

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

2.6.6 毒性試験の概要文

ムンディファーマ株式会社

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

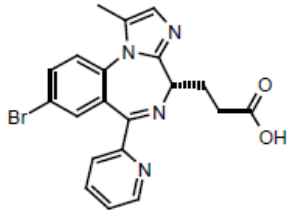
略号一覧表

略語・用語	内容
ACR	アルブミン／クレアチニン比 (albumin-creatinine ratio)
AUC	濃度-時間曲線下面積 (area under the concentration time curve)
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)
AUC _{0-∞}	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)
C _{max}	最高血漿中濃度 (maximum plasma concentration)
CPZ	塩酸クロルプロマジン (chlorpromazine hydrochloride)
DMSO	ジメチルスルホキシド (dimethyl sulfoxide)
DNA	デオキシリボ核酸 (Deoxyribonucleic acid)
ECG	心電図 (electrocardiogram)
ED ₅₀	50%有効用量 (50% effective concentration)
EMS	メタンスルホン酸エチル (methanesulfonic acid ethyl ester)
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (Good Laboratory Practice)
ICH	医薬品規制調和国際会議 (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)
i.p.	腹腔内投与 (intraperitoneal)
i.v.	静脈内投与 (intravenous)
LDH	乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase)
LOEL	最小影響量 (lowest observed effect level)
LRR	正向反射消失 (loss of righting reflex)
MFD	投与可能最高用量 (maximum feasible dose)
MNIE	小核を有する幼若赤血球 (micronucleusimmature erythrocyte)
MTD	最大耐量 (maximum tolerate dose)
MPE	平均光作用 (Mean Photo Effect)
NOAEL	無毒性量 (no observed adverse effect level)
NOEL	無影響量 (no observed effect level)
NZW	ニュージーランドホワイト (New Zealand White)
PCE/NCE	多染性赤血球と正染性赤血球の比 (ratio of polychromatic erythrocytes and normochromatic erythrocytes)
PE	細胞のコロニー形成率 (plating efficiency)
PEG	ポリエチレングリコール (polyethylene glycol)
p.o.	経口投与 (oral)
RS	相対生存率 (relative survival rate)
RS2	突然変異発現期間後の相対生存率 (Relative survival)
RSG	相対浮遊細胞増殖率 (relative suspension growth)
RTG	相対増殖率 (relative total growth)
S.D.	標準偏差 (standard deviation)
SD	Sprague Dawley
S-MF	小型コロニーの発現頻度 (mutation frequency of small colony)
t _{1/2}	消失半減期 (elimination half-life)
% tail DNA	Tail に含まれる DNA の割合 (% tail DNA)
TK	チミジンキナーゼ (Thymidine kinase)
T-MF	総突然変異頻度 (total mutation frequency)

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

類縁物質の化学名、化学構造式、由来及び管理

No.	略称	化学名	化学構造式	由来及び管理
1				
2	CNS 7054 ONO-IN-252	3-[(4S)-8-bromo-1-methyl-6-pyridin-2-yl-4H-imidazo[1,2-a][1,4]benzodiazepin-4-yl]propanoic acid		原薬の類縁物質、 分解物、主代謝物
3				
4	不純物 A*			
5				
6				
7				

*情報提供時に置換

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

No.	略称	化学名	化学構造式	由来及び管理
8				
9				

目次

	頁
略号一覧表.....	2
2.6.6 毒性試験の概要文.....	8
2.6.6.1 まとめ.....	8
2.6.6.2 単回投与毒性試験.....	11
2.6.6.2.1 げっ歯類の単回急速静注毒性試験.....	11
2.6.6.2.2 ラット及びウサギの単回経口投与毒性試験.....	12
2.6.6.2.3 サルの単回静脈内持続投与毒性試験（6 時間持続投与）.....	12
2.6.6.2.4 サルの単回静脈内持続投与毒性試験（24 時間持続投与）.....	13
2.6.6.3 反復投与毒性試験.....	15
2.6.6.3.1 ラットの 4 週間急速静注投与毒性試験.....	15
2.6.6.3.2 サルの 4 週間急速静注毒性試験.....	17
2.6.6.3.3 サルの 2 週間反復静脈内持続投与毒性試験（1 日 9 時間持続投与）.....	20
2.6.6.3.4 サルの 4 週間反復静脈内持続投与毒性試験（1 日 12 時間持続投与）.....	22
2.6.6.3.5 ミニブタの 4 週間静脈内持続投与試験（1 日 6 時間持続投与）.....	23
2.6.6.3.6 補助的毒性試験.....	26
2.6.6.3.6.1 サルの 4 週間反復静脈内持続投与毒性試験（週 1 回 2 時間持続投与）.....	26
2.6.6.3.6.2 経鼻投与.....	27
2.6.6.3.6.2.1 ラットのレミマゾラム 4 日間反復経鼻投与毒性試験.....	28
2.6.6.3.7 反復投与毒性試験における動物の曝露量.....	29
2.6.6.3.7.1 急速静注.....	29
2.6.6.3.7.2 静脈内持続投与.....	31
2.6.6.4 遺伝毒性試験.....	34
2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験.....	34
2.6.6.4.2 マウスリンフォーマ TK 試験.....	35
2.6.6.4.3 ラット小核試験.....	37
2.6.6.4.4 ラット小核試験とコメット試験の組合せ試験.....	37
2.6.6.4.5 遺伝毒性試験のまとめ.....	38
2.6.6.5 がん原性試験.....	39
2.6.6.6 生殖発生毒性試験.....	40
2.6.6.6.1 ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験.....	40
2.6.6.6.2 ラットの胚・胎児発生に関する試験.....	41
2.6.6.6.3 ウサギの胚・胎児発生に関する試験.....	42
2.6.6.6.4 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験.....	43
2.6.6.6.5 ウサギの拡張受胎能／交配試験.....	44
2.6.6.6.6 生殖発生毒性試験における動物の曝露量.....	46
2.6.6.6.7 幼若動物を用いた試験.....	48
2.6.6.7 局所刺激性試験.....	49
2.6.6.7.1 ラットの急速静注局所刺激性試験.....	49
2.6.6.7.2 ラットの静脈内持続投与局所刺激性試験.....	50

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

2.6.6.7.3	ウサギの静脈内及び静脈周囲投与局所刺激性試験.....	51
2.6.6.7.4	サルの急速静注局所刺激性試験.....	52
2.6.6.7.5	サルの静脈内持続投与局所刺激性試験.....	53
2.6.6.7.5.1	単回投与試験.....	53
2.6.6.7.5.2	反復投与試験.....	53
2.6.6.7.5.3	その他の局所刺激性試験.....	55
2.6.6.7.6	ブタの急速静注又は持続投与局所刺激性試験.....	56
2.6.6.7.7	経鼻投与局所刺激性試験.....	57
2.6.6.7.8	局所刺激性に対する結論.....	58
2.6.6.7.8.1	投与方法に伴う血管反応／病変.....	58
2.6.6.7.8.2	ベンゾジアゼピン系薬の血管反応.....	58
2.6.6.7.8.3	血管の直径と病変の関係.....	58
2.6.6.7.8.4	レミゾラム起因病変と薬物濃度との関係.....	61
2.6.6.7.8.5	急速静注試験における病変と投与回数との関係.....	61
2.6.6.7.8.6	経鼻投与試験における局所刺激性.....	63
2.6.6.8	その他の毒性試験.....	64
2.6.6.8.1	抗原性試験／光毒性試験.....	64
2.6.6.8.2	血液適合性試験.....	64
2.6.6.8.3	依存性試験.....	65
2.6.6.8.3.1	ラットの薬物弁別試験.....	65
2.6.6.8.3.2	サルの静脈内自己投与試験.....	65
2.6.6.8.3.3	ラットの身体依存性試験.....	66
2.6.6.8.3.4	サルの身体依存性試験.....	67
2.6.6.8.3.5	身体依存形成能に関する結論.....	68
2.6.6.8.4	代謝物の毒性試験.....	68
2.6.6.8.4.1	CNS 7054 のラットにおける急速静注試験.....	69
2.6.6.8.4.2	CNS 7054 のカニクイザルにおける静脈内持続投与試験.....	69
2.6.6.8.4.3	CNS 7054 のラットの胚・胎児発生に及ぼす影響－静脈内投与試験.....	70
2.6.6.8.4.4	CNS 7054 の反復投与毒性試験における曝露量.....	70
2.6.6.8.5	不純物の毒性試験.....	73
2.6.6.8.5.1	不純物 A* の毒性試験.....	73
2.6.6.8.5.1.1	不純物 A* の復帰突然変異試験.....	73
2.6.6.8.5.1.2	不純物 A* のマウスリンフォーマ TK 試験.....	74
2.6.6.8.5.2	■■■■■ の毒性試験.....	74
2.6.6.8.6	添加物の毒性試験.....	76
2.6.6.8.6.1	デキストラン 40 のラットにおける 4 週間投与毒性試験.....	76
2.6.6.8.6.2	デキストラン 40 の腎障害ラットにおける毒性試験.....	78
2.6.6.8.6.3	デキストラン 40 のウサギにおける毒性.....	80
2.6.6.8.6.4	デキストラン 40 のラットにおける生殖発生毒性.....	80
2.6.6.8.6.4.1	デキストラン 40 のラットにおける 4 週間静脈内投与毒性試験.....	80
2.6.6.8.6.4.2	ウサギの静脈内持続投与による発生毒性用量設定試験.....	82

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.6.8.6.4.3	ウサギの拡張受胎能／交配試験	82
2.6.6.8.6.4.4	ミニブタの4週間静脈内持続投与試験	83
2.6.6.9	考察及び結論	84
2.6.6.10	図表	86
2.6.6.11	参考文献	87

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

レミマゾラムベシル酸塩（以下、レミマゾラムと記載）は全身麻酔の導入及び維持に用いる短時間作用型で、静脈内投与剤として開発されている新規ベンゾジアゼピン系薬剤である。

主要な毒性試験には、異なる施設で製造された不純物プロファイルが同一な別々のバッチを使用した。

一般毒性試験（単回及び反復静脈内投与試験）には、げっ歯類としてラット及びマウス、非げっ歯類としてサル及びミニブタを使用した。

生殖発生毒性試験はラット及びウサギ、並びに局所刺激性試験はラット、ウサギ、ブタ及びサルを使用して実施した。その他の試験では、他の動物種（モルモット）も使用した。

臨床投与経路は静脈内投与であることから、主要な毒性試験では、被験物質は静脈内投与（急速静注又は持続内持続投与）した。動物で最高の全身曝露量を達成するために、忍容可能な最高濃度の投与液（動物種、静脈の種類、並びに急速静注又は静脈内持続投与など投与方法の違いにより 1～10 mg/mL の間で調製）を投与した。静脈内持続投与試験では、1 回の投与時間を最長 24 時間まで延長し、倫理的に許容される投与液量／速度¹⁾で投与した。このように、毒性試験では被験物質を達成可能な最高曝露量まで投与した。これ以外の投与経路（経口投与、腹腔内投与又は経鼻投与）は、投与可能量及び全身曝露量に関して有効な投与経路ではないことが判明した。

レミマゾラムで実施した毒性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-1 レミゾラムの毒性試験一覧

Study type and duration	Route of administration	Species
Single-dose toxicity		
	i.v., bolus	Rat; Mouse
	i.v., infusion (6 h)	Cynomolgus monkey
	i.v., infusion (24 h)	Cynomolgus monkey
	p.o. (gavage)	Rat; Rabbit
Repeat-dose toxicity		
4 weeks	i.v., bolus	Rat
2 weeks	i.v., infusion (9 h/day)	Cynomolgus monkey
4 weeks	i.v., infusion (12 h/day)	Cynomolgus monkey
4 weeks	i.v., infusion (2 h/day; 1×/week)	Cynomolgus monkey
4 weeks	i.v., bolus	Cynomolgus monkey
4 weeks	i.v., infusion (6h/day)	Göttingen minipig
4 days	intranasal	Rat
Genotoxicity		
Ames test	<i>In vitro</i>	<i>S. typhimurium</i> ; <i>E. coli</i>
<i>In vitro</i> Lymphoma Assay	<i>In vitro</i>	Mouse lymphoma cells
<i>In vivo</i> Micronucleus Assay	i.v. bolus twice within 24 h	Rat
<i>In vivo</i> Micronucleus Assay in combination with Comet Assay	i.v., infusion once daily for 3 days	Rat
Reproductive Toxicity		
Fertility and early embryonic development	i.v., bolus	Rat
Reproductive and Developmental Toxicity	i.v., short term infusion	Rat; Rabbit
Pre-and Postnatal development	i.v., bolus	Rat
Extended Fertility/Mating Study	i.v. (initial bolus, followed by an infusion up to 4 hours)	Rabbit
Local Tolerance		
Local (Vascular) Toxicity	i.v. paravenous, intranasal	Rat, Cynomolgus monkey, Rabbit, Pig, Minipig
Other Toxicity Studies		
Hemocompatibility	<i>In vitro</i>	Human, Pig, Rabbit
Phototoxicity	<i>In vitro</i>	Balb/c 3T3 Cells
Active systemic anaphylaxis	i.p./i.v.	Guinea Pig
Abuse liability dependence potential	i.p., i.v.	Rat, Rhesus monkey, Cynomolgus monkey
Metabolites	i.v.	Rat, Cynomolgus monkey
Impurities	Ames Test, Mouse Lymphoma Assay, Combination of Rat micronucleus and Comet assay; 4-weeks toxicity study in Cynomolgus monkey. Single dose toxicity study in rat	
Excipients	4-weeks toxicity study in rat, Toxicity study of dextran in rats with impaired kidney function, Extended Fertility/Mating Study in rabbit, 4-weeks toxicity study in minipig	

ラットの単回投与毒性試験（静脈内投与）での致死量は 90～100 mg/kg であった。マウスの急速静注の最大耐量（MTD）は 125 mg/kg であった。サルでは、6 時間持続投与で最高 150 mg/kg、24 時間持続投与で最高 120 mg/kg まで単回静脈内投与した。その結果、投与動物でレミゾラムの鎮静作用に関連する臨床症状が認められたが、死亡例は認められなかった。

4 週間反復投与毒性試験では、サルで 20 mg/kg、ラットで 30 mg/kg までの静脈内（急速静注）投与が可能であった。サルを用いた最長 4 週間の静脈内持続投与試験では、1 日 12 時間までの静脈内持続投与により、最高 60 mg/kg の投与が、また、ミニブタで最高 120 mg/kg の投与が可能で

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

あった。サル の 2 週間静脈内持続投与試験（用量設定試験）で被験物質の鎮静作用に起因する顕著な臨床症状が認められる MTD が特定された。サル の 4 週間静脈内持続投与試験の高用量（30 及び 60 mg/kg）では、座位、並びに傾眠及び昏睡状態が観察された。しかし、投与又は回復期間中に死亡例はなかった。全身的な毒性所見の評価において、レミゾラムの薬理作用である鎮静は有害所見とは判断しなかった。

反復投与試験では特定の毒性標的器官は明らかではなかった。レミゾラムは、反復投与により特異な毒性作用を示さなかった。個々の試験では、ラットで血色素及び尿中蛋白の増加、サルで赤血球数、血色素量及びヘマトクリット値の減少並びに網状赤血球の増加などの、軽微な変化が高用量で時折観察されたが回復性が認められた。

サル の 4 週間投与試験で心拍数の減少及び心電図（ECG）の変化が認められた。ECG データについては安全性薬理の項に記載して考察した（2.6.2.4 項参照）。

トキシコキネティクス試験により動物が被験物質に曝露されたことが確認された。ラットではレミゾラムの代謝が著しく速いことから、ラットはこの物質の毒性試験に適切なモデルではないと考えられる。レミゾラムでは、ラットで得られたデータより、非げっ歯類の試験で得られたデータの妥当性が高いと考えられた。

ヒトの曝露量との比較では、サル の急速静注試験の最高投与量における遊離型の最高血漿中濃度（ C_{max} ）は、代表的な臨床試験と比べて 5.9～7.2 倍、濃度-時間曲線下面積（AUC）は約 4.7～5.8 倍高値であった。無毒性量（NOAEL）では C_{max} で 2.0～2.4 倍、AUC で 1.2～1.5 倍の曝露量であった。

レミゾラムを静脈内持続投与した場合には、カニクイザルの最高投与量及び NOAEL における遊離型の C_{max} は、相当するヒトの C_{max} の 0.5～7.2 倍であった。サル の AUC はヒトの 4.2～14.5 倍高かった。ミニブタの反復持続投与（6 時間）では、代表的な臨床試験と比べて遊離型の C_{max} が 2.5～6.8 倍、AUC が 9.1～21.2 倍高値であった。

反復投与毒性試験における NOAEL は、サル及びラットの 4 週間静脈内（急速静注）投与試験でそれぞれ 5 及び 20 mg/kg であった。サル の静脈内持続投与試験の NOAEL は、22.5～50 mg/kg の範囲であった。ミニブタの NOAEL は 120 mg/kg であった。

遺伝毒性試験を組み合わせ実施した結果、レミゾラムの遺伝毒性は認められなかった。

レミゾラムは、ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生、若しくは胚・胎児発生に影響を及ぼさなかった。雌の受胎能及び初期胚発生、並びに雄の受胎能に関する NOAEL は 30 mg/kg 超であった。

試験に用いたいずれの動物種でも胚・胎児発生に影響はみられなかった。ラットの胚・胎児に関する NOAEL は 10 mg/kg であった。30 mg/kg で、軽度ながら有意な初期及び総吸収胚の発現頻度増加が観察されたが、背景データの範囲内であり毒性学的意義は乏しいと考えられた。ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、5.0 mg/kg で母動物の摂餌量及び体重増加抑制に関連した胎児体重及び胎盤重量の減少がみられたため、レミゾラムの胚・胎児に関する NOAEL は 2.5 mg/kg であった。

出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験でレミゾラムの影響は認められなかった。

ウサギの拡張受胎能／交配試験では、交配約 2 週間前から投与を開始し離乳まで 1 日 1 回、最高 30 mg/kg で静脈内投与（急速静注で開始、その後最長 4 時間の持続投与）した。本試験の母動物及び胚・胎児に関する NOAEL は、全投与期間で投与可能であった最高投与量の 20 mg/kg であ

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

った。

高濃度の投与液を使用することにより、投与部位に血管壁の細胞浸潤、内膜の肥厚／線維化及び孤発性の血栓形成など、局所刺激性反応が認められた。これらの所見は穿刺部位に限定され、いずれの試験でもこの種の試験で知られる機械的損傷と区別ができなかった。これらの所見は、高濃度のレミゾラムは機械的損傷による局所障害を増強し、持続投与により局所障害が緩和されるとの概念に一致した。

ラット及びサル依存性試験では、レミゾラムはベンゾジアゼピン系薬剤で知られた依存性を有することが示された。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

レミゾラムの単回投与毒性試験の一覧を次表（表 2.6.6-2）に示す。

表 2.6.6-2 レミゾラムの単回投与毒性試験

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Study Number
Mouse CD-1	Intravenous (bolus) 25.86% w/v β -Cyclodextrin (Captisol®)	40/50/65/ 100/125	> 125	██████
Rat SD	i.v. bolus Physiological saline, pH 3.3	0/1/2/5/10/ 20/50/100	50	██████
Rat SD	i.v. bolus Physiological saline, pH 3.3	0/1/2/5/10/20/50/100	50	██████
Rat SD	i.v. bolus Physiological saline, pH 3.3	0/0.5/1/2/5/10/20 /40/60/80/90/100	80	██████
Rat SD	Oral (gavage) Water for injection	0/3/10/30	> 30	████
Rabbit NZW	Oral (gavage) Water for injection	0/3/10/30	> 30	████
Monkey Cynomolgus	i.v. (6h infusion) Physiological saline	6/18/60/150	> 150	██████
Monkey Cynomolgus	i.v. (24h infusion) Physiological saline	0/30/60/120	> 120	██████

2.6.6.2.1 げっ歯類の単回急速静注毒性試験

試験番号：██████（評価資料）、記載箇所：4.2.3.1.1

試験番号：██████（参考資料）、記載箇所：4.2.1.1.9

試験番号：██████（参考資料）、記載箇所：4.2.1.1.10

試験番号：██████（参考資料）、記載箇所：4.2.3.1.2

レミゾラムの急性毒性について、マウス（CD-1）を用いて単回急速静注により検討した〔媒体： β -シクロデキストリン（カプチゾール®）25.86%（w/v）（██████）〕。用量設定試験においてMTDが125 mg/kgであったことから、主試験では雌雄各5匹のマウス（CD-1）にレミゾラム125 mg/kg（遊離体換算）を単回投与し、14日間観察した。動物の生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、並びに剖検を実施した。

試験期間中に死亡例はみられなかった。観察された臨床症状（雄：腹臥位、舌舐めずり、行動抑制、立毛、頻呼吸及び歩行異常、雌：円背位、腹臥位、行動抑制、立毛、頻呼吸、不整呼吸及

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

び歩行異常)は、レミマゾラムの鎮静作用に起因すると考えられた。体重増加量が減少した(用量設定試験でも 65 mg/kg 以上で観察された)が、観察期間の 2 週目で明らかな回復が認められた。剖検時に異常所見はみられなかった。

雄ラット [Sprague Dawley (SD)] の静脈内投与では、用量依存的に顕著な鎮静作用が観察され、致死量 (9/10 例) は 100 mg/kg、無影響量 (NOEL) は 2 番目の高用量の 50 mg/kg であった。並行して試験を行ったプロポフォール、ミダゾラム及び塩酸デクスメトミジンの最小致死量は、それぞれ 10 mg/kg (1/10 例)、100 mg/kg (4/10 例) 及び 0.5 mg/kg (2/10 例) であった()。先行して実施した予備試験()でも、100 mg/kg を投与した動物が死亡、50 mg/kg では死亡がみられず同様の結果が得られた。プロポフォールでは 20 mg/kg で 4/10 例、50 mg/kg で 9/9 例が死亡した。ミダゾラム及びデキスметミジンの最小致死量は、それぞれ 100 mg/kg (9/10 例) 及び 0.2 mg/kg (2/10 例) であった。

レミマゾラムの鎮静作用に関する試験()でも、同様の結果が得られた。レミマゾラムの最小致死量は 90 mg/kg (2/12 例)、100 mg/kg では 4/12 例が死亡し(雄全例・雌死亡例なし)、最大非致死量は 80 mg/kg であった(いずれも遊離体換算)。最小致死量 (90 mg/kg) と立ち直り反射喪失の 50%有効用量 (ED₅₀) 値 (4.32 mg/kg) との比は 20.8 倍であった。

2.6.6.2.2 ラット及びウサギの単回経口投与毒性試験

試験番号: (評価資料)、記載箇所: 4.2.3.1.3

試験番号: (評価資料)、記載箇所: 4.2.3.1.4

ラット (SD) の単回経口投与毒性試験()では、各群雌雄各 15 匹のラットに、レミマゾラムを 0 (媒体)、3、10 及び 30 mg/kg (ベシル酸塩として) で単回強制経口投与した。対照群の動物には媒体を投与した。各群雌雄各 10 匹を投与翌日 (2 日目) に剖検し、残りの各群雌雄各 5 匹は 15 日目に剖検した。動物の生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。いずれの投与量でも、被験物質に起因する変化は認められなかった。本試験条件下で、レミマゾラムの NOEL は 30 mg/kg 以上と考えられた。

ウサギ [ニュージーランドホワイト (NZW)] の単回経口投与毒性試験()では、各群雌雄各 5 匹、レミマゾラムを 0、3、10 及び 30 mg/kg (ベシル酸塩として) で単回強制経口投与した。対照群には媒体を投与した。各群雌雄各 3 匹を投与翌日 (Day 2) に剖検し、残りの各群雌雄各 2 匹は Day 15 に剖検した。動物の生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。いずれの投与量でも、被験物質に起因する変化は認められなかった。本試験条件下で、レミマゾラムの NOEL は 30 mg/kg 以上と考えられた。

2.6.6.2.3 サルの単回静脈内持続投与毒性試験 (6 時間持続投与)

試験番号: (評価資料)、記載箇所: 4.2.3.1.5

各群 2 匹の雄カニクイザルに、レミマゾラム 6、18、60 及び 150 mg/kg を 6 時間持続投与 (媒体: 生理食塩液) により単回静脈内投与した。投与後 2 週間観察し、生死及び一般状態観察、体

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

重・摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検並びに投与部位の病理組織学的検査を実施した。

レミマゾラムの鎮静作用に関連した臨床症状（失調歩行、半眼、自発運動低下及び座位）が、全群で用量依存的に観察された。60 及び 150 mg/kg 群では上記以外に傾眠、横臥位及び昏睡が観察された。6、60 及び 150 mg/kg 群の各 1 例で嘔吐がみられた。投与後 2 日に異常所見は認められなかった。

これらの症状は、低用量群では持続投与開始直後からみられ、投与終了後 1 時間まで観察された。高用量群では、単独の症状が投与終了後 9 時間まで観察された。観察期間中に死亡例はなかった。

血液生化学的検査では、150 mg/kg 群の 2 例で投与後 0 日にカリウム濃度の低下がみられたが、ごく軽度の変化であり投与後 1 日には回復した。

Day 13 に実施した剖検では、60 mg/kg 群の 1 例で投与部位の静脈壁の肥厚が観察され、18 及び 6 mg/kg 群の各 1 例で投与部位の静脈内に赤色及び白色物質が認められた。150 mg/kg 群で異常所見はみられなかった。

投与部位の病理組織学的検査では、血管内膜の肥厚、血管壁の線維化及び褐色色素沈着がいくつかの投与群でみられ、血栓及び血管壁の炎症が全投与群でみられた。しかし、これらの変化と投与量又は薬剤濃度の間に明瞭な依存関係はみられなかった。血栓は主にカテーテルの終端部で認められ（遠位側、6/8 例）、カテーテル終端部から約 1 cm の部位（近位側）で観察されたのは 2/8 例の動物のみであった。カテーテル終端部の血栓は、近位側と比べて重篤であった（遠位側：重度、近位側：軽度）。血管壁の炎症の頻度及び程度は血栓と同様であった。したがって、血栓形成は機械的刺激に伴う二次的な変化であり、被験物質による局所刺激性の可能性はあるが、決定的ではないと考えられる。

2.6.6.2.4 サルの単回静脈内持続投与毒性試験（24 時間持続投与）

試験番号：[REDACTED]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.1.6

単回投与毒性試験として、各群雌雄各 3 匹のカニクイザルにレミマゾラムを 24 時間静脈内持続投与した。被験物質を後大静脈の留置カテーテルを通して、30、60 及び 120 mg/kg を 1.25、2.5 及び 5 mg/kg/h の投与速度で投与した。被験物質を生理食塩液に溶解して、それぞれ濃度 1.25、1.25 及び 2.5 mg/mL の投与液を調製した。投与後 14 日間観察し、生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定並びに病理組織学的検査を実施した。

死亡例はなかった。全投与量で被験物質の鎮静作用と一致した、一般状態の変化がみられた。すなわち、失調歩行、閉眼、鎮静状態、座位及び自発運動の減少が 30 mg/kg 群以上の雌雄で認められた。その他に、半眼（30 mg/kg 群の雌のみ）、傾眠（30 mg/kg 群の雌及び 60 mg/kg 群以上の雌雄）、横臥位（60 mg/kg 群以上の雌雄）、仰臥位（60 mg/kg 群の雄のみ）、昏睡（120 mg/kg 群の雌のみ）が認められた。いずれも投与後 2 日目（投与終了後 24 時間）以降異常はみられなかった。体重・摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検所見及び器官重量に、レミマゾラム投与に関連した毒性学的変化は認められなかった。

被験物質に起因する肉眼的所見はみられなかった。病理組織学的検査では対照群を含めた全群の動物で投与部位（後大静脈）に、軽度の内膜肥厚が認められた。この変化は血管壁の壊死、血管炎又は血栓を伴わず、対照群でも観察されたカテーテルの物理的刺激による変化と明らかな差

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

異はみられなかった。120 mg/kg 群では重度かつ高頻度の血管内膜肥厚が認められたことから、この群で投与した被験物質の濃度（2.5 mg/mL に対して低用量群は 1.25 mg/mL）の影響は否定できない。

120 mg/kg の投与量で使用した被験物質濃度 2.5 mg/mL は、局所刺激性反応を悪化する可能性があることから、局所刺激性に関する NOAEL は 60 mg/kg（投与液濃度: 1.25 mg/mL）と結論された。

レミマゾラムをサルに 24 時間静脈内持続投与した場合、全身的な毒性変化は観察されなかった。刺激作用に関連した投与部位の変化が認められた。

レミマゾラム 120 mg/kg 投与時の血漿中濃度は、平均 $C_{\max}$ 及び AUC_{0-48} がそれぞれ 2540 ng/mL 及び 52000 ng•h/mL に達した。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.6.3 反復投与毒性試験

ラット、ミニブタ及びサルを用いて、レミマゾラムの反復投与毒性試験を実施した(表 2.6.6-3)。

表 2.6.6-3 レミマゾラムの反復投与毒性試験

Species (Study Duration)	Mode of administration	Doses (mg/kg)	Study Number
SD Rat (28-days)	i.v., bolus	0/0/10/20/30	██████
SD Rat (7-days)	i.v., bolus	0/15/30/50	██████
Cynomolgus monkey (5-days)	i.v., infusion (4 h/day)	1.6/3.2/6.4	██████
Cynomolgus monkey (7-days)	i.v., bolus	1/5/7.5/10/12.5/ 15/17.5/20	██████
Cynomolgus monkey (2 weeks)	i.v., infusion (9 h/day)	0/6.75/9.0/11.25/22.5	██████
Cynomolgus monkey (4 weeks)	i.v. infusion (12 h/day)	0/12/30/60	██████ *
	i.v., infusion (2 h/day) **	0/12.5/25/50 treatment once per week	██████
	i.v., bolus	0/5/10/20	██████
Göttingen Minipig (2 weeks)	i.v., infusion (4 h/day)	21/24/27/30/37.5/ 45/90/120	██████
Göttingen Minipig (4 weeks)	i.v., infusion (6 h/day)	0/12/40/120	██████
SD Rat	Intranasal	0/2/4/8/16	██████
SD Rat	Intranasal	2/4/8/16	██████

For Repeat-Dose Toxicity, the highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.

