

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬食品局審査管理課長
（公 印 省 略）

医薬品の光安全性評価ガイドラインについて

日米 EU 医薬品規制調和国際会議（以下「ICH」という。）が組織され、品質、安全性及び有効性の各分野で、ハーモナイゼーションの促進を図るための活動が行われているところである。

今般、医薬品の製造販売承認に際して添付すべき非臨床における安全性試験の資料に関し、ICHにおける三極の合意事項として、新たに「医薬品の光安全性評価ガイドライン」を別添のとおり定めましたので、下記事項を御了知の上、貴管内関係業者等に対し周知方御配慮願います。

記

1. 本ガイドラインの要点

- (1) 本ガイドラインは、医薬品の光毒性及び光アレルギー検出のために行われる安全性評価の望ましい実施方法を示すものであり、従来の非臨床試験に係るガイドラインを補完するものである。
- (2) 本ガイドラインは、新規医薬品有効成分、新規添加剤、経皮投与用臨床製剤（皮膚貼付剤等）、及び光線力学療法用製剤に適用される。
- (3) 本ガイドラインで取り扱う内容は、光毒性（光刺激性）及び光アレルギーであり、光遺伝毒性及び光がん原性については取り扱われない。
- (4) 光安全性評価の実施については、薬剤開発者に委ねられているが、外来での臨床試験を行う前に、光毒性の初期評価（UV～可視光領域の吸収スペクトルの評価等）の実施が提案・推奨されるほか、必要に応じ、実験的評価（*in vitro* 又は *in vivo* 試験）を実施すべきとされている。
- (5) 光安全性評価の方法はフレキシブルであり、様々なアプローチが選択し得る。

別添

医薬品の光安全性評価ガイドライン

目次

1. 緒言.....	1
1.1 ガイドラインの目的.....	1
1.2 背景.....	1
1.3 適用範囲.....	1
1.4 一般原則.....	2
2. 光安全性評価において考慮すべき要因.....	3
2.1 光化学的特性.....	3
2.2 組織分布/ファーマコキネティクス.....	3
2.3 代謝物に関して.....	4
2.4 薬理学的特性.....	4
3. 非臨床光安全性試験.....	4
3.1 一般的概念.....	4
3.2 化学的試験法を用いた光反応性試験.....	5
3.3 <i>In vitro</i> 試験法を用いた光毒性試験.....	5
3.4 全身適用薬の <i>in vivo</i> 光安全性試験.....	6
3.5 経皮適用薬の <i>in vivo</i> 光安全性試験.....	8
4. 臨床における光安全性評価.....	8
5. 評価手法.....	8
5.1 全身適用薬に推奨される評価手法.....	10
5.2 経皮適用薬に推奨される評価手法.....	11
6. 注釈.....	12
7. 用語の解説.....	13
8. 参考文献.....	14

1. 緒言

1.1 ガイドラインの目的

本ガイドラインの目的は、光安全性評価についての国際的な基準を勧告し、ヒト臨床試験や医薬品の製造販売承認申請に必要とされるこれらの評価の国際的調和をはかることである。本ガイドラインには、光安全性を評価するにあたり考慮すべき要因や追加の評価が必要な場合についても述べており、ICH M3 (R2) ガイドライン第 14 章の「光安全性試験（文献 1）」とあわせて読む必要がある。本ガイドラインにより地域間で勧告される光安全性評価に本質的な相違が生じる可能性は少なくなるであろう。

本ガイドラインはいくつかの章に分かれている。第 2 章では光安全性評価において考慮すべき要因について論じる。第 3 章では既存の非臨床光安全性試験について説明するが、この章では特定の試験方法について説明しない。第 4 章では、臨床での光安全性評価について言及する。第 5 章では、全身曝露を意図して投与する、あるいは経皮投与する医薬品の光安全性を評価する方法を決定するための手法について、第 2 章、第 3 章、および第 4 章で説明した考え方と試験を用いて提示する。

3R（代替法の利用/使用動物数の削減/苦痛の軽減）の原則に従って使用動物数を削減するために、動物を使わない方法あるいは臨床データの活用による光安全性評価を考慮すべきである。

1.2 背景

ICH M3(R2) ガイドラインには、臨床開発に係る光安全性評価の実施時期についての情報が記載されている。当該ガイドラインでは、光毒性の可能性に関する初期評価を行い、必要に応じて、多数の被験者への投与（第Ⅲ相試験）が行われる前に、実験的評価を行うことが推奨されている。同様に、ICH S9 ガイドライン（文献2）には、抗悪性腫瘍薬に関する光安全性試験の実施時期に関する記載がある。しかしながら、ICH M3(R2) ガイドラインおよびICH S9 ガイドラインのいずれにも、具体的な評価手法は述べられていない。本ガイドラインでは、光安全性試験が必要とされる場合および可能な評価手法の詳細を概説する。

1.3 適用範囲

本ガイドラインは、新規医薬品有効成分（API）、新規添加剤、経皮投与用臨床製剤（皮膚貼付剤など）、および光線力学療法用製剤に適用される。

眼に投与される医薬品については、眼の光毒性を予測する *in vitro* 評価手法の信頼性が不明であり、標準化された *in vivo* 評価手法がないことから、具体的なガイダンスを提供しない（注 1 を参照のこと）。

光線力学療法に用いられる医薬品については、意図する薬理作用に元来付随する光化学的な活性をもって開発されており、通常、これらについて追加的な光毒性の検討を行う必要がない。しかしながら、光線力学療法に用いられる医薬品においても、患者における適切なリスク管理のために、トキシコキネティクスや組織分布の検討を行うべきである。

本ガイドラインは、一般的に、ペプチド、蛋白質、抗体薬物複合体あるいはオリゴヌクレオチドに適用されない。さらに、すでに市販された成分について、APIあるいは添加剤に新たな懸念要因（錠剤から局所用クリームへの剤型変更など）がなければ、本ガイドラインは適用されない。

1.4 一般原則

医薬品の光安全性評価は、光化学的特性、非臨床試験のデータおよび臨床安全性情報をふまえた統合的なプロセスである。光安全性評価は、ヒトでの有害事象の発生を防ぐために、リスクを最小化する方策が必要とされるかどうかを決定することを目的とする。

光安全性試験との関連で、従来から4つの異なる作用（光毒性、光アレルギー、光遺伝毒性、光がん原性）が議論されてきた。光遺伝毒性（注2を参照のこと）および光がん原性（ICH M3(R2)ガイドラインの注6）の試験については、ヒトの医薬品に関して、現状で有用でないと考えられている。本ガイドラインでは、以下に定義する光毒性と光アレルギーの作用のみを扱う。

- ・ 光毒性（光刺激性）：光照射によって産生される光反応性物質に対する急性の組織反応。
- ・ 光アレルギー：光化学反応によって蛋白質付加体などの光反応生成物を形成し、それにより引き起こされる免疫を介した反応。

光感作性とは、光照射により惹起される組織反応に対し、時折使用される一般用語である。しかしながら、本ガイドラインでは、光毒性と光アレルギーを明確に区別するために、光感作性という用語を用いないこととする。

化学物質が光毒性や光アレルギーを示すためには、以下の性質が重要である。

- ・ 太陽光の波長内（290–700 nm）に光の吸収帯が存在する。
- ・ UVあるいは可視光の吸収により、反応性に富んだ分子種を形成する。
- ・ 光に曝露される組織（皮膚や眼）に十分な量が分布する。

これらの条件の一つでも当てはまらない場合には、通常その化合物は光毒性の懸念を直接呈することがないと考えられる。しかし、光に対する皮膚の感受性亢進が間接的メカニズムにより起きることもある。本ガイドラインで概説する試験は、一般的にそのようなメカニズムに対応していない（第2.4項も参照すること）。

2. 光安全性評価において考慮すべき要因

2.1 光化学的特性

光反応性を評価するためには、まず、化合物が290から700 nmの間の波長で光を吸収するか否かについて考慮する。290から700 nmの波長においてモル吸光係数(MEC)が $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を上回らない化合物(文献3)については、直接的な光毒性を引き起こすほどの光反応性がないと考えられる(詳細については注3を参照のこと)。

光による分子の励起は、エネルギー転移メカニズムにより、スーパーオキシドアニオンや一重項酸素を含む活性酸素種(ROS)を生成する。光反応性により別の分子(光付加体や細胞毒性を持つ光反応物質の形成など)を生じることがあるが、その場合であっても、通常は、同様にROSが生成されると考えられる。このため光(UV~可視領域)の照射によるROS生成は、光毒性の指標となりうる。

光安定性試験(文献4)も光反応性を示唆しうる。しかしながら、これらの条件下ですべての光反応性物質を検出することはできず、光により分解することがそのままその薬剤の光毒性を示唆するわけではない。このため、光安定性試験だけでは、さらなる光安全性評価を必要とするかどうかを決めるべきでない。

光化学的特性の評価は、データの収集記録を容易に確認できる、科学的に質の高い基準で実施されるか、またはGLP/GMPに準拠して実施されるべきである。

2.2 組織分布/ファーマコキネティクス

光照射時に組織に分布する光反応性物質の濃度は、光毒性反応が生じるか否かを決定する非常に重要な薬物動態学的パラメータである。この濃度は、化学物質の血漿中濃度や、組織内の血流、血管から間質および細胞への分配、さらに組織内での結合、貯留および蓄積などの様々な要因に依存している。曝露期間は、血漿や組織内半減期に反映されるクリアランス速度に依存する。全体として、これらのパラメータによって光反応性物質の組織内における平均滞留時間が決まる。

化合物の組織内での結合、貯留あるいは蓄積は、光毒性反応にとって決定的なものではない。光反応性が十分に高い分子であれば、血漿中あるいは細胞間質液中で到達する濃度において光毒性反応を生じる可能性がある。しかしながら、血漿中半減期が長い化合物や日光に曝される組織に長時間滞留する化合物、あるいは組織/血漿濃度比が高い化合物は、半減期や滞留時間が短い、あるいは組織/血漿濃度比が低い化合物よりも光毒性反応を引き起こしやすい。さらに、光化学反応が生じるのに必要な化合物濃度を超えている時間が長ければ長いほど、ヒトは、より長く光毒性のリスクに曝される。

光毒性反応のリスクを無視できるという組織濃度の閾値は、科学的に存在し得るが、現在のところ、すべての化合物に適用できる一般的な閾値を設定し得るだけのデータがない。しかしながら、ヒトにおける実際の、あるいは予想される組織内濃度に基づき、また、上述の要因を考察することによって、さらなる光安全性評価を必要としないと判断することは、ケースバイケースで可能である。その例としては、1) 全身の総曝露量が非常に低い薬剤、あるいは2) 血漿中半減期や組織滞留時間が非常に短い薬剤などが挙げられよう。

化合物の組織構成要素（たとえば、メラニンやケラチン）への結合は、組織での貯留や蓄積が生じるメカニズムの一つである。メラニンとの結合により組織での化合物濃度は増加するが、メラニン結合性のある薬剤に関するこれまでの経験から、メラニン結合性のみでは光安全性に対する懸念にならないことが示唆されている。

