

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	2
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	4
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	5
3.1. 原薬の化学構造	5
3.2. 物理的および化学的性質	6
3.2.1. 原薬の性状	6
3.2.2. 原薬の規格および試験方法	6
4. (ハ) 安定性試験に関する資料 (東京化成工業株式会社)	16
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 (株式会社 LSI メディエンス)	21
5.1. ラットにおける 4 週間間歇静脈内投与毒性試験	21
5.2. P092 マレイン酸塩のカニクイザルにおける 4 週間間歇静脈内投与毒性試験	34
5.3. 変異原性試験	46
5.3.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験	46
5.3.2. 哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験	49
5.3.3. ラットを用いる小核試験	54
6. (ホ) 薬理作用に関する資料	60
6.1. 核磁気共鳴法による結合試験	60
6.2. 表面プラズモン共鳴分析法による結合試験	61
6.3. GT+FK 細胞系を用いた試験	61
6.4. マウス感染モデルを用いた試験	62
6.5. 作用機序	64
7. (ヘ) 吸収・分布・代謝・排泄に関する資料	65
7.1. 被験物質および構造と標識位置	65
7.2. 放射能濃度および放射化学的純度	65
7.3. ラットにおける ¹⁴ C]P092 マレイン塩酸塩の単回静脈内投与後の血中動態、排泄 及び分布	65
7.4. 血液、血漿、脳及び脳脊髄液中放射能濃度	76
7.5. カニクイザルにおける ¹⁴ C]P092 マレイン塩酸塩の単回静脈内投与後の血中動態、 排泄及び分布	76
8. 参考文献	84
9. 添付資料	84

版番号：Ver.1 P092 のプロフィール 2013 年 8 月 1 日 発行
版番号：Ver.2 P092 マレイン酸塩のプロフィール

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 _{0-24h}	area under the blood concentration time curve	血中濃度曲線下面積
AUQ	Above the upperlimited of Quantification	定量限界以上
BSE	bovine spongiform encephalopathy	牛型海綿状脳症
CK	creatine kinase	クレアチンキナーゼ
C _{max}	maximum drug concentration	最高血中濃度
CMC	carboxymethyl cellulose	カルボキシメチルセルロース
CPME	Cyclopentene	シクロペンチルメチルエーテル
CL _{total}	total body clearance	全身クリアランス
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	—	GT1-7 細胞（不死化視床下部神経細胞）+ Fukuoka-1 BSE 感染株
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
IPE	Isopropyl Ether	イソプロピルエーテル
IMEs	immature erythrocyte(s)	幼若赤血球
KP	Tissue-to-Plasma Concentration Ratio	組織—血漿中濃度比
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
MEs	mature erythrocyte(s)	成熟赤血球
MCV	mean corpuscular volume	平均赤血球容積
NMR	nuclear magnetic resonance	核磁気共鳴
ND	non-detection	検出限界値

略号	英語表記	日本語表記
PrP, mPrP, PrP ^{Sc}	prion protein, mouse prion protein, scrapie-type prion protein	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
PSL	Photostimulated luminescence	光励起ルミネセンス
S9 mix	S9 fraction	S9 混合液
SD	standard deviation	標準偏差
TA	salmonella Thyphimurium	サルモネラ菌株
TMS	trancranial magnetic stimulation	経頭蓋的磁気刺激
THF	tetrahydrofuran	テトラヒドロフラン
MRT _{0-inf}	mean residence time	平均滞留時間
WP	escherichia coli strain	大腸菌株
Vdss	volume of distribution	定常状態分布容積

