

アマリール

アマリール 1mg 錠

アマリール 3mg 錠

(グリメピリド) に関する資料

ヘキスト・マリオン・ルセル株式会社

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、ヘキスト・マリオン・ルセル株式会社にあります。

目次

イ. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等	
1.起原又は発見の経緯及び開発の経緯	1
2.特徴及び有用性	9
3.特許状況	11
4.国外における使用状況等	11
5.一般的名称	14
6.同種同効品	15
ロ.物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法	
1.構造決定及び物理的・化学的性質	29
総括	29
(1)構造決定	30
(2)物理的・化学的性質	38
2.規格, 試験方法及び設定理由	46
総括	46
(1)グリメピリド	48
(2)グリメピリド錠	61
3.製剤設計	74
ハ.安定性	
総括	75
1.グリメピリドの安定性	76
2.グリメピリド錠の安定性	89
ニ.急性毒性, 亜急性毒性, 慢性毒性, 催奇形性その他の毒性	
総括	123
1.急性毒性	129
2.亜急性及び慢性毒性	133
3.生殖に及ぼす影響	149
4.依存性	162
5.抗原性	162
6.変異原性	163
7.癌原性	167
8.類縁物質の毒性	178

木.薬理作用

I. 薬効薬理試験.....	181
総括.....	181
1.血糖降下作用.....	193
2.血糖降下の作用機序.....	197
3.血小板凝集抑制作用.....	210
4.粥状硬化抑制作用.....	213
5.代謝物の薬理作用.....	214
II. 一般薬理試験.....	215
総括.....	215
一般薬理試験総括表.....	216

へ. 吸収, 分布, 代謝, 排泄

総括.....	217
1.体液, 組織内濃度測定法.....	221
2.動物における成績.....	222
3.ヒトにおける成績.....	243
4.製剤の生物学的同等性.....	253

ト. 臨床試験

総括.....	257
I. 臨床試験成績.....	263
1. 第I相試験.....	263
(1)健常人における朝食直前単回投与試験.....	263
(2)健常人における空腹時単回投与試験.....	266
(3)NIDDM患者における7日間連続投与試験.....	269
2.前期第II相試験.....	272
3.後期第II相試験.....	284
(1)プラセボを対照とした二重盲検比較試験.....	284
(2)至適用量検索試験.....	301
4.第III相比較試験.....	318
5.臨床薬理試験.....	353
(1)健常人における血糖降下作用の検討.....	353
(2)IDDM患者における糖取込み作用の検討.....	355
6.長期投与試験.....	357
7.追加臨床試験.....	367

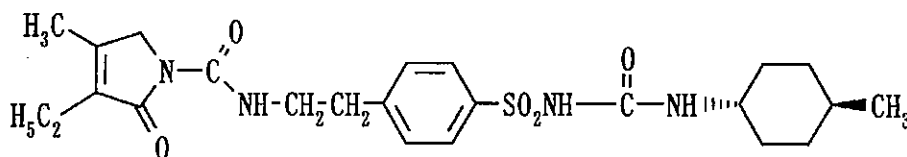
II.臨床試験成績のまとめ	427
(1) 第Ⅱ相、第Ⅲ相試験及び追加臨床試験のまとめ	427
(2) 安全性のまとめ	428
(3) 高齢者についての検討	446
III.国外での使用状況及び臨床試験成績の要約	447
(1) 国外での使用状況	447
(2) 国外での臨床試験成績の要約	447
IV.効能・効果、用法・用量、「使用上の注意」(案)及びその設定根拠	451
(1) 効能・効果及びその設定根拠	451
(2) 用法・用量及びその設定根拠	452
(3) 「使用上の注意」(案)及びその設定根拠	456
V.毒薬・劇薬等の指定審査資料のまとめ	461

イ. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等

1. 起原又は発見の経緯及び開発の経緯

(1) はじめに

グリメピリド (開発コード:HOE490) は、ドイツヘキストAGで合成されたスルホニルウレア系の経口血糖降下剤である。その化学構造式を図イ-1に示す。



図イ-1 グリメピリドの化学構造式

(2) 起原又は発見の経緯

スルホニルウレア剤 (SU剤) は、スルホンアミド系抗菌剤の副作用である血糖降下作用に注目して開発された経口血糖降下剤である。

1956年Ehrhardtによって、抗菌作用のないSU剤であるトルブタミドが発表され、SU剤の時代が始まった。1969年、Rottach-Egner らによって従来のSU剤と比較して、極めて少量で効果のあるグリベンクラミドが導入され、SU剤の第2世代の幕開けとなった。この他の第2世代SU剤として、グリピザイド、グリソキセピド、グリクラジドなどがあるが、本邦で使用されているものはグリベンクラミドとグリクラジドであり、この2剤で全SU剤使用量の3/4以上を占めている。

SU剤の血糖降下作用としては、膵β細胞からのインスリン分泌促進作用 (膵作用) に加えて、SU剤の直接作用もしくはインスリン作用の増強 (膵外作用) が示唆されていた。

しかし、近年膵β細胞上にSU剤結合部位 (レセプター) の存在が確認され、このレセプターとの結合親和性の程度は既存のSU剤の血糖降下作用と良く相関する¹⁾ ことから、現在はこれらのSU剤の血糖降下作用は膵作用によるものであると考えられている。

インスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) の発症機序はまだ明らかになってはいないが、膵β細胞からのインスリン分泌不全と、組織におけるインスリン抵抗性による糖取り込みの低下 (インスリン作用の低下) が、NIDDMの特徴となっている。この点からNIDDM患者の治療に対して膵作用と膵外作用を有する薬剤の出現が待たれている。

また、現在の糖尿病治療における最大の問題点は、いかにして糖尿病性合併症の発症・進展を防止するかにある。この糖尿病性合併症として網膜症、腎症、動脈硬化などがあり、それらに共通して血管障害が見られる。

その発生に大きく関与しているのが、高血糖及び血清脂質の上昇並びに血小板機能の異常であると考えられている。

糖尿病性合併症の進展防止に対しても、アルドース還元酵素阻害剤等の薬剤が開発されているが、最も有効な手段は厳格な血糖コントロールであり、この点で未だSU剤を凌駕する経口血糖

降下剤はない。

SU剤は、毒性が極めて低い安全な薬剤であるとされているが、使用上最も注意すべきことは、SU剤過剰投与等によるインスリンの過分泌に起因する低血糖である²⁾。

更に、低血糖とならんでSU剤治療上問題となるのが二次無効である。この原因はSU剤が膵β細胞を慢性的に刺激することによって、残存しているβ細胞のインスリン分泌能が徐々に低下するためと考えられているが、加えてインスリン抵抗性の増加も原因であるという報告がある³⁾。

したがって、新しい経口血糖降下剤に期待されているのは、

- 第2世代のSU剤と同等以上の血糖降下作用を有すること
- 低血糖や二次無効等のリスクを減少させるため、インスリン分泌を必要最小限におさえること
- インスリン抵抗性に対してインスリン作用を増強する効果を有すること
- 糖尿病性合併症の発症・進展防止効果を有すること

などである。

本薬は、ドイツヘキスト社において1984年までに合成された一連のスルホニルウレア系化合物の中から、グリベンクラミドやグリクラジドなどより強い血糖降下作用を有する物質としてスクリーニングされた。

しかし、本薬の臨床上のインスリン分泌促進作用はグリベンクラミドなどと比べて弱いことから、膵外作用の存在が示唆された。その後、各種の薬理実験や動物実験から、本薬が筋肉や脂肪細胞での糖輸送担体を活性化することが確認された。また、血小板凝集抑制作用が認められ、更にコレステロール負荷ウサギにおいて胸部大動脈の粥状硬化抑制作用を示したことなど、基礎試験において既存のSU剤には見られない作用を有する新しいSU剤と考えられた。

以上のような基礎のみならず臨床的検討の結果から、本薬は糖尿病の病態及び治療目的からみて、より合目的な薬剤と判断され、開発が進められた。その結果、本邦の二重盲検比較試験において良好な成績を示し、本薬が既存のSU剤と同等ないしそれ以上の血糖降下作用を示すにも係らず、そのインスリン分泌促進作用はマイルド (柔和) であることが示された。

これらの成績から、本薬は第2世代のSU剤を超えた有用な薬剤と判断されたので、承認申請するに至った。

その後、第2回調査会 (1994年6月27日開催) の指示に従って本薬の特徴を確認するため、2つの追加臨床試験を実施した。その結果、食事療法中のNIDDM患者を対象としたプラセボとの二重盲検比較試験において、本薬はプラセボを有意に上回る血糖降下作用を示した。また、既存のSU剤高用量投与でもコントロール不十分なNIDDM患者を対象としたグリクラジドとの二重盲検比較試験において、本薬はグリクラジドと同等以上の血糖降下作用を示したがインスリン分泌作用はマイルド (柔和) であった。

引用文献

- 1) 杉浦宗敏, 伊賀立二他 : 薬物動態, 7, 233, 1992
- 2) 石井 淳, 鈴木将夫 : 日本臨床, 48, 955, 1990
- 3) 阿部隆三, 堀 三郎 : Diabetes Frontire, 1, 621, 1990

(3) 開発の経緯

国内外での開発状況は以下のとおりである。

1) 国外の状況

ドイツヘキスト社において、本薬の薬理的検討並びに安全性の検討が1983年から開始され、1984年から1986年にかけて第Ⅰ相試験が行われた。その結果、本薬の0.005mg/日から1.75mg/日までの安全性が確認された。

ドイツ連邦共和国を中心とした欧州諸国において、1985年から第Ⅱ相試験が行われ、本薬の1~3mg/日投与によって、グリベンクラミドの2.5~15mg/日と同程度以上の血糖コントロールを達成することがわかった。続いて1989年から本薬の1~8mg/日と、グリベンクラミド2.5~15mg/日との第Ⅲ相二重盲検比較試験が行われ、グリベンクラミドと同程度の血糖コントロールを達成した。これを受けて1994年にEU連合に申請し、1995年から1997年に欧州諸国で承認された。

米国では、本薬の1~16mg/日とグリベンクラミド1.25~20mg/日との第Ⅲ相二重盲検比較試験が1992年から行われ、グリベンクラミドと同程度の血糖コントロールを達成した。更に、肥満を伴うSU剤二次無効のNIDDM患者を対象に、インスリン単独治療とインスリン+本薬併用治療の二重盲検比較試験を行い、本薬併用群において約40%のインスリン注射量の低下を認めた。これを受けて1994年にFDAへ申請し、1995年11月に承認された。また、本薬はFDAによってSU剤としては初めてインスリンとの併用が認められた。

これらの欧米での臨床試験においても、本薬が既存のSU剤と同等の血糖降下作用を示すにも係らず、マイルド(柔和)なインスリン分泌促進作用が観察されている。

2) 国内での状況

日本での開発は、ドイツヘキスト社における前臨床試験及び臨床試験の成績を基に1987年から開始した。

① 非臨床試験

1987年11月から製剤化検討及び物性、品質規格の検討並びに薬効薬理試験を開始した。その後、安全性試験及び一般薬理試験を随時実施した。また、薬物動態試験についても検討した。

これらの試験結果から、本薬は安全性に問題はなく、作用の面では膵作用及び膵外作用を有することが判明した。

② 臨床試験

i. 第Ⅰ相試験

1988年から健常人を対象として、朝食直前単回投与試験及び空腹時単回投与試験を行った。

その結果、本薬の1mg単回投与において有意な血糖低下を認めたため、健常人における低血糖の危険を考慮して、以後の検討は患者において行うこととした。

1988年9月から軽症NIDDM患者を対象とした7日間連続投与試験を行った。用量として0.5mg/日と1mg/日の2用量を用いたが、本薬において良好な血糖コントロールが得られ、副作用も認められなかった。

ii. 前期第Ⅱ相試験

1989年1月から、軽・中等症のNIDDM患者53例を対象に、本薬の0.25～2mg/日を用量漸増法(安全性を確認するため)を用いて3ヵ月間投与し、投与開始用量の検討を行った。その結果、本薬の投与開始用量は0.5mg/日もしくは1mg/日が妥当と判断され、他のSU剤との等価用量を計算すると、グリベンクラミドの1.25mg/日もしくはグリクラジド40mg/日の対して本薬の0.43mg/日が相当するという結果が得られた。

一方、最高用量としては2mg/日では不十分と考えられた。

iii. 後期第Ⅱ相試験

1990年4月から、後期第Ⅱ相試験を開始した。本薬の最少有効用量を検討するため、食事療法で治療中のNIDDM入院患者を用いたプラセボ対照二重盲検比較試験を、プラセボ群、本薬0.25mg群及び0.5mg群の固定用量群間比較で行った。その結果、0.5mg群がプラセボ群と比較して有意な血糖降下作用を示した。これより、0.5mg/日が最少有効用量であることが判明した。

一方、食事療法もしくは既存のSU剤(グリクラジドの40～160mg/日ないしはグリベンクラミドの2.5～10mg/日)で治療中の外来NIDDM患者を対象とした至適用量検索試験では、安全性を確認しながら試験を進めるために、用量漸増法により本薬の0.5～6mg/日を6ヵ月間投与した。その結果、本薬は通常1～4mg/日で既存の治療法と同程度の血糖コントロール可能であることが示された。この時、本薬1mg/日とグリクラジドの80mg/日ないしはグリベンクラミドの2.5mg/日は等価用量と考えられた。また、既存のSU剤の高用量投与でもコントロール不十分(重症^{注)})の場合は6mg/日まで増量可能であるとの結論に達した。

iv. 第Ⅲ相試験

1991年11月から、グリクラジドの40～160mg/日を対照とした二重盲検群間比較試験において、本薬の1～6mg/日の有効性及び安全性について検討した。

その結果、既存の治療(食事療法もしくはグリベンクラミドの2.5～10mg/日)では血糖コントロールが不十分なNIDDM患者において、改善率は本薬47%、グリクラジド45%であり、また有用率は本薬50%、グリクラジド48%の成績を得た。更に、改善率を指標として対照薬との同等性を検討したところ、両群の改善率の差の90%信頼区間が-5.7～9.6%であり、全般改善度を軽度改善以上で区分した場合の両薬剤の同等性が示された。

注) 糖尿病における重症度

糖尿病の分野では、明確な重症度の分類というものはない。通常は患者の血糖コントロール状態と、そのときの治療法を加味して重症度を判定している。

したがって、一般には次のような分類(a.～c.)が行われている。

- a. インスリン投与例は血糖コントロール度に関係なく、重症例と考えられている。
- b. 食事療法もしくはSU剤投与によって良好な血糖コントロールが達成された症例は、軽症～中等症と考えられている。
- c. 血糖コントロールの不十分な症例は、食事療法のみであれば軽症～中等症、SU剤の低用量例えばグリベンクラミドの1.25～5mg/日であれば中等症、SU剤の高用量例えばグリベンクラミドの6.25～10mg/日であれば重症と考えられている。

これより糖尿病の分野では、既存の経口糖尿病薬の高用量投与でもコントロール不十分^{注)}な症例を重症例と考えていると推察される。

しかし、1994年6月の第2回調査会において、本試験のエンドポイントが主治医の主観的評価であること、また登録された症例の半数以上が患者選択基準より血糖コントロールの悪い症例であったことに疑義が示され、追加臨床試験の実施が指示された。

v. 追加臨床試験

第2回調査会の指示に従い、本薬の特徴を検証するために以下の2つの追加臨床試験を1995年3月より行った。

- a) 食事療法のみではコントロール不十分なNIDDM患者を対象にプラセボとの二重盲検群間比較試験を行い、SU剤使用開始レベルの患者層が本薬の対象患者になり得るか否かを検証した。その結果、プラセボに比して本薬が有意に高い改善率（プラセボ：7.5%、本薬：67.6%、 $p < 0.0001$ ）を示した。
- b) グリベンクラミドの7.5～10mg/日でコントロール不十分なNIDDM患者を対象に本薬4～6mg/日とグリクラジド160mg/日との二重盲検群間比較試験を行い、既存のSU剤に対する本薬の位置づけを検証した。その結果、グリクラジドと比較して統計的に同等の改善率（グリクラジド：7.7%、本薬：7.6%）を示し、全般改善度に対するWilcoxon検定では本薬投与群が有意に優れていた（ $p < 0.0269$ ）。

vi. 臨床薬理試験

糖代謝能の正常な健常人9例において、本薬1mgの血糖降下作用とインスリン分泌促進作用をグリベンクラミド2.5mgと比較検討したところ、インスリン分泌促進作用と血糖降下作用の関係に乖離が見られた。本試験成績を踏まえて、インスリン分泌能の全くないインスリン依存型糖尿病（IDDM）患者5例を対象として、末梢組織での糖取り込みに対する本薬単回投与時の作用を、正常血糖インスリンクランプ法を用いて検討した。その結果、本薬非投与時と比較して本薬注入によって末梢組織（主に筋肉、脂肪）における糖取り込みは非注入時7.54mg/kg/分、注入時8.06mg/kg/分となり（ $p = 0.20$ ）、本薬が糖取り込みを促進させることが示唆された。

vii. 長期投与試験

至適用量検索試験において血糖コントロールの良好であった症例のうち、更に6ヵ月以上の本薬投与が可能な症例を対象として、本薬1年以上の投与における安全性及び有用性を検討した。

その結果、副作用発現率は6.2%であったが、重篤なものはなく、長期投与においても安全性に問題はないと考えられた。また、有用性の判定で有用とされたものは62.5%であった。

viii. 生物学的同等性試験

第Ⅲ相までの臨床試験に使用した錠剤は無着色錠であったが、申請剤型を着色錠に変更するため、1992年11～12月に溶出試験による同等性試験を行い、生物学的同等性を確認した。

2. 特徴及び有用性

(1) 薬理作用から見た特徴

1) 強力な血糖降下作用

- ① 正常のラット, ウサギ, イヌにおける効力は, グリベンクラミドと比較して, それぞれ0.61~5.39倍, 2.5~5.0倍, 0.76~1.94倍強力であった (193~195頁)。
- ② 正常イヌにおける効力は, グリクラジドの20.7~38.2倍強力であった (199, 200頁)。
- ③ STZ 軽症糖尿病ラット (インスリン分泌不全NIDDMモデル) においては, グリクラジドと異なり, 反復投与時にも耐糖能改善作用が減弱しなかった (196頁)。

2) マイルド (柔和) なインスリン分泌促進作用

- ① 膵β細胞のSU剤レセプターとの結合親和性はグリベンクラミドの1/5と弱く, ATP依存性K⁺チャンネル抑制作用は10⁻⁸mol/Lの濃度でグリベンクラミドより有意に弱かった (198, 199頁)。
- ② 正常イヌにおいて, 本薬の静脈内投与により見られる血漿インスリン値の上昇は, グリベンクラミド投与時と比較して量的に少なかった。また, その上昇は投与後2時間までであり, グリベンクラミドが5~51時間持続的に上昇するのに比べて時間的に短かった (199頁)。
- ③ 正常イヌにおいて, 本薬の経口投与により見られる血漿インスリン値の上昇は, 投与前と比較して有意な変化ではなく, グリクラジドで投与後8時間まで見られた持続的な上昇とは差異が見られた (199, 200頁)。

3) 強い膵外作用

- ① KK-Ayマウス (インスリン抵抗性NIDDMモデル) において, グリベンクラミドやグリクラジドと異なり, インスリン抵抗性の改善が示唆された (209頁)。
- ② イヌの正常血糖インスリンクランプ試験において, 肝臓及び末梢組織での糖取込みを促進した (205, 206頁)。
- ③ インスリン抵抗性を有する培養脂肪細胞において, 糖輸送担体の細胞膜表面への移動を促進し, かつ障害されていた糖輸送能を改善した (207, 208頁)。
- ④ STZ重症糖尿病ラットの正常血糖インスリンクランプ試験において, グリベンクラミドやグリクラジドと異なり, インスリン感受性とインスリン反応性の両者を有意に改善した (203, 204頁)。

4) 血小板凝集抑制作用

- ① *in vitro*において, ADP並びにコラーゲン誘発血小板凝集を有意に抑制し, また, *in vivo*においても, ADP持続注入による循環血中の血小板数の減少を有意に抑制した (210, 211頁)。

②作用機序としては、血小板内シクロオキシゲナーゼ阻害によるトロンボキサン_{A2}の産生抑制が考えられた (211, 212頁)。

5) 粥状硬化抑制作用

コレステロール負荷ウサギにおいて、グリベンクラミドやグリクラジドと異なり、胸部大動脈内壁での粥状硬化病巣の生成を有意に抑制した (213頁)。

(2) 臨床面から見た特徴

1) 少量で強力な血糖降下作用を発現する

食事療法もしくは既存のSU剤で治療中のNIDDM患者を対象にした至適用量検索試験において、本薬の1~4mg/日の用量はグリベンクラミド2.5~10mg/日及びグリクラジド40~160mg/日と同等の血糖降下作用を示した (301~317頁)。

食事療法で治療中のNIDDM患者を対象にしたプラセボとの追加二重盲検比較試験において、本薬の1~2mg/日の用量はプラセボより有意に強い血糖降下作用を示した (372~386頁)。

2) 既存のSU剤と同等ないしは同等以上の血糖降下作用を持つ

食事療法もしくは既存のSU剤で治療中のNIDDM患者を対象に、前治療と同等以上の血糖コントロールを達成できる本剤の投与量 (0.5mg~6.0mg) を検討する至適用量検索試験を行った。その結果、全症例の81.7% (272/333例) が本薬1~4mg/日の投与を受けていた。不変以上の血糖コントロールを示した症例の割合は82.4% (263/319例) で、通常は本薬の1~4mg/日で血糖コントロール可能であった (301~317頁)。

既存のSU剤の高用量投与でもコントロール不十分なNIDDM患者を対象としたグリクラジドとの追加二重盲検比較試験において、本薬の4~6mg/日の用量はグリクラジド160mg/日と同等以上の血糖降下作用を示した (388~408頁)。

3) インスリン分泌作用はマイルド (柔和) である

- ① 糖代謝能の正常な健常者9例で、本薬の血糖降下作用とインスリン分泌促進作用をグリベンクラミドと比較検討したところ、本薬はグリベンクラミドより弱いインスリン分泌促進作用を示したが、その時の血糖降下作用はグリベンクラミドと同程度であった (353, 354頁)。
- ② グリクラジドを対照とした第Ⅲ相二重盲検比較試験における、グリベンクラミド6.25mg/日以上による前治療群で、本薬は対照薬より有意に強い血糖降下作用を示したが、そのときの血中インスリン及びC-ペプチドの値には有意差を認めなかった (340頁)。
- ③ NIDDM患者を用いた二重盲検クロスオーバー試験において、本薬1.0mg投与時の血中インスリン値の上昇は、プラセボ投与時と比較して有意な差を認めなかった (354頁)。

- ④ プラセボを対照とした追加二重盲検比較試験において、血液中の空腹時インスリン、朝食後2時間インスリン、朝食後2時間 C-ペプチドにおいて、グリメピリド群がプラセボ群に比べ高値を示し有意差が認められたが、空腹時 C-ペプチドは両群において有意差は認められなかった (372~386頁)。
- ⑤ グリクラジドを対照とした追加二重盲検比較試験において、本薬はグリクラジドと同等以上の血糖降下作用を示したが、この時の空腹時血中インスリン値はグリクラジド投与群よりも有意に低かった (388~408頁)。

4) 高齢者に対しても有用な薬剤である

高齢者における用量の分布、改善率及び副作用発現率は、壮年者群と差異はなく、高齢者においても本薬の有用性が認められた(446頁)。

3. 特許状況

4. 国外における使用状況等

本薬は表イー1に見られるような主要国をはじめ、世界 66 カ国において既に承認・上市されており、1995 年以来 150 万人を越える NIDDM 患者に投与されているが、本薬に特異的な副作用は報告されていない。

海外における本薬の市販後調査報告によると、代表的な副作用としては、低血糖、吐き気、皮疹、肝機能異常、頭痛、眠気、下痢等であるが、これらはいずれも他の SU 剤でも報告されているものであり、発生頻度も同程度である。

なお、投与開始用量はいずれの国でも 1mg/日、維持用量は 1~4mg/日であり、本邦と同じである。一方、投与方法はいずれの国でも 1日1回投与であり、本邦の1日1~2回と異なっている。本邦では患者の安全性に配慮して1日1~2回としたが、海外の状況を考慮すると、1日1回投与時の有効性、安全性にも問題はないと考えられる。

[表イー1] 国外におけるグリメピリドの承認日、剤形及び用法・用量

国名	承認日	剤形	維持用量	最高推奨用量
米国	1995年11月30日	1, 2, 4 mg 錠	1日1回1~4mg	8 mg/日
ドイツ	1996年10月18日	1, 2, 3, 4, 6 mg 錠 2mg 錠	1日1回1~4mg	6 mg/日
フランス	1996年11月14日			
イギリス	1996年11月9日			
イタリア	1996年11月22日			
スイス	1995年6月22日			
ノルウェー	1997年1月10日	1, 2, 3 mg 錠		
スウェーデン	1995年8月30日	1, 2, 3, 4, 6 mg 錠		
オランダ	1995年6月20日			

本薬の国外における添付文書の概要を表イ-2-(1)~(2)に示した。

表イ-2-(1) 本薬の国外における添付文書の概要

地域名	米 国	欧州 ^(註)
警告	心血管系障害による死亡率の増大を招くリスクに関する特別の警告	
禁忌	次の患者には投与しないこと。 (1) 本薬に過敏症の既往歴がある患者 (2) 昏睡の有無にかかわらず、糖尿病性ケトアシドーシスのある患者。この場合はインスリンで治療すること	下記の症例では禁忌である。 (1) インスリン依存性糖尿病 (2) 糖尿病性昏睡、ケトアシドーシス、重篤な腎/肝機能障害 (3) 本薬や他のスルホニルウレア剤、スルホンアミド及びこれらの錠剤中の賦形剤に対する過敏症。 重篤な腎/肝機能障害の場合には、インスリンへの切り替えが必要である。本薬は、妊娠及び授乳中の患者には禁忌である。
剤型・含量	アマリール 1 mg 錠 アマリール 2 mg 錠 アマリール 4 mg 錠	アマリール 1 mg 錠 アマリール 2 mg 錠 アマリール 3 mg 錠 アマリール 4 mg 錠 アマリール 6 mg 錠
効能・効果	本薬は、食事・運動療法のみでは高血糖がコントロールされないインスリン非依存型糖尿病(NIDDM)患者の血糖値を低下させるため、食事・運動療法とともに適用される。アマリールは第一選択薬として有効である。食事・運動療法あるいはアマリールやメトフォルミンの単独療法では十分な血糖コントロールが達成されない場合、アマリールをメトフォルミンと併用することができる。さらに本薬は、食事・運動療法に他の経口血糖降下薬を投与しても高血糖がコントロールされない患者に対して、血糖値を低下させるためインスリンと併用して用いられる。本薬の単独療法が奏効しない二次無効例は、本薬とインスリンの組合せ療法により治療する。	本薬は、食事療法、運動及び体重減少のみでは、十分な効果が得られないタイプIIの糖尿病を適応症とする。

表イ-2-(2) 本薬の国外における添付文書の概要

地域名	米 国	欧 州 ^{注)}
用法・用量	<p>本薬で初めて治療する場合の初回用量は、通常1~2mgを1日1回とし、朝食または1日の最初の主な食事とともに服用する。血糖降下薬に感受性の高い患者では、1mgを1日1回で開始し、その後慎重に投与量を漸増する。本薬の最大初回用量は2mgを超えないこと。</p> <p>維持用量は、通常1~4mgを1日1回とする。最大推奨用量は8mg1日1回である。投与量が2mgに達した後は、患者の血糖値に基づいて、1~2週間の間隔を置いて増量し、1回の増量は2mgを超えないこと。</p> <p>SU 剤二次無効患者には、本薬とインスリンとの併用療法を用いることができる。併用療法の適応となる空腹時血糖値は、血漿濃度または血清濃度で150mg/dLを超える場合である。本薬の推奨用量は8mg1日1回とし、1日の最初の主な食事とともに服用する。</p>	<p>初期用量は、本薬1mg/日とする。コントロールが良好であれば、この用量を維持する。コントロールが不十分な場合は、血糖コントロール状態に応じて、1~2週間で、1日の本薬用量を2、3、そして4mgというステップで増量する。1日用量が4mgを越えて血糖コントロールが改善することは希である。最大推奨用量は、1日6mgである。</p> <p>一般的に、他の経口血糖降下剤から本薬へ切り替えることは可能である。</p> <p>インスリン治療を受けているタイプII糖尿病患者が場合によって本薬に切り替えられることがある。切り替えは、通常、入院して行うこと。</p>
使用上の注意	<p>1) 低血糖:スルホニルウレア剤はいずれも、重度の低血糖を引き起こす可能性がある。腎機能障害がある患者では、本薬の血糖降下作用がより強く現れることがある。このような患者には、初回投与量として1mgを1日1回投与し、その後適切に増量していく方法が推奨される。</p> <p>2) 血糖コントロールの喪失:何らかの糖尿病療法により安定している患者が、発熱、外傷、感染、または手術等のストレスに曝されると、血糖コントロールが喪失することがある。このような場合、本薬にインスリンを加えた併用療法もしくはインスリン単独療法が必要である。</p>	<p>本薬は、食事の直前または食事中に服用する。食事の時間が不規則になったり、食事を抜いたりすると、本薬の投与により低血糖を起こすことがある。低血糖に伴う症状は、炭水化物(砂糖)をすぐに摂取すれば急速に回復するが、人工甘味料では効果がない。当初はコントロールが成功していても、低血糖が再発するということが他のスルホニルウレア剤で知られている。本薬の投与においては、定期的な血糖や尿糖の観察が必要である。また、HbA_{1c}値と、できればフルクトサミン値の測定が望ましい。本薬の投与期間中は、定期的な肝機能及び血液学的項目(特に、白血球と血小板)の観察が必要である。ストレスの状況下(事故、突然の手術、熱を伴う感染症)では、インスリンへの一時的な切り替えを考慮すること。重篤な腎/肝機能障害の患者では、インスリンへの切り替えが勧められる。</p>

注) 欧州として、オーストリア、ベルギー、デンマーク、フィンランド、フランス、ドイツ、ギリシャ、アイルランド、イタリア、ルクセンブルグ、オランダ、ポルトガル、スペイン、スウェーデン、イギリスが含まれる。

5. 一般的名称

(1) JAN

平成3年3月22日の医薬品名称調査会で以下のように決定され、平成3年8月12日付薬新薬第202号により通知された。

JAN : (日本名) グリメピリド (英名) glimepiride

化学名 : (日本名)

1-[4-[2-(3-エチル-4-メチル-2-オキソ-3-ピロリン-1-カルボキサミド)エチル]フェニル
スルホニル]-3-(トランス-4-メチルシクロヘキシル)ウレア

(英名)

1-[4-[2-(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-3-pyrroline-1-carboxamido)ethyl]phenylsulfonyl]-
3-(*trans*-4-methylcyclohexyl)urea

(2) r - INN

glimepiride

(rec. INN List 25, WHO Drug Information Vol. 39 No. 5, 1985)

ロ. 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法

1. 組成及び性状

アマリール1mg錠：1錠中にグリメピリド1mgを含有する淡紅色の割線入り錠剤である。

アマリール3mg錠：1錠中にグリメピリド3mgを含有する微黄白色の割線入り錠剤である。

2. 有効成分に関する理化学的知見

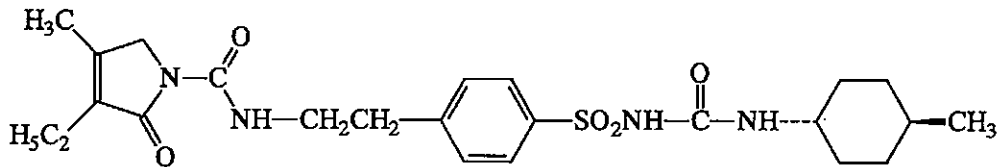
一般名：グリメピリド (JAN)、 glimepiride (r-INN)

化学名：1-[4-[2-(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-3-pyrroline-1-carboxamide)ethyl]phenylsulfonyl]-3-(*trans*-4-methylcyclohexyl)urea

分子式：C₂₄H₃₄N₄O₅S

分子量：490.62

構造式：



性状：白色の結晶性の粉末で、においはない。本品は *N,N*-ジメチルホルムアミドにやや溶けやすく、ジクロロメタンに溶けにくく、アセトニトリル、メタノール又はエタノール (95) に極めて溶けにくく、水またはジエチルエーテルにはほとんど溶けない。

八. 安定性

1. 製剤の安定性

製剤	試験	保存条件	保存期間	保存形態	結果
1mg錠 3mg錠 (無着色錠)	長期保存 試験A法	室温 (21.8~26.0℃, 20~83%RH)	36箇月	褐色ガラス びん(気密) PTP	安定であった。
	苛酷試験	30℃	12箇月	褐色ガラス びん(気密) PTP	安定であった。
		40℃	6箇月	褐色ガラス びん(気密) PTP	安定であった。
		40℃-50%RH	6箇月	褐色ガラス びん(気密) PTP	安定であった。
		人工太陽光 (30000Lux, 30℃)	3日	無色ガラス びん(気密) PTP	変化は認められ ず、安定であっ た。
	加速試験	40℃-75%RH	6箇月	褐色ガラス びん(気密) PTP	安定であった。
1mg錠 3mg錠 (無着色錠, 着 色錠)	相対比較 試験	40℃-75%RH	3箇月	PTP	無着色錠と着色 錠の安定性に差 はなかった。

二. 急性毒性, 亜急性毒性, 慢性毒性, 催奇形性その他の毒性

総括

毒性試験の総括を表二-1に示した。

〔急性毒性〕

グリメピリドの急性毒性を、マウスでは経口投与(国外試験)、腹腔内投与(国内試験)の2経路、ラット(国外試験)及びイヌ(国内試験)では経口投与により検討した。

マウス、ラットとも経口投与ではLD₅₀値は10000mg/kg以上であり、性差は認められなかった。また、マウス腹腔内投与ではLD₅₀値は雌雄とも2000mg/kg以上であった。

一方、イヌではLD₅₀値は2000mg/kg以上であり、血液学的検査において、活性化部分トロンボプラスチン時間の延長傾向がみられた。血液生化学検査では、クレアチニン値の一過性の上昇と薬理作用に基づく血糖値低下が認められたにすぎなかった。

〔亜急性及び慢性毒性(国外試験)〕

ラットを用いた1カ月間及び6カ月間投与試験では、1, 50, 2500mg/kgを強制経口投与し、12カ月間投与試験では、20 (1.2~1.5 mg/kg), 1000 (60~75 mg/kg), 50000ppm (3000~4000 mg/kg) を混餌投与した。1カ月間投与試験では、50mg/kg以上の投与群で本薬の薬理作用に基づく血糖値低下を認めたのみであった。6カ月間投与試験では、本薬投与各群とも血糖値の上昇を示した。この変化は、本薬の薬理作用に基づく血糖値の低下に対する反動と思われる。また、50mg/kg以上の投与群では、薬理作用に基づく膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒を認めた。12カ月間投与試験では、1000ppm以上の投与群で体重増加抑制を認めた。

イヌでは、1カ月、6カ月及び12カ月間、0.8, 16, 320 mg/kgをそれぞれ強制経口投与した。1カ月間投与試験では、本薬投与各群において薬理作用に基づく血糖値低下を認めた。また、320mg/kg投与群の雌1例に軽度の摂餌量減少が認められた。6カ月間投与試験では、16 mg/kg以上の投与群で各1例に一過性の横臥、強直性-間代性痙攣、よろめき等の低血糖状態がみられた。本薬投与各群とも薬理作用に基づく血糖値低下及び膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒を認めた。また、320mg/kg投与群の雌雄各1例に体重の軽度減少を認めた。12カ月間投与試験では、0.8及び320 mg/kg投与群の各1例で一過性の低血糖状態(1日のみ)を認めた。本薬投与各群とも薬理作用に基づく血糖値低下及び膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒を認めた。また、320 mg/kg投与群の雌雄各1例に水晶体後部被膜下の白内障を認めたが、ウシの水晶体を用いた*in vitro*試験では、本薬に水晶体への直接作用のないことが確認されている。

〔生殖に及ぼす影響 (国外試験)〕

ラットの交配前、妊娠中及び授乳期に混餌投与した結果、親動物の交尾及び受胎能への影響、胎児及び出生児の発育分化と機能への影響はみられなかったが、離乳後のF₁児の前肢の短縮及び彎曲が観察された。器官形成期投与試験では、ウサギで血糖値低下に基づくと思われる流産がみられ、ラット及びウサギのいずれの胎児にも血糖値低下に基づくと思われる無眼球及び小眼球がみられたが、次世代児の発育・発達及び行動・学習への影響はみられなかった。周産期及び授乳期投与試験において、周産期の血糖値低下に基づくと思われる出生児数の減少、死産児数の増加、離乳率の低下がみられ、更に、離乳児1例に前肢の短縮、彎曲が認められた。

〔依存性〕

中枢神経系に対する特異的な作用は認められなかったため、依存性試験は実施しなかった。

〔抗原性 (国内試験)〕

グリメピリド及び代謝物M1の抗原性について、モルモット及びマウスを用いて検討した。

モルモットにFreund's Complete Adjuvant (FCA)、あるいはFreund's Incomplete Adjuvant (FIA)とともに投与しても、グリメピリド及びM1ともに能動全身性アナフィラキシー及び4時間PCA試験は陰性であった。また、FCAとともにマウスに投与しても、いずれの場合もIgE抗体は産生されなかった。

〔変異原性 (国外試験)〕

復帰突然変異誘発性、染色体異常誘発性及びげっ歯類を用いた小核試験を実施したが、変異原性は認められなかった。

〔癌原性〕

ラットにおいて、癌原性は認められなかった。

マウスにおいて、中・高用量群(1265ppm, 5000ppm)では膵島細胞の過形成あるいは腺腫の増加が認められた。この変化は本薬の薬効に基づく作用として、膵島細胞を長期間刺激したために生じた変化と推察される。

〔類縁物質の毒性〕

代謝物M1及びM2のマウス腹腔内投与急性毒性試験(国内試験)におけるLD₅₀値はいずれも2000 mg/kg以上であった。分解物及び不純物(スルホンアミド体)のマウス経口投与急性毒性試験(国外試験)におけるLD₅₀値は10000 mg/kg以上であり、分解物(シクロヘキシルアミン体)のマウス経口投与急性毒性試験(国内試験)におけるLD₅₀値は、1000~2000 mg/kgであった。また、不純物(シス体)のマウス経口投与急性毒性試験(国内試験)におけるLD₅₀値は2000 mg/kg以上であった。

なお、国外で実施された試験は、いずれも動物数、用量段階、投与期間、観察項目、観察時期、検査項目等について、日本の毒性試験法ガイドラインを満たしており、毒性評価上問題ないと判断した。