単回投与による組織分布試験において、投与後の複数の時点で動物を調べることにより、一般的には、組織/血漿濃度比、組織滞留時間、滞留と蓄積のポテンシャルについて適切な評価が可能になる。そのような試験において血漿中あるいは組織中薬物濃度の消失半減期を明らかにするためには、評価のタイムポイントを適切な間隔で設定すべきである。

可視光により活性化され、内部組織における消失半減期の長い化合物に関しては、医学的処置中に強い光の照射を受けてこれらの組織に損傷を生じる場合があることが知られている。従って、光線力学療法に用いる医薬品のように、可視光で活性化され *in vivo* で強い光毒性を有する化合物や、あるいは作用機序に基づいて光毒性を有することが知られている化合物では、内部組織における分布を測定し、組織特異的半減期を推定すべきである。UV 領域にのみ吸収を有する薬物や組織からの消失半減期が短い薬物については、光反応性を有することが知られていても内部組織におけるリスクを惹起することがないであろう。

2.3 代謝物に関して

代謝により親化合物と大幅に異なるクロモフォアが生じることは通常ないことから、一般的に代謝物について別途光安全性評価を行う必要はない。

2.4 薬理学的特性

多くの場合、薬物誘発性の光毒性は、化学構造に起因するものであり、薬理作用によるものでない。しかしながら、ある種の薬理学的特性（たとえば、免疫抑制作用、ヘム代謝の攪乱作用）を持つ場合は、皮膚刺激や UV 誘発性皮膚腫瘍形成など、光誘発性作用に対する感受性を増幅する可能性がある。本ガイドラインに概説されている試験手法は、このようなタイプの間接的なメカニズムを検出するものでない。これらの間接的なメカニズムの中には、他の非臨床の薬理/毒性試験により確認され、評価できるものがある。しかしながら、間接的メカニズムに関連した光毒性には、その他に、ヒトでの使用経験の中で初めて明らかになるものもある。

3. 非臨床光安全性試験

3.1 一般的概念

非臨床光安全性試験に関しては、モデルシステムと適切な照射スペクトルの両方を考慮した試験条件を慎重に選択することが重要である。理想的に、非臨床試験法は、高い感度と特異度の両方（すなわち、低い偽陰性率と偽陽性率）を有していることが望ましい。しかしながら、本ガイドラインに述べられている評価を行うために最も重要なことは、非臨床光安全性試験が、偽陰性の頻度が低くなるような高い感度（すなわち、高い陰性予測率）を有していることである。なぜなら、陰性結果の場合、通常さ

らなる光安全性評価を求められないからである。現在利用可能な非臨床試験法は*in vitro*および*in vivo*共に、主に潜在的な光毒性を検出することに重点を置いているものであり、臨床的な光毒性に、必ずしもそのまま外挿できるとは限らない。

照射条件の選択は、*in vitro*および*in vivo*試験法のいずれにおいても重要である。我々が通常曝露されている太陽光は、非常に幅広いスペクトルを有している。しかしながら、太陽光は、明確に定義されたものでなく、緯度、標高、季節、時刻、天候などの様々な要因によって変化し得る。さらに太陽光に対するヒトの皮膚の感受性も、様々な要因（たとえば、スキンタイプ、解剖学的部位、日焼けの度合い）によって変化し得る。標準的な太陽光の照射条件については、様々な機関において定義されてきた。ソーラーシミュレータの光源の適切性を評価するためには、そのような標準規格（たとえば文献5）を参照すべきであり、照度と照射量を照射スペクトルのUVA領域に基づいて標準化すべきである。現行の*in vitro*および*in vivo*の光毒性試験法では、UVAで5~20 J/cm²の範囲の照射量が用いられている。このUVA照射量は、夏の昼間に、温帯地域の海拔ゼロ地点で長時間の屋外活動を行った場合に相当する。通常、ヒトでは、UVBで生じる日焼け反応により全体的な光照射量が制限されている。しかしながら、非臨床光毒性試験法では、UVB照射量によって全体の照射量が制限されるべきでなく、試験法の感度を下げずに十分なUVA照射量での試験を行うために（部分的にフィルターをかけることにより）UVB量を減少させることもある。ヒト皮膚におけるUVBの曝露は表皮に限定されるのに対し、UVAは毛細血管中の血液にまで到達する。それゆえに、全身適用される医薬品においては、UVAに比べUVBによる光化学的な活性化が臨床上重要でないと考えられている。しかしながら、光曝露を受ける組織に塗布される局所適用製剤の場合には、UVB照射にも考慮する必要がある。

適切な光源（スペクトル分布、照度、および照射量）の選択とモニタリング、および用いる手順については、試験方法に明確に記載されていなければならない（例、文献6）。

3.2 化学的試験法を用いた光反応性試験

医薬品開発者が光反応性評価の実施を選択した場合には、試験法の感度が適切であることを医薬品を用いて検証するべきである。そのような試験法の一つが、たとえば文献7に記載されているROSアッセイである。データからは、この試験法は*in vivo*における直接的な光毒性物質を予見する上での感度が高いことが示されている。しかし、偽陽性結果の割合が高いことから、特異度は低い。200 μMの試験濃度で、適切な条件下で実施された場合、この試験法での陰性結果は光毒性の懸念が非常に低いことを示すが、陽性結果は（どの濃度であっても）追加的評価を考慮すべき指標と考える。

3.3 *In vitro* 試験法を用いた光毒性試験

化学物質の光毒性誘発能を評価するために、多くの*in vitro*試験法が開発されてきた。これらの試験法の一部は、医薬品の評価に用いるための検証が行われていない。ある試験法は評価化合物を培養液に溶解して用いる試験法であり、このような方法の適格性は化合物の溶解性に依存するが、薬物中の有効成分や添加物の評価に適することが多い。その他に、組織表面へ直接適用される試験法もあり、これらは、局所投与を意図した製剤全体としての評価に適切であろう。

最も広く用いられている *in vitro* の光毒性試験法は3T3ニュートラルレッド取り込み光毒性試験 (3T3 NRU PT) であり、これに関しては該当するOECDガイドライン (文献6) がある。この手法は、水溶性物質に関して現在もっとも適切な *in vitro* スクリーニング手法であると考えられている。

この試験法に関してECVAMの実施した正式のバリデーションでは高い感度 (93%) と高い特異度 (84%) が示されたが、企業体は経験的に特異度についてより低いものと考えている。OECDガイドラインは、特に医薬品に関して検証されたものでない。医薬品の低い特異度に対処するためには、OECDガイドラインを一部改変することが提唱されている (注4を参照のこと)。提唱されたこれらの改変は、医薬品の試験として適切である。3T3 NRU PTの感度は高く、この試験法で陰性結果が得られた化合物についてはヒトで光毒性を生じる懸念が非常に低いと考えられる。しかしながら、3T3 NRU PTで陽性結果が得られた場合は、臨床的な光毒性を必ずしも示唆するものでないが、追加的評価を考慮すべき指標と考えるべきである。

BALB/c 3T3細胞はUVBによる傷害を受けやすいため、光照射にあたっては320 nm以下の光を減衰するフィルターの使用が当初推奨されていた (文献6)。しかしながら、用いられる光源とフィルターを適切に設定することによって、UVB対UVAの比率を調整し、UVBによる光毒性の評価を可能とすることができる。UVBはほとんど表皮より下に到達しないことから、UVBによる光毒性は全身適用される医薬品においてほとんど問題とならない。しかしながら、UVBによる光毒性は、局所適用される製剤に関係してくる。UVB域の波長を主に吸収する局所製剤で *in vitro* の評価を必要とする場合には、改変した照射条件 (上記参照) で3T3 NRU PTを実施しても良い。あるいは、UVB耐性のより高い *in vitro* の皮膚モデルを用いても良い。

角質層を有するヒト皮膚の再構築モデルを用いれば、原薬から最終的な臨床製剤に至るまでの様々な局所適用物質の試験が可能となる。再構築ヒト皮膚を用いてこれまでに開発された試験法は、照射の有無により細胞の生死を測定するものである。そのような試験法では、ヒト皮膚に対する既知の急性光毒性物質を検出することが可能であると考えられる。しかし、*in vivo* のヒト皮膚よりも感受性が低く、陽性反応を生じる最低用量が高い試験法もある。したがって、使用する試験法の感度を理解し、より高濃度の製剤の使用や照射時間の延長など、妥当かつ可能な試験法の条件を適宜調整することが重要である。

投与経路によらず、眼における光毒性を特異的に評価できる *in vitro* モデルは存在しない。3T3 NRU PTやヒト皮膚再構築試験法で陰性結果が得られれば、リスクが低いことを示唆できるかもしれないが、眼の光毒性に対するこれらの試験法の予測性は不明である。

3.4 全身適用薬の *in vivo* 光安全性試験

全身適用薬の光毒性試験は、モルモット、マウス、ラット等の様々な動物種で実施されている。標準的試験デザインは確立されていないため、以下に述べる要素を現時点で最良の方法として使用しても差し支えない。

動物種の選択にあたっては、照射に対する感受性（最小紅斑量）、熱に対する忍容性、対照物質における成績を考慮すべきである。有色およびアルビノのいずれの動物モデルも利用可能である。光毒性の検出のためには、アルビノのほうが有色動物よりも感受性が高い傾向があるが、標的組織に十分な曝露が行えない場合、メラニンに著しく結合するAPI（第2.2項を参照のこと）に対して有色動物の使用を考慮すべきである。

*In vivo*の光毒性試験を実施する場合には、試験をデザインする前に、化合物の薬物動態学的プロファイルに関する情報を得ておくことが望ましい。これは、動物への照射を T_{max} 付近にて確実にいき、意図する臨床曝露に対応して適切な試験期間を選択できるようにするためである。関連する薬物動態学的データをまだ入手していない場合には、*in vivo*光毒性試験の一環として収集すべきである。

光毒性は、通常、急性反応であるが、*in vivo*の試験法の試験期間について慎重に考えるべきである。光に曝露される組織における反復投与後の化合物の蓄積は、光毒性反応を増大させる可能性がある。同様に、各投与後の反復照射も、損傷の蓄積により光毒性反応を増大させる可能性がある。一般に、可能であれば臨床で用いられる投与経路を使い、試験の投与期間は1日あるいは数日間までとするので十分である。投与後（ T_{max} 付近で）の照射については、単回あるいは連日反復実施のいずれを選択してもよい。

全身適用薬の非臨床 *in vivo* 光毒性試験における投与量を選択する際には、ヒトでのリスクアセスメントに資するものとすべきである。これらの試験における最高投与量は、ICH M3(R2) ガイドライン第 1.5 項に示されている一般毒性試験で推奨される投与量の規定に準じて決定することが適切と考える。最大投与量において陰性結果が得られる場合、通常、低用量での検討は必要でない。しかしながら、陽性結果が予測される場合は、追加的用量群を設定することにより、 C_{max} の比較を考慮しつつ、無毒性量に基づくリスクアセスメントを行うことが可能となる。溶媒対照群および非照射投与群の設定により、化合物に関連した光毒性を特定し、照射によらず誘導される有害事象と照射により誘導される有害事象を識別することができる。動物で設定可能な最大全身曝露量が臨床曝露量を下回る場合は、陰性結果が得られたとしても、ヒトでのリスクを予測する上で信頼性に疑問が残る。

通常、紅斑発現照射量の閾値未満の照射において、化合物により誘導されるもっとも鋭敏な光毒性の初期徴候は、紅斑とその後発現する浮腫である。反応の種類は、化合物により異なる可能性がある。光毒性反応が確認された場合は、それぞれにつき用量および時間依存性の評価を行い、可能であれば、無毒性量を決定すべきである。追加的エンドポイント（皮膚の初期炎症マーカー、急性の刺激性を示唆するリンパ節の反応など）を設定することにより、ハザードの特定が可能になるかもしれない。

400 nm超の光を吸収する全身適用薬に関して、動物で光毒性試験を行う場合に、網膜の光毒性は、詳細な病理組織学的評価を用いて検討すべきである。400 nm未満の光しか吸収しない化合物に関しては、そのような光の角膜、水晶体および硝子体での透過が限定的であり、成人の網膜に到達しないことから、網膜における評価を通常必要としない。

*In vivo*光毒性試験は、正式に検証されていないため、医薬品を含む適当な陽性対照物質を用いることにより、適切に使用できることを示す必要がある。試験法の適切性を確

立するためには、ヒトにおいて光毒性を示し、複数の化学的分類および光毒性発現機序からなる化合物を含めて検証すべきである。網膜光毒性に関する陽性対照物質としては、可視光領域（400 nm超）に吸収を有するものが推奨される。ある*in vivo*試験法が正式に検証されるか、あるいは一般に受け入れられ、試験実施施設で確立されている場合には、各試験における陽性対照物質の同時使用を必要としない。

全身適用薬についての光アレルギー試験は推奨されない。全身適用後のヒトにおける光アレルギー反応はまれであり、全身適用薬に関する非臨床光アレルギー試験法は確立されていない。

3.5 経皮適用薬の*in vivo* 光安全性試験

動物種の選択や、試験期間、照射条件など、全身投与における評価の場合に推奨される内容が、経皮投与の場合においても適用される。経皮適用薬では、一般的に臨床製剤を用いた試験を行うべきである。可能な限り、予定される臨床投与条件を採用する。曝露部位への照射は投与後、特定の時間に行うべきであり、投与から照射までの間隔は製剤の特性に基づいて決定すべきである。光毒性の兆候は、適切なエンドポイントに基づいて評価すべきである（第3.4項を参照のこと）。試験法の感度については、適切な陽性対照物質を用いて示すべきである。経皮適用薬の光毒性試験において、全身的な薬物濃度の評価は一般的に必要なない。

経皮投与の医薬品の場合、接触光アレルギーについては急性光毒性（光刺激性）と共に、非臨床試験で評価されてきた。しかし、このような試験法の正式なバリデーションは行われていない。これらの試験で観察される急性光刺激はヒトにも関係すると考えられるが、ヒトの光アレルギーに対して、これらの試験の予測性は不明である。製造販売承認申請のためには、非臨床光アレルギー試験が一般的に推奨されない。

4. 臨床における光安全性評価

ヒトでのデータ収集が必要とされる場合には、臨床試験での標準的な有害事象報告から、光安全性に目的を絞った臨床試験にわたる多くのオプションが存在する。詳細な方法についてはケースバイケースで決定される。

5. 評価手法

光安全性評価の方法の選択は、薬剤開発者に委ねられている。ICH M3(R2) ガイドラインでは、外来での臨床試験に先立ち、光化学的性質および薬理学的/化学的分類に基づく光毒性の初期評価を行うよう提案している。UV～可視光領域の吸収スペクトルの評価は、これを行えばさらなる光安全性評価を行う必要がなくなる場合もあることから、初期評価の手法として推奨される。さらに、ヒトへのリスクおよび追加的試験の必要性に関してさらに多くの情報を得るためには、皮膚および眼への分布を評価してもよい。その後、必要ならば、光毒性の実験的評価（*in vitro*、*in vivo*試験あるいは臨床的な評価）を多数の被験者への曝露（第Ⅲ相試験）を行う前に行うべきである。

図1に光毒性評価方法の概要を示す。図は、本ガイドラインの本文で概説された評価方法に基づく。評価方法はフレキシブルである。特定の状況において、評価の一部は任意であり、行う必要がない場合もある。

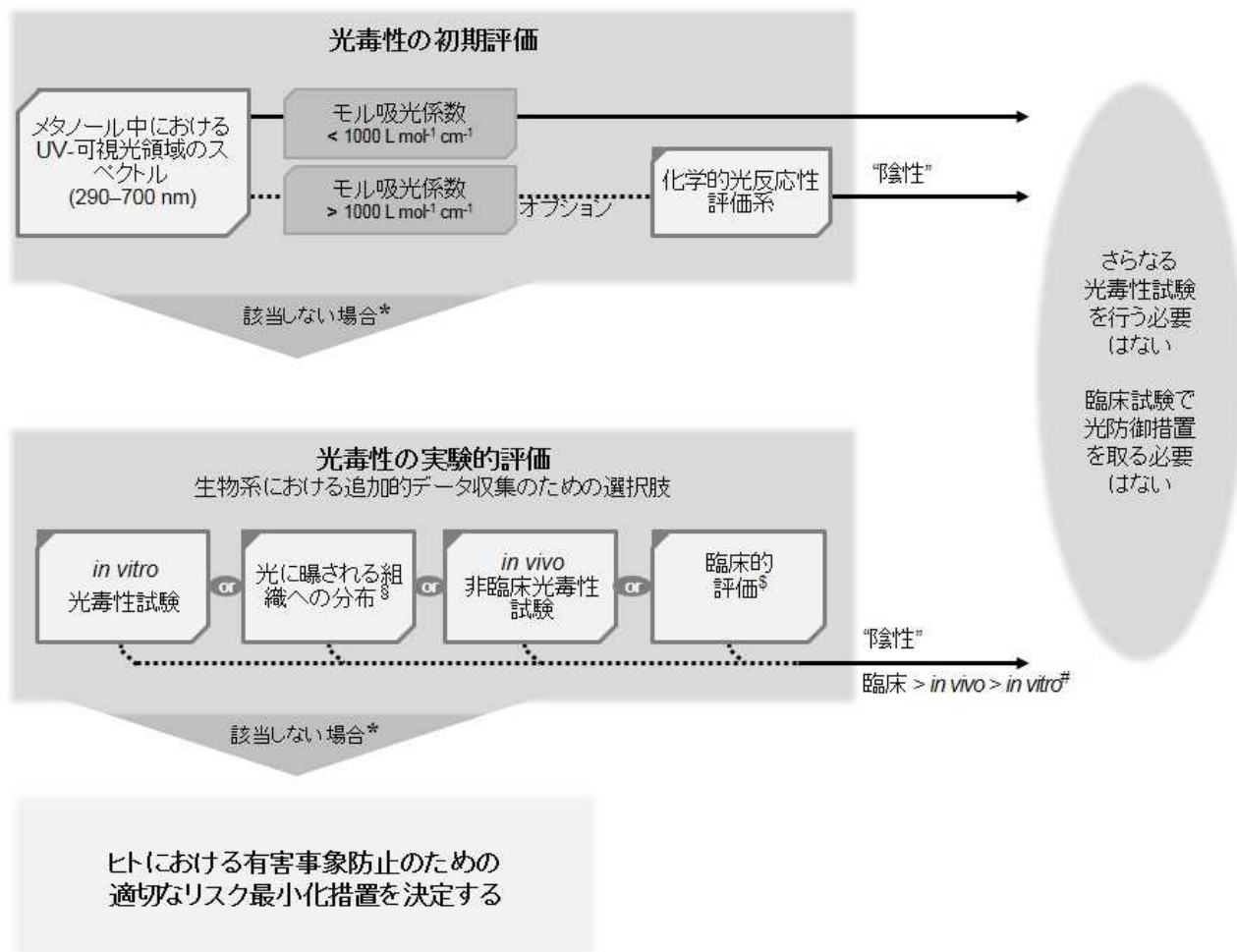


図1 全身および皮膚経路で投与される医薬品に関して考えられる光毒性評価方法の概要

- * データにより光毒性の懸念が小さいことが立証されない、あるいはデータがない（試験法/試験/評価が行われない）場合を指す。
- # 適切に行われた*in vivo*光毒性試験における“陰性”の結果は、*in vitro*での陽性結果に優先する。適切に実施された臨床光安全性評価で懸念が示されなかった場合は、非臨床での陽性結果に優先する。*In vitro*光毒性試験における陽性結果は、組織分布データにより、有効性を失う場合がある（本文参照）。米国では、皮膚適用される製品に関しては、市販予定製剤を用いた光安全性の臨床評価が必要になる場合がある。
- § 臨床試験での一般的有害事象報告から、光安全性評価のための臨床試験まで及ぶ。
- § 組織分布は皮膚適用する医薬品の光毒性のための考慮事項でない。

5.1 全身適用薬に推奨される評価手法

5.1.1 光毒性ポテンシャルの評価

その物質の MEC が $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (290–700 nm) を超えない場合、光安全性試験の実施は推奨されず、ヒトにおいて直接的な光毒性は発現しないものと考えられる。しかしながら、まれではあるが、間接的メカニズムによる光毒性（偽ポルフィリン症やポルフィリン症など）が起きる可能性が排除できないことに注意すべきである。MEC が $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 以上である化合物に関しては、薬剤開発者が光反応性試験の実施を選択する場合、陰性結果によってそれ以上の光安全性評価を不要とする判断を支持することができる（第 3.2 項を参照のこと）。それ以外の場合には、その物質の非臨床/臨床光安全性評価を実施すべきである。化学的分類上関連する化合物の光毒性に関して入手可能なデータについては、取るべきアプローチに関する情報がそこから得られる可能性があるため、評価すべきである。

5.1.2 光毒性の実験的評価

3Rの原則に従って動物の使用を減らすために、動物試験を行う前に、一般的には検証された *in vitro* の評価法を考慮すべきである（たとえば Directive 2010/63/EU を参照のこと）。薬剤開発者が *in vitro* のアプローチを選択する場合、現在のところ、3T3 NRU PT が最も広く用いられている試験法であり、多くの場合、最初の光毒性試験として考慮される。感度の高い 3T3 NRU PT は陰性結果の予測性に優れていることから、陰性結果はその化合物に光毒性がないとする十分な証拠として一般に受け入れられている。この場合、さらなる試験の実施は必要なく、ヒトへの直接的な光毒性は発現しないものと考えられる。