図表目次

図表 番号	タイトル	ペー ジ
図ロ-1	P092 マレイン酸塩の構造	5
表ロ-1	P092 マレイン酸塩の暫定規格	15
表ロ-2	P092 マレイン酸塩原薬の長期安定性試験における規格および試験項目	17
表ハ-1	P092 マレイン酸塩原薬の長期安定性試験成績	18
表ニ-1	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のラットにおける体重推移	23
表ニ-2	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のラットにおける摂餌量	24
表ニ-3	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のラットにおける血液生化学的検査	25
表ニ-4	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のラットにおける病理組織学的検査	26
表ニ-5	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のラットにおける血中濃度	31
表ニ-6	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のカニクイザルにおける体重推移	36
表ニ-7	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のカニクイザルにおける血液学的検査	37
表ニ-8	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のカニクイザルにおける血液生化学的検査	39
表ニ-9	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のカニクイザルにおける投与部位の病理組織学的検査	34
表ニ-10	P092 マレイン酸塩 4 週間間歇静脈投与後のカニクイザルにおける血中濃度	43
表ニ-11	P092 マレイン酸塩の細菌を用いる復帰突然変異試験（用量設定試験）	47
表ニ-12	P092 マレイン酸塩の細菌を用いる復帰突然変異試験（本試験）	48
表ニ-13	P092 マレイン酸塩の染色体異常試験の結果（細胞増殖）	50
表ニ-14	P092 マレイン酸塩の染色体異常試験の結果（短時間処理法 -S9 mix）	51
表ニ-15	P092 マレイン酸塩の染色体異常試験の結果（短時間処理法 +S9 mix）	52
表ニ-16	P092 マレイン酸塩の染色体異常試験の結果（連続処理法）	53

図表 番号	タイトル	ペー ジ
表ニ -17	P092 マレイン酸塩小核試験におけるラット一般状態	56
表ニ -18	P092 マレイン酸塩小核試験におけるラット体重推移	57
表ニ -19	P092 マレイン酸塩小核試験(48 時間)	58
表ニ -20	P092 マレイン酸塩小核試験(72 時間)	59
図ホ-1	NMR による P092 とプリオンタンパク質の結合解析	60
	(1) NMR スペクトル (青 : 化合物なし、赤 : 化合物あり)	
	(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	
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)	63
図ホ-3	P092 (メディカルシャペロン) の作用機序	64
表ホ-1	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)	63
図へ-1	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩ラット単回静脈内投与時の血中放射濃度	68
表へ-1	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩ラット単回静脈内投与時の血中放射濃度 とファルマコキネテックス	67
表へ-2	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩ラット単回静脈内投与時の尿中、糞中及 び呼気中の放射能排泄	68
表へ-3	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩ラット単回静脈内投与時の組織中放射濃度	71
図へ-2	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩ラット単回静脈内投与 1 時間後の 組織中放射濃度分布	72
図へ-3	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩ラット単回静脈内投与 24 時間後の 組織中放射濃度分布	73
図へ-4	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩ラット単回静脈内投与 168 時間後の 組織中放射濃度分布	74
図へ-5	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩ラット単回静脈内投与 336 時間後の 組織中放射濃度分布	75
表へ-4	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩ラット単回静脈内投与時の 血液、血漿、脳及び脳脊髄液中放射濃度	76
図へ-6	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩カニクイザル単回静脈内投与時の血中放射濃 度	77
表へ-5	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩カニクイザル単回静脈内投与時の 血中放射濃度とファルマコキネテックス	78
図へ-6	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩カニクイザル単回静脈内投与時の 尿中及び糞中の放射能排泄	79

図表 番号	タイトル	ペー ジ
表へ-7	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩カニクイザル単回静脈内投与時の 組織中放射濃度	82
表へ-8	[¹⁴ C]P092 マレイン酸塩カニクイザル単回静脈内投与時の 組織中放射能分布率	83
表-1	物理化学的性質並びに規格及び試験法等に関する資料	85
表-2	薬理作用に関する資料（効力を裏付ける試験）	86
表-3	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	87
表-4	吸収・分布・代謝及び排泄に関する資料	89

1. 要約

1.1. 非臨床試験

1.1.1. 物理的・化学的性質

P092 マレイン酸塩（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-pyrrolidiny)acetamide]Dimaleate

構造式：C₃₁H₄₂N₄O₂・2C₄H₄O₄

性状：白色～微黄色の結晶性の粉末

分子量：734.83

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。（P092 フリー体としての結果）

1.1.3. 毒性

P092 マレイン酸塩をラット及びカニクイザルに4週間間歇静脈投与試験から、以下の結果を得た。

P092 マレイン酸塩をラット（CrI: CD (SD), 雌雄各6匹/群）に、0, 0.5, 1及び10 mg/kgの用量で、4週間間歇静脈内投与（週1回、尾静脈投与）し、現れる毒性変化を確認した。その結果、死亡及び瀕死動物は発現せず、一般状態観察でも一過性の投与部位の暗赤色化が10 mg/kgの少数例で認められたのみであった。体重、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び病理解剖検査では、いずれの用量群にも被験物質投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、10 mg/kg群の雌雄で胆管上皮の軽微な空胞化、及び脾臓の濾胞辺縁帯のマクロファージの軽微な空胞化が認められた。また投与部位血管（尾静脈）では、血管内膜の増殖及び血管周囲の炎症性細胞浸潤が10 mg/kg群の雌雄全例で認められ、被験物質投与液の刺激性が示唆された。10 mg/kg群の雌1例では、尾静脈に軽度の血栓も認められた。

