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

2.6.6 毒性試験の概要文

Total number of pages: 45

目　　次

略号と用語の定義 7

1　まとめ 8

2　単回投与毒性試験 12

2.1　マウス単回経口投与毒性試験（エナンチオマー毒性比較） 12

2.2　マウス単回経口投与毒性試験 12

2.3　ラット単回経口投与毒性試験 12

3　反復投与毒性試験 13

3.1　ラット 28 日間経口投与毒性試験 13

3.2　イヌ 28 日間経口投与毒性試験 14

3.3　サル 3～7 日間経口投与毒性試験（エナンチオマー毒性比較含む） 15

3.4　サル 7 日間経口投与毒性試験（エナンチオマー毒性比較） 15

3.5　サル 14 日間経口投与毒性試験 15

3.6　サル 14 日間経口投与毒性試験（神経毒性試験） 16

3.7　サル 28 日間経口投与毒性試験 16

4　遺伝毒性試験 17

4.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 1 17

4.2　細菌を用いる復帰突然変異試験 2 17

4.3　細菌を用いる復帰突然変異試験 3 20

4.4 細菌を用いる復帰突然変異試験 4 20

4.5 細菌を用いる復帰突然変異試験 5 20

4.6 *In vivo* マウス骨髄細胞姉妹染色分体交換試験 21

4.7 *In vivo* マウス骨髄細胞染色体異常試験 22

5 がん原性試験 23

6 生殖発生毒性試験 24

6.1 ラット器官形成期投与毒性試験 1 24

6.2 ラット器官形成期投与毒性試験 2 24

6.3 その他 24

7 局所刺激性試験 25

8 その他の毒性試験 26

8.1 血液毒性 26

8.1.1 メトヘモグロビン血症 26

8.1.1.1 プリマキン及び代謝物（5-HPQ 及び 6D5HPQ）によるヒト血液中メトヘモグロビン生成（*in vitro*） 26

8.1.1.2 プリマキン代謝物（MAQ-NOH）によるメトヘモグロビン生成（*in vitro*） 26

8.1.1.3 プリマキン代謝物（カルボキシルプリマキン、6-MAQ、5-HPQ）によるメトヘモグロビン生成（*in vitro*） 27

8.1.2 溶血 27

8.1.2.1 プリマキン及び代謝物（5-HPQ 及び 6D5HPQ）によるヒト血液の血漿中ヘモグロビン放出（*in vitro*） 28

8.1.2.2 プリマキン代謝物（MAQ-NOH）による溶血毒性（*in vitro 及び in vivo*） 28

8.1.2.3 各種ヒトリコンビナント CYP 処理で得られたプリマキン代謝物によるヒト赤血球内の ROS 生成（*in vitro*） 29

8.1.2.4 G6PD 欠損ヒト赤血球移植 NOD/SCID マウスにおけるプリマキンの溶血毒性（*in vivo*） 30

8.1.2.5 プリマキンエナンチオマーのヒト赤血球に対する溶血毒性比較 31

8.2 免疫毒性試験 32
8.2.1 サルの免疫反応 1 32
8.2.2 サルの免疫反応 2 32
8.2.3 ヒト NK 細胞に対する影響 32
8.2.4 ヒト多形核白血球に対する影響 32
8.3 光安全性 33
8.3.1 吸収スペクトル 33
8.3.2 紫外線照射光毒性試験 33
8.4 代謝物の安全性評価 34
8.5 不純物の安全性評価 34
8.5.1 **不純物**A の毒性 35
8.5.2 **不純物**B の毒性 36
8.5.3 **不純物**C の毒性 36
8.5.3.1 単回投与毒性 36
8.5.3.2 反復投与毒性 36
8.5.3.3 コナミドリムシに対する毒性（プリマキンとの比較） 36
8.5.4 **不純物**D の毒性 37
8.5.5 DNA 反応性不純物 37
9 考察及び結論 38
10 図表 42
参 考 文 献 43

＊新薬承認情報提供時に置き換え

表　目　次

表 1 - 毒性試験 8
表 2 - BDF1 マウスの単回経口投与毒性試験 12
表 3 - アルビノ ラット 28 日間経口投与毒性試験（血液及び血液生化学検査値） 13
表 4 - ビーグル犬 28 日間経口投与毒性試験（血液及び血液生化学検査値：投与前後比較） 14
表 5 - アカゲザル 28 日間経口投与毒性試験（血液及び血液生化学検査値：投与前後比較） 16
表 6 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 1 17
表 7 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 2 – TA97a 18
表 8 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 2 – TA100 18
表 9 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 2 – TA102 19
表 10 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 2 – TA104 19
表 11 - 細菌を用いる復帰突然変異試験（*E. coli* WP2*uvrA*/pKM101） 21
表 12 - *In vivo* マウス骨髄細胞姉妹染色分体交換試験 21
表 13 - *In vivo* マウス骨髄細胞染色体異常試験 22
表 14 -ヒト血液中メトヘモグロビン量の変化 26
表 15 - ヒト血漿中ヘモグロビン量の変化 28
表 16 - Primaquine phosphate 原薬及び製剤の不純物規格 35
表 17 - **不純物**C　のコナミドリムシに対する毒性（プリマキンとの比較） 37
表 18 - 反復投与毒性試験における無毒性量 38
表 19 - ヒトでの安全域 40

＊新薬承認情報提供時に置き換え

図　目　次

図 1 - MAQ-NOH 処理したラット赤血球中のメトヘモグロビン存在率 27

図 2 - MAQ-NOH 処理した ^{51}Cr 標識赤血球のラット静脈内投与後の残存率、減少率 29

図 3 - プリマキン代謝物によるヒト赤血球内の ROS 産生 30

図 4 - G6PD 欠損ヒト赤血球移植 NOD/SCID マウスにおけるプリマキンの溶血毒性 31

図 5 - エナンチオマーのヒト赤血球に対する溶血毒性比較 31

図 6 - プリマキンの光吸収スペクトル 33

図 7 - 3T3 及び NCTC-2544 細胞に対する光毒性 34

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）
DCFDA	2',7'-dichlorofluorescein diacetate
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）
G6PD	グルコース-6-リン酸脱水素酵素（glucose-6-phosphate dehydrogenase）
5-HPQ	5-ヒドロキシプリマキン（5-hydroxyprimaquine）
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議（The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use）
Ig	免疫グロブリン（Immunoglobulin）
LD_{50}	50%致死量（50% Lethal Dose）
6-MAQ	6-メトキシ-8-アミノキノリン（6-methoxy-8-aminoquinoline）
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）
MTD	最大耐量（maximum tolerated dose）
NADP	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（nicotinamide adenine dinucleotide）
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（nicotinamide adenine dinucleotide phosphate）
NK	ナチュラルキラー（natural killer）
RNA	リボ核酸（ribonucleic acid）
ROS	活性酸素種（reactive oxygen species）
USP	米国薬局方（The United States Pharmacopeia）

1　まとめ

プリマキンの非臨床毒性評価に用いた *in vitro* 及び *in vivo* 試験の概要を表 1 に示す。本申請にあたり社内で実施された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。なお、これらの試験は全て GLP 基準に準拠して実施された試験ではない。

表 1 - 毒性試験

試験の種類	動物種、細胞等	投与経路、他	試験内容、他	著者（年） [資料番号]
単回投与毒性	BDF1 マウス	経口	LD_{50}	Schmidt LH (1977)
	Swiss albino マウス	経口	肝臓毒性	Noel S (2007)
	F344 ラット	経口	LD_{50}	LaMontagne MP (1989)
反復投与毒性	アルビノラット	経口	28 日間投与	Lee CC (1981)
	ビーグル犬	経口	28 日間投与	Lee CC (1981)
	アカゲザル	経口	3～7 日間投与（エナンチオマー毒性）	Schmidt LH (1977)
	アカゲザル	経口	7 日間投与（エナンチオマー毒性）	Saunders D (2014)
	アカゲザル	経口	14 日間投与	Schmidt LH (1982)
	アカゲザル	経口	14 日間投与（神経毒性）	Schmidt IG (1951)
	アカゲザル	経口	28 日間投与	Lee CC (1981)
遺伝毒性	ネズミチフス菌	*in vitro*	細菌を用いる復帰突然変異試験	Ono T (1994)
	ネズミチフス菌	*in vitro*	細菌を用いる復帰突然変異試験	Chatterjee T (1998)
	ネズミチフス菌	*in vitro*	細菌を用いる復帰突然変異試験	Shubber EK (1986)
	ネズミチフス菌	*in vitro*	細菌を用いる復帰突然変異試験	Marrs TC (1987)
	大腸菌	*in vitro*	細菌を用いる復帰突然変異試験	Ono-Ogata T (2002)
	マウス	腹腔内	骨髄細胞姉妹染色分体交換試験	Chatterjee T (1998)
	マウス	腹腔内	骨髄細胞染色体異常試験	Chatterjee T (1998)
生殖発生毒性	ラット	経口	器官形成期投与毒性試験	Trutter JA (1983)
	SD ラット	経口	器官形成期投与毒性試験	Beveridge E (1980)

試験の種類	動物種、細胞等	投与経路、他	試験内容、他	著者（年） [資料番号]
血液毒性	ヒト全血	*in vitro*	プリマキン及び代謝物（5-HPQ 及び 6D5HPQ）によるメトヘモグロビン生成	Agarwal S (1988)
	ラット赤血球	*in vitro*	代謝物（MAQ-NOH）によるメトヘモグロビン生成	Bolchoz LJC (2001)
	イヌ溶血血液	*in vitro*	代謝物（カルボキシルプリマキン、6-MAQ、5-HPQ）によるメトヘモグロビン生成	Link CM (1985)
	ヒト全血	*in vitro*	プリマキン及び代謝物（5-HPQ 及び 6D5HPQ）によるヘモグロビン放出	Agarwal S (1988)
	ラット、ラット赤血球	*in vitro* 及び腹腔内	代謝物（MAQ-NOH）による溶血	Bolchoz LJC (2001)
	ヒト赤血球	*in vitro*	代謝物の影響（赤血球内 ROS 生成）	Ganesan S (2009) Ganesan S (2012)
	G6PD 欠損ヒト赤血球移植 NOD/SCID マウス	経口	7 日間投与（溶血毒性）	Rochford R (2013)
	NON-SCID マウス＋ヒト赤血球	経口	ヒト赤血球に対するエナンチオマーの溶血毒性	Nanayakkara NP (2014)
免疫毒性	アカゲザル リンパ球、単球	*in vitro* 及び経口(7 日間)	サルの免疫反応 1 リンパ球：分化反応 単球：貪食能	Prasad RN (1990)
	アカゲザル	*in vivo* 経口(7 日間)	サルの免疫反応 2 補体 C3 量、免疫グロブリン（IgG、IgM、IgA）量への影響	Prasad RN (1991)
	ヒト NK 細胞	*in vitro*	ヒト NK 細胞に対する影響	Ferrante A (1984)
	ヒト多形核白血球	*in vitro*	ヒト多形核白血球に対する影響	Neal TM (1987)
光毒性	マウス 3T3 線維芽細胞とヒトケラチノサイト NCTC-2544 細胞	*in vitro*	吸収スペクトルと紫外線照射光毒性	Viola G (2007)