* In study ██████, a remimazolam batch containing eight synthetic impurities/degradants and the principal metabolite CNS 7054 was used (impurity batch, Lot no. ██████).

** note non-standard design; detailed in section 2.6.6.3.6 Supporting toxicity studies

2.6.6.3.1 ラットの4週間急速静注投与毒性試験

試験番号：██████ (評価資料)、記載箇所：4.2.3.2.2

試験番号：██████ (参考資料)、記載箇所：4.2.3.2.1

ラット (SD) にレミマゾラムを1日1回4週間急速静注し、2週間の回復期間を設けて、反復投与毒性を検討した (██████)。レミマゾラム 10、20 及び 30 mg/kg (遊離体換算) 投与群、溶媒対照群 [25.86% (w/v) β-シクロデキストリン (カプチゾール®) を pH 3.8 の 25 mmol/L クエン酸緩衝液に溶解]、並びに生理食塩液対照群を設けた。各群雌雄 10 匹を使用し、別途、対照群及び高用量群は雌雄各 5 匹に2週間の回復期間を設定した。動物の生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、トキシコキネティクス、剖検、器官重量測定、並びに病理組織学的検査を実施した。

4週間投与試験の投与量は、ラット (SD) の7日間静脈内投与用量設定試験 (██████) を基に設定した。用量設定試験において、レミマゾラムの 15 mg/kg 静脈内投与により、自発運動低下、失調歩行、横臥及び不整呼吸を特徴とする軽度の鎮静作用が認められた。30 mg/kg では投与終了時又は投与直後に、虚脱状態を伴うさらに明瞭な鎮静作用がみられた。この症状は 15 mg/kg 群の動物と比べて長時間持続した。その他の臨床症状は、被験物質の鎮静作用に起因すると考えられた。50 mg/kg では、2日目の投与直後に1例が死亡した。死因は深い鎮静に伴う重篤な呼吸抑制と推察された。生存動物では呼吸活動の変化など、いくつかの臨床症状も認められた。これらの症状及び死亡例がみられたことから、その後実施するラット (SD) を用いたレミマゾラムの4週間投与試験では、最高用量を 30 mg/kg と設定した。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

主試験では、死因が（被験物質の薬理作用に関連した）深い鎮静及び呼吸抑制と推察される高用量群の1例を除き、被験物質に関連する死亡はみられなかった。

全投薬群の雌雄で横臥、不整呼吸、失調歩行及び自発運動低下など、被験物質の鎮静作用を反映した臨床症状が連日観察された。いずれの症状も投与後数時間のうちに消失した。投与に起因する毒性学的意義のある症状は認められなかった。回復期間中に症状は観察されなかった。

体重、体重変化量、摂餌量及び血液学的検査に認められた変化は統計学的有意差の有無にかかわらず対照群でも同様にみられる変化で、統計学的有意差があったとしても背景値の範囲内であった。

30 mg/kg 投与群の雌雄で、対照群と比較して尿中血色素の発現頻度が増加した。30 mg/kg 投与群の雌で、尿蛋白の発現頻度の増加が認められた。対照群及び他の投与群は尿の色調が淡黄色を示したのに対し、30 mg/kg 群の雌では4/15例で黄色～濃黄色を示した。これ以外のパラメータにレミマゾラムの影響はみられなかった。

剖検所見は、いずれも本試験で使用したラットに認められる典型的な自然発生所見であった。

溶媒対照群の雄及び高用量群の雌で、統計学的に有意な腎臓相対重量の増加が認められた。溶媒対照群の雄では、この変化が回復期間終了時にも認められた。腎臓相対重量の増加に関連した病理組織学的変化はみられなかった。本所見は、レミマゾラムの投与に関連がないと推察された。

投与部位の局所的作用（血管周囲性炎症の増加及び局所血管における内膜増殖の増加）は、レミマゾラムを投与した動物でより顕著であり、特に（両対照群の動物と比較して）高用量群で顕著であった。回復期間終了時、高用量群では血管内膜増殖の増加が完全には回復しなかった。

脾臓の泡沫状マクロファージの発現頻度増加は、20 及び 30 mg/kg 群並びに溶媒対照群で観察された。したがって、この所見は脾臓機能に影響を及ぼす有害所見ではないと考えられ、2 週間の回復期間後に完全に回復した。

レミマゾラム投与群及びカプチゾール®投与群（溶媒対照群）の動物では、両側の曲部尿細管でびまん性の空胞化（種々のサイズの明瞭で円形の細胞質内空胞）が認められた。空胞化の程度は溶媒対照群及びレミマゾラムの高用量群で顕著であった。本所見は回復期間終了時に回復傾向がみられ、レミマゾラム投与に起因する変化ではないと考えられた。

レミマゾラム投与に起因する全身的な影響を評価した結果、本試験における NOAEL は 20 mg/kg と推定された。

反復投与による（4 週目の）トキシコキネティックパラメータでは、10 mg/kg 投与群を除きレミマゾラムは投与後 5 又は 10 分まで血漿中で検出されたが、一方、代謝物 CNS 7054 は投与後 12 時間まで血漿中濃度が測定可能であった。

レミマゾラム及び CNS 7054 のトキシコキネティックパラメータを次表（表 2.6.6-4）に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-4 ラットの4週間急速静注における、レミマゾラム及び代謝物 CNS 7054 のトキシコキネティックパラメータ（試験番号 RMN1018、群平均値）

Time	Analyte	Dose mg/kg	Sex	C ₀ ng/mL	C _{max} ng/mL	AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	λ ₂ (1/h)	t _{1/2} (h)
Day 1	Remimazolam	10	Female	NC ^a	0	0	NC ^a	NC ^a
		10	Male	NC ^a	0	0	NC ^a	NC ^a
		20	Female	17.2	6.83	0.698 ^e	NC ^b	NC ^b
		20	Male	4.97	3.90	0.350 ^e	NC ^b	NC ^b
		30	Female	46.1	19.4	1.67 ^e	NC ^b	NC ^b
		30	Male	131	27.6	3.57 ^e	NC ^b	NC ^b
	CNS 7054	10	Female	-	20000	14100	NC ^b	NC ^b
		10	Male	-	22800	9370	2.99 ^f	0.232 ^f
		20	Female	-	44800	32400	0.522	1.33
		20	Male	-	49700	46600	0.456	1.52
		30	Female	-	66000	75000	0.549	1.26
		30	Male	-	67900	82900	0.300	2.31
Week 4	Remimazolam	10	Female	9.24 ^d	9.24	0.633 ^e	NC ^b	NC ^b
		10	Male	2.49 ^d	2.54	0.208 ^e	NC ^b	NC ^b
		20	Female	950	16.9	24.5 ^e	NC ^b	NC ^b
		20	Male	NC ^c	19.1	NC ^c	NC ^c	NC ^c
		30	Female	119	4.19	3.65 ^e	NC ^b	NC ^b
		30	Male	167	15.0	4.13 ^e	NC ^b	NC ^b
	CNS 7054	10	Female	-	22900	22500	0.574	1.21 ^g
		10	Male	-	22500	28700	0.545	1.27 ^g
		20	Female	-	51800	43000	0.546	1.27 ^g
		20	Male	-	50000	77800	0.518	1.34 ^g
		30	Female	-	70200	85400	0.571	1.21 ^g
		30	Male	-	77700	144000	0.582	1.19 ^g

Data from [REDACTED]

PK parameters were derived from the mean plasma concentration-time profiles obtained on Day 1 and Week 4. Plasma concentrations were determined by 2 rats/sex/group.

NC^a: Not calculated; all remimazolam plasma concentrations were below the LLQ on Day 1.

NC^b: Not calculated; a mono-exponential terminal decline could not be unambiguously identified.

NC^c: Not calculated; only one measurable remimazolam plasma concentration.

^d: C₀ could not be calculated by back-extrapolation of the first two data points therefore set to the first observed plasma concentration.

^e: AUC estimates based on ≤ 3 measurable concentrations therefore considered unreliable.

^f: This t_{1/2} estimate should be treated with caution as plasma concentrations were only measurable up to 1 h post-dose.

^g: t_{1/2} estimate based on data up to 12 h only.

2.6.6.3.2 サルの4週間急速静注毒性試験

試験番号：[REDACTED]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.2.7

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.2.3

カニクイザルにレミマゾラムを1日1回4週間急速静注投与し、2週間の回復期間を設けて、反復投与毒性を評価した（[REDACTED]）。

レミマゾラム 5、10 及び 20 mg/kg 投与群、並びに溶媒対照群 [25.86% (w/v) β-シクロデキストリン（カプチゾール®）を pH 3.8 の 25 mmol/L クエン酸緩衝液に溶解] を設けた。対照群及び高用量群は各群雌雄各 5 匹、低用量群（5 mg/kg）及び中用量群（10 mg/kg）は各群雌雄各 3 匹とした。動物の生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、眼科学的検査、ECG 検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、トキシコキネティクス、剖検、器官重量測定、並びに病理組織学的検査を実施した。投与量はカニクイザルを用いた 14 日間反復急速静注試験（[REDACTED]）の MTD を基に設定した。

この用量設定試験では雌雄各 1 匹にレミゾラムを漸増（1、5、7.5、10、12.5、15、17.5 及び 20 mg/kg）投与した。20 mg/kg で忍容性が認められたことから、20 mg/kg 投与を 14 日間に延長し投与した。溶媒として、25.86% (w/v) β -シクロデキストリン（カプチゾール®）を pH 3.8 の 25 mmol/L クエン酸緩衝液に溶解して使用した。

漸増試験では 17.5 mg/kg までは、鎮静（横臥）及び失調歩行などを特徴とする臨床症状がみられ、両動物でほぼ毎日観察された。これ以外に低頻度で観察された症状として、自発運動低下、時おり軟便及び円背位、並びに孤発的なケージを噛む行動がみられた。

14 日間反復投与した 20 mg/kg では、鎮静（横臥）及び失調歩行が投与期間中毎日観察された。その他の症状として、雄で振戦、軟便及び円背位が観察された。軟便以外のすべての症状は投与後 2 時間以内に回復した。

用量設定試験の条件下におけるレミゾラムの MTD は 20 mg/kg と推定された。

主試験では、投与開始前に動物をレミゾラムに馴化するため、10 mg/kg 投与群の動物は Day -4~-1 までレミゾラム 5 mg/kg を投与、20 mg/kg 投与群にはレミゾラムを Day -14~-10 まで 5 mg/kg、Day -9~-5 まで 10 mg/kg、Day -4~-1 まで 15 mg/kg を投与した。

4 週間の投与期間中に早期死亡例はなかった。全投与量の雌雄で通常観察される症状として、横臥位・伏臥位、無反応、傾眠及び失調歩行がみられた。これらの症状は被験物質の薬理作用（鎮静）に関連すると考えられた。試験期間中に毒性学的意義のある症状は観察されなかった。

レミゾラム投与に関連すると考えられる体重への影響又は眼科学的所見は認められなかった。

4 週間反復投与の初回投与前及び最終投与前の投与前及び投与 15 分後に、全例について 6 誘導 ECG を記録した。回復期間終了時にも、全例について同じ時間に ECG を記録した。標準肢誘導 I、II 及び III、並びに単極肢誘導 aVR、aVL 及び aVF を用いて ECG を記録した。記録した第 II 誘導 ECG 波形について ECG 間隔をマニュアル解析した。すなわち、各動物の各測定ポイント（試験開始前及び 4 週目の投与 15 分後）で、ECG 間隔の解析（5 連続波形で測定した RR 間隔、PR 間隔、QRS 時間及び QT 間隔）を実施した。レミゾラムの鎮静作用の結果として全群で心拍数の減少が観察されたため、測定した各 QT 間隔を Bazett (QTcB)、Fridericia (QTcF) 及び Van de Water (QTcV) の方法に従って心拍数で補正した。

ECG をベースライン又は対照群と比較した場合、各試験群で RR、PR、QRS 及び QT 間隔の変化が観察された。試験開始前の値との比較では、雄並びに 5、10 及び 20 mg/kg 群の雌で、4 週目の投与前及び投与後の非補正 QT 間隔が延長する傾向にあった。しかし、最も適切と考えられる QT 補正 (QTcB) を使用すると、試験開始前と 4 週目の値に関して同程度の変化が対照群でもみられることから、被験物質に関連した毒性学的意義のある変化ではないと考えられた。

全投与量群の雌及び 10 及び 20 mg/kg 群の雄で、用量依存的な乳酸脱水素酵素 (LDH) の減少が観察された。LDH 濃度はこの指標の正常範囲より低下した。レミゾラムの 20 mg/kg を投与した雌雄動物では、回復期間終了時でも正常範囲を下回った。しかし、対照群の雌でも 4 週目と回復期間の測定時点で変動 (LDH 濃度が約 50%低下した) がみられることから、この指標についての毒性学的意義は不明である。

20 mg/kg 群の雄で単球及び好酸球が減少したが、正常範囲内の変化であり毒性学的意義はないと考えられた。

これ以外にレミゾラム投与に起因すると考えられる、臨床検査又は尿検査所見はみられな

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

った。

剖検時に毒性学的意義のある所見は認められなかった。

全投与量の雄で絶対及び相対腎臓重量が増加したが、回復期間終了時に差はなかった。一部の器官で絶対又は相対重量に変動がみられたが、正常範囲内の器官重量で用量反応性がなく、対照群でも同様の变化がみられることから、器官重量の変化に毒性学的意義はないと考えられた。

病理組織学的検査では、全群で腎臓に限局性又は多巣性の尿細管空胞化が認められた。腎臓の変化は溶媒対照群でも存在したが、10 mg/kg 以上を投与した動物でわずかに増加がみられた。この変化は2週間の回復期間後に程度が軽減したが、完全な回復はみられなかった。10 及び 20 mg/kg 群の雌の肝臓で細胞質淡明化が認められた。このような変化は肝臓のグリコーゲン蓄積に対する代謝反応を示唆しており、レミマゾラムの薬理作用と関連する可能性が考えられる。この変化は回復期間終了後にはみられなかった。

全投与群の投与部位で様々な炎症性変化及び出血がみられたが、レミマゾラム投与群では溶媒対照群と比較して、局所変化の増加は認められなかった。回復期間終了後には、変化の減弱が認められた。多数の動物、特に雄で鼠径リンパ節に色素を有するマクロファージが認められ、この変化は投与部位の出血との関連が考えられた。各群の動物数が少ないことから明確ではないが、レミマゾラム投与群で明らかな増加はみられなかった。

溶媒投与群では腎臓及び投与部位の変化が認められた。レミマゾラムの 10 及び 20 mg/kg 群では、腎臓の変化の程度がわずかに増加し、雌の肝臓の軽微な変化が認められた。以上より、レミマゾラムをサルに 4 週間急速静注した場合の NOAEL は 5 mg/kg と考えられた。ラットの 4 週間投与試験ではこのようなカプチゾール投与による腎臓変化の増悪は観察されておらず、溶媒としてカプチゾールの代わりに生理食塩液を使用したサルの試験（XXXXXXXXXX）でも腎臓の変化は観察されなかった。

レミマゾラム静脈内投与後のトキシコキネティックデータでは、投与後 6 又は 12 時間まで血漿中濃度が測定可能であった。代謝物 CNS 7054 の血漿中濃度は最終採血ポイント（投与後 12 時間）まで、すべての測定時点で測定可能であった。

レミマゾラムの C_{max} は、最初の採血ポイント（投与 1 分後）で観察される傾向にあった。

レミマゾラム及び CNS 7054 の血漿中濃度は、平均終末相消失半減期 ($t_{1/2}$) がそれぞれ 0.620 ~1.02 時間及び 1.32~1.57 時間で減少した。最高投与量では、4 週目の CNS 7054 の $t_{1/2\ 0-24}$ が 3.70 ~3.80 時間で、長い終末相を示した。

レミマゾラムの 5~20 mg/kg 全投与量範囲にわたり、1 日目及び 4 週目のレミマゾラム及び CNS 7054 の全身曝露量 AUC_{0-12} は、ほぼ用量に比例して増加した。

レミマゾラム及び CNS 7054 の薬物動態は、線形性を示し、蓄積はみられず、全身曝露量に明らかな性差は認められなかった。

トキシコキネティックパラメータの要約を表 2.6.6-5 に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-5 カニクイザルの 4 週間急速静注における、レミマゾラム及び代謝物 CNS 7054 のトキシコキネティックパラメータ（試験番号 ████████、群平均値 ± 標準偏差）

Sex	Male			Female		
Dose (mg/kg)	5	10	20	5	10	20
Remimazolam (CNS 7056)						
Day 1						
C _{max} (ng/mL)	3660 ± 87.2	6567 ± 1230	12402 ± 1920	3497 ± 299	6287 ± 1510	12230 ± 2640
AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	3247 ± 783	6460 ± 1480	15316 ± 9100	3457 ± 337	5697 ± 1070	13542 ± 4320
t _{1/2} (h)	0.684 ± 0.046	1.06 ^c (1.33, 0.788)	0.620 ^d	0.911 ± 0.392	0.811 ^d	NC ^a
Week 4						
C _{max} (ng/mL)	3833 ± 473	6813 ± 1190	10156 ± 1690	4123 ± 1090	6713 ± 2000	11948 ± 2440
AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	2900 ± 1030	5853 ± 1390	12880 ± 1750	3523 ± 989	4930 ± 460	11322 ± 2540
t _{1/2} (h)	0.700 ± 0.061	0.821 ± 0.056	1.01 ± 0.237	0.923 ± 0.510	0.797 ± 0.069	0.904 ± 0.264
CNS 7054						
Day 1						
C _{max} (ng/mL)	9150 ± 6490	12403 ± 3110	30120 ± 13500	7270 ± 1750	14367 ± 4820	33380 ± 17500
AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	21683 ± 18900	23667 ± 9340	58540 ± 17500	12767 ± 4100	32233 ± 9730	85800 ± 44300
t _{1/2} (h)	1.57 ^c (1.51, 1.62)	1.41 ± 0.04	1.33 ^d	NC ^a	1.35 ^d	NC ^a
Week 4						
C _{max} (ng/mL)	7277 ± 1170	14417 ± 4100	28240 ± 6860	7773 ± 1570	18033 ± 7790	31180 ± 11400
AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	15600 ± 1470	21633 ± 7560	58640 ± 16300	18200 ± 7450	37733 ± 15600	79120 ± 29700
t _{1/2} (h)	NC ^a	1.56 ± 0.15	2.54 ^b	NC ^a	1.32 ^c (1.28, 1.35)	3.73 ± 0.62 ^{b, e}

Data from ████████

PK parameters were derived from the individual plasma concentration-time profiles obtained on Day 1 and during Week 4. 5 males and 5 females are assigned in 20 mg/kg group, and 3 males and 3 females are assigned in 5 and 10 mg/kg group.

NC: Not calculated

a: mono-exponential terminal decline could not be unambiguously identified

b: t_{1/2} 0-24

c: n = 2, Individual values were shown in parentheses.

d: n = 1

e: n = 3

2.6.6.3.3 サルの 2 週間反復静脈内持続投与毒性試験（1 日 9 時間持続投与）

試験番号：██████（評価資料）、記載箇所：4.2.3.2.4

試験番号：██████（参考資料）、記載箇所：4.2.3.2.8

生理食塩液に溶解したレミマゾラムを 4～6 歳齢のカニクイザルに、6.75、9.0、11.25 及び 22.5 mg/kg の用量（0.5 又は 1.0 mg/mL を最高投与量で使用）で、後大静脈の留置カテーテルを通して、1 日 9 時間、2 週間静脈内持続投与した（██████）。溶媒対照群には生理食塩液を投与した。各群雌雄各 3 匹を使用し、対照群、11.25 及び 22.5 mg/kg 投与群には 2 週間回復性試験のために雌雄各 2 匹を追加した。動物の生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、体温・血圧測定、眼科学的検査、ECG 検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、トキシコキネティクス、剖検、器官重量測定並びに病理組織学的検査を実施した。投与量は 5 日間反復静脈内（4 時間持続）投与毒性試験（██████）を基に設定した。

5 日間反復静脈内（4 時間持続）投与毒性試験（██████）では投与量 6.4 mg/kg (1.6 mg/mL)

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

の 4 時間持続投与で、投与部位で血管反応の所見が認められた。一方、投与量 3.2 mg/kg (0.8 mg/mL) の持続投与では、同様の所見は観察されなかった。主試験では最高投与量を 22.5 mg/kg (1.0 mg/mL) の 9 時間持続投与に設定した。この用法が 14 日間投与可能な最高投与量と考えられた。

主試験では、レミマゾラム投与群で一般状態の変化として投与中に、半眼、閉眼、自発運動低下、鎮静、傾眠及び失調歩行などの変化が観察された。これらの変化は、被験物質の鎮静作用に関連すると考えられた。6.75 及び 9.0 mg/kg 投与群の変化は投与終了後 2 時間までに回復し、一方、11.25 及び 22.5 mg/kg 投与群の所見は翌日の投与開始までに回復した。死亡例はなかった。

体重、摂餌量、体温、血圧、眼科学的検査、ECG (QT 及び QTc を含む)、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量に、被験物質に関連した毒性学的意義のある変化は認められなかった。

投与期間終了時の剖検では、対照群の 2 例、6.75、9.0 及び 22.5 mg/kg 投与群の各 1 例で、投与部位（留置カテーテル先端の周囲）に白色又は赤色の腫瘍が認められた。回復期間終了時には、22.5 mg/kg 投与群の 1 例で投与部位（留置カテーテル先端の周囲）に褐色腫瘍が観察された。これらの変化には用量依存性がなく、留置カテーテル先端の周囲でみられたことから、カテーテルによる血管壁の物理的損傷に起因する変化と考えられた。

留置カテーテル先端から 2 cm 近位側の血管標本を使用して、投与部位の病理組織学的検査を実施した。対照群を含む全群の動物で、カテーテル先端の近傍及びカテーテル先端から 2 cm 近位側の部位で、血管内膜の肥厚、血栓又は血管壁の炎症が観察された。回復期間終了時には、22.5 mg/kg 投与群の雄 1 例で同様の病変がみられた。同様の変化が対照群の動物でもみられること、並びに被験物質投与群で変化の発現頻度及び程度が用量依存的ではないことから、投与部位の変化は血管壁に対するカテーテルの物理的損傷に起因すると考えられた。

これ以外の器官／組織には、被験物質に関連する傷害は観察されなかった。

したがって、レミマゾラムをサルに 2 週間反復静脈内（持続）投与した際の NOAEL は、雌雄ともに 22.5 mg/kg（1 日 9 時間かけて 1 mg/mL 溶液を 2.5 mL/kg/h で投与）と推定された。

トキシコキネティクス試験では、血漿中のレミマゾラム及び主代謝物 CNS 7054 の平均 C_{max} 及び AUC_{0-24} が投与量にほぼ比例して増加した。反復投与の影響はみられず、性差もなかった。

トキシコキネティックパラメータを次表（表 2.6.6-6）に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-6 カニクイザルのレミマゾラム 14 日間静脈内持続投与における、レミマゾラム及び CNS 7054 のトキシコキネティックパラメータ（試験番号 [REDACTED]、群平均値）

Sex	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)	6.75	9.0	11.25	22.5	6.75	9.0	11.25	22.5
Remimazolam								
Day 1								
C _{max} (ng/mL)	406	507	591	1290	340	435	582	1270
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	3500	4370	5510	10900	2800	3550	4980	10800
Day 13								
C _{max} (ng/mL)	422	574	609	1240	280	433	560	1170
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	3670	4840	5350	10400	2680	3730	4770	10400
CNS 7054								
Day 1								
C _{max} (ng/mL)	1020	1310	1850	3990	919	1050	1730	3310
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	11100	13700	18200	39700	8680	10500	16600	31500
Day 13								
C _{max} (ng/mL)	1290	1940	2200	5420	1060	1460	1700	4170
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	13300	19300	22900	53500	11200	14300	17700	42100

Data from [REDACTED]

2.6.6.3.4 サルの 4 週間反復静脈内持続投与毒性試験（1 日 12 時間持続投与）

試験番号：[REDACTED]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.2.5

本試験（[REDACTED]）では、9 種の不純物、分解生成物及び主要代謝物を含有するレミマゾラムのバッチ（不純物バッチ、Lot no.YMK110831、「遺伝毒性」及び「その他の毒性試験」の項も参照）を使用した。