表二-1 毒性試験一覽表

試験項目	動物種又は試験条件	投与(処置)経路, 期間	投与量又は処置濃度	成績	実施施設
急性毒性	マウス	経口, 腹腔内, 単回投与		マウス経口 : 雌雄とも>10000mg/kg	国外
	ラット			マウス腹腔内 : 雄 >2000mg/kg	国内
	イヌ			ラット経口 : 雌雄とも>10000mg/kg	国外
	ラット			イヌ経口 : 雄 >2000mg/kg	国外
	イヌ			無毒性量 : 雌雄とも2500mg/kg	国外
	ラット			無毒性量 : 雄 320mg/kg, 雌 16mg/kg	国外
亜急性・慢性毒性	ラット	経口, 1カ月間	1, 50, 2500mg/kg		国外
	イヌ	経口, 1カ月間	0.8, 16, 320mg/kg		国外
	ラット	経口, 6カ月間	1, 50, 2500mg/kg		国外
	イヌ	経口, 6カ月間	0.8, 16, 320mg/kg		国外
	ラット	経口, 12カ月間	20, 1000, 5000ppm		国外
	イヌ	経口, 12カ月間	0.8, 16, 320mg/kg		国外
Seg. I 生殖に及ぼす影響	ラット	経口, 雄には交配前60日及び交配中, 雌には交配前2週間より分娩後21日目まで	20, 1000, 5000ppm	無毒性量 : 5000ppm 胎動物 : 20ppm	国外
	ラット	経口, 妊娠6日目より15日目まで	1, 50, 2500 mg/kg	無毒性量 : 母動物及び出生児 : 2500mg/kg 胎児 : 1mg/kg未満	国外
	ウサギ	経口, 妊娠6日目より19日目まで	0.0067, 0.0212, 0.0670, 0.22, 3.2, 32 mg/kg	無毒性量 : 母動物 : 0.0067mg/kg 胎児 : 0.0067mg/kg未満	国外
Seg. II	ラット	経口, 妊娠17日目より分娩後21日目まで	1, 50, 2500 mg/kg	無毒性量 : 母動物 : 2500mg/kg 出生児 : 1mg/kg	国外
	ラット	経口(単独), 週5回で計15回, 皮下(+FCA又はFIA)1週間隔で4回	グリメピリド単独 グリメピリド+FCA, FIA M1+FCA, FIA	モルモットPCA及び能動全身アナフィラキシーとも陰性	国内
Seg. III	マウス	皮下(+FCA)2週間隔で4回	グリメピリド+FCA M1+FCA	ラットPCAで陰性	国内
	ネズミ	直接法	4~10000µg/プレート	陰性	国外
	チヤイニース/ハムスター	直接法 代謝活性化法	50~400µg/mL	陰性	国外
	ヒト由来培養細胞	直接法 代謝活性化法	1~1000µg/mL	陰性	国外
発原性	マウス	経口	4000mg/kg	陰性	国外
	マウス	経口(経腸), 24カ月間	320, 1265, 5000ppm	1265ppm以上で脾臓細胞の過形成あるいは脾臓の増加	国外
突然変異	ラット	経口(経腸), 30カ月間	320, 1265, 5000ppm	陰性	国外
	マウス	腹腔内又は経口, 単回投与		代謝物 : M1: 雌雄とも>2000mg/kg M2: 雌雄とも>2000mg/kg 分解物 / スルホンアミド体 : 雌雄とも>10000mg/kg 不純物 : 雌雄とも>10000mg/kg 分解物 : シクロヘキサシルアミン体 : 雄 1000~2000mg/kg 雌 >2000mg/kg 不純物 : システ体 : 雌 >2000mg/kg	国内 国外 国内 国内 国内
その他	ウシ水晶体	<i>in vitro</i>	10 ⁻⁶ mol/L	水晶体に対する直接作用なし	国外
	ラット	経口, 6週間	1, 50, 2500mg/kg	白内障発生増強作用なし	国内

1. 急性毒性

(1) マウスにおける経口投与急性毒性試験

1) 試験方法

雌雄各5匹のNMRKf系マウスに、2%ポテトスターチ液に懸濁したグリメピリドを経口投与した後、3週間観察し急性毒性を検討した。

なお、投与量の設定は、経口投与可能な最大量である10000mg/kgとした。

2) 結果

結果を表二-2に示した。10000mg/kgを投与した結果、死亡例はみられず、LD₅₀値は雌雄とも10000mg/kg以上と推察された。また、一般状態、体重推移及び剖検所見においても、グリメピリドの影響は何ら認められなかった。

類似薬であるグリクラジド¹⁾、グリベンクラミド²⁾及びトルブタミド³⁾との、経口投与におけるLD₅₀値の比較(表二-3)において、グリメピリドのLD₅₀値はトルブタミドより大きく、グリクラジド、グリベンクラミドと同様に5000mg/kg以上であった。

(2) マウスにおける腹腔内投与急性毒性試験

1) 試験方法

雌雄各5匹のICR系マウスに、0.5% CMC-Na溶液に懸濁したグリメピリドを腹腔内投与した後、2週間観察し急性毒性を検討した。

なお、投与量の設定は、一般的に単回投与毒性試験の上限とされている2000mg/kgとした。

2) 結果

結果を表二-2に示した。2000mg/kgを投与した結果、雄1例が死亡したのみであった。したがって、LD₅₀値は雌雄とも2000mg/kg以上と推察された。

一般状態の変化は、自発運動の減少、腹臥姿勢及び深い呼吸であった。体重の推移では、投与翌日に減少がみられたが、その後は順調な増加を示した。

剖検所見では、腹腔内あるいは腹腔内臓器表面に白色物質の散在ないしは付着、肝臓と横隔膜の癒着が観察された。

(3) ラットにおける経口投与急性毒性試験

1) 試験方法

雌雄各5匹のウイスター系ラットを一夜絶食させ、2%ポテトスターチ液に懸濁したグリメピリド10000mg/kgの用量を投与容量25mL/kgの割合で経口投与した後、3週間観察し急性毒性を検討した。

2) 結果

結果を表二-2に示した。10000mg/kgを投与した結果、死亡例はみられず、LD₅₀値は雌雄とも10000mg/kg以上と推察された。一般状態、体重推移及び剖検所見において、グリメピリドの影響は認められなかった。

類似薬であるグリクラジド¹⁾、グリベンクラミド²⁾及びトルブタミド³⁾との、経口投与におけるLD₅₀値の比較(表二-3)において、グリメピリドのLD₅₀値はトルブタミド、グリクラジドより大きく、グリベンクラミドと同様に10000mg/kg以上であった。

(4) イヌにおける経口投与急性毒性試験

1) 試験方法

ラット、マウスの経口投与急性毒性試験で性差が認められなかったので、雄性ビーグル犬のみを用い、1%ポテトスターチ液に懸濁したグリメピリドを経口投与した後、2週間観察し急性毒性を検討した。

なお、投与量の設定は、一般的に単回投与毒性試験の上限とされている 2000mg/kgとした。

2) 結果

結果を表二-2, 4に示した。2000mg/kgを投与した結果、死亡例はみられず、LD₅₀値は2000mg/kg以上と推察された。一般状態の変化は、未吸収のグリメピリドと思われる白色物の糞中排泄が認められたのみで、体重推移、体温及び脈拍には影響は認められなかった。

血液学的検査では、活性化部分トロンボプラスチン時間の延長傾向がみられ、血液生化学検査では、クレアチニン値の一過性の上昇(表二-4)と薬理作用に基づく血糖値の低下が認められた。

血液凝固時間は肝の蛋白合成能の指標とされており、本薬の大量単回投与により血液凝固系の内因系因子 (FVIII, IX, XI, XII) の産生に何らかの影響を与えた可能性が考えられる。しかしながら、APTTの延長傾向は2日目以降回復し、可逆性の変化であり、血液生化学検査においても血清中蛋白量、アルブミン量に変動はなく、肝の蛋白合成能に重篤な影響があったとは考えられない。また、同時に測定したプロトロンビン時間に変化はみられておらず、血液凝固系の外因系因子に対する影響はみられなかった。

クレアチニン値の上昇は腎障害の指標とされるが、同時に測定したBUNあるいは血中電解質のいずれにも変動が認められなかった。また、今回みられた変化は24時間後に一時的に認められた変化であり、可逆性の変化であった。

更に、イヌを用いた本薬の反復経口投与毒性試験（1カ月、6カ月、12カ月）においては、腎臓あるいは肝臓には何ら異常が認められなかった。

これらのことから、今回認められたAPTTの延長傾向及び血清中クレアチニン値の上昇については、その発生機序は不明であるが、本薬による何らかの影響は否定出来ない。しかし、臨床用量の20000倍以上の大量投与によって生じた短期間の変化であり、関連する他の検査項目に変動が認められていないことから、毒性学的に意義の低い変化と考えられる。

表二-2 マウス、ラット及びイヌにおける急性毒性試験

動物種 (系統, 週, 月齢)	投与経路	投与量 (mg/kg)	性	例 数	成 績	
					LD ₅₀ (mg/kg)	特記所見
マウス NMRKf 5~6週齢	経 口	10000	♂ ♀	5 5	>10000 >10000	一般状態：特記所見なし 剖 検：異常なし
マウス ICR 6週齢	腹腔内	2000	♂ ♀	5 5	≥2000 >2000	一般状態：自発運動の減少、腹臥 姿勢、呼吸の異常 剖 検：腹腔内あるいは腹腔内 臓器表面に白色物質の散 在ないし付着、肝臓と横 隔膜の癒着
ラット ウイスター 5~6週齢	経 口	10000	♂ ♀	5 5	>10000 >10000	一般状態：特記所見なし 剖 検：異常なし
イヌ ビーグル 5カ月齢	経 口	2000	♂	2	>2000	一般状態：特記所見なし 剖 検：異常なし 検 査：APTTの延長傾向、血糖 値低下、一過性のクレア チニン値の上昇

APTT：活性化部分トロンボプラスチン時間

表二-3 類似薬とのLD₅₀値比較

動物種	投与経路	性	LD ₅₀ (mg/kg)			
			グリメピリド	グリクラジド	グリベンクラミド	トルブタミド
マウス	経口	♂	>10000	>5000	>20000	2500
		♀	>10000	>5000	>20000	
ラット	経口	♂	>10000	約5000	>20000	4000
		♀	>10000	約5000	>20000	

表二-4 イヌにおける単回投与時 (2000mg/kg) のAPTT及び血清中クレアチニン値の変動

	動物	前値	24時間	48時間	72時間
APTT(秒)	No. 1	21.0	27.5	21.6	22.6
	No. 2	17.3	33.2	20.9	22.5
血清中クレアチニン (mg/dl)	No. 1	0.7	1.6	0.9	0.9
	No. 2	0.6	1.5	0.8	0.7

引用文献

- 1) 松网信男他：薬理と治療：8(8), 2661, 1980
- 2) 小林孝好他：応用薬理：4(2), 247, 1970
- 3) Scholz, J. et al.: Dtsch. Med. Wochenschr : 81, 825, 1956

2. 亜急性及び慢性毒性

(1) ラット1カ月間経口投与試験

1) 試験方法

1群雌雄各15匹の5～6週齢の飽食させたウィスター系ラットに、調製可能な最大濃度である40%懸濁液を投与した。連続経口投与可能な最大投与容量6.25mL/kgを用いて2500mg/kg/日を最高投与用量とし、2%ポテトスターチ溶液に懸濁したグリメピリドの1, 50及び2500mg/kg/日を1日1回、1カ月間連続強制経口投与した。

各群雌雄各5例については、薬物の影響からの回復をみるため、投与終了後に28日間の休業期間を設けた。なお、対照群には媒体のみを同一期間投与した。

2) 結果

結果を表二-5に示した。本試験においては、50mg/kg/日以上投与群で本薬の薬理作用に基づく血糖値の低下を認めた以外には毒性所見は認められなかった。

したがって、本試験での無毒性量は、雌雄とも2500mg/kg/日と推察された。

表二-5 ラット1カ月間投与試験

動物種・系統	ラット ウィスター系							
週齢・性・体重	5～6週齢 ♂ 平均 118g ♀ 平均 108g							
投与経路	経口 (ゾンデ)							
投与量(mg/kg/日)	対照		1		50		2500	
動物数 ¹⁾	♂ 10(5)	♀ 10(5)	♂ 10(5)	♀ 10(5)	♂ 10(5)	♀ 10(5)	♂ 10(5)	♀ 10(5)
死亡数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	—		—		—		—	
体重	—		—		—		—	
摂餌量	—		—		—		—	
眼科学的検査	—		—		—		—	
可視粘膜検査	—		—		—		—	
歯検査	—		—		—		—	
神経学的状態	—		—		—		—	
血液学的検査	—		—		—		—	
血液生化学的検査	—		—		♀で血糖値低下		血糖値低下	
尿検査	—		—		—		—	
剖検	—		—		—		—	
臓器重量	—		—		—		—	
病理組織学的検査	—		—		—		—	
回復性試験 (28日間)	いずれの検査項目においても特記すべき所見はみられなかった。							
毒性学的無影響量	2500mg/kg/日							

1): ()内は回復試験の動物数, — : 特記すべき所見なし

(2) イヌ1カ月間経口投与試験

1) 試験方法

1群雌雄各3頭の11～12カ月齢のビーグル犬に、最大投与可能量である320mg/kg/日を最高投与量とし、ゼラチンカプセル(グリメピリド約300～350mgが充てんされたカプセル000号)を1頭当り9～11個の割合で、1日1回、1カ月間連続強制経口投与した。投与用量は、0.8、16及び320mg/kg/日とした。

各群雌雄各1頭の動物については、薬物の影響からの回復をみるため、投与終了後に4週間の休薬期間を設けた。

2) 結果

結果を表二-6に示した。本試験においてもラット1カ月間投与試験と同様、本薬投与各群において本薬の薬理作用に基づく血糖値の低下を認めた。また、320mg/kg/日投与群の雌1例に軽度の摂餌量減少が認められた。

したがって、本試験での無毒性量は、雌では16mg/kg/日、雄では320mg/kg/日と推察された。

表二-6 イヌ1カ月間投与試験

動物種・系統	イヌ ビーグル							
週齢・性・体重	11～12カ月齢 ♂ 平均 14.2kg ♀ 平均 12.6kg							
投与経路	経口 (カプセル)							
投与量(mg/kg/日)	対照		0.8		16		320	
動物数 ¹⁾	♂ 2(1)	♀ 2(1)	♂ 2(1)	♀ 2(1)	♂ 2(1)	♀ 2(1)	♂ 2(1)	♀ 2(1)
死亡数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	—							
体重	—							
摂餌量	—							♀1例で軽度低下
眼科学的検査	—							
可視粘膜検査	—							
歯検査	—							
聴覚検査	—							
神経学的状態	—							
心電図	—							
血液学的検査	—							
血液生化学的検査	—		♂♀で血糖値低下		♂♀で血糖値低下		♂♀で血糖値低下	
尿検査	—							
剖検	—							
臓器重量	—							
病理組織学的検査	—							
回復性試験(4週間)	いずれの検査項目においても特記すべき所見はみられなかった。							
毒性学的無影響量	♂ 320mg/kg/日				♀ 16mg/kg/日			

1): ()内は回復試験の動物数, — : 特記すべき所見なし

(3)ラット6カ月間経口投与試験

1) 試験方法

1群雌雄各20匹の5週齢の飽食させたウィスター系ラットに、調製可能な最大濃度である40%懸濁液を投与した。連続経口投与可能な最大投与容量6.25mL/kgを用いて2500mg/kg/日を最高投与用量とし、2%ポテトスターチ溶液に懸濁したグリメピリドの1, 50及び2500mg/kg/日を1日1回、6カ月間連続強制経口投与した。

各群雌雄各7あるいは10例については、薬物の影響からの回復をみるため、投与終了後に28日間の休薬期間を設けた。なお、対照群には媒体のみを同一期間投与した。

2) 結果

結果を表二-7-1)に示した。本試験においては、本薬の薬理作用に基づく血糖値の低下に対する反動と思われる血糖値の上昇が本薬投与各群で認められた。

① 血糖値上昇の原因について

本試験においてみられた血糖値の変動、最終投与後の血清中薬物濃度及び膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の変化について表二-7-2)に示した。

血糖値の変動については、1mg/kg/日群の雌で3カ月及び6カ月目に、また、雄では投与各群とも6カ月目の血糖値が対照群に比し上昇した。血糖値の測定はいずれも投与24時間後に測定したものであり、今回認められた血糖値の上昇は本薬の薬理作用である血糖値低下に対する反動によるものと推察した。すなわち、ラット6カ月間投与試験では、本薬の標的臓器(器官)のひとつである膵臓に対する長期間の刺激によって、膵臓ランゲルハンス氏島β細胞中の顆粒が減少し、インスリン分泌能の低下が考えられる。本薬の薬理作用による血糖値の低下に対する生理的な反応として血糖値を回復させる作用に対し、十分なインスリンの分泌がなかったため、その反応が過度に現れ、その結果として血糖値の上昇が認められたものと考えられる。

6カ月目の測定で、50, 2500mg/kg/日投与群の雌に血糖値の上昇が認められなかった理由は、血清中薬物濃度が雄に比し3~5倍高く、投与24時間後においても、本薬の薬理作用が持続していたものと推察される。

1mg/kg/日投与群では、6カ月目に実施した投与24時間後の血清中薬物濃度でみると雄では検出されず、雌でもごく少量が検出されたのみであり、反動による血糖値の上昇に対し、十分なインスリン分泌がなされなかったものと推察された。

② 本試験におけるインスリン分泌機能低下について

上記血糖値の上昇の原因と考えられた膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の顆粒減少によるインスリン分泌機能低下の機序について考察し、安全性についても考察する。

SU剤投与により、膵臓ランゲルハンス氏島β細胞内に貯蔵されているインスリン分泌顆粒からインスリンが細胞外へ放出され、血糖がコントロールされる。このインスリン分泌顆粒は次々と合成されており、通常の臨床用量では、SU剤によってβ細胞内に貯蔵されている全ての分泌顆粒が消失してしまうことはないと考えられている。しかし、毒性試験においては、大量のSU剤を長期間連続投与する結果、β細胞内に貯蔵されている成熟した分泌顆粒を減少させ、インスリンの枯渇状態を生じさせる。そのため、この状態で更にSU剤を投与してもインスリン分泌が起こらないことが報告されている^{4)~6)}。本薬においても同様の現象がみられ、ラットに6カ月間連続投与時の50mg/kg/日及び2500mg/kg/日投与群では、病理組織学的検査(アルデヒド-フクシン染色)においてβ細胞内の分泌顆粒の減少が認められた。

一方、枯渇したインスリン分泌顆粒が元の状態まで回復するには6~8日間を要すると報告⁷⁾されている。本試験においても5週間の回復試験群では、インスリン分泌顆粒は正常に復していることが確認されている。本薬のラット6カ月間強制経口投与試験において、膵臓ランゲルハンス氏島β細胞での明らかな顆粒減少が、50mg/kg/日及び2500mg/kg/日投与群で認められた。この変化は、本薬の最大臨床用量(6mg/body/日、体重60kgとして0.1mg/kg/日)の500倍~25000倍に相当する極めて大量投与時に現れたものである。NIDDM患者での長期投与治験(用量0.5~6mg/body/日)では、空腹時血糖及びHbA1cを指標とした血糖コントロール状態の減弱は認められなかった(361頁、図ト-20)。このことから、ラットでみられた膵臓ランゲルハンス氏島β細胞での顆粒減少は、臨床用量では安全性に問題となる可能性は低いものと考えられる。

以上のことから、ラット6カ月間強制経口投与試験で認められたインスリン分泌機能低下は、本薬の大量、長期間投与による膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の顆粒減少に基づくものと考えられる。この変化は投与中止により回復する可逆性の変化であり、本薬の長期臨床試験においてもその血糖低下作用の減弱はみられなかったことから、このラットでの変化が臨床での安全性に問題となる可能性は低いものと考えられる。

③ 肉眼及び組織所見

本試験において、最高投与群(2500mg/kg/日)の雄3例が投与期間中(No.107:80回投与後、No.102:115回投与後、No.120:179回投与後)に死亡した。それぞれの死亡例について表二-7-3)に剖検所見及び組織所見を記載した。

2500mg/kg/日投与群の3例の死亡例のうち、1例(動物番号120)では、剖検時の肉眼所見で左後肢から股関節に広がる組織の腫脹が認められた。病理組織学的にこの腫脹した部位は線維肉腫の像を示しており、腫瘍の増悪によるショック状態にあったことを示す病理組織学的所見(肝:中心部壊死、肺:硝子様血栓、腎:糸球体微細硝子様血栓)が認められた。

また、この個体の病理組織学的所見では気管支及び食道周囲に異物性肉芽腫或いは慢性炎症の像が観察されており、以前に誤投与があったことを示唆する所見と考えられる。気管の損傷については、これらの慢性炎症から来る二次的变化と考えており、これが死因に直接結びつくことはないと判断した。しかしながら、肛門及び左後肢から股関節に広がる線維肉腫の増悪に胸部の慢性的疾患が加わり徐々に個体を衰弱させて死に至らしめたものと考えられる。

その他50mg/kg/日以上投与群では、膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒も認められた。

本試験での無毒性量は、雌雄とも2500mg/kg/日と推察された。

表二-7-1) ラット6カ月間投与試験

動物種・系統	ラット ウィスター系							
週齢・性・体重	5週齢 ♂ 平均 92g ♀ 平均 91g							
投与経路	経口 (ゾンデ)							
投与量(mg/kg/日)	対照		1		50		2500	
動物数 ¹⁾	♂ 10(10)	♀ 10(10)	♂ 10(10)	♀ 10(10)	♂ 10(10)	♀ 10(10)	♂ 10(7)	♀ 10(10)
死亡数	0	0	0	0	0	0	3 ²⁾	0
一般状態	—		—		—		—	
体重	—		—		—		—	
摂餌量	—		—		—		—	
眼科学的検査	—		—		—		—	
可視粘膜検査	—		—		—		—	
歯検査	—		—		—		—	
神経学的状態	—		—		—		—	
血液学的検査	—		—		—		—	
血液生化学的検査	—		血糖値上昇		♂血糖値上昇		♂血糖値上昇	
尿検査	—		—		—		—	
剖検	—		—		—		—	
臓器重量	—		—		—		—	
病理組織学的検査	—		—		♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒		♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒	
回復性試験 (28日間)	いずれの検査項目においても特記すべき所見はみられなかった。							
毒性学的無影響量	2500mg/kg/日							

1): ()内は回復試験の動物数, —: 特記すべき所見なし

2): 途中死亡2例は誤投与, 1例は線維肉腫

表二-7-2) ラット6カ月間経口投与時の血糖値、血清中薬物濃度
及び膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の変化

投与量 (mg/kg/日)		対照		1		50		2500	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
血糖 値 (mmol/L)	1カ月目	5.4 ±1.7	6.1 ±1.0	5.6 ±0.9	6.7 ±1.0	4.4 ±1.1	5.1 ±1.1	4.1 ±0.9	4.4 ±1.3
	3カ月目	5.0 ±0.8	4.6 ±0.5	6.2 ±0.8	6.3 ±0.8*	5.3 ±1.2	5.0 ±1.1	5.1 ±1.7	4.0 ±1.3
	6カ月目	5.1 ±0.7	5.1 ±0.4	7.3 ±0.8*	6.2 ±0.7*	6.5 ±1.0*	5.1 ±0.7	6.1 ±0.5*	4.5 ±0.9
血清中薬物濃度 最終投与24時間後 (ng/mL)		n.d.	n.d.	n.d.	37.1 ±90.9	142.1 ±187.3	881.4 ±939.5	1349.8 ± 1697.7	4468.3 ± 3290.4
膵臓ランゲルハンス氏 島β細胞の変化		変化なし		変化なし		明らかなβ細胞 中の顆粒の減少		明らかなβ細胞 中の顆粒の減少	

* : p<0.05 (Dunnettの検定) n.d. : 検出限界以下(<10ng/mL)

表二-7-3) 2500mg/kg/日投与群の死亡3例の組織所見

動物No.	死亡日	肉眼所見	組織所見
107	80日目	頸部、胸腔：薬物貯留 食道：外傷(頸部)	心臓：線維索性化膿性心膜炎 肺：間質の出血、新鮮な線維索性 化膿巣 食道：縦隔洞炎 脾臓：急性炎症反応 胸腺：縦隔洞炎 横隔膜：中皮下円形細胞浸潤、 境界明瞭な間葉性反応
102	115日目	胸腔：沈着物 食道：外傷(頸部)	心臓：線維索性化膿性心膜炎 肺：間質の出血、動脈周囲円形細 胞浸潤、新鮮な化膿巣
120	179日目	膀胱：赤褐色内容物 骨格筋：筋組織のうっ血、肛門・ 左後肢及び股関節に拡 がる柔らかな組織、赤 褐色液の貯留、表面は 部分的に褪色又は赤褐 色化	気管：損傷 肺：硝子様血栓、気管支周囲異物 性肉芽腫、気管支肺炎 食道：慢性食道周囲炎 肝臓：門脈周囲脂肪変性、 硝子様血栓、中心部 壊死を伴うショック肝 腎臓：糸球体微細硝子様血栓 脾臓：癒着、ヘモジデリン沈着減少 骨髓：造血亢進 骨格筋：線維肉腫

引用文献

- 4) J.A. Schneider et al.: Annals New York Academy of Sciences Vol. 74, 427, 1959
- 5) W. Pdaff et al.: Arzneimittel-Forsch./Drug Res. 19, 1445, 1969
- 6) 松園信男他: 薬理と治療 Vol. 8 (8), 41, 1980
- 7) A. Bänder et al.: Arzneimittel-Forsch./Drug Res. 19, 1448, 1969

(4) イヌ6カ月間経口投与試験

1) 試験方法

1群雌雄各5頭の9カ月齢のビーグル犬に、ゼラチンカプセル(グリメピリド約300~350mgが充填されたカプセル000号)を1頭当り9~11個の割合で、1日1回、6カ月間連続強制経口投与した。投与用量は、0.8、16及び320mg/kg/日とした。

各群雌雄各2頭の動物については、薬物の影響からの回復をみるため、投与終了後に5週間の休業期間を設けた。

2) 結果

結果を表二-8に示した。本試験においては、本薬の薬理作用に基づく変化として、血糖値の低下及び膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒が本薬投与各群に認められた。また、16mg/kg/日以上投与群の各1例で投与開始13~15週以後に一過性に横臥、強直性・間代性痙攣、よろめき等の症状がみられた。これらの症状は、本薬投与による低血糖に起因するものと思われる。

320mg/kg/日投与群では、雌雄各1例に体重の軽度な減少がみられたが、これらの変化は休業により消失した。

これらのことから、本試験での無毒性量は、雌雄とも16mg/kg/日と推察された。

表二-8 イヌ6カ月間投与試験

動物種・系統	イヌ ビーグル							
週齢・性・体重	9カ月齢 ♂ 平均 15.1kg ♀ 平均 13.7kg							
投与経路	経口 (カプセル)							
投与量(mg/kg/日)	対照		0.8		16		320	
動物数 ¹⁾	♂ 3(2)	♀ 3(2)	♂ 3(2)	♀ 3(2)	♂ 3(2)	♀ 3(2)	♂ 3(2)	♀ 3(2)
死亡数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	—		—		♀1例で投与開始後15週以降で一過性の横臥、強直性・間代性痙攣、よろめき、不安動作、鳴声、流涎、無反応		♂1例で投与開始後13週以降で一過性の横臥、強直性・間代性痙攣、よろめき、不安動作、鳴声、流涎、無反応	
体重	—		—		—		雌雄各1例で軽度の減少	
摂餌量	—		—		—		—	
眼科学的検査	—		—		—		—	
歯検査	—		—		—		—	
聴覚検査	—		—		—		—	
神経学的状態	—		—		—		—	
心電図	—		—		—		—	
血液学的検査	—		—		—		—	
血液生化学的検査	—		♂♀で血糖値低下		♂♀で血糖値低下		♂♀で血糖値低下	
尿検査	—		—		—		—	
剖検	—		—		—		—	
臓器重量	—		—		—		—	
病理組織学的検査	—		♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒		♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒		♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒	
回復性試験(5週間)	いずれの検査項目においても特記すべき所見はみられなかった。							
毒性学的無影響量	16mg/kg/日							

1): ()内は回復試験の動物数, —: 特記すべき所見なし

(5) ラット12カ月間経口投与試験

1) 試験方法

1群雌雄各25匹の6～7週齢のウィスター系ラットに、最大混餌可能量である50000ppm を最高投与量とし、グリメピリドの20 (1.2～1.5mg/kg/日)、1000 (60～75mg/kg/日)及び50000ppm (3000～4000mg/kg/日)をそれぞれ餌に混合し、12カ月間連続経口投与した。なお、ラットに本薬の1000ppm (60～80mg/kg/日) 及び50000ppm (3000～4000mg/kg/日) を混餌投与し、2週目、4週目、3カ月目に血清中薬物濃度を測定した結果²⁾、いずれもほぼ一定した血清中濃度が得られたので、本試験は混餌投与で実施した。各群雌雄各10例については、薬物の影響からの回復をみるため、投与終了後に4週間の休薬期間を設けた。

2) 結果

結果を表二-9に示した。1000ppm投与群の雄及び50000ppm投与群の雌雄で軽度の体重増加抑制を認めた。

本試験での無毒性量は、雄では20ppm、雌では1000ppm と推察された。

表二-9 ラット12カ月間投与試験

動物種・系統	ラット ウィスター系			
週齢・性・体重	6～7週齢 ♂ 平均 158g ♀ 平均 140g			
投与経路	経口 (混餌)			
投与量(ppm)	対照	20	1000	50000
動物数 ¹⁾	♂15(10) ♀15(10)	♂15(10) ♀15(10)	♂15(10) ♀15(10)	♂15(10) ♀15(10)
死亡数	0 0	0 0	0 0	0 0
一般状態	—	—	—	—
体重	—	—	♂: 軽度増加抑制	♂♀: 軽度増加抑制
摂餌量	—	—	—	—
摂水量	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—
可視粘膜検査	—	—	—	—
歯検査	—	—	—	—
神経学的状態	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—
血液生化学的検査	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—
臓器重量	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—
回復性試験 (4週間)	いずれの検査項目においても特記すべき所見はみられなかった。			
毒性学的無影響量	♂ 20ppm ♀ 1000ppm			

1): ()内は回復試験の動物数、 — : 特記すべき所見なし

(6) イヌ12カ月間経口投与試験

1) 試験方法

1群雌雄各6頭の13カ月齢のビーグル犬に、ゼラチンカプセル (グリメピリド約300~350mgが充填されたカプセル000号) を1頭当り最大9~11個の割合で、1日1回、12カ月間連続強制経口投与した。投与用量は、0.8, 16及び320mg/kg/日とした。

各群雌雄各1あるいは2頭の動物については、薬物の影響からの回復をみるため、投与終了後に4週間の休薬期間を設けた。また、最高投与量群で白内障のみられた雌1例については12週間の回復期間を設けた。

2) 結果

結果を表二-10に示した。本試験においても、イヌ6カ月間経口投与試験と同様、本薬の薬理作用に基づく変化として、血糖値の低下及び膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒が本薬投与各群に認められた。また、0.8mg/kg/日及び320mg/kg/日投与群の各1例に一過性 (一日のみ) の失調性歩行、心悸亢進、横臥がみられた。この症状は、本薬投与による低血糖に起因するものと思われる。

320mg/kg/日投与群の雌雄各1例に両側性の水晶体後部被膜下の白内障が認められた。12カ月間投与終了時点で解剖した白内障を発症した雄では、病理組織学的には対照群とほぼ同様の所見が観察された (写真No. 1, 3)。

一方、12週間の回復性を観察した雌1例は、病理組織学的に片側性の水晶体線維の空胞変性が認められた。白内障の発現に関して、ウシの水晶体を用いて本薬の水晶体への直接作用を検討した結果、本薬には直接作用のないことが確かめられた。しかし、白内障発現メカニズムは不明であり、本薬投与との関連性は明らかにできなかった。

表二-10 イヌ12カ月間投与試験成績

動物種・系統	イヌ ビーグル			
週齢・性・体重	13カ月齢 ♂ 平均 15.7kg ♀ 平均 14.0kg			
投与経路	経口 (カプセル)			
投与量(mg/kg/日)	対照	0.8	16	320
動物数(回復)	♂ 4(2) ♀ 4(2)	♂ 4(2) ♀ 4(1)	♂ 4(2) ♀ 4(2)	♂ 4(2) ♀ 4(2)
死亡数	0 0	0 0	0 0	0 0
一般状態	—	♂1例で一過性の失調性歩行, 心悸亢進, 横臥(1日のみ)	—	♀1例で一過性の失調性歩行, 心悸亢進, 横臥(1日のみ)
体重	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	♂♀各1例で両側性の水晶体後部被膜下の白内障
聴覚検査	—	—	—	—
歯検査	—	—	—	—
神経学的状態	—	—	—	—
心電図	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—
血液生化学的検査	—	♂♀で血糖値低下	♂♀で血糖値低下	♂♀で血糖値低下
剖検	—	—	—	—
臓器重量	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒	♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒	白内障のみられた♂1例の眼球に組織学的変化なし ♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒
回復性試験(4週間*)	投与期に白内障がみられた最高投与群の♀1例では白内障の回復性を示さず, 病理組織学的には片側性の水晶体線維の空胞変性がみられた。他の動物では特記すべき所見はみられなかった。			
無毒性量	16mg/kg/日			

— : 特記すべき所見なし

* : 12カ月目検査で白内障のみられた♀1例についてのみ12週間の回復期間を設定

① 本試験におけるイヌの水晶体組織について (添付写真No.1~4)

本試験に用いたイヌにおいては, 添付した写真 No. 1, 2に示すように, 12カ月間投与後の対照群動物では組織学的に, 皮質に局限した水晶体線維の腫大・膨化が認められるが, スリットランプによる観察では白内障は認められなかった。

一方, 本薬の320mg/kg/日を12カ月間反復投与した雄 (No. 4682) のスリットランプによる観察では, 白内障が認められた。しかし, この個体の病理組織学的検索 (写真No. 3) を実施したところ, 対照群の個体に認められた変化(写真No. 1)とほぼ同様の所見が得られた。

一般にスリットランプによる観察で水晶体混濁 (白濁) が認められる場合、白内障と診断され、病理組織学的には水晶体線維の変性変化として膨化、崩壊、液化、空胞化、石灰化等が観察されることが知られている⁸⁾。

本試験でスリットランプにより白内障と診断された個体のうち、個体番号 No. 4706 (写真 No. 4) は組織変化から明らかに白内障と診断出来るが、個体番号 No.4682 (写真 No. 3) については対照群の組織変化とほぼ同様であり、病理組織学的所見から白内障と診断する境界領域付近の変化であると考えられる。

引用文献

- 8) 板倉智敏, 後藤直彰 編: 獣医病理組織カラーアトラス, 文永堂出版, 1990

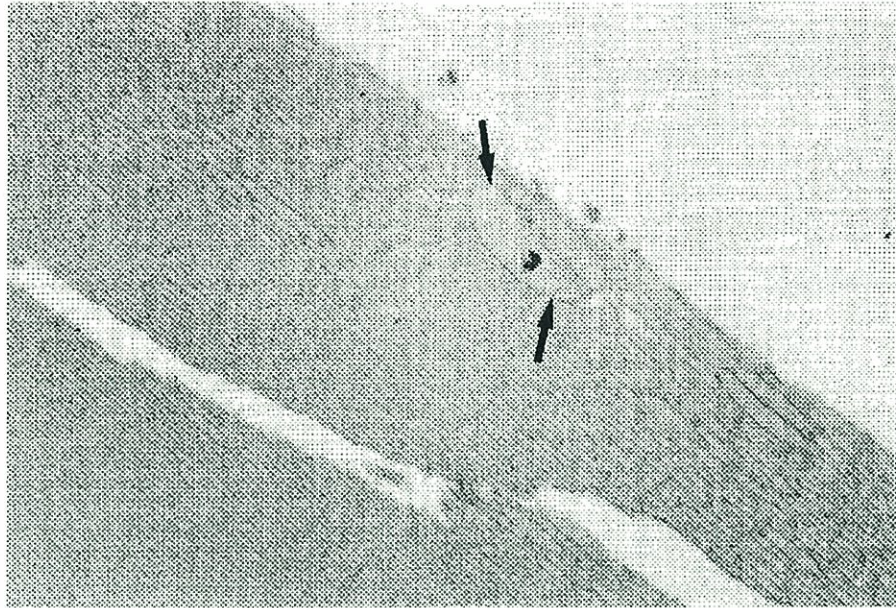


写真 No. 1 対照群の雄個体(番号 ; No.4662 : 投与期間終了時)の水晶体組織
(H.E.染色,倍率 ; 400 倍)

所見 : 皮質に水晶体線維の腫大・膨化がみられた。(矢印)

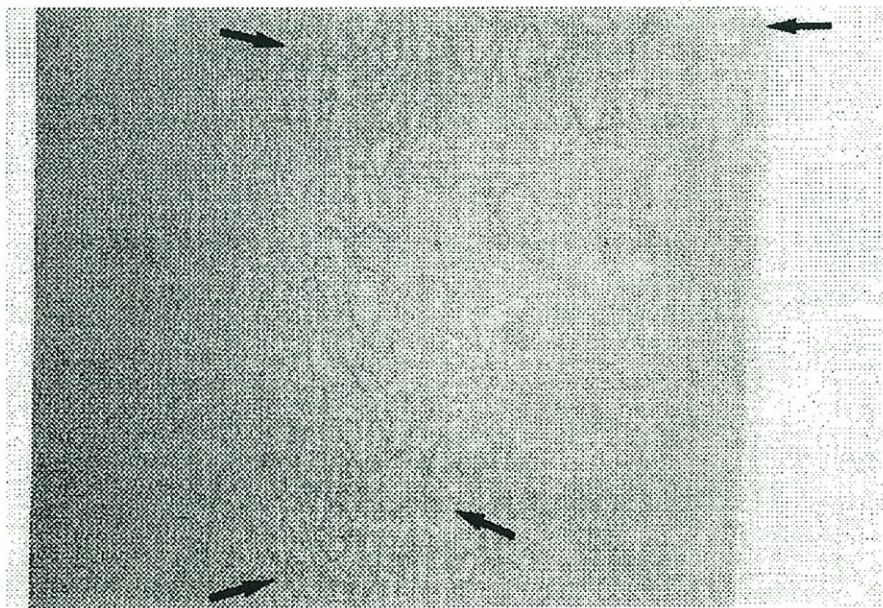


写真 No.2 対照群の雄個体(番号 ; No.4663 : 投与期間終了時)の水晶体組織
(H.E.染色, 倍率 ; 400 倍)

所見 : 皮質に水晶体線維の腫大・膨化がみられた。(矢印)