各試験で用いられている薬剤には遊離塩基と塩が混在しているため、原則、プリマキンの用量は遊離塩基として記載（塩を用いている場合は遊離塩基に換算）したが、塩の用量として記載したものはその旨注記した。また、資料中に遊離塩基、塩の区別の記載がないものについては、全て遊離塩基として示されているものとして記載した。以下に主な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。

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 AST 及び 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。

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。

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。

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。

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。

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。

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。

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 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 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。

2　単回投与毒性試験

2.1　マウス単回経口投与毒性試験（エナンチオマー毒性比較）

Schmidt LH ら（1977）(1)

雄 BDF_1 マウスにプリマキンのラセミ体及び(+)-体（d-体）を 30、60、90、120 mg/kg [塩基]、(-)-体（l-体）を 30、60、90、120、180、240 mg/kg [塩基] の用量で経口投与した（10～20 匹/群）。LD_{50} 値を表 2 に示す。(+)-体の LD_{50} 値はラセミ体、(-)-体に比べ小さかった。

表 2 - BDF1 マウスの単回経口投与毒性試験

	LD_{50} (mg/kg [塩基])
ラセミ体	100
(+)-体	42
(-)-体	160

2.2　マウス単回経口投与毒性試験

Noel S ら（2007）(2)

雄 Swiss albino マウス（10～12 週齢、4 匹/群）にプリマキンを 40 mg/kg [塩基]の用量で単回経口投与し、投与 6、12、24 時間後に AST 及び ALT 測定、肝臓の病理組織学的検査を行った。単回投与 6、12、24 時間後の測定で AST には変化はなかった。ALT は 6 時間後に対照群と比較して有意に上昇したが、12、24 時間後には変化はなかった。肝臓のヘマトキシリン・エオジン染色病理組織学的検査では変化は認められなかった。この試験では死亡は認められず、概略の致死量は 40 mg/kg を超える量と判断された。

2.3　ラット単回経口投与毒性試験

LaMontagne MP ら（1989）(3)

F344 ラット（雄 80 匹、雌 100 匹）にプリマキンを単回経口投与したところ、LD_{50} 値は雄で 100.8 mg/kg、雌で 139 mg/kg [塩基換算：投与はニリン酸塩] であった。

3　反復投与毒性試験

3.1　ラット 28 日間経口投与毒性試験

Lee CC ら（1981）(4)

雄アルビノラット（180～260 g）にプリマキンを 0、3、9、16、27 mg/kg/日 [塩基換算：投与はニリン酸塩]の用量で毎日 28 日間経口投与（10 匹/群、対照群のみ 20 匹/群）した。9 mg/kg/日群で体重増加量の減少、16 及び 27 mg/kg/日群で体重減少が認められた。血液学的検査では 9 mg/kg/日群以上で血小板数減少、27 mg/kg/日群で赤芽球数と網状赤血球数増加、メトヘモグロビン血症、白血球数増加が認められた。血液生化学検査では 27 mg/kg/日群で AST 及び ALT 上昇、空腹時血糖低下が認められた（表 3）。病理組織学的検査では 27 mg/kg/日群で心筋、骨格筋、横隔膜などの横紋筋の変性・炎症性変化が認められた。肝臓では胆管過形成、門脈炎症、腎臓では上皮過形成が認められた。

表 3 - アルビノラット 28 日間経口投与毒性試験（血液及び血液生化学検査値）

	Dose (mg/kg of body weight per day)				
	0	3	9	16	27
Reticulocytes (10^{-3})	11.2±0.8	8.7±1.0	12.4±0.9	9.3±1.0	24.9±3.8[b]
Methaemoglobin (% of Hb)	0	0	0	0	7.5±2.6[b]
Platelets (10^{11}/litre)	12.2±0.3	11.8±0.5	10.4±0.5[b]	10.0±0.7[b]	9.7±0.6[b]
Leukocytes (10^{9}/litre)	14.7±0.5	13.5±0.9	14.5±0.9	16.5±1.5	18.4±0.9[b]
Neutrophils	0.116±0.008	0.099±0.015	0.115±0.018	0.144±0.026	0.184±0.019[b]
Lymphocytes	0.875±0.009	0.898±0.015	0.873±0.019	0.843±0.027	0.809±0.019[b]
Nucleated erythrocytes (10^{-3})	0	0	0	0	5.0±3.0[b]
ASAT (U/litre)	75±3	71±4	74±5	79±9	118±17[b]
ALAT (U/litre)	22±7	21±1	24±2	24±2	42±7[b]
Fasting blood glucose (mmol/litre)	6.33±0.22	6.61±0.44	6.05±0.17	5.50±0.28	5.16±0.39[b]

[a] Mean value ± SEM.
[b] Significantly different from that of the control rats ($P \leq 0.05$).

ASAT：AST、ALAT：ALT　（文献の Table 5 を引用）

3.2　イヌ 28 日間経口投与毒性試験

Lee CC ら（1981）(4)
Schmidt LH（1947）(5)

ビーグル犬（5.5～9.8 kg）にプリマキンを 0、1、3、9 mg/kg/日 [塩基換算：投与はニリン酸塩]を毎日 28 日間経口投与（2 匹/性/群）した。3 mg/kg/日群で嘔吐、下痢、食欲不振、体重減少などが認められ、12 日目に死亡した雌 1 匹にはプリマキン投与に起因した強い腹部痙攣(5)により生じたと考えられる腸重積症が認められた。9 mg/kg/日群でも嘔吐、下痢、食欲不振が認められ、雌雄各 1 匹が 3 日目に死亡、残る 2 匹も 4 日目に昏睡状態に陥ったため安楽殺した。全投与群でメトヘモグロビン血症、血小板数減少が認められた。9 mg/kg/日群の生存 2 例で AST と ALT が上昇した（表 4）。3 mg/kg/日以上の群で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 3 mg/kg/日以上の群で心筋混濁腫脹、肝臓の空胞変性（3 mg/kg/日群のみ）、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。

表 4 - ビーグル犬 28 日間経口投与毒性試験（血液及び血液生化学検査値：投与前後比較）

	Dose of primaquine (mg/kg of body weight per day)							
	0		1		3		9	
	I[a]	F	I	F	I	F	I	F[b]
Erythrocytes (10^{12}/litre)	5.79±0.12	5.79±0.12	5.49±0.20	5.64±0.21	5.49±0.30	4.83±0.05	5.95±0.14	6.55
Haemoglobin (g/litre)	149±4	153±3	140±7	143±6	136±3	134±1	138±4	165
Methaemoglobin (% of Hb)	0	0.6±0.6	0	7.7±1.4[c]	0	14.9±6.3[c]	0	7.9
Haematocrit	0.45±0.014	0.453±0.013	0.417±0.021	0.425±0.018[c]	0.412±0.008	0.397±0.003	0.421±0.009	0.46
Platelets (10^{11}/litre)	2.5±0.5	2.0±0.2	2.6±0.2	0.9±0.3[c]	2.7±0.2	1.4±0.2[c]	3.3±0.6	2.2
ASAT (U/litre)	22±2	25±2	26±2	25±3	23±1	25±1	23±1	129
ALAT (U/litre)	33±2	28±2	29±2	37±8	29±5	42±2	25±3	170
Alkaline phosphatase (U/litre)	83±8	75±7	80±11	60±4	82±7	37±3[c]	77±4	100
Blood urea (mmol/litre)	3.3±0.2	3.9±0.3	3.7±0.3	3.6±0.4	4.2±0.3	6.5±2.2	3.8±0.3	7.2
Creatine phosphokinase (U/litre)	80±14	69±16	64±5	47±7	58±4	21±7[c]	68±9	1083
Lactate dehydrogenase (U/litre)	55±7	39±3	53±10	29±3[c]	39±3	31±3	40±4	42
Fasting blood glucose (mmol/litre)	5.55±0.05	5.77±0.17	5.55±0.05	6.22±0.05	5.44±0.11	6.12±0.11	5.61±0.11	4.39

[a] The average of results taken 14, 7, and 0 days before treatment.
[b] The average of 2 dogs before sacrifice on the 4th day.
[c] Significantly different from the initial results ($P \leq 0.05$).

ASAT：AST、ALAT：ALT、I：投与開始前採血、F：実験終了時採血
（文献の Table 2 を引用）

3.3　サル 3〜7 日間経口投与毒性試験（エナンチオマー毒性比較含む）

Schmidt LH ら（1977）(1)

アカゲザル（3.8〜4.8kg）にプリマキンのラセミ体を 4、6、8、12、18 mg/kg/日、(+)-体を 6、12 mg/kg/日、(-)-体を 3、6、12 mg/kg 日の用量[塩基] で 3〜7 日間 毎日経口投与（1〜4 匹/群）した。ラセミ体では 6 mg/kg/日以上で体重減少、不穏、食欲不振、さらに 12 mg/kg/日以上の群で筋緊張低下、黄疸、死亡が認められた。死亡動物では AST 及び総ビリルビンの上昇、剖検で肝の腫大・変色（オレンジ色）、腎の腫大・浮腫、病理組織学的検査で肝臓の重度の小葉中心性壊死、腎近位尿細管上皮の巣状病変（脂肪変性、壊死、脱落）が認められた。毒性は(+)-体ではラセミ体よりも弱く、(-)-体ではラセミ体よりも強かった。

3.4　サル 7 日間経口投与毒性試験（エナンチオマー毒性比較）

Saunders D ら（2014）(6)

アカゲザルにプリマキンの (+)-体と(-)-体をそれぞれ 1.3（ヒト臨床投与量と同等）、3.0、4.5 mg/kg /日[塩基換算：投与はニリン酸塩] の用量で 7 日間経口投与した（3 匹/エナンチオマー、同じ動物に 2 週間のウォッシュアウト期間を設定して増量投与）。肝機能に対する毒性は(-)-体がより強く、(-)-体を投与した 3 例中 2 例で ALT、AST、総ビリルビン量が上昇したが、(+)-体を投与した 3 例には影響は認められなかった。赤血球酸化ストレス（メトヘモグロビン生成）は (+)-体がより強かった。代謝物のカルボキシルプリマキン生成は(+)-体と比べて(-)-体のほうが多く、両エナンチオマーの代謝、排泄の違いが毒性の違いと関連している可能性が示唆された。