被験物質を各群雌雄各 4 匹のカニクイザルに、1 日 12 時間、4 週間反復静脈内持続投与した。投与量はレミマゾラムの 0（対照：生理食塩液）、12、30 及び 60 mg/kg とした。0、30 及び 60 mg/kg 投与群の雌雄各 2 匹は、毒性変化の回復性を検討するため 4 週間休薬した。動物の生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、体温・血圧測定、眼科学的検査、ECG 検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、トキシコキネティクス、剖検、器官重量測定並びに病理組織学的検査を実施した。

この 4 週間投与試験の投与量は、カニクイザルの 2 週間静脈内持続投与試験（[REDACTED]、2.6.6.3.3.2.6.6.3.3 項）の結果を基に設定した。2 週間投与試験と比べて、この 4 週間投与試験では持続投与時間を 12 時間に延長し、軽度の局所刺激性所見が発現する可能性があるものの、高用量を 60 mg/kg に設定した（レミマゾラムの濃度 2 mg/mL を 2.5 mL/kg/h の速度で 1 日 12 時間投与）。

4 週間の投与期間中、全レミマゾラム投与群で投与開始後約 2 時間から投与終了直後まで、失調歩行、自発運動低下及び半眼が観察された。30 及び 60 mg/kg 投与群では、投与開始後約 2 時間から鎮静、座位、傾眠及び昏睡状態が観察された。これらの変化は被験物質の薬理学的特性に関連すると考えられた。投与期間及び回復期間中に死亡例はなかった。

血液学的検査では、赤血球数、血色素濃度及びヘマトクリット値の減少、並びに網状赤血球割合の増加が認められた（60 mg/kg 投与群）。回復期間に異常所見はみられなかった。

いずれの群でも投与期間及び回復期間を通して、体重、摂餌量、体温、血圧、眼科学的検査、ECG、尿検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査には被験物質に関連した異常所見はみられなかった。

投与部位の肉眼的所見及び病理組織所見は用量依存性がなく、被験物質投与群と対照群の動物

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

で発現頻度及び程度が同様であった。この所見は、留置カテーテルの物理的刺激に起因する反応性障害と考えられた。

赤血球パラメータへの影響から、NOAEL は 30 mg/kg と推定された。

トキシコキネティクスに関して、レミマゾラム及びその主代謝物 CNS 7054 の血漿中濃度 (C_{max} 及び AUC_{0-24}) は、雌雄ともに投与量に比例して増加した。 C_{max} 及び AUC_{0-24} に反復投与の影響はみられず、性差もなかった。

トキシコキネティックパラメータを次表（表 2.6.6-7）に示す。

表 2.6.6-7 カニクイザルのレミマゾラム 4 週間静脈内（1 日 12 時間）持続投与における、レミマゾラム及び CNS 7054 のトキシコキネティックパラメータ（試験番号 [REDACTED]、群平均値）

Sex	Male			Female		
Dose (mg/kg)	12	30	60	12	30	60
Remimazolam						
Day 0						
C_{max} (ng/mL)	364	983	2220	374	1040	2160
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	4040	11200	24400	3920	11500	24800
Day 27						
C_{max} (ng/mL)	448	1000	1690	343	845	1600
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	4830	11100	19800	4050	10000	19100
CNS 7054						
Day 0						
C_{max} (ng/mL)	1090	3550	7240	1160	4170	7670
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	10700	41100	83000	11300	42600	80700
Day 27						
C_{max} (ng/mL)	1470	3640	6030	753	2710	4040
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	14800	40100	65500	9800	32500	49500

Data from [REDACTED]

2.6.6.3.5 ミニブタの 4 週間静脈内持続投与試験（1 日 6 時間持続投与）

試験番号：[REDACTED]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.2.10

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.2.9

本試験（[REDACTED]）では、ミニブタ（Göttingen）にレミマゾラム 0、12、40 及び 120 mg/kg の用量で 4 週間静脈内投与した（頸静脈内留置カテーテルを通して投与容量 4 mL/kg/h で 6 時間持続投与、溶媒：ラクトース水和物 0.9%及びデキストラン 40 1.4%を含有する 0.9%塩化ナトリウム）。各群雌雄各 3 匹を使用した。別途、対照群及び高用量群では雌雄各 2 匹に 4 週間の回復期間を設けた。動物の生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、鎮静作用評価、体温・血圧測定、眼科学的検査、聴覚検査、ECG 検査、尿検査、血液学的検査、血液凝固能検査、血液生化学的検査、トキシコキネティクス、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査、精子検査並びに骨髄検査を実施した。投与量はミニブタに 14 日間 4 又は 6 時間静脈内持続投与した試験（[REDACTED]）の結果を基に決定した。

ミニブタ（Göttingen）の 14 日間用量設定試験（[REDACTED]）では、4～6 時間の反復持続静脈内投与により、レミマゾラムとミダゾラムを比較した。

本試験では、鎮静、失調歩行、身震い発現、横臥、自発運動低下、不穏、咀嚼運動、無関心の態度及び流涎などの被験物質に関連した行動変化が認められた。全投与日の持続投与時にレ

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

ミマゾラムの 120 mg/kg 群（ベシル酸塩として）で鎮静作用が認められ、360 分の持続投与期間中及び投与終了後 60 分まで症状が観察された。

投与部位の肉眼的病理検査で血管壁の軽度硬化が認められ、この変化は留置カテーテルを通じた持続投与の技術的方法に関連すると考えられた。

観察された一般症状は被験物質の薬理作用に関連すると考えられたが、持続投与の継続時間、局所忍容性に関わる薬液注入ラインでのレミゾラム濃度及び最終的にこの動物種で投与可能な投与液量などの制約から、用量設定試験の最高用量（120 mg/kg）は投与可能な最高用量であった。

主試験では、一般状態観察において、レミゾラム投与に関連した毒性所見は認められなかった。持続投与時間中及び投与終了後の鎮静作用を音及び前肢又は後肢への pinch 刺激に対する反応のスコア化により評価した結果、レミゾラムを投与した全例で用量依存的な鎮静作用が認められた。鎮静作用は投与開始後 5 分でプラトーに達し、6 時間の持続投与中継続して、低用量群で投与終了後 20 分、中及び高用量群で投与終了後 70 分まで観察された。Day 1、4、7、14、21 及び 28 に評価した投与開始 350 分後の鎮静スコアの平均値±標準偏差は、12、40 及び 120 mg/kg 群の雄でそれぞれ 1.31 ± 0.63 、 1.86 ± 0.21 及び 2.46 ± 0.27 （音に対する反応）並びに 0.22 ± 0.17 、 1.11 ± 0.40 及び 1.87 ± 0.55 （pinch 刺激に対する反応）、雌でそれぞれ 0.75 ± 0.27 、 2.21 ± 0.14 及び 2.58 ± 0.21 （音に対する反応）並びに 0.44 ± 0.54 、 1.50 ± 0.41 及び 2.40 ± 0.47 （pinch 刺激に対する反応）であった。対照群のスコアはいずれも 0.00 ± 0.00 であった。

剖検時に対照群を含む全試験群の一部の動物で、心膜／心臓に近接する頸静脈内のカテーテル先端部の周囲に局所的反応が認められた。少数例では、留置カテーテル又は投与ポートへの炎症反応様の局所反応が認められた。

病理組織学的検査では、溶媒対照群を含む全試験群で、主にカテーテル先端部（心臓領域）に種々の炎症正反応を示す徴候が認められた。これらの変化は持続投与の技術的方法（留置カテーテルを心房の約 1～2 cm 前方に設置）に起因し、被験物質に関連する変化ではないと考えられた。

体重変化、摂餌量、血圧、体温、ECG 検査、眼科学的／聴覚検査並びに臨床検査パラメータ（血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、骨髓検査、精子運動性及び精子形態）には、被験物質に関連する変化は認められなかった。

毒性所見は観察されなかった。

本試験の NOAEL は 120 mg/kg と推定され、前述の用量設定試験で概説した制約から投与可能な最高用量であった。また、局所反応は持続投与の技術的方法に起因し、被験物質に関連する変化ではないことが示された。

レミゾラム及び CNS 7054（レミゾラム主代謝物）について、トキシコキネティクス評価を実施した。レミゾラム濃度は約 0.30～0.78 時間の $t_{1/2}$ で減少した。AUC では、動物が投与量に応じて被験物質に曝露されたことが示された。投与期間中にレミゾラムの蓄積は認められなかった。

レミゾラム及び CNS 7054 のトキシコキネティックパラメータの要約を表 2.6.6-8 に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-8 ミニブタのレミマゾラム 4 週間静脈内（6 時間）持続投与における、レミマゾラム及び CNS 7054 のトキシコキネティックパラメータ（試験番号 ■■■■、群平均値）

Sex	Male			Female		
Dose (mg/kg)	12	40	120	12	40	120
Remimazolam						
Day 1						
C _{max} (ng/mL)	461	3756	12756	1376	1727	4618
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	2692	17175	55543	4413	9297	23682
Day 28						
C _{max} (ng/mL)	497	2286	9879	662	1398	6385
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	2587	12583	44618	3419	7915	30013
CNS 7054						
Day 1						
C _{max} (ng/mL)	1944	6044	26486	1872	6198	15735
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	7574	32923	308317	8907	34499	77576
Day 28						
C _{max} (ng/mL)	1315	4892	27306	1432	4258	18716
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	9749	28614	386514	8156	24307	103318
Data from ■■■■						

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.6.3.6 補助的毒性試験

2.6.6.3.6.1 サルの4週間反復静脈内持続投与毒性試験(週1回2時間持続投与)

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.2.6

本試験 ([REDACTED]) では、各群雌雄各 4 匹のカニクイザルに被験物質 ([REDACTED] で製造されたレミマゾラム：[REDACTED]) を 12.5、25 及び 50 mg/kg (ベシル酸塩として) の用量で後肢静脈から投与した。陰性対照として溶媒を投与した。さらに、他の 1 群に比較薬としてオリジナルの原薬 ([REDACTED] 製のレミマゾラム：[REDACTED]) を 25 mg/kg の用量で投与した。臨床で予定する薬剤投与法に合わせて、動物への投与は毎回の投与を導入期 (投与速度: 48 mL/kg/h、5 分間) 及び維持期 (投与速度: 8 mL/kg/h、2 時間) に分けて、週 1 回 4 週間投与した (合計 5 回投与)。最終投与の翌日 (Day 30) に各群雌雄各 2 匹を剖検し、残りの動物は回復期間終了時 (Day 43) に剖検した。

試験期間中に、体重、血圧、眼科学的検査、血球数、血液凝固能、血液生化学的検査及び尿検査では、薬剤に関連した変化は観察されなかった。被験物質を投与したすべての動物で、臨床症状 (閉眼及び筋弛緩) が観察された。

各投与後約 1 時間で、薬剤投与動物に体温低下がみられた。同様に薬剤投与群で心拍数が減少し QT 間隔が延長したが比較薬投与群のみ、有意な QT 間隔の延長が初回投与後 4 時間まで観察された。次回投与前までには、ECG パラメータは正常に戻った。陰性対照群の動物では、投与日に異常所見は認められなかった。

試験期間中に死亡例はなかった。剖検所見及び器官重量で、薬剤に関連した異常所見はみられなかった。投与部位の病理組織学的検査では、高用量群 (投与薬物濃度 2.5 mg/mL) で 4 週間投与終了時に、内皮線維化、血栓並びに (血管周囲組織を含む) 血管壁の単核細胞浸潤及び出血など、軽度から中等度の刺激性反応が認められた。2 週間の回復期間終了時には、投与部位の刺激性反応はおおむね回復した。

薬剤に関連したこれ以外の組織学的病変はみられなかった。

本試験の NOAEL は 50 mg/kg と推定された。この投与量における所見として、臨床症状 (閉眼及び筋弛緩)、体温低下、心拍数減少、QT 間隔延長、投与部位の反応性病変が認められた。いずれも回復性の所見であった。

レミマゾラム及び CNS 7054 のトキシコキネティックパラメータを次表 (表 2.6.6-9) に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-9 カニクイザルのレミマゾラム 4 週間静脈内持続投与における、レミマゾラム及び CNS 7054 のトキシコキネティックパラメータ（試験番号 ████████、群平均値）

Sex	Male				Female			
Dose (mg/kg)	12.5	25	50	25 *	12.5	25	50	25 *
Remimazolam								
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	4573	8856	21012	8588	3954	6051	14221	6938
AUC_{0-26.083} (ng•h/mL)	12533	24646	48622	24594	11586	18474	44447	18967
t_{1/2} (h)	0.87	1.01	1.10	0.87	0.95	1.20	1.38	0.96
t_{max} (h)	0.58	0.08	0.58	0.08	1.08	1.08	0.58	0.58
Day 29								
C_{max} (ng/mL)	3913	7031	12225	6630	3173	5187	10105	5846
AUC_{0-26.083} (ng•h/mL)	10018	18784	34428	17421	8083	13406	28100	12715
t_{1/2} (h)	0.74	1.06	0.96	1.08	0.94	0.93	1.17	1.00
t_{max} (h)	0.08	0.58	1.08	0.08	0.58	0.08	0.71	0.08
CNS 7054								
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	13049	39126	108107	29810	13883	34198	73278	33382
AUC_{0-26.083} (ng•h/mL)	46501	131482	515384	99221	43897	112381	286167	110711
t_{1/2} (h)	1.37	2.63	2.46	1.31	2.15	1.97	2.59	1.05
t_{max} (h)	2.08	2.33	2.58	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08
Day 29								
C_{max} (ng/mL)	7346	27979	67358	25396	9572	24818	45998	23877
AUC_{0-26.083} (ng•h/mL)	22476	90119	266800	96242	28436	85257	159811	83784
t_{1/2} (h)	1.78	1.85	2.21	2.11	1.99	2.52	2.41	1.85
t_{max} (h)	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08

Data from ████████

* Original reference product

2.6.6.3.6.2 経鼻投与

ラットを用いてレミマゾラムの反復経鼻投与による吸収及び局刺激性を検討した（表 2.6.6-10）。

表 2.6.6-10 レミマゾラムの反復経鼻投与試験

Species (Study Duration)	Mode of administration	Doses (mg/kg)	Study Number
SD Rat (4-days)	i.n.	0/4/8/16	██████
	i.v.	2	
SD Rat (3-days)	i.n.	0/16	██████
	i.v.	16	

2.6.6.3.6.2.1 ラットのレミマゾラム 4 日間反復経鼻投与毒性試験

試験番号：[REDACTED] (評価資料)、記載箇所：4.2.3.2.12

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.2.11

本試験 ([REDACTED]) は、レミマゾラムが乱用された場合を想定して、経鼻投与における局所刺激性の評価、経鼻投与での薬物動態及びバイオアベイラビリティの検討並びに 14 日間休薬後の回復性の検討を目的として実施した。また、レミマゾラムが体循環を介さず、嗅覚伝導系を通して直接中枢神経系に到達するか否かについても検討した。

雄ラット (SD) に、レミマゾラム 4、8 又は 16 mg/kg (遊離体換算) に相当する 1、2 又は 4 mg/animal で 4 日間経鼻投与、若しくは 2 mg/kg で 4 日間静脈内投与した。投与期間終了時に各群 5 匹を評価し、他の各群 5 匹を回復期間終了時に検査した。また、薬物動態解析用の採血のため、別途カテーテルを留置した動物を使用した。動物の生死及び一般状態観察、体重・摂餌量測定、鎮静作用評価、トキシコキネティクス、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。本試験における投与量は雄ラットを用いた漸増経鼻投与試験 ([REDACTED]) の結果に基づき決定した。

雄ラットの漸増経鼻投与試験 (トキシコキネティクス試験) ([REDACTED]) は、雄ラットに各種溶媒 [注射用水のみ、1%キトサン又は 20%ポリエチレングリコール (PEG) を含む注射用水] を使用して経鼻投与した場合の、レミマゾラムの MTD 又は投与可能な最高用量 (MFD) を明らかにする目的で実施した。最初の漸増投与試験では、MTD 又は MFD に達するまで 4 用量を漸増投与した (各投与間で 3~4 日のウォッシュアウト期間を設けた)。次の固定用量投与試験では、先に決定した最高用量を 3 日間経鼻又は静脈内投与した。

MFD の 16 mg/kg を 100 µL/animal (2 × 25 µL per nostril/animal) で投与した。局所忍容性及びバイオアベイラビリティに基づき、固定用量投与試験では水溶液を使用した。レミマゾラムの経鼻投与では、軽度の鎮静作用が観察されたが、同用量の静脈内投与ほどの効果は認められなかった。

以上のように、ラットの固定用量投与試験を通してレミマゾラムの経鼻投与は忍容性が良好であり、動物は各投与セッション後の回復が良好で、剖検時まで全身状態に異常は認められなかった。

レミマゾラムの水溶液を投与した 2 例及び 1%キトサンを含有する水溶液を投与した全例で 3 日間投与後に認められた病理組織学的変化は軽微ないしは軽度と考えられたが、これ以上の反復投与には好ましくなかった。しかし、この試験では回復性の評価をしていない。注射用水はキトサンあるいは PEG を含む溶媒と比較して物理的特性が良好 (粘性が低い) であり、忍容性も良く適度の曝露が得られた。このため、その後実施する経鼻投与試験に使用する製剤の溶媒として注射用水が適切と判断された。

主試験では、試験期間中に死亡例はなかった。レミマゾラムを経鼻投与した動物の行動パラメータ、体重及び摂餌量に被験物質に関連する変化は認められなかった。剖検時の肉眼的検査では、局所的又は全身的な病変は認められなかった。呼吸系器官 (鼻腔、鼻咽頭、副鼻腔、喉頭、気管及び肺) の病理組織学的検査で、被験物質に関連する変化はみられなかった。

以上より、経鼻投与による全身的な NOEL は 16 mg/kg 以上と判断された。局所忍容性に関する NOEL は、ラットの鼻腔内表面積を 14 cm² として、鼻腔内面積に対して 0.29 mg/cm² に相当する 4 mg/animal 以上と判断された。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

本試験では、レミマゾラムの血漿中濃度はいずれの試料でも定量下限未満であった。血漿試料中にレミマゾラムが検出されなかったのは、不十分な血漿エステラーゼの中和による試料中での不安定性に関連すると考えられた。したがって、血漿試料でレミマゾラムが検出されなかったが、動物の採血時点における実際のレミマゾラム濃度を反映していないと考えられる。動物の被験物質による曝露に関する情報は、主代謝物 CNS 7054 の血漿中濃度から得られると考えられる。

Day 1 の低、中及び高用量群における CNS 7054 の $C_{\max}$ は、それぞれ 575、1442 及び 2443 ng/mL (群平均値) であった。各群の AUC は、それぞれ 10444、25340 及び 47676 ng•min/mL であった。

以上より、レミマゾラムの経鼻投与では局所的又は全身的毒性の所見は認められなかった。

トキシコキネティックデータ解析の結果、臨床症状がみられなかったことと一致して経鼻投与によるバイオアベイラビリティが低いことが明らかとなり、鼻粘膜のエステラーゼ活性及びラット特有の鼻孔構造に関連する可能性が考えられた。

また、(体循環を介さない) 嗅覚伝導系を通した直接の中樞神経系への曝露で、動物に鎮静作用の症状は発現しないと結論された。

2.6.6.3.7 反復投与毒性試験における動物の曝露量

典型的な臨床症状の発現により毒性試験における動物の曝露が示唆され、トキシコキネティクス試験によりデータとして証明された。 $C_{\max}$ 及び AUC 値から、NOAEL における曝露の程度が明らかとなった。表 2.6.6-12 及び表 2.6.6-13 では、動物の曝露量を相当するヒトの曝露量と比較し、動物の曝露量と第 II 相臨床試験 (CNS7056-010) で観察されたヒトの曝露量から算出した曝露量比を示す。当該臨床試験では最高用量で最長期間投与されたことから、保守的な手法として、この臨床試験を標準的参照データとする。安全域の算出に使用した平均 $C_{\max}$ 及び AUC を表 2.6.6-11 に示す。

表 2.6.6-11 第 II 相臨床試験 CNS7056-010 で観察されたヒトの曝露量

Parameter	Remimazolam	CNS 7054
Mean $C_{\max}$ (total)	4.951 µg/mL (11.3 µmol/L)	18.4 µg/mL (43.3 µmol/L)
Mean $C_{\max}$ (free)	0.40 µg/mL (0.91 µmol/L)	1.54 µg/mL (3.6 µmol/L)
Mean AUC _{0-t} (total)	6.881 µg•h/mL	65.7 µg•h/mL
Mean AUC _{0-t} (free)	0.557 µg•h/mL	5.52 µg•h/mL

2.6.6.3.7.1 急速静注

ラットの 4 週間反復投与毒性試験では、急速静注の NOAEL は 20 mg/kg であった (██████、2.6.6.3.1 項)。

ラットでは、急速静注後の血漿中濃度は投与後 5～10 分まで測定可能であった、一方、代謝物 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。ラットにおけるレミマゾラムの $C_{\max}$ は、最初の測定時点で観察された。

ラットではレミマゾラムの代謝が極めて速いことから、この化合物の毒性試験に適切なモデルではないと考えられる。このため、非げっ歯類の毒性試験で得られた試験データに重きを置く。

ラットにレミマゾラムの 20 mg/kg (NOAEL) 及び 30 mg/kg (最高投与量) 並びにカニクイザルにレミマゾラムの 5 mg/kg (NOAEL) 及び 20 mg/kg (最高投与量) をそれぞれ 4 週間急速静注 (██████、2.6.6.3.1 項及び ██████、2.6.6.3.2 項) 後のトキシコキネティックデータを表 2.6.6-12 に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-12 ラット及びカニクイザルの反復急速静注試験におけるレミゾラムの全身曝露量

Species	Study	Dose Characterization	Gender	Dose Level (mg/kg/day)	C _{max} (ng/mL)	AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	Exposure Ratio ^a		Exposure ratio free concentrations ^b	
							C _{max}	AUC	C _{max}	AUC
Rat	28-day toxicity (i.v. bolus)	NOAEL	Male	20	3.9, 19.1	0.35, NC	0.001, 0.004	0.00005, NC	0.003, 0.01	0.0002, NC
			Female		6.8, 16.9	0.70, 24.5	0.001, 0.003	0.0001, 0.004	0.005, 0.01	0.0004, 0.01
		Highest dose studied ^c	Male	30	27.6, 15.0	3.6, 4.1	0.006, 0.003	0.0005, 0.0006	0.02, 0.01	0.002, 0.002
			Female		19.4, 4.2	1.7, 3.7	0.004, 0.001	0.0002, 0.0005	0.01, 0.003	0.001, 0.002
Monkey	28-day toxicity (i.v. bolus)	NOAEL	Male	5	3660, 3810	3180, 2750	0.7, 0.8	0.5, 0.4	2.1, 2.2	1.3, 1.2
			Female		3490, 4020	3450, 3420	0.7, 0.8	0.5, 0.5	2.0, 2.4	1.5, 1.4
		Highest dose studied ^d	Male	20	12300, 10000	13800, 12800	2.5, 2.0	2.0, 1.9	7.2, 5.9	5.8, 5.4
			Female		12000, 11700	12900, 11100	2.4, 2.4	1.9, 1.6	7.0, 6.9	5.4, 4.7
Human	CNS7056-010	Mean values	12 mg/kg/h initiation + maintenance infusion at ca. 1-3 mg/kg/h		4,951	6,881*	n.a.			

Data from [REDACTED], [REDACTED], CNS7056-010

Two values, where indicated, denote mean values at first study day (left) and close to study end (right).

AUC₀₋₂₄: area under the curve from time 0 to 24 hours; NC: not calculated; NOAEL, no observed adverse effect level

a: NOAEL/observed human exposure

b: corrected for differences in free plasma concentration (rat, 29.5%; monkey, 23.5%; human, 8.1%)

c: Findings were an increased incidence of urinary blood pigments (females > males) and protein (females).

d: At this dose level, in single animals minor renal lesions and unspecific liver changes were seen (not associated with changes in laboratory parameters).

* AUC_{0-t}

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

カニクイザルでは、レミマゾラム及び代謝物 CNS 7054 の血漿中濃度が投与後 6 又は 12 時間まで測定可能であった。

レミマゾラムの $C_{\max}$ は、投与後最初の測定時点（投与後 1 分）で観察される傾向にあった。

血漿中濃度は、 $t_{1/2}$ の平均値が 0.620～1.02 時間（レミマゾラム）及び 1.32～1.57 時間（CNS 7054）で減少した。全身曝露量は、全投与量範囲で投与量に比例して増加した。反復投与後に蓄積性の兆候はみられなかった。薬物動態は時間に線形と考えられた。全身曝露量に性差はみられなかった。

遊離型の血漿中濃度に基づきヒトの曝露量と比較すると、カニクイザルの急速静注では、代表的な臨床試験の曝露量と比べて $C_{\max}$ は 7.2 倍、AUC は 5.8 倍高かった。NOAEL での曝露量は、代表的な臨床試験の曝露量と比べて $C_{\max}$ で 2.4 倍、AUC で 1.5 倍高値であった（表 2.6.6-12）。

2.6.6.3.7.2 静脈内持続投与

カニクイザル及びミニブタを使用して、レミマゾラムの静脈内持続投与による毒性を検討した。サル（XXXXXXXXXX、2.6.6.3.3 項）及び 4 週間反復静脈内持続投与試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.3.4 項）で、NOAEL はそれぞれ 22.5 及び 30 mg/kg であった。

反復静脈内持続投与試験では、動物で可能な最高曝露量が達成された。高濃度のレミマゾラムを含む投与液は持続投与で局所刺激性を示すことが知られており、動物愛護の観点からミニブタの最大投与容量が 1 mL/kg/h、サルは 2.5 mL/kg/h である [9](#) ことから、この投与量を超えることはできない。

また、レミマゾラムの鎮静作用により被験物質の長時間投与は摂餌量の減少を引き起こし、それが動物の全身状態に影響を及ぼす可能性が考えられる。したがって、持続投与試験の最長投与時間は 1 日 12 時間に制限される。

被験物質の動物における全身曝露量の要約：

- 毒性試験で適用可能な最高投与量は、いくつかの制約により限界がある。血管のサイズにより、1 又は 2 mg/mL より高濃度のレミマゾラムを含む持続投与溶液は投与部位に局所刺激性を示すことが知られている。動物で投与可能な液量には限界があり、単に投与液量を増加することでは解決できない。また、化合物の薬力学的特性からも非臨床動物試験における曝露量には制限がある。
- 最高曝露量はミニブタで達成された（NOAEL における遊離型濃度を基に比較）。代表的な臨床試験（CNS7056-010 試験、表 2.6.6-11 及び表 2.6.6-13 参照）におけるヒトの曝露量と比較すると、 $C_{\max}$ 及び AUC でそれぞれ 4.8 倍及び 15.1 倍高い曝露量が達成された。
- カニクイザルの試験では、XXXXXXXXXX（2.6.6.3.6.1 項）で最高曝露量が観察された（ $C_{\max}$ で最大 7.2 倍、AUC で最大 14.5 倍）。
- カニクイザルの反復静脈内持続投与試験の NOAEL における $C_{\max}$ は、臨床試験におけるヒトの $C_{\max}$ と比較して 0.8 倍、AUC では 4.8 倍の曝露量であった。
- サルの反復投与毒性試験におけるレミマゾラムの $t_{1/2}$ は、0.620～1.02 時間の範囲（急速静注）にあった。ミニブタでは、 $t_{1/2}$ が 0.30～0.78 時間の範囲にあった。
- トキシコキネティクス解析で性差は認められなかった。レミマゾラム及び代謝物 CNS 7054 の平均 $C_{\max}$ 及び AUC は、投与量に比例して増加した。反復投与後に被験物質は体内に蓄積しなかった。

非げっ歯類の反復静脈内持続投与毒性試験における、代表的な曝露量データを表 2.6.6-13 に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-13 カニクイザル及びミニブタの反復静脈内（持続）投与試験におけるレミマゾラムの全身曝露量

Species	Study	Dose Characterization	Gender	Dose Level (mg/kg/day)	C _{max} (ng/mL)	AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	Exposure Ratio ^a		Exposure ratio free concentrations ^b	
							C _{max}	AUC	C _{max}	AUC
Monkey	██████████ 14-day toxicity (9 h/day)	NOAEL (highest dose studied)	Male	22.5	1290, 1240	10900, 10400	0.3, 0.3	1.6, 1.5	0.8, 0.7	4.6, 4.4
			Female		1270, 1170	10800, 10400	0.3, 0.2	1.6, 1.5	0.7, 0.7	4.6, 4.4
	██████████ 28-day toxicity (12 h/day)	NOAEL	Male	30	983, 1000	11200, 11100	0.2, 0.2	1.6, 1.6	0.6, 0.6	4.7, 4.7
			Female		1040, 845	11500, 10000	0.2, 0.2	1.7, 1.5	0.6, 0.5	4.8, 4.2
		Highest dose studied	Male	60	2220, 1690	24400, 19800	0.4, 0.3	3.5, 2.9	1.3, 1.0	10.3, 8.3
			Female		2160, 1600	24800, 19100	0.4, 0.3	3.6, 2.8	1.3, 0.9	10.5, 8.1
	██████████ 28-day toxicity 2 h -once per week***	NOAEL (highest dose studied)	Male	50	12225	34428	2.5	5.0	7.2	14.5
			Female		10105	28100	2.0	4.1	5.9	11.8
Minipig	██████████ 28-day toxicity (6 h/day)	NOAEL (highest dose studied)	Male	120	12756, 9879	55543, 44618**	2.6, 2.0	8.1, 6.5	6.8, 5.2	21.2, 17.1
			Female		4618, 6385	23682, 30013**	0.9, 1.3	3.4, 4.4	2.5, 3.4	9.1, 11.5
Human	CNS7056-010	Mean values	12 mg/kg/h initiation + maintenance infusion at ca. 1-3 mg/kg/h		4951	6881*	n.a.			