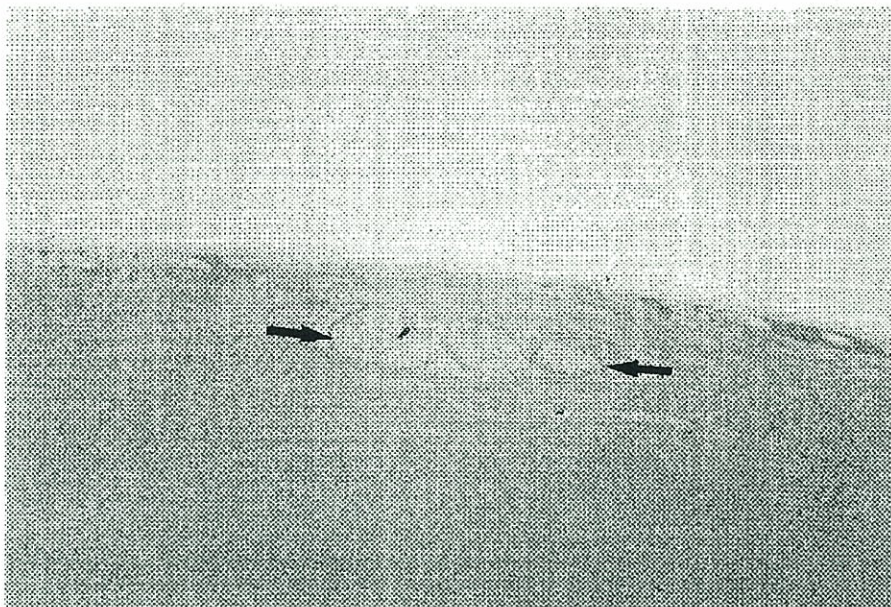


写真 No. 3 320mg/kg/日投与群でスリットランプにより白内障を認めた雄個体
 (番号 ; No.4682 : 12 カ月間投与終了時)の水晶体組織(H.E.染色,倍率 ; 200 倍)
 所見 : 対照群 (写真 No. 1)にみられた組織学的所見とほぼ同様の腫大・膨化した水晶体線維が皮質に局限してみられた。(矢印)

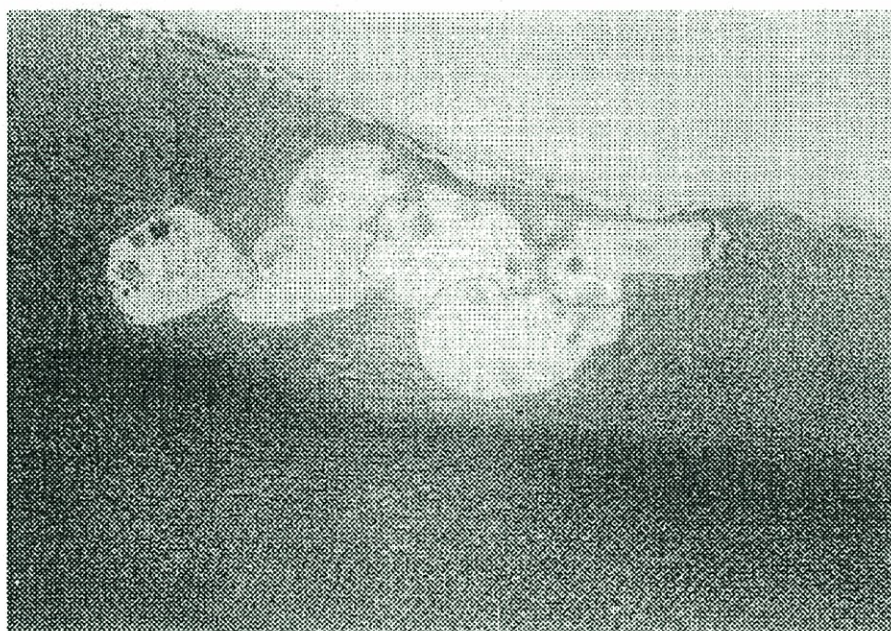


写真 No. 4 320mg/kg/日投与群でスリットランプにより白内障を認めた雌個体(番号 ;
 No.4706 : 12 カ月間投与終了後 12 週間の回復時)の水晶体組織 (H.E.染色,倍率 ; 100 倍)
 所見 : 皮質水晶体線維の空胞変性並びにその周辺の腫大・膨化がみられる。
 この変化は片側の水晶体にのみ認められた。

② 本試験において認められた白内障の発生機序についての考察

本薬の320mg/kg/日をイヌに12カ月間経口投与したとき、投与終了時において12例中雄1例及び雌1例に水晶体後部被膜下白内障の発症が認められた。白内障発生機序については、水晶体における糖、エネルギーあるいは蛋白代謝系の変動及び紫外線、ナフタレン等の薬剤、老化あるいは糖尿病などが要因と考えられている。本試験においてみられた白内障の発生機序については明らかではないが、本薬投与と白内障発症との関連性について、ウシ水晶体を用いた*in vitro*試験及びラットを用いた実験的白内障誘発モデルでの*in vivo*試験を実施し、更に詳細に検討した。

1) *in vitro* 試験

本薬の 10^{-4} mol/L濃度をウシの水晶体培養液中に添加し、8時間後の水晶体における糖代謝、エネルギー代謝、代謝酵素活性、蛋白構造、蛋白含量及び蛋白組成への影響を検討した。その結果、検索したすべての水晶体部位で、本薬の 10^{-4} mol/Lの高濃度においても何ら影響は認められなかった。したがって、本薬が水晶体に直接作用し、水晶体における糖代謝、エネルギー代謝あるいは生成後の蛋白の変性を誘発する可能性は低いことが示唆された。

2) ラットを用いた *in vivo* 試験

ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット、ナフタレン投与ラット、UV-B処理ラットの3種類の実験的白内障誘発ラットモデルに本薬の1, 50, 250mg/kg/日を6週間経口投与し、各モデルにおける白内障発症増強作用の有無を検討した。

ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットモデルでは、1週目頃から水晶体の透明度に変化が生じるが、本薬を投与したすべての動物において水晶体の透明度の変化は認められず、白内障の発症は完全に抑制された。他のナフタレン投与ラットあるいはUV-B処理ラットにおいても本薬投与によって、白内障発症増強作用は認められなかった。これらのモデルにおける水晶体湿重量あるいは水晶体内の蛋白（水溶性あるいは不溶性蛋白）含量とも、本薬投与の影響は全く認められず、むしろ白内障発症を抑制する結果であった。

以上の*in vitro*, *in vivo*試験の結果からでは、本薬の白内障の発生機序は明らかにできなかったが、本薬が水晶体に直接作用し、水晶体内の代謝系あるいは蛋白に変性を生じさせる可能性は低いことが示唆された。また、白内障誘発モデルにおいても、本薬に白内障発症増強作用はなく、白内障の発生しやすい状況下においても、その増強作用は認められなかった。

③ 白内障の発生と本薬の安全性について

イヌにおける白内障の発生について

本試験において、スリットランプ観察により認められた白内障は、最高投与量群 320mg/kg/日の12カ月間投与終了時に雌雄各1例に発現しており、この投与量は最大臨床用量(6mg/body/日、体重60kgとして0.1mg/kg/日)の約3200倍以上に相当するものであった。

また、本薬は、ウシ水晶体を用いた*in vitro*の試験において、水晶体に対して比較的高濃度(10^{-4} mol/L濃度)でも、水晶体内の代謝系あるいは蛋白への影響の可能性が低いことが報告されている。

更に、白内障誘発モデルラットを用いた実験においても、250mg/kg/日の投与量で白内障の発現・増悪作用のないことが示されている。

以上のことより、イヌ12カ月間反復投与試験で認められた白内障は、最大臨床用量の約3200倍以上の大量を12カ月間にわたって投与した際に見られたものであること、また、本薬が水晶体に対して直接作用を有さず、白内障誘発モデルラットにおいても白内障発症を増強させないことから、臨床において本薬が白内障を誘発する可能性は低いものと考えられる。

なお、国内及び海外における臨床試験あるいは海外での市販後情報から、本薬の白内障に関連した副作用発現に関する記載は、臨床の項(428～431頁)参照。

これらのことから、本試験での無毒性量は、雌雄とも16mg/kg/日と推察された。

3. 生殖に及ぼす影響

(1) 交配前、妊娠中及び授乳期投与試験(Segment - I)

1) 試験方法

グリメピリドの20, 1000及び50000ppmを、雄ラットには交配前60日及び交配期間中、雌には交配14日前より離乳(分娩後21日目)まで混餌投与し、親動物の生殖能及び次世代児に及ぼす影響について検討した。

なお、ラットに本薬の1000ppm (60~80mg/kg/日) 及び50000ppm (3000~4000mg/kg/日) を混餌投与し、2週目、4週目、3カ月目に血清中薬物濃度を測定した結果、いずれもほぼ一定した血清中濃度が得られたので、本試験は混餌投与で実施した。

投与量設定のため、グリメピリドの320, 1000, 5000, 10000及び50000ppmを1群3例の雌雄ラットに3カ月間混餌投与した結果、各群で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の顆粒の減少のみが認められた。したがって、最大混餌可能量である50000ppm(約4000mg/kg/日)を最高投与量とし、中間量を1000ppm(約80mg/kg/日)、最小量を20ppm(約2mg/kg/日)と設定した。

2) 結果

結果を表二-11-1), 2)に示した。親動物の摂餌量、体重、交尾率、妊娠率に薬物投与の影響はみられず、F₁胎児にも異常はみられなかった。出生児の発育にも薬物投与の影響はなく、機能、行動・学習検査にも薬物投与の影響はみられず、F₂児についても影響は認められなかった。

しかしながら、F₁離乳児では、1000ppm以上の群で前肢の短縮あるいは彎曲が観察された。また、F₁の生殖能検査では、1000ppm及び50000ppm群の着床数が対照群に比べ、低値であったが、施設のバックグラウンドデータの範囲内(10.2~15.8)であり、薬物投与に起因するものとは考えられなかった。

以上のことから、無毒性量は、親動物に対しては50000ppm(約4000mg/kg/日)、次世代児に対しては20ppm(約2mg/kg/日)と推察された。

表二-11-1) ラットの交配前, 妊娠中及び授乳期投与試験

動物種・系統・週齢		ラット ウイスター系, ♂ 10週齢, ♀ 8週齢				
投与経路		経口 (混餌)				
投与量(ppm)		対照	20	1000	50000	
動物数	♂	32	32	32	32	
	♀	32	32	32	32	
親動物 ♂	死亡数	0	0	1	0	
	一般状態	—	—	—	—	
	体重	—	—	—	—	
	摂餌量	—	—	—	—	
	交尾率(%)	100	97	100	100	
	授胎率(%)	97	94	100	97	
	剖検	—	—	—	—	
親動物 ♀	帝王切開雌数	19	18	17	19	
	死亡数	0	0	0	0	
	一般状態	—	—	—	—	
	体重	—	—	—	—	
	摂餌量	—	—	—	—	
	交尾率(%)	100	97	100	100	
	受胎率(%)	97	94	100	97	
	黄体数	13.5	14.4	12.4	14.3	
	着床数	10.2	12.9	10.8	13.0	
剖検	—	—	—	—		
F ₁ 胎児	着床前死亡率(%)	26.3	12.8	14.3	8.1	
	着床後死亡率(%)	9.3	6.7	6.5	9.0	
	生存胎児数	9.3	11.9	10.1	11.8	
	性比(♂/♀)	0.98	1.00	0.60	0.86	
	体重(g)	3.2	3.0	3.3	3.3	
	外形異常	頻度 (%)	9/93 (9.7)	14/112 (12.5)	1/91 (1.1)	7/120 (5.8)
		型	低体重児	低体重児	低体重児	低体重児
	骨格異常	—	—	—	—	
内臓異常	—	—	—	—		
無毒性量	親動物	: 50000ppm				
	次世代児	: 20ppm				

— : 特記すべき所見なし

表二-11-2) ラットの交配前、妊娠中及び授乳期投与試験

投与量(ppm)		対照	20	1000	50000
親動物♀	体 重	—	—	—	—
	摂餌量	—	—	—	—
	妊娠雌数(%)	12 (100)	12 (100)	12 (100)	12 (100)
	難産のため剖検	2	0	1	0
	臍出血のため剖検	1	1	4	0
	出産雌数	9	11	7	12
	妊娠期間(日)	23.1	22.9	23.3	22.8
	着床数	10.6	14.1	10.1	12.5
	剖 検	—	—	—	—
F ₁ 出生児	出生児数	8.3	11.0	6.0	10.7
	死産児数	0.1	1.4	3.1*	1.0
	出生時体重(g)	5.93	5.68	5.75	5.58
	性 比(♂/♀)	1.5	1.3	1.0	1.0
	離乳率(%)	95.6	82.7	65.2*	89.0
	離乳時体重(g)	38.4	36.3	41.5	33.4
	形態分化	—	—	—	—
	機能, 行動・学習	—	—	—	—
剖 検(%)	0	0	前肢短縮/彎曲 3/14 (21.4)	前肢短縮/彎曲 16/24 (66.7)	
F ₁ 親動物	妊娠率(%)	8/9 (89.9)	11/11 (100)	7/7 (100)	12/12 (100)
	妊娠期間(日)	22.6	22.7	23.4	22.6
	着床数	16.1	14.4	11.0*	12.5*
F ₂ 出生児	出生児数	15.4	13.4	10.3	11.8
	出生児体重(g)	5.3	5.7	5.9	5.5
	離乳時体重(g)	29.6	33.9	35.3	31.8
	性比(♂/♀)	0.85	1.08	0.67	0.96
	離乳率(%)	96.4	97.4	95.9	96.2

*: p<0.05 (Goodman 検定, permutation test)

— : 特記すべき所見なし

(2) 胎児の器官形成期投与試験 (Segment - II)

1) ラットにおける試験

①試験方法

ラット胎児の器官形成期に グリメピリドの1, 50, 2500mg/kg/日を、妊娠6日目より17日目まで経口投与し、胎児及び次世代児に及ぼす影響について検討した。

3例の妊娠ラットの器官形成期に投与可能な最大量である2500mg/kg/日を経口投与した結果、著変はみられなかったため2500mg/kg/日を最高投与量とし、以下50及び1mg/kg/日を設定した。なお、対照群には媒体である2%ポテトスターチ液のみを投与した。

②結果

結果を表二-12に示した。母動物及び出生児に薬物投与の影響は認められなかった。しかし、胎児については1及び50mg/kg/日投与で、低頻度ではあったが無眼球がみられた。眼の異常は、インスリン投与あるいは類似の血糖降下剤投与でも認められており⁹⁻¹²⁾、低血糖によるものと推察される。すなわち、血糖降下剤であるトルブタミド¹³⁾及びグリベンクラミド¹⁰⁾を妊娠ラットに投与したとき、本薬と同様の眼の異常が誘発されている。また、インスリン^{10, 14)}を投与し低血糖を誘発すると、ラットあるいはウサギ胎児に眼の異常に加えて脳の異常も惹起されている。したがって、低血糖と眼の異常発現に関連性のあることが示唆されている。

以上のことから、本薬によって誘発された眼の異常も低血糖によるものと推察された。

インスリン分泌促進作用を有するグリベンクラミドの反復投与により、膵臓のβ細胞が無顆粒状態(インスリンの枯渇)となり、薬剤に対して無反応、すなわち低血糖状態を示さなくなることが知られている¹⁵⁾。

今回、本薬の器官形成期投与試験において、ラットの2500mg/kg投与群で胎児の眼の異常がみられなかったことは、グリベンクラミドと同様にこの投与群では高用量反復投与のため低血糖状態が誘発されず、胎児の眼の異常が発現しなかったものと推測される。

一方、低・中用量群では一過性ながら眼の発生時期に低血糖状態を生じ、小眼球等の異常がみられたものと考えられる。

以上のことから、母動物及び出生児に対する毒性学的無影響量は2500 mg/kg/日と推察され、胎児に対する無毒性量は1mg/kg/日未満と推察された。

引用文献

- 9) Baeder C.: AMJ Berichte, 1, 133, 1978
- 10) Miyamoto M. et al.: Cong. Anom., 17, 31, 1977
- 11) Tuchmann-Duplessis H. et al.: C. R. Soc. Biol., 152, 460, 1958
- 12) Tuchmann-Duplessis H. et al.: C. R. Acad. Sci., 247, 1134, 1958
- 13) Tuchmann-Duplessis H. et al.: C. R. Soc. Biol., 157, 1193, 1963
- 14) Brinsmade A. et al.: Naturwissenschaften, 43, 259, 1956
- 15) Pfaff, W. et al.: Arzneim. -Forsch., 19, 1445, 1969

表二-12 ラットの器官形成期投与試験

動物種・系統・週齢		ラット ウィスター系, 9週齢				
投与経路		経口				
投与量(mg/kg/日)		対照	1	50	2500	
F ₁ 胎児	動物数	妊娠末期剖検	20	20	20	20
		自然分娩	9	10	10	10
	死亡数	0	0	0	0	
	一般状態	—	—	—	—	
	体重	—	—	—	—	
	摂餌量	—	—	—	—	
	黄体数	14.2	14.8	14.2	13.5	
	着床数	13.2	14.3	12.9	12.5	
	剖検	—	—	—	—	
	分娩異常	—	—	—	—	
母動物	着床後死亡率 (%)		10.4	3.3	3.3	4.4
	生存胎児数		11.8	13.8	12.5	12.0
	死亡胎児数		0	0	0	0.05
	性比 (♂/♀)		1.2	0.9	1.0	1.0
	生存胎児の体重(g)		3.29	3.33	3.21	3.23
	外形異常	頻度 (%)	0	0.8	1.7	0
		型	—	無眼球	無眼球	—
	骨格異常	頻度 (%)	—	—	—	—
		型	—	—	—	—
	内臓胃重量	頻度 (%)	—	—	—	—
型		—	—	—	—	
分娩親動物	妊娠期間(日)		22.6	22.7	22.7	22.4
	出産率(%)		90	100	100	100
	出生率(%)		91.9	89.0	91.6	87.3
	離乳率(%)		98.9	99.3	97.3	97.2
	体重(g)		—	—	—	—
F ₁ 動物	外形異常		—	—	—	—
	形態分化		—	—	—	—
	機能, 行動・学習		—	—	—	—
	交尾率(%)		88.9	80.0	100	90.0
	受胎率(%)		100	100	100	100
	妊娠期間(日)		22.5	22.6	22.7	22.5
	出産率(%)		100	100	100	100
F ₂ 児	出生児数		13.9	13.3	12.9	12.2
	性比(♂/♀)		0.8	1.0	1.1	1.0
無毒性量		母動物及び出生児: 2500mg/kg/日 胎児: 1mg/kg/日未満				

* : p<0.05 (Goodman 検定, Fisherの直接確率法)

—: 特記すべき所見なし

2) ウサギにおける試験

① 試験方法

予備検討において、ウサギ胎児の器官形成期(妊娠6日目より18日目まで)に グリメピリドの32~1000mg/kg/日を各群2~4例の妊娠ウサギに経口投与した結果、32~125mg/kg/日投与群では、母動物の体重減少、胎児死亡がみられ、250~1000mg/kg/日投与群では、胎児死亡及び流産がみられたため、最大量を32.0mg/kg/日とし、以下、3.20、0.32mg/kg/日と設定し、実施した。

しかしながら、いずれの群においても流産がみられたため、更に0.0670mg/kg/日を最高投与量とし、以下、0.0212及び0.0067mg/kg/日と設定し、追加試験を行い、母動物及び胎児に及ぼす影響について検討した。なお、いずれも対照群には媒体である2%ポテトスターチ液のみを投与した。

② 結果

結果を表二-13-1), 2)に示した。0.0212mg/kg/日以上投与群では、血糖値低下に起因すると思われる流産がみられた。また、0.0212mg/kg/日投与群を除くいずれの薬物投与群においても小眼球等の異常がみられた。これらの異常は、インスリンあるいは類似の血糖降下剤を妊娠ウサギに投与した時にもみられており^{12, 13)}、低血糖によるものと推察された。

以上のことから、母動物における無毒性量は 0.0067mg/kg/日、胎児では0.0067mg/kg/日未満と推察された。

表二-13-1) ウサギの器官形成期投与試験

動物種・系統・週齢		ウサギ ヒマラヤン系, 6~8カ月齢				
投与経路		経口				
投与量(mg/kg/日)		対照	0.0067	0.0212	0.0670	
母動物	動物数	15	15	15	15	
	死亡数	0	0	0	0	
	一般状態	—	—	流産 (1)	流産 (3)	
	体重	—	—	—	—	
	摂餌量	—	—	—	—	
	黄体数	8.4	7.7	7.5	8.1	
	着床数	7.5	6.5	6.0	7.1	
胎児	剖検	—	—	—	—	
	着床後死亡率(%)	16.1	9.2	41.7	60.0	
	生存胎児数	6.3	5.9	3.5*	2.8*	
	性比(♂/♀)	0.88	0.78	1.13	1.27	
	生存胎児体重(g)	41.8	43.5	43.6	44.0	
	異常	頻度 (%)	1/94(1.1)	1/89(1.1)	0	4/34(11.8)
		型(数)	右前肢彎曲(1)	小眼球(1)	—	小眼球(1), 臍帯ヘルニア(1), 四肢異常(四肢骨短小, 彎曲)(2).
無毒性量		母動物: 0.0067mg/kg/日 胎児: 0.0067mg/kg/日未満				

∴ p<0.05 (Goodman検定, Fisherの直接確率法), —: 特記すべき所見なし

表二-13-2) ウサギの器官形成期投与試験

動物種・系統・週齢		ウサギ ヒマラヤン系, 6~8カ月齢				
投与経路		経口				
投与量(mg/kg/日)		対照	0.32	3.20	32.0	
母動物	動物数	15	15	15	15	
	死亡数	0	0	0	0	
	一般状態	—	流産 (4)	流産 (7)	流産 (10)	
	体重	—	—	—	—	
	摂餌量	—	増加	増加	増加	
	黄体数	7.7	7.6	7.3	6.8	
	着床数	7.1	7.1	6.6	5.8	
胎児	剖検	—	—	—	—	
	着床後死亡率(%)	5.7	60.3	50.9	62.0	
	生存胎児数	6.7	2.8*	3.3*	2.2*	
	性比(♂/♀)	1.0	0.7	1.2	1.2	
	生存胎児体重(g)	40.96	42.61	41.74	41.55	
	異常	頻度 (%)	1/100 (1.0)	8/31 (25.8)	3/26 (11.5)	2/11 (18.2)
		型(数)	頭蓋裂 (1)	小眼球(3)*, 腹壁裂(1), 四肢異常(四肢骨短小, 彎曲)(5)	小眼球 (1), 四肢異常 (四肢骨短小, 彎曲)(2), 胸骨異常(1)	小眼球+臍帯ヘルニア+閉眼+四肢異常(四肢骨短小, 彎曲)(1), 四肢異常(1)

*: p<0.05 (Goodman検定, Fisherの直接確率法), —: 特記すべき所見なし

(3) 周産期及び授乳期投与試験(Segment -III)

1) 試験方法

ラットの器官形成期投与試験(1, 50及び2500mg/kg/日)と同一の投与量を用いた。ラットの妊娠17日目から分娩後21日目まで経口投与し、母動物及び次世代児への影響について検討した。対照群には媒体である2%ポテトスターチ液のみを投与した。

2) 結果

結果を表二-14-1)に示した。母動物に薬物投与の影響は認められなかった。50及び2500mg/kg/日投与群で出生児数の減少、死産児数の増加及び離乳率の低下がみられたが、この変化は本剤の血糖値低下作用に基づくものと思われた。また、1mg/kg/日投与群でも離乳率が低下したが、施設のバックグラウンドデータの範囲内(78.1~99.1%)であり、薬物投与に起因するものとは考えられなかった。2500mg/kg/日投与群で離乳児1例に前肢の短縮、彎曲が認められた。

以上のことから、母動物に対する無毒性量は2500mg/kg/日と推察され、出生児に対する毒性学的無影響量は1mg/kg/日と推察された。

表ニ-14-1) ラットの周産期及び授乳期投与試験

動物種・系統・週齢		ラット ウィスター系, 9~10週齢			
投与経路		経口			
投与量(mg/kg/日)		対照	1	50	2500
母動物	動物数	20	20	20	20
	死亡数	0	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—
	体重	—	—	—	—
	摂餌量	—	—	—	—
	妊娠期間(日)	22.4	22.8	22.7	22.7
	着床数	13.1	13.3	12.1	12.8
	分娩異常	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
出生児 F ₁	出産率(%)	100	100	100	100
	出生児数	12.5	11.9	9.3*	7.9*
	死産児数	0	0.05	1.4*	2.1*
	離乳率(%)	98.1	94.2*	86.3*	80.6*
	性比(♂/♀)	1.08	0.82	1.08	0.96
	体重(g)	5.60	5.68	5.69	5.54
	形態分化	—	—	—	—
	外形異常	—	—	—	—
	機能, 行動・学習	—	—	—	—
	剖検(%)	—	—	—	1 (2.5) 前肢短縮/彎曲
	交尾率(%)	100	100	95.0	100
	妊娠率(%)	95.0	100	100	100
	妊娠期間	22.6	22.6	22.4	22.5
出生児 F ₂	出生児数	13.5	14.5	14.2	13.0
	体重(g)	5.52	5.44	5.42	5.52
	性比(♂/♀)	1.17	1.17	1.17	0.79
	外形異常	—	—	—	—
無毒性量		母動物 : 2500mg/kg/日			
		出生児 : 1mg/kg/日			

* : p<0.05 (Goodman検定, Fisherの直接確率法)

— : 特記すべき所見なし

4. 依存性

グリメピリドの一般薬理試験の結果、マウス及びラットにおいて中枢神経系に対する作用は認められなかった。また、ラット及びイヌを用いた慢性毒性試験の回復性試験において、摂餌量の変動あるいは体重の変動等も観察されなかった。

以上のことから、グリメピリドには中枢神経系に対する特異的な作用はないものと考えられたので、依存性試験は実施しなかった。

5. 抗原性

(1) モルモット抗原性試験

1) 試験方法

雄Hartley系モルモットに、グリメピリドの場合はグリメピリド単独を1週間に5回の割合で15回投与する経口投与群と、Freund's Complete Adjuvant (FCA) あるいはFreund's Incomplete Adjuvant (FIA)とともに1週間隔で4回投与する皮下投与群を設けた。グリメピリド代謝物M1とFCAあるいはFIAとの併用投与は、グリメピリドの場合と同様に実施した。

最終投与11日後に部分採血し、得られた血清を4時間 Passive Cutaneous Anaphylaxis (PCA) 試験に供した。全身性アナフィラキシーは採血2日後に実施した。両試験ともに、それぞれ対応する薬物及びグリメピリド代謝物 M2 とBovine Serum Albumin (BSA) との結合物で誘発を行った。

2) 結果

結果を表二-15に示した。グリメピリド経口投与群、グリメピリド(+FCA, FIA)皮下投与群及びM1(+FCA, FIA)皮下投与群ともに、全身性アナフィラキシー及びPCA反応は陰性で抗体は検出されなかった。

一方、陽性対照であるOvalbumin (OVA) 感作群は、全例が明らかな全身性アナフィラキシー及びPCA反応を示した。

表二-15 モルモット抗原性試験

感作方法	投与経路	誘発抗原 ³⁾	全身性 アナフィラキシー	PCA反応
グリメピリド 2mg/匹 ¹⁾	経口投与	グリメピリド M2-BSA	0/5 ⁴⁾ 0/5	0/10 ⁴⁾ 0/10
グリメピリド 2mg/匹 ²⁾ (+FCA, FIA)	皮下投与	グリメピリド M2-BSA	0/5 0/5	0/10 0/10
M1 2mg/匹 ²⁾ (+FCA, FIA)	皮下投与	M1 M2-BSA	0/5 0/5	0/10 0/10
OVA 0.5mg/匹 ²⁾ (+FCA, FIA)	皮下投与	OVA	5/5	5/5

1): 1週間に5回の割合で15回投与した

2): 1週間隔で4回投与した

3): 全身性アナフィラキシー及びPCA反応での誘発投与量: 2mg/匹

4): 陽性動物数/検査動物数

(2) マウス抗原性試験

1) 試験方法

雄A/Jマウスに、グリメピリドあるいはM1をFCAとともに2週間隔で4回皮下投与した。最終投与14日後血清を採取し、ラット4時間PCAにてIgE抗体産生を検索した。

2) 結果

結果を表二-16に示した。グリメピリド及びM1をFCAとともに投与しても、IgE抗体産生は認められなかった。一方、陽性対照のOVA感作群では全例IgE抗体が検出された。

表二-16 マウス抗原性試験

感作方法 ¹⁾	投与経路	誘発抗原 ²⁾	PCA反応
グリメピリド 200 μ g/匹 (+FCA)	皮下投与	グリメピリド M2-BSA	0/10 ³⁾ 0/10
M1 200 μ g/匹 (+FCA)	皮下投与	M1 M2-BSA	0/10 0/10
OVA 100 μ g/匹 (+FCA)	皮下投与	OVA	5/5

1): 2週間間隔で4回投与した

2): 誘発投与量 2mg/匹

3): 陽性動物数 / 検査動物数

6. 変異原性

1) 試験方法

遺伝子突然変異誘発性を指標とする試験としては、細菌を用いた復帰突然変異試験及びチャイニーズハムスターV79細胞を用いた遺伝子突然変異試験を実施した。また、染色体異常誘発性を指標とする試験としては、哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験及びげっ歯類を用いた小核試験を実施した。

2) 結果

結果を表二-17-1)~4)に示した。いずれの試験においても変異原性は認められなかった。

表二-17-1) 細菌を用いる復帰突然変異試験

試験方法			寒天プレート法						
代謝活性化	被験物質及び濃度 (μg / プレート)		復帰変異コロニー数 ¹⁾ / プレート						
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA1538	E. coli WP2 uvr A	
無 し	DMSO	0	溶媒 対照	40.0 ± 5.0	149 ± 5	12.5 ± 2.9	13.5 ± 2.6	13.3 ± 1.3	24.5 ± 4.1
	グリ メ ピ リ ド	4		42.5 ± 2.4	143 ± 9	11.5 ± 2.1	13.8 ± 1.7	13.3 ± 2.5	23.8 ± 2.4
		20		38.3 ± 2.6	147 ± 8	12.8 ± 2.8	14.8 ± 3.0	15.0 ± 2.2	26.3 ± 3.9
		100		43.8 ± 3.8	141 ± 10	14.3 ± 3.5	13.0 ± 3.7	12.0 ± 2.2	24.5 ± 4.4
		500		43.3 ± 5.9	134 ± 11	11.3 ± 3.2	14.0 ± 1.4	12.5 ± 3.0	26.8 ± 2.1
		2,500*		41.0 ± 4.8	102 ± 8	10.3 ± 1.7	11.5 ± 2.6	10.8 ± 1.7	22.5 ± 2.4
		10,000*		37.3 ± 4.5	74 ± 5	11.5 ± 2.6	7.0 ± 2.4	12.0 ± 3.2	18.5 ± 2.6
	9-アミノ アクリジン	100	陽 性 対 照	—	—	—	1140 ± 85	—	—
	2-アミノ アントラセン	0.5		43.5 ± 4.9	132 ± 12	—	—	17.0 ± 1.4	—
		1		—	—	13.5 ± 3.5	14.0 ± 1.4	—	—
		5		>5000	3800 ± 226	—	—	4110 ± 382	—
		10		—	—	—	—	—	28.0 ± 2.8
	ストレプトコ トシン	5		—	—	>5000	—	—	—
	ENNG	2	—	—	—	—	—	575 ± 21	
	有 り	DMSO	0	溶媒 対照	50.8 ± 3.3	164 ± 9	12.5 ± 2.4	16.8 ± 3.4	21.0 ± 2.9
グリ メ ピ リ ド		4		50.3 ± 6.3	163 ± 13	14.0 ± 1.4	17.3 ± 1.3	20.3 ± 3.4	30.0 ± 4.5
		20		49.3 ± 2.6	152 ± 8	11.8 ± 1.5	17.3 ± 3.6	18.3 ± 3.9	28.0 ± 2.8
		100		49.8 ± 4.5	156 ± 16	11.3 ± 1.3	17.5 ± 3.7	14.3 ± 2.2	30.8 ± 3.4
		500		50.3 ± 2.9	146 ± 8	15.0 ± 4.3	17.0 ± 4.2	18.0 ± 5.0	31.0 ± 5.9
		2,500*		47.3 ± 3.3	107 ± 20	10.3 ± 3.9	12.3 ± 1.3	19.5 ± 4.8	28.3 ± 4.3
		10,000*		36.8 ± 3.9	92 ± 7	9.3 ± 2.9	8.0 ± 2.4	7.5 ± 1.7	26.5 ± 3.1
2-アミノ アントラセン		0.5	陽性 対照	610 ± 14	675 ± 49	—	—	835 ± 106	—
		1		—	—	144 ± 4	147 ± 11	—	—
		10		—	—	—	—	—	2550 ± 99

1): 平均値 \pm 標準偏差(n=4), *: 培地中に沈殿させた濃度, —: 未実施

DMSO: ジメチルスルフォキシド, ENNG: N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

表二-17-2) 哺乳類の培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験

使用細胞		チャイニーズハムスターV79細胞									
陽性対照薬		メタンスルホン酸エチル(EMS), 9, 10-ジメチル-1, 2ベンツアントラセン(DMBA)									
試験群構成		陽性対照群		陰性対照群		グリメピリド群					
用量 (μg/mL)		EMS	DMBA	DMSO		50	100	200	300	400	
		1000	7.7	+	-						
突然変異 コロニー 形成数	代謝 活性化	無し	162.2 ±14.5	—	5.8 ±2.6	6.2 ±1.9	5.2 ±1.3	2.2 ±1.6	2.2 ±1.6	4.0 ±2.4	9.6 ±3.4
			100.6 ±15.5	—	4.4 ±1.8	1.4 ±1.1	15.6 ±2.9	2.4 ±0.5	7.4 ±1.1	9.0 ±2.3	10.0 ±3.2
		有り	—	117.4 ±7.7	5.8 ±2.6	5.8 ±2.6	3.4 ±1.5	7.0 ±1.4	4.8 ±1.3	—	4.6 ±2.8
			—	62.2 ±7.0	6.8 ±2.5	4.2 ±1.3	3.6 ±1.7	7.6 ±2.9	5.4 ±1.3	—	5.2 ±4.0
突然変異 率 ¹⁾	代謝 活性化	無し	771.7	—	22.0	22.3	22.1	8.3	11.3	23.5	42.1
			654.4	—	22.6	6.2	73.0	11.5	34.3	47.2	50.1
		有り	—	624.6	32.4	32.7	18.0	25.5	16.8	—	21.8
			—	334.4	35.0	15.3	14.6	46.9	28.9	—	27.6

1): 突然変異コロニー形成数(平均値)×10⁶ / 生存細胞数, —: 未実施 (平均値±標準偏差, n=5)

表二-17-3) 哺乳類の培養細胞を用いる *in vitro* 不定期 DNA 合成試験

使用細胞		ヒト由来細胞系 A549											
陽性対照薬		4-ニトロキノリン-N-オキサイド(NQO), ベンツ(a)バイレン(BP)											
試験群構成		陽性対照群		陰性対照群		グリメピリド群							
用量 (μg/mL)		NQO	BP	DMSO		1.0	3.0	10.0	30.0	100.0	300.0	1000.0	
		1	10	+	-								
^[3H] 取り込み 量 (dpm / μg DNA)	代謝 活性化	無し	21552* ±6753	796 ±550	1336 ±143	1420 ±116	1005 ±117	979 ±251	937 ±358	834 ±472	892 ±271	487 ±229	856 ±170
			22065* ±1246	718 ±57	712 ±27	799 ±108	587 ±43	568 ±57	592 ±43	572 ±39	612 ±212	359 ±43	621 ±56
		有り	34328* ±3225	—	1434 ±300	1384 ±175	1040 ±183	1202 ±268	974 ±131	1053 ±203	932 ±110	597 ±125	1099 ±257
			—	2254* ±412	1184 ±199	—	769 ±301	965 ±406	760 ±190	732 ±82	683 ±108	381 ±78	772 ±200
—	—	1412* ±152	605 ±42	—	504 ±27	480 ±111	470 ±58	399 ±18	367 ±28	238 ±25	341 ±16		

*: p<0.01(Student の t-検定), —: 未実施

(平均値±標準偏差, n=6)

表二-17-4) げっ歯類を用いる小核試験

動物種・系統 週齢・性 体重(平均±SD)	マウス:NMRKf系 投与時約7週齢; 雌雄:(♂)32±3g, (♀)23±1g								
使用動物数	雌雄各5匹/群	グリメピリド群: 3群 陰性対照群: 3群 陽性対照群: 1群							
投与経路	経口								
投与回数	単回								
標本染色方法	polychromatic methylene blue								
陽性対照薬	サイクロホスファミド								
標本作成時期	投与24, 48, 72時間後(陽性対照群:投与24時間後のみ)								
試験群構成	陽性 対照群	陰性対照群			グリメピリド群				
投与量(mg/kg)	10	0 (2% デンプン水溶液)			4000				
標本作成時期	投与 24時間後	投与 24時間後	投与 48時間後	投与 72時間後	投与 24時間後	投与 48時間後	投与 72時間後		
試験成績	小核を有する 正染性赤血球 出現頻度(%)	♂	0.02±0.04	0	0	0.02±0.04	0	0.06±0.08	0
		♀	0.06±0.08	0.02±0.05	0	0	0	0.02±0.05	0
	小核を有する 多染性赤血球 出現頻度(%)	♂	0.74±0.29*	0.16±0.11	0.10±0.12	0.06±0.05	0.24±0.09	0.06±0.05	0.08±0.08
		♀	0.66±0.21*	0.06±0.05	0.08±0.08	0.06±0.09	0.08±0.08	0.08±0.11	0.06±0.05
	多染性赤血球 対 正染性赤血 球 (比)	♂	1.15±0.16	1.08±0.15	1.21±0.14	1.05±0.15	0.94±0.15	1.31±0.19	1.03±0.08
		♀	1.37±0.22*	1.10±0.12	1.27±0.14	1.15±0.15	1.39±0.34	1.27±0.22	1.02±0.17

∴ p<0.05(Wilcoxon 検定)

(平均値±標準偏差)

7. 癌原性

(1) マウス癌原性試験

1) 試験方法

1群雌雄各50匹のNMRKf系マウスに、グリメピリドの320(47~54mg/kg)、1265(180~210mg/kg)及び5000ppm(714~814mg/kg)を混餌投与し、24ヵ月間の投与終了後全例を屠殺した。なお、対照群として雌雄各100匹を同様に24ヵ月間飼育観察した。

投与量の設定は、90日間の予備試験(混餌投与)を行い決定した。最高投与量は、血中薬物濃度がほぼプラトーに達した5000ppm(714~814mg/kg：推定臨床用量0.1~0.2mg/kgの3000倍以上)とし、以下1265ppm及び320ppmとした。

2) 結果

結果を表二-18-1)~2)、19-1)~3)に示した。グリメピリド投与各群とも体重、摂餌量、生存率、生存期間、血液学的検査において、いずれも対照群との間に差を認めなかった。

臓器重量では、雌の投与各群及び雄の5000ppm投与群で肝重量の減少、また、雌の1265ppm投与以上で心重量の減少を認めた。

病理組織学的検索において、本薬投与各群で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒が認められた。更に、1265及び5000ppm投与群では、膵島細胞の過形成あるいは腺腫の増加を認めた。膵島細胞腺腫の発生頻度は、PETOの検定を実施し、対照群と薬剤投与群との間に有意差($p < 0.05$)を認めたため、更にFisherの直接確率法を用いて検定を行った。その結果、1265ppm以上の投与群では有意に膵島細胞腺腫の増加を認めた。この変化は本薬の薬効に基づく作用として、膵島細胞を長期間刺激したために生じた変化と推察される。統計解析の追加部分に関し、最終報告書の追加修正を行ったことから、資料を追加提出した。

その他の腫瘍の発生頻度及び種類に関して対照群との間に差は認められなかった。

3) 参考：ラットとマウス膵島腫瘍の判定について

マウスがん原性試験における膵島細胞腺腫は、提出資料に記載されている Cardesa et al. (1979), Frith et al. (1983, 1988), Faccini et al. (1990) による診断基準により判定した。

一方、ラットがん原性試験における膵島腫瘍は、提出資料に記載されている Riley et al. (1990) による診断基準により判定した。

それぞれの診断基準の要約を表二-18-2)に示した。

マウス及びラット膵島細胞腺腫の組織診断基準は、本質的に同一のものである。この診断基準に従って判定した結果、認められた腫瘍はマウス、ラットいずれにおいても良性腫瘍のみであり、浸潤・転移といった腺癌の組織像を示すものではなかった。マウスにおいては中間用量の1265ppm以上の群で膵島細胞腺腫の発生が有意に増加した。しかし、ラットではい

ずれの投与群とも対照群との間に有意差を認めなかった。

以上のことから、本剤投与によりマウスに発現した膵島細胞腺腫は、臨床用量の約2000倍以上に相当する1265 ppm以上の投与量を24カ月間にわたって投与した際に発生が認められ、ラットではこのような変化はみられず、種差を示す変化であった。したがって、上記観察結果はマウス特異的なものと推察され、本剤の臨床用量ではヒトで膵島腫瘍が発生する可能性は少ないものと考えられる。

表二-18-1) マウス癌原性試験

動物種・系統	マウス NMRKf系									
週齢・性・体重	4週齢 ♂ 21.7g ♀ 20.1g									
投与経路	経口 (混餌)									
投与期間	24カ月間									
投与量(ppm)	対照1		対照2		320		1265		5000	
動物数	♂50	♀50	♂50	♀50	♂50	♀50	♂50	♀50	♂50	♀50
生存匹数	31	27	31	21	25	16	30	24	29	23
死亡匹数	19	23	19	29	25	34	20	26	21	27
一般状態	—		—		—		—		—	
体重	—		—		—		—		—	
摂餌量	—		—		—		—		—	
血液学的検査	—		—		—		—		—	
剖検	—		—		—		—		—	
臓器重量	—		—		♀で肝重量減少		♀で肝重量、心重量減少		♂♀で肝重量減少 ♀で心重量減少	
病理組織学的検査 (非腫瘍性病変)	—		—		♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒		♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒、及び島細胞の過形成		♂♀で膵臓ランゲルハンス氏島β細胞の脱顆粒、及び島細胞の過形成	

— : 特記すべき所見なし

表二-18-2) マウス及びラットにおける膵島細胞腺腫の組織診断基準 (要約)

	マウス	ラット
腫瘍の個数	通常単独	通常単独
細胞の大きさ	正常より大きい	直径 1~10 mm
細胞種	大部分がβ細胞	大部分がβ細胞(α, δ細胞散在)
増殖パターン	列状, リボン状, 索状, 血管に富む, 出血, 融解	充実に密集, リボン状, 索状, 巢状, 血管新生, 出血
細胞分化度	高分化, 多形性, 伸長している例あり	軽度高分化~中等度の異型性, 多形性
周囲組織との境界	圧迫, 境界明瞭	圧迫, 境界明瞭

表二-19-1) マウス癌原性試験における諸臓器の腫瘍発生総数

投与量 (ppm)		対照1		対照2		320		1265		5000	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍発生総数		28	66	27	59	41	68	32	71	36	67
鼻	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
脊髄	血管腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
肺	肺胞腺癌	1	0	0	0	3	0	2	1	1	2
	血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	転移	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	細気管支/肺胞腺腫	4	0	7	4	5	3	4	2	7	7
	血管腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
舌	顆粒細胞腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
食道	乳頭腫	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0
胃	扁平上皮癌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	扁平上皮乳頭腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
十二指腸	腺癌	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
結腸	腺腫様ポリープ	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肝臓	肝細胞癌	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
	血管肉腫	2	0	1	0	1	0	1	0	1	0
	クーパー細胞肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	血管腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
膵臓	島細胞腺腫#	0	1	0	0	1	2	3*	4*	7*	4*
腎臓	尿細管上皮腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
膀胱	悪性腫瘍転移	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
精巣	悪性ライディッヒ細胞腫	0	-	0	-	0	-	1	-	1	-
	精上皮腫	0	-	0	-	0	-	0	-	1	-
	良性ライディッヒ細胞腫	0	-	0	-	1	-	0	-	1	-
	血管腫	0	-	0	-	1	-	0	-	0	-
前立腺	悪性腫瘍	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
精嚢	顆粒細胞腫	2	-	0	-	0	-	0	-	1	-

- : 該当せず

: PETO p<0.05

* : Fisher p<0.05

表二-19-2) マウス癌原性試験における諸臓器の腫瘍発生総数

投与量 (ppm)		対照1		対照2		320		1265		5000	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍発生総数		28	66	27	59	41	68	32	71	36	67
子宮	血管肉腫	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	平滑筋肉腫	-	1	-	0	-	0	-	1	-	1
	子宮内膜間質性肉腫	-	2	-	1	-	1	-	1	-	1
	悪性神経鞘腫	-	0	-	0	-	2	-	0	-	0
	肉腫	-	3	-	0	-	0	-	0	-	0
	悪性顆粒膜細胞腫	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
	腺癌	-	0	-	0	-	1	-	2	-	0
	卵黄囊腺癌	-	0	-	0	-	0	-	1	-	0
	癌	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	血管腫	-	1	-	0	-	1	-	2	-	3
	間質性ポリープ	-	6	-	2	-	2	-	0	-	2
	平滑筋腫	-	1	-	0	-	1	-	3	-	0
	線維腫	-	1	-	0	-	0	-	0	-	0
	顆粒膜細胞腫	-	2	-	1	-	2	-	1	-	2
良性神経鞘腫	-	0	-	0	-	0	-	2	-	0	
卵巢	管間質性腺癌	-	1	-	0	-	0	-	0	-	0
	悪性顆粒膜細胞腫	-	2	-	4	-	3	-	1	-	1
	悪性卵胞膜腫	-	0	-	0	-	0	-	1	-	0
	血管肉腫	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
	血管腫	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	管間質性腺腫	-	0	-	0	-	1	-	2	-	1
	嚢胞腺腫	-	1	-	2	-	1	-	1	-	2
	セルトリ細胞腫	-	2	-	2	-	1	-	1	-	0
	良性顆粒膜細胞腫	-	7	-	5	-	3	-	3	-	2
	卵胞膜腫	-	1	-	2	-	0	-	4	-	3
	黄体腫	-	4	-	3	-	4	-	3	-	4
腺	腺癌	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	間質性肉腫	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
	悪性神経鞘腫	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	顆粒細胞腫	-	0	-	4	-	0	-	2	-	0
	線維腫	-	1	-	0	-	0	-	0	-	0
下垂体	後葉腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
甲状腺	濾胞腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
上皮小体	腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
副腎	悪性褐色細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	皮質腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	髓質腺腫	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
脾臓	血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
胸腺	良性胸腺腫	0	0	0	1	0	1	0	3	0	1

一: 該当せず

表二-19-3) マウス癌原性試験における諸臓器の腫瘍発生総数

投与量 (ppm)		対照1		対照2		320		1265		5000	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍発生総数		28	66	27	59	41	68	32	71	36	67
血液・リン パ・細網系	組織球性肉腫	1	2	0	1	1	5	1	0	0	0
	悪性線維性組織球腫	1	0	0	0	0	0	0	2	0	1
	悪性リンパ腫	10	24	14	16	13	18	10	13	7	15
	形質細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	骨髄性白血病	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	赤血白血病	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	肥腫細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
腸間膜 リンパ節	リンパ肉腫	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
	血管腫	0	1	1	0	0	2	2	4	0	3
耳下腺	管状腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
ハーダー 腺	腺癌	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	腺腫	0	0	0	0	3	1	0	0	3	1
乳腺	腺癌	-	0	-	1	-	1	-	1	-	1
皮膚	血管肉腫	0	0	0	2	0	2	1	1	1	0
	肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	線維肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	顆粒細胞腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	ケラトアカントーマ	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
胸骨	紡錘形細胞肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	悪性顆粒細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
大腿骨/ 脛骨	肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	血管腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
骨格筋	横紋筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
腹膜	中皮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
尾	血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	線維肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	悪性神経鞘腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
特定でき なかった 組織	肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

- : 該当せず

(2) ラット癌原性試験

1) 試験方法

1群雌雄各50匹のウィスター系ラットに、グリメピリドの320(17~22mg/kg), 1265(66~87mg/kg)及び5000ppm(264~345mg/kg)を混餌投与し、30ヵ月間の投与終了後全例を屠殺した。なお、対照群として雌雄各100匹を同様に30ヵ月間飼育観察した。投与量の設定は、90日間の予備試験(混餌投与)を行い決定した。最高投与量は、血中薬物濃度がほぼプラトーに達した5000ppm(264~345mg/kg : 推定臨床用量0.1~0.2mg/kgの1500倍以上)とし、以下1265及び320ppmとした。

全ての腫瘍発生頻度についてPETOの検定を実施し、更に睪島細胞線腫の発生頻度については、Fisherの直接確率法を用いて検定を行った。

2) 結果

結果を表二-20, 21-1)~3)に示した。グリメピリド投与各群とも体重, 摂餌量, 生存率, 生存期間, 血液学的検査, 臓器重量において、いずれも対照群との間に差を認めなかった。また、病理組織学的検索においても本薬投与による腫瘍性病変あるいは非腫瘍性病変の発生頻度及び種類とも対照群との間に差がなく、本薬に癌原性は認められなかった。

本試験における転移肉腫及び転移癌の原発臓器と組織型を表二-21-4)に示し、それぞれの個別別表を表二-21-5)~6)に示した。

表二-20 ラット癌原性試験

動物種・系統	ラット ウィスター系									
週齢・性・体重	4週齢 ♂ 平均 95.6g ♀ 平均 90.7g									
投与経路	経口 (混餌)									
投与期間	30ヵ月間									
投与量(ppm)	対照1		対照2		320		1265		5000	
動物数	♂50	♀50	♂50	♀50	♂50	♀50	♂50	♀50	♂50	♀50
生存匹数	25	21	34	29	32	25	25	20	30	25
死亡匹数	25	29	16	21	18	25	25	30	20	25
一般状態	—		—		—		—		—	
体重	—		—		—		—		—	
摂餌量	—		—		—		—		—	
血液学的検査	—		—		—		—		—	
剖検	—		—		—		—		—	
臓器重量	—		—		—		—		—	
病理組織学的検査 (非腫瘍性病変)	—		—		—		—		—	

—: 特記すべき所見なし

表ニ-21-1) ラット癌原性試験における諸臓器の腫瘍発生総数

投与量 (ppm)		対照1		対照2		320		1265		5000	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍発生総数		74	103	114	108	106	80	79	95	96	127
脳	稀突起膠細胞腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	顆粒細胞腫	0	1	2	0	4	0	1	2	3	2
	髄膜腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	神経鞘腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
心臓	心内膜神経鞘腫	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0
	転移肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
気管	転移肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
肺	細気管支/肺胞癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	気管支癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	転移癌	1	3	1	3	1	1	2	2	0	3
	転移肉腫	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0
	細気管支/肺胞腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
食道	転移肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
胃	平滑筋肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	平滑筋腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
十二指腸	平滑筋肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
盲腸	腺癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
肝臓	肝細胞癌	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	転移癌	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2
	肝細胞腺腫	0	2	4	4	2	2	0	2	4	2
	胆管腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脾臓	腺細胞癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	転移肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
	転移癌	0	1	0	3	0	1	0	0	0	3
	腺細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	島細胞腺腫	3	2	6	2	13	6	10	6	10	4
腎臓	尿細管上皮癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	血管肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	転移癌	0	0	0	0	0	1	1	0	0	3
	転移肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	移行上皮癌	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	脂肪腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
膀胱	転移肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	転移癌	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3

表ニ-21-2) ラット癌原性試験における諸臓器の腫瘍発生総数

投与量 (ppm)		対照1		対照2		320		1265		5000	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍発生総数		74	103	114	108	106	80	79	95	96	127
精巣	ライディッヒ細胞腫	7	-	6	-	6	-	6	-	3	-
前立腺	腺癌	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
	腺腫	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
精囊	扁平上皮癌	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
	平滑筋肉腫	1	-	0	-	0	-	0	-	0	-
	転移癌	0	-	0	-	0	-	1	-	0	-
	転移肉腫	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
子宮	血管肉腫	-	1	-	0	-	0	-	3	-	0
	平滑筋肉腫	-	0	-	0	-	0	-	1	-	1
	腺癌	-	3	-	3	-	1	-	1	-	7
	間質肉腫	-	3	-	1	-	2	-	0	-	1
	腺腫	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	血管腫	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	顆粒細胞腫	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
卵巣	悪性顆粒膜細胞腫	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	悪性卵胞膜腫	-	0	-	0	-	2	-	1	-	1
	肉腫	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
	悪性腫瘍	-	0	-	0	-	0	-	1	-	0
	転移癌	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	顆粒膜細胞腫	-	1	-	1	-	1	-	2	-	1
	卵胞膜腫	-	0	-	0	-	2	-	0	-	1
下垂体	頭蓋咽頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	腺腫	19	31	27	30	24	30	14	29	27	33
甲状腺	濾胞癌	2	0	1	0	1	0	1	0	0	1
	C細胞癌	0	1	2	1	1	2	3	1	2	3
	転移癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	濾胞腺腫	7	2	4	0	4	1	2	0	4	1
	C細胞腺腫	6	11	6	3	13	5	8	10	8	4
上皮小体	腺腫	2	0	5	1	2	1	2	0	5	0
副腎皮質	癌	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
	転移癌	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
	転移肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腺腫	0	0	3	5	1	0	0	0	0	2
	血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
副腎髄質	悪性褐色細胞腫	2	1	1	0	2	1	2	0	1	0
	転移癌	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	褐色細胞腫	5	0	1	4	2	0	3	1	7	2
脾臓	血管肉腫	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	平滑筋肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
	転移癌	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2

- : 該当せず

表二-21-3) ラット癌原性試験における諸臓器の腫瘍発生総数

投与量 (ppm)		対照		対照		320		1265		5000	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍発生総数		74	103	114	108	106	80	79	95	96	127
血液・リンパ・細網系	悪性リンパ腫	4	6	3	3	4	2	3	5	7	7
	組織球肉腫	0	1	1	0	3	0	1	0	0	2
頸部リンパ節	転移癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	転移肉腫	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
リンパ節	転移癌	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
腸間膜リンパ節	転移癌	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	血管腫	9	1	8	2	5	0	4	1	3	1
腸骨リンパ節	転移癌	0	1	0	2	0	0	1	2	0	2
	血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
耳下腺	悪性神経鞘腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	転移肉腫	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
舌下腺	転移癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	転移肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
顎下腺	悪性神経鞘腫	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
	転移癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	転移肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
乳腺	癌	0	6	0	5	0	5	1	10	0	4
	線維腺腫	0	14	0	15	0	3	1	6	0	7
	腺腫	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0
皮膚	肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	基底細胞癌	1	1	0	0	1	0	0	0	0	2
	悪性神経鞘腫	0	0	1	0	1	1	0	2	1	1
	扁平上皮癌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚組織球肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1
	平滑筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	扁平上皮乳頭腫	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	基底細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	線維腫	0	0	1	0	1	0	2	0	2	0
	線維性組織球腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
ケラトアカントーマ	0	0	1	0	2	0	1	0	2	0	
骨格筋	転移癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
横隔膜	転移肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	転移癌	0	1	0	2	0	1	0	0	0	3
骨	骨腫	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
脂肪	脂肪腫	0	1	1	4	1	1	0	5	1	1
体腔	転移癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	悪性神経鞘腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

表二-21-4) ラット癌原性試験における諸臓器の転移肉腫及び
転移癌の原発臓器並びに組織型

腫瘍名	原発臓器	組織型	転移先組織・部位
転移肉腫	顎下腺	悪性神経鞘腫	心臓, 肺, 腎臓, 精囊, 副腎皮質, 頸部リンパ節
	心臓	心内膜神経鞘腫	気管, 食道, 膀胱, 耳下腺, 舌下腺, 顎下腺, 横隔膜
	子宮	血管肉腫	肺
		間質肉腫	脾臓
皮膚	線維性組織球腫	肺, 頸部リンパ節, 耳下腺	
転移癌	体腔	悪性神経鞘腫	脾臓
	副腎皮質	癌	肺
	子宮	腺癌	肺, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 膀胱, 卵巣, 副腎皮質, 副腎髄質, 脾臓, リンパ節, 腸間膜リンパ節, 腸骨リンパ節, 骨格筋, 横隔膜, 体腔
	乳腺	癌	肺, 腸骨リンパ節
	皮膚	基底細胞癌	肺, 甲状腺, 頸部リンパ節, 舌下腺, 顎下腺
	前立腺	腺癌	肺
	腎臓	尿細管上皮癌	肺
	脾臓	腺細胞癌	肺, 腎臓, 精囊, 腸骨リンパ節
	卵巣	悪性顆粒膜細胞腫	腎臓

表二-21-5) ラットがん原性試験における諸臓器の転移肉腫個体別表

投与量 (ppm)	動物番号	性	原発臓器	組織型	転移先組織・部位
0 (対照群)	77	雌	子宮	間質肉腫	脾臓
	121	雄	心臓	心内膜神経鞘腫	食道, 耳下腺, 舌下腺, 顎下腺, 膀胱, 横隔膜, 気管
	138	雄	顎下腺	悪性神経鞘腫	心臓, 肺, 腎臓, 副腎皮質, 精囊, 頸部リンパ節
	140	雄	皮膚	悪性線維性組織球腫	肺, 頸部リンパ節, 精囊耳下腺
1265	382	雌	子宮	血管肉腫	肺
5000	411	雄	体腔	悪性神経鞘腫	脾臓

表ニ-21-6) ラットがん原性試験における諸臓器の転移癌個別表

投与量 (ppm)	動物番号	性	原発臓器	組織型	転移先組織・部位
0 (対照群)	18	雄	副腎皮質	癌	肺
	52	雌	子宮	腺癌	肺, 脾臓, 膵臓, 腸間膜リンパ節, 副腎皮質, 副腎髄質, 腸骨リンパ節, 横隔膜
	78	雌	乳腺	癌	肺, 心臓
	87	雌	皮膚	基底細胞癌	肺
	142	雄	前立腺	硬性の腺癌	肺
	157	雌	子宮	腺癌	肺, 肝臓, 膵臓, 膀胱, リンパ節, 腸間膜リンパ節, 腸骨リンパ節, 横隔膜
	163	雌	子宮	腺癌	膵臓
	173	雌	子宮	腺癌	副腎皮質, 腸骨リンパ節, 横隔膜, 膵臓
	180	雌	乳腺	癌	肺
	190	雌	副腎皮質	癌	肺
320	220	雄	皮膚	基底細胞癌	肺, 甲状腺, 頸部リンパ節, 舌下腺, 顎下腺
	266	雌	子宮	腺癌	肺, 膵臓, 腎臓, 脾臓, 横隔膜, 体腔
1265	307	雄	腎臓	尿細管上皮癌	肺
	312	雄	膵臓	腺細胞癌	肺, 腎臓, 精囊, 腸骨リンパ節
	374	雌	乳腺	癌	肺, 腸骨リンパ節
	397	雌	乳腺	癌	肺, 腸骨リンパ節
5000	466	雌	子宮	腺癌	膀胱, 骨格筋, 腸骨リンパ節, 横隔膜, 体腔
	468	雌	卵巣	顆粒膜細胞腫	腎臓
	477	雌	子宮	腺癌	肺, 肝臓, 膵臓, 腎臓, 膀胱, 脾臓, 横隔膜, 体腔
	489	雌	子宮	腺癌	肺, 肝臓, 膵臓, 卵巣, 副腎皮質, 副腎髄質, 脾臓, 腸骨リンパ節, 横隔膜, 腎臓
	500	雌	子宮	腺癌	肺, 膵臓, 膀胱

8. 類縁物質の毒性

(1) 代謝物M1, M2のマウスにおける腹腔内投与急性毒性試験

1) 試験方法

雌雄各5匹のICR系マウスに、代謝物M1, M2を0.5%CMC-Na液に懸濁し腹腔内投与した後、2週間観察し急性毒性を検討した。

なお、投与量の設定は、一般的に単回投与毒性試験の上限とされている2000mg/kgとした。

2) 結果

結果を表ニ-22に示した。両化合物とも2000mg/kgを投与した結果、死亡例はみられなかった。したがって、代謝物M1, M2のLD₅₀値は雌雄とも2000mg/kg以上と推察された。

一般状態の変化は、両化合物とも自発運動の減少、腹臥姿勢及び呼吸の異常(深い呼吸あるいは速い呼吸)であった。体重推移では、両化合物とも投与翌日に減少がみられたが、実験終了時には雌の一部を除き順調な体重増加を示していた。剖検所見では、代謝物M1, M2とも何ら異常所見はみられなかった。

(2) スルホンアミド体のマウスにおける経口投与急性毒性試験

1) 試験方法

雌雄各5匹のNMRKf系マウスに、スルホンアミド体を2%ポテトスターチ液に懸濁し経口投与した後、3週間観察し急性毒性を検討した。

なお、投与量の設定は、経口投与可能な最大量である10000 mg/kgとした。

2) 結果

結果を表ニ-22に示した。10000mg/kgを投与した結果、死亡例はみられなかった。したがって、LD₅₀値は雌雄とも10000mg/kg以上と推察された。

一般状態、体重推移及び剖検所見において、スルホンアミド体の影響は何ら認められなかった。

(3) シクロヘキシルアミン体及びシス体のマウスにおける経口投与急性毒性試験

1) 試験方法

各群雄5匹のICR系マウスにシクロヘキシルアミン体及びシス体を1%ポテトスターチ液に懸濁し経口投与した後、2週間観察し急性毒性を検討した。

なお、投与量の設定は、一般的に単回投与毒性試験の上限とされている2000mg/kgとした。

本薬及び代謝物(M1, M2)あるいは不純物及び分解物であるスルホンアミド体の、マウス及びラットを用いた単回投与毒性試験の結果において、いずれも毒性発現に種差あるいは雌雄差

は認められなかった。更に、ラット及びイヌを用いた本薬の反復投与毒性試験においても、その毒性発現に雌雄差を認めなかったことから、本薬及びその類縁物質の毒性発現に性差は生じないものと考えられた。

これらのことから、本薬の分解物であるシクロヘキシルアミン体及び不純物であるシス体のマウスにおける、単回経口投与毒性試験は雄のみで実施した。

2) 結果

結果を表二-22に示した。両化合物とも2000mg/kgを投与した結果、シクロヘキシルアミン体投与の6例が死亡したが、シス体投与では死亡例は見られなかった。したがって、LD₅₀値はシクロヘキシルアミン体では1000~2000mg/kg、シス体では2000mg/kg以上と推察された。

一般状態の変化は、シクロヘキシルアミン体投与時に自発運動の減少、腹臥・横臥姿勢、挙尾、振せん、痙攣(間代性、間代性-強直性)、流涎、苦悶反応が見られた。体重の推移では、両化合物とも一過性の減少がみられたが、実験終了時には順調な増加を示していた。剖検所見では、本剤の影響はみられなかった。

表二-22 代謝物、分解物、不純物のマウスにおける急性毒性試験

被験物質	動物種 (系統, 週齢)	投与 経路	投与量 (mg/kg)	性	例 数	成 績	
						LD ₅₀ (mg/kg)	特記所見
代謝物 M1	マウス (ICR, 6週齢)	腹腔 内	2000	♂	5	>2000	一般状態:自発運動の 減少, 腹臥姿勢, 呼吸 の異常 雌の一部の例に体重 増加の抑制
				♀	5	>2000	
代謝物 M2	マウス (ICR, 6週齢)	腹腔 内	2000	♂	5	>2000	一般状態:自発運動の 減少, 腹臥姿勢, 呼吸 の異常 雌の一部の例に体重 増加の抑制
				♀	5	>2000	
分解物 / 不純物 スルホンアミド体	マウス (NMRKf, 5~6週 齢)	経口	10000	♂	5	>10000	特記所見なし
				♀	5	>10000	
分解物 シクロヘキシル アミン体	マウス (ICR, 6週齢)	経口	500	♂	5~7	1000~ 2000	一般状態:自発運動の 減少, 腹臥・横臥姿 勢, 挙尾, 振せん, 痙 攣(間代性, 間代性-強 直性), 流涎, 苦悶反 応, 一過性の体重減少
			1000				
			2000				
不純物 シス体	マウス (ICR, 6週齢)	経口	2000	♂	5	>2000	一過性の体重減少

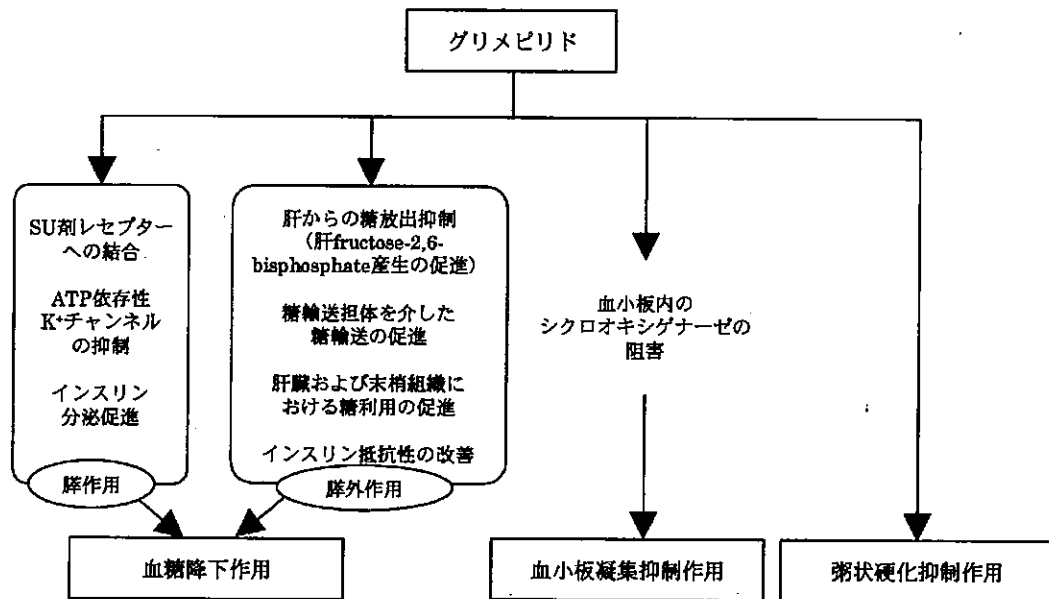
ホ. 薬理作用

1. 薬効薬理試験

総括

本薬の特徴の第一点は、従来の代表的なスルホニル尿素剤(SU剤)であるグリベンクラミドやグリクラジドと比較して強力な血糖降下作用を示すことである。本薬は膵β細胞上のSU剤レセプターへの結合親和性とATP依存性K⁺チャンネルへ及ぼす作用が弱く、*in vivo*においてもインスリン値の上昇がわずかであり、短時間であったにもかかわらず、強力な血糖降下作用がみられた。更に膵β細胞機能が低下したNIDDMモデルにおいて、グリクラジドとは異なり、反復投与時にも耐糖能が改善した。すなわち、本薬によるインスリン分泌は、グリベンクラミドやグリクラジドと比べ少量であるが、強力な血糖降下作用を得るのに十分であるとともに、膵β細胞を過剰に刺激することなく、細胞機能を長期間保持し得ることが推察された。このようなインスリン分泌促進作用(マイルドなインスリン分泌促進作用)を有することが特徴の第二点である。第三点として、グリベンクラミドやグリクラジドと比べて強力な膵外作用を有することである。肝臓や末梢組織での糖の取り込みを促進するとともに、上記のSU剤と異なりインスリン抵抗性NIDDMモデル動物においても、本薬がインスリン抵抗性を改善することを示唆した。第四点は、血小板のシクロオキシゲナーゼを阻害して、血小板のトロンボキサン₂産生を直接的に抑制することにより、血小板凝集抑制作用を示す点である。第五点は、コレステロール負荷ウサギにおいて、粥状硬化抑制作用が認められた点である。

このような本薬の効力を裏付ける試験成績を図ホ-1にまとめた。



図ホー1 グリメピリドの効力を裏付ける試験成績のまとめ

〔血糖降下作用を裏付ける試験〕

グリメピリドは単回経口投与により、用量依存的に正常動物の血糖値を低下させた。本薬の血糖降下作用は、投与1時間後から認められ、血糖値が前値に復する時間は、ウサギで投与後16時間以降、ラットで3～5時間、イヌで20時間以降であった。平均血糖降下率から算出した本薬のグリベンクラミドに対する効力比は、ウサギでは投与後1時間で2.5倍、2時間で3.0倍、3時間で3.1倍、5時間で5.0倍であり、ラットでは1時間で5.39倍、2時間で1.40倍、3時間で0.61倍、またイヌでは1時間で1.39倍、2時間で0.76倍、3時間で0.95倍、5時間で1.04倍、24時間で1.94倍であった。

NIDDMモデルであるストレプトゾトシン(STZ)軽症糖尿病ラットにおいて、本薬は8週間反復経口投与の開始時並びに終了時に有意に耐糖能を改善した。一方、グリクラジドは、終了時には有意な耐糖能改善作用を認めなかった。

以上の結果から、本薬はグリベンクラミドと同等以上の効力を有するとともに、反復投与時にも耐糖能改善作用が減弱しないことが示された。

〔作用機序を裏付ける試験〕

(1) 降作用

本薬は、ラット灌流膵臓を用いた検討において、用量依存的なインスリン分泌促進作用を示した。この作用機序の一部として、他のSU剤と同様に膵β細胞表面上に存在するATP依存性

K⁺チャンネルを抑制することがパッチクランプの検討から明らかにされ、細胞外からのCa²⁺の流入促進によりインスリンが分泌されるものと考えられた。しかし、ATP依存性K⁺チャンネルの抑制作用がグリベンクラミドより有意に弱く、SU剤レセプターへの結合親和性がグリベンクラミドの1/5といずれも弱かった。このような*in vitro*の成績は下記の*in vivo*の成績に反映されている。すなわち、イヌに本薬を静脈内投与した際の血漿インスリン値の上昇の程度が低く、かつその上昇は投与後2時間まで認められたにすぎなかった。これはグリベンクラミド投与後、5~51時間にわたり持続するインスリン値の上昇に比べて、短時間であった。また、本薬を経口投与した際の血糖降下作用は、グリクラジドの20.7~38.2倍と強力であったにもかかわらず、血漿インスリン値は投与前と比べて有意な上昇を認めなかった。

このように、本薬によるインスリン分泌は少量であるが、強力な血糖降下作用を得るのに十分であることが示された。

(2) 腓外作用

本薬は単離肝細胞を用いた*in vitro*試験において、肝解糖系促進及び糖新生抑制系の重要な調節因子であるfructose-2,6-bisphosphate(F-2,6-P₂)の産生を促進することにより、肝臓からの糖放出を抑制することが示唆された。

ラットの正常血糖インスリンクランプ法を用いた*in vivo*試験において、本薬がインスリン感受性を有意に改善し、全身でのグルコース処理能を促進することが示された。

同様の試験で、STZ重症糖尿病ラットにおいてグリベンクラミド及びグリクラジドとの比較試験の結果、グリベンクラミドはインスリン反応性を改善させたもののインスリン感受性には作用を示さず、グリクラジドはいずれの作用も示さなかった。一方、本薬はインスリン感受性・反応性の両方を改善した。

また、イヌの正常血糖インスリンクランプ法を用いた*in vivo*試験において、本薬は末梢組織と肝臓のいずれにおいても糖取り込みを促進した。

更に、インスリン抵抗性を有する培養脂肪細胞においては、糖輸送担体であるGLUT1及びGLUT4の細胞膜表面への移動を促進して、障害されていた糖輸送能を改善した。

インスリン抵抗性を有し、高血糖並びに高インスリン血症を示すKK-Ayマウスに本薬を反復投与した*in vivo*試験において、本薬はその高血糖並びに高インスリン血症をともに有意に改善させた。この作用は本薬に特徴的な作用であって、グリベンクラミド、グリクラジドではみられなかった。

以上の成績から本薬は、腓外作用としてインスリン抵抗性を改善し、肝臓、筋肉、脂肪組織での糖の取り込みと利用を促進する作用を有することが示された。更に、NIDDMモデルの一つであるKK-Ayマウスでの本薬に特徴的な効果は、その腓外作用に基づくものと考えられた。

以上のように本薬の血糖降下作用の機序を検討した結果、本薬によるインスリン分泌はグ

リベンクラミドやグリクラジドと比べて少量であるが、強力な血糖降下作用を得るのに十分であるとともに、過剰なインスリン分泌を抑え、膵β細胞機能を長期間保持し得ることが推察された。このようなインスリン分泌促進作用(マイルドなインスリン分泌促進作用)と強力な膵外作用により、血糖降下作用を発現するものと考えられる。

〔血小板凝集抑制作用を裏付ける試験〕

ウサギにADPを持続注入した際の循環血中の血小板数の減少を、本薬は有意に抑制した。正常及びSTZ重症糖尿病ラット血小板の、ADP並びにコラーゲンによって惹起する血小板凝集を、本薬及びグリベンクラミドは有意に抑制し、その作用はグリクラジドより強かった。一方、健常人の洗浄血小板を用いた試験において、本薬はシクロオキシゲナーゼを特異的に阻害して、アラキドン酸代謝を抑制した。また、グリベンクラミドはシクロオキシゲナーゼと12-リポキシゲナーゼを阻害したが、グリクラジドはアラキドン酸代謝に直接的な作用を及ぼさなかった。

〔粥状硬化抑制作用を裏付ける試験〕

コレステロールをウサギに負荷して作成した粥状硬化モデルにおいて、本薬の10週間投与により、胸部大動脈内壁での粥状硬化病巣の生成が有意に抑制された。しかし、グリベンクラミドやグリクラジド投与では、有意な抑制作用は認められなかった。

〔代謝物の効力についての薬理作用〕

本薬の代謝物であるM1, M2の血糖降下作用の効力を、本薬と比較した。ウサギにおけるM1及びM2の本薬との効力比は、それぞれ1/123.6及び1/1642.2であり、ラットではそれぞれ1/3.3及び1/40以下であった。

薬効薬理試験を実施するにあたり、対照薬の選定並びに用量を下記のように設定した。本薬の効力の位置づけ、血糖降下パターンの確認を目的とした血糖降下作用を裏付ける試験では、最も強力で長時間作用型のSU剤であるグリベンクラミド並びに臨床試験の比較対照薬であるグリクラジドを対照薬として使用した。膵作用の機序に関する実験では、標準薬として頻繁に使用され、比較試験における信頼性が高いグリベンクラミドを主な対照薬として使用した。従来SU剤の有効性が必ずしも確立されていない膵外作用の実験では、本薬の作用を検討することに主眼を置いたため、特に対照薬を選定しなかったが、STZ重症糖尿病ラットの正常血糖インスリンクランプ法を用いた試験及びインスリン抵抗性NIDDMモデルであるKK-Ayマウスの試験では、臨床で最も頻繁に使用されているグリベンクラミド及びグリクラジドを対照薬として、本薬の特徴である膵外作用がin vivoにおいても認められるか否かを比較検

討した。更に、血小板凝集及び粥状硬化に対する作用の検討においては、グリベンクラミド及び類似した作用を特徴にしているグリクラジド^{1,2)}を対照薬とし、比較試験を行った。

また、これら対照薬の用量は、本薬1mgが2.5mgグリベンクラミドあるいは40mgグリクラジドに相当するという後期第II相至適用量検索試験の用量比と、本薬の動物における薬効量を考慮して設定した。

引用文献

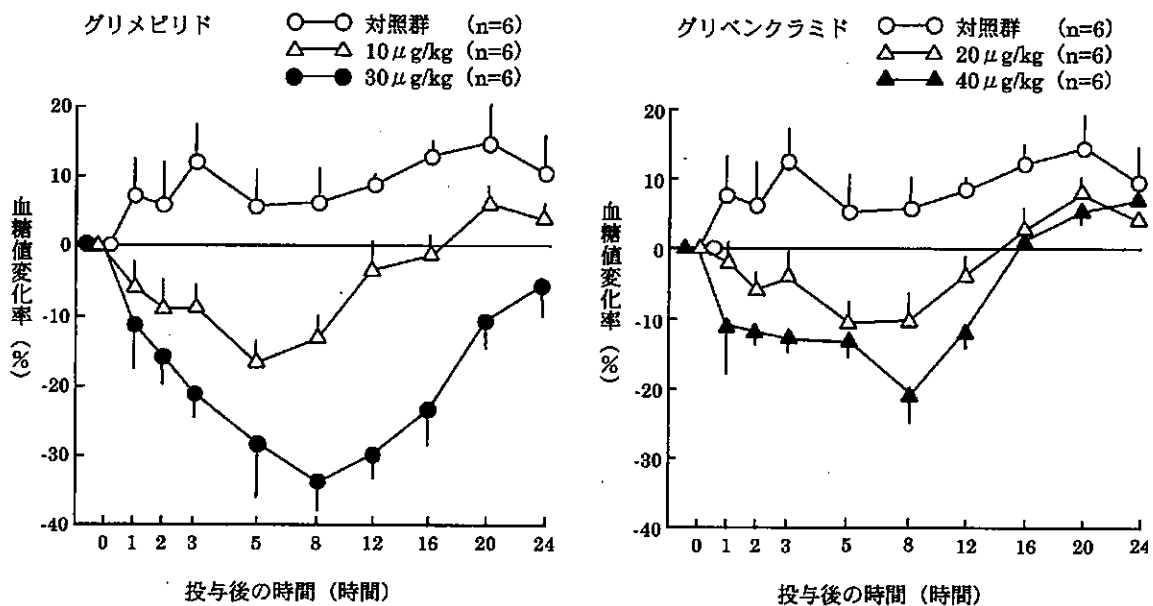
- 1) 清水 他：応用薬理, 12(2), 295, 1976
- 2) G.Marque : Diabetologia, 14, 269, 1978

