レミマゾラムベシル酸塩
アネレム静注用 50mg

第 2 部 CTD の概要
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.4 薬物動態試験の概要文

ムンディファーマ株式会社

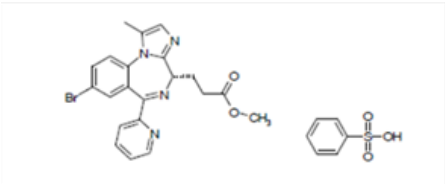
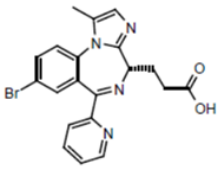
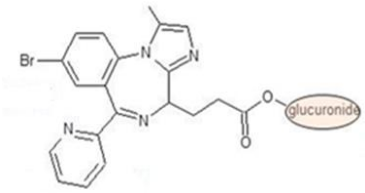
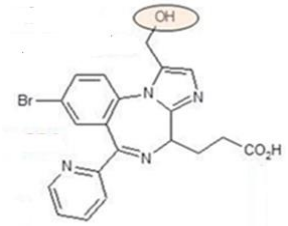
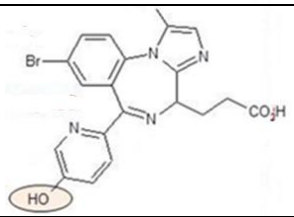
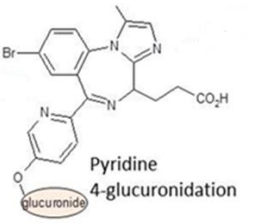
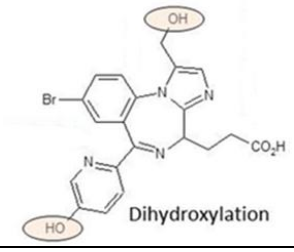
略号一覧表

略語・用語	内容
α_1-AGP	α_1-酸性糖タンパク（α_1-acid glycoprotein）
AUC_{0-t}	t 時間までの濃度-時間曲線下面積（area under the concentration time curve from time 0 to t hours）
$AUC_{0-\infty}$	無限時間までの濃度-時間曲線下面積（area under the concentration time curve from time 0 to infinity）
BCRP	乳がん耐性タンパク質（breast cancer resistance protein）
BSEP	bile salt export pump
BNPP	ビス（4−ニトロフェニル）リン酸ナトリウム塩（bis-β-nitrophenyl phosphate）
Caco2	ヒト結腸癌由来の細胞株（human colonic adenocarcinoma cell line）
CES	カルボキシルエステラーゼ（carboxylesterase）
CHO	チャイニーズハムスター卵巣（chinese hamster ovary）
CL	全身クリアランス（clearance）
CL_{vitro}	代謝クリアランス値（metabolic clearance）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
C_0	投与 0 時間における血漿中濃度（plasma concentration at time 0）
CYP	チトクローム P450（cytochrome P450）
DFP	ジイソプロピルフルオロリン酸（diisopropylfluorophosphate）
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
eq.	等量（equivalents）
f_u	血漿中非結合型分率（unbound fraction in plasma）
HLS9	ヒト肝 S9（human liver fraction）
HSA	ヒト血清アルブミン（human serum albumin）
h	時間（hour）
IC_{50}	50%阻害濃度（50% inhibitory concentration）
λ_z	消失速度定数（elimination constant）
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー（high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry）
LSC	液体シンチレーションカウンター（liquid scintillation counter）
MATE	multidrug and toxin transporter
MDCK	イヌ腎臓尿細管上皮細胞（madin-darby canine kidney strain）
min	分（minutes）
MP	サル血漿中代謝物
MRP	多剤耐性関連蛋白質（multidrug resistance related protein）
MRT	平均滞留時間（mean residential time）
NaF	フッ化ナトリウム、エステラーゼ阻害剤（sodium fluoride, an esterase inhibitor）
NC	計算せず（not calculated）

ND	実施せず／検出せず（not determined/not detected）
NMR	核磁気共鳴（nuclear magnetic resonance）
OAT	有機アニオントランスポーター（organic anion transporter）
OATP	organic anion transporting polypeptide
OCT	organic cation transporter
P-gp	P 糖蛋白質（P-glycoprotein）
PHMB	*p*-ヒドロキシメルクリ安息香酸ナトリウム *p*-hydroxymercuribenzoic acid sodium salt
PK/PD	薬物動態／薬力学（pharmacokinetic/pharmacodynamic）
R_B	血液／血漿中濃度比（blood/plasma ratio）
S.D.	標準偏差（standard deviation）
SD	Sprague Dawley
RB 及び YRB	ラット胆汁中代謝物
RP 及び YRP	ラット血漿中代謝物
SPE	固相抽出（solid phase extraction）
$t_{1/2}$	消失半減期（elimination half-life）
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間（time to reach the maximum concentration）
V_{ss}	分布容積（volume of distribution）

レミマゾラム及び類縁物質一覧表

レミマゾラム及び代謝物の化学名と化学構造式

略称	化学名	化学構造式
レミマゾラムベシル酸塩（レミマゾラム、CNS 7056 besylate、ONO-2745BS、RF7056）	methyl 3-[(4*S*)-8-bromo-1-methyl-6-pyridin-2-yl-4*H*-imidazo[1,2-*a*][1,4]benzodiazepin-4-yl]propanoate monobenzenesulfonate	
主代謝物（CNS 7054、ONO-IN-252、RF7054）	3-[(4S)-8-bromo-1-methyl-6-(pyridin-2-yl)-4H-imidazo[1,2-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]propanoic acid	
代謝物：CNS 7054 のグルクロン酸抱合体［MP2、RB2、（MU2、MF3、RF2）］	glucuronidyl 3-[(4S)-8-bromo-1-methyl-6-(pyridin-2-yl)-4H-imidazo[1,2-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]propanoate	
代謝物：CNS 7054 イミダゾール基の水酸化体［MP4、RP3、RB4、（MU3、MB5、RU4）］	3-[(4S)-8-bromo-1-methylhydoxy-6-(pyridin-2-yl)-4H-imidazo[1,2-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]propanoic acid	
代謝物：CNS 7054 ピリジン環の水酸化体［RP2、RB3、（RF-3、RU3、MF6）］	3-[(4S)-8-bromo-1-methyl-6-(5-hydoxy)-pyridin-2-yl)-4H-imidazo[1,2-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]propanoic acid	
RP2、RB3 のグルクロン酸抱合体［RP1、RB1、（RU1、MU1、MP1）］	3-[(4S)-8-bromo-1-methyl-6-((5-hydroxyglucuronide)-pyridin-2-yl)-4H-imidazo[1,2-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]propanoic acid	
MP4、RP3、RB4 又は RP2、RB3 の水酸化体（MP3、YRP-B、YRB-A）	3-[(4S)-8-bromo-1-methylhydroxy-6-(5-hydoxy)-pyridin-2-yl)-4H-imidazo[1,2-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]propanoic acid	

(　)内の代謝物は保持時間から推定したもの

目次

頁
略号一覧表 2
レミマゾラム及び類縁物質一覧表 4
2.6.4 薬物動態試験の概要文 7
2.6.4.1 まとめ 7
2.6.4.2 分析法 8
2.6.4.2.1 レミマゾラム及び代謝物の定量 8
2.6.4.2.2 デキストラン 40 の定量 13
2.6.4.2.3 ^{14}C 放射能測定 14
2.6.4.3 吸収 15
2.6.4.3.1 経口投与したときのバイオアベイラビリティ 15
2.6.4.3.2 単回投与 15
2.6.4.3.2.1 ラット 15
2.6.4.3.2.2 ウサギ 17
2.6.4.3.2.3 イヌ 18
2.6.4.3.2.4 ブタ 19
2.6.4.3.2.5 サル 22
2.6.4.3.3 反復投与 26
2.6.4.3.3.1 反復投与：急速静注又は短時間静脈内持続投与 26
2.6.4.3.3.1.1 ラットに 28 日間反復急速静注したときのトキシコキネティクス 26
2.6.4.3.3.1.2 サルに 28 日間反復急速静注したときのトキシコキネティクス 26
2.6.4.3.3.2 反復投与：静脈内持続投与 26
2.6.4.3.3.2.1 サルにレミマゾラム 1 及び 5 mg/kg/h を 1 日 24 時間、7 日間静脈内持続投与したときの薬物動態 26
2.6.4.4 分布 29
2.6.4.4.1 ラットに ^{14}C-レミマゾラムを単回急速静注したときの組織内分布 29
2.6.4.4.2 ヒツジにレミマゾラムを単回静脈内投与したときの組織内分布 32
2.6.4.4.3 サルに ^{14}C-レミマゾラムを単回急速静注したときの放射能の組織内分布 32
2.6.4.4.4 乳汁移行 33
2.6.4.4.5 胎盤通過性を含む妊娠ラットにおける組織内分布 34
2.6.4.4.6 血清タンパク結合 36
2.6.4.4.7 血球移行性 37
2.6.4.5 代謝（動物種間の比較） 39
2.6.4.5.1 *In vitro* 代謝 39
2.6.4.5.2 ラットに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの *in vivo* 代謝 40
2.6.4.5.3 サルに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの *in vivo* 代謝 41
2.6.4.5.4 推定代謝経路 42
2.6.4.6 排泄 43
2.6.4.6.1 ラットに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの尿及び糞中排泄 43
2.6.4.6.2 サルに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの尿及び糞中排泄 43

2.6.4.6.3 ラットに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの胆汁中排泄 44
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 45
2.6.4.7.1 チトクローム P450 45
2.6.4.7.2 カルボキシルエステラーゼ 46
2.6.4.7.3 ヒト薬物トランスポーターとの相互作用 47
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 48
2.6.4.8.1 レミマゾラムのヒトにおける代謝クリアランス及び消失半減期の予測 48
2.6.4.9 考察及び結論 51
2.6.4.10 図表 52
2.6.4.11 参考文献 53

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

レミマゾラムの薬物動態（吸収・分布・代謝・排泄・薬物相互作用など）を明らかにするため、*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施した。また、薬物相互作用の検討においては、レミマゾラムと臨床併用の可能性のある薬物との相互作用についても試験を実施し、臨床使用時の薬物相互作用の有無について検討した。

レミマゾラムをウサギに経口投与したときのバイオアベイラビリティは、その高い初回通過効果のため 10%未満であった。

ラット、ウサギ、イヌ、ミニブタ及びサルにレミマゾラムを静脈内投与したとき、大きな分布容積（V_{ss}）がみられ、血漿中消失半減期（$t_{1/2}$）はラットで約 3 分、ウサギで約 46 分、ミニブタで 12～25 分、イヌ約で 64 分及びサルで 42～58 分であった。主代謝物 CNS 7054 は、ラットでは未変化体より約 12 倍高い濃度を示し、イヌでは約 1/28 の濃度を示した。

分布試験から、いずれの組織にも蓄積性は少ないことが示され、メラニン色素を含む眼組織に移行するものの血漿中濃度の消失に伴い同様の推移を示した。また、レミマゾラムはヒト血清と可逆的なタンパク結合（約 92%）をし、ヒト血球には 7.5%～11.7%移行した。

レミマゾラム及び代謝物の胎盤通過性は低く、胎児への持続的な曝露は起きないと考えられた。レミマゾラム及び代謝物は乳汁に移行するが母動物の血漿中濃度の消失と同様の濃度推移を示した。放射能標識体を用いた試験で、ラットでは胆汁を介した糞中排泄、サルでは腎臓を介した尿中排泄が主たる排泄経路であることが示された。

レミマゾラムは P 糖蛋白質（P-gp）、organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1、OATP1B3 及び乳がん耐性タンパク質（BCRP）の基質ではなく、レミマゾラムは P-gp、有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び BCRP を、CNS 7054 は P-gp、OAT1、organic cation transporter （OCT）2、multidrug and toxin transporter （MATE）1、MATE2-K、BCRP 及び bile salt export pump （BSEP）を阻害しなかった。

レミマゾラムは、主にカルボキシルエステラーゼ（CES、主に CES1）によって代謝され、主代謝物 CNS 7054 を経由して、更に加水分解及びグルクロン酸抱合へ至る経路が主要経路と考えられる。ヒトミクロソーム及びチトクローム P450（CYP）発現系を用いた試験で、レミマゾラム及び CNS 7054 は、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 に対する阻害能を示さなかった。また、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する誘導能も示さなかった。

レミフェンタニルは、ヒト肝 S9（HLS9）画分においてレミマゾラムの加水分解を阻害せず、肝臓における CES を介した薬物相互作用はないと考えられた。

ヒト肝ホモジネートを用いた試験の結果、臨床併用の可能性があるエスモロール及びランジオロール（CES の基質）とレミマゾラムの薬物相互作用はみられなかった。

また、CES1 阻害剤であるアトルバスタチンはレミマゾラムに対して意味ある代謝阻害を示さなかったが、強力な CES1 阻害剤であるジルチアゼムはレミマゾラムの代謝を 57%低下させた（HLS9 画分での試験）。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 レミマゾラム及び代謝物の定量

非臨床薬物動態の検討に供したレミマゾラム及び代謝物の分析方法を表 2.6.4-1 に、また、分析対象である生体試料におけるレミマゾラム及び代謝物の安定性データを表 2.6.4-2 に示した。

各動物の生体試料は測定に供するまでの期間中のレミマゾラムのエステラーゼによる分解を防ぐため、測定試料は-80°C で冷凍、かつ安定化剤としてフッ化ナトリウム（NaF）、パラオキソン又はジイソプロピルフルオロリン酸（DFP）を添加した。

レミマゾラム及び代謝物濃度の分析は、固相抽出（SPE）、液液抽出又は除タンパク操作を行った後に液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー（LC/MS/MS）で分析した。

内標準物質として、未変化体（ONO-2745、RF7056 又は CNS 7056 と表記）の測定には D_4-CNS 7056、ONO-IN-268 又はミダゾラムを、代謝物（ONO-IN-252、RF7054 又は CNS 7054 と表記）の測定にはアルプラゾラム、ONO-IN-269、D_4-CNS 7056 又は D_4- CNS 7054 を用いた。

表 2.6.4-1　分析方法の概要

Species	Rat	Pig, minipig	Dog	Rabbit	Monkey
Reports	(01) [redacted] (05) [redacted] (06) [redacted] (07) [redacted] (13) [redacted]	(03) [redacted] (04) [redacted] (10) [redacted] (12) [redacted]	(05) [redacted]	(08) [redacted] (09) [redacted]	(02) [redacted] (11) [redacted]
Method	LC/MS/MS (01, 05, 06, 13) SPE (07) Protein precipitation	LC/MS/MS (03, 04, 10) SPE (12) Protein precipitation	SPE LC/MS/MS	LC/MS/MS (08) Protein precipitation (09) Liquid extraction	SPE LC/MS/MS
Biological matrix	(01) Plasma (DFP) (05, 06, 07, 13) EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon	(03, 04, 12) EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon (10) NaF-Plasma	EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon	(08) NaF-Plasma treated with paraoxon (09) EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon	EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon
Analyte	(01) ONO-2745 (05, 06, 07, 13) CNS 7056	(03, 04, 12) CNS 7056 (10) ONO-2745	CNS 7056	CNS 7056	(02) ONO-2745 (11) CNS 7056
Internal standard (IS)	(01) ONO-IN-268 (05, 06, 07) D_4-CNS 7056 (13) Midazolam	(03, 04) Midazolam (10) ONO-IN-268 (12) D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7056	(02) ONO-IN-268 (11) D_4-CNS 7056
Calibration range (ng/mL)	(01, 05, 06, 13) 2 to 100 (07) 20 to 20000	(03, 04) 2 to 100 (10) 10 to 1000 (12) 20 to 20000	2 to 100	(08) 10 to 10000 (09) 1 to 100	2 to 100
LLOQ (ng/mL) Accuracy Precision	(01, 05, 06, 13) 2 (07) 20 101% to 117% 2.21% to 13.4%	(03, 04) 2 (10) 10 (12) 20 87.2% to 115% 2.3% to 12.2%	2 100% to 107% 2.99% to 7.66%	(08) 10 (09) 1 92.1% to 113% 7.02% to 12.6%	2 101% to 116% 2.79% to 6.5%
QC range (ng/mL)	(01) 2 to 80 (05, 06) 2 to 100 (07) 20 to 20000 (13) 6 to 80	(03, 04) 6 to 80 (10) 10 to 800 (12) 20 to 20000	2 to 100	(08) 10 to 10000 (09) 1-100	(02) 2 to 80 (11) 2 to 100
Between-run accuracy	94.6% to 114%	95.1% to 110%	102% to 110%	92.1% to 105%	98.7% to 116%
Between-run precision	1.27% to 9.0%	2.7% to 9.9%	2.62% to 7.66%	0.5% to 8.60%	2.0% to 6.5%
Within-run accuracy	90.3% to 117%	92.4% to 115%	100% to 107%	92.5% to 114%	97.9% to 116%
Within-run precision	0.664% to 13.4%	1.3% to 12.2%	1.66% to 2.99%	1.02% to 12.6%	0.5% to 4.4%
Analyte	(01) ONO-IN-252 (05, 06, 07, 13) CNS 7054	(03, 04, 12) CNS 7054 (10) ONO-IN-252	CNS 7054	CNS 7054	(02) ONO-IN-252 (11) CNS 7054
IS	(01) ONO-IN-269 (05) D_4-CNS 7056 (06, 07) D_4-CNS 7054 (13) Alprazolam	(03, 04) Alprazolam (10) ONO-IN-269 (12) D_4-CNS 7054	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7054	(02) ONO-IN-269 (11) D_4-CNS 7054
Calibration range (ng/mL)	(01, 05, 06, 13) 10 to 1000 (07) 100 to 100000	(03, 04) 10 to 1000 (10) 100 to 10000 (12) 100 to 100000	10 to 1000	(08) 20 to 20000 (09) 5 to 1000	10 to 1000
LLOQ (ng/mL) Accuracy Precision	(01, 05, 06, 13) 10 (07) 100 90.3% to 118% 2.8% to 13.5%	(03, 04) 10 (10, 12) 100 100% to 116% 1.6% to 8.7%	10 83.7% to 97.3% 12.2% to 16.6%	(08) 20 (09) 5 89.4% to 117% 7.48% to 13.3%	10 93.3% to 102% 1.7% to 7.8%

表 2.6.4-1　分析方法の概要（続き）

Species	Rat	Pig, minipig	Dog	Rabbit	Monkey
QC range (ng/mL)	(01) 10 to 800 (05, 06) 10 to 1000 (07) 100 to 100000 (13) 30 to 800	(03, 04) 30 to 800 (10) 100 to 8000 (12) 100 to 100000	10 to 1000	(08) 20 to 20000 (09) 5 to 1000	(02) 10 to 800 (11) 10 to 1000
Between-run accuracy	93.3% to 108%	96.9% to 110%	90.6% to 100%	92.6% to 115%	93.4% to 104%
Between-run precision	1.27% to 14.2%	1.5% to 7.2%	9.93% to 16.6%	2.11% to 13.3%	2.9% to 7.8%
Within-run accuracy	88.9% to 118%	93.2% to 116%	83.7% to 95.2%	89.4% to 117%	92.5% to 108%
Within-run precision	1.01% to 16.5%	0.3% to 13.8%	6.99% to 12.2%	1.31% to 13.2%	1.6% to 7.0%
Dilution integrity Accuracy Precision	**P**: (01) 500 ng/mL diluted 50 to 250-fold 102% to 104% 5.1% to 6.5% (05) 500 ng/mL diluted 10-fold 97.7% to 98.4% 2.71% to 3.14% (06) 500 ng/mL diluted 10-fold 107% to 108% 1.63% to 1.74% (07) 150000 ng/mL diluted 10-fold 91.6% to 100% 3.0% (13) 800 ng/mL 108% 11.6% **M**: (01) 5000 ng/mL diluted 50 to 250-fold 92.0% to 100% 6.1% to 7.4% (05) 5000 ng/mL diluted 10-fold 91.8% to 94.9% 8.00% to 8.37% (06) 5000 ng/mL diluted 10-fold 108% to 110% 0.998% to 2.25% (07) 750000 ng/mL diluted 10-fold 88.0% to 94.9% 2.6% (13) 1500 ng/mL 102% 9.4%	**P**: (03) 800 ng/mL 104% Precision not reported (04) 800 ng/mL diluted 20-fold 115% 3.68% (10) 10000 ng/mL diluted 20-fold 101% 1.7% (12) 150000 ng/mL diluted 10-fold 92.6% to 96.0% 1.5% **M**: (10) 100000 ng/mL diluted 20-fold 112% 0.9% (12) 750000 ng/mL diluted 10-fold 83.8% to 86.4% 1.2%	**P**: (05) 500 ng/mL diluted 10-fold 97.0% to 99.9% 3.45% to 3.66% **M**: (05) 5000 ng/mL diluted 10-fold 85.2% to 92.8% 11.5% to 12.2%	**P**: (08) 75000 ng/mL diluted 10-fold 99.0% to 107% 2.6% (09) 500 ng/mL diluted 10-fold 100% to 102% 3.51% to 3.95% **M**: (08) 150000 ng/mL diluted 10-fold 105% to 112% 2.5% (09) 5000 ng/mL diluted 10-fold 107% to 111% 1.88 to 3.49%	**P**: (02) 500 ng/mL diluted 50 to 250-fold 100% to 107% 3.2% to 7.2% (11) 500 ng/mL diluted 10-fold 104% to 105% 2.30% to 3.17% **M**: (02) 5000 ng/mL diluted 50 to 250-fold 99.0% to 102% 1.4% to 2.2% (11) 5000 ng/mL diluted 10-fold, 104% to 106% 2.28% to 2.48%

P = unchanged compound, M = metabolite, LLOQ = limit of quantification

表 2.6.4-2　未変化体及び代謝物の安定性

Species	Rat	Pig, minipig	Dog	Rabbit	Monkey
Reports	(01) [redacted] (05) [redacted] (06) [redacted] (07) [redacted] (13) [redacted]	(03) [redacted] (04) [redacted] (10) [redacted] (12) [redacted]	(05) [redacted]	(08) [redacted] (09) [redacted]	(02) [redacted] (11) [redacted]
Method	LC/MS/MS (01, 05, 06, 13) SPE (07) Protein precipitation	LC/MS/MS (03, 04, 10) SPE (12) Protein precipitation	SPE LC/MS/MS	LC/MS/MS (8) Protein precipitation (09) Liquid extraction	SPE LC/MS/MS
Biological matrix	(01) Plasma (DFP) (05, 06, 07, 13) EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon	(03, 04, 12) EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon, (10) NaF-Plasma	EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon	(08) NaF-Plasma, treated with paraoxon (09) EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon	EDTA/NaF -Plasma, treated with paraoxon
Analyte	(01) ONO-2745 (05, 06, 07, 13) CNS 7056	(03, 04, 12) CNS 7056 (10) ONO-2745	CNS 7056	CNS 7056	(02) ONO-2745 (11) CNS 7056
Internal standard (IS)	(01) ONO-IN-268 (05, 06, 07) D_4-CNS 7056 (13) Midazolam	(03, 04) Midazolam (10) ONO-IN-268 (12) D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7056	(02) ONO-IN-268 (11) D_4-CNS 7056
Long term stability of the stock solution and working solutions (Observed change %)	(01) Confirmed up to 27 days at 4°C **IS P**: 7.4% **IS M**: 1.4% (05) Confirmed up to 1 month at 4°C in the dark **P+M**: not reported	(10) Confirmed up to 26 h at room temp. **P**: -1.3% to 3.6% **M**: -4.3% to 0.9% Confirmed up to 46 days at -20°C **P**: -3.1% to -0.2% **M**: -3.3% to -1.0%	(05) Confirmed up to 1 month at 4°C in the dark **P+M**: not reported	Not reported	(02) Confirmed up to 25 h at room temperature **P**: -0.9% **IS P**: -4.1% **M**: 1.2% **IS M**: 5.6%

表 2.6.4-2 未変化体及び代謝物の安定性（続き）

Species	Rat	Pig, minipig	Dog	Rabbit	Monkey
Post-preparative stability (Observed change %)	(01) Confirmed up to 50 h at 4°C **P**: -4.0% to 3.1% **M:** -2.8% to 2.3% (05) Confirmed up to 24 h at 4°C **P**: -3.4% to 13% **M:** -9.0% to 3% (06) Confirmed up to 24 h at 4°C **P**: 8% to 15% **M:** 5% to 9% (07) Confirmed up to 99 h at room temperature **P**: -6.0% to 16.8% **M:** -5.3% to 6.5%	(10) Confirmed up to 72 h at 4°C **P**: -7.3% to 12.7% **M**: 4.7% to 6.4% (12) Confirmed up to 129 h at room temperature **P**: -3.3% to 18.3% **M**: -9.1% to 1.3%	(05) Confirmed up to 24 h at 4°C **P**: 7% to 12% **M**: -11.7 to -0.7%	(08) Confirmed up to 315 h at room temperature **P**: -10.2% to 5.5% **M**: -10.8% to 20.0% (09) Confirmed up to 96 h at 4°C **P**: -8.9% to 0% **M**: -5.8% to 5%	(02) Confirmed up to 71 h at 4°C **P**: -5.0% to 6.6% **M**: -0.5% to 3.4% (11) Confirmed up to 24 h at 4°C **P**: 5% to 19% **M**: 2% to 7%
Short term stability in biological matrix (Observed change %)	(01) Confirmed up to 98 min on ice **P**: 0.5% to 1.4% **M**: -7.3% to 7.6% (05) Confirmed up to 24 h at room temperature **P**: -0.803% to 0.424% **M**: -12.7% to 4.15% (06) Confirmed up to 24 h at room temperature **P**: -6.72% to -4.30% **M**: -1.41 to -0.422% (07) Confirmed up to 7 h at room temperature **P**: -2.3% to -0.7% **M**: 5.5% to 11.3%	(10) Confirmed up to 24 h at room temperature **P**: -2.5% to 5.0% **M**: 5.9% to 11.4% (13) Confirmed up to 8 h at room temperature **P**: 2.1% to 3.9% **M**: 0.4% to 13.6%	(05) Confirmed up to 24 h at room temperature **P**: -2.67% to -2.58% **M**: -9.39% to 2.83%	(08) Confirmed up to 4 h at room temperature **P**: -5.2% to -0.4% **M**: -3.1% to 0.2% (09) Confirmed up to 24 h at room temperature **P**: -1.86% to 5.70% **M**: -3.76% to -0.470%	(11) Confirmed up to 24 h at room temperature **P**: -4.48% to -1.07% **M**: 4.30% to 5.04%

表 2.6.4-2 未変化体及び代謝物の安定性（続き）

Species	Rat	Pig, minipig	Dog	Rabbit	Monkey
Long term stability in biological matrix (Observed change %)	(01) Confirmed up to 41 days at ≤-70°C (deproteinized sample) **P**: 5 ng/mL -12.7% 80 ng/mL -7.2% **M**: 25 ng/mL -11.3% 800 ng/mL -10.8% (06) Confirmed up to 1 month at -20°C **P**: 1.00% to 1.51% **M**: 1.27% to 3.83% (07) Confirmed up to 171 days at -20°C **P**: 0.9% to 6.3% **M**: 1.5% to 4.3% Confirmed up to 171 days at -80°C **P**: 0.3% to 9.0% **M**: -1.4% to -0.9%	(10) Confirmed up to 35 or 37 days at -20°C **P**: -5.9% to 3.0% **M**: -1.5% to 3.1% (12) Confirmed up to 91 days at -20°C **P**: -11.0% to -4.0% **M**: -4.8% to 0.2% Confirmed up to 91 days at -80°C **P**: -13.7% to -8.2% **M**: -4.0% to 0.8%	Not reported	(08) Confirmed up to 96 days at -20°C **P**: -6.1% to 0.6% **M**: 5.0% to 7.6% Confirmed up to 96 days at -80°C **P**: -3.2% to -0.2% **M**: 1.0% to 10.2% (09) Confirmed up to 1 month at -20°C **P**: 1.67% to 4.84% **M**: 1.85% to 2.73%	(11) Confirmed up to 46 days at -20°C **P**: -2.98 to -2.41% **M**: -2.94% to 3.18%
Freeze and thaw stability (Observed change %)	(05) -20°C, 3 cycles **P**: -1.10% to 1.79% **M**: -14.8% to -8.69% (06) -20°C, 3 cycles **P**: -3.42% to -3.33% **M:** -2.19% to 0.127% (07) -20°C, 3 cycles **P**: 2.7% to 5.8% **M**: -0.6% to 0% -80°C, 3 cycles **P**: 2.4% to 8.4% **M**: -0.8% to 3%	(10) -20°C, 3 cycles **P**: 3.5% to 10.9% **M**: 5.0% to 9.2% (12) -20°C, 3 cycles **P**: 7.6% to 12.0% **M**: 10.5% to 11.8% -80°C, 3 cycles **P**: 7.3% to 9.4% **M**: 8.9% to 9.6%	(05) -20°C, 3 cycles **P**: -0.504% to 4.00% **M**: -10.3% to -9.27%	(08) -20°C, 3 cycles **P**: 0.4% to 3.2% **M**: -4.8% to -0.9% -80°C, 3 cycles **P**: -0.6% to 3.8% **M**: -3.4% to 0.8% (09) -20°C, 3 cycles **P**: -1.14% to 3.15% **M**: -2.27% to 0.448%	(11) -20°C, 3 cycles **P**: -1.93% to -0.576% **M**: -0.458% to 0.572%

