.1-2)	RPC1063, RP101442, RP101988, RP101124	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	1.81 to 9.00 (RPC1063) -2.50 to 2.00 (RP101442) 4.58 to 9.00 (RP101988) -1.67 to 1.00 (RP101124)	≤ 9.36 (RPC1063) ≤ 14.5 (RP101442) ≤ 4.14 (RP101988) ≤ 8.09 (RP101124)
	RP101075	Plasma	[redacted]	M06.RP101075.hup.1	-3.56 to -1.20	≤ 7.71
	RPC1063, RP101988	Urine	[redacted]	M06.RPC1063.huu.1	-3.33 to 5.00 (RPC1063) -8.13 to 8.00 (RP101988)	≤ 5.62 (RPC1063) ≤ 11.3 (RP101988)
	RP101075	Urine	[redacted]	M06.RP101075.huu.1	5.00 to 8.33	≤ 5.15
RPC01-1910 Cardiac Effect (Module 5.3.4.1-2)	RPC1063, RP101988	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	-2.31 to -0.833 (RPC1063) 0.00 to 3.00 (RP101988)	≤ 9.33 ≤ 9.27
	CC112273	Plasma	[redacted]	M06.CC112273.hup.1	0.875 to 3.40	≤ 4.88
RPC01-1911 Multiple-dose PK in Japanese and Caucasians (Module 5.3.4.1-3)	RPC1063, RP101988	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	-3.44 to -1.67 (RPC1063) -1.46 to 2.00 (RP101988)	≤ 9.15 (RPC1063) ≤ 7.97 (RP101988)
	CC112273	Plasma	[redacted]	M06.RP112273.hup.1	1.07 to 1.40 0.288 to 6.93 (outlier included)	≤ 5.41 ≤ 57.0 (outlier included)
RPC01-1912 DDI with CYP2C8/3A Modulators (Module 5.3.3.4-6)	RPC1063, RP101988, RP101075, RP101124	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	-0.833 to 1.00 (RPC1063) -1.56 to 1.00 (RP101988) -5.00 to -3.13 (RP101075) -2.50 to -1.00 (RP101124)	≤ 9.83 (RPC1063) ≤ 6.08 (RP101988) ≤ 10.3 (RP101075) ≤ 8.85 (RP101124)
	CC112273, CC1084037, RP112289	Plasma	[redacted]	M06.CC112273.hup.3	0.133 to 0.625 (CC112273) 1.67 to 2.53 (CC1084037) 1.67 to 4.17 (RP112289)	≤ 3.83 (CC112273) ≤ 5.79 (CC1084037) ≤ 4.32 (RP112289)

Approved v2.0

Table 1.4-1: 臨床試験に用いた生物学的分析法及び分析法性能の概要

Clinical Study Brief Name (CTD Module Location)	Analyte	Matrix	CRO	Method Number	Assay Performance (QC Accuracy, %RE)	Assay Performance (QC Precision, %CV)
RPC01-1913 DDI with Tyramine (Module 5.3.3.4-7)	RPC1063, RP101075	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	2.50 to 9.00 (RPC1063) -3.33 to 4.00 (RP101075)	≤ 9.76 (RPC1063) ≤ 11.1 (RP101075)
	CC112273, CC1084037	Plasma	[redacted]	M06.CC112273.hup.3	-1.40 to 8.50 (CC112273) -1.60 to 8.33 (CC1084037)	≤ 33.6 (CC112273) ≤ 33.8 (CC1084037)
RPC01-1914 DDI with Pseudoephedrine (Module 5.3.3.4-8)	RPC1063, RP101988, RP101075, RP101124, RP101442	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	-1.67 to 1.00 (RPC1063) -2.08 to 0.00 (RP101988) -6.67 to -4.38 (RP101075) -2.50 to -1.25 (RP101124) -5.94 to -3.00 (RP101442)	≤ 7.65 (RPC1063) ≤ 5.45 (RP101988) ≤ 8.04 (RP101075) ≤ 6.79 (RP101124) ≤ 6.27 (RP101442)
	CC112273, CC1084037, RP112289	Plasma	[redacted]	M06.RP112273.hup.3	-0.933 to -0.400 (CC112273) 0.00 to 2.00 (CC1084037) 0.00 to 2.50 (RP112289)	≤ 8.24 (CC112273) ≤ 8.35 (CC1084037) ≤ 8.37 (RP112289)
RPC01-1915 PK/PD (Module 5.3.3.4-9)	RPC1063	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	-0.625 to 5.83 (RPC1063)	≤ 9.45 (RPC1063)
	CC112273, CC1084037	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.3	4.00 to 7.40 (CC112273) -2.50 to 5.33 (CC1084037)	≤ 3.45 (CC112273) ≤ 3.48 (CC1084037)
RPC01-1001 RMS P1 Intensive PK/PD (Module 5.3.4.2-1)	RPC1063, RP101442, RP101988, RP101124	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	1.00 to 2.50 (RPC1063) -0.875 to 2.92 (RP101442) 0.417 to 3.50 (RP101988) -0.833 to 1.50 (RP101124)	≤ 11.4 (RPC1063) ≤ 7.25 (RP101442) ≤ 8.65 (RP101988) ≤ 5.38 (RP101124)
	RP101075	Plasma	[redacted]	M06.RP101075.hup.1	1.44 to 8.33	≤ 10.1
	CC112273	Plasma	[redacted]	M06.RP112273.hup.1	-0.475 to 1.20	≤ 4.78

Approved v2.0

Table 1.4-1: 臨床試験に用いた生物学的分析法及び分析法性能の概要

Clinical Study Brief Name (CTD Module Location)	Analyte	Matrix	CRO	Method Number	Assay Performance (QC Accuracy, %RE)	Assay Performance (QC Precision, %CV)
RPC-1063-CP-001 DDI with Cyclosporine (Module 5.3.3.4-10)	RPC1063, CC112273, CC1084037	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.4	-1.50 to 2.00 -0.400 to 3.73 -2.50 to 1.67	≤ 5.85 ≤ 5.94 ≤ 3.93
	RP101988	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	-0.833 to 2.50	≤ 7.90
RPC-1063-CP-004 Hepatic impairment (Module 5.3.4.2-2)	RPC1063, CC112273, CC1084037	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.4	0.625 to 1.50 1.79 to 5.87 0.844 to 2.67	≤ 8.48 ≤ 8.53 ≤ 4.51
RPC-1063-CP-005 DDI with Tyramine (Module 5.3.3.4-11)	RPC1063, CC112273, CC1084037	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.4	2.50 to 3.00 2.38 to 9.33 0.500 to 3.67	≤ 9.81 ≤ 7.98 ≤ 7.27
RPC01-202UC P2 (Core/OLPStudy) (Module 5.3.5.1-2/5.3.5.2-1)	RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.1	-3.33 to -1.20 -2.50 to 2.13 -4.81 to 0.00 2.59 to 4.50	≤ 5.79 ≤ 8.38 ≤ 6.25 ≤ 9.44
	CC112273	Plasma	[redacted]	M06.CC112273.hup.1	-0.400 to 0.00	≤ 4.90
RPC01-3101UC P3 (Module 5.3.5.1-3)	RPC1063	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.2	-1.38 to 0.833	≤ 14.7
	CC112273	Plasma	[redacted]	M06.CC112273.hup.1	-0.163 to 2.00	≤ 10.9
	CC1084037	Plasma	[redacted]	M06.CC112273.hup.3	1.67 to 5.47	≤ 6.77
RPC01-3103UC Japan P2/3[c] (Module 5.3.5.1-1)	RPC1063, CC112273, CC1084037	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.4	1.88 to 4.67 3.38 to 8.80 1.56 to 5.33	≤ 8.31 ≤ 6.08 ≤ 4.68
RPC01-3103UC Japan P2/3[d] (Module 5.3.5.1-1)	RPC1063, CC112273, CC1084037	Plasma	[redacted]	M06.RPC1063.hup.4	0.5 to 15.7 4.0 to 11.3 -5.0 to 8.3	≤ 7.0 ≤ 10.5 ≤ 5.4

Approved v2.0

Abbreviations: CV = coefficient of variation; LCMS = liquid chromatography mass spectrometry; PD = pharmacodynamic; PK = pharmacokinetic; N/A = not applicable; QC = quality control; RE = relative error; RPC1063 = ozanimod; RMS = relapsing multiple sclerosis; SOP = standard operating procedure.

[a] Ozanimod plasma concentration data from [redacted] used to report SAD portion of study. Ozanimod plasma concentration data from [redacted] used to report MAD portion of study.

[b] RP101075 not validated.

[c] Summary of measurement results for 17 or 18 batches that met pre-specified criteria. PK measurements were performed on 747 study samples sent to the analytical test sites by March 1, 2023.

[d] Summary of measurement results for 2 batches that met pre-specified criteria. PK measurements were performed on 56 study samples sent to the analytical test sites on September 14, 2023.

Approved v2.0

ヒト血漿中のオザニモド及びその活性代謝物（CC112273 及び/又は CC1084037）の incurred sample reanalysis（ISR）は、健康成人、RMS 患者、UC 患者及び特別な集団（腎機能障害被験者及び肝機能障害被験者）を対象とした複数の臨床試験の PK 評価用試料で実施され、80.7%以上の試料にて適合基準を満たした（APPENDIX 17）。

ヒト血漿中のオザニモド並びにその主要活性代謝物 CC112273 及び CC1084037 の-70° C での長期保存における安定性を以下に示す（Table 1.4-2）。

Table 1.4-2: オザニモド、CC112273 及び CC1084037 の長期保存試験の概要

Protocol Number	Bioanalytical Report	Sample Storage Days[a]/Established Long-term Stability[b] at -70°C (Day)		
		RPC1063	CC112273	CC1084037
RPCS001	180005	758/1109[d]	NA	NA
RPC01-102	179568	228/1109[d]	NA	NA
RPC01-1901	183397	57/1109[d]	NA	NA
RPC01-1902	183910	107/1109	NA	NA
RPC01-1903	183618	109/1109	NA	NA
RPC01-1904	184079, 184081 and 185793	300/1109	508/510	NA
RPC01-1905	184083	58/1109	NA	NA
RPC01-1906	184186 and 185794	229/1109	382/392	NA
RPC01-1907	184711	74/1109	NA	NA
RPC01-1908	184890, 184891 and 185798 (Amendment 1)	127/1109	416/462	NA
RPC01-1909	184746 and 185805	102/1109	540/1966[d]	NA
RPC01-1910	185789 and 185790	112/1109	103/188	NA
RPC01-1911	185787 and 185788	159/1109	82/188	NA
RPC01-1912	187035 and 187037 (RPC01-1912-BA-Oza)	79/1109	72/99	72/99
RPC01-1913	187025 and 187027 (RPC01-1913-BA-Oza)	71/1109	74/510	74/176
RPC01-1914	187028 and 187030 (RPC01-1914-BA-Oza)	51/1109	51/99	51/99
RPC01-1915	187573 and 187574 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	140/1109	137/605	137/274
RPC01-1001	184667, 184668 and 185791 (Amendment 1)	470/1109	460/462	NA
RPC-1063-CP-001	189127 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	41/1109	41/720	41/406

Approved v2.0

Table 1.4-2: オザニモド、CC112273 及び CC1084037 の長期保存試験の概要

Protocol Number	Bioanalytical Report	Sample Storage Days[a]/Established Long-term Stability[b] at -70°C (Day)		
RPC-1063-CP-004	187271, 185725 and 187271 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	490/755	490/1456	490/1118
RPC-1063-CP-005	191196 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	538/1109	538/1966	538/1315
RPC01-202	179986 and 186440 (RPC1063 and CC112273)	1247/1109	1801/1966[d]	NA
RPC01-3101	183072, 186338 and 187895 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	1136[c]/1109	1136/1966[d]	1252/1315[d]
RPC01-3103	188052 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	886/1109	886/1966	886/1315

Abbreviations: NA = not applicable; RPC1063 = ozanimod.

[a] Sample Storage Days: duration from date of sample collection to date of sample analysis.

[b] Established long-term stability with validated methods are ongoing for methods: M06.CC112273.hup.1 (CC112273) and M06.CC112273.hup.3 (CC112273 and CC1084037).

[c] One sample analyzed outside of established 1109-day stability period for RPC1063.

[d] Storage stability period (at -70°C) for RPC1063, CC112273, and CC1084037 has been extended up to 1109, 1966, and 1315 days.

