

# 目次

1. 要約 .....	1
1.1. 非臨床試験 .....	1
1.1.1. 物理的・化学的性質 .....	1
1.1.2. 薬理作用 .....	1
1.1.3. 毒性 .....	1
1.1.4. 吸収・分布・代謝・排泄（現在あるデータのみ） .....	1
2. (イ) 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料 .....	2
3. (ロ) 物理的・化学的性質ならびに規格及び試験法に関する資料 .....	4
3.1. 原薬の化学構造 .....	4
3.2. 物理的および化学的性質 .....	4
3.2.1. 原薬の性状 .....	4
3.2.2. 原薬の規格および試験方法 .....	4
3.2.3. 原薬の貯法と安定性 .....	8
4. (ハ) 安定性試験に関する資料 .....	9
4.1. 加速試験 .....	9
4.2. 苛酷試験 .....	10
4.3. 長期安定性試験 .....	10
5. (ニ) 急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、催奇形性その他の毒性に関する資料（三菱化学メデイエンス株式会社） .....	10
5.1. ラットにおける単回投与毒性試験 .....	10
5.2. ラットにおける4週経口投与毒性試験 .....	15
5.3. サルにおける単回投与毒性試験 .....	28
5.4. サルにおける2週経口投与毒性試験 .....	35
5.5. 変異原性試験 .....	38
5.5.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 .....	38
5.5.2. 哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験 .....	40
6. (ホ) 薬理作用に関する資料 .....	44
6.1. 核磁気共鳴法による結合試験 .....	44
6.2. 表面プラズモン共鳴分析法による結合試験 .....	45
6.3. GT+FK細胞系を用いた試験 .....	45
6.4. マウス感染モデルを用いた試験 .....	47
6.5. 作用機序 .....	49
7. (ヘ) 吸収・分布・代謝・排泄に関する資料 .....	49
7.1. 吸収 .....	49
7.1.1. ラットにおけるP092塩酸塩の単回経口投与後の血中動態 .....	49
7.1.2. ラットにおけるP092リン酸塩の単回経口投与後の血中動態 .....	50

7.1.3. ラットにおける P092 塩酸塩の経口又は静脈内反復投与後の血中動態 .....	51
8. 参考文献 .....	52
9. 添付資料	
表 1 物理化学的性質並びに規格および試験法等に関する資料 .....	53
表 2 薬理作用に関する資料—効力を裏付ける試験 .....	54
表 3 毒性に関する資料	
表 3-1 ラットを用いた単回経口投与毒性試験 .....	55
表 3-2 ラットを用いた4週間反復経口投与毒性試験 .....	56
表 3-2 ラットを用いた4週間反復経口投与毒性試験の概要 .....	57
表 3-3 サルを用いた単回経口投与毒性試験 .....	58
表 3-4 サルを用いた2週間反復経口投与毒性試験 .....	59
表 3-4 サルを用いた2週間反復経口投与毒性試験の概要 .....	60
表 3-5 その他の毒性試験 .....	61
表 4 吸収・分布・代謝・排泄に関する資料 .....	62

略号一覧

略号	英語表記	日本語表記
A/G	albumin/globulin ratio	アルブミン・グロブリン比
AEBSF	4-(2-Aminoethyl) benzenesulfonyl fluoride hydrochloride	4-(2-アミノエチル)ベンゼン スルホニルフルオライ ド塩酸塩
ALAT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランス フェラーゼ
APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラ スチン時間
ASAT	aspartate transaminase	アスパラギン酸トランス アミナーゼ
AUC <sub>0-24h</sub>	area under the blood concentration time curve	血中濃度曲線下面積
BSE	bovine spongiform encephalopathy	牛型海綿状脳症
CK	creatine kinase	クレアチンキナーゼ
C <sub>max</sub>	maximum drug concentration	最高血中濃度
DOC	sodium deoxycholate	デオキシコール酸ナトリ ウム
DSS	sodium 2,2-Dimethyl-2-silapentane-5-sulfonate	2,2-ジメチル-2-シラペン タン-5-スルホン酸ナトリ ウム
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid	エチレンジアミン四酢酸
GT+FK 細胞系	—	マウス神経系細胞由来細胞株 GT1 とマウス感染性プリオン福岡株を用いた in vitro 細胞感染系モデル
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid	2-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]エタ ンスルホン酸
HPLC	high performance liquid chromatography	高速(高性能)液体クロマ トグラフィー
LDH	lactic acid dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
MCH	mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン 量
MCV	mean corpuscular volume	平均赤血球容積
NMR	nuclear magnetic resonance	核磁気共鳴

略号	英語表記	日本語表記
PrP, mPrP, PrP <sup>Sc</sup>	—	プリオンタンパク質、マウスプリオンタンパク質、プリオンタンパク質の感染型アイソフォーム
PVDF	polyvinylidene difluoride	ポリフッ化ビニリデン
S9 mix	S9 fraction	S9 混合液
SD	standard deviation	標準偏差
TMS	trancranial magnetic stimulation	経頭蓋的磁気刺激