1. 血糖降下作用

(1) ウサギ (単回経口投与)

ウサギにグリメピリド又はグリベンクラミドを経口投与して、経時的に血糖値を測定した。

対照群では観察期間を通して血糖値変化率の上昇が認められたが、これは実験操作に伴う精神的及び肉体的ストレスによるものと考えられた。一方、本薬10, 30 μ g/kgの投与における、最大血糖降下率はそれぞれ約15%, 約35%であり、血糖値が前値に復する時間は16時間、24時間以上であった。グリベンクラミド20, 40 μ g/kgの投与における、最大血糖降下率はそれぞれ約10%, 約20%であり、血糖値が前値に復する時間は、いずれも16時間であった(図ホ-2)。平均血糖降下率から算出した、投与後の各時間での本薬のグリベンクラミドに対する効力比は、それぞれ1時間で2.5倍、2時間で3.0倍、3時間で3.1倍、5時間で5.0倍であった。



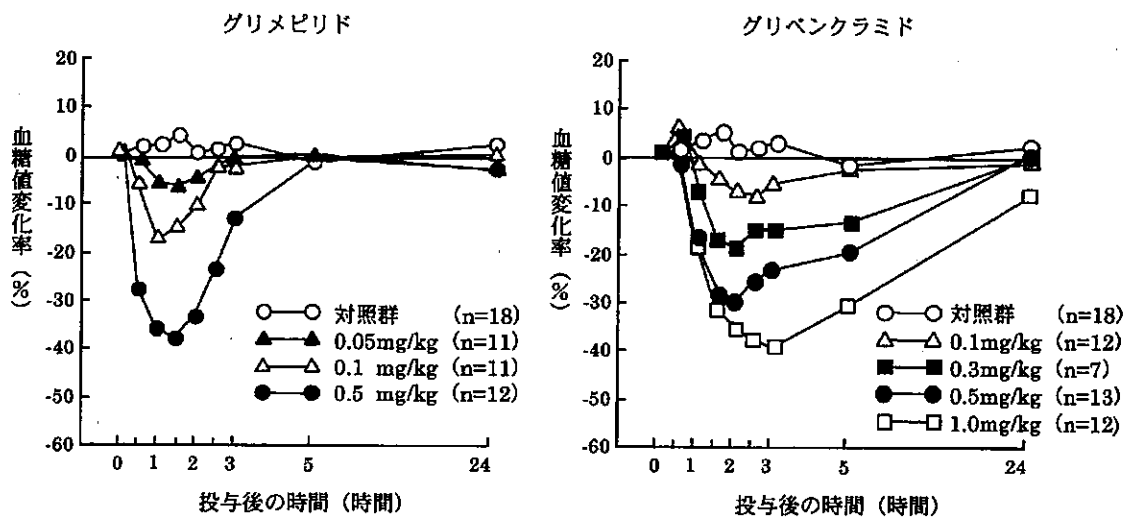
図ホ-2 ウサギにおける血糖降下作用

(単回経口投与, 平均値 \pm 標準誤差)

(2) ラット (単回経口投与)

ラットにグリメピリド又はグリベンクラミドを経口投与して、経時的に血糖値を測定した。

本薬0.05~0.5mg/kgの投与により、血糖値は用量依存的に低下し、投与1~1.5時間後に最大血糖降下率が得られ、血糖値が前値に復する時間は3~5時間であった。グリベンクラミド0.1~1.0mg/kgの投与により、血糖値は用量依存的に低下し、投与2~3時間後に最大血糖降下率が得られ、血糖値が前値に復する時間は5~24時間であった(図ホ-3)。投与後の各時間における平均血糖降下率から、本薬のグリベンクラミドに対する効力比は、それぞれ1時間で5.39倍、2時間で1.40倍、3時間で0.61倍であった。

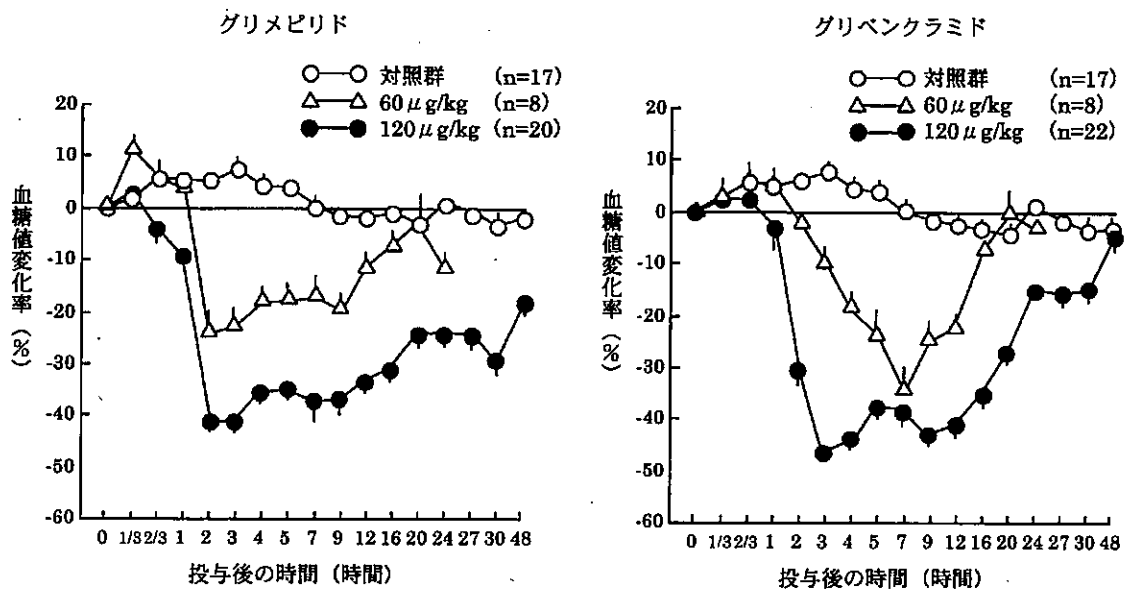


図ホ-3 ラットにおける血糖降下作用
(単回経口投与, 平均値)

(3) イヌ (単回経口投与)

イヌにグリメピリド又はグリベンクラミドを経口投与して、経時的に血糖値を測定した。

本薬60, 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与における、最大血糖降下率はそれぞれ約25%, 約40%であり、血糖値が前値に復する時間は20時間, 48時間以上であった。グリベンクラミド60, 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与における、最大血糖降下率はそれぞれ約35%, 約45%であり、血糖値が前値に復する時間は、20時間, 48時間であった(図ホ-4)。投与後の各時間における平均血糖降下率から、本薬のグリベンクラミドに対する効力比は、それぞれ1時間で1.39倍, 2時間で0.76倍, 3時間で0.95倍, 5時間で1.04倍, 24時間で1.94倍であった。

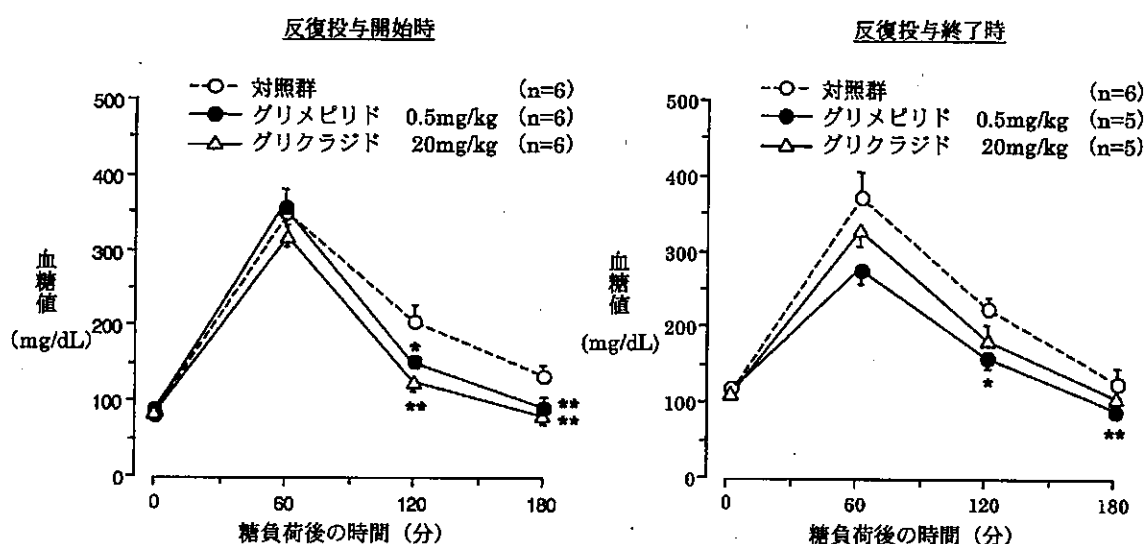


図ホ-4 イヌにおける血糖降下作用
(単回経口投与, 平均値±標準誤差)

(4) STZ軽症糖尿病ラット (NIDDM, 反復経口投与)

生後2日齢のラットにSTZ (75mg/kg, s.c.)を投与して作成したインスリン分泌不全のNIDDMモデルに、本薬又はグリクラジドを1日1回、8週間反復経口投与した。反復投与開始時及び終了時に糖負荷試験を実施して、耐糖能に及ぼす薬剤の影響を検討した。

本薬0.5mg/kgは、開始時並びに終了時に対照群と比べ耐糖能を有意に改善した。一方、グリクラジド20mg/kgでは、反復投与終了時に有意な耐糖能改善作用が見られなかった(図ホ-5)。したがって、本薬はグリクラジドとは異なり、反復投与時にもその耐糖能改善作用が減弱しないことが示された。



図ホ-5 STZ軽症糖尿病ラットの耐糖能改善作用の比較

(反復経口投与, 平均値±標準誤差)

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (対照群との比較, Dunnettの検定)

(5) STZ重症糖尿病ラット (IDDM, 反復経口投与)

成熟ラットにSTZ (60mg/kg, i.v.) を投与し、インスリン分泌の欠落したIDDMモデルを作成した。このラットに本薬又はグリベンクラミド20mg/kgを1日2回、5日間反復経口投与して、血糖値を測定した。

この結果、本薬及びグリベンクラミド投与により、有意な血糖の低下を認めなかった。この原因として、第一には、本モデル動物の血中インスリン濃度が著しく低いため、インスリン欠乏により血糖低下が認められなかったことが考えられる。第二には、本薬の副作用による血糖低下には、より長期間の投与が必要と考えられるが、詳細は明らかではない。

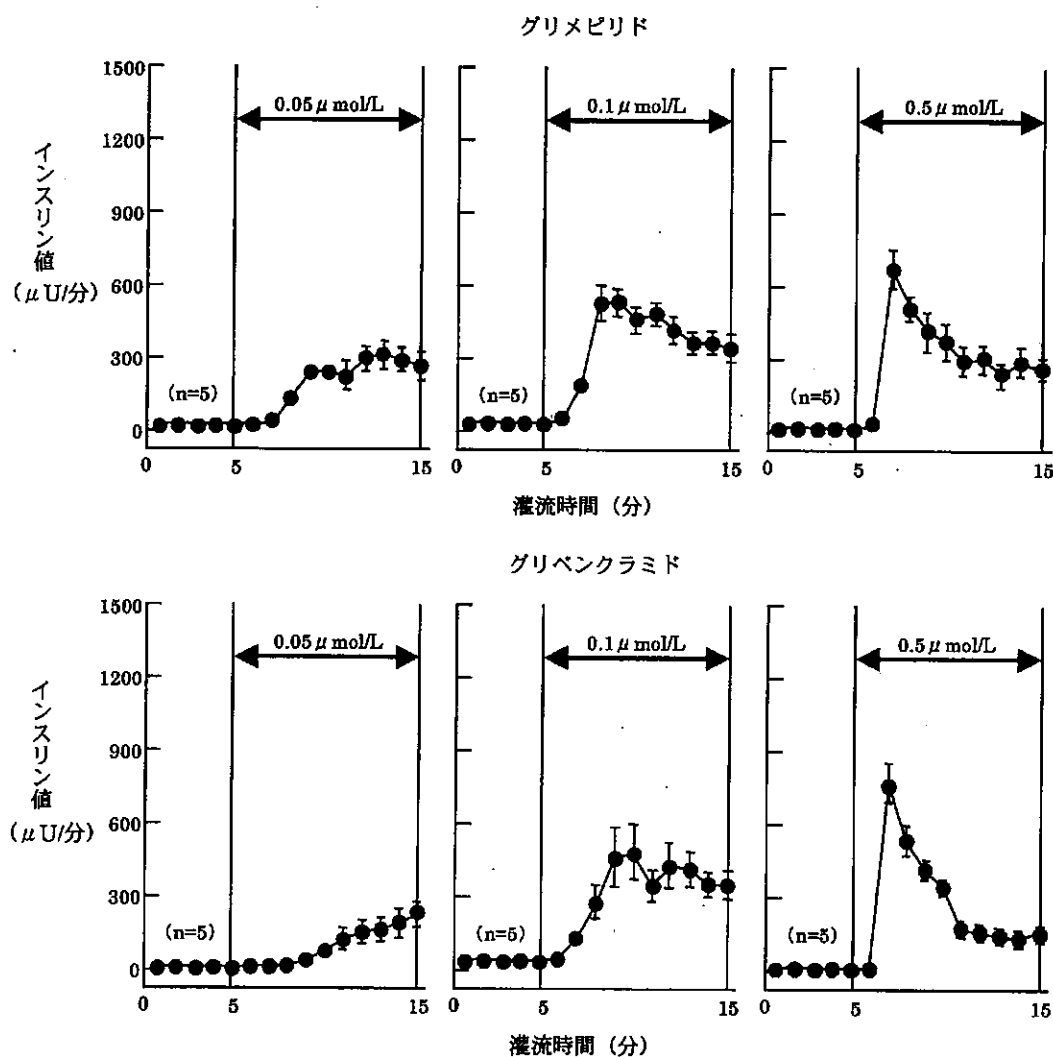
2. 血糖降下の作用機序

(1) 膵作用

1) ラット灌流膵臓でのインスリン分泌

ラットから摘出した膵臓の灌流標本を作成し、本薬及びグリベンクラミドを灌流液中に添加して、インスリン分泌に対する両薬剤の作用を検討した。

本薬 $0.05 \sim 0.5 \mu\text{mol/L}$ の濃度で、インスリン値は、約 $300 \sim 700 \mu\text{U/分}$ のレベルまで用量依存的に上昇し、グリベンクラミド $0.05 \sim 0.5 \mu\text{mol/L}$ の濃度で、約 $300 \sim 800 \mu\text{U/分}$ のレベルまで用量依存的に上昇した。また、両薬剤によるインスリン分泌パターンは類似していた(図ホ-6)。

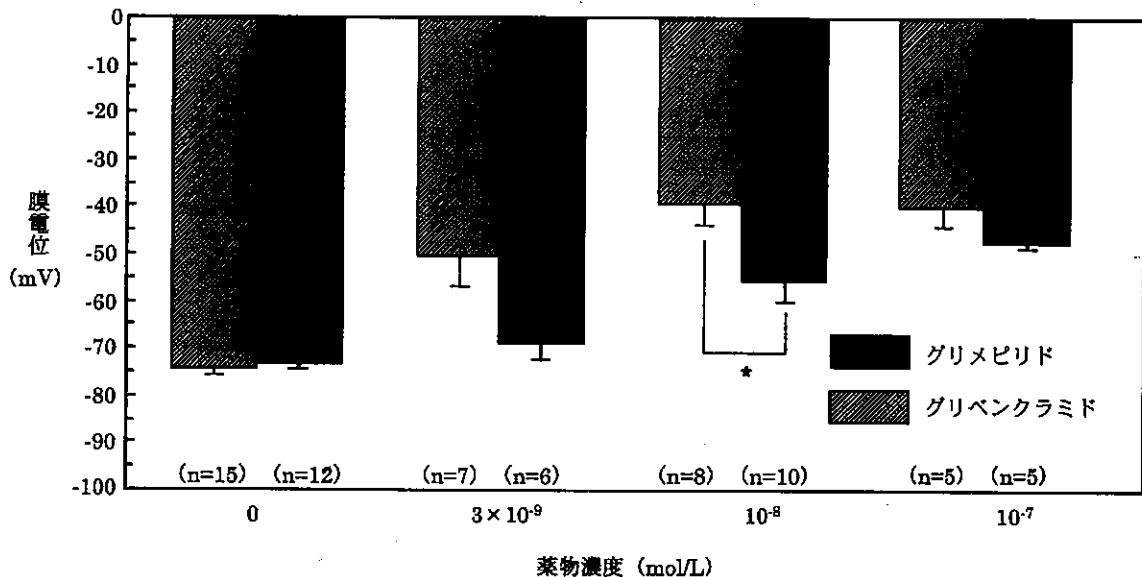


図ホ-6 ラット膵灌流標本でのインスリン分泌に及ぼす作用の比較
 5.5mmol/L グルコース存在下で灌流を行った。
 (平均値 \pm 標準誤差)

2) ATP依存性K⁺チャンネルの抑制作用

ラットインスリノーマ由来の細胞株であるRINm5Fの培養細胞を用いて、細胞膜上に存在するATP依存性K⁺チャンネルに対する本薬及びグリベンクラミドの作用を検討した。ジアゾキシドの100 μmol/LによってあらかじめATP依存性K⁺チャンネルを活性化させ、細胞膜電位を過分極させておき、薬剤添加時の膜電位をパッチクランプ法を用いて測定した。

両薬剤とも用量依存的に細胞膜電位の過分極を抑制したが、いずれの薬物濃度でも本薬による抑制の程度はグリベンクラミドより弱く、とくに10⁻⁸ mol/Lの濃度ではその抑制作用は有意に弱かった(図ホ-7)。



図ホ-7 RINm5F培養細胞の膜電位に対する作用の比較

(平均値±標準誤差)

* : p<0.05 (Studentのt-検定)

3) SU剤レセプターへの結合親和性

ラット膵β細胞腺腫の培養細胞を用いて、本薬のSU剤レセプターへの結合親和性をグリベンクラミド及びトルブタミドと比較検討した。³H-グリベンクラミドを細胞に結合させた後、3薬剤添加時の解離曲線から50%阻害濃度(IC₅₀)を求めた。

いずれの薬剤も、膵β細胞への結合親和性はウシ血清アルブミンへの結合親和性の数十倍以上強く、膵β細胞へ特異的に結合することが示された。また、本薬のIC₅₀は81nmol/Lであり、結合親和性はグリベンクラミドの1/5と弱かった(表ホ-2)。本薬のSU剤レセプターへの結合親和性が、グリベンクラミドより弱いことは、前述したATP依存性K⁺チャンネルでの成績を支持するものであった。

表ホ-2 膵β細胞並びにウシ血清アルブミンへの結合親和性 (in vitro)

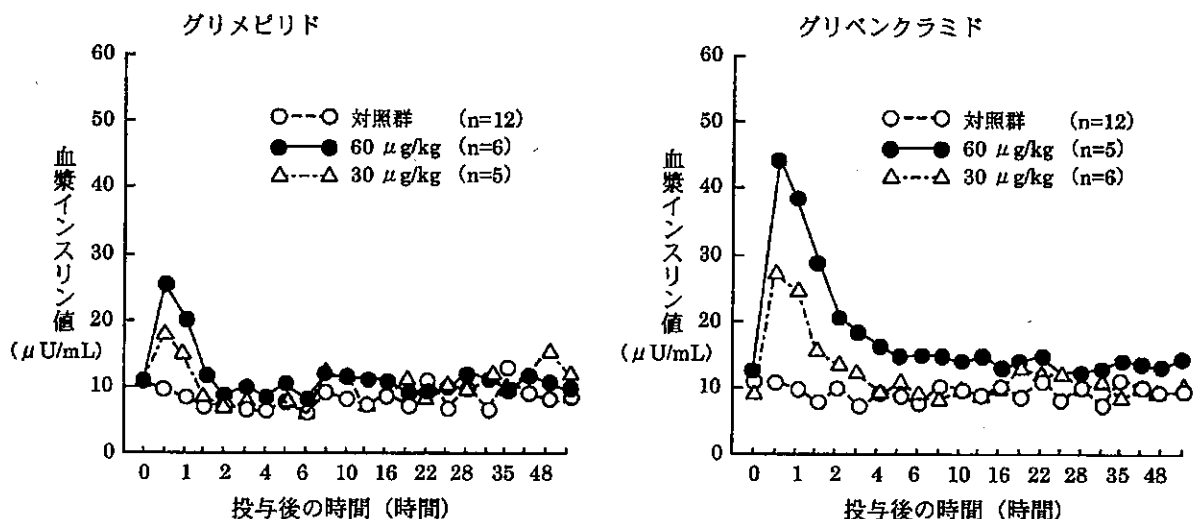
	50%阻害濃度(IC ₅₀)		
	グリメピリド	グリベンクラミド	トルブタミド
膵β細胞	81±2[nmol/L]	16±5[nmol/L]	12000±1200 [nmol/L]
ウシ血清アルブミン	24±5[μmol/L]	30±5[μmol/L]	570±49 [μmol/L]

(平均値±標準誤差, n=3)

4) イヌでの血漿インスリン値

イヌに本薬及びグリベンクラミドを静脈内投与して、血漿インスリンを経時的に測定した。

本薬30, 60 μg/kg投与により、血漿インスリンは30分後に最高値を示し、2時間後には前値に復した。一方、グリベンクラミド30, 60 μg/kg投与により、血漿インスリンは30分後に最高値を示し、5~51時間にわたり高値を持続した(図ホ-8)。したがって、本薬投与により促進されるインスリン値の上昇の程度は、グリベンクラミド投与と比較して量的に少なくまた時間的にも短いことが明らかになった。



図ホ-8 イヌにおけるインスリン分泌に対する作用の比較

(単回静脈内投与, 平均値)

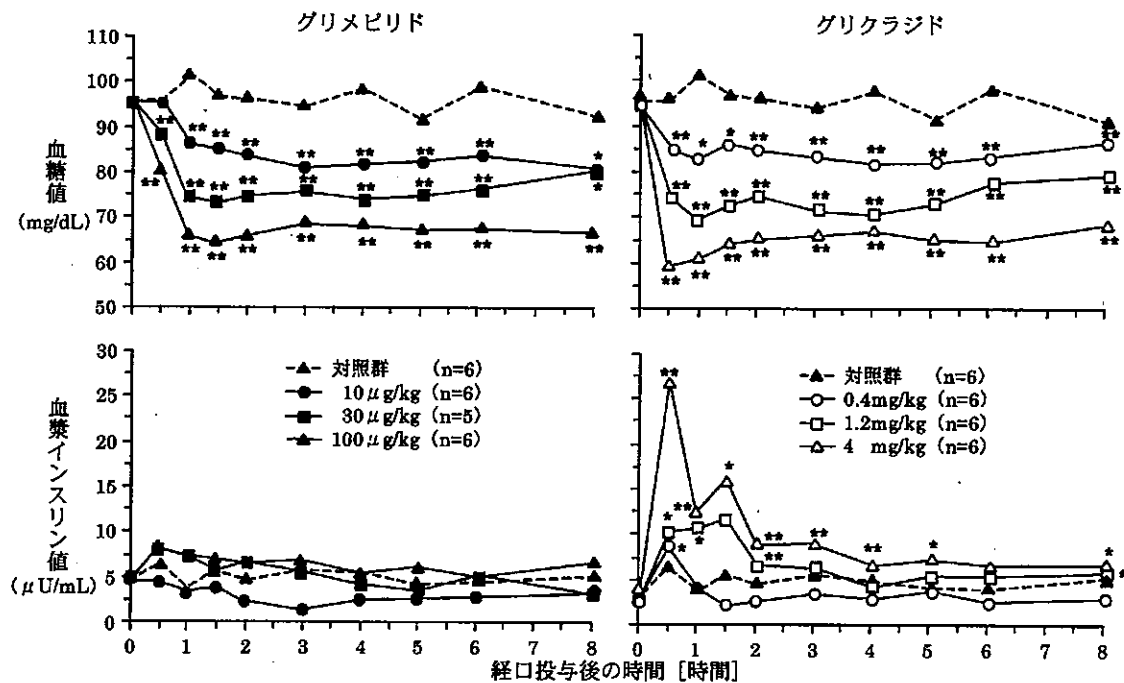
また、イヌに本薬及びグリクラジドを経口投与して、血糖値及び血漿インスリン値を経時的に測定した。本薬0.01, 0.03, 0.10mg/kgあるいはグリクラジド0.4, 1.2, 4mg/kg投与により血糖値は用量依存的に低下した。投与後1, 2, 3, 5及び8時間における平均血糖降下率から算出し

た本薬の効力は、グリクラジドのそれぞれ20.7, 34.4, 23.1, 27.9及び38.2倍と強力であった(表ホ-3)。一方、血漿インスリン値はグリクラジド投与群では、いずれの用量でも有意に上昇し、1.2, 4mg/kgでは投与後8時間でも有意に高値を示した。これに対して、本薬投与群では経口投与後わずかな高値を示したが有意な上昇ではなかった(図ホ-9)。

表ホ-3 ビーグル犬におけるグリメピリドのグリクラジドに対する血糖
降下作用の効力比

投与後の時間(時間)	グリメピリド / グリクラジド
1	20.7
2	34.4
3	23.1
5	27.9
8	38.2

効力比の算出は、平均血糖降下率が30%を示す両薬剤の投与量をもとに、log用量-反応直線から求めた。



図ホ-9 ビーグル犬におけるグリメピリドあるいはグリクラジド経口
投与後の血糖値及びインスリン値の経時的変化
(単回経口投与, 平均値)

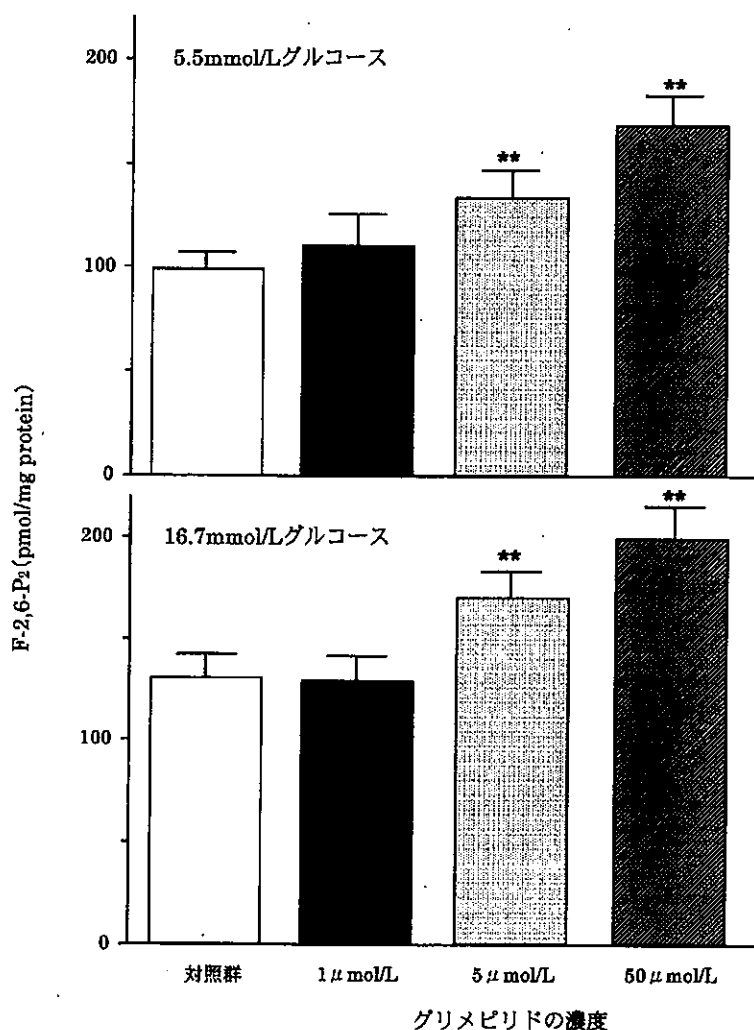
*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (投与前との比較, Studentのt-検定)

(2) 群外作用

1) 肝fructose-2,6-bisphosphate (F-2,6-P₂) 産生促進作用

ラットの単離肝細胞を用いて、肝解糖系促進及び糖新生系抑制の重要な調節因子であるF-2,6-P₂産生に対する本薬の作用を検討した。

5.5mmol/Lグルコース存在下で本薬1, 5, 50 μmol/L処理によるF-2,6-P₂量は、それぞれ対照群の112, 135, 170 %であり、用量依存的にF-2,6-P₂産生を促進した。16.7mmol/Lグルコース存在下においても本薬1, 5, 50 μmol/L処理によるF-2,6-P₂量は、それぞれ対照群の99, 130, 150 %であり、用量依存的にF-2,6-P₂産生を促進した(図ホ-10)。したがって、本薬はF-2,6-P₂産生を促進することにより、解糖系の促進と糖新生系の抑制を行い、肝臓からの糖放出を抑制することが強く示唆された。



図ホ-10 グリメピリドによる単離肝細胞内F-2, 6-P₂上昇効果
(平均値±標準偏差, n=6)

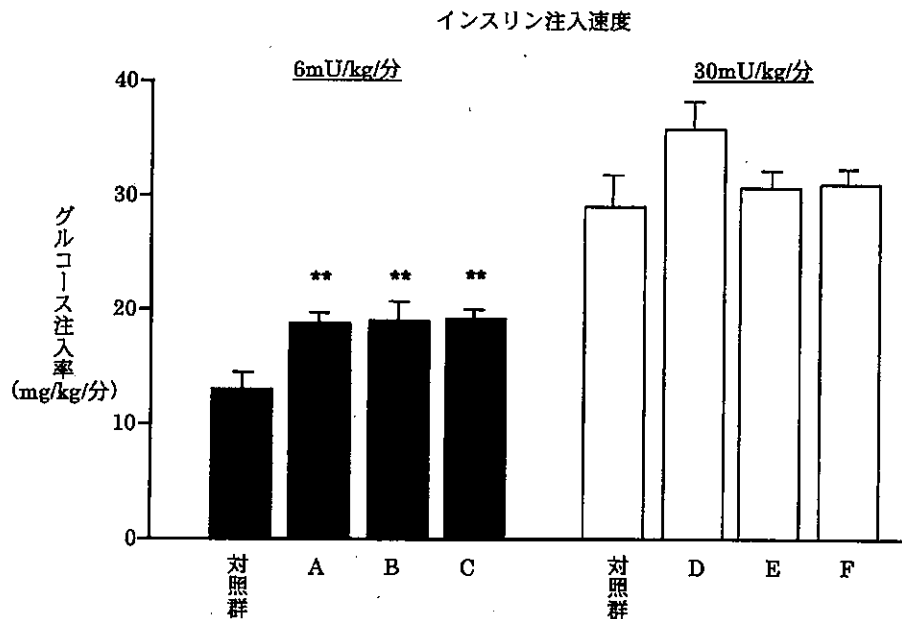
** : p<0.01(対照群との比較, Dunnettの検定)

2) ラットでのインスリン作用の改善(単回, 反復投与)

① 正常ラットでのインスリン感受性改善作用

ラットをA, D群(本薬を2週間経口投与し, 実験直前にも投与), B, E群(本薬を2週間経口投与し, 実験直前には投与せず), C, F群(本薬を実験直前のみ投与), 対照群(生理食塩水を2週間経口投与)に分け, 正常血糖インスリンクランプ法を用いて, 本薬のインスリン作用(全身でのグルコース処理能)に及ぼす影響を検討した。本薬は, 1回量を0.1mg/kgとし, 1日1回あるいは実験直前に経口投与した。

インスリン注入速度が30mU/kg/分の時は, クランプ中の血漿インスリン値が714~923 μ U/mLと高値であった。こうした高濃度のインスリン存在下の条件では, 本薬はグルコース注入率に有意な変化を示さなかった。一方, インスリン注入速度が6mU/kg/分の時はクランプ中の血漿インスリン値が87.7~116.0 μ U/mLであった。このインスリン濃度では, 本薬はいずれの投与条件においても対照群と比べて有意にグルコース注入率を上昇させた(図ホ-11)。このように, 高インスリン存在下でみられるインスリンの最大グルコース処理能(インスリン反応性)には影響を及ぼさないが, より低濃度のインスリン存在下では, 本薬が全身でのグルコース処理能を促進することが示され, インスリン感受性を改善すると考えられた。



図ホ-11 ラット正常血糖インスリンクランプ法におけるグリメピドのグルコース注入率に対する作用 (平均値±標準誤差, n=6)

A, D : 2週間投与+直前投与

B, E : 2週間投与

C, F : 直前投与

対照群: 2週間生理食塩水投与

** : p<0.01 (対照群との比較, Ryanの検定)

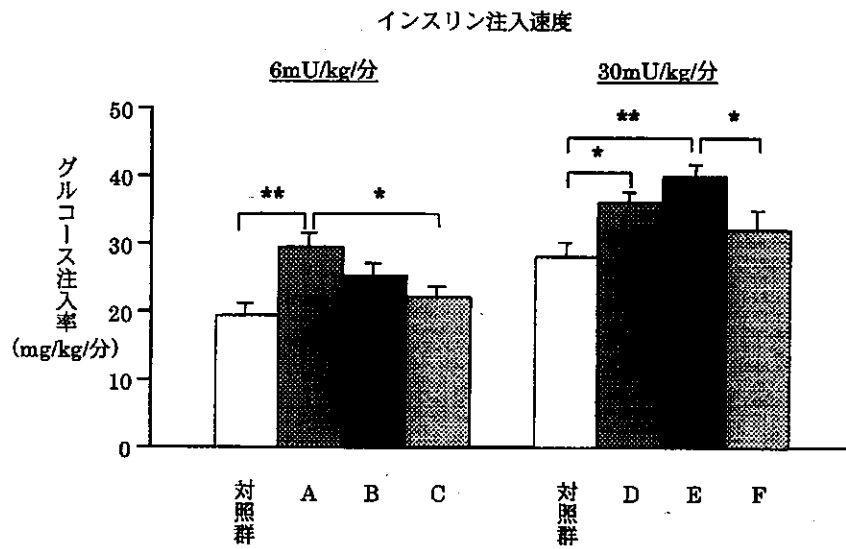
② STZ重症糖尿病ラットでのインスリン作用の改善

STZ(75mg/kg, i.v.)を投与して作成した重症糖尿病ラットに、正常血糖インスリンクランプ法を用いて、インスリン感受性及びインスリン反応性について検討した。インスリン感受性はインスリン注入速度 6mU/kg/分で、インスリン反応性は30mU/kg/分の条件下で試験を行った。前者はインスリン受容体数や親和性に関する受容体結合レベルの状態を、後者はインスリン受容体結合後に活性化される酵素や糖輸送系等の状態をそれぞれ反映していると考えられている。いずれの場合においても、本薬0.1mg/kg、グリベンクラミド0.25mg/kg及びグリクラジド4mg/kgを2週間経口投与し、インスリン作用に及ぼす影響を比較した。

統計学的解析はTukey-Kramerの検定により行った(図ホ-12)。その結果、インスリン感受性では対照群との比較からグリメピリド投与時($p<0.01$)にのみ有意な改善作用が認められ、グリベンクラミド及びグリクラジド投与時には明らかな作用は見られなかった。また、薬剤間の比較ではグリメピリドとグリクラジド間に有意な差($p<0.05$)が見られたのみであり、グリメピリドとグリベンクラミド間、グリベンクラミドとグリクラジド間に差は認められなかった。

一方、インスリン反応性では対照群との比較からグリメピリド($p<0.05$)及びグリベンクラミド($p<0.01$)投与時に有意な改善作用が認められたが、グリクラジド投与時には明らかな作用は見られなかった。また、薬剤間の比較ではグリベンクラミドとグリクラジド間にのみ有意な作用($p<0.05$)が見られ、グリメピリドとグリベンクラミド間、グリメピリドとグリクラジド間には差は認められなかった。

以上の結果から、STZ重症糖尿病ラットにおいてグリベンクラミドではインスリン反応性にのみ有意な改善がみられ、グリクラジドはいずれにおいても改善作用は認められなかった。一方、本薬はインスリン感受性及びインスリン反応性のいずれにおいても対照群に対して有意な改善を示すことが明らかとなった(図ホ-12)。



図ホ-12 STZ 重症糖尿病ラットの正常血糖インスリンランプ法におけるグリメピリド、グリベンクラミド及びグリクラジドのグルコース注入率に対する作用
(平均値±標準誤差、n=6)

対照群 : 生理食塩水 2週間投与

A,D : グリメピリド 0.1mg/kg 2週間投与

B,E : グリベンクラミド 0.25mg/kg 2週間投与

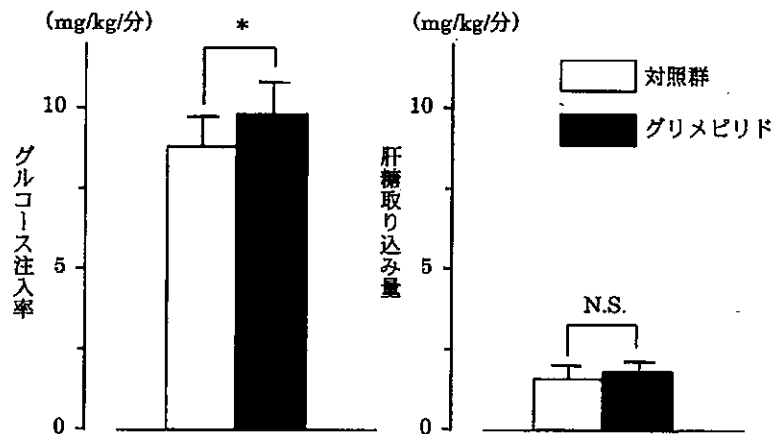
C,F : グリクラジド 4.0mg/kg 2週間投与

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Tukey-Kramerの検定)

3) イヌでのインスリン作用の増強 (単回, 反復投与)

イヌの肝動脈, 門脈, 肝静脈, 腸間膜静脈にカニューレあるいは血流計を装着して, 正常血糖インスリンクランプ法を用いてグルコース注入率及び肝糖取り込み量に及ぼす本薬の急性効果並びに慢性効果を検討した。急性効果の実験では, 本薬を $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で90分間注入し, 慢性効果の実験においては $0.1\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ を7日間反復経口投与した後, クランプ実験を行った。

本薬の単回投与により, グルコース注入率は $8.7\text{mg}/\text{kg}/\text{分}$ から $9.8\text{mg}/\text{kg}/\text{分}$ へと有意に上昇した。一方肝糖取り込み量は, 本薬投与により有意な変化を認めなかったことから, 本薬の単回静脈内投与時には, インスリン存在下で末梢組織における糖取り込みが促進していることが示された(図ホ-13)。



