サノフィ株式会社

プリマキン錠 15 mg「サノフィ」

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.4 非臨床試験の概括評価

Date:

Total number of pages: 14

目　　次

略号と用語の定義 4

1　非臨床試験計画概略 5

2　薬理試験 7

3　薬物動態試験 9

3.1　薬物動態パラメータ 9

3.2　吸収 9

3.3　分布 9

3.4　代謝 10

3.5　排泄 10

3.6　薬物動態学的相互作用 10

4　毒性試験 11

5　総括及び結論 13

参 考 文 献 14

図　目　次

図 1 - マラリア原虫の生活環 5

図 2 - プリマキンリン酸塩の構造式 6

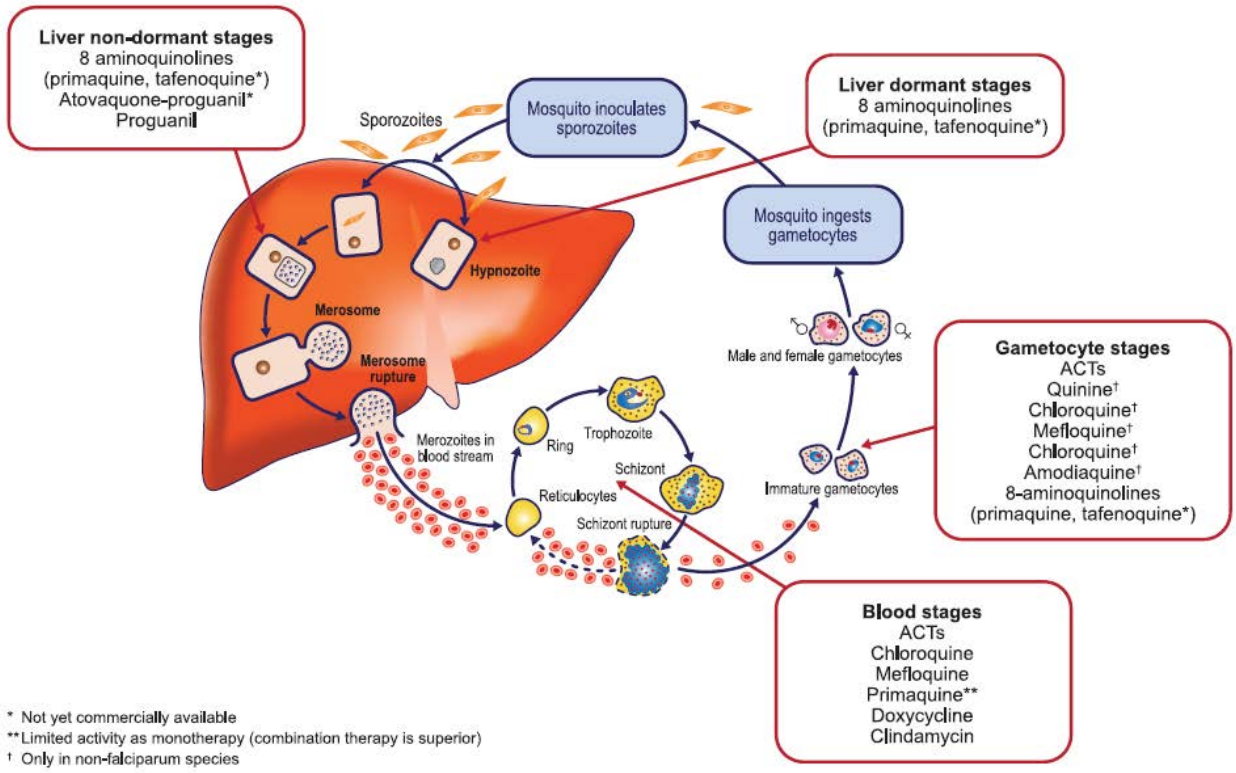
略号と用語の定義

AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（aspartate aminotransferase）
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase）
CYP	チトクロム P450（cytochrome P450）
6D5HPQ	5-ヒドロキシ-6-デスメチルプリマキン（5-hydroxy-6-desmethylprimaquine）
FMLP	ホルミルメチオニルロイシルフェニルアラニン（formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine）
GLP	安全性に関する非臨床試験の実施の基準（good laboratory practice）
5-HPQ	5-ヒドロキシプリマキン（5-hydroxyprimaquine）
IC_{50}	50%阻害濃度（half maximal (50%) inhibitory concentration）
IC_{90}	90%阻害濃度（90% inhibitory concentration）
Ig	免疫グロブリン（Immunoglobulin）
LD_{50}	50%致死量（50% Lethal Dose）
MAQ-NOH	6-メトキシ-8-ヒドロキシルアミノキノリン（6-methoxy-8-hydroxylaminoquinoline）
NK	ナチュラルキラー（natural killer）
P. berghei	ネズミマラリア（Plasmodium berghei）
P. cynomolgi	サルマラリア（Plasmodium cynomolgi）
P. falciparum	熱帯マラリア（Plasmodium falciparum）