3.5　サル 14 日間経口投与毒性試験

Schmidt LH ら（1982）(7)

予備試験としてアカゲザルにプリマキンを 6、12、24、48 mg/kg/日 [塩基換算：投与はニリン酸塩] の用量で毎日 14 日間、1 日 3 回に分けて経口投与（1 匹/群）したところ、MTD は 12 mg/kg/日で、24 mg/kg/日群で 7 日目に死亡が認められた（体重減少、不穏、チアノーゼ、メトヘモグロビン血症、貧血、白血球減少）。本試験としてアカゲザルにプリマキンを 3、6、12、24 mg/kg/日 [塩基換算：投与はニリン酸塩] の用量で毎日 14 日間、1 日 3 回に分けて経口投与（3〜7 匹/群）したところ、3、6 mg/kg/日群では死亡なし、12 mg/kg/日群では 1/7 匹が 9 日目に死亡、24 mg/kg/日群では 3/5 匹が平均 7.0 日目に死亡した。食欲不振、不穏、チアノーゼ、黄疸、体重減少、赤血球数及び白血球数減少、メトヘモグロビン血症、剖検で脾臓及び肝臓の腫大などが認められた。

3.6　サル 14 日間経口投与毒性試験（神経毒性試験）

Schmidt IG ら（1951）(8)

アカゲザルにプリマキンを（シュウ酸塩として）12 mg/kg/日（2 匹）、24 mg/kg/日（3 匹）を 14 日間、1 日 3 回に分けて経口投与した。チアノーゼ、食欲不振、不穏、体重減少、メトヘモグロビン血症、貧血、好中球減少を伴う白血球減少、肝臓腫大・黄色化、骨髄成分減少などが認められた。12 mg/kg/日群の 1 匹が 10 日目、24 mg/kg/日群の 1 匹が 6 日目に死亡した。脳、脊髄の病理組織学的検査では、生存動物では背側運動核、視索上核、室傍核に低グレードの傷害（細胞消失、細胞凝集、核濃縮など）が認められ、途中死亡動物では同じ部位に、より強い変化が認められた。動眼神経核にはほとんど影響は認められなかった。

3.7　サル 28 日間経口投与毒性試験

Lee CC ら（1981）(4)

アカゲザル（2.7～4.4 kg）にプリマキンを 0、1、4、6 mg/kg/日 [塩基換算：投与はニリン酸塩] の用量で毎日 28 日間経口投与（2 匹/性/群）した。4 mg/kg/日群で嘔吐、6 mg/kg/日群では嘔吐と体重減少、第 4 週には 3 匹が衰弱し、雄 1 匹を 25 日目及び雌 1 匹を 26 日目に安楽死させた。4、6 mg/kg/日群で空腹時血糖低下、6 mg/kg/日群で赤血球数減少、AST、ALT 及び乳酸デヒドロゲナーゼが上昇（表 5）。病理組織学的検査では 6 mg/kg/日群で肝臓の脂肪変性、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、混濁腫脹が認められた。脾臓の赤脾髄への好中球浸潤、濾胞過形成、25、26 日目に死亡した動物では大脳皮質に浮腫とグリオーシスなどが認められた。

表 5 - アカゲザル 28 日間経口投与毒性試験（血液及び血液生化学検査値：投与前後比較）

	Dose of primaquine (mg/kg of body weight per day)							
	0		1		4		6	
	I[a]	F	I	F	I	F	I	F[b]
Erythrocytes (10^{12}/litre)	5.80±0.22	5.21±0.18	5.35±0.16	5.10±0.17	5.34±0.03	5.03±0.18	5.54±0.10	4.86±0.15[c]
ASAT (U/litre)	33±4	31±3	31±2	33±3	35±3	31±3	35±5	280±235
ALAT (U/litre)	35±4	35±1	29±2	31±4	34±3	32±4	32±3	121±86
Lactate dehydrogenase (U/litre)	177±12	170±24	171±27	188±30	170±19	116±13	184±26	4117±3845
Fasting blood glucose (mmol/litre)	5.50±0.11	5.00±0.28	4.94±0.17	4.61±0.28	5.44±0.22	4.44±0.28[c]	5.38±0.28	2.11±0.44[c]

[a] The average of results taken 14, 7, and 0 days before treatment.
[b] Includes terminal blood from two monkeys on the 25th and 26th days.
[c] Significantly different from the initial results $P \leqslant 0.05$.

ASAT：AST、ALAT：ALT、I：投与開始前採血、F：実験終了時採血
（文献の Table 4 を引用）

4　遺伝毒性試験

4.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 1

Ono T ら（1994）(9)

ネズミチフス菌 TA100、TA98、TA97、TA102 を用い、最大 2500 µg/plate の用量でプレインキュベーション法により検討を行ったところ、TA97 の S9 mix 存在・非存在下の両方で陽性（≥ 500 µg/plate）、他は陰性であった（表 6）。

表 6 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 1

Compound	Dose (µg/plate)	Revertants/plate							
		TA100		TA98		TA97		TA102	
		−S9	+S9	−S9	+S9	−S9	+S9	−S9	+S9
Primaquine	2 500	K [a]	K	K	K	K	K	K	K
	1 000	K	255	K	97	K	830	K	459
	500	223	251	87	93	552	702	K	521
	250	204	197	75	92	452	445	K	504
	100	162	191	65	87	350	358	359	392
	50	155	179	62	84	295	310	355	405
	0	158	167	62	72	254	295	343	429
Positive control									
MMC	0.5	K	152	K	60	K	246	4011	641
AF-2	0.1	2 433	1 467	699	158	500	865	2 416	780
4-AA	10 000	144	166	54	66	1 219	1 554	392	607
2-AA	1	143	862	57	519	236	727	318	519

MMC, mitomycin C; AF-2, 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; 4-AA, 4-aminoantipyrine; 2-AA, 2-aminoanthracene.
[a] Killing effect appearing as inhibition of the background bacterial lawn.

陰性対照の 2 倍以上の増加で陽性と判定（文献の Table 1 を改変引用）

4.2　細菌を用いる復帰突然変異試験 2

Chatterjee T ら（1998）(10)

ネズミチフス菌 TA97a、TA100、TA102、TA104 を用い、最大 1000 又は 5000 µg/plate の用量でプレート法により検討を行ったところ、TA97a の S9 mix 存在・非存在下、TA100 の S9 mix 存在・非存在下及び TA104 の S9 mix 存在下で陰性対照と比較して有意の増加が認められたが、陰性対照の 2 倍以上にはなっておらず、陰性であった（表 7、表 8、表 9、表 10）。

表 7 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 2 – TA97a

Chemicals (μg/plate)	Revertants/plate	
	−S9	+S9
Solvent control (100 μl distilled water)	120.75 ± 10.72	125.25 ± 10.69
Primaquine		
0.1	125.00 ± 10 80	124.75 ± 11.24
1	149.50 ± 13.03[a]	125.50 ± 7.19
10	184.00 ± 22.06[a]	143.00 ± 5.29[a]
100	156.75 ± 9 50[a]	182.25 ± 12.68[a]
1000	Toxic	Toxic
Positive control		
NPD (20 μg/plate)	1202.25 ± 50.18	
2-AF (10 μg/plate)		1083.50 ± 66.92

−S9, without metabolic activation; +S9, with metabolic activation.
Mean ± SD of four plates. Results for each concentration were compared with the solvent control by Dunnett's multiple comparison with control:
[a]$P < 0.01$ μg/plate)

（文献の Table I を改変引用）

表 8 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 2 – TA100

Chemicals (μg/plate)	Revertants/plate	
	−S9	+S9
Solvent control (100 μl distilled water)	169.50 ± 9.88	155.25 ± 8.54
Primaquine		
0.1	161.25 ± 12.82	159.50 ± 12.23
1	169.25 ± 12.53	158.50 ± 13.33
10	204.50 ± 9.54[a]	162.00 ± 6.83
100	223.00 ± 11.60[a]	197.50 ± 8.66[a]
1000	210.25 ± 16.34[a]	257.25 ± 15.97[a]
5000	Toxic	Toxic
Positive control		
Sodium azide (1.5 μg/plate)	1258.50 ± 53.92	
2-AF (10 μg/plate)		1129.75 ± 43.05

−S9, without metabolic activation; +S9, with metabolic activation.
Mean ± SD of four plates. Results for each concentration were compared with the solvent control by Dunnett's multiple comparison with control:
[a]$P < 0.01$

（文献の Table II を改変引用）

表 9 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 2 – TA102

Chemicals (μg/plate)	Revertants/plate	
	−S9	+S9
Solvent control (100 μl distilled water)	291.00 ± 47.33	317.75 ± 41.29
Primaquine		
0.1	291.00 ± 11.48	307.00 ± 33.14
1	303.50 ± 25.16	322.25 ± 58.62
10	305.75 ± 18.35	319.25 ± 63.08
100	295.25 ± 21.88	305.75 ± 41.82
1000	Toxic	Toxic
Positive control		
Cumene hydroperoxide (100 μg/plate)	1170.50 ± 68.39	

−S9, without metabolic activation; +S9, with metabolic activation.
Mean ± SD of four plates. Results for each concentration were compared with the solvent control by Dunnett's multiple comparison with control:
[a]$P < 0.05$.

（文献の Table III を改変引用）

表 10 - 細菌を用いる復帰突然変異試験 2 – TA104

Chemicals (μg/plate)	Revertants/plate	
	−S9	+S9
Solvent control (100 μl distilled water)	286.25 ± 15.96	301.00 ± 26.95
Primaquine		
0.1	279.75 ± 20.42	340.25 ± 56.27
1	306.25 ± 17.15	414.50 ± 52.55[b]
10	306.00 ± 26.04	510.50 ± 58.48[b]
100	286.00 ± 23.80	439.50 ± 38.54[b]
1000	Toxic	Toxic
Positive control		
Crotonaldehyde (100 μg/plate)	1062.00 ± 60.16	

−S9, without metabolic activation; +S9, with metabolic activation.
Mean ± SD of four plates. Results for each concentration were compared with the solvent control by Dunnett's multiple comparison with control:
[b]$P < 0.01$.

