

[0106] [表9]

表9. カニクイザルへのマレイン酸塩単回急速静脈内投与から1、4及び24時間後の血漿における、血球移行率及び血液中放射濃度の比率

時間	ヘマトクリット値(Ht) (%)	放射能濃度 (ng eq./mL)		血球 移行率(T) (%)	血液中 放射能濃度 /血漿中 放射能濃度 (R _B)
		血液中放射能 濃度(C _B)	血漿中放射能 濃度(C _P)		
1時間後	44.0	170.9	101.5	66.7	1.68
4時間後	40.0	126.0	63.4	69.8	1.99
24時間後	36.0	62.9	46.6	52.6	1.35

[0107] 表8及び9並びに図10の結果から、カニクイザルへの急速静脈内投与において、血液中放射能濃度は投与5分後から投与24時間後までは比較的速やかに低下し、それ以降の消失は緩徐であった。また、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、本発明のマレイン酸塩は血球成分に移行し易いことが確認された。

これらの結果から、本発明のマレイン酸塩は、注射による静脈内投与に適していることがわかった。

[0108] (試験例8)

(組織中放射能濃度の測定)

上記した試験例7における各時間の採血終了後のカニクイザルに、ペントバルビタール(ソムノペンチル、共立製薬社製)を約0.4mL/kgの用量で静脈内投与し、全身麻酔下、頸動脈より放血し、安楽死させたのち下記表10の組織を摘出した。尚、表10において、組織A~Cの分類は、上記した表5におけるものと同じである。

[0109]

[表10]

表10. 採取試料

—	血液	A	眼球	A	睪嚢
—	血漿	A	顎下腺	A	精巣
A	皮質	C	腸間膜リンパ	C	動脈(腹大動脈)
A	線条体	A	甲状腺	C	皮膚(下腹部、毛を刈った)
A	海馬	A	胸腺	C	骨格筋(大腿筋)
A	視床下部	A	心臓	C	骨髓(大腿骨)
A	小脳	A	肺	C	白色脂肪(精巣周辺)
A	延髄	A	肝臓	C	褐色脂肪(腋窩部)
C	脊髄	A	副腎	A	胆嚢
—	脳脊髄液	A	腎臓	A	胆汁(胆嚢内)
A	胃* ¹	A	脾臓	B	下垂体
A	胃内容物* ¹	A	小腸* ¹	A	大腸* ¹ (盲腸を含む)
A	小腸内容物* ¹	A	大腸内容物* ¹ (盲腸内長物を含む)		

*1: 投与後168時間のみを採取したもの

[0110] 血液及び血漿の放射能測定用試料の採取は、試験例7と同様に行った。

脳脊髄液は、マイジェクター(27G×1/2”、1mL、テルモ社製)を用いて採取し、試験例6と同様の方法で放射能を測定し、脳脊髄液中放射能濃度を求めた。

表10に記載の他の組織については、生理食塩水で洗浄し、濾紙片により付着水分を除いた。

尚、消化管は切開し、約40mLの生理食塩水で内容物を洗い出す操作を2回繰り返した後、濾紙片により付着水分を除き、内容物を洗い出した生理食塩水は2回分を合わせた。

また、胆汁は胆嚢から注射針(テルモ社製)を装着した注射筒(テルモ社製)を用いて採取した。

採取した試料について、試験例6と同様の方法で放射能を測定し、組織(胆嚢中胆汁及び消化管内容物は除く)については組織中放射能濃度を求めた。また、血漿中放射能濃度に対する各組織中放射能濃度の比率(T/P比)についても算出した。尚、T/P比の算出にはMicrosoft Excel 2010を用いた。

全重量が測定可能な組織(組織A及びB)については、測定した組織全重量に基づき投与放射能に対する分布率(組織中放射能分布率)を算出した。

血液、骨格筋、皮膚及び白色脂肪については、組織全重量をそれぞれ体重の6.0%、41.4%、9.4%及び7.8%として組織中放射能分布率を算出した。

[0111] また、採取した組織について、上記A～Cに分類した組織は、それぞれ、以下のように処理した。

・組織A：組織重量を測定し、組織は解剖用剪刀により、消化管内容物（胃内容物、小腸内容物、大腸内容物）はミキサーにより、それぞれ粗砕した後、一部をコンバストパッドに分取、秤量して(n=1)、サンプルオキシダイザーにより燃焼処理した。

・組織B：コンバストパッドに採取して組織重量を測定した後、全量をサンプルオキシダイザーにより燃焼処理した。

・組織C：組織の一部を採取し、約0.1g(n=1)をコンバストパッドに分取、秤量して、サンプルオキシダイザーにより燃焼処理した。

また、脳脊髄液については、マイジェクター（テルモ社製）を用いて一部(n=1)をコンバストパッドに分取、秤量して、サンプルオキシダイザーにより燃焼処理した。

[0112] 上記のようにして求めた、カニクイザルに実施例1のマレイン酸塩を1mg/kgの用量で単回急速静脈内投与したときの組織中放射能濃度及び組織中放射能分布率を、それぞれ表11及び表12に示す。

[0113]

[表11]