P = unchanged compound, M = metabolite

2.6.4.2.2 デキストラン 40 の定量

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.1.13

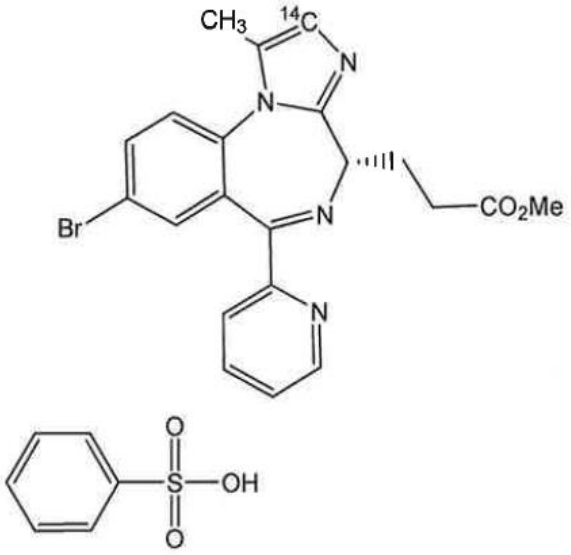
添加物であるデキストラン 40 のラット血漿中濃度の分析には enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA）法を用いた。定量下限は 0.8 mg/mL であった。ラット血漿中デキストラン 40 は室温及び 4°C ともに 4 時間まで安定であった。また、-80°C では 136 日まで、凍結融解も 3 回まで安定であった。本定量法は、2.6.6.8.6 項の添加物の毒性試験の 3 試験（[redacted]）において用いられている。

2.6.4.2.3 ^{14}C 放射能測定

^{14}C 標識体

図 2.6.4-1 に レミマゾラムの ^{14}C 標識位置を示した。

図 2.6.4-1 ^{14}C 標識位置



血漿、乳汁、糞等

可溶化剤 Soluene-350 で溶解し、液体シンチレーションカクテルを加え、液体シンチレーションカウンター（LSC）を用いて測定した。

尿及び胆汁

液体シンチレーションカクテルを加え、LSC を用いて測定した。

全血、眼球及び大腿骨

Soluene-350 で溶解後脱色し、液体シンチレーションカクテルを加え、LSC を用いて測定した。又は、燃焼し生成した $^{14}CO_2$ を吸収させ、LSC を用いて測定した。

固形物

ホモジネート後又は直接 Soluene-350 に溶解後、液体シンチレーションカクテルを加え、LSC を用いて測定した。又は、燃焼し生成した $^{14}CO_2$ を吸収させ液体シンチレーションカクテルを加え、LSC を用いて測定した。

屍体は、水酸化ナトリウム及びトルエンで溶解し、液体シンチレーションカクテルを加え LSC を用いて測定した。

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 経口投与したときのバイオアベイラビリティ

試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.2.3

雌ウサギ（ニュージーランド白色）に、レミマゾラムを単回経口投与したときのバイオアベイラビリティを検討した。休薬期間を少なくとも 3 日としたクロスオーバー試験を実施した。高い初回通過効果のため主代謝物 CNS 7054 が生成し、経口バイオアベイラビリティは 10%未満と低かった。

2.6.4.3.2 単回投与

2.6.4.3.2.1 ラット

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.2.1

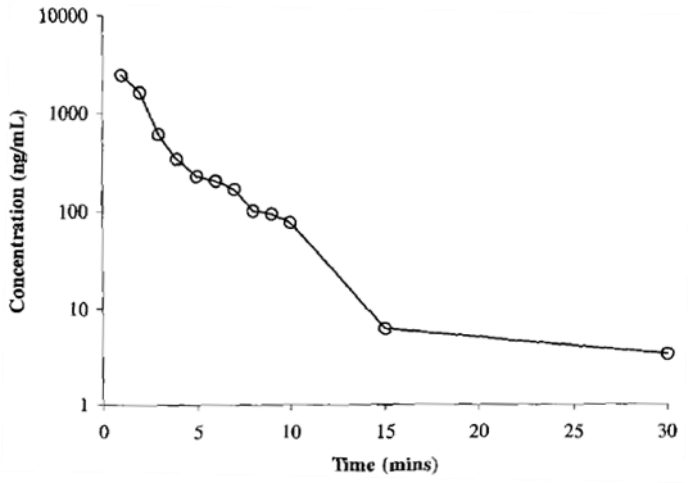
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.2.2

雄 Sprague Dawley（SD）ラットにレミマゾラム 25 mg/kg を急速静注したときのレミマゾラム及び主代謝物 CNS 7054 の血漿中平均濃度推移を図 2.6.4-2 及び図 2.6.4-3 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4-3 に示した。

レミマゾラムの最高血漿中濃度（C_{max}）は投与後 1 分（最初の試料採取時点）にみられ、2451 ± 1206 ng/mL［平均値 ± 標準偏差（S.D.）、n = 4］であった。その後、$t_{1/2}$ 約 3 分（3 時点から算出、n = 1）で減衰し、投与後 6 時間に 2.49 ng/mL を示した後、定量下限未満となった。全身クリアランス（CL）は 4838 mL/min/kg と高く、V_{ss} は 3845 mL/kg とラットの体液量（668 mL/kg）[1)]に比べ非常に大きかった。無限時間までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）は 5365 ng•min/mL（n = 1）であった。ただ、C_{max} 及び t 時間までの濃度-時間曲線下面積（AUC_{0-t}）以外のパラメータは 1 動物のみの値であり、信頼性は低い。

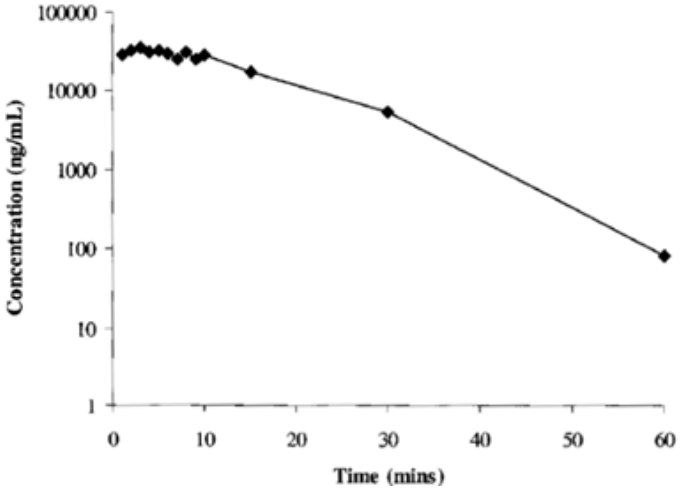
CNS 7054 の投与後 1 分の血漿中濃度は 28284 ± 8618 ng/mL であり、未変化体より約 12 倍高い濃度を示した。投与後 4 分（中央値）で C_{max}（44428 ± 15905 ng/mL）となり、その後 $t_{1/2}$ 27.2 ± 2.17 分で減衰し、投与後 240 分でも定量下限以上（81.0 ng/mL）であった。$AUC_{0-\infty}$ は 1599326 ± 466407 ng•min/mL であった。

図 2.6.4-2 雄ラットにレミマゾラム 25 mg/kg を急速静注したときのレミマゾラムの平均血漿中濃度推移（平均値、n = 4）



Data from [redacted]

図 2.6.4-3　雄ラットにレミマゾラム 25 mg/kg を急速静注したときの CNS 7054 の平均血漿中濃度推移（平均値、n = 4）



Data from [redacted]

表 2.6.4-3　雄ラットにレミマゾラム 25 mg/kg を急速静注したときのレミマゾラム及び CNS 7054 の薬物動態パラメータ（平均値 ± S.D.、n = 4）

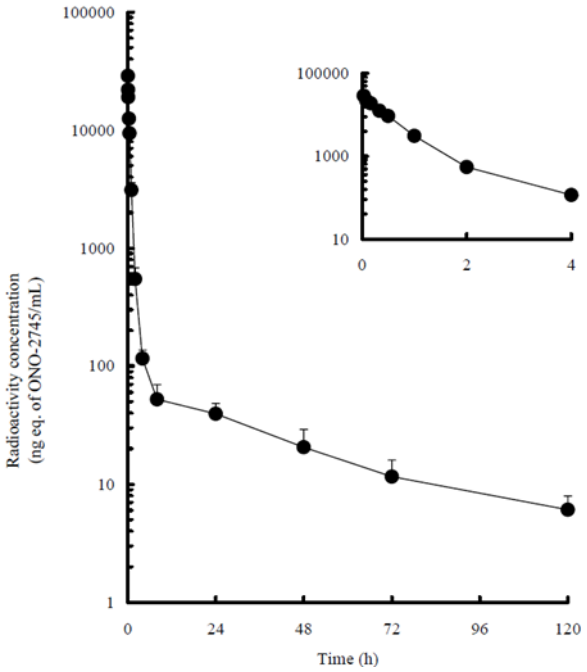
Pharmacokinetic parameters	Remimazolam	CNS 7054
C_0 or C_{max}[a] (ng/mL)	4763 ± 2769	44428 ± 15905
t_{max}[b] (min)	NA	4.00
AUC_{0-t} (ng•min/mL)	9362 ± 2864	1596033 ± 464477
$AUC_{0-\infty}$ (ng•min/mL)	5365[c]	1599326 ± 466407
λ_z (1/min)	0.229[c]	0.0256 ± 0.00203
$t_{1/2}$ (min)	3.03[c]	27.2 ± 2.17
MRT (min)	0.795[c]	34.1 ± 0.802
CL (mL/min/kg)	4838[c]	NA
V_{ss} (mL/kg)	3845[c]	NA

a: Remimazolam = C_0, CNS 7054 = C_{max}, b: median, c: n = 1
NA = not applicable
Data from [redacted]

雄 SD ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg（10 MBq/kg）を急速静注したときの血漿中平均放射能濃度推移を図 2.6.4-4 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4-4 に示した。

投与後 2 分（最初の試料採取時点）の放射能濃度は 28800 ± 2900 ng eq./mL（平均値 ± S.D.、n = 4）で、その後 $t_{1/2}$ 39 ± 4 時間で減少した。$AUC_{0-\infty}$は 16100 ± 1900 ng eq.•h/mL であった。

図 2.6.4-4　雄ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を急速静注したときの血漿中平均放射能濃度推移（平均値 + S.D.、n = 4）



ONO-2745 = Remimazolam
Data from [redacted]

表 2.6.4-4　雄ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を急速静注したときの血漿中放射能の薬物動態パラメータ（平均値 ± S.D.、n = 4）

Pharmacokinetic parameters	
$t_{1/2}$ (h) [a]	39 ± 4
$AUC_{0\text{-}120}$（ng eq. •h/mL）	15800 ± 1800
$AUC_{0\text{-}\infty}$（ng eq. •h/mL）	16100 ± 1900

a: Calculated by data of 8, 24 (or 48) - 120 h
Data from [redacted]

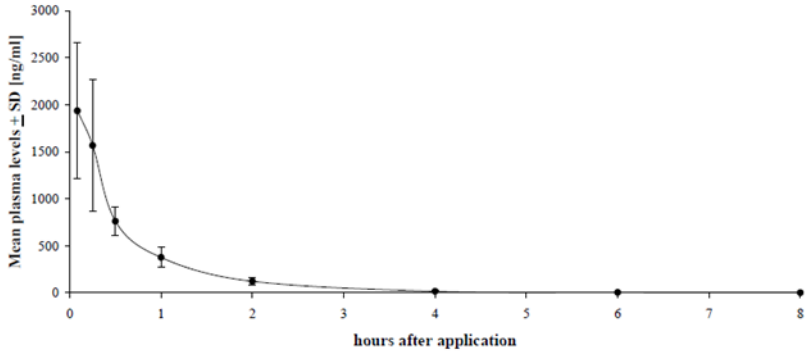
2.6.4.3.2.2　ウサギ

試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.2.3

雌ウサギ（ニュージーランド白色）にレミマゾラム 5 mg/kg を 4 分以上かけて静脈内投与したときのレミマゾラム及び CNS 7054 の血漿中平均濃度推移を図 2.6.4-5 及び図 2.6.4-6 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4-5 に示した。

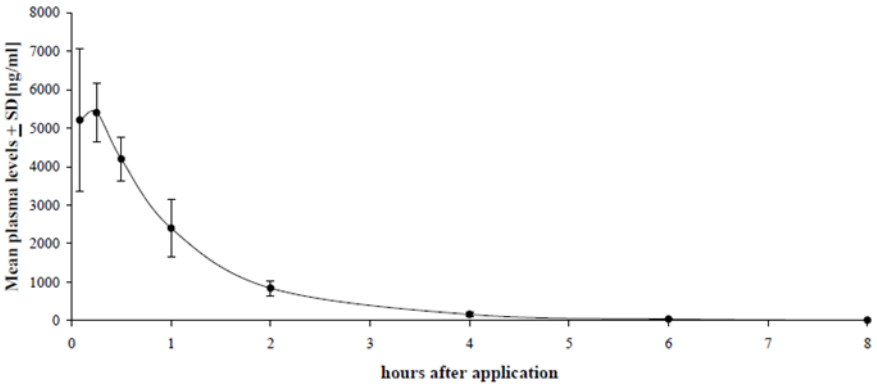
レミマゾラムは投与開始後 0.11 ± 0.07 時間（6.6 分）で、C_{max} 2149 ± 738 ng/mL［平均値 ± S.D.、n = 6、投与 0 時間における血漿中濃度（C_0）=2372 ± 1115 ng/mL］となり、その後 $t_{1/2}$ 0.77 ± 0.13 時間（46.2 分）で減少した。$AUC_{0\text{-}\infty}$は 1450 ± 285 ng•h/mL、V_{ss} は 3883 ± 612 mL/kg、CL は 3552 ± 640 mL/h/kg であった。CNS 7054 は、0.21 ± 0.16 時間（12.6 分）で C_{max}（5965 ± 1148 ng/mL）に達し、その後 $t_{1/2}$ 0.91 ± 0.09 時間（54.6 分）で減少した。$AUC_{0\text{-}\infty}$は 7051 ± 865 ng•h/mL であった。

図 2.6.4-5　雌ウサギにレミマゾラム 5 mg/kg を静脈内投与（4 分間）したときの
レミマゾラム血漿中濃度推移（平均値 ± S.D.、n = 6）



Data from [redacted]

図 2.6.4-6　雌ウサギにレミマゾラム 5 mg/kg を静脈内投与（4 分間）したときの
CNS 7054 血漿中濃度推移（平均値 ± S.D.、n = 6）



Data from [redacted]

表 2.6.4-5　雌ウサギにレミマゾラム 5 mg/kg を静脈内投与（4 分間）したときの
レミマゾラム及び CNS 7054 の薬物動態パラメータ（平均値 ± S.D.、n = 6）

	t_{max} (hr)	C_0 (ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng•h/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (ng•h/mL)	λz (1/h)	$t_{1/2}$ (h)	V_{ss} (mL/kg)	CL (mL/h/kg)
Remimazolam	0.11 ± 0.07	2372 ± 1115	2149 ± 738	1447 ± 284	1450 ± 285	0.92 ± 0.14	0.77 ± 0.13	3883 ± 612	3552 ± 640
CNS 7054	0.21 ± 0.16	5494 ± 2256	5965 ± 1148	7038 ± 866	7051 ± 865	0.77 ± 0.08	0.91 ± 0.09	NC	NC

NC = not calculated
Data from [redacted]

2.6.4.3.2.3　　イヌ

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.2.4

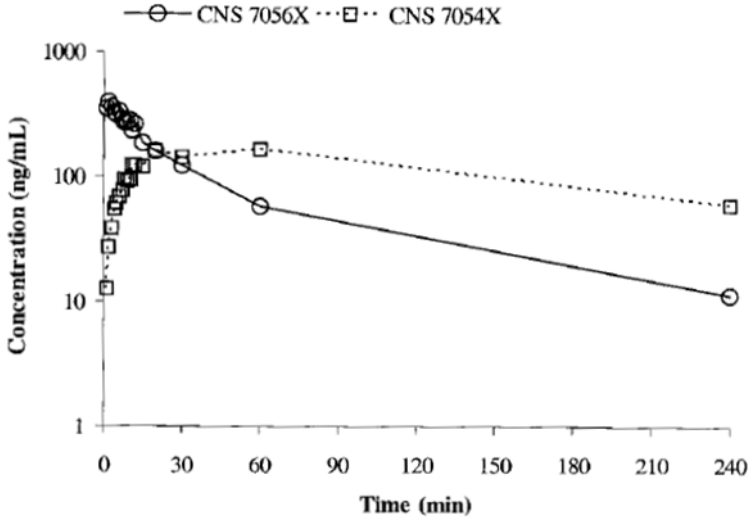
雄イヌ（ビーグル）にレミマゾラム 0.25 mg/kg を急速静注したときのレミマゾラム及び CNS 7054 の血漿中平均濃度推移を図 2.6.4-7 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4-6 に示した。

レミマゾラムの C_{max} は投与後 2 分で、394 ± 62.1 ng/mL（平均値 ± S.D.、n = 4）であった。なお、C_0 は 361 ± 51.0 ng/mL（幾何平均 358 ng/mL）であった。その後 $t_{1/2}$ 63.8 ± 9.86 分で減少し、投与後 6 時間（11.2 ± 1.94 ng/mL）まで定量された。CL は 14.4 ± 1.89 mL/min/kg であり、イヌの肝血流量（30.9 mL/min/kg）[1)]と比較すると中程度であった。V_{ss} は 941 ± 110 mL/kg とイヌの体液量（604 mL/kg）[1)]に比べ大きく、レミマゾラムが組織に広く分布していることが示された。$AUC_{0-\infty}$

は 17532 ± 2278 ng•min/mL であった。

CNS 7054 の投与後 1 分の濃度は 12.6 ± 8.64 ng/mL であり、未変化体の約 1/28 の濃度を示した。C_{max} は投与後 8 分で 93.6 ± 19.5 ng/mL となり、その後 $t_{1/2}$ 153 分（n = 1）で減少し、投与後 240 分でも定量下限以上（59.7 ± 33.1 ng/mL）であった。$AUC_{0-\infty}$は 34363 ng•min/mL であった（n = 1）。

図 2.6.4-7　雄イヌにレミマゾラム 0.25 mg/kg を急速静注したときのレミマゾラム及び CNS 7054 の平均血漿中濃度推移（平均値、n = 4）



CNS 7056X = Remimazolam
Data from [redacted]

表 2.6.4-6　雄イヌにレミマゾラム 0.25 mg/kg を急速静注したときのレミマゾラム及び CNS 7054 の薬物動態パラメータ（平均値 ± S.D.、n = 4）

Pharmacokinetic parameters	Remimazolam	CNS 7054
C_0 or C_{max} (ng/mL) [a]	361 ± 51.0	188 ± 53.7
t_{max} (min) [b]	NA	38.0
AUC_{0-t} (ng·min/mL)	15390 ± 2780	28035 ± 10171
$AUC_{0-\infty}$ (ng·min/mL)	17532 ± 2278	34363[c]
$AUMC_{0-\infty}$ (ng·min^2/mL)	1150254 ± 198578	7258809[c]
λ_z (1/min)	0.0110 ± 0.00165	0.00453[c]
$t_{1/2}$ (min)	63.8 ± 9.86	153[c]
MRT (min)	65.4 ± 5.52	211[c]
CL (mL/min/kg)	14.4 ± 1.89	NA
V_{ss} (mL/kg)	941 ± 110	NA

a: Remimazolam = C_0, CNS 7054 = C_{max}, b: median, c: n = 1
NA = not applicable
Data from [redacted]

2.6.4.3.2.4　　ブタ

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.2.5

雄ミニブタにレミマゾラム 100、300 及び 1000 µg/kg を急速静注したとき、血漿中レミマゾラムは $t_{1/2}$ 12～25 分で速やかに減少した。CNS 7054 の C_{max} は投与後 10～20 分に認められ、その後 $t_{1/2}$ 78～150 分で減少した（図 2.6.4-8 及び図 2.6.4-9）。レミマゾラムの $AUC_{0-\infty}$は投与量の増加と共に増大し、レミマゾラムの薬物動態は線形であると考えられた（表 2.6.4-7）。

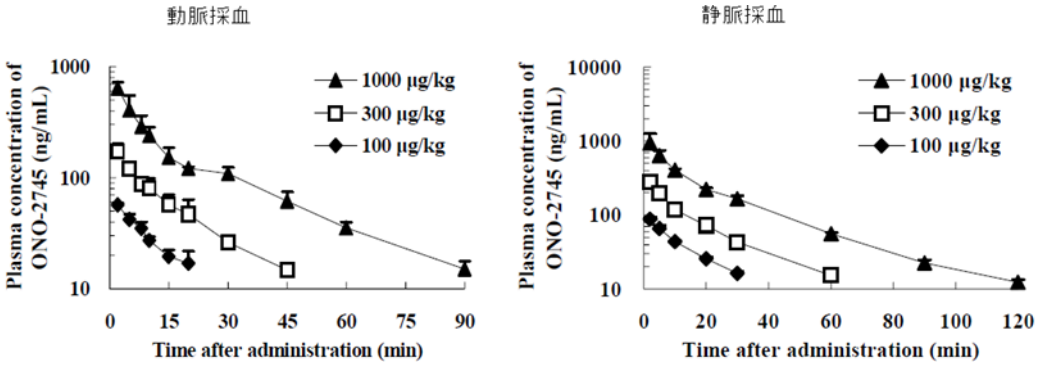
また、雄ミニブタにレミマゾラムを 10、30 及び 100 µg/kg/min で 4 時間静脈内持続投与したとき、投与終了後のレミマゾラムの $t_{1/2}$ は 20～47 分、CNS 7054 は 87～100 分であった。（図 2.6.4-10、

図 2.6.4-11、表 2.6.4-9 及び表 2.6.4-10)。投与開始 4 時間後のレミマゾラムの血漿中濃度（C_{4h}）及び $AUC_{0-\infty}$は投与量の増加と共に増大し、レミマゾラムの薬物動態は線形であると考えられた（表 2.6.4-9)。

急速静注終了後のレミマゾラムの血漿中濃度は、動脈血より静脈血の方が高かったが、CNS 7054 は動脈血と静脈血で差がみられなかった。

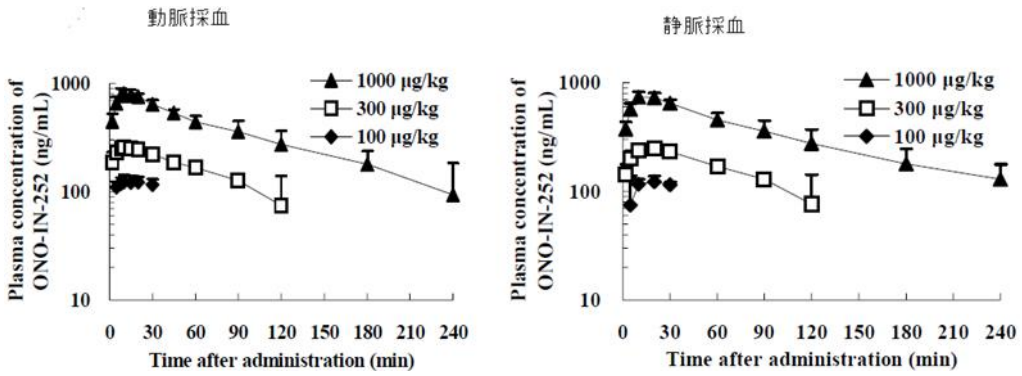
親油性の高い化合物は、通常、静脈血より動脈血中濃度が低値を示すと報告されており [2),3)]、本試験の結果と一致していた。

図 2.6.4-8　雄ミニブタにレミマゾラム 100、300 及び 1000 μg/kg を急速静注したときのレミマゾラムの血漿中濃度推移（平均値 + S.D.、n = 3）



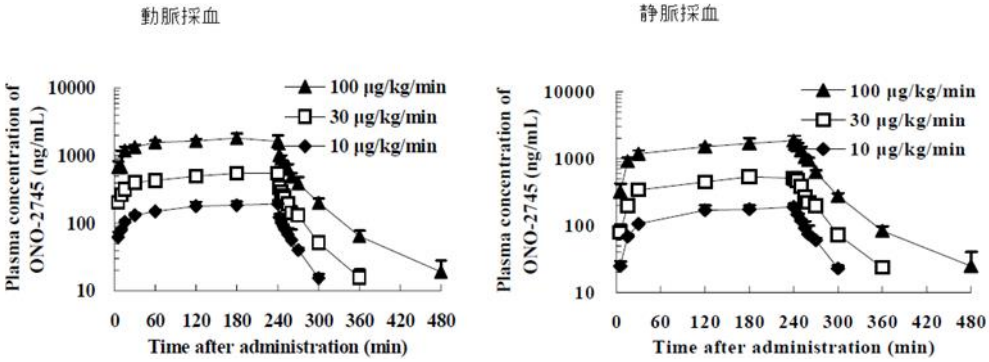
Data from [redacted]

図 2.6.4-9　雄ミニブタにレミマゾラム 100、300 及び 1000 μg/kg を急速静注したときの CNS 7054 の血漿中濃度推移（平均値 + S.D.、n = 3）



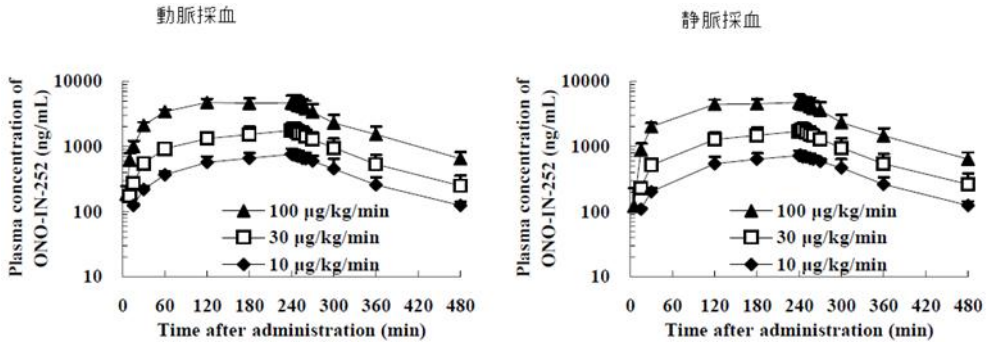
Data from [redacted]

図 2.6.4-10　雄ミニブタにレミマゾラム 10、30 及び 100 μg/kg/min を 4 時間静脈内持続投与したときのレミマゾラムの血漿中濃度推移（平均値 + S.D.、n = 3）



Data from [redacted]

図 2.6.4-11　雄ミニブタにレミマゾラム 10、30 及び 100 μg/kg/min を 4 時間静脈内持続投与したときの CNS 7054 の血漿中濃度推移（平均値 + S.D.、n = 3）



Data from [redacted]

表 2.6.4-7　雄ミニブタにレミマゾラム 100、300 及び 1000 μg/kg を単回急速静脈内投与したときのレミマゾラムの薬物動態パラメータ（平均値 ± S.D.、n = 3）

	Dose (μg/kg)	$AUC_{0-\infty}$ (μg•min/mL)	$t_{1/2}$ (min)	V_{ss} (L/kg)	CL (mL/min/kg)
動脈血	100	0.950 ± 0.209	12 ± 4	1.68 ± 0.09	109 ± 24
	300	3.02 ± 0.56	19 ± 5	2.11 ± 0.33	102 ± 19
	1000	10.7 ± 1.5	22 ± 1[a]	2.30 ± 0.34	94.5 ± 13.8
静脈血	100	1.58 ± 0.09	14 ± 1	1.16 ± 0.07	63.4 ± 3.8
	300	4.92 ± 0.38	18 ± 3	1.30 ± 0.22	61.2 ± 4.9
	1000	17.6 ± 2.1	25 ± 2[a,b]	1.45 ± 0.28	57.2 ± 6.9

a：$p < 0.05$ compared to100 μg/kg group（Tukey test）
b：$p < 0.05$ compared to300 μg/kg group（Tukey test）
Data from [redacted]

表 2.6.4-8　雄ミニブタにレミマゾラム 100、300 及び 1000 μg/kg を急速静注したときの CNS 7054 の薬物動態パラメータ（平均値 ± S.D.、n = 3）

	Dose (μg/kg)	C_{max} (ng/mL)	t_{max}[a] [range] (min)	$t_{1/2}$ (min)	AUC_{0-t} (μg•min/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μg•min/mL)
動脈血	100	125 ± 17	15 [10 - 20]	140[b]	4.46 ± 2.68	NC
	300	260 ± 27	10 [8.0 - 15]	82 ± 10	19.5 ± 3.7	NC
	1000	815 ± 90	10 [8.0 - 10]	100 ± 20	78.3 ± 18.2	99.9 ± 25.1
静脈血	100	123 ± 15	20 [20 - 20]	150[c]	4.16 ± 2.49	NC
	300	248 ± 33	20 [20 - 20]	78 ± 10	19.6 ± 4.0	NC
	1000	748 ± 73	10 [10 - 20]	96 ± 18	80.6 ± 17.0	99.2 ± 27.1

NC = not calculated
a: Median, b: n = 2、c: n = 1
Data from [redacted]

表 2.6.4-9　雄ミニブタにレミマゾラム 10、30 及び 100 μg/kg/min を 4 時間静脈内持続投与したときのレミマゾラムの薬物動態パラメータ（平均値 ± S.D.、n = 3）

	Dose (μg/kg/min)	C_{4h} (ng/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μg•min/mL)	$t_{1/2}$ (min)	V_{ss} (L/kg)	CL (mL/min/kg)
動脈血	10	195 ± 22	42.6 ± 4.7	20 ± 1	1.37 ± 0.12	56.7 ± 5.9
	30	547 ± 49	125 ± 11	29 ± 3	1.48 ± 0.04	57.7 ± 5.0
	100	1620 ± 390	420 ± 39	47 ± 15[a]	1.51 ± 0.18	57.5 ± 5.6
静脈血	10	189 ± 23	40.6 ± 4.8	22 ± 3	2.15 ± 0.30	59.6 ± 6.6
	30	511 ± 101	120 ± 9	41 ± 22	2.41 ± 0.30	60.2 ± 4.8
	100	1850 ± 350	412 ± 42	45 ± 3	2.40 ± 0.26	58.6 ± 6.3

a: $p < 0.05$ compared to 10 μg/kg/min group（Tukey test）
C_{4h} = concentration at 4 h post dose
Data from [redacted]

