目次

2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.1.1 薬理試験 5
2.4.1.2 薬物動態試験 5
2.4.1.3 毒性試験 6
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.2 安全性薬理 12
2.4.3 薬物動態試験 14
2.4.3.1 分析方法 14
2.4.3.2 吸収 14
2.4.3.3 分布 14
2.4.3.4 代謝 15
2.4.3.5 排泄 18
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 18
2.4.4 毒性試験 20
2.4.4.1 単回投与毒性 20
2.4.4.2 反復投与毒性（サフィナミド単独） 20
2.4.4.3 反復投与毒性（レボドパ／カルビドパ又はプラミペキソール併用） 22
2.4.4.4 遺伝毒性 23
2.4.4.5 がん原性 24
2.4.4.6 生殖発生毒性（サフィナミド単独） 24
2.4.4.7 生殖発生毒性（レボドパ／カルビドパ併用） 25
2.4.4.8 その他の毒性試験 25
2.4.5 総括及び結論 29
2.4.5.1 総括 29
2.4.5.2 結論 33
2.4.6 参考文献一覧 34

略号一覧

略語	省略しない用語	説明又は定義
AADC	Aromatic L-amino-acid decarboxylase	芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素
ACTH	Adrenocorticotropic hormone	副腎皮質刺激ホルモン
AG	Acyl glucuronide	アシルグルクロニド
ALDH	Acetaldehyde dehydrogenase	アセトアルデヒド脱水素酵素
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
APD	Action potential duration	活動電位持続時間
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BNPP	Bis-*p*-nitrophenyl phosphate	ビス-*p*-ニトロフェニルリン酸
BSEP	Bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
BUN	Blood urea nitrogen	尿素窒素
CL	Systemic clearance	全身クリアランス
C_{max}	Maximal plasma concentration	最高血漿中濃度
COMT	Catechol-*O*-methyltransferase	カテコール-*O*-メチル基転移酵素
CYP	Cytochrome P450	チトクロム P450
DAT	Dopamine transporter	ドパミントランスポーター
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DOPAC	3,4-Diphydroxyphenylacetic acid	3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸
EAE	Experimental autoimmune encephalomyelitis	実験的自己免疫性脳脊髄炎
ERG	Electroretinography	網膜電図
F	Extent of bioavailability	生物学的利用率
FAAH	Fatty acid amide hydrolase	脂肪酸アミド加水分解酵素
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hCE	human carboxylesterase	ヒトカルボキシルエステラーゼ
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HPLC/FL	High-performance liquid chromatography/fluorescence	高速液体クロマトグラフィー/蛍光検出
HVA	Homovanillic acid	ホモバニリン酸
ICH	International Conference on Harmonisation	日米ＥＵ医薬品規制調和国際会議
Ki	Inhibition constant	阻害定数
K_I	Concentration of an inactivator that supports half the maximal rate of enzyme inactivation	阻害物質の飽和濃度における酵素不活化の50%阻害濃度
K_{inact}	Maximal rate of enzyme inactivation at saturating concentrations of inhibitor	最大不活化速度
LC-MS/MS	Liquid chromatography tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
LID	Levodopa induced dyskinesia	レボドパ誘発性ジスキネジア
MAO-A	Monoamine oxidase A	モノアミン酸化酵素 A

略語	省略しない用語	説明又は定義
MAO-B	Monoamine oxidase B	モノアミン酸化酵素 B
MPTP	1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine	1-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーRNA
NMDA	*N*-methyl-D-aspartic acid	*N*-メチル-D-アスパラギン酸
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
6-OHDA	6-Hydroxydopamine	6-ヒドロキシドパミン
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PMSF	Phenylmethylsulfonyl fluoride	フッ化フェニルメチルスルフォニル
$R_{BC/P}$	Ratio of blood cell to plasma concentration	赤血球/血漿濃度比
SD-OCT	Spectral Domain - Optical Coherence Tomography	分光型光干渉断層撮影
SERT	Serotonin transporter	セロトニントランスポーター
SULT	Sulfotransferase	スルホ基転移酵素
$t_{1/2}$	Half-life time	消失半減期
TDI	Time dependent inhibition	時間依存的阻害
t_{max}	Time of maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
UGT	Uridine-5’-diphospho-glucuronosyl transferase	ウリジン 5’-ジホスホ--グルクロン酸転移酵素
Vss	Volume of distribution at steady state	定常状態分布容積

2.4 非臨床試験の概括評価

サフィナミド（メシル酸塩）（(*S*)-2-[({4-[(3-フルオロフェニル)メトキシ]フェニル}メチル)アミノ]プロパンアミド 一メタンスルホン酸塩、以下サフィナミドと表記）の非臨床試験（薬理、薬物動態及び毒性）の概略を示すと共に、それらに関する概括的な評価を記載した。各試験に関する詳細な方法と結果については、モジュール 2.6 の項に概要文並びに概要表として記載した。各試験の最終報告書はモジュール 4 に添付した。

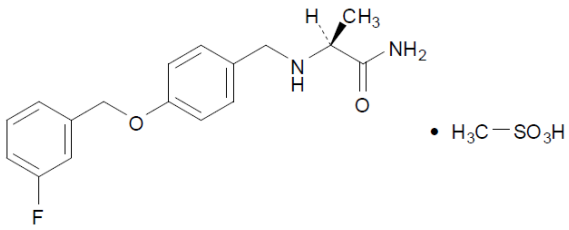


図 2.4-1 サフィナミドメシル酸塩の化学構造式

2.4.1 非臨床試験計画概略

サフィナミドは選択的かつ可逆的なモノアミン酸化酵素 B（monoamine oxidase B; MAO-B）阻害作用とともに、電位依存性ナトリウムチャネルの阻害作用を介するグルタミン酸放出抑制作用を有し、パーキンソン病を対象疾患とし、レボドパ製剤との併用療法を適応とすることを予定している。

サフィナミドの薬理作用、薬物動態及び毒性について明らかにするために、in vitro 試験、並びにマウス、ラット、ウサギ、イヌ、及びサルを用いて in vivo 試験を実施した。

なお、in vivo 試験での投与経路は、原則として臨床適用経路である経口投与を選択し、一部の試験では静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、十二指腸内投与、又は大槽内投与を選択した。なお、サフィナミドの投与量は、特に記載しない限り、メシル酸塩としての投与量を示した。重要な安全性薬理試験及び毒性試験は日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン、並びに医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

2.4.1.1 薬理試験

サフィナミドのパーキンソン病治療薬としての特徴を明らかにするための薬理評価を実施した。サフィナミドの薬理作用について in vitro 並びに in vivo 試験でドパミン神経系に関与するモノアミン酸化酵素、各種トランスポーター、及びドパミン受容体に対する作用、並びにドパミン神経系以外の関与としてナトリウムチャネル、カルシウムチャネル、及びグルタミン酸放出に対する作用を検討した。また、効力を裏付ける試験として、パーキンソン病モデル動物において、ドパミン神経保護作用（1-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン（MPTP）誘発マウス黒質変性モデル、6-ヒドロキシドパミン（6-OHDA）誘発ラット内側前脳束変性モデル）、wearing off 現象の軽減作用（片側性 6-OHDA 誘発ラット wearing off モデル）、並びにレボドパのパーキンソン病治療効果とジスキネジア（Levodopa induced dyskinesia: LID）に及ぼす影響（MPTP 誘発カニクイザルパーキンソン病モデル）を検討した。

安全性薬理については、中枢神経系評価、呼吸器系機能評価、並びに心血管系機能評価を実施した。また、サルを用いた毒性試験で死亡がみられたため、麻酔下サルを用いた試験を実施し、サフィナミドの十二指腸内、静脈内及び持続大槽内投与による影響についても検討した。加えて、腎臓及び胃腸機能についてもサフィナミドをげっ歯類に経口投与して評価した。

2.4.1.2 薬物動態試験

薬物動態試験として非標識体及び ^{14}C 標識したサフィナミドメシル酸塩（^{14}C-サフィナミドメシル酸塩）を用いて、ラット及びサルにおける静脈内投与及び経口投与後の血漿中濃度推移を検討した。分布についてはアルビノラット及び有色素ラットに ^{14}C-サフィナミドメシル酸塩を単回及び反復経口投与し、^{14}C-サフィナミド由来物質の組織内分布を検討した。また、^{14}C-サフィナミドを用いて、in vitro での血漿蛋白結合率、血球への移行を検討した。マウス、ラット、イヌ及びサルを用いて血漿中代謝物の検討を行い、尿糞中代謝物（マウス、ラット、イヌ、サル）、脳中代謝物（ラット）、網膜中代謝物（ラット）を評価した。さらに、in vitro 試験により代謝酵素を同定した。排泄については、マウス、ラット、イヌ及びサルを用いて尿糞中排泄、並びにラットを用いて胆汁中代謝物について評価した。薬物動態的薬物相互作用の観点から酵素阻害及び誘導、並びに薬物トランスポーターに対する基質性及び阻害作用を検討した。さらに、Caco-2 細胞を用いて、膜透過性を検討した。

2.4.1.3 毒性試験

毒性試験としてサフィナミドの単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、一連の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、局所刺激性試験を実施した。その他の毒性試験として、毒性発現の機序に関する試験、依存性試験、代謝物の毒性試験、不純物の毒性試験及び光毒性に関する試験を実施した。代謝物の毒性試験では、ヒトで確認される代謝物 NW-1153、NW-1689、及び NW-1689 アシルグルクロニド（NW-1689AG）について、また、不純物の毒性試験ではサフィナミドの[redacted]である 類縁物質A* 、[redacted]である 類縁物質B* （[redacted]）、並びに[redacted]である 類縁物質C* （[redacted]）について評価した。サフィナミドはレボドパ／カルビドパ及びプラミペキソール等の他のパーキンソン病治療薬と併用投与で使用されるため、これらの薬剤との併用による反復毒性試験及び生殖発生毒性試験についても実施した。さらに、海外臨床試験において短期の静脈内投与試験を行うために静脈内投与による 2 週間反復投与毒性試験及び刺激性試験を実施した。毒性発現の機序に関する試験として、網膜毒性に関する試験を実施した。

＊新薬情報提供時に置き換えた。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 モノアミン酸化酵素 B 阻害作用（ドパミン神経系に対する作用）

サフィナミドの MAO-B 阻害の IC_{50} 値はヒト脳で 79 nM、ラット脳で 98 nM で、モノアミン酸化酵素 A（monoamine oxidase A; MAO-A）阻害作用よりヒト脳で約 1000 倍、ラット脳で約 6000 倍阻害活性が強かった（表 2.4-1）。MAO-B に対する阻害様式について in vitro 試験で検討した結果、サフィナミドは可逆的阻害薬であることが示された。ラットを用いた in vivo 試験においても、サフィナミドは可逆的で選択的な MAO-B 阻害薬であることが確認された。芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素（aromatic L-amino-acid decarboxylase; AADC）、カテコール-*O*-メチル基転移酵素（catechol-*O*-methyltransferase; COMT）、ドパミントランスポーター（dopamine transporter; DAT)、ドパミン受容体等のドパミン神経系に対するサフィナミドの作用は、MAO-B 阻害作用に比べて弱かった。

サフィナミドをサルに反復投与した結果、運動調節に関与する線条体被殻のドパミン含量が増加した。一方、報酬回路に関与する側坐核ではドパミン含量に変化は認められなかった。また、サフィナミドは海馬のセロトニン含量に影響しなかった。

表 2.4-1 ヒト及びラット組織の in vitro MAO 阻害

	IC_{50} 値（μM）				
	MAO-A		MAO-B		
組織	脳	肝	脳	肝	血小板
ヒト	～80 [a]	＞100 [a]	0.079 [a]	0.052 [a]	0.064 [a] 0.0093 [b]
ラット	584 [b]	～100 [a]	0.098 [b]	0.079 [a]	評価せず

a: ヒト脳及び肝、又はラット肝から調製したミトコンドリア画分及びヒト多血小板血漿を用いた酵素阻害試験（30 分間プレインキュベーション）
b: ラット脳ミトコンドリア及びヒト多血小板血漿を用いた酵素阻害試験

サフィナミドの in vitro 試験における MAO-B 選択性をセレギリン、ラサギリンと比較すると、セレギリンはヒトで 250 倍、ラットで 260～1000 倍、ラサギリンはヒトで約 50 倍、ラットで約 90 倍[1),2)]であり、ヒトとラットいずれにおいてもサフィナミドの選択性が最も高かった。また、セレギリンとラサギリンは MAO-B 阻害作用が非可逆的であり、その作用は持続的である[3),4)]のに対し、サフィナミドは in vitro 並びに in vivo 試験で可逆的阻害薬であることが確認された（図 2.4-2）。

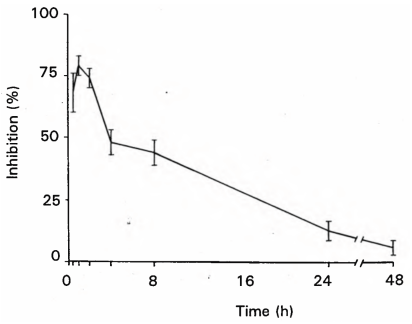


図 2.4-2 サフィナミド 5 mg/kg 経口投与後のラット脳内における経時的な MAO-B 阻害率
抑制率（%）を平均値±標準偏差で示す。(n=5)