Data from [REDACTED], [REDACTED], [REDACTED], [REDACTED], CNS7056-010

Two values, where indicated, denote mean values at first study day (left) and close to study end (right).

AUC₀₋₂₄: area under the curve from time 0 to 24 hours; n.a.: not applicable; NOAEL: no observed adverse effect level

a: NOAEL/observed human exposure.

b: corrected for differences in free plasma concentration (monkey, 23.5%, minipig, 21.3% vs. human, 8.1%).

c: At this dose level, changes in erythroid parameters were observed.

*: AUC₀₋₄; **: AUC_{0-∞}

***: note non-standard design; detailed in section 2.6.6.3.6

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.6.4 遺伝毒性試験

復帰突然変異試験を 3 試験、マウスリンフォーマ試験を 2 試験及びラット骨髄を用いる *in vivo* 小核試験を 2 試験実施し、レミマゾラムの変異原性を検討した（表 2.6.6-14）。

表 2.6.6-14 レミマゾラムの遺伝毒性試験

Type of Study	Doses	Report Number
<i>In vitro</i> tests		
Ames assay	39.1 to 5000 µg/plate (Dose range finding) 156 to 5000 µg/plate (Main study)	■■■■■
Ames assay	1.6 to 5000 µg/plate (Dose range finding) 8 to 5000 µg/plate (Main study)	■■■■■
Ames assay (impurity batch)	5 to 5000 µg/plate (Dose range finding) 156 to 5000 µg/plate (Main study)	■■■■■
Mouse lymphoma assay	100 to 2000 µg/mL (3 h treatment) 25 to 650 µg/mL (24 h treatment)	■■■■■
Mouse lymphoma assay (impurity batch)	100 to 641 and 50 to 2000 µg/mL (3 h treatment) 25 to 650 µg/mL (24 h continuous treatment)	■■■■■
<i>In vivo</i> tests		
Micronucleus test, rat	0, 10, 20, 30 (40, 50) mg/kg iv bolus, twice at 24 h intervals	■■■■■
Rat micronucleus-comet combination assay (impurity batch)	18.8, 37.5, 75 mg/kg 30 min infusion, 3 administrations at 24 or 21 h intervals	■■■■■
Rat micronucleus-comet combination assay (impurity batch)	37.5, 70, 150, 300 mg/kg 0.2 mL/min intravenous, 3 administrations at 24 or 21 h intervals	■■■■■

* In studies ■■■■■, ■■■■■, and ■■■■■, a remimazolam batch containing eight synthetic impurities/degradants and the principal metabolite CNS 7054 was used (impurity batch, Lot no. ■■■■■).

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：■■■■■（参考資料）、記載箇所：4.2.3.3.1.1

試験番号：■■■■■（評価資料）、記載箇所：4.2.3.3.1.2

試験番号：■■■■■（評価資料）、記載箇所：4.2.3.3.1.3

ネズミチフス菌株 TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 並びに大腸菌株 WP2 *uvrA* を用い、プレート法及びプレインキュベーション法により、代謝活性化系（S9 mix）の存在下及び非存在下で復帰突然変異試験を 2 試験実施した（■■■■■、■■■■■）。■■■■■試験では被験物質を 8～5000 µg/plate（遊離体換算）の濃度でジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した。最高濃度（5000 µg/plate）で化合物の沈殿が認められた。

■■■■■では、用量設定試験と主試験を別個に実施した。■■■■■では、全試験菌株を S9 mix の存在下及び非存在下でプレート法を用いた実験 1、並びにプレインキュベーション法で試験した実験 2 を実施した。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

主試験では、S9 mix の存在下及び非存在下のプレート法及びプレインキュベーション法により、レミゾラムのいずれの用量でもすべての菌株で用量依存的又は統計学的に有意な復帰変異コロニーの増加はみられなかった()。陽性対照は試験系の妥当性を示した。この試験結果は、いずれの試験菌株でも S9 mix の存在及び非存在下で、少なくとも溶媒対照群の 2 倍以上の復帰変異コロニー数の用量依存的な増加を示さなかった、試験番号 の結果とも一致した。

レミゾラムの不純物バッチを用いた復帰突然変異試験を実施した。S9 mix 存在下及び非存在下、プレインキュベーション法により 5 試験菌株（ネズミチフス菌株 TA100、TA1535、TA98 及び TA1537、並びに大腸菌株 WP2 *uvrA*）を使用した()。被験物質の添加により、S9 mix 存在下及び非存在下の 2500 µg/plate 以上で被験物質の沈殿が認められた。同様に、48 時間培養後のプレートで S9 mix の存在下及び非存在下の 2500 µg/plate 以上で被験物質の沈殿が認められた。主試験は最高濃度 5000 µg/plate で実施した。1 用量当たり 3 枚のプレートを使用した。反復試験で再現性が確認された。陽性対照は試験系の妥当性を示した。

すべての主試験において、いずれの菌株でも S9 mix の存在下及び非存在下で、陰性対照群と比較して 2 倍以上、又は用量依存的な復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

レミゾラムは細菌を用いる復帰突然変異試験で変異原性を示さないと推測された。

2.6.6.4.2 マウスリンフォーマ TK 試験

試験番号： (評価資料)、記載箇所：4.2.3.3.1.4

試験番号： (評価資料)、記載箇所：4.2.3.3.1.5

マウスリンパ腫 L5178Y (*Tk*^{+/−}) 細胞を用い、3 時間の短時間処理 (S9 mix 存在下及び非存在下) 又は 24 時間連続処理 (S9 mix 非存在下) で、マウスリンフォーマチミジンキナーゼ (TK) 試験を実施した()。レミゾラムを DMSO に溶解し、いずれもベシル酸塩として 100～641 µg/mL (S9 mix 非存在下の短時間処理)、50～2000 µg/mL (S9 mix 存在下の短時間処理) 及び 25～650 µg/mL (S9 mix 非存在下の 24 時間連続処理) で培養系に添加した。

短時間処理では、S9 mix 存在下でレミゾラムの 800 及び 900 µg/mL でそれぞれ相対増殖率 (RTG) は 10%及び 18%、S9 mix 非存在下の 600 及び 610 µg/mL でそれぞれ 20%及び 4%であった。長時間処理では、被験物質の 550 µg/mL で RTG が 13%であった。したがって、レミゾラムの処理は細胞毒性が発現する濃度まで行った。

処理方法 (短時間処理又は 24 時間連続処理) 及び S9 mix の有無に係わらず、レミゾラムのいずれの濃度でも遺伝子変異発現頻度の有意な増加はみられなかった。

S9 mix 存在下及び非存在下、細胞毒性濃度のレミゾラム処理により、試験間で一貫性がなく背景データ平均値±2 標準偏差 (S.D.) の範囲で、統計学的に有意な遺伝子変異発現頻度の増加及び/又は小型コロニーの増加がみられた。このような突然変異発現頻度の増加は細胞毒性濃度 (500 µg/mL 以上) においてのみ観察されたことから、この差異は真の変異原性作用ではなく生物学的変動の結果と考えられた。

マウスリンフォーマ試験の結果は、レミゾラムが遺伝子変異誘発能を有さないことを示している。

レミゾラムの不純物バッチを使用して、追加のマウスリンフォーマ TK 試験を実施した()。処理時間を S9 mix 存在下又は非存在下の 3 時間、及び S9 mix 非存在下の 24 時

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

間連続処理とした。

用量設定試験の結果に基づき、以下の濃度を用い試験した。

3時間短時間処理：200、250、300、350、400、450 及び 500 µg/mL (S9 mix 非存在下)、並びに 450、500、550、600、650、700、750 及び 800 µg/mL (S9 mix 存在下)。

24時間連続処理：300、350、400、450、500、550 及び 600 µg/mL (S9 mix 非存在下)。

マウスリンフォーマ TK 試験の最高濃度は、用量設定試験で 80%以上の細胞毒性を示す濃度とした。

予備試験を行い、次いで確認試験を実施した。

S9 mix 存在下の短時間処理で総突然変異頻度 (T-MF) の有意な増加がみられたが、予備試験及び確認試験共に用量依存的な遺伝子変異発現頻度の増加は認められなかった。

S9 mix 非存在下の短時間処理で、T-MF が用量依存的かつ有意に増加した。しかし、用量依存性は予備試験にのみ認められ、確認試験では認められなかった。24 時間連続処理 (S9 mix 非存在下) では、両試験で T-MF の有意な増加が認められた。用量依存性はなかった。

T-MF の増加は小型コロニーの発現頻度 (S-MF) 増加により誘発されたと考えられるが、このパラメータの用量依存性は統計学的に有意ではなかった。

表 2.6.6-15 に T-MF の増加を示した最小濃度及び細胞毒性パラメータの結果を要約する。

表 2.6.6-15 総突然変異発現頻度の増加を示した最小濃度及び細胞毒性パラメータの結果のまとめ

Study	Lowest Concentration Causing Increase in Total Mutation Frequency (µg/mL)	Relative Total Growth	Relative Cell Survival	Lowest Concentration Causing Cell Death* (µg/mL)
First experiment				
3 h-short-term treatment (-S9 mix)	450	Reduced	Reduced	450
3 h-short-term treatment (+S9 mix)	650	Reduced	Reduced	650
24 h-treatment (-S9 mix)	550	Reduced	Reduced	550
Confirmatory experiment				
3 h-short-term treatment (-S9 mix)	450	Reduced	Reduced	450
3 h-short-term treatment (+S9 mix)	500	Reduced	Reduced	600
24 h-treatment (-S9 mix)	500	Reduced	Reduced	500

* Lowest Concentration Causing Cell Death to be determined as the one showing inhibition of at least one of the cytotoxic parameters by more than 50%.

Data from

両試験のすべての処理で、被験物質処理直後に相対生存率 (RS) が用量依存的に減少した。2 日間の突然変異発現期間中に相対浮遊細胞増殖率 (RSG) も同様であった。突然変異発現期間終了後の相対生存率 (RS2) は、S9 mix 非存在下の短時間処理で軽度の減少がみられた。本試験の他の処理及び確認試験で実施した処理では、生存率の減少はみられなかった。両試験で、RTG は RSG と類似した用量依存的な減少を示した。

以上のデータから、S9 mix 非存在下短時間処理の 450 µg/mL、及び 24 時間連続処理の 550 µg/mL で認められた T-MF の増加は、約 20%又はそれ以下に減少した RTG 値と関連することが示された。これより高濃度では細胞が死滅した。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

被験物質処理直後から 2 日間の突然変異発現期間終了まで、S9 mix 非存在下短時間処理の 500 µg/mL (両試験)、S9 mix 存在下短時間処理の 750 µg/mL (確認試験では 700 µg/mL) 以上、及び (S9 mix 非存在下) 24 時間連続処理の 600 µg/mL (確認試験では 550 µg/mL) で、100%の細胞毒性が観察された。

S9 mix 存在下短時間処理では、確認試験で細胞毒性の認められない 500 µg/mL で T-MF の有意な増加が認められた。しかし、次に高い濃度である 550 µg/mL 処理時に T-MF の有意な増加はなく、予備試験において、T-MF の有意な増加は認められていないことから、500 µg/mL での T-MF の有意な増加は用量依存性及び再現性がなく、レミゾラムの変異原性作用によるものではないと考えられる。

以上より、レミゾラムは本試験条件下において、遺伝毒性を示さないと判断した。

2.6.6.4.3 ラット小核試験

試験番号：[REDACTED] (評価資料)、記載箇所：4.2.3.3.2.1

5～6 週齢の雄 Wistar ラット (7 匹/群) を使用し、尾静脈に急速静注して小核試験を実施した ([REDACTED])。本試験には溶媒として、25.86% (w/v) β-シクロデキストリンを pH 3.8 の 25 mmol/L クエン酸緩衝液に溶解して使用し、全投与液を 5 mL/kg の容量で投与した。最終投与の 24 時間後に動物を安楽死させた。

予備試験及びそれに基づいて実施した確認試験では、レミゾラムの 40 mg/kg (ベシル酸塩として) 以上で死亡例がみられ、陽性対照群で陰性個体が認められたため、再度実施した確認試験では 0、10、20 及び 30 mg/kg を 24 時間間隔で 2 回投与した。予備試験ではレミゾラムの 40 mg/kg (ベシル酸塩として) の 2 日間投与で、多染性赤血球と正染性赤血球の比 (PCE/NCE) に明らかな性差はみられなかったことから、確認試験は片性 (雄) で実施した。

レミゾラムを最高 30 mg/kg で 2 日間投与した動物で、陰性対照群と比較して統計学的に有意な小核発現頻度の増加はみられなかった。雄で統計学的に有意な PCE/NCE 比の減少もみられず、レミゾラムの骨髄毒性も認められなかった。

陽性対照物質のマイトマイシン C を投与した動物では、溶媒対照群の動物と比較して統計学的に有意な小核発現頻度の増加が認められ、試験系の妥当性が示された。

レミゾラムはラットで小核誘発能を示さなかった。

2.6.6.4.4 ラット小核試験とコメット試験の組合せ試験

試験番号：[REDACTED] (評価資料)、記載箇所：4.2.3.3.2.3

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.3.2.2

ラット小核試験とコメット試験の組合せ試験で、レミゾラムの不純物バッチの変異原性を検討した ([REDACTED])。本試験では、レミゾラムが骨髄細胞に小核を誘発する作用を、肝細胞のデオキシリボ核酸 (DNA) 損傷誘発能と共に検討した。

用量設定のための予備試験 ([REDACTED]) では、投与量 150 mg/kg で重篤な毒性所見 (昏睡)、300 mg/kg で死亡例がみられた。したがって、主試験の最高用量は 75 mg/kg が妥当と判断した。

予備試験のデータに基づき、ラット（SD）（雄 5 匹／群、8 週齢）に生理食塩液に溶解したレミマゾラムを 18.8、37.5 及び 75.0 mg/kg で静脈内投与した。薬物を 20 mL/kg の容量で、1 日 1 回 3 日間連続で尾静脈から持続投与（投与時間 30 分）した。最終投与の 3 時間後に動物を安楽死させた。被験物質投与群の他に、陽性対照群、陰性対照群及び無処置対照群を設置した。

小核試験の主試験では、最高投与量 75 mg/kg まで小核を有する幼若赤血球（MNIE）の発現頻度増加はみられなかった。陽性対照（メタンスルホン酸エチル：EMS）群では、MNIE の発現頻度が陰性対照群と比較して統計学的に有意（ $p \leq 0.025$ ）に増加した。75.0 mg/kg 群で観察全赤血球中における幼若赤血球の割合が統計学的に有意に増加したが、陰性対照群の背景データの範囲内（平均値 $\pm 3S.D.$ ）にあった。陰性対照群と無処置対照群の間で差はなかった。

コメット試験では、最高投与量まで Tail に含まれる DNA の割合（% tail DNA）の増加はみられなかった。陽性対照群の % tail DNA は陰性対照群と比較して統計学的に有意（ $p \leq 0.025$ ）に増加した。陰性対照群と無処置対照群の間で差はなかった。

以上より、レミマゾラムの不純物バッチは *in vivo* で小核誘発能も DNA 損傷も示さないと、結論付けられた。

2.6.6.4.5 遺伝毒性試験のまとめ

レミマゾラム及び不純物バッチを用いた *in vitro* 試験（細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ TK 試験）及び *in vivo* 試験（ラット小核試験及びコメット試験と組み合わせたラット小核試験）を実施したが、いずれの試験においても遺伝毒性は示されなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

被験物質の化学構造は既知の発がん物質と関連がなく、遺伝毒性や組織増殖作用亢進の兆候がないことから、がん原性試験は実施しなかった。臨床投与期間が短いことからヒトに発がん性を示すリスクは低いと考えられる。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

レミマゾラムの生殖発生毒性試験を表 2.6.6-16 に示す。

表 2.6.6-16 レミマゾラムの生殖発生毒性試験

Type of Study	Species / Strain	Mode of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Study Number
Effects on fertility and early embryonic development to implantation	Rat Sprague Dawley	Intravenous bolus	M: 4 weeks prior to mating until 2 weeks after start of mating F: 2 weeks prior to mating through day G7	0/3/10/30	■
Effects on embryo-fetal development	Rat Sprague Dawley	Intravenous short term infusion	G6 – G17	0/3/10/30	■
Effects on embryo-fetal development	Rabbit Himalayan	Intravenous short term infusion	G6 – G20	0/1.25/2.5/5.0	■
Pre- and postnatal development, including maternal function	Rat Crl:CD(SD)	Intravenous bolus	G6 – L20	0/3/10/30	■
Extended fertility/mating study	Rabbit New Zealand White	Intravenous bolus followed by iv-infusion	From 2 weeks predose during mating and gestation until end of lactation	0/12.5/20/30*	■

* Dose group terminated because of lack of tolerability (loss of all animals within the first 26 days of treatment)

2.6.6.6.1 ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

試験番号：■ (評価資料)、記載箇所：4.2.3.5.1.1

レミマゾラムをラット (SD) の F₀ 世代に静脈内投与して、受胎能及び着床までの初期胚発生に及ぼす影響を検討した (■)。各群雌雄各 20 匹の動物に、レミマゾラムを 0、3、10 及び 30 mg/kg (ベシル酸塩として) で尾静脈から急速静注 (投与速度 3 分/投与、投与液量 12 mL/kg、溶媒 0.9% 食塩水) した。投与量は、ラットを用いた用量設定試験 (■、2.6.6.6.2 項) の結果に基づき設定した。本試験では、雄は交配開始前 4 週から試験 47 日の剖検 (交配期間開始から約 2 週間後) まで 1 日 1 回投与した。雌は交配開始前 2 週から妊娠 7 日まで 1 日 1 回投与した。母動物を妊娠 13 日に帝王切開して、受胎状況を記録した。

早期死亡例はなかった。全投薬群で薬理学的作用 (運動性低下、鎮静、ケージを噛む行動又は身づくろい行動の増加) が用量依存的に観察された。体重及び摂餌量に影響はなかった。これらの作用は有害とはみなさなかった。

精子数及び形態、並びに精巣及び精巣上体の絶対重量など、雄の受胎能指標にレミマゾラムの影響は認められなかった。高用量 (30 mg/kg) のレミマゾラムを投与した雄では、運動精子の割合が軽度低下した。

試験に用いたいずれの投与量でも、発情周期及び交尾までの時間など、雌の受胎能指標に影響

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

は認められなかった。いずれの投与量でも、雌の生殖能指標及び妊娠動物の子宮重量に被験物質の影響は認められなかった。流産あるいは死亡／形態異常胎児は観察されなかった。剖検時の肉眼所見では、いずれの投与量でも動物の器官又は組織に被験物質に関連した変化はみられなかった。

以上より、いずれの投与量でも有害所見は観察されなかったことから、親動物の一般毒性、雌の受胎能及び初期胚発生並びに雄の受胎能に関する NOAEL はいずれも 30 mg/kg であった。

2.6.6.6.2 ラットの胚・胎児発生に関する試験

試験番号：■■■■ (評価資料)、記載箇所：4.2.3.5.2.2

試験番号：■■■■ (参考資料)、記載箇所：4.2.3.5.2.1

雌ラット (SD) 各群 25 匹にレミゾラムを 3、10 又は 30 mg/kg (ベシル酸塩として) で尾静脈内に急速静注 (投与速度 3 分/投与、投与液量 12 mL/kg、溶媒 0.9%食塩水) し、胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した (■■■■)。母動物の妊娠 6～17 日まで投与した。各投与量にサテライト群 (3 匹/群) 設置し、トキシコキネティクス評価を行った。主試験の投与量はラットを用いた用量設定試験 (■■■■) の結果を基に設定した。

用量設定試験では、レミゾラムの 3、10 又は 30 mg/kg を雌ラットの妊娠 6～17 日まで尾静脈から静脈内投与した (■■■■)。

レミゾラム投与により、3 mg/kg 以上の全動物で薬理学的作用に関連した運動性低下が観察された。また、中間用量及び高用量の 10 又は 30 mg/kg のレミゾラムを投与した母動物で腹臥位が観察された。これらの所見は薬理作用に関連しており有害とはみなさなかった。さらに、中間用量の母動物 1 例で 1 日のみ投与日に間代性痙攣、高用量の母動物 1 例で 2 日間のみ投与日に振戦が観察された。いずれの症状も投与直後から始まり、5 分間継続した。

胎児の外表検査では、いずれの投与量の母動物から得られた胎児にも、被験物質に関連した形態異常又は変異は認められなかった。

以上より、10 mg/kg 群の母動物に間代性痙攣が認められたことから、母動物に関する NOAEL は 3 mg/kg と推定された。また、胎児に関する NOAEL は 30 mg/kg であった。この用量設定試験で得られたデータを基に、主試験の投与量を 3、10 及び 30 mg/kg に設定した。

母動物 (F₀) に及ぼす影響 (主試験)

レミゾラムの静脈内投与により、3 mg/kg 以上で予想された薬理学的作用が用量依存的に発現した。すなわち、運動性低下が 3 mg/kg 以上、鎮静が 30 mg/kg で観察された。これらの所見は有害とはみなさなかった。さらに、中間用量の母動物 1 例及び高用量の 1 例で、1 日のみに間代性／強直性痙攣が観察された。いずれの症状も投与直後から始まり、5 分間継続した。

以上より、投与量 10 mg/kg で痙攣が 1 例観察されたことから、母動物の NOAEL は 3 mg/kg と考えられた。

胎児 (F₁) に及ぼす影響 (主試験)

レミゾラムの 3 又は 10 mg/kg では、黄体数、着床数、吸収胚数、性比、胎児体重及び胎盤重量、生存胎児数、並びに着床前及び着床後胚損失率に関して被験物質に関連した影響は認められなかった。

レミゾラムの 30 mg/kg では、早期吸収胚数及び総吸収胚数と着床数の比が対照群と比較して軽度ながら統計学的に有意に ($p \leq 0.05$) 増加した。その結果、生存胎児数と着床数の比が減少し

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

た (30 mg/kg 群の 0.92 に対して対照群が 0.97、 $p \leq 0.05$)。しかし、分散分析 (Kruskal-Wallis 検定) では早期吸収胚及び総吸収胚の発現割合に群間での有意差は認められず (それぞれ $p = 0.30$ 及び $p = 0.15$)、母動物当たりの総吸収胚数 (1.1) は背景データの範囲内 (0.0~1.8) であった。また、早期吸収胚の平均発現頻度 (6.0%) も背景データの範囲内 (0.0%~17.9%) にあったことから、これらのパラメータの変動は毒性とはみなさなかった。

帝王切開時に死亡胎児は認められなかった。

外表・内部検査、骨格検査及び内臓検査では、レミマゾラムの 3、10 又は 30 mg/kg で被験物質に関連した形態異常又は変異は観察されなかった。骨化進行度にも被験物質の影響は認められなかった。

以上より、胎児に関して 30 mg/kg で早期及び総吸収胚の軽度増加がみられ、統計学的有意差が認められたことから、胎児の NOAEL は 10 mg/kg と推定された。なお、吸収胚数は背景データの範囲内にあり、先行して実施した用量設定試験 (試験番号 ■■■■) でこのような影響はみられなかった。

2.6.6.6.3 ウサギの胚・胎児発生に関する試験

試験番号：■■■■ (評価資料)、記載箇所：4.2.3.5.2.4

試験番号：■■■■ (参考資料)、記載箇所：4.2.3.5.2.3

雌ウサギ (Himalayan) 各群 24 匹にレミマゾラム 1.25、2.5 及び 5.0 mg/kg の用量 (ベシル酸塩として) で母動物の妊娠 6~20 日まで 1 日 1 回静脈内に 4 分間で投与し、胚・胎児毒性を検討した (■■■■)。投与液量 2 mL/kg、投与速度 4 分/投与で耳介中心静脈に短時間持続投与した (溶解媒体：注射用水、希釈媒体：0.9%食塩水)。各群 3 匹をトキシコキネティクス評価に使用した。胚・胎児発生毒性試験の投与量は、ウサギを用いた用量設定試験 (■■■■) の結果を基に設定した。

用量設定試験では、雌ウサギの妊娠 6~20 日までレミマゾラムを 2.5、5 又は 7.5 mg/kg の用量で耳介中心静脈に 1 日 1 回短時間持続投与した。