図ホ-13 イヌ正常血糖インスリンクランプ法におけるグルコース注入率並びに肝糖取り込み量に及ぼすグリメピリドの急性効果

本薬($0.05 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$)を静脈内投与した。

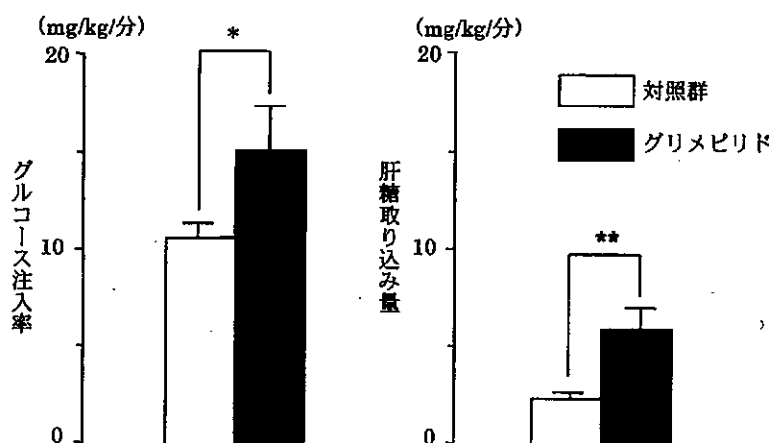
(平均値±標準誤差, $n=7$)

* : $p<0.05$ (対照群との比較, Studentのt-検定)

N.S. : 有意差なし

また、7日間の反復投与後に実施した実験では、本薬がグルコース注入率を10.7mg/kg/分から15.1mg/kg/分へと有意に上昇させた。この時の肝糖取り込み量は、本薬投与により2.2 mg/kg/分から5.8mg/kg/分へと有意に増加した。このように、全グルコース処理に対する肝臓の寄与率が20.3±4.5%から40.4±7.7%へと有意に増加したことから、本薬の7日間反復経口投与時には、インスリン存在下で末梢組織に加え肝臓での糖取り込みが促進していることが示された(図ホ-14)。

反復投与時にのみ肝糖取り込み量が有意に増加した原因は明らかではないが、反復投与による血中薬物濃度の増加及び反復投与により本薬の降外作用がより著明となった可能性が考えられた。



図ホ-14 イヌ正常血糖インスリンクランプ法におけるグルコース注入率並びに肝糖取込み量に及ぼすグリメピリドの慢性効果

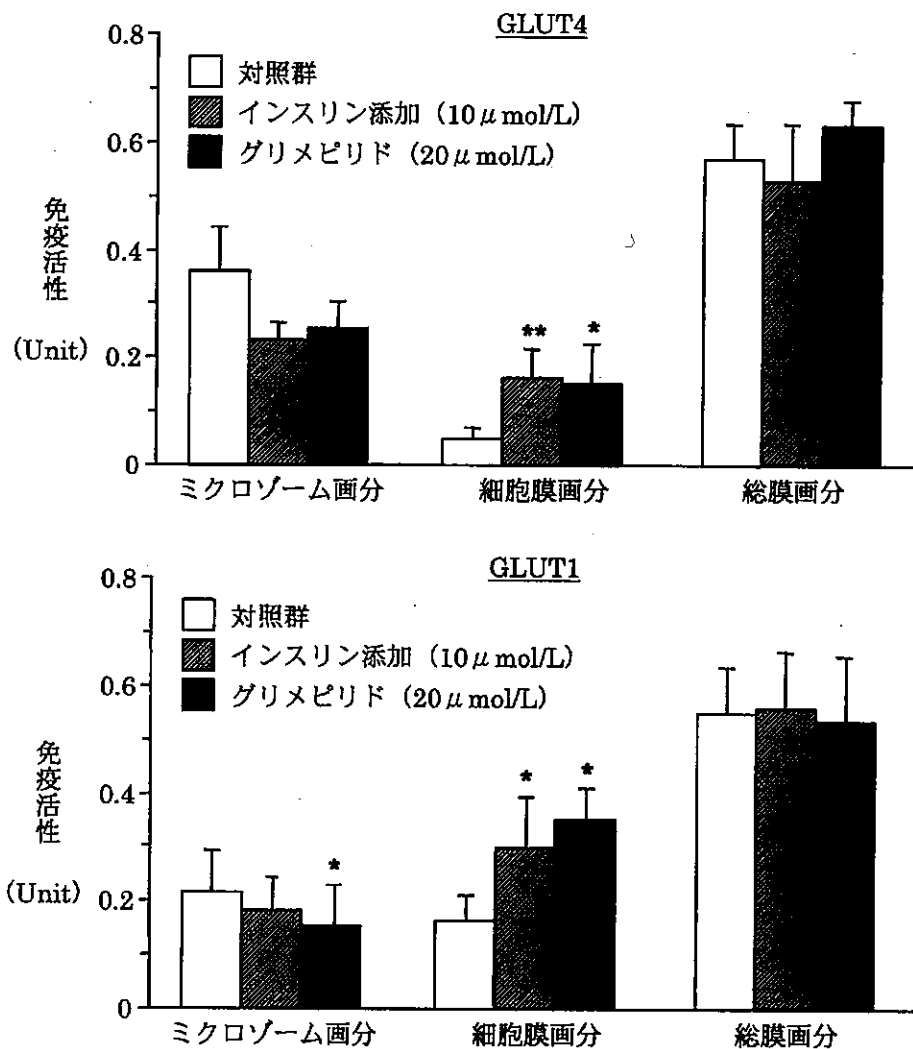
本薬(0.1mg/kg/日)を7日間反復経口投与し、実験当日は投与しなかった。

(平均値±標準誤差, n=7)

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (対照群との比較, Studentのt-検定)

4) 脂肪細胞での糖輸送担体に及ぼす作用

高グルコース(20mmol/L)高インスリン(10nmol/L)存在下で20時間あらかじめ培養したインスリン抵抗性のラット単離脂肪細胞を3群に分け、総膜画分、ミクロゾーム画分及び細胞膜画分に存在する糖輸送担体のGLUT1並びにGLUT4量を測定した。GLUT1及びGLUT4は、本薬添加によりミクロゾーム画分で減少し、逆に細胞膜画分で増加することが示され、本薬が輸送担体の細胞膜への移動を促進すると考えられた(図ホ-15)。



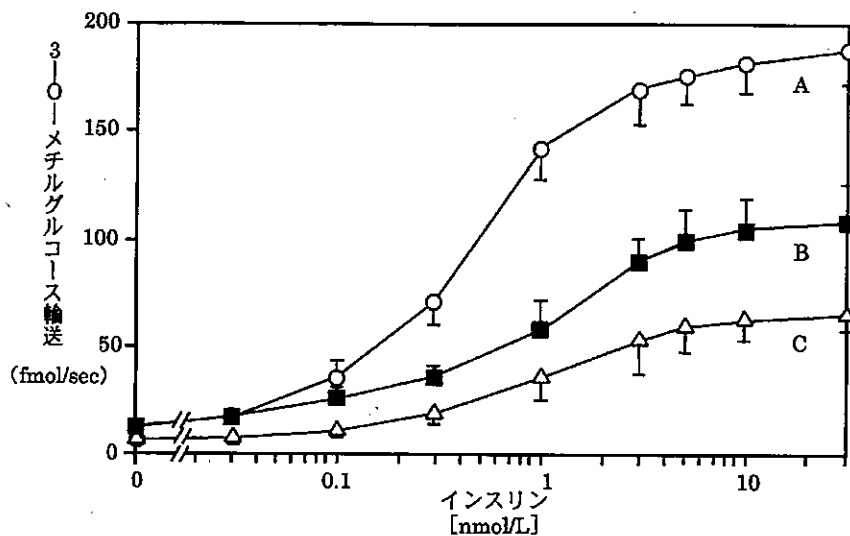
図ホ-15 インスリン抵抗性脂肪細胞におけるグリメピリドの糖輸送担体の移動に対する作用

(平均値±標準誤差, n=4)

*: p<0.05, **: p<0.01 (対照群との比較, Dunnettの検定)

また、インスリン抵抗性のラット単離脂肪細胞を用いて、3-O-メチルグルコースの取り込みに対する本薬の作用を検討した。

正常脂肪細胞(A)に比べて、3-O-メチルグルコース輸送が障害されたインスリン抵抗性脂肪細胞(C)を、本薬20 μ mol/L存在下にて20時間培養すると(B)、インスリンによる3-O-メチルグルコース輸送能が改善された(図ホ-16)。また、グリメピリド非添加培養時(C)にもインスリン存在下の3-O-メチルグルコース輸送が増加したが、これは本細胞系がインスリン抵抗性ではあるものの、インスリン反応性を有しているためと考えられた。



図ホ-16 インスリン抵抗性脂肪細胞におけるグリメピリドの糖輸送能に対する作用

○-○ A: 正常脂肪細胞 (5mmol/Lグルコース培養)

■-■ B: インスリン抵抗性脂肪細胞 (20 μ mol/Lグリメピリド培養)

△-△ C: インスリン抵抗性脂肪細胞 (グリメピリド非添加培養)

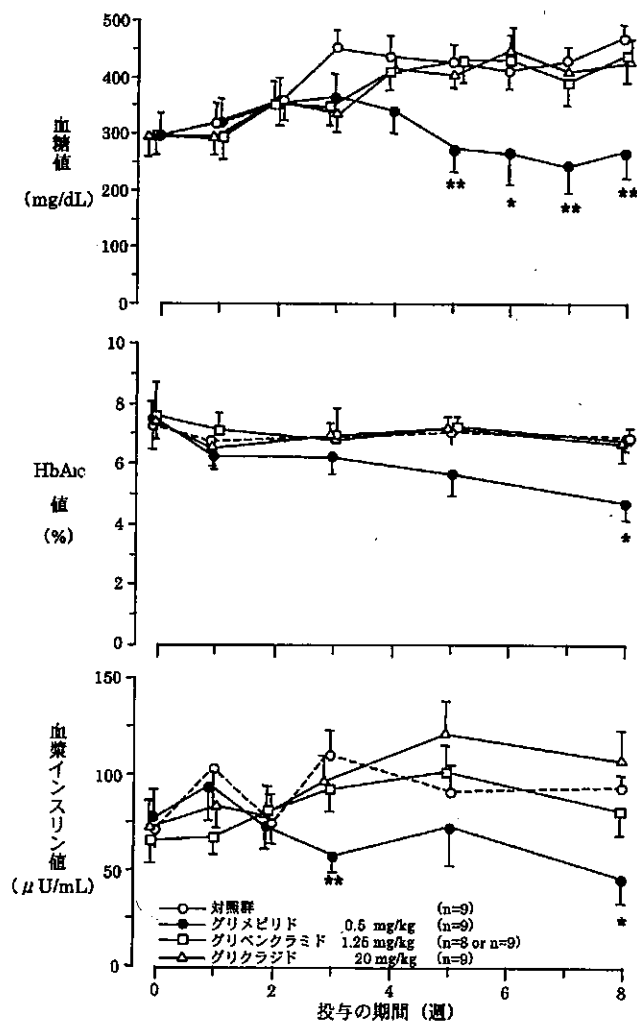
各々の条件で20時間 (37 $^{\circ}$ C) 培養後、インスリン濃度を変えて、20分間培養し、3-O-メチルグルコース輸送を測定した。

(平均値 \pm 標準誤差, n=15)

5) インスリン抵抗性の改善作用(NIDDM, 反復経口投与)

インスリン抵抗性のNIDDMモデル動物であるKK-Ayマウスを用いて、高血糖及び高インスリン血症に対する本薬、グリベンクラミド、グリクラジドの作用を比較検討した。

本薬0.5mg/kg/日の8週間反復経口投与により、血糖、HbA_{1c}及び血漿インスリンは対照群と比べて有意に低下した。一方、グリベンクラミド(1.25mg/kg/日)及びグリクラジド(20mg/kg/日)投与によって、これらの項目に有意な変化は認められなかった(図ホ-17)。したがって、本薬はグリベンクラミドやグリクラジドと異なり、KK-Ayマウスのインスリン抵抗性を改善することが示唆された。



図ホ-17 KK-Ayマウスにおける作用の比較

(反復経口投与, 平均値±標準誤差)

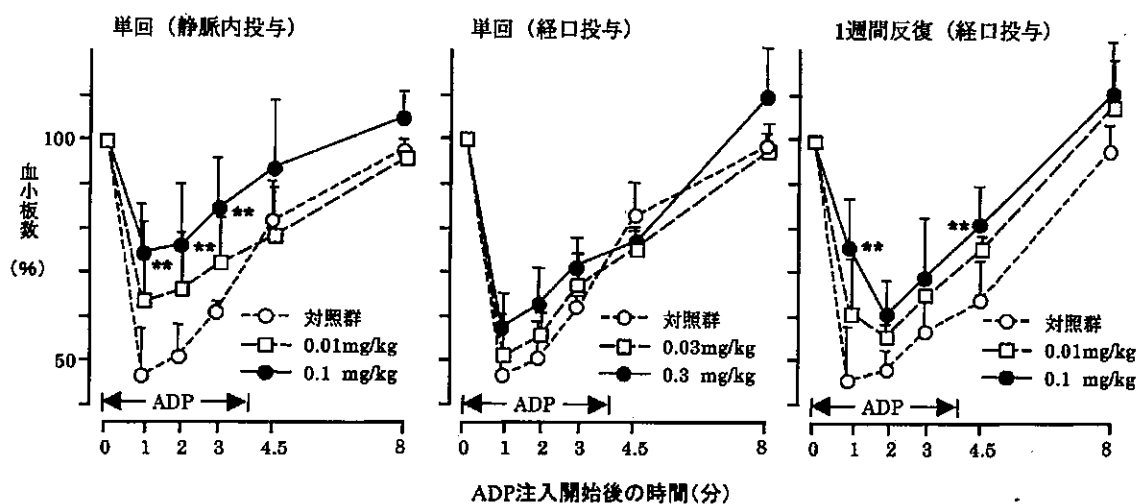
* : p<0.05, ** : p<0.01(対照群との比較, Dunnettの検定)

3. 血小板凝集抑制作用

(1) ウサギ (単回, 反復投与)

本薬の単回静脈内投与, 単回経口投与, 反復経口投与を行ったウサギに, ADP(2mg/kg/分)を4分間耳介静脈から持続注入して, このとき生ずる血小板数の減少に対する本薬の作用を検討した。本薬は静脈内投与の場合はADP注入の8分前から4分間持続注入し, 経口投与の場合は4時間前に投与した。

本薬0.1mg/kg単回静脈内投与により血小板数の減少は対照群と比べて有意に抑制された。また, 0.1mg/kgの1週間反復経口投与により血小板数の減少が有意に抑制された(図ホ-18)。



図ホ-18 ADP注入時のウサギ循環血中の血小板数に対する
グリメピリドの作用

(平均値±標準偏差, n=5)

** : p<0.01(対照群との比較, Dunnett の検定)

(2) 正常及びSTZ重症糖尿病ラット

ラットの洗浄血小板を $4 \times 10^5 \text{ cell/mm}^3$ に調製した後, ADP及びコラーゲンによって惹起される血小板凝集に対する本薬, グリベンクラミド, グリクラジドの作用を比較検討した。

ADP並びにコラーゲンによる血小板凝集を, 本薬及びグリベンクラミドは対照群と比べていずれも有意に抑制した。また, それらの作用はグリクラジドより強かった(表ホ-4)。

表ホ-4 正常及びSTZ重症糖尿病ラットにおける血小板凝集に対する作用の比較

動物	薬物 (10^{-5} mol/L)	ADP (5μ mol/L) 最大凝集率(%)	コラーゲン (5μ g/mL) 最大凝集率(%)
正常ラット	対照群	62.7±10.4	74.8±7.7
	グリメピリド	52.6±12.9**	63.9±10.7**
	グリベンクラミド	52.8±14.0**	56.8±13.1**
	グリクラジド	55.9±11.0	71.1±6.7
糖尿病ラット	対照群	64.0±9.9	66.2±8.7
	グリメピリド	54.7±10.0*	51.7±11.0**
	グリベンクラミド	55.2±13.7*	46.4±11.6**
	グリクラジド	56.4±10.1*	60.5±10.9

(平均値±標準偏差, n=17~23)

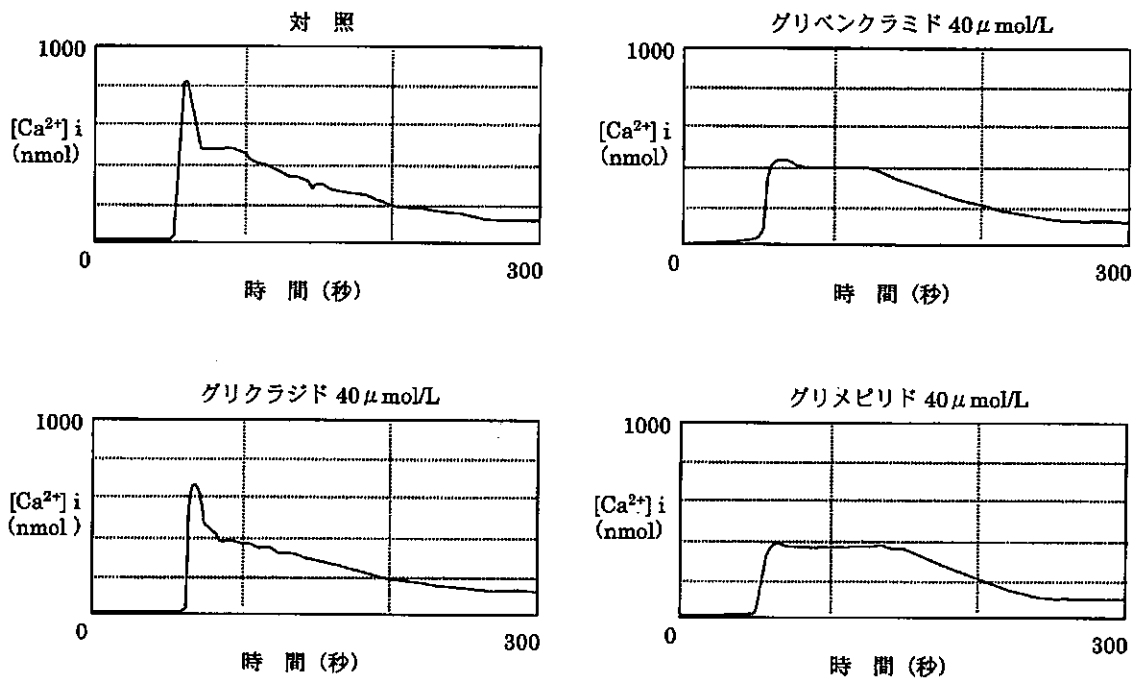
*: p<0.05, **:p<0.01 (対照群との比較, Dunnettの検定)

(3) ヒト血小板アラキドン酸代謝への作用

健常人の洗浄血小板を 2×10^5 cell/ μ Lに調製して、トロンビン刺激後の血小板内 Ca^{2+} 濃度並びにアラキドン酸代謝に対する本薬、グリベンクラミド、グリクラジドの作用を比較検討した。

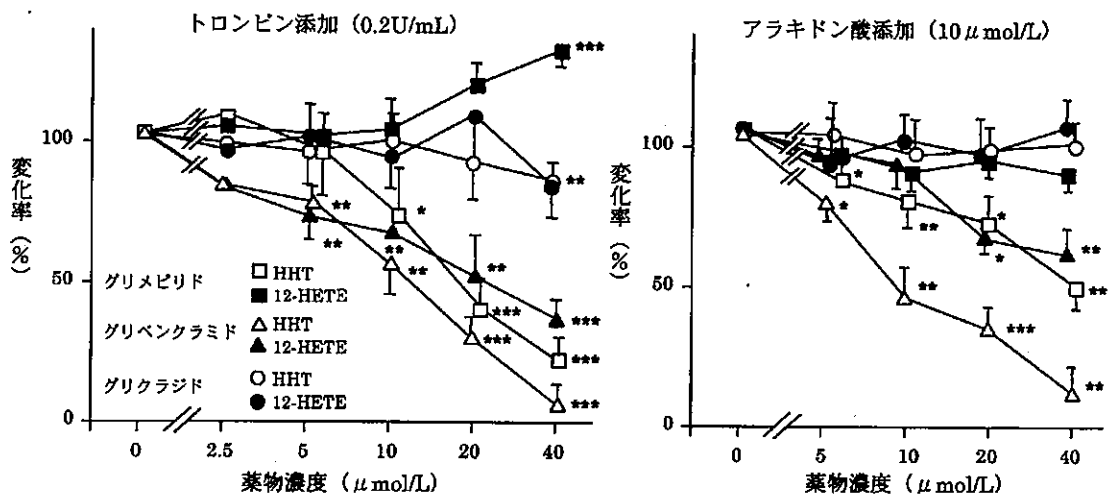
本薬 40μ mol/L及びグリベンクラミド 40μ mol/Lは、血小板内 Ca^{2+} 濃度の上昇を抑制したが、グリクラジド 40μ mol/Lは抑制しなかった(図ホ-19)。

また、本薬は 40μ mol/Lまでの濃度において、アラキドン酸代謝物である12L-hydroxy-5, 8, 10-heptadecatrienoic acid (HHT) の産生を用量依存的に抑制したが、12L-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid (12-HETE)の産生は抑制しなかった。以上の結果から、シクロオキシゲナーゼを特異的に阻害してトロンボキサン A_2 の産生を抑制することが、本薬の血小板凝集抑制作用機序として考えられた。一方、グリベンクラミドは 40μ mol/Lまでの濃度において、シクロオキシゲナーゼのみならず12-リポキシゲナーゼの両方を抑制した。しかし、 40μ mol/Lまでの濃度のグリクラジドはアラキドン酸代謝に直接的な作用を及ぼさなかった(図ホ-20)。



図ホ-19 トロンビン刺激後のヒト血小板内カルシウム濃度に対する作用の比較

[Ca²⁺]_i: 細胞内カルシウム濃度



図ホ-20 トロンビン並びにアラキドン酸添加時のヒト血小板内アラキドン酸

代謝に対する作用の比較

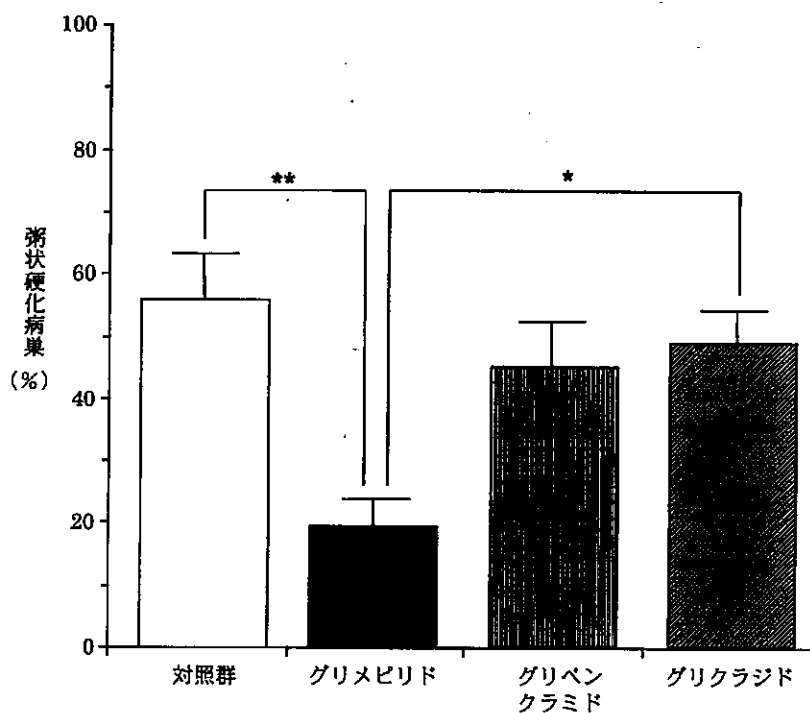
(平均値±標準偏差, n=1~6)

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001(初期値との比較, Student のt-検定)

4. 粥状硬化抑制作用

本薬, グリベンクラミド, グリクラジドを添加した1%コレステロール食を与えたウサギを用いて, 10週間後に胸部大動脈内壁での粥状硬化病巣の面積比を算出した。なお血清脂質に対する作用についても併せて検討した。

対照群では粥状硬化病巣が約60%を占めていたが, 本薬0.1mg/kg/日投与により約20%と有意に抑制された。一方, グリベンクラミド0.25mg/kg/日やグリクラジド4mg/kg/日投与では, 有意な抑制作用は認められなかった(図ホ-21)。なお, 血清脂質に対しては, いずれの薬剤でも影響は認められなかった。



図ホ-21 コレステロール負荷ウサギの胸部大動脈内壁の粥状硬化病巣に対する作用の比較

(平均値±標準誤差, n=8)

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Schefféの方法)

5. 代謝物の薬理作用

(1) ウサギ (単回静脈内投与)

グリメピリドの代謝物M1(35, 200 μ g/kg), M2(350, 1000 μ g/kg)の血糖降下作用をグリメピリド(3, 5 μ g/kg)の作用と比較して, 平均血糖降下率から効力比を算出した。

グリメピリドとの効力比は, M1が $1/123.6$, M2が $1/1642.2$ と著しく小さかった。

(2) ラット (単回静脈内投与)

グリメピリドの代謝物M1(100, 200, 500 μ g/kg), M2(1000, 2000 μ g/kg)の血糖降下作用をグリメピリド(50, 100, 200 μ g/kg)の作用と比較して, 平均血糖降下率から効力比を算出した。

グリメピリドとの効力比は, M1では $1/3.3$ であった。M2が最高投与量の2000 μ g/kgでも作用を示さなかったことから, $1/40$ 以下と低い効力であることが示された。

II. 一般薬理試験

総括

一般薬理試験として、一般症状、中枢神経系、自律神経系と平滑筋、呼吸及び循環器系、消化器系、腎機能に及ぼす影響を検討したが、グリメピリドは特記すべき作用を示さなかった。

本薬の一般薬理作用について検討した結果を表ホ-5に示した。

1. 一般症状及び中枢神経系に及ぼす影響

マウスの一般症状において、本薬は影響を及ぼさなかった。また、本薬はマウスの自発運動量、ペントバルビタール麻酔作用に影響を及ぼさず、抗痙攣作用、鎮痛作用を示さなかった。ラットの正常体温にも影響を及ぼさなかった。

2. 自律神経系と平滑筋に及ぼす影響

モルモット摘出回腸において、グリメピリドは単独で作用を示さなかった。また、アセチルコリン、ヒスタミン及び塩化バリウムによる収縮作用に対して、本薬の 10^{-6} 、 10^{-5} mol/Lでは影響は認められなかったが、 10^{-4} mol/Lで抑制がみられた。

3. 呼吸及び循環器系に及ぼす影響

麻酔下のビーグル犬の呼吸、血圧、心拍数、心電図、血流量に対して、影響を及ぼさなかった。

4. 消化器系に及ぼす影響

マウスの腸管での炭末輸送能に影響は認められなかった。

5. 水及び電解質代謝に及ぼす影響

ラットの尿量、尿pH、尿中 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 濃度に及ぼす影響を調べたが、影響は認められなかった。

表ホ-5 グリメピリドの一般薬理試験総括表

試験項目	使用動物(n)	投与経路	用量	試験成績
1. 一般症状及び行動に及ぼす影響	マウス(5)	経口	0.1, 1, 10, 100 mg/kg	作用なし
2. 自発運動量に及ぼす影響 (Automex法)	マウス(4)	経口	0.1, 1, 10, 100 mg/kg	作用なし
3. 麻酔に及ぼす影響 (ペントバルビタール)	マウス(9~10)	経口	0.1, 1, 10, 100 mg/kg	作用なし
4. 痙攣に及ぼす影響				
1) 電撃痙攣	マウス(10)	経口	0.1, 1, 10, 100 mg/kg	作用なし
2) ペンチレンテトラゾール痙攣	マウス(8)	経口	0.1, 1, 10, 100 mg/kg	作用なし
5. 鎮痛作用 (酢酸ライジング法)	マウス(10)	経口	0.1, 1, 10, 100 mg/kg	作用なし
6. 体温に及ぼす影響	ラット(8)	経口	0.1, 1, 10, 100 mg/kg	作用なし
7. 摘出回腸に及ぼす影響				
単独作用	モルモット (5)	栄養液中に添加	10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} mol/L	作用なし
収縮薬に対する作用 (アセチルコリン, ヒスタミン, 塩化バリウム)	モルモット (4~5)	栄養液中に添加	10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} mol/L	作用なし(10^{-6} , 10^{-5} mol/L) 抑制 (10^{-4} mol/L)
8. 呼吸, 循環器系に及ぼす影響	イヌ(3)	十二指腸内	1, 10mg/kg	作用なし
9. 消化器系に及ぼす影響 (腸管の炭末輸送能)	マウス(7~8)	経口	0.1, 1, 10, 100 mg/kg	作用なし
10. 水及び電解質代謝に及ぼす影響 (尿量, pH, 尿中Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻ 濃度)	ラット(7~8)	経口	0.1, 1, 10, 100 mg/kg	作用なし

へ. 吸収, 分布, 代謝, 排泄

総括

〔動物における成績〕

(1) 吸収

ラット, イヌ及びウサギに¹⁴C-グリメピリドを経口及び静脈内投与したときのAUC又は尿中排泄率の比から求めたグリメピリドの吸収率は81%以上と良好であった。また, ラットにおけるグリメピリドの主吸収部位は腸管であり胃からの吸収は少なかった。

(2) 血液・血清中濃度

グリメピリドを経口又は静脈内投与したときの血清中未変化体の $t_{1/2}$ は, 雄及び雌ラットでそれぞれ1.02及び1.46時間, イヌで8.4時間であり, ラットにおけるバイオアベイラビリティは63.8%~67.3%であった。

(3) 分布

ラットに¹⁴C-グリメピリドを経口投与したときの組織内濃度は, 肝臓, 次いで腎臓で高く, 他の組織ではいずれも血液中濃度よりも低かった。更に, 血球への移行は少なかった。投与後96時間で組織内放射能は消失した。また, 組織内分布に性差は認められなかった。

(4) 血漿又は血清蛋白との結合

イヌ, ウサギ及びヒト血漿又は血清蛋白とグリメピリドとの結合率はいずれも99%以上であり, 結合蛋白は主にアルブミンであった。

(5) 排泄

ラット及びイヌに¹⁴C-グリメピリドを経口又は静脈内投与したとき, 放射能の主要排泄経路は糞であり, ラットでは投与後48時間, イヌでは96時間までに投与量の92.44%以上が体外へ排泄された。一方, ウサギに投与したときの主要排泄経路は尿であった。

ラットに¹⁴C-グリメピリドを静脈内投与後8時間までの放射能の胆汁中排泄率は61.09%であった。また, 腸管で再吸収を受けることが確認された。

(6) 胎盤通過及び乳汁への移行

¹⁴C-グリメピリドを妊娠ラットに経口投与したとき、胎児への放射能の移行が認められ、胎児組織内濃度の最高値は同時点の母獣血液中濃度の16%以下であった。

乳汁中へは血液中濃度の約1/3の放射能が移行し、血液中濃度とほぼ平行して消失した。

(7) 代謝

動物及びヒトにおけるグリメピリドの代謝経路はシクロヘキシル環のメチル側鎖の酸化であり、主代謝物として水酸化体(M1)及びカルボン酸体(M2)が認められた。

(8) 反復投与時の体内動態

ラットに¹⁴C-グリメピリドを1日1回、10日間反復経口投与した時、各回投与後24時間の血液中放射能濃度はいずれも検出限界以下であった。最終回投与後4時間の血液及び組織内濃度は単回投与試験の場合の1.39倍以下であった。また、各回投与後24時間までの放射能排泄率は初回投与以降常に92%以上であり、最終回投与後72時間までの尿及び糞中への累積排泄率はそれぞれ2.65%及び96.35%であった。以上の結果から、本薬の蓄積性はないと考えられた。

(9) 肝薬物代謝酵素系への作用

グリメピリドをラットに1日1回、7日間反復投与したときの薬物代謝酵素活性の変動はわずかであり、投与後1週間の休薬によりほぼ回復した。

〔ヒトにおける成績〕

(1) 健常人における検討

1) 血液・血清中濃度

①単回投与試験

経口投与後、血清中に未変化体、M1及びM2が検出された。血清中未変化体は投与後0.72～1.33時間に C_{max} に達した後、0.98～1.98時間の $t_{1/2}$ で消失した。 C_{max} 及びAUCは投与量に依存して増加した。M1及びM2は未変化体に比べて低濃度で推移し、 C_{max} は未変化体のそれぞれ約1/3及び約1/20であった。

経口投与及び静脈内投与したときの未変化体のAUCの比から求めたバイオアベイラビリティは107%であり、消化管からの吸収は良好であると考えられた。

②食事の影響

空腹時及び食後投与時の薬物動態学的パラメーターに有意差は認められず、食事による影響はないと考えられた。

2) 尿中排泄

単回経口投与後、尿中に未変化体は認められず、M1及びM2のみが検出された。投与後24時間までのM1とM2を合わせた尿中回収率は36.6～44.9%であった。 ^{14}C -グリメピリドを単回経口投与したとき、投与後168時間までの尿中及び糞中放射能回収率は、それぞれ57.5%及び35.0%であった。

(2) 患者における検討

1) インスリン非依存型糖尿病患者における反復投与試験

1日1回7日間反復経口投与した。1日目と7日目投与後の未変化体の薬物動態学的パラメーターに有意な差は認められず、血清中において C_{max} に達した後、0.67～1.31時間の $t_{1/2}$ で消失した。また、各投与日の投与前の濃度はすべて検出限界以下であった。これらのことから、蓄積性はないと考えられた。

2) 腎機能低下例における薬物動態

腎機能低下例において、未変化体の相対的全身クリアランスは腎機能正常例より高い値を示した。また、M1とM2を合わせた尿中回収率は腎機能が低下するに従い減少した。これらのことから、本薬の体内動態は腎機能の低下の程度により影響を受けることが考えられた。

(3) アスピリンとの相互作用

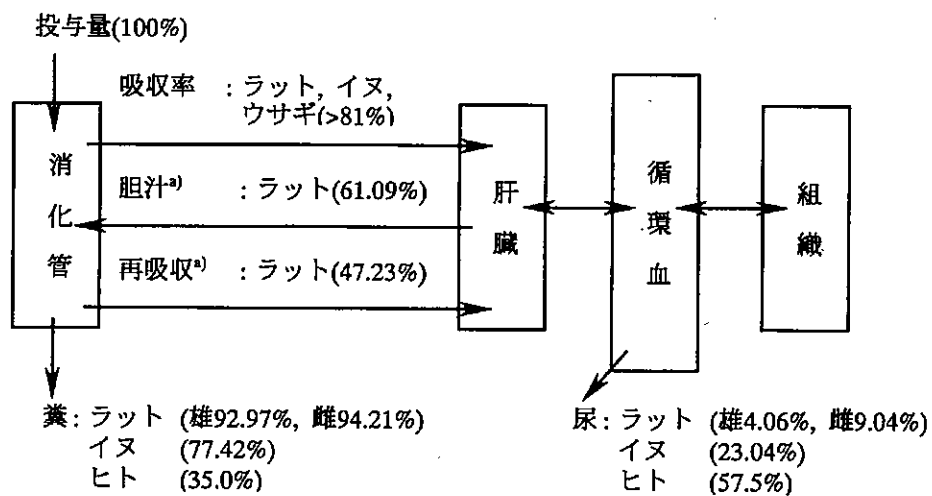
健常成人に経口投与したとき、グリメピリドの未変化体のAUCはアスピリンとの併用により有意に減少した。

〔製剤の生物学的同等性〕

本薬の無着色錠と着色錠との同等性を、溶出試験において検討した。その結果、1mg錠及び3mg錠ともに生物学的に同等であると推定された。

また、着色錠の1mg錠と3mg錠の用量間の同等性は、イヌでの検討の結果、生物学的に同等であると判断された。

動物及びヒトにおける、¹⁴C-グリメピリドの生体内動態を図へー1に示した。



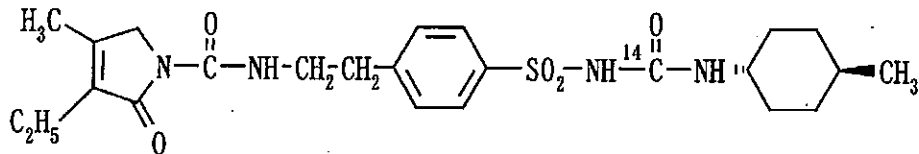
図へー1 動物及びヒトにおける¹⁴C-グリメピリドの生体内動態のまとめ

a): 胆管カニューレを施した雄ラットにおける胆汁中排泄率

1. 体液, 組織内濃度測定法

(1) 標識化合物

^{14}C -グリメピリドの標識位置を図へ-2に示した。標識化合物の純度は98%以上, 比放射能は540~4405MBq / gであった。放射能の測定は, 液体シンチレーション法によって行った。なお濃度は, 放射能濃度を比放射能を基に換算し, グリメピリド当量濃度($\mu\text{g eq. / g}$ 又は mL)として表示した。



図へ-2 ^{14}C -グリメピリドの標識位置
(合成場所: ドイツのヘキストAG)

(2) 非標識化合物

血清又は血漿中未変化体及び代謝物並びに尿中代謝物濃度は, 以下の方法に従って測定した。

生体試料をジエチルエーテル抽出後, 2,4-ジニトロフルオロベンゼンによって誘導体化した。これを, 逆相系高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて内部標準法により分析した。検出限界は, ヒト血清中未変化体及びM2はともに5ng / mL, M1は 10ng / mLであり, ヒト尿中ではM1 及びM2いずれも50ng / mLであった。また, イヌ及びラットの血清又は血漿中未変化体については, それぞれ10及び12.5ng / mLであった。

2. 動物における成績

動物における試験項目及び試験方法を表へ-1-(1)及び(2)に示した。

表へ-1-(1) 動物における試験一覧

試験項目		試験動物		投与化合物	投与経路	投与量 (mg/kg)
		種	性			
吸 収	血液中濃度	ラット	雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5
			雌		経口	0.5
			雄		経口	0.5×10days
			雌		経口	0.5
	血清中濃度	ラット	雌雄	グリメピリド	経口	0.5
					経口	0.5
	血液中濃度	ウサギ	雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5
					経口	0.5
	血液中濃度	イヌ	雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5
					経口	0.5
血液中濃度	イヌ	雄	グリメピリド錠	経口	3mg/body	
		雌雄	グリメピリド	経口	0.8, 16, 320	
吸収部位	ラット	雄	¹⁴ C-グリメピリド	消化管	0.08mg/結糞 ループ	
分 布	全身オート ラジオグラ フィー	ラット	雌雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5
			雌雄		経口	0.5
		妊娠ラット	雌		経口	0.5
		ラット	雄		経口	0.5×10days
	臓器・組織内 濃度	ラット	雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5
			雌		経口	0.5
			雄		経口	0.5×10days
	血球移行性	ラット	雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5
	血漿又は血 清蛋白との 結合性	イヌ	雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5
			雄		¹⁴ C-グリメピリド /グリメピリド	in vitro
ヒト			男性			