表 2.6.4-10　雄ミニブタにレミマゾラム 10、30 及び 100 μg/kg/min を 4 時間静脈内持続投与したときの CNS 7054 の薬物動態パラメータ（平均値 ± S.D.、n = 3）

	Dose (μg/kg/min)	C_{4h} (ng/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (μg•min/mL)	$t_{1/2}$ (min)
動脈血	10	762 ± 164	218 ± 48	100 ± 20
	30	1780 ± 500	488 ± 140	96 ± 11
	100	4670 ± 1380	1460 ± 310	100 ± 20
静脈血	10	730 ± 127	211 ± 46	94 ± 6
	30	1710 ± 460	476 ± 148	87 ± 14
	100	4730 ± 1550	1410 ± 310	99 ± 12

C_{4h} = concentration at 4 h post dose
Data from [redacted]

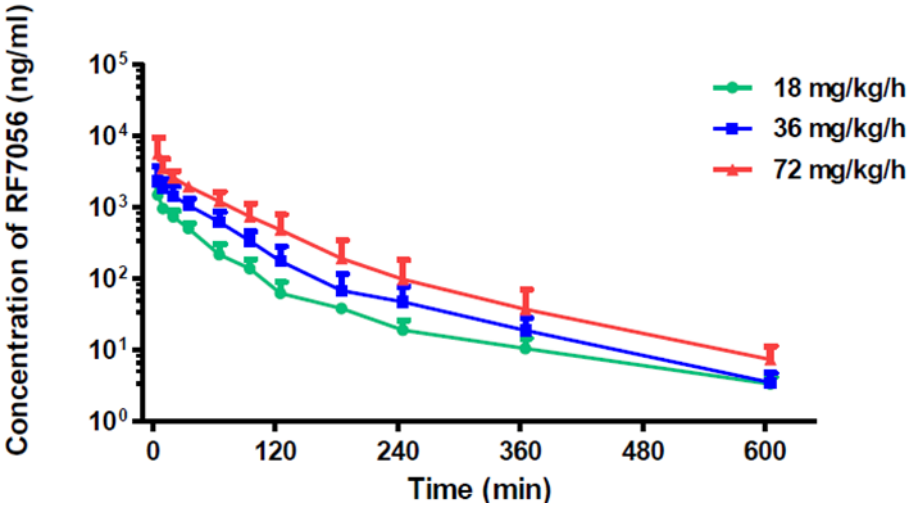
2.6.4.3.2.5　サル

試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.2.6
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.2.8

カニクイザル（各用量 雌雄各 3）にレミマゾラム 18、36 及び 72 mg/kg/h を 5 分間かけて静脈内持続投与したときのレミマゾラム及び CNS 7054 の血漿中平均濃度推移を図 2.6.4-12 及び図 2.6.4-13 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4-11 及び表 2.6.4-12 に示した（[redacted]）。

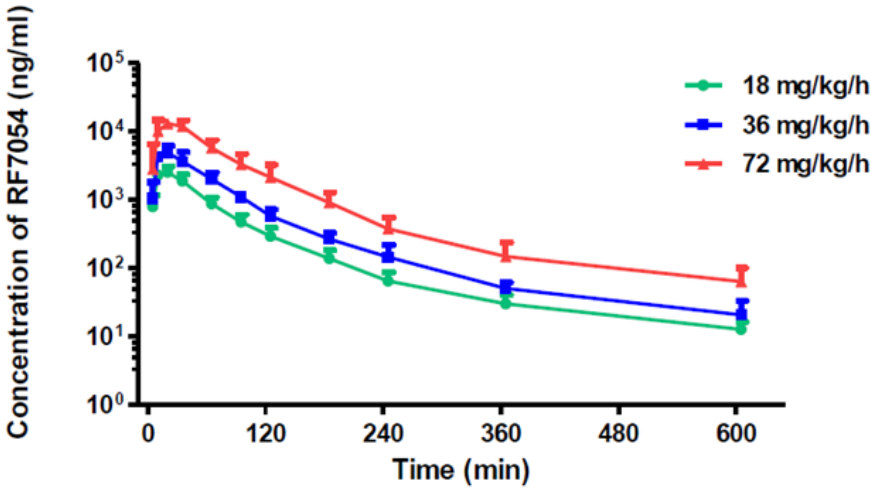
レミマゾラムは投与開始後 5.0～6.7 分で C_{max}（18 mg/kg/h : 1608.51 ± 730.40 ng/mL、36 mg/kg/h : 2749.18 ± 1364.19 ng/mL、72 mg/kg/h：6433.20 ± 2307.95 ng/mL、平均値 ± S.D.）が認められ、その後 $t_{1/2}$ 42～58 分で減少した。CNS 7054 は投与開始後 16.7～20.8 分で C_{max}（18 mg/kg/h : 2596.86 ± 472.66 ng/mL、36 mg/kg/h : 5123.39 ± 972.78 ng/mL、72 mg/kg/h : 14265.56 ± 2921.74 ng/mL）に達し、その後 $t_{1/2}$ 57～62 分で減少した。薬物動態に性差はみられなかった。

図 2.6.4-12　カニクイザルにレミマゾラム 18、36 及び 72 mg/kg/h を 5 分間静脈内持続投与したときのレミマゾラムの血漿中濃度推移［平均値 + S.D.、n = 6（雌雄各 3）］



RF7056 = Remimazolam
Data from [redacted]

図 2.6.4-13　カニクイザルにレミマゾラム 18、36 及び 72 mg/kg/h を 5 分間静脈内持続投与したときの CNS 7054 の血漿中濃度推移［平均値 + S.D.、n = 6（雌雄各 3）］



RF7056 = Remimazolam
Data from [redacted]

表 2.6.4-11　カニクイザルにレミマゾラム 18、36 及び 72 mg/kg/h を 5 分間静脈内持続投与したときのレミマゾラムの薬物動態パラメータ［平均値 + S.D.、n = 6（雌雄各 3）］

Dose (mg/kg/h)	$t_{1/2}$ (min)	t_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}605min}$ (ng•min/mL)	$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng•min/mL)	V_{ss} (mL/kg)	CL (mL/min/kg)	MRT (min)	$AUC_{0\text{-}365min}$ (ng•min/mL)
18	42.20 ± 1.66	5.0 ± 0.0	1608.51 ± 730.40	55577.0 ± 10287.9	55995.4 ± 10325.1	1684.4 ± 357.7	27.65 ± 5.63	57.88 ± 10.78	54820.4 ± 10562.4
36	51.23 ± 7.43	5.8 ± 2.0	2749.18 ± 1364.19	121822.5 ± 33294.5	122272.7 ± 33191.5	1905.7 ± 525.4	25.94 ± 6.28	64.23 ± 13.39	119595.7 ± 33044.1
72	58.04 ± 6.16	6.7 ± 2.6	6433.20 ± 2307.95	252564.9 ± 45882.4	253322.5 ± 45955.8	2015.9 ± 282.6	24.27 ± 3.87	68.70 ± 16.43	246885.1 ± 43277.5

Data from [redacted]

表 2.6.4-12　カニクイザルにレミマゾラム 18、36 及び 72 mg/kg/h を 5 分間静脈内持続投与したときの CNS 7054 の薬物動態パラメータ［平均値 + S.D.、n = 6（雌雄各 3）］

Dose (mg/kg/h)	$t_{1/2}$ (min)	t_{max} (min)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}605min}$ (ng•min/mL)	$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng•min/mL)	MRT (min)	$AUC_{0\text{-}365in}$ (ng•min/mL)
18	62.43 ± 15.91	16.7 ± 5.2	2596.86 ± 472.66	173759.2 ± 29835.7	175027.9 ± 29667.9	72.32 ± 10.50	169102.2 ± 29496.2
36	57.42 ± 4.91	18.3 ± 4.1	5123.39 ± 972.78	351756.7 ± 59727.6	353672.0 ± 60076.0	73.73 ± 6.18	NA
72	56.83 ± 0.77	20.8 ± 8.0	14265.56 ± 2921.74	1054928.0 ± 200631.8	1060628.8 ± 202497.1	75.53 ± 10.76	NA

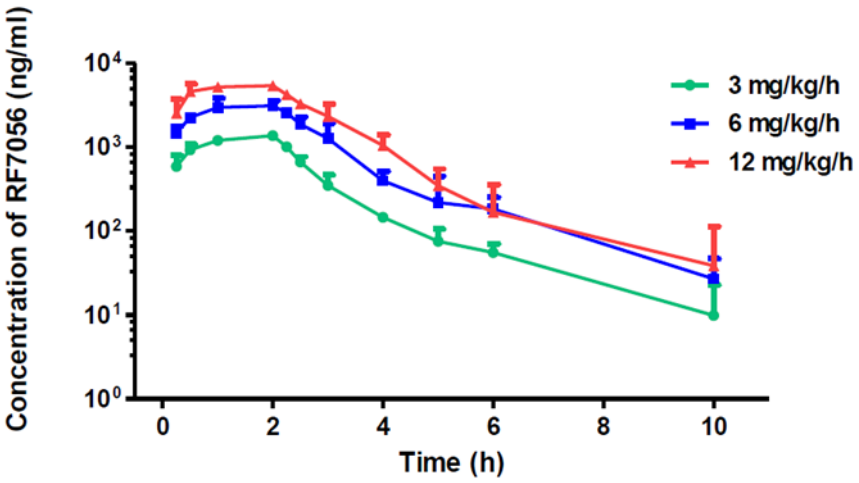
NA: not applicable
Data from [redacted]

また、雌雄カニクイザルにレミマゾラム 3、6 及び 12 mg/kg/h を 2 時間静脈内持続投与したときのレミマゾラム及び CNS 7054 の血漿中平均濃度推移を図 2.6.4-14 及び図 2.6.4-15 に、薬物動態パラメータを表 2.6.4-13 及び表 2.6.4-14 に示した。

レミマゾラムは投与開始後 1.7～1.8 時間で C_{max}（3 mg/kg/h：1388.07 ± 91.53 ng/mL、6 mg/kg/h：3381.16 ± 839.70 ng/mL、12 mg/kg/h：5605.04 ± 431.68 ng/mL）に達し、その後 $t_{1/2}$ 約 1.3 時間で減少した。CNS 7054 は投与後 2 時間で C_{max}（3 mg/kg/h：3730.08 ± 305.68 ng/mL、6 mg/kg/h：8630.90 ± 2398.08 ng/mL、12 mg/kg/h：26728.41 ± 4575.24 ng/mL）に達し、その後 $t_{1/2}$ 1.4～1.6 時間で減少した。

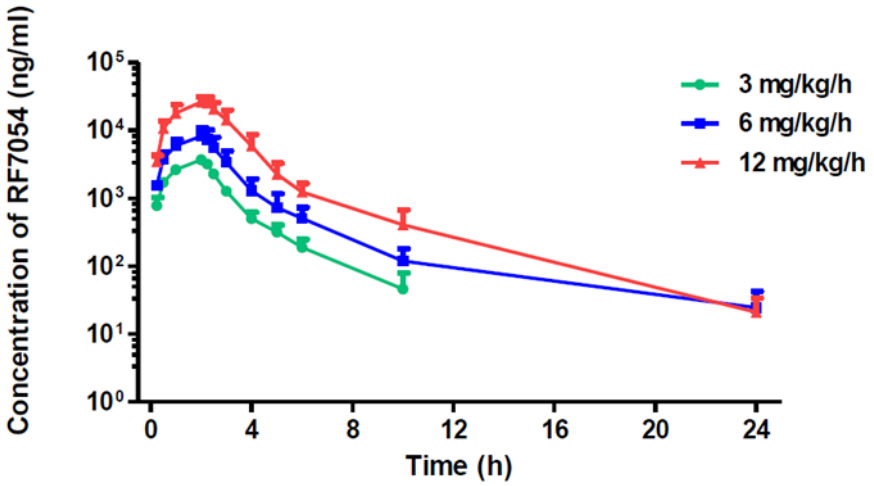
5 分間及び 2 時間静脈内持続投与後のレミマゾラム及び CNS 7054 の C_{max} 及び AUC はほぼ投与量に比例して増加した。

図 2.6.4-14 カニクイザルにレミマゾラム 3、6 及び 12 mg/kg/h を 2 時間静脈内持続投与したときのレミマゾラムの平均血漿中濃度推移［平均値 + S.D.、n = 6（雌雄各 3）］



RF7056 = Remimazolam
Data from [redacted]

図 2.6.4-15　カニクイザルにレミマゾラム 3、6 及び 12 mg/kg/h を 2 時間静脈内持続投与したときの CNS 7054 の平均血漿中濃度推移［平均値 + S.D.、n = 6（雌雄各 3）］



RF7056 = Remimazolam
Data from [redacted]

表 2.6.4-13　カニクイザルにレミマゾラム 3、6 及び 12 mg/kg/h を 2 時間静脈内持続投与したときのレミマゾラムの薬物動態パラメータ［平均値 + S.D.、n = 6（雌雄各 3）］

Dose (mg/kg/h)	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng•h/mL)	V_{ss} (mL/kg)	CL (mL/h/kg)	MRT (h)
3	1.34 ± 0.16	1.8 ± 0.4	1388.07 ± 91.53	3453.7 ± 254.3	3480.2 ± 252.1	3362.2 ± 524.6	1731.42 ± 122.33	1.02 ± 0.11
6	1.30 ± 0.07	1.8 ± 0.4	3381.16 ± 839.70	9122.2 ± 1713.6	9180.8 ± 1746.9	2514.6 ± 385.5	1343.27 ± 231.66	1.14 ± 0.07
12	1.31 ± 0.24	1.7 ± 0.5	5605.04 ± 431.68	16053.4 ± 1651.7	16172.5 ± 1719.3	2820.7 ± 532.8	1497.63 ± 154.85	1.07 ± 0.26

Data from [redacted]

表 2.6.4-14　カニクイザルにレミマゾラム 3、6 及び 12 mg/kg/h を 2 時間静脈内持続投与したときの CNS 7054 の薬物動態パラメータ［平均値 + S.D.、n = 6（雌雄各 3）］

Dose (mg/kg/h)	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng•h/mL)	$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng•h/mL)	MRT (h)
3	1.63 ± 0.17	2.0 ± 0.0	3730.08 ± 305.68	9242.0 ± 842.8	9372.5 ± 880.3	2.33 ± 0.10
6	1.51 ± 0.11	2.0 ± 0.1	8630.90 ± 2398.08	22926.0 ± 5933.3	23078.2 ± 5920.0	2.63 ± 0.26
12	1.37 ± 0.11	2.0 ± 0.1	26728.41 ± 4575.24	77183.8 ± 15790.7	77230.6 ± 15796.9	1.81 ± 0.20

Data from [redacted]

また、カニクイザル（各用量 雄 4）にレミマゾラム 1.5、2.0 及び 2.5 mL/kg/h を 9 時間かけて静脈内持続投与した（SBL015-149）。投与液濃度は 0.5 mg/mL とし、2.5 mL/kg/h 投与では投与液濃度 1.0 mg/mL も実施した（総投与量は 6.75、9.0、11.25 及び 22.5 mg/kg）。レミマゾラムの C_{max} はそれぞれ 450、594、886 及び 2180 ng/mL であった。また $AUC_{0\text{-}24h}$ は 3980、5380、7390 及び 18600 ng•h/mL であった。CNS 7054 の C_{max} はそれぞれ 954、1290、1650 及び 4450 ng/mL で、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 9790、13200、18000 及び 43700 ng•h/mL であった。レミマゾラム及び CNS 7054 ともに、6.75 及び 9.0 mg/kg では投与量に比例した曝露量の増加がみられたが、それ以上の投与量では投与量比以上に曝露が増加する傾向がみられた。

2.6.4.3.3 反復投与

2.6.4.3.3.1 反復投与：急速静注又は短時間静脈内持続投与

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.2.2
試験番号[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.2.1

2.6.4.3.3.1.1 ラットに 28 日間反復急速静注したときのトキシコキネティクス

雌雄ラット（SD）にレミマゾラム 10、20 及び 30 mg/kg/day を単回及び 1 日 1 回 4 週間反復急速静注したときのレミマゾラム及び CNS 7054 のトキシコキネティクスを検討した（表 2.6.6-4）。

レミマゾラム 10 mg/kg/day を単回急速静注したときの、血漿中レミマゾラム濃度は全て定量下限未満であった。試験全体を通して、雌雄ラットに高用量を単回又は反復急速静注したとき、レミマゾラムは投与後 5 又は 10 分までのみ測定可能であった（[redacted]）。そのため、C_{max} 以外の薬物動態パラメータは算出できなかった。

一方、CNS 7054 の血漿中濃度は投与後 12 時間まで測定可能であった。CNS 7054 の C_{max} は投与量（10～30 mg/kg/day）に比例して増加した。血漿中濃度は $t_{1/2}$ 約 1～2 時間で減少した。

Day 1 での CNS 7054 全身曝露量に性差はみられなかった。しかし、反復急速静注したときの CNS 7054 の曝露量は、雌より雄で大きかった。

2.6.4.3.3.1.2 サルに 28 日間反復急速静注したときのトキシコキネティクス

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.2.7

カニクイザルにレミマゾラム 5、10 及び 20 mg/kg を 1 日 1 回 4 週間反復急速静注したときの単回及び反復投与後（Week 4）のレミマゾラム及び CNS 7054 のトキシコキネティクスを検討した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.-5 に示した。

血漿中レミマゾラムは、雌雄とも投与後 6 時間から 12 時間まで測定可能であった。また、CNS 7054 は最終試料採取時間である投与後 12 時間まで測定可能であった。レミマゾラム及び CNS 7054 の見かけの $t_{1/2}$ はそれぞれ 0.62～1.02 時間及び 1.32～1.57 時間であった。最高投与量群での CNS 7054 の $t_{1/2}$ は 3.70～3.80 時間（$t_{1/2\ 0\text{-}24h}$）と長かった。最高投与量以外では濃度が低く、真の $t_{1/2}$ の算出ができなかったと考えられる。

5～20 mg/kg/day の投与量において、Day 1 でのレミマゾラム及び CNS 7054 の曝露量（$AUC_{0\text{-}12h}$）増加は投与量に比例していた。また、いずれも短い $t_{1/2}$ を示すことから、明らかな蓄積性は 4 週間にわたりみられなかった。レミマゾラム及び CNS 7054 の全身曝露量にはともに性差はみられなかった。

2.6.4.3.3.2 反復投与：静脈内持続投与

2.6.4.3.3.2.1 サルにレミマゾラム 1 及び 5 mg/kg/h を 1 日 24 時間、7 日間静脈内持続投与したときの薬物動態

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.2.7

雌カニクイザル（3～5 歳）にレミマゾラム 1 又は 5 mg/kg/h（各群雌 2 例）を後大静脈に留置したカテーテルを介して 1 日 24 時間、7 日間静脈内持続投与した。投与速度はいずれも 2 mL/kg/h とし、1 日当たりの総投与量はそれぞれ 24 及び 120 mg/kg とした。最終投与翌日まで継時的に採血し、血漿中レミマゾラム並びに CNS 7054 濃度を測定した。

表 2.6.4-15 及び 表 2.6.4-16 に測定結果を示した。

血漿中レミマゾラム濃度は、1 mg/kg/h では投与開始後 12 時間以降、5 mg/kg/h では投与開始後

1 時間以降、投与終了までほぼ一定濃度で推移し、7 日間持続投与中に血漿中レミマゾラムの上昇はみられなかった。投与終了後、血漿中レミマゾラムは速やかに減少した。CNS 7054 の血漿中濃度も投与開始 6 又は 12 時間以降、投与終了までほぼ一定で推移し、投与終了後は 5 mg/kg/h で一過性の上昇が認められたが、その後は速やかに低下した。

レミマゾラムに対する CNS 7054 の血漿中濃度比は投与期間を通じて大きな変動は認められず、レミマゾラムの CL は投与期間中に低下しないと考えられた。

表 2.6.4-15　カニクイザルにレミマゾラム 1 mg/kg/h（24 mg/kg）を 7 日間静脈内持続投与したときのレミマゾラム及び CNS 7054 の血漿中濃度（雌 2/group、ng/mL）

Analyte	Animal No.	Time after the start of dosing (h)														Time after the end of dosing (h)						
		Pre	0.5	1	3	6	12	24	36	48	72	96	120	144	168	0.17	0.5	1	3	6	12	24
Remimazolam	TR1F02	ND	120	191	250	252	335	341	323	371	392	323	344	384	204	113	64.3	38.4	7.56	4.50	2.96	3.05
	TR1F03	ND	108	136	195	232	251	288	274	266	259	275	339	316	329	184	119	68.9	18.6	7.31	4.66	4.93
	Mean	0.00	114	164	223	242	293	315	299	319	326	299	342	350	267	149	91.7	53.7	13.1	5.91	3.81	3.99
CNS 7054	TR1F02	ND	109	456	590	773	929	871	1020	837	899	1100	1140	1020	882	1050	1210	1040	189	96.1	63.3	38.9
	TR1F03	ND	102	220	424	559	556	826	599	707	549	682	795	817	774	715	725	401	260	77.1	38.5	54.7
	Mean	0.00	106	338	507	666	743	849	810	772	724	891	968	919	828	883	968	721	225	86.6	50.9	46.8

Data from [redacted]

表 2.6.4-16　カニクイザルにレミマゾラム 5 mg/kg/h（120 mg/kg）を 7 日間静脈内持続投与したときのレミマゾラム及び CNS 7054 の血漿中濃度（雌 2/group、ng/mL）

Analyte	Animal No.	Time after the start of dosing (h)														Time after the end of dosing (h)						
		Pre	0.5	1	3	6	12	24	36	48	72	96	120	144	168	0.17	0.5	1	3	6	12	24
Remimazolam	TR2F01	ND	779	1470	861	1450	1170	1280	1190	1380	1380	1150	1150	1170	1390	742	391	166	30.7	19.2	13.1	10.7
	TR2F02	ND	1010	1400	1700	1460	2760	1570	1630	1540	1580	1730	979	1060	1140	980	500	361	271	261	318	251
	Mean	0.00	895	1440	1280	1460	1970	1430	1410	1460	1480	1440	1060	1120	1270	861	446	264	151	140	166	131
CNS 7054	TR2F01	ND	985	4790	4800	3580	5460	5270	5600	7380	8060	6700	6310	7340	5580	9270	9920	8220	1560	785	483	290
	TR2F02	ND	1070	2680	4430	4090	7110	5800	5090	6420	4070	5900	3630	2350	3130	4290	4460	3290	1390	970	843	668
	Mean	0.00	1030	3740	4620	3840	6290	5540	5350	6900	6070	6300	4970	4850	4360	6780	7190	5760	1480	878	663	479

Data from [redacted]

2.6.4.4 分布

レミマゾラムの組織内分布は、ラット、サルに放射能標識レミマゾラムを、ヒツジに非標識レミマゾラムをそれぞれ静脈内投与し､投与後の各組織への移行並びに経時推移の特性を検討した。

また、ラットを用いた乳汁中移行、胎盤通過性（胎児移行）、*in vitro* タンパク結合率並びに血球移行性を検討した。

2.6.4.4.1 ラットに ^{14}C-レミマゾラムを単回急速静注したときの組織内分布

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.3.1

雄ラット（SD、非絶食）に ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静注したとき、投与後 5 分では腎臓で最も放射能が高く、次に肝臓と十二指腸であった。他の組織内放射能濃度は血漿より低値を示した。投与後 8 時間では、盲腸及び大腸で高濃度の放射能が認められ、膀胱、肝臓、小腸などでも血中濃度を上回っていた、また、投与後 8 時間以降で、精嚢、大腿骨、胸腺及び骨格筋中放射能の $t_{1/2}$ は 94～260 時間であり、血漿中放射能（$t_{1/2}$ 37 時間）より緩徐であった。他の組織の放射能は、血漿中放射能と同程度あるいは短い $t_{1/2}$ で消失・推移した（表 2.6.4-17）。

表 2.6.4-17　雄ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静注したときの放射能の組織分布（平均値 ± S.D.、n = 3）

Tissue	Radioactivity concentration（ng eq./g or mL）					$t_{1/2\beta}$[a] (h)
	5 min	1 h	8 h	24 h	72 h	
Plasma	23700 ± 3400 [1.00]	2690 ± 1600 [1.00]	41.4 ± 8.3 [1.00]	13.1 ± 1.9 [1.00]	5.38 ± 0.46 [1.00]	37
Blood	15600 ± 2400 [0.66]	1730 ± 1080 [0.64]	38.2 ± 6.0 [0.92]	15.8 ± 2.6 [1.21]	9.61 ± 1.15 [1.79]	67
Cerbrum	942 ± 69 [0.04]	59.8 ± 25.1 [0.02]	4.61 ± 0.42 [0.11]	ND [NC]	ND [NC]	NC
Cerebellum	854 ± 153 [0.04]	60.2 ± 23.8 [0.02]	5.44 ± 0.54 [0.13]	2.17 ± 0.10 [0.17]	1.20 ± 1.04 [0.22]	56
Pituitary gland	4750 ± 830 [0.20]	731 ± 597 [0.27]	ND [NC]	ND [NC]	ND [NC]	NC
Spinal cord	1410 ± 90 [0.06]	88.7 ± 46.1 [0.03]	6.37 ± 0.68 [0.15]	ND [NC]	ND [NC]	NC
Eyeball	1910 ± 210 [0.08]	347 ± 95 [0.13]	13.8 ± 0.4 [0.33]	5.26 ± 0.56 [0.40]	2.51 ± 0.36 [0.47]	45
Harderian gland	5750 ± 390 [0.24]	360 ± 211 [0.13]	40.2 ± 4.2 [0.97]	21.2 ± 3.2 [1.62]	9.35 ± 0.66 [1.74]	41
Thyroid gland	6810 ± 2670 [0.29]	909 ± 198 [0.34]	24.0 ± 22.3 [0.58]	ND [NC]	ND [NC]	NC
Mandibular gland	5840 ± 560 [0.25]	573 ± 357 [0.21]	35.5 ± 5.3 [0.86]	16.2 ± 1.1 [1.24]	7.45 ± 2.34 [1.38]	43
Thymus	4520 ± 260 [0.19]	329 ± 190 [0.12]	23.6 ± 2.7 [0.57]	13.1 ± 1.9 [1.00]	9.23 ± 0.86 [1.72]	95
Heart	7610 ± 770 [0.32]	764 ± 448 [0.28]	25.9 ± 3.5 [0.63]	10.9 ± 2.9 [0.83]	4.92 ± 0.66 [0.91]	42
Lung	10500 ± 900 [0.44]	1070 ± 560 [0.40]	36.6 ± 4.7 [0.88]	18.6 ± 1.8 [1.42]	11.5 ± 0.9 [2.14]	69
Liver	48700 ± 9300 [2.05]	6900 ± 3130 [2.57]	270 ± 41 [6.52]	71.0 ± 14.0 [5.42]	23.2 ± 2.1 [4.31]	30
Kidney	79500 ± 5500 [3.35]	10400 ± 4300 [3.87]	200 ± 45 [4.83]	42.6 ± 4.7 [3.25]	17.5 ± 0.8 [3.25]	37
Adrenal gland	9310 ± 450 [0.39]	653 ± 303 [0.24]	37.2 ± 9.0 [0.90]	17.4 ± 3.3 [1.33]	ND [NC]	NC
Spleen	5020 ± 550 [0.21]	488 ± 284 [0.18]	32.2 ± 1.9 [0.78]	15.4 ± 1.0 [1.18]	8.19 ± 0.13 [1.52]	53
Pancreas	4950 ± 410 [0.21]	716 ± 167 [0.27]	39.0 ± 4.9 [0.94]	10.8 ± 1.9 [0.82]	5.05 ± 0.42 [0.94]	44
Fat	1950 ± 680 [0.08]	196 ± 131 [0.07]	6.05 ± 5.25 [0.15]	ND [NC]	ND [NC]	NC
Skeletal muscle	5900 ± 720 [0.25]	382 ± 198 [0.14]	20.4 ± 2.2 [0.49]	9.16 ± 1.95 [0.70]	6.44 ± 0.88 [1.20]	94
Skin	6180 ± 160 [0.26]	880 ± 421 [0.33]	49.1 ± 8.9 [1.19]	34.6 ± 2.6 [2.64]	16.1 ± 2.4 [2.99]	43
Thigh bone	1960 ± 150 [0.08]	205 ± 64 [0.08]	24.0 ± 0.5 [0.58]	15.4 ± 3.3 [1.18]	11.1 ± 2.1 [2.06]	100
Bone marrow	5550 ± 510 [0.23]	508 ± 322 [0.19]	49.4 ± 5.0 [1.19]	29.3 ± 2.2 [2.24]	2.61 ± 4.53 [0.49]	14
Mesenteric lymph node	6680 ± 30 [0.28]	900 ± 397 [0.33]	42.1 ± 16.4 [1.02]	11.2 ± 3.4 [0.85]	3.57 ± 3.10 [0.66]	29
Testis	3190 ± 50 [0.13]	561 ± 309 [0.21]	14.1 ± 2.6 [0.34]	6.76 ± 0.43 [0.52]	1.31 ± 2.27 [0.24]	20
Epididymis	3720 ± 180 [0.16]	504 ± 292 [0.19]	27.1 ± 11.6 [0.65]	11.6 ± 3.2 [0.89]	4.32 ± 0.69 [0.80]	34
Prostate gland	3920 ± 290 [0.17]	432 ± 225 [0.16]	50.7 ± 35.7 [1.22]	12.3 ± 1.5 [0.94]	3.56 ± 3.16 [0.66]	27
Seminal vesicle	2240 ± 750 [0.09]	1010 ± 610 [0.38]	36.1 ± 3.9 [0.87]	13.4 ± 3.1 [1.02]	11.8 ± 5.8 [2.19]	260
Stomach	11800 ± 5400 [0.50]	696 ± 182 [0.26]	53.4 ± 22.1 [1.29]	17.3 ± 3.3 [1.32]	6.34 ± 0.53 [1.18]	33