図表目次

図表番号	タイトル	ページ
図ロ-1	P092 の構造	4
表ロ-1		8
表ロ-2		9
表ハ-1		10
図ニ-1	P092 ラット単回投与後の雌雄毎の血漿中濃度の推移	
	(1) ラット雄	13
	(2) ラット雌	13
図ニ-2	P092 ラット単回投与後の雌雄毎の投与量と $C_{max}$ 、 $AUC_{0-24h}$ の関係	
	(1) 投与量と $C_{max}$ の関係	14
	(2) 投与量と $AUC_{0-24h}$ の関係	14
図ニ-3	P092 ラット 4 週反復投与毒性試験における雌雄毎の血漿中濃度の推移	
	(1) ラット雄 投与第 1 日目	24
	(2) ラット雌 投与第 1 日目	24
	(3) ラット雄 投与第 28 日目	25
	(4) ラット雌 投与第 28 日目	25
図ニ-4	P092 ラット 4 週反復投与毒性試験における雌雄毎の投与量と $C_{max}$ 、 $AUC_{0-24h}$ の関係	
	(1) 投与量と $C_{max}$ の関係 (ラット雄)	26
	(2) 投与量と $C_{max}$ の関係 (ラット雌)	26
	(3) 投与量と $AUC_{0-24h}$ の関係 (ラット雄)	27
	(4) 投与量と $AUC_{0-24h}$ の関係 (ラット雌)	27
図ニ-5	P092 カニクイザル単回投与毒性試験における雌雄毎の平均血中濃度の推移	
	(1) カニクイザル (雄)	33
	(2) カニクイザル (雌)	33
図ニ-6	P092 カニクイザル単回投与毒性試験における雌雄毎の投与量と $C_{max}$ 、 $AUC_{0-24h}$ の関係	
	(1) 投与量と $C_{max}$ の関係	34
	(2) 投与量と $AUC_{0-120h}$ の関係	34
表ニ-1	P092 ラット単回投与後の雌雄毎の体重の推移	
	(1) ラット雄の体重推移 (g)	12
	(2) ラット雌の体重推移 (g)	12

図表番号	タイトル	ページ
表ニ-2	被験者物質に起因すると思われる変化	16
表ニ-3	空胞化に関連する変化 (消化器系)	18
表ニ-4	空胞化に関連する変化 (泌尿器系)	19
表ニ-5	空胞化に関連する変化 (呼吸器系)	19
表ニ-6	空胞化に関連する変化 (リンパ系、造血器系)	20
表ニ-7	P092 ラット 4 週反復投与毒性試験における雌雄毎の体重推移	
	(1) ラット雄の体重推移 (g)	22
	(2) ラット雌の体重推移 (g)	23
表ニ-8	P092 カニクイザル単回投与毒性試験における雌雄毎の体重推移	
	(1) カニクイザル雄の体重推移 (kg)	29
	(2) カニクイザル雌の体重推移 (kg)	30
表ニ-9	P092 カニクイザル単回投与毒性試験トキシコキネティクス試験	
	(1) カニクイザル雄	31
	(2) カニクイザル雌	32
表ニ-10	P092 カニクイザル 2 週反復投与後の雌雄毎の体重の推移	
	(1) カニクイザル雄の体重推移 (g)	37
	(2) カニクイザル雌の体重推移 (g)	37
表ニ-11	P092 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (用量設定試験)	39
表ニ-12	P092 の染色体異常試験の結果 (短時間処理法 -S9 mix)	41
表ニ-13	P092 の染色体異常試験の結果 (短時間処理法 +S9 mix)	42
表ニ-14	P092 の染色体異常試験の結果 (連続処理法)	43
図ホ-1	NMR による P092 とプリオンタンパク質の結合解析	
	(1) NMR スペクトル (青:化合物なし、赤:化合物あり)	44
	(2) プリオンの立体構造上への化学シフトが変化した残基のマッピング	44
図ホ-2	マウス感染モデルにおける P092 腹腔内投与の効果 (生存曲線)	48
図ホ-3	P092 (メディカルシャペロン) の作用機序	49
表ホ-1	GT+FK 細胞系を用いた GN8 類縁体の PrP <sup>Sc</sup> 抑制効果	46
表ホ-2	報告されている抗プリオン化合物の PrP <sup>Sc</sup> 生成抑制効果	47
表ホ-3	マウス感染モデルにおける P092 腹腔内投与の効果 (平均生存時間)	48
図ヘ-1	雌雄ラットに P092 塩酸塩を単回投与及び反復投与したときの血漿中 P092 濃度	50
表ヘ-1	ラットに P092 リン酸塩を単回投与及び反復投与したときの薬物動態パラメータ	51
表ヘ-2	ラットに P092 塩酸塩を経口及び静脈内単回投与及び反復投与したときの血漿中 P092 の半減期( $t_{1/2}$ )	52

## 1. 要約

### 1.1. 非臨床試験

#### 1.1.1. 物理的・化学的性質

P092 (化学名) は、以下の物理的・化学的性質を示す新規化合物である。

化学名 : N,N'-((Cyclohexylmethylene)di-4,1-phenylene)

bis(2-(1-pyrrolidin)acetamide

示性式 :  $C_{31}H_{42}N_4O_2$

性状 : 白色粉末～結晶

融点 : 172～177°C (分解)

分子量 : 502.70

純度 : 99 %以上

#### 1.1.2. 薬理作用

P092 は、プリオンタンパク質のホットスポットに結合し、異常型への構造変換を抑制する。これにより、プリオン病の進行が抑えられる。腹腔内投与 (9 mg/kg/day) により、プリオン感染マウスの寿命が有意に延長した。