P. knowlesi	二日熱マラリア（Plasmodium knowlesi）
P. ovale	卵形マラリア（Plasmodium ovale）
P. vivax	三日熱マラリア（Plasmodium vivax）
RNA	リボ核酸（ribonucleic acid）

1　非臨床試験計画概略

マラリアは *Plasmodium* 属の寄生性原虫が原因の感染症で、ヒトの病原体となるものはながらく熱帯熱マラリア原虫（*P. falciparum*）、三日熱マラリア原虫（*P. vivax*）、四日熱マラリア原虫（*P. malariae*）、卵形マラリア原虫（*P. ovale*）の4種類であったが、近年、サルに感染する二日熱マラリア原虫（*P. knowlesi*）が5種類目として注目を集めている。*P. vivax* と *P. ovale* では、肝臓内で緩徐に発育するヒプノゾイト（休眠体）とよばれる発育ステージの存在が知られている（図 1）(1)。ヒプノゾイトは数年～数十年間肝臓内に残存し、このヒプノゾイトを死滅させない限り、たとえ末梢血液中の原虫が消滅したとしても、感染者は何度も何度も再発を繰り返す。そのため、ヒプノゾイトを形成する三日熱マラリアと卵形マラリアの治療では、クロロキンあるいはヒドロキシクロロキンのような末梢血液中の原虫に対する抗マラリア剤を使用した後に、肝臓内ヒプノゾイトに効果を示す薬剤を使用しなければならない(2)。

図 1 - マラリア原虫の生活環

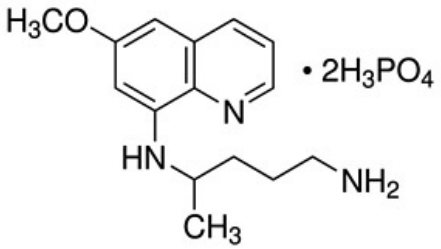


（文献2 の Figure 1 を引用）

プリマキンは 8-アミノキノリン化合物で、*P. vivax*、*P. ovale* のヒプノゾイトを殺滅することにより再発予防を行う根治療法薬であり、種々の非臨床薬理試験、ヒトでの臨床使用においてその薬効が確

認されている。プリマキンリン酸塩錠はプリマキンリン酸塩（8-[(4-Amino-1-methylbutyl) amino]-6-methoxyquinoline phosphate）を 26.3 mg（プリマキンとして 15 mg に相当）を含有する。

図 2 - プリマキンリン酸塩の構造式



相対分子量：455.34 （リン酸塩）、259.35（遊離塩基）

本申請にあたって社内で実施された非臨床薬理、安全性薬理、薬物動態、毒性試験は存在しないため、全て文献情報を用いて評価した。そのため、安全性薬理、非臨床薬物動態及び毒性試験は、GLP 基準に準拠して実施された試験ではない。CTD の Module 2.6 については文献からでは概要表を作成するに十分な情報がないため、Module 2.6.3、2.6.5、2.6.7 は作成しなかった。

非臨床試験のうち *in vitro* 及び *in vivo* 薬理試験については *P. vivax* 及び *P. ovale* を用いた試験系はいまだ十分に確立されていないため、主にサルに感染するマラリア原虫である *P. cynomolgi* を用いた試験の結果から評価した。*P. vivax* は *P. cynomolgi* の宿主転換によってヒト寄生性となり、サルへの感染能力を失ったものであるが、両者共にヒプノゾイトを形成し、ゲノム構成も類似していることが報告されている(3)。

2　薬理試験

以下にプリマキンの薬理作用についてのまとめを記載する。

効力を裏付ける試験 - *in vitro*

カニクイザル及びアカゲザルの培養肝細胞に *P. cynomolgi* を感染させたモデルにおいて、肝細胞内のヒプノゾイトと判断される 1 個の核を有する小型原虫に対するプリマキンの殺作用が示された（[Module 2.6.2.2.1]参照）。

効力を裏付ける試験 - *in vivo*

アカゲザルに *P. cynomolgi* のスポロゾイトを接種した後に血液ステージ原虫を確認した感染確立モデルにおいて、プリマキン 3 及び 6 mg/kg/日の 7 日間投与で投与動物が全例治癒した（プリマキン投与後に血液ステージ原虫が消失し、最終投与から 56 日間以上再発が認められない場合は脾臓を摘出。その後 21～28 日間再発が認められなければ治癒したと判断した）（[Module 2.6.2.2.2] 参照）。

代謝物

ネズミマラリア原虫 *P. berghei* のメロゾイト形成に対する作用を見た *in vitro* 試験ではプリマキン及び代謝物間に効力の差が見られ、マウスへの *P. berghei* のスポロゾイト投与後増殖に対する作用を見た *in vivo* 試験では、プリマキンが薬効を示すには代謝されることが重要であることが示唆された（[Module 2.6.2.2.3] 参照）。

エナンチオマー

ネズミマラリア原虫感染マウスの血液シゾントに対するエナンチオマー効力比較を行ったところ、(-)-体のほうが効力が弱かった（[Module 2.6.2.2.4] 参照）。

作用機序

プリマキンで処理した *P. falciparum* のガメトサイト（生殖母細胞）のミトコンドリアに形態変化が認められたが、ミトコンドリア電子伝達系に対する阻害作用が本薬のヒプノゾイトに対する作用にどの程度寄与しているかは不明である。一方、G6PD 欠損症の人のマラリア感染に関する疫学調査の結果から、プリマキン投与後に生じる活性酸素による酸化的ストレスが薬効に寄与している可能性があると考えられた（[Module 2.6.2.2.5] 参照）。

副次的薬理試験

プリマキンが *P. falciparum* のガメトサイト、*Pneumocystis carinii* に対する殺作用を有していることが示された（[Module 2.6.2.3] 参照）。

安全性薬理試験

プリマキンは用量依存的に HEK293 細胞の hERG 電流を抑制し、ラット心筋細胞の Ito（一過性外向き K^+電流）振幅を減少及び Ito 電荷を減少させ、$I_{Na}{}^+$を抑制した。麻酔イヌにおいてはプリマキンの静脈内投与で大動脈血圧低下、冠血管抵抗低下、右心室収縮力低下が認められた。麻酔イヌへのプリマキン静脈内投与で肺抵抗、肺コンプライアンスへの影響は認められなかった。一般毒性試験においてイヌで嘔吐、食欲不振、サルで不穏、嘔吐、食欲不振が認められているが、中枢への直接的な作用なのか、間接的な作用なのかは不明である（[Module 2.6.2.4] 参照）。

3　薬物動態試験

プリマキンをラット、イヌ、及びサルに単回投与した薬物動態文献を収集し、動物における吸収、分布、代謝及び排泄について検討した。

3.1　薬物動態パラメータ

プリマキンをマウス、ラット、イヌ及びサルに投与したときの消失は速やかであり、消失半減期は約 1～3 時間であった。動物において単回投与と反復投与の薬物動態パラメータを比較した報告はないが、ヒトにおいて単回及び反復投与後の薬物動態パラメータに大きな差は見られなかったこと（Module 2.7.2 参照）、及びプリマキンの消失は速やかであることから、蓄積性はほとんどないと考えられる。

プリマキンの(+)体又は(-)体をマウス及びサルに投与したとき、(+)体と (-)体で未変化体の t_{max} 及び C_{max} に大きな差はなかったが、カルボン酸体の濃度は(-)体の方が高かった。

非臨床動物種において、プリマキンの線形性を評価した報告はないが、ヒトにおいては、プリマキンの薬物動態は用量比例的な増加を示していた（Module 2.7.2 参照）。

3.2　吸収

マウス、ラット、イヌ及びサルにプリマキンを経口投与したとき、プリマキンは速やかに吸収され、投与後 2 時間までに t_{max} に到達した。ラットにプリマキンを経口投与したときの絶対バイオアベイラビリティは約 25%であった。またサルにプリマキンを経口投与したときの絶対バイオアベイラビリティは約 53%であった。

プリマキンは、In vitro 膜透過性試験の結果から高い膜透過性が示されており、またヒトにプリマキンの放射能標識体（静脈内投与）及び非標識体（経口投与）を投与したときの経口バイオアベイラビリティは 96%であったことから、プリマキンの吸収は良好であると考えられる。しかしながら、ラットにおいて絶対バイオアベイラビリティが高くないが、初回通過効果（代謝又は胆汁中排泄）を受けた可能性が考えられる。

3.3　分布

マウスにおいて、プリマキンを単回静脈内投与したとき、高濃度に分布した組織は、肝臓、肺、腎臓及び骨格筋であり、その他の組織（心臓、胃、十二指腸、直腸、脳）においては、投与量の 1%に満たなかった。

ラットにおいて、プリマキンは主に肝臓、肺、副腎、腎臓、脾臓に分布が認められ、また静脈内投与 6、12、24 時間後に小腸及び大腸に高濃度の放射能が残っていたことから、未変化体あるいはその代謝物の胆汁中排泄が示唆された。

プリマキンの赤血球への移行率は約 10～30%程度と考えられ、血漿中においては、主に AAG に結合すると考えられる。

非臨床動物種においてプリマキンの胎盤通過の可能性について調べた報告はない。

3.4 代謝

プリマキンは主に MAO-A 及び CYP2D6 により代謝され、血漿中の主な代謝物はカルボン酸体のカルボキシプリマキンである。静脈内投与時でのカルボン酸体に代謝される割合は、ラットで約 22%、サルで 35～83%であった。プリマキンの一部の代謝物（5-Hydroxyprimaquine、5-Hydroxy-6-desmethylprimaquine 及び MAQ-NOH）が、メトヘモグロビン血症、溶血の発生に関与している可能性は否定できないと考えられている（Module 2.6.6 参照）。

3.5 排泄

ラットに ^{14}C-プリマキンを単回静脈内、腹腔内又は経口投与したとき、24 時間までに尿中及び糞中にそれぞれ 11～37%及び 14～18%が排泄された。また胆汁中排泄率は、投与後 5 時間以内で約 34～64%であった。

サルに ^{14}C-プリマキンを単回静脈内又は経口投与したとき、いずれの投与経路においても 96 時間までに尿中及び糞中にそれぞれ約 70～80%及び 20%が排泄された。

非臨床動物種においてプリマキンの乳汁中排泄を調べた報告はない。

3.6 薬物動態学的相互作用

In vitro 試験において、プリマキンは CYP1A2、2D6 及び 3A4 の阻害を示した。CYP1A2 及び CYP2D6 の阻害定数はそれぞれ 0.22 µmol/L 及び 23 µmol/L であり、CYP3A4 の基質に対する代謝阻害濃度 IC_{50} は 19.4 µmol/L であった。他の CYP の阻害については報告されていない。ヒトにプリマキンを 15 mg 投与したときの平均 C_{max} は約 0.25 µmol/L であったことから（Module 2.7.2）、臨床用量では CYP1A2 を阻害する可能性が示唆された。また、in vitro 試験でプリマキン 10 µmol/L の用量で CYP1A2 の mRNA の発現量上昇が認められたが、臨床用量での CYP1A2 の誘導の可能性は低いと考えられる。さらに、in vitro 試験でプリマキンは 2 µmol/L 以上の濃度で P-gp に対する阻害作用を示したが、臨床用量での P-gp の阻害の可能性は低いと考えられる。