（文献の Table IV を改変引用）

4.3　細菌を用いる復帰突然変異試験 3

Shubber EK ら（1986）(11)

ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 を用い、最大 20 mg/plate の用量でプレート法により検討を行ったところ、TA98、T100 で陽性（S9 mix 存在、非存在下の両方ともに 10、20 mg/plate）であった。

4.4　細菌を用いる復帰突然変異試験 4

Marrs TC ら（1987）(12)

ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 を用い、最大 1600 µg/plate の用量でプレート法又はプレインキュベーション法により検討を行ったところ、TA1537 で陽性（プレインキュベーション法の S9 mix 非存在下：200、400 µg/plate 及び S9 mix 存在下：400、800 µg/plate）であった。

4.5　細菌を用いる復帰突然変異試験 5

Ono-Ogata T ら（2002）(13)

大腸菌 WP2*uvrA*/pKM101 を用い、最大 400 µg/plate の用量でプレインキュベーション法により検討を行ったところ、S9 mix 存在・非存在下の両方ともに陰性であったが、N-ニトロソ誘導体を生成させるために 10 mmol/L の $NaNO_2$ で 60 分間処理（pH 3）したプリマキンでは陽性結果が得られ、用量依存性も認められた。また S9 mix 処理により、その強さが増加した（表 11）。

表 11 - 細菌を用いる復帰突然変異試験（*E. coli* WP2*uvrA*/pKM101）

Compound	Dose (μg/plate)	Number of Trp^+ revertants/plate −S9 mix	+S9 mix
Primaquine	0	91	142
	200	97	160
	300	117	156
	400	112	179
$NaNO_2$-treated primaquine	0	74	147
	100	150	217
	200	179	314
	300	234	451
	400	271	463
$NaNO_2$	0	118	
	5,000	117	
	10,000	117	
	20,000	104	
AF-2	0.01	>2000	
2-AA	10		>2000

Primaquine were treated with 10 mmol/L $NaNO_2$ for 60 min at pH 3. Positive responses (twofold or more over the control value) are underlined. （文献の Table1 を改変引用）

4.6 *In vivo* マウス骨髄細胞姉妹染色分体交換試験

Chatterjee T ら（1998）(10)

マウスにプリマキンを 12.5、25、50 mg/kg の用量 [塩基かリン酸塩かは不明]で単回腹腔内投与し、骨髄細胞の姉妹染色分体交換（SCE）を調べたところ、陰性対照と比べて有意に増加し、用量依存性も認められており、陽性であった（表 12）。

表 12 - *In vivo* マウス骨髄細胞姉妹染色分体交換試験

Chemicals (mg/kg)	SCE/cell (4 animals)	SCE/cell (mean ± SD)	Replicative indices (mean ± SD)
Solvent control (distilled water)	4.9,5.4,4.0,5.1	4.85 ± 0.60	1.85 ± 0.04
Primaquine			
12.5	7.5,6.5,6.9,5.7	6 65 ± 0.75[a]	1.83 ± 0.04
25	8.9,8.2,6.9,7.4	7.85 ± 0.88[b]	1 85 ± 0 03
50	8 9,7.9,9.3,10.0	9.03 ± 0.87[b]	1.82 ± 0.04
Positive control			
Mitomycin C (1.5)	18.5,18.9,22.0,16 8	19.05 ± 2.17	1.80 ± 0.10

Mean ± SD of four animals (30 cells/animal). Results at each dose were compared with the control by Dunnett's multiple comparison with control: [a]$P < 0.05$; [b]$P < 0.01$.

（文献の Table V を改変引用）

4.7 *In vivo* マウス骨髄細胞染色体異常試験

Chatterjee T ら（1998）(10)

マウスにプリマキンを 12.5、25、50、100 mg/kg の用量 [塩基かリン酸塩かは不明]で単回腹腔内投与し、骨髄細胞の染色体異常（CA）を調べたところ、陰性対照と比べて有意に増加し、用量依存性も認められており、陽性であった（表 13）。

表 13 - *In vivo* マウス骨髄細胞染色体異常試験

Treatment (mg/kg)	Gap[a]	Aberrations/cell[b]		Aberrant cells (%) (mean ± SD)	Mitotic index (mean ± SD)
		Chromatid-type	Chromosome-type		
Solvent control (distilled water)	7	0.02	0.00	1.75 ± 0.96	3.08 ± 0.23
Primaquine					
12 5	10	0.0175	0 000	1 75 ± 0 50	2 54 ± 0 31
25	8	0.0225	0.0025	2.50 ± 0.58	2.01 ± 0.74
50	10	0.0375	0.0075	4.50 ± 1 29[c]	2 33 ± 0.43
100	23	0.0525	0.020	7.25 ± 1.25[d]	2.08 ± 0 23[c]
Cyclophosphamide (25 mg/kg)	44	0.185	0.0525	15 75 ± 2.87	2.40 ± 0 65

[a]Total chromatid and chromosome gaps at each dose were recorded but not included in the aberrations/cell or aberrant cells (%)
[b]Total number of aberrations (chromatid or chromosome type)/total number of cells scored per dose. Results are for four animals (100 cells/animal). Mean ± SD of four animals. Results at each dose were compared with Dunnett's multiple comparison with control· [c]$P < 0.05$; [d]$P < 0.02$.

（文献の Table VI を改変引用）

5　がん原性試験

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。

6　生殖発生毒性試験

胚・胎児発生に関する試験として以下の 2 つの報告がある。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施されていない。

6.1　ラット器官形成期投与毒性試験 1

Trutter JA ら（1983）(14)

ラットの妊娠 6～15 日にプリマキンを 10.3、30.8、61.5 mg/kg/日[塩基換算：投与はニリン酸塩] の用量で経口投与した。低用量での母毒性は僅かであったが、高用量ではほとんどの母動物が死亡した。帝王切開観察では中用量で胚吸収増加、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。低用量では出生児の異常は認められなかった。

6.2　ラット器官形成期投与毒性試験 2

Beveridge E ら（1980）(15)

SD ラットの妊娠 8～16 日にプリマキンを 0.57、5.7、11.4、34 mg/kg/日あるいは妊娠 13 日のみに 57 mg/kg [塩基換算 : 投与はニリン酸塩]の用量で経口投与した（6～10 匹/群）。34 mg/kg/日群で 1/7 匹、57 mg/kg 単回投与群で 4/6 匹の母動物が死亡した。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 57 mg/kg 単回投与群の 4/54 胎児に認められた。

6.3　その他

幼若動物を用いた毒性試験は実施されていない。

7　局所刺激性試験

経口投与される薬剤であり、局所刺激性試験の結果は必要とされない。

8　その他の毒性試験

8.1　血液毒性

8.1.1　メトヘモグロビン血症

8.1.1.1　プリマキン及び代謝物（5-HPQ 及び 6D5HPQ）によるヒト血液中メトヘモグロビン生成（*in vitro*）

Agarwal S ら（1988）(16)

健常及び G6PD 欠損（ヘテロ接合、ホモ接合）ヒトの全血を 1.5 mmol/L のプリマキン[塩基]、プリマキンのエナンチオマー、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）と共に 1 時間処理したところ、血液中メトヘモグロビン量が上昇したが、その程度は代謝物でより強かった（表 14）。

表 14 -ヒト血液中メトヘモグロビン量の変化

	Methemoglobin level (%)		
Compound	Normal	Heterozygous	Deficient
Saline	4.0 ± 1.5	5.6 ± 1.7	5.6 ± 1.1
PQ	13.8 ± 2.5	16.9 ± 5.1	17.3 ± 4.3
(+)PQ	9.5 ± 4.7	11.9 ± 4.5	10.6 ± 3.8
(−)PQ	10.7 ± 4.9	15.8 ± 5.1	14.2 ± 5.7
	(P > 0.05)*	(P < 0.05)	(P < 0.05)
5HPQ	33.5 ± 1.5	33.4 ± 4.0	51.9 ± 1.9
6D5HPQ	40.8 ± 4.3	51.2 ± 2.7	79.5 ± 4.6
	(P < 0.05)†	(P < 0.01)	(P < 0.01)
	(P < 0.001)‡	(P < 0.001)	(P < 0.001)

Each value is the mean ± SD of three to six subjects. See Table 1 for basal values and the legend of Table 2 for experimental conditions.
* P value of (+)PQ vs (−)PQ.
† P value of 5HPQ vs 6D5HPQ.
‡ P value of PQ vs metabolites.

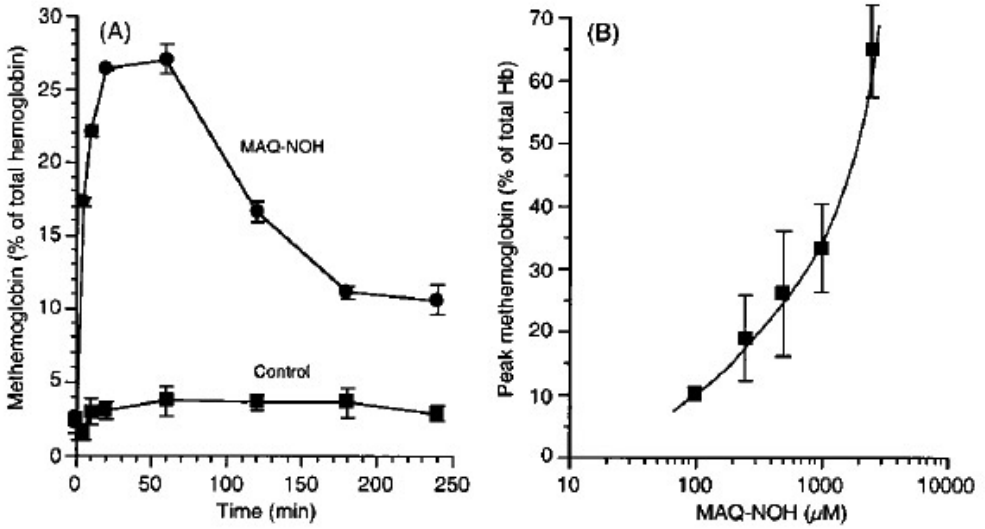
（文献の Table 3 を引用）

8.1.1.2　プリマキン代謝物（MAQ-NOH）によるメトヘモグロビン生成（*in vitro*）

Bolchoz LJC ら（2001）(17)

ヒトで認められるプリマキン代謝物の一つ 6-メトキシ-8-アミノキノリン（6-MAQ）（1 mmol/L）を SD ラット及びヒト肝ミクロソーム（1 mg of protein/mL）で処理（37℃）したところ 6-メトキシ-8-ヒドロキシルアミノキノリン（MAQ-NOH）が得られた。ラット赤血球を MAQ-NOH（750 µmol/L）中で 2 時間処理したところ、1 時間までに赤血球中のメトヘモグロビン量が 25%を超えたが、それ以降徐々に低下した。2.5 mmol/L の MAQ-NOH 処理ではピーク存在率は 65%に達した（図 1）。

図 1 - MAQ-NOH 処理したラット赤血球中のメトヘモグロビン存在率



(A)：MAQ-NOH（750 µmol/L）処理した際の赤血球中メトヘモグロビン量（%総ヘモグロビン）（Control: DMSO）、
(B)：MAQ-NOH 処理濃度とメトヘモグロビン存在率ピーク、n=4、平均±標準偏差。（文献の Figure 7 を引用）