表11. カニクイザルへのマレイン酸塩単回急速静脈内投与から1、24及び168時間後の組織中放射能濃度

組織	放射能濃度 (ng eq./mL)		
	(各組織中の放射能濃度/血漿中の放射能濃度の比(T/P比))		
	1時間後	24時間後	168時間後
血液	168.3 (1.87)	62.9 (1.35)	36.9 (1.06)
血漿	90.2 (1.00)	46.6 (1.00)	34.9 (1.00)
大脳皮質	76.0 (0.84)	75.2 (1.61)	166.0 (4.76)
線条体	50.2 (0.56)	73.0 (1.57)	116.2 (3.33)
海馬	72.1 (0.80)	68.4 (1.47)	193.1 (5.53)
視床下部	303.6 (3.37)	119.9 (2.57)	246.8 (7.07)
小脳	87.1 (0.97)	73.8 (1.58)	187.2 (5.36)
延髄	56.3 (0.62)	64.7 (1.39)	154.3 (4.42)
脊髓	25.1 (0.28)	34.7 (0.74)	87.1 (2.50)
下垂体	2924.5 (32.42)	4161.5 (89.30)	5785.9 (165.79)
眼球	80.6 (0.89)	283.8 (6.09)	370.0 (10.60)
顎下腺	2096.2 (23.24)	2360.5 (50.65)	3832.9 (109.83)
腸間膜リンパ	1526.5 (16.92)	2270.0 (48.71)	4501.3 (128.98)
甲状腺	4815.7 (53.39)	2417.3 (51.87)	851.4 (24.40)
胸腺	991.7 (10.99)	7492.9 (160.79)	2584.5 (74.05)
心臓	7868.9 (87.24)	4835.8 (103.77)	1735.5 (49.73)
肺	16588.7 (183.91)	12499.3 (268.23)	12687.8 (363.55)
肝臓	7905.0 (87.64)	541.02 (11.61)	3961.6 (113.51)
副腎	7381.2 (81.83)	10530.4 (225.97)	14988.5 (429.47)
腎臓	10277.2 (113.94)	5524.9 (118.56)	3965.6 (113.63)
脾臓	7165.9 (79.44)	10878.9 (233.45)	14009.9 (401.43)
膵臓	4581.9 (50.80)	4677.2 (100.37)	7198.1 (206.25)
精巣	331.0 (3.67)	244.2 (5.24)	775.9 (22.23)
動脈	345.8 (3.83)	232.8 (5.00)	333.5 (9.56)
皮膚	239.4 (2.65)	21.86 (4.69)	327.6 (9.39)
骨格筋	1517.4 (16.82)	1483.2 (31.83)	521.8 (14.95)
骨髄	223.8 (2.48)	771.8 (16.56)	863.1 (24.73)
白色脂肪	804.5 (8.92)	220.4 (4.73)	387.6 (11.11)
褐色脂肪	7547.1 (83.67)	9652.2 (207.13)	9032.1 (258.80)
胆嚢	1271.6 (14.10)	1795.1 (38.52)	1112.6 (31.88)
胆汁	3488.0 (38.67)	14772.6 (317.0)	6306.0 (180.69)
脳脊髄液	2.2 (0.02)	ND (NC)	ND (NC)
胃	-- (--)	-- (--)	1190.1 (34.10)
小腸	-- (--)	-- (--)	2740.2 (78.52)
大腸	-- (--)	-- (--)	1167.0 (33.44)

ND:未検出 (Not detected)

NC:未計算 (Not calculated)

--:未決定

[0114]

[表12]

表12. カニクイザルへのマレイン酸塩単回急速静脈内投与から1、24及び168時間後の組織中放射能分布率

組織	放射能分布率(放射線全量に対する割合)(%)		
	1時間後	24時間後	168時間後
血液	0.98	0.38	0.23
大脳皮質	0.11	0.09	0.21
線条体	0.00	0.01	0.01
海馬	0.00	0.00	0.00
視床下部	0.02	0.01	0.02
小脳	0.01	0.01	0.03
延髄	0.00	0.01	0.01
下垂体	0.01	0.01	0.01
眼球	0.01	0.06	0.05
顎下腺	0.15	0.17	0.21
甲状腺	0.03	0.03	0.01
胸腺	0.03	0.12	0.11
心臓	2.32	1.45	0.60
肺	8.08	5.35	4.43
肝臓	13.35	9.93	5.48
副腎	0.11	0.20	0.20
腎臓	3.59	2.29	1.11
脾臓	0.80	0.79	0.98
膵臓	0.69	0.92	1.06
精巣	0.09	0.14	0.21
皮膚	2.18	2.07	3.15
骨格筋	60.89	61.98	22.10
白色脂肪	6.08	1.74	3.09
胆嚢	0.01	0.01	0.01
胆汁	0.27	0.68	0.28
胃	--	--	0.65
小腸	--	--	3.31
大腸	--	--	1.25
胃内容物	--	--	0.03
小腸内容物	--	--	0.37
大腸内容物	--	--	2.01
合計	99.81	88.45	51.22

--:未決定

[0115] 表11及び12の結果から、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、本発明のマレイン酸塩は組織移行性が高いことが示唆された。

また、副腎、脾臓、膵臓、脳下垂体等多くの組織において投与後168時間に最高濃度を示し、体内残存量（組織中放射能分布率の合計）は投与放射能の51.22%であったことから、本発明のマレイン酸塩は、組織残留性が高く、体外への排出は非常に援除であると考えられる。

[0116] <水溶液中安定性試験>

(試験例9)

逆浸透膜 (RO) 水製造装置 (MILLIPORE社製 Elix)、フィルター (MILLIPORE社製 PROGARD S2 CARTRIDGE) を用いて、逆浸透膜 (RO) 水を作製した。

トリフルオロ酢酸 (TFA) (和光純薬工業社製 和光特級) 2 mL を前記逆浸透膜 (RO) 水 2000 mL に溶解し、0.2% TFA 水溶液を調整した。アセトニトリル (和光純薬工業社製 HPLC用アセトニトリル) 1 容量と 0.2% TFA 水溶液 1 容量を振り混ぜ試料溶解液を調製した。実施例1で得られたマレイン酸塩 5.0 mg を計量し、調整した試料溶解液に溶かして 20 mL にし (25% W/V)、30 mL 容量のバイアル管中で室温 (20°C) と冷蔵庫内 (4°C) の2通りの温度条件にて保管した。経時的なマレイン酸塩の純度の測定は、試料 5 μ L を採取し、以下の条件で液体クロマトグラフィーを行い、マレイン酸塩のピーク面積を測定した。

<測定条件>

HPLC装置: prominence (島津製作所製)