プリマキンは血漿中 AAG との結合親和性が高いことから、AAG と結合する薬物との相互作用の可能性が考えられる。

4　毒性試験

以下に毒性試験のまとめを記載する。

単回投与毒性

雄 BDF_1 マウスにおける経口投与の LD_{50} 値はラセミ体が 100 mg/kg、(+)-体が 42 mg/kg、(-)-体が 160 mg/kg であった[塩基]、F344 ラットにおける経口投与の LD_{50} 値は雄で 100.8 mg/kg、雌で 139 mg/kg [塩基換算] であった（[Module 2.6.6.2] 参照）。

反復投与毒性：

ラットで 28 日間、イヌで 28 日間、サルで 3～28 日間の反復投与毒性試験が実施されている。ラットの試験（最大 27 mg/kg/日[塩基換算]投与）では体重減少、血液学的検査で血小板数減少、赤芽球数と網状赤血球数増加、メトヘモグロビン血症、白血球数増加、血液生化学検査でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）上昇、空腹時血糖低下が認められた。病理組織学的検査では心筋、骨格筋、横隔膜などの横紋筋の変性・炎症性変化、肝臓での胆管過形成、門脈炎症、腎臓での上皮過形成が認められた。イヌの 28 日間反復投与試験（最大 9 mg/kg/日[塩基換算]投与）では嘔吐、下痢、食欲不振、体重減少、メトヘモグロビン血症、血小板数減少、AST 及び ALT が上昇、血清ハプトグロビン上昇が認められた。病理組織学的検査では心筋混濁腫脹、肝臓の空胞変性、腎臓尿細管の混濁腫脹、上皮再生像、扁桃のリンパ球減少、胸腺退縮などが認められた。サルの 28 日間反復投与試験（最大 6 mg/kg/日[塩基換算]投与）では、嘔吐、体重減少、空腹時血糖低下、赤血球数減少、AST 及び ALT 及び乳酸デヒドロゲナーゼ上昇が認められた。病理組織学的検査では肝臓の脂肪変性、門脈領域への単核細胞浸潤、肝索細胞壊死、腎臓の脂肪変性、単核球浸潤、混濁腫脹、脾臓の赤脾髄への好中球浸潤、濾胞過形成、大脳皮質に浮腫とグリオーシスなどが認められた（[Module 2.6.6.3] 参照）。

遺伝毒性

In vitro の細菌を用いた復帰突然変異試験の一部、*in vivo* のマウスを用いた試験（骨髄細胞姉妹染色分体交換、骨髄細胞染色体異常）で陽性結果が得られた（[Module 2.6.6.4] 参照）。

がん原性

医薬品のがん原性を評価するために一般的に実施されているげっ歯類を用いた試験は実施されていない（[Module 2.6.6.5] 参照）。

生殖発生毒性

ラットの妊娠 6～15 日に 30.8 mg/kg/日[塩基換算]を投与した結果、母動物毒性ならびに胚吸収増加、胎児生存率と体長の減少、内臓異常（水頭症、内臓逆位）、骨格変異の増加が認められた。また、妊娠 13 日のみに 57 mg/kg[塩基換算]を単回投与した結果、母動物毒性と胎児異常（骨化中心への影響に起因する口蓋裂、小顎症など）が認められた（[Module 2.6.6.6] 参照）。

その他の毒性

血液毒性（メトヘモグロビン血症）：メトヘモグロビン血症の発生にはプリマキン代謝物の 5-ヒドロキシプリマキン（5-HPQ）、6-デスメチル-5-ヒドロキシプリマキン（6D5HPQ）、6-メトキシ-8-ヒドロキシルアミノキノリン（MAQ-NOH）が関与している可能性は否定できないと考えられた（[Module 2.6.6.8.1.1] 参照）。