1.4.1 ヒト血漿中におけるオザニモドの分析法のバリデーション（025998 試験、モジュール 5.3.1.4-1）

EDTA 添加したヒト血漿中のオザニモドの分析法（LC/MS/MS；025998-1）に対するフルバリデーションを行った結果、定量範囲は 40.0～10,000 pg/mL であることが確認された。ヒト血漿試料に内標準物質 RP101579（[$^2H_3$]-RPC1063）を添加し、0.1%ギ酸-アセトニトリルで蛋白沈殿により前処理し、HPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーション結果を APPENDIX 1 に示した。

ヒト血漿中のオザニモドの LLOQ は 40.0 pg/mL であり、10,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度（%CV）は、6.6%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 5.5%、その他のすべての QC 試料濃度では 6.3%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 6.5%以下で、測定内再現性の真度（%RE）は LLOQ で 7.3%、また他のすべての QC 試料濃度では 1.6%～5.8%であった。

当初 K_3EDTA を添加したヒト血漿を用いた分析法に対するバリデーションが実施されたが、その後 K_2EDTA を添加したヒト血漿を使用するためにパーシャルバリデーションが実施された。このパー

Approved v2.0

シャルバリデーションでは、測定内再現性の真度及び精度はそれぞれ-4.3%～10.1%及び 10.4%以下であった。この分析法はまた、UPLC/MS/MS を用いるために変更された。この変更は、パーシャルバリデーションにより保証され、測定内再現性の真度及び精度はそれぞれ 0.5%～11.7%及び 10.2%以下であった。

1.4.2 ヒト尿中におけるオザニモド、RP101075 及び RP101442 の分析法のバリデーション（026847 試験、モジュール 5.3.1.4-2）

ヒト尿中のオザニモド及び代謝物 RP101442 の分析法（LC/MS/MS；026847-1）に対するフルバリデーションを行った結果、定量範囲はそれぞれ 36.8～9,200 及び 40.0～10,000 pg/mL であることが確認された。分析法にはオザニモドの代謝物 RP101075 も分析対象物質として含まれ、定量範囲は 200～50,000 pg/mL であることが確認されたが、複数回のバリデーション試験で適合基準を満たさなかったことから、ヒト尿中における RP101075 の定量に対する分析法に関しては本試験ではバリデートされたとはみなされなかった。ヒト尿試料に内標準物質 RP101579（$[^2H_3]$-RPC1063）、RP101580（$[^2H_3]$-RP101442）及び RP101578（$[^2H_3]$-RP101075）を添加し、t-ブチルメチルエーテルを用いた液液抽出により前処理し、HPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーション結果を APPENDIX 2 に示した。

ヒト尿中のオザニモドの LLOQ は 36.8 pg/mL であり、9,200 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 6.6%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 9.0%、その他のすべての QC 試料濃度では 4.0%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 11.9%以下で、QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 3.0%、その他のすべての QC 試料濃度では 0.8%～3.6%であった。

ヒト尿中の RP101075 の LLOQ は 200 pg/mL であり、50,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 7.2%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 13.6%、その他のすべての QC 試料濃度では 5.9%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 10.7%以下で、QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 2.0%、その他のすべての QC 試料濃度では-13.7%～3.3%であった。

ヒト尿中の RP101442 の LLOQ は 40.0 pg/mL であり、10,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 5.9%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 7.6%、その他のすべての QC 試料濃度では 3.1%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 8.5%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-2.0%であり、その他のすべての QC 試料濃度では 0.6%～1.8%であった。

Approved v2.0

1.4.3 ヒト血漿中におけるオザニモド、RP101075、RP101442 及び RP101988 の分析法バリデーション（178930 試験、モジュール 5.3.1.4-3）

K_2EDTA を添加したヒト血漿試料中のオザニモド及びその代謝物 RP101075、RP101442 及び RP101988 の分析法（LC/MS/MS；M06.RPC1063.hup.1）に対するフルバリデーションを行った結果、定量範囲はそれぞれ 4.00～2,000 pg/mL（オザニモド及び RP101075）、8.00～4,000 pg/mL（RP101442）及び 16.0～4,000 pg/mL（RP101988）であることが確認された。ヒト血漿試料に内標準物質として RP101579（[$^2H_3$]-RPC1063）、RP105074（[$^2H_3$]-RP101988）、RP101580（[$^2H_3$]-RP101442）及び RP101578（[$^2H_3$]-RP101075）をそれぞれ添加し、*t*-ブチルメチルエーテルを用いた液液抽出により前処理し、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーション結果を APPENDIX 3 に示した。

ヒト血漿中オザニモドの LLOQ は 4.00 pg/mL であり、2,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 5.39%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 6.87%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 3.47%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 6.54%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-0.250%、その他の QC 試料濃度では-0.813%～2.50%であった。

ヒト血漿中における RP101075 の LLOQ は 4.00 pg/mL であり、2,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 6.75%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 7.48%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 3.86%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 7.47%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-0.250%、その他の QC 試料濃度では 1.00%～3.00%であった。

ヒト血漿中における RP101442 の LLOQ は 8.00 pg/mL であり、4,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 3.70%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 5.75%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 4.28%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 7.51%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-2.25%、その他の QC 試料濃度では-2.72%～2.08%であった。

ヒト血漿中における RP101988 の LLOQ は 16.0 pg/mL であり、4,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 8.26%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 18.3%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 8.15%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 14.0%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-1.25%、その他の QC 試料濃度では-2.22%～5.42%であった。

Approved v2.0

1.4.4 ヒト血漿中におけるオザニモド、RP101075、RP101442、RP101988 及び RP101124 の分析法のバリデーション（182665 試験、モジュール 5.3.1.4-4）

K_2EDTA を添加した血漿中のオザニモド及びその代謝物 RP101075、RP101442、RP101988 及び RP101124 の分析法（LC/MS/MS；M06.RPC1063.hup.2）に対するフルバリデーションを行った結果、定量範囲はそれぞれ 4.00 ～ 2,000 pg/mL（オザニモド及び RP101075）、8.00 ～ 4,000 pg/mL（RP101124 及び RP101442）及び 16.0～4,000 pg/mL（RP101988）となることが確認された。ヒト血漿試料に内標準物質として RP101579（[$^2H_3$]-RPC1063）、RP105074（[$^2H_3$]-RP101988）、RP101578（[$^2H_3$]-RP101075）、RP105846（[$^2H_3$]-RP101124）及び RP101580（[$^2H_3$]-RP101442）をそれぞれ添加し、固相抽出（Evolute ABN）法により前処理し、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーション結果を APPENDIX 4 に示した。

ヒト血漿中オザニモドの LLOQ は 4.00 pg/mL であり、2,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 5.68%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 13.9%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 8.47%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 12.2%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-7.50%、その他の QC 試料濃度では-1.90%～3.33%であった。

ヒト血漿中における RP101075 の LLOQ は 4.00 pg/mL であり、2,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 7.88%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 12.7%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 11.7%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 10.4%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-0.250%、その他の QC 試料濃度では-3.90%～0.00%であった。

ヒト血漿中における RP101442 の LLOQ は 8.00 pg/mL であり、4,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 9.94%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 16.1%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 10.7%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は、LLOQ で 15.5%、その他のすべての QC 試料濃度では 7.63%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 0.625%、その他のすべての QC 試料濃度では-1.22%～2.08%であった。

ヒト血漿中における RP101124 の LLOQ は 8.00 pg/mL であり、4,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 6.88%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 13.7%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 6.79%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 10.0%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-2.75%、その他の QC 試料濃度では-3.47%～2.08%であった。

ヒト血漿中における RP101988 の LLOQ は 16.0 pg/mL であり、4,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 9.56%以下であった。QC 試料の測定

Approved v2.0

内再現性の精度は、LLOQ で 14.1%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 7.27%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 10.5%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-4.38%、その他の QC 試料濃度では-5.22%～2.29%であった。

氷浴上での抽出操作を必要とする複数の方法で試料を使用できるようにするため、本分析法の変更の影響について実施されたパーシャルバリデーションにより（184859 試験）、抽出操作が氷浴上で行われることによる影響がないことが確認されている。このパーシャルバリデーションでは、オザニモド分析のための QC 試料の測定内再現性の真度は-9.00%～6.00%であり、精度は LLOQ で 16.3%、その他の QC 試料濃度では 3.45%以下であった。RP101442 分析のための QC 試料の測定内再現性の真度は-2.25%～5.50%であり、精度は LLOQ で 12.6%、その他のすべての QC 試料濃度では 5.12%以下であった。RP101124 分析のための QC 試料の測定内再現性の真度は-1.25%～1.63%であり、精度は LLOQ で 7.85%、その他のすべての QC 試料濃度では 5.57%以下であった。RP101988 分析のための QC 試料の測定内再現性の真度は-6.88%～-0.594%であり、精度は LLOQ で 6.30%、その他のすべての QC 試料濃度では 5.10%以下であった。RP101075 分析のための QC 試料の測定内再現性の真度は-12.3%～2.75%であり、精度は LLOQ で 19.5%、その他のすべての QC 試料濃度では 11.1%以下であった。

1.4.5 ヒト血漿中における RP101075 の分析法バリデーション（183775 試験、モジュール 5.3.1.4-5）

K_2EDTA を添加した血漿中の RP101075 の分析法（LC/MS/MS；M06.RP101075.hup.1）に対するパーシャルバリデーションを行った結果、定量範囲は 4.00～2,000 pg/mL となることが確認された。ヒト血漿試料に内標準物質として RP101578（[$^2H_3$]-RP101075）を添加し、*n*-ブチルクロリドによるサポート型液体抽出を行い、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 5 に示した。なお、RP101075 の安定性（例：ベンチトップ、凍結融解、長期保存など）は、以前に評価されており（178930 試験及び 182665 試験）、本試験では反復していない。

ヒト血漿中における RP101075 の LLOQ は 4.00 pg/mL であり、2,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 15.0%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 11.3%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 7.62%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 9.43%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 0.500%、その他のすべての QC 試料濃度では-1.69%～-0.700%であった。

184084 試験で ISR が判定基準を満たさなかったことを受け、前処理操作による影響がないことを確認するため、184861 試験においてパーシャルバリデーションを実施した。このパーシャルバリデーションでは、RP101075 分析のための QC 試料の測定内再現性の真度は-6.40%～-2.50%であり、精度は LLOQ で 18.0%、その他のすべての QC 試料濃度では 9.06%以下であった。

Approved v2.0

1.4.6 ヒト血漿中における CC112273 の分析法バリデーション（185723 試験、モジュール 5.3.1.4-6）

K_2EDTA を添加したヒト血漿中の CC112273 の分析法（LC/MS/MS；M06.RP112273.hup.1）のフルバリデーションを行った結果、その定量範囲は 25.0～10,000 pg/mL であることが確認された。ヒト血漿試料に内標準物質として RP112346（[$^2H_3$]-CC112273）を添加し、*n*-ブチルクロリドによるサポート型液体抽出を行い、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 6 に示した。

ヒト血漿中における CC112273 の LLOQ は 25.0 pg/mL であり、10,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 8.03%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 6.23%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 4.45%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 12.2%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 0.00%、その他のすべての QC 試料濃度では-5.20%～-0.338%であった。

1.4.7 ヒト血漿中における CC112273、CC1084037 及び RP112289 の分析法バリデーション（187077 試験、モジュール 5.3.1.4-7）

K_2EDTA を添加したヒト血漿中の CC112273、CC1084037 及び RP112289 の分析法（LC/MS/MS；M06.CC112273.hup.3）に対するフルバリデーションを行った結果、定量範囲はそれぞれ 25.0～10,000 pg/mL（CC112273）及び 4.00～1,600 pg/mL（CC1084037 及び RP112289）であることが確認された。ヒト血漿試料に内標準物質として RP112346（[$^2H_3$]-CC112273）、RP100798-d_3（[$^2H_3$]-CC1084037）及び RP112289-d_3（[$^2H_3$]-RP112289）を添加し、*n*-ブチルクロリドによるサポート型液体抽出を行い、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 7 に示した。

ヒト血漿中における CC112273 の LLOQ は 25.0 pg/mL であり、10,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 2.78%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 9.81%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 4.28%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 9.20%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 0.00%、その他のすべての QC 試料濃度では-6.20%～-1.20%であった。

ヒト血漿中における CC1084037 の LLOQ は 4.00 pg/mL であり、1,600 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 6.34%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 8.91%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 5.32%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 7.81%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 13.0%、その他のすべての QC 試料濃度では-4.67%～-0.833%であった。

ヒト血漿中における RP112289 の LLOQ は 4.00 pg/mL であり、1,600 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 7.60%以下であった。QC 試料の測定

Approved v2.0

内再現性の精度は、LLOQ で 13.8%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 4.50%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 12.5%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 6.25%、その他すべての QC 試料濃度では-4.80%～-0.833%であった。

1.4.8 Triton ® X-100 で処理したヒト尿中におけるオザニモド及び RP101988 の分析法バリデーション（184117 試験、モジュール 5.3.1.4-8）

ヒト尿中のオザニモド及び RP101988 の分析法（LC/MS/MS；M06.RPC1063.huu.1）に対するフルバリデーションを行った結果、定量範囲はそれぞれ 4.00～2,000 pg/mL 及び 16.0～4,000 pg/mL であることが確認された。NSB を防ぐために、尿試料を界面活性剤（Triton® X-100）で処理した。界面活性剤を含むヒト尿試料に内標準物質として RP101579（[$^2H_3$]-RPC1063）及び RP105074（[$^2H_3$]-RP101988）を添加し、*t*-ブチルメチルエーテルを用いた液液抽出を行い、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 8 に示した。ほとんどのバリデーション試験は、界面活性剤として 0.5% Triton® X-100 を含む尿の QC 試料と、5% Triton® X-100 でコーティングしたポリプロピレンチューブで調製した（界面活性剤未添加）尿の QC 試料を用いて実施した。界面活性剤（0.5% Triton® X-100）を添加した尿で標準試料及び QC 試料を調製した。

界面活性剤を添加したヒト尿中のオザニモドの LLOQ は 4.00 pg/mL であり、2,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 7.11%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 10.5%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 9.66%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定間再現性の精度は 8.91%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 3.00%、その他のすべての QC 試料濃度では-2.20%～4.17%であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 13.7%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 7.55%以下であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定間再現性の精度は 13.0%以下であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 1.00%、その他のすべての QC 試料濃度では-5.44%～-3.33%であった。

界面活性剤を添加したヒト尿中の RP101988 の LLOQ は 16.0 pg/mL であり、4,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 7.31%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 11.0%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 8.74%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定間再現性の精度は 14.6%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-0.625%、その他のすべての QC 試料濃度では-2.94%～-1.04%であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 12.9%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 6.90%以下であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定間再現性の精度は、LLOQ で 16.3%、その他のすべての QC 試料濃