表 2.6.4-17　雄ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静注したときの放射能の組織分布（平均値 ± S.D.、n = 3）（続き）

Tissue	Radioactivity concentration（ng eq./g or mL）					$t_{1/2\beta}$[a] (h)
	5 min	1 h	8 h	24 h	72 h	
Duodenum	41000 ± 17100 [1.73]	6140 ± 1630 [2.28]	217 ± 134 [5.24]	24.1 ± 10.6 [1.84]	5.96 ± 1.37 [1.11]	24
Small intestine	7690 ± 3200 [0.32]	9950 ± 3340 [3.70]	259 ± 123 [6.26]	29.8 ± 12.0 [2.27]	5.45 ± 0.46 [1.01]	20
Cecum	4620 ± 980 [0.19]	1070 ± 270 [0.40]	5310 ± 4150 [128]	304 ± 217 [23.2]	10.0 ± 1.9 [1.86]	9.7
Large intestine	4780 ± 550 [0.20]	853 ± 356 [0.32]	4750 ± 2550 [115]	315 ± 334 [24.0]	8.85 ± 1.61 [1.64]	9.3
Urinary bladder	14300 ± 7000 [0.60]	3450 ± 2070 [1.28]	306 ± 65 [7.39]	22.4 ± 4.8 [1.71]	6.94 ± 1.40 [1.29]	28

The half-life was calculated from the mean concentrations of three animals.

a：Calculated from time points of 8 to 72 h after injection

[ ]：Ratio of tissue/plasma

NC = not calculated, ND = not detected

Data from [redacted]

2.6.4.4.2 ヒツジにレミマゾラムを単回静脈内投与したときの組織内分布

試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.3.2

大動脈、肺動脈及び矢状静脈洞にカテーテルを留置した雌ヒツジに、レミマゾラム（0~12 mg/kg）を 2 分間で静脈内投与し、レミマゾラム及び CNS 7054 の分布を検討した。肺及び脳の濃度の最高値は投与開始後 2～3 分以内であった。脳及び肺への代謝物の取り込みはほとんどみられなかった。

2.6.4.4.3 サルに ^{14}C-レミマゾラムを単回急速静注したときの放射能の組織内分布

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.3.3

雄カニクイザル（非絶食）に ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を急速静注したとき、投与後 5 分では腎臓及び肝臓中の放射能濃度が最も高く、次に胃及び副腎であった。大脳及び小脳は、血漿中放射能濃度とほぼ同じ値を示した。他の組織の放射能濃度は、血漿中放射能濃度と同程度あるいは低い値を示した。投与後 168 時間では、各組織における放射能濃度は、投与後 5 分の 5%からそれ以下となった。また、メラニン色素を含む眼組織である虹彩及び毛様体における投与後 5 分及び 168 時間の値は、17700 から 85.6 ng eq./g に減少し、網膜及び脈絡集網で 12700 から 109 ng eq./g に減少した。この濃度推移は、血漿中放射能濃度の消失と同様であった（23400 から 96.4 ng eq./mL）（表 2.6.4-18）。なお、投与後 168 時間までの糞中及び尿中にそれぞれ投与放射能の 17.5%及び 65.6%が排泄され、総放射能排泄率は合わせて投与放射能の 83.2%であった。

表 2.6.4-18　雄カニクイザルに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静注したときの放射能の組織内分布（n = 1）

Tissue	Radioactivity concentration（ng eq./g or mL）	
	5 min	168 h
Plasma	23400 (1.00)	96.4 (1.00)
Blood	15500 (0.66)	80.9 (0.84)
Cerebrum	19400 (0.83)	22.2 (0.23)
Cerebellum	19000 (0.81)	23.7 (0.25)
Pituitary gland	24700 (1.06)	64.4 (0.67)
Spinal cord	14000 (0.60)	14.7 (0.15)
Eyeball	2330 (0.10)	16.1 (0.17)
Cornea	4960 (0.21)	18.3 (0.19)
Aqueous humor	992 (0.04)	1.28 (0.01)
Iris & ciliary body	17700 (0.76)	85.6 (0.89)
Lens	1230 (0.05)	33.9 (0.35)
Vitreous body	377 (0.02)	1.09 (0.01)
Retina & choroid	12700 (0.54)	109 (1.13)
Sclera	3360 (0.14)	24.0 (0.25)
Thyroid gland	14700 (0.63)	84.3 (0.87)
Mandibular gland	7890 (0.34)	67.5 (0.70)
Thymus	6420 (0.27)	61.0 (0.63)
Heart	22000 (0.94)	83.3 (0.86)
Lung	22100 (0.94)	80.9 (0.84)
Liver	40900 (1.75)	441 (4.57)
Kidney	42800 (1.83)	135 (1.40)
Adrenal gland	31600 (1.35)	123 (1.28)
Spleen	11500 (0.49)	71.6 (0.74)
Pancreas	20300 (0.87)	70.2 (0.73)
Fat	3400 (0.15)	164 (1.70)
Skeletal muscle	16100 (0.69)	59.0 (0.61)
Thigh bone	506 (0.02)	8.78 (0.09)
Skin	2230 (0.10)	80.7 (0.84)
Bone marrow	8740 (0.37)	72.7 (0.75)
Mesenteric lymph node	11700 (0.50)	93.4 (0.97)
Testis	7780 (0.33)	51.8 (0.54)
Epididymis	6690 (0.29)	66.6 (0.69)
Seminal vesicle	3630 (0.16)	50.6 (0.52)
Prostate gland	5110 (0.22)	57.8 (0.60)
Stomach	36000 (1.54)	63.1 (0.65)
Duodenum	16800 (0.72)	57.2 (0.59)
Small intestine	12100 (0.52)	50.3 (0.52)
Cecum	10300 (0.44)	49.6 (0.51)
Large intestine	10400 (0.44)	49.0 (0.51)
Urinary bladder	3120 (0.13)	60.3 (0.63)
Gall bladder	22000 (0.94)	126 (1.31)
Bile in gall bladder	28300 (1.21)	702 (7.28)

( )：Ratio of tissue/plasma
Data from [redacted]

2.6.4.4.4　乳汁移行

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.3.4
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.5.1.3

分娩後 11 日の授乳中のラット（SD）に ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静注した。投与後 1 時間の乳汁中総放射能濃度は血漿中の 91%であり、レミマゾラム及び／又は代謝物の乳汁中移行が確認された（[redacted]）。その後、投与後 8 時間から 48 時間まで乳汁中／血漿中放射能濃度比は 2.10～2.89 で推移し、乳汁中放射能は血漿中放射能と同様に消失した（表 2.6.4-19）。

乳汁への移行は、ウサギ生殖試験（497736）中で、授乳中のウサギ（n=7）の乳汁でも検討さ

れ、乳汁中レミマゾラム濃度は CNS 7054 に比べ高かった。以上の結果から、レミマゾラム投与後の速やかな乳汁移行が考えられる。

表 2.6.4-19　授乳中ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静注後の乳汁及び血漿中放射能濃度（平均値 ± S.D.、n = 3）

Time（h）	Radioactivity concentration（ng eq./mL）		Milk/Plasma ratio
	Milk	Plasma	
1	1040 ± 630	1090 ± 260	0.91 ± 0.33
8	108 ± 19	51.7 ± 9.8	2.10 ± 0.05
24	45.5 ± 42.2	19.6 ± 3.9	2.11 ± 1.63
48	26.8 ± 10.4	9.53 ± 0.84	2.89 ± 1.28

Data from [redacted]

2.6.4.4.5　胎盤通過性を含む妊娠ラットにおける組織内分布

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.3.5

妊娠 17 日のラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静注し、組織内分布を検討した。組織内放射能濃度は投与後 5 分並びに 1、8、24 及び 48 時間に測定した。

測定した全ての組織で、投与後 5 分で最も高い放射能濃度を示した。放射能の組織内分布は雄ラットに単回急速静注したときの分布と類似していた（[redacted]）。投与後 5 分における胎児血液及び胎児放射能濃度は、それぞれ母動物血漿の 0.07 及び 0.05 倍であった。投与後 48 時間までの羊膜中放射能濃度は、母動物血漿中より緩徐な減少を示した（$t_{1/2}$：母動物血漿 15 時間、羊膜 82 時間）。胎児血液及び胎児における $t_{1/2}$ はそれぞれ 37 時間、24 時間、他の妊娠に関連する組織及び雌生殖器で 11～29 時間であった。胎児血液及び胎児全体の放射能濃度は、投与後 48 時間では投与後 5 分の 1%未満となった。以上のように、レミマゾラム及び／又は代謝物の胎盤通過性は限られており、胎児における曝露は持続しないことが示された（表 2.6.4-20）。

表 2.6.4-20　妊娠ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静注したときの組織内分布（平均値 ± S.D.、n = 3）

Tissue	Radioactivity concentration（ng eq./g or mL）					$t_{1/2}$[a] (h)
	5 min	1 h	8 h	24 h	48 h	
Plasma	23100 ± 500 [1.00]	2240 ± 440 [1.00]	71.1 ± 6.4 [1.00]	23.3 ± 1.1 [1.00]	10.8 ± 2.9 [1.00]	15
Blood	16400 ± 200 [0.71]	1520 ± 310 [0.68]	67.4 ± 2.9 [0.95]	25.9 ± 0.3 [1.11]	15.3 ± 2.8 [1.42]	19
Cerebrum	1180 ± 110 [0.05]	89.9 ± 23.4 [0.04]	10.3 ± 0.7 [0.14]	5.24 ± 0.97 [0.22]	3.89 ± 0.45 [0.36]	29
Heart	9380 ± 830 [0.41]	1010 ± 330 [0.45]	61.4 ± 3.6 [0.86]	25.7 ± 1.3 [1.10]	17.0 ± 0.5 [1.57]	22
Lung	13000 ± 1400 [0.56]	1230 ± 310 [0.55]	73.3 ± 3.9 [1.03]	34.1 ± 2.3 [1.46]	26.9 ± 2.6 [2.49]	29
Liver	47600 ± 2300 [2.06]	6440 ± 1750 [2.88]	255 ± 52 [3.59]	72.0 ± 9.0 [3.09]	47.3 ± 11.4 [4.38]	17
Kidney	95300 ± 10200 [4.13]	14000 ± 2600 [6.25]	212 ± 31 [2.98]	64.7 ± 11.0 [2.78]	47.2 ± 7.4 [4.37]	19
Spleen	5040 ± 260 [0.22]	518 ± 144 [0.23]	95.8 ± 12.2 [1.35]	36.8 ± 1.4 [1.58]	23.3 ± 3.5 [2.16]	20
Pancreas	4550 ± 400 [0.20]	633 ± 96 [0.28]	74.7 ± 27.1 [1.05]	24.3 ± 3.1 [1.04]	14.6 ± 0.5 [1.35]	18
Thymus	6050 ± 330 [0.26]	496 ± 137 [0.22]	62.0 ± 3.2 [0.87]	36.9 ± 1.2 [1.58]	31.0 ± 1.9 [2.87]	42
Skeletal muscle	6990 ± 1160 [0.30]	371 ± 92 [0.17]	47.5 ± 1.7 [0.67]	21.0 ± 3.6 [0.90]	13.4 ± 1.1 [1.24]	23
Thigh bone	2120 ± 210 [0.09]	128 ± 46 [0.06]	20.7 ± 1.9 [0.29]	9.37 ± 0.99 [0.40]	8.26 ± 0.83 [0.76]	32
Ovary	7540 ± 820 [0.33]	709 ± 73 [0.32]	57.3 ± 2.8 [0.81]	29.3 ± 3.6 [1.26]	21.4 ± 1.0 [1.98]	29
Uterus	6920 ± 950 [0.30]	1650 ± 640 [0.74]	69.6 ± 1.6 [0.98]	34.9 ± 1.2 [1.50]	22.9 ± 1.7 [2.12]	26
Placenta	3990 ± 670 [0.17]	901 ± 43 [0.40]	70.1 ± 5.5 [0.99]	34.3 ± 4.3 [1.47]	21.5 ± 3.6 [1.99]	24
Amniotic fluid	210 ± 179 [0.01]	107 ± 48 [0.05]	59.1 ± 13.1 [0.83]	22.4 ± 5.8 [0.96]	5.19 ± 1.82 [0.48]	11
Amnion	982 ± 82 [0.04]	515 ± 340 [0.23]	92.3 ± 24.4 [1.30]	80.7 ± 14.0 [3.46]	65.9 ± 11.1 [6.10]	82
Fetus	1090 ± 120 [0.05]	390 ± 48 [0.17]	30.6 ± 0.7 [0.43]	15.7 ± 0.9 [0.67]	9.50 ± 1.14 [0.88]	24
Fetal blood	1660 ± 300 [0.07]	517 ± 78 [0.23]	35.1 ± 2.5 [0.49]	20.5 ± 1.6 [0.88]	16.1 ± 0.5 [1.49]	37

a：Calculated using the mean radio activity concentrations from 8 h post-dose.

[ ]：Ratio of tissue/plasma

Data from [redacted]

2.6.4.4.6 血清タンパク結合

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.3.6
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.3.7
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.3.8

^{14}C-レミマゾラムのラット、サル及びヒト血清及びヒト血清アルブミン（HSA）、並びに α_1-酸性糖タンパク（α_1-AGP）へのタンパク結合を限外ろ過法により検討した（[redacted]）。なお、レミマゾラムはラット血液中で、エステラーゼ阻害剤の DFP 存在下で試験を行った。

ラット、サル及びヒト血清に ^{14}C-レミマゾラム濃度 1、3 及び 10 µg/mL を添加したとき、タンパク結合率はそれぞれ 70.1%～71.0%、76.0%～77.2%及び 91.6%～92.1%であった。タンパク結合率は、いずれの動物種においても試験した濃度域でほぼ一定であった（表 2.6.4-21）。

HSA とのタンパク結合率はヒト血清とほぼ等しかった。^{14}C-レミマゾラム 3～10 µg/mL における α_1-AGP との結合率は添加濃度が高くなるに従い低下した。このような濃度依存的なタンパク結合率の低下はヒト血清ではみられなかったため、^{14}C-レミマゾラムは主にアルブミンと結合すると考えられた。また、エタノール処理により 100%回収されることから、結合の可逆性が確認された。

表 2.6.4-21 ラット血清、サル血清、ヒト血清、HSA 及び α_1-AGP における ^{14}C-レミマゾラムのタンパク結合率（平均値 ± S.D.、n = 4）

Sample	^{14}C- Remimazolam (µg/mL)	Protein binding (%)
Rat serum[a]	1	71.0 ± 0.7
	3	70.7 ± 0.9
	10	70.1 ± 0.2
Monkey serum	1	76.0 ± 0.2
	3	76.2 ± 0.3
	10	77.2 ± 0.5**
Human serum	1	92.1 ± 0.6
	3	91.9 ± 0.3
	10	91.6 ± 0.2
HSA (43 mg/mL)	1	88.6 ± 0.2
	3	88.7 ± 0.3
	10	88.5 ± 0.4
α_1-AGP (1 mg/mL)	1	77.6 ± 0.8
	3	69.7 ± 0.6*
	10	41.8 ± 1.3**

HSA = Human serum albumin
α_1-AGP = Human α_1-acid glycoprotein
a: Containing DFP
*: Significantly different from the protein binding at concentration of 1 µg/mL ($p<0.05$)
**: Significantly different from the protein binding at concentration of 1 and 3 µg/mL ($p<0.05$)
Data from [redacted]

^{14}C-CNS 7054 のラット、サル、ヒト血清におけるタンパク結合率は、添加濃度 0.5～50 µg/mL においてそれぞれ 72.0%～75.4%、85.8%～86.5%、91.3%～91.9%であった。ラット血清では、CNS 7054 濃度 50 µg/mL でタンパク結合率が有意に低下したが、サル及びヒト血清では濃度依存的な減少はみられなかった。HSA は α_1-AGP より非常に高いタンパク結合率を示したため、^{14}C-CNS 7054 は主にヒト血清アルブミンと結合すると考えられた（[redacted]）（表 2.6.4-22）。

表 2.6.4-22　ラット血清、サル血清、ヒト血清、HSA 及び α_1-AGP における ^{14}C-CNS 7054 のタンパク結合率（平均値 ± S.D.、n = 4）

Sample	^{14}C- CNS 7054 (μg/mL)	Protein binding (%)
Rat serum	0.5	75.4 ± 1.0
	5	74.9 ± 1.1
	15	74.0 ± 1.2
	50	72.0 ± 0.9**
Monkey serum	0.5	86.1 ± 0.7
	5	86.5 ± 0.6
	15	86.4 ± 0.5
	50	85.8 ± 0.8
Human serum	0.5	91.6 ± 0.7
	5	91.8 ± 0.6
	15	91.9 ± 0.5
	50	91.3 ± 1.0
HSA（43 mg/mL）	0.5	94.3 ± 0.2
	5	95.1 ±0.1*
	15	95.0 ± 0.1*
	50	94.6 ± 0.2***
α_1-AGP（1 mg/mL）	0.5	8.0 ± 1.4
	5	7.4 ± 0.4
	15	6.6 ± 0.7
	50	5.8 ± 1.0*

HSA = Human serum albumin
α_1-AGP = Human α_1-acid glycoprotein
*: Significantly different from concentration of 0.5 μg/mL ($p<0.05$ by the Tukey test)
**: Significantly different from concentration of 0.5 and 5 μg/mL ($p<0.05$ by the Tukey test)
***: Significantly different from concentration of 0.5, 5 and 15 μg/mL ($p<0.05$ by the Tukey test)
Data from[redacted]

レミマゾラム及び CNS 7054 の非標識体を用いたヒト、ミニブタ及びウサギの血漿タンパク結合率を迅速平衡透析法及び LC/MS/MS を用いて検討した（[redacted]）。添加濃度はレミマゾラムで 1 及び 10 μg/mL、CNS 7054 で 3 及び 30 μg/mL とした。全動物種を通じてタンパク結合率は 90%以下であった。添加濃度 1 及び 10 μg/mL におけるレミマゾラムのタンパク非結合率はヒトで 9.9%及び 11.4%、ミニブタで 24.1%及び 21.3%、ウサギで 13.5%及び 14.5%であった。同様に CNS 7054 でも、3 種の動物でのタンパク結合率はいずれも 90%以下であり、3 及び 30 μg/mL におけるタンパク非結合率はヒトで 13.2%及び 20.8%、ミニブタで 50.7%及び 50.4%、ウサギで 12.9%及び 20.0%であった。

2.6.4.4.7　血球移行性

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.3.9

^{14}C-レミマゾラム（添加濃度 1～10 μg/mL）をヒト、ラット及びサルの血液とインキュベート（5 min., 37℃）したときの、レミマゾラムの血球中への移行を検討した（[redacted]）。ヒトで 7.5%～11.7%、ラットで 12.8%～15.5%、サルで 30.8%～33.3%が血球中に移行した（表 2.6.4-23）。

表 2.6.4-23　放射能の血球への移行（平均値 ± S.D.、n = 4）

Animal	Concentration of ^{14}C-Remimazolam (μg/mL)	Transfer ratio to blood cell (%)
Rat[a]	1	15.5 ± 3.4
	3	12.8 ± 3.5
	10	12.9 ± 3.0
Monkey	1	33.3 ± 2.7
	3	30.8 ± 4.6
	10	32.2 ± 4.0
Human	1	7.5 ± 2.4
	3	8.3 ± 1.3
	10	11.7 ± 2.0

a: Containing DFP (20 μg/mL)
Data from [redacted]

2.6.4.5 代謝（動物種間の比較）

2.6.4.5.1 *In vitro* 代謝

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.1.4
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.1.5
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.1.6
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.1.9
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.1.10
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.1.11
試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.4.1
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.2
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.3
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.4
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.5
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.6

レミマゾラムは、ブタの血漿及び全血中で少なくとも 37℃ で 60 分安定であった（[redacted]）。同様の方法で安定性を検討した他の動物（ラット、イヌ、ウサギ、ミニブタ及びサル）の血漿でも室温で 24 時間以上の安定が確認された（[redacted]）。なお、ヒト全血及び血清でレミマゾラムの異性化は生じなかった（[redacted]）。

各種動物（ラット、マウス、ミニブタ及びヒト）の組織でレミマゾラムの代謝を検討したところ、肝ホモジネートにより速やかに CNS 7054 に代謝（$t_{1/2}$ は全種で 10 分未満[redacted]）された。イヌ肝ホモジネートでは最も緩徐に代謝（$t_{1/2}$ ：約 20 分）され、サルではその中間（$t_{1/2}$：約 15 分）であった。動物における他の組織ホモジネートでも顕著な代謝がみられた。サルの組織ホモジネートにおける加水分解の速さは、肝 ＝ 腎臓 ＞ 肺 ＞ 脳の順であった（[redacted]）。

これらの試験結果は、レミマゾラムが CES の基質であり、主に CES1 により代謝されるという報告 [4),5)]を支持するものであった。レミマゾラムはヒト血漿中で代謝されにくいことから、ブチリルコリンエステラーゼ又はパラオキソナーゼの良い基質ではないと結論されている。

レミマゾラムのヒト組織による *in vitro* 代謝をヒト肺、肝、腎ホモジネート及び血漿を用いて検討し、併せて、ヒト肝ホモジネートを用いて、エステラーゼの推定を行った（[redacted]）。

^{14}C-レミマゾラムは肺及び肝ホモジネート中で経時的に減少したが、腎ホモジネート及び血漿での減少はみられなかった。^{14}C-レミマゾラムの $t_{1/2}$ は肺ホモジネートで 110 分、肝ホモジネートで 14 分であり、ヒトでは ^{14}C-レミマゾラムは主に肝臓で加水分解されることが示された。

さらに、ヒト肝ホモジネートに ^{14}C-レミマゾラムとエステラーゼ阻害剤を添加したところ、加水分解は、ビス（4–ニトロフェニル）リン酸ナトリウム塩（BNPP）、DFP 及び NaF によってほぼ完全に阻害されたが、エゼリンと *p*-ヒドロキシメルクリ安息香酸ナトリウム（PHMB）では阻害されなかった。レミマゾラムの加水分解が、非特異的阻害剤である NaF 並びに CES 阻害剤である DFP 及び BNPP によって顕著に阻害されることから、ヒト肝臓における加水分解は主に CES によることが示唆された（表 2.6.4-24）。

表 2.6.4-24　ヒト肝ホモジネート中で ^{14}C-レミマゾラムとエステラーゼ阻害剤をインキュベーションしたときの ^{14}C-レミマゾラムの加水分解に及ぼす影響

Esterase inhibitor	Esterase	Residual ratio (% of control)
BNPP	Carboxylesterase	98.1
DFP	Carboxylesterase/Cholinesterase	100.1
NaF	Nonspecific	97.3
Eserine	Cholinesterase	46.4
PHMB	Arylesterase	24.0
NONE	-	45.9

Mean values of two experiments, Incubation time: 15min
Residual ratio was calculated from the mean value of the percentage of Remimazolam on the radio chromatogram at 15min-incubation compared to that at 0 min.
Data from [redacted]

レミマゾラムの加水分解に関与する CES 分子種を推定するため、ヒト CES1 及び CES2 を発現させた膜タンパク（Bactosomes™）を用いた ^{14}C-レミマゾラムの *in vitro* 代謝試験を行った（[redacted]）。試験結果から、レミマゾラムは主に CES1 により加水分解されることが示唆された（表 2.6.4-25）。

表 2.6.4-25　^{14}C-レミマゾラムの加水分解に関与する CES 分子種の推定

Bactosomes™	Incubation time (min.)	% in sample	
		Remimazolam	CNS 7054
CES1	0	96.8	2.0
	60	90.5	8.4
CES2	0	96.7	2.2
	60	96.4	2.3
Control	0	96.5	2.4
	60	96.6	2.4

Data are expressed as the mean value of two determinations.
^{14}C-Remimazolam (10 µmol/L) was incubated with each human CES-expressing membrane protein (Bactsomes™) at 30 degree.
Data from [redacted]

要約すると、レミマゾラムは CES、主に CES1 の基質である。なお、レミマゾラムはブチリルコリンエステラーゼ又はパラキオキソナーゼの基質ではないことから、これらの遺伝子多型によってレミマゾラムの代謝が影響されるリスクは低いと推定される。

2.6.4.5.2　ラットに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの *in vivo* 代謝

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.7

雄ラット（SD、非絶食）に、^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回静脈内投与し、血漿、尿、糞及び胆汁中における代謝プロファイルを検討した。血漿中の代謝プロファイルを表 2.6.4-26 に示した。投与後 5 分には血漿中にレミマゾラムは検出されず、4 つの代謝物が存在し、主代謝物は CNS 7054 であった。同様に、投与後 24 時間までの尿・糞中にもレミマゾラムは検出されず、尿

では 5 つ、糞では 6 つの代謝物が存在し、尿中の主代謝物は CNS 7054、糞中では RF-3（保持時間から CNS 7054 のピリジン環の水酸化体である RP-2 と同じであると推定）が主であった（図 2.6.4-16）。

胆汁中には投与後 24 時間までにレミマゾラムが投与放射能の 0.6%排泄された。他に 5 つの代謝物が検出されたが、CNS 7054 と RP-2 が胆汁中放射能の主代謝物であった（図 2.6.4-16）。

表 2.6.4-26　ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回静脈内投与したときの血漿中代謝プロファイル

Metabolite and Compound No.	% of radioactivity in plasma	
	5 min	1 h
RP-1	ND	2.4
RP-2	0.2	1.8
RP-3	0.4	ND
CNS 7054	96.2	88.1
Remimazolam	ND	ND
Sum of the others	3.3	7.8

The data represent the mean of two assays of samples prepared by mixing the same amount of plasma from three animals.
ND = not detected
Data from [redacted]

2.6.4.5.3　サルに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの *in vivo* 代謝

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.8

雄カニクイザル（非絶食）に、^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回静脈内投与し、血漿、尿、糞及び胆汁中の代謝プロファイルを検討した。血漿中の代謝プロファイルを表 2.6.4-27 に示した。投与後 4 及び 8 時間の血漿中にレミマゾラムはそれぞれ血漿中総放射能の 5.1%及び 2.5%で存在し、両時間とも 5 つの代謝物が検出され、主代謝物は CNS 7054 であり、次いで MP-2（CNS 7054 のグルクロン酸抱合体）であった。投与後 24 時間までの尿中にレミマゾラムは検出されず、4 つの代謝物が確認された。尿中の主代謝物は CNS 7054 であった。投与後 96 時間までの糞中に、レミマゾラムは検出されず、9 つの代謝物が検出された。また、胆汁中には 10 以上の代謝物が検出された。投与後 5 分までに、レミマゾラムは投与放射能の 9.1%検出され、主代謝物は CNS 7054 であった。

表 2.6.4-27　カニクイザルに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回静脈内投与したときの血漿中代謝プロファイル

Metabolite and Compound No.	% of radioactivity in plasma	
	4 h	8 h
MP-1	ND	1.1
MP-2	12.8	14.0
MP-3	6.7	6.0
MP-4	3.0	4.3
CNS 7054	44.8	36.1
Remimazolam	5.1	2.5
Others	27.8	36.2

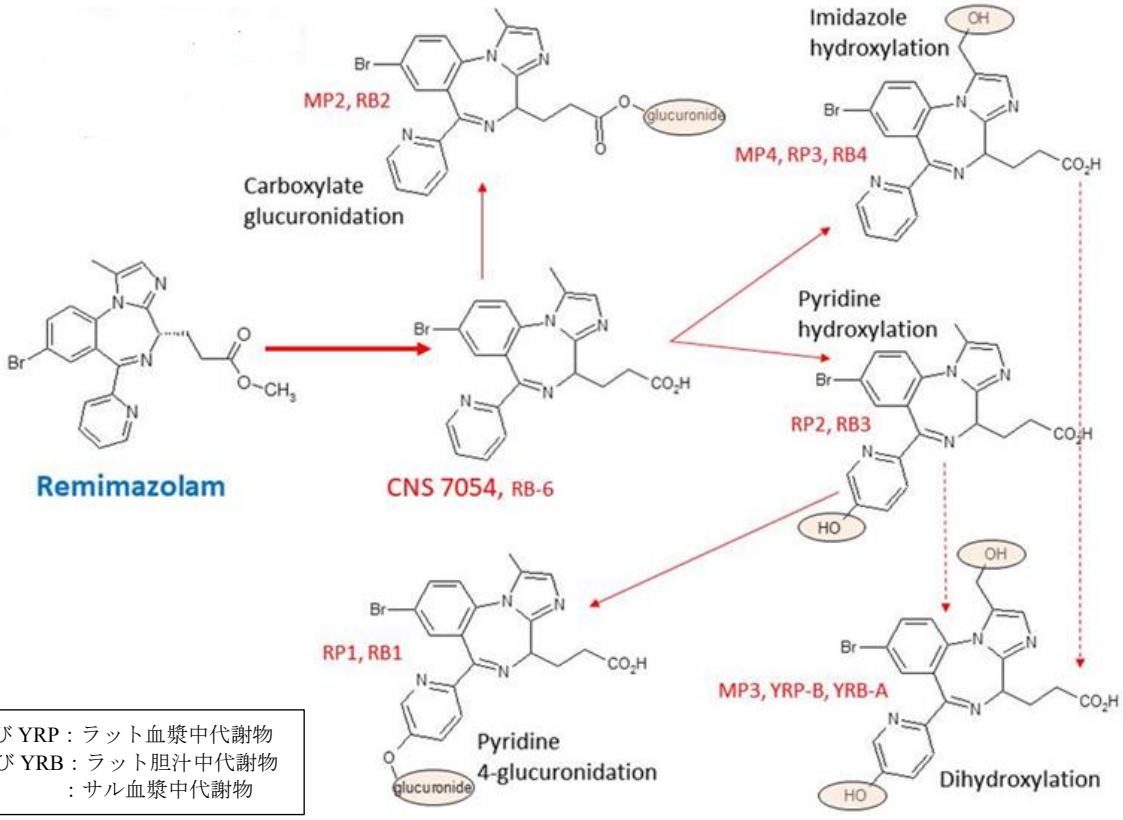
The data represent the mean of two assays of samples prepared.
ND = not detected
Data from [redacted]