投与期間中に投与量 2.5 mg/kg 以上の全例で鎮静が観察された。症状は短時間静脈内持続投与の開始直後から始まり、多くの場合 1~2 時間継続した。本所見は薬理作用に関連しており有害とはみなさなかった。全投与量で体重、体重増加量及び摂餌量が減少した。2.5 mg/kg の用量における妊娠 9~12 日体重増加量、7.5 mg/kg の用量における妊娠 15~23 日の体重並びに全投与量での妊娠 8~19 日のうち数日の摂餌量の減少に統計学的有意差を認めた。被験物質に関連する局所刺激性反応は認められなかった。高用量 (7.5 mg/kg) 群の母動物では、胎児体重及び胎盤重量が対照群の値と比較して明らかに減少 (雌の胎児の体重減少のみ統計学的に有意) した。胎児の外表及び内臓検査で、被験物質に関連した形態異常又は変異は認められなかった。

以上より、全投薬群で母動物の体重、体重増加量及び摂餌量の減少が認められたことから、母動物に関する NOAEL は 2.5 mg/kg と判断した。胎児については、7.5 mg/kg 群の胎児体重及び胎盤重量に減少が認められたことから、NOAEL は 5 mg/kg と判断した。主試験の投与量として、レミマゾラムの 1.25、2.5 又は 5.0 mg/kg を設定した。

母動物 (F₀) に及ぼす影響 (主試験)

主試験では、全投与群で全投与日に鎮静の症状が用量依存的に観察され、症状は各短時間静脈内持続投与の開始後 5 分以内に始まり、低用量群の母動物で 20~60 分、中間及び高用量群の母動物では 2 時間まで継続した (■■■■)。本所見は薬理作用に関連しており有害とはみなさなかった。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

被験物質を投与した全母動物で、体重が妊娠 11 又は 12 日から妊娠 29 日の帝王切開まで軽度減少した。被験物質を投与した全母動物で、投与期間中に絶対・相対摂餌量が中等度から重度減少し、高用量群では対照群の 55%まで減少した。摂水量は影響を受けなかった。試験期間中に早期死亡例はなかった。剖検時に被験物質に関連した病理学的変化はみられず、静脈内投与部位にも局所刺激反応は認められなかった。低及び高用量群の母動物で、妊娠子宮を除いた屠体重量が対照群と比べて統計学的に有意に減少した。子宮重量に影響はなかった。

以上より、全投薬群で母動物の体重、体重増加量及び摂餌量の減少が認められたことから、母動物に関する NOAEL は 1.25 mg/kg 未満と推定された。

胎児 (F₁) に及ぼす影響 (主試験)

黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数、着床前及び着床後胚損失率並びに胎児の性比に関して、子宮内胎児発育に対する影響はみられなかった。

高用量群で胎児体重及び胎盤重量が軽度減少した (雄胎児及び全生存胎児に関して、統計学的に有意であった)。

帝王切開時に死亡胎児は認められなかった。保育器内で 6 又は 24 時間の生存性は、全胎児とも正常範囲内であった。

外表・内部検査、骨格検査及び胎児頭部の軟組織検査では、被験物質に関連した形態異常又は変異は観察されなかった。頭蓋開放及び脳組織除去によっても異常は認められなかった。骨化進行度にも被験物質の影響は認められなかった。

以上より、5 mg/kg 群において胎児体重及び胎盤重量の減少が認められたことから、胎児に関する NOAEL は 2.5 mg/kg と推定された。

2.6.6.6.4 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

試験番号：[REDACTED] (評価資料)、記載箇所：4.2.3.5.3.1

ラット (SD) 妊娠動物 (22 匹/群) にレミマゾラム 3、10 及び 30 mg/kg の用量で静脈内投与し、出生前及び出生後の発生、母体の機能 (妊娠、授乳) 並びに F₁ 及び F₂ 出生児の発生に及ぼす影響を検討した。投与液を約 1.2 mL/分 (投与液量 12 mL/kg) の速度で、1 日 1 回尾静脈内に投与した。対照群の動物には生理食塩液を投与した。

投与期間は妊娠 6 日～授乳 20 日とした。母動物は出産及び哺育行動を毎日観察し、授乳 21 日に剖検した。F₁ 出生児は身体的発育、反射、行動及び性成熟を観察し、受胎能と F₂ 世代の発生を評価するため 10～12 週齢で交配した。

出生前及び出生後の発生に関する試験の投与量は、ラットの胚・胎児発生に関する試験 ([REDACTED]、2.6.6.6.2 項) 及び 7 日間投与用量設定試験 ([REDACTED]、2.6.6.3.1 項) のデータを基に設定した。当該用量設定試験では 50 mg/kg が毒性量であった。この結果から、出生前及び出生後の発生に関する試験の最高投与量を 30 mg/kg に設定した。

母動物 (F₀) に対する影響 (主試験)

妊娠期間及び授乳期間を通して、全投与群で自発運動低下、失調歩行、不整呼吸及び腹臥位が観察され、これ以外に 10 及び 30 mg/kg 群では側臥位及び鎮静が投与後 1 時間まで観察された。雌は全例の妊娠が確認された。母動物の死亡はなかった。

低及び中用量群で妊娠期間中の数日に摂餌量が統計学的に有意に減少したが、30 mg/kg 群で差はみられなかった。また、授乳期間中はいずれの投与群でも影響がみられなかった。体重に影響

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

はなかった。妊娠期間、分娩及び哺育行動に投与に関連する影響は認められなかった。剖検所見で肉眼的異常はみられなかった。

母動物 (F₀) の一般毒性及び生殖機能に関するレミマゾラムの NOAEL は 30 mg/kg と考えられた。

出生児 (F₁) に対する影響 (主試験)

着床数、総出生児数、出産率、生存出生児数、出生率又は出生児の性比に、対照群といずれの投与群の間でも明らかな差異は認められなかった。いずれの生存出生児にも外表異常は認められなかった。

雌雄 F₁ 出生児の体重、4 日生存率及び離乳率、耳介展開、毛生、歯牙萌出及び眼瞼開裂の発現率並びに反射 (正向反射、背地走性) 発現率に、投与に関連する影響は認められなかった。出生児の一般状態、体重及び肉眼的病理所見に関して、投与に関連した差異はみられなかった。視覚性置き直し反応、瞳孔反射、プライヤー反射及び疼痛反応の発現率は、全投与群のすべての雌雄 F₁ 出生児で 100% であり、対照群といずれの投与群の間でも明らかな差異はなかった。行動観察 (感覚機能試験、オープンフィールド試験、条件回避反応) でも、毒性学的意義のある変化はみられなかった。包皮分離、膣開口、交尾率、受胎率、交配後の雄の剖検、妊娠期間中の雌の臨床症状及び体重、並びに帝王切開時の剖検所見など、生殖機能の観察で毒性学的意義のある変化はみられなかった。F₂ 胎児に関して、黄体数、着床数、生存児数、並びに着床前及び着床後胚損失率には、対照群といずれの投与群の間でも差異は認められなかった。

次世代 (F₁) の発生に関する NOAEL は 30 mg/kg と考えられた。

2.6.6.6.5 ウサギの拡張受胎能／交配試験

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

試験番号: [REDACTED] (参考資料)、記載箇所: 4.2.3.5.1.2

本試験 ([REDACTED]) は、レミマゾラムを雌ウサギ (NZW) に交配前から離乳まで投与し、妊娠、周産期及び授乳中の毒性並びに出生前 (胚・胎児) 及び出生から生後 35 日までの発生に及ぼす影響を評価することを目的として実施した。また、レミマゾラムのトキシコキネティクスについても検討した。

被験物質及び対照物質を交配の約 2 週間前から連日投与した。投与は交配期間中 (個体により変動) 及び妊娠期間中継続し、妊娠 29 日から授乳 5 日まで中断した。投与を授乳 6 日から再開し、授乳約 30 日まで継続した。1 日の総投与量のうちレミマゾラムの 5 mg/kg (ベシル酸塩として、ほぼ 2 mL/分の速度で急速静注) 又は溶媒 (対照群) を、最初に緩徐に静脈内投与した。この導入投与に続けて、一定の速度で各群に異なる時間持続投与した。導入投与及びそれに続く長時間の持続投与は、目盛付き注入システムに接続した留置カニューレを通して大腿静脈に投与した。

表 2.6.6-17 に使用した投与方法を示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-17 ウサギの拡張受胎能／交配試験の投与方法

Group No.	Dose level (mg/kg) Bolus + Infusion	Concentration (mg/mL)	Duration of Infusion (h)	Number of Females (at start of treatment)
1 (Control)	Vehicle*	0	2.4	21
2 (low dose)	12.5 (5 + 7.5)	2.5	1.2	26
3 (medium dose)	20 (5 + 15)	2.5	2.4	26
4 (high dose) **	30 (5 + 25)	2.5	4	5

* Dextran 40 (3.96%) and Lactose monohydrate (2.64%) in 0.9% sodium chloride

** Dose group terminated because of lack of tolerability (loss of all animals within the first 26 days of treatment)

主試験の投与量は、ウサギの静脈内持続投与による発生毒性用量設定試験（XXXXXXXXXX）の結果を基に設定した。用量設定試験では、ウサギに妊娠 6 日～19 日までレミマゾラムを 15、20 及び 25 mg/kg（ベシル酸塩として）で静脈内（4 時間）持続投与した結果、忍容性が良好であった。摂餌量、体重変動及び授乳期間中の哺育行動から判断して、通常の妊娠を維持するために 1 日 4 時間の持続投与は適合する最長投与時間と考えられた。臨床で導入投与が使用される可能性があることから、主試験では導入投与で徐々に静脈内投与した。

試験期間中、主に最初の 4 週間に対照群、低・中及び高用量群で、それぞれ 5/21 例、6/26 例、7/26 例及び 5/5 例の予定外死亡例がみられた。被験物質に関連した早期死亡例は、低・中及び高用量群で、それぞれ 2 例、6 例及び 4 例であった。

一般症状に関しては、死亡に伴う痙攣が全投与量で観察された。異常な中枢系行動（苦悶、痙攣様事象など）は、主に注射針穿刺、乳汁採取のための指圧など、試験処置又は不快刺激に対する反応で認められた。このように、処置に関連する早期死亡例は、被験物質特有な毒性作用の反映ではないと考えられた。むしろ、被験物質によって誘発された鎮静状態で、ウサギの物理的な試験方法及び手順に対する過剰な反応が増強されたと考えられる。試験処置によって時に誘発される痙攣又は興奮反応は、ウサギでベンゾジアゼピン処置に対する逆説的反応として知られており、これにより予定外の早期死亡又は屠殺の結果となったと考えられる。

投与期間の初期に 4/5 例が死亡したため、30 mg/kg の投与は継続しなかった。

鎮静関連症状がレミマゾラム投与群で観察された典型的な臨床症状であり、持続投与終了後 1～2 時間で回復した。少数例ではあるが、頭／頸部の異常運動や四肢の硬直などの痙攣様事象が認められた。これらの症状は、被験物質の薬理作用に関連すると考えられた。

体重変化に明らかな影響は認められなかった。交配前期間には、全投与群で摂餌量が用量依存的に減少した。妊娠及び授乳期間中には、平均摂餌量の増加が認められた。

非不快刺激に対する反応を調べた接触刺激検査では、12.5 及び 20 mg/kg 群の動物は、交配前期間には持続投与の開始後 5 分から終了直前まで一般に無反応であった。妊娠期間中の検査では、大部分の動物が持続投与終了まで反応を示した。急速静注後の無反応時間は、投与期間と共に短縮した。

交尾能、妊娠率（受胎率）、妊娠期間、群当たりの同腹児数及び妊娠能力（妊娠維持）に影響は認められなかった。平均着床数、平均出生率、生後 29 日の平均生存児数及び生存率に影響はなかった。出生児の体重にも影響はみられなかった。

レミマゾラム投与群の出生児には、大部分の行動パラメータで影響は認められなかった。出生児で実施した接触刺激検査の結果については、群間で方法の相違があるため結論できなかった。

本試験では試験の各期で以下の NOAEL が確認された。

- 交尾能及び受胎能：30 mg/kg 群。ただし、動物数が少ないため受胎能評価については注意が必要である
- 妊娠維持、胚・胎児発育及び分娩：20 mg/kg。これらのエンドポイントの評価における最高投与量であった。
- 授乳期間中の母動物の哺育能、出生児の生存性・発育・成長：20 mg/kg。これらのエンドポイントの評価における最高投与量であった。
- 出生児の行動、接触刺激検査以外の行動検査：20 mg/kg。これらのエンドポイントの評価における最高投与量であったが、接触刺激検査の結果については結論できなかったため、NOAEL は確定できなかった。

2.6.6.6.6 生殖発生毒性試験における動物の曝露量

生殖発生毒性試験の用量設定試験及び主試験でレミマゾラムを投与した動物では、顕著な臨床症状（異常姿勢、振戦、間代性痙攣並びに摂餌量及び体重増加量の減少）が観察された。これらの所見は、生殖発生毒性試験でレミマゾラムの最大耐量が投与されたことを示している。

生殖発生毒性試験でのトキシコキネティクス試験の結果から動物の曝露が確認された。

ラットの胚・胎児発生に関する試験（ 、2.6.6.6.2 項）では、レミマゾラムの C_{max} は3分間の持続投与終了後1～2分で観察された。レミマゾラムの平均 $t_{1/2}$ は0.03～0.10時間の範囲にあった。

ウサギの胚・胎児発生に関する試験（ 、2.6.6.6.3 項）では、 C_{max} はレミマゾラム投与終了1分後に測定された。レミマゾラムの平均 $t_{1/2}$ は0.28～0.46時間の範囲にあった。

ウサギの拡張受胎能／交配試験（ 、2.6.6.6.5 項）では、レミマゾラムの C_{max} は投与後最初の測定時点（0.033時間）で観察された。当該試験では、 C_{max} が20000 ng/mL、AUC が10000 ng・h/mL以上に達し、臨床におけるヒトの曝露量をはるかに上回った（表 2.6.6-18）。本試験では、レミマゾラムの血漿中濃度は緩徐な静脈内投与後0.75時間まで減少し、その後持続投与終了まで一定に維持されて、採血終了時間（持続投与終了後3時間）には減少した。レミマゾラムの平均 $t_{1/2}$ は0.48～0.80時間の範囲にあった。

一般にトキシコキネティクス試験では、レミマゾラムの静脈内投与後に用量依存的な曝露が示された。反復投与によるレミマゾラムの蓄積はみられなかった。

レミマゾラムの生殖発生毒性試験におけるトキシコキネティックパラメータの概略を表 2.6.6-18 に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-18 レミゾラムの胚・胎児発生毒性試験におけるトキシコキネティックパラメータのまとめ

Species	Study	Dose Characterization	Treatment period	Dose Level (mg/kg/day)	C ₀ /max (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng•h/mL)	Exposure Ratio ^a		Exposure ratio free concentrations ^b	
							C _{max}	AUC	C _{max}	AUC
Rat	Embryotoxicity Study	NOAEL fetal	Gestation day 6	10	2.9	1.9	0.001	0.0003	0.002	0.001
			Gestation day 17		69.4	3.3	0.014	0.0005	0.051	0.002
		Highest dose studied	Gestation day 6	30	4490	179*	0.9	0.03	3.3	0.09
			Gestation day 17		280	41*	0.06	0.006	0.2	0.02
Rabbit	Embryotoxicity Study	NOAEL fetal	Gestation day 6	2.5	2977	1342**	0.6	0.2	0.9	0.3
			Gestation day 20		3326	1530**	0.7	0.2	1.0	0.3
		Highest dose studied	Gestation day 6	5	4319	1767**	0.9	0.3	1.3	0.4
			Gestation day 20		5535	2272**	1.1	0.3	1.7	0.5
	Extended Fertility/Mating Study	Low - Highest dose studied (NOAEL)	Premating	12.5-30	5200-4420	6270-11600	1.1-0.9	0.9-1.7	1.6-1.3	1.4-2.5
			Gestation	12.5-20	4740-4490	5320-8290	1.0-0.9	0.8-1.2	1.4-1.4	1.2-1.8
			Lactation		21300-15400	11300-10800	4.3-3.1	1.6-1.6	6.5-4.7	2.5-2.4
Human	CNS7056-010	Mean values	12 mg/kg/h initiation + maintenance at 1-3 mg/kg/h		4951	6881***	n.a.			

Data from [REDACTED], [REDACTED], [REDACTED], CNS7056-010

Two values, where indicated, denote values at first study day and close to study end.

C₀: Calculated remimazolam plasma concentration at the end of the short-term infusion; n.a.: not applicable

* AUC_{0-0.18h}; ** AUC_{0-∞}; *** AUC_{0-t}

a: reported animal values/observed human exposure

b: corrected for differences in free plasma concentration (rat: 29.5%; rabbit: 12.2%, human: 8.1% respectively)

2.6.6.6.7 幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた試験は実施していない。しかし、3 歳以下の小児患者を臨床試験に組み入れる前に、げっ歯類及び非げっ歯類の幼若動物を用いた試験を実施する予定である。

2.6.6.7 局所刺激性試験

レミマゾラムが投与部位に局所刺激性を示す作用を、単回及び反復投与毒性試験において詳細に検討した。また、特に被験物質の静脈内投与が投与部位の血管に及ぼす影響を局所刺激性試験で検討した。これらの試験では、薬物の影響よりむしろ機械的損傷に関連した局所刺激性が典型的な所見であった。このため、薬物に起因した血栓形成に関する病理組織学的エビデンスを基に、NOEL 及び最少影響量（LOEL）を決定した。

2.6.6.7.1 ラットの急速静注局所刺激性試験

ラット 7 日間静脈内投与用量設定試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.3.1 項）では、レミマゾラム 15、30 又は 50 mg/kg を 10 mg/mL の濃度で 1 日 1 回、7 日間急速静注した。対照群には溶媒[25.86% (w/v) β -シクロデキストリン（カプチゾール®）を pH 3.8 の 25 mmol/L クエン酸緩衝液に溶解]を投与した。レミマゾラム又は溶媒を投与したほとんどの動物で、投与部位に変化が認められた。雄の高用量及び雌の中・高用量で、炎症性変化の程度がやや増加した。いずれの投与量でも血栓は認められず、血栓形成に関して無影響濃度は 10 mg/mL と考えられた。

ラット 4 週間静脈内投与試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.3.1 項）では、レミマゾラム 10、20 及び 30 mg/kg を 1 日 1 回 4 週間投与した。対照群には溶媒 [25.86% (w/v) β -シクロデキストリン（カプチゾール®）を pH 3.8 の 25 mmol/L クエン酸緩衝液に溶解] 投与群、並びに生理食塩液対照群を設けた。各投与群のレミマゾラム濃度を 3.33、6.67 及び 10 mg/mL とし、対照群及び高用量群は雌雄各 15 匹、低及び中間用量群は雌雄各 10 匹の動物を使用した。

レミマゾラム投与群の動物では両対照群と比較して、あるいは、この種の試験でみられる背景病変と比べても、投与部位で血管周囲性炎症及び血管内膜増殖の増加が観察された。30 mg/kg 群で静脈内血栓の発現頻度が増加した（30 mg/kg 群の 5/18 例に対して、10 mg/kg 群 1/18 例、20 mg/kg 群 1/20 例、生理食塩液対照群 1/20 群、溶媒対照群 0/18 例）。30 mg/kg 群の回復性試験で、静脈内血栓は認められなかった。以上より、血栓形成に関して無影響濃度は 6.67 mg/mL、最小影響濃度が 10 mg/mL と考えられた。

雌ラットを用いた 4 週間反復急速静注した身体依存性試験（試験番号 XXXXXXXXXX、2.6.6.8.3.3 項）においても、病理組織学的検査は実施していないが局所刺激性の評価を行った。

漸増法によりレミマゾラムを 6 mg/mL まで、ミダゾラムを 3 mg/mL まで、1 日 2 回同じ尾静脈を使用して投与した。1 日 2 回の反復投与では、レミマゾラムのサテライト群で 12 日目までに局所刺激性所見（尾部の腫脹）が観察されたため、主試験の動物は 5 日目から 1 日 1 回投与に切り替えた。12 日目に主試験の動物でも同様に腫脹が発現し、尾部の損傷がみられたため投与を早期に打ち切った。溶媒対照群及びミダゾラム投与群の動物では、局所刺激性所見はみられなかった。

これらの試験から、ラットにレミマゾラムを 6 mg/mL 以上の濃度で 1 日 1 回急速静注した場合には、尾部の肉眼的観察により忍容性が認められた。一方、1 日 2 回投与で安全な濃度は 6 mg/mL 未満であった。

2.6.6.7.2 ラットの静脈内持続投与局所刺激性試験

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.6.2

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.6.5

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.6.3

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.6.4

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.6.1

雄ラットの予備試験 ([REDACTED]) では、各群 3 匹にレミマゾラムの 2、5 及び 10 mg/mL 又は溶媒対照 (生理食塩液 pH 3.2) 及び 3.6 mg/mL のベンゼンスルホン酸溶液を、6.7 mL/kg/h の投与速度で静脈内持続 (6 時間) 投与した。レミマゾラムの 5 及び 10 mg/mL 群は、投与部位 (尾部) の重篤な刺激性のため予定した 5 日間投与を実施できなかった。対照群で変化はみられなかった。

低濃度について検討するため、各群 5 匹の雄ラットにレミマゾラムを最高用量 6 mg/kg (最高濃度 1 mg/mL) まで、5 日間静脈内持続 (6 時間) 投与した ([REDACTED])。いずれの動物でも、一般状態又は投与部位 (尾部の肉眼的観察による) に変化は認められなかった。

ラットを用いた試験で、投与部位の病理組織学的に局所刺激性について検討した ([REDACTED]) では、各群 3 匹の雄ラット (SD) に、レミマゾラムを生理食塩液に溶解 (2.5、5 又は 10 mg/mL) して、1、2、4 又は 6.7 mL/kg/h の投与速度で、5 日間静脈内持続 (6 時間) 投与した。対照群の動物には生理食塩液を投与した。また、溶媒に関する検討として、 α -シクロデキストリン溶液及びポリソルベート 80 溶液に溶解したレミマゾラムの 5 mg/mL 溶液を上記と同様に雄ラット (SD) に静脈内持続投与したときの投与部位 (尾) の変化について観察した。

投与部位 (尾静脈) に肉眼的変化はみられなかったが、病理組織学的検査ではレミマゾラムの 2.5 mg/mL 溶液を 1 又は投与速度 2 mL/kg/h で投与した群に静脈血栓が認められた。5 (投与速度 2 又は 4 mL/kg/h) 及び 10 mg/mL (4 mL/kg/h) 群の所見として、尾の皮膚で壊死及び潰瘍、尾静脈に血栓及び壊死、並びに尾静脈の周囲に浮腫、線維化及び単核細胞浸潤が観察された。生理食塩液対照群 (投与速度 6.7 mL/kg/h) では、尾静脈の周囲に線維化及び単核細胞浸潤が認められた。2.5 mg/mL 群 (投与速度 4 又は 6.7 mL/kg/h)、5 及び 10 mg/mL 群では、投与部位 (尾部) の白色化／黒色化が認められた。病理組織学的検査により、尾部の白色化／黒色化は皮膚又は尾静脈の壊死、あるいは尾静脈周囲の浮腫及び単核細胞浸潤に起因することが明らかとなった。以上より、血栓形成に関する無影響濃度は得られず、最小影響濃度は 2.5 mg/mL と考えられた。血管に対する作用について投与速度は顕著な影響がなく、使用した添加剤 (溶媒) についても差がなかった。

添加剤の影響を検討した局所刺激性試験 ([REDACTED]) では、各群 4 匹の雄ラットにレミマゾラムの生理食塩液溶液を 15、30 又は 60 mg/kg の用量で、単回又は 5 日間静脈内持続 (6 時間) 投与した。投与速度は 1 mL/kg/h とした。試験 [REDACTED] の対照群 (生理食塩液 pH 3.3 を 5 日間静脈内持続 [6 時間] 投与) と比較を行った。ベンゾジアゼピン系の比較対照薬として、ミダゾラム 1.2、12 及び 30 mg/kg を同様に投与した。

レミマゾラムの全投与量で、投与部位 (尾部) に血栓、浮腫又は壊死が認められた。レミマ

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

ゾラムの 5 mg/mL で、脂肪乳化剤処方では血管刺激性が軽減されたがポリソルベート 80、リン酸水素ナトリウム及びエタノール処方剤では血管傷害の軽減は認められなかった。

ミダゾラムの 12 mg/kg 以上を投与した動物で、投与部位の変色、潰瘍又は損傷が認められた。1.2 mg/kg 群で肉眼的変化はみられなかったが、6 例中 1 または 2 例の動物で投与部位に軽度の血栓、浮腫及び線維化などの病理組織学的変化が認められた。

レミマゾラム及びミダゾラムの LOEL は、それぞれ 15 mg/kg 及び 1.2 mg/kg と考えられた。このときの投与液濃度は、それぞれ 2.5 及び 0.2 mg/mL であった。

低濃度の投与液を用いた試験 () では、各群 5 匹の雄ラット (SD) に、レミマゾラムを 0.4、0.8、1.2 及び 1.6 mg/kg/h の用量で尾静脈に投与速度 1 mL/kg/h で持続 (6 時間) 投与した。被験物質を単回又は 5 日間投与した。生理食塩水を溶媒対照とした。比較対照薬として、ミダゾラムを 0.06、0.18 及び 0.54 mg/kg/h の用量で投与した。いずれの投与群も、1 mL 中に被験物質をそれぞれの濃度で含む投与液を用いた。

レミマゾラム及びミダゾラムのいずれの投与群でも、薬剤に関連した一般状態、投与部位及び剖検所見の変化はみられなかった。

投与部位 (尾静脈) の病理組織学的検査では、被験物質を 1.6 mg/kg/h で単回投与時に血管周囲に浮腫及び細胞浸潤が認められた。5 日間投与後には、1.2 mg/kg/h 以上の動物で血栓形成が認められ、1.6 mg/kg/h の動物で血管周囲に細胞浸潤が観察された。ミダゾラムの高用量群を単回投与時に 1 例で血管周囲性の浮腫、細胞浸潤及び血栓形成が認められた。

レミマゾラムの投与部位への影響に関する NOEL は、単回投与で 1.2 mg/kg/h、5 日間投与で 0.8 mg/kg/h であり、それぞれの薬物濃度は 1.2 及び 0.8 mg/mL であった。ミダゾラムの無影響濃度は、単回及び反復投与でいずれも 0.18 mg/mL であった。

2.6.6.7.3 ウサギの静脈内及び静脈周囲投与局所刺激性試験

試験番号 : (評価資料)、記載箇所 : 4.2.3.6.6

試験番号 : (参考資料)、記載箇所 : 4.2.3.6.7

ウサギ (NZW) の外側耳介静脈に、レミマゾラムの臨床用製剤 (5 mg/mL) を単回静脈内投与 (0.5 mL)、又は静脈周囲投与 (0.3 mL) して、局所刺激性/忍容性を検討した ()。動物の体重が 2~3 kg であったため、静脈内投与の全身投与量は 1.2~1.3 mg/kg であった。対照投与部位には、D-グルコース溶液 (5% w/v) を投与した。静脈内投与は 8~30 秒、静脈周囲投与は 9~23 秒をかけて実施した。3 例を投与約 24 時間後に屠殺し、残りの 3 例は 5 日目 (投与 4 日後) に屠殺した。