Approved v2.0

度では 12.7%以下であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-2.50%、その他のすべての QC 試料濃度では-7.00%～-3.54%であった。

1.4.9 Triton ® X-100 で処理したヒト尿中における RP101075 の分析法バリデーション（184120 試験、モジュール 5.3.1.4-9）

ヒト尿中の RP101075 の分析法（LC/MS/MS；M06.RP101075.huu.1）に対するフルバリデーションを行った結果、定量範囲は 4.00～2,000 pg/mL であることが確認された。尿試料は NSB 予防のため界面活性剤（Triton ® X-100）で処理した。界面活性剤を含むヒト尿試料に内標準物質として RP101578（[$^2H_3$]-RP101075）を添加し、*n*-ブチルクロリドを用いた液液抽出によりアルカリ性条件下で前処理し、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 9 に示した。ほとんどのバリデーション試験は、界面活性剤として 0.5% Triton ® X-100 を添加した尿の QC 試料と、5% Triton ® X-100 でコーティングしたポリプロピレンチューブで調製した（界面活性剤未添加）QC 試料を用いて実施した。界面活性剤（0.5% Triton ® X-100）を添加した尿で標準試料及び QC 試料を調製した。

界面活性剤を添加したヒト尿中における RP101075 の LLOQ は 4.00 pg/mL であり、2,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 9.08%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 13.7%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 8.93%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定間再現性の精度は、LLOQ で 13.4%、その他のすべての QC 試料濃度では 6.65%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-7.00%、その他のすべての QC 試料濃度では-4.60%～-1.67%であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 18.5%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 10.0%以下であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定間再現性の精度は、LLOQ で 16.1%であり、その他のすべての QC 試料濃度では 8.05%以下であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 1.50%、その他のすべての QC 試料濃度では-3.19%～-0.833%であった。

1.4.10 Triton ® X-100 で処理したヒト尿中における CC112273 の分析法バリデーション（185783 試験、モジュール 5.3.1.4-10）

ヒト尿中の CC112273 の分析法（LC/MS/MS；M06.CC112273.huu.1）に対するバリデーションを行った結果、定量範囲は 25.0～10,000 pg/mL であることが確認された。尿試料は NSB 予防のため界面活性剤（Triton ® X-100）で処理した。界面活性剤を含むヒト尿試料に内標準物質として RP112346（[$^2H_3$]-CC112273）を添加し、酢酸エチルによるサポート型液体抽出で処理し、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 10 に示した。ほとんどのバリデーション試験は、界面活性剤として 0.5% Triton ® X-100 を添加した尿の QC 試料と、5% Triton ® X-100 でコーテ

Approved v2.0

ィングしたポリプロピレンチューブで調製した（界面活性剤未添加）QC 試料を用いて実施した。界面活性剤（0.5% Triton ® X-100）を添加した尿で標準試料及び QC 試料を調製した。

界面活性剤を添加したヒト尿中における CC112273 の LLOQ は 25.0 pg/mL であり、10,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 6.90%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 16.0%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 4.15%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定間再現性の精度は 8.91%以下であった。界面活性剤を添加した QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 10.4%、その他のすべての QC 試料濃度では-4.09%～4.20%であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 10.4%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 5.52%以下であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定間再現性の精度は 8.39%以下であった。界面活性剤未添加の QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 1.60%、その他のすべての QC 試料濃度で-1.73%～3.87%であった。

1.4.11 ヒト血漿中のオザニモド及び RP101988 の蛋白結合率の分析法バリデーション（184010 試験、モジュール 5.3.1.4-11）

平衡透析法を用いたヒト血漿/緩衝液中のオザニモド及び RP101988 の蛋白結合率の分析法（LC/MS/MS；M06.RPC1063.hup.3）に対するフルバリデーションを実施した結果、PBS で 2 倍希釈した血漿中のオザニモド及び RP101988 の定量範囲は、それぞれ 4.00～2,000 pg/mL 及び 16.0～4,000 pg/mL であることが確認された。血漿試料はハイスループット平衡透析（HTDialysis）に供した。平衡透析プレートの血漿側から採取した試料は PBS で 2 倍希釈し、平衡透析プレートの PBS 側から採取した試料はコントロール血漿で 2 倍希釈した。試料に内標準物質 RP101579（[$^2H_3$]-RPC1063）及び RP105074（[$^2H_3$]-RP101988）を添加し、メタノールによる固相抽出処理を行い、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 11 に示した。

PBS で 2 倍希釈した血漿中におけるオザニモドの LLOQ は 4.00 pg/mL であり、2,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 6.49%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 9.97%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 4.60%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 7.31%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-4.25%、その他の QC 試料濃度では-4.00%～0.833%であった。

PBS で 2 倍希釈した血漿中における RP101988 の LLOQ は 16.0 pg/mL であり、4,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 6.69%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 6.96%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 4.81%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 10.4%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-3.75%、その他のすべての QC 試料濃度では-3.44%～-1.04%であった。

Approved v2.0

1.4.12 ヒト血漿中の RP101075 の蛋白結合率の分析法バリデーション（184011 試験、モジュール 5.3.1.4-12）

PBS で 2 倍希釈したヒト血漿中の RP101075 の蛋白結合率の分析法（LC/MS/MS ; M06.RP101075.hup.2）に対するフルバリデーションを実施した結果、定量範囲は 4.00～2,000 pg/mL であることが確認された。血漿試料は HTDialysis に供した。平衡透析プレートの血漿側から採取した試料は PBS で 2 倍希釈し、平衡透析プレートの PBS 側から採取した試料はコントロール血漿で 2 倍希釈した。次に、試料に内標準物質として RP101578（[$^2H_3$]-RP101075）を添加し、*n*-ブチルクロリドによるサポート型液体抽出を行い、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 12 に示した。

PBS で 2 倍希釈した血漿中における RP101075 の LLOQ は 4.00 pg/mL であり、2,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 11.2%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 12.2%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 6.90%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 10.4%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で-5.50%、その他のすべての QC 試料濃度では-10.6%～-6.30%であった。

1.4.13 ヒト血漿中の CC112273 の蛋白結合率の分析法バリデーション（186630 試験、モジュール 5.3.1.4-13）

PBS で 2 倍希釈したヒト血漿中の CC112273 の蛋白結合率の分析法（LC/MS/MS ; M06.CC112273.hup.2）に対するフルバリデーションを行った結果、定量範囲は 25.0～10,000 pg/mL になることが確認された。血漿試料は HTDialysis に供した。平衡透析プレートの血漿側から採取した試料は PBS で 2 倍希釈し、平衡透析プレートの PBS 側から採取した試料はコントロール血漿で 2 倍希釈した。次に、試料に内標準物質として RP112346（[$^2H_3$]-CC112273）を添加し、*n*-ブチルクロリドによるサポート型液体抽出を行い、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 13 に示した。

PBS で 2 倍希釈した血漿中における CC112273 の LLOQ は 25.0 pg/mL であり、10,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 5.26%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 6.90%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 4.04%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 5.52%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 10.8%、その他のすべての QC 試料濃度では 8.13%～12.2%であった。

Approved v2.0

1.4.14 ヒト血漿中のオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の蛋白結合率の分析法バリデーション（189791 試験、モジュール 5.3.1.4-14）

PBS で 2 倍希釈したヒト血漿中のオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の蛋白結合率の分析法（LC/MS/MS；M06.RPC1063.hup.5）に対するフルバリデーションを行った結果、定量範囲はオザニモド及び CC1084037 で 5.00 (LLOQ)～2,000 pg/mL、CC112273 で 10.0 (LLOQ)～4,000 pg/mL であった。血漿試料は HTDialysis に供した。平衡透析プレートの血漿側から採取した試料は PBS で 2 倍希釈し、平衡透析プレートの PBS 側から採取した試料はコントロール血漿で 2 倍希釈した。次に、試料にオザニモド、CC1084037 及び CC112273 のそれぞれの内標準物質として RP101579（[$^2H_3$]-RPC1063）、RP100798-d_3（[$^2H_3$]-CC1084037）及び RP112346（[$^2H_3$]-CC112273）を添加し、*n*-ブチルクロリドによるサポート型液体抽出を行い、LC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 14 に示した。

PBS で 2 倍希釈した血漿中におけるオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の各検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度はそれぞれ 5.34%以下、6.65%以下及び 7.14%以下であった。オザニモド、CC1084037 及び CC112273 の QC 試料の測定内再現性の精度は、それぞれ 8.15%以下、16.0%以下及び 17.1%以下で、測定内再現性の真度はそれぞれ-6.50%～5.80%、-2.94%～18.8%及び-9.00%～12.7%であった。オザニモド、CC1084037 及び CC112273 の QC 試料の測定間再現性の精度は、それぞれ 8.88%以下、11.6%以下及び 13.6%以下であり、測定間再現性の真度は、-2.69%～0.667%、1.81%～7.40%及び-4.50%～6.67%であった。

1.4.15 ヒト血漿中のオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の分析法のバリデーション（187269 試験、モジュール 5.3.1.4-15）

K_2EDTA を添加したヒト血漿中のオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の分析法（LC/MS/MS；M06.RPC1063.hup.4）に対するフルバリデーションを実施した結果、定量範囲はそれぞれ 10.0～4,000 pg/mL（オザニモド及び CC1084037）及び 25.0 から 10,000 pg/mL（CC112273）であることが確認された。ヒト血漿試料に内標準物質として RP101579（[$^2H_3$]-RPC1063）、RP100798-d_3（[$^2H_3$]-CC1084037）及び RP112346（[$^2H_3$]-CC112273）を添加し、*n*-ブチルクロリドによるサポート型液体抽出を行い、UPLC/MS/MS を用いて分析した。バリデーションの結果を APPENDIX 15 に示した。

ヒト血漿中におけるオザニモドの LLOQ は 10.0 pg/mL であり、4,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 5.52%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 4.03%以下、その他のすべての QC 試料濃度では 3.95%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 3.83%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 4.00%、その他のすべての QC 試料濃度では 0.500%～2.33%であった。

ヒト血漿中における CC1084037 の LLOQ は 10.0 pg/mL であり、4,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 7.62%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 5.49%以下、その他のすべての QC 試料濃度で 4.27%以下であった。

Approved v2.0

QC 試料の測定間再現性の精度は 5.47%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 3.00%、その他のすべての QC 試料濃度では 1.00%～1.67%であった。

ヒト血漿中における CC112273 の LLOQ は 25.0 pg/mL であり、10,000 pg/mL までの直線性が示された検量線濃度範囲において、検量線用標準試料の測定間の精度は 3.97%以下であった。QC 試料の測定内再現性の精度は、LLOQ で 10.1%以下、その他のすべての QC 試料濃度で 5.86%以下であった。QC 試料の測定間再現性の精度は 10.2%以下であった。QC 試料の測定間再現性の真度は、LLOQ で 3.60%、その他のすべての QC 試料濃度で-1.91%～1.73%であった。

1.5 ヒト血小板中における MAO-B 活性の薬力学的評価（RPC01-1914 試験、モジュール 5.3.3.4-8）

RPC01-1914 試験において、ヒト血小板中の MAO-B 活性をモノアミンオキシダーゼアッセイキット（生体試料中のアミンオキシダーゼ活性を定量的に測定するための高感度で簡易的な蛍光分析法）及びプレートリーダーを用いて測定した（【モジュール 2.7.2.2.2.16】を参照）。測定された 581 検体の MAO-B 活性の範囲は 0.016～0.766 U/L で、そのうち 577 検体が定量範囲（0.014～1.778 U/L）内であった。

Approved v2.0

2 個々の試験結果の要約

2.1 健康成人を対象にオザニモド単回経口投与後の薬物動態に及ぼす食事の影響を評価するランダム化 3 期クロスオーバー試験（RPC01-1901 試験、モジュール 5.3.3.4-1）

本試験の主要目的は、健康成人被験者にオザニモドを単回経口投与したときの PK に対する食事（高脂肪食及び低脂肪食）の影響を評価することであった。

副次目的は、健康成人被験者にオザニモドを空腹時または食後に単回経口投与したときの忍容性及び安全性を明らかにすることであった。

本試験はランダム化クロスオーバー試験であり、健康成人にオザニモドを単回経口投与したときの PK に対する食事（高脂肪食及び低脂肪食）の影響を評価した。3 つの投与期［空腹時（投与 A）、高脂肪食摂取時（投与 B）及び低脂肪食摂取時（投与 C）にオザニモド 0.92 mg（製剤 2）を単回経口投与］を設け、6 つの投与順（ABC、ACB、BAC、BCA、CAB、CBA）のいずれかに 24 例の被験者をランダムに割り付けた。各期の間に 7 日間のウォッシュアウト期間を設けた。高脂肪食のカロリー（約 900～1,100 kcal）の内訳は、蛋白、炭水化物及び脂肪がそれぞれ約 150、250～360 及び 500～600 kcal であった。低脂肪食のカロリー（約 270～340 kcal）の内訳は、蛋白、炭水化物及び脂肪がそれぞれ約 40、250 及び 19～46 kcal であった。

空腹時（投与 A）では、一晩（10 時間以上）絶食後に被験者にオザニモドを投与した。食後（投与 B 及び投与 C）では、10 時間以上絶食後、オザニモド投与 30 分前に食事の摂取を開始し、30 分以内に摂取完了し、食事開始 30 分後に被験者にオザニモドを投与した。空腹時及び食後のいずれの条件でも、投与後 4 時間は絶食とした。投与前後 1 時間を除き、水分摂取は許容された。