8.1.1.3 プリマキン代謝物（カルボキシルプリマキン、6-MAQ、5-HPQ）によるメトヘモグロビン生成（*in vitro*）

Link CM ら（1985）(18)

イヌの溶血血液（ヘモグロビン濃度は 0.18 mmol/L）をヒトで認められる主たるプリマキン代謝物のカルボキシルプリマキン、その他の代謝物である 6-MAQ（WR249725）、5-HPQ（WR15081）（全て 25 µmol/L）で 2 時間処理し、メトヘモグロビン生成量を測定したところ、カルボキシルプリマキン及び 6-MAQ では測定下限の 20 pmol/min を下回っていたが、5-HPQ では 804 pmol/min であった。

8.1.2 溶血

赤血球膜の完全性を維持するために必要なグルコース 6 リン酸（G6PD）を欠損する患者にプリマキンを投与すると溶血性貧血が生じる。以下に非臨床試験結果を示す。

8.1.2.1 プリマキン及び代謝物（5-HPQ 及び 6D5HPQ）によるヒト血液の血漿中ヘモグロビン放出（*in vitro*）

Agarwal S ら（1988）(16)

健常及び G6PD 欠損（ヘテロ接合、ホモ接合）ヒトの全血を 1.5 mmol/L のプリマキン[塩基]、プリマキンのエナンチオマー、代謝物の 5-HPQ、6D5HPQ と共に 1 時間処理したところ、血漿中ヘモグロビン量が上昇し、その程度は G6PD 欠損血液及び代謝物でより強かった（表 15）。

表 15 - ヒト血漿中ヘモグロビン量の変化

Compound	Plasma hemoglobin level (mg/L)		
	Normal	Heterozygous	Deficient
Saline	8.3 ± 4.3	9.8 ± 4.9	13.6 ± 8.5
PQ	10.3 ± 2.3	13.9 ± 1.1	17.1 ± 1.3
(+)PQ	21.5 ± 7.2	28.6 ± 8.5	36.1 ± 14.3
(−)PQ	16.7 ± 2.6	23.2 ± 6.2	25.0 ± 14.9
	(P < 0.05)*	(P < 0.05)	(P < 0.01)
5HPQ	42.1 ± 4.3	51.9 ± 3.5	85.2 ± 4.3
6D5HPQ	47.5 ± 3.5	80.3 ± 3.5	114.3 ± 7.2
	(P > 0.05)†	(P < 0.01)	(P < 0.01)
	(P < 0.001)‡	(P < 0.001)	(P < 0.001)

Each value is the mean ± SD of three to six subjects. See Table 1 for control values and the legend of Table 2 for experimental conditions.
* P value of (+)PQ vs (−)PQ.
† P value of 5HPQ vs 6D5HPQ.
‡ P value of PQ vs metabolites.

（文献の Table 4 を引用）

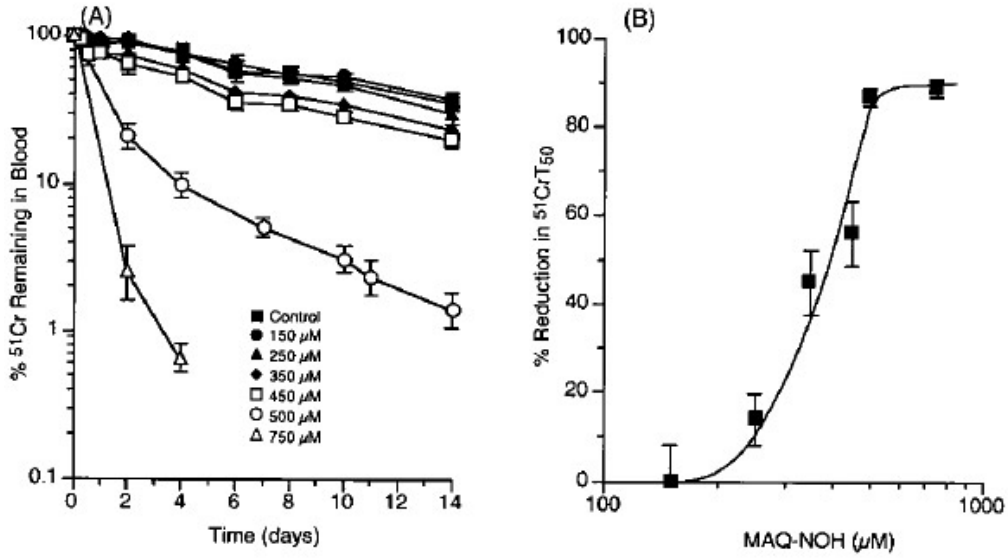
8.1.2.2 プリマキン代謝物（MAQ-NOH）による溶血毒性（*in vitro* 及び *in vivo*）

Bolchoz LJC ら（2001）(17)

^{51}Cr 標識ラット赤血球を静脈内投与したラットに種々の濃度の MAQ-NOH を 48 時間後に腹腔内投与し 15 日間観察したところ、150 mg/kg では影響は認められなかったが、250 mg/kg では対照群と比べて標識赤血球残存率の有意な減少が認められた。次に、^{51}Cr 標識ラット赤血球を MAQ-NOH 中で 37℃

2 時間処理しても溶血は認められなかったが、処理した赤血球をラットに静脈内注射し 14 日間観察したところ、その標識赤血球残存率が濃度依存的に低下した（EC_{50} = 350 µmol/L）（図 2）。

図 2 - MAQ-NOH 処理した ^{51}Cr 標識赤血球のラット静脈内投与後の残存率、減少率



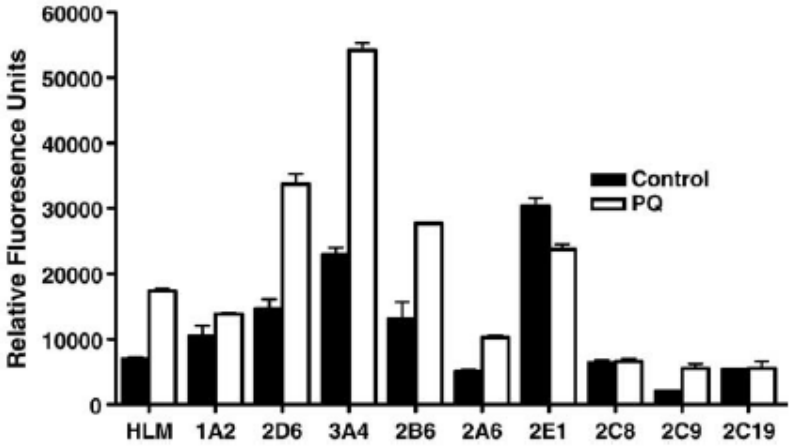
(A)：MAQ-NOH 濃度（2 時間、37°C）と ^{51}Cr 標識赤血球残存率の関係（Control: DMSO）、(B)：MAQ-NOH 濃度と標識赤血球半減期（$^{51}CrT_{50}$）との関係、n=4、平均±標準偏差。（文献の Figure 6 を引用）

8.1.2.3 各種ヒトリコンビナント CYP 処理で得られたプリマキン代謝物によるヒト赤血球内の ROS 生成（*in vitro*）

Ganesan S ら（2009）(19)
Ganesan S ら（2012）(20)

細胞浸透性蛍光プローブ DCFDA 処理したヒト赤血球を、ヒト肝ミクロソーム及び各種ヒトリコンビナント CYP、NADPH 再生カクテル、KCl と共に 37°C で 2 時間培養し、酸化的ストレス溶血の原因となる活性酸素種（ROS）の赤血球内量を測定したところ、CYP 2D6、3A4、2B6 処理で得られた代謝物で ROS が増加（図 3）した (19)。

図 3 - プリマキン代謝物によるヒト赤血球内の ROS 産生



HLM：ヒト肝臓ミクロゾーム、PQ：プリマキン、平均 ± 標準誤差、p 値：2D6 vs PQ+2D6、3A4 vs PQ+3A4、2B6 vs PQ+2B6 全て p<0.001. （文献の Figure 8 を引用）

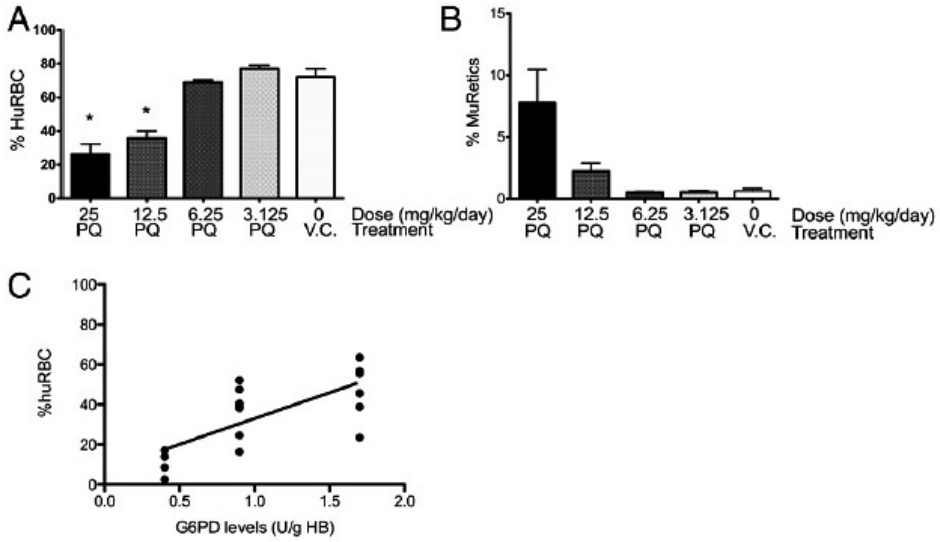
別の試験では、ヒト赤血球へのプリマキン単独処理、ヒト肝ミクロソーム存在下プリマキン処理の両方において赤血球内のカルシウム量は増加せず、健常人及び G6PD 欠損者の赤血球細胞膜のフォスファチジルセリン非対称性に影響は認められなかった。このことから、プリマキンにより生じる赤血球の除去亢進に赤血球細胞のプログラム死は関与していないことが示唆された (20)。

8.1.2.4 G6PD 欠損ヒト赤血球移植 NOD/SCID マウスにおけるプリマキンの溶血毒性（*in vivo*）

Rochford R ら（2013）(21)