溶媒投与を含む静脈内及び静脈周囲投与のいずれにおいても、投与部位で軽度の限局性紅斑が観察された。局所刺激性の発現頻度は静脈周囲投与の方が高かった。投与部位の病理組織学的検査では、溶媒とレミマゾラムで著しい差異はみられなかった。無影響濃度は 5 mg/mL と考えられた。

ウサギ (NZW) の耳介静脈にレミマゾラムを単回又は反復投与して血管刺激性を検討した試験 () では、2.5 mg/mL の被験物質を (投与時間 5 分間、総投与量 1 mg/kg) 左耳介静脈に投与した。対照として、右耳介静脈に生理食塩水を投与した。動物に単回 (雄 2 匹及び

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

雌 2 匹) 又は 7 日間 (雄 2 匹及び雌 2 匹) 投与した。左耳介 (レミマゾラム) 及び右耳介 (対照) の投与部位を、肉眼観察及び病理組織学的検査で比較した。

いずれの動物でも一般状態の変化はみられなかった。単回投与後に左耳介の 1/4 例及び右耳介 (対照) の 1/4 例で、局所的な一過性の紅班が発現した。反復投与では、左耳介の 3/4 例及び右耳介の 2/4 例で局所的な紅班が観察された。

単回投与群の病理組織学的検査では、左及び右耳介の評価スコアがいずれも 0~2 であった。静脈周囲の変化を伴う／伴わない静脈内壁血栓、内皮細胞増殖及び静脈壁肥厚などの病変が認められた。血栓は 2 例のみ報告されており、1 例は左耳介及び右耳介、他の 1 例は左耳介のみ (しかし、右耳介で血管壊死、フィブリン沈着及び炎症性細胞浸潤が認められた) に認められた。反復投与群の病理組織学的評価では、右耳介が全てスコア 0 に対し、左耳介はスコア 2~3 であった。スコア 2~3 の所見として、内皮細胞増殖及び血管壁肥厚 (21 日目)、並びに 9 日目に一部の血管壊死が認められたが、血栓は観察されなかった。病理組織学的所見は溶媒と被験物質で質的に類似していたが、被験物質の方がやや重度の変化であった。

左耳介静脈の刺激性反応が一時点で右耳介静脈と比べてわずかに差がみられたが、この病理組織学的変化は被験物質によって引き起こされたのではなく、投与手法によって誘発されたと考えられた。しかし、対照又は被験物質を投与した耳介の両方で変化がみられたこと、並びに例数が少ない (各群雌雄各 2 匹) ことから、確定的な評価はできなかった。

ウサギの拡張受胎能／交配試験 (■、2.6.6.6.5 項) で血管に対する影響を検討した。全投与群でレミマゾラムを 2.5 mg/mL で投与し、持続投与時間 (1.2~2.4 時間) を変えることによって投与量を調整した。病理組織学的検査では、溶媒対照群を含む全群の主にカテーテル先端部 (心臓領域) で、様々な炎症性反応の兆候が認められた。これらの病変は、静脈内投与の技術的手法 (心房の 1~2 cm 前方に留置したカテーテル) によって発現した変化であり、被験物質に関連する変化ではないと考えられた。早期死亡例についてのみ血管の病理組織学的検査を実施したため、投薬群の動物で血栓の発現頻度がやや高かった (対照群の 1/21 例に対して、投薬群は 2/26 例及び 3/26 例) 原因として、選択バイアスの可能性も排除できない。

2.6.6.7.4 サルの急速静注局所刺激性試験

カニクイザルにレミマゾラムを 1 日 1 回 4 週間急速静注し、2 週間の回復期間を設けて評価した (■、2.6.6.3.2 項)。

レミマゾラムの 5、10 及び 20 mg/kg 群 (それぞれ 2、4 及び 8 mg/mL を投与)、並びに溶媒 [25.86% (w/v) β -シクロデキストリン (カプチゾール®) を pH 3.8 の 25 mmol/L クエン酸緩衝液に溶解] 対照群を設けた。対照群及び高用量群 (20 mg/kg) は各群雌雄各 5 匹、低用量群 (5 mg/kg) 及び中用量群 (10 mg/kg) は各群雌雄各 3 匹とした。

全群の投与部位で刺激性作用を示唆する様々な炎症性変化及び出血がみられたが、レミマゾラム投与群で刺激性作用の増強はみられなかった。回復期間終了後には、変化の減弱が認められた。以上より、無影響濃度は試験に使用した最高濃度 8 mg/mL と考えられた。

2.6.6.7.5 サルの静脈内持続投与局所刺激性試験

2.6.6.7.5.1 単回投与試験

各群 2 匹の雄カニクイザルに、レミマゾラム 6、18、60 及び 150 mg/kg を 6 時間持続投与により単回静脈内投与した（XXXXXXXXXX、2.6.6.2.3 項）。各投与量でレミマゾラムを 1、3、10 及び 10 mg/mL の濃度で生理食塩液に溶解した投与液を使用した。

投与後 13 日に実施した剖検では、60 mg/kg 群の 1 例で投与部位の静脈壁の肥厚が観察され、18 及び 6 mg/kg 群の各 1 例で投与部位の静脈内に赤色及び白色物質が認められた。150 mg/kg 群で異常所見はみられなかった。

病理組織学的検査では、投薬群で投与部位に内膜の肥厚、血管壁の線維化及び炎症、血管壁の褐色色素沈着、並びに血栓形成が認められた。しかし、これらの変化と投与量又は薬剤濃度の間に明瞭な依存関係はみられなかった。血栓は主にカテーテルの終端部で認められ（遠位側、6/8 例）、カテーテル終端部から約 1 cm の部位（近位側）で観察されたのは 2/8 例のみであった。カテーテル終端部の血栓は、近位側と比べて重篤であった（遠位側：重度と近位側：軽度）。血管壁の炎症は、頻度及び程度共に血栓と同様であった。したがって、被験物質による局所刺激性の可能性はあるが、血栓形成は機械的刺激に伴う二次的な変化であり、決定的ではないと考えられる。なお、対照群を設置しなかったため無影響量あるいは最小影響量は算定できなかった。

単回静脈内持続投与試験として、カニクイザルにレミマゾラム 30、60 及び 120 mg/kg を 24 時間持続投与した（XXXXXXXXXX、2.6.6.2.4 項）。各投与量で、それぞれ 1.25、1.25 及び 2.5 mg/mL の投与液を使用した。病理組織学的検査では、対照群を含めた全群に投与部位血管に軽度肥厚が認められ、120 mg/kg 群（投与液濃度 2.5 mg/mL）では、対照群より高頻度で発現した。しかし、この変化は血管壁の壊死、血管炎又は血栓を伴わず、対照群でも観察されたカテーテルの物理的刺激による変化と明らかな差異はみられなかった。以上より、血栓形成に関する無影響量は、2.5 mg/mL の溶液を持続投与した 120 mg/kg と判断された。

2.6.6.7.5.2 反復投与試験

試験番号：XXXXXXXXXX（参考資料）、記載箇所：4.2.3.6.9

用量設定試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.3.3 項）では、各群雄 3 匹のカニクイザルにレミマゾラムを 4 時間持続投与により単回及び反復静脈内投与した。右橈側皮静脈に 4 日間反復投与し、5 日目に右伏在静脈に単回投与した。投与量を 1.6、3.2 及び 6.4 mg/kg とし、レミマゾラムの濃度 0.4、0.8 及び 1.6 mg/mL 溶液を投与した。溶媒対照として、同じ動物の左橈側皮静脈及び伏在静脈に生理食塩液を投与した。他の 3 匹には比較対照薬として、ミダゾラムを右橈側皮静脈及び伏在静脈に 2.16 mg/kg（0.54 mg/mL）、左橈側皮静脈及び伏在静脈に 0.72 mg/kg（0.18 mg/mL）の用量で投与した。

一般症状として、被験物質の薬理作用に起因する鎮静症状が観察された。一般状態観察では、低用量群及び高用量群のそれぞれ 1 例の動物で、投与部位に紅斑及び腫脹が認められた。病理組織学的検査では、4 日間反復投与後にレミマゾラムの 6.4 mg/kg 群並びにミダゾラムの 0.72 及び 2.16 mg/kg 群の投与部位で、血管内皮の剥離及び肥厚／増殖、血管壁の炎症、血管内膜壊死又は血栓形成が認められた。レミマゾラムの 4 日間反復投与後の投与部位に対する

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

無影響量は、3.2 mg/kg (0.8 mg/mL) と考えられた。

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験 (、2.6.6.3.3 項) では、4～6 歳齢のカニクイザル各群雌雄各 3 匹に、生理食塩液に溶解したレミマゾラムを後大静脈留置カテーテルを用いて持続投与した。投与量を 6.75、9.0、11.25 及び 22.5 mg/kg とし、0.5 又は 1.0 mg/mL (最高用量群に使用) の溶液を 1 日 9 時間の持続投与により 2 週間投与した。溶媒対照群には生理食塩液を投与した。

投与期間終了後の剖検で、対照群の 2 例、6.75、9.0 及び 22.5 mg/kg 群の各 1 例で、投与部位 (留置カテーテルの先端の周囲) に白色又は赤色の腫瘍が認められた。回復期間終了時には、22.5 mg/kg 群の 1 例で投与部位 (留置カテーテル先端の周囲) に褐色腫瘍が観察された。これらの変化には用量依存性がなく、留置カテーテル先端の周囲でみられたことから、カテーテルによる血管壁の物理的損傷に起因する変化と考えられた。

留置カテーテル先端から 2 cm 近位側の血管標本を使用して、投与部位の病理組織学的検査を実施した。対照群を含む全群の動物で、カテーテル先端の近傍及びカテーテル先端から 2 cm 近位側の部位で、血管内膜の肥厚、血栓又は血管壁の炎症が観察された。回復期間終了時には、22.5 mg/kg 群の雄 1 例で同様の病変がみられた。同様の変化が対照群の動物でもみられること、並びに被験物質投与群で変化の発現頻度及び程度が用量依存的ではないことから、投与部位の変化は血管壁に対するカテーテルの物理的損傷に起因すると考えられた。以上より、本試験において血栓形成に関する無影響濃度は、試験に使用した最高濃度 1 mg/mL と考えられた。

7 日間反復静脈内持続投与した試験 () では、対照群、5、10 及び 20 mg/kg 群 (1.25、2.5 及び 5 mg/mL に相当) で投与部位に紅斑及び腫脹が観察された。肉眼的観察では、全レミマゾラム投与群で投与部位の硬化が、対照群、5 及び 10 mg/kg 群で投与部位の皮下組織に赤色巣が観察された。

病理組織学的検査で、全レミマゾラム投与群の投与部位で血栓、炎症及び線維化が観察された。対照群、5、10 及び 20 mg/kg 群では、投与部位で血管内膜の肥厚、並びに血管周囲皮下組織の炎症、線維化及び出血が認められた。これらの変化は、物理的刺激に起因する損傷が被験物質によって増強したと考えられた。以上より、血栓形成に関するレミマゾラムの最小影響濃度は 1.25 mg/mL と考えられた。

8 種の合成不純物／分解物及び主代謝物 CNS 7054 を含有するレミマゾラムの不純物バッチを使用して実施した、4 週間反復投与毒性試験 (、2.6.6.3.4 項) では各群雌雄各 4 匹のカニクイザルに、被験物質を 1 日 1 回静脈内持続投与した。1 日の投与時間を 12 時間とし、4 週間投与した。投与量はレミマゾラムの 12、30 及び 60 mg/kg とし、対照群には溶媒の生理食塩液を投与した。1 及び 2 mg/mL の投与液を使用し、高用量群に 2 mg/mL 溶液を投与した。なお、0、30 及び 60 mg/kg 群の雌雄各 2 匹は、毒性変化の回復性を検討するため 4 週間休薬した。

投与期間終了時に 12 mg/kg 群の雌 1 例及び 60 mg/kg 群の雄 1 例で、回復期間終了時に 60 mg/kg 群の雄 1 例で、後大静脈周囲に乳白色腫瘍が認められた。しかし、各群で 1 例のみ観察されており、対照群の雌 1 例でも投与期間終了時に後大静脈で白色腫瘍が観察されているこ

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

とから、この変化は被験物質と関連がないと考えられた。

病理組織学的検査では、投与期間終了時に投与部位（後大静脈）に各投与群で同等の変化が認められた。このような変化として、低用量群の1例、中・高用量群及び対照群の各2例で血管内膜の肥厚が認められた。後大静脈周囲の乳白色腫瘍は、血管壁の炎症、血管周囲領域の炎症性肉芽腫、血管内膜肥厚及び血栓／壊死組織であった。レミマゾラム投与群と対照群で類似した変化が観察された。血栓形成の詳細をまとめると、投与期間終了時及び回復期間終了時の結果と合わせて、対照群で2/12例、1 mg/mL 溶液投与（12 及び 30 mg/kg）群で1/19例、2 mg/mL 溶液（60 mg/kg）群で2/11例に血栓が認められた。

対照群の動物でも上述の変化と類似した病変が認められ、被験物質投与群における発現頻度及び程度が用量依存的ではないことから、これらの変化は血管壁に対する留置カテーテルの物理的損傷が原因と考えられた。以上より、血栓形成に関する無影響濃度は2 mg/mLと考えられた。

サルでの4週間反復静脈内持続投与毒性試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.3.6.1 項）では、各群雌雄各4匹のカニクイザルに、レミマゾラム（XXXXXXXXXXで製造）を12.5、25 及び 50 mg/kg（投与液濃度 0.625、1.25 及び 2.5 mg/mL）の用量で静脈内投与した。陰性対照として溶媒を投与した。他の1群に、対照薬として XXXXXXXXXX で製造したレミマゾラムを25 mg/kg の用量で投与した。動物への投与は週1回、4週間行った（合計5回投与）。後肢静脈から投与を行った。

投与部位の病理組織学的検査では、高用量群（投与液濃度 2.5 mg/mL）で4週間投与終了時に、内皮線維化、血栓形成、並びに（血管周囲組織を含む）血管壁の単核細胞浸潤及び出血など、軽度から中等度の刺激性反応が認められた。2週間の回復期間終了時には、投与部位の刺激性反応はおおむね回復した。高用量群では病変が顕著で対照群にはみられないことから、被験物質と関連すると考えられた。以上より、血栓形成に関する無影響濃度は1.25 mg/mL、最小影響濃度は2.5 mg/mLと考えられた。

2.6.6.7.5.3 その他の局所刺激性試験

試験番号：XXXXXXXXXX（評価資料）、記載箇所：4.2.3.6.10

試験番号：XXXXXXXXXX（参考資料）、記載箇所：4.2.3.6.11

カニクイザルに単回静脈内持続投与した局所刺激性試験（XXXXXXXXXX）では、各群5匹の雄カニクイザルにレミマゾラムの臨床用製剤を3.2、4.0、4.8 及び 6.4 mg/kg（投与液濃度 0.8、1.0、1.2 及び 1.6 mg/mL、溶媒：生理食塩液）の用量で、単回静脈内持続（4時間）投与した。投与翌日に剖検及び形態評価を行った。

投与部位の病理組織学的検査で、4.8 mg/kg（投与液濃度 1.2 mg/mL）以上の群で血管内膜の表面に線維素様物質の沈着、血管内膜壊死、ごく軽度の血管壁炎症及び軽度の血栓形成が認められた。投与部位に対するNOAELは、4.0 mg/kg（投与液濃度 1.0 mg/mL）と考えられた。

D-ダイマーの変動及び静脈血管超音波検査によって、投与部位の血栓形成を検出できるか否かを検討するために実施した試験（XXXXXXXXXX）では、各群3匹の雄カニクイザル（左前腕）に、レミマゾラム0（対照群、生理食塩液）及び2.5 mg/mL（総投与量 10 mg/kg）を、投与速度 1 mL/kg/h で4時間持続投与によって静脈内投与した。D-ダイマーの変動及び静脈血管超音波検

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

查のために、投与 2 日後に動物を剖検した。また、3 匹の雄カニクイザルの右前腕及び左前腕に、それぞれレミマゾラムの 0 (対照群、生理食塩液) 及び 2.5 mg/mL (総投与量 10 mg/kg) を、投与速度 1 mL/kg/h で 4 時間投与によって単回静脈内投与した。最初の試験群と同じ検査を行うために、投与 7 日後に動物を剖検した。

投与 2 日後に剖検した動物の病理組織学的検査では、レミマゾラムを投与した全例で、留置針の先端から最大 40 mm 離れた部位で血栓が観察された。同じ部位で剖検前に、異常な音響陰影が認められた。対照群の病理組織学的検査では、投与部位の留置針先端部に血栓がみられ、これらの部位で剖検前に異常な音響陰影が認められた。

投与 7 日後に剖検した動物では、レミマゾラム投与群全例の超音波検査で、左橈側皮静脈の留置針先端から心臓側に、投与後 3 日から消失又は縮小する傾向で投与開始後約 4 時間から投与後 7 日まで異常陰影が認められた。このような陰影は、生理食塩液投与部位 (右前腕) である右橈側皮静脈の穿刺部位又は留置針先端部でも認められた。この陰影は、投与の物理的損傷によって引き起こされた血栓形成を示唆する変化と考えられた。

病理組織学的検査では、レミマゾラム投与部位 (左前腕) の留置針先端から最大 25 mm 離れた部位で血栓が観察され、物理的損傷によって引き起こされた血栓が穿刺部位又は留置針先端部で観察された。生理食塩液投与部位では、物理的損傷によって引き起こされた血栓が、穿刺部位又は留置針先端部で観察された。レミマゾラム及び生理食塩液のいずれの投与部位でも、剖検前 (投与 7 日後) の超音波検査で陰影が認められた部位に血栓が存在した。

以上の結果から、病理組織学的検査で観察された血栓が、静脈血管の超音波検査によって連続的にモニターすることができると考えられた。D-ダイマーの変化と血栓形成の間に明瞭な関係はみられなかった。これらのデータから、レミマゾラムの存在に関わらず、物理的損傷が血栓形成を誘発し、レミマゾラム曝露が血栓形成を促進することも示唆された。本試験における最小影響濃度は、使用した唯一の濃度 2.5 mg/mL と考えられた

2.6.6.7.6 ブタの急速静注又は持続投与局所刺激性試験

試験番号：[REDACTED] (評価資料)、記載箇所：4.2.3.6.8

各群 3 匹の雄ブタ (ランドレース交雑種) に、生理食塩液で希釈したレミマゾラム臨床用製剤を静脈内投与して、局所刺激性を検討した ([REDACTED])。第 1、3 及び 5 群は 1 時間持続投与を 1 回行い、第 2、4 及び 6 群は 1 投与について急速静注 (20~30 秒) を 10 分間隔で 6 回反復して行った。第 1 及び 2 群は溶媒、第 3 及び 4 群はミダゾラム (陽性対照)、第 5 及び 6 群はレミマゾラムを投与した。両剤とも持続投与は 1.5 mg/kg、反復急速静注は 1.14 mg/kg の用量で耳介静脈に投与した。レミマゾラムを持続投与は 0.5 mg/mL、急速静注は 1.5 mg/mL で投与した。溶媒はラクトース水和物、ベンゼンスルホン酸及び注射用水で調製し、生理食塩液で最終容量に調整した。

病理組織学的検査で軽度の血管変性及び投与部位の炎症が認められたが、溶媒投与群でもみられたことから、投与手法を反映した変化と考えられた。生存期間中の検査、剖検及び病理組織学的検査において、いずれの指標も投与に関連すると考えられる変化はみられなかった。本試験条件下でレミマゾラムの忍容性は良好であり、ミダゾラムと同等と考えられた。

4 週間反復静脈内持続投与したミニブタを用いた試験 ([REDACTED]、2.6.6.3.5 項) では、ミニブタ

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

(Göttingen) にレミゾラム 0、12、40 及び 120 mg/kg を、それぞれ 0、0.5、1.67 及び 5 mg/mL で 4 週間静脈内投与した。各群雌雄各 3 匹の動物に、頸静脈留置カテーテルを通して 6 時間の持続投与を行った。病理組織学的検査では、溶媒対照群を含む全試験群の主に心臓領域とカテーテル先端部で、持続投与の技術的方法（留置カテーテルを心房の約 1~2 cm 前方に設置）によって誘発された、炎症性反応特徴とする様々な形態学的変化が認められた。高頻度で観察された変化として、投与部位で慢性血管炎、血管周囲性好中球浸潤、血管周囲出血、急性血栓形成、慢性／亜慢性静脈血栓及び血管内皮過形成、並びに心臓領域でリンパ組織球浸潤（心外膜）、好中球浸潤（心筋）、浮腫及び出血が認められた。対照群とレミゾラム投与群の間で投与部位の変化に差がなかったことから、本試験で血栓形成に関するレミゾラムの無影響濃度は 5 mg/mL と判断された。

2.6.6.7.7 経鼻投与局所刺激性試験

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.6.12

レミゾラムをラット (SD) 及びミニブタ (Göttingen) に経鼻投与し局所刺激性を検討した。

雄ラットを用いたパイロット試験（試験番号 [REDACTED]、2.6.6.3.6.2.1 項）では、レミゾラムを各種溶媒（注射用水のみ、1%キトサン又は 20% PEG を含む注射用水）を使用して経鼻投与した。レミゾラム水溶液を投与した 1 例の鼻腔でごく軽度の移行上皮化生が観察され、他の 1 例でごく軽度の嗅上皮炎症が認められた。レミゾラムの 1%キトサン水溶液を投与した雄全例の鼻腔で、ごく軽度又は軽度の移行上皮化生が観察された。2 例ではごく軽度の嗅上皮破屑が認められた。レミゾラムの 20% PEG 水溶液を投与した動物では、病理組織学的変化は認められなかった。

雄ラット (SD) を用いた経鼻投与試験（[REDACTED]、2.6.6.3.6.2.1 項）では、レミゾラムの 40 mg/mL 溶液を 100 µL (2 × 25 µL/nostril に相当) 投与した、4 mg/animal まで投与部位の忍容性が認められた。したがって、レミゾラムをラットに経鼻投与した場合、投与部位の局所に対する NOEL は 4 mg/animal 以上、ラットの鼻腔内表面積を 14 cm² とすると、鼻腔内面積に対して 0.29 mg/cm² に相当する。

レミゾラム製剤粉末をミニブタ (Göttingen) に経鼻投与して、局所刺激性を検討した（[REDACTED]）。3 匹の雌動物にレミゾラム 25 mg（レミゾラム投与量 1.25 mg/kg 相当、凍結乾燥製剤粉末として約 200 mg）を、スパーテルを用いて片側鼻腔に投与した。

その結果 1.25 mg/kg で、3 例中 1 例が一過性の鎮静症状を示したが、一般症状、生死、摂餌・摂水量及び体重の全身的反応に有害所見はみられなかった。又、鼻鏡検査では、鼻粘膜に変化は認められなかった。

本試験条件下で乾燥レミゾラム製剤粉末の経鼻投与による全身性での NOAEL は 1.25 mg/kg 以上と考えられた。乾燥レミゾラム製剤粉末の 25 mg を片側鼻腔の鼻粘膜に直接濃厚接触しても、鼻鏡検査において薬剤粉末に直接接触した部位を含む粘膜表面に変化はみられず、忍容性が認められた。したがって、投与部位の局所刺激性に関する NOEL は 25 mg/animal 以上と考えられた。

2.6.6.7.8 局所刺激性に対する結論

レミマゾラムの局所刺激性について、各試験を通して試験結果は一致しており、投与液の薬物濃度、血管サイズ及び投与頻度などの指標に基づいて試験成績を分類・評価し以下に考察を記載した。

2.6.6.7.8.1 投与方法に伴う血管反応／病変

レミマゾラムの非臨床試験で認められた血管所見は、留置カテーテルとその先端部での慢性血管炎、線維症及び線維性組織・フィブリンタグ沈着などの一般的に知られている静脈内投与時に認められる血管障害（一般に血栓性静脈炎²⁾）と分けて考える必要がある。例えば、生理食塩液を上大静脈に持続投与すると、カニクイザル及びイヌ（雄／雌）の30～40%で血栓が誘発され^{3,4)}、ヒトでも同様の傷害が引き起こされることが知られている（剖検及びX線検査によると、カテーテルを留置した中心静脈で血栓の発現頻度が35～67%に認められるとの報告がある⁵⁾）。したがって、薬理活性を示さない液体の持続投与でもこの変化は誘発されることを考慮する必要がある。

2.6.6.7.8.2 ベンゾジアゼピン系薬の血管反応

ベンゾジアゼピン系薬での血栓性静脈炎の反応は、ジアゼパム及びミダゾラムを典型例として古くから知られている^{6),7),8),9)}。古くからある薬剤についての非臨床データはほとんどないので、この情報はヒトの試験から得られた報告である。レミマゾラムの動物試験においても、ラット（XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXX、2.6.6.7.2 項）及びサル（XXXXXXXXXX、2.6.6.3.3 項）でみられたように、レミマゾラムが同種薬のミダゾラムと同様な作用を有することが示された。同一ラットの尾静脈に12日間連続して1日2回反復投与した試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.8.3.3 項）の肉眼的所見で示されたように、ミダゾラムはある条件下で刺激性が弱い可能性もある。しかしながら、高濃度のレミマゾラムでみられた血管病変は、ベンゾジアゼピン系薬に共通する作用を反映したものと考えられる。

2.6.6.7.8.3 血管の直径と病変の関係

レミマゾラムの血栓性静脈炎は、その局所濃度によって左右されることが明らかである（次項参照）。原則として、投与した薬物は血流によって急速に希釈・緩衝されるため、投与部位の血流が重要な決定要因となる。また、血流は血管のサイズに依存する。留置カテーテルは血管腔を部分的に塞ぎ、局所の血流を減少させて注入液の希釈を妨げる。

表 2.6.6-19 及び表 2.6.6-20 に動物試験で使用した静脈の直径を示し、ヒトで一般的に使用される静脈と比較した。これらの静脈は、直径が0.2～1.4（1.5）mmのグループ1（ラット尾静脈、ウサギ耳介静脈、カニクイザル橈側皮静脈）、直径が1.4（1.5）mm以上のグループ2（ミニブタ上大静脈、カニクイザル下大静脈、ヒト前腕静脈）の2つに分けられる。

2群の静脈径と動物試験における無影響濃度及び最小影響濃度との比較を図 2.6.6-1 に示す。グループ1の投与部位は、特にラット（投与液濃度：0.8 及び 1.2 mg/mL）及びカニクイザル（投与液濃度：0.8 及び 1.0 mg/mL）の持続投与で無影響濃度が低かった（各試験の無影響濃度及び最小影響濃度に基づく）。対照的に静脈の直径が大きいグループ2では、無影響濃度（試験に用いた最高濃度、最小影響濃度は決定できなかった）が1、2、2.5 及び 5 mg/mL であった。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-19 ヒトと実験動物の静脈径 グループ 1 (直径 1.5 mm 以下)

Species	Vessel	Diameter (mm)	Source
Rat	Tail vein	0.2-1.0	Bao (1995)
	Tail vein, lateral (proximal, middle and distal segments)	0.35-0.48	Staszyk et al. (2003)
	Tail vein, dorsal (middle and distal segments)	0.15-0.2	Staszyk et al. (2003)
Cynomolgus	cephalic vein	1.0-1.5	Leonard et al. (2015)
Rabbit	Ear veins	1 or < 1 mm	Karnabatidis et al. (2011); Chang et al. (1986)
Humans	Dorsal hand vein	1.1-1.25	Khanlari et al. (2001)
	Dorsal hand vein	0.7-0.8	Abdelmawla et al. (2001)
	Dorsal hand vein (Patients with diabetes mellitus)	1.2-1.3	Da Silva et al. (2010)

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-20 ヒトと実験動物の静脈径 グループ 2 (直径 1.4 mm 以上)

Species	Vessel	Diameter (mm)	Source
Rabbit	V. cava inferior (infrarenal)	4-5	Lajvardi et al. (1995)
	V. cava superior (for comparison)	2-3	Sun et al. (2011)
Cynomolgus	V. cava inferior	7 (5.6-10) *	Lee et al. (2017)
Minipig (26-29 kg)	V. cava superior (cranialis)	13.9 ± 0.9 (12 months of age) **	Hieb et al. (2009) Müller (2010) ***
Humans	<u>At cubital fossa</u> Cephalic vein	3.5 ± 1.4	Ayez et al. (2012)
	<u>At wrist level</u> Cephalic vein Basilic vein	<u>At 28/43 °C</u> 3.0/3.8 1.7/2.1	Rotella et al. (2017)
	<u>At wrist</u> Cephalic vein <u>At cubital fossa</u> Cephalic vein Basilic vein	<u>At 28/43 °C#</u> 2.8/3.4 3.1/3.5 5.1/5.5	Irfan et al. (2016)
	<u>At cubital fossa</u> Invisible veins <u>At forearm</u> (5 cm distal to cubital fossa) Invisible veins	2.6 (1.9-3.6) 2.6 (2.0-3.2)	Kimori et al. (2015)
	Cephalic vein, antecubital level	2.7	Spivack et al. (2012)
	<u>5 cm proximal to wrist-joint</u> Cephalic vein Basilic vein	Read from Figure 1; 43-44 °C 3.8 3.1	Van Bemmelen et al. (2005)
	<u>Antecubital fossa</u> Cephalic vein Basilic vein	4.5, right (no data for left) 5.2, right; 4.4, left	Huber and Seeger (2003)
	<u>At elbow</u> Cephalic vein (end-stage renal disease)	2.95	Mahapatra et al. (2015)
	<u>At wrist level</u> Cephalic vein Basilic vein (renal impairment)	<u>At 28/43 °C</u> 3.0/3.8 1.5/1.9	Rotella et al. (2007)
	<u>Proximal forearm</u> Cephalic vein Basilic vein <u>Distal forearm</u> Cephalic vein Basilic vein (first-time hemodialysis access)	African American: yes/no 2.0/2.5 1.8/2.5 1.7/2.1 1.4/2.1	Ishaque et al. (2012)

* group with body weights < 4.7 kg, conforming to the relevant monkey studies

** As the diameter of the vena cava cranialis increases with age (Müller, 2010), this is not quite representative of animals in the relevant minipig study, which were younger (6-8 months old) and lighter (body weight, 9-12 kg)

*** thesis behind the paper by Hieb et al. (2009), offering more details

According to van Bemmelen et al. (2005), diameters of warmed veins are more likely to resemble the diameter after distension with arterial pressure.