PK 評価用の血液検体は、投与前（0 時間）、投与後 0.5、1、2、3、4、6、8、12、24、36、48 及び 72 時間に採取した。オザニモド及び 2 種類の微量活性代謝物（RP101988 及び RP101075）の血漿中濃度は、バリデートされた分析法を用いて測定した。主要活性代謝物 CC112273 及びその直接的な相互変換代謝物である CC1084037 は、試験実施時点では同定されていなかったため、測定されなかった。

オザニモドの曝露量について、食後投与（高脂肪食及び低脂肪食）と空腹時投与の LS 幾何平均値の比の 90% CI は、AUC0-inf 及び Cmax ともに同等性の許容範囲である 0.80～1.25 に含まれ、高脂肪食及び低脂肪食はいずれもオザニモドの曝露量に影響を及ぼさなかった（Table 2.1-1）。

代謝物 CC112273 及び CC1084037 に関するデータは得られていないものの、食事は未変化体であるオザニモドの吸収にのみ影響を及ぼすことから（胃排出時間の遅延、胃腸 pH の変化、投与剤形との物理的又は化学的な相互作用等）、食事は当該代謝物の生成、分布及び消失に影響を及ぼさないと考えられた。なお、本試験で使用されたのは製剤 2（臨床試験用）であり、溶出試験にて承認申請用/市販用製剤である製剤 3 との同等性が確認されている（【モジュール 2.3.P.2】参照）。

Approved v2.0

以上より、食事の有無にかかわらずオザニモドを投与できることが裏付けられた。

Table 2.1-1: オザニモド及び RP101988 の PK パラメータに対する食事の影響の統計学的評価

Analyte	Comparison		PK Parameter	Geometric LS Mean			Ratio of Geometric LS Mean (Test/Reference)	90% CI
	Test	Reference		n	Test	Reference		
Ozanimod	Fed, high-fat	Fasted	AUC0-inf (h•pg/mL)	19	5716	5216	1.096	(1.046, 1.148)
			Cmax (pg/mL)	20	176	167	1.058	(0.969, 1.154)
	Fed, low-fat	Fasted	AUC0-inf (h•pg/mL)	23	5716	5394	1.060	(1.017, 1.105)
			Cmax (pg/mL)	23	184	171	1.077	(1.019, 1.138)
RP101988	Fed, high-fat	Fasted	AUC0-inf (h•pg/mL)	17	5793	5690	1.018	(0.959, 1.081)
			Cmax (pg/mL)	20	214	245	0.871	(0.819, 0.926)
	Fed, low-fat	Fasted	AUC0-inf (h•pg/mL)	21	5757	5601	1.028	(0.981, 1.077)
			Cmax (pg/mL)	23	248	242	1.024	(0.973, 1.078)

Source: RPC01-1901 CSR Table 8 and Table 10

Abbreviation: AUC0-inf = area under the plasma concentration-time curve from time 0 extrapolated to infinity; Cmax = maximum plasma concentration; CI = confidence interval; CSR = clinical study report; LS = least squares; n = number of observations; ND = not determined.

Notes: The log-transformed PK parameters (Cmax and AUC0-inf) were analyzed using a linear mixed model, with fixed effects for sequence, treatment, period, and subject nested within sequence as a random effect. For statistical comparison, only paired data were used. Only subjects who had evaluable PK parameters for both treatments were included in the corresponding comparison. If the extrapolated AUC0-inf > 20% or if ND due to R2 < 0.80 or if there were < 3 points available for the determination of λz, then that subject's AUC0-inf was not included in the statistical analysis.

Approved v2.0

3 全試験を通しての結果の比較と解析

オザニモドの臨床開発を通して 3 種類の製剤が開発され、オザニモド塩酸塩カプセルの成分は製剤開発の全期間を通して同じであった。

臨床開発の初期に使用した製剤 1 から UC の臨床開発のための試験に使用した製剤 2 への[redacted]の変更は軽微であり、製剤の品質に影響しないと考えられた。その時点で実施した品質管理の溶出試験（pH[redacted]の[redacted]、[redacted] rpm）は、出荷基準（[redacted]分で Q=[redacted]%）を満たし、製剤 2 は製剤 1 と一致していた。

製剤 2（臨床試験用）から製剤 3（承認申請用/市販用製剤）への変更では[redacted]を変更した。市販用製剤は、臨床試験用製剤と同一の製剤組成であるが、溶出試験を行い、市販用製剤（製剤 3）及び臨床試験用製剤（製剤 2）が同等であることが確認された（3.1 項参照）。

また、健康成人にオザニモドを単回経口投与したときの PK に対する食事（高脂肪食及び低脂肪食）の影響を評価した結果、高脂肪食及び低脂肪食はいずれもオザニモドの曝露量に影響を及ぼさなかった（3.2 項参照）。

3.1 比較溶出試験

溶出試験において製剤 2（臨床試験用）及び製剤 3（承認申請用/市販用製剤）の同じ含量のカプセル並びに製剤 2 の 0.23 mg カプセル及び 0.46 mg カプセルの同等性を評価した結果、製剤 2 及び製剤 3 の同じ含量のカプセル並びに製剤 2 の 0.23 mg カプセル及び 0.46 mg カプセルの溶出挙動は同等と判定された（【モジュール 2.3.P.2】参照）。

3.2 食事の影響

健康成人にオザニモドを単回経口投与したときの PK に対する食事（高脂肪食及び低脂肪食）の影響を評価した。AUC0-inf 及び Cmax ともに食後投与（高脂肪食及び低脂肪食）と空腹時投与の LS 幾何平均値比の 90% CI は、同等性の許容範囲である 0.80～1.25 に含まれ、高脂肪食及び低脂肪食はいずれもオザニモドの曝露量に影響を及ぼさなかった（2.1 項、Table 2.1-1）。

代謝物 CC112273 及び CC1084037 に関するデータは得られていないものの、食事は未変化体であるオザニモドの吸収にのみ影響を及ぼすことから（胃排出時間の遅延、胃腸 pH の変化、投与剤形との物理的又は化学的な相互作用等）、食事は当該代謝物の生成、分布及び消失に影響を及ぼさないと考えられた。なお、本試験で使用されたのは製剤 2（臨床試験用）であり、溶出試験にて承認申請用/市販用製剤である製剤 3 との同等性が確認されている（【モジュール 2.3.P.2】参照）。

以上より、食事の有無にかかわらずオザニモドを投与できることが裏付けられた。

Approved v2.0

4 付録

APPENDIX 1 025998 試験：ヒト血漿中におけるオザニモド分析法のバリデーション

Analyte(s): RPC1063			
CRO/Study#: [redacted]/025998		**CRO Method#: 025998-1**	
Species: Human	**Matrix: Plasma**	**Anticoagulant: EDTA (K_2, K_3)**	**Stabilizer: N/A**
Method: Protein Precipitation		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	40.0-10000	-1.5 to 2.5	≤ 6.6
Intra-day QC	40 (LLOQ)	5.3	5.5
	120, 800, 5000, 8000	4.1 to 9.4	≤ 6.3
Inter-day QC	40 (LLOQ)	7.3	6.5
	120, 800, 5000, 8000	1.6 to 5.8	≤ 5.9
Stability			
Bench stability for 4.9 h (RT)	120, 8000	-5.0 to -0.1	≤ 7.1
Freeze-thaw (3 cycle)	120, 8000, 20000 (LQC, HQC, DilQC)	-7.6 to 2.0	≤ 4.7
Long term for 462 d at -20°C	120, 8000	-11.5 to -6.7	≤ 2.9
Long term for 462 d at -80°C	120, 8000	-5.9 to -2.5	≤ 6.2
Processed sample for 261 h (4-10°C)	120, 8000	-4.1 to -1.7	≤ 4.2
Stock bench stability for 20 h (RT)	4 ng/mL	% Difference 2.6	1.5
Spiking bench stability for 44 h (RT)	4 ng/mL	% Difference 2.5	4.0
Stock storage stability for 105 d (4°C)	4 ng/mL	% Difference -9.7	1.8
Spiking storage stability for 97 d (4°C)	4 ng/mL	% Difference -4.3	4.7

Source: Module 5.3.1.4-1

Abbreviations: CV = coefficient of variation; d = days; DilQC = dilution QC; h = hours; HQC = high QC; LLOQ = lower limit of quantitation; LQC = low QC; N/A = not applicable; QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

Approved v2.0

APPENDIX 2　026847 試験：ヒト尿中におけるオザニモド、RP101075 及び RP101442 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RPC1063, RP101075[a], RP101442			
CRO/Study#: [redacted]/026847		**CRO Method#: 026847-1**	
Species: Human	**Matrix: Urine**	**Anticoagulant: N/A**	**Stabilizer: N/A**
Method: Liquid-Liquid Extraction	**Regression model: Linear, $1/x^2$**		**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	36.8-9200 (RPC1063)	-2.9 to 2.3	≤ 6.6
	200-50000 (RP101075)	-5.5 to 6.0	≤ 7.2
	40.0-10000 (RP101442)	-3.9 to 3.3	≤ 5.9
Intra-day QC	LLOQ		
	36.8 (RPC1063)	-1.4	9.0
	200 (RP101075)	7.0	13.6
	40.0 (RP101442)	0.0	7.6
	110, 736, 7360 (RPC1063)	-0.7 to 1.9	≤ 4.0
	600, 4000, 40000 (RP101075)	-12.8 to 0.5	≤ 5.9
	120, 800, 8000 (RP101442)	1.4 to 4.2	≤ 3.1
Inter-day QC	LLOQ		
	36.8 (RPC1063)	3.0	11.9
	200 (RP101075)	2.0	10.7
	40.0 (RP101442)	-2.0	8.5
	110, 736, 7360 (RPC1063)	0.8 to 3.6	≤ 10.2
	600, 4000, 40000 (RP101075)	-13.7 to 3.3	≤ 9.1
	120, 800, 8000 (RP101442)	0.6 to 1.8	≤ 7.2
Stability			
Bench stability for 19 h (RT)[b]	110, 7360 (RPC1063)	-13.7 to -9.0	≤ 6.4
	600, 40000 (RP101075)[b]	-0.7 [a] to 11.3	≤ 4.1
	120, 8000 (RP101442)	-15.8[a] to -8.5	≤ 7.1
Freeze-thaw (4 cycle)	110, 7360 (RPC1063)	-3.8 to 0.9	≤ 8.2
	600, 40000 (RP101075)	-14.0[b] to -11.7	≤ 9.8
	120, 8000 (RP101442)	-11.5 to -6.7	≤ 7.8
Long term for 324 d at -80°C	110, 7360 (RPC1063)	-12.0 to -8.3	≤ 19.7
	600, 40000 (RP101075)	-33.2 to -15.8[c]	≤ 41.1
	120, 8000 (RP101442)	-6.0 to -5.0	≤ 16.1

Approved v2.0

Analyte(s): RPC1063, RP101075[a], RP101442			
Processed sample for 29 h (RT)	110, 7360 (RPC1063)	-5.0 to 7.3	≤ 6.1
	600, 40000 (RP101075)	-8.0 to -7.7	≤ 4.5
	120, 8000 (RP101442)	-3.8 to 1.7	≤ 3.5
Stock bench stability for 6 h (RT)	200 µg/mL	% Difference	
	RPC1063	0.5	NC
	RP101075	-2.1	NC
	RP101442	0.1	NC
Spiking bench stability for 6 h (RT)		% Difference	
	18.4 ng/mL (RPC1063)	-2.5	NC
	100 ng/mL (RP101075)	-2.3	NC
	20 ng/mL (RP101442)	-1.3	NC
Stock storage stability for 63 d (4°C)	200 µg/mL	% Difference	
	RPC1063	N/A[d]	N/A[d]
	RP101075	-2.3	NC
	RP101442	-6.4	NC
Spiking storage stability for 17 d (4°C)		% Difference	
	18.4 ng/mL (RPC1063)	-9.2	NC
	100 ng/mL (RP101075)	-26.9[e]	NC
	20 ng/mL (RP101442)	4.1	NC

Source: Module 5.3.1.4-2

Abbreviations: CV = coefficient of variation; d = days; DilQC = dilution QC; h = hours; HQC = high QC; LLOQ = lower limit of quantitation; LQC = low QC; N/A = not applicable; NC = Not calculated; QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

[a] RP101075 and RP101442 failed multiple validation assessments and is therefore not considered validated.

[b] Stability assessment was unsuccessful for RP101075 at 19 hours (data not shown). The experiment was repeated after 4 hours for RP101075 (data shown).

[c] RP101075 failed to meet acceptance criteria at all timepoints.

[d] Previously demonstrated in [redacted] Study 025998

[e] Assessment failed to meet acceptance criteria.