2.6.4.5.4 推定代謝経路

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.7
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.8
試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.4.9

ラット、サルの代謝試験（[redacted]）で得られた試料を LC/MS/MS 及び核磁気共鳴（NMR）スペクトルを分析し、レミマゾラムの代謝物の構造推定を行った（[redacted]）。各試験から得られた代謝物及び推定代謝経路を図 2.6.4-16 に示す。

図 2.6.4-16　レミマゾラムの推定代謝経路



RP 及び YRP：ラット血漿中代謝物
RB 及び YRB：ラット胆汁中代謝物
MP　　：サル血漿中代謝物

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 ラットに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの尿及び糞中排泄

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.5.1

雄 SD ラット（非絶食、n = 4）に、^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回静脈内投与したとき、投与後 120 時間までに糞中及び尿中にそれぞれ投与放射能量の 52.6%及び 45.5%、計 98.1%が排泄された。なお、投与後 24 時間までの糞中及び尿中への累積排泄率は計 93.0%であり、投与後 24 時間までにほとんどの放射能が排泄された（表 2.6.4-28）。

表 2.6.4-28 雄ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静脈内投与後の尿糞中放射能排泄率（平均値 + S.D.、n = 4）

Time (h)	Excretion of radioactivity (% of dose)		
	Urine	Feces	Total
0- 8	42.6 ± 7.4	-	-
24	44.8 ± 7.5	48.3 ± 7.0	93.0 ± 3.4
48	45.1 ± 7.4	52.5 ± 6.8	97.6 ± 0.7
72	45.2 ± 7.3	52.6 ± 6.8	97.8 ± 0.7
96	45.3 ± 7.3	52.6 ± 6.8	98.0 ± 0.6
120	45.5 ± 7.3	52.6 ± 6.8	98.1 ± 0.6
Cage Washing (120 h)			0.0 ± 0.1
Carcass (120 h)			0.1 ± 0.1

- = not determined
Data from [redacted]

2.6.4.6.2 サルに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの尿及び糞中排泄

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.3.3

雄カニクイザル（非絶食、n = 1）に、^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回静脈内投与したとき、投与後 168 時間までに糞中及び尿中にそれぞれ投与放射能量の 17.5%及び 65.6%、合計で 83.2%排泄された。組織内分布試験（2.6.4.4.3 項）で示されたように、投与後 168 時間における放射能濃度は投与量に対し、骨格筋 0.28%、白色脂肪 0.12%、肝臓、皮膚及び血液 0.05%～0.08%、その他の組織は 0.01%以下を示し、レミマゾラム及びその代謝物が体内に残留する可能性は低いことが推察された。（表 2.6.4-29）。

表 2.6.4-29 雄カニクイザルに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回静脈内投与したときの尿糞中放射能累積排泄率（n = 1）

Time（h）	Excretion of radioactivity (% of dose)		
	Urine	Feces	Total
0- 8	55.4	-	-
24	61.5	0.2	61.7
48	64.0	10.2	74.2
72	64.8	15.3	80.1
96	65.3	16.9	82.2
120	65.5	17.4	82.9
144	65.6	17.5	83.1
168	65.6	17.5	83.2

- = not determined
Data from [redacted]

2.6.4.6.3 ラットに ^{14}C-レミマゾラムを単回静脈内投与したときの胆汁中排泄

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.5.2

胆管カニューレを施した雄 SD ラット（非絶食、n = 4）に、^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回静脈内投与したとき、投与後 48 時間までに胆汁中に投与量の 62.4%、尿中及び糞中にそれぞれ投与量の 33.4%及び 0.8%が排泄された。なお、投与後 2 時間まで胆汁中に 60.8%排泄されたことから、ほとんどの放射能は投与後 2 時間までに排泄されることが示された（表 2.6.4-30）。

表 2.6.4-30 雄ラットに ^{14}C-レミマゾラム 10 mg/kg を単回急速静脈内投与後の尿糞及び胆汁中放射能累積排泄率（平均値 ± SD、n = 4）

Time (h)	Excretion of radioactivity (% of dose)		
	Bile	Urine	Feces
0- 2	60.8 ± 6.6	-	-
4	61.7 ± 6.8	-	-
8	62.0 ± 6.8	32.2 ± 6.4	-
24	62.4 ± 6.9	33.3 ± 6.6	0.7 ± 0.2
48	62.4 ± 6.9	33.4 ± 6.7	0.8 ± 0.2
Gastrointestinal contents (48 h)			0.1 ± 0.1
Carcass (48 h)			0.2 ± 0.1

- = not determined
Data from [redacted]

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 チトクローム P450

試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.6.1
試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.6.2
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.6.3
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.6.4

レミマゾラムと CYP との薬物相互作用をヒト肝ミクロソーム（[redacted]）、ヒト CYP 発現系ミクロソーム（[redacted]）及び初代培養肝細胞（[redacted]、[redacted]）を用いて検討した。主要 CYP（CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）発現系ミクロソームを用い、各特異的基質の代謝阻害率を検討したところ、いずれの添加濃度（3、10、30 μg/mL）においても、各 CYP に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）値は 30 μg/mL（68 μmol/L）超を示した（[redacted]、表 2.6.4-31）。

表 2.6.4-31 レミマゾラムのヒト CYP 特異基質の代謝に及ぼす影響

Remimazolam (μg/mL)	% of inhibition on fluorescent substrate metabolism				
	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
3.00	2.3	-11.1	-2.3	-0.8	-1.2
10.0	25.2	10.3	8.8	6.7	21.9
30.0	47.1	34.6	23.9	7.5	44.5
IC_{50} (μg/mL)	>30.0	>30.0	>30.0	>30.0	>30.0

Data from [redacted]

また、対象 CYP に CYP2B6 及び CYP2C8 を加えたヒト肝ミクロソームを用いた阻害試験（[redacted]）では、レミマゾラム（添加濃度 10～100 μmol/L）の各 CYP に対する IC_{50} 値は、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4 及び CYP2B6 ともに 100 μmol/L 超であった（表 2.6.4-32）。また、CYP2C8 及び CYP1A2 でもそれぞれ 29.2 及び 63.6 μmol/L であった。CNS 7054（添加濃度 60～600 μmol/L）の IC_{50} 値は、CYP2C8 で 578 μmol/L であったが、他の全ての CYP では 600 μmol/L 超であった。

表 2.6.4-32 レミマゾラム及び CNS 7054 の各 CYP に対する IC_{50}

CYP isoform	IC_{50} (μmol/L)	
	Remimazolam	CNS 7054
CYP1A2	63.6	>600
CYP3A4	> 100	>600
CYP2B6	> 100	>600
CYP2C8	29.2	578
CYP2C9	> 100	>600
CYP2C19	> 100	>600
CYP2D6	> 100	>600

Data from [redacted]

得られた IC_{50} 値は、臨床 II 試験（CNS7056-010）における最大用量投与時のレミマゾラム濃度と比較して極めて高い濃度であり、臨床使用時において CYP を阻害することは考えにくい。

また、ヒト初代培養肝細胞を用いて、典型的な誘導剤を対照にレミマゾラム（添加濃度 0.3～

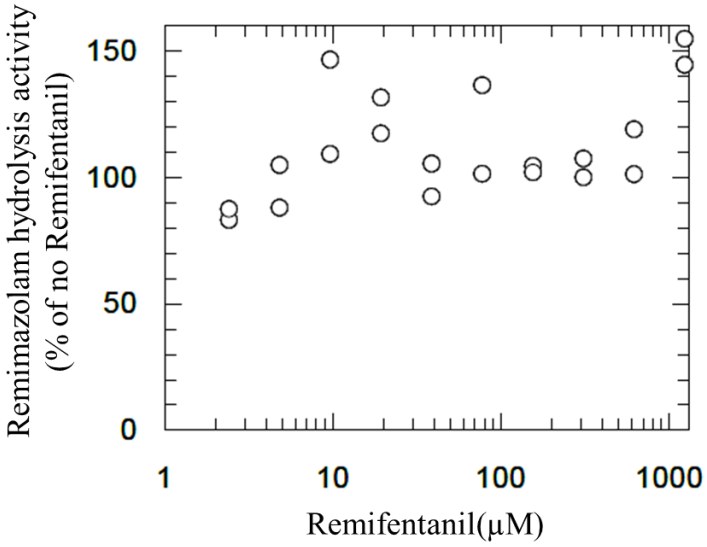
30 µmol/L）の CYP（CYP1A2、2B6 及び 3A4）に対する誘導能を検討した（[redacted]）。陽性対照ではそれぞれの代謝酵素を誘導したが、レミマゾラムは CYP1A2、2B6 及び 3A4 を誘導しないことが示された（最高濃度で陽性対照の 40%未満）。また、CNS 7054 の酵素誘導能を検討した（[redacted]）結果、CNS 7054（添加濃度 50～500 µmol/L）の酵素誘導は溶媒対照に対して CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 のいずれも 2 倍未満であり、CNS 7054 はこれらの CYP 分子種を誘導しないことが示された。

2.6.4.7.2 カルボキシルエステラーゼ

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.6.5
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.4.5
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.6.6
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.6.7

レミマゾラムと臨床併用の可能性があり、非特異的エステラーゼで代謝されるレミフェンタニルとの薬物相互作用を確認するために、HLS9 画分中でインキュベーションした（[redacted]）。HLS9 中でのレミフェンタニルの加水分解は、リン酸緩衝液中と同程度であり、肝臓の寄与はわずかであると考えられた。一方、レミマゾラムは HLS9 中で速やかに代謝され、陽性対照（パラオキソン、フッ化フェニルメチルスルホニル）は、レミマゾラムの加水分解を阻害したが、レミフェンタニルは高濃度でもレミマゾラムの加水分解に影響を与えなかった（図 2.6.4-17）。よって、レミフェンタニルを臨床併用しても、レミマゾラムの薬物動態に影響しないと考えられた。

図 2.6.4-17 ヒト肝 S9 画分におけるレミマゾラムの加水分解に対するレミフェンタニルの影響



Data from [redacted]

エステル構造を持ち、臨床併用の可能性のある薬物のレミマゾラムの加水分解への影響を検討した（[redacted]）。ヒト肝ホモジネートに ^{14}C-レミマゾラムとエスモロール又はランジオロールを添加したとき、エスモロール及びランジオロールは 50 µg/mL まで ^{14}C-レミマゾラムの加水分解に影響を与えなかったことから、臨床で併用してもヒト肝におけるレミマゾラムの加水分解は影響されないことが示唆された。

同様に、ヒト血漿、ヒト肝ホモジネート及びヒト血球を用いて検討したところ、レミマゾラム 30 μg/mL（68 μmol/L）のとき、ヒト血漿におけるランジオロール及びヒト血球におけるエスモロールの加水分解に対する阻害率は約 40%であった。一方、レミマゾラムは 30 μg/mL までヒト肝ホモジネートでランジオロールの加水分解をほとんど阻害しなかった（[redacted]）。

CES1 阻害剤によるレミマゾラム代謝阻害について HLS9 画分を用いて検討した（[redacted]）。CES1 阻害剤であるベンジル及びエチルパラオキソンによる阻害試験では、ベンジルはレミマゾラムから CNS 7054 への代謝（58%阻害）及び CES1 の基質として用いたトランドラプリルからトランドラプリレイトへの代謝（63%阻害）について完全な阻害を示さなかったのに対し、エチルパラオキソンはいずれの代謝も完全に阻害した。さらに、CES1 阻害剤であるジルチアゼム及びアトルバスタチン 0.3～100 μmol/L によるレミマゾラム及びトランドラプリルの代謝阻害について検討した。ジルチアゼムのレミマゾラム及びトランドラプリルに対する IC_{50} 値はそれぞれ 57 及び 49 μmol/L、アトルバスタチンの IC_{50} 値はいずれに対しても最高濃度（100 μmol/L）超であり、最高濃度でも 13%～14%の阻害であった。ジルチアゼム、アトルバスタチン、ベンジル及びエチルパラオキソンのレミマゾラム及びトランドラプリルに対する濃度依存的代謝阻害は類似していた。

FDA ドラフトガイダンス（2017）[6]に基づくと、臨床用量における遊離型の C_{max} を考慮すれば、アトルバスタチン及びジルチアゼムによる CES1 を介したレミマゾラムの代謝阻害に起因する臨床における薬物相互作用の可能性はほとんどないと考えられた。

2.6.4.7.3 ヒト薬物トランスポーターとの相互作用

試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.6.8
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.6.9
試験番号：[redacted]（評価資料）、記載箇所：4.2.2.6.10
試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.6.11

OATP1B1、OATP1B3 発現チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞及びヒト結腸癌由来の細胞株（Caco2）を用いた BCRP の *in vitro* 試験から、レミマゾラムはこれらの基質ではないことが示された（[redacted]）。また、CNS 7054 は P-gp 及び BCRP の基質であることが示された（[redacted]）。

レミマゾラムは、*in vitro* で OAT3、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 を軽微に阻害したが、OAT1 及び BCRP は阻害しなかった。レミマゾラムの IC_{50} 値は、OAT3 で 100 μmol/L 超であり、OCT2 及び OATP1B3 で約 100 μmol/L、OATP1B1 で約 10 μmol/L であった。また、CNS 7054 は OAT3、OATP1B1 及び OATP1B3 を阻害するが、OAT1、OCT2 又は BCRP を阻害しなかった。IC_{50} 値は OAT3 で 50 μmol/L 超と推定され、OATP1B1 及び OATP1B3 では約 500 μmol/L であった（[redacted]）。

最新のガイダンス（FDA, 2017[6]; EMA, 2012[7]）に則して、その他のトランスポーターとの相互作用を *in vitro* 試験で検討し、相互作用の有無を判断した。各トランスポーターを発現させた膜ベシクル又はイヌ腎臓尿細管上皮細胞（MDCK）II 細胞を用いて *in vitro* 試験を実施した（[redacted]）。レミマゾラムは 100 μmol/L で BSEP、MATE1 及び MATE2-K をそれぞれ 63%、30%及び 33%阻害したが、CNS 7054 はこれらトランスポーターを阻害しなかった。CNS 7054 は P-gp 及び BCRP の基質であるが、多剤耐性関連蛋白質（MRP）2、MRP3 及び MRP4 の基質ではなかった。

レミマゾラムが P-gp の基質／阻害剤及び CNS 7054 が P-gp の阻害剤になる可能性について、P-gp

を発現させた LLC-GA5-CoL150 細胞を用いた検討を行った（[redacted]）。^{3}H-ジゴキシンを P-gp の典型的基質並びにシクロスポリン A 及びベラパミルを特異的阻害剤として使用した。レミマゾラムの efflux 比は 2.0 未満であり、シクリスポリン A 及びベラパミル存在下での efflux 比の変化もみられなかったことから、レミマゾラムは P-gp の基質ではないと判断した。また、レミマゾラム（2～50 µmol/L）及び CNS 7054（3～300 µmol/L）ともに ^{3}H-ジゴキシン（1 µmol/L）の P-gp を介した膜透過を阻害しなかった。トランスポーターに関する試験のまとめを表 2.6.4-33 に示す。これらの複数の試験結果を臨床用量におけるレミマゾラム及び CNS 7054 の遊離型濃度と比較した時、臨床用量（CNS7056-010 試験の最高用量）におけるレミマゾラムの遊離型の C_{max} は 1 µmol/L 未満、CNS 7054 遊離型の C_{max} は 3.6 µmol/L であることから、レミマゾラムは臨床使用においていずれの薬物トランスポーターとも相互作用を起こさないと考えられた。

表 2.6.4-33　トランスポーターの基質又は阻害剤としてのレミマゾラム及び CNS 7054

SLC transporters	Remimazolam	CNS 7054	ABC transporters	Remimazolam	CNS 7054
Substrate/inhibitor			Substrate/inhibitor		
OATP1B1	n/ (y)	ND/(y)	P-gp	n/n	y/n
OATP1B3	n/ (y)	ND/(y)	BCRP	n/n	y/n
OAT1	ND/n	ND/n	BSEP	ND/ (y)	ND/n
OAT3	ND/ (y)	ND/(y)	MRP2	ND/ND	n/ND
OCT2	ND/ (y)	ND/n	MRP3	ND/ND	n/ND
MATE1	ND/ (y)	ND/n	MRP4	ND/ND	n/ND
MATE2-K	ND/ (y)	ND/n			

SLC = solute carrier, ABC = ATP-binding cassette
n = not a substrate or inhibitor, y = substrate or inhibitor, (y) =weak or negligible inhibition, no clinical relevance, ND = not determined

2.6.4.8　その他の薬物動態試験

レミマゾラムの開発初期における評価の一環として、その時点で得られていた動物及び *in vitro* 試験の成績を外挿して、ヒトにおける代謝クリアランス並びに $t_{1/2}$ の予測を試みた。概略を以下に示す。

2.6.4.8.1　レミマゾラムのヒトにおける代謝クリアランス及び消失半減期の予測

試験番号：[redacted]（参考資料）、記載箇所：4.2.2.7.1

イヌ、ミニブタ、ヒトについて、*in vitro* における血漿中非結合型分率（f_u）、血液／血漿中濃度比（R_B）、血漿、肝、腎及び肺ホモジネート中での $t_{1/2}$ を算出し、代謝クリアランス値（CL_{vitro}）を算出した。さらに、イヌ及びミニブタにおけるレミマゾラムの V_{ss} を用い、ヒトでの $t_{1/2}$ を予測した。併せて、イヌ及びミニブタの CL/CL_{vitro} 比を scaling factor として補正したときの $t_{1/2}$ も算出した。また、ヒトで予測した $t_{1/2}$（血漿中濃度推移）及びミニブタにおけるレミマゾラムの薬物動態／薬力学（PK/PD）解析モデルを用い、ヒトにレミマゾラムを持続投与したときの投与終了後の覚醒時間を予測した。

レミマゾラムのイヌ、ミニブタ及びヒトにおける f_u はそれぞれ 0.267、0.244、及び 0.133、R_B はそれぞれ 0.97、1.03 及び 0.97 であった。CL_{vitro} はイヌ、ミニブタ及びヒトにおいてそれぞれ 1.09、20.3、3.95 mL/min/kg であった（表 2.6.4-34）。レミマゾラムのヒトにおける $t_{1/2}$ を 130 分（イヌから推定）又は 67 分（ミニブタから推定）と予測した。イヌ及びミニブタにおける CL/CL_{vitro} 比を scaling factor として補正したときのヒトにおける CL_{vitro} はそれぞれ 52.0 及び 3.87 mL/min/kg、$t_{1/2}$

はそれぞれ 9.7 及び 68 分であった（表 2.6.4-35）。

ヒトにレミマゾラムを投与したとき、投与終了後 PD score が 2 及び 1 に至るまでの時間は、薬物動態をイヌから外挿した場合はそれぞれ 28 分及び 34 分、ミニブタから外挿した場合はそれぞれ 101 分及び 135 分と予測された。

表 2.6.4-34　イヌ、ミニブタ及びヒトの *in vitro* における f_u、R_B 及び CL_{vitro}

	f_u	R_B	CL_{vitro} (mL/min/kg)[c]
Dog	0.267[a]	0.97[a]	1.09
Minipig (Clawn)	0.244[b]	1.03[b]	20.3
Human	0.133[b]	0.97[b]	3.95

Data represent mean values
a: n = 4
b: n = 2
c: n = 3
Data from [redacted]

表 2.6.4-35　ヒトにおけるレミマゾラムの代謝クリアランス及び $t_{1/2,vivo}$ の予測値

		Estimate V_{ss}[a] (mL/kg)	CL_{vitro} (mL/min/kg)	$t_{1/2,vivo}$ (min)
From dog data	Not normalized	730	3.95	130
	Normalized [b]	730	52.0	9.7
From minipig data	Not normalized	380	3.95	67
	Normalized [b]	380	3.87	68

a: V_β values were estimated from PK data *in vivo*
b: CL_{met} value was normalized with scaling factor estimated from *in vitro* and *in vivo* data.
Data from [redacted]

2.6.4.9 考察及び結論

In vitro 及び *in vivo* 非臨床薬物動態試験を通じて、レミマゾラムの体内動態特性を明らかにした。

検討した動物 5 種にレミマゾラムを静脈内投与したときの $t_{1/2}$ は短く、分布容積は大きかったことから、レミマゾラムの速やかで広範囲な組織分布が示唆された。いずれの組織でも蓄積はほとんどみられなかった。ヒト血球への分布は、レミマゾラム 1～10 μg/mL で 7.5%～11.7%であった。

レミマゾラム及び代謝物の胎盤通過性は非常に低く、胎児の持続した曝露はないと考えられた。また、レミマゾラム及び代謝物は乳汁中に移行が確認されており、乳汁中薬物濃度は母動物の血漿中濃度推移に伴った挙動を示した。また、メラニンを含有する眼組織にも移行することが確認されているが、血漿中濃度の推移に伴い消失することから、蓄積性は認められていない。

レミマゾラムの主な代謝経路は、肝臓中の CES による CNS 7054 への代謝であり、その後、側鎖が水酸化及びグルクロン酸抱合される。主代謝物である CNS 7054 への代謝には主に CES1 が関与しており、レミマゾラムの消失に CYP の実質的な関与はなく、CYP を介した薬物相互作用の可能性は極めて小さいと考えられる。

投与後の $t_{1/2}$ は短く、レミマゾラムは速やかに代謝を受けて消失することが示された。このことは、静脈内持続投与終了後の麻酔または鎮静からの回復が早いことに繋がっている。

放射能標識レミマゾラムを使用した試験から、レミマゾラムの主な排泄経路は、ラットでは胆汁を介した糞中排泄、サルでは腎排泄であることが示された。

薬物相互作用に関する一連の *in vitro* 試験から、レミマゾラムと CES の基質又は阻害剤であるエスモロール、アトルバスタチン、ジルチアゼム及びランジオロール間で、臨床上の薬物相互作用は非常に低いことが示された。

さらに、レミマゾラム及び CNS 7054 は主要 CYP（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 又は CYP3A4）に対する阻害、並びにレミマゾラムによる CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 の誘導を示さなかった。また、レミマゾラムは主なヒト薬物トランスポーター（OATP1B1、OATP1B3、P-gp 及び BCRP）の基質ではなく、レミマゾラムは P-gp、OAT1 及び BCRP を、CNS 7054 は P-gp、OAT1、OCT2、MATE1、MATE2-K、BCRP 及び BSEP に対する阻害を示さなかった。

また、レミマゾラムとレミフェンタニルとの肝における CES の競合による薬物相互作用はないと考えられ、臨床上の併用に問題がないことが示唆された。

結論

レミマゾラムは $t_{1/2}$ が短く速やかな消失を示し、これらの薬物動態特性は臨床使用において、患者の容態に応じて適時の効果調整が可能な静脈内投与麻酔薬に適している。また、その短い $t_{1/2}$ により麻酔又は鎮静からの覚醒が素早く行われると考えられる。

レミマゾラムは他剤との薬物動態学的薬物相互作用の可能性は低く、臨床適応において併用薬の制限が低い。

2.6.4.10 図表

文中に示した。

2.6.4.11 参考文献

1) Davies B and Moms T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res. 1993; 10 (7): 1093-5. (4.3.26)
2) Chiou WL. The phenomenon and rationale of marked dependence of drug concentration on blood sampling site. Implications in pharmacokinetics, pharmacodynamics, toxicology and therapeutics (Part I). Clin Pharmacokinet.1989; 17(3): 175-99. (4.3.27)
3) Chiou WL. The phenomenon and rationale of marked dependence of drug concentration on blood sampling site. Implications in pharmacokinetics, pharmacodynamics, toxicology and therapeutics (Part II). Clin Pharmacokinet. 1989; 17(4): 275-90. (4.3.28)
4) Xie M1, Yang D, Wu M, Xue B, Yan B. Mouse liver and kidney carboxylesterase (M-LK) rapidly hydrolyzes antitumor prodrug irinotecan and the N-terminal three quarter sequence determines substrate selectivity. Drug Metab Dispos. 2003; 31(1): 21-7. (4.3.29)
~~5)~~ Li B, Sedlacek M, Manoharan I, Boopathy R, Duysen EG, Masson P, et al. Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human plasma. Biochem Pharmacol. 2005; 70(11): 1673-84. (4.3.30)
6) FDA. Guidance for Industry. In vitro metabolism- and transporter-mediated drug-drug interaction studies. Draft Guidance (2017). (4.3.9)
7) European Medicines Agency: Guideline on the Investigation of Drug Interactions. 2012 Committee for Human Medicinal Products (CHMP). (4.3.10)

レミマゾラムベシル酸塩
アネレム静注用 50mg

第 2 部 CTD の概要
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.5 薬物動態試験概要表

ムンディファーマ株式会社

目次

頁
2.6.5 薬物動態試験概要表 4
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 4
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 7
2.6.5.2.1 分析方法バリデーション（ラット） 7
2.6.5.2.2 分析方法バリデーション（サル） 8
2.6.5.2.3 分析方法バリデーション（ブタ） 9
2.6.5.2.4 分析方法バリデーション（ブタ） 10
2.6.5.2.5 分析方法バリデーション（ラット） 11
2.6.5.2.6 分析方法バリデーション（ラット） 12
2.6.5.2.7 分析方法バリデーション（ラット） 13
2.6.5.2.8 分析方法バリデーション（ウサギ） 14
2.6.5.2.9 分析方法バリデーション（ウサギ） 15
2.6.5.2.10 分析方法バリデーション（ミニブタ） 16
2.6.5.2.11 分析方法バリデーション（サル） 17
2.6.5.2.12 分析方法バリデーション（ミニブタ） 18
2.6.5.2.13 分析方法バリデーション（ラット） 19
2.6.5.2.14 分析方法バリデーション（ラット） 20
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 21
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 28
2.6.5.4.1 ラットに 28 日間反復静脈内投与した時のトキシコキネティクス（RMN1018、RMN1047） 28
2.6.5.4.2 カニクイザルに 28 日間反復静脈内投与した時のトキシコキネティクス（RXA5004） 28
2.6.5.4.3 Pharmacokinetics: Absorption after Continuous Infusion 29
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 30
2.6.5.5.1 Distribution in Rats 30
2.6.5.5.2 Distribution in Rats (Gestation Day17) 32
2.6.5.5.3 Distribution in Monkey 33
2.6.5.6 薬物動態試験：乳汁移行 35
2.6.5.6.1 Milk transfer in Rat 35
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 36
2.6.5.7.1 Distribution and Placental Transfer 36
2.6.5.8 薬物動態試験：タンパク結合 37
2.6.5.8.1 Protein Binding of Remimazolam 37
2.6.5.8.2 Protein Binding of CNS 7054 38
2.6.5.9 薬物動態試験：その他の分布試験 39
2.6.5.9.1 Pharmacokinetics Study: Distribution to Blood Cells 39
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 40
2.6.5.10.1 *In vitro* Metabolism (Liver homogenates; mouse, rat, dog, human) 40

2.6.5.10.2 *In vitro* Metabolism (Tissue homogenates; cynomolgus monkey) 41
2.6.5.10.3 Inhibitory Effects by Esterase Inhibitors on Hydrolysis of ^{14}C-Remimazolam in the Incubation Mixture with Human Liver Homogenate 42
2.6.5.10.4 Indication of Human CES Isoforms on Hydrolysis of Remimazolam 43
2.6.5.11 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 44
2.6.5.11.1 *In vivo* Metabolism (Rat) 44
2.6.5.11.2 *In vivo* Metabolism (Monkey) 46
2.6.5.12 薬物動態試験：推定代謝経路 48
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 49
2.6.5.13.1 Urine, Feces and Bile Excretion 49
2.6.5.14 薬物動態試験：薬物相互作用 50
2.6.5.14.1 Effect of Remimazolam on Fluorescent Substrate Metabolism in Human CYP cDNA-expressed Microsomes 50
2.6.5.14.2 Effects of Remimazolam and CNS 7054 on CYP Isoform Activities in Human Microsomes 51
2.6.5.14.3 Inhibition of Remimazolam Metabolism by Remifentanil 52
2.6.5.15 薬物動態試験：その他 53
2.6.5.15.1 Prediction of Metabolic Clearance and Half Life 53

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

Test Article: Remimazolam

Bioanalytical Methods Type of Study	Test System	Bioanalytical method	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Analytical Methods and Validation Reports					
	Rat	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.1
	Monkey	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.2
	Pig	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.3
	Pig	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.4
	Rat, dog	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.5
	Rat	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.6
	Rat	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.7
	Rabbit	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.8
	Rabbit	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.9
	Minipig	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.10
	Monkey	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.11
	Minipig	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.12
	Rat	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.1
	Rat	ELISA	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.13
Absorption					
	Rat	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.1
	Rat	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.2
	Rabbit	infusion, p.o.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.3
	Dog	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.4
	Minipig	infusion	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.5
	Monkey	infusion	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.6
	Monkey	infusion	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.8
	Rat	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.2
	Rat	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.1
	Monkey	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.7
	Monkey	infusion	[redacted]	[redacted]	4.2.2.2.7

レミマゾラムベシル酸塩

Bioanalytical Methods Type of Study	Test System	Bioanalytical method	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Distribution					
	Rat	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.1
	Sheep	infusion	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.2
	Monkey	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.3
	Rat	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.4
	Rabbit	i.v. infusion	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.1.3
	Rat	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.5
	various	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.6
	various	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.7
	various	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.8
	various	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.9
Metabolism					
	Pig	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.4
	Rat, dog	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.5
	Rat	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.6
	Rabbit	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.9
	Minipig	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.10
	Monkey	LC/MS/MS	[redacted]	[redacted]	4.2.2.1.11
	various	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.1
	various	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.2
	various	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.3
	Monkey	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.4
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.5
	various	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.6
	Rat	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.7
	Monkey	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.8
	various	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.9
Excretion					
	Rat	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.1
	Monkey	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.3.3
	Rat	i.v.	[redacted]	[redacted]	4.2.2.5.2

レミマゾラムベシル酸塩

Bioanalytical Methods Type of Study	Test System	Bioanalytical method	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Pharmacokinetic Drug Interactions					
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.1
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.2
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.3
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.4
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.5
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.4.5
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.6
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.7
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.8
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.9
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.10
	Human	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.6.11
Other					
	n.a.	*in vitro*	[redacted]	[redacted]	4.2.2.7.1
[n.a. not available]					

Testing Facilities:

[redacted]

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

2.6.5.2.1 分析方法バリデーション（ラット）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.1]	
Short description of the method	SPE LC/MS/MS	
Biological matrix	Plasma, treated DFP	
Analyte	ONO-2745	ONO-IN-252
Internal standard (IS)	ONO-IN-268	ONO-IN-269
Calibration concentrations (ng/mL)	2, 5, 10, 20, 25, 50, 80 and 100	10, 25, 50, 100, 250, 500, 800 and 1000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	2 101% to 101% 9.0% to 13.4%	10 90.3% to 93.3% 6.8% to 10.3%
QC concentrations (ng/mL)	2, 5, 20 and 80	10, 25, 100 and 800
Between-run accuracy	99.5% to 102%	93.3 to 98.2%
Between-run precision	3.1% to 9.0%	3.9% to 10.3%
Within-run accuracy	101% to 106%	90.3% to 100%
Within-run precision	2.8% to 13.4%	2.2% to 6.8%
Long term stability of the internal standard working solutions Observed change %	Confirmed up to 27 days at 4°C 7.4%	Confirmed up to 27 days at 4°C 1.4%
Post-preparation stability (4°C) Observed change %	Confirmed up to 50 h -4.0% to 3.1%	Confirmed up to 50 h -2.8% to 2.3%
Short term stability in biological matrix on ice Observed change %	Confirmed up to 98 min 0.5% to 1.4%	Confirmed up to 98 min -7.3% to 7.6%
Long term stability in biological matrix (deproteinized sample) Observed change %	Confirmed up to 41 days at ≤-70°C 5 ng/mL -12.7% 80 ng/mL -7.2%	Confirmed up to 41 days at ≤-70°C 25 ng/mL -11.3% 800 ng/mL -10.8%
Freeze and thaw stability Observed change %	Not reported	
Dilution integrity Accuracy Precision	500 ng/mL diluted 50 to 250-fold 102% to 104% 5.1% to 6.5%	5000 ng/mL diluted 50 to 250-fold 92.0% to 100% 6.1% to 7.4%

DFP = diisopropylfluorophosphate

2.6.5.2.2 分析方法バリデーション（サル）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.2]	
Short description of the method	SPE LC/MS/MS	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon (10 µL/mL)	
Analyte	ONO-2745	ONO-IN-252
Internal standard (IS)	ONO-IN-268	ONO-IN-269
Calibration concentrations (ng/mL)	2, 5, 10, 20, 25. 50, 80 and 100	10, 25, 50, 100, 250, 500, 800 and 1000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	2 101% to 103% 4.4% to 6.5%	10 93.3% to 102% 1.7% to 7.8%
QC concentrations (ng/mL)	2, 5, 20 and 80	10, 25, 100 and 800
Between-run accuracy	98.7% to 101%	93.4% to 102%
Between-run precision	2.0% to 6.5%	2.9% to 7.8%
Within-run accuracy	97.9% to 103%	92.5% to 102%
Within-run precision	0.5% to 4.4%	1.6% to 7.0%
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Confirmed up to 25 h at room temperature ONO-2745 -0.9% ONO-IN-268 -4.1%	Confirmed up to 25 h at room temperature ONO-IN-262 1.2% ONO-IN-269 5.6%
Post-preparative stability (4°C) Observed change %	Confirmed up to 71 h -5.0% to 6.6%	Confirmed up to 71 h -0.5% to 3.4%
Short term stability in biological matrix at room temperature Observed change %	Not reported	
Long term stability in biological matrix Observed change %	Not reported	
Freeze and thaw stability Observed change %	Not reported	
Dilution integrity Accuracy Precision	500 ng/mL diluted 50 to 250-fold 100% to 107% 3.2% to 7.2%	5000 ng/mL diluted 50 to 250-fold 99.0% to 102% 1.4% to 2.2%

2.6.5.2.3 分析方法バリデーション（ブタ）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.3]	
Short description of the method	SPE LC/MS/MS	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon (10 µL/10 mL)	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	Midazolam	Alprazolam
Calibration concentrations (ng/mL)	2, 5, 10, 20, 50, 75 and 100	10, 25, 50, 100, 200, 500 and 1000
Lower limit of quantification (ng/mL) * Accuracy Precision	2 87.2% Not reported	10 102% Not reported
QC concentrations (ng/mL)	6, 20 and 80	30, 100 and 800
Between-run accuracy	Not reported	Not reported
Between-run precision	Not reported	Not reported
Within-run accuracy	100% to 105%	94.0% to 102%
Within-run precision	1.80% to 4.59%	8.49% to 13.8%
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported	
Post-preparative stability (4°C) Observed change %	Not reported	
Short term stability in biological matrix at room temperature Observed change %	Not reported	
Long term stability in biological matrix Observed change %	Not reported	
Freeze and thaw stability Observed change %	Not reported	
Dilution integrity ** Accuracy Precision	800 ng/mL 104% Not reported	Not reported

*: determined from calibration sample
**: determined from QC sample in sample analysis

2.6.5.2.4 分析方法バリデーション（ブタ）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.4]	
Short description of the method	SPE LC-MS/MS	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon (10 µL/10 mL)	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	Midazolam	Alprazolam
Calibration concentrations (ng/mL)	2, 5, 10, 20, 50, 75 and 100	10, 25, 50, 100, 200, 500 and 1000
Lower limit of quantification (ng/mL) * Accuracy Precision	2 114% Not reported	10 101% Not reported
QC concentrations (ng/mL)	6, 20 and 80	30, 100 and 800
Between-run accuracy	Not reported	Not reported
Between-run precision	Not reported	Not reported
Within-run accuracy	94.6% to 111%	98.5% to 107%
Within-run precision	7.45% to 10.4%	6.21% to 11.7%
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported	
Post-preparative stability Observed change %	Not reported	
Short term stability in biological matrix at room temperature Observed change %	Not reported	
Long term stability in biological matrix Observed change %	Not reported	
Freeze and thaw stability Observed change %	Not reported	
Dilution integrity Accuracy Precision	800 ng/mL diluted 20-fold 115% 3.68%	Not reported

*: determined from calibration sample

2.6.5.2.5 分析方法バリデーション（ラット）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.5]	
Short description of the method	SPE LC/MS/MS	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon (20 µL/10 mL)	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7056
Calibration concentrations (ng/mL)	2.00, 5.00, 10.0, 20.0, 25.0, 50.0 75.0 and 100	10.0, 25.0, 50.0, 100, 250, 500, 750 and 1000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	2.00 107% to 112% 2.21% to 5.26%	10.0 107% to 118% 10% to 13.5%
QC concentrations (ng/mL)	2.00, 4.00, 40.0, 70.0 and 100	10.0, 20.0, 400, 700 and 1000
Between-run accuracy	101% to 114%	96.0% to 107%
Between-run precision	2.22% to 5.70%	5.80% to 14.0%
Within-run accuracy	101% to 112%	96.6% to 118%
Within-run precision	0.664% to 2.21%	5.74% to 11.1%
IS normalized MF (all QC) C.V.% of IS normalized MF (all QC) % of QCs with >85% and <115% n.v.[1]	1.07 (4.00 ng/mL) 0.97 (70.0 ng/mL) 2.4% (4.00 ng/mL) 1.3% (70.0 ng/mL) 100% (4.00 ng/mL) 100% (70.0 ng/mL)	1.13 (20.0 ng/mL) 1.11 (700 ng/mL) 7.3% (20.0 ng/mL) 11% (700 ng/mL) 66.7% (20.0 ng/mL) 66.7% (700 ng/mL)
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Confirmed up to 1 month at 4°C in the dark Not reported	
Post-preparative stability (4°C) Observed change %	Confirmed up to 24 h -3.4% to 13%	Confirmed up to 24 h -9.0% to 3%
Short term stability in biological matrix at room temperature. Observed change %	Confirmed up to 24 h -0.803% to 0.424%	Confirmed up to 18 h -12.7% to 4.15%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Not reported	
Freeze and thaw stability Observed change %	-20°C, 3 cycles -1.10% to 1.79%	-20°C, 3 cycles -14.8% to -8.69%
Dilution integrity Accuracy Precision	500 ng/mL diluted 10-fold 97.7% to 98.4% 2.71% to 3.14%	5000 ng/mL diluted 10-fold 91.8% to 94.9% 8.00% to 8.37%

1; n.v. = nominal value

2.6.5.2.6 分析方法バリデーション（ラット）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.6]	
Short description of the method	SPE LC/MS/MS	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon (20 µL/10 mL)	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7054
Calibration concentrations (ng/mL)	2.00, 5.00, 10.0, 20.0, 25.0, 50.0, 75.0 and 100	10.0, 25.0, 50.0, 100, 250, 500, 750 and 1000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	2.00 112% to 117% 2.41% to 5.28%	10.0 105% to 109% 4.98% to 5.51%
QC concentrations (ng/mL)	2.00, 4.00, 40.0, 70.0 and 100	10.0, 20.0, 400, 700 and 1000
Between-run accuracy	108% to 112%	102% to 106%
Between-run precision	1.27% to 5.28%	1.27% to 5.51%
Within-run accuracy	109% to 117%	102% to 109%
Within-run precision	1.27% to 3.18%	1.01% to 4.98%
IS normalized Matrix Factor (MF, all QC) C.V.% of IS normalized MF (all QC) % of QCs with >85% and <115% n.v.[1]	1.09 (4.00 ng/mL) 1.08 (70.0 ng/mL) 1.7% (4.00 ng/mL) 1.5% (70.0 ng/mL) 100% (4.00 ng/mL) 100% (70.0 ng/mL)	1.06 (20.0 ng/mL) 1.07 (700 ng/mL) 1.1% (20.0 ng/mL) 2.1% (700 ng/mL) 100% (20.0 ng/mL) 100% (700 ng/mL)
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported	
Post-preparative stability (4°C) Observed change %	Confirmed up to 24 h 8% to 15%	Confirmed up to 24 h 5% to 9%
Short term stability in biological matrix at room temperature Observed change %	Confirmed up to 24 h -6.72 to -4.30%	Confirmed up to 24 h -1.41% to -0.422%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 1 month at -20°C 1.00% to 1.51%	Confirmed up to 1 month at -20°C 1.27% to 3.83%
Freeze and thaw stability Observed change %	-20°C, 3 cycles -3.42% to -3.33%	-20°C, 3 cycles -2.19% to 0.127%
Dilution integrity Accuracy Precision	500 ng/mL diluted 10-fold 107% to 108% 1.63% to 1.74%	5000 ng/mL diluted 10-fold 108% to 110% 0.998% to 2.25%

1; n.v. = nominal value

2.6.5.2.7 分析方法バリデーション（ラット）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.7]	
Short description of the method	Protein Precipitation (Methanol) LC/MS/MS	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon (2 µL/mL)	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7054
Calibration concentrations (ng/mL)	20, 60, 200, 600, 2000, 6000, 16000 and 20000	100, 300, 1000, 3000, 10000, 30000, 80000 and 100000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	20 108% to 114% 4.4% to 7.8%	100 106% to 111% 2.8% to 6.5%
QC concentrations (ng/mL)	20, 60, 2000, 15000 and 20000	100, 300, 10000, 75000 and 100000
Between-run accuracy	94.6% to 110%	95.6% to 108%
Between-run precision	1.9% to 3.6%	1.3% to 2.7%
Within-run accuracy	90.3% to 114%	91.8% to 111%
Within-run precision	1.0% to 9.2%	1.1% to 9.3%
IS normalized Matrix Factor (MF, all QC) C.V.% of IS normalized MF (all QC)	0.862 (60 ng/mL) 0.923 (2000 ng/mL) 0.920 (15000 ng/mL) 3.8% (60 ng/mL) 3.6% (2000 ng/mL) 3.6% (15000 ng/mL)	0.939 (300 ng/mL) 1.03 (10000 ng/mL) 0.999 (75000 ng/mL) 5.0% (300 ng/mL) 2.2% (10000 ng/mL) 2.2% (75000 ng/mL)
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported	
Post-preparative stability at room temperature Observed change %	Confirmed up to 99 h -6.0% to 16.8%	Confirmed up to 99 h -5.3% to 6.5%
Short term stability in rat whole blood containing NaF and paraoxon at 37°C Observed change %	Confirmed up to 2 h -7.5% to -7.4%	Confirmed up to 2 h -2.1% to 1.2%
Short term stability in rat plasma containing NaF and paraoxon at room temperature Observed change %	Confirmed up to 7 h -2.3% to -0.7%	Confirmed up to 7 h 5.5% to 11.3%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 171 days at -20°C 0.9% to 6.3%	Confirmed up to 171 days at -20°C 1.5% to 4.3%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 171 days at -80°C 0.3% to 9.0%	Confirmed up to 171 days at -80°C -1.4% to -0.9%
Freeze and thaw stability -20°C Observed change %	3 cycles 2.7% to 5.8%	3 cycles -0.6% to 0%
Freeze and thaw stability -80°C Observed change %	3 cycles 2.4% to 8.4%	3 cycles -0.8% to 3%
Dilution integrity Accuracy Precision	150000 ng/mL diluted 10-fold 91.6% to 100% 3.0%	750000 ng/mL diluted 10-fold 88.0% to 94.9% 2.6%

2.6.5.2.8 分析方法バリデーション（ウサギ）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.8]	
Short description of the method	Protein Precipitation (Methanol) LC/MS/MS (2 µL/mL)	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7054
Calibration concentrations (ng/mL)	10, 30, 100, 300, 1000, 3000, 8000 and 10000	20, 60, 200, 600, 2000, 6000, 16000 and 20000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	10 95.8% to 113% 8.3% to 12.6%	20 112% to 117% 11.6% to 13.1%
QC concentrations (ng/mL)	10, 30, 1000, 7500 and 10000	20, 60, 2000, 15000 and 20000
Between-run accuracy	99.4% to 105%	99.0% to 115%
Between-run precision	0.5% to 8.1%	6.9% to 9.9%
Within-run accuracy	92.5% to 114%	92.1% to 117%
Within-run precision	1.5% to 12.6%	2.6% to 13.2%
IS normalized Matrix Factor (MF, all QC) C.V.% of IS normalized MF (all QC)	1.02 (30 ng/mL) 1.03 (1000 ng/mL) 0.979 (7500 ng/mL) 7.2% (30 ng/mL) 1.5% (1000 ng/mL) 6.0% (7500 ng/mL)	1.09 (60 ng/mL) 0.998 (2000 ng/mL) 0.963 (15000 ng/mL) 11.2% (60 ng/mL) 4.2% (2000 ng/mL) 6.4% (15000 ng/mL)
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported	
Post-preparative at room temperature Observed change %	Confirmed up to 315 h -10.2% to 5.5%	Confirmed up to 315 h -10.8% to 20.0%
Short term stability in plasma at room temperature Observed change %	Confirmed up to 4 h -5.2% to -0.4%	Confirmed up to 4 h -3.1% to 0.2%
Short term stability in whole blood stored in wet ice Observed change %	Confirmed up to 1 h 1.2% to 10.3%	Confirmed up to 1 h 1.3% to 4.7%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 96 days at -20°C -6.1% to 0.6%	Confirmed up to 96 days at -20°C 5.0% to 7.6%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 96 days at -80°C -3.2% to -0.2%	Confirmed up to 96 days at -80°C 1.0% to 10.2%
Freeze and thaw stability at -20°C Observed change %	3 cycles 0.4% to 3.2%	3 cycles -4.8% to -0.9%
Freeze and thaw stability at -80°C Observed change %	3 cycles -0.6% to 3.8%	3 cycles -3.4% to 0.8%
Dilution integrity Accuracy Precision	75000 ng/mL diluted 10-fold 99.0% to 107% 2.6%	150000 ng/mL diluted 10-fold 105% to 112% 2.5%

2.6.5.2.9 分析方法バリデーション（ウサギ）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.9]	
Short description of the method	Liquid extraction C/MS/MS	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon (20 µL/10 mL)	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7054
Calibration concentrations (ng/mL)	1.00, 3.00, 10.0, 20.0, 40.0, 50.0, 80.0 and 100	5.00, 15.0, 50.0, 100, 250, 500, 800 and 1000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	1.00 92.1% to 95.7% 7.02% to 8.60%	5.00 89.4% to 92.6% 7.48% to 13.3%
QC concentrations (Units)	1.00, 3.00, 50.0, 80.0 and 100	5.00, 15.0, 500, 800 and 1000
Between-run accuracy	92.1% to 98.2%	92.6% to 101%
Between-run precision	2.44% to 8.60%	2.11% to 13.3%
Within-run accuracy	93.3% to 97.0%	89.4% to 102%
Within-run precision	1.02% to 7.02%	1.31% to 7.48%
IS normalized Matrix Factor (MF, all QC) C.V.% of IS normalized MF (all QC) % of QCs with >85% and <115% n.v.[1]	0.86 (3.00 ng/mL) 0.83 (80.0 ng/mL) 2.7% (3.00 ng/mL) 5.8% (80.0 ng/mL) 66.7% (3.00 ng/mL) 50% (80.0 ng/mL)	1.01 (15.0 ng/mL) 0.95 (800 ng/mL) 4.5% (15.0 ng/mL) 5.2% (800 ng/mL) 100% (15.0 ng/mL) 100% (800 ng/mL)
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported	
Post-preparative stability (4°C) Observed change %	Confirmed up to 96 h -8.9 to 0%	Confirmed up to 96 h -5.8 to 5%
Short term stability in biological matrix at room temperature Observed change %	Confirmed up to 24 h -1.86 to 5.70%	Confirmed up to 24 h -3.76 to -0.470%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 1 month at -20°C 1.67% to 4.84%	Confirmed up to 1 month at -20°C 1.85% to 2.73%
Freeze and thaw stability Observed change %	-20°C, 3 cycles -1.14 to 3.15%	-20°C, 3 cycles -2.27 to 0.448%
Dilution integrity Accuracy Precision	500 ng/mL diluted 10-fold 100% to 102% 3.51% to 3.95%	5000 ng/mL diluted 10-fold 107% to 111% 1.88% to 3.49%

1; n.v. = nominal value

2.6.5.2.10　分析方法バリデーション（ミニブタ）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.10]	
Short description of the method	SPE LC/MS/MS	
Biological matrix	NaF-Plasma	
Analyte	ONO-2745	ONO-IN-252
Internal standard (IS)	ONO-IN-268	ONO-IN-269
Calibration concentrations (ng/mL)	10.0, 20.0, 40.0, 100, 200, 400 and 1000	100, 200, 400, 1000, 2000, 4000 and 10000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	10.0 97.2% to 108% 2.3% to 5.1%	100 104 % to 106% 1.6% to 2.5%
QC concentrations (ng/mL)	10.0, 20.0, 100 and 800	100, 200, 1000 and 8000
Between-run accuracy	95.1% to 103%	97.9% to 105%
Between-run precision	2.7% to 5.1%	2.1% to 4.0%
Within-run accuracy	92.4% to 108%	93.2% to 106%
Within-run precision	1.3% to 4.0%	0.3% to 2.9%
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Confirmed up to 26 h at room temperature -1.3% to 3.6% Confirmed up to 46 days at -20°C -3.1% to -0.20%	Confirmed up to 26 h at room temperature -4.3% to 0.9% Confirmed up to 46 days at -20°C -3.3% to -1.0%
Post-preparative stability (4°C) Observed change %	Confirmed up to 72 h -7.3% to 12.7%	Confirmed up to 72 h 4.7% to 6.4%
Short term stability in biological matrix at room temperature Observed change %	Confirmed up to 24 h -2.5% to 5.0%	Confirmed up to 24 h 5.9% to 11.4%
Long term stability in biological matrix Observed change	Confirmed up to 35 or 37 days at -20°C -5.9% to 3.0%	Confirmed up to 35 or 37 days at -20°C -1.5% to 3.1%
Freeze and thaw stability Observed change %	-20°C, 3 cycles 3.5% to 10.9%	-20°C, 3 cycles 5.0% to 9.2%
Dilution integrity Accuracy Precision	10000 ng/mL diluted 20-fold 101% 1.7%	100000 ng/mL diluted 20-fold 112% 0.9%

2.6.5.2.11　分析方法バリデーション（サル）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.11]	
Short description of the method	SPE LC/MS/MS	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon (2 µL/10 mL)	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7054
Calibration concentrations (ng/mL)	2.00, 5.00, 10.0, 20.0, 25.0. 50.0, 75.0 and 100	10.0, 25.0, 50.0, 100, 250, 500, 750 and 1000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	2.00 116% to 116% 2.79% to 3.99%	10.0 98.9% to 102% 5.39% to 7.39%
QC concentrations (ng/mL)	2.00, 4.00, 40.0, 70.0 and 100	10.0, 20.0, 400, 700 and 1000
Between-run accuracy	106% to 116%	98.9% to 104%
Between-run precision	2.90% to 3.99%	4.27% to 7.39%
Within-run accuracy	107% to 116%	102% to 108%
Within-run precision	0.927% to 4.26%	1.82% to 5.39%
IS normalized Matrix Factor (MF, all QC) C.V.% of IS normalized MF (all QC) % of QCs with >85% and <115% n.v.	1.17 (4.00 ng/mL) 1.14 (70.0 ng/mL) 2.96% (4.00 ng/mL) 2.18% (70.0 ng/mL) 33.3% (4.00 ng/mL) 33.3% (70.0 ng/mL)	0.985 (20.0 ng/mL) 1.03 (700 ng/mL) 8.60% (20.0 ng/mL) 1.38% (700 ng/mL) 100% (20.0 ng/mL) 100% (700 ng/mL)
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported	
Post-preparative stability (4°C) Observed change %	Confirmed up to 24 h 5% to 19%	Confirmed up to 24 h 2% to 7%
Short term stability in biological matrix at room temperature Observed change %	Confirmed up to 24 h -4.48% to -1.07%	Confirmed up to 24 h 4.30% to 5.04%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 46 days at -20°C -2.41% to -2.98%	Confirmed up to 46 days at -20°C -2.94% to 3.18%
Freeze and thaw stability Observed change %	-20°C, 3 cycles -1.93% to -0.576%	-20°C, 3 cycles -0.458% to 0.572%
Dilution integrity Accuracy Precision	500 ng/mL diluted 10-fold 104% to 105% 2.30% to 3.17%	5000 ng/mL diluted 10-fold 104% to 106% 2.28% to 2.48%

2.6.5.2.12　分析方法バリデーション（ミニブタ）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.12]	
Short description of the method	Protein Precipitation (Methanol) LC/MS/MS	
Biological matrix	NaF-Plasma, treated with paraoxon (2 µL/mL)	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	D_4-CNS 7056	D_4-CNS 7054
Calibration concentrations (ng/mL)	20, 60, 200, 600, 2000, 6000,16000 and 20000	100, 300, 1000, 3000, 10000, 30000, 80000 and 100000
Lower limit of quantification (ng/mL) Accuracy Precision	20 103% to 115% 3.9% to 12.2%	100 100% to 116% 5.5% to 8.7%
QC concentrations (ng/mL)	20, 60, 2000, 15000 and 20000	100, 300, 10000, 75000 and 100000
Between-run accuracy	95.3% to 110%	96.9% to 110%
Between-run precision	2.9% to 9.9%	1.5% to 7.2%
Within-run accuracy	94.2% to 115%	95.0% to 116%
Within-run precision	1.8% to 12.2%	0.9% to 6.9%
IS normalized Matrix Factor (MF, all QC) C.V.% of IS normalized MF (all QC)	1.08 (60 ng/mL) 1.03 (2000 ng/mL) 1.06 (15000 ng/mL) 5.2% (60 ng/mL) 3.4% (2000 ng/mL) 2.4% (15000 ng/mL)	1.05 (300 ng/mL) 1.05 (1000 ng/mL) 1.07 (75000 ng/mL) 3.7% (300 ng/mL) 4.4% (1000 ng/mL) 2.9% (75000 ng/mL)
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported	
Post-preparative stability at room temperature Observed change %	Confirmed up to 129 h -3.3% to 18.3%	Confirmed up to 129 h -9.1% to 1.3%
Short term stability in plasma at room temperature Observed change %	Confirmed up to 8 h 2.1% to 3.9%	Confirmed up to 8 h 0.4% to 13.6%
Short term stability in whole blood stored at 37°C Observed change %	Confirmed up to 2 h -3.0% to -1.0%	Confirmed up to 2 h 1.2% to 9.7%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 91 days at -20°C -11.0% to -4.0%	Confirmed up to 91 days at -20°C -4.8% to 0.2%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 91 days at -80°C -13.7% to -8.2%	Confirmed up to 91 days at -80°C -4.0% to 0.8%
Freeze and thaw stability at -20°C Observed change %	3 cycles 7.6% to 12.0%	3 cycles 10.5% to 11.8%
Freeze and thaw stability at -80°C Observed change %	3 cycles 7.3% to 9.4%	3 cycles 8.9% to 9.6%
Dilution integrity Accuracy Precision	150000 ng/mL diluted 10-fold 92.6% to 96.0% 1.5%	750000 ng/mL diluted 10-fold 83.8% to 86.4% 1.2%

2.6.5.2.13　分析方法バリデーション（ラット）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.2.1]	
Short description of the method	SPE LC/MS/MS	
Biological matrix	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon (10 µL/10 mL)	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054
Internal standard (IS)	Midazolam	Alprazolam
Calibration concentrations (ng/mL)	2, 5, 10, 20, 50, 75 and 100	10, 25, 50, 100, 200, 500 and 1000
Lower limit of quantification (ng/mL) * Accuracy Precision	2 105% Not reported	10 97% Not reported
QC concentrations (ng/mL)	6, 20 and 80	30, 100 and 800
Between-run accuracy	Not reported	Not reported
Between-run precision	Not reported	Not reported
Within-run accuracy	108% to 110%	88.9% to 96.8%
Within-run precision	3.2% to 7.4%	4.7% to 16.5%
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported	
Post-preparative stability Observed change %	Not reported	
Short term stability in biological matrix at room temperature Observed change %	Not reported	
Long term stability in biological matrix Observed change %	Not reported	
Freeze and thaw stability Observed change %	Not reported	
Dilution integrity ** Accuracy Precision	800 ng/mL 108% 11.6%	1500 ng/mL 102% 9.4%

*: determined from calibration sample
**: determined from QC sample in sample analysis

2.6.5.2.14　分析方法バリデーション（ラット）

Analytical Validation Report [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.1.13]
Short description of the method	ELISA
Biological matrix	K_3EDTA-Plasma
Analyte	Dextran 40
Calibration model	4-parameter logistics
Calibration concentrations (mg/mL) in pooled rat plasma diluted 1:4 in PBS	0.0500, 0.100, 0.250, 0.500, 1.00, 2.50, 5.00 and 10.0
Lower limit of quantification (mg/mL) Accuracy Precision	0.8 107% to 129% 10.3% to 21.7%
QC concentrations (mg/mL) in pooled rat plasma diluted 1:4 in PBS	0.0500, 0.200, 4.00, 8.00 and 10.0
Between-run accuracy	94.8% to 107%
Between-run precision	3.9% to 21.7%
Within-run accuracy	82.5% to 129%
Within-run precision	2.8% to 19.1%
Long term stability of the stock solution and working solutions Observed change %	Not reported
Post-preparative stability Observed change %	Not reported
Short term stability in biological matrix at room temperature Observed change %	Confirmed up to 4 h 6.0% to 40.8%
Short term stability in biological matrix at 4°C Observed change %	Confirmed up to 4 h 8.8% to 9.0%
Long term stability in biological matrix Observed change %	Confirmed up to 136 days at -80°C -2.8% to 0.0%
Freeze and thaw stability Observed change %	-80°C, 3 cycles -6.0 % to 2.8%
Dilution integrity Accuracy Precision	200 mg/mL diluted 32~50-fold 82.4% to 92.0% 3.7% to 5.6%

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

Test Article: Remimazolam

Species	Sprague Dawley rat		Sprague Dawley rat	Rabbit		Beagle dog	
Study Number [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.2.1]		[redacted] [4.2.2.2.2]	[redacted] [4.2.2.2.3]		[redacted] [4.2.2.2.4]	
Gender (M/F)/Number of animals	M/4		M/4	F/6		M/4	
Feeding condition	fed		fed	fed		fed	
Vehicle/Formulation	100 mmol/L phosphate buffer pH 3		Physiological saline	Physiological saline		100 mmol/L phosphate buffer pH 3	
Route of administration/ Duration of infusion	i.v. bolus		i.v. bolus	i.v. (4 min.)	p.o.	i.v. bolus	
Dose (mg/kg)	25		10 (10 MBq/kg)	5		0.25	
Sample	EDTA/NaF-plasma treated with paraoxon		Plasma (DFP)	EDTA/NaF-plasma treated with paraoxon		EDTA/NaF-plasma treated with paraoxon	
Analyte	CNS 7056	CNS 7054	Radioactivity (^{14}C)	CNS 7056		CNS 7056	CNS 7054
Assay	SPE LC/MS/MS		LSC	SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS	
PK parameters on day	1		1	1	1	1	1
C_0 or C_{max} (mg/L)	3.98	42.5	NC	2.37	0.053	0.358	0.183
t_{max} (min)	NA	4	NC	6.6	49.8	NA	38
AUC_{0-t} (mg•min/L)	8.97	1545	15800 ± 1800 (AUC_{0-120h}: ng eq·min/mL)	86.8	6.6	15.2	26.5
$AUC_{0-\infty}$ (mg•min/L)	5.37 (n=1)	1548	16100 ± 1900 (ng eq•min/mL)	87.0	7.98	17.4	34.4 (n=1)
$t_{1/2}$ (min)	3.03 (n=1)	27.1	39 ± 4 (h)	46.2	70.2	63.3	153 (n=1)
MRT (min)	0.795 (n=1)	34.0	NA	NR	NR	65.3	211 (n=1)
CL (L/min/kg)	4.84 (n=1)	NA	NA	0.059	NC	0.014	NA
V_{ss} (L/kg)	3.85 (n=1)	NA	NA	3.88	NC	0.936	NA

DFP = diisopropylfluorophosphate, F = female, LSC = liquid scintillation counter, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated, NR = not reported, PK = pharmacokinetic
CNS 7056 = Remimazolam

Test Article: Remimazolam

Pharmacokinetics: Absorption after a Single Dose (cont.)

Species	NIBS Minipig									
Study Number [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.2.5]									
Gender (M/F)/Number of animals	M/3		M/3		M/3		M/3		M/3	
Feeding condition	fasted		fasted		fasted		fasted		fasted	
Vehicle/Formulation	Physiological saline		Physiological saline		Physiological saline		Physiological saline		Physiological saline	
Method of Administration	i.v. bolus		i.v. bolus		i.v. bolus		i.v. bolus		i.v. bolus	
Dose (mg/kg)	0.1		0.3		1.0		0.1		0.3	
Sample	Arterial plasma	Venous plasma	Arterial plasma	Venous plasma	Arterial plasma	Venous plasma	Arterial plasma	Venous plasma	Arterial plasma	Venous plasma
Analyte	ONO-2745		ONO-2745		ONO-2745		ONO-IN-252		ONO-IN-252	
Assay	SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS	
PK parameters on day	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C_0 or C_{max} (mg/L)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	0.125	0.123	0.26	0.248
t_{max} (min)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	15	20	10	20
AUC_{0-t} (mg•min/L)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	4.46	4.16	19.5	19.6
$AUC_{0-\infty}$ (mg•min/L)	0.950	1.58	3.02	4.92	10.7	17.6	NR	NR	NR	NR
$t_{1/2}$ (min)	12	14	19	18	22	25	140	150	82	78
MRT (min)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
CL (L/min/kg)	0.109	0.063	0.102	0.061	0.095	0.057	NR	NR	NR	NR
V_{ss} (L/kg)	1.68	1.16	2.11	1.30	2.30	1.45	NR	NR	NR	NR

F = female, M = male, NR = not reported, PK = pharmacokinetic
ONO-2745 = Remimazolam, ONO-IN-252 = CNS 7054

Test Article: Remimazolam

Pharmacokinetics: Absorption after a Single Dose (cont.)

Species	NIBS Minipig							
Study Number [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.2.5]							
Gender (M/F)/Number of animals	M/3		M/3		M/3		M/3	
Feeding condition	fasted		fasted		fasted		fasted	
Vehicle/Formulation	Physiological saline		Physiological saline		Physiological saline		Physiological saline	
Method of Administration/Duration of infusion	i.v. bolus		i.v. 4 h infusion		i.v. 4 h infusion		i.v. 4 h infusion	
Dose (mg/kg)	1.0		2.4		7.2		24	
Sample	Arterial plasma	Venous plasma	Arterial plasma	Venous plasma	Arterial plasma	Venous plasma	Arterial plasma	Venous plasma
Analyte	ONO-IN-252		ONO-2745		ONO-2745		ONO-2745	
Assay	SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS	
PK parameters on day	1	1	1	1	1	1	1	1
C_0 or C_{max} (ng/L)	0.815	0.748	0.195	0.189	0.547	0.511	1.62	1.85
t_{max} (min)	10	10	NR	NR	NR	NR	NR	NR
AUC_{0-t} (mg•min/L)	78.3	80.6	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$AUC_{0-\infty}$ (mg•min/L)	99.9	99.2	42.6	40.6	125	120	420	412
$t_{1/2}$ (min)	100	96	20	22	29	41	47	45
MRT (min)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
CL (L/min/kg)	NR	NR	0.057	0.060	0.058	0.060	0.058	0.059
V_{ss} (L/kg)	NR	NR	1.37	2.15	1.48	2.41	1.51	2.40

F = female, M = male, NR = not reported, ONO-2745 = Remimazolam, ONO-IN-252 = CNS 7054, PK = pharmacokinetic

Test Article: Remimazolam

Pharmacokinetics: Absorption after a Single Dose (cont.)

Species	NIBS Minipig					
Study Number [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.2.5]					
Gender (M/F)/Number of animals	M/3		M/3		M/3	
Feeding condition	fasted		fasted		fasted	
Vehicle/Formulation	Physiological saline		Physiological saline		Physiological saline	
Method of Administration/Duration of infusion	i.v. 4 h infusion		i.v. 4 h infusion		i.v. 4 h infusion	
Dose (mg/kg)	2.4		7.2		24	
Sample	Arterial plasma	Venous plasma	Arterial plasma	Venous plasma	Arterial plasma	Venous plasma
Analyte	ONO-IN-252		ONO-IN-252		ONO-IN-252	
Assay	SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS		SPE LC/MS/MS	
PK parameters on day	1	1	1	1	1	1
C_0 or C_{max} (ng/L)	0.762	0.730	1.78	1.71	4.67	4.73
t_{max} (min)	NR	NR	NR	NR	NR	NR
AUC_{0-t} (mg•min/L)	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$AUC_{0-\infty}$ (mg•min/L)	218	211	488	476	1460	1410
$t_{1/2}$ (min)	100	94	96	87	100	99
MRT (min)	NR	NR	NR	NR	NR	NR
CL (L/min/kg)	NR	NR	NR	NR	NR	NR
V_{ss} (L/kg)	NR	NR	NR	NR	NR	NR

F = female, M = male, NR = not reported, ONO-IN-252 = CNS 7054, PK = pharmacokinetic

Test Article: Remimazolam

Pharmacokinetics: Absorption after a Single Dose (cont.)

Species	Cynomolgus monkey						
Study Number [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.2.6]						
Gender (M/F)/Number of animals	M/3+F/3	M/3+F/3	M/3+F/3	M/3+F/3	M/3+F/3	M/3+F/3	M/3+F/3
Feeding condition	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Vehicle/Formulation	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Route of administration/Duration of infusion	i.v. 5 min. infusion	i.v. 5 min. infusion	i.v. 5 min. infusion	i.v. 5 min. infusion	i.v. 5 min. infusion	i.v. 5 min. infusion	i.v. 2 h infusion
Dose (mg/kg)	1.5	1.5	3	3	6	6	6
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	RF7056	RF7054	RF7056	RF7054	RF7056	RF7054	RF7056
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK parameters on day	1	1	1	1	1	1	1
C_{max} (mg/L)	1.6	2.6	2.7	5.1	6.4	14.3	1.4
t_{max} (min)	5.00	16.7	5.8	18.3	6.7	20.8	108
AUC_{0-t} (mg•min/L)	55.6 *	173.8 *	121.8 *	351.8 *	252.6 *	1054.9 *	207.2 **
$AUC_{0-\infty}$ (mg•min/L)	56.0	175.0	122.3	353.7	253.3	1060.6	208.8
$t_{1/2}$ (min)	42.2	62.4	51.2	57.4	58.0	56.8	80.4
MRT (min)	57.9	72.3	64.2	73.7	68.7	75.5	61.2
CL (L/min/kg)	0.0277	NA	0.0259	NA	0.0243	NA	0.0289
V_{ss} (L/kg)	1.68	NA	1.91	NA	2.02	NA	3.36

F = female, M = male, NA = not applicable, NR = not reported, RF7056 = Remimazolam, RF7054 = CNS 7054, PK = pharmacokinetic

*: $AUC_{0-605\ min}$, **: $AUC_{0-24\ h}$,

Test Article: Remimazolam

Pharmacokinetics: Absorption after a Single Dose (cont.)

Species	Cynomolgus monkey								
Study Number [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.2.6]								
Gender (M/F)/Number of animals	M/3+F/3	M/3+F/3	M/3+F/3	M/3+F/3	M/3+F/3	M/4+F/4	M/4+F/4	M/4+F/4 ***	M/4+F/4***
Feeding condition	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Vehicle/Formulation	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Route of administration/Duration of infusion	i.v. 2 h infusion	i.v. 2 h infusion	i.v. 2 h infusion	i.v. 2 h infusion	i.v. 2 h infusion	i.v. 5 min. infusion	i.v. 5 min. infusion	i.v. 5 min. infusion	i.v. 5 min. infusion
Dose (mg/kg)	6	12	12	24	24	3	3	3	3
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Analyte	RF7054	RF7056	RF7054	RF7056	RF7054	RF7056	RF7054	RF7056	RF7054
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK parameters on day	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C_{max} (mg/L)	3.7	3.4	8.6	5.6	26.7	4.5	5.3	4.4	6.0
t_{max} (min)	120	108	120	102	120	5	13.8	5.3	18.8
AUC_{0-t} (mg•min/L)	554.5 **	547.3 **	1375.6 **	963.2 **	4631.0 **	116.3 *	353.9 *	128.3 *	417.2 *
$AUC_{0-\infty}$ (mg•min/L)	562.4	550.8	1384.7	970.4	4633.8	116.8	355.9	129.0	419.1
$t_{1/2}$ (min)	97.8	78.0	90.6	78.6	82.2	58.6	46.1	54.6	45.5
MRT (min)	139.8	68.4	157.8	64.2	108.6	51.1	71.3	47.4	72.7
CL (L/min/kg)	NA	0.0224	NA	0.0250	NA	0.0261	NA	0.0239	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	2.51	NA	2.82	NA	2.21	NA	1.89	NA

F = female, M = male, NA = not applicable, NR = not reported, PK = pharmacokinetic, RF7056 = Remimazolam, RF7054 = CNS 7054

*: $AUC_{0\text{-}605\ min}$, **: $AUC_{0\text{-}24\ h}$, ***: Test article was bought from [redacted].

Test Article: Remimazolam

Pharmacokinetics: Absorption after a Single Dose (cont.)

Species	Cynomolgus monkey							
Study Number [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.2.8]							
Gender (M/F)/Number of animals	M/4	M/4	M/4	M/4	M/4	M/4	M/4	M/4
Feeding condition	Fed	Fed	Fed	Fed	Fed	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation	Physiological saline	Physiological saline	Physiological saline	Physiological saline	Physiological saline	Physiological saline	Physiological saline	Physiological saline
Route of administration/Duration of infusion	i.v. 9 h infusion	i.v. 9 h infusion	i.v. 9 h infusion	i.v. 9 h infusion	i.v. 9 h infusion	i.v. 9 h infusion	i.v. 9 h infusion	i.v. 9 h infusion
Dose (mg/kg)	6.75	6.75	9.0	9.0	11.25	11.25	22.5	22.5
Sample (Whole blood, plasma, serum etc.)	EDTA/NaF-plasma treated with paraoxon							
Analyte	ONO-2745	ONO-IN-252	ONO-2745	ONO-IN-252	ONO-2745	ONO-IN-252	ONO-2745	ONO-IN-252
Assay	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK parameters on day	1	1	1	1	1	1	1	1
C_{max} (mg/L)	0.450	0.954	0.594	1.29	0.886	1.65	2.18	4.45
t_{max} (min)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$AUC_{0\text{-}24h}$ (mg•min/L)	239	587	323	792	443	1080	1116	2622
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (mg•min/L)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
$t_{1/2}$ (min)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
MRT (min)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
CL (L/min/kg)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
V_{ss} (L/kg)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

F = female, M = male, NR = not reported, PK = pharmacokinetic, ONO-2745 = Remimazolam, ONO-IN-252 = CNS 7054

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

Test Article: Remimazolam

2.6.5.4.1 ラットに 28 日間反復静脈内投与した時のトキシコキネティクス（[redacted]、[redacted]）

2.6.7.3 項のトキシコキネティクス参照

2.6.5.4.2 カニクイザルに 28 日間反復静脈内投与した時のトキシコキネティクス（[redacted]）

2.6.7.3 項のトキシコキネティクス参照

2.6.5.4.3 Pharmacokinetics: Absorption after Continuous Infusion

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.2.7

Species	Cynomolgus monkey																				
Gender (M/F)/ Number of animals	F/2/group																				
Feeding conditions	Fed																				
Vehicle/ formulation	Physiological saline																				
Method of administration	Infusion (24 h ×7 days)																				
Dose (mg/kg/h)	1 or 5																				
Sample	EDTA/NaF-Plasma, treated with paraoxon																				
Analyte	ONO-2745, ONO-IN-252																				
Determination method	SPE LC/MS/MS																				
	1 mg/kg/h																				
Analyte	Animal No.	Time after the start of dosing (h)														Time after the end of dosing (h)						
		Pre	0.5	1	3	6	12	24	36	48	72	96	120	144	168	0.17	0.5	1	3	6	12	24
ONO-2745	TR1F02	ND	120	191	250	252	335	341	323	371	392	323	344	384	204	113	64.3	38.4	7.56	4.50	2.96	3.05
	TR1F03	ND	108	136	195	232	251	288	274	266	259	275	339	316	329	184	119	68.9	18.6	7.31	4.66	4.93
	Mean	0.00	114	164	223	242	293	315	299	319	326	299	342	350	267	149	91.7	53.7	13.1	5.91	3.81	3.99
ONO-IN-252	TR1F02	ND	109	456	590	773	929	871	1020	837	899	1100	1140	1020	882	1050	1210	1040	189	96.1	63.3	38.9
	TR1F03	ND	102	220	424	559	556	826	599	707	549	682	795	817	774	715	725	401	260	77.1	38.5	54.7
	Mean	0.00	106	338	507	666	743	849	810	772	724	891	968	919	828	883	968	721	225	86.6	50.9	46.8
	5 mg/kg/h																					
ONO-2745	TR2F01	ND	779	1470	861	1450	1170	1280	1190	1380	1380	1150	1150	1170	1390	742	391	166	30.7	19.2	13.1	10.7
	TR2F02	ND	1010	1400	1700	1460	2760	1570	1630	1540	1580	1730	979	1060	1140	980	500	361	271	261	318	251
	Mean	0.00	895	1440	1280	1460	1970	1430	1410	1460	1480	1440	1060	1120	1270	861	446	264	151	140	166	131
ONO-IN-252	TR2F01	ND	985	4790	4800	3580	5460	5270	5600	7380	8060	6700	6310	7340	5580	9270	9920	8220	1560	785	483	290
	TR2F02	ND	1070	2680	4430	4090	7110	5800	5090	6420	4070	5900	3630	2350	3130	4290	4460	3290	1390	970	843	668
	Mean	0.00	1030	3740	4620	3840	6290	5540	5350	6900	6070	6300	4970	4850	4360	6780	7190	5760	1480	878	663	479

F = female, M = male, ND = not determined (less than lower limit of quantification), ONO-2745 = Remimazolam, ONO-IN-252 = CNS 7054

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 Distribution in Rats

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.3.1

Pharmacokinetics: Distribution

Species	Sprague Dawley rat					
Gender (M/F) / Number of animals	M/15 (3 per timepoint)					
Feeding conditions	Fed					
Vehicle/formulation	Physiological saline					
Method of administration	i.v. bolus					
Dose (mg/kg)	10					
Radionuclide	^{14}C					
Specific activity	3.70 MBq/mg					
Sampling time	5 min., 1, 8, 24 and 72 h					
Tissues/Organs	Concentration (ng.eq./g or mL)					
	5 min	1 h	8 h	24 h	72 h	$t_{1/2,\beta}$ [a](h)
Plasma	23700 ± 3400	2690 ± 1600	41.4 ± 8.3	13.1 ± 1.9	5.38 ± 0.46	37
Blood	15600 ± 2400	1730 ± 1080	38.2 ± 6.0	15.8 ± 2.6	9.61 ± 1.15	67
Cerebrum	942 ± 69	59.8 ± 25.1	4.61 ± 0.42	ND	ND	NC
Cerebellum	854 ± 153	60.2 ± 23.8	5.44 ± 0.54	2.17 ± 0.10	1.20 ± 1.04	56
Pituitary gland	4750 ± 830	731 ± 597	ND	ND	ND	NC
Spinal cord	1410 ± 90	88.7 ± 46.1	6.37 ± 0.68	ND	ND	NC
Eyeball	1910 ± 210	347 ± 95	13.8 ± 0.4	5.26 ± 0.56	2.51 ± 0.36	45
Harderian gland	5750 ± 390	360 ± 211	40.2 ± 4.2	21.2 ± 3.2	9.35 ± 0.66	41
Thyroid gland	6810 ± 2670	909 ± 198	24.0 ± 22.3	ND	ND	NC
Mandibular gland	5840 ± 560	573 ± 357	35.5 ± 5.3	16.2 ± 1.1	7.45 ± 2.34	43
Thymus	4520 ± 260	329 ± 190	23.6 ± 2.7	13.1 ± 1.9	9.23 ± 0.86	95
Heart	7610 ± 770	764 ± 448	25.9 ± 3.5	10.9 ± 2.9	4.92 ± 0.66	42
Lung	10500 ± 900	1070 ± 560	36.6 ± 4.7	18.6 ± 1.8	11.5 ± 0.9	69
Liver	48700 ± 9300	6900 ± 3130	270 ± 41	71.0 ± 14.0	23.2 ± 2.1	30
Kidney	79500 ± 5500	10400 ± 4300	200 ± 45	42.6 ± 4.7	17.5 ± 0.8	37
Adrenal gland	9310 ± 450	653 ± 303	37.2 ± 9.0	17.4 ± 3.3	ND	NC
Spleen	5020 ± 550	488 ± 284	32.2 ± 1.9	15.4 ± 1.0	8.19 ± 0.13	53
Pancreas	4950 ± 410	716 ± 167	39.0 ± 4.9	10.8 ± 1.9	5.05 ± 0.42	44
Fat	1950 ± 680	196 ± 131	6.05 ± 5.25	ND	ND	NC
Skeletal muscle	5900 ± 720	382 ± 198	20.4 ± 2.2	9.16 ± 1.95	6.44 ± 0.88	94
Skin	6180 ± 160	880 ± 421	49.1 ± 8.9	34.6 ± 2.6	16.1 ± 2.4	43

Test Article: Remimazolam

Pharmacokinetics: Distribution in Rat (cont.)

Tissues/Organs	Concentration (ng.eq./g or mL)					
	5 min	1 h	8 h	24 h	72 h	$t_{1/2,\beta}$ [a](h)
Thigh bone	1960 ± 150	205 ± 64	24.0 ± 0.5	15.4 ± 3.3	11.1 ± 2.1	100
Bone marrow	5550 ± 510	508 ± 322	49.4 ± 5.0	29.3 ± 2.2	2.61 ± 4.53	14
Mesenteric lymph node	6680 ± 30	900 ± 397	42.1 ± 16.4	11.2 ± 3.4	3.57 ± 3.10	29
Testes	3190 ± 50	561 ± 309	14.1 ± 2.6	6.76 ± 0.43	1.31 ± 2.27	20
Epididymis	3720 ± 180	504 ± 292	27.1 ± 11.6	11.6 ± 3.2	4.32 ± 0.69	34
Prostate gland	3920 ± 290	432 ± 225	50.7 ± 35.7	12.3 ± 1.5	3.56 ± 3.16	27
Seminal vesicle	2240 ± 750	1010 ± 610	36.1 ± 3.9	13.4 ± 3.1	11.8 ± 5.8	260
Stomach	11800 ± 5400	696 ± 182	53.4 ± 22.1	17.3 ± 3.3	6.34 ± 0.53	33
Duodenum	41000 ± 17100	6140 ± 1630	217 ± 134	24.1 ± 10.6	5.96 ± 1.37	24
Small intestine	7690 ± 3200	9950 ± 3340	259 ± 123	29.8 ± 12.0	5.45 ± 0.46	20
Cecum	4620 ± 980	1070 ± 270	5310 ± 4150	304 ± 217	10.0 ± 1.9	9.7
Large intestine	4780 ± 550	853 ± 356	4750 ± 2550	315 ± 334	8.85 ± 1.61	9.3
Urinary bladder	14300 ± 7000	3450 ± 2070	306 ± 65	22.4 ± 4.8	6.94 ± 1.40	28

F = female, M = male, ND: not detected, NC = not calculated
a: The half-life was calculated from the mean concentrations of three animals.

2.6.5.5.2 Distribution in Rats (Gestation Day17)

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.3.5

Pharmacokinetics: Distribution in Rat (Gestation Day17)

Species	Sprague Dawley rat, Gestation Day17					
Gender (M/F)/Number of animals	F/15 (3 per timepoint)					
Feeding conditions	Fed					
Vehicle/formulation	Physiological saline					
Method of administration	i.v. bolus					
Dose (mg/kg)	10					
Radionuclide	^{14}C					
Specific activity	3.58 MBq/mg					
Sampling time	5min., 1, 8, 24 and 48 h					
Tissues/Organs	Concentration (ng.eq./g or mL)					
	5 min	1 h	8 h	24 h	48 h	$t_{1/2}$ (h)
Plasma	23100 ± 500	2240 ± 440	71.1 ± 6.4	23.3 ± 1.1	10.8 ± 2.9	15
Blood	16400 ± 200	1520 ± 310	67.4 ± 2.9	25.9 ± 0.3	15.3 ± 2.8	19
Cerebrum	1180 ± 110	89.9 ± 23.4	10.3 ± 0.7	5.24 ± 0.97	3.89 ± 0.45	29
Heart	9380 ± 830	1010 ± 330	61.4 ± 3.6	25.7 ± 1.3	17.0 ± 0.5	22
Lung	13000 ± 1400	1230 ± 310	73.3 ± 3.9	34.1 ± 2.3	26.9 ± 2.6	29
Liver	47600 ± 2300	6440 ± 1750	255 ± 52	72.0 ± 9.0	47.3 ± 11.4	17
Kidney	95300 ± 10200	14000 ± 2600	212 ± 31	64.7 ± 11.0	47.2 ± 7.4	19
Spleen	5040 ± 260	518 ± 144	95.8 ± 12.2	36.8 ± 1.4	23.3 ± 3.5	20
Pancreas	4550 ± 400	633 ± 96	74.7 ± 27.1	24.3 ± 3.1	14.6 ± 0.5	18
Thymus	6050 ± 330	496 ± 137	62.0 ± 3.2	36.9 ± 1.2	31.0 ± 1.9	42
Skeletal muscle	6990 ± 1160	371 ± 92	47.5 ± 1.7	21.0 ± 3.6	13.4 ± 1.1	23
Thigh bone	2120 ± 210	128 ± 46	20.7 ± 1.9	9.37 ± 0.99	8.26 ± 0.83	32
Ovary	7540 ± 820	709 ± 73	57.3 ± 2.8	29.3 ± 3.6	21.4 ± 1.0	29
Uterus	6920 ± 950	1650 ± 640	69.6 ± 1.6	34.9 ± 1.1	22.9 ± 1.7	26
Placenta	3990 ± 670	901 ± 43	70.1 ± 5.5	34.3 ± 4.3	21.5 ± 3.6	24
Amniotic fluid	210 ± 179	107 ± 48	59.1 ± 13.1	22.4 ± 5.8	5.19 ± 1.82	11
Amnion	982 ± 82	515 ± 340	92.3 ± 24.4	80.7 ± 14.0	65.9 ± 11.1	82
Fetus (whole)	1090 ± 120	390 ± 48	30.6 ± 0.7	15.7 ± 0.9	9.50 ± 1.14	24
Fetal blood	1660 ± 300	517 ± 78	35.1 ± 2.5	20.5 ± 1.6	16.1 ± 0.5	37

2.6.5.5.3 Distribution in Monkey

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.3.3

Pharmacokinetics: Distribution in Monkey

Species	Cynomolgus monkey	
Gender (M/F) / Number of animals	M/2 (1 per timepoint)	
Feeding conditions	Fed	
Vehicle/formulation	Physiological saline	
Method of administration	i.v. bolus	
Dose (mg/kg)	10	
Radionuclide	^{14}C	
Specific activity	3.70 MBq/mg	
Sampling time	5 min., 168 h	
Tissues/Organs	Concentration (ng.eq./g or mL)	
	5 min	168 h
Plasma	23400 (1.00)	96.4 (1.00)
Blood	15500 (0.66)	80.9 (0.84)
Cerebrum	19400 (0.83)	22.2 (0.23)
Cerebellum	19000 (0.81)	23.7 (0.25)
Pituitary gland	24700 (1.06)	64.4 (0.67)
Spinal cord	14000 (0.60)	14.7 (0.15)
Eyeball	2330 (0.10)	16.1 (0.17)
Cornea	4960 (0.21)	18.3 (0.19)
Aqueous humor	992 (0.04)	1.28 (0.01)
Iris & ciliary body	17700 (0.76)	85.6 (0.89)
Lens	1230 (0.05)	33.9 (0.35)
Vitreous body	377 (0.02)	1.09 (0.01)
Retina & choroid	12700 (0.54)	109 (1.13)
Sclera	3360 (0.14)	24.0 (0.25)
Thyroid gland	14700 (0.63)	84.3 (0.87)
Mandibular gland	7890 (0.34)	67.5 (0.70)
Thymus	6420 (0.27)	61.0 (0.63)
Heart	22000 (0.94)	83.3 (0.86)
Lung	22100 (0.94)	80.9 (0.84)
Liver	40900 (1.75)	441 (4.57)
Kidney	42800 (1.83)	135 (1.40)

Test Article: Remimazolam

Pharmacokinetics: Distribution in Monkey (cont.)

Tissues/Organs	Concentration (ng.eq./g or mL)	
	5 min	168 h
Adrenal gland	31600 (1.35)	123 (1.28)
Spleen	11500 (0.49)	71.6 (0.74)
Pancreas	20300 (0.87)	70.2 (0.73)
Fat	3400 (0.15)	164 (1.70)
Skeletal muscle	16100 (0.69)	59.0 (0.61)
Thigh bone	506 (0.02)	8.78 (0.09)
Skin	2230 (0.10)	80.7 (0.84)
Bone marrow	8740 (0.37)	72.7 (0.75)
Mesenteric lymph node	11700 (0.50)	93.4 (0.97)
Testis	7780 (0.33)	51.8 (0.54)
Epididymis	6690 (0.29)	66.6 (0.69)
Seminal vesicle	3630 (0.16)	50.6 (0.52)
Prostate gland	5110 (0.22)	57.8 (0.60)
Stomach	36000 (1.54)	63.1 (0.65)
Duodenum	16800 (0.72)	57.2 (0.59)
Small intestine	12100 (0.52)	50.3 (0.52)
Cecum	10300 (0.44)	49.6 (0.51)
Large intestine	10400 (0.44)	49.0 (0.51)
Urinary bladder	3120 (0.13)	60.3 (0.63)
Gall bladder	22000 (0.94)	126 (1.31)
Bile in gall bladder	28300 (1.21)	702 (7.28)

F = female, M = male

Figures in parentheses are expressed as the ratio of concentration in tissue relative to plasma.