表 2.6.6-20 に示したヒトの静脈で、直径 2.6～約 5 mm が静脈内投与に通常使用され、これらは直径の大きな静脈に分類される。重篤な腎疾患の患者では前腕静脈の径が小さくなる傾向が

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

あるが、それでも 1.4～3.8 mm の直径を示す。そのため、2.5～5.0 mg/mL 以下の薬物濃度では、ヒトで血栓性静脈炎は発現しないとの結論が妥当と考えられる。これは前腕及び肘の静脈で当てはまり、中心静脈でも妥当と考えられる。

2.6.6.7.8.4 レミマゾラム起因病変と薬物濃度の関係

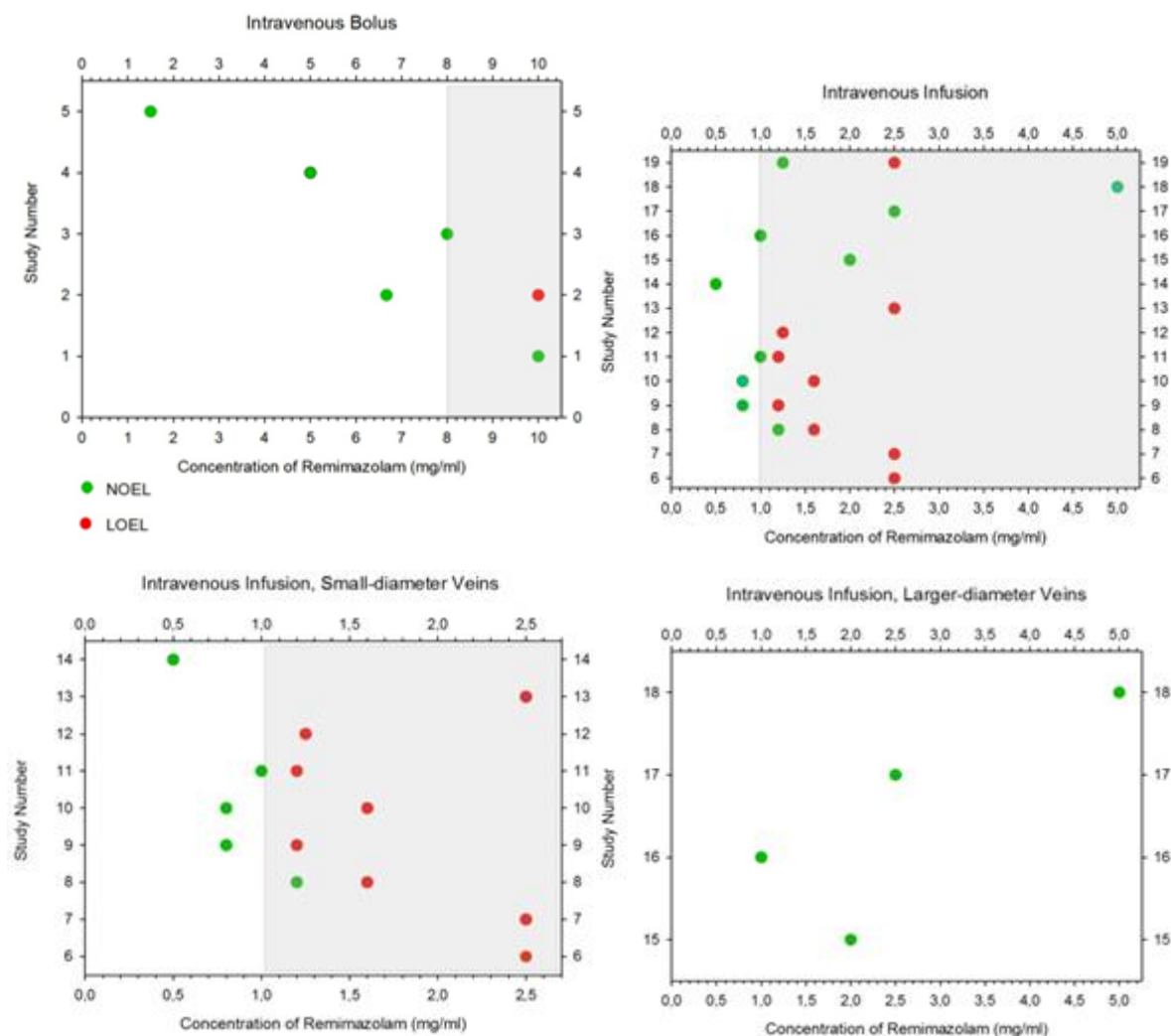
投与液中のレミマゾラム濃度と投与部位における血管病変の程度との関係を図 2.6.6-1 に示す。急速静注用の濃度が 8 mg/mL までの投与液及び持続投与用の 1.0 mg/mL までの投与液は、血栓形成を評価指標として、血管の忍容性に特に影響がないことが示された。

急速静注の非臨床試験で比較的高濃度のレミマゾラムは忍容性が良好であることが証明されたが、一部の非臨床試験では 1 mg/mL より高濃度のレミマゾラムを持続投与することによって曝露を延長すると、血栓性静脈炎のリスクを伴うことが明らかとなった。

2.6.6.7.8.5 急速静注試験における病変と投与回数の関係

レミマゾラムの身体依存性形成能を検討したラットの試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.8.3.3 項）では動物の尾静脈に 1 日 1 回ではなく 1 日 2 回、連続 12 日間投与した。6 mg/mL のレミマゾラムを使用した 1 日 2 回投与では、12 日間の投与で尾部に肉眼的変化が誘発され、多くは血栓性静脈炎を反映した変化であった。一方、ラット、ウサギ及びサルは 1 日 1 回急速静注では、8 mg/mL まで肉眼的変化も病理組織学的な血栓形成も認められなかった。

図 2.6.6-1 実験動物の急速静注及び静脈内持続投与における投与部位の血栓性静脈炎変化に関する無影響濃度（NOEL）及び最小影響濃度（LOEL）



Key to study numbers:

1- [redacted]; 2- [redacted]; 3- [redacted]; 4- [redacted]; 5- [redacted]; 6- [redacted]; 7- [redacted]; 8- [redacted], single infusion; 9- [redacted], multiple infusions; 10- [redacted]; 11- [redacted]; 12- [redacted]; 13- [redacted]; 14-2- [redacted]; 15- [redacted]; 16- [redacted]; 17- [redacted]; 18- [redacted]; 19, [redacted]

Seven studies are not included:

1) [redacted], for the lack of a saline control group, evidence of mechanical injury at all dose levels, and the absence of dose-dependent effects; 2) [redacted], as it was conducted in rabbits showing thrombus formation at sites suggestive of catheter tip placement more distally than intended (see text). Also, the difference in thrombus incidence between controls and drug groups was only slight, so that no unequivocal NOEL or LOEL could be identified; 3) [redacted] because of imprecise definition of site of injection / catheter placement (“rear limb vein”); 4) [redacted], due to marked changes in both control and test ears, precluding firm safety conclusions. 5) [redacted], due to slight difference between control and drug groups precluding unequivocal assignment of NOEL/LOEL, doubts about precise location of catheter tip, and selection bias (only premature deaths investigated); 6) [redacted] due to lack of histopathology data; *in vivo* observations at 5 (Day 1-5) and 6 mg/mL (Day 6-28) showed no changes; 7) [redacted] due to atypical dosing schedules (twice a day). 6 mg/mL would have been considered a LOEL.

Vein size diagrams: [redacted], not included for uncertainties about catheter placement; [redacted]: While pig ear vein diameter has not been reported, it is known as small and the study has been classified accordingly.

In some cases, only a NOEL (green circles) or a LOEL (red circles) is available. No LOELs were identified in studies using larger veins for infusion. The concentration range for possible thrombophlebitic changes is highlighted grey.

以上のように、高濃度のレミゾラムを比較的短い間隔で同じ細い静脈に反復急速静注する

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

と局所障害のリスクがある。頻繁な穿刺が静脈損傷を引き起こして血流を阻害し¹⁰⁾、最終的に静脈の狭窄を誘導する¹¹⁾、との見解が専門家及びガイドラインで認められている。ラット依存性試験の対照群では、尾静脈の1日2回投与で必ずしも局所障害がみられず、1日2回投与は高濃度のレミマゾラムによる血管傷害の条件とみられる。

ラットの尾静脈のような非常に細い静脈に注射針を穿刺すると一時的な血流の停滞又は減少が起こりやすく、その結果、傷害を誘発する濃度の薬物への曝露が増加する。通常ヒトで使用されるような太い静脈（経験的範囲 2.7～5.5 mm）では、ヒトの橈側皮静脈で報告¹²⁾されているように血流は 5 mL/分に近い速度となる。例えば、2.5 mg/mL の溶液を 3.0 mL（75 kg のヒトで 0.1 mg/kg の投与量に相当）1 分かけて注入すると、一時的に $7.5 \text{ mg}/(3+5) \text{ mL} = 0.93 \text{ mg/mL}$ となり、この濃度はいずれの試験条件でも影響のないことが明らかとなった。部分的な閉塞によって血流が半分の場合を同様に計算すると、一時的な局所濃度は 1.36 mg/mL [$7.5 \text{ mg}/(3+2.5) \text{ mL}$] となり、許容可能と考えられる。

ブタの局所刺激性試験（ 、2.6.6.7.6 項）では忍容濃度（1.5 mg/mL）のレミマゾラムを耳介静脈に留置したカニューレを通して 10 分間隔で 6 回反復投与した結果、忍容性が良好であった。

2.6.6.7.8.6 経鼻投与試験における局所刺激性

ラット及びミニブタを用いた経鼻投与における局所刺激性はラットで 4 mg/animal まで、ミニブタで 25 mg/animal 以上まで忍容性が認められた。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験／光毒性試験

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.7.1.1

試験番号：[REDACTED] (評価資料)、記載箇所：4.2.3.7.1.2

モルモットにレミマゾラムを反復経口投与して、アナフィラキシー誘発能を検討した([REDACTED])。

その結果、レミマゾラムの 0.2 mg/kg 及び 1.0 mg/kg を腹腔内投与して動物を感作した。レミマゾラムを静脈内投与 (0.4 mg/kg 及び 2.0 mg/kg) して惹起した結果、モルモットは被験物質に対するアナフィラキシー反応を示さなかった。

反復投与毒性試験においても、代表的な免疫器官 (胸腺、脾臓、リンパ節及び骨髄) の病理組織学的検査、血液学的及び血液生化学的パラメータにレミマゾラムの免疫系に影響を示す所見は認められなかった点を加味し、これ以上の免疫毒性試験は必要ないと考えた。

レミマゾラム及び CNS 7054 の光毒性を検討するため、培養哺乳類細胞 (Balb/c 3T3 細胞) を用いる光毒性試験を実施した([REDACTED])。光毒性試験はレミマゾラムの最高濃度 1000 µg/mL (ベシル酸塩として) まで、UVA 照射あり／なしの条件下で実施した。陰性対照として溶媒 (DMSO) 陽性対照として塩酸クロルプロマジン (CPZ) を使用した。結果を平均光作用 (MPE) により評価した。

試験データから、レミマゾラム及び CNS 7054 は、いずれも培養哺乳類細胞に光毒性を示さなかった。レミマゾラムの 1000 µg/mL で沈殿が認められたことから、レミマゾラムの 400 µg/mL 及び CNS 7054 の 1000 µg/mL が陰性結果を得られた最高濃度であった。

2.6.6.8.2 血液適合性試験

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.7.2.1

試験番号：[REDACTED] (評価資料)、記載箇所：4.2.3.7.2.2

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.7.2.3

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.7.2.4

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.7.2.5

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.7.2.6

レミマゾラムの乳糖凍結乾燥製剤 (5 mg/mL、ベシル酸塩として) の溶血作用を評価した([REDACTED])。健康成人ボランティアから血液を採取し、レミマゾラム (試験管中濃度 0.25 mg/mL、ベシル酸塩として) と共に 37°C で 1 時間インキュベートした。陰性対照として 0.9% 食塩水 (生理食塩液)、陽性対照としてサポニンを使用した。遠心分離後に上清中の血色素量を分光光度計で測定し、総血色素量に対する百分率 (溶血指数) で示した。レミマゾラムは溶血性を示さなかった。

ヒト血液を使用した試験 ([REDACTED]) では、比較対照薬のサポニン (5 mg/mL) と比較して、レミマゾラム (最終濃度 0.8、1.2、1.6、2.4 及び 4.8 mg/mL) の溶血作用を検討した。サポニン処理群では全例で軽度～中等度の溶血が発現したが、レミマゾラム処理群では最高濃度

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

4.8 mg/mL まで溶血作用は認められなかった。しかし、4.8 mg/mL 群では遠心分離後の血漿に白濁が認められた。

レミゾラム及び主代謝物 CNS 7054 は、いずれもヒト全血に添加した場合に最高濃度 10 mg/mL まで、溶血を起こさなかった ()。レミゾラムを最終濃度 2.5 mg/mL (試験に用いた最高濃度) で、ウサギ赤血球懸濁液に添加した場合に溶血も血球凝集もみられず、同様の結果が報告されている ()。

ヒト血漿を用いた試験では、レミゾラムの最終濃度 1.375 mg/mL 以上で沈殿が認められた ()。同様に、レミゾラムは 1.5 mg/mL 以上でヒト血漿中に沈殿を生じたが、1.25 mg/mL では沈殿はみられなかった。CNS 7054 では、試験に用いた最高濃度 2.5 mg/mL まで、沈殿は観察されなかった ()。

同様の結果 (レミゾラムの最終濃度 1.25 mg/mL で沈殿を生じない) は、ブタ血漿でも観察されている ()。

2.6.6.8.3 依存性試験

ラット及びサルを用いてレミゾラムの依存性を検討した。

2.6.6.8.3.1 ラットの薬物弁別試験

試験番号 : (評価資料)、記載箇所 : 4.2.3.7.4.2

試験番号 : (参考資料)、記載箇所 : 4.2.3.7.4.1

ミダゾラムからレミゾラムへの般化の有無を明らかにするため、溶媒 (生理食塩液) とミダゾラムの弁別を獲得した雄ラット (Iar:Long-Evans) を使用した左右レバー選択法による薬物弁別試験を実施した ()。

先行して実施した予備試験で、レミゾラム投与による一般状態観察における効果発現最小用量は 10 mg/kg と判断した ()。

主試験では、ミダゾラムと溶媒の弁別獲得基準を満たした 20 匹の動物を使用して、ミダゾラムからレミゾラムへの般化試験を実施した。総レバー押し回数に対するミダゾラム側のレバー押し回数の割合の平均値は、レミゾラムの投与量 2.5、5、10 及び 20 mg/kg で、それぞれ 12.5% (n=7)、33.4% (n=19)、40.0% (n=20) 及び 80.7% (n=13) であった。レミゾラムの投与量 10 又は 20 mg/kg で 20 例中 18 例が般化基準 (初回強化における総レバー押し回数に対するミダゾラム側のレバー押し回数の割合が 80%以上であること) を満たしたことから、ミダゾラムはレミゾラムに般化したと考えられた。したがって、レミゾラムの弁別刺激作用はミダゾラムの弁別刺激作用と類似している可能性が考えられた。

2.6.6.8.3.2 サルの静脈内自己投与試験

試験番号 : (評価資料)、記載箇所 : 4.2.3.7.4.3

アカゲザルの自己投与試験により、レミゾラムの強化効果を検討した ()。用量設定試験では、レミゾラムの単回静脈内投与による最小効果用量は 0.125 mg/kg であった。そのため、最初の 2 時間自己投与試験の最高用量を 0.125 mg/kg/infusion に設定した。2 時間及び

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

24 時間自己投与試験を各 4 匹のアカゲザルを用いて実施した。両試験で全動物が陽性対照物質（ペントバルビタール）の 1.0 mg/kg/infusion を活発に自己投与するが、溶媒（生理食塩液）は自己投与しないことが確認された。

2 時間自己投与試験では、動物にレミマゾラムの 0.125、0.06、0.03、0.015 及び 0.008 mg/kg/infusion を、この降順で 1 用量 4 日間ずつ自己投与させた。活発なレミマゾラムの自己投与と一致する、動作緩慢及び運動失調などの行動変化がみられた。これらの効果用量に基づき、24 時間自己投与試験ではレミマゾラムの投与量 0.06、0.03 及び 0.015 mg/kg/infusion をこの降順で自己投与させた。

24 時間自己投与試験の観察期間は、0.06 mg/kg/infusion では 9～16 日間、他の用量は 5 日間とした。すべての用量の 4 例全例で、試験施設の強化効果陽性判定基準（1 日 11 回以上の自己投与が 5 日間以上連続する）に適合する、活発なレミマゾラムの自己投与が観察された。動作緩慢、運動失調、流涎などの行動変化が観察された。レミマゾラムの自己投与期間に続き、退薬症候を観察するため全例に溶媒の自己投与期間を設けた。この期間に 2 例で筋硬直、うち 1 例は過敏表情及び摂食低下も示したことから、レミマゾラムで身体依存性が形成される可能性が示唆された。したがって、レミマゾラムはアカゲザルの静脈内自己投与モデルで強化効果を有すると考えられた。

2.6.6.8.3.3 ラットの身体依存性試験

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.7.4.4

試験番号：[REDACTED]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.7.4.5

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.7.4.6

レミマゾラムの耐性誘発能及び退薬による身体依存性症状誘発を、ベンゾジアゼピン系薬物のミダゾラムと比較して、ラットを用いた 3 試験（[REDACTED] 及び [REDACTED]）で検討した。

用量設定試験（[REDACTED]）では、主試験（[REDACTED]）のための耐性及び至適用量を検討した。いずれの試験も投与量は遊離体換算で示した。尾静脈の 1 箇所（1 日 1 回投与）と異なる箇所への 1 日 2 回投与での耐性を比較検討するために、雌ラット（SD）の 3 群（5～6 匹／群）にレミマゾラム、ミダゾラム又は溶媒を漸増投与法により 4 週間急速静注した。28 日目に薬物投与を急に中止し、その後 4 日間退薬症状を観察した。レミマゾラムは、10 mg/kg（Day 1～Day 5）、15 mg/kg（Day 6～Day 10）、20 mg/kg（Day 11～Day 20）、25 mg/kg（Day 21～Day 25）及び 30 mg/kg（Day 26～Day 28）の用量で投与した。ミダゾラムは、2.5 mg/kg（Day 1～Day 5）、5 mg/kg（Day 6～Day 10）及び 10 mg/kg（Day 11～Day 28）の用量で投与した。

ミダゾラムの反復投与では、ジアゼパムでみられる症状と類似した軽度の耐性症状（影響と考えられる摂水量の増加）、並びに退薬により軽度の身体依存性症状（摂餌量及び摂水量の減少、音に対する反応性の増加及び背弯姿勢）が観察された。レミマゾラムの主な薬理作用は正向反射消失（LRR）であり、4 週間の静脈内投与期間中にこの作用に対する耐性の兆候はみられなかった。レミマゾラム投与群で 1 例のラットが死亡したが、薬物投与とは関連がないと考えられた。反復投与により体重、摂餌量及び摂水量に影響がみられ、休薬中には摂餌量及び摂水量に影響がなかったミダゾラムとは異なり、レミマゾラムは投与期間中にこれらのパラメータに明らかな影響がみられず、退薬後に摂水量が減少したのみであった。被験

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

物質を尾静脈に 1 日 1 回投与した場合の忍容性が良好であったことから、主試験（XXXXXXXXXX）ではレミマゾラム及びミダゾラム共に 1 日 2 回投与を採用した。

主試験（XXXXXXXXXX）の計画は、レミマゾラム、ミダゾラム及び溶媒の 3 群で、ラットに漸増投与法で別の尾静脈に 1 日 2 回 4 週間急速静注するものであった。しかし、（主試験に 1 週間先行して投与した）小規模のサテライト群で、1 日 2 回投与により 12 日目までに尾部の腫脹が発現した局所刺激性の問題のため、主試験では 5 日目から 1 日 1 回投与のスケジュールに変更した。主試験の動物でも 12 日目までに尾部の腫脹及び傷害が認められたため、この時点で投与を打ち切った。このため、レミマゾラム及びミダゾラムは 1 日 2 回投与で 4 日間、1 日 1 回投与 8 日間漸増投与法で静脈内投与された。12 日目に投与を終了し、その後 7 日間ラットの退薬症状を観察した。

レミマゾラム群で 1 例が死亡した。剖検時に異常所見が認められなかったことから、死因は不明であった。レミマゾラムの主要な薬理作用は LRR の誘発であり、12 日間の静脈内投与期間中にこの作用に対する薬理的耐性の兆候はみられなかった。投与中止により、背弯姿勢の頻度増加及び被毛の汚れ（全身状態悪化の指標）と共に外観上立毛が認められ、身体依存性の形成が示唆された。ミダゾラムの反復投与では、明瞭な薬剤耐性の徴候、並びに退薬により軽度の身体依存性症状が観察された。この試験では投与が 12 日間で終了したため、レミマゾラムの耐性及び／又は身体依存形成能を特徴付けるには、試験結果を注意深く検討する必要がある。試験の計画及び実施に関する制約があるが、耐性及び退薬後の身体依存形成に関して、レミマゾラムはミダゾラムと比べて同等又は軽度の作用を示した。

さらに XXXXXXXXXX の試験では、雄 Wistar ラットの 3 群（8～10 匹／群）に、レミマゾラム、ミダゾラム又は溶媒を急速静注（2 分間）投与し、続いて固定用量の 2 時間持続投与を漸増投与法で行った。すべての投与で忍容される最大限に曝露量を増加させるために、この投与法を使用した。

本試験では 3 例（溶媒対照群の 2 例及びレミマゾラム群の 1 例）が死亡した。レミマゾラムを最大 60 mg/kg（30 mg/kg 急速静注 + 30 mg/kg 2 時間静脈内持続投与）まで 4 週間反復投与したとき、LRR 及び鎮静症状が発現したが、体重増加量、摂餌量及び摂水量に影響はみられなかった。投与終了後にレミマゾラム群のラットで退薬症状はみられなかったが、さらに有意ではないが体重、摂餌量及び摂水量の減少が観察された。ミダゾラムの 1 日総投与量 25 mg/kg の静脈内投与では、同じ実験条件下で LRR はみられなかったが、顕著な鎮静症状が発現した。ミダゾラムでは、投与期間中に摂餌量及び摂水量がある程度増加し、投与日によっては有意差が認められた。ミダゾラムを投与したラットでは、投与終了後に有意差が認められないが体重（退薬後 1 日目のみ）及び摂餌量の減少、及び摂水量の増加が認められた。以上の試験結果より、雄 Wistar ラットを使用した本試験条件下で、レミマゾラム及びミダゾラムは耐性又は身体依存性を形成する明確なエビデンスはないと判断された。

2.6.6.8.3.4 サルの身体依存性試験

試験番号：XXXXXXXXXX（評価資料）、記載箇所：[4.2.3.7.4.7](#)

カニクイザルを用いてレミマゾラムの身体依存形成能を検討した。

用量設定試験では、レミマゾラムを7又は10日間、1日24時間持続投与した。0.75 mg/kg/hの静脈内持続投与により、全例で運動失調及び動作緩慢などの行動変化が観察された。1例で摂餌量の減少がみられたため、この動物の投与量をDay 4から0.5 mg/kg/hに減量し、更に7日間静脈内持続投与を継続した。その結果、行動変化は引き続き認められたが、摂餌量は回復した。いずれの動物でも、投与期間中に耐性獲得は認められなかった。

用量設定試験の結果に基づき、主試験の第1週の投与量を0.75 mg/kg/hに設定した。例外として、摂餌量の減少がみられた動物1例は0.5 mg/kg/hで投与を開始した。