G6PD 欠損ヒト赤血球を腹腔内に 14 日間反復投与した NOD/SCID マウスに、プリマキンを 3.125、6.25、12.5、25 mg/kg/日の用量[塩基かリン酸塩かは不明]で 1 日 1 回 7 日間反復経口投与したところ、用量依存的にヒト赤血球比が減少し、マウス網状赤血球比が増加した（図 4 A 及び B）。移植する赤血球中の G6PD 量と赤血球減少量の関係を調べたところ（プリマキン 25 mg/kg/日、7 日間投与）、G6PD 量が少ないほど赤血球減少の程度が強かった（図 4 C）。

図 4 - G6PD 欠損ヒト赤血球移植 NOD/SCID マウスにおけるプリマキンの溶血毒性



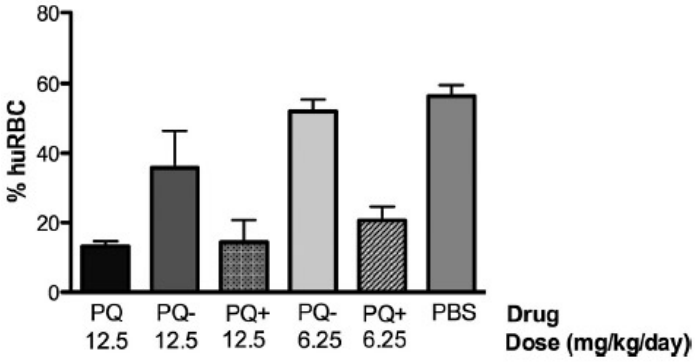
G6PD 欠損ヒト赤血球移植 NOD/SCID マウスにプリマキンを 7 日間反復経口投与した後のヒト赤血球/全赤血球比（A）及びマウス網状赤血球/全赤血球比（B）（n=4、P<0.001、one-way ANOVA with Bonferroni posttest）、C：移植するヒト赤血球中の G6PD 量とヒト赤血球比（プリマキン 25 mg/kg/日、7 日間投与）（文献の Figure 3 を引用）

8.1.2.5　プリマキンエナンチオマーのヒト赤血球に対する溶血毒性比較

Nanayakkara NP ら（2014）(22)

NON-SCIDマウスにG6PD欠損ヒト赤血球を生着させた後、プリマキンのラセミ体（12.5 mg/kg/日）、エナンチオマー（6.25、12.5 mg/kg/日）を 7 日間経口投与し [塩基かリン酸塩かは不明]、ヒト赤血球に対する溶血毒性をヒト赤血球存在比率により判断した。(-)-プリマキンの溶血毒性は(+)-プリマキン及びラセミ体よりも弱かった（図 5）。

図 5 - エナンチオマーのヒト赤血球に対する溶血毒性比較



% huRBC：ヒト赤血球存在比率、PQ：プリマキン（文献の Figure 4 を引用）

8.2 免疫毒性試験

8.2.1 サルの免疫反応 1

Prasad RN ら（1990）(23)

In vitro 試験として、アカゲザルから得た単離リンパ球を 250 ng/mL のプリマキンで最大 8 時間処理し、その後マイトジェン（フィトヘマグルチニン、コンカナバリン A、リポポリサッカライド）刺激により惹起される分化（幼若化反応）を測定したところ、プリマキン 4～8 時間処理で、リンパ球分化反応（幼若化反応）の抑制が認められた。また、単球を 250 ng/mL（1 µmol/L）のプリマキンで最大 8 時間処理し、その後異物に対する貪食能を測定したところ、プリマキン 4～8 時間処理で、単球貪食能の低下が認められた。

In vivo 試験としてアカゲザルに生理食塩水あるいはプリマキンを 1.5 mg/kg/日 [塩基換算：投与はニリン酸塩] の用量で 7 日間経口投与、その後 14 日まで経時的に血液を採取し、リンパ球の分化及び単球の貪食能を測定したところ（6 匹/群）、影響は認められなかった。またこのサルから単離したリンパ球をマイトジェンの存在下､非存在下で培養したが､反応にプリマキンの影響は認められなかった。

8.2.2 サルの免疫反応 2

Prasad RN ら（1991）(24)

In vivo 試験としてアカゲザルに生理食塩水あるいはプリマキンを 1.5 mg/kg/日 [塩基換算：投与はニリン酸塩] の用量で 7 日間経口投与、その後 12 日まで経時的に血液を採取したところ、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。

8.2.3 ヒト NK 細胞に対する影響

Ferrante A ら（1984）(25)

ヒト末梢血中の NK 細胞及びその標的として K-562 細胞を 1～10 µg/mL（2.20～22.0 µmol/L）のプリマキンと共に培養し、NK 細胞の細胞毒性作用を抑制するか調べたが、有意な作用は認められなかった。

8.2.4 ヒト多形核白血球に対する影響

Neal TM ら（1987）(26)

ヒトの多形核白血球を白血球活性化剤の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（リゾチーム、β グルクロニダーゼ、ミエロペルオキシダーゼ、ゼラチナーゼ）放出に対するプリマキンの影響を調べた。50～250 µmol/L のプリマキンは FMLP 刺激、免疫複合体刺激両方での作用を阻害したが、どちらもその影響の大きさは超酸化物産生阻害＞酵素顆粒放出阻害であった。

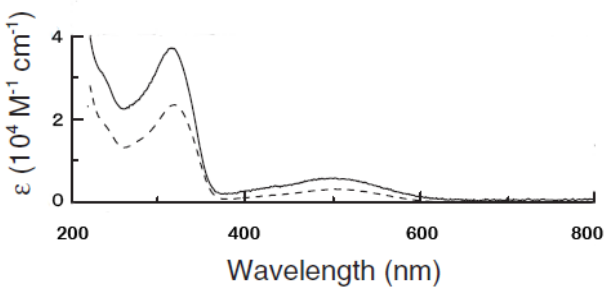
8.3 光安全性

8.3.1 吸収スペクトル

Viola G ら（2007）(27)

プリマキン（水溶液、アセトニトリル溶液）の吸光スペクトルを測定したところ、UVA（波長 320～400 nm）、UVB（波長 280～320 nm）領域に強い吸収が認められ、可視光域においても吸収が認められた（図 6）。

図 6 - プリマキンの光吸収スペクトル



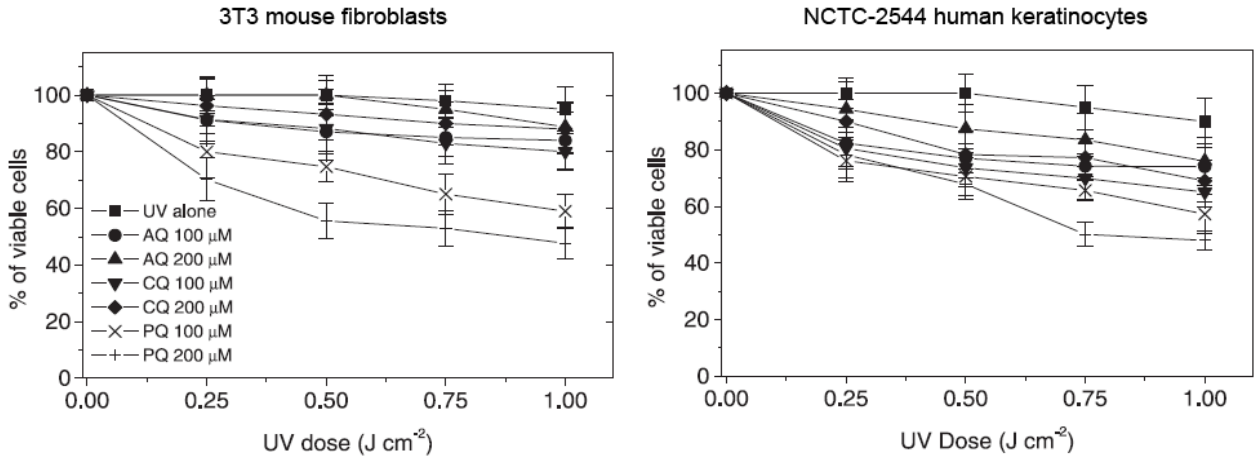
実線：アセトニトリル溶液、破線：水溶液（文献の Figure 1 を部分引用）

8.3.2 紫外線照射光毒性試験

Viola G ら（2007）(27)

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（～1 J/cm^2）照射光毒性試験を実施したところ、生存細胞の減少が認められた（図 7）。100 µmol/L のプリマキン存在下で紫外線（0.75 J/cm^2）照射後 24 時間において細胞の JC-1 染色によりミトコンドリア機能が低下（膜電位差が低下）していることが示され、Annexin-V 染色により壊死ではなくアポトーシスが生じていることが示された。また、ミトコンドリアで活性酸素種が生成し、膜脂質の過酸化及びタンパク質の酸化が生じているが、DNA には傷害が生じていないことが示された。

図 7 - 3T3 及び NCTC-2544 細胞に対する光毒性



紫外線照射 72 時間後に測定。AQ：アモジアキン、CQ：クロロキン、PQ：プリマキン（文献の Figure 4 を部分引用）

8.4 代謝物の安全性評価

ヒトにプリマキンを経口投与した場合の主たる代謝物はカルボキシルプリマキンであり、投与後のその血漿中濃度はプリマキンを上回っている [Module 2.7.2.1.2 薬物動態の概観]。カルボキシプリマキン単独での毒性試験は実施されていないが、カルボキシプリマキン（カルボン酸代謝物）は動物（マウス、ラット、サル）でもプリマキン投与後の代謝物として認められることから（[Module 2.6.4 薬物動態試験の概要文]）、実施されたマウス、ラット、サルの毒性試験結果にはカルボキシルプリマキンの毒性も含まれていると考えられる。カルボキシプリマキン以外の代謝物のうち、5-HPQ、6D5HPQ、MAQ-NOH、6-MAQ については血液毒性について8.1項に記載した。

8.5 不純物の安全性評価

原薬及び製剤中の不純物の規格上限値が日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH） Q3A（原薬不純物）及び Q3B（製剤不純物）ガイドラインで定められた安全性確認の閾値を超える不純物を表 16に示す。

表 16 - Primaquine phosphate 原薬及び製剤の不純物規格

名称（備考）	構造式	規格上限値 (%)	
		原薬	製剤
不純物A	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物B		[redacted]	[redacted]
不純物C （プリマキンの構造異性体）		[redacted]	[redacted]
不純物D （プリマキンの構造異性体）		[redacted]	[redacted]

[redacted]

これら 4 つの不純物の規格上限値は[redacted]と同じであり、この規格設定で臨床使用上、大きな安全性の問題は生じないと考えられるが、以下に得られている毒性情報を記載する。

8.5.1 **不純物**A **の毒性**

[redacted] (28)

マウス腹腔内投与時の LD_{50} は 25 mg/kg であった **不純物**A はヒトで認められるプリマキンの代謝物[redacted]と同じものであるが[redacted]、その代謝物である 6-Methoxy-8-hydroxylaminoquinoline（MAQ-NOH）は溶血毒性を有していることが確認されている（8.1 血液毒性の項参照）。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

8.5.2 不純物B の毒性

毒性に関する報告は見当たらない。

8.5.3 不純物C の毒性

不純物C はプリマキンの構造異性体（位置異性体）で、ソビエト連邦で抗マラリア薬として開発、使用されていたものである(29)。以下に毒性試験成績を示す。

8.5.3.1 単回投与毒性

[redacted] (29)

不純物C のマウス単回経口投与での平均致死量は 179.7 mg/kg [塩基換算：投与は塩酸塩]であった。マウス単回皮下投与では 43.8 mg/kg で少数例が死亡し、87.7 mg/kg では全例が死亡した。マウス単回静脈内投与では 43.8 mg/kg で全例死亡し、8.8 mg/kg が耐用量であり、21.9 mg/kg 投与では一過性の毒性兆候が認められた。

8.5.3.2 反復投与毒性

[redacted] (29)

不純物C をマウスに 25～50 mg/kg/日の用量で 10～15 日間経口投与したところ、毒性兆候は認められなかった。ラットに反復経口投与した場合、50 mg/kg/日では良好な忍容性が認められたが、100 mg/kg/日では少数例が死亡し、200 mg/kg/日では投与翌日から 5 日目までの間に全例が死亡した。

8.5.3.3 コナミドリムシに対する毒性（プリマキンとの比較）

[redacted] (30)

不純物C を 0.3%含有するプリマキンバッチ 16039、5.8%含有するプリマキンバッチ 20107 **不純物C** バッチ 17172 のコナミドリムシ（*C. reinhardtii*）に対する成長阻害を指標とした毒性を比較したところ、**不純物C** バッチ 17172 はプリマキンバッチよりも毒性が強く、プリマキンバッチ 16039 と比較した場合の毒性は約 2 倍であった（表 17）（筆者らは、プリマキン、**不純物C** 共にクロロプラスト中の光合成電子伝達鎖を阻害しているのだろうと考察している）。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

表 17 - **不純物**C のコナミドリムシに対する毒性（プリマキンとの比較）

Threshold concentrations of primaquine and **不純物**C for inhibition of growth of *C. reinhardtii* cells

Control	Primaquine batch 16039			Primaquine batch 20107			**不純物**C batch 17172	
Concentration (mM)	0.00	0.0001	0.0002	0.0004	0.0001	0.0002	0.0001	0.0002
Cells (ml^{-1})	7.0×10^6	4.7×10^6	1.3×10^6	0.7×10^6	2.4×10^6	0.7×10^6	2.2×10^6	0.3×10^6
Chlorophyll[a] (a + b) (mg/ml)	2.4	2.0	0.6	0.1	1.1	0.3	1.0	0.1

Cell numbers were 0.15×10^6 per ml at the start of the experiment. Number of cells and concentrations of chlorophyll (a + b) given in the table were determined after 3 days of growth in the present of primaquine and quinocide at the indicated concentrations.
[a] $n = 5$, R.S.D. = 3%.

（文献の Table 1 を引用）

8.5.4 **不純物**D **の毒性**

不純物D はプリマキンの構造異性体であるが、毒性に関する報告は見当たらない。

8.5.5 DNA 反応性不純物

DNA 反応性不純物に関する安全性評価は行っていない。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

9　考察及び結論

一般毒性：

プリマキンのラット、イヌ、サルの反復経口投与毒性試験では、肝臓（肝臓腫大、小葉中心性壊死、肝索細胞壊死、AST 及び ALT 上昇など）、腎臓（尿細管の混濁腫脹、上皮過形成・再生など）、筋肉（骨格筋、横隔膜などの横紋筋の変性・炎症性変化、心筋混濁腫脹など）、血液（メトヘモグロビン血症、溶血）が認められ、これらが主な標的臓器・組織であると考えられた。また、軽度ではあるが中枢神経にも毒性（背側運動核、視索上核、室傍核に低グレードの傷害）が認められている。一般状態の変化としてイヌで嘔吐、腹部痙攣、サルで嘔吐が認められており、ヒトでも悪心、嘔吐、上腹部不快感、腹痛などの消化管症状が副作用として認められているが、そのメカニズムの詳細は不明である。なお、反復投与毒性試験における無毒性量は文献に記載がなかったが、申請者が無毒性量を決定できるものについては表 18 に示した。

表 18 - 反復投与毒性試験における無毒性量

項目	試験	無毒性量（mg/kg/日）
3.1	ラット 28 日間経口投与毒性試験	3
3.2	イヌ 28 日間経口投与毒性試験	< 1
3.3	サル 3〜7 日間経口投与毒性試験（エナンチオマー毒性比較含む）	ラセミ体：4 +体：6 -体：< 3
3.7	サル 28 日間経口投与毒性試験	1

遺伝毒性及びがん原性：

遺伝毒性試験では *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ているが、これらの作用にはプリマキンの DNA への結合(31)、DNA ポリメラーゼ阻害(32)などが関与しているものと考えられる。なお、復帰突然変異試験で $NaNO_2$ 処理により陽性反応が強くなったとの報告があるが（4.5項 細菌を用いる復帰突然変異試験 5）、二級アミンであるプリマキンが $NaNO_2$ と反応して生じた N-ニトロソ誘導体(33) が遺伝毒性を増強した可能性が考えられる。

生殖発生毒性：

ラットの妊娠 6～15 日に 10.3、30.8 、61.5 mg/kg/日を投与した結果、10.3 mg/kg/日での母毒性は僅かであったが、高用量ではほとんどの母動物が死亡し、30.8 mg/kg/日で胚吸収増加、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 を単回投与した結果、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。文献に記載されている限られた毒性情報のみで無毒性量を判断した場合、母動物に対する無毒性量は 10.3 mg/kg/日未満（ニリン酸塩として 18 mg/kg/日未満）、胚・胎児に対する無毒性量は 10.3 mg/kg/日（ニリン酸塩として 18 mg/kg/日）であると推察された。

血液毒性（メトヘモグロビン血症、溶血）：

メトヘモグロビン血症：ラット、イヌ、サルの反復経口投与毒性試験でメトヘモグロビン血症が認められている（3項）。*In vitro* 試験では、プリマキン、ヒトにおけるプリマキンの主たる代謝物であるカルボキシルプリマキン及びその他の代謝物である 6-MAQ ではメトヘモグロビン生成が軽度かあるいは認められなかったが、代謝物の 5-HPQ、6D5HPQ、MAQ-NOH では顕著な生成が認められた。メトヘモグロビンが生じるメカニズムはまだ明確にはなっていないが、5-HPQ の場合、Liu らは 5-HPQ がヘムの Fe-O_2 部位に電子を供与することにより H_2O_2 が生じるとともに Fe (II) が Fe (III) になるのではないかと推察している(34)(35)。

溶血：*In vitro* 試験では、健常及び G6PD 欠損（ヘテロ接合、ホモ接合）ヒトの全血を用いた試験で、5-HPQ、 6D5HPQ により血漿中へのヘモグロビン放出量が上昇し、それは健常ヒトよりも G6PD 欠損ヒトの血液でより強く生じた。^{51}Cr 標識ラット赤血球を用いた試験では MAQ-NOH、5-HPQ 共に溶血毒性が認められたが、別の試験結果から MAQ-NOH の溶血作用は赤血球細胞膜の脂質の過酸化傷害によるものであることが示唆されている(36)。また、CYP 2D6、3A4、2B6 処理で得られた代謝物を処理した赤血球内での ROS 増加が認められている。*In vivo* 試験では、G6PD 欠損ヒト赤血球を生着させた NOD/SCID マウスにプリマキンを経口投与したところ、ヒト赤血球比が減少した。以上のことから、G6PD 欠損により酸化的ストレスに対する感受性が高くなっている状況下で、プリマキンの代謝物によって生じた ROS により赤血球膜傷害（及びその後の脾臓における溶血）が生じているものと推察された。

以上の結果から、プリマキンのいくつかの代謝物がヒトでの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。

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が 250 ng/mL [1 µmol/L] で認められた。この濃度はタイ人健康被験者にプリマキン 15 mg を単回及び 1 日 1 回 14 日間反復投与したときの平均最高血漿中濃度（C_{max}）は 65 ng/mL 及び 66 ng/mL [Module 2.7.2.1.2 薬物動態の概観]よりも高かった。また、サル 1.5 mg/kg/日、7 日間経口投与（単回投与後の C_{max} は 258 ng/mL(24)）においてリンパ球の分化及び単球の貪食能には影響は認められていない。また *in vitro* でヒト多形核白血球へ免疫刺激後の超酸化物産生及び酵素顆粒放出に対する影響を見た試験では 50～250 µmol/L の濃度で阻害が認められたが、非常に高濃度での処理での変化であることから、ヒトで同様の反応が生じる可能性は低いと考えられた。以上のことから、プリマキンをヒトに投与した際に免疫毒性が生じる可能性は少ないと考えられた。

光安全性：

UVA、UVB 領域に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細胞毒性（ミトコンドリアの機能低下を伴うアポトーシス）が生じている。プリマキンの光分解は薬物中の不純物（どういう物質かは特定されていない）が光増感物質となり生成された $^1O_2$ によりが生じていると推定されているが(37)、プリマキンの投与後の排泄は早いこと、投与期間が短いことから、プリマキンの投与及び光曝露でヒトの皮膚、眼に傷害が生じる可能性は少ないと考えられた。

動物/ヒト曝露量の比較：

28 日を超える期間を投与した試験結果及び血中濃度測定結果はないので 28 日間反復投与毒性試験の結果から体表面積換算した用量を用いて安全域を算出した（表 19）。

表 19 - ヒトでの安全域

動物種（記載個所）	無毒性量 a)（mg/kg/日）	無毒性量（mg/m^2/日）	ヒト用量 b)との比	
			15 mg/day	30 mg/day
ラット（3.1項）	3	18	1.95	0.97
イヌ（3.2項）	<1	<20	NA	NA
サル（3.7項）	1	12	1.30	0.65

a) 個々の文献には無毒性量の記載がないため、申請者が決定した
b) 15 mg/day = 9.25 mg/m^2 (60 kg)、30 mg/day = 18.5 mg/m^2 (60 kg)
NA：最低用量の 1 mg/kg/日投与で毒性が認められ、無毒性量が決定できなかったことから、用量比も算出できなかった。