2.6.5.6 薬物動態試験：乳汁移行

2.6.5.6.1 Milk transfer in Rat

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.3.4

Species	Sprague Dawley rat			
Lactating date/Number of animals	Day 11/3			
Feeding condition	Fed			
Vehicle/Formulation	0.9% saline			
Method of Administration	i.v. bolus			
Dose (mg/kg)	10			
Analyte	Total radioactivity, ^{14}C			
Assay	LSC			
Time (h)	1	8	24	48
Plasma (ng eq./mL)	1090	51.7	19.6	9.53
Milk (ng eq./mL)	1040	108	45.5	26.8
Milk/Plasma	0.91	2.10	2.11	2.89

LSC = liquid scintillation counter

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.7.1 Distribution and Placental Transfer

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.3.5

Species	Sprague Dawley rat, Gestation Day17					
Gender (M/F)/ Number of animals	F/15 (3 per timepoint)					
Feeding conditions	Fed					
Vehicle/formulation	Physiological saline					
Method of administration	i.v. bolus					
Dose (mg/kg)	10					
Radionuclide	^{14}C					
Specific activity	3.58 MBq/mg					
Sampling time	5 min., 1, 8, 24 and 48 h					
Tissue	Concentration（ng eq./g or mL）					$t_{1/2}$ [a] (h)
	5 min	1 h	8 h	24 h	48 h	
Plasma	23100 ± 500 [1.00]	2240 ± 440 [1.00]	71.1 ± 6.4 [1.00]	23.3 ± 1.1 [1.00]	10.8 ± 2.9 [1.00]	15
Blood	16400 ± 200 [0.71]	1520 ± 310 [0.68]	67.4 ± 2.9 [0.95]	25.9 ± 0.3 [1.11]	15.3 ± 2.8 [1.42]	19
Cerebrum	1180 ± 110 [0.05]	89.9 ± 23.4 [0.04]	10.3 ± 0.7 [0.14]	5.24 ± 0.97 [0.22]	3.89 ± 0.45 [0.36]	29
Heart	9380 ± 830 [0.41]	1010 ± 330 [0.45]	61.4 ± 3.6 [0.86]	25.7 ± 1.3 [1.10]	17.0 ± 0.5 [1.57]	22
Lung	13000 ± 1400 [0.56]	1230 ± 310 [0.55]	73.3 ± 3.9 [1.03]	34.1 ± 2.3 [1.46]	26.9 ± 2.6 [2.49]	29
Liver	47600 ± 2300 [2.06]	6440 ± 1750 [2.88]	255 ± 52 [3.59]	72.0 ± 9.0 [3.09]	47.3 ± 11.4 [4.38]	17
Kidney	95300 ± 10200 [4.13]	14000 ± 2600 [6.25]	212 ± 31 [2.98]	64.7 ± 11.0 [2.78]	47.2 ± 7.4 [4.37]	19
Spleen	5040 ± 260 [0.22]	518 ± 144 [0.23]	95.8 ± 12.2 [1.35]	36.8 ± 1.4 [1.58]	23.3 ± 3.5 [2.16]	20
Pancreas	4550 ± 400 [0.20]	633 ± 96 [0.28]	74.7 ± 27.1 [1.05]	24.3 ± 3.1 [1.04]	14.6 ± 0.5 [1.35]	18
Thymus	6050 ± 330 [0.26]	496 ± 137 [0.22]	62.0 ± 3.2 [0.87]	36.9 ± 1.2 [1.58]	31.0 ± 1.9 [2.87]	42
Skeletal muscle	6990 ± 1160 [0.30]	371 ± 92 [0.17]	47.5 ± 1.7 [0.67]	21.0 ± 3.6 [0.90]	13.4 ± 1.1 [1.24]	23
Thigh bone	2120 ± 210 [0.09]	128 ± 46 [0.06]	20.7 ± 1.9 [0.29]	9.37 ± 0.99 [0.40]	8.26 ± 0.83 [0.76]	32
Ovary	7540 ± 820 [0.33]	709 ± 73 [0.32]	57.3 ± 2.8 [0.81]	29.3 ± 3.6 [1.26]	21.4 ± 1.0 [1.98]	29
Uterus	6920 ± 950 [0.30]	1650 ± 640 [0.74]	69.6 ± 1.6 [0.98]	34.9 ± 1.2 [1.50]	22.9 ± 1.7 [2.12]	26
Placenta	3990 ± 670 [0.17]	901 ± 43 [0.40]	70.1 ± 5.5 [0.99]	34.3 ± 4.3 [1.47]	21.5 ± 3.6 [1.99]	24
Amniotic fluid	210 ± 179 [0.01]	107 ± 48 [0.05]	59.1 ± 13.1 [0.83]	22.4 ± 5.8 [0.96]	5.19 ± 1.82 [0.48]	11
Amnion	982 ± 82 [0.04]	515 ± 340 [0.23]	92.3 ± 24.4 [1.30]	80.7 ± 14.0 [3.46]	65.9 ± 11.1 [6.10]	82
Fetus	1090 ± 120 [0.05]	390 ± 48 [0.17]	30.6 ± 0.7 [0.43]	15.7 ± 0.9 [0.67]	9.50 ± 1.14 [0.88]	24
Fetal blood	1660 ± 300 [0.07]	517 ± 78 [0.23]	35.1 ± 2.5 [0.49]	20.5 ± 1.6 [0.88]	16.1 ± 0.5 [1.49]	37

F = female, M = male
a：Calculated using the mean ratio activity concentrations from 8 h post-dose. [ ]：Ratio of tissue/plasma

2.6.5.8 薬物動態試験：タンパク結合

2.6.5.8.1 Protein Binding of Remimazolam

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD:4.2.2.3.6

Target entity: ^{14}C-ONO-2745 （Remimazolam）

Test system and method: Ultrafiltration

Sample	^{14}C-Remimazolam (μg/mL)	Protein binding (%)
Rat serum [a]	1	71.0 ± 0.7
	3	70.7 ± 0.9
	10	70.1 ± 0.2
Monkey serum	1	76.0 ± 0.2
	3	76.2 ± 0.3
	10	77.2 ± 0.5**
Human serum	1	92.1 ± 0.6
	3	91.9 ± 0.3
	10	91.6 ± 0.2
HSA (43 mg/mL)	1	88.6 ± 0.2
	3	88.7 ± 0.3
	10	88.5 ± 0.4
α_1-AGP (1 mg/mL)	1	77.6 ± 0.8
	3	69.7 ± 0.6*
	10	41.8 ± 1.3**

Data are expressed as the mean values ± S.D. of four experiments.
a: Containing DFP (diisopropylfluorophosphate)
HSA = Human serum albumin
α_1-AGP = Human α_1-acid glycoprotein
*: Significantly different from the protein binding at concentration of 1 μg/mL ($p<0.05$)
**: Significantly different from the protein binding at concentration of 1 and 3 μg/mL ($p<0.05$)

2.6.5.8.2 Protein Binding of CNS 7054

Test Article: CNS 7054
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.3.7

Target entity: ^{14}C-ONO-IN-252/CNS 7054

Test system and method: Ultrafiltration

Sample	^{14}C-CNS 7054 (μg/mL)	Protein binding (%)
Rat serum	0.5	75.4 ± 1.0
	5	74.9 ± 1.1
	15	74.0 ± 1.2
	50	72.0 ± 0.9**
Monkey serum	0.5	86.1 ± 0.7
	5	86.5 ± 0.6
	15	86.4 ± 0.5
	50	85.8 ± 0.8
Human serum	0.5	91.6 ± 0.7
	5	91.8 ± 0.6
	15	91.9 ± 0.5
	50	91.3 ± 1.0
HSA (43 mg/mL)	0.5	94.3 ± 0.2
	5	95.1 ±0.1*
	15	95.0 ± 0.1*
	50	94.6 ± 0.2***
α_1-AGP (1 mg/mL)	0.5	8.0 ± 1.4
	5	7.4 ± 0.4
	15	6.6 ± 0.7
	50	5.8 ± 1.0*

Data are expressed as the mean values ± S.D. of four experiments.
HSA = Human serum albumin
α_1-AGP = Human α_1-acid glycoprotein
*: Significantly different from concentration of 0.5 μg/mL ($p<0.05$ by the Tukey test)
**: Significantly different from concentration of 0.5 and 5 μg/mL ($p<0.05$ by the Tukey test)
***: Significantly different from concentration of 0.5, 5 and 15 μg/mL ($p<0.05$ by the Tukey test)

2.6.5.9 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.9.1 Pharmacokinetics Study: Distribution to Blood Cells

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.3.9

Test system	*In vitro*	
Test system and method	Rat, monkey and human blood containing ^{14}C-ONO-2745BS was incubated for 5 minutes at 37°C, then some of blood was sampled to determine the radioactivity in blood. In addition, some of blood containing ^{14}C-ONO-2745BS was centrifuged to measure the radioactivity in plasma. The remaining blood containing ^{14}C-ONO-2745BS was also used to determine the hematocrit level (Ht). The radioactivity in blood, plasma and Ht level were used to calculate the distribution to blood cells and the blood/plasma concentration ratio.	
Radionuclide	^{14}C	
Quantified (analyzed) substance/quantification method	Radioactivity/LSC	
Sample size	4	
Species	Rat	
	Distribution ratio to blood cells (%)	Blood/plasma concentration ratio
ONO-2745 concentration (μg/mL)		
1	15.5 ± 3.4	0.74 ± 0.02
3	12.8 ± 3.5	0.72 ± 0.03
10	12.9 ± 3.0	0.72 ± 0.02
Species	Monkey	
	Distribution ratio to blood cells (%)	Blood/plasma concentration ratio
ONO-2745 concentration (μg/mL)		
1	33.3 ± 2.7	0.79 ± 0.08
3	30.8 ± 4.6	0.77 ± 0.02
10	32.2 ± 4.0	0.78 ± 0.04
Species	Human	
	Distribution ratio to blood cells (%)	Blood/plasma concentration ratio
ONO-2745 concentration (μg/mL)		
1	7.5 ± 2.4	0.58 ± 0.02
3	8.3 ± 1.3	0.59 ± 0.02
10	1.7 ± 2.0	0.61 ± 0.03

LSC = liquid scintillation counter

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

2.6.5.10.1 *In vitro* Metabolism (Liver homogenates; mouse, rat, dog, human)

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.4.3

Test system: Metabolism of Remimazolam (RM) and Remifentanil (RF) by liver homogenates

Method: RM and RF (positive control) (final concentration: 1 μmol/L) were incubated with liver homogenates [30% (w/v)] prepared from mouse, rat, dog and human at 37°C up to 60 minutes. Time-concentration profiles of RM, its metabolite CNS 7054, and RF were investigated.

（Mean, μmol/L, n = 2）

Incubation time (min.)	Mouse			Rat			Dog			Human		
	RM	CNS 7054	RF	RM	CNS 7054	RF	RM	CNS 7054	RF	RM	CNS 7054	RF
0	0.86	0.15	0.67	0.38	0.80	0.580	1.16	0	1.12	1.00	0.11	1.00
1	0.89	0.16	0.32	0.13	0.93	0.540	1.11	0.02	1.05	0.98	0.26	0.93
2	0.79	0.26	0.08	0.03	1.14	0.391	1.07	0.04	1.10	0.82	0.45	0.80
4	0.62	0.41	0.02	0	0.96	0.121	0.98	0.08	1.01	0.47	0.75	0.53
6	0.45	0.57	0	0	1.19	0.040	NA	NA	0.91	0.28	0.90	0.36
8	0.35	0.68	0	0	1.29	0.014	0.90	0.17	0.86	0.17	1.00	0.24
10	0.26	0.77	0	0	1.28	0.007	0.87	0.19	0.80	0.11	10.7	0.16
15	0.15	0.84	0	0	1.23	0.003	0.80	0.26	0.65	0.04	1.16	0.06
60	0	1.18	0	0	1.38	0	0.39	0.67	0.17	0	1.31	0

NA = not applicable

2.6.5.10.2 *In vitro* Metabolism (Tissue homogenates; cynomolgus monkey)

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.4.4

Test system: Metabolism of Remimazolam by tissue homogenates of Cynomolgus monkey

Method: Remimazolam (final concentration: 1 μmol/L) was incubated with liver, lung, kidney and brain homogenates [30% (w/v)] prepared from cynomolgus monkey at 37°C up to 60 minutes. Time-concentration profiles of Remimazolam and its metabolite CNS 7054 were investigated.

（Mean, μmol/L, n = 2）

Incubation time (min.)	liver				Lung		Kidney		Brain	
	Remimazolam		CNS 7054		Remimazolam	CNS 7054	Remimazolam	CNS 7054	Remimazolam	CNS 7054
0	1.17	1.37	0.03	0.06	1.31	BLQ	1.35	0.04	1.20[a]	0.008
1	1.10	-	0.04	-	1.32	BLQ	1.14	0.12	1.23[a]	0.008
2	1.04	-	0.08	-	1.23	0.014	1.03	0.22	1.28[a]	0.010
4	0.92	1.22	0.13	0.22	1.28	0.022	0.92	0.40	1.14	0.009
6	0.84	-	0.20	-	1.25	0.036	0.82	0.57	1.14	0.011
8	0.82	-	0.26	-	1.27	0.039	0.72	0.68	1.12	0.011
10	0.79	-	0.30	-	1.28	0.044	0.68	0.84	1.10	0.014
12	-	0.79	-	0.45	-	-	-	-	-	-
15	0.64	-	0.36	-	1.20	0.062	0.47	1.05	1.09	0.019
20	-	0.53	-	0.74	-	-	-	-	-	-
30	-	0.40	-	0.98	-	-	-	-	-	-
45	-	0.22	-	0.98	-	-	-	-	-	-
60	0.11	0.11	0.54	1.20	1.00	0.236	0.05	1.44	1.09	0.050

- = not determined, BLQ = below the quantification limit
a: n = 1

2.6.5.10.3 Inhibitory Effects by Esterase Inhibitors on Hydrolysis of ^{14}C-Remimazolam in the Incubation Mixture with Human Liver Homogenate

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.4.5

Test system: Metabolism of Remimazolam in lung, liver, kidney and plasma

Method: ^{14}C-ONO-2745BS was added to each homogenate (lung, liver and kidney) and plasma, then incubated at 37°C up to 60 minutes. In addition, each esterase inhibitor and ^{14}C-ONO-2745BS were added to liver homogenate and incubated 37°C for 15 minutes.

Esterase inhibitor	Esterase	Residual ratio (% of control)
BNPP	Carboxylesterase	98.1
DFP	Carboxylesterase/Cholinesterase	100.1
NaF	Nonspecific	97.3
Eserine	Cholinesterase	46.4
PHMB	Arylesterase	24.0
NONE	-	45.9

BNPP = Bis-*p*-nitrophenyl phosphate, DFP = Diisopropylfluorophosphate, NaF = Sodium fluoride, ONO-2745 = Remimazolam, PHMB = *β*-Hydroxymercuribenzoic acid sodium salt
Mean values of two experiments, Incubation time: 15min
Residual ratio was calculated from the mean value of the percentage of ONO-2745 on the radio chromatogram at 15 min-incubation compared to that at 0 min.

2.6.5.10.4 Indication of Human CES Isoforms on Hydrolysis of Remimazolam

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.4.6

Test system: Identification of CES isoform involved in the hydrolysis of ONO-2745

Method: ^{14}C-Remimazolam (10 μmol/L) was incubated with each human CES-expressing membrane protein (Bactsomes™) at 30°C.

Bactosomes™	Incubation time (min.)	% in sample	
		Remimazolam	CNS 7054
CES1	0	96.8	2.0
	60	90.5	8.4
CES2	0	96.7	2.2
	60	96.4	2.3
Control	0	96.5	2.4
	60	96.6	2.4

CES = carboxylesterase, ONO-2745 = Remimazolam
Data are expressed as the mean value of two determinations.

2.6.5.11 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

2.6.5.11.1 *In vivo* Metabolism (Rat)

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.4.7

Species	Sprague Dawley rat				
Gender (M/F)/Animal numbers	M/3/Group (Plasma), M/4/Group (urine, feces and bile)				
Diet	Fed				
Soluvent/Concentration	Physiological saline				
Administration method	i.v.				
Dose (mg/kg)	10				
Sample	Samples of study No. AE-6096-G, AE-6098-G and AE-6099-G				
Radionuclide	^{14}C				
Measurement method	HPLC-RAD				
Plasma [a]					
Unchanged compound and metabolites	Retention time (min, n=2)	5 min after administration		1 h after administration	
		% of radioactivity in plasma (%)	Radioactivity concentration (ng eq./mL)	% of radioactivity in plasma (%)	Radioactivity concentration (ng eq./mL)
Remimazolam	-	ND	ND	ND	ND
CNS 7054	37.7, 37.8	96.2	22800	88.1	2370
RP-1	12.5, 12.6	ND	ND	2.4	64.6
RP-2	30.5, 30.6	0.2	35.6	1.8	48.4
RP-3	33.7, 33.8	0.4	95.1	ND	ND
Others		3.3	NC	7.8	NC
Urine [a]					
Unchanged compound and metabolites	Retention time (min, n=2)	% of radioactivity in urine (0-24 h)		% of dose	
Remimazolam	-	ND		ND	
CNS 7054	37.8, 37.9	91.4		41.0	
RU-1	12.5, 12.6	0.8		0.4	
RU-2	25.1, 25.4	0.4		0.2	
RU-3	30.6	1.2		0.5	
RU-4	33.7, 33.9	0.7		0.3	
Others		5.5		NC	

Test Article: Remimazolam

In vivo Metabolism (Rat: cont.)

Feces [a]			
Unchanged compound and metabolites	Retention time (min, n=2)	% of radioactivity in feces (0-24 h)	% of dose
Remimazolam	-	ND	ND
CNS 7054	-	ND	ND
RF-1	17.1, 17.2	0.9	0.4
RF-2	25.2	6.5	3.1
RF-3	30.5	48.7	23.5
RF-4	31.7, 31.8	3.8	1.9
RF-5	39.0, 39.1	8.6	4.2
Others		31.6	NC
Bile [a]			
Unchanged compound and metabolites	Retention time (min, n=2)	% of radioactivity in bile (0-24 h)	% of dose
Remimazolam	54.4, 54.6	1.0	0.6
CNS 7054	37.4	35.2	22.0
RB-1	12.2, 12.3	4.9	3.1
RB-2	24.3, 24.4	2.8	1.7
RB-3	30.3	39.3	24.6
RB-4	33.4, 33.5	4.2	2.6
Others		12.8	NC

F = female, M = male, NC = not calculated, ND = not detected, RB = rat bile, RF = rat feces, RP = rat plasma, RU = rat urine
a: mean (n = 2)
Excretion ratio: Urine 44.8% (0-24 h), Feces 48.3% (0-24 h), Bile 62.4% (0-24 h)

2.6.5.11.2 *In vivo* Metabolism (Monkey)

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.4.8

Species	Cynomolgus monkey
Gender (M/F)/Animal numbers	M/1/Group
Diet	Fed
Soluvent/Concentration	Physiological saline
Administration method	i.v.
Dose (mg/kg)	10
Sample	Sample of study No. AE-6095-G
Radionuclide	^{14}C
Measurement method	HPLC-RAD

Plasma [a]

Unchanged compound and metabolites	Retention time (min, n=2)	4 h after administration		8 h after administration	
		% of radioactivity in plasma (%)	Radioactivity concentration (ng eq./mL)	% of radioactivity in plasma (%)	Radioactivity concentration (ng eq./mL)
Remimazolam	54.6 - 54.8	5.1	83.7	2.5	16.0
CNS 7054	37.8 - 38.0	44.8	734	36.1	231
MP-1	11.0	ND	ND	1.1	7.03
MP-2	24.8 - 25.0	12.8	210	14.0	89.1
MP-3	28.6 - 28.8	6.7	110	6.0	38.1
MP-4	33.5 - 33.8	3.0	48.4	4.3	27.2
Others		27.8	NC	36.2	NC

Urine [a]

Unchanged compound and metabolites	Retention time (min, n=2)	% of radioactivity in urine (0-24 h)	% of dose
Remimazolam	-	ND	ND
CNS 7054	38.0. 38.1	76.6	47.1
MU-1	11.0	1.6	1.0
MU-2	25.1, 25.2	1.8	1.1
MU-3	33.7	11.0	6.8
Others		9.1	NC

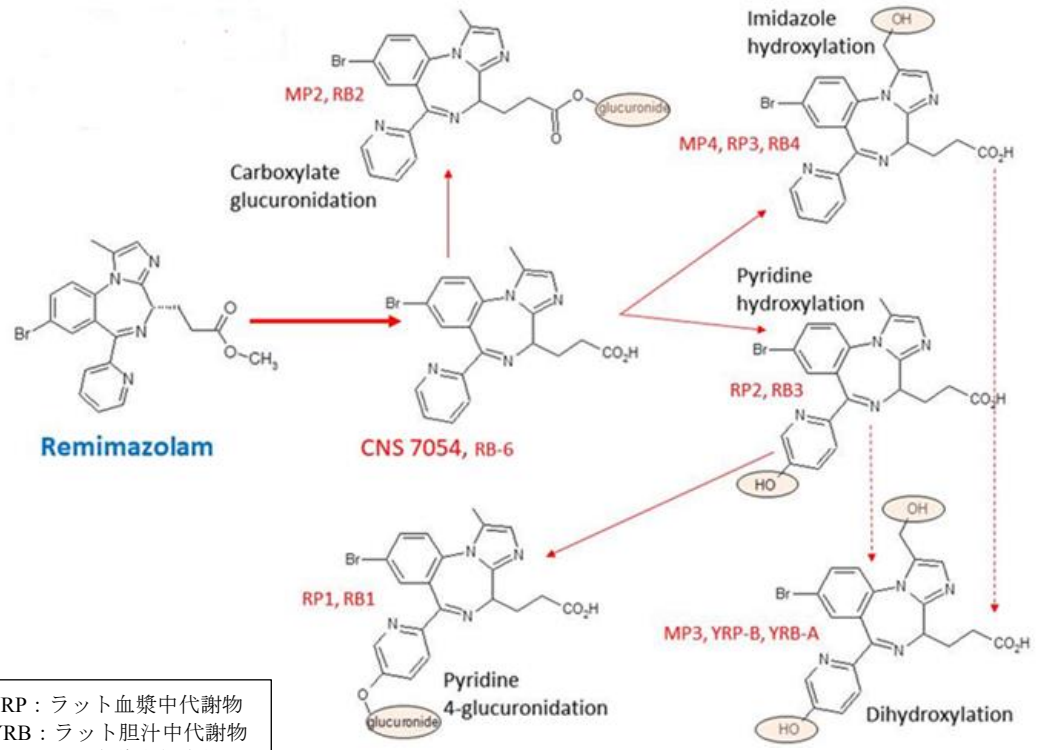
Test Article: Remimazolam

In vivo Metabolism (Monkey: cont.)

Feces [a]			
Unchanged compound and metabolites	Retention time (min, n=2)	% of radioactivity in feces (0-96 h)	% of dose
Remimazolam	-	ND	ND
CNS 7054	32.7, 37.3	2.7	0.5
MF-1	17.3, 17.4	3.4	0.6
MF-2	23.9, 24.1	1.7	0.3
MF-3	25.1	25.7	4.3
MF-4	26.5	3.0	0.5
MF-5	29.5, 29.6	9.8	1.7
MF-6	30.5, 30.6	6.0	1.0
MF-7	38.5, 38.6	11.1	1.9
MF-8	40.3, 40.5	2.1	0.4
Others		34.9	NC
Bile (in gall bladder) [a]			
Unchanged compound and metabolites	Retention time (min, n=2)	% of radioactivity in bile (5 min)	Radioactivity concentration (ng eq./mL)
Remimazolam	55.0	9.1	2580
CNS 7054	38.4	25.5	7220
MB-1	7.7	11.2	3160
MB-2	9.4, 9.5	0.9	241
MB-3	24.0, 24.1	13.1	3710
MB-4	26.5, 26.6	2.0	566
MB-5	33.9	3.4	963
MB-6	41.1	0.9	241
MB-7	45.0, 45.5	3.8	1060
MB-8	46.6, 46.8	1.2	326
MB-9	-	ND	ND
MB-10	51.2, 51.5	2.2	609
MB-11	52.2, 52.4	1.4	397
MB-12	53.6, 53.7	0.5	142
Others		25.1	NC

F = female, M = male, NC = not calculated, ND = not detected, MB = monkey bile, MF = monkey feces, MP = monkey plasma, MU = monkey urine
a: mean (n = 2)
Excretion rattio: Urine 61.5% (0-24 h), Feces 16.9% (0-96 h)

2.6.5.12 薬物動態試験：推定代謝経路



RP 及び YRP：ラット血漿中代謝物
RB 及び YRB：ラット胆汁中代謝物
MP　　：サル血漿中代謝物

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 Urine, Feces and Bile Excretion

Test Article: Remimazolam

Study numbers [Location(s)]	[redacted] [4.2.2.5.1]			[redacted] [4.2.2.5.2]				[redacted] [4.2.2.3.3]		
Species	Sprague Dawley rat			Sprague Dawley rat				Cynomolgus monkey		
Gender (M/F)/Number of animals	M/4			M/4				M/1/group		
Feeding condition	Fed			Fed				Fed		
Vehicle/formulation	Physiological saline			Physiological saline				Physiological saline		
Method of administration	i.v.			i.v.				i.v.		
Dose (mg/kg)	10			10				10		
Analyte	^{14}C (3.7 MBq/mg)			^{14}C (3.7 MBq/mg)				^{14}C (3.7 MBq/mg)		
Assay	LSC			LSC				LSC		
Excretion route	Urine	Feces	Total	Bile	Urine	Feces	Total	Urine	Feces	Total
Time										
0 - 2 h	NA	NA	NA	60.8 ± 6.6	NA	NA	NA	NA	NA	NA
0 - 4 h	NA	NA	NA	61.7 ± 6.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA
0 - 8 h	42.6 ± 7.4	NA	NA	62.0 ± 6.8	32.2 ± 6.4	NA	94.1 ± 0.8	55.4	NA	NA
0 - 24 h	44.8 ± 7.5	48.3 ± 7.0	93.0 ± 3.4	62.4 ± 6.9	33.3 ± 6.6	0.7 ± 0.2	96.4 ± 0.5	61.5	0.2	61.7
0 - 48 h	45.1 ± 7.4	52.5 ± 6.8	97.6 ± 0.7	62.4 ± 6.9	33.4 ± 6.7	0.8 ± 0.2	96.7 ± 0.5	64.0	10.2	74.2
0 - 72 h	45.2 ± 7.3	52.6 ± 6.8	97.8 ± 0.7	NA	NA	NA	NA	64.8	15.3	80.1
0 - 96 h	45.3 ± 7.3	52.6 ± 6.8	98.0 ± 0.6	NA	NA	NA	NA	65.3	16.9	82.2
0 - 120 h	45.5 ± 7.3	52.6 ± 6.8	98.1 ± 0.6	NA	NA	NA	NA	65.5	17.4	82.9
0 - 144 h	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	65.6	17.5	83.1
0 - 168 h	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	65.6	17.5	83.2

F = female, LSC = liquid scintillation counter, M = male, NA = not applicable

2.6.5.14 薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.14.1 Effect of Remimazolam on Fluorescent Substrate Metabolism in Human CYP cDNA-expressed Microsomes

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.6.1

P-450

CNS7056X concentration	% of inhibition				
(μg/mL)	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
3.00	2.3	-11.1	-2.3	-0.8	-1.2
10.0	25.2	10.3	8.8	6.7	21.9
30.0	47.1	34.6	23.9	7.5	44.5
IC_{50} (μg/mL)	>30.0	>30.0	>30.0	>30.0	>30.0

Reaction time and protein concentration

CYP1A2 : 30 min, 0.05 mg/mL
CYP2C9 : 45 min, 0.1 mg/mL
CYP2C19 : 45 min, 0.2 mg/mL
CYP2D6 : 30 min, 0.05 mg/mL
CYP3A4 : 10 min, 0.2 mg/mL

Total protein concentration was adjusted to 0.5 mg/mL by addition of control microsomes.

Fluorescent substrate

CYP1A2 : 3-Cyano-7-ethoxycoumarin（CEC, 10.0 μmol/L）
CYP2C9 : 7-Methoxy-4-(trifluoromethyl)coumarin（7-MFC, 75.0 μmol/L）
CYP2C19 : 3-Cyano-7-ethoxycoumarin（CEC, 25.0 μmol/L）
CYP2D6 : 3-[2-(N,N-Diethyl-N-methylammonium)ethyl]-7-methoxy-4-methylcoumarin（AMMC, 1.00 μmol/L）
CYP3A4 : Dibenzylfluorescein（DBF, 1.00 μmol/L）

2.6.5.14.2 Effects of Remimazolam and CNS 7054 on CYP Isoform Activities in Human Microsomes

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.6.2

CYP isoform	IC_{50} (μmol/L)	
	Remimazolam	CNS 7054
CYP1A2	63.6	>600
CYP3A4	> 100	>600
CYP2B6	> 100	>600
CYP2C8	29.2	578
CYP2C9	> 100	>600
CYP2C19	> 100	>600
CYP2D6	> 100	>600

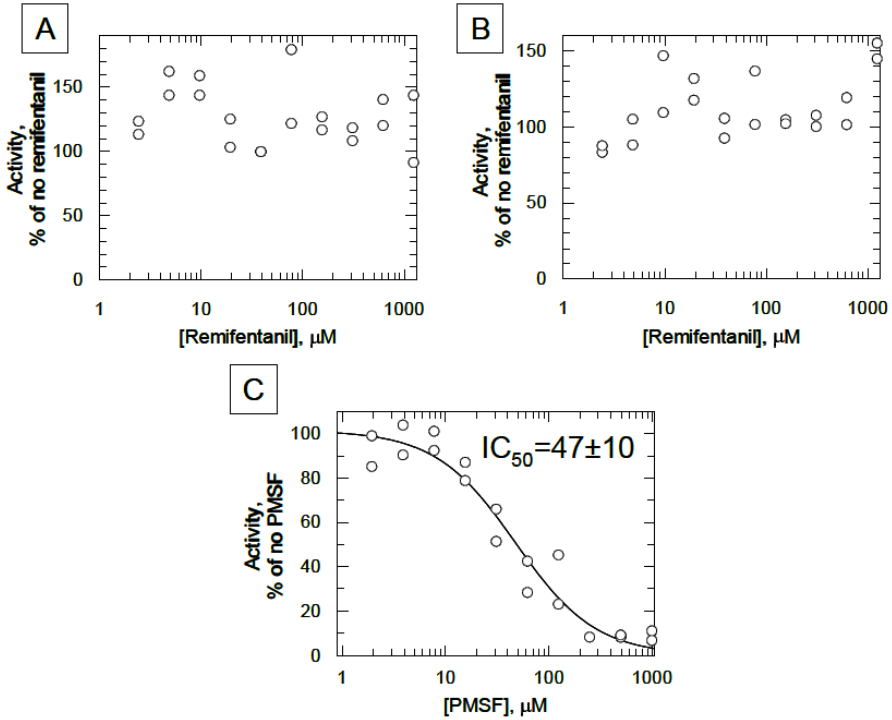
2.6.5.14.3 Inhibition of Remimazolam Metabolism by Remifentanil

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.6.5

Caroxylesterase

Hydrolysis of CNS 7056 by human liver S9 fractions (2 mg protein/ml reaction mixture)

A and B : two independent experiments, C: Phenylmethanesulphonyl fluoride (PMSF)



2.6.5.15 薬物動態試験：その他

2.6.5.15.1 Prediction of Metabolic Clearance and Half Life

Test Article: Remimazolam
Study No. [redacted]
Location in CTD: 4.2.2.7.1

	f_u	R_B	CL_{vitro} (mL/min/kg) [c]
Dog	0.267 [a]	0.97[a]	1.09
Minipig (Clawn)	0.244 [b]	1.03[b]	20.3
Human	0.133 [b]	0.97[b]	3.95

Data represent mean values.
a: n = 4, b: n = 2, c: n = 3

		Estimate V_{ss} [d] (mL/kg)	CL_{vitro} (mL/min/kg)	$t_{1/2,\ vivo}$ (min)
From dog data	Not normalized	730	3.95	130
	Normalized [e]	730	52.0	9.7
Frim minipig data	Not normalized	380	3.95	67
	Normalized [e]	380	3.87	68

d: V_{ss} values were estimated from pharmacokinetic data *in vivo*
e: CL_{met} value was normalized with scaling factor estimated from *in vitro* and *in vivo* data.