検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長 245 nm)

カラム: オクタデシルシリル化シリカゲル充填カラム (GL Sciences Inc社製 Inertsil ODS-2)

カラム温度: 40度付近の一定温度

移動相条件: アセトニトリル/0.2% TFA 水溶液を 20/80 から開始し、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。

流量: 1.0 mL/min

試料溶液注入量: 5 μ L

以上の条件下で、マレイン酸塩は 15分付近に検出される。

マレイン酸塩の純度は、(マレイン酸塩のピーク面積) / (保持時間 4 ~ 35分のピーク面積合計) \times 100 によって求めた。その結果を表 13 に示す

表13の結果から、本発明のマレイン酸塩は、水溶液中で室温および冷蔵庫内で30日経過後も97%以上の保存率を示し、水溶液中でも安定であることが明らかとなった。

[0117] [表13]

表13. 水溶液中の保存安定性

保存条件	経過日数(日)	純度(%)
室温 (20°C)	0	98.77
	8	97.22
	17	98.16
	22	98.08
	31	98.19
冷蔵庫 (4°C)	0	98.77
	9	98.95
	18	99.23
	25	98.25
	32	97.88

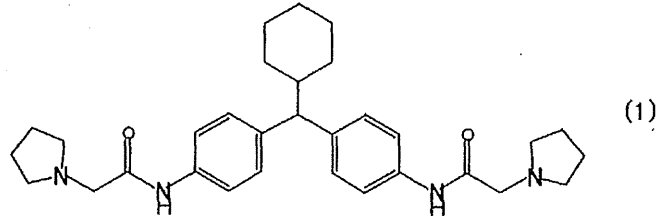
産業上の利用可能性

[0118] 本発明のマレイン酸塩は、プリオン病の予防、改善又は治療剤の有効成分として使用することができる。また、本発明のマレイン酸塩は、結晶性及び結晶の安定性に優れたものであり、大量合成ができるため、該マレイン酸塩を含むプリオン病の予防、改善又は治療剤の製造を実用化することができる。さらに、本発明のマレイン酸塩は、水溶化できるため、注射剤として使用することができる。

請求の範囲

【請求項1】 下記式(1)で表される化合物のマレイン酸塩。

【化1】



【請求項2】 請求項1に記載のマレイン酸塩を有効成分として含有することを特徴とする医薬組成物。

【請求項3】 プリオン病の予防、改善又は治療剤であることを特徴とする請求項2に記載の医薬組成物。

【請求項4】 請求項1に記載のマレイン酸塩を水に濃度25%W/Vで溶解させ、30日経過後に、前記マレイン酸塩が97%以上の保存率を示すことを特徴とする請求項2又は3に記載の医薬組成物。

【請求項5】 請求項1に記載の式(1)で表される化合物と、マレイン酸とを接触させることを特徴とする請求項1に記載のマレイン酸塩の製造方法。

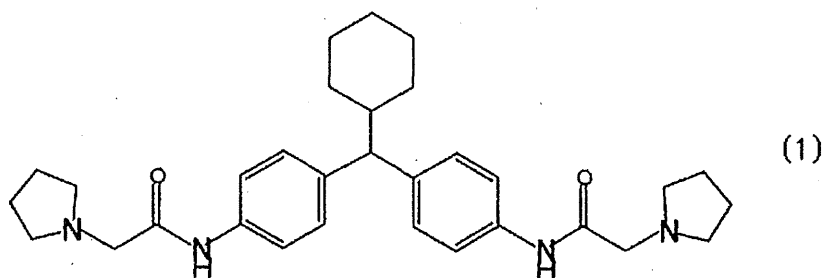
【請求項6】 脳に到達する製剤である請求項2～4のいずれか1項に記載の医薬組成物。

要 約 書

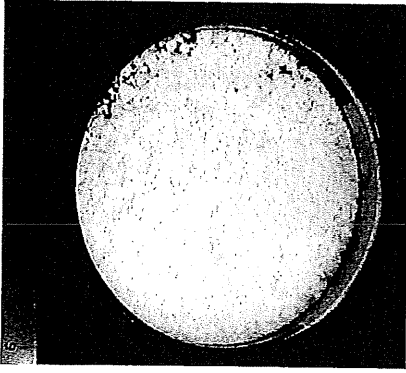
本発明は、結晶性及び結晶の安定性が高い抗プリオン化合物を提供すること、及びプリオン病の予防、改善又は治療剤を提供することを課題とする。