Approved v2.0

APPENDIX 3 178930 試験：ヒト血漿中におけるオザニモド、RP101075、RP101442 及び RP101988 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988			
CRO/Study#: [redacted]/178930		**CRO Method#: M06.RPC1063.hup.1**	
Species: Human	**Matrix: Plasma**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: N/A**
Method: Liquid-Liquid Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	4.00-2000 (RPC1063)	-1.25 to 2.50	≤ 5.39
	4.00-2000 (RP101075)	-1.10 to 1.00	≤ 6.75
	8.00-4000 (RP101442)	-2.95 to 3.38	≤ 3.70
	16.0-4000 (RP101988)	-1.50 to 2.50	≤ 8.26
Intra-day QC	LLOQ		
	4.00 (RPC1063)	-3.25 to 1.50	≤ 6.87
	4.00 (RP101075)	-4.75 to 8.25	≤ 7.48
	8.00 (RP101442)	-6.50 to 5.63	≤ 5.75
	16.0 (RP101988)	-5.00 to 4.38	≤ 18.3
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-2.00 to 4.17	≤ 3.47
	12.0, 100, 1600 (RP101075)	-1.56 to 4.17	≤ 3.86
	24.0, 200, 3200 (RP101442)	-3.78 to 3.75	≤ 4.28
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-3.88 to 6.88	≤ 8.15
Inter-day QC	LLOQ		
	4.00 (RPC1063)	-0.250	6.54
	4.00 (RP101075)	-0.250	7.47
	8.00 (RP101442)	-2.25	7.51
	16.0 (RP101988)	-1.25	14.0
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-0.813 to 2.50	≤ 3.10
	12.0, 100, 1600 (RP101075)	1.00 to 3.00	≤ 3.04
	24.0, 200, 3200 (RP101442)	-2.72 to 2.08	≤ 3.33
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-2.22 to 5.42	≤ 7.45
Stability			
Bench stability for 6 h (RT)	12.0, 1600 (RPC1063)	-6.19 to -5.83	≤ 3.11
	12.0, 1600 (RP101075)	-2.38 to 0.00	≤ 5.07
	24.0, 3200 (RP101442)	-5.94 to 1.67	≤ 0.495
	48.0, 3200 (RP101988)	-3.13 to 3.13	≤ 1.53

Approved v2.0

Analyte(s): RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988			
Freeze-thaw (6 cycle)[a]	12.0, 1600 (RPC1063)	-0.438 to 3.33	≤ 2.14
	12.0, 1600 (RP101075)	-5.25 to 5.83	≤ 2.34
	24.0, 3200 (RP101442)	-5.09 to 7.08	≤ 6.81
	48.0, 3200 (RP101988)	1.41 to 1.67	≤ 0.893
Long term for 1109 d at -70°C[a]	12.0, 1600 (RPC1063)	-10.5 to -6.67	≤ 2.84
	12.0, 1600 (RP101075)	-3.33 to -2.56	≤ 5.74
	24.0, 3200 (RP101442)	-14.2 to -10.8	≤ 5.42
	48.0, 3200 (RP101988)	-10.2 to -2.71	≤ 5.14
Long term for 403 d at -20°C[a]	12.0, 1600 (RPC1063)	5.00 to 5.25	≤ 4.85
	12.0, 1600 (RP101075)	-8.33 to -2.75	≤ 6.94
	24.0, 3200 (RP101442)	-10.3 to -7.50	≤ 2.34
	48.0, 3200 (RP101988)	5.09 to 5.83	≤ 7.78
Processed sample[b] for 138 h (4°C)	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-0.438 to 5.00	≤ 3.80
	12.0, 100, 1600 (RP101075)	1.56 to 4.17	≤ 2.13
	24.0, 200, 3200 (RP101442)	-2.97 to 4.58	≤ 1.78
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-2.34 to 6.04	≤ 4.83
Stock bench stability for 6 h (RT)	200 µg/mL	% Difference	
	RPC1063	-1.58	0.896
	RP101075	3.93	1.43
	RP101442	-2.76	2.89
	RP101988	0.444	1.77
Stock storage stability for 334 d (-70°C)	200 µg/mL	% Difference	
	RPC1063	-3.45	2.57
	RP101075	4.81	1.61
	RP101442	2.82	4.13
	RP101988	-0.429	1.57

Source: Module 5.3.1.4-3

Abbreviations: CV = coefficient of variation; d = days; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable; QC = quality control. RE = relative error; RT = room temperature.

[a] Reported in Addendum I

[b] Presented in [redacted] reports as Batch Run Stability

Approved v2.0

APPENDIX 4 182665 試験：ヒト血漿中におけるオザニモド、RP101075、RP101442、RP101988、及び RP101124 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988, RP101124			
CRO/Study#: [redacted]/182665		**CRO Method#: M06.RPC1063.hup.2**	
Species: Human	**Matrix: Plasma**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: N/A**
Method: Solid-Phase Extraction	**Regression model: Linear, $1/x^2$**		**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	4.00-2000 (RPC1063)	-2.75 to 2.55	≤ 5.68
	4.00-2000 (RP101075)	-2.75 to 2.63	≤ 7.88
	8.00-4000 (RP101442)	-2.85 to 3.50	≤ 9.94
	16.0-4000 (RP101988)	-2.88 to 2.00	≤ 9.56
	8.00-4000 (RP101124)	-2.50 to 3.50	≤ 6.88
Intra-day QC	LLOQ		
	4.00 (RPC1063)	-10.8 to -5.50	≤ 13.9
	4.00 (RP101075)	-3.75 to 2.50	≤ 12.7
	8.00 (RP101442)	-12.5 to 8.00	≤ 16.1
	16.0 (RP101988)	-10.0 to 1.25	≤ 14.1
	8.00 (RP101124)	-8.25 to 5.25	≤ 13.7
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-6.00 to 9.17	≤ 8.47
	12.0, 100, 1600 (RP101075)	-6.67 to 3.33	≤ 11.7
	24.0, 200, 3200 (RP101442)	-6.78 to 7.08	≤ 10.7
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-8.69 to 5.42	≤ 7.27
	24.0, 200, 3200 (RP101124)	-6.28 to 3.75	≤ 6.79
Inter-day QC	LLOQ		
	4.00 (RPC1063)	-7.50	12.2
	4.00 (RP101075)	-0.250	10.4
	8.00 (RP101442)	0.625	15.5
	16.0 (RP101988)	-4.38	10.5
	8.00 (RP101124)	-2.75	10.0
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-1.90 to 3.33	≤ 5.91
	12.0, 100, 1600 (RP101075)	-3.90 to 0.00	≤ 7.51
	24.0, 200, 3200 (RP101442)	-1.22 to 2.08	≤ 7.63
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-5.22 to 2.29	≤ 4.58
	24.0, 200, 3200 (RP101124)	-3.47 to 2.08	≤ 4.41

Approved v2.0

Analyte(s): RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988, RP101124			
Stability			
Bench stability for 6 h (RT)	12.0, 1600 (RPC1063)	-0.313 to 2.50	≤ 4.97
	12.0, 1600 (RP101075)	-2.63 to -2.50	≤ 8.15
	24.0, 3200 (RP101442)	-1.25 to 0.344	≤ 14.1
	48.0, 3200 (RP101988)	-3.31 to 6.67	≤ 8.67
	24.0, 3200 (RP101124)	-3.56 to 4.58	≤ 2.94
Bench stability for 5 h (ice bath)[a]	12.0, 1600 (RPC1063)	-4.17 to 6.56	≤ 4.97
	12.0, 1600 (RP101075)	-6.67 to 7.69	≤ 11.6
	24.0, 3200 (RP101442)	-7.92 to -1.28	≤ 5.84
	48.0, 3200 (RP101988)	2.59 to 5.83	≤ 3.96
	24.0, 3200 (RP101124)	2.08 to 2.63	≤ 3.89
Freeze-thaw (4 cycle/RT)	12.0, 1600 (RPC1063)	-4.25 to -0.833	≤ 6.42
	12.0, 1600 (RP101075)	-4.56 to 0.00	≤ 14.0
	24.0, 3200 (RP101442)	-5.22 to -2.92	≤ 2.42
	48.0, 3200 (RP101988)	-1.56 to 3.75	≤ 8.27
	24.0, 3200 (RP101124)	-8.97 to 1.25	≤ 3.82
Freeze-thaw (4 cycle/ice bath)[a]	12.0, 1600 (RPC1063)	-4.17 to 4.94	≤ 6.76
	12.0, 1600 (RP101075)	-4.17 to 2.31	≤ 6.29
	24.0, 3200 (RP101442)	-7.92 to -1.69	≤ 6.43
	48.0, 3200 (RP101988)	0.531 to 0.625	≤ 7.39
	24.0, 3200 (RP101124)	-7.08 to 2.88	≤ 5.61
Long term for 1044 d at -70°C[b]	24.0, 3200 (RP101124)	-11.3 to -3.59	≤ 4.31
Long term for 696 d at -20°C[c]	24.0, 3200 (RP101124)	1.69 to 12.9	≤ 2.82
Processed sample[d] for 163.5 h (4°C)	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-3.50 to 2.06	≤ 6.55
	12.0, 100, 1600 (RP101075)	-4.00 to 0.125	≤ 2.90
	24.0, 200, 3200 (RP101442)	-0.156 to 8.75	≤ 7.36
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-1.66 to 2.92	≤ 3.70
	24.0, 200, 3200 (RP101124)	-0.0625 to 2.08	≤ 7.02
Stock bench stability for 6 h (RT)[e]	200 µg/mL	% Difference	
	RP101124	-1.71	2.64
High spiking bench stability for 6 h (RT)		% Difference	
	RPC1063 (50 ng/mL)	-1.94	0.998
	RP101075 (50 ng/mL)	-0.667	1.27
	RP101442 (100 ng/mL)	3.51	1.25

Approved v2.0

Analyte(s): RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988, RP101124			
	RP101988 (100 ng/mL)	-1.27	3.36
	RP101124 (100 ng/mL)	1.82	0.811
Low spiking bench stability for 6 h (RT)		% Difference	
	RPC1063 (200 pg/mL)	-1.26	3.29
	RP101075 (200 pg/mL)	-0.524	4.65
	RP101442 (400 pg/mL)	-2.86	2.90
	RP101988 (800 pg/mL)	-3.90	4.19
	RP101124 (400 pg/mL)	0.712	0.663
Stock storage stability for 152 d (-70°C)[f]		% Difference	
	RP101124 (200 µg/mL)	-4.25	1.19
High spiking storage stability for 41 d (-70°C)		% Difference	
	RPC1063 (50 ng/mL)	-2.96	2.67
	RP101075 (50 ng/mL)	-3.66	2.58
	RP101442 (100 ng/mL)	-5.82	0.419
	RP101988 (100 ng/mL)	0.776	3.83
	RP101124 (100 ng/mL)	-2.44	0.822
Low spiking storage stability for 41 d (-70°C)		% Difference	
	RPC1063 (200 pg/mL)	8.34	2.15
	RP101075 (200 pg/mL)	1.63	2.42
	RP101442 (400 pg/mL)	4.21	3.36
	RP101988 (800 pg/mL)	2.31	1.39
	RP101124 (400 pg/mL)	2.41	2.41

Source: Module 5.3.1.4-4

Abbreviations: CV = coefficient of variation; d = days; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable; QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

[a] Reported in Addendum I ([redacted] Job Number: 184859).

[b] Reported in Addendum III ([redacted] Job Number: 182666).

[c] Reported in Addendum II ([redacted] Job Number: 182666).

[d] Presented in [redacted] reports as Batch Run Integrity.

[e] Reported in Study 180264: Bioanalytical Validation Report for the Determination of RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988 and RP101124 in Rat Plasma by LC-MS/MS.

[f] Reported in Study 180547: Addendum I to the Report entitled: Validation of a Bioanalytical Method for the Determination of RPC1063, RP101075, RP101442, RP101988 and RP101124 in Monkey Plasma by LC-MS/MS ([redacted] Job Number: 180262)

Approved v2.0

APPENDIX 5　183775 試験：ヒト血漿中における RP101075 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RP101075			
CRO/Study#: [redacted]/183775		**CRO Method#: M06.RP101075.hup.1**	
Species: Human	**Matrix: Plasma**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: N/A**
Method: Supported-Liquid Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**
Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	4.00-2000	-1.50 to 2.00	≤ 15.0
Intra-day QC	4.00 (LLOQ)	-2.00 to 5.25	≤ 11.3
	12.0, 100, 1600	-5.83 to 1.00	≤ 7.62
Inter-day QC	4.00 (LLOQ)	0.500	9.43
	12.0, 100, 1600	-1.69 to -0.700	≤ 6.42
Stability			
Processed sample for 140 h (4°C)[a]	12.0, 100, 1600	-3.56 to -1.67	≤ 4.34

Source: Module 5.3.1.4-5

Abbreviations: CV = coefficient of variation; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable; QC = quality control; RE = relative error.

[a] Presented in [redacted] reports as Batch Run Storage Integrity.

Approved v2.0

APPENDIX 6　185723 試験：ヒト血漿中における CC112273 の分析法のバリデーション

Analyte(s): CC112273	**CRO/Study#: [redacted]/185723**	**CRO Method#: M06.RP112273.hup.1**
Species: Human	**Matrix: Plasma**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: N/A**
Method: Supported-Liquid Extraction	**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	25.0-10000	-2.11 to 3.40	≤ 8.03
Intra-day QC	25.0 (LLOQ)	-14.0 to 13.2	≤ 6.23
	75.0, 500, 8000	-9.20 to 1.56	≤ 4.45
Inter-day QC	25.0 (LLOQ)	0.00	12.2
	75.0, 500, 8000	-5.20 to -0.338	≤ 5.23
Stability			
Whole blood stability for 4 h (RT)	75, 500	% Difference	
		-1.19 to 0.00	≤ 2.48
Whole blood stability on wet ice	75, 500	% Difference	
		-1.63 to 0.00	≤ 2.02
Bench stability for 26.5 h (RT)	75, 8000	-2.93 to 0.450	≤ 5.03
Bench stability for 26.5 h(4°C)	75, 8000	-5.87 to 0.800	≤ 3.97
Freeze-thaw (14 cycle/4°C)	75, 8000	-4.67 to -4.14	≤ 2.13
Freeze-thaw (14 cycle/RT)	75, 8000	-0.933 to 0.888	≤ 5.68
Long term for 1966 d at -70°C[a]	75, 8000	-10.1 to -3.69	≤ 6.68
Long term for 462 d at -20°C[b]	75, 8000	-8.00 to -5.26	≤ 2.86
Processed sample[c] for 97 h (4°C)	75, 500, 8000	-10.1 to -3.46	≤ 6.13
Stock bench stability for 6.5 h (RT)	1 mg/mL	% Difference	
		-0.628	0.771
Spiking solution bench stability for 6.5 h (RT)	250 ng/mL	% Difference	
		-1.28	0.932
Stock storage stability for 237 d (4°C)[d]	1 mg/mL	% Difference	
		-4.70	0.886
Spiking Solution Storage Stability for 10 d (4°C)	250 ng/mL	% Difference	
		-1.07	0.718

Source: Module 5.3.1.4-6

Abbreviations: CV = coefficient of variation; d = days; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable; QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

Note: Some stability assessments are ongoing and will be reported in future validation addenda.