エナンチオマーの毒性比較：

プリマキンのエナンチオマーを用いたマウス経口投与毒性試験（2.1項）での毒性の強さは(+)-体 > (-)-体であった。一方、サル 3〜7 日間経口投与毒性試験（3.3項）での一般毒性においては(+)-体 < (-)-体であり、サル 7 日間経口投与毒性試験（3.4項）では肝機能に対する毒性は(-)-体がより強く、赤血球酸化ストレス（メトヘモグロビン生成）は (+)-体がより強かった。このように(+)-体 と (-)-体間で毒性に差が認められ、動物種間でも違いが認められた。

以上、プリマキンを用いて実施された試験の文献報告から、プリマキンの毒性プロファイルが明らかになった。

10　図表

図表は本文中に記載した。

参 考 文 献

1. Schmidt LH, Alexander S, Allen L, Rasco J. Comparison of the curative antimalarial activities and toxicities of primaquine and its d and l isomers. Antimicrob Agents Chemother. 1977;12:51-60.
2. Noel S, Sharma S, Shanker R, Rath SK. Primaquine-induced differential gene expression analysis in mice liver using DNA microarrays. Toxicology. 2007;239:96-107.
3. LaMontagne MP, Blumbergs P, Smith DC. Antimalarials. 16. Synthesis of 2-substituted analogues of 8-[(4-amino-1-methylbutyl)amino]-6-methoxy-4-methyl-5-[3-(trifluoromethyl)phenoxy]quinoline as candidate antimalarials. J Med Chem. 1989;32:1728-32.
4. Lee CC, Kinter LD, Heiffer MH. Subacute toxicity of primaquine in dogs, monkeys and rats. Bull World Health Organ. 1981;59:439-48.
5. Schmidt LH, Smith CC, Hughes HB, Carter C. Studies on the 8-aminoquinolines; the toxicities of pamaquine and plasmocid in different animal species. Fed Proc. 1947;6:369.
6. Saunders D, Vanachayangkul P, Imerbsin R, Khemawoot P, Siripokasupkul R, Tekwani BL, Sampath A, Nanayakkara NP, Ohrt C, Lanteri C, Gettyacamin M, Teja-Isavadharm P, Walker L. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of (+)-primaquine and (-)-primaquine enantiomers in rhesus macaques (Macaca mulatta). Antimicrob Agents Chemother. 2014;58:7283-91.
7. Schmidt LH, Fradkin R, Genther CS, Hughes HB. III. Delineation of the potentials of primaquine as a radical curative and prophylactic drug. Am J Trop Med Hyg. 1982;31:666-80.
8. Schmidt IG, Schmidt LH. Neurotoxicity of the 8-aminoquinolines. III.The effects of pentaquine, isopentaquine, primaquine, and pamaquine on the central nervous system of the rhesus monkey. J Neuropathol Exp Neurol. 1951;10:231-56.
9. Ono T, Norimatsu M, Yoshimura H. Mutagenic evaluation of primaquine, pentaquine and pamaquine in the Salmonella/mammalian microsome assay. Mutat Res. 1994;325:7-10.
10. Chatterjee T, Muhkopadhyay A, Khan KA, Giri AK. Comparative mutagenic and genotoxic effects of three antimalarial drugs, chloroquine, primaquine and amodiaquine. Mutagenesis. 1998;13:619-24.
11. Shubber EK, Jacobson-Kram D, Williams JR. Comparison of the Ames assay and the induction of sister chromatid exchanges: results with ten pharmaceuticals and five selected agents. Cell Biol Toxicol. 1986;2:379-99.
12. Marrs TC. Bright JE, Morris BC. Methemoglobinogenic potential of primaquine and its mutagenicity in the Ames test. Toxicol Lett. 1987;36:281-7.
13. Ono-Ogata T, Ogino T. Nishikawa M, Ohta T, Yamagata H. Mutagenic activity and mutational specificity of antiprotozoal drugs with and without nitrite treatment. Environ Mol Mutagen. 2002;39:43-8.

14. Trutter JA, Reno FE, Durloo RS. Teratogenicity studies with a candidate antileishmanial drug. The Toxicologist. 1983;3:65.
15. Beveridge E, Caldwell IC, Latter VS, Neal RA, Udall V, Waldron MM. The activity against Trypanosoma cruzi and cutaneous leishmaniasis, and toxicity, of moxipraquine (349C59). Trans R Soc Trop Med Hyg. 1980;74:43-51.
16. Agarwal S, Gupta UR, Gupta RC, Anand N, Agarwal SS. Susceptibility of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient red cells to primaquine enantiomers and two putative metabolites--I. Effect on reduced glutathione, methemoglobin content and release of hemoglobin. Biochem Pharmacol. 1988;37:4605-9.
17. Bolchoz LJ, Budinsky RA, McMillan DC, Jollow DJ. Primaquine-induced hemolytic anemia: formation and hemotoxicity of the arylhydroxylamine metabolite 6-methoxy-8-hydroxylaminoquinoline. J Pharmacol Exp Ther. 2001;297:509-15.
18. Link CM, Theoharides AD, Anders JC, Chung H, Canfield CJ. Structure-activity relationships of putative primaquine metabolites causing methemoglobin formation in canine hemolysates. Toxicol Appl Pharmacol. 1985;81:192-202.
19. Ganesan S, Tekwani BL, Sahu R, Tripathi LM, Walker LA. Cytochrome P450-dependent toxic effects of primaquine on human erythrocytes. Toxicol Appl Pharmacol. 2009;241:14-22.
20. Ganesan S, Chaurasiya ND, Sahu R, Walker LA, Tekwani B. Understanding the mechanisms for metabolism-linked hemolytic toxicity of primaquine against glucose 6-phosphate dehydrogenase deficient human erythrocytes: Evaluation of eryptotic pathway. Toxicology. 2012;294:54-60.
21. Rochford R, Ohrt C, Baresel PC, Campo B, Sampath A, Magill AJ, Tekwani BL, Walker LA. Humanized mouse model of glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency for in vivo assessment of hemolytic toxicity. Proc Natl Acad Sci USA. 2013;110:17486-91.
22. Nanayakkara NP, Tekwani BL, Herath HM, Sahu R, Gettayacamin M, Tungtaeng A, van Gessel Y, Baresel P, Wickham KS, Bartlett MS, Fronczek FR, Melendez V, Ohrt C, Reichard GA, McChesney JD, Rochford R, Walker LA. Scalable preparation and differential pharmacologic and toxicologic profiles of primaquine enantiomers. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58:4737-44.
23. Prasad RN, Garg SK, Mahajan RC, Ganguly NK. Primaquine: its effect on cellular immune response of normal rhesus monkeys. J Com Dis. 1990;22:254-9.
24. Prasad RN, Virk KJ, Ganguly NK, Mahajan RC. Humoral immune response of normal rhesus monkeys during primaquine administration. J Com Dis. 1991;23:240-4.
25. Ferrante A, Goh DH. The effect of anti-malarial drugs on human natural killer cells in vitro. Parasite Immunol. 1984;6:571-80.
26. Neal TM, Vissers MC, Winterbourn CC. Inhibition by nonsteroidal anti-inflammatory drugs of superoxide production and granule enzyme release by polymorphonuclear leukocytes stimulated with immune complexes or formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. Biochem Pharmacol. 1987;36:2511-7.

27. Viola G, Salvador A, Cecconet L, Basso G, Vedaldi D, Dall'Acqua F, Aloisi GG, Amelia M, Barbafina A, Latterini L, Elisei F. Photophysical properties and photobiological behavior of amodiaquine, primaquine and chloroquine. Photochem Photobiol. 2007;83:1415-27.
28. [redacted]
29. [redacted]
30. [redacted]
31. Whichard LP, Morris CR, Smith JM, Holbrook DJ Jr. The binding of primaquine, pentaquine, pamaquine, and plasmocid to deoxyribonucleic acid. Mol Pharmacol. 1968;4:630-9.
32. Whichard LP, Washington ME, Holbrook DJ Jr. The inhibition in vitro of bacterial DNA polymerases and RNA polymerase by antimalarial 8-aminoquinolines and by chloroquine. Biochim Biophys Acta. 1972;287:52-67.
33. Akintonwa DA. The derivation of nitrosamines from some therapeutic amines in the human environment. Ecotoxicol Environ Saf. 1985;9:64-70.
34. Liu H, Walker LA, Nanayakkara NP, Doerksen RJ. Methemoglobinemia caused by 8-aminoquinoline drugs: DFT calculations suggest an analogy to H4B's role in nitric oxide synthase. J Am Chem Soc. 2011;133:1172-5.
35. Liu H, Walker LA, Doerksen RJ. DFT study on the radical anions formed by primaquine and its derivatives. Chem Res Toxicol. 2011;24:1476-85.
36. Bolchoz LJ, Morrow JD, Jollow DJ, McMillan DC. Primaquine-induced hemolytic anemia: effect of 6-methoxy-8-hydroxylaminoquinoline on rat erythrocyte sulfhydryl status, membrane lipids, cytoskeletal proteins, and morphology. J Pharmacol Exp Ther. 2002;303:141-8.
37. Kristensen S, Edge R, Tønnesen HH, Bisby RH, Navaratnam S. Photoreactivity of biologically active compounds. XIX: excited states and free radicals from the antimalarial drug primaquine. J Photochem Photobiol B. 2009;94:147-57.

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

2.6.7 毒性試験概要表

Total number of pages: 19

目　　次

1 毒性試験一覧表 3
2 トキシコキネティクス試験の一覧表 4
3 トキシコキネティクス試験成績の一覧 5
4 毒性試験使用ロット 6
5 単回投与毒性試験 7
6 反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験 8
7 反復投与毒性試験 9
8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 10
9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 11
10 がん原性試験 12
11 生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験 13
12 生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 14
13 生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験 15
14 生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 16
15 新生児を用いた試験 17
16 局所刺激性試験 18
17 その他の毒性試験 19

1　毒性試験一覧表

試験一覧表は Module 2.6.7 に記載した。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

2　トキシコキネティクス試験の一覧表

該当なし。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧

該当なし。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

4　毒性試験使用ロット

該当なし。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

5　単回投与毒性試験

試験結果は Module 2.6.6 に記載した。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

6　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験

試験結果は Module 2.6.6 に記載した。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

7　反復投与毒性試験

試験結果は Module 2.6.6 に記載した。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

試験結果は Module 2.6.6 に記載した。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

試験結果は Module 2.6.6 に記載した。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

10　がん原性試験

該当なし。

11　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験

該当なし。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

12　生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当なし。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験

試験結果は Module 2.6.6 に記載した。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

14　生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

該当なし。

15　新生児を用いた試験

該当なし。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

16　局所刺激性試験

該当なし。

Property of the Sanofi group - strictly confidential

17　その他の毒性試験

試験結果は Module 2.6.6 に記載した。

Property of the Sanofi group - strictly confidential