#### 1.1.3. 毒性

P092 はラット単回投与試験では 500mg/kg/day までは死亡例を認めず、最少致死量は 500mg/kg/day 以上と推定された。一方、4 週間の反復投与試験では、最低投与用量の 5mg/kg/day で摂餌量の減少を伴う体重増加抑制及び消化管の空胞化が認められたことから、無毒性量は、5 mg/kg/day 未満と推定された。カニクイザルを用いた単回投与試験では、1000mg/kg/day までは死亡例を認めず、最少致死量は 1000mg/kg/day 以上と推定された。2 週間の反復投与試験では、最低投与量の 50mg/kg/day から瀕死を含む、摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が認められたため、無毒性量は、50mg/kg/day 未満と推定された。

#### 1.1.4. 吸収・分布・代謝・排泄 (現在あるデータのみ)

P092 塩酸塩の単回経口投与試験の結果、P092 塩酸塩の経口吸収は速やかで、30～300 mg/kg の投与量範囲では、ほぼ投与量比で増加し、雌雄ラットにおける P092 の薬物動態は類似するものと推察された。同様の結果が P092 リン酸塩を用いた単回経口投与試験 (15～250 mg/kg) でも観察された。P092 塩酸塩を用いた、経口 (30、300 mg/kg) 又は静脈内投与 (125、500mg/kg) での反復投与試験では、P092 の薬物動態はいずれの投与経路においても、反復投与によって大きく変動しないものと推察された。

## 2. (イ) 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料

プリオン病は、ガンやエイズとは比べ物にならない、人類で最も悲惨な病気である。初めは数ヵ月にわたる進行性痴呆や視力障害、錯乱、めまい、無感情などの症状がみられ、次第に筋肉のけいれんや運動失調が起こり、最後は廃人となる。若い人が犠牲になるケースも多い。患者の大半は発病から約3～12ヵ月で死亡する<sup>1)</sup>。現在、治療法は無く、一刻も早い治療薬の開発が求められている。

クロイツフェルト・ヤコブ病や牛海綿状脳症等のプリオン病は、カリフォルニア大学サンフランシスコ校のスタンリー・B・プルシナー教授（1997年ノーベル賞）により発見された病原性タンパク質「プリオン」によって伝播する。プリオンの感染メカニズムは現在世界中で広く研究されているが、いまだ十分な理解は得られていない。プリオン病は、その原因によって三つに分類される。原因不明の孤発性プリオン病、プリオン病蛋白遺伝子の変異によって起こる家族性プリオン病、ヒトまたは動物などのプリオン病から感染したと考えられる感染症プリオン病である<sup>1)</sup>。プリオン病は約100万人に1人の稀少疾患であり、本邦において、1999年4月より2011年8月までに、クロイツフェルト・ヤコブ病サーベイランス委員会でプリオン病と認定された症例は1691例であった。それらのうち約80%は孤発性プリオン病であった<sup>2)</sup>。

治療候補物質探索も広く行われているが、ヒトプリオン病モデル細胞を用いた実験では、既発表の化合物の実際の抗プリオン効果は低く、多くは脳内に移行しにくい、又は移行してもすぐに体外に排出されてしまう、などの共通の問題点がある。従って、現時点において、プリオン病に対する確立された治療法はない。

国立大学法人岐阜大学の人獣感染防御研究センターは、ヤコブ病や牛海綿状脳症の原因となる感染性プリオンの生成を抑える新しい化合物である GN8 を世界で初めて発見した。プリオンの論理的創薬では、まずプリオンタンパク質のダイナミクス（運動状態）を、核磁気共鳴（NMR）法を用い原子分解能で決定した。次にこの情報に基づいて、プリオン内で特に大きく揺らいでいるアミノ酸残基を突き止め、それが形成するポケットに入り込む物質を、数百万の低分子化合物ライブラリーの中から計算機でスクリーニングし、その結果出力された物質を有機合成した。合成された物質 GN8 は、これらのアミノ酸をつなぎとめることにより、プリオンの構造変化を防いでいることが実験的に証明され、細胞実験や動物治療実験により、その治療効果が確認された<sup>3)</sup>。このような一連の論理的方法により、最終的に GN8 が、抗プリオン物質として同定



された。

GN8 及びその類縁体において、構造最適化を進めた結果、GN8 類縁体「P092」の抗プリオン効果が現時点において世界で最も強く ( $IC_{50} \sim 200nm$ )、脳内にも確実に移行することが PET イメージングにより確認された<sup>4)</sup>(特願 2009-218247)。また、プリオンに感染したマウスに P092 を末梢投与(腹腔内)すると、有意な寿命の延長効果がみられた。さらに、ラット及びカニクイザルを用いた非臨床試験(非 GLP)において、特段の副作用が認められないことが判明した。そこで、P092 を新規抗プリオン病薬として、開発を進めることにした。