血液毒性（溶血）：溶血の発生にはプリマキン代謝物の 5-HPQ、6D5HPQ、MAQ-NOH が関与している可能性は否定できないと考えられた。またその発生メカニズムには活性酸素種が関与している可能性が推察された（[Module 2.6.6.8.1.2] 参照）。

免疫毒性：*In vitro* 試験においてプリマキンによるサルリンパ球分化反応（幼若化反応）及び単球貪食能の低下（250 ng/mL [1 µmol/L]）、ヒト多形核白血球をホルミルメチオニルロイシルフェニルアラニン（FMLP）あるいは免疫複合体で刺激した際の超酸化物産生及び酵素顆粒放出阻害（50～250 µmol/L）が認められた。一方、K-562 細胞を標的としたヒトナチュラルキラー（NK）細胞の細胞毒性を抑制しなかった（1～10 µg/mL）。*In vivo* 試験では、サルにプリマキン 1.5 mg/kg/日[塩基換算]を 7 日間経口投与したが、リンパ球の分化及び単球の貪食能、血中補体 C_3 量、免疫グロブリン（IgG、IgM、IgA）量に影響は認められなかった（[Module 2.6.6.8.2] 参照）。

光毒性：プリマキン水溶液及びアセトニトリル溶液の UVA、UVB 領域には強い吸収が認められ、マウス 3T3 線維芽細胞とヒトケラチノサイト NCTC-2544 細胞を用いた紫外線照射光毒性試験では光毒性が認められた。この試験ではミトコンドリアでの活性酸素種の生成、膜脂質の過酸化、タンパク質の酸化が生じ、壊死ではなくアポトーシスが生じていることも示されている（[Module 2.6.6.8.3] 参照）。

5　総括及び結論

薬理試験については *P. vivax* 及び *P. ovale* を用いた試験系はいまだ十分に確立されていないため、主にサルに感染するマラリア原虫である *P. cynomolgi* を用いた試験の結果から評価した。*in vitro* 試験では培養肝細胞中のヒプノゾイトと考えられる原虫に対する殺作用が認められ、*in vivo* 試験では感染モデルでの治療効果が確認された。

安全性薬理試験では心血管系への影響が認められたが、ヒトでの曝露量を上回る曝露で認められた変化であるため、臨床使用上の心血管系への影響はあったとしても小さいものであると考えられた。

プリマキンを経口投与したとき、プリマキンは速やかに吸収され、高濃度に分布した組織は主に肝臓、肺、腎臓であった。血漿中においては、プリマキンは主に α1-酸性糖タンパク質（AAG）に結合すると考えられた。

プリマキンは主に MAO-A 及び CYP2D6 により代謝され、血漿中の主な代謝物はカルボン酸体のカルボキシプリマキンであった。

サルに ^{14}C-プリマキンを単回静脈内又は経口投与したとき、いずれの投与経路においても 96 時間までに尿中及び糞中にそれぞれ約 70%及び 20%が排泄された。

毒性試験では反復投与によりプリマキンに起因する変化が肝臓、腎臓に認められた他、メトヘモグロビン血症が認められた。血液毒性試験では溶血も認められたが、プリマキンのいくつかの代謝物が血液毒性に関与している可能性は否定できないと考えられた。

参 考 文 献

1. Bassat Q. The use of artemether-lumefantrine for the treatment of uncomplicated Plasmodium vivax malaria. PLoS Negl Trop Dis. 2011;5:e1325.
2. Kawai S. Up-to-date knowledge of zoonotic simian malaria. Modern Media. 2010;56:139-45.
3. Tachibana S, Sullivan SA, Kawai S, Nakamura S, Kim HR, Goto N, Arisue N, Palacpac NM, Honma H, Yagi M, Tougan T, Katakai Y, Kaneko O, Mita T, Kita K, Yasutomi Y, Sutton PL, Shakhbatyan R, Horii T, Yasunaga T, Barnwell JW, Escalante AA, Carlton JM, Tanabe K. Plasmodium cynomolgi genome sequences provide insight into Plasmodium vivax and the monkey malaria clade. Nat Genet. 2012;44:1051-5.