初回投与時の血液中濃度測定では、投与されたP092は投与7日後でも血液中から検出され、また反復投与により10 mg/kg群では血液中濃度は増加する傾向を示した。同群のt_{1/2}は反復投与により延長する傾向がみられたことから、

P092 の蓄積性が示唆された。

以上のごとく、P092 マレイン酸塩をラットに静脈内投与した場合、10 mg/kg では投与部位局所（静脈）に炎症性変化が惹起されるが、全身性の重篤な変化は認められなかった。

本試験条件下では、ラットにおける無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg と結論した。

一方、P092 マレイン酸塩をカニクイザルに、0, 1, 10 及び 30 mg/kg の用量で、4 週間間歇静脈内投与（週 1 回）し、現れる毒性変化を確認した。1 用量群当たり雌雄各 2 例を用いた。投与は橈側皮静脈あるいは伏在静脈から行い、投与日毎に投与部位を変えた。被験物質投与の影響は、10 mg/kg 以上の用量群で投与部位に認められた。血液生化学的検査では、 γ -グロブリンの高値が 10 mg/kg 群の雄、脾臓重量の高値が 30 mg/kg 群の雄で認められた。

一般状態観察では、血尿が 30 mg/kg 群の雌雄、赤血球数、ヘモグロビン濃度の低下及び網赤血球率の高値が 10mg/kg 群の雄及び 30 mg/kg 群の雌雄、骨髄（大腿骨、胸骨）における造血細胞の増加が 30 mg/kg 群の雌雄、下顎リンパ節における髄外造血が 10 mg/kg 以上の用量群の雄及び 10 mg/kg 群の雌に認められた。1 mg/kg 群では、いずれの個体にも異常は認められなかった。血液中の P092 濃度推移については、投与された P092 は投与 7 日後でも血液中から検出され、また反復投与により、血液中濃度は増加する傾向を示したことから、P092 の蓄積性が示唆された。

以上のごとく、P092 マレイン酸塩をカニクイザルに静脈内投与した場合、10 mg/kg 以上の用量では投与部位局所（静脈）に炎症性変化が惹起され、また薬物の溶血性に関連した変化が認められた。

本試験条件下では、カニクイザルにおける無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg と結論した。

また、本化合物は、復帰突然変異試験、染色体異常試験及び小核試験の結果から変異原性を有しないことが明らかとなった。

1.1.4. 吸収・分布・代謝・排泄

[¹⁴C]P092 マレイン酸塩を雄性ラット及びカニクイザルに 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与して、放射能の血液中濃度推移、尿、糞及び呼気中（ラットのみ）排泄並びに組織中濃度について検討し、以下の結果が得られた。

血液中放射能濃度は投与後 5 分に 298.3 ng eq./mL を示した後、経時的に低下し、消失半減期 ($t_{1/2}$) は 91.9 h であった。投与後 336 時間までの尿及び糞中への放射能の累積排泄率はそれぞれ 12.3% 及び 85.2% であり、放射能の呼気中排泄は認められず、ラットにおいて静脈内投与された [¹⁴C]P092 マレイン酸塩の主排泄経路は糞中排泄であることが示された。また、投与後 336 時間においても体内に投与放射能の 15.6% が残存しており、[¹⁴C]P092 及び/又はその代

謝物には組織残留性があり、体外への排泄は緩徐であると考えられた。

組織中放射能濃度を定量的全身オートラジオグラフィ（QWBA）で検討した結果、いずれの時点のラジオルミノグラムにおいても大部分の組織に放射能が検出され、特に脾臓で高い放射能が認められた。各組織の放射能濃度は、多くの組織においては投与後 1 又は 24 時間に最高値を示したが、下垂体では投与後 168 時間、大脳、ハーダー氏腺及び胸腺では投与後 336 時間で最高値を示した。放射能濃度は大部分の組織において血液よりも高く、特に肺、副腎及び脾臓では顕著に高い濃度の放射能が認められ、 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ 及び/又はその代謝物は組織移行性が高いことが示唆された。また、投与後 336 時間においても多くの組織の放射能濃度が認められ、 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ 及び/又はその代謝物の組織残留性が示唆された。