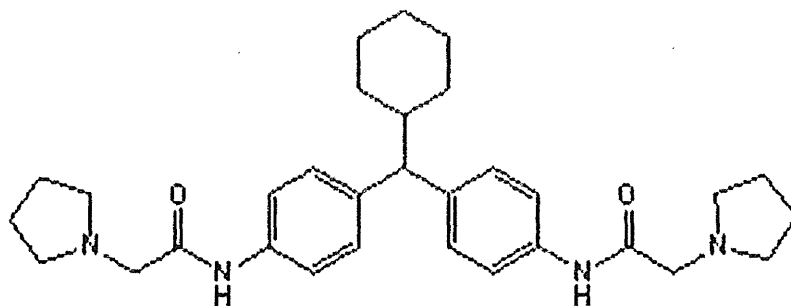
現在、P092の開発は、厚生労働省難治性疾患等克服研究事業において、研究課題「プリオン病に対する低分子シャペロン治療薬の開発」(H24難治等(難)一般004)として推進されている。本研究の目的は、医師主導治験への移行を目的とし、抗プリオン物質であるP092の有機合成(治験薬GMP施設)、非臨床安全性試験を実施することにある。本研究は以下の4本の柱からなっている。

- (1) 医薬基盤研究所「基礎研究開発事業(18~22年度)」、文部科学省「新興・再興感染症ネットワーク事業(16~21年度)」などにより、主として岐阜大学において開発されたケミカルシャペロンとしての新規抗プリオン物質GN8類縁体「P092」( $IC_{50} \sim 200nm$ )を、治験薬GMP施設にて有機合成する。
- (2) 第I相試験実施のために必要なラット、イヌ、カニクイザル等を用いた非臨床試験を実施する。
- (3) カニクイザル感染モデルを用いた非臨床試験を実施する。
- (4) 東京医科歯科大学医学部において、医師主導治験を本格的に実施するための治験実施計画書を作成し、治験相談を実施する。

プリオン病は、我が国において、非定型例も含め、確実に増加しつつあるが、信頼できる治療法がないことは、社会にとって大きな脅威である。本研究はプリオン病に対する治療薬を実用化するものであり、達成されれば国民の安心安全の確保、及び医療費の抑制につながり、厚生労働行政に多大に貢献できるものとする。

3. (ロ) 物理的・化学的性質ならびに規格及び試験法に関する資料  
(東京化成株式会社)

3.1. 原薬の化学構造



図ロ-1 P092 の構造

3.2. 物理的および化学的性質

3.2.1. 原薬の性状

化学名 : N,N'-((Cyclohexylmethylene)di-4,1-phenylene)bis(2-(1-pyrrolidinyl)acetamide)

示性式 :  $C_{31}H_{42}N_4O_2$

性状 : 白色粉末～結晶

融点 : 172～177℃ (分解)

分子量 : 502.70

純度 : 99 %以上

溶解性 : 水、アセトニトリル、ヘキサンに不溶、エタノールに可溶 (確認必要)

3.2.2. 原薬の規格および試験方法

(原薬の試験方法)

1. 融点

日本薬局方の融点測定法の第1法に準拠し、融点を測定する。

2. 試料の調製

2-1 融点測定器適合性用試料の調製

スルファニルアミド (予想融点 165.6～166.1℃) をメノウ乳鉢にとりメ

ノウ乳棒で細かく粉碎し、シリカゲル入りデシケーターで 24 時間以上乾燥する。また、毛細管もシリカゲル入りデシケーターで 24 時間以上乾燥する。粉碎し乾燥したスルファニルアミドを乾燥した毛細管に入れ、閉じた一端を下にしてガラス板上に立てた長さ約 70 cm のガラス管の内部に落とし、はずませて固く詰め、層厚が 2.5 mm～3.5 mm となるようにする。乾燥以降の操作を n=3 で実施する。

## 2-2 融点測定用試料の調製

検体（予想融点 172～175℃）を適量採り、メノウ乳鉢にとりメノウ乳棒で細かく粉碎し、シリカゲル入りデシケーターで 24 時間乾燥する。また、毛細管もシリカゲル入りデシケーターで 24 時間乾燥する。検体を乾燥した毛細管に入れ、閉じた一端を下にしてガラス板上に立てた長さ約 70 cm のガラス管の内部に落とし、はずませて固く詰め、層厚が 2.5 mm～3.5 mm となるようにする。以上の操作を n=3 で実施する。

## 3. 融点の測定

融点測定器内のシリコンオイルを加熱し、予想した融点の約 10℃下の温度まで徐々に上げる。2-1 及び 2-2 で調製した毛細管を融点測定器に挿入する。その後、1 分間に約 3℃上昇するように加熱して温度を上げ、予想した融点の約 5℃低い温度から 1 分間に約 1℃上昇するように加熱を続ける。試料が毛細管内で液化して固体を全く認めなくなったときの温度計の示度を読み取り、融点の測定値とする。3 回繰返し測定し、測定値の平均値を小数点以下第 1 位に丸めて融点とする。

## 4. 赤外吸収スペクトル

### 4-1 検体入り臭化カリウム錠剤の調製

融点測定で用いる乾燥粉末の一部を使用する。乾燥した検体を 1～2mg 及び赤外吸収スペクトル用臭化カリウム 0.10g～0.20g を加え、湿気を吸わないように注意し、速やかによくすり混ぜた後、錠剤成形器に入れて加圧製錠する。N=1 で行う。