本発明は、下記式（1）で表される化合物のマレイン酸塩である。

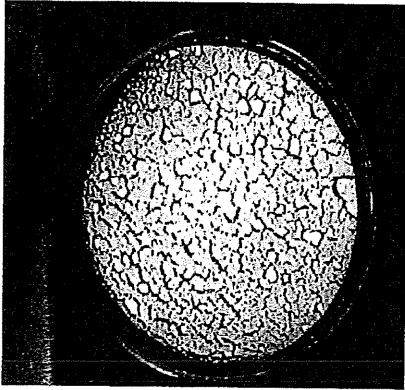
【化1】



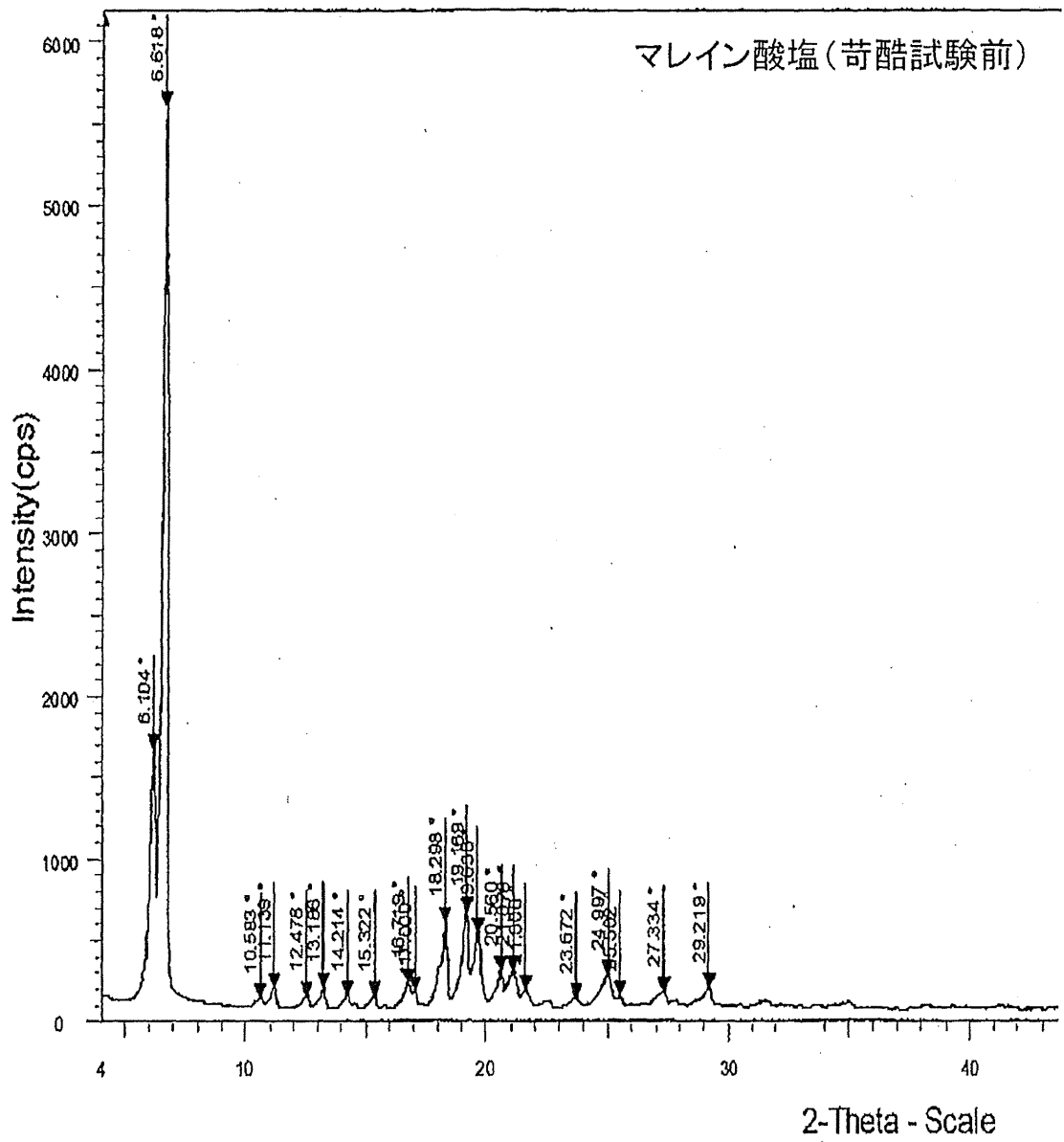
[图1]



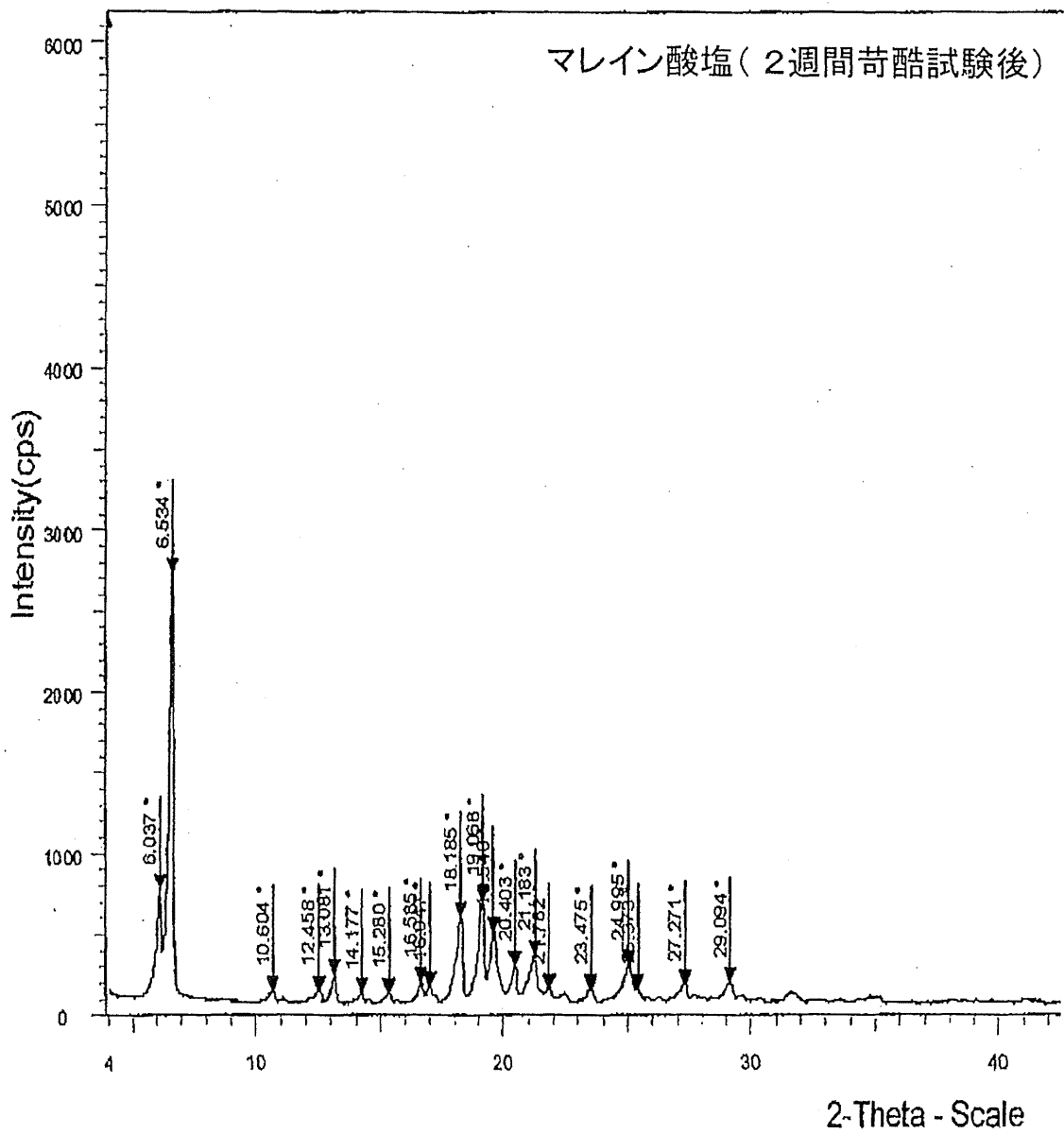
[图2]