表へ-1-(2) 動物における試験一覧

試験項目		試験動物		投与化合物	投与経路	投与量 (mg/kg)	
		種	性				
排泄	尿及び 糞中排泄	ラット	雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5	
			雌		静脈内	0.5	
		ウサギ	雄		経口	0.5×10days	
			雌		経口	0.5	
			雄		経口	0.5	
			雌		静脈内	0.5	
	胆汁中排泄 及び腸肝循環	ラット	雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.63	
			雌		十二指腸	0.062	
		哺乳ラット	雌		経口	0.5	
代謝	血漿中代謝物	ラット	雌雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5	
			雄		静脈内	0.5	
		イヌ	雌雄		経口	0.5	
			男性		経口	1mg/body	
	尿中代謝物	ラット	雌雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5	
			雄		静脈内	0.5	
		イヌ	雌雄		経口	0.5	
			雄		経口	3.4	
		ウサギ	雄		経口	0.5	
			雌		静脈内	0.5	
			雄		経口	0.5	
	サル	雌	経口	1mg/body			
		男性	経口	1mg/body			
	胆汁中代謝物	ラット	雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.63	
	糞中代謝物	ラット	雌雄	¹⁴ C-グリメピリド	経口	0.5	
			雄		静脈内	0.5	
		イヌ	雌雄		経口	0.5	
			雄		経口	3.4	
		ウサギ	雄		経口	0.5	
			雌		静脈内	0.5	
		サル	雌		経口	0.5	
男性			経口		1mg/body		
<i>in vitro</i> 試験	ラット	雌雄	グリメピリド	肝ミクロ ゾーム	1.3~20 μ mol/L		
肝薬物代謝酵素系への作用	ラット	雌	グリメピリド	経口	1~2500 ×7days		
生物学的同等性試験	イヌ	雄	グリメピリド錠	経口	3mg/body		

(1) 吸 収

1) 吸収率

ラット、ウサギ及びイヌに¹⁴C-グリメピリド0.5mg/kgを静脈内又は経口投与後、AUC(表へ-2)又は尿中排泄率(232頁、表へ-8)の比から求めたグリメピリドの吸収率は81%以上と良好であった。

表へ-2 ラット、ウサギ及びイヌに¹⁴C-グリメピリドを静脈内又は経口投与したときの薬物動態学的パラメーター

動物(性)	例数	投与経路 (投与量:mg/kg)	C _{max} (μg eq./mL)	T _{max} (hr)	t _{1/2} (hr)	AUC ₀₋₂₄ (μg eq. · hr/mL)
ラット(雄)	3	静脈内(0.5)	—	—	8.75 ^{a)}	0.669±0.127 ^{b)}
ラット(雄)	3	経 口(0.5)	0.19±0.01	4.7±1.2	— ^{c)}	0.891±0.038
ラット(雌)	3	経 口(0.5)	0.19±0.09	3.3±1.2	12.1±7.2	1.76±0.86
ウサギ(雄)	4	静脈内(0.5)	—	—	7.6±4.3	12.380±4.154
ウサギ(雄)	5	経 口(0.5)	0.73±0.29	11.5±8.4	7.1±1.7	12.799±5.840
イヌ(雄)	1	静脈内(0.5)	—	—	22.3	23.637
イヌ(雄)	1	経 口(0.5)	1.65	4	12.5	24.780

各薬物動態学的パラメーターは、血液中放射能濃度推移から算出した。(平均±S.D.)
t_{1/2}は最終相について算出した。 a): n=2の平均値, b): AUC₀₋₈, c): 最終相が不明確

2) 吸収部位

結紮ループ法を用いた吸収実験から、ラットにおいてグリメピリドは腸管の広い範囲にわたって吸収された。

一方、胃からの吸収は少ないことが確認された(表へ-3)。

表へ-3 ¹⁴C-グリメピリドをラットの結紮ループ内に注入(0.08mg / ループ)したときの吸収率(%)

時間(hr)	胃	小腸上部	小腸中部	小腸下部	大腸
0.5	1.3±0.9	39.6±1.8	31.2±3.0	13.9±4.0	16.1±3.1
1	5.3±0.4	49.6±1.4	36.5±1.9	33.0±1.3	36.2±1.0

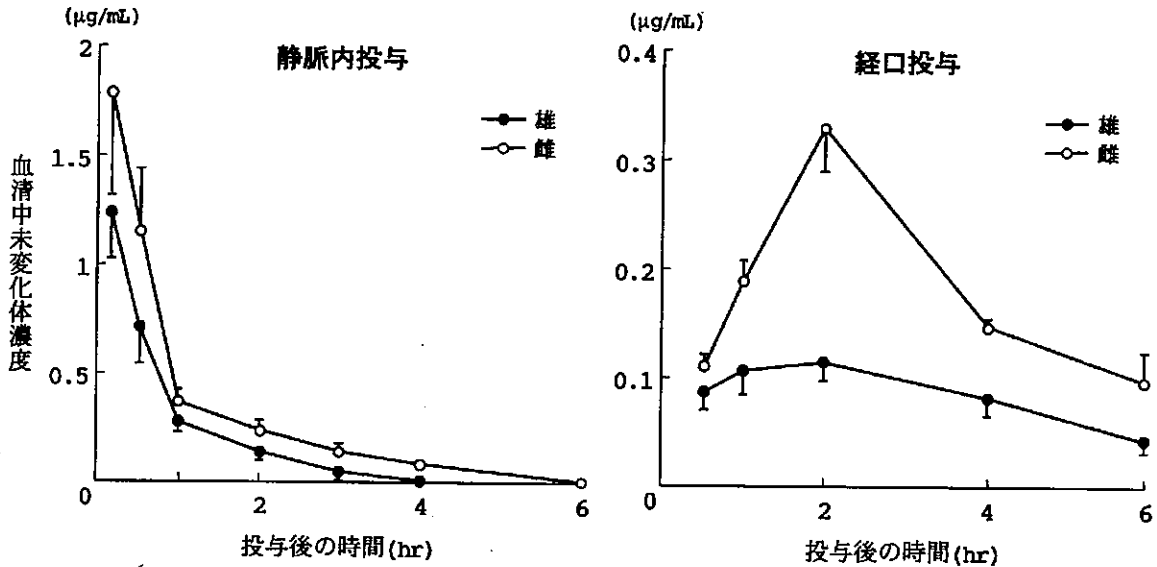
(平均±S.E., n=5)

(2) 血液・血清中濃度

1) ラット

雌雄ラットにグリメピリド0.5mg/kgを静脈内又は経口投与したときの血清中未変化体濃度推移を図へ-3に、薬物動態学的パラメーターを表へ-4に示した。

静脈内投与したとき、血清中未変化体濃度は二相性に減少し、 β 相の $t_{1/2}$ は雄1.02時間、雌1.46時間であった。経口投与したとき、雌雄ともに投与2時間後に最高濃度となったが、血清中未変化体濃度は雌の方が高かった(AUCで雄の約1.7倍)。一方、バイオアベイラビリティー(F)の性差はわずかであった。*in vitro* 代謝実験の結果(237頁)からラットでの血清中濃度推移の性差は肝における代謝活性の差異に基づくことが示された。



図へ-3 雌雄ラットにグリメピリド0.5mg/kgを静脈内又は経口投与したときの血清中未変化体濃度 (平均±S.E., n=3~8)

表へ-4 雌雄ラットにグリメピリド0.5mg/kgを静脈内又は経口投与したときの血清中未変化体濃度の薬物動態学的パラメーター

性	静脈内					経口		
	$t_{1/2}(\alpha)$ (hr)	$t_{1/2}(\beta)$ (hr)	Vss (L/kg)	CLtot (mL/min/kg)	AUC ₀₋₆ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	C _{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	AUC ₀₋₆ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	F (%)
雄	0.21	1.02	0.36	6.87	1.215	0.120±0.016	0.775	63.8
雌	0.22	1.46	0.30	4.17	1.996	0.339±0.044	1.343	67.3

(平均又は平均±S.E., n=3~8)

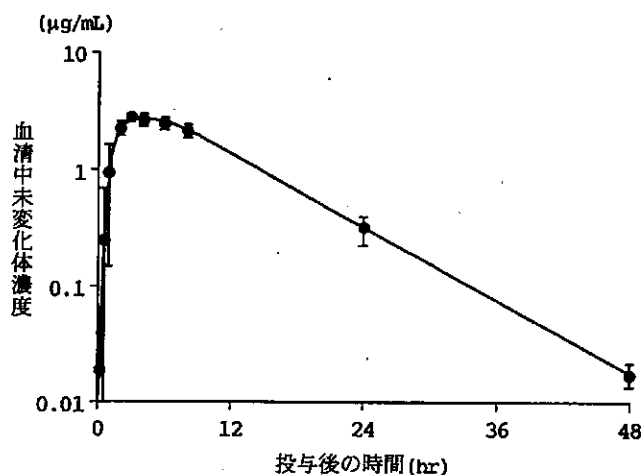
雄ラットに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを静脈内投与したとき、血液中放射能濃度は二相性に減少し、最終消失相の $t_{1/2}$ は8.75時間であった。また、0.5mg/kgを経口投与したとき、投与4.7時間後に最高濃度(0.19 $\mu\text{g eq. / mL}$)に達し、24時間後には消失した。雌ラットに ^{14}C -グリメピリドを経口投与したときの血液中濃度は、投与3.3時間後に最高濃度に達し、 $t_{1/2}$ は12.1時間であった(表へ-2)。

2) ウサギ

雄ウサギに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを静脈内投与したとき、血液中放射能濃度は二相性に減少し、最終消失相の $t_{1/2}$ は7.6時間であった。また、0.5mg/kgを経口投与したとき、投与11.5時間後に最高値(0.73 $\mu\text{g eq. / mL}$)に達し、 $t_{1/2}$ は7.1時間であった(表へ-2)。

3) イヌ

雄イヌにグリメピリドの3mg錠を1錠経口投与(0.26mg/kg)したときの血清中未変化体濃度推移を図へ-4に示した。投与後3.3時間で最高濃度(2.696 $\mu\text{g / mL}$)に達し、 $t_{1/2}$ は8.4時間であった。



図へ-4 イヌにグリメピリド3mg錠(0.26mg/kg)を投与したときの血清中未変化体濃度(平均 \pm S.D., n=3)

雄イヌに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを静脈内投与したとき、血液中放射能濃度は二相性に減少し、最終消失相の $t_{1/2}$ は22.3時間であった。また、0.5mg/kgを経口投与したとき、投与4時間後に最高濃度(1.65 $\mu\text{g eq. / mL}$)に達し、 $t_{1/2}$ は12.5時間であった(表へ-2)。

グリメピリドを、雌雄イヌに0.8,16及び320mg/kg 1日1回, 1年間反復経口投与したときの血清中未変化体濃度を表へ-5に示した。グリメピリドの投与量増加に伴い, 血清中未変化体濃度の上昇が見られたが, 16mg/kg以上での血清中濃度上昇は緩やかで, 用量幅が大きい試験ではあるが非線形性が見られた。その原因については明確ではない。また, 性差は認められなかった。

表へ-5 雌雄イヌにグリメピリドを反復経口投与したときの血清中未変化体濃度(各回投与後3時間値, $\mu\text{g/mL}$)

性	投与量 (mg/kg)	投与回数					
		8~10		92~94		358~360	
雄	0.8	3.86 ± 2.36	3.14 ± 1.10	2.42 ± 2.11			
	16	23.45 ± 9.44	23.91 ± 6.15	20.38 ± 7.77			
	320	43.73 ± 11.13	35.12 ± 10.31	35.05 ± 8.29			
雌	0.8	3.73 ± 1.56	4.30 ± 1.80	3.64 ± 2.07			
	16	22.75 ± 5.92	23.46 ± 4.97	23.26 ± 8.49			
	320	35.72 ± 6.76	43.80 ± 15.83	44.92 ± 24.37			

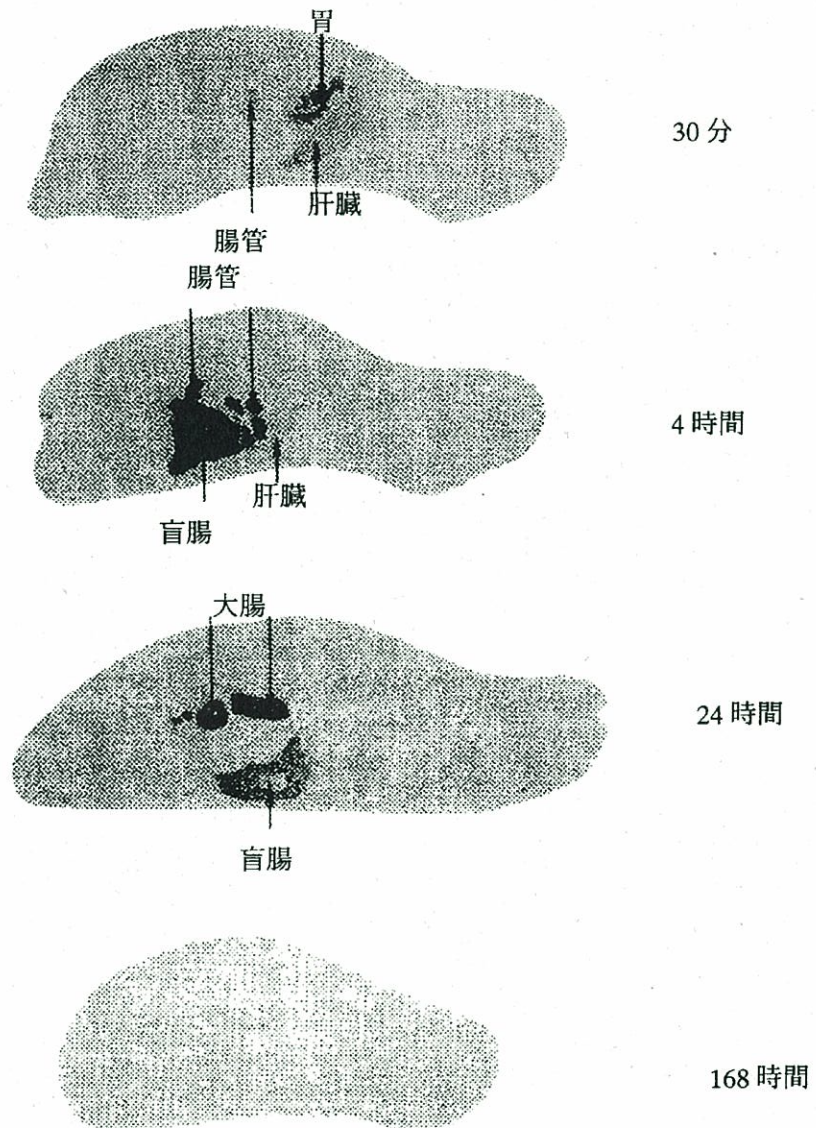
(平均 \pm S.D., n=6)

(3) 分 布

1) 全身オートラジオグラフィー

^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを雄ラットに経口投与したとき, 投与30分及び4時間後では, 消化管内容物と肝臓で高い放射能濃度が認められた(図へ-5)。24時間後では消化管下部を除いて放射能の分布は認められず, 168時間後にはすべての組織で消失していた。また, ^{14}C -グリメピリドを静脈内投与した場合にも類似した放射能の分布パターンを示した。

雌ラットに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを経口又は静脈内投与した場合においても, 放射能の分布パターンは雄とほぼ同様であり, 放射能は主に肝臓に分布した。24時間後では放射能は消化管下部及び肝臓でのみ検出されたが, 168時間後には消失していた。



図へー5 雄ラットに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したときの全身オートラジオグラム

2)臓器・組織内濃度

雄ラットに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したとき、肝臓で最も高い放射能濃度を示し、4時間後に最高濃度(0.94 $\mu\text{g eq. / g}$)に達した。次いで、腎臓が高く、他の組織はいずれも血液より低かった。24時間後では肝臓でのみ放射能が検出されたが、そのレベルは最高濃度の2%以下であり、96時間後には消失していた(表へー6)。

3) 血球への移行

雄ラットに¹⁴C-グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したとき、投与4時間及び7時間後の血液中放射能濃度は血漿中濃度の約1/2であり、血球への移行は少ないと考えられた(表へ-6)。

表へ-6 ¹⁴C-グリメピリド 0.5mg/kgを雄ラットに経口投与したときの組織内濃度 (μg eq./g)

組織	投与後の時間			
	4時間	7時間	24時間	96時間
血液	0.0461±0.0140	0.0192±0.0077	n.d.	n.d.
血漿	0.0967±0.0283	0.0402±0.0180	n.d.	n.d.
脾臓	0.0282±0.0142	0.0133±0.0133	n.d.	n.d.
脾臓	0.0081±0.0750	n.d.	n.d.	n.d.
腎臓	0.0638±0.0163	0.0288±0.0074	n.d.	n.d.
精巣	0.0153±0.0031	0.0054±0.0014	n.d.	n.d.
肝臓	0.9432±0.1487	0.5474±0.2512	0.0179±0.0067	n.d.
心臓	0.0201±0.0032	n.d.	n.d.	n.d.
肺	0.0350±0.0090	0.0150±0.0076	n.d.	n.d.
骨格筋	0.0058±0.0013	n.d.	n.d.	n.d.
皮下脂肪	0.0142±0.0044	0.0067±0.0063	n.d.	n.d.
腹膜脂肪	0.0175±0.0057	n.d.	n.d.	n.d.
脳	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
骨	0.0070±0.0013	n.d.	n.d.	n.d.
骨髄	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
眼	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: 検出限界以下

(平均±S.D., n=3)

(4) 血漿又は血清蛋白との結合

1) *in vivo*

イヌに¹⁴C-グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したとき、投与1~4時間後の放射能の血漿蛋白結合率は常に99%以上であった。

2) *in vitro*

グリメピリドの濃度を0.01~10 μ g/mLとしたとき、血清又は血漿蛋白との結合率は、イヌで99.0 \pm 0.2%、ウサギで99.2 \pm 0.3%、ヒトでは99.4 \pm 0.5%であった。結合蛋白は主としてアルブミンであった。

また、グリメピリドとヒト血清蛋白との結合における、他剤との競合を検討した結果、高濃度のワーファリン共存時にグリメピリドの結合率が低下したのを除き、ジアゼパム、クロロサイアザイド、プロプラノロールは影響を与えなかった(表へー7)。

表へー7 他剤共存時におけるグリメピリドとヒト血清アルブミンとの結合率(%)

	ワーファリン	ジアゼパム	クロロサイアザイド	プロプラノロール
無添加 ^{a)}	97.9	97.9	98.9	97.7
臨床治療濃度 ^{b)}	97.5	97.7	98.8	97.7
臨床治療濃度 \times 50	95.4	97.8	98.7	97.8
臨床治療濃度 \times 100	93.5	97.7	98.6	97.8

ヒト血清アルブミン濃度は1.8mg/mL、グリメピリドの添加濃度は2.5 μ g/mLとした。

a): 各薬剤を添加時の溶液組成に合わせて調整

b): ワーファリン32.4 μ mol/L、ジアゼパム8.8 μ mol/L、クロロサイアザイド2.87 μ mol/L、プロプラノロール0.676 μ mol/L

(5) 排 泄

1) 尿及び糞中排泄

雄ラットに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したとき、放射能の排泄は速やかで、投与後24時間までの尿及び糞中排泄率はそれぞれ、3.98%及び89.84%であった。また、静脈内投与したときの尿及び糞中排泄率についても経口投与時と同様であった。雌ラットに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを経口又は静脈内投与した場合においても、大部分の放射能は糞中に排泄された。いずれの場合でも48時間までに投与量の92.44%以上が体外へ排泄された(表へ-8)。

雄ウサギに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを経口投与及び静脈内投与したとき、投与後96時間までにそれぞれ投与量の70.27%及び81.16%が尿中に排泄された。

雄イヌに ^{14}C -グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したとき、投与後96時間までの尿及び糞中排泄率はそれぞれ23.04%及び77.42%であった。

2) 胆汁中排泄及び腸肝循環

胆管カニューレを施した雄ラットに ^{14}C -グリメピリド0.63mg/kgを静脈内投与したとき、放射能は投与後8時間までに投与量の61.09%が胆汁中に排泄された(表へ-8)。

^{14}C -グリメピリド0.63mg/kgを静脈内投与後8時間までのプール胆汁を、胆管カニューレを施した別の雄ラットの十二指腸に注入(0.062mg/kg)したとき、注入後8時間までに胆汁中に注入放射エネルギーの47.23%が排泄され、腸管から再吸収を受けることが確認された。

表へー8 ラット, ウサギ及びイヌに¹⁴C - グリメピリドを経口又は
 静脈内投与したときの累積放射能排泄率(% of dose)

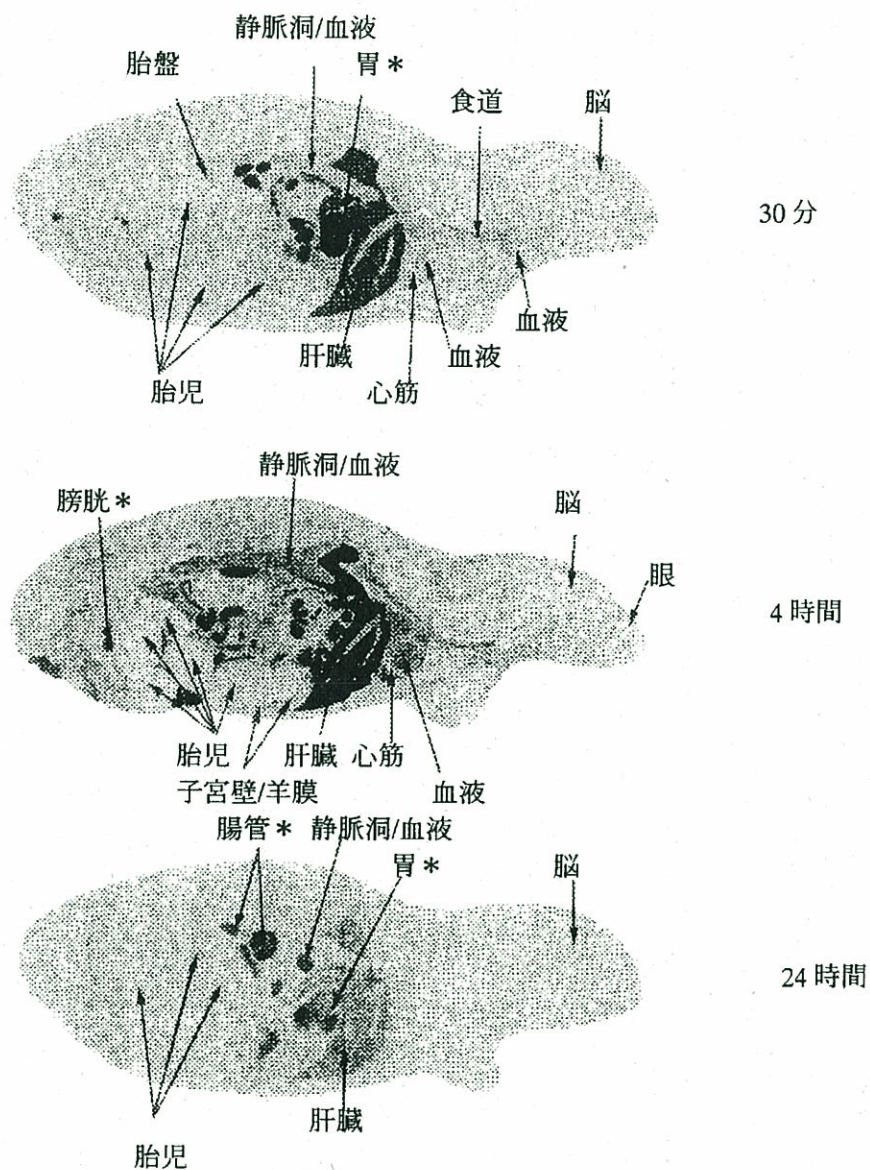
動物	投与経路	投与量 (mg/kg)	時間 (hr)	累積排泄率			総排泄率
				尿 ^{a)}	糞	胆汁	
雄ラット	経口	0.5	0~24	3.98±0.55	89.84±4.73	—	93.83±4.79
			0~48	4.06±0.54	92.97±2.62		97.03±2.67
			0~96	4.06±0.54	92.97±2.62		97.03±2.67
	静脈内	0.5	0~24	3.22±0.46	86.03±9.48	—	89.26±9.05
			0~48	3.28±0.53	90.67±6.95		93.95±6.44
			0~96	3.28±0.41	90.79±6.87		94.07±6.36
雌ラット	経口	0.5	0~48	8.82±0.58	91.55±13.91	—	100.37±14.23
			0~96	9.04±0.38	94.21±10.39		103.25±10.36
	静脈内	0.5	0~48	11.05±1.36	81.39±1.19	—	92.44±1.85
			0~96	11.16±1.40	82.90±0.83		94.06±1.20
雄ウサギ	経口	0.5	0~48	64.70±0.68	40.75±3.58	—	105.44±2.99
			0~96	70.27±3.74	43.18±2.71		113.46±2.88
	静脈内	0.5	0~48	77.86±7.57	23.40±3.00	—	101.26±5.68
			0~96	81.16±6.60	25.20±3.55		106.37±4.46
雄イヌ ^{b)}	経口	0.5	0~48	18.37	64.24	—	82.61
			0~96	23.04	77.42		100.46
雄ラット ^{c)}	静脈内	0.63	0~8	—	—	61.09±15.20	—

a) : ケージ洗液を含む, b) : n=1, c) : 胆管カニューレ処置, — : 測定せず (平均±S. D., n=3)

(6) 胎盤通過及び乳汁への移行

1) 胎児への移行

妊娠18日目のラットに¹⁴C-グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したとき、オートラジオグラムにおいては、羊膜、胎盤及び子宮への放射能移行が認められ、わずかではあったが胎児への放射能分布も認められた(図へ-6)。



図へ-6 妊娠18日目のラットに¹⁴C-グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したときの全身オートラジオグラム

*: 内容物を含む

組織内濃度の検討では、胎児組織内濃度は投与4時間後に最高値を示し、その濃度は同時点の母獣血液中濃度の16%以下であった。投与24時間後では、胎児組織内濃度は最高濃度の1/2以下に減少した(表へ-9)。

また、妊娠14日目においても妊娠18日目と同様であり、胎児への放射能の移行はわずかであった。

表へ-9 妊娠18日目のラットに¹⁴C-グリメピリド経口投与したときの組織内放射能濃度 ($\mu\text{g eq./g}$ 又はmL)

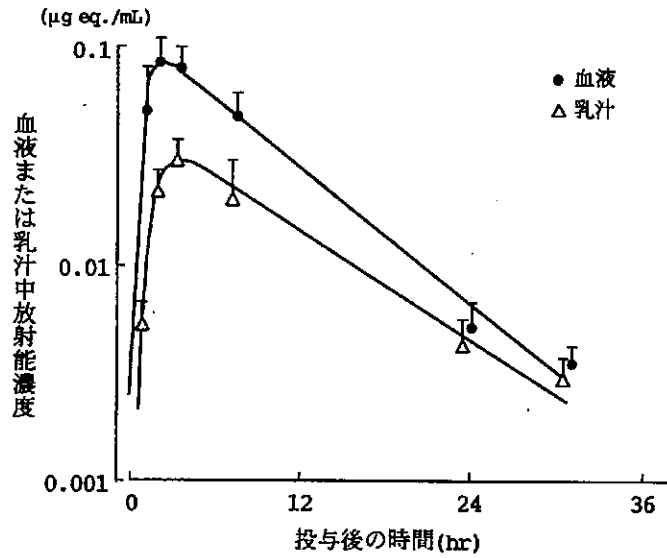
組織		投与後の時間		
		0.5時間	4時間	24時間
母 獣	血液	0.0501 \pm 0.0146	0.1304 \pm 0.0064	0.0054 \pm 0.0036
	血漿	0.0893 \pm 0.0176	0.2267 \pm 0.0177	0.0095 \pm 0.0069
	肝臓	0.4476 \pm 0.1482	1.9670 \pm 0.1970	0.1294 \pm 0.0372
	腎臓	0.0218 \pm 0.0049	0.0950 \pm 0.0051	0.0057 \pm 0.0023
	子宮	0.0096 \pm 0.0024	0.0543 \pm 0.0092	0.0048 \pm 0.0017
	胎盤	0.0100 \pm 0.0029	0.0405 \pm 0.0032	0.0045 \pm 0.0022
	羊水	0.0008 \pm 0.0001	0.0154 \pm 0.0090	0.0055 \pm 0.0023
	羊膜	0.0025 \pm 0.0010	0.0181 \pm 0.0011	0.0063 \pm 0.0006
胎 児	血液	n.d.	0.0211 \pm 0.0085	0.0060 \pm 0.0023
	肝臓	n.d.	0.0033 \pm 0.0007	0.0012 \pm 0.0006
	腎臓	n.d.	0.0043 \pm 0.0007	0.0020 \pm 0.0006
	残余組織	n.d.	0.0052 \pm 0.0002	0.0022 \pm 0.0007

n.d.: 検出限界以下

(平均 \pm S.D., n=3)

2) 乳汁への移行

授乳期のラットに¹⁴C-グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したとき、乳汁中放射能濃度は投与後5時間で最高値に達したが、そのレベルは血液中濃度の約1/3であった。その後、血液中濃度とほぼ平行して消失し、 $t_{1/2}$ は8.0時間であった(図へ-7)。



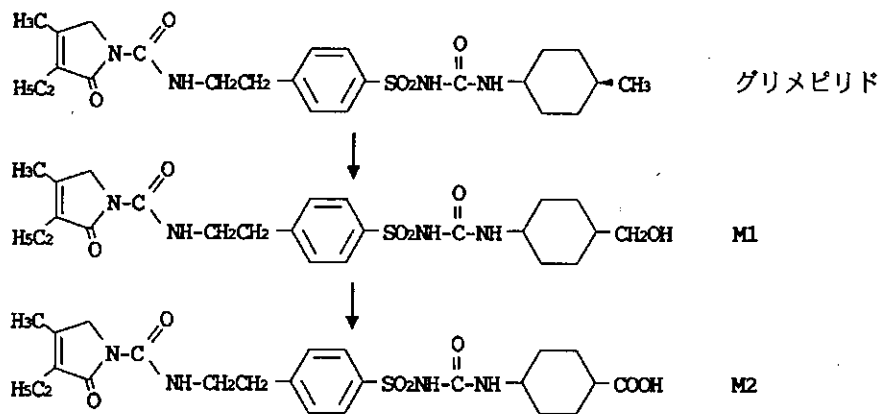
図へー7 授乳期のラットに¹⁴C-グリメピリド0.5mg/kgを経口投与したときの血液中及び乳汁中放射能濃度(平均±S.D., n=4)

(7) 代 謝

1) 代謝経路

ラット、イヌ、マウス、ウサギ、サル及びヒトにおけるグリメピリドの主代謝物の構造及び推定代謝経路を図へー8に示した。

グリメピリドの主要な代謝過程はシクロヘキシル環のメチル側鎖の酸化であり、主代謝物として水酸化体(M1)及びカルボン酸体(M2)が認められた。ただし、イヌについてはM2は検出されなかった。



図へー8 グリメピリドの推定代謝経路

2) 血漿・血清中代謝物

雌雄ラット、イヌ及びヒトに¹⁴C-グリメピリドを経口投与したとき、血漿又は血清中総放射能濃度に対する未変化体の割合は、投与後2~8時間の範囲で約50~90%であった。代謝物として、ラット及びヒトでM1及びM2が認められた(表へー10)。

雌雄ラットに静脈内投与した場合においても、血漿中代謝物の割合は経口投与時とほぼ同様であり、いずれも未変化体が大部分を占めていた。

3) 尿中代謝物

雌雄ラットに¹⁴C-グリメピリドを経口投与後の放射能の尿中への排泄はわずかであり(表へー8)、いずれも未変化体は検出されず、主代謝物としてM1及びM2が認められた(表へー10)。また、静脈内投与した場合においても同様であった。

イヌに¹⁴C-グリメピリドを経口投与したとき、M1が認められたが未変化体及びM2はほとんど検出されなかった。また、マウス及びウサギに投与したときM1及びM2が、サルにおいてはM1が認められた。

ヒトに¹⁴C-グリメピリドを経口投与したとき、主代謝物としてM1及びM2がそれぞれ60~80%及び20~40%の割合で認められた。

4) 胆汁中代謝物

雄ラットに¹⁴C-グリメピリドを静脈内投与後の胆汁中に未変化体は認められず、主代謝物としてM1及びM2がそれぞれ約40%及び約20%の割合で認められた(表へー10)。さらに、腸肝循環の実験(231頁)における再吸収後の胆汁についても未変化体は認められず、M1及びM2が主成分であることが確認された。

5) 糞中代謝物

雌雄ラットに¹⁴C-グリメピリドを経口投与後の糞中には、未変化体、M1及びM2が認められたが、両代謝物の割合は雌の方が高かった(表へー10)。静脈内投与時においても同様に主代謝物としてM1、M2、及び少量の未変化体が検出された。

また、マウス、ウサギ及びサルに投与したとき、未変化体とともにM1及びM2が、イヌにおいては未変化体とM1が認められた。

表へー10 ¹⁴C-グリメピリドを経口投与後の代謝物の割合

試料	動物種	投与量 (mg/kg)	時間 (hr)	代謝物組成(相対割合%)		
				グリメピリド	M1	M2
血漿 又は 血清	雄ラット	0.5	2	50	5	1
			4	70	6	2
			8	50	5	n.d.
	雌ラット	0.5	2	55	5	1
			4	80	10	2
			8	70	10	n.d.
	イヌ	0.5	2	90	n.d.	n.d.
			4	85	n.d.	n.d.
			8	75	n.d.	n.d.
	ヒト	1mg/body	2	85	14	n.d.
			4	72	26	n.d.
			8	47	43	9
尿	雄ラット	0.5	4~8 ^{a)}	n.d.	2	15
	雌ラット	0.5	0~24	n.d.	85	5
	イヌ	0.5	0~48	trace	20	n.d.
	ヒト	1mg/body	0~16	n.d.	60~80	20~40
胆汁 ^{b)}	雄ラット	0.63	0~8	n.d.	40 ^{c)}	20 ^{c)}
糞	雄ラット	0.5	0~48	29	20	11
	雌ラット	0.5	0~48	21	32	22
	イヌ	0.5	0~72	33	5	n.d.
	ヒト	1mg/body	0~48	5	19	34

a): 放射能の尿中排泄量が極めて少ないため、0~4hr, 8~24hrの試料は検討せず

b): 静脈内投与 c): 未同定代謝物が若干混入した値 n.d.: 検出限界以下

6) *in vitro*における代謝

ラット肝細胞分画を用いた代謝実験の結果、グリメピリドは肝ミクロゾームのチトクロームP-450系により水酸化(M1生成)を受け、引続いてサイトゾールのアルコール脱水素酵素及びアルデヒド脱水素酵素によりカルボン酸体(M2)となることが示唆された。ラット肝ミクロゾームによるグリメピリドの水酸化における K_m 及び V_{max} の値は、雄で $8.7 \mu\text{mol/L}$ 及び $323 \text{ p mol/min/mg protein}$ 、雌では $18.0 \mu\text{mol/L}$ 及び $408 \text{ pmol/min/mg protein}$ であり、代謝活性(V_{max}/K_m)は雌に比べて雄の方が1.6倍高かった。一方、サイトゾールによるM1からM2への代謝活性には性差は認められなかった。

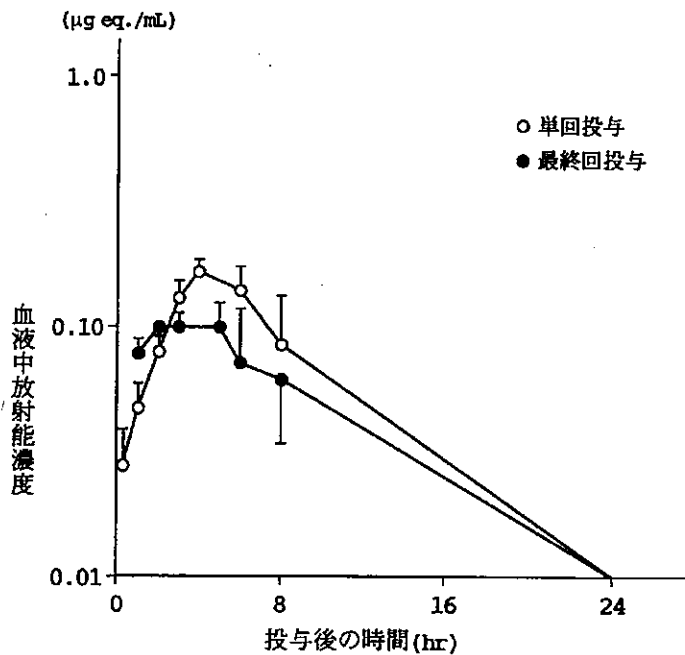
なお、ラットにおけるシクロヘキシル環メチル側鎖の水酸化活性の性差の原因としては、ラットに特異的な性依存性P-450 II Cサブファミリーの関与に基づくことが推察され、他の動物種やヒトでの代謝における性差の可能性を示唆するものではないと考えられる。このことは、グリメピリドをイヌに投与したときの血清中未変化体濃度に性差がみられなかった事実(227頁)により支持される。

(8) 反復投与

1) 血液・血漿中濃度

雄ラットに ^{14}C -グリメピリド $0.5\text{mg}/\text{kg}$ を1日1回, 10日間反復経口投与したとき, 各回投与後24時間の血液中放射能はいずれも検出限界以下であった。最終回投与後の血液中放射能は約5.4時間の $t_{1/2}$ で消失し, 単回投与試験の場合と同様に投与後24時間で検出限界以下となった(図へー9)。

更に, 組織内分布試験における最終回投与後の血液及び血漿中放射能濃度(表へー11)は, 単回投与時(229頁, 表へー6)の $0.87\sim 1.01$ 倍であった。



図へー9 雄ラットに ^{14}C -グリメピリド $0.5\text{mg}/\text{kg}$ を単回及び1日1回, 10日間反復投与したときの血液中放射能濃度 (平均 \pm S.D., $n=3$)

2) 分 布

① 全身オートラジオグラフィー

雄ラットに ^{14}C -グリメピリド $0.5\text{mg}/\text{kg}$ を1日1回, 10日間反復経口投与したとき, 最終回投与後の放射能の組織内分布は単回投与時と同様のパターンを示した。最終回投与後24時間では, 消化管内容物を除き肝臓でのみ痕跡程度の放射能がみられたが, 72時間後では消失した。

② 組織内濃度

雄ラットに¹⁴C-グリメピリド0.5mg/kgを1日1回、10日間反復経口投与したとき、最終回投与後の組織内分布パターンは単回投与時と同様であった。最終回投与後4時間の血液及び組織内濃度は単回投与時の1.39倍以下であった。消失も速やかで、72時間後では肝臓、血漿及び腎臓で低濃度の放射能が検出されたが、336時間後には完全に消失した(表へー11)。

表へー11 ¹⁴C-グリメピリド 0.5mg/kgを雄ラットに1日1回、10日間反復経口投与したときの組織内濃度(μg eq./g)

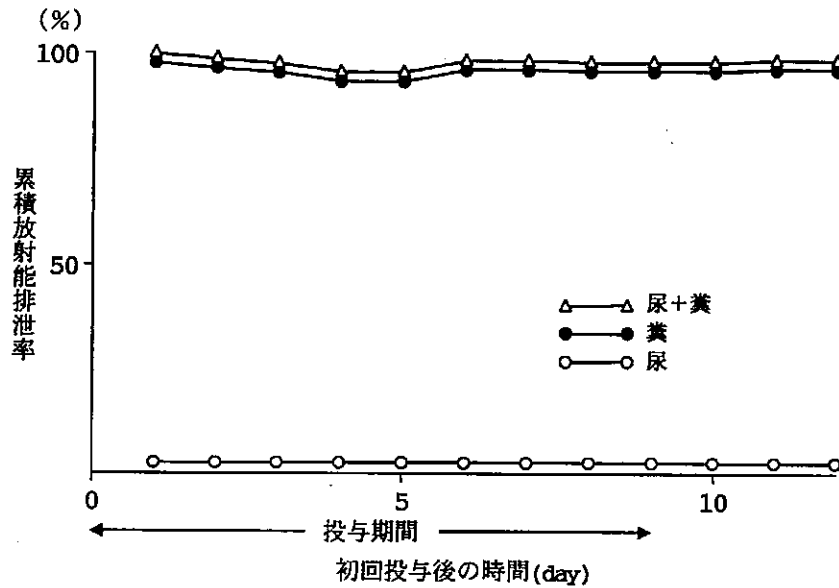
組織	最終回投与後の時間				
	4時間	7時間	24時間	72時間	336時間
血液	0.0460±0.0038	0.0193±0.0073	n.d.	n.d.	n.d.
血漿	0.0839±0.0203	0.0366±0.0156	0.0047±0.0015	0.0029±0.0004	n.d.
脾臓	0.0141±0.0022	0.0086±0.0041	n.d.	n.d.	n.d.
脾臓	0.0071±0.0013	0.0031±0.0006	n.d.	n.d.	n.d.
小腸	0.5588±0.1227	0.3326±0.1651	0.0057±0.0025	n.d.	n.d.
腎臓	0.0672±0.0264	0.0247±0.0084	0.0044±0.0007	0.0025±0.0005	n.d.
精巣	0.0123±0.0030	0.0052±0.0019	0.0012±0.0002	n.d.	n.d.
肝臓	0.7836±0.2168	0.4770±0.1946	0.0174±0.0018	0.0065±0.0010	n.d.
心臓	0.0155±0.0020	0.0082±0.0036	n.d.	n.d.	n.d.
肺	0.0223±0.0093	0.0121±0.0036	0.0022±0.0005	n.d.	n.d.
骨格筋	0.0057±0.0009	0.0027±0.0006	n.d.	n.d.	n.d.
皮下脂肪	0.0197±0.0052	0.0097±0.0019	0.0028±0.0007	n.d.	n.d.
腹膜脂肪	0.0136±0.0019	0.0079±0.0025	0.0033±0.0008	n.d.	n.d.
大脳	0.0019±0.0001	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
小脳	0.0031±0.0001	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
骨	0.0065±0.0011	0.0041±0.0000	n.d.	n.d.	n.d.
骨髄	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
眼	0.0049±0.0007	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.: 検出限界以下

(平均±S.D., n=3)

3) 尿及び糞中排泄

雄ラットに ^{14}C -グリメピリド $0.5\text{mg}/\text{kg}$ を1日1回、10日間反復経口投与したとき、各回投与後24時間までの放射能排泄率は初回投与以降常に92%以上(平均約98%)であった。最終回投与後72時間までの尿及び糞中への累積排泄率はそれぞれ2.65%及び96.35%であった(図へ-10)。



図へ-10 雄ラットに ^{14}C -グリメピリド $0.5\text{mg}/\text{kg}$ を1日1回、10日間反復投与したときの累積尿・糞中排泄率(平均, $n=3$)

以上の血液・血漿中濃度、分布及び排泄の結果から、本薬の蓄積性はないと考えられた。

(9) 肝薬物代謝酵素系への作用

雌ラットにグリメピリド1, 50及び2500mg/kg/日を1日1回, 7日間反復経口投与したとき, いずれの投与量においても肝重量は無処置群に比較して変化しなかった。2500mg/kg投与群で, 肝ミクロソーム蛋白量, チトクロームP-450含量はやや減少し, チトクロームb₅含量は増加した。アミノピリンN-脱メチル化酵素活性, アニリンp-水酸化酵素活性及び7-エトキシシクマリノ-脱エチル化酵素活性は50mg/kgでのみ軽度の減少がみられたが, 投与量依存性は認められなかった(表へ-12)。これらの変化の程度はフェノバルビタールに比べて軽微であり, 反復投与後1週間の休薬によりほぼ無処置群のレベルまで回復した。

表へ-12 雌ラットにグリメピリドあるいはフェノバルビタールを7日間反復経口投与したときの肝薬物代謝酵素系に対する影響

測定項目	無処置	投与化合物			
		グリメピリド			フェノバルビタール
		1mg/kg/日	50mg/kg/日	2500mg/kg/日	80mg/kg/日
体重(g)	177 ± 11	178 ± 8	171 ± 11	169 ± 9	191 ± 8*
肝重量(g/100g体重)	3.57 ± 0.17	3.64 ± 0.18	3.51 ± 0.34	3.52 ± 0.23	5.05 ± 0.42**
ミクロソーム蛋白量 ^{a)}	27.5 ± 2.8	25.9 ± 0.9	24.9 ± 2.5	23.2 ± 1.7**	36.4 ± 6.2**
アミノピリン ^{b)}	109.0 ± 10.6	102.3 ± 10.0	92.0 ± 10.8*	92.1 ± 26.7	367.6 ± 57.1**
アニリン ^{c)}	12.23 ± 1.22	11.16 ± 1.75	9.16 ± 0.78**	9.46 ± 2.97	19.69 ± 3.29**
7-エトキシシクマリノ ^{d)}	14.64 ± 2.03	13.21 ± 1.70	11.96 ± 1.25*	12.54 ± 3.41	47.21 ± 9.92**
チトクロームP-450 ^{e)}	17.2 ± 2.1	14.9 ± 2.5	14.4 ± 3.0	14.0 ± 1.2**	38.4 ± 7.5**
チトクロームb ₅ ^{e)}	3.56 ± 0.50	3.21 ± 0.27	6.11 ± 4.03	8.25 ± 0.97**	13.62 ± 1.93**
NADPH-チトクロームC還元酵素 ^{e)}	2.64 ± 0.49	2.89 ± 0.33	2.82 ± 0.49	2.57 ± 0.44	5.35 ± 1.07**

a) : mg/g 肝 b) : アミノピリン N-脱メチル化酵素活性(n mol/g 肝/分) (平均±S.D., n=6)

c) : アニリン p-水酸化酵素活性(n mol/g 肝/分)

d) : 7-エトキシシクマリノ 0-脱エチル化酵素活性(n mol/g 肝/分) e) : n mol/g 肝

* : p<0.05, ** : p<0.01 (無処置群との比較, Student t-検定)

3. ヒトにおける成績

試験, 対象及び試験方法を表へ-13に示した。

表へ-13 ヒトにおける試験一覧

試験		対象 (年齢)	例 数	試験デザイン	投与量 (mg)	投与 経路	
健 常 人 に お け る 検 討	血 中 濃 度	未変化体, M1, M2	成人男子 (27~45歳)	27	プラセボ対照 単盲検	0.25, 0.5, 1	経口
		バイオアベイ ラビリティー	成人男子 (20~40歳)	12	クロスオーバー	1	経口 静脈内
		¹⁴ C標識化合物	成人男子 (51~56歳)	3	オープン	1 (¹⁴ C)	経口
		食事の影響	成人男子 (18~37歳)	20	クロスオーバー	1	経口
	尿 中 排 泄	未変化体, M1, M2	成人男子 (27~45歳)	27	プラセボ対照 単盲検	0.25, 0.5, 1	経口
		バイオアベイ ラビリティー	成人男子 (20~40歳)	12	クロスオーバー	1	経口 静脈内
		¹⁴ C標識化合物	成人男子 (51~56歳)	3	オープン	1 (¹⁴ C)	経口
アスピリンとの 相互作用		成人男子 (22~31歳)	12	二重盲検 クロスオーバー	1	経口	
患 者 に お け る 検 討	インスリン非依存型 糖尿病患者における 反復投与試験	インスリン 非依存型 糖尿病患者 (38~74歳)	9	オープン 1日1回7日間投与	0.5, 1	経口	
	腎機能低下例におけ る薬物動態	インスリン 非依存型 糖尿病患者 (44~70歳)	15	オープン	3	経口	

(1) 健常人における検討

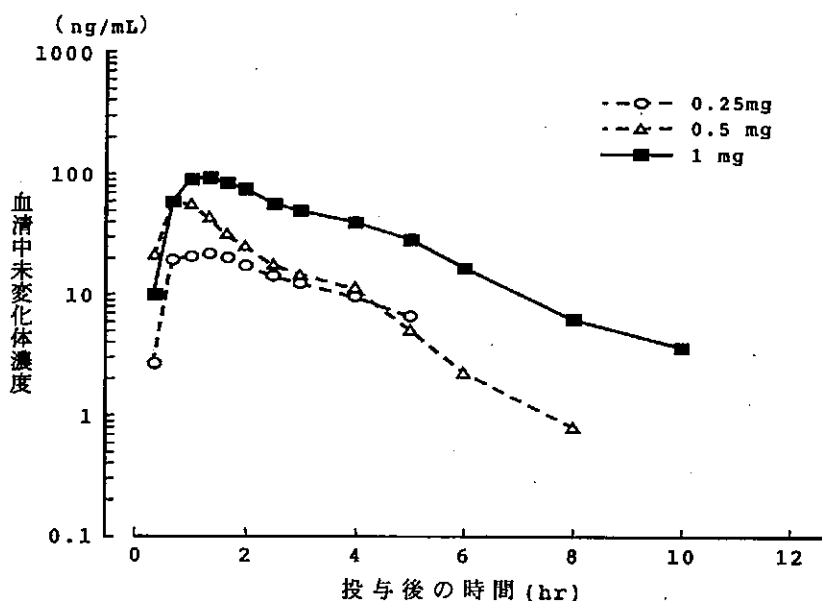
1) 血液・血清中濃度

① 単回投与試験

成人男子18例にグリメピリド0.25mg, 0.5mg又は1mg錠を朝食直前に1錠単回経口投与したときの血清中未変化体濃度推移を図へー11に、薬物動態学的パラメーターを表へー14に示した。

グリメピリドは投与後速やかに吸収され、血清中未変化体は投与後0.72~1.33時間に C_{max} に達した後、0.98~1.98時間の $t_{1/2}$ で消失した。 C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量に依存して増加した。

血清中代謝物としてM1及びM2を測定した。血清中M1は未変化体より約1時間遅れて C_{max} に達し、未変化体の約1/3であった。また、 AUC_{0-24} は未変化体の約1/2であった。血清中M2は、検出限界付近の低い濃度で推移し、 C_{max} 及び AUC_{0-24} は未変化体のそれぞれ約1/20であった。いずれの代謝物も投与後10時間までに検出限界以下となった。



図へー11 グリメピリド朝食直前単回経口投与時の血清中未変化体濃度推移
(平均, n=6)

表へー14 グリメピリド朝食直前単回経口投与時の薬物動態学的パラメーター

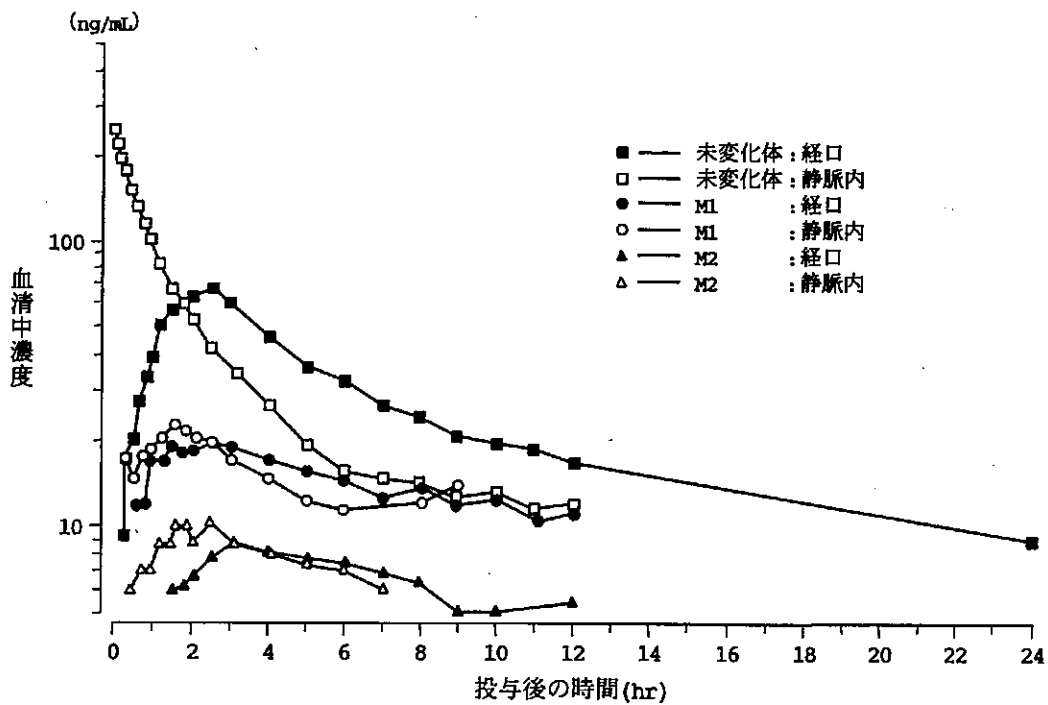
測定物質	投与量	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)	t _{1/2} (hr)	AUC ₀₋₂₄ (ng·hr/mL)
未変化体	0.25mg	24.3 ± 6.2	1.17 ± 0.35	1.98 ± 0.61	72.0 ± 15.1
	0.5mg	61.2 ± 14.0	0.72 ± 0.14	0.98 ± 0.13	125.1 ± 43.3
	1mg	103.5 ± 29.1	1.33 ± 0.37	1.47 ± 0.60	339.0 ± 89.7
M1	1mg	34.5 ± 9.1	2.61 ± 0.82	2.67 ± 0.98	164.3 ± 89.2
M2	1mg	6.3 ± 3.2	2.70 ± 0.27 ¹⁾	—	19.0 ± 12.8

1): n=5, — : 算出不能

(平均 ± S.D., n=6)

成人男子12例 (外国人) に、クロスオーバー法にて空腹時にグリメピリド1mg錠を1錠単回経口投与及び1mgを単回静脈内投与したときの血清中未変化体並びに代謝物濃度推移を図へー12に、薬物動態学的パラメーターを表へー15に示した。

経口投与及び静脈内投与したときの未変化体のAUCの比から求めたバイオアベイラビリティは107%であり、消化管からの吸収は良好であると考えられた。



図へー12 グリメピリド1mg単回経口投与及び静脈内投与時の血清中未変化体及び代謝物濃度推移 (平均, n=12)

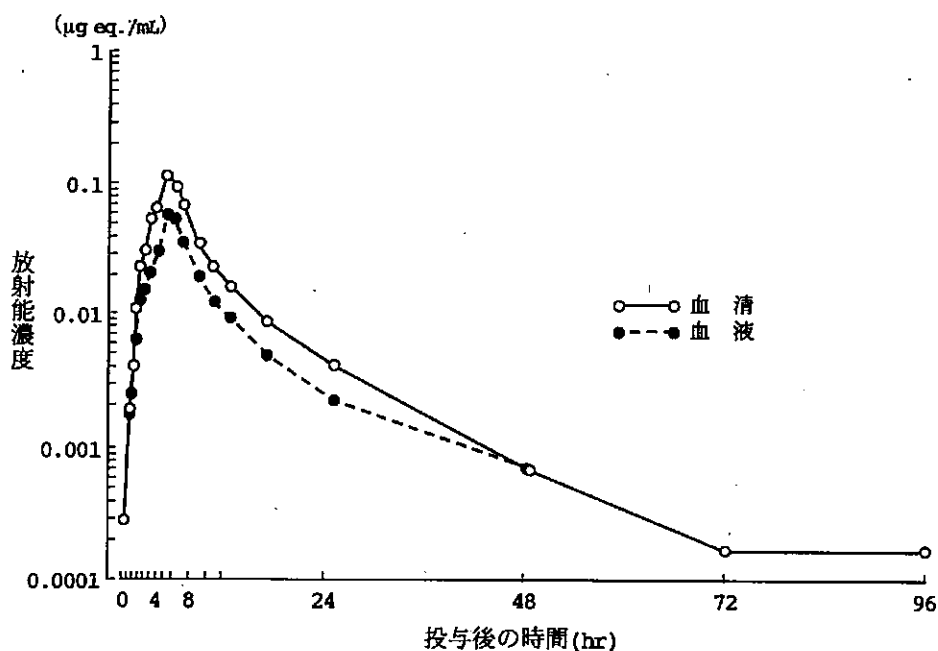
表へー15 グリメピリド1mg単回経口投与及び静脈内投与時の未変化体の薬物動態学的パラメーター

投与経路	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)	t _{1/2} (hr)	AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)
経口	87.9±21.1	2.7±1.4	3.1±1.2	449±248
静脈内	—	—	3.4±2.0	412±184

(平均±S.D., n=12)

成人男子3例(外国人)に,¹⁴C-グリメピリド1mgを朝食直前に単回経口投与したときの血液中及び血清中放射能濃度推移を図へー13に,薬物動態学的パラメーターを表へー16に示した。

血液中濃度は投与後4.3時間にC_{max}に達し,3.3時間のt_{1/2}で消失した。血液中濃度は血清中濃度とほぼ平行して推移し,その濃度は血清中濃度の約1/2であることから,血球への移行は少ないと考えられた。



図へー13 ¹⁴C-グリメピリド1mg単回経口投与時の血液中及び血清中放射能濃度推移(平均, n=3)

表へー16 ¹⁴C-グリメピリド1mg単回経口投与時の血液中及び血清中放射能濃度の薬物動態学的パラメーター

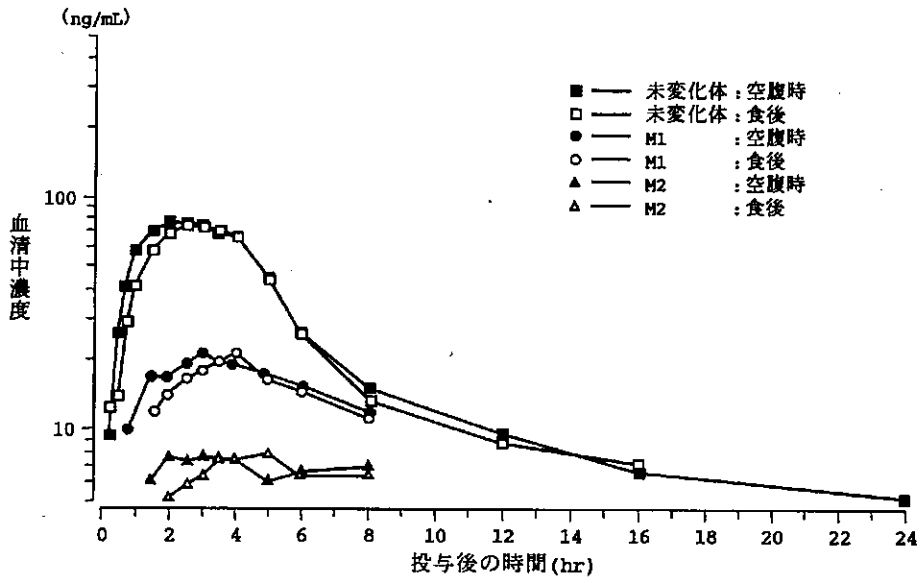
試料	C _{max} (µg eq./mL)	T _{max} (hr)	t _{1/2} (α) (hr)	t _{1/2} (β) (hr)
血液	0.061±0.026	4.3±0.6	3.3±0.4	—
血清	0.115±0.040	4.0±1.0	4.2±0.5	18.4±2.0

(平均±S.D., n=3)

② 食事の影響

成人男子20例 (外国人) に、グリメピリド1mg錠をクロスオーバー法にて空腹時及び食直後に1錠単回経口投与したときの血清中未変化体及び代謝物濃度推移を図へ-14に、薬物動態学的パラメーターを表へ-17に示した。

空腹時及び食後投与時の薬物動態学的パラメーターに有意差は認められず、食事による影響はないと考えられた。



図へ-14 グリメピリド1mg空腹時及び食後単回経口投与時の血清中未変化体及び代謝物濃度推移 (平均, n=20)

表へ-17 グリメピリド1mg空腹時及び食後単回経口投与時の未変化体の薬物動態学的パラメーター

投与時期	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)
空腹時	91.8±29.1	2.5±1.1	1.6±0.5	423.3±160.4
食後	84.9±21.9	2.8±0.9	1.7±0.3	388.5±120.8

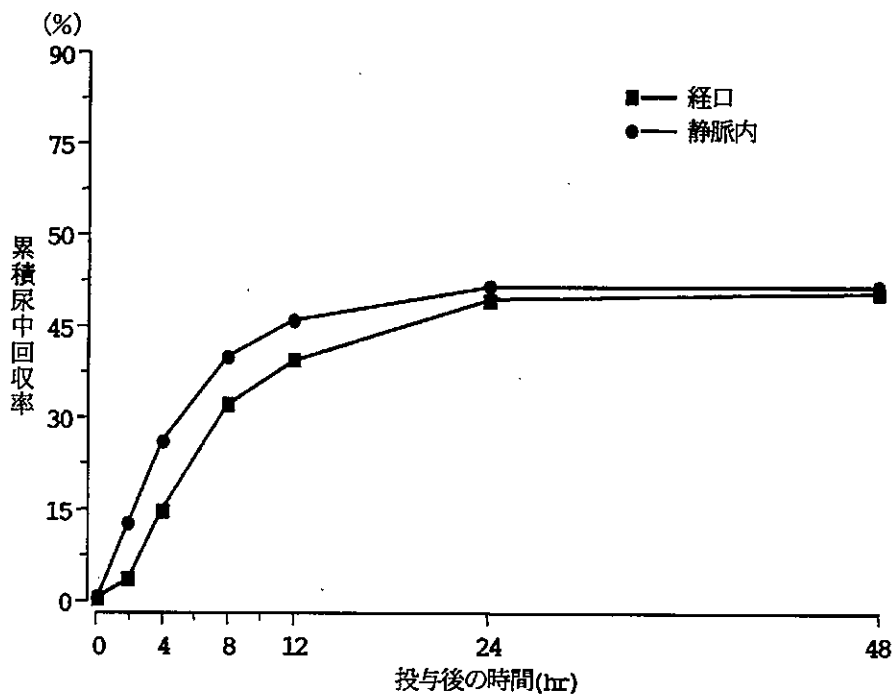
(平均±S.D., n=20)

2) 尿中排泄

成人男子18例にグリメピリド0.25mg, 0.5mg及び1mg錠を朝食直前に1錠単回経口投与したとき、未変化体はいずれの時点においても検出されなかった。投与後24時間までのM1とM2を合わせた投与量に対する累積尿中回収率は、それぞれ36.6,38.1及び44.9%であった。M1とM2の割合に投与量による差はみられなかった。

成人男子12例(外国人)にクロスオーバー法にてグリメピリド1mg錠を単回経口投与及び1mgを単回静脈内投与したときのM1とM2を合わせた累積尿中回収率の推移を図へ-15に示した。経口及び静脈内投与後48時間までのM1とM2を合わせた投与量に対する累積回収率は、それぞれ50及び51%とほぼ同じであることから、本薬の消化管からの吸収は良好であると考えられた。

成人男子3例(外国人)に¹⁴C-グリメピリド1mgを経口投与したとき、投与後168時間までの尿中及び糞中放射能回収率は、それぞれ57.5%及び35.0%であった。



図へ-15 グリメピリド1mg単回経口投与及び静脈内投与時の累積尿中回収率(平均, n=12)

(2) 患者における検討

1) インスリン非依存型糖尿病患者における反復投与試験

インスリン非依存型糖尿病患者5例にグリメピリド0.5mg錠, 4例に1mg錠をそれぞれ1日1回7日間朝食前に1錠反復経口投与した。0.5mg及び1mg投与時の1日目及び7日目の薬物動態学的パラメーターを表へー18に示した。

血清中未変化体は, 0.5mg投与時では投与後10時間以降, 1mg投与時では投与後16時間以降, 検出限界以下となった。1日目及び7日目の未変化体の薬物動態学的パラメーターに有意な差は認められず, 血清中において C_{max} に達した後, 0.67~1.31時間の $t_{1/2}$ で消失した。この $t_{1/2}$ は, 健常人における単回投与時とほぼ同様の値であった。また, 2~7日目の投与前の濃度はすべて検出限界以下であった。これらのことから, 蓄積性はないと考えられた。

表へー18 インスリン非依存型糖尿病患者における, グリメピリド朝食直前反復経口投与時の未変化体の薬物動態学的パラメーター

投与量	n	投与日	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
0.5mg	5	1日目	29.6±11.5	2.40±2.07	0.67±0.39	75.9±26.8
		7日目	27.6±14.5	2.60±1.34	0.97±0.69	73.0±39.9
1mg	4	1日目	89.0±47.4	3.75±2.06	1.31±0.15	303.6±149.6
		7日目	110.8±36.6	2.00±1.41	1.28±0.59	358.3±134.5

(平均±S.D.)

2) 腎機能低下例における薬物動態

クレアチニンクリアランス(CL_{cr})により3群に分けたインスリン非依存型糖尿病患者15例(外国人)に, グリメピリド3mg錠を朝食前に1錠単回経口投与したときの未変化体及び代謝物の薬物動態学的パラメーターを表へー19に, 平均血清中濃度推移を CL_{cr} の異なるグループ別に図へー16に示した。

腎機能低下例において, 未変化体の相対的全身クリアランス (CL/f) は, 正常例より高い値を示した。しかし, $t_{1/2}$ には腎機能低下の程度に依存した変化は認められなかった。投与後48時間までのM1とM2を合わせた投与量に対する尿中回収率は, グループI, II及びIIIにおいて, それぞれ44.4, 21.9及び9.3%であった。すなわち, 腎機能が低下するに従い, 尿中回収率は減少した。

腎機能低下の程度により未変化体では C_{max} の低下及び CL/f の増加が認められたが, これは本薬の肝臓での代謝活性が変化したことによるものではなく, 本薬の血清蛋白結合率の変化に基づき, 分布容積及び肝クリアランスの増加が生じたことによると考えられる。一般的に腎機能低下時には, 血清蛋白量の減少, 内因性物質の蓄積, 蛋白の薬物結合能の低下による血清蛋白結合率の低下, あるいは腎クリアランスの減少などにより薬物の体内動態が影響を受けることが知られている¹⁾²⁾。本薬においては, 血清蛋白結合率が99.4%(健常人)と高く, 低クリアランスであるため, 上述したように蛋白結合率低下の影響を大きく受け, 分布容積及び肝クリアランスの増加

が生じたことにより腎機能低下の程度とともに未変化体の C_{max} の低下及びCL/fの増加が認められたものと考えられる。

一方、本薬を投与後、未変化体は主に肝での酸化的代謝により、M1さらにM2に代謝されて体内から消失するが、腎機能低下の程度に関連した未変化体の $t_{1/2}$ に変化がみられなかったことから、本薬の肝臓での代謝活性(固有代謝クリアランス)は変化していないと考えられる。

代謝物に関して、腎機能低下例におけるM1及びM2の C_{max} は、正常例より上昇した。この結果は、これらの代謝物が腎を介して排泄されるためと考えられる。また、M1及びM2の $t_{1/2}$ は軽度低下例では正常例とほぼ変わらなかったが、高度低下例では延長した。腎機能正常例では尿中にM1とM2合わせて投与量の44.4%が排泄されており、腎機能低下例では腎クリアランス減少の影響を受け、体外への排泄が遅れ $t_{1/2}$ が延長したと考えられる。

以上のことから、本薬の体内動態は腎機能の低下の程度により影響を受けることが考えられた。

表へー19 腎機能正常例及び低下例におけるグリメピリド3mg単回経口投与時の未変化体及び代謝物の薬物動態学的パラメーター

測定物質	グループ	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$t_{1/2}$ (hr)	CL/f (mL/min)
未変化体	I	359.2±98.3	1.9±0.2	2.28±0.79	41.6±18.5
	II	205.3±29.0	2.7±1.3	1.06±0.23	81.8±12.8
	III	194.0±42.4	2.2±1.0	2.19±1.13	91.1±36.5
M1	I	70.8±14.0	3.8±0.8	2.79±0.86	132.1±66.4
	II	93.0±12.5	3.2±0.8	2.32±0.93	107.0±33.7
	III	103.6±24.1	4.1±2.3	4.88±2.92	67.5±39.6
M2	I	21.8±8.5	4.8±1.5	4.91±2.94	306.5±63.6
	II	42.0±2.6	5.7±1.2	3.06±0.50	140.8±36.5
	III	61.7±25.9	7.0±1.2	8.37±1.90	61.5±30.6

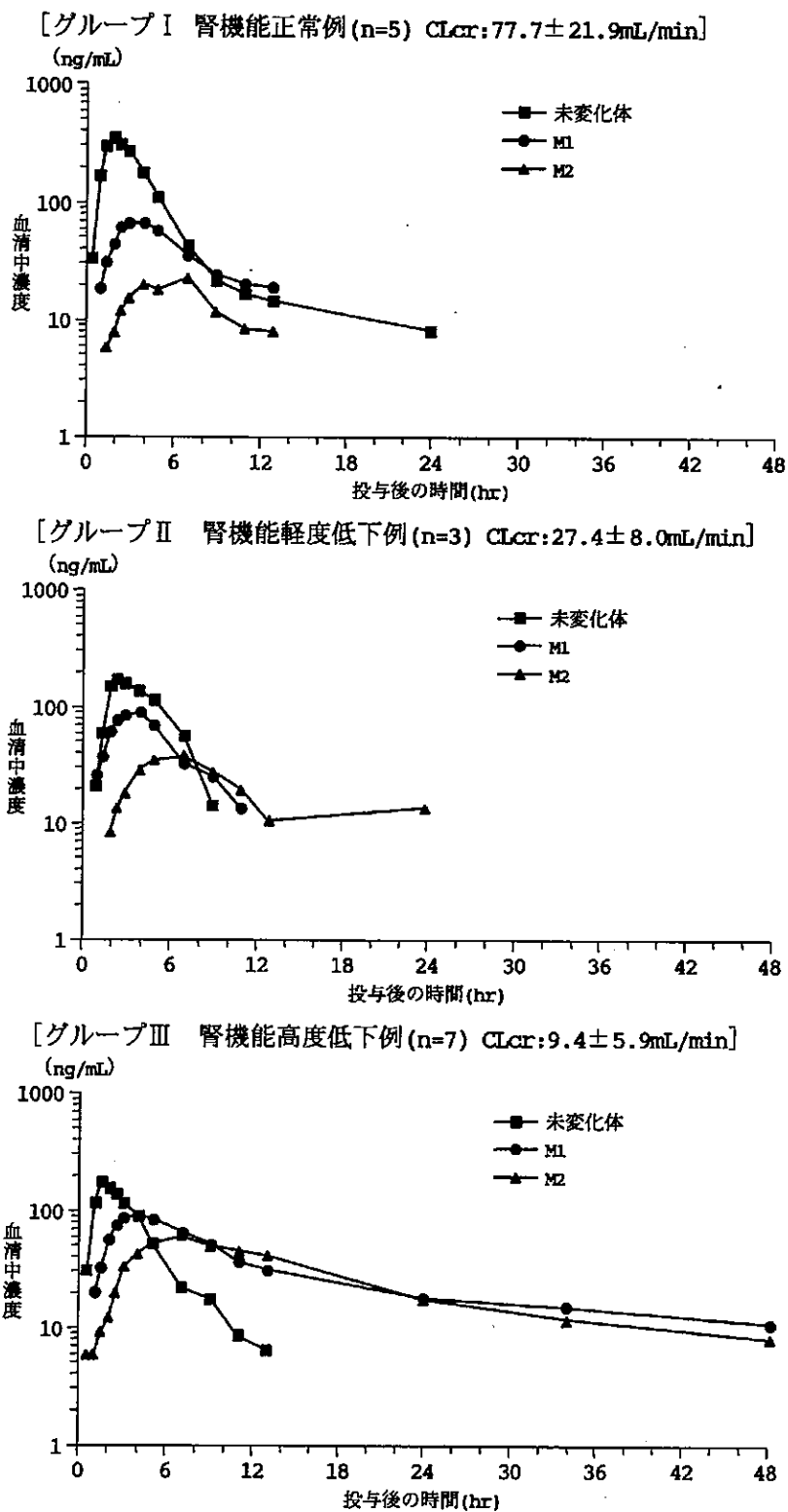
CLcr(mL/min): グループ I (腎機能正常例, n=5) 77.7±21.9 (平均±S.D.)

グループ II (腎機能軽度低下例, n=3) 27.4±8.0

グループ III (腎機能高度低下例, n=7) 9.4±5.9

引用文献

- 1) 加藤隆一 : 臨床薬物動態学, 南江堂 (1992)
- 2) 小田切優樹 : ファーマコキネティクス研究の方法と技術, 日本薬物動態学会 (1993)



図へー16 腎機能正常例及び低下例におけるグリメピリド3mg単回経口投与時の未変化体及び代謝物の平均血清中濃度推移

(3) アスピリンとの相互作用

健常成人男子12例 (外国人) に二重盲検クロスオーバー法にて、アスピリン1g及びプラセボを1日3回5日間反復経口投与した。その4日目にグリメピリド1mg錠を1錠単回経口投与したときの薬物動態学的パラメーターを表へ-20に示した。なお、本治験は本薬とアスピリンの相互作用について安全性及び薬物動態の面から検討することを目的として実施した。一般的にスルホニル尿素剤とアスピリンとを併用すると、アスピリンによる蛋白結合部位からの薬物置換、アスピリンが有する血糖降下作用によるスルホニル尿素剤の血糖降下作用の増強の可能性があると言われて^{3) 4)}いる。また、解熱消炎鎮痛剤であるアスピリンは糖尿病薬と併用して投与される薬剤でもある。これらのことから本薬と、アスピリンとの相互作用を検討した。

アスピリンの併用により、グリメピリドの未変化体のAUCは有意に減少した。一方、血中グルコース濃度にはアスピリン併用による変化は認められなかった。また、安全性に関して本薬に関連すると考えられる異常所見は認められなかった。

表へ-20 アスピリン併用経口投与時における未変化体の薬物動態学的パラメーター

薬 剤	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)	t _{1/2} (hr)	AUC _{0-∞} (ng·hr/mL)
プラセボ+グリメピリド	70.0±18.3	2.0±1.0	3.4±1.7	450±206
アスピリン+グリメピリド	67.0±22.5	1.4±0.7	2.5±0.6	298±101*

* : p < 0.05 (ANOVA)

(平均±S.D., n=12)

引用文献

- 3) 澤田康文 他 : 治療 74 (9), 1945-1962, 1992
- 4) 石井 淳 他 : 日本臨床 44, 465-471, 1986

4. 製剤の生物学的同等性

臨床試験に用いられたグリメピリド錠は無着色錠であるが、申請剤型は着色錠であるので、生物学的同等性を検討することとした。そこで、着色剤の添加量が1%未満(0.03%)であることから、『薬審452号(昭和57年5月31日)(別紙)溶出試験法に関する基準』に従い、溶出試験法により行った。

また、申請剤型である1mg錠及び3mg錠の用量間の生物学的同等性については、健常人を対象とするには投与量が高く、低血糖を起こす恐れがあることから、イヌを用いて検討した。

(1) 着色錠と無着色錠

1) 試験方法

『薬審452号(昭和57年5月31日)(別紙)溶出試験法に関する基準』に従った。

2) 試験成績

グリメピリド1mg錠及び3mg錠ともに、対照薬(無着色錠)と試験薬(着色錠)は生物学的に同等と推定された。

(2) 1mg錠と3mg錠

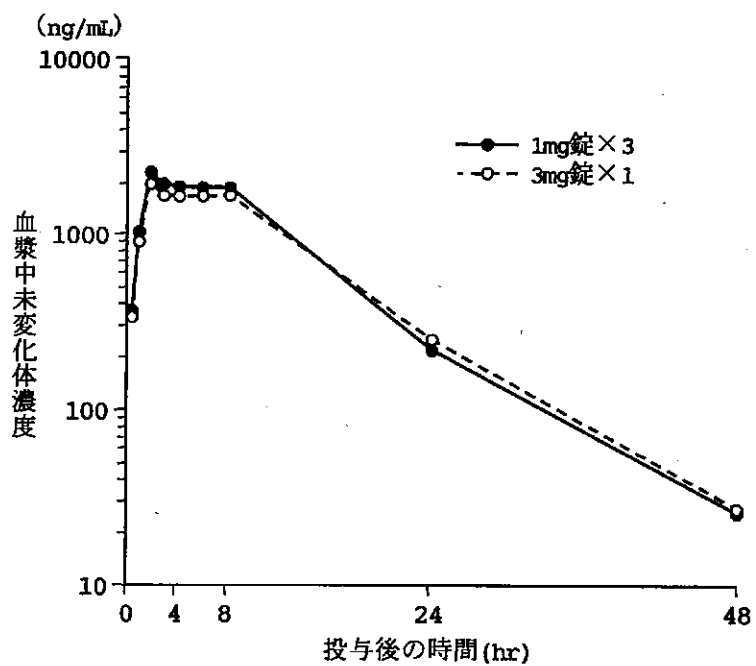
1) 試験方法

イヌ20頭にクロスオーバー法にて、グリメピリド1mg錠(着色錠)3錠及び3mg錠(着色錠)1錠を3週間の休薬期間をおいて単回経口投与した。

2) 試験成績

血漿中未変化体濃度推移を図へー17に示した。なお、基準製剤は1mg錠とした。

AUC_{0-72} 及び C_{max} とも平均値の差は基準製剤の±15%以内であった。また、 AUC_{0-72} において製剤間に有意な差は認められず、試験精度及び差の信頼区間ともに基準を満たすことから、1mg錠と3mg錠は生物学的に同等であると判断された。



図へー17 グリメピリド1mg錠及び3mg錠の生物学的同等性試験における
血漿中未変化体濃度推移 (平均, n=20)