ただし、必要ならば、0.67kPa 以下の減圧下に錠剤の単位面積 (cm<sup>2</sup>) 当たり 50～100kN (5000～10000kg) の圧力を 5～8 分間加えて透明な錠剤を製する。

### 4-2 対照臭化カリウム錠剤の調製

赤外吸収スペクトル用臭化カリウム 0.10～0.20 g を、湿気を吸わないように注意し、速やかによくすり混ぜた後、錠剤成形器に入れて加圧製錠し、対照臭化カリウム錠剤とする。N=1 で行う。

ただし、必要ならば、0.67kPa 以下の減圧下に錠剤の単位面積 (cm<sup>2</sup>) 当たり 50～100kN (5000～10000kg) の圧力を 5～8 分間加えて透明な錠剤を製する。

#### 4-3 装置の調整法

分解能、透過率の再現性及び波数の再現性が以下の試験に適合することを確認する。

厚さ約 0.04 mm のポリスチレン膜の吸収スペクトルを測定するとき、得られた吸収スペクトルの  $2870\text{ cm}^{-1}$  付近の極小と  $2850\text{ cm}^{-1}$  付近の極大における透過率 (%) の差は 18%以上である。また、 $1589\text{ cm}^{-1}$  付近の極小と  $1583\text{ cm}^{-1}$  付近の極大の透過率 (%) の差は 12%以上であることを確認する。

波数目盛は、ポリスチレン膜の特性吸収波数 ( $\text{cm}^{-1}$ ) のうち、 $3060.0(\pm 1.5)$ 及び  $1028.3(\pm 1.0)$ の二点を用いて波数のずれを確認する。波数にずれがある場合は波数補正を行う。なお () 内の数値はこれらの値の許容範囲を示す。

透過率及び波数の再現性は、ポリスチレン膜の  $3000\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ における数点の吸収を 2 回繰り返して測定するとき、透過率の差は 0.5%以内とし、波数の差は  $3000\text{ cm}^{-1}$  付近で  $5\text{ cm}^{-1}$  以内、 $1000\text{ cm}^{-1}$  付近で  $1\text{ cm}^{-1}$  以内であることを確認する。

#### 4-4 赤外吸収スペクトルの測定

対照臭化カリウム錠剤及び検体入り臭化カリウム錠剤をフーリエ変換赤外分光光度計で赤外吸収スペクトルを測定する。

対照臭化カリウム錠剤の吸収スペクトルと検体入り臭化カリウム錠剤の吸収スペクトルとを比較し得られた検体のスペクトルと、標準のスペクトルを比較する。N=1 で行う。

### 5. 核磁気共鳴スペクトル

#### 5-1 試料溶液の調製

検体 10~50mg を TMS 入り重クロロホルム 0.5mL に溶かし、NMR 測定用チューブに封入する。

#### 5-2 核磁気共鳴スペクトルの測定

均一に溶解した試料溶液につき核磁気共鳴スペクトル測定装置でプロトン NMR を測定する。測定条件は標準のスペクトルと同一条件で以下のように行う。

NMR に装着した 500MHz  $^1\text{H}\cdot^{19}\text{F}/^{15}\text{N}\cdot^{31}\text{P}$  5mm PFG Switchable Probe に検体溶液の入った NMR 測定管を挿入し、16 Hz で回転させる。

測定温度は常温、45 度パルスの 3.5 秒照射、ディレイ間隔 4 秒のパルスシーケンスで 16 回積算測定し、フーリエ変換を行う。

Oppm 付近の TMS シグナルを 0ppm に設定し、0ppm から 10ppm の観測範囲のシグナルについてマニピュレーションで積分曲線をつけ、バックグラウンド補正を行う。

検体のスペクトルと標準のスペクトルを比較し、両者のスペクトルの化学シフト、多重度、結合定数、シグナル面積強度比を比較する。N=1 で行う。

## 6. 純度

### 6-1 移動相 B の調製

蒸留水 1000mL にトリフルオロ酢酸 2mL 加え振り混ぜる。なお、調製量は、必要に応じて、同じ比率で変更することができる。

### 6-2 試料溶解液の調製

アセトニトリル 1 容量と 6-1 で調製した移動相 B を 1 容量を振り混ぜる。

### 6-3 試料溶液の調製

検体約 5mg を量り、試料溶解液に溶かし、20mL にする。N=3 で実施する。

### 6-4 システム適合性の確認

試料溶液の 1 本について、下記の分析条件で 6 回繰り返して高速液体クロマトグラフィー（以下、HPLC と略す）に注入する。初めの 1 回について、P092 のピーク理論段数が 2000 段以上及びシンメトリー係数が 2.0 以下であることを確認する。また、6 回繰り返し測定したときの P092 のピーク面積の相対標準偏差 (RSD) が 2.0 % 以下のときを適合とし、システム適合性が確認された機器を用いて試料溶液の分析を行う。

### 6-5 HPLC 分析

試料溶液 5 $\mu$ L に付き、以下の条件で液体クロマトグラフィーを行い、P092 のピーク面積を測定する。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：254nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル充填カラム

製造業者：株式会社ジーエルサイエンス

名称：Inertsil ODS-2

サイズ：250 $\times$ 4.6 mmI.D.