これらの結果から、サフィナミドは MAO-A に比べて MAO-B 阻害の選択性が既存の MAO-B 阻害薬と比較して最も高いことから、特に血圧や脳内セロトニン神経系に影響を及ぼす薬剤との併用時の副作用のリスクが最も低いことが期待される。また、サフィナミドの MAO-B 阻害作用は可逆的であるため、レボドパとの併用により不随意運動、幻覚、妄想等の副作用が発現した場合でも、減量又は休薬することで副作用を速やかに減弱させることができる使いやすい薬物と考えられる。

2.4.2.1.2 電位依存性ナトリウムチャネル阻害によるグルタミン酸放出抑制作用

サフィナミドは電位依存性ナトリウムチャネルを活動状態依存的に阻害し、静止状態のチャネルに対する IC_{50} 値は 13～82 μM であるが、不活性化状態のチャネルに対する IC_{50} 値は 1.6～4.9 μM であった（表 2.4-2）。また、サフィナミドは電位依存性カルシウムチャネルも阻害し、IC_{50} 値は 14.2～113.2 μM であった。

表 2.4-2 ヒト型電位依存性ナトリウムチャネルサブタイプに対するサフィナミドの IC_{50} 値（μM）

	Nav1.1	Nav1.2	Nav1.3	Nav1.4	Nav1.5	Nav1.6	Nav1.7	Nav1.8/β3
静止	13.05	28.45	36.33	51.23	81.96	18.03	48.06	32.68
10 Hz	6.01	16.19	8.82	15.99	23.57	5.02	12.4	18.63
不活性化	1.86	4.85	2.12	1.56	2.97	1.69	3.28	3.90

静止：静止電位-120 mV から脱分極させ（Nav1.1～3, 6, 7 チャネル；V_{test}=0 mV、Nav1.4～5 チャネル；V_{test}=-10 mV、Nav 1.8 チャネル；V_{test}=20 mV）、サフィナミド（5 分間の細胞外灌流）によるピーク電流の抑制を評価した。10 Hz（頻度依存性阻害）：頻度依存性阻害は 11 回の反復刺激により Na^+電流を活性化し、刺激 11 回目のピーク電流をサフィナミド存在下と非存在下で比較した。不活性化:脱分極電位（$V_{preconditioning}$=-60 mV）から電流を惹起し、サフィナミド存在下のピーク電流を評価した。

ラットを用いた微小透析試験では、ヒトにおける最高血漿中濃度（100 mg/日、7 日間投与で 1819 ng/mL）と同程度の血漿中濃度を示すと推測される投与量（遊離塩基換算で 30 mg/kg の腹腔内投与）のサフィナミドは単独では海馬におけるグルタミン酸放出に影響することなく、veratridine（ナトリウムチャネル開口薬）により誘発されるグルタミン酸放出を有意に抑制した（図 2.4-3）。視床下核、淡蒼球など、パーキンソン病でグルタミン酸機能が亢進している脳部位において、1/2 量である 15 mg/kg でもグルタミン酸放出を有意に抑制した。15 mg/kg 投与 40 分後の脳内蛋白非結合型サフィナミド濃度は 1.89 μM であり、脳内で多く発現する Nav 1.1、1.2、1.3 及び 1.6 の不活性化状態に対するサフィナミドによる抑制の IC_{50} 値（表 2.4-2）と同程度であった。また、サフィナミドは前頭皮質及び線条体における K^+刺激によるグルタミン酸放出に影響しなかった。K^+刺激によるグルタミン酸放出はカルシウムチャネルの活性化を介することから、サフィナミドは in vivo においてはナトリウムチャネルに対し選択的に作用することが示唆された。

以上のことから、サフィナミドは in vivo において MAO-B 阻害作用だけでなく、ナトリウムチャネルの阻害を介してグルタミン酸放出抑制作用を併せ持つ特徴を有することが示された。

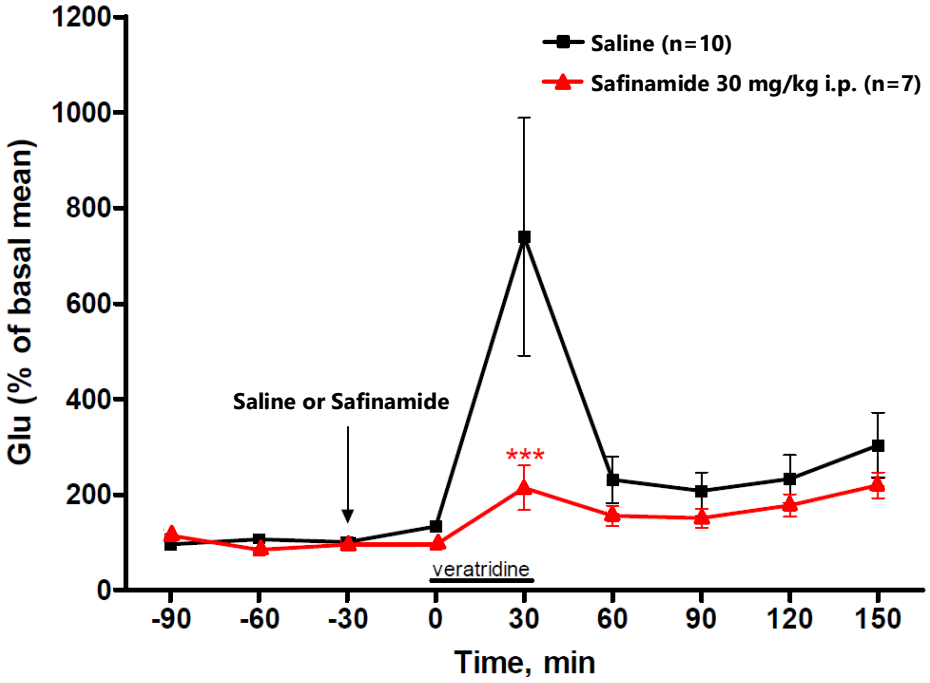


図 2.4-3 ラット海馬における veratridine 誘発グルタミン酸放出に対するサフィナミドの抑制作用

各ポイントはベースライン平均（100%）からの変化量（%）を示す。
*** P<0.001 分散分析 Bonferroni 検定

2.4.2.1.3 パーキンソン病モデルにおける効果

サフィナミドの効力を裏付けることを目的として実施したパーキンソン病モデルを用いた試験系とパーキンソン病において期待される効果について以下の表にまとめた（表 2.4-3）。

表 2.4-3 各試験系とパーキンソン病において期待される効果

試験系	効果の種類
MPTP 誘発マウス黒質変性モデル	ドパミン神経保護作用
片側 6-OHDA 誘発 ラット内側前脳束変性モデル	
	Wearing off 現象改善作用
MPTP 処置カニクイザルモデル	レボドパによるパーキンソン病 治療効果持続時間延長
	レボドパにより誘発される ジスキネジアの抑制
ラット顎振戦モデル	振戦に対する作用

MPTP を投与したマウスにサフィナミドをレボドパ及びベンセラジドと併用したところ、レボドパ／ベンセラジドのみを投与したマウスに比べて脳内ドパミン含量が有意に増加した。また、サフィナミドは MPTP が誘発するマウス黒質ドパミン作動性神経の変性と線条体ドパミン含量の低下を抑制した。さらに、6-OHDA を処置したラットにサフィナミドを投与すると、黒質ドパミン作動性神経変性が抑制された。これらの結果からサフィナミドがドパミン神経保護作用を有することが示唆され、パーキンソン病の進行を抑制することが期待される。6-OHDA を処置したラットにレボドパとベンセラジドを投与すると回転運動が観察され、さらにレボドパとベンセラジドを反復投与すると回転運動が減少する wearing off 現象が観察される。サフィナミドはこの回転運動の減少を有意に回復させた。また、*N*-メチル-D-アスパラギン酸（*N*-methyl-D-aspartic acid; NMDA）型グルタミン酸受容体阻害薬 MK-801 もサフィナミドと同様に回転運動を有意に回復させたことから、wearing off 現象の改善にはグルタミン酸神経伝達を抑制することが有効である可能性が示唆された（図 2.4-4）。

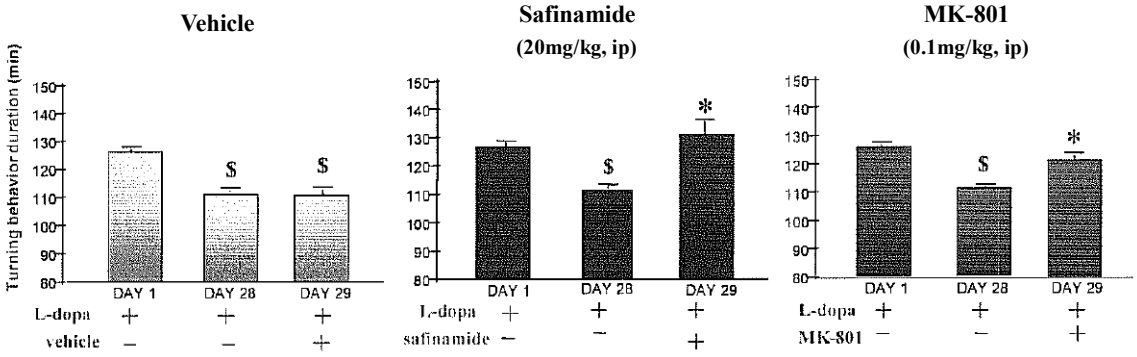


図 2.4-4　6-OHDA 処置ラットの回転行動を指標としたサフィナミドの wearing off 現象の改善作用

$P < 0.05（対 Day 1 の L-dopa）、* P < 0.05（対 Day 28 の L-dopa）一元配置分散分析及び Newman-Keuls 多重比較法

MPTP を処置したカニクイザルにレボドパを投与して作製したパーキンソン病モデル（LID）において、サフィナミドはレボドパ投与によるパーキンソン病治療効果持続時間を延長するとともに、レボドパにより誘発されるジスキネジアを抑制した。MAO-B 阻害薬のラサギリンはレボドパのパーキンソン病治療効果持続時間を延長したが、ジスキネジアに対する抑制作用に用量反応はみられず、別の MAO-B 阻害薬である国内未承認薬の lazabemide も同様にパーキンソン病治療効果持続時間を延長したが、ジスキネジアには影響しなかった。一方、電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用とグルタミン酸放出抑制作用を有するリルゾールと NMDA 受容体拮抗作用を有するアマンタジンはジスキネジアを抑制した。これらの結果から MAO-B 阻害作用はレボドパによるパーキンソン病治療効果持続時間の延長に寄与するものと考えられ、グルタミン酸神経伝達抑制作用はジスキネジアの軽減につながるものと考えられた。LID モデルにおける各種薬剤の作用比較をまとめた（表 2.4-4）。

表 2.4-4 LID モデルにおける各種薬剤の作用比較

	作用機序		発現する作用	
薬剤	MAO-B 阻害	グルタミン酸 神経伝達抑制	パーキンソン病 治療効果持続時間	ジスキネジア
サフィナミド	○	○ （グルタミン酸放出抑制）	延長	○
ラサギリン	○	×	延長	×
Lazabemide	○	×	延長	×
リルゾール	×	○ （グルタミン酸放出抑制）	×	○
Lazabemide +リルゾール	○	○ （グルタミン酸放出抑制）	延長	○
アマンタジン	×	○ （NMDA 受容体拮抗）	×	○

表中○：作用あり、×：作用なし

サフィナミドは、ドパミン D_2 受容体拮抗薬のピモジド、ムスカリン受容体作動薬のピロカルピン、又はアセチルコリンエステラーゼ阻害薬のガランタミンで誘発されたラットの顎振戦に対して振戦回数を有意に減少した。

以上の結果より、MAO-B 阻害作用とグルタミン酸放出抑制作用を有するサフィナミドは、パーキンソン病におけるレボドパ療法に伴う wearing off 現象の改善に有用であるとともに、レボドパによるジスキネジアを軽減することが期待できるが、ジスキネジアの軽減については臨床試験で検証されていない。

2.4.2.1.4 その他の薬理試験

スナネズミの一過性脳虚血モデルにおいて、サフィナミドの前投与は虚血による海馬神経変性を抑制し、虚血再灌流 3 時間後にサフィナミドの投与を開始した場合でも抑制効果がみられた。さらにサフィナミドは虚血による認知機能障害についても改善し、サフィナミドの神経保護作用が示唆された。また、ラットの多発性硬化症モデルである実験的自己免疫炎症性脳脊髄炎（Experimental autoimmune encephalomyelitis ; EAE）モデルにおいて、神経障害発症後にサフィナミドを投与した場合でも神経症状及び軸索変性が有意に抑制され、サフィナミドの神経保護作用が確認された。

サフィナミドは、ラモトリギン、フェニトイン又はカルバマゼピンなどのナトリウムチャネル阻害薬が有効性を示すラットの最大電撃痙攣モデルやキンドリングモデルなど、種々のてんかん発作モデルで抗てんかん作用を示した。

サフィナミドは虚血再灌流や EAE モデルの神経障害発症後に投与した場合でも神経保護作用を示したことから、ドパミン神経に限定されない幅広い神経保護作用が期待される。また、サフィナミドの抗てんかん作用にはナトリウムチャネル阻害作用が関与していることが示唆された。

2.4.2.1.5 代謝物及び(*R*)-サフィナミドの薬理作用

サフィナミドの代謝物 NW-1153 及び NW-1689 は、MAO-B に対して 100 μM を超える濃度でも阻害作用を示さなかった。また MAO-A、AADC、N 型及び L 型カルシウムチャネル並びにナトリウム

チャネルに対する阻害作用も弱かった。サフィナミドの鏡像異性体である(*R*)-サフィナミドのMAO-B 阻害活性はサフィナミドの約 1/3～1/10 であり、MAO-A についてはサフィナミドに比べて 3～7 倍強かった。

これらのことより、サフィナミドを臨床適用した場合、NW-1153 及び NW-1689 はサフィナミドに比べて MAO-B 阻害作用、N 型及び L 型カルシウムチャネル阻害作用並びにナトリウムチャネル阻害作用が弱く、薬効への寄与は少ないものと推定された。なお、サフィナミドを投与したヒト血漿中に(*R*)-サフィナミドは検出されないことから、サフィナミドの薬効に(*R*)-サフィナミドが寄与する可能性は否定できる。

2.4.2.2 安全性薬理

中枢神経系に対する作用として、マウスでは（サフィナミドとして）100～1000 mg/kg、ラットでは 30～200 mg/kg の単回経口投与後に、サフィナミドは一過性かつ用量依存的な鎮静を誘発した。この影響は、サフィナミドを 50 mg/kg 以上の用量で経口投与したサルの反復投与毒性試験でみられた中枢神経系作用と一致した。また、この用量は MPTP 処置したサルの LID モデルにおける最小有効量（3 mg/kg）より 16 倍高く、有効用量付近において鎮静はみられなかった。一方、自発運動低下や運動失調等の神経系作用はサフィナミドの臨床推奨用量におけるヒトでの曝露量との比が小さかったが、臨床試験においてジスキネジアを除く神経系障害の有害事象はプラセボ群と比較して増加していないことから、これらの変化が臨床上問題となることはないと考えられる。

心血管系に対する作用として、hERG チャネル電流の阻害活性（IC_{50} 値=27 μM）がみられたが、ヒトにサフィナミド 100 mg/日を 7 日間反復投与した際の血漿中非結合型濃度（0.66 μM）との安全域は約 40 倍以上と推察された。In vitro 心血管系の試験では、活動電位持続時間（APD）の短縮、不応期の短縮及び収縮力の低下が用量依存的にみられ、in vivo 試験では QT 間隔の短縮がみられた。これらの変化は、サフィナミドのナトリウムチャネル（Nav1.5）阻害作用（パッチクランプ法：phasic stimulation IC_{50}=34.1 μM）に起因する可能性が考えられた。In vivo 試験において Sarma 式で補正した QTc 間隔は短縮がみられたものの用量相関性はなく、Fridericia 式で補正した QTc 間隔の短縮はみられなかった。また、覚醒ラット及びイヌを用いた試験において血圧及び心拍数に明らかな変化はみられず、心血管系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

麻酔下サルを用いた試験において、麻酔下の動物では血圧の低下が顕著にみられた。ドブタミンによる回復がみられたことから、この作用は中枢神経を介する可能性が高く、交感神経性緊張への影響に起因するものと考えられた。麻酔下ではサフィナミドと麻酔の相乗作用又は麻酔による中枢神経系兆候のマスキング効果により血圧の低下が顕著にみられたと考えられる。一方、覚醒サルにおいては血圧低下はみられず、顕著な神経系作用を呈した後に死亡した。他の試験においても覚醒動物では血圧の低下がみられていないことから、サルを用いた毒性試験でみられた死亡は、心血管系に起因するものではなく中枢神経系症状に起因したものと推察されたが、忍容性のある用量範囲では血圧へ影響する可能性は低いと考えられる。

呼吸器系、腎臓系及び消化器系の機能に変化は認められなかった。また、サフィナミド、NW-1153、NW-1689、NW-1689AG 及び　類縁物質A*　の標的以外の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対する結合性を評価した結果、オフ・ターゲット作用部位の多くに対して結合活性を示さなかった。結合がみられたイミダゾリン 1 及び 2 受容体、ムスカリン 3 及び 4 受容体、並びにシグマ 1 及び 2 受容体については、in vitro 機能評価試験で臨床の最高血漿中非結合型濃度付近で作用

＊新薬情報提供時に置き換えた。

がみられなかったこと、及び／又は in vivo 試験において当該受容体に関連した影響が認められなかったことから、サフィナミド、NW-1153、NW-1689、NW-1689AG 及び　類縁物質A*　が標的以外の受容体等に作用して生体に重篤な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

＊新薬情報提供時に置き換えた。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析方法

動物（マウス、ラット、ウサギ及びサル）の生体試料中のサフィナミドの定量は、高速液体クロマトグラフィーと蛍光検出（HPLC/FL）、又は液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（LC-MS/MS）法を組み合わせた手法により、さらにヒトでの主要代謝物である NW-1153 及び NW-1689 の定量は、LC-MS/MS により行った。

2.4.3.2 吸収

サフィナミドメシル酸塩、単回投与時の薬物動態パラメータを表 2.4-5に示す。

表 2.4-5 サフィナミドメシル酸塩、単回投与時の薬物動態パラメータ

動物種	ラット（Sprague-Dawley）		ラット（Wistar）						カニクイザル（Cynomolgus）	
試験番号	METPK-190-96		DMPK-09-08						METPK-193-96	
投与経路	静脈内	経口	静脈内		腹腔内		経口		静脈内	経口
投与量（mg/kg）[a]	6.6 (5)	13.2 (10)	1 (0.76)		4 (3)		4 (3)		6.6 (5)	13.2 (10)
性別	雄	雄	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雄
C_{max} (μg/mL)	1.76 ± 1.36[b]	1.65 ± 0.75	0.31[c]	0.36[c]	0.7	0.89	0.24	0.29	3.85 ± 0.82[b]	2.87 ± 0.30
t_{max} (h)	0.03	0.72 ± 0.39	0.1	0.1	0.1	0.1	0.25	0.25	0.08	1.67 ± 0.58
$AUC_{0-\infty}$ (μg·hr/mL)	1.79 ± 0.17	3.28 ± 0.34	0.27	0.45	0.54	1.38	0.50	1.16	11.5 ± 2.4	18.6 ± 5.7
$t_{1/2}$ (h)	1.7 ± 0.4	1.3 ± 0.1	1.3	1.7	1.5	1.6	2.0	3.2	12.7 ± 2.1	10.9 ± 1.6
CL (L/hr/kg)	2.8±0.3	-	2.8	1.7	-	-	-	-	0.44±0.08	-
V_{ss} (L/kg)	4.8 ± 2.0	-	3.4	2.9	-	-	-	-	2.4 ± 0.1	-
F (%)	-	92	-	-	50	77	43	54	-	80

a: サフィナミドメシル酸塩としての投与量、（）内はサフィナミドとしての投与量
b: 最初の測定時点
c: C_0（外挿値）

Spragure Dawley ラット及びカニクイザルにおいてサフィナミドメシル酸塩の吸収は速やかで（t_{max} は 1～2 時間）、生物学的利用率は高かった（ラット 92%、サル 80%）。いずれの動物種においても、サフィナミドの曝露量は用量比を上回って増加する傾向を示し、反復投与による蓄積比は最大で約 2 倍であった。

2.4.3.3 分布

ラット及びサルにおけるサフィナミドの分布容積が大きい（約 2～5 L/kg）ことから、血管外に広く分布することが考えられる。マウス、ラット及びサルにおいてサフィナミドは脳の広い範囲に速やかに到達することが示されており、脳／血漿比（AUC 比）は 9～16 の範囲であった。

^{14}C-サフィナミドメシル酸塩をラットに静脈内投与又は経口投与した後、メラニン含有組織である眼、涙腺、褐色脂肪、皮膚等の有色部位に高い放射能が認められたが、時間の経過によって消失したため、サフィナミド又は代謝物はメラニンと結合するものの、その結合は可逆的であると推測された。^{14}C-サフィナミドメシル酸塩を有色素ラット（Lister Hooded）に静脈内投与した定量的分布試験で、非有色皮膚よりも有色皮膚で 3 倍高い放射能が検出されたことから、^{14}C-サフィナミド由来物質のメラニンへの結合が示された。また、眼でのメラニン結合は可逆的であった（$t_{1/2}$ は約 65 時間）。一方、脳及び精巣で高い放射能が検出されたことから血液脳関門、及び血液精巣関門を通過することが示された。

げっ歯類特異的と推察されるサフィナミドの網膜変性に代謝物が関与している可能性を明らかにするため、有色素ラット及びアルビノラットに ^{14}C-サフィナミドメシル酸塩を低用量と高用量で単回及び反復投与し、^{14}C-サフィナミド及び代謝物の分布を、特に眼に注目して検討した。その結果、アルビノラットと比べて有色素ラットの眼において高い放射能が認められた。両系統の血中での主要代謝物である NW-1689 は、アルビノラットの網膜でのみ認められたが、網膜変性は有色素ラット及びアルビノラットの両方に認められたため、NW-1689 が網膜変性への関与は不明である。

サフィナミドの血漿蛋白結合率は、濃度に依存せず、また動物種（マウス、ラット、イヌ、サル）及びヒト間で種差はみられなかった（約 90%）。サフィナミドの主要代謝物の一つである NW-1689 の蛋白結合率はこれら 4 つの動物種及びヒトで非常に高く、98%以上であった。精製ヒト血漿蛋白質を用いた検討から、サフィナミド及び NW-1689 が血漿中で主に結合している蛋白質はヒト血清アルブミンであることが示された。

サフィナミド、NW-1153 及び NW-1689 の血球移行を、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトの血液を用いて検討したところ、サフィナミド及び NW-1153 の赤血球／血漿濃度比（$R_{BC/P}$）は、マウスで約 2、ラット、ウサギ及びイヌで約 1、サル及びヒトで約 0.5 であった。また、NW-1689 の $R_{BC/P}$ は、いずれの動物及びヒトでも 0.1 未満であった。

2.4.3.4 代謝

サフィナミドの推定代謝経路を図 2.4-5に示す。

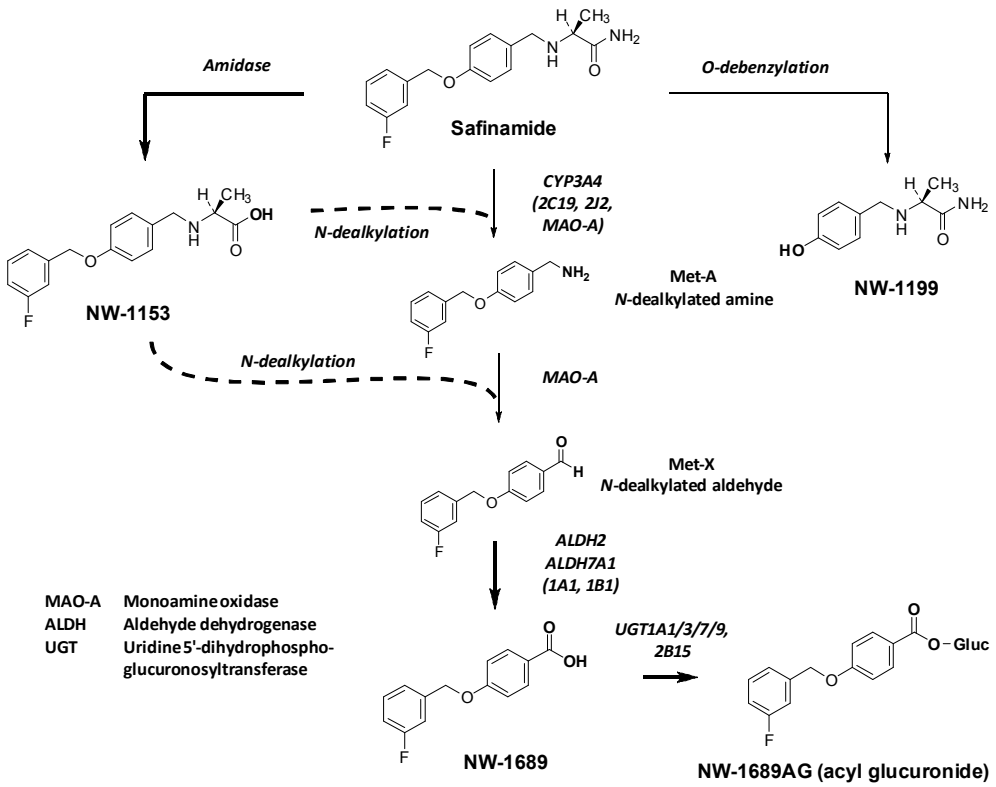


図 2.4-5 サフィナミドのヒトでの推定代謝経路

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞を用いた in vitro 試験で、共通の主要代謝物として、アミド基の加水分解により生じた NW-1153 と酸化的 *N*-脱アルキル化により生じた NW-1689 の 2 つが認められた。NW-1689 は一部グルクロン酸と *O* 型抱合体を形成して NW-1689AG となった。また、サフィナミドが *O*-脱ベンジル化されて生成する NW-1199 も認められた。