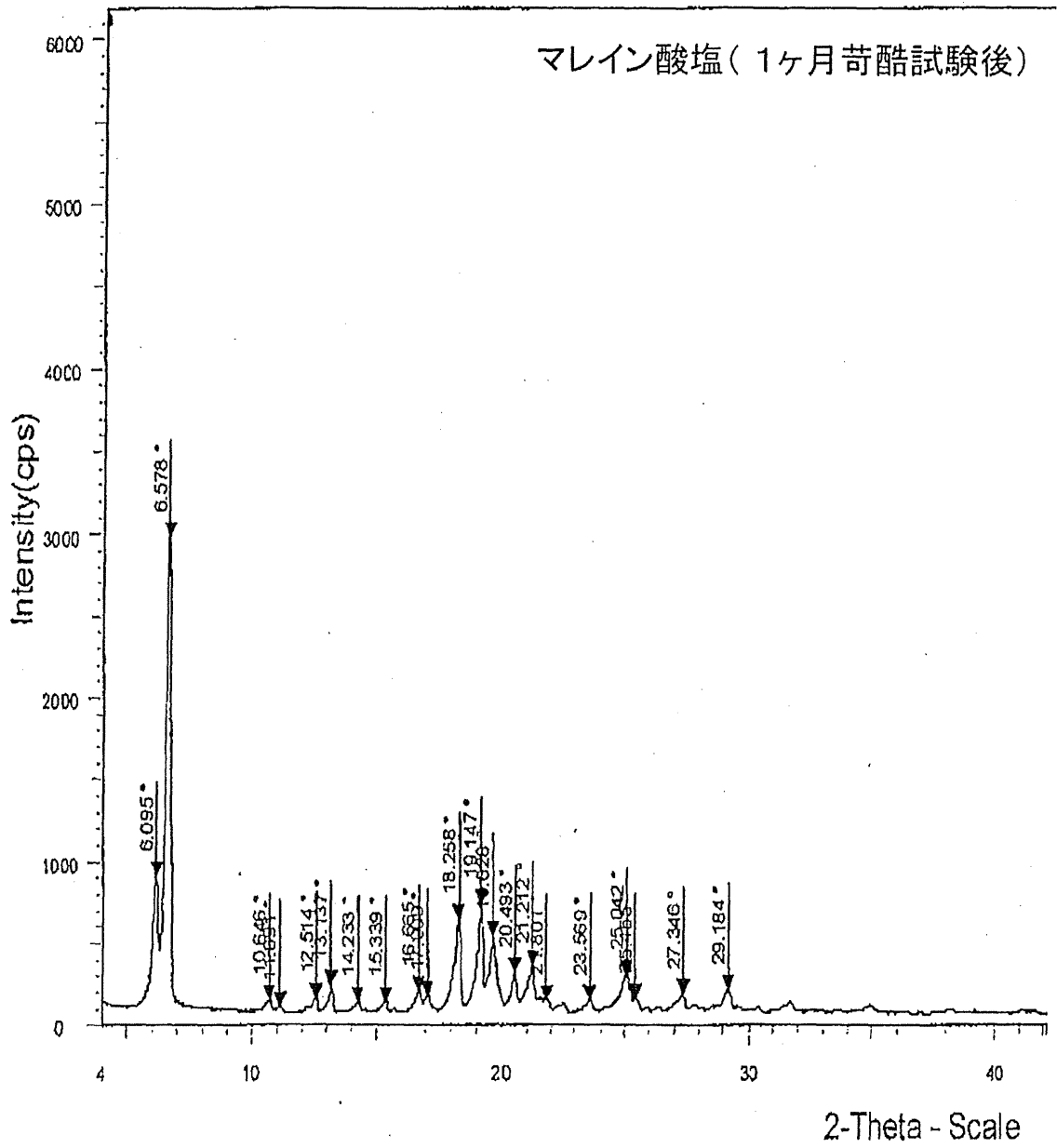
[図3]