シリアル番号：2LS11106

カラム温度：40 $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相条件：アセトニトリル：移動相 B を 20:80 から開始して、20 分間の直線グラジエント法で 60:40 にし、その後 30 分間この条件を保つ。

液量：1.0mL/min

試料溶液注入量：5 $\mu$ L

以上の条件で測定したとき、P092 は 15 分付近に検出される。

## 6-6 純度の計算式

本品の純度(%)

$$= (\text{P092のピーク面積}) / (\text{保持時間4分から35分のピーク面積の合計}) \times 100$$

## 7. 粉末 X 線回折測定

### 7-1 機器の校正

X 線回折装置を起動し、X 線を発生させ、30 分ほど安定させる。その後、軸のイニシャライズを行い、X 線源と検出器の位置の調整をする。その後アルミナ焼結板を測定して 35° 付近のピーク強度を確認し、感度を確認する。

### 7-2 試料の調製

検体 1~2 g を乳鉢に採り、すり潰して測定試料を調製する。

### 7-3 X 線回折パターンの測定

測定試料を試料ホルダに詰め、X 線回折装置にて測定する。

### 7-4 X 線回折パターンの比較

開始時の X 線回折パターンと所定時間経過時の X 線回折パターンの回折ピークの位置を比較する。

(原薬の規格)

以下の様に規格を定める。

表ロ-1

試験項目	試験方法	規格
融点	日局一般試験法 融点測定法	172~177°C
赤外吸収スペクトル	日局一般試験法 赤外吸収スペクトル測定法	標準スペクトルに一致する
核磁気共鳴スペクトル	日局一般試験法 核磁気共鳴スペクトル法	標準スペクトルに一致する
純度	日局一般試験法 液体クロマトグラフィー	本品のピーク面積が、保持時間4分から35分の間に得られたピーク面積の99%以上
粉末X線結晶構造回折	日局一般試験法 粉末X線回折測定法	規格を決定しない

### 3.2.3. 原薬の貯法と安定性

冷蔵で保存。

## 安定性試験

### 1. 加速試験

#### 1-1 検体の調製方法

東京化成工業株式会社において、被験物質を 8 本（保存開始時分析用 1 本、各取出し検体分析用 3 本及び予備検体用 4 本）のガラスサンプル瓶に小分けにし、送付された被験物質に管理番号を付与したものを検体とする。管理番号は試験番号に保存期間を付与したものとす。試験内容に応じて希釈等が必要な場合は、必要な希釈等を実施したものを検体とし、その調製法は、それぞれの試験方法に記載する。

#### 1-2 検体の保存

検体の保存はエタック安定性試験器（型式：LX330）で実施する。保存条件は加速試験条件（温度： $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $75\%\text{RH}\pm 5\%\text{RH}$ ）とし、環境モニタリングシステム（ヴァイサラ（株））で保存中の温湿度をモニターする。

表ロ-2

試験項目／保存期間	保存開始時	1箇月	3箇月	6箇月
融点	○	○	○	○
赤外吸収スペクトル	○	○	○	○
核磁気共鳴スペクトル	○	○	○	○
純度	○	○	○	○
粉末X線結晶構造回折	○	○	○	○

## 4. (ハ) 安定性試験に関する資料

### 4.1. 加速試験

ロット番号 QWAUD （製造年月日 2013 年 1 月 21 日）

表ハ-1

項目		化合物コード名: P092		ロット番号: QWAUD		製造日: 2013年1月21日		製造場所: 東京化成工業株式会社		保存開始日: 2013年1月29日	
		保存温湿度条件: 40°C±2°C/75%±5%RH		初期値		1箇月保存品		3箇月保存品		6箇月保存品	
		方法		規格		2013年1月29日		2013年2月28日		2013年5月7日	
融点	1回目	日局融点測定法	172~177°C	177.4°C		177.7°C		176.7°C			
	2回目			177.2°C		177.7°C		177.1°C			
	3回目			176.5°C		177.0°C		177.4°C			
	平均値			177.0°C		177.5°C		177.1°C			
	SD			0.5°C		0.4°C		0.4°C			
	RSD			0.27%		0.23%		0.20%			
	規格の適否			適合(177°C)		不適合(178°C)		適合(177°C)			
赤外吸収スペクトル		日局赤外吸収スペクトル測定法	標準スペクトルに一致する	規格に適合した	規格に適合した	規格に適合しなかった(暫定)					
核磁気共鳴スペクトル		日局核磁気共鳴スペクトル法	標準スペクトルに一致する	規格に適合した	規格に適合した	規格に適合した					
粉末X線回折		日局粉末X線回折測定法	規格を決定しない	-	初期値とほぼ同一だった	初期値とほぼ同一だった					
純度	1回目	日局液体クロマトグラフィー	本品のピーク面積が、保持時間4分から35分の間に得られたピーク面積の99%以上	99.19%		99.07%		98.72%			
	2回目			99.15%		98.86%		98.82%			
	3回目			99.11%		99.04%		98.65%			
	平均値			99.15%		98.99%		98.73%			
	SD			0.04%		0.11%		0.09%			
	RSD			0.04%		0.11%		0.09%			
	規格の適否			適合(99%)		適合(99%)		適合(99%)			

4.2. 苛酷試験  
実施中

4.3. 長期安定性試験  
今後実施

5. (二) 急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、催奇形性その他の毒性に関する資料 (三菱化学メデイエンス株式会社)