投与後 1、24 及び 168 時間における血液、血漿、脳及び脳脊髄液中放射能濃度を測定した結果、投与後 1 及び 24 時間の血液中放射能濃度は血漿中放射能濃度の約 10 倍の値であり、 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ の血球成分への高い移行性が示唆された。脳中放射能濃度は投与後 168 時間で最高値を示したことから $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ 及び/又はその代謝物の脳組織への移行は緩徐であることが推察された。なお、脳脊髄液中放射能濃度は、いずれの測定時点においても ND であった。

一方、 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ マレイン酸塩を雄性カニクイザルに 1 mg/kg の用量で単回静脈内投与して、放射能の血液及び血漿中濃度推移、尿及び糞中排泄並びに組織中濃度について検討した。血液中放射能濃度は投与後 5 分に 511.2 ng eq./mL を示したのち、経時的に低下し、消失半減期 ($t_{1/2}$) は 186.3 h であった。血漿中放射能濃度は血液中放射能濃度と比較して同程度又は低い値で推移し、 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ マレイン酸塩は血球成分に移行し易いことが推察された。投与後 336 時間までの尿及び糞中への放射能の累積排泄率はそれぞれ 17.2% 及び 44.6% であり、サルにおいて静脈内投与された $[^{14}\text{C}]\text{P09}$ マレイン酸塩の主排泄経路は糞中排泄であることが示された。各組織中放射能濃度の最高値は、小脳、脊髄及び皮膚においては投与後 168 時間、大脳、延髄、眼球、顎下腺、腸間膜リンパ及び精巣においては投与後 336 時間、その他の組織においては投与後 24 時間に認められた。脳脊髄液中の放射能はいずれの測定時点においても検出限界未満 (ND) であった。組織中放射能濃度は大部分の組織において血漿よりも高く、特に肺、副腎、脾臓及び顎下腺では顕著に高い濃度の放射能が認められ、 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ マレイン酸塩及び/又はその代謝物は組織移行性が高いことが示唆された。また、多くの組織において投与後 168 又は 336 時間に最高濃度を示し、組織への移行は緩徐であることが示唆された。投与後 336 時間までの総排泄率は 64.6% に留まり、組織中放射能分布率の合計が投与放射能の 25.11% であったことから、 $[^{14}\text{C}]\text{P092}$ マレイン酸塩及び/又はその代謝物は組織残留性があり、体外への排泄は緩徐であると考えられた。

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、ガンやエイズとは勝るとも劣らない、人類で最も悲惨な病気である。初期数ヵ月にわたる進行性認知症や視力障害、錯乱、めまい、無感情などの症状がみられ、筋肉のけいれんや運動失調が起こり、最後は無言無動となり死に至る。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 ヶ月で死亡する¹⁾。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遺伝性プリオン病、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²⁾。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 2013 年 9 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 2162 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³⁾。

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⁴⁾。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（IC₅₀～200nm）、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⁵⁾（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(P092 治験薬概要書(案) ver.1 発行日：2013年8月1日)。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試験)において、重篤な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。これまでに得られたP092フリー体の非臨床結果及びP092の塩の血中濃度・脳脊髄液濃度の予備試験結果からP092マレイン酸塩を選択した。

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であり、第I相試験実施のために必要なラット、カニクイザル等を用いた非臨床試験及びカニクイザル感染モデルを用いた薬効試験が実施中である。

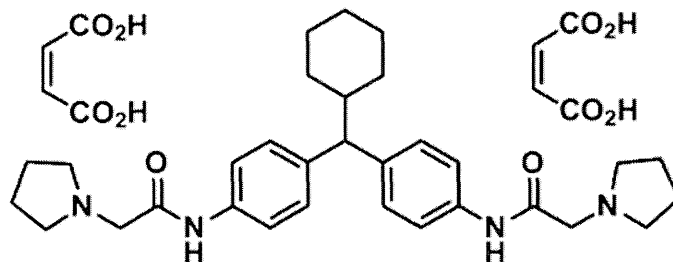
本治験薬概要書(ver.2)では、P092マレイン酸塩における(ロ)物理的化学的性質ならびに規格及び試験法に関する項(ハ)安定性に関する資料の項(ニ)毒性に関する資料の項及び(ホ)薬効に関する資料の項及び(ヘ)薬物動態に関する資料の項について検討した結果を報告する。