Approved v2.0

[a] [redacted] Study 185725 (Addendum IV of 185723).

[b] [redacted] Study 185725 (Addendum II of 185723).

[c] Presented in [redacted] reports as Batch Run Storage Stability.

[d] Results acquired and presented in [redacted] Study 186630.

Approved v2.0

APPENDIX 7 187077 試験：ヒト血漿中における CC112273、CC1084037 及び RP112289 の分析法のバリデーション

Analyte(s): CC112273, CC1084037, RP112289			
CRO/Study#: [redacted]/187077		**CRO Method#: M06.CC112273.hup.3**	
Species: Human	**Matrix: Plasma**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: N/A**
Method: Supported Liquid Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	25.0-10000 (CC112273)	-2.44 to 4.00	≤ 2.78
	4.00-1600 (CC1084037)	-2.38 to 2.50	≤ 6.34
	4.00-1600 (RP112289)	-1.75 to 2.75	≤ 7.60
Intra-day QC	LLOQ		
	25.0 (CC112273)	-6.40 to 8.00	≤ 9.81
	4.00 (CC1084037)	12.0 to 14.5	≤ 8.91
	4.00 (RP112289)	-2.00 to 16.5	≤ 13.8
	75.0, 500, 8000 (CC112237)	-11.2 to 2.27	≤ 4.28
	12.0, 75.0, 1200 (CC1084037)	-8.27 to 4.17	≤ 5.32
	12.0, 75.0, 1200 (RP112289)	-7.33 to 9.17	≤ 4.50
Inter-day QC	LLOQ		
	25.0 (CC112273)	0.00	9.20
	4.00 (CC1084037)	13.0	7.81
	4.00 (RP112289)	6.25	12.5
	75.0, 500, 8000 (CC112237)	-6.20 to -1.20	≤ 4.18
	12.0, 75.0, 1200 (CC1084037)	-4.67 to -0.833	≤ 5.17
	12.0, 75.0, 1200 (RP112289)	-4.80 to 0.833	≤ 7.26
Stability			
Bench stability for 32.5 h (4°C)	75, 8000 (CC112273)	-3.21 to -1.20	≤ 1.98
	12, 1200 (CC1084037)	-1.75 to 2.50	≤ 2.15
	12, 1200 (RP112289)	-3.33 to -1.67	≤ 3.48
Freeze-thaw (11 cycles, -70°C/ice bath)[a]	75, 8000 (CC112273)	-9.07 to -7.50	≤ 4.28
	12, 1200 (CC1084037)	-4.17 to 0.833	≤ 3.66
	12, 1200 (RP112289)	-5.83 to -4.17	≤ 3.11
Long term for 406 d at -70°C[a]	12, 1200 (CC1084037)	4.17 to 6.67	≤ 3.49
	12, 1200 (RP112289)	-3.33 to -2.50	≤ 2.28

Approved v2.0

Analyte(s): CC112273, CC1084037, RP112289			
Long term for 406 d at -20°C[a]	12, 1200 (CC1084037)	2.50 to 5.83	≤ 6.15
	12, 1200 (RP112289)	-7.50 to -5.00	≤ 1.34
Processed sample for 114 h (4°C)[b]	75, 500, 8000 (CC112273)	-4.00 to 1.60	≤ 2.70
	12, 75, 1200 (CC1084037)	-3.92 to 1.67	≤ 3.66
	12, 75, 1200 (RP112289)	-5.33 to 0.833	≤ 7.71
Whole blood stability for 4 h (ice bath)		% Difference	
	75, 500 (CC112273)	0.454 to 1.54	≤ 0.905
	12, 75 (CC1084037)	-1.59 to 2.08	≤ 2.03
	12, 75 (RP112289)	0.826 to 3.16	≤ 1.25
Stock storage stability (4°C)[c]	0.500 mg/mL (DMSO)	% Difference	
	CC1084037 (98 days)	-2.16	1.55
	RP112289 (97 days)	-0.741	2.94
Stock bench stability for 6 h (RT)	0.500 mg/mL (DMSO)	% Difference	
	CC1084037	-1.09	0.774
	RP112289	-0.0534	0.491

Source: Module 5.3.1.4-7

Abbreviations: CV = coefficient of variation; d = days; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable, QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

[a] [redacted] Study 187079 (Addendum II of 187077).

[b] Presented in report as Extract Storage Stability.

[c] [redacted] Study 187079 (Addendum I of 187077).

Note: Storage stability period (at -70°C) for CC1084037 has been extended up to 1315 days and the results are to be reported in Addendum III of 187077.

Approved v2.0

APPENDIX 8 184117 試験：ヒト尿中におけるオザニモド及び RP101988 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RPC1063, RP101988			
CRO/Study#: [redacted]/184117		**CRO Method#: M06.RPC1063.huu.1**	
Species: Human	**Matrix: Urine**	**Anticoagulant: N/A**	**Stabilizer: Triton® X-100**
Method: Liquid-Liquid Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	4.00-2000 (RPC1063)	-1.35 to 1.25	≤ 7.11
	16.0-4000 (RP101988)	-2.50 to 5.31	≤ 7.31
Intra-day QC	LLOQ		
(“Fortified”)	4.00 (RPC1063)	-2.75 to 10.0	≤ 10.5
	16.0 (RP101988)	-10.6 to 21.9[a]	≤ 11.0
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	6.20 to 5.83	≤ 9.66
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-6.59 to 2.71	≤ 8.74
Inter-day QC	LLOQ		
(“Fortified”)	4.00 (RPC1063)	3.00	8.91
	16.0 (RP101988)	-0.625	14.6
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-2.20 to 4.17	≤ 6.38
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-2.94 to -1.04	≤ 7.35
Intra-day QC	LLOQ		
(“Coated”)	4.00 (RPC1063)	-11.8 to 12.0	≤ 13.7
	16.0 (RP101988)	-13.8 to 16.3	≤ 12.9
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-21.4[a] to 5.83	≤ 7.55
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-24.1[a] to 8.75	≤ 6.90
Inter-day QC	LLOQ		
(“Coated”)	4.00 (RPC1063)	1.00	13.0
	16.0 (RP101988)	-2.50	16.3
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-5.44 to -3.33	≤ 11.4
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-7.00 to -3.54	≤ 12.7

Approved v2.0

Analyte(s): RPC1063, RP101988			
Stability			
Bench stability for 49 h (RT) Fortified	12.0, 1600 (RPC1063)	-12.9 to -10.8	≤ 7.36
	48.0, 3200 (RP101988)	-9.84 to -6.67	≤ 10.1
Bench stability for 49 h (RT) Coated	12.0, 1600 (RPC1063)	-13.3 to -13.1	≤ 6.44
	48.0, 3200 (RP101988)	-11.8 to -9.17	≤ 9.11
Bench stability for 49 h (4°C) Fortified	12.0, 1600 (RPC1063)	-11.6 to -10.0	≤ 3.51
	48.0, 3200 (RP101988)	-11.2 to -8.96	≤ 16.3[b]
Bench stability for 86 h (4°C) Coated	12.0, 1600 (RPC1063)	-10.2 to -5.00	≤ 3.31
	48.0, 3200 (RP101988)	-8.47 to -6.46	≤ 2.94
Freeze-thaw(4 cycle; -20°C) Fortified	12.0, 1600 (RPC1063)	-12.1 to -9.17	≤ 8.67
	48.0, 3200 (RP101988)	-13.3 to -9.28	≤ 4.57
Freeze-thaw(4 cycle; -20°C) Coated	12.0, 1600 (RPC1063)	-10.2 to 0.00	≤ 7.12
	48.0, 3200 (RP101988)	-6.56 to -2.92	≤ 6.12
Freeze-thaw(4 cycle[c], -70°C) Fortified	12.0, 1600 (RPC1063)	-4.13 to 10.0	≤ 5.12
	48.0, 3200 (RP101988)	-9.75 to -8.96	≤ 8.40
Freeze-thaw(4 cycle; -70°C) Coated	12.0, 1600 (RPC1063)	-11.9 to -6.67	≤ 6.27
	48.0, 3200 (RP101988)	-10.7 to -2.50	≤ 4.76
Long term for 294 d at -20°C Fortified	12.0, 1600 (RPC1063)	-0.250 to 3.33[d]	≤ 8.47[d]
	48.0, 3200 (RP101988)	-9.17 to -5.66[d]	≤ 3.07[d]
Long term for 294 d at -20°C Coated	12.0, 1600 (RPC1063)	3.38 to 8.33[d]	≤ 8.46[d]
	48.0, 3200 (RP101988)	-3.96 to -3.44[d]	≤ 16.2[d]
Long term for 350 d at -70°C Fortified	12.0, 1600 (RPC1063)	-5.44 to 3.33[d]	≤ 7.69[d]
	48.0, 3200 (RP101988)	1.25 to 9.79[d]	≤ 7.69[d]
Long term for 350 d at -70°C Coated	12.0, 1600 (RPC1063)	-2.50 to -2.13[d]	≤ 2.74[d]
	48.0, 3200 (RP101988)	4.16 to 5.00[d]	≤ 12.1[d]
Processed sample[e] for 95.5 h (4°C) Fortified	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	0.833 to 1.00	≤ 4.90
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-0.500 to 2.92	≤ 4.37
Processed sample[e] for 95.5 h (4°C) Coated	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-3.33 to 1.00	≤ 6.21
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-3.33 to 5.50	≤ 5.17

Source: Module 5.3.1.4-8

Abbreviations: Coated = coated with Triton® X-100; CV = coefficient of variation; d = days; Fortified = fortified with Triton® X-100; h = hours; HQC = high QC; LLOQ = lower limit of quantitation; LQC = low QC; MQC = middle QC; N/A = Not Applicable; QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

Approved v2.0

[a] Run 5 failed accuracy and precision assessment for RPC1063 coated QCs (LQC, MQC and HQC) as well as RP101988 coated QCs (LQC, MQC and HQC). Inter day statistics include all four accuracy and precision assessments.

[b] Although result is > ± 15 % CV, assessment passes acceptance criteria of ≥ 2/3 replicates within ± 15 % RE.

[c] RPC1063 failed assessment at 4 cycles (data not shown). Assessment was successfully repeated at 3 cycles (data shown).

[d] [redacted] Study 184117 (Addendum II of 184118).

[e] Presented in [redacted] reports as Batch Run Storage Integrity.

Approved v2.0

APPENDIX 9　184120 試験：ヒト尿中における RP101075 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RP101075			
CRO/Study#: [redacted]/184120		**CRO Method#: M06.RP101075.huu.1**	
Species: Human	**Matrix: Urine**	**Anticoagulant: N/A**	**Stabilizer: Triton® X-100**
Method: Liquid-Liquid Extraction	**Regression model: Linear, $1/x^2$**		**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	4.00-2000	-3.10 to 2.20	≤ 9.08
Intra-day QC (Fortified)	4.00 (LLOQ)	-17.8 to 0.250	≤ 13.7
	12.0, 100, 1600	-6.00 to 0.833	≤ 8.93
Inter-day QC (Fortified)	4.00 (LLOQ)	-7.00	13.4
	12.0, 100, 1600	-4.60 to -1.67	≤ 6.65
Intra-day QC (Coated)	4.00 (LLOQ)	-11.0 to 8.00	≤ 18.5
	12.0, 100, 1600	-7.69 to 4.17	≤ 10.0
Inter-day QC (Coated)	4.00 (LLOQ)	1.50	16.1
	12.0, 100, 1600	-3.19 to -0.833	≤ 8.05
Stability			
Bench stability for 23.5 h (RT) - Fortified	12.0, 1600	-5.00 to 0.00	≤ 2.62
Bench stability for 23.5 h (RT) - Coated	12.0, 1600	-14.2 to -10.3	≤ 5.32
Bench stability for 23.5 h (4°C) - Fortified	12.0, 1600	-5.00 to -2.00	≤ 3.17
Bench stability for 191 h (4°C) - Coated	12.0, 1600	-8.00 to 0.00	≤ 3.63
Freeze-thaw (4 cycle; -20°C) - Fortified	12.0, 1600	-4.81 to -4.17	≤ 1.00
Freeze-thaw (4 cycle; -20°C) - Coated	12.0, 1600	-9.75 to -0.833	≤ 2.42
Freeze-thaw (4 cycle; -70°C) - Fortified	12.0, 1600	-7.13 to -4.17	≤ 5.10
Freeze-thaw (4 cycle; -70°C) - Coated	12.0, 1600	-11.2 to -5.83	≤ 5.31
Long term for 291 d at -20°C - Fortified	12.0, 1600	-7.50 to -5.50	≤ 8.17
Long term for 291 d at -20°C - Coated	12.0, 1600	-15.0 to -10.7	≤ 4.20
Long term for 369 d at -70°C - Fortified[a]	12.0, 1600	-5.88 to -5.00	≤ 2.82

Approved v2.0

Analyte(s): RP101075			
Long term for 369 d at -70°C - Coated[a]	12.0, 1600	-8.81 to -5.00	≤ 2.54
Processed sample[b] for 137 h (4°C) - Fortified	12.0, 100, 1600	-2.30 to 0.833	≤ 4.31
Processed sample[b] for 137 h (4°C) - Coated	12.0, 100, 1600	-4.75 to -2.70	≤ 5.18

Source: Module 5.3.1.4-9

Abbreviations: Coated = coated with Triton® X-100; CV = coefficient of variation; d = days; Fortified = fortified with Triton® X-100; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable; QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

[a] [redacted] Study 184120 (Addendum I [redacted] Job 185383).