5.1. ラットにおける単回投与毒性試験

[実験方法および結果]

P092をラット(CrI: CD (SD)、雌雄各5匹/群)に、0、50、150及び500 mg/kg/dayの用量で、単回経口投与し、発現する毒性変化を確認した。なお、対照群(0 mg/kg/day)には媒体(0.5 w/v%メチルセルロース水溶液)のみを投与した。また、サテライト群(雌雄各3匹/群)を設け、P092の血漿中濃度の推移を検討した。

その結果、被験物質投与に起因した死亡あるいは瀕死動物は認められなかった。



一般状態観察において、50 mg/kg/day 以上の群の雌雄で下痢が、投与後約 2 時間～第 3 日に一過性ないし継続して認められた。

体重及び体重増加量の低値又は低値傾向が 150 mg/kg/day 群の雄で第 2 日に、500 mg/kg/day 群の雄で第 2 日～第 4 日に、雌で第 2 日及び第 4 日に認められた。500 mg/kg/day 群の雄では、第 8 日にも体重の低値が認められた。雄雌ごとの体重推移を表ニ-1 に示す。

摂餌量の減少が、500 mg/kg/day 群の雌雄で第 4 日に認められた。

病理解剖検査では、被験物質投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

トキシコキネティクス測定において、P092 の  $C_{max}$  及び  $AUC_{0-24h}$  は、投与量の増加に伴い増加した。また、 $C_{max}$  及び  $AUC_{0-24h}$  に明らかな性差は認められなかった。P092 の平均血漿中濃度の推移及び雄雌別の投与量と  $C_{max}$  又は  $AUC_{0-24h}$  との関係をそれぞれ、図ニ-1 の(1)及び(2)、図ニ-2 の(1)及び(2)に示す。

以上の結果から、本実験条件下での P092 の最小致死量は、雌雄とも 500 mg/kg/day 以上であると考えられる。

表二-1 P092 ラット単回投与後の雌雄毎の体重の推移

(1) ラット雄の体重推移 (g)

ラット雄 投与量 (mg/kg)		投与日を第1日目とした時間経過 (日)					
		1	2	4	8	11	15
0	平均	166.98	196.38	216.34	253.94	282.14	316.88
	SD	5.94	6.58	6.39	6.84	7.62	7.09
	N	5	5	5	5	5	5
50	平均	167.12	191.04	213.52	253.92	281.62	314.86
	SD	4.39	6.56	7.50	12.09	16.3	20.37
	N	5	5	5	5	5	5
150	平均	166.46	184.86	210.26	251.74	282.98	320.08
	SD	5.38	6.35	10.14	12.30	16.20	19.58
	N	5	5	5	5	5	5
500	平均	168.10	173.90 dd	177.02 dd	228.70 dd	261.62	302.08
	SD	5.00	16.35	9.57	10.04	12.21	15.59
	N	5	5	5	5	5	5

dd: Test Dunnett 2 sided p < 0.01

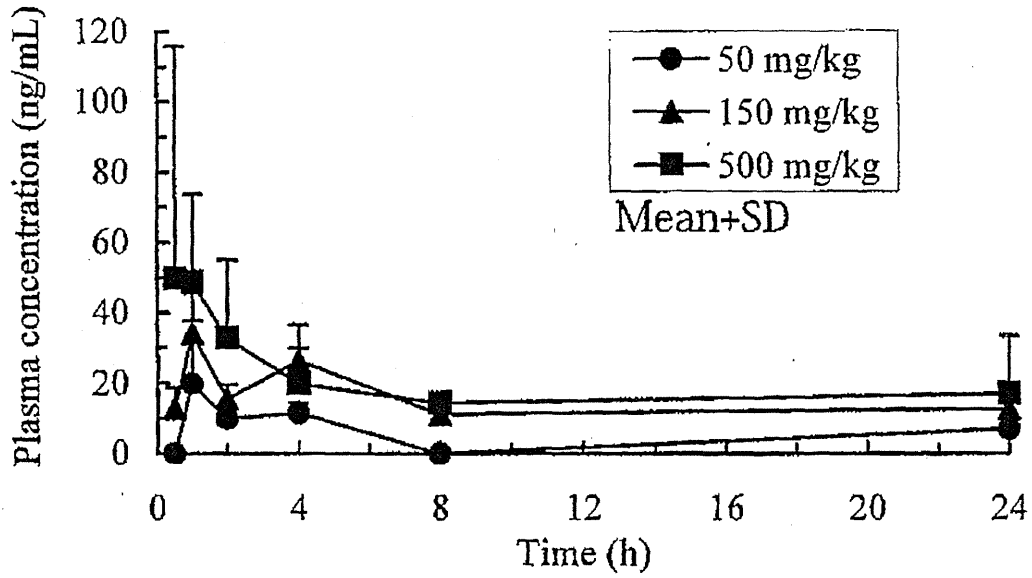
(2) ラット雌の体重推移 (g)