いくつかの条件下（たとえば難水溶性化合物）では、光毒性の初期評価として *in vitro* の試験法を用いるのが適切でない場合がある。この場合には、動物またはヒトを用いた評価が考慮される。あるいは、薬剤の分布データが入手できる場合には、ケースバイケースであるものの、それ以上の光安全性評価を不要とする判断を支持することができる（第 2.2 項を参照のこと）。

In vitro の光毒性評価法にて陽性結果が得られた場合、*in vitro* で検出された光毒性の *in vivo* における反応との関連性を評価するために、動物を用いた光毒性試験を実施することが可能である。あるいは、薬剤の分布データにより、*in vivo* における光毒性のリスクが非常に低いと判断される場合には、それ以上の光安全性評価を不要とする判断を支持することができる（第 2.2 項を参照のこと）。又は、別の選択肢として、光安全性リスクを臨床において評価したり、光防御手段を利用して管理することも可能である。適切に実施された動物あるいはヒトにおける光毒性試験の陰性結果は、*in vitro* の陽性結果よりも優先される。そのような場合、さらなる試験実施は必要なく、ヒトにおいて直接的な光毒性は発現しないものと考えられる。動物試験において陽性結果が得られた場合でも、 C_{\max} の比較を考慮した無毒性量に基づくリスク評価により、ヒトでの直接的な光毒性が発現する懸念が少ないと判断できることもある。それ以外の場合には、臨床評価が必要とされる。いずれの場合においても、適切に実施された臨床光毒性評価で問題がないことが示された場合は、非臨床での陽性結果よりも優先される。 *In vitro*

の光毒性試験における陽性結果は、その後に化学的光反応性試験（ROSアッセイなど）で陰性結果を得たととしても覆されない。

動物を用いた光毒性試験あるいは臨床光毒性試験がすでに実施されている場合は、その後に化学的光反応性試験あるいは*in vitro*光毒性試験を実施する必要がない。

5.2 経皮適用薬に推奨される評価手法

5.2.1 光毒性ポテンシャルの評価

有効成分および添加剤のMECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ （290–700 nm）を超えない場合は、さらなる光安全性試験の実施が推奨されず、ヒトにおいて光毒性が発現しないものと考えられる。MECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 以上の化合物についても、光反応性試験（ROSアッセイなど）で陰性結果が得られた場合、さらなる光安全性評価を必要としない場合がある（例外については注5を参照のこと）。それ以外の場合には、その物質の非臨床/臨床光安全性評価を実施すべきである。化学的分類上関連する化合物の光毒性に関して入手可能なデータについては、取るべきアプローチに関する情報がそこから得られる可能性があるため、評価すべきである。

経皮投与製剤の光毒性に関して、組織分布は、考慮すべき要因とならない。経皮投与製剤は、皮膚に直接適用されることから、塗布される部位が通常光に曝露されない場合を除き、光に曝露される組織に分布すると見なされる。

5.2.2 光毒性および光アレルギーの実験的評価

適切な試験条件（たとえば、溶解性の低さに起因する濃度制限がないこと、適切なUVB照射量が確保できること）が得られるのであれば、3T3 NRU PTをAPIおよび新規添加剤、それぞれの光毒性評価に用いることができる。光毒性のある成分が*in vitro*で特定されなかった場合には、その臨床製剤における光毒性ポテンシャルが全体として低いものと考えて差し支えない。

臨床製剤において光毒性反応に影響を与えるような性質（たとえば皮膚透過性や細胞内への取り込み）の一部は、3T3 NRU PTのみで評価することができない。したがって、臨床製剤を用いた評価や、臨床試験のモニタリング結果により、総合的な陰性結果の確認が必要である。

再構築されたヒト皮膚モデルは、臨床製剤の光毒性の評価に使用可能である。再構築されたヒト皮膚試験法で適切な条件下（第3.3項を参照のこと）において陰性結果が得られた場合には、その製剤の直接的な光毒性ポテンシャルが低いとみなすことができる。この場合、一般にさらなる試験実施は必要ない（例外については注5を参照のこと）。

適切な*in vitro*試験法がない場合には、初期評価から臨床製剤を用いて*in vivo*の光毒性試験を実施してもよい。適切に実施された*in vivo*動物試験で陰性結果が得られた場合には、当該製剤が直接的な光毒性を有しないと判断して差し支えなく、さらなる光毒性試験を実施する必要がない（例外については注5を参照のこと）。あるいは、光毒性ポテンシャルを臨床的に評価しても差し支えない。

290から700 nmの間のどの波長でもMECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を上回るAPIあるいは新規添加剤を含む経皮投与製剤については、光毒性に加え、光アレルギーの評価が一般的

に必要とされる。非臨床光アレルギー試験の予測性は不明であるため、一般的には市販予定製剤を用いた臨床評価として、第Ⅲ相試験の中で実施される。

局所曝露を目的に皮膚貼付剤として適用される臨床製剤の光安全性評価は、上記の経皮投与される臨床製剤に関する原則に従って行う。全身曝露を目的とした皮膚貼付剤に関しては、皮膚適用薬と全身適用薬の両者に関する原則を適用する。さらに、全体的リスク評価においては、意図する臨床における用法（使用時に奨励される皮膚領域、適用期間など）や貼付剤基剤の特性（UVと可視光を通さないなど）を考慮する。

6. 注釈

注1: 該当する波長を吸収し、MECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を超える眼に投与される化合物（点眼薬、眼内投与される薬剤など）については、光毒性ポテンシャルの評価を、光毒性評価の一般原則に従って行うべきである。眼における薬剤の分布および眼の光学的特性も考慮すべきである。化合物あるいは化学的分類上関連する化合物に関して入手できるすべてのデータは、総合的評価の中で考慮すべきである。

400 nm 未満の波長の光だけを吸収し、水晶体よりも後方（硝子体など）に眼内投与される化合物に関しては、成人の後眼部に到達する光が 400 nm 以上に限られることから、網膜光毒性に関する懸念が少ない。しかしながら、およそ 10 歳未満の小児の水晶体は 400 nm 未満の波長の光を完全には防御しない。

注2: 光遺伝毒性試験を標準的な光毒性試験プログラムの一部として実施することは推奨されない。過去にいくつかの地域的なガイドライン（たとえばCPMP/SWP/398/01）では、特に *in vitro* のほ乳類細胞を用いた光染色体異常誘発性試験（染色体異常試験あるいは小核試験）の実施を推奨していた。しかしながら、CPMP/SWP ガイドラインが発行されて以降のこれらのモデルにおける経験より、これらの試験は感度が過剰に高く、光染色体異常の偽陽性結果が生じることが報告されてきた（文献8）。さらに、光遺伝毒性試験データの解釈、すなわち臨床的に関連性のあるUV依存性の皮膚がん増加に対する意義は不明瞭である。

注3: MEC測定のための標準化された条件は非常に重要である。適切な溶媒の選択について、分析に必要な条件（たとえば溶解性やUV～可視領域の光の透過性）と生理学的な妥当性（たとえばpH 7.4の緩衝液）の両面から決定すべきである。メタノールは望ましい溶媒として推奨されており、MECの閾値を $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ とする際に用いられた（文献3）。UV～可視領域の光のスペクトルを測定する際には、潜在的な限界（たとえば、高濃度あるいは低溶解性に起因するアーティファクト）について考慮すべきである。もし、分子中のクロモフォアがpH感受性を有すると考えられる場合（たとえば、フェノール構造や芳香族アミン/カルボン酸など）には、水性のpH 7.4の緩衝条件下で追加的スペクトル測定を行うことにより、吸光スペクトルやMECの差異に関する有益な情報が得られる。メタノール中での測定とpH調整条件下での測定の間有意な差が認められた場合には、 $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ というMECの閾値を用いることはできない。

注4: 製薬企業体の実施した調査では、OECD TG 432に述べられている3T3 NRU PTにおいて高い割合（約50%）で陽性結果が得られ、その大部分が動物やヒトでの反応と関連しないことが示されている（文献9）。医薬品のデータの遡及的調査を受けて、試

験の最高濃度を1000から100 $\mu\text{g/mL}$ に下げることが適切とされた（文献10）。光照射条件下でこの濃度まで細胞毒性を示さない化合物は光毒性を有さないと考えて差し支えない。さらに、全身適用薬では、OECD TG 432で「光毒性の可能性あり」とされるカテゴリー（すなわちphoto irritation factor (PIF)値が2~5の間、あるいはmean photo effect (MPE)値が0.10~0.15の間）の場合、毒性学的関連性が疑わしい。このカテゴリーに含まれる化合物に関しては、一般的に光安全性評価をさらに行う必要がない。PIF値が2~5の化合物で照射なしで IC_{50} を測定することができない場合には、MPEの計算で陽性に分類されないこと、すなわちMPEが0.15未満であることを確認することが重要である。

光に当たるヒト組織で到達すると考えられる濃度よりもかけ離れて高い*in vitro*濃度のみで3T3 NRU PTが陽性となった全身適用薬に関しては、ケースバイケースで、また規制当局との協議の上、追加の*in vivo*試験を行わずに、ヒトでの光毒性に関して「低リスク」であると考えられることができる場合もある。

注5：米国では皮膚適用される製品に関しては、製品認可に必要な市販予定製剤（APIおよびすべての添加剤）を用いた光毒性（光刺激性）臨床試験が必要となる場合がある。

7. 用語の解説

3T3 NRU PT：*In vitro* 3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test（3T3ニュートラルレッド取り込み光毒性試験）。

評価：本ガイドライン内の意味としては、入手できるすべての情報を用いて判断を行うことであり、必ずしも追加試験を実施することを意味するわけでない。

クロモフォア：可視光あるいはUVを吸収する分子の部分構造。

経皮適用薬：皮膚に局所適用される医薬品。

直接的光毒性：医薬品あるいは添加剤が光を吸収することにより引き起こされる光毒性。

間接的光毒性：医薬品あるいは添加剤により引き起こされる細胞学的、生化学的、生理学的変化による光毒性であるが、医薬品あるいは添加剤の光化学的反応に関連しないもの（ヘム代謝の攪乱など）。

照度：照射されるUVあるいは可視光の単位面積当たりの強度であり、 W/m^2 あるいは mW/cm^2 で表される。

照射：ある物体がUVあるいは可視光に曝露される過程。

MEC：Molar Extinction Coefficient（モル吸光係数）は、ある特定の波長において分子が光子を吸収できる効率を反映し（通常 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ で表される）、溶媒などいくつかの要素による影響を受ける。

MPE: Mean Photo Effectは、3T3 NRU PTの結果から算出される。MPEは完全な濃度反応曲線との比較に基づく（OECD TG 432を参照）。

NOAEL：No Observed Adverse Effect Level（無毒性量）。

OECD TG : 経済協力開発機構試験法ガイドライン。

外来での臨床試験 : 患者が臨床試験実施施設に拘束されない臨床試験。

光反応生成物 : 光化学反応の結果として生じる新規化合物/構造。

光反応性 : 光の吸収の結果として他の分子と反応する化学物質の性質。

PIF: Photo Irritation Factorは3T3 NRU PTの結果から算出される照射時および非照射時のIC₅₀値の比。

ROS: Reactive Oxygen Speciesはスーパーオキシドアニオンや一重項酸素などを含む活性酸素種。

全身適用薬 : 全身曝露を意図して投与される医薬品。

UVA : 紫外線A (波長320–400 nm) 。

UVB : 紫外線B (波長280–320 nm ; 地上に到達する太陽光の一部としては波長290–320 nm) 。

8. 参考文献

1. ICH M3(R2) Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals; June 2009.
2. ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; Oct. 2009.
3. Bauer D, Averett LA, De Smedt A, Kleinman MH, Muster W, Pettersen BA, Robles C. Standardized UV-vis spectra as the foundation for a threshold-based, integrated photosafety evaluation. *Regul Toxicol Pharmacol* 2014;68(1):70-5.
4. ICH Q1B Guideline: Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products; Nov. 1996.
5. CIE-85-1989: Solar Spectral Irradiance; Jan. 1989.
6. OECD (2004), *Test No. 432: In vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing.
7. Onoue S, Igarashi N, Yamada S, Tsuda Y. High-throughput reactive oxygen species (ROS) assay: An enabling technology for screening the phototoxic potential of pharmaceutical substances. *J Pharm Biomed Anal* 2008; 46(1): 187–193.
8. Lynch AM, Robinson SA, Wilcox P, Smith MD, Kleinman M, Jiang K, Rees RW. Cycloheximide and disulfoton are positive in the photoclastogenicity assay but do not absorb UV irradiation: another example of pseudophotoclastogenicity? *Mutagenesis* 2008 ; 23(2):111-118.
9. Lynch, AM, Wilcox, P. Review of the performance of the 3T3 NRU *in vitro* phototoxicity assay in the pharmaceutical industry. *Exp Toxicol Pathol* 2011; 63(3): 209-214.

10. Ceridono M, et al. Workshop Report: The 3T3 neutral red uptake phototoxicity test: Practical experience and implications for phototoxicity testing – The report of an ECVAM–EFPIA workshop. *Regul Toxicol Pharmacol* 2012; 63(3): 480–488.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL
REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE

ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE

PHOTOSAFETY EVALUATION OF PHARMACEUTICALS

S10

Current *Step 4* version
dated 13 November 2013

This Guideline has been developed by the appropriate ICH Expert Working Group and has been subject to consultation by the regulatory parties, in accordance with the ICH Process. At Step 4 of the Process the final draft is recommended for adoption to the regulatory bodies of the European Union, Japan and USA.

**S10
Document History**

Code	History	Date
S10	Approval by the Steering Committee under <i>Step 2</i> and release for public consultation.	15 November 2012

Current *Step 4* version

S10	Approval by the Steering Committee under <i>Step 4</i> and recommendation for adoption to the three ICH regulatory bodies.	13 November 2013
-----	--	------------------

Legal Notice: *This document is protected by copyright and may be used, reproduced, incorporated into other works, adapted, modified, translated or distributed under a public license provided that ICH's copyright in the document is acknowledged at all times. In case of any adaption, modification or translation of the document, reasonable steps must be taken to clearly label, demarcate or otherwise identify that changes were made to or based on the original document. Any impression that the adaption, modification or translation of the original document is endorsed or sponsored by the ICH must be avoided.*

The document is provided "as is" without warranty of any kind. In no event shall the ICH or the authors of the original document be liable for any claim, damages or other liability arising from the use of the document.

The above-mentioned permissions do not apply to content supplied by third parties. Therefore, for documents where the copyright vests in a third party, permission for reproduction must be obtained from this copyright holder.

PHOTOSAFETY EVALUATION OF PHARMACEUTICALS

ICH Harmonised Tripartite Guideline

Having reached *Step 4* of the ICH Process at the ICH Steering Committee meeting on 13 November 2013 this guideline is recommended for adoption to the three regulatory parties to ICH.

TABLE OF CONTENTS

1. INTRODUCTION	1
1.1. Objectives of the Guideline	1
1.2. Background	1
1.3. Scope of the Guideline.....	1
1.4. General Principles.....	2
2. FACTORS TO CONSIDER IN THE PHOTOSAFETY EVALUATION	2
2.1. Photochemical Properties	2
2.2. Tissue Distribution/Pharmacokinetics	3
2.3. Metabolite Considerations	4
2.4. Pharmacological Properties	4
3. NONCLINICAL PHOTOSAFETY TESTS	4
3.1. General Considerations.....	4
3.2. Photoreactivity Tests Using Chemical Assays	5
3.3. Phototoxicity Tests Using <i>in vitro</i> Assays	5
3.4. Photosafety Tests Using <i>in vivo</i> Assays and Systemic Administration.....	6
3.5. Photosafety Tests Using <i>in vivo</i> Assays and Dermal Administration	7
4. CLINICAL PHOTOSAFETY ASSESSMENT	7
5. ASSESSMENT STRATEGIES	7
5.1. Recommendations for Pharmaceuticals Given <i>via</i> Systemic Routes	9
5.1.1 <i>Assessment of Phototoxicity Potential</i>	9
5.1.2 <i>Experimental Evaluation of Phototoxicity</i>	9
5.2. Recommendations for Pharmaceuticals Given <i>via</i> Dermal Routes	10
5.2.1 <i>Assessment of Phototoxicity Potential</i>	10
5.2.2 <i>Experimental Evaluation of Phototoxicity and Photoallergy</i>	10
6. ENDNOTES	11
7. GLOSSARY	13
8. REFERENCES	15

PHOTOSAFETY EVALUATION OF PHARMACEUTICALS

1. INTRODUCTION

1.1. Objectives of the Guideline

The purpose of this document is to recommend international standards for photosafety assessment, and to harmonise such assessments supporting human clinical trials and marketing authorizations for pharmaceuticals. It includes factors for initiation of and triggers for additional photosafety assessment and should be read in conjunction with ICH M3(R2), Section 14 on Photosafety Testing (Ref. 1). This guideline should reduce the likelihood that substantial differences in recommendations for photosafety assessment will exist among regions.

This guideline is divided into several sections. Section 2 discusses factors to consider in any evaluation of photosafety. Section 3 describes existing nonclinical photosafety tests, but this section does not describe specific testing strategies. Section 4 mentions clinical photosafety assessment. Section 5 provides strategies for determining how to assess photosafety for drugs given by routes intended to produce systemic exposure or by the dermal route using the considerations and tests described in Sections 2, 3 and 4.

Consideration should be given to the use of non-animal methods or clinical data for photosafety assessment which could reduce the use of animals in accordance with the 3R (Replacement/Reduction/Refinement) principles.

1.2. Background

The ICH M3(R2) Guideline provides certain information regarding timing of the photosafety assessment relative to clinical development. It recommends that an initial assessment of phototoxicity potential be conducted, and if appropriate, an experimental evaluation be undertaken before exposure of large numbers of subjects (Phase 3). Similarly, the ICH S9 Guideline (Ref. 2) describes the timing of photosafety testing for oncology products. However, neither ICH M3(R2) nor ICH S9 provides specific information regarding testing strategies. This ICH S10 Guideline outlines further details on when photosafety testing is warranted, and on possible assessment strategies.

1.3. Scope of the Guideline

This guideline generally applies to new Active Pharmaceutical Ingredients (APIs), new excipients clinical formulations for dermal application (including dermal patches), and photodynamic therapy products.

Specific guidance for pharmaceuticals given *via* ocular routes is not provided because the reliability of *in vitro* approaches in predicting ocular phototoxicity is unknown and there are no standardised *in vivo* approaches for assessing phototoxicity for products administered *via* the ocular routes (see Note 1).

Photodynamic therapy drugs are developed with photochemical reactivity as an inherent aspect of their intended pharmacology and additional assessment of their phototoxicity is not usually warranted. However, an evaluation of the toxicokinetics and tissue distribution of photodynamic therapy drugs is warranted to enable appropriate risk management in patients.

This guideline does not generally apply to peptides, proteins, antibody drug conjugates, or oligonucleotides. Further, this guideline does not apply to components of marketed

products unless there is a new cause for concern for either the API or an excipient (e.g., a reformulation from a tablet to a topical cream).

1.4. General Principles

The photosafety assessment of a pharmaceutical is an integrated process that can involve an evaluation of photochemical characteristics, data from nonclinical studies and human safety information. The photosafety assessment aims to determine whether risk minimization measures are warranted to prevent adverse events in humans.

Four different effects have been discussed in connection with photosafety testing: phototoxicity, photoallergy, photogenotoxicity and photocarcinogenicity. Testing for photogenotoxicity (Note 2) and photocarcinogenicity (Note 6 of ICH M3 (R2)) is not currently considered useful for human pharmaceuticals. This guideline addresses only phototoxicity and photoallergy effects as defined below:

- Phototoxicity (photoirritation): An acute light-induced tissue response to a photoreactive chemical.
- Photoallergy: An immunologically mediated reaction to a chemical, initiated by the formation of photoproducts (e.g., protein adducts) following a photochemical reaction.

Photosensitization is a general term occasionally used to describe all light-induced tissue reactions. However, in order to clearly distinguish between photoallergy and phototoxicity, the term photosensitization is not used in this guideline.

For a chemical to demonstrate phototoxicity and/or photoallergy, the following characteristics are critical:

- Absorbs light within the range of natural sunlight (290-700 nm);
- Generates a reactive species following absorption of UV-visible light;
- Distributes sufficiently to light-exposed tissues (e.g., skin, eye).

If one or more of these conditions is not met, a compound will usually not present a concern for direct phototoxicity. However, increased sensitivity of skin to light can also occur through indirect mechanisms. Such mechanisms are not generally addressed by the testing outlined in this guideline (see also Section 2.4).

2. FACTORS TO CONSIDER IN THE PHOTOSAFETY EVALUATION

2.1. Photochemical Properties

The initial consideration for assessment of photoreactive potential is whether a compound absorbs photons at any wavelength between 290 and 700 nm. A compound that does not have a Molar Extinction Coefficient (MEC) greater than 1000 L mol⁻¹ cm⁻¹ at any wavelength between 290 and 700 nm (Ref. 3) is not considered to be sufficiently photoreactive to result in direct phototoxicity (see Note 3 for further details).

Excitation of molecules by light can lead to generation of Reactive Oxygen Species (ROS), including superoxide anion and singlet oxygen *via* energy transfer mechanisms. Although photoreactivity can result in other molecular outcomes (e.g., formation of photoadducts or cytotoxic photoproducts), even in these cases, it appears that ROS are typically generated as well. Thus, ROS generation following irradiation with UV-visible light can be an indicator of phototoxicity potential.

Photostability testing (Ref. 4) can also suggest the potential for photoreactivity. However, not all photoreactive compounds are detected under these conditions, and

photodegradation *per se* does not imply that a drug will be phototoxic. Therefore, photostability testing alone should not be used to determine whether further photosafety evaluation is warranted.

Assessments of photochemical properties should be conducted using high-quality scientific standards with data collection records readily available, or in compliance with Good Laboratory Practices/Good Manufacturing Practices (GLP/GMP) regulations.

2.2. Tissue Distribution/Pharmacokinetics

The concentration of a photoreactive chemical in tissue at the time of light exposure is a very important pharmacokinetic parameter in determining whether a phototoxic reaction will occur. This concentration depends on a variety of factors, such as plasma concentration, perfusion of the tissue, partitioning from vascular to interstitial and cellular compartments, and binding, retention, and accumulation of the chemical in the tissue. The duration of exposure depends upon clearance rates as reflected by half lives in plasma and tissue. Collectively, these parameters define the mean residence time of the photoreactive chemical in tissue.

Binding, retention, or accumulation of a compound in a tissue is not critical for a phototoxic reaction. If a molecule is sufficiently photoreactive, it might produce a phototoxic reaction at the concentration achieved in plasma or interstitial fluid. However, compounds having longer half-lives in plasma, longer mean residence time in sun-exposed tissues or with higher tissue to plasma concentration ratios are more likely to produce a phototoxic reaction than compounds with shorter half-lives, residence times or lower tissue to plasma ratios. Further, the longer the concentration of a compound is maintained at a level above that critical for a photochemical reaction, the longer a person is at risk for phototoxicity.

Although a tissue concentration threshold below which the risk for phototoxic reactions would be negligible is scientifically plausible, there are currently no data to delineate such generic thresholds for all compounds. Nevertheless, on a case-by-case basis it can be possible to justify that further photosafety assessment is not warranted based upon actual or anticipated tissue drug levels in humans, and taking into consideration the factors discussed above. Examples could include: 1) a drug for which overall systemic exposure levels are very low, or 2) a drug with a very short plasma half-life or tissue residence.

Compound binding to tissue components (e.g., melanin, keratin) is one mechanism by which tissue retention and/or accumulation can occur. Although melanin binding can increase tissue levels, experience with melanin binding drugs suggests such binding alone does not present a photosafety concern.

A single-dose tissue distribution study, with animals assessed at multiple timepoints after dosing, will generally provide an adequate assessment of relative tissue to plasma concentration ratios, tissue residence time and the potential for retention and accumulation. Assessment time points should be appropriately spaced in such a study to account for the drug half-life.

Compounds activated by visible light and exhibiting long elimination half-lives in internal tissues have been demonstrated to cause injury to those tissues if exposed to intense light during medical procedures. Consequently, for those compounds activated by visible light with potent *in vivo* phototoxicity or known to be phototoxic based on their mechanism of action, such as photodynamic therapy drugs, distribution to internal tissues should be measured and tissue-specific half-lives estimated. Drugs that only absorb UV light or have short tissue elimination half-lives are not likely to present a risk to internal tissues even if they are known to be photoreactive.

2.3. Metabolite Considerations

Metabolites generally do not warrant separate photosafety assessments, as metabolism does not typically result in chromophores that are substantially different from those in the parent molecule.

2.4. Pharmacological Properties

In many cases, drug-induced phototoxicity is due to the chemical structure and not to the pharmacology. However, certain pharmacologic properties (e.g., immunosuppression, perturbation of heme homeostasis) can enhance susceptibility to light-induced effects, such as skin irritation or UV-induced skin tumor formation. The testing strategies outlined in this document are not designed to detect these types of indirect mechanisms. Some of these indirect mechanisms can be identified and evaluated in other nonclinical pharmacology/toxicity testing; however, phototoxicity related to other indirect mechanisms might only become apparent with human experience.

3. NONCLINICAL PHOTOSAFETY TESTS

3.1. General Considerations

Carefully selected conditions that consider both the model system and exposure to a relevant radiation spectrum are critical for nonclinical photosafety testing. Ideally, a nonclinical assay should exhibit both high sensitivity and specificity (i.e., low false negative and low false positive rates). However, to support the assessment strategies described in this document, it is most important that nonclinical photosafety assays show high sensitivity resulting in a low frequency of false negatives (i.e., a high negative predictive value). This is because negative assay results usually do not warrant further photosafety evaluation. The available nonclinical assays, both *in vitro* and *in vivo*, are focused primarily on detecting potential phototoxicity, which might or might not translate into clinically relevant phototoxicity.

Selection of irradiation conditions is critical for both *in vitro* and *in vivo* assays. Natural sunlight represents the broadest range of light exposure that humans might be exposed to regularly. However, sunlight *per se* is not well defined and depends on many factors, such as latitude, altitude, season, time of day, and weather. In addition, sensitivity of human skin to natural sunlight depends on a number of individual factors (e.g., skin type, anatomical site and tanning status). Standardized sunlight exposure conditions have been defined by various organizations. Such standards (e.g., Ref. 5) should be considered in order to assess suitability of a sunlight simulator light source, and irradiance and irradiation dose should be normalized based on the UVA part of the applied spectrum. UVA doses ranging from 5 to 20 J/cm² are successfully used in current *in vitro* and *in vivo* phototoxicity assays. These UVA doses are comparable to those obtained during prolonged outdoor activities on summer days around noon time, in temperate zones, and at sea level. In humans, sunburn reactions caused by UVB normally limit total sunlight exposure. In nonclinical phototoxicity assays, however, the amount of UVB should not limit the overall irradiation and might be attenuated (partially filtered) so that relevant UVA doses can be tested without reducing assay sensitivity. Penetration of UVB light into human skin is mainly limited to the epidermis, while UVA can reach capillary blood. Therefore, clinical relevance of photochemical activation by UVB is considered less important than activation by UVA for systemic drugs. However, UVB irradiation is relevant for topical formulations applied to light-exposed tissues.

The selection and monitoring of appropriate light sources (spectral distribution, irradiance, and dose) and the procedures used should be clearly described in the study methodology (e.g., Ref. 6).

3.2. Photoreactivity Tests Using Chemical Assays

If a drug developer chooses to assess photoreactivity, the assay should be qualified using pharmaceutical agents under appropriate conditions to demonstrate assay sensitivity. One such assay is a ROS assay (e.g., Ref. 7). Data suggest that this assay has high sensitivity for predicting direct *in vivo* phototoxicants. However, it has a low specificity, generating a high percentage of false positive results. A negative result in this assay, conducted under the appropriate conditions, would indicate a very low probability of phototoxicity, provided a test concentration of 200 μM can be achieved, whereas a positive result (at any concentration) would only be a flag for follow-up assessment.

3.3. Phototoxicity Tests Using *in vitro* Assays

A number of *in vitro* assays have been developed for assessing the phototoxicity potential of chemicals. Some of these assays have not been qualified for use with pharmaceuticals. Some assays involve testing compounds that are dissolved in the culture medium, and such methods are often appropriate for the active ingredient or excipients in drug products, depending on their solubility. Other assays involve direct application to the surface of a tissue preparation and can be appropriate for testing entire formulations intended to be administered topically.

The most widely used *in vitro* assay for phototoxicity is the 3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test (3T3 NRU-PT) for which an Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) guideline (Ref. 6) is available. This is currently considered the most appropriate *in vitro* screen for soluble compounds.

Although the formal European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) validation exercise conducted on this assay indicated a sensitivity of 93% and a specificity of 84%, experience within the pharmaceutical industry suggests a much lower specificity. The original OECD protocol was not validated for pharmaceuticals specifically. Thus, some modifications to the original OECD protocol have been proposed to address the low specificity observed with drug substances (see Note 4). These proposed changes are appropriate for the testing of pharmaceuticals. The sensitivity of the 3T3 NRU-PT is high and if a compound is negative in this assay it would have a very low probability of being phototoxic in humans. However, a positive result in the 3T3 NRU-PT should not be regarded as indicative of a likely clinical phototoxic risk, but rather a flag for follow-up assessment.

The BALB/c 3T3 cell line is sensitive to UVB and the initially recommended irradiation conditions (Ref. 6) involve the use of filters to attenuate wavelengths below 320 nm. However, depending on the light source and filters used, the ratio of UVB to UVA can be adjusted such that it is possible to assess UVB-induced phototoxicity in this test. UVB-induced phototoxicity is rarely a problem for pharmaceuticals with systemic exposure since UVB minimally penetrates beyond the epidermis. However, UVB-induced phototoxicity is more relevant for topical products. For components of topically applied products that absorb predominately in the UVB range, and where *in vitro* assessment is desired, the use of the 3T3 NRU-PT with modified irradiation conditions (see above) can be considered. Alternatively, *in vitro* skin models, which better tolerate UVB, could be considered.

Reconstructed human skin models, with the presence of a stratum corneum, permit testing of various types of topically applied materials ranging from neat chemicals to final

clinical formulations. The assays developed with reconstructed human skin to date measure cell viability with and without irradiation. These assays appear to be capable of detecting known human acute dermal phototoxicants. However, the sensitivity of some assays can be less than that of human skin *in vivo*, wherein the lowest concentration eliciting a positive response can be higher than in human skin *in vivo*. Consequently, it is important to understand the sensitivity of any assay selected and, if appropriate and feasible, to adjust the assay conditions accordingly (e.g., testing higher strength formulations, increasing exposure time).

There are no *in vitro* models that specifically assess ocular phototoxicity, regardless of the route of administration. While negative results in the 3T3 NRU-PT or a reconstructed human skin assay might suggest a low risk, the predictive value of these assays for ocular phototoxicity is unknown.

3.4. Photosafety Tests Using *in vivo* Assays and Systemic Administration

Phototoxicity testing for systemically administered compounds has been conducted in a variety of species, including guinea pig, mouse, and rat. No standardized study design has been established and thus the following factors might be considered as best practices.

For species selection, irradiation sensitivity (i.e., minimal erythema dose), heat tolerance, and performance of reference substances should be considered. Models with both pigmented and non-pigmented animals are available. Although non-pigmented skin tends to be more sensitive than pigmented skin for detecting phototoxicity, pigmented skin should be considered for APIs that bind significantly to melanin (see Section 2.2) if appropriate exposures in target tissues cannot be ensured otherwise.

If an *in vivo* phototoxicity study is conducted, it is desirable to have some information about the pharmacokinetic profile of the compound before designing the study. This is to ensure that irradiation of the animals is conducted at the approximate T_{max} and to assist in the selection of an appropriate study duration in relation to the intended clinical exposure. Relevant pharmacokinetic data, if not already available, should be collected as part of the *in vivo* phototoxicity study.

Although phototoxicity is typically an acute reaction, the duration of an *in vivo* assay should be carefully considered. Accumulation of compound in relevant light-exposed tissues after repeated administration might lead to an increased phototoxic response. Similarly, repeated irradiation after each dose might also lead to an increased phototoxic response due to the accumulation of damage. Generally, studies of a single day or up to a few days' duration of dosing are appropriate, using the clinical route of administration, if feasible. Single or repeated daily irradiations after dosing (around T_{max}) can be used.

Dose selection for *in vivo* nonclinical phototoxicity testing of systemic drugs should support a meaningful human risk assessment. For such studies a maximum dose level that complies with the recommendations for general toxicity studies in ICH M3(R2) Section 1.5 is considered appropriate. If a negative result is obtained at the maximum dose, testing of lower doses is usually not warranted. However, if a positive result is anticipated, additional dose groups can support a NOAEL-based risk assessment, typically considering C_{max} comparisons. Vehicle and non-irradiated controls can help identify compound-related phototoxicity and distinguish irradiation-induced from non-irradiation-induced adverse reactions. If the maximum systemic exposure achieved in animals is lower than clinical exposure, the reliability of a negative result in predicting human risk is questionable.

The most sensitive early signs of compound-induced phototoxicity are usually erythema followed by edema at a normally sub-erythemogenic irradiation dose. The type of response might vary with the compound. Any identified phototoxicity reaction should be

evaluated regarding dose and time dependency and, if possible, the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) should be established. The hazard identification might be further supported by additional endpoints (e.g., early inflammatory markers in skin or lymph node reactions indicative of acute irritation).

If a phototoxicity study is conducted in animals for a systemic drug that absorbs light above 400 nm, phototoxicity of the retina should be assessed using a detailed histopathological evaluation. For compounds that only absorb light below 400 nm, retinal assessment is usually not warranted because such wavelengths do not reach the retina of the adult human eye due to limited penetration of the cornea, lens and vitreous body.

Adequate performance of *in vivo* phototoxicity assays, which are not formally validated, should be demonstrated using suitable reference compounds, including pharmaceuticals. Compounds that are phototoxic in humans and that represent different chemical classes and mechanisms of phototoxicity should be included to establish adequacy of the assays. For retinal phototoxicity, a reference compound with a light absorption profile within the visible light range (i.e., above 400 nm) is recommended. The concurrent use of a positive control compound might not be warranted if an *in vivo* assay has been formally validated or has reached general acceptance and is established in the testing facility.

Testing for photoallergy is not recommended for compounds that are administered systemically. Photoallergy reactions in humans following systemic administration are rare and there are no established nonclinical photoallergy assays for systemically administered compounds.

3.5. Photosafety Tests Using *in vivo* Assays and Dermal Administration

The main recommendations provided for investigating the systemic route of administration also apply to dermal administration, including those for species selection, study duration, and irradiation conditions. For dermal drug products in general, the clinical formulation should be tested. The intended clinical conditions of administration should be used to the extent possible. Irradiation of the exposed area should take place at a specified time after application, and the interval between application and irradiation should be justified based on the specific properties of the formulation to be tested. Signs of phototoxicity should be assessed based on relevant endpoints (see Section 3.4). The sensitivity of the assay should be demonstrated using appropriate reference compounds. Assessment of systemic drug levels is generally not warranted in dermal phototoxicity studies.

For dermal drug products, contact photoallergy has often been assessed in a nonclinical study along with acute phototoxicity (photoirritation). However, no formal validation of such assays has been performed. While the acute photoirritation observed in these studies is considered relevant to humans, the predictivity of these studies for human photoallergy is unknown. For regulatory purposes, such nonclinical photoallergy testing is generally not recommended.

4. CLINICAL PHOTOSAFETY ASSESSMENT

There are various options for collecting human data, if warranted, ranging from standard reporting of adverse events in clinical studies to a dedicated clinical photosafety trial. The precise strategy is determined on a case-by-case basis.

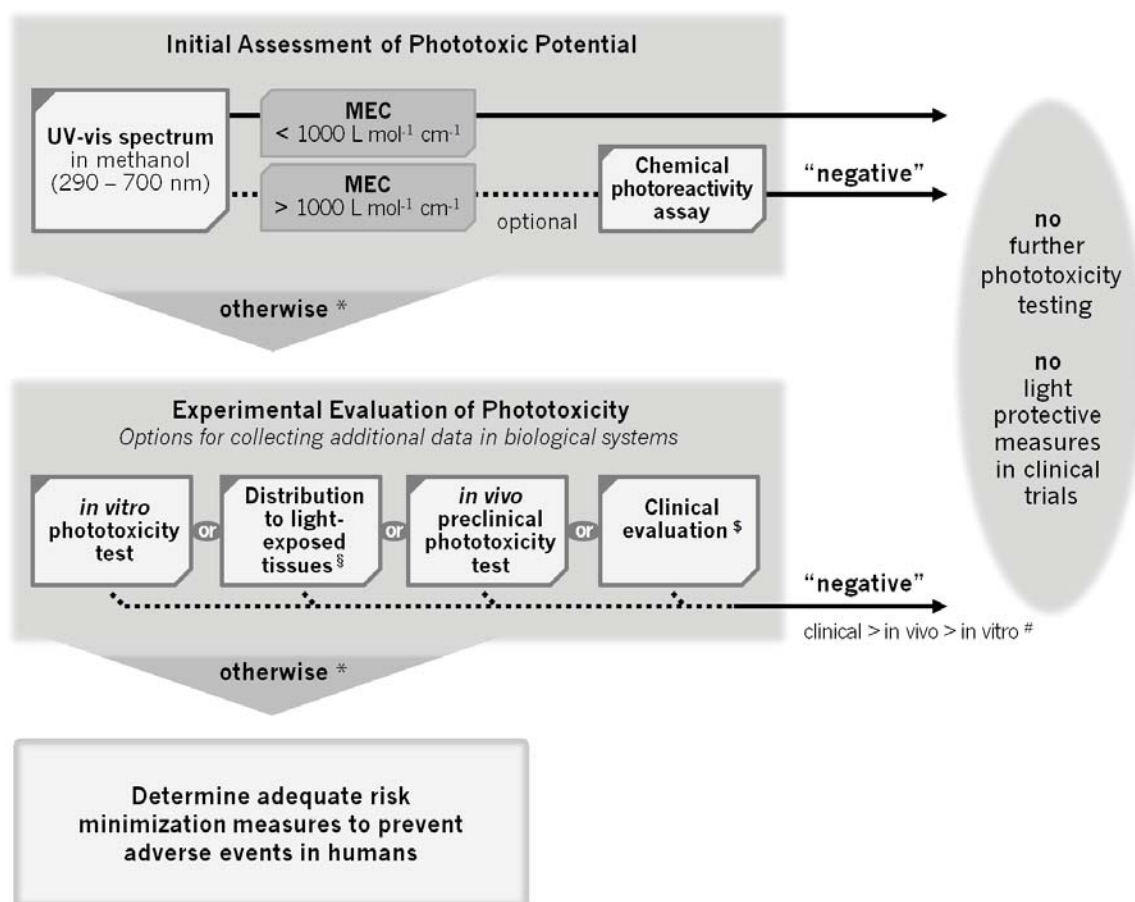
5. ASSESSMENT STRATEGIES

The choice of the photosafety assessment strategy is up to the drug developer. ICH M3(R2) suggests that an initial assessment of the phototoxicity potential based on

photochemical properties and pharmacological/chemical class be undertaken before outpatient studies. Characterization of the UV-visible absorption spectrum is recommended as the initial assessment because it can obviate any further photosafety evaluation. In addition, the distribution to skin and eye can be evaluated to inform further on the human risk and the recommendations for further testing. Then, if appropriate, an experimental evaluation of phototoxicity potential (*in vitro* or *in vivo*, or clinical) should be undertaken before exposure of large numbers of subjects (Phase 3).

Figure 1 provides an outline of possible phototoxicity assessment strategies. The figure is based on the strategies outlined in this section of this document. The strategies are flexible. Depending on the particular situation, some portions of the assessment are optional and might not be conducted.

Figure 1. Outline of possible phototoxicity assessment strategies for pharmaceuticals given *via* systemic and dermal routes



* "otherwise": data do not support a low potential for phototoxicity or have not been generated (assay/test/evaluation not conducted)

A "negative" result in an appropriately conducted *in vivo* phototoxicity study supersedes a positive *in vitro* result. A robust clinical phototoxicity assessment indicating no concern supersedes any positive nonclinical results. A positive result in an *in vitro* phototoxicity test could also, on a case-by-case basis, be negated by tissue distribution data (see text). In the United States, for products applied dermally, a dedicated clinical trial for phototoxicity on the to-be-marketed formulation can be warranted in support of product approval.

§ Clinical evaluation could range from standard reporting of adverse events in clinical studies to a dedicated clinical photosafety trial.

§ Tissue distribution is not a consideration for the phototoxicity of dermal products.

5.1. Recommendations for Pharmaceuticals Given *via* Systemic Routes

5.1.1 Assessment of Phototoxicity Potential

If the substance does not have a MEC greater than $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (between 290 and 700 nm), no photosafety testing is recommended and no direct phototoxicity is anticipated in humans. However, it should be noted that phototoxicity by indirect mechanisms (e.g., pseudoporphyria or porphyria), although rare, could still occur. For compounds with MEC values of $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ or higher, if the drug developer chooses to conduct a test for photoreactivity a negative result could support a decision that no further photosafety assessment is warranted (see Section 3.2). Otherwise, nonclinical and/or clinical photosafety assessment of the substance should be conducted. Available data on the phototoxicity of chemical class-related compounds should be evaluated as this could inform on the approach to be taken.

5.1.2 Experimental Evaluation of Phototoxicity

In order to reduce the use of animals in accordance with the 3R principles, a validated *in vitro* method should generally be considered before conducting animal testing (e.g., see Directive 2010/63/EU). If the drug developer chooses an *in vitro* approach, the 3T3 NRU-PT is currently the most widely used assay and in many cases could be considered as an initial test for phototoxicity. The high sensitivity of the 3T3 NRU-PT results in good negative predictivity, and negative results are generally accepted as sufficient evidence that a substance is not phototoxic. In such cases no further testing is recommended and no direct phototoxicity is anticipated in humans.

In some situations (e.g., poorly soluble compounds) an initial assessment of phototoxicity in an *in vitro* assay might not be appropriate. In this case, an assessment in animals or in humans could be considered. Alternatively, if drug distribution data are available, they could, on a case-by-case basis, support a decision that no further photosafety assessment is warranted (see Section 2.2).

If an *in vitro* phototoxicity assay gives a positive result, a phototoxicity study in animals could be conducted to assess whether the potential phototoxicity identified *in vitro* correlates with a response *in vivo*. Alternatively, drug distribution data could, on a case-by-case basis, support a position that the risk of phototoxicity *in vivo* is very low and that no further photosafety assessment is warranted (see Section 2.2). As another option, the photosafety risk could be assessed in the clinical setting, or managed by the use of light-protective measures. A negative result in an appropriately conducted phototoxicity study either in animals or humans supersedes a positive *in vitro* result. In such cases no further testing is recommended and no direct phototoxicity is anticipated in humans.

A positive result in an *in vivo* animal study can, in certain circumstances, be mitigated using a NOAEL-based risk assessment, typically considering C_{max} comparisons. Otherwise, a clinical assessment is warranted. In all cases a robust clinical phototoxicity assessment indicating no concern supersedes any positive nonclinical results.

A positive result in an *in vitro* phototoxicity test would not be negated by a negative result in a subsequently conducted chemical photoreactivity assay (e.g., a ROS assay).

In cases where an animal or clinical phototoxicity study has already been conducted, there is no reason to subsequently conduct either a chemical photoreactivity or an *in vitro* phototoxicity assay.

5.2. Recommendations for Pharmaceuticals Given *via* Dermal Routes

5.2.1 Assessment of Phototoxicity Potential

If the active substance and excipients do not have MEC values greater than $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (between 290 and 700 nm), no further photosafety testing is recommended and no phototoxicity is anticipated in humans. For compounds with MEC values of $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ or higher, negative photoreactivity test results (e.g., a ROS assay) can support a decision that no further photosafety assessment is warranted (see Note 5 for exception). If further assessment is warranted, available data on the phototoxicity of chemical class-related compounds should be evaluated, as this could inform on the approach to be taken.

Tissue distribution is not a consideration for the phototoxicity of dermal products. Dermal products are administered directly to the skin and hence, unless they are applied to areas not usually exposed to light, are assumed to be present in light-exposed tissues.

5.2.2 Experimental Evaluation of Phototoxicity and Photoallergy

The 3T3 NRU-PT can be used to assess individually the phototoxicity potential of the API and any new excipient(s), provided that appropriate testing conditions can be achieved (e.g., test concentrations not limited by poor solubility, relevant UVB dose can be applied). In cases where no phototoxic component has been identified *in vitro*, the overall phototoxicity potential of the clinical formulation can be regarded as low.

Some properties of the clinical formulation that could influence the potential phototoxic response (e.g., penetration into skin, intracellular uptake) cannot be evaluated using the 3T3 NRU-PT alone. Therefore, confirmation of the overall negative result in an evaluation using the clinical formulation and/or monitoring during clinical trials can still be warranted.

Reconstructed human skin models can be used to assess the phototoxicity potential of clinical formulations. Under adequate test conditions (see Section 3.3), a negative result in a reconstructed human skin assay indicates that the direct phototoxicity potential of the formulation can be regarded as low. In this case, generally no further phototoxicity testing is recommended (see Note 5 for exception).

If an appropriate *in vitro* assay is not available, the initial test could be an *in vivo* phototoxicity test on the clinical formulation. A negative result in an appropriately conducted *in vivo* animal phototoxicity study would be sufficient evidence that the formulation is not directly phototoxic and no further phototoxicity testing is recommended (see Note 5 for exception). Alternatively, the phototoxicity potential can be assessed in the clinical setting.

For dermal products where the API or any new excipient has a MEC value greater than $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ at any wavelength between 290 and 700 nm, a photoallergy assessment is generally warranted in addition to phototoxicity testing. As the predictivity of nonclinical photoallergy tests is unknown, this would typically be a clinical assessment using the to-be-marketed formulation and conducted during Phase 3.

Photosafety evaluation of the clinical formulation delivered *via* dermal patches can follow the above described principles for clinical dermal formulations. For transdermal patches, the principles for both dermal and systemic drugs should be applied. In addition, the intended clinical use (e.g., skin area recommended for use, duration of application) and the properties of the patch matrix (e.g., being opaque to UV and visible light) should be considered for the overall risk assessment.

6. ENDNOTES

Note 1 For compounds that absorb at relevant wavelengths, have a MEC value greater than $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, and are given *via* ocular routes (e.g., eye drops, intraocular injections), an evaluation of the phototoxicity potential should be undertaken in accordance with the general principles of phototoxicity assessment. Biodistribution of drug in the eye, and optical properties of the eye should also be considered. Any available information on the compound or chemical class-related compounds should be considered in the overall assessment.

Compounds that only absorb light at wavelengths below 400 nm and are to be administered as intraocular injections behind the lens (e.g., in the vitreous) are of low concern for retinal phototoxicity, as only light of wavelengths greater than 400 nm reaches the back of the adult eye. However, the lens in children of less than approximately 10 years of age is not completely protective against wavelengths below 400 nm.

Note 2 Testing for photogenotoxicity is not recommended as a part of the standard photosafety testing program. In the past, some regional guidelines (e.g., CPMP/SWP/398/01) have recommended that photogenotoxicity testing be conducted, preferentially using a photoclastogenicity assay (chromosomal aberration or micronucleus test) in mammalian cells *in vitro*. However, experience with these models since the CPMP/SWP guideline was issued has indicated that these tests are substantially oversensitive and even incidences of pseudo-photoclastogenicity have been reported (Ref. 8). Furthermore, the interpretation of photogenotoxicity data regarding its meaning for clinically relevant enhancement of UV-mediated skin cancer is unclear.

Note 3 Standardized conditions for determination of the MECs are critical. Selection of an adequate solvent is driven by both analytical requirements (e.g., dissolving power, UV-visible light transparency) and physiological relevance (e.g., pH 7.4-buffered aqueous conditions). Methanol is recommended as a preferred solvent and was used to support the MEC threshold of $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Ref. 3). When measuring UV-visible light spectra, potential limitations (e.g., artifacts due to high concentrations or low solubility, including slow precipitation) should be considered. If the chromophore of the molecule appears to be pH-sensitive (e.g., phenolic structure, aromatic amines, carboxylic acids, etc.) an additional spectrum obtained under aqueous, pH 7.4-buffered conditions, could add valuable information regarding differences in the shape of the absorption spectrum and in the MECs. If significant differences are seen between measurements obtained in methanol versus pH-adjusted conditions, the MEC threshold of $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ cannot be used to obviate further photosafety assessment.

Note 4 A survey of pharmaceutical companies indicated that the 3T3 NRU-PT, as described in Organisation for Economic Co-operation and Development, Test Guideline (OECD TG) 432, generates a high percentage of positive results (approximately 50%), the majority of which do not correlate with phototoxicity responses in animals or humans (Ref. 9). Following a retrospective review of data for pharmaceuticals, a reduction of the maximum test concentration from 1000 to 100 $\mu\text{g/mL}$ appears justified (Ref. 10). Compounds without any significant cytotoxicity (under irradiation) up to this limit can be considered as being devoid of relevant phototoxicity. In addition, the category named “probable phototoxicity” per OECD TG 432 (i.e., Photo Irritation Factor (PIF))

values between 2 and 5 or Mean Photo Effect (MPE) values between 0.10 and 0.15) is of questionable toxicological relevance for systemic drugs. Compounds in this category generally do not warrant further photosafety evaluations. For compounds with a PIF value between 2 and 5, and for which it is not possible to determine an IC₅₀ in the absence of irradiation, it is important to check that the compound is not classified as positive using the MPE calculation, i.e., that the MPE is less than 0.15.

Systemic drugs that are positive in the 3T3 NRU-PT only at *in vitro* concentrations that are many times higher than drug concentrations likely to be achieved in light-exposed tissues in humans, can, on a case-by-case basis, and in consultation with regulatory authorities, be considered to be 'low risk' for phototoxicity in humans, without follow-up *in vivo* testing.

Note 5 In the United States, for products applied dermally, a dedicated clinical trial for phototoxicity (photoirritation) on the to-be-marketed formulation (API plus all excipients) can be warranted in support of product approval.

7. GLOSSARY

3T3 NRU-PT:

In vitro 3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test.

Assessment:

In the context of this document, an assessment is an evaluation of all available information and does not always mean an additional test is conducted.

Chromophore:

The substructure of a molecule that absorbs visible or ultraviolet light.

Dermal Drugs:

Products applied topically to the skin.

Direct Phototoxicity:

Phototoxicity induced by absorption of light by the drug or excipient.

Indirect Phototoxicity:

Phototoxicity due to cellular, biochemical or physiological alterations caused by the drug or excipient, but not related to photochemical reactivity of the drug or excipient (e.g., perturbation of heme homeostasis).

Irradiance:

The intensity of UV or visible light incident on a surface, measured in W/m² or mW/cm².

Irradiation:

The process by which an object/subject is exposed to UV or visible radiation.

MEC:

Molar Extinction Coefficient (also called molar absorptivity) reflects the efficiency with which a molecule can absorb a photon at a particular wavelength (typically expressed as L mol⁻¹ cm⁻¹) and is influenced by several factors, such as solvent.

MPE:

The Mean Photo Effect is calculated for results of the 3T3 NRU-PT. The MPE is based on comparison of the complete concentration response curves (see OECD TG 432).

NOAEL:

No Observed Adverse Effect Level.

OECD TG:

Organisation for Economic Co-operation and Development, Test Guideline.

Outpatient Study:

A clinical study in which patients are not restricted to a clinical site.

Photoproducts:

New compounds/structures formed as a result of a photochemical reaction.

Photoreactivity:

The property of chemicals to react with another molecule as a consequence of absorption of photons.

PIF:

Photo Irritation Factor is calculated for results of the 3T3 NRU-PT by comparing the IC₅₀ values obtained with and without irradiation.

ROS:

Reactive Oxygen Species, including superoxide anion and singlet oxygen.

Systemic drugs:

Products administered by a route that is intended to produce systemic exposure.

UVA:

Ultraviolet light A (wavelengths between 320 and 400 nm).

UVB:

Ultraviolet light B (wavelengths between 280 and 320 nm; as a part of sunlight wavelengths between 290 and 320 nm).

8. REFERENCES

1. ICH M3(R2) Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals; June 2009.
2. ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; October 2009.
3. Bauer D, Averett LA, De Smedt A, Kleinman MH, Muster W, Pettersen BA, et al. Standardized UV-vis spectra as the foundation for a threshold-based, integrated photosafety evaluation. *Regul Toxicol Pharmacol* 2014;68(1):70-5.
4. ICH Q1B Guideline: Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products; November 1996.
5. Solar spectral irradiance. CIE 1989 Jan;85.
6. Test No. 432: In vitro 3T3 NRU phototoxicity test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Section 4 2004 Nov.
7. Onoue S, Igarashi N, Yamada S, Tsuda Y. High-throughput reactive oxygen species (ROS) assay: An enabling technology for screening the phototoxic potential of pharmaceutical substances. *J Pharm Biomed Anal* 2008;46(1):187-93.
8. Lynch AM, Robinson SA, Wilcox P, Smith MD, Kleinman M, Jiang K, et al. Cycloheximide and disulfoton are positive in the photoclastogenicity assay but do not absorb UV irradiation: another example of pseudophotoclastogenicity? *Mutagenesis* 2008 Mar;23(2):111-8.
9. Lynch AM, Wilcox P. Review of the performance of the 3T3 NRU in vitro phototoxicity assay in the pharmaceutical industry. *Exp Toxicol Pathol* 2011 Mar;63(3):209-14.
10. Ceridono M, Tellner P, Bauer D, Barroso J, Alépée N, Corvi R, et al. Workshop Report: The 3T3 neutral red uptake phototoxicity test: Practical experience and implications for phototoxicity testing – The report of an ECVAM–EFPIA workshop. *Regul Toxicol Pharmacol* 2012;63(3):480-8.