[b] Presented in [redacted] reports as Batch Run Storage Integrity.

Approved v2.0

APPENDIX 10 185783 試験：ヒト尿中における CC112273 の分析法のバリデーション

Analyte(s): CC112273			
CRO/Study#: [redacted]/185783		**CRO Method#: M06.CC112273.huu.1**	
Species: Human	**Matrix: Urine**	**Anticoagulant: N/A**	**Stabilizer: Triton® X-100**
Method: Supported Liquid Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**
Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (%CV)**
Calibration range	25.0-10000	-3.12 to 2.00	≤ 6.90
Intra-day QC (“Fortified”)	25.0 (LLOQ)	6.00 to 14.4	≤ 16.0
	75.0, 500, 8000	-7.08 to 8.20	≤ 4.15
Inter-day QC (“Fortified”)	25.0 (LLOQ)	10.4	8.91
	75.0, 500, 8000	-4.09 to 4.20	≤ 3.99
Intra-day QC (“Coated”)	25.0 (LLOQ)	-4.8 to 8.40	≤ 10.4
	75.0, 500, 8000	-3.79 to 7.47	≤ 5.52
Inter-day QC (“Coated”)	25.0 (LLOQ)	1.60	8.39
	75.0, 500, 8000	-1.73 to 3.87	≤ 4.97
Stability			
Bench stability for 26.5 h (RT) - Fortified	75.0, 8000	-6.20 to -0.267	≤ 2.23
Bench stability for 26.5 h (RT) - Coated	75.0, 8000	-4.75 to -2.40	≤ 3.18
Bench stability for 72 h (4°C) - Fortified	75.0, 8000	-5.04 to -4.27	≤ 4.12
Bench stability for 72 h (4°C) - Coated	75.0, 8000	-6.84 to 0.533	≤ 1.82
Freeze-thaw (5 cycle; -70°C) - Fortified	75.0, 8000	-1.33 to 0.0750	≤ 9.31
Freeze-thaw (5 cycle; -70°C) - Coated	75.0, 8000	-5.39 to -1.33	≤ 1.91
Long term for 161 d at -20°C - Coated[a]	75.0, 8000	-7.33 to -5.14	≤ 5.64
Long term for 184 d at -70°C - Fortified	75.0, 8000	-7.09 to -2.13	≤ 6.44
Long term for 161 d at -70°C - Coated	75.0, 8000	-4.10 to -1.73	≤ 8.29
Processed sample[b] for 114 h (4°C) - Fortified	75.0, 500, 8000	-2.51 to 3.20	≤ 3.50
Processed sample[b] for 114 h (4°C) - Coated	75.0, 500, 8000	-6.14 to 2.00	≤ 3.58

Approved v2.0

Analyte(s): CC112273			
Storage stability in 1:1 methanol:water at RT for 53 h	40 ng/mL (RP112346)	-2.54	≤ 7.80

Source: Module 5.3.1.4-10

Abbreviation: Coated = coated with Triton® X-100; CV = coefficient of variation; d = days; Fortified = fortified with Triton® X-100; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable; QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

[a] CC112273 is not stable in fortified urine at -20°C.

[b] Presented in [redacted] reports as Batch Run Storage integrity.

Approved v2.0

APPENDIX 11 184010 試験：ヒト血漿/PBS（1:1）中におけるオザニモド及び RP101988 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RPC1063, RP101988			
CRO/Study#: [redacted]/184010		**CRO Method#: M06.RPC1063.hup.3**	
Species: Human	**Matrix: 1:1 plasma/PBS**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: N/A**
Method: Solid-Phase Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**
Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	4.00-2000 (RPC1063)	-1.70 to 1.25	≤ 6.49
	16.0-4000 (RP101988)	-4.43 to 3.00	≤ 6.69
Intra-day QC	LLOQ		
	4.00 (RPC1063)	-6.75 to -2.00	≤ 9.97
	16.0 (RP101988)	-15.0 to 4.38	≤ 6.96
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-4.90 to 1.67	≤ 4.60
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-5.25 to 1.25	≤ 4.81
Inter-day QC	LLOQ		
	4.00 (RPC1063)	-4.25	7.31
	16.0 (RP101988)	-3.75	10.4
	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-4.00 to 0.833	≤ 3.90
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-3.44 to -1.04	≤ 3.81
Stability			
Bench stability of 1:1 plasma/buffer for 8 h (RT)	12.0, 1600 (RPC1063)	-6.67 to -5.50	≤ 1.37
	48.0, 3200 (RP101988)	-6.75 to -6.25	≤ 6.22
Freeze-thaw of 1:1 plasma/buffer (3 cycle/RT)	12.0, 1600 (RPC1063)	-2.75 to 3.33	≤ 3.35
	48.0, 3200 (RP101988)	-4.79 to -4.50	≤ 4.25
Incubated stability for 6 h (37°C)	3000 (RPC1063)	-16.0[a]	1.16
	3000 (RP101988)	-7.23	0.340
Long term of 1:1 plasma/buffer for 23 d (-70°C)	12.0, 1600 (RPC1063)	-4.06 to 1.67	≤ 4.27
	48.0, 3200 (RP101988)	-5.25 to -3.54	≤ 3.66
Processed sample[b] for 93.5 h (4°C)	12.0, 100, 1600 (RPC1063)	-5.70 to 0.00	≤ 3.03
	48.0, 200, 3200 (RP101988)	-2.50 to -1.91	≤ 3.82

Source: Module 5.3.1.4-11

Abbreviation: CV = coefficient of variation; d = days; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable; PBS = phosphate buffered saline; QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

Approved v2.0

[a] Assessment failed acceptance criterion (± 15%), however, method considered acceptable since actual incubation time is 5 hours.

[b] Presented in [redacted] reports as Batch Run Storage Stability.

Approved v2.0

APPENDIX 12 184011 試験：ヒト血漿/PBS（1:1）中における RP101075 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RP101075			
CRO/Study#: [redacted]/184011		**CRO Method#: M06.RP101075.hup.2**	
Species: Human	**Matrix: 1:1 plasma/PBS**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: N/A**
Method: Supported-Liquid Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	4.00-2000	-2.00 to 3.00	≤ 11.2
Intra-day QC	4.00 (LLOQ)	-8.50 to -2.75	≤ 12.2
	12.0, 100, 1600	-13.9 to -0.700	≤ 6.90
Inter-day QC	4.00 (LLOQ)	-5.50	10.4
	12.0, 100, 1600	-10.6 to -6.30	≤ 6.17
Stability			
Bench stability of 1:1 plasma/buffer for 6 h (RT)	12.0, 1600	-14.1 to -11.7	≤ 7.79
Freeze-thaw of 1:1 plasma/buffer (3 cycle)	12.0, 1600	-14.3 to -9.17	≤ 6.76
Incubated stability for 6 h (37°C)	3000	-14.4[a]	1.65
Long term of 1:1 plasma/buffer for 100 d (-20°C)	12.0, 1600	-10.2 to -1.67	≤ 6.94
Long term of 1:1 plasma/buffer for 100 d (-70°C)	12.0, 1600	-7.94 to 2.50	≤ 5.99
Processed sample[b] for 89 h (4°C)	12.0, 100, 1600	-14.1 to -9.17	≤ 6.43

Source: Module 5.3.1.4-12

Abbreviation: CV = coefficient of variation; d = days; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable; PBS = phosphate buffered saline; QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

[a] Assessment failed acceptance criterion (2/3 replicates % RE ≥15%), however, method considered acceptable since actual method incubation time is 5 hours.

[b] Presented in [redacted] reports as Batch Run Storage Stability.

Approved v2.0

APPENDIX 13 186630 試験：ヒト血漿/PBS（1:1）中における CC112273 の分析法のバリデーション

Analyte(s): CC112273			
CRO/Study#: [redacted]/186630		**CRO Method#: M06.CC112273.hup.2**	
Species: Human	**Matrix: 1:1 plasma/PBS**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: N/A**
Method: Supported-Liquid Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration range	25.0-10000	-2.00 to 1.76	≤ 5.26
Intra-day QC	25.0 (LLOQ)	8.80 to 13.2	≤ 6.90
	75.0, 500, 8000	5.87 to 14.4	≤ 4.04
Inter-day QC	25.0 (LLOQ)	10.8	5.52
	75.0, 500, 8000	8.13 to 12.2	≤ 3.66
Stability[a]			
Bench stability of 1:1 plasma/buffer for 6 h (Ice Bath)	75.0, 8000	0.400 to 9.89	≤ 3.98
Freeze-thaw of 1:1 plasma/buffer (3 cycle)	75.0, 8000	2.00 to 10.9	≤ 6.01
Incubated stability for 6 h (37°C)	60000	11.1	1.25
Long term of 1:1 plasma/buffer for 63 d (-20°C)	75.0, 8000	0.225 to 9.87	≤ 9.28
Long term of 1:1 plasma/buffer for 63 d (-70°C)	75.0, 8000	-0.600 to 5.73	≤ 2.30
Processed sample[b] for 91.5 h (4°C)	75.0, 500, 8000	9.51 to 13.3	≤ 2.14

Source: Module 5.3.1.4-13

Abbreviation: CV = coefficient of variation; d = days; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; N/A = not applicable; PBS = phosphate buffered saline; QC = quality control; RE = relative error.

[a] For solution stabilities, refer to Table 16 (CC112273 plasma validation).

[b] Presented in [redacted] reports as Batch Run Storage Integrity.

Approved v2.0

APPENDIX 14 189791 試験：ヒト血漿/PBS（1:1）中におけるオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RPC1063, CC1084037, CC112273			
CRO/Study#: [redacted]/189791		**CRO Method#: M06.RPC1063.hup.5**	
Species: Human	**Matrix: Plasma**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: NA**
Method: Supported-Liquid Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration Range	5.0-2000 (RPC1063)	-3.50 to 2.00	≤ 6.82
	5.0-2000 (CC1084037)	-2.00 to 2.00	≤ 6.48
	10.0-4000 (CC112273)	-2.50 to 1.50	≤ 7.54
Intra-day QC	LLOQ		
	5.0 (RPC1063)	-6.50 to 5.80	≤ 8.15
	5.0 (CC1084037)	-2.94 to 18.8	≤ 16.0
	10.0 (CC112273)	-9.00 to 12.7	≤ 17.1
	ULOQ		
	2000 (RPC1063)	-8.50	1.29
	2000 (CC1084037)	-4.65	2.75
	4000 (CC112273)	-4.73	0.727
Inter-day QC	LLOQ		
	5.0 (RPC1063)	-2.69 to 0.667	≤ 8.88
	5.0 (CC1084037)	1.81 to 7.40	≤ 11.6
	10.0 (CC112273)	-4.50 to 6.67	≤ 13.6
Stability			
Benchtop Stability for 5 h (4°C)	15, 1600 (RPC1063)	0.625 to 6.00	≤ 3.17
	15, 1600 (CC1084037)	0.375 to 5.33	≤ 3.57
	30, 3200 (CC112273)	3.88 to 9.00	≤ 5.32
Freeze-thaw (3 Cycles, -70°C/Ice Bath)	15, 1600 (RPC1063)	1.81 to 2.67	≤ 4.15
	15, 1600 (CC1084037)	-2.69 to 17.3	≤ 10.6
	30, 3200 (CC112273)	-3.97 to 20.7	≤ 18.9
Long-term for 110 d at -70°C	15.0, 1600 (RPC1063)	-5.33 to -2.13	≤ 2.75
	15.0, 1600 (CC1084037)	-2.19 to -1.33	≤ 6.01
	30, 3200 (CC112273)	-5.33 to -4.66	≤ 3.63
Long-term for 196 d at -70°C	15.0, 1600 (RPC1063)	-9.33 to -0.375	≤ 5.99
	15.0, 1600 (CC1084037)	-14.0 to -10.8	≤ 3.90

Approved v2.0

Analyte(s): RPC1063, CC1084037, CC112273			
	30, 3200 (CC112273)	-11.0 to -6.25	≤ 6.93
Long-term for 196 d at -20°C	15.0, 1600 (RPC1063)	-2.67 to - 2.38	≤ 6.91
	15.0, 1600 (CC1084037)	-11.8 to -10.0	≤ 7.41
	30, 3200 (CC112273)	-9.00 to -0.333	≤ 4.11
Re-injection Reproducibility 80.5 h (4°C) and Batch Run Storage Integrity 99 h (4°C)	15.0, 1600 (RPC1063)	-3.25 to 2.67	≤ 2.92
	15.0, 1600 (CC1084037)	-2.00 to 0.125	≤ 5.21
	30, 3200 (CC112273)	-4.75 to 6.00	≤ 5.57
Extract Storage Stability 100 h (4°C)	15.0, 1600 (RPC1063)	-3.31 to 2.67	≤ 2.92
	15.0, 1600 (CC1084037)	-3.44 to -1.33	≤ 5.09
	30, 3200 (CC112273)	-1.53 to 5.00	≤ 4.29

Source: Module 5.3.1.4-14

Abbreviations: CV = coefficient of variation; d = days; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; NA = not applicable, PBS = phosphate buffered saline; QC = quality control; RE = relative error; ULOQ = upper limit of quantitation.