ラット雌 投与量 (mg/kg)		投与日を第1日目とした時間経過 (日)					
		1	2	4	8	11	15
0	平均	137.96	162.68	170.60	188.96	203.28	219.36
	SD	5.45	7.68	8.51	13.59	13.41	16.00
	N	5	5	5	5	5	5
50	平均	137.54	155.46	168.98	188.24	198.78	215.18
	SD	5.50	8.39	8.80	9.45	7.67	11.33
	N	5	5	5	5	5	5
150	平均	137.72	155.24	170.90	195.32	210.44	217.08
	SD	6.26	4.69	8.81	16.00	26.47	25.85
	N	5	5	5	5	5	5
500	平均	139.82	142.70 dd	149.72 dd	185.42	202.38	217.74
	SD	6.34	6.84	7.69	9.51	13.72	17.83
	N	5	5	5	5	5	5

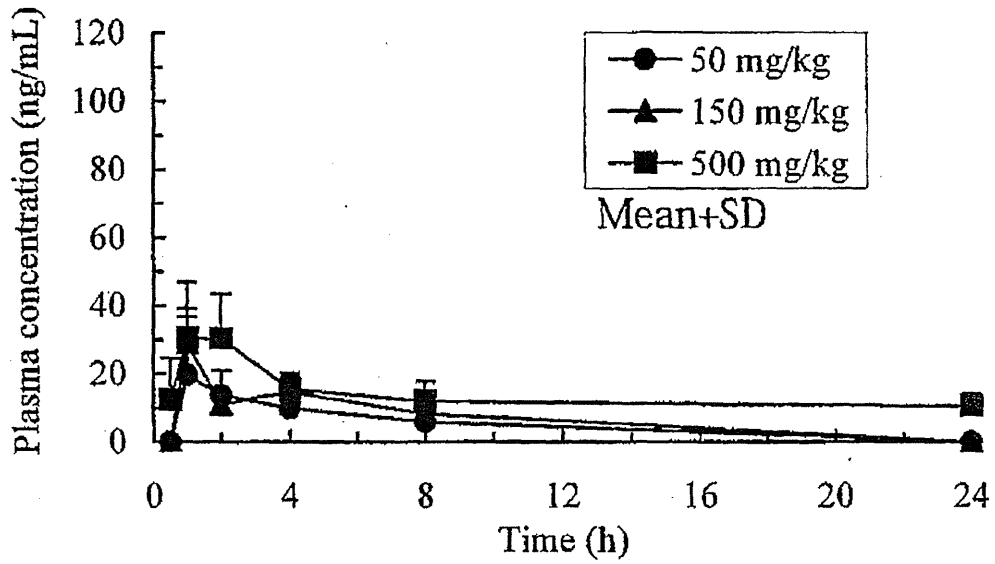
dd: Test Dunnett 2 sided p < 0.01

図二-1 P092 ラット単回投与後の雌雄毎の血漿中濃度の推移

(1) ラット雄

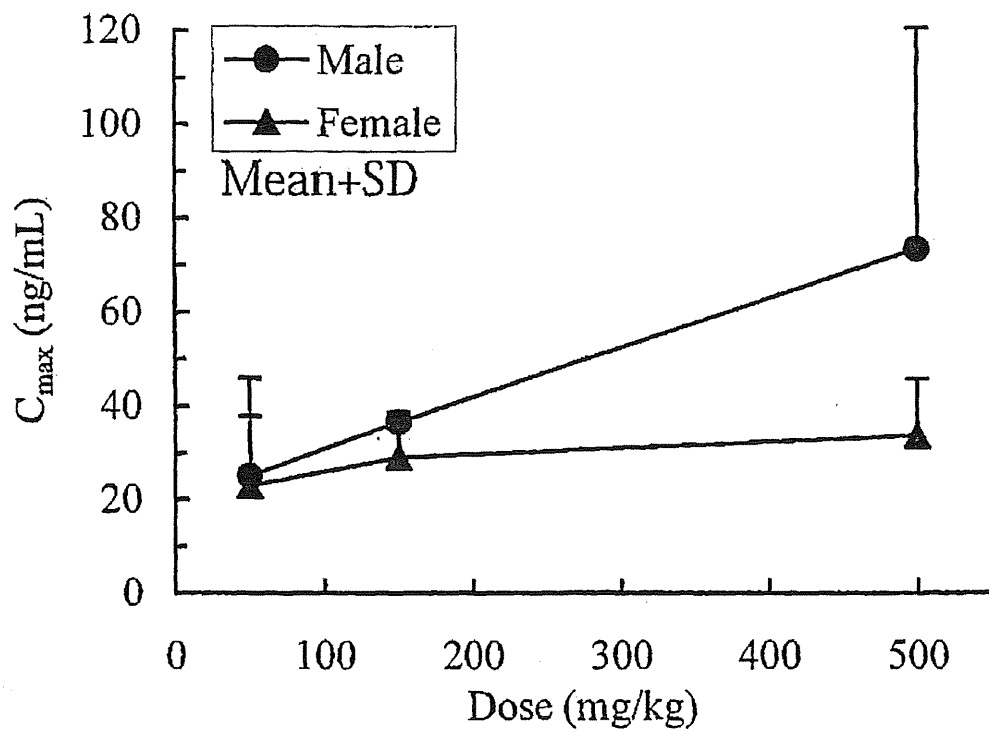


(2) ラット雌



図二-2 P092 ラット単回投与後の雌雄毎の投与量と  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-24h}$  の関係

(1) 投与量と  $C_{max}$  の関係



(2) 投与量と  $AUC_{0-24h}$  の関係