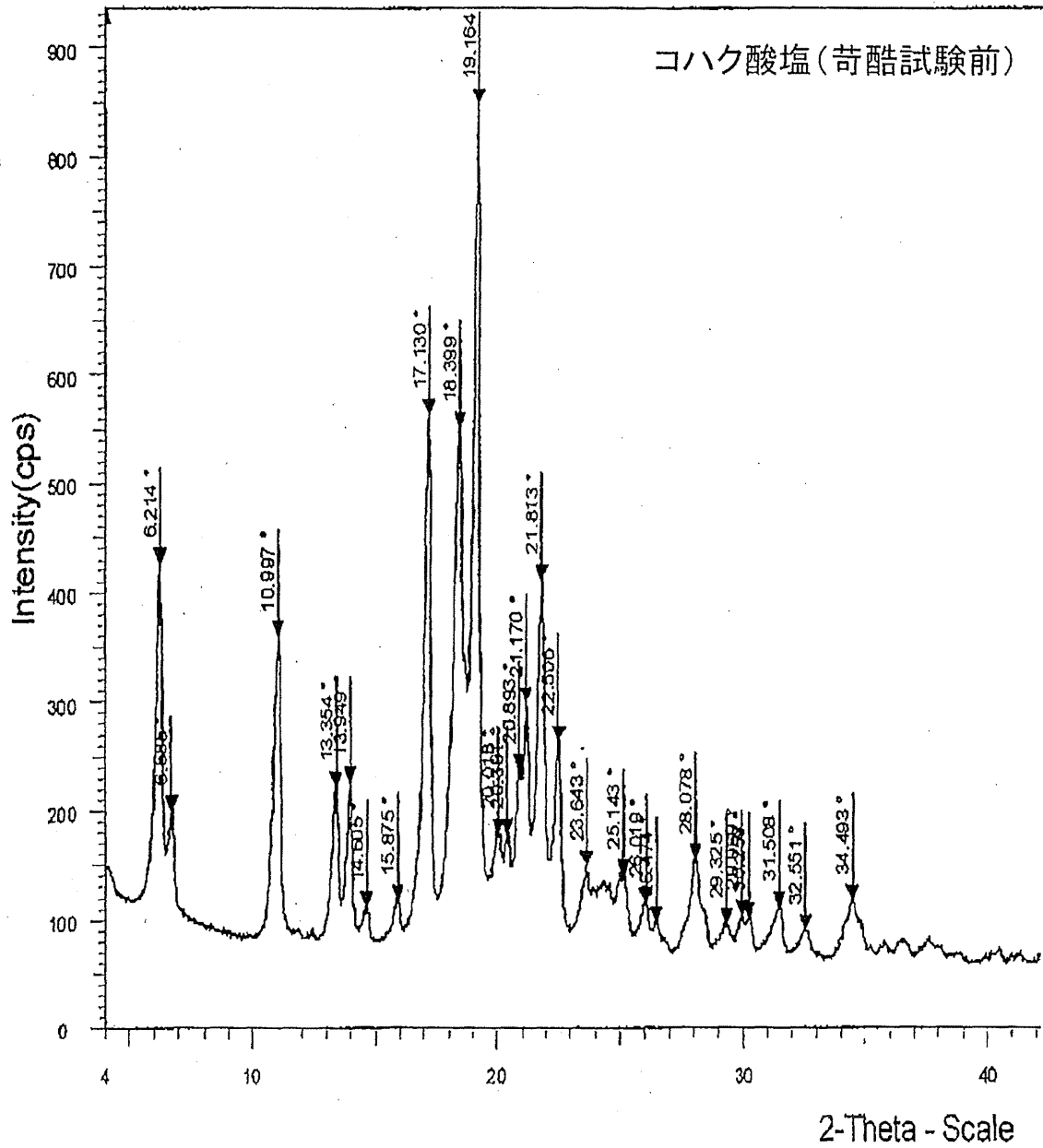
[図4]



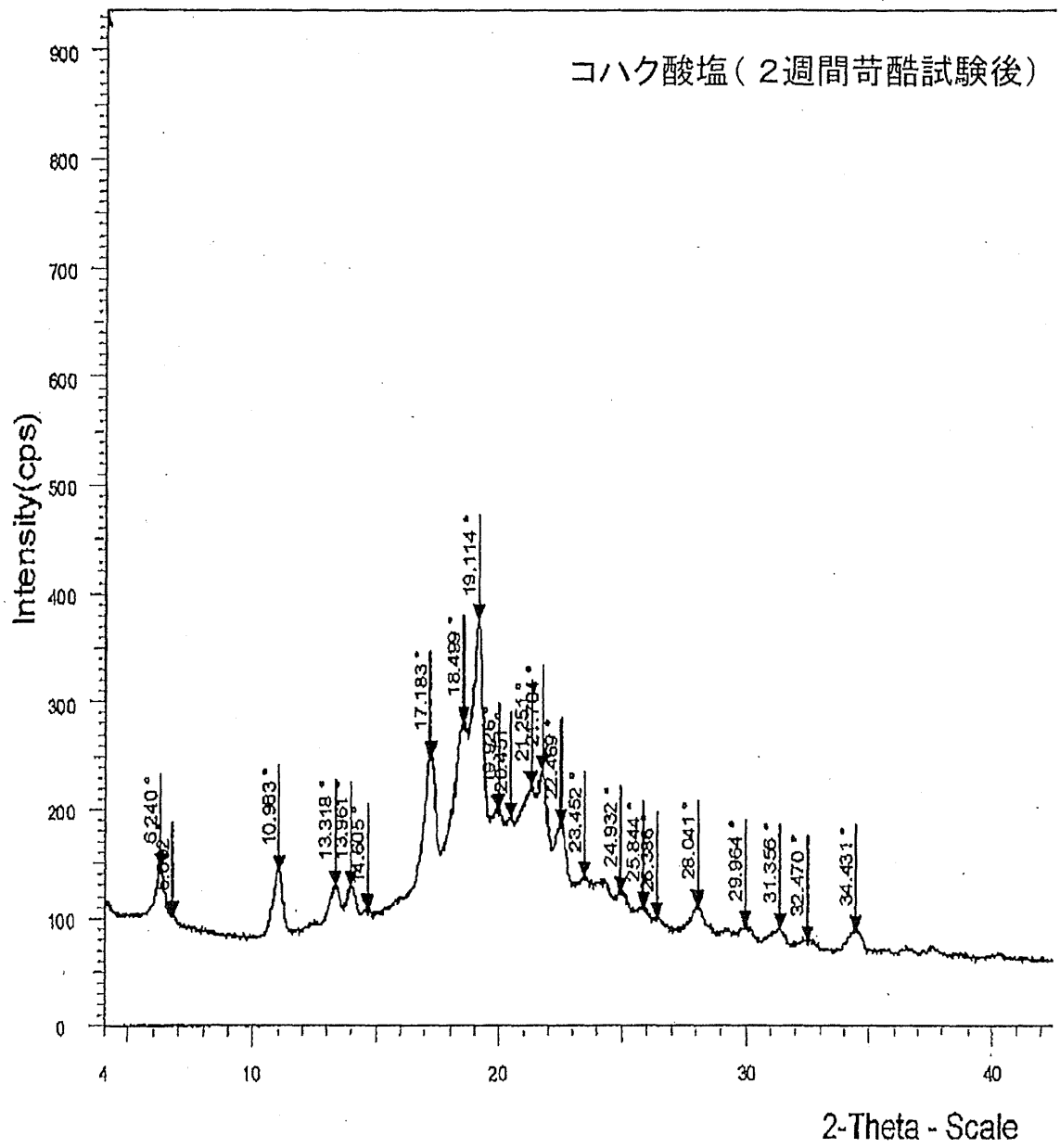
[図5]



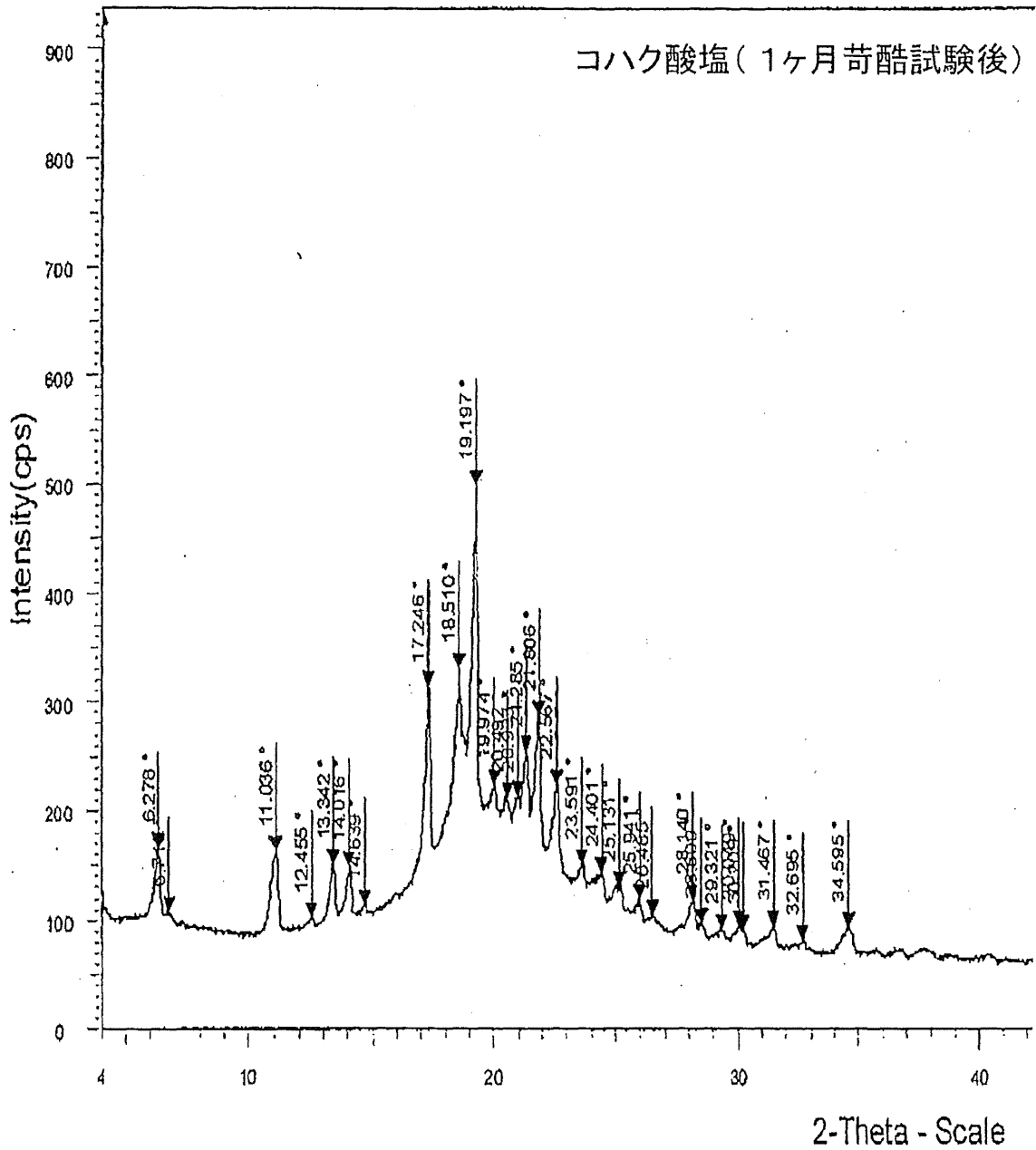
[図6]



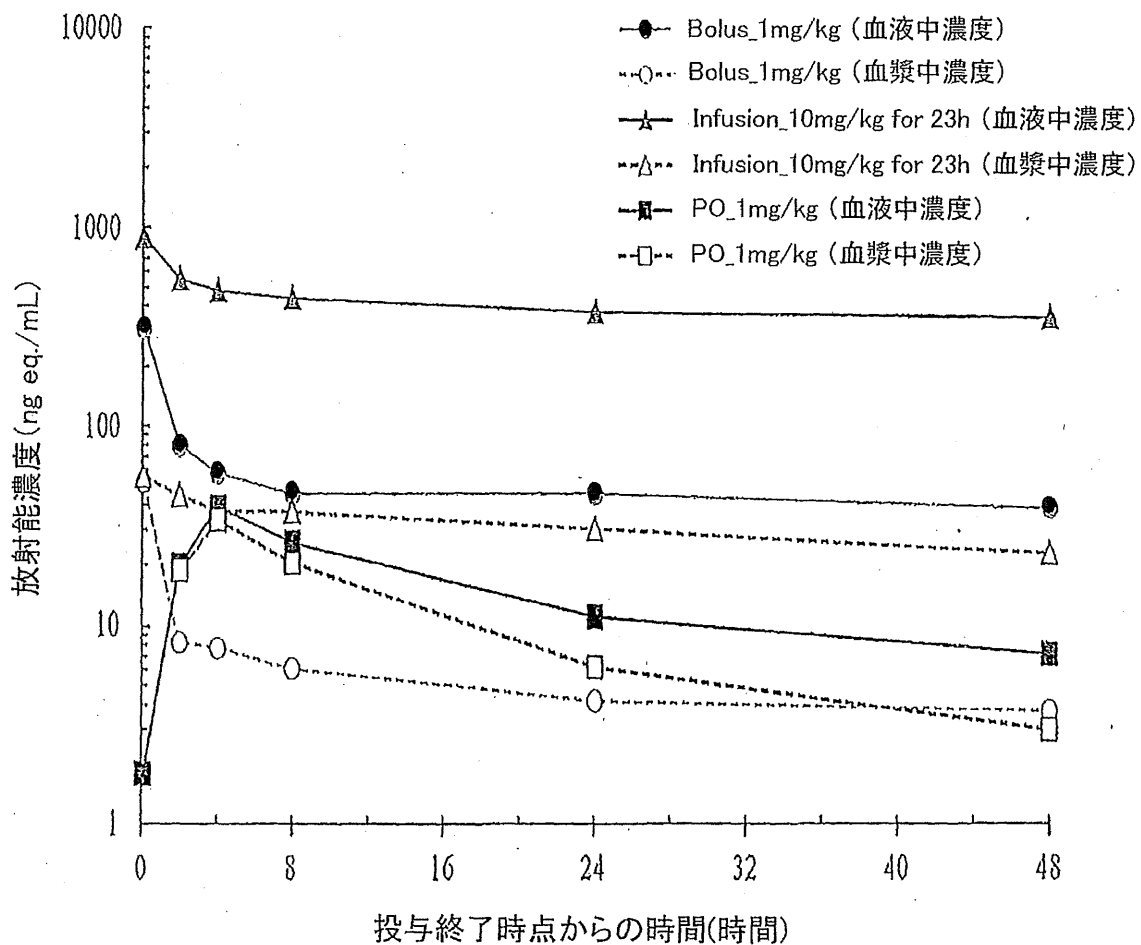
[図7]



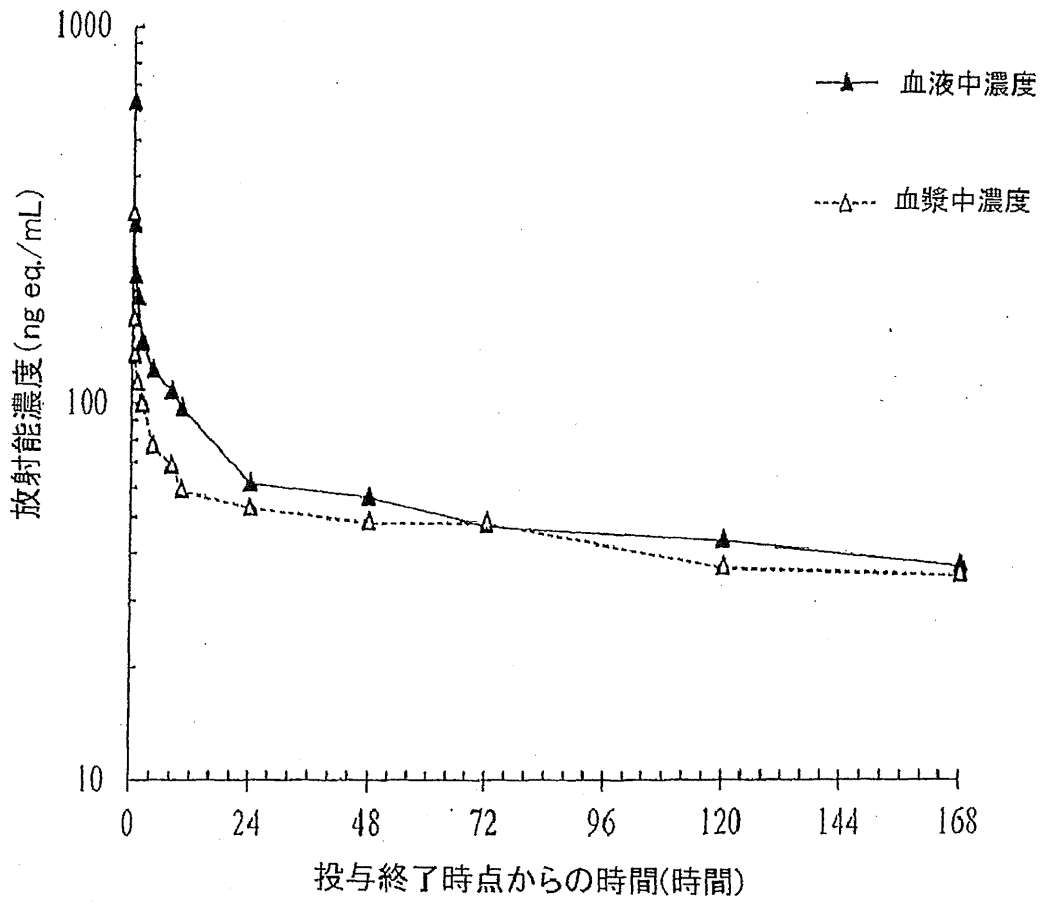
[図8]



[図9]



[図10]



資料 8

医薬品医療機器総合機構（PMDA）が
実施する相談事業（薬事戦略相談）の
結果や経過を示す書類

1. 対面助言