尚、P092フリー体における非臨床試験に対する個々のデータは、P092治験薬概要書(案)(Ver.1発行日：2013年8月1日)を参照されたい。

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

(積水メディカル株式会社)

3.1 原薬の化学構造



図ロ-1 P092 マレイン酸塩の構造

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]Dimaleate

示性式 : $C_{31}H_{42}N_4O_2 \cdot 2C_4H_4O_4$

分子量 : 734.83

物理的及び化学的性質 : 本品は、白色から微黄色の結晶性の粉末である。メタノールにやや溶けやすく、水及びエタノール(99.5%)に溶けにくい。

本品を乾燥したものは定量するとき、P092 マレイン酸塩($C_{31}H_{42}N_4O_2 \cdot 2C_4H_4O_4$)98~102%を含む。

3.2.2 原薬の規格および試験方法

本試験方法は、別に規定するもののほか、日本薬局方一般試験法を準用するものとする。

1. 性状

本品は、白色から微黄色の結晶性の粉末である。

本品は、メタノールにやや溶けやすく、水及びエタノール(99.5%)に溶けにくい。本品は、吸湿性が強い。

2. 確認試験

(1) 本品を乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法による試験を行い、本品のスペクトルと本品の参照スペクトルを比較するとき、両者のスペクトルは同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

(2) 本品 0.10 g をメタノール 3 mL に溶かし、試料溶液とする。マレイン酸 105.3 mg に水 5 mL を加えて溶かし、さらに水で正確に 10 mL とし、標準溶液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。試料溶液及び標準溶液 5 μ L ずつを薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用いて調製した薄層板に原点にスポットする。次にジエチルエーテル/メタノール/酢酸(100)/水混液(70:20:7:3)を展開溶媒として約 12 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線(主波長 254 nm)を照射するとき、試料溶液から得た 2 個のスポットのうち 1 個のスポットは標準溶液から得たスポットと同程度の濃さであり、それらの Rf 値は等しい。

3. pH

本品 1.0 g に水 100 mL を加え、70°C の温水中で溶かした後、室温まで冷却した液の pH は 3.5～5.0 である。

4. 純度試験

(1) 溶状

本品 1.0 g に水 20 mL を加え、70°C の温水中で溶かすとき、液は無色澄明である。

(2) 塩化物

本品 1.0 g に水 10 mL 及び希硝酸 20 mL を加えて溶かし、水を加えて 50 mL とする。これを検液とし、試験を行う。比較液は、0.01 mol/L 塩酸 0.28 mL に希硝酸 20 mL 及び水を加えて 50 mL とする(0.01%以下)。

(3) 重金属

本品 1.0 g をとり、第 3 法により操作し、試験を行う。比較液には、鉛標準液 2.0 mL を加える (20 ppm 以下)。

(4) 砒素

本品 1.0 g をとり、第 3 法により検液を調製し、試験を行う (2 ppm 以下)。

(5) 類縁物質

本品約 0.01 g を精密に量り、移動相 A 液/移動相 B 液混液 (1 : 1) を加えて正確に 10 mL とし、試料溶液とする。この液 1 mL を正確に量り、移動相 A 液/移動相 B 液混液 (1 : 1) を加えて正確に 100 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、移動相 A 液/移動相 B 液混液 (1 : 1) を加えて正確に 10 mL とし、標準溶液とする。試料溶液、標準溶液、ブランク溶液 [移動相 A 液/移動相 B 液混液 (1 : 1)] につき、5 μ L ずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液の各々の類縁物質及び標準溶液の P092 のピーク面積を自動積分法により測定する。試料溶液については、ブランク溶液から得たピークに該当するピーク並びに P092 のピークを除外し、それ以外の各々のピーク (類縁物質) の面積を測定する。すべてのピーク面積に対する各々のピーク面積比を求め、P092 のピーク面積以外のピーク面積比合計は 1% 以下かつ各々のピーク面積比は 0.15 % 以下である。

[試験条件]

検出器 : 紫外吸光光度計(測定波長 : 254 nm)

カラム : GL サイエンス社製 Inertsil ODS-2 (4.6 mm i.d. \times 250 mm、5 μ m)