表 2.4-6 ヒト及び各動物種で認められた代謝物：In vitro と In vivo の比較

動物種	NW-1153	NW-1689	NW-1689AG	NW-1199
	in vitro / in vivo[c]			
ヒト[a]	+++ / ++	+ / +++	+++ / +	+ / +
マウス[b]	+++ / +	+++ / +++	- / -	- / +++ (G)
ラット[b]	+++ / +	+++ / +++	- / +	- / +
イヌ[b]	+++ / +	- / +++	- / +++	- / -
サル[b]	+++ / +	+++ / +++	- / +	- / +

-：形成されず
(G)：グルクロニド抱合体として存在（肝細胞インキュベーション）
血漿中の代謝物の相対量を少量の場合は+で、多い場合は+++で示す
a：肝細胞初代培養（24 時間以下のインキュベーション）で得た in vitro データ
b：初代肝細胞浮遊液（4 時間以下のインキュベーション）で得た in vitro データ
c：血漿中濃度（ヒトは【2.7.2 p.33「血漿中、尿中及び糞中代謝物の同定」】より引用）

2.4.3.4.1 In vitro における検討

サフィナミドをヒト肝細胞中でインキュベートしたところ、NW-1153 及び NW-1689 が生成したが、NW-1153 の生成はエステラーゼ阻害剤（Phenylmethylsulfonyl fluoride; PMSF）／アミダーゼ阻害剤

（Bis-*p*-nitrophenyl phosphate; BNPP）を添加することにより完全に阻害された。したがって、サフィナミドから NW-1153 の生成は、非特異的な細胞質アミダーゼによって触媒されると考えられた。そこで、サフィナミドを NW-1153 に代謝するアミダーゼの特定を試みた結果、ヒト脂肪酸アミド加水分解酵素（Fatty acid amide hydrolase; FAAH）が、関与する可能性のある酵素の 1 つとして特定された。一方、ヒトカルボキシルエステラーゼ (hCE)-1 及び hCE-2 はサフィナミドを代謝しなかった。NW-1153 の生成には、FAAH、hCE-1 及び hCE-2 以外のアミダーゼも関与していると考えられた。NW-1153 の生成に主に関与するアミダーゼの種類は特定できなかったが、一般的にアミダーゼは高い酵素活性を有しているため、薬物動態学的相互作用によってアミダーゼの酵素活性がサフィナミドの薬物動態に影響を与えるほど阻害される可能性は低いと考えられた。

NW-1153 を単回経口投与したラットの血漿中から NW-1689 が認められたこと、及びヒト肝細胞を用いた in vitro 実験系において、NW-1153 から NW-1689 となる経路が確認されたことから、サフィナミドが NW-1153 を経て NW-1689 に代謝される経路が存在する可能性が考えられた。しかしながら、NW-1153 を NW-1689 へ代謝する酵素を同定することはできなかった。

一方、サフィナミドが NW-1153 を経ずに NW-1689 に代謝される経路に関しては、以下のように推定された。

ヒト肝ミクロソーム（アミダーゼ及び ALDH を含まない）中でのサフィナミドの代謝反応はケトコナゾールにより 94%阻害されたことから、CYP3A4/5 がサフィナミドから NW-1689 へ代謝される過程に関与していると推定された。また、ヒト肝細胞中でサフィナミドを代謝させる系に、MAO-A 阻害剤を添加すると *N*-脱アルキル化アミン（Met-A）が検出されたことから、Met-A が中間代謝物と考えられた。

Met-A を基質とし、ヒト肝ミクロソーム、又は発現系 MAO-A 中でインキュベートすると Met-X 及び NW-1689 が生成するが、その系に MAO-A 阻害剤（クロルジリン）を添加すると、NW-1689 の生成が完全に阻害されることから、Met-A の Met-X への代謝には MAO-A が関与していると考えられた。更に、Met-X を基質とし、各種の ALDH 分子種（ALDH1A1、ALDH1B1、ALDH2、ALDH7A1）と反応させたところ、いずれの場合も NW-1689 が生成した。したがって、NW-1689 の生成には複数の ALDH 分子種が関与するので、これらの ALDH 分子種の 1 つが薬物動態学的相互作用により阻害されたとしても、サフィナミドの薬物動態に対して臨床的に問題となる影響は及ぼさないと考えられた。

NW-1689 から NW-1689AG への代謝に関しては、UGT 遺伝子導入 Supersomes™を用いた検討により、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A7、UGT1A9 及び UGT2B15 が関与していることが明らかとなった。アシルグルクロン酸抱合体である NW-1689AG の蛋白質に対する反応性を in vitro で検討したところ、低～中程度であると分類された[10)]。

2.4.3.4.2 In vivo における検討

雌雄マウス、雌雄ラット、雌性イヌ、雌雄サル、及び男性被験者に ^{14}C-サフィナミドメシル酸塩を単回経口投与して、血漿、尿及び糞中の in vivo 代謝物パターンについて検討した。サフィナミド及びその代謝物の血漿中 AUC、尿中又は糞中への排泄量を種間で比較した。

被験者に ^{14}C-サフィナミドメシル酸塩を 400 mg 単回投与したところ、ヒト血漿中での主な放射活性成分はサフィナミド（総放射能の AUC の約 30%）及び NW-1689（約 30%）であった。その他の血中代謝物は NW-1199（約 2%）と NW-1153（約 1%）であった。また、ケトコナゾール薬物相互作用試験で、NW-1689AG は AUC が 2.4 μg·h/mL の血中主要代謝物として確認された。

尿中ではサフィナミド（投与量の約 5%）の他に、NW-1153（約 14%）、NW-1199（約 8%）及び NW-1689AG（約 12%）が認められた。

ラット及びサルに ^{14}C-サフィナミドメシル酸塩（13.2 mg/kg）を単回経口投与したところ、サフィナミドの血漿中濃度は総放射能濃度よりもはるかに低かった（$AUC_{サフィナミド}/AUC_{TR}$は、ラットで約0.01［t=0～168 時間］、サルで約 0.09［t=0～24 時間］）。すなわち、両動物種でサフィナミドの大部分が全身で生体内変換を受けた。ラットでは、血漿中 NW-1689AG 濃度は加水分解法を適用できないほど低かったが、サルでの NW-1689AG の曝露量はサフィナミドの約 10%であった。

以上の結果から、サフィナミドの消失は、ほぼ完全に代謝に基づくことが明らかとなった。ヒトでの主な代謝経路も、検討した動物種の主要経路と同じであり、ヒトのみにみられた代謝物は存在しなかった。ヒトと動物間での in vivo 代謝の違いは、量的なもののみであった。

2.4.3.5 排泄

サフィナミドは、ほぼ完全に代謝された後、代謝物として主に尿中に排泄され、糞への排泄はヒトを含む全種で極めて低かった。検討したほぼ全種（ラット、イヌ及びサル）で 96～240 時間後も放射能の排泄率は 70～97%であった。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

2.4.3.6.1 酵素阻害

ヒト肝ミクロソーム中で、サフィナミドは CYP1A2 を競合的（IC_{50}=47.7 μM; K_i=54 μM）に阻害すると同時に、時間依存的阻害（Time dependent inhibition; TDI: K_i=33.5 μM、K_{inact}=0.075 min^{-1}）もみられた。ヒトでの肝臓における曝露濃度（100 mg/日、1 日 1 回反復投与での定常状態における肝細胞中最高濃度の仮定値：0.66 μM×50=33 μM）を考慮すると、サフィナミドが CYP1A2 を直接阻害する可能性は否定しきれないが、その他の分子種を阻害する可能性は低いと考えられた。

また、ヒト肝ミクロソームを用いて、NW-1689AG が CYP2C8 に対する阻害作用を有するか検討したところ、直接阻害の IC_{50} 値>30 μM であった。また、TDI 又は代謝依存的阻害については僅かにみられたか、又はみられなかった。

以上のように、サフィナミドは CYP1A2 を阻害する可能性が示唆されたことから、臨床薬物動態学的相互作用試験を実施したところ、臨床的に問題となる影響は及ぼさないと考えられた。

2.4.3.6.2 酵素誘導

ヒト肝細胞を用いた in vitro 試験において、CYP1A2、CYP2B6（サフィナミド濃度：1～80 μM の 8 水準）及び CYP 2C9、CYP 3A4/5（サフィナミド濃度：3、30 及び 100 μM）の誘導の有無について検討した。

サフィナミドはCYP1A2活性を15～80 μMにおいて媒体対照の2～4倍に増加させ（ドナー2名中2名）、CYP1A2 mRNA量も1～80 μMにおいて媒体対照の2～40倍に増加させた（ドナー2名中2名）。サフィナミドはCYP1A2活性を阻害するので、上記のCYP1A2活性の増加は阻害によって相殺されたものと考えると、サフィナミドはCYP1A2の誘導剤となる可能性が考えられた。一方、サフィナミドはCYP2B6活性を30～60 μMにおいて媒体対照の2～4倍に増加させ（ドナー2名中1名）、CYP2B6 mRNA量も15～80 μMで媒体対照の2～5倍に増加させた（ドナー2名中2名）。また、CYP2B6のmRNA発現誘導のEC_{50}及びE_{max}がそれぞれ71.35 μmol/L及び4.92であったことから、サフィナミドはCYP2B6の誘導を引き起こす可能性があると考えられた。更にサフィナミドによるCYP2C9活性の増加は3～100 μMで2倍未満、CYP3A4/5活性は30 μM以上で2倍以上に増加したことから、サフィナミドはCYP2C9を誘導する可能性は小さいが、CYP3A4/5を誘導する可能性はあると考えられた。

サフィナミドによる UGT1A1 活性又は mRNA 発現の濃度依存的増強、及び著明な増強はみられなかった。SULT2A1 活性が 1.8 倍超に増強することはなく、mRNA 発現は 1 名のドナーに由来する肝細胞において約 2 倍に増加したにとどまり、どちらにも濃度依存性はみられなかった。活性への濃度依存的影響はなく、活性増強も最小限であったことから、サフィナミドは SULT2A1 の臨床的に重要な誘導剤とはならないと考えられた。

以上のように、サフィナミドは CYP1A2 及び CYP3A4/5 を誘導する可能性が示唆されたことから、各種の臨床薬物動態学的相互作用試験を実施したところ、臨床的に問題となる影響は及ぼさないと考えられた。

2.4.3.6.3 薬物トランスポーターに対する基質となる可能性

サフィナミドは膜透過性が高く、Caco-2 細胞で発現している P 糖蛋白質（P-gp）や乳癌耐性蛋白質（BCRP）といったトランスポーターの基質ではないと考えられた。また、サフィナミドは肝臓取り込みトランスポーターである有機アニオン輸送ポリペプチド（Organic anion transporting polypeptide：OATP）1B1 及び OATP1B3、並びに、血液脳関門での取り込みトランスポーターである OATP1A2 及び OATP2B1 の基質ではないと考えられた。

2.4.3.6.4 薬物トランスポーターに対する阻害

Caco-2 細胞で、サフィナミド 100 mg を経口投与後の消化管における予測最大濃度である 1,323 μM（100 mg/250 mL）近辺の濃度（1,000 μM）でも、サフィナミドは P-gp を阻害しなかった。同様に、代謝物である NW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG も P-gp を阻害しなかった。したがって、サフィナミド及びその主要代謝物の P-gp に関連する臨床的に問題となる薬物動態学的相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

サフィナミドは BCRP を介した PhIP 輸送を濃度依存的に低下させ、IC_{50} 値は 43 ± 23 μM であった。サフィナミド 100 mg を経口投与後の消化管における予測最大濃度は 1,323 μM（100 mg/250 mL）であるため、サフィナミドは消化管における BCRP を阻害する可能性があると考えられた。一方、NW-1689 は BCRP を 3.7 ± 0.5 μM の IC_{50} 値で阻害したが、サフィナミドのその他の代謝物は BCRP への阻害作用を示さなかった。

サフィナミド及びその代謝物は、OATP1B1、OATP1B3 及び BSEP に対して阻害能は認められなかった。

OAT1、OAT3 及び OAT4 については、サフィナミド（50 μM）及び NW-1689AG（30 μM）が OAT3 に対して 27～39%の阻害を示したが、その他に関しては 20% 未満の阻害しか認められなかった。ヒトにサフィナミドメシル酸塩を、サフィナミドとして 100 mg、1 日 1 回、7 日間反復経口投与したときのサフィナミド及び NW-1689AG の血漿中非結合型濃度の C_{max} は、それぞれ 0.66 μM 及び 0.02 μM であり、上記の in vitro 試験における添加濃度のそれぞれ 1/76 及び 1/1500 であったため、この in vitro 阻害は臨床上重要でないと考えられた。

サフィナミドは OCT2 を阻害し、IC_{50} 値は約 130 ± 20 μM であった。サフィナミドの臨床における最大血漿中非結合型濃度（0.66 μM）を考慮すると、サフィナミドの OCT2 阻害の臨床上の重要性は小さいと考えられた。

以上のように、サフィナミド及びその代謝物が BCRP を阻害する可能性が示唆されたため、臨床薬物動態学的相互作用試験を実施したところ、サフィナミドは BCRP を弱く阻害したが、臨床的に問題となる影響は及ぼさないと考えられた。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性

サフィナミドを単回経口投与又は静脈内投与したときの毒性をラットを用いて検討した。その結果、経口投与における最小致死量は雄で 1500 mg/kg、雌で 1000 mg/kg、また、静脈内投与における最小致死量は雄で 40 mg/kg、雌で 25 mg/kg であった。一般症状観察では、いずれの投与経路においてもすべてのサフィナミド投与群で、呼吸困難、自発運動低下、不安定歩行等がみられた。

非げっ歯類を用いた単回投与毒性試験は実施しなかったが、サルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び静脈内投与用量漸増試験の結果からサフィナミドの急性毒性を考察した。4 週間反復経口投与毒性試験は 2 試験（50、100 及び 200 mg/kg/日、並びに 20、40、80 及び 120 mg/kg/日）を実施しており、80、100 及び 120 mg/kg/日群では投与 11～14 日目に、200 mg/kg/日群では投与初日から死亡がみられた。一般状態観察では、80 mg/kg/日以上の群では、投与初日から不安定歩行、平衡感覚の消失等がみられ、80 mg/kg/日以上の群では痙攣もみられた。一方、静脈内投与用量漸増試験では最高用量の 50 mg/kg まで死亡はみられなかった。一般状態観察では、50 mg/kg を投与した約 5 分後に著しい協調運動障害、頻呼吸及び散瞳がみられた。

2.4.4.2 反復投与毒性（サフィナミド単独）

サフィナミドの反復経口投与による毒性を、ラットを用いた 4 週間、13 週間、及び 26 週間反復経口投与、並びにサルを用いた 4 週間、13 週間及び 26/39 週間反復経口投与により評価した。試験一覧を表 2.4-7に示す。

表 2.4-7 反復投与毒性試験一覧

動物種	投与期間	投与経路	投与量（mg/kg/日）
ラット	4 週間+4 週間回復期間	経口	0, 20, 60, 100, 500
	13 週間+4 週間回復期間	経口	0, 15, 30, 80
	26 週間+8 週間回復期間	経口	0, 5, 15, 45
	26 週間+6 週間回復期間	経口	0, 60, 120, 180
サル	4 週間+2 週間回復期間	経口	0, 20, 40, 80, 120
	13 週間+6 週間回復期間	経口	0, 10, 20, 50
	39 週間+ 8 週間回復期間	経口	0, 3.2, 8, 20
	26/39 週間+8 週間回復期間	経口	0, 30, 50, 70

2.4.4.2.1 ラット

サフィナミドの 4 週間反復経口投与毒性試験（20、60、100 及び 500 mg/kg/日）では、500 mg/kg/日群に中枢神経毒性に起因すると考えられる死亡及び瀕死がみられた。同群では、自発運動の低下、不安定歩行及び呼吸困難がみられ、体重増加量及び摂餌量が減少した。死亡例及び安楽殺例の病理組織学的検査では、副腎皮質に過形成、肺及び腸間膜リンパ節に泡沫状マクロファージの浸潤等がみられた。副腎皮質の過形成は 100 mg/kg/日群の雌にもみられた。60 及び 100 mg/kg/日群では病理組織学的検査において肝細胞の脂肪性変性がみられ、雌では肝臓重量の増加もみられた。血液生化学検査では、20、60 及び 100 mg/kg/日群の雌にトリグリセリドの増加がみられ、60 及び 100 mg/kg/日群では ALP の上昇、100 mg/kg/日群では ALT の上昇もみられた。これらの変化は、肺における泡沫状マクロファージの浸潤を除き休薬により回復した。したがって、60 mg/kg/日群で肝臓に病理変化がみられたことから、無毒性量は 20 mg/kg/日と判断した。

13 週間反復経口投与毒性試験（15、30 及び 80 mg/kg/日）では、80 mg/kg/日群の雌に副腎の絶対重量の増加がみられた。30 mg/kg/日群の雄及び 80 mg/kg/日群の雌雄では、肝臓の絶対及び相対重量が増加し、ALP の上昇、総コレステロールの増加、トリグリセリドの増加、及び／又はグルコースの減少がみられたが、病理組織学的検査において変化はみられなかった。これらの変化はいずれも休薬により回復又は回復傾向を示した。その他に、15 mg/kg/日群の雄を除くすべてのサフィナミド投与群に網膜萎縮がみられた。したがって、15 mg/kg/日以上の群で認められた網膜萎縮に基づき、無毒性量は 15 mg/kg/日未満と判断した。なお、げっ歯類に特異的な変化と考えられる網膜萎縮を除いた場合の NOAEL は 80 mg/kg/日である。

26 週間反復経口投与毒性試験 2 試験（5、15 及び 45 mg/kg/日、並びに 60、120 及び 180 mg/kg/日）では、180 mg/kg/日群に自発活動の低下及び立毛がみられ、体重の増加抑制もみられた。病理組織学的検査では、60、120 及び 180 mg/kg/日群において肺胞に泡沫状マクロファージの浸潤巣が用量依存的にみられ、電子顕微鏡検査を実施したところ、肺胞マクロファージの細胞質に同心円状のミエリン様封入体がみられ、リン脂質代謝異常が示唆された。120 mg/kg/日以上の群では、副腎の腫大及び重量増加がみられ、病理組織学的検査では皮質束状帯の肥大がみられた。また、60 mg/kg/日以上の雌雄群で肝臓の相対重量が増加し、60 mg/kg/日群の雄及び 120 mg/kg/日以上の群の雌雄に小葉中心性の肝細胞肥大がみられたが、肝薬物代謝酵素誘導に伴う二次的な変化と考えられた。これらの変化はいずれも休薬により回復又は回復傾向を示した。その他に、眼科学的検査で 60 mg/kg/日以上の群に眼底の血管新生がみられ、病理組織学的検査では 45 mg/kg/日以上の群にびまん性の網膜萎縮がみられた。したがって、45 mg/kg/日以上の群で認められた網膜萎縮に基づき無毒性量は 15 mg/kg/日と判断した。なお、げっ歯類に特異的な変化と考えられる網膜萎縮を除いた場合の NOAEL は、60 mg/kg/日以上の群で肺胞に泡沫状マクロファージの浸潤巣が認められたことから、45 mg/kg/日である。

2.4.4.2.2 サル

4 週間反復経口投与毒性試験（20、40、80 及び 120 mg/kg/日）では、80 及び 120 mg/kg/日群に死亡がみられ、死因は中枢神経毒性に起因すると考えられた。同群では、生存例も含めて痙攣及び平衡感覚の消失等がみられ、死亡例では痙攣もみられた。40 mg/kg/日以上の群で副腎皮質の過形成がみられ、120 mg/kg/日群では副腎重量が増加した。80 及び 120 mg/kg/日群では雄で ACTH 濃度が増加し、雌ではコルチゾール濃度が減少したが、障害性の組織変化はみられなかった。80 及び 120 mg/kg/日群では、病理組織学的検査において腎尿細管の拡張がみられ、雌では軽微な好塩基性変化がみられた。80 mg/kg/日群の雄及び 120 mg/kg/日群の雌雄では BUN 及びクレアチニンの増加もみられた。死亡例のリンパ節、脾臓及び胸腺、並びに 120 mg/kg/日群の生存した雌 1 匹の胸腺に泡沫状マクロファージの浸潤が観察された。これらの変化はいずれも休薬により回復又は回復傾向を示した。したがって、80 mg/kg/日で痙攣、泡沫状マクロファージの浸潤、腎尿細管の拡張、並びに死亡がみられたことから、無毒性量は 40 mg/kg/日と判断した。

13 週間反復経口投与毒性試験（10、20 及び 50 mg/kg/日）では、50 mg/kg/日群の 1/6 例を一般状態の悪化により安楽死させた。同個体では摂餌量及び体重の減少がみられ、剖検及び病理組織学的検査では胃粘膜に糜爛がみられ、この変化が一般状態悪化の原因と考えられた。胃粘膜の糜爛は、20 及び 50 mg/kg/日群の生存例でも 1～2 例にみられたが、より長期かつより高用量を用いた試験（30、50 及び 70 mg/kg/日での 39 週間反復投与試験）において、同様の所見はみられなかったことから、本試験でみられた胃粘膜糜爛はサフィナミドによる毒性影響ではないと考えられた。20 及び 50 mg/kg/日群では、副腎の絶対及び相対重量が増加したが、病理組織学的検査において変化はみられなかった。

これらの変化はいずれも休薬により回復又は回復傾向を示した。したがって、50 mg/kg/日で一般状態の悪化により安楽死がみられたため、無毒性量は 20 mg/kg/日と判断した。

26/39 週間反復経口投与毒性試験（30、50 及び 70 mg/kg/日）では、70 mg/kg/日群の雌 1/10 例が平衡感覚の消失、間代性筋攣縮及び散瞳等の中枢神経系症状を重度に示した後に死亡した。病理学的検査において標的臓器を示す変化は確認されず、死因は中枢神経毒性に起因すると考えられた。
70 mg/kg/日群では生存例においても間代性筋攣縮、振戦、協調運動の異常等がみられ、さらに少数例に横臥位、腹臥位、筋緊張の低下等がみられた。また、同群では嘔吐、軟便及び水様便がみられ、体重の増加抑制もみられた。これらの変化はいずれも休薬により回復した。したがって、70 mg/kg/日で中枢神経系症状及び死亡がみられたため、無毒性量は 50 mg/kg/日と判断した。

表 2.4-8 重要な反復経口投与毒性試験における無毒性量及びその基となる毒性所見、並びにヒトにおけるサフィナミドの定常状態の $AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} に対する全身的曝露量の比

動物種／系統	投与期間	無毒性量 (mg/kg/日)	無毒性量の基となる毒性所見	ヒトの全身的曝露量との比			
				$AUC_{0\text{-}24h}$		C_{max}	
				雄	雌	雄	雌
ラット／SD	4 週間	20	60 mg/kg/日：びまん性の肝細胞の脂肪性変性	0.13	0.41	0.62	1.28
	13 週間	<15 (80 a))	15 mg/kg/日：網膜萎縮 (— a))	<0.07 (1.60 a))	<0.10 (1.85 a))	<0.37 (2.52 a))	<0.39 (2.01 a))
	26 週間	15 (45 a))	45 mg/kg/日：網膜萎縮（60 mg/kg/日：肺胞の泡沫状マクロファージ浸潤巣 a))	0.08 (0.65 a))	0.21 (1.09 a))	0.30 (1.39 a))	0.57 (2.38 a))
サル／カニクイ	4 週間	40	80 mg/kg/日：死亡、中枢神経症状（痙攣等）、泡沫状マクロファージ浸潤巣（リンパ節、胸腺、脾臓）	5.13	6.19	5.71	7.22
	13 週間	20	50 mg/kg/日：死亡（一般状態悪化による安楽死）、中枢神経症状	1.42	1.37	4.01	3.10
	26/39 週間	50	70 mg/kg/日：死亡、中枢神経症状	6.57	4.55	9.06	7.48

－：最高用量群で所見なし、SD：Sprague Dawley
a)：げっ歯類に特異的な変化と考えられる網膜萎縮を除いた場合
全身曝露量の比の計算に用いたヒトの $AUC_{0\text{-}24h}$ はサフィナミド 100 mg/日を 7 日間投与したヒトにおける $AUC_{0\text{-}24h}$（28.8μg·hr/mL）及び C_{max}（1.82 μg/mL）に基づく（【2.7.2.2.1.1.1】ME2125-1 試験）

2.4.4.3 反復投与毒性（レボドパ／カルビドパ又はプラミペキソール併用）

サフィナミドの毒性に対するレボドパ／カルビドパ併用の影響を検討するため、ラット及びサルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験で評価した。また、サフィナミドの毒性に対するプラミペキソール併用の影響を検討するため、ラット及びサルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験で評価した。

2.4.4.3.1 レボドパ／カルビドパ併用

ラットにサフィナミド（25、75 及び 125 mg/kg/日）とレボドパ／カルビドパ（80/20 mg/kg/日）を併用投与した 13 週間反復経口投与毒性試験では、サフィナミド単独群で血小板の減少、総コレステロールの減少、ALT、BUN 及びアルブミン/グロブリン比の上昇等がみられた。総コレステロール及

びアルブミン／グロブリン比は、レボドパ／カルビドパとの併用により僅かな増強がみられた。その他の検査において、併用投与群と単独投与群の間に差はみられなかった。

サルにサフィナミド（20 及び 50 mg/kg/日）とレボドパ／カルビドパ（第 1～14 日：80/20 mg/kg/日、第 15 日以降：40/10 mg/kg/日）を併用投与した 13 週間併用投与試験では、サフィナミド投与による摂餌量の減少、心拍数の減少及び洞性徐脈、レボドパ／カルビドパ投与による異常行動がみられたが、いずれの変化についても併用投与による増強はみられなかった。

以上の結果から、ラット及びサルのいずれにおいても、サフィナミドとレボドパ／カルビドパの併用により新たな毒性は発現しないと考えられた。

2.4.4.3.2 プラミペキソール併用

有色素ラット及びアルビノラットにサフィナミド（5、15、50 mg/kg/日）をプラミペキソール 25 mg/kg/日と併用投与した 13 週間反復経口投与毒性試験では、サフィナミドの有無に関わらずプラミペキソールを投与した群に体重増加抑制がみられた。サフィナミド 50 mg/kg/日単独投与でみられた副腎の皮質肥大及び重量増加並びに肺の泡沫状マクロファージ集簇巣は、プラミペキソールの併用により増強された。また、アルビノラットではサフィナミド 50 mg/kg/日単独群でみられた外顆粒層の核の減少及び視細胞層の萎縮は、プラミペキソールとの併用により増強傾向がみられた。同様の眼の変化は、有色素ラットにおけるサフィナミド単独群ではみられずサフィナミド／プラミペキソール 50/25 mg/kg/日併用群でのみみられた。

サルにサフィナミド／プラミペキソールを併用投与（10/0.4、10/2 及び 50/2 mg/kg/日）した 13 週間反復経口投与毒性試験では、サフィナミド 50 mg/kg/日単独投与により嘔吐及び一過性の体重減少がみられ、プラミペキソール 2 mg/kg/日単独投与では消耗性の反復行動（常同運動）／昇降動作（不穏）がみられた。これらの変化はいずれもサフィナミド／プラミペキソール 50/2 mg/kg/日の併用投与においてもみられたが、単独投与による変化と同程度であった。

以上の結果から、ラット及びサルのいずれにおいても、サフィナミドとプラミペキソールの併用により新たな毒性は発現しないと考えられた。

2.4.4.4 遺伝毒性

サフィナミドは細菌（*S. typhimurium* 及び *E. coli*）を用いた復帰突然変異試験及び L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験において変異原性を示さなかった。また、サフィナミドはラット肝細胞を用いた in vitro 不定期 DNA 合成試験において DNA 損傷誘発能を示さなかった。

マウスを用いた骨髄小核試験では、サフィナミドを 0、250、500 及び 1000 mg/kg の用量でマウスに単回経口投与した。500 mg/kg 以上の群では活動性低下、運動失調、眼瞼下垂、円背位、振戦、嗜眠が観察され、1000 mg/kg 群では死亡がみられた（雌 3/10 例、雄 4/10 例）。本試験のトキシコキネティクスデータは得られていないが、これらの一般状態変化及び死亡からサフィナミドの全身曝露が確認された。小核誘発性については、致死量である 1000 mg/kg/日の 48 時間処置群において小核を有する幼若赤血球（PCE）数の軽度な増加がみられた。一方、同用量の 24 時間処置群では小核を有する PCE 数の増加はみられなかったことから追加試験（48 時間処置群のみ）を実施した。追加試験において、サフィナミド（1000 mg/kg）投与群と対照群間で小核を有する PCE 数に有意な差はみられなかった。サフィナミドを 1000 mg/kg の用量で単回経口投与したところ、小核を有する PCE 数の増加に再現性がみられなかったことから生物学的意義のある変化ではないと考えられた。

以上の結果より、サフィナミドは遺伝毒性を示さないと考えられた。

2.4.4.5 がん原性

CD-1 マウスにサフィナミド（50、100 及び 200 mg/kg/日）を 104 週間反復経口投与した結果、いずれのサフィナミド投与群においても腫瘍性病変の増加はみられなかった。また、Sprague Dawley ラットにサフィナミド（25、50 及び 100 mg/kg/日）を 104 週間反復経口投与した結果においてもサフィナミド投与による腫瘍性病変の増加はみられなかった。以上のように、マウス及びラットを用いたがん原性試験においてサフィナミドはがん原性を示さなかった。

2.4.4.6 生殖発生毒性（サフィナミド単独）

サフィナミドの生殖に及ぼす影響をラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、並びにラットを用いた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により検討した。重要な試験の無毒性量の一覧を表 2.4-9に示す。

表 2.4-9 重要な生殖発生毒性試験における無毒性量の一覧

試験種	動物種／系統	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	無毒性量 (mg/kg/日)
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	ラット／SD	雄：交配前 4 週から交配後 2 週まで 雌：交配前 2 週から妊娠 6 日まで	50、100、150	親動物の一般毒性：<50 親動物の生殖：150（雄） 100（雌） 次世代の発生：150
胚・胎児発生に関する試験	ラット／SD	妊娠 6 日から妊娠 15 日まで	50、100、150	母動物の一般毒性：50 母動物の生殖　：150 次世代の発生　：<50
	ウサギ／NZW	妊娠 6 日から妊娠 18 日まで	25、50、100	母動物の一般毒性：50 母動物の生殖　：100 次世代の発生　：100
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	ラット／SD	妊娠 6 日から哺育 20 日まで	4、12.5、37.5	母動物の一般毒性：37.5 次世代の発生　：12.5

SD: Sprague Dawley
NZW: New Zealand White

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生毒性試験において、親動物の一般毒性に関する無毒性量は、50 mg/kg/日で体重増加量の減少がみられたことから 50 mg/kg/日未満と判断した。親動物の生殖に対して、雄は 150 mg/kg/日でもサフィナミド投与の影響は認められなかったことから無毒性量は 150 mg/kg/日と判断したが、雌は 150 mg/kg/日で黄体数及び着床数の減少がみられたことから無毒性量は 100 mg/kg/日と判断した。次世代の発生に対してサフィナミド投与の影響は認められなかった。

ラットを用いた胚・胎児の発生毒性試験において、母動物の一般毒性に関する無毒性量は、100 mg/kg/日以上で体重減少がみられたことから 50 mg/kg/日と判断した。母動物の生殖に対するサフィナミド投与の影響は認められなかった。次世代の発生に対する無毒性量は、50 mg/kg/日以上で胎児に異所性精巣の発現例数の増加が認められたことから 50 mg/kg/日未満と判断した。100 及び 150 mg/kg/日群においては泌尿器系の異常（尿管拡張、屈曲尿管発現率の上昇）がみられた。また、100 mg/kg/日以上で極度の腎盂拡張が少数例でみられたことから催奇形性の可能性が示唆された。

ウサギを用いた胚・胎児の発生毒性試験において、母動物の一般毒性に関する無毒性量は、50 mg/kg/日で切迫殺例があることから 25 mg/kg/日と判断した。母動物の生殖及び次世代の発生に対するサフィナミド投与の影響は認められなかった。

ラットを用いた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において、母動物の一般毒性に関するサフィナミド投与の影響は認められなかった。次世代の発生に及ぼす影響に関する無毒性量は、37.5 mg/kg/日で出生児の死亡がみられたことから、12.5 mg/kg/日と判断した。なお、出生児の行動機能検査及び生殖能評価において毒性所見はみられなかった。また、剖検において皮膚及び頭蓋骨の黄色／橙色化がみられた。ラット出生児を用いたメカニズム検討の結果、肝胆道系の変性及び損傷に伴うビリルビンの血漿レベルの顕著な増加が要因であることが示唆された。一方、生存した出生児では、肝臓の変化は離乳時に完全に回復し、皮膚及び頭蓋骨の黄色／橙色化は回復傾向であった（21日目）。サフィナミドを母動物に授乳期間中のみ投与したところ、出生児（授乳 4 日目）の血漿中からサフィナミドが検出されたことから、サフィナミドは乳汁移行することが示唆された。

以上の結果から、サフィナミドは親動物の生殖能及び次世代の発生に影響を与え、催奇形性を示唆する所見もみられていることから、妊娠又は妊娠している可能性のある女性に対しては投与しないことが望ましい。また、乳汁移行性が示唆されていることから、授乳期の女性に対しては、本剤投与中は授乳を避けるべきであると考えられた。

2.4.4.7 生殖発生毒性（レボドパ／カルビドパ併用）

サフィナミドの毒性に対するレボドパ／カルビドパ併用の影響を検討するため、ラット及びウサギを用いた胚・胎児の発生毒性試験で評価した。

ラット胚・胎児の発生毒性試験では、サフィナミド（25、50 及び 100 mg/kg/日）とレボドパ／カルビドパ（80/20 mg/kg/日）との併用投与群で、それぞれの単独投与でみられた内臓異常及び骨格異常の発現増加が認められた。

ウサギ胚・胎児の発生毒性試験では、レボドパ／カルビドパ（80/20/mg/kg/日）単独投与群において重度の心血管異常の発現率が増加した。サフィナミド（4、12 及び 40 mg/kg/日）とレボドパ／カルビドパ（80/20/mg/kg/日）との全併用群においても同様の変化がみられ、心臓奇形及び胎児死亡率の増加もみられた。

以上の結果から、ラット及びウサギのいずれにおいても、サフィナミドとレボドパ／カルビドパの併用により新たな毒性は発現しなかったが、併用による増強がみられた。

2.4.4.8 その他の毒性試験

2.4.4.8.1 局所刺激性

サフィナミドをウサギに静脈内又は血管周囲に投与して局所刺激性を評価したところ、静脈内に投与した場合の忍容性は良好であった。一方、血管周囲へ投与した場合、血管周囲組織に対して軽度な刺激性がみられた。また、ウサギでの眼刺激性及び急性皮膚刺激性試験から、サフィナミドは眼に対して重度の刺激性を有するが、皮膚に対しては刺激性はないことが示された。

2.4.4.8.2 毒性発現の機序に関する試験

2.4.4.8.2.1 網膜変性

ラット反復毒性試験で網膜変性がみられたことから、サフィナミドの網膜への影響について、アルビノラット及び有色素ラットを用いて検討した。

1) 雄性 Sprague Dawley ラットにサフィナミド（0、150 mg/kg/日）を単回経口投与し、投与 1 時間後に網膜におけるドパミン、並びにその代謝物である 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸（DOPAC）及びホモバニリン酸（HVA）の濃度を測定した。その結果、サフィナミドは網膜におけるドパミン及びその代謝物（DOPAC 及び HVA）の濃度に影響を及ぼさなかったことから、ドパミン代謝産物により神経細胞へ有害作用が及ぶ可能性は低いと考えられた。
2) アルビノラット及び有色素ラットを用いた 13 週間反復経口投与の比較では、網膜中薬物濃度は有色素ラットにおいて高かったが、網膜変化は両系統のラットで発現し、13 週間の反復投与後の網膜変化に顕著な違いがみられなかったことから、メラニン結合は網膜変化に関連しないと考えられた。
3) アルビノラットを強光度と弱光度の環境下で飼育したところ、強光度飼育群で網膜変化の発生率及び程度が高かった。
4) レボドパ／カルビドパとの併用により網膜変性に変化はみられなかったが、げっ歯類で網膜変性を示すプラミペキソールとの併用によりわずかな悪化が認められた。
5) 有色素ラットにサフィナミド 125 mg/kg を反復経口投与した実験で、Azure II-Methylene blue-basic Fuchsin（AmbF）染色した準超薄網膜切片の光学顕微鏡観察では 3 日間以上の反復投与により視細胞及び外顆粒層の萎縮がみられた。同試験の電子顕微鏡観察においては単回投与 24 時間後から視細胞層内節のミエリン様構造変性及びミトコンドリアの空砲化がみられることが明らかとなり、反復投与により視細胞層外節、外顆粒層の萎縮、さらに網膜色素上皮における食細胞活性の上昇及び細胞質空胞変性が時間依存的にみられたことから、光学顕微鏡観察でみられた外顆粒層の萎縮は、視細胞層が重度に破壊された結果と考えられた。
6) 光学顕微鏡観察及び電子顕微鏡観察においてみられた形態的変化は、網膜電図（ERG）及び分光型光干渉断層撮影（SD-OCT）の結果と相関しており、機能的変化と相関した。有色素ラットに対するサフィナミド 125 mg/kg/日の投与により、1 回の投与後において ERG 振幅が減少し、2 及び 3 回目の投与後では桿体反応を示す ERG 頂点潜時の延長や錐体機能に影響がみられ、外顆粒層の萎縮を反映する機能低下が認められた。これらの変化は 14 日間の休薬期間後に完全に機能的及び構造的な回復が認められた。また、ブリーチング（白色光のフラッシュによる網膜の色素退色変化）の結果、ロドプシン再生の時間的経過から光受容体応答の回復遅延が示された。14 日間の休薬期間後に光受容体応答の回復遅延は完全に回復せず、視覚サイクルの減速、すなわち網膜色素上皮が関与する過程である退色後の視覚色素再生遅延を示している。

網膜変性の発現機序に関連してラットを用いて実施された種々の試験結果から、網膜変性の作用機序は特定されなかったが、光曝露による増強等の特徴が示された。サフィナミドの非臨床試験において、マウスでは寿命までの期間を通して投与しても網膜への影響は軽度である。また、サルでは高用量での 39 週間反復投与後の電子顕微鏡観察を含め、各試験において一貫して網膜に変化はみられず、レボドパ／カルビドパ及びプラミペキソールとの 13 週間併用投与においても網膜に変化はみられなかった。ラットでは加齢性変化としてびまん性の網膜変性を発現し、アルビノラットの網膜は光刺激に対して感受性が高く変性を起こしやすいとされている。したがって、サフィナミドの毒性試験でみられた網膜変化はげっ歯類に特異的であり、ラットで顕著にみられる変化であると考えられた。

以上の結果から、高用量での長期毒性試験を含む複数のサルを用いた毒性試験において、一貫して網膜変性がみられなかったこと、並びに臨床試験においてサフィナミドの投与による影響はみられなかったことから、サフィナミドの網膜変性はげっ歯類特異的な現象であり、患者に対して網膜変性のリスクを増加させないと考えられた。

2.4.4.8.3 依存性

ラットの身体依存性試験では、退薬症状を示唆する一般状態及び体重・摂餌量推移の変化はみられず、サフィナミドが身体依存性を示す可能性は低いと考えられた。

精神依存性を検討したサルの薬物自己投与試験では、明らかな強化効果は認められなかった。さらにラットにおける薬物弁別試験において、サフィナミドは *d*-アンフェタミン及びミダゾラムのいずれに対しても般化を示さなかった。以上の結果から、サフィナミドは精神依存性を示す可能性は低いと考えられた。

2.4.4.8.4 代謝物の毒性評価

サフィナミドのヒトにおける主な代謝経路は、毒性学的評価に用いた動物の主要経路と同じであり、非臨床試験において評価が必要な代謝物 NW-1689 はラット及びサルにおける曝露が確認された。NW-1689 はヒトにサフィナミドを 100 mg を 7 日間投与した際の $AUC_{0\text{-}24h}$（28.8 μg·hr/mL）と比較し、ラット 26 週間反復毒性試験（【2.6.6.3.5】）では 114 倍、ラット胚・胎児発生毒性試験（【2.6.6.6.4.1】）では約 61 倍、ラットがん原性試験（【2.6.6.5.5】）では約 124 倍の曝露が認められた。また、NW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG について、単回経口投与毒性試験（NW-1153 及び NW-1689）、細菌を用いる遺伝子突然変異試験（NW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG）、哺乳類細胞を用いる小核試験（NW-1689）を実施した。その結果、いずれも遺伝毒性を示さず、NW-1689 及び NW-1153 の最小致死量はサフィナミドより高かった。

以上、NW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG はサフィナミドの毒性試験に用いた 1 種類以上の動物種で曝露され、その安全性は適切に評価されていると考えられた。

2.4.4.8.5 不純物の毒性評価

[redacted]　類縁物質B*　（[redacted]）は細菌を用いる遺伝子突然変異試験にて変異原性を示したが、原薬中の含量は [redacted] ppb 以下であり、最大推奨臨床用量（MRHD）における摂取量は毒性学的懸念の閾値（Threshold of Toxicological Concern：TTC））である 1.5 μg/日を下回ることが確認されている。　類縁物質C*　（[redacted]）、　類縁物質A*　については細菌を用いる遺伝子突然変異試験及び哺乳類細胞を用いる in vitro 小核試験において遺伝毒性は認められなかった。また、　類縁物質A*　はラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験においてサフィナミドの毒性と比較評価した結果、サフィナミドと同様の毒性を示し、無毒性量は 100 mg/kg/日であった。

以上の結果から、不純物である類縁物質*、類縁物質C*、類縁物質D* 及び　類縁物質A*　は臨床使用において安全性に影響する可能性は低いと考えられた。

サフィナミド製剤中に含まれる可能性がある不純物の in silico 毒性予測（(Q)SAR）の結果、不純物*　類（　不純物A*　、　不純物B*　、　不純物C*　）をクラス 1、　類縁物質B*　をクラス 2 に分類した。いずれの化合物についても製剤中含量は TTC（1.5 μg/日）未満であり、適切に管理されていることが確認されている。

＊新薬情報提供時に置き換えた。

2.4.4.8.6 光毒性

サフィナミド、NW-1153 及び NW-1689 は 290～700 nm の領域で吸収がないため、光毒性の懸念はないと考えられる。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 総括

2.4.5.1.1 薬理試験

ドパミン神経系に対する in vitro 並びに in vivo 試験から、サフィナミドは MAO-B への選択性が高く、可逆的な MAO-B 阻害作用をもつことが示された。In vitro 試験におけるサフィナミドの MAO-A に対する作用は弱く、MAO-B 選択性をセレギリン、ラサギリンと比較すると、サフィナミドはヒトで約 1000 倍、ラットで約 6000 倍の選択性を有するのに対して、セレギリンはヒトで 250 倍、ラットで 260～1000 倍、ラサギリンはヒトで約 50 倍、ラットで約 90 倍[1),2)]であり、ヒトとラットともにサフィナミドの選択性が最も高かった。したがって、サフィナミドは血圧や脳内セロトニン神経系に影響を及ぼす薬剤との併用時の副作用のリスクが最も低いことが期待される[5),6)]。また、MAO-B に対する阻害様式を比較すると、セレギリンとラサギリンは MAO-B 阻害作用が非可逆的であり[3),4)]、ヒトでの効果は最高 40 日まで持続するとされている[7)]。一方、サフィナミドは MAO-B 阻害作用が可逆的であるため、レボドパとの併用による不随意運動、幻覚、妄想等の副作用が現れた場合には減量又は休薬により速やかに副作用が消失することが期待される。

ドパミン神経系以外の作用として、サフィナミドは電位依存性ナトリウムチャネルを活動状態依存的に阻害し、電位依存性カルシウムチャネルも阻害した。サフィナミドは、in vitro 並びに in vivo 試験において veratridine（ナトリウムチャネル開口薬）によるグルタミン酸放出を抑制した。以上のことから、サフィナミドは in vivo においてもナトリウムチャネルに対して作用することが示唆された。パーキンソン病では大脳基底核の視床下核、淡蒼球などでグルタミン酸機能が亢進していること[8)]から、グルタミン酸機能に対する抑制作用がサフィナミドのパーキンソン病での有効性に寄与する可能性が考えられる。

パーキンソン病モデルを用いた検討では、MPTP を投与したマウスにサフィナミドをレボドパ及びベンセラジドと併用したところ、脳内ドパミン含量が増加した。また、サフィナミドは MPTP が誘発するマウス黒質ドパミン作動性神経の変性と線条体ドパミン含量の低下を抑制した。黒質ドパミン作動性神経の変性に対する保護効果は、MPTP 投与後にサフィナミドを投与した場合でも観察された。これらの結果からサフィナミドがドパミン神経保護作用を有することが示唆され、パーキンソン病の進行を抑制することが期待される。ラサギリンも MPTP 処置したマウスにおける線条体のドパミン含量の低下を抑制するが、MPTP 処置後に投与した場合では抑制効果は認められない[9)]ことから、サフィナミドのドパミン含量低下抑制作用には MAO-B 阻害作用とは異なる作用機作の寄与が考えられ、ナトリウムチャネル阻害作用やグルタミン酸放出抑制作用の関与が推察される。また、サフィナミドはスナネズミの一過性前脳虚血モデル及びラットの実験的自己免疫性脳脊髄炎モデルにおいても神経保護作用を示したことから、ドパミン神経に限定されない神経保護作用も期待される。

パーキンソン病の運動症状の日内変動における wearing off 現象について、6-OHDA を処置したラットで検討した。レボドパとベンセラジドの反復投与により減少した回転運動はサフィナミドにより有意に回復し、MK-801 もサフィナミドと同様の効果を示した。このことから、wearing off 現象の改善にはグルタミン酸神経伝達を抑制することが有効であることが示唆され、サフィナミドによる wearing off 現象の改善にはグルタミン酸放出抑制作用が関与している可能性が考えられた。

MPTP を処置したカニクイザルにレボドパを投与して作製した LID モデルにサフィナミドを投与したところ、レボドパのパーキンソン病治療効果持続時間が延長し、ジスキネジアも抑制された。ラサギリンはレボドパのパーキンソン病治療効果持続時間を延長したが、ジスキネジアに対する抑制作用に用量依存性はみられなかった。別の MAO-B 阻害薬である lazabemide はパーキンソン病治療効果

持続時間を延長したが、ジスキネジアには影響せず、電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用とグルタミン酸放出抑制作用を有するリルゾールと NMDA 受容体拮抗作用を有するアマンタジンはジスキネジアを抑制した。これらの結果から、MAO-B 阻害作用はパーキンソン病治療効果持続時間の延長に、グルタミン酸神経伝達抑制作用はジスキネジアの抑制に寄与するものと考えられる。両作用を併せ持つサフィナミドには、パーキンソン病におけるレボドパによる治療効果持続時間を延長するとともに、ジスキネジアを軽減することが期待できるが、ジスキネジア軽減については臨床試験で検証されていない。また、サフィナミドはラットに誘発する顎振戦を有意に抑制したことから、サフィナミドにはパーキンソン病に伴う振戦に対する有効性が期待される。

安全性薬理試験として、中枢神経系、心血管系、呼吸系、腎臓及び消化器系に及ぼすサフィナミドの影響を検討した。

中枢神経系に対する作用として、マウスではサフィナミドとして 100～1000 mg/kg、ラットでは 30～200 mg/kg の単回経口投与後に、サフィナミドは一過性かつ用量依存的な鎮静を誘発した。この影響は有効用量付近ではみられなかった。一方、自発運動低下や運動失調等の神経系作用はサフィナミドの臨床推奨用量におけるヒトでの曝露量との比が小さいことからヒトでもみられる可能性が考えられたが、臨床試験において、ジスキネジアを除く神経系障害の有害事象はプラセボ群と比較して増加していないことから、これらの変化が臨床上問題となることはないと考えられた。

心血管系に対する作用として、hERG チャネル電流の阻害活性（IC_{50} 値=27 μM）がみられたが、ヒトでの血漿中非結合型濃度との安全域は約 40 倍以上と推察された。In vitro 心血管系の試験では、APD 短縮、不応期の短縮及び収縮力の低下が用量依存的にみられ、in vivo 試験では QT 間隔の短縮がみられた。これらの変化は、サフィナミドのナトリウムチャネル（Nav1.5）阻害作用に起因する可能性が考えられた。In vivo 試験において Sarma 式で補正した QTc 間隔は短縮がみられたものの用量相関性はなく、Fridericia 式で補正した QTc 間隔の短縮はみられていない。また、覚醒ラット及びイヌを用いた試験において血圧及び心拍数に明らかな変化はみられず、心血管系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。さらに、麻酔下サルを用いた追跡試験において、麻酔下の動物では血圧の低下が顕著にみられたが、ドブタミンによる回復がみられたことから、この作用は中枢神経を介する可能性が高く、交感神経性緊張への影響に起因するものと考えられた。したがって、サルを用いた毒性試験でみられた死亡は、心血管系に起因するものではなく中枢神経系症状に起因したものと考えられ、忍容性のある用量範囲では血圧へ影響する可能性は低いと考えられる。

呼吸器系、腎臓系及び消化器系の機能に変化は認められなかった。

また、サフィナミドの標的以外の各種細胞受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対する作用を検討するために in vitro 安全性薬理試験が実施されたが、評価したオフ・ターゲット作用部位の多くに対して結合活性を示さなかった。結合がみられたイミダゾリン 1 及び 2 受容体、ムスカリン 3 及び 4 受容体、並びにシグマ 1 及び 2 受容体については、in vitro 機能評価試験で臨床の最高血漿中非結合型濃度付近で作用がみられなかったこと、及び／又は in vivo 試験において当該受容体に関連した影響が認められなかったことから、サフィナミド、及び主要代謝物（NW-1153、NW-1689 及び NW-1689AG）、並びにサフィナミドの[redacted]である　類縁物質A*　が標的以外の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に作用して生体に重篤な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

＊新薬情報提供時に置き換えた。

2.4.5.1.2 薬物動態試験

ラット及びサルにサフィナミドメシル酸塩を経口投与時のサフィナミドの吸収は速やかで（t_{max} は1～2 時間）、生物学的利用率は高かった（Sprague Dawley ラット 92%、カニクイザル 80%）。両動物種ともに、サフィナミドの曝露量は用量比を上回って増加する傾向を示し、反復投与による蓄積比は最大で約 2 倍であった。

ラット及びサルにおけるサフィナミドの分布容積が大きい（約 2～5 L/kg）ことから、サフィナミドは血管外に広く分布することが考えられた。また、マウス、ラット及びサルにおいてサフィナミドは脳の広い範囲に迅速に到達することが示されており、脳／血漿比（AUC 比）は 9～16 の範囲であった。^{14}C-サフィナミドメシル酸塩をラットに静脈内投与又は経口投与した後、メラニン含有組織である眼、涙腺、褐色脂肪、有色部位の皮膚等に高い放射能が認められたが、時間の経過によって消失したため、サフィナミド又は代謝物はメラニンと結合するものの、その結合は可逆的であると推測された。また、サフィナミドの血漿蛋白結合率は、濃度に依存せず、また動物種（マウス、ラット、イヌ、サル）及びヒト間で種差は認められなかった（約 90%）。サフィナミドの主要代謝物の一つである NW-1689 の蛋白結合率はこれら 4 つの動物種及びヒトで非常に高く、98%以上であった。

動物及びヒトの肝細胞、並びにヒト肝ミクロソーム試料等を用いた in vitro 代謝試験を行ったところ、サフィナミドは全動物種で概ね共通の代謝経路を介して代謝されていた。共通の主要代謝物として、アミド基の加水分解により生じた NW-1153、及び酸化的 *N*-脱アルキル化により生じた NW-1689 の 2 つが認められた。NW-1689 の一部はグルクロン酸と *O* 型抱合体を形成し、NW-1689AG となった。主要代謝物である NW-1689 の形成には、細胞質酵素のアミダーゼ、MAO-A 及びアルデヒド脱水素酵素が主に関与し、また、NW-1153 の生成は非特異的な細胞質アミダーゼ酵素（一部分は FAAH と特定された）によって触媒されていた。サフィナミドは非特異的な酵素であるアミダーゼにより代謝され、生体内変換における CYP 分子種の寄与が低いと推測された。

ヒト肝ミクロソーム中では、サフィナミドは CYP1A2 に対して弱い阻害作用を有していたが、臨床薬物動態学的相互作用試験を実施したところ、臨床的に問題となる影響は及ぼさないと考えられた。一方、サフィナミドの CYP 分子種についての誘導作用を検討したところ、ヒト肝細胞において CYP1A2 及び CYP3A4/5 を誘導する可能性が認められた。しかし、臨床薬物動態学的相互作用試験を実施したところ、臨床的に問題となる影響は及ぼさないと考えられた。また、ヒト肝細胞において CYP2B6 を誘導する可能性も認められた。

In vivo 排泄／マスバランス試験は、^{14}C-サフィナミドメシル酸塩をマウス、ラット、イヌ、サル及びヒトに投与して検討した。放射能の多くは尿中に排泄され、糞への排泄も認められた。総回収率は概ね 70%以上であった。

サフィナミドは膜透過性が高く、Caco-2 細胞で発現している P-gp や BCRP といったトランスポーターの基質ではないと考えられた。また、薬物トランスポーターとの相互作用の検討を行ったところ、サフィナミド及び NW-1689 は BCRP を介した PhIP 輸送を濃度依存的に低下させた。しかし、臨床薬物動態学的相互作用試験を実施したところ、臨床的に問題となる影響は認められなかった。一方、サフィナミド及びその代謝物は P-gp、BSEP、OATP1B1、OATP1B3、OCT2、OAT1、OAT3 及び OAT4 に対して臨床上意義がある阻害作用を有していないと考えられた。

2.4.5.1.3 毒性試験

本薬の単回経口投与試験において、ラットでは呼吸困難、自発運動低下、不安定歩行等がみられ、最小致死量は雄で 1500 mg/kg、雌で 1000 mg/kg であった。非げっ歯類を用いた単回投与毒性試験は実施しなかったが、サルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の結果からサフィナミドの急性毒性を

考察した。一般症状観察では、80 mg/kg/日以上の群では、投与初日からよろめき歩行、平衡感覚の消失等がみられ、120 mg/kg/日以上の群では痙攣もみられた。80、100 及び 120 mg/kg/日群では投与 11～14 日目に、200 mg/kg/日群では投与初日から死亡がみられた。

反復投与試験でみられた主な毒性変化は、ラットでは、4 週間反復投与毒性試験の 60 mg/kg/日以上の投与量で肝細胞のびまん性脂肪化、又は 26 週間反復投与毒性試験の 60 mg/kg/日以上の投与量で肺胞に泡沫状マクロファージ浸潤巣がみられた。サルでは、50 mg/kg/日の投与量で中枢神経症状による死亡がみられた。しかし、ラットのこれらの変化又は所見のほとんどが投与を中止することにより回復性又は回復傾向を示した。また、肝細胞のびまん性脂肪化は 4 週間反復投与毒性試験でのみみられ、より高用量及び長期のラット反復投与試験ではみられず、臨床試験においても関連する変化はみられていない。さらに、長期試験におけるラット及びサルの無毒性量におけるサフィナミドの曝露量（C_{max} 及び／又は $AUC_{0\text{-}24h}$）はヒト臨床用量での曝露量のそれぞれ 0.65～2.38 倍、及び 4.55～9.06 倍であった。このように、ラット反復投与試験でみられた毒性変化は重篤な変化ではなく、長期試験におけるラット及びサルの無毒性量での曝露量がヒトの臨床曝露量を概ね上回っていることから、ヒトにおける安全性に大きな懸念はないものと考えられた。

また、ラットでは 15 mg/kg/日以上の投与量で網膜変性（網膜外層の菲薄化、又はびまん性の網膜萎縮）がみられたが、この所見については追加検討を行い、総合的に評価した。網膜変性の発現機序に関連してラットを用いて実施された種々の試験結果から、網膜変性の作用機序は特定されなかったが、光曝露による増強等の特徴が示された。サフィナミドの非臨床試験において、マウスでは寿命までの期間を通して投与しても網膜への影響は軽度である。また、サルでは高用量での 39 週間反復投与後の電子顕微鏡観察を含め、各試験において一貫して網膜に変化はみられず、レボドパ／カルビドパ及びプラミペキソールとの 13 週間併用投与においても網膜に変化はみられなかった。ラットでは加齢性変化としてびまん性の網膜変性を発現し、アルビノラットの網膜は光刺激に対して感受性が高く変性を起こしやすいとされている。以上の結果から、高用量での長期毒性試験を含む複数のサルを用いた毒性試験において、一貫して網膜変性がみられなかったこと、並びに臨床試験において変化がみられなかったことから、網膜変性はげっ歯類特異的でラットに顕著な変化であり、患者に対して網膜変性のリスクを増加させないと考えられた。

細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ラット肝細胞を用いた in vitro 不定期 DNA 合成試験は陰性であった。一方、マウスを用いた骨髄小核試験では致死量である 1000 mg/kg/日の 48 時間処置群において小核を有する幼若赤血球（PCE）数の軽度な増加がみられた。しかし、同用量の 24 時間処置群では小核を有する PCE 数の増加はみられず、追加試験においても小核を有する PCE 数の増加に再現性が認められなかった。さらに、がん原性試験も陰性であることから、致死量における一時点の軽微な小核誘発性は生物学的意義のある変化ではないと考えられた。したがって、サフィナミドは遺伝毒性を示さないと考えられた。

ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性の結果から、サフィナミドは親動物の生殖能及び次世代の発生に影響を与え、催奇形性も示唆されたことから、妊娠又は妊娠している可能性のある女性に対しては投与しないことが望ましい。また、乳汁移行性が示唆されていることから、授乳期の女性に対しては、本剤投与中は授乳を避けるべきであると考えられた。

ラットの身体依存性試験では、退薬症状を示唆する一般状態及び体重・摂餌量の変化はみられず、サフィナミドが身体依存性を示す可能性は低いと考えられた。

精神依存性を検討したサルの薬物自己投与試験では、明らかな強化効果は認められなかった。さらにラットにおける薬物弁別試験において、サフィナミドは *d*-アンフェタミン及びミダゾラムのいず

れに対しても般化を示さなかった。以上の結果から、サフィナミドは精神依存性を示す可能性は低いと考えられた。

精神依存を示すコカインやアンフェタミン等の薬物では、側坐核等の報酬回路におけるドパミン作動性のシグナル伝達が増強することが知られている。サフィナミドはこれらの薬物と異なり、in vitro の試験において、DAT をはじめ、ドパミン受容体、セロトニン受容体、オピオイドμ受容体、$GABA_A$ 受容体、ベンゾジアゼピン受容体、カナビノイド受容体、NMDA 受容体等薬物依存と関連する受容体に対する親和性が弱いことが示されている。また、ヒヒを用いた脳内 DAT 占有率評価では、ヒトに 100 mg/日を 7 日間反復投与した際の最高血漿中濃度（1819 ng/mL）を上回る用量を投与してもサフィナミドは DAT 部位を置換せず、in vivo においてサフィナミドが両トランスポーターに及ぼす影響は弱いと考えられる。さらに、サルにサフィナミド 10 及び 20 mg/kg/日で 13 週間、8 及び 20 mg/kg/日で 39 週間反復投与した後、側坐核におけるドパミン含量は対照群と同等であり、報酬回路に関連する部位に影響はみられなかった。

以上の結果から、サフィナミドが精神依存性及び身体依存性を示す可能性は低いと考えられた。なお、サフィナミドの臨床試験において、退薬症状及び精神依存を示唆する兆候は認められていない。

がん原性試験、局所刺激性試験、光毒性試験、代謝物及び不純物の毒性試験では、特記すべき所見は認められなかった。

臨床で併用が想定されるレボドパ／カルビドパ、及びプラミペキソールとの併用投与における反復毒性試験及び/又は生殖発生毒性を検討した。その結果、併用による新たな毒性発現は認められず、臨床において上記の併用による相互作用が起こる可能性は少ないと考えられる。

2.4.5.2 結論

これらの非臨床試験の結果より、サフィナミドは既存の MAO-B 阻害薬と異なり、選択的かつ可逆的な MAO-B 阻害作用とともに電位依存性ナトリウムチャネル阻害作用を介するグルタミン酸放出抑制作用を併せ持つ特徴を有することが示された。このような特徴から、サフィナミドは MAO-B 阻害作用によりレボドパによるパーキンソン病治療効果持続時間の延長に効果を示し、ナトリウムチャネル阻害作用を介したグルタミン酸放出抑制作用によりレボドパ療法に伴う wearing off 現象とジスキネジアを改善するものと考えられるが、ジスキネジアの改善については臨床試験で検証されていない。さらにサフィナミドには MAO-B 阻害作用、ナトリウムチャネル阻害作用及びグルタミン酸放出抑制作用による神経保護作用も期待される。また、薬物動態学的にも経口投与後の生物学的利用率及び脳への移行性が高い。これらのことから、パーキンソン病治療の新たな選択肢になりうるものと考えられる。毒性試験において、生殖への影響及び催奇形性を含む次世代への影響が確認されていることから、妊娠をしている可能性のある女性、妊婦及び授乳婦への使用については制限が必要なものの、その他特記すべき毒性は見出されておらず、薬物動態学的にも大きな問題はないことから、サフィナミドは安全で使いやすい薬剤であると考えられる。

2.4.6 参考文献一覧

1) エフピー株式会社. エフピー®OD 錠 2.5. インタビューフォーム. 2016 年 2 月改定(改定第 8 版).
2) 【4.3-05】Youdim MB, Gross A, Finberg JP. Rasagiline [N-propargyl-1R(+)-aminoindan], a selective and potent inhibitor of mitochondrial monoamine oxidase B. Br J Pharmacol 2001;132:500-6.
3) 【4.3-06】Fowler JS, Volkow ND, Logan J, Wang GJ, MacGregor RR, Schyler D et al. Slow recovery of human brain MAO B after L-deprenyl (Selegeline) withdrawal. Synapse 1994;18(2):86-96.
4) 【4.3-07】Freedman NM, Mishani E, Krausz Y, Weininger J, Lester H, Blaugrund E et al. In vivo measurement of brain monoamine oxidase B occupancy by rasagiline, using 11C-l-deprenyl and PET. J Nucl Med 2005;46(10):1618-24.
5) 【4.3-08】Stocchi F, Torti M. Adjuvant therapies for Parkinson's disease: critical evaluation of safinamide. Drug Des Devel Ther 2016;5(10):609-18.
6) 【4.3-09】Teixeira FG, Gago MF, Marques P, Moreira PS, Magalhães R, Sousa N et al. Safinamide: a new hope for Parkinson's disease?. Drug Discov Today 2018;23:736-44.
7) 【5.4-11】「パーキンソン病診療ガイドライン」作成委員会編集. パーキンソン病診療ガイドライン 2018. 日本神経学会監修. 医学書院 2018.
8) 【4.3-10】小川 紀雄. パーキンソン病の病因と病態. 日内会誌 2003;92:1394-9.
9) 【4.3-11】Teva Neuroscience. Azilect (Rasagiline Mesylate) Tablet 審査資料 (NDA No.21-641).
10) 【4.3-17】Boelsterli UA. Xenobiotic Acyl Glucuronides and Acyl CoA Thioesters as Protein-Reactive Metabolites with the Potential to Cause Idiosyncratic Drug Reactions. Curr Drug Metab 2002;3:439-500.