Approved v2.0

APPENDIX 15 187269 試験：ヒト血漿中におけるオザニモド、CC1084037 及び CC112273 の分析法のバリデーション

Analyte(s): RPC1063, CC1084037, CC112273			
CRO/Study#: [redacted]/187269		**CRO Method#: M06.RPC1063.hup.4**	
Species: Human	**Matrix: Plasma**	**Anticoagulant: K_2EDTA**	**Stabilizer: NA**
Method: Supported-Liquid Extraction		**Regression model: Linear, $1/x^2$**	**GLP Status: Yes**

Identification of Sample	**Concentration (pg/mL)**	**Method Performance**	
		Accuracy (% RE)	**Precision (% CV)**
Calibration Range	10.0-4000 (RPC1063)	-2.23 to 2.30	≤ 5.52
	10.0-4000 (CC1084037)	-2.50 to 2.00	≤ 7.62
	25.0-10000 (CC112273)	-2.01 to 2.12	≤ 3.97
Intra-day QC	LLOQ		
	10.0 (RPC1063)	1.00 to 6.00	≤ 4.03
	10.0 (CC1084037)	-0.500 to 6.00	≤ 5.49
	25.0 (CC112273)	-4.80 to 10.4	≤ 10.1
	30.0, 200, 3200 (RPC1063)	-1.50 to 4.33	≤ 3.95
	30.0, 200, 3200 (CC1084037)	-1.00 to 4.33	≤ 4.27
	75.0, 500, 8000 (CC112273)	-2.51 to 5.07	≤ 5.86
Inter-day QC	LLOQ		
	10.0 (RPC1063)	4.00	3.83
	10.0 (CC1084037)	3.00	5.47
	25.0 (CC112273)	3.60	10.2
	30.0, 200, 3200 (RPC1063)	0.500 to 2.33	≤ 3.62
	30.0, 200, 3200 (CC1084037)	1.00 to 1.67	≤ 3.31
	75.0, 500, 8000 (CC112273)	-1.91 to 1.73	≤ 5.36
Stability			
Benchtop Stability for 24 h (4°C)	30, 3200 (RPC1063)	2.97 to 4.00	≤ 1.16
	30, 3200 (CC1084037)	-0.333 to 0.406	≤ 0.843
	75, 8000 (CC112273)	-3.30 to 2.00	≤ 3.88
Freeze-thaw (6 Cycles, -70°C/Ice Bath)	30, 3200 (RPC1063)	7.33 to 7.63	≤ 2.04
	30, 3200 (CC1084037)	-1.75 to 3.67	≤ 1.33
	75, 8000 (CC112273)	-1.20 to 2.00	≤ 1.46
Long-term for 1118 d at -70°C[a]	30.0, 3200 (RPC1063)	-17.3[b] to -11.8	≤ 5.63
	30.0, 3200 (CC1084037)	-6.63 to -3.22	≤ 2.62
	75.0, 8000 (CC112273)	-10.9 to -6.80	≤ 1.47

Approved v2.0

Analyte(s): RPC1063, CC1084037, CC112273			
Long-term for 1118 d at -20°C[a]	30.0, 3200 (RPC1063)	-51.0[b] to -48.4[b]	≤ 20.2[b]
	30.0, 3200 (CC1084037)	-5.67 to -5.63	≤ 1.62
	75.0, 8000 (CC112273)	-10.3 to -7.07	≤ 2.96
Re-injection Reproducibility 91.5 h (4°C) and Batch Run Storage Integrity 92.5 h (4°C)	30.0, 200, 3200 (RPC1063)	-0.281 to 0.00	≤ 3.43
	30.0, 200, 3200 (CC1084037)	1.00 to 3.33	≤ 1.74
	75.0, 500, 8000 (CC112273)	-0.913 to 4.13	≤ 5.60
Extract Storage Stability 93.5 h (4°C)	30.0, 200, 3200 (RPC1063)	-1.53 to 0.00	≤ 5.40
	30.0, 200, 3200 (CC1084037)	-0.500 to 2.67	≤ 1.75
	75.0, 500, 8000 (CC112273)	-6.90 to -3.80	≤ 5.72
Whole Blood Stability for 4 h (RT)		% Difference	
	30, 200 (RPC1063)	-4.37 to -2.96	≤ 3.58
	30, 200 (CC1084037)	-1.83 to -0.683	≤ 4.57
	75, 500 (CC112273)	1.04 to 3.82	≤ 4.01
Whole Blood Stability for 4 h (Ice Bath)		% Difference	
	30, 200 (RPC1063)	-5.38 to -5.11	≤ 4.77
	30, 200 (CC1084037)	-3.72 to -0.336	≤ 3.04
	75, 500 (CC112273)	-6.13 to -1.19	≤ 4.45
Stock Storage Stability 12 d in DMSO (4°C)		% Difference	
	100, 4000 ng/mL (RPC1063)	-9.65 to -6.84	≤ 5.76
	100, 4000 ng/mL (CC1084037)	-1.50 to -1.07	≤ 2.74
	250, 10000 ng/mL (CC112273)	0.218 to 0.381	≤ 6.94
Stock Solution Stability 24 h in DMSO (RT)		% Difference	
	100, 4000 ng/mL (RPC1063)	-1.17 to 1.62	≤ 5.76
	100, 4000 ng/mL (CC1084037)	-0.975 to -0.207	≤ 2.74
	250, 10000 g/mL (CC112273)	-0.799 to 1.75	≤ 3.84

Source: Module 5.3.1.4-15

Abbreviations: CV = coefficient of variation; d = days; h = hours; LLOQ = lower limit of quantitation; NA = not applicable, QC = quality control; RE = relative error; RT = room temperature.

[a] [redacted] Study 187271 (Addendum I of 187269).

[b] Long term stability of RPC1063 was successfully established for 208 days at -20°C and for 755 days at -70°C. Failures at multiple timepoints were observed at -20°C for RPC1063. Therefore, long-term storage at this temperature is not recommended. Failure at -70°C (for the low QC only) was observed at 1118 days. However, 1109 days at -70°C has previously been established for RPC1063 under [redacted] Study 178931 (Addendum I of 178930).

Approved v2.0

APPENDIX 16 分析法の干渉評価の要約

Method	Analyte(s)	Report (Validation/Bioanalytical)	Result Interference Evaluation
M06.RPC1063.hup.1	ozanimod RP101988 RP101442 RP101075	178931	CC112273 (15,000 pg/mL), CC1084037 (1,600 pg/mL) and CC1084037 (1,600 pg/mL) do not interfere with the quantitation of ozanimod, RP101988, RP101442 and RP101075.
M06.RPC1063.hup.2	ozanimod RP101988 RP101442 RP101075 RP101124	182665	Cyclosporine (2.32 µg/mL), itraconazole (0.425 µg/mL) and rifampin (7.00 µg/mL) do not interfere with the quantitation of ozanimod, RP101988, RP101442, RP101075 and RP101124.
		182666	CC112273 (15,000 pg/mL), ethinyl estradiol at 90 pg/mL, norethindrone at 8 ng/mL, propranolol at 34 ng/mL and diltiazem at 144 ng/mL do not interfere with the quantitation of ozanimod, RP101988, RP101442, RP101075 and RP101124.
		187032	CC1084037 (1,600 pg/mL), RP112289 (1,600 pg/mL), tyramine (~200 ng/mL), pseudoephedrine (~200 ng/mL), gemfibrozil (~20 µg/mL) and phenelzine (~20 ng/mL) do not interfere with the quantitation of ozanimod, RP101988, RP101442, RP101075 and RP101124
M06.RP10175.hup.1	RP101075	183776	CC112273 (15,000 pg/mL) CC1084037 (1,600 pg/mL) and CC1084037 (1,600 pg/mL), RP112289 (1,600 pg/mL) do not interfere with the quantitation of RP101075.
M06.CC112273.hup.1	CC112273	185724 (185723 Addendum I)	Itraconazole (424 ng/mL), rifampin (7 µg/mL), propranolol (34 ng/mL), diltiazem (144 ng/mL) do not interfere with the quantitation of CC112273.
M06.CC112273.hup.3	CC112273 CC1084037 RP112289	187077	RPC1063 (2,000 pg/mL), RP101075 (2,000 pg/mL), RP101442 (4,000 pg/mL), RP101988 (4,000 pg/mL), RP101124 (4,000 pg/mL), tyramine (~200 ng/mL), pseudoephedrine (~200 ng/mL), gemfibrozil (~20 µg/mL), phenelzine (~20 ng/mL), rifampin (~7 µg/mL) and itraconazole (~0.425 µg/mL) do not interfere with the quantitation of CC112273, CC1084037 and RP112289.

Approved v2.0

APPENDIX 17 INCURRED SAMPLE REANALYSIS（ISR）の概要（オザニモド、CC112273 及び CC1084037）

Protocol Number	Method	Bioanalytical Report	ISR Passing%		
			RPC1063	CC112273[a]	CC1084037
RPCS001	025998-1 (RPC1063)	[redacted] 027198-1-B	90	NA	NA
RPC01-1901	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063)	[redacted] 183397 (RPC1063)	94.0	NA	NA
RPC01-1902	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.RP112273.hup.1 (CC112273)	[redacted] 183910 (RPC1063) 185587 (CC112273)	86.2	99.0	NA
RPC01-1903	M06.RPC1063.hup.2	[redacted] 183618 (RPC1063)	90.9	NA	NA
RPC01-1904	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.RP112273.hup.1 (CC112273)	[redacted] 184079 (RPC1063) 185793 (CC112273)	80.7	97.8	NA
RPC01-1905	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.RP112273.hup.1 (CC112273)	[redacted] 184083 (RPC1063) 185797 (CC112273)	93.3	97.3	NA
RPC01-1906	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.RP112273.hup.1 (CC112273)	[redacted] 184186 (RPC1063) 185794 (CC112273)	90.3	100	NA
RPC01-1907	M06.RPC1063.hup.2	[redacted] 184711 (RPC1063)	100	NA	NA

Approved v2.0

Protocol Number	Method	Bioanalytical Report	ISR Passing%		
RPC01-1908	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063)	[redacted] 184890 (RPC1063)	86.5	NA	NA
RPC01-1910	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.RP112273.hup.1 (CC112273)	[redacted] 185789 (RPC1063) 185790 (CC112273)	97.6	100	NA
RPC01-1911	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.RP112273.hup.1 (CC112273)	[redacted] 185787 (RPC1063) 185788 (CC112273)	94.1	100	NA
RPC01-1912	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.CC112273.hup.3 (CC112273 and CC1084037)	[redacted] 187035, 18037 (RPC01-1912-BA-Oza) (RPC1063, CC112273, and CC1084037)	97.2	98.9	98.3
RPC01-1913	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.CC112273.hup.3 (CC112273 and CC1084037)	[redacted] 187025, 187027 (RPC01-1913-BA-Oza) (RPC1063, CC112273, and CC1084037)	100	98.0	98.0
RPC01-1914	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.CC112273.hup.3 (CC112273 and CC1084037)	[redacted] 187028, 187030 (RPC01-1914-BA-Oza) (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	97.6	99.2	99.2
RPC01-1001	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.RP112273.hup.1 (CC112273)	[redacted] 184667 (RPC1063) 185791 (CC112273)	84.5	97.9	NA

Protocol Number	Method	Bioanalytical Report	ISR Passing%		
RPC-1063-CP-001	M06.RPC1063.hup.4 (RPC1063 and CC112273)	[redacted] 189127, 189129 (RPC-1063-CP-001) (RPC1063 and CC112273)	95.0	98.0	NA
RPC-1063-CP-004	M06.RPC1063.hup.4 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	[redacted] 190976 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	87.0	100	100
RPC-1063-CP-005	M06.RPC1063.hup.4 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	[redacted] 191196 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	86.0	92.9	92.7
RPC01-202	M06.RPC1063.hup.1 (RPC1063) M06.CC112273.hup.1[b] (CC112273)	[redacted] 179986 (RPC1063) 186440 (CC112273)	93.4	97.4	NA
RPC01-3101	M06.RPC1063.hup.2 (RPC1063) M06.CC112273.hup.1 (CC112273) M06.CC112273.hup.3 (CC1084037)	[redacted] 183072, 186338, 187895 (RPC-1063-CP-001) (RPC1063, CC112273, and CC1084037)	98.3	96.2	98.7
RPC01-3103	M06.RPC1063.hup.4 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	[redacted] 188052 (RPC1063, CC112273 and CC1084037)	92.0[c] 100[d]	97.3[c] 100[d]	97.3[c] 100[d]

Abbreviations: ISR = incurred sample reanalysis; NA = not applicable.

[a] Equivalent to RP112273.

[b] M06.RP112273.hup.1 was renumbered as M06.CC112273.hup.1.

[c] ISR was performed on 75 study samples.

[d] ISR was performed on 10 study samples.