又は、これと同等の性能を有するカラム

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相 A：水 1000 mL にトリフルオロ酢酸 2 mL を加える。

移動相 B：アセトニトリル 1000 mL にトリフルオロ酢酸 2 mL を加える。

移動相条件：移動相 A：移動相 B を 80：20 から開始し、20 分の直線グラジエント法で 40：60 にし、その後 30 分間保つ。

流量：約 1.0 mL/min. (P092 の保持時間は 14-17 分)。

面積測定範囲：約 4 分から 50 分。(マレイン酸のピークは除外)。

(6) 残留溶媒

本品約 0.5g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 5mL とし、試料溶液とする。

①エタノール

エタノール約 0.1 g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 10 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、ジメチルホルムアミドを加えて正確に 100 mL とし、標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液各 1 μL につき、次の条件でガスクロマトグラフィー法により試験を行う。各々のエタノールのピーク面積を求め、次式により、溶媒量を求めるとき、エタノールの量は、5000 ppm 以下である。

$$\text{残留溶媒の量 (ppm)} = \text{基準物質の量 (g)} \times \frac{A_t}{A_s} \times \frac{1}{WT} \times \frac{1}{a} \times 1000000$$

WT：本品の秤量値(g)

a：標準液の希釈倍率 (100)

1000000：ppm への換算係数

[試験条件]

検出器：水素炎イオン化検出器

カラム：Agilent 社製キャピラリーカラム DB-WAX(0.53 mm i.d.×30m、1.00 μm) 又は、これと同等の性能を有するカラム

カラム温度：60℃で開始し、6 分間この温度を維持した後、レート 10℃/min で 180℃まで上昇させる。

気化室温度：200℃

検出器温度：220℃

キャリアーガス：ヘリウム

流量：約 40 mL/min

スプリット比：1：10

②THF

THF 約 0.1 g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 10 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、ジメチルホルムアミドを加えて正確に 100 mL とし、標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液各 1 μL につき、次の条件でガスクロマトグラフィー法により試験を行う。各々の THF のピーク面積を求め、次式により、溶媒量を求めるとき、THF の量は、720 ppm 以下である。

$$\text{残留溶媒の量 (ppm)} = \frac{A_t}{A_s} \times \frac{1}{WT} \times \frac{1}{a} \times 1000000$$

WT：本品の秤量値(g)

a：標準液の希釈倍率 (100)

1000000：ppm への換算係数

[試験条件]

検出器：水素炎イオン化検出器

カラム：Agilent 社製キャピラリーカラム DB-WAX(0.53 mm i.d.×30 m、1.00 μm) 又は、これと同等の性能を有するカラム

カラム温度：60℃で開始し、6 分間この温度を維持した後、レート 10℃/min で 180℃まで上昇させる。

気化室温度：200℃

検出器温度：220℃

キャリアーガス：ヘリウム

流量：約 40 mL/min

スプリット比：1：10

③トルエン

トルエン約 0.1 g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 10 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、ジメチルホルムアミドを加えて正確に 100 mL とし、標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液各 1 μ L につき、次の条件でガスクロマトグラフィー法により試験を行う。各々のトルエンのピーク面積を求め、次式により、溶媒量を求めるとき、トルエンの量は、890 ppm 以下である。

$$\text{残留溶媒の量 (ppm)} = \text{基準物質の量 (g)} \times \frac{A_t}{A_s} \times \frac{1}{WT} \times \frac{1}{a} \times 1000000$$

WT : 本品の秤量値(g)

a : 標準液の希釈倍率 (100)

1000000 : ppm への換算係数

[試験条件]

検出器 : 水素炎イオン化検出器

カラム : Agilent 社製キャピラリーカラム DB-WAX(0.53 mm i.d. \times 30m、1.00 μ m) 又は、これと同等の性能を有するカラム

カラム温度 : 60 $^{\circ}$ C で開始し、6 分間この温度を維持した後、レート 10 $^{\circ}$ C/min で 180 $^{\circ}$ C まで上昇させる。