主試験では、用量設定試験で使用した6例の動物を試験終了後1ヵ月以上休薬し、同動物にレミマゾラムを4週間静脈内持続投与した。その後、1週間休薬し、動物の退薬症候を観察した。投与開始とともに、運動失調、動作緩慢、観察者に対する反応低下、観察者への怯え又は攻撃性の減弱又は増強などの行動変化が観察された。しかし、これらの行動変化は投与継続とともに消失し、耐性獲得が認められた。投与量を毎週見直し、耐性獲得が認められた場合には、翌週から投与量を増量した（最高投与量は1 mg/kg/h）。第1週の投与量を0.75 mg/kg/hに設定した5例中2例は第3週以降投与量を1 mg/kg/hに増量し、3例は第4週に1 mg/kg/hに増量した。0.5 mg/kg/hで投与を開始した1例は第2週に0.75 mg/kg/h、第4週に1 mg/kg/hに増量し、いずれも静脈内投与した。休薬期間中には、全6例で過敏表情、過度の被刺激性、立毛、筋硬直、吐気又は嘔吐、振戦などの退薬症候がみられた。また、全6例で体重及び体重増加率が減少し、6例中4例で摂餌量が減少した。休薬後約25時間に、1例で環境からの解離、全身性痙攣及び持続的腹臥位などの重度の退薬症候が認められた。以上より、レミマゾラムはベンゾジアゼピン系の身体依存形成能を有すると考えられた。

2.6.6.8.3.5 身体依存形成能に関する結論

ラットの依存性試験では、軽度の身体依存形成能及びミダゾラムと比べて軽度の退薬症状が認められた。また、カニクイザルではレミマゾラムの4週間連続静脈内投与により、退薬後に明瞭な身体依存性症状が観察された。これらの試験から総合的に判断して、レミマゾラムは他のベンゾジアゼピン系薬剤と同様に、同系統の薬剤で知られた身体依存形成能を有すると考えられた。

2.6.6.8.4 代謝物の毒性試験

各代謝物はレミマゾラムの毒性試験の中で十分に評価されていると考えられることから、主代謝物 CNS 7054 についてのみ毒性試験を実施した。ヒトの代謝物はすべて、毒性試験に使用した動物種にも存在する。

CNS 7054 の安全性に関する試験を表 2.6.6-21 に示した。CNS 7054 は、極めて高曝露量であったラットの毒性予備試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.8.4.3 項）を除いて、薬理作用を有さないことが示されている。一覧に示したいずれの試験でも受容体又は信号伝達系に影響はみられず、毒性所見も認められなかった。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-21 CNS 7054 の薬力学的試験、安全性薬理試験及び毒性試験

Study Type	Route	Species	Material Used	Study Number
Pharmacokinetics				
Toxicokinetics in dose-finding study	i.v.	Cynomolgus monkey	■	■
Protein binding (¹⁴ C-ONO-252)	<i>in vitro</i>	Rat, monkey, human	■	■
Hepatic metabolism	<i>in vitro</i>	Human	■	■
CYP Inhibition	<i>in vitro</i>	Human	■	■
CYP Inhibition	<i>in vitro</i>	Human	■	■
CYP induction	<i>in vitro</i>	Human	■	■
Inhibition of drug transporters Preliminary Study	<i>in vitro</i>	Human	■	■
Inhibition of drug transporters	<i>in vitro</i>	Human	■	■
Interaction at P-Glycoprotein	<i>in vitro</i>	Human	■	■
Primary and safety pharmacology				
GABA receptor binding	<i>in vitro</i>	Human, rat, pig	■	■
Selectivity profile	<i>in vitro</i>	Various	■	■
Selectivity profile	<i>in vitro</i>	Human and rat	■	■
Sedation profile	i.v.	Mouse	■	■
Sedation	i.v.	Rat	■	■
Sedation effects	i.v.	Rat	■	■
hERG study	<i>in vitro</i>	Human	■	■†
Papillary Muscle	<i>in vitro</i>	Guinea pig	■	■†
Toxicity				
CNS 7054 DRF	i.v.	Rat	■	■
CNS 7054 DRF reproductive toxicity	i.v.	Rat	■	■
CNS 7054 DRF	i.v.	Cynomolgus monkey	■	■
Phototoxicity	<i>in vitro</i>	Mouse	■	■†
Hemocompatibility	<i>in vitro</i>	Human	■	■†
Hemocompatibility	<i>in vitro</i>	Human	■	■

† Study conducted to GLP. The remaining studies were exploratory or dose-ranging in nature and not subject to the GLP regulation, or were in a field exempt from GLP regulations such as pharmacokinetics. Nevertheless, they were all conducted in the spirit of GLP and by GLP-certified facilities following their Standard Operating Procedures.

2.6.6.8.4.1 CNS 7054 のラットにおける急速静注試験

試験番号：■ (参考資料)、記載箇所：4.2.3.7.5.1

各群 3 匹の雄ラット (SD) に CNS 7054 を 100 及び 200 mg/kg の用量で、2 日間反復急速静注した。対照群の動物には生理食塩液を投与した。本試験では、CNS 7054 単回急速静注後の血漿中濃度の経時的変化を検討した。一般状態、体重及び剖検所見に関して、いずれの投与量でも変化はみられなかった。100 及び 200 mg/kg における AUC₀₋₂₄ は、それぞれ 287000 及び 441000 ng・h/mL であった。

2.6.6.8.4.2 CNS 7054 のカニクイザルにおける静脈内持続投与試験

試験番号：■ (参考資料)、記載箇所：4.2.3.7.5.3

2 匹のカニクイザル (雄、4 歳齢) に CNS 7054 を 120 mg/kg の用量で 2 日間、静脈内 (24 時間) 持続投与した。12 日間休薬後、240 mg/kg で 4 日間投与した。投与期間中に動物の一般症

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

状観察、体重・摂餌量測定を実施し、トキシコキネティクス評価を行った。2 回目投与終了後に血液学的検査、血液生化学的検査及び剖検を行った。

1 回目又は 2 回目投与後に死亡例はなかった。投与期間中にいずれの動物でも、一般症状、体重又は摂餌量の変化は認められなかった。2 回目投与終了の翌日に、血液学的検査、血液生化学的検査及び剖検で CNS 7054 に関連した変化は認められなかった。1 回目及び 2 回目投与時のトキシコキネティクスの測定で、CNS 7054 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量に応じて増加した。

2.6.6.8.4.3 CNS 7054 のラットの胚・胎児発生に及ぼす影響－静脈内投与試験

試験番号：[REDACTED] (参考資料)、記載箇所：4.2.3.7.5.2

CNS 7054 の忍容性及びトキシコキネティクスを評価するため、妊娠ラット (SD) を使用して用量設定試験を実施した。CNS 7054 の投与量 200 mg/kg を 1 日 1 回、妊娠 6～10 日まで急速静注する計画であったが、後述の理由により反復投与を中止し、妊娠ラット (妊娠 6 日) での単回静脈内投与による血漿中曝露確認を行った。対照群の動物には生理食塩液を投与した。

試験番号 [REDACTED] (2.6.6.8.4.1 項) とは異なり、本試験では投与初日 (妊娠 6 日) の急速静注で 1 例に CNS 7054 が有する作用と考えられる自発運動低下、緩徐呼吸、鎮静及び失調歩行が観察された。この状態における C_{max} は 517000 ng/mL と報告されている。顕著な鎮静作用が観察されたため投与を中止し、残りの動物各群 2 匹については、レミマゾラムの 100 又は 200 mg/kg を 3 分間で緩徐に静脈内投与した。その結果、一般状態に変化は認められず、高用量 (200 mg/kg) 群における CNS 7054 の AUC_{0-24} は 684000 ng•h/mL であった。この投与量の平均 C_{max} は 492000 ng/mL であった。

2.6.6.8.4.4 CNS 7054 の反復投与毒性試験における曝露量

表 2.6.6-22 及び表 2.6.6-23 (2.6.6.3.3 項、2.6.6.3.4 項、2.6.6.3.5 項) に示したように、急速静注並びに静脈内持続投与試験で十分な NOAEL が示された。CNS 7054 の遊離型濃度について検討すると、臨床試験におけるヒトの曝露量と比較した動物の曝露量比は C_{max} が最大 13.2 倍 (ラットの急速静注)、AUC が最大 14.3 倍 (ミニブタの静脈内持続投与) に達した。このことより、CNS 7054 は標準的な安全性試験において十分に評価されている。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-22 反復投与毒性試験（急速静注）における CNS 7054 の全身曝露量

Species	Study	Dose Characterization	Gender	Dose Level (mg/kg/day)	C _{max} (ng/mL)	AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	Exposure Ratio ^a		Exposure ratio free concentrations ^b	
							C _{max}	AUC	C _{max}	AUC
Rat	28-day toxicity (i.v. bolus)	NOAEL	Male	20	49700, 50000	46600, 77800	2.7, 2.7	0.7, 1.2	8.5, 8.5	2.2, 3.7
			Female		44800, 51800	32400, 43000	2.4, 2.8	0.5, 0.7	7.6, 8.8	1.5, 2.0
		Highest dose studied ^c	Male	30	67900, 77700	82900, 43000	3.7, 4.2	1.3, 2.2	11.6, 13.2	4.0, 6.9
			Female		66000, 70200	75000, 85400	3.6, 3.8	1.1, 1.3	11.3, 11.9	3.6, 4.1
Monkey	28-day toxicity (i.v. bolus)	NOAEL	Male	5	7840, 7220	17100, 15500	0.4, 0.4	0.3, 0.2	0.7, 0.7	0.4, 0.4
			Female		7140, 7670	12300, 17300	0.4, 0.4	0.2, 0.3	0.7, 0.7	0.3, 0.4
		Highest dose studied ^d	Male	20	27900, 27600	56300, 56700 *	1.5, 1.5	0.9, 0.9	2.5, 2.5	1.4, 1.4
			Female		30500, 29700	77100, 74700 *	1.7, 1.6	1.2, 1.1	2.8, 2.6	1.9, 1.9
Human	CNS7056-010	Highest values observed	12 mg/kg/h initiation + maintenance infusion at ca. 1-3 mg/kg/h		18400	65700 *	n.a.			

Data from [REDACTED], [REDACTED], CNS7056-010

Two values, where indicated, denote mean values at first study day (left) and close to study end (right).

AUC = area under the curve; AUC₀₋₂₄ = area under the curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; i.v. = intravenous; n.a = not applicable; NOAEL = no observed adverse effect level.

a: NOAEL/observed human exposure

b: Corrected for differences in free plasma concentration (rat, 26.3%; monkey, 13.8%; human, 8.4%).

c: Findings were an increased incidence of urinary blood pigments (females > males) and protein (females).

d: At this dose level, in single animals minor renal lesions and unspecific liver changes were seen (not associated with changes in laboratory parameters).

* AUC_{0-t}

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-23 反復投与毒性試験（静脈内持続投与）における CNS 7054 の全身曝露量

Species	Study	Dose Characterization	Sex	Dose Level (mg/kg/day)	C _{max} (ng/mL)	AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	Exposure Ratio ^a		Exposure ratio free concentrations ^b	
							C _{max}	AUC	C _{max}	AUC
Monkey	██████████ 14-day toxicity (9h/day)	NOAEL	Male	22.5	3990, 5420	39700, 53500	0.2, 0.3	0.6, 0.8	0.4, 0.5	1.0, 1.3
			Female		3310, 4170	31500, 42100	0.2, 0.2	0.5, 0.6	0.3, 0.4	0.8, 1.1
	██████████ 28-day toxicity (12h/day)	NOAEL	Male	30	3550, 3640	41100, 40100	0.2, 0.2	0.6, 0.6	0.3, 0.3	1.1, 1.0
			Female		4170, 2710	42600, 32500	0.2, 0.1	0.6, 0.5	0.4, 0.3	1.1, 0.8
		Highest dose dose studied ^c	Male	60	7240, 6030	83000, 65500	0.4, 0.3	1.3, 1.0	0.7, 0.6	2.2, 1.7
			Female		7670, 4040	80700, 49500	0.4, 0.2	1.2, 0.8	0.7, 0.4	2.1, 1.3
Minipig	██████████ 28-days toxicity (6h/day)	NOAEL (Highest dose studied)	Male	120	26486, 27306	308317, 386514 **	1.4, 1.5	4.7, 5.9	8.3, 9.2	29.2, 36.6
			Female		15735, 18716	77576, 103318 **	0.9, 1.0	1.2, 1.6	5.3, 6.3	7.3, 9.8
Human	CNS7056-010	Highest values observed	12 mg/kg/h initiation + maintenance infusion at ca. 1-3 mg/kg/h		18400	65700 *	n.a.			

Data from [REDACTED], [REDACTED], [REDACTED], CNS7056-010

Two values, where indicated, denote mean values at first study day (left) and close to study end (right).

AUC = area under the curve; AUC₀₋₂₄ = area under the curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum plasma concentration; i.v. = intravenous; n.a. = not applicable; NC = not calculated;

NOAEL = no observed adverse effect level

a: NOAEL/observed human exposure

b: corrected for differences in free plasma concentration (monkey, 13.8%; minipig, 50.4%; human, 8.4% respectively)

c: At this dose level, changes in erythroid parameters were observed.

* AUC_{0-t}; ** AUC_{0-∞}

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

2.6.6.8.5 不純物の毒性試験

レミゾラムのバッチ中に検出される不純物及び分解生成物（XXXXXXXXXX、不純物 A*、XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXX 及び XXXXXXXXXX）、あるいは不適切な保存条件で検出される分解生成物（XXXX XXXX）に関する遺伝毒性試験及び反復投与毒性試験を実施した。試験にはレミゾラムにこれらの不純物及び分解生成物並びに主代謝物（CNS 7054）を含有する、「不純物バッチ」を用いた（表 2.6.6-24）。

表 2.6.6-24 不純物の毒性試験に使用したレミゾラムバッチ（Lot no XXXXXXXXXX）の
関連物質含有率

Compound name (alternative name)	Content (%)	Compound name (alternative name)	Content (%)
XXXXXXXXXX	XXXX	XXXXXXXXXX	XXXX
XXXXXXXXXX	XXXX	XXXXXXXXXX	XXXX
XXXXXXXXXX	XXXX	不純物 A*	XXXX
XXXXXXXXXX	XXXX	CNS 7054 (ONO-IN-252, the main metabolite)	XXXX
XXXXXXXXXX	XXXX		

XXXXXXXXXX : XXXXXXXXXX, XXXXXXXXXX : XXXXXXXXXX

不純物バッチを使用して、遺伝毒性試験として復帰突然変異試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.4.1 項）、マウスリンフォーマ試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.4.2 項）及びラット小核試験とコメット試験の組合せ試験[XXXXXXXXXX）、2.6.6.4.4 項]、並びにカニクイザルの4週間投与毒性試験（XXXXXXXXXX、2.6.6.3.4 項）を実施した。

不純物バッチを使用して実施したいずれの試験でも、毒性所見は認められなかった。

2.6.6.8.5.1 不純物 A* の毒性試験

中間体であり個別規格設定対象物質である不純物 A* について復帰突然変異試験（XXXXXXXXXX）及びマウスリンフォーマ TK 試験（XXXXXXXXXX で不純物 A* を単独で評価した）。

2.6.6.8.5.1.1 不純物 A* の復帰突然変異試験

試験番号：XXXXXXXXXX（評価資料）、記載箇所：4.2.3.7.6.1

不純物 A* をネズミチフス菌株（TA100、TA1535、TA98 及び TA1537）、並びに大腸菌株（WP2 *uvrA*）を用いて、S9 mix 存在下及び非存在下プレートインキュベーション法で試験した（XXXXXXXXXX）。溶媒の DMSO 及び4種の既知の変異原物質を、それぞれ陰性対照及び陽性対照とした。

用量設定試験に基づき、主試験は最高濃度 5000 µg/plate で2回実施した。いずれの主試験においても、すべての試験菌株で S9 mix 存在下及び非存在下で、陰性対照群と比較して2倍以上、又は用量依存的な復帰変異コロニー数の増加は観察されなかった。2回の主試験で再現性が確認された。

S9 mix 存在下及び非存在下、TA1535 及び TA1537 の 2500 µg/plate 以上、並びに WP2 *uvrA* 及び TA98 の 5000 µg/plate で菌株の生育阻害が観察された。被験物質の添加により S9 mix 存在下及び非存在下の 5000 µg/plate で被験物質の沈殿が認められたが、48 時間培養後のプレートでは

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

S9 mix 存在下又は非存在下の 5000 µg/plate まで沈殿は観察されなかった。

用量設定試験及び2回の主試験において、陰性対照群及び陽性対照群の復帰変異コロニー数は試験施設の背景データの範囲内（平均値 ± 3S.D.）にあった。その結果、本試験の妥当性が確認された。不純物A*は S9 mix の存在又は非存在に関わらず、細菌に遺伝子変異を誘発しないと結論された。

2.6.6.8.5.1.2 不純物 A* のマウスリンフォーマ TK 試験

試験番号：[REDACTED]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.7.6.2

不純物 A* を S9 mix 存在下及び非存在下の短時間（3 時間）処理、並びに S9 mix 非存在下の 24 時間連続処理により、マウスリンフォーマ TK 試験（[REDACTED]）で評価した。溶媒（DMSO）を陰性対照、シクロホスファミド及びメタンスルホン酸メチルを陽性対照とした。用量設定試験の結果に基づき、80%以上の細胞毒性が発現する 1200 µg/mL を最高用量とし、402 µg/mL まで公比 1.2 で 7 用量を設けた。

S9 mix 存在下及び非存在下の短時間処理では、いずれの被験物質処理群でも陰性対照群と比較して、T-MF の有意な増加は認められなかった。S9 mix 非存在下の 24 時間連続処理では、833 µg/mL においてのみ陰性対照群と比較して有意な T-MF の増加が観察されたが、統計学的に有意な用量依存性は認められなかった。

全処理群で、被験物質処理の直後に用量依存的な RS の減少〔細胞のコロニー形成率（PE）から算出〕がみられ、2 日間の突然変異発現期間中に RSG の減少が観察された。いずれの処理群でも 2 日間の突然変異発現期間終了時に RS の減少はみられなかったが、RTG は RSG と同様の用量依存的な減少を示した。

被験物質処理直後から 2 日間の突然変異発現期間終了時まで、S9 mix 非存在下短時間処理の 833 µg/mL 以上、並びに S9 mix 存在下短時間処理及び 24 時間連続処理の 1000 µg/mL 以上では、生存細胞数が 0 であった。

被験物質の添加により、培養液の pH に変化はなかった。被験物質の処理開始から終了まで、最高濃度 1200 µg/mL においても培養液中に被験物質の沈殿は認められなかった。

陰性対照群では、いずれの処理条件でも PE 及び T-MF は、それぞれ 65%～120%及び 50×10^{-6} ～ 170×10^{-6} の範囲にあった。陽性対照群の T-MF は試験施設の背景データの範囲内（平均値 ± 3S.D.）にあった。したがって、本試験の妥当性が確認された。

不純物 A* は、S9 mix の存在／非存在又は処理時間の長短に関わらず、マウスリンパ腫細胞に遺伝子突然変異を誘発しないと結論された。

2.6.6.8.5.2 [REDACTED] の毒性試験

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.1.1.18

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.7.6.4

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.7.6.3

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.7.6.5

試験番号：[REDACTED]（参考資料）、記載箇所：4.2.3.7.6.6

光分解生成物 [REDACTED] を用いた以下の毒性試験を実施した。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

ラット (SD) を用いた E11CS033 では [] に起因する鎮静作用 (運動失調・LRR) が観察され、10 mg/kg 以上の投与量で死亡例が観察された。20 及び 50 mg/kg では数分以内に、低用量ではやや遅れて死亡した。最大非致死量は 5 mg/kg であった。死亡例の剖検で肺の暗赤色化及び暗赤色の胸膜液が認められた。本所見は生存例の剖検ではみられなかったことから死因は心肺循環器への影響が推測された。

[] では [] の致死作用の用量依存性及び発現状況を検討した。各群 10 匹のラット (SD) に、被験物質を 0、0.2、1、5 及び 20 mg/kg の用量で単回急速静注、又は 0、5 及び 20 mg/kg/h で 1 時間静脈内持続投与した。急速静注群では 5 mg/kg 以上の投与群で呼吸不全の徴候が認められ、20 mg/kg の 1/10 例が鼻腔から赤色の泡状液体を分泌して投与後 7 分以内に死亡した。剖検及び病理組織学的検査の結果、死因は肺胞及び間質性出血並びに肺浮腫による呼吸不全であった。生存例でも同様の病変が認められた。一方、静脈内持続投与群では、いずれの投与量でも毒性症状は認められなかった。

以上より [] のラット急速静注投与における非致死量及び NOAEL はそれぞれ 5 mg/kg 及び 1 mg/kg、1 時間静脈内持続投与ではいずれも 20 mg/kg と考えられた。投与方法により結果が異なるのは、曝露量の違いによると考えられた。

[] に伴う死因の病理学的機序を一層明らかにするために、覚醒雄ラット (SD) で心血管系及び呼吸系に及ぼす影響を検討した ([])。別個の試験群で両器官系に対する影響を検討した。各群 5 匹の雄動物に [] を 0、1、5 又は 20 mg/kg の用量で急速静注、あるいは 20 mg/kg で 1 時間かけて静脈内持続投与し、血圧、心拍数及び血液ガスパラメータを測定した。

20 mg/kg の急速静注では、3/5 例が投与後 12～13 分で死亡した。これらの動物では持続的な血圧低下及び不規則な心拍数の乱れが観察された。20 mg/kg 群の生存例では中等度の影響がみられ、5 mg/kg 以下では血圧及び心拍数に影響が認められなかった。

呼吸系試験群では、20 mg/kg の急速静注で 3/5 例が投与後 3～11 分で死亡した。死亡例は動脈血 pH、酸素分圧及びヘモグロビン酸素飽和度は低値を示し、炭酸ガス分圧は高値を示した。生存例では軽度の変化がみられた。5 mg/kg 以下で影響は認められなかった。

20 mg/kg/h の静脈内持続投与で死亡例はなく、観察期間中 (静脈内持続投与終了後 1 時間) に心血管系及び呼吸系に影響は認められなかった。

上記の結果 ([] の 20 mg/kg 急速静注で肺出血に起因する死亡例がみられたが、静脈内持続投与で死亡例はなかった) は、追加試験 ([]) で確認された。[] の溶解性を高める別の溶媒を使用した場合にも、差異はみられなかった。

[] をラットに急速静注時に認められた死因の解明の目的の試験 ([]) では、[] 起因する死亡には血管透過性の亢進 (エバンスブルー投与)、アナフィラキシー (抗ヒスタミン剤及び抗 PAF 剤投与) 又は血液凝固障害 (全身毒性の評価) の関与は認められなかった。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

2.6.6.8.6 添加物の毒性試験

添加物デキストラン 40 のラットの反復投与毒性試験及び腎障害ラットの毒性試験を実施(表 2.6.6-25) し、安全性及び忍容性を検討した。ウサギを用いた一連の毒性試験が公表されており、第 2 の動物種における安全性情報に基づく評価、さらに、レミゾラム製剤におけるデキストラン 40 の安全性について、急性腎不全、肺水腫、うっ血性心不全、出血性障害、重篤な免疫反応及び組織内蓄積の面から評価した。

表 2.6.6-25 デキストラン 40 の反復投与毒性試験

Species (Study Duration)	Mode of administration	Doses (mg/kg)	Study Number
Wistar Rat (28-days)	i.v., infusion (4 h/day)	0/200/600/2000	████████
Wistar Rat (28-days TK study)	i.v., infusion (4 h/day)	0/200/600/2000	████████
Renally impaired male Wistar rat (7-days)	i.v., infusion (4 h/day)	0/200/2000	████████

2.6.6.8.6.1 デキストラン 40 のラットにおける 4 週間投与毒性試験

試験番号：████████ (評価資料)、記載箇所：4.2.3.7.7.1

試験番号：████████ (評価資料)、記載箇所：4.2.3.7.7.2

デキストラン 40 の毒性は極めて弱いと考えられること及び予想される曝露量から、ICH M3 (R2) ガイドラインの限界量の考え方に従って最高用量を選択して、4 週間投与毒性試験 (████████) の投与量を設定した。雌雄 Wistar ラットに生理食塩液に溶解したデキストラン 40 を 0、200、600 又は 2000 mg/kg の用量 (投与容量 20 mL/kg) で、留置カテーテルを通して 4 時間の静脈内持続投与により 4 週間投与し、一般症状、体重・摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、凝固系検査、尿検査、眼科学的検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。その後、2 週間の回復期間を設けた。サテライト動物を用いた試験でトキシコキネティクス評価を実施した。

デキストラン 40 の投与に起因する死亡例はみられなかった。一般状態の観察で頭部／口吻、四肢末端及び陰囊の一過性腫脹／浮腫で明らかなように、アナフィラキシー様反応が全投与量で高頻度に認められた。この所見はラットに特有なことが知られており¹³⁾、ヒトには関連がないと考えられた。

デキストラン 40 の曝露により高用量群の雄で体重増加量及び摂餌量の減少がみられ、肝臓、脾臓、副腎及び腎臓の実質細胞へのデキストラン 40 蓄積及びマクロファージ増加のため、これらの器官重量が軽度増加した (600 mg/kg 群以上の雄の肝臓、600 mg/kg 群以上の雌の脾臓、2000 mg/kg 群以上の雌の肝臓、副腎及び腎臓)。このようなデキストラン 40 の蓄積は、種々の器官でデキストラン 40 の存在と関連する泡状／空胞化細胞¹⁴⁾が観察されることから明らかである。病理組織学的検査で、局所刺激性又は炎症性変化の兆候はみられなかった。

プロトンポンプ時間、活性化部分トロンボプラスチン時間及び血小板数には、対照群と投与群の間で毒性学的意義のある差異は認められなかった。平均血小板容積の変化は程度が小さく、毒性学的意義は乏しいと考えられた。600 及び 2000 mg/kg 群でみられた血清生化学的検査値の軽度の変化も、同様に毒性学的意義は低いと考えられた。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

600 及び 2000 mg/kg 群で、肝臓実質、副腎、肺、脾臓、リンパ節及び胸腺にデキストラン 40 蓄積に関連する泡状／空胞化細胞が、用量依存的な頻度及び程度で認められた。炎症又は退行性変化のような、細胞内変化に伴う機能的障害又は器官病変がみられなかったことから、泡状／空胞化細胞は有害所見とは判断しなかった。肝臓及び副腎の変化は回復期間中に完全に回復し、肺、脾臓及びリンパ節では部分的な回復が認められた。

測定法の限界があるが、2000 mg/kg 群では対照群と比較して軽微な尿粘度の増加が認められた。結果として得られた値は異なる温度における水の粘度の範囲内にあり、尿細管内の流動に影響を与えるには小さいと考えられた。回復期間終了時に尿粘度の増加はみられなかった。

腎機能マーカーは腎障害を示唆する変化を示さない（血清：クレアチニン、総タンパク及びアルブミン、尿：クレアチニン）か、又は一貫性のないわずかな増加〔血清：尿素、尿：微量アルブミン及びアルブミン／クレアチニン比（ACR）〕であった。高用量 2000 mg/kg 群の雄では、血清中尿素が投与前値と比較して 21%の統計学的に有意な増加を示したが、この値は腎障害と診断する閾値の 50%¹⁵⁾を明らