

N,N' -(((Cyclohexylmethylene)di-4,1-phenylene)
bis(2-(1-pyrrolidin) acetamide (P092)

医薬品戦略相談(2)

2013年9月27日

桑田 一夫

(岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科)

相談事項

1. 原薬の塩の決定方法の検討（結晶、各種分析チャート、安定性（一ヶ月苛酷試験））の妥当性について

1-1：塩スクリーニングのご報告

昨年度より検討してきましたP092フリー体は、結晶性が良くないというPMDAのご指摘を受けましたので、P092の塩系結晶化試験を14種類の塩に関して行ってまいりました。当初使用しておりました塩酸塩は、スケールアップした場合、塩形成が困難であり、濃縮乾固の操作性が悪いことが分かりました。スクリーニングの結果では、酢酸、コハク酸、及びこれまで合成してきたマレイン酸が候補として残りました。しかし、実際にスケールアップして合成した結果、酢酸塩は乾固により、酢酸が抜けていき、塩形成をしないことが分かりました。スクリーニング時には、アセトニトリルを用いたため、見誤ったものと考えられました。コハク酸とマレイン酸では、結晶性は、ほぼ同等でしたが、一ヶ月の苛酷試験の中間結果（2週間）では、コハク酸塩の吸湿性が高く、紛体の形状を留めていないことが分かりました。従って、マレイン酸塩がP092の塩として適当であると考えます。この点に関して、ご相談させて下さい。

1-2：新原末での製造予定時期

上記結果を踏まえ、マレイン酸塩として、9月よりの製造を予定致しております。

1-3：決定原薬（塩）及び原薬特性（赤外スペクトル、HPLCのChart、DSCデータ、XRDデータ及び暫定規格等）

決定原薬は、P092マレイン酸を考えております。赤外スペクトル（追加資料）、HPLCのChart、XRDデータを資料として、添付させて戴きました。

2. プリオン感染サルによる薬理試験プロトコルの妥当性について

2-1：投与方法

本年度から来年度にかけて、霊長類医科学研究所において、プリオンに感染したカニクイサルの薬理、及び毒性試験（ $n=6$ ）を行います。プリオン接種に関しましては、本年8月21日、及び22日に完了致しました。潜伏期は1年2ヶ月を予定しておりますので、平成26年度10月頃に発症予定です。この前後に、治療を開始することになります。

投与方法に関しましては、これまでのカニクイサルを用いた経口投与による毒性試験及びTK試験の結果、及び静脈投与による毒性及びTKに関する予備試験の結果を踏まえ、経口投与あるいは静脈投与が適当であるかを、判断したいと考えます。この点に関しまして、ご相談させて戴きたいと存じます。

2-2：投与量

プリオン感染マウスを用いた薬理試験では、10 mg/Kgの腹腔内投与（2週間）にて、有意な寿命の延長が見られています。一方、経口投与毒性試験（カニクイザル、2週間反復投与）より、50 mg/Kg程度が無毒性量である、と考えられることから、経口投与量は10mg/Kgが適当である、と考えます。

また、現在、10 mg/Kgの腹腔内投与（2週間）の場合の血中濃度、及び脳脊髄液内濃度の測定を計画中であり、これらの結果と合わせて、投与量を決定したいと考えています。

また、静脈投与の場合、本年度10月以降に予定しております静脈投与による非臨床試験結果を参考にして、投与量を決定したい、と存じます。従いまして、これらの点に関しまして、ご相談させて戴きたいと存じます。

2-3：主要評価項目に関する妥当性

クロイツフェルト・ヤコブ病では、第1期には、食欲不振、睡眠障害、体重減少などの精神症状、第2期には運動障害やミオクローヌスなどの神経症状が出現し、第3期では無動無言状態となります。このような症状は、カニクイザルのプリオン病モデルにおいて類似した経過を辿ることが示されています。従って、添付したプロトコ

ールに従って評価を実施することとしました。

医師主導治験プロトコール作成に際しても、現在、患者の自然歴調査を開始しているところです。これらの結果に基づき、医師主導治験プロトコールを作成する予定です。

2-4：試験目的

サル感染試験におきましては、6頭（ $n=2$ 、3群）と頭数が限られていること、及びサルモデルでは、発症時期にバラツキがあることなどから、どこまで信頼できる結果が得られるか、疑わしい可能性を否定できません。この点に関しても、ご相談させてください。

一方、感染サルを用いる毒性試験としては、脳血液関門の破壊により、毒性が大きく変わるかどうかを評価できる可能性が高いのではないかと考えられます。これらの点に関しても、ご相談させて下さい。

また、サル感染モデルでは、発症前に予防的に投与するなど、ヒトでは試験できない内容を試験してみることが可能ですので、色々工夫できる可能性があります。この点に関しても、ご相談させて下さい。

3. 新しい塩原薬を用いる非臨床安全性検査項目の妥当性について

3-1:

P092マレイン酸塩を用いて、静脈投与による非臨床試験を行う場合、これまで行って来たP092フリー体の経口投与による非臨床試験の結果の取り扱いに関してご相談させて戴きたい、と存じます。

3-2:

また、平成27年度より、First in Humanに入るため、新原薬でこれから行う非GLP/GLP毒性試験項目(FIHまでの項目)とその試験実施順序に関しまして、資料の最後のページにリストアップしましたので、これに関しまして、ご相談させて戴きたいと存じます。

3-3:

特に、平成26年には、サル長期毒性試験(9ヵ月)を実施したいと考えております。

本医師主導治験においては、本疾患が急性の致死的経過を辿ることから、抗がん剤に準じた取り扱いを行うのが適当と考えられるため、第一相試験から、患者に投与することを念頭に置いています。

特に健常人に投与した場合は、本薬剤が脳細胞表面のプリオンに特異的に結合する性質を有することから、記憶などに微妙に影響する可能性を否定できないため、健常人に対する投与は当面、避けたほうが良い、と思われれます。(実際、アルツハイマーの原因となるAβが神経細胞表面のプリオンに結合すると、記憶機能が阻害されることが、Natureに報告されています。)

CJD患者は、年間10例程度を予定しておりますが、投与して進行がある程度止まった場合、その機序から考えますと、投与を中止すると、再び進行する可能性が出てきます。個人によってもその感受性は異なると考えられますが、人道的見地からも、感受性があつた場合は、投与を中止すべきではない、と考えます。従って、平成26年には、サル長期毒性試験(9ヵ月)を実施したいと考えております。この点に関しましても、ご相談させて戴きたいと存じます。

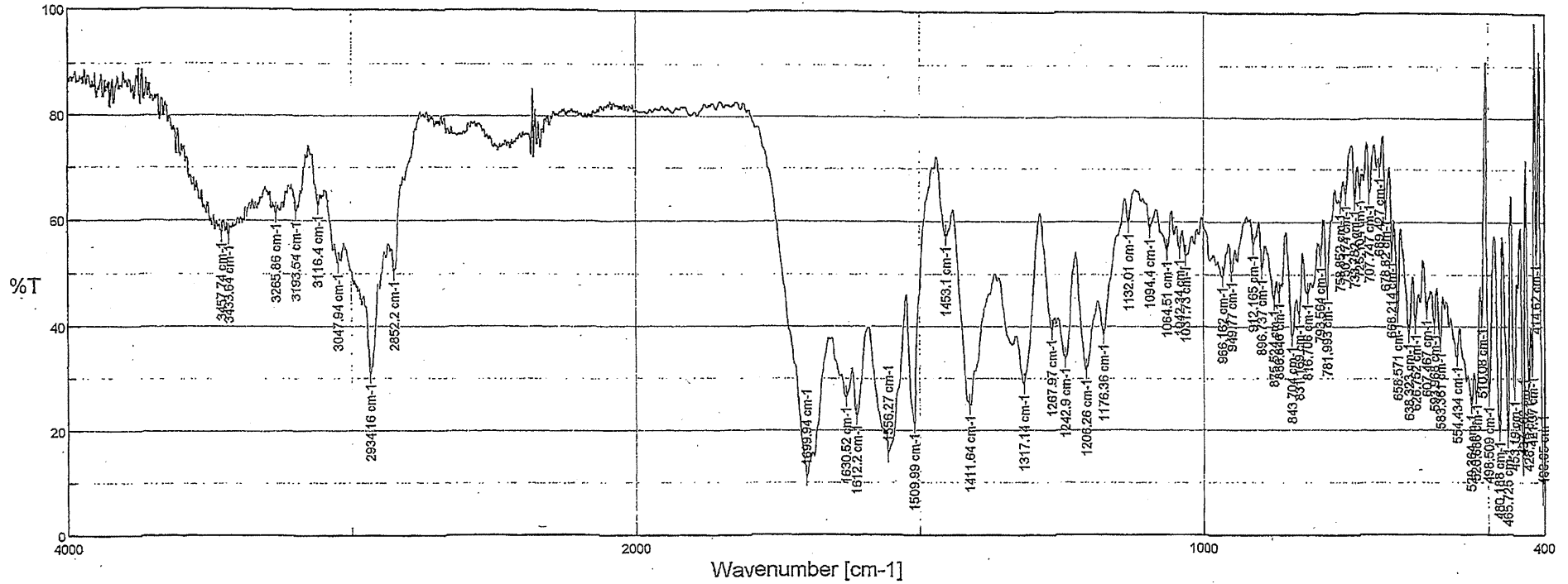
4. 投与経路、及び製剤の妥当性に関して。

今回は、非臨床試験を中心にご相談させて戴き、First in Human でテーマとなる製剤に関しましては次回に回したいと存じます。

これまでのカニクイサルを用いた経口投与による毒性試験及びTK試験の結果、及び静脈投与による毒性及びTKに関する予備試験の結果、静脈投与が適当である、と考えます。医師主導試験におきましても、週一回の点滴静注であれば、実施可能であるため、静脈投与を選択したいと考えております。従いまして、これから静脈投与に関する毒性試験を、開始したいと考えております。この点に関しまして、ご相談させて戴きたく存じます。

また、非臨床試験の場合は、製剤としては、P092 マレイン酸塩をミリポアフィルターを通し、バクテリアを取り除いた上で、投与致したく存じます。

First in Human における製剤に関しては、来年度改めて、ご相談させて戴きたいので、よろしくお願い申し上げます。



[コメント情報]

試料名
コメント
測定者
所属
会社

東京化成工業(株)

[データ情報]

作成日時
データタイプ
横軸
縦軸
スタート
エンド
データ間隔
データ数

2013/06/25 14:56
等間隔 データ
Wavenumber [cm-1]
%T
399.193 cm-1
4000.6 cm-1
0.964233 cm-1
3736

[測定情報]

機種名
シリアル番号
光源
検出器

FT/IR-4100typeA
A002261016
第1光源
第1検出器

積算回数

13

分解

4 cm-1

ゼロフィリング

On

アポダイゼーション

Cosine

ゲイン

Auto (64)

アパーチャ

Auto (7.1 mm)

スキャンスピード

Auto (2 mm/sec)

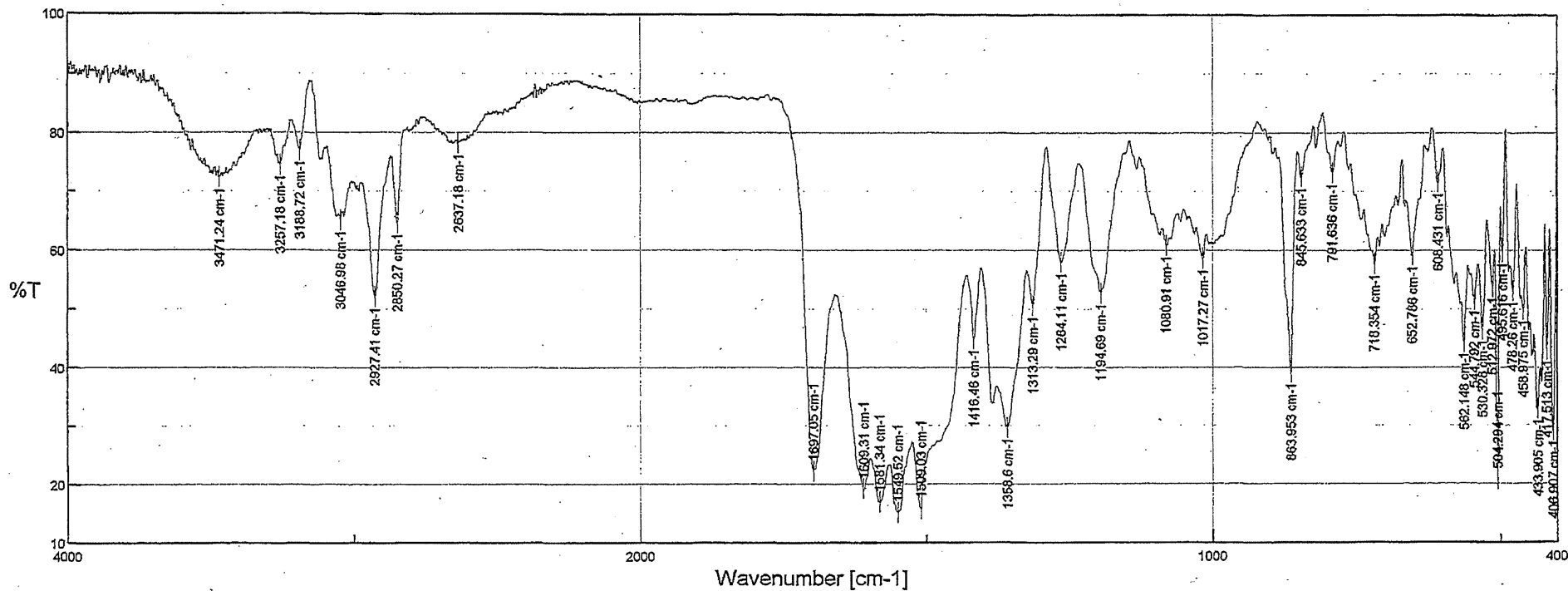
フィルタ

Auto (30000 Hz)

Memory-5 Z4144 5pp71

Z4326 IR

コハク酸塩



[コメント情報]

試料名
コメント
測定者
所属
会社

東京化成工業(株)

[データ情報]

作成日時
データタイプ
横軸
縦軸
スタート
エンド
データ間隔
データ数

2013/04/26 14:17
等間隔 データ
Wavenumber [cm-1]
%T
0 cm-1
4000.6 cm-1
0.964233 cm-1
4150

[測定情報]

機種名
シリアル番号
光源
検出器

FT/IR-4100typeA
A002261016
第 1 光源
第 1 検出器

積算回数
分解
ゼロフィリング
アポダイゼーション
ゲイン
アパーチャー
スキャンスピード
フィルタ

16
4 cm-1
On
Cosine
Auto (32)
Auto (7.1 mm)
Auto (2 mm/sec)
Auto (30000 Hz)

Memory-2

Z4144 Exp67

Zレイン酸塩

カニクイザルを用いたプリオン感染モデルにおける P092 マレイン
酸 or コハク酸塩の薬効薬理、及び毒性試験プロトコル(案)

実施試験案概要

1. 表題

カニクイザルを用いたプリオン感染モデルにおける P092 マレイン酸 or コハク酸塩の薬効薬理試験

2. 試験の目的

P092 のマレイン酸又はコハク酸塩を用いて、プリオン病に対する P092 の治療効果をカニクイザルのプリオン病モデルで検討する。

3. 試験委託者

国立大学法人岐阜大学
〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1 番 1
委託責任者 桑田 一夫
TEL : 058-230-6143, FAX : 058-230-6144

4. 試験受託者

立行政法人医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター
〒305-0843 茨城県つくば市八幡台 1-1
独立行政法人 医薬基盤研究所
〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ 7 丁目 6 番 8 号

5. 試験実施施設

独立行政法人医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター
〒305-0843 茨城県つくば市八幡台 1-1

6. 試験実施責任者

柴田 宏昭
独立行政法人医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター
〒305-0843 茨城県つくば市八幡台 1-1

7. 試験実施期間

試験開始： 2013年 6月 25日
動物移管： 2013年 7月 16日
群分け： 2013年 7月 *日
プリオン接種日：2013年 7月 *日
試験終了予定： 2015年 3月 31日

8. 疾患モデルの概略

BSE 感染サルの脳乳剤を用いてプリオン病感染モデルをカニクイザルで作製する。

9. 疾患モデル作成方法

9.1 被験動物

カニクイザル (Cynomolgus macaque) n=6 匹
性別：オス
年齢：1~2 歳 (プリオン接種時)

9.2 試験群構成

- 1群 コントロール群 2匹
- 2群 精神症状発現後投与 2匹
- 3群 神経症状発現後投与 2匹

9.3 プリオンの接種方法

BSE 感染サル（BSE/JP6, classical type）、1代継代
 10%脳乳剤/PBS (w/v)、200 µl
 接種方法：右側頭骨にドリルで穴を開け、線条体に注射する。
 接種日および接種後2日間抗生物質投与

9.4 飼育環境

ABSL3 感染実験施設、個別アイソレーター飼育
 正面および、横のサルとのアイコンタクトは可能。
 各飼育ケージ内にコングトイ提供

10. 試験のデザイン

オープンラベル、プラセボコントロール試験

11. 投与方法・投与量・投与スケジュール

11.1 被験物質

コントロール群 ブドウ糖液（未確定）
 被験薬投与群 P092（マレイン酸塩又はコハク酸塩）
 *被験物質の調整方法も記載のこと

11.2 治療薬候補物質の投与時期

投与開始時期（未定）
 1群 コントロール群 一匹は精神症状発現時期、もう一匹は神経症状発現時期
 2群 精神症状発現時期
 3群 神経症状発現時期

11.3 投与量

（未定）（現在、吸収と毒性を調査中）

11.4 投与間隔

（未定）毎日一回経口投与、或いは毎週一回点滴静注

11.5 投与方法

（未定、リングに塗布 or 注射？）
 ↑筋注、皮下注は割と簡単にできる。静注であれば1週間に1回くらいが良い

11.6 投与スケジュール（案）

現在検討している投与スケジュールは下記のとおり。

	2013												2014												2015						
	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3									
予定潜伏期	*prion 接種																														

PrPSc (QUIC) (実施場所の検討)
ADL 他 (長崎大学と検討)
食欲不振 有、無 *食事不能時は安楽殺

12. 信頼性の保証

kuwata

差出人: Oonishi Yasuyuki [Oonishi.Yasuyuki@mp.medience.co.jp]
送信日時: 2013年8月20日火曜日 13:43
宛先: kuwata@gifu-u.ac.jp; Aida Yuu
件名: P092の静脈内投与試験:データのご送付
添付ファイル: P092静注試験まとめ130820.xls

岐阜大学 桑田先生

お世話になっております。

先週行いました静脈内投与実験の結果をお送りいたします。

今回は、12.5 mg/mL 液を 0.5mL/分の速度で 8mL/kg の投与液量にて投与を行っております (100 mg/kg)。
前回行ったボラス静脈内投与の結果と合体させてまとめましたのでご参照ください。

今回も脳脊髄液中濃度は BLQ でございました。しかしながら、1.4ng/mL 程度のピークは見られたようです。前回の 25mg/kg 投与では 0.5ng/mL 程度のピークでしたので、それよりは少し上がっていたようです。

ただ、用量を 25→100mg/kg に増やしてもさほど脳脊髄液中濃度は上がらないこと、またこれより高用量では、おそらく動物がもたないと思われることから、用量をこれ以上あげる意味は少ないように思われます。

先生のご指摘のとおり脳脊髄液中でも均一とは限らず、どこかに吸着してしまっている可能性もあります。

ちなみに脳脊髄液は、頸椎より穿刺して採取しております。

まずはマウスに浸透圧ポンプを埋め込んだ際の血漿中濃度を求め、その濃度に応じた投与用量、経路を選択するのが良いと思いますが、いかがでしょうか？

またアイソトープ標識体を用いた動態試験を行えば、どこにどれだけ移行しているかもしくは吸着しているかも明らかになると思います。

ご検討のほどお願い申し上げます。

三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部
試験研究センター 安全性研究部
大西 康之
〒314-0255
茨城県神栖市砂山 14-1

静脈内投与試験におけるP092血漿中濃度

1) 25mg/kg (12.5 mg/mL), 100mg/kg (50mg/mL)をボラス静脈内投与(投与液量:2mL/kg)

<マレイン酸塩静脈内投与>

Dose (mg/kg)	Animal No.	Plasma concentration of analyte (ng/mL)				
		0.083 h	2 h	4 h	8 h	24 h
25	50201	768	146	73.7	26.6	BLQ
100	50301	247000	-	-	-	-

BLQ: Below the lower limit of quantification (< 5 ng/mL)

* 100mg/kg投与動物は投与時にショック症状を呈し死亡, 溶血にともなうショックと考えられる

**25 mg/kg投与動物でも血液は溶血, 血尿も見られる。

2) 100 mg/kg (12.5 mg/mL液)を0.5mL/分の速度で静脈内投与(投与液量:8mL/kg)

<マレイン酸塩静脈内投与>

Dose (mg/kg)	Animal No.	Plasma concentration of analyte (ng/mL)				
		0.083 h	2 h	4 h	8 h	24 h
100	50201	2120	983	628	582	86.9

*血尿及び体温低下が見られたが, 瀕死状態にはいたらず, 回復

静脈内投与試験におけるP092脳脊髄液濃度

1) 25mg/kg (12.5 mg/mL), 100mg/kg (50mg/mL)をボース静脈内投与 (投与液量: 2mL/kg)

<マレイン酸塩静脈内投与>

Dose (mg/kg)	Animal No.	CSF concentration of analyte (ng/mL)	
		2~4 h	24 h
25	50201	BLQ	BLQ

BLQ: Below the lower limit of quantification (< 5 ng/mL)

*BLQではあるが、2-4時間にわずかなピークあり(0.5ng/mL程度)

2) 100 mg/kg (12.5 mg/mL液を0.5mL/分の速度で静脈内投与, 投与液量: 8mL/kg)

<マレイン酸塩静脈内投与>

Dose (mg/kg)	Animal No.	CSF concentration of analyte (ng/mL)	
		2~4 h	24 h
100	50201	BLQ	BLQ

BLQ: Below the lower limit of quantification (< 5 ng/mL)

*BLQではあるが、2-4及び24時間にわずかなピークあり(1.4ng/mL程度)

【治験成分記号 P092(受付番号 戦 P76)】
に関する照会事項

対する回答

医薬品戦略相談(3)

2013年9月5日

桑田 一夫

(岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科)

御照会事項に対する回答

岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 桑田一夫

<原薬の塩の検討について>

1. SSCI研究所の最終報告書においては、種々の条件においてマレイン酸塩の結晶が得られていません。東京化成においては結晶が得られていることから、東京化成で製造されているマレイン酸塩の結晶化の方法について説明してください。

回答：原料(フリー体)を THF に溶解し、マレイン酸を加えて塩を形成させますが、マレイン酸を加えた時点から徐々に結晶が析出してきます。それを回収し、IPA 変性エタノールで再結晶しました。

2. マレイン酸塩の製造方法について、再現性の確認及びスケールアップ化の検討を実施しているか説明してください。実施している場合には、検討結果等について分析データを提示して説明してください。

回答：再現性確認及びスケールアップの検討はまだ行っておりません。今後、スケールアップを行いますので、その際に再現性を確認致します。

3. マレイン酸塩の4週間の苛酷試験結果を提示してください。また、苛酷試験における各分析項目の各測定時点におけるスペクトルデータ (IR, NMR, XRD, HPLCなど) を提示してください。そして、特に結晶形の変化及び不純物の増加の観点から、マレイン酸塩の安定性について再度説明してください。

回答：一部スペクトルデータが揃っておりませんので、取り寄せております。揃っているデータのみ送付致します (添付資料参照)。

4. マレイン酸塩の苛酷試験 (2週間) について、次のことを説明してください。
① IRスペクトルにおいて2363 cm^{-1} 付近のピークが顕著に見えると記載されていますが、添付された製造直後のIRスペクトルには該当するピークが存在しないことから、当該ピークを帰属し、品質への影響を考察してください。

回答：IRスペクトルを測定する際、ブランクをうまく差し引くことができず、二酸化炭素の吸収が残ったものと思われます、従いまして、品質への影響はないものと考えます。

② 核磁気共鳴スペクトルにおいて $\delta = 1.033$ 及び 1.044 付近のシグナルが消失したと記載されていますが、当該シグナルを帰属してください。当該シグナルが残留溶媒に帰属されるのであれば、i) 残留溶媒の含量がICHガイドラインQ3Cの基準値以内であるのか、ii) マレイン酸塩の乾燥についてどのように管理されているのか説明してください。

回答：NMR上の $\delta=1.033$ 及び 1.044 付近のシグナルは、再結晶溶媒として用いたIPA変性エタノール中に含まれるIPAになります。

i) NMR上の積分比から換算すると、IPAが約0.218重量%残留していると思われます。

ii) 乾燥条件は真空乾燥機使用、 70°C 、96時間です。

IPAが乾燥しにくいいため、次回以降の製造には無水エタノールを使用予定です。

4. フリー体について、事前面談時に提出された粉末X線結晶構造解析（ロット：E5Z6K, 65E3H, QV48N, J2FNO）よりもシャープなスペクトルが提示されていますが（治験薬概要書、ロット番号：EGWYC）、結晶化条件を変更したのか説明してください。また、熱分析データ等に基づいて結晶形について考察してください。

回答：ロット：E5Z6K, 65E3H, QV48N, J2FNOはTHF/イソプロピルエーテルの混液にて再結晶を行っていましたが、再結晶溶媒を変更し、ロット：EGWYCは、IPA変性エタノールにて再結晶を行いました。DSCにて、ロット：E5Z6K, 65E3H, QV48N, J2FNOで見られた 100°C 付近の転位点は消失しており、より安定型の結晶形になっていると思われます。

5. フリー体について、ロット番号：QWAUDの加速試験について各測定時点における各スペクトルデータを提示してください。

回答：スペクトルデータを送ります（添付資料参照）。

6. マレイン酸塩及びフリー体の水（酸性〔pH 1〕、弱酸性〔pH 3~5〕、中性〔pH 7付近〕、弱塩基性〔pH 10付近〕）及び有機溶媒に対する溶解性について、検討を行っていただければ、データを提示して説明してください。

回答：溶解性について、検討を行っておりません。

8. マレイン酸塩及びコハク酸塩の¹H-NMR及び¹³C-NMRチャートについて、各ピークの帰属を行ってください。また、フリー体のNMRチャートと比較し、適切に塩が形成されていると判断できるか、説明してください。なお、帰属できないピークが認められる場合には、現在のHPLC条件では検出できない（分離できない、検出波長での吸光がない等）不純物が混入している可能性があるため、当該不純物の推定構造及び含量についても、可能な限り説明してください。

回答：NMR上のピークの帰属については、添付ファイルを参照下さい。マレイン酸塩、コハク酸塩とも¹H-NMRの積分比により、それぞれ2マレイン酸塩及び2コハク酸塩が形成されていると判断できます。また、非水滴定にてP092フリー体を、中和滴定にて対となる酸を定量したところ、マレイン酸塩及びコハク酸塩ともほぼ理論値となりましたので、この結果からも2マレイン酸塩及び2コハク酸塩となっていると考えられます。

<プリオン感染サルによる薬理試験プロトコールについて>

9. 本薬投与開始時期について、精神症状及び神経症状発症後の2群に分けて試験を実施する旨記載されていますが、次に示す理由からプリオン病を発症した早期から投薬を開始すべきと考えますので、サルにおいてプリオン病を発症したと判断する基準について、観察項目及び検査項目に基づいて具体的に説明してください。① プリオン病患者における初期症状として、必ずしも食欲不振、睡眠障害及び体重減少等の精神症状が先に発現するとは限らず、運動障害及びミオクローヌス等の神経症状が先に発現する可能性は否定できないことから、両症状を区別して投与開始時期を設定する意義は高くないと考えること。

② 発症早期から投与を開始した場合に加えて、ある程度症状が進行した段階から投与を開始した場合の有効性について検討することは有意義と考えるものの、同時比較可能なサルの例数が6匹に限られていることを踏まえれば、本試験においては本薬の有効性がより明確に示されることが期待できる発症早期から投薬を開始した場合の有効性を評価することがより有益と考えること。

回答：プリオン感染サル治療試験プロトコールを変更しましたので、資料として添付します。