気化室温度 : 200 $^{\circ}$ C

検出器温度 : 220 $^{\circ}$ C

キャリアーガス : ヘリウム

流量 : 約 40mL/min

スプリット比 : 1 : 10

④ジクロロメタン

ジクロロメタン約 0.1 g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 10 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、ジメチルホルムアミドを加えて正確に 100 mL とし、標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液各 1 μ L につき、次の条件でガスクロマトグラフィー法により試験を行う。各々のジクロロメタンのピーク面積を求め、次式により、溶媒量を求めるとき、ジクロロメタンの量は、600 ppm 以下である。

$$\text{残留溶媒の量 (ppm)} = \text{基準物質の量 (g)} \times \frac{A_t}{A_s} \times \frac{1}{WT} \times \frac{1}{a} \times 1000000$$

WT：本品の秤量値(g)

a：標準液の希釈倍率 (100)

1000000：ppm への換算係数

[試験条件]

検出器：水素炎イオン化検出器

カラム：Agilent 社製キャピラリーカラム DB-WAX(0.53 mm i.d.×30m、1.00 μ m) 又は、これと同等の性能を有するカラム

カラム温度：60 $^{\circ}$ Cで開始し、6 分間この温度を維持した後、レート 10 $^{\circ}$ C/min で180 $^{\circ}$ Cまで上昇させる。

気化室温度：200 $^{\circ}$ C

検出器温度：220 $^{\circ}$ C

キャリアーガス：ヘリウム

流量：約 40 mL/min

スプリット比：1：10

⑤CPME

CPME 約 0.1 g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 10 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、ジメチルホルムアミドを加えて正確に 100 mL とし、標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液各 1 μ L につき、次の条件でガスクロマトグラフィー法により試験を行う。各々の CPME のピーク面積を求め、次式により、溶媒量を求めるとき、CPME の量は、5000ppm 以下である。

$$\text{残留溶媒の量 (ppm)} = \text{基準物質の量 (g)} \times \frac{A_t}{A_s} \times \frac{1}{WT} \times \frac{1}{a} \times 1000000$$

WT : 本品の秤量値(g)

a : 標準液の希釈倍率 (100)

1000000 : ppm への換算係数

[試験条件]

検出器 : 水素炎イオン化検出器

カラム : Agilent 社製キャピラリーカラム DB-WAX(0.53 mm i.d.×30 m、1.00 μm) 又は、これと同等の性能を有するカラム

カラム温度 : 60℃で開始し、6分間この温度を維持した後、レート 10 °C/min で180℃まで上昇させる。

気化室温度 : 200℃

検出器温度 : 220℃

キャリアーガス : ヘリウム

流量 : 約 40 mL/min

スプリット比 : 1 : 10

⑥酢酸エチル

酢酸エチル約 0.1 g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 10 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、ジメチルホルムアミドを加えて正確に 100 mL とし、標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液各 1 μL につき、次の条件でガスクロマトグラフィー法により試験を行う。各々の酢酸エチルのピーク面積を求め、次式により、溶媒量を求めるとき、酢酸エチルの量は、5000 ppm 以下である。

$$\text{残留溶媒の量 (ppm)} = \text{基準物質の量 (g)} \times \frac{A_t}{A_s} \times \frac{1}{WT} \times \frac{1}{a} \times 1000000$$

WT : 本品の秤量値(g)

a : 標準液の希釈倍率 (100)

1000000 : ppm への換算係数

[試験条件]

検出器 : 水素炎イオン化検出器

カラム : Agilent 社製キャピラリーカラム DB-WAX(0.53 mm i.d.×30m、1.00 μm) 又は、これと同等の性能を有するカラム

カラム温度 : 60°Cで開始し、6 分間この温度を維持した後、レート 10°C/min で180°Cまで上昇させる。

気化室温度 : 200°C

検出器温度 : 220°C

キャリアーガス : ヘリウム

流量 : 約 40 mL/min

スプリット比 : 1 : 10

⑦IPE

IPE 約 0.1 g を精密に量り、ジメチルホルムアミドを加えて溶かし、正確に 10 mL とする。この液 1 mL を正確に量り、ジメチルホルムアミドを加えて正確に 100 mL とし、標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液各 1 μL につき、次の条件でガスクロマトグラフィー法により試験を行う。各々の IPE のピーク面積を求め、次式により、溶媒量を求めるとき、IPE の量は、5000 ppm 以下である。

$$\text{残留溶媒の量 (ppm)} = \frac{\text{基準物質の量(g)} \times \frac{A_t}{A_s} \times \frac{1}{WT} \times \frac{1}{a} \times 1000000$$

WT : 本品の秤量値(g)

a : 標準液の希釈倍率 (100)

1000000 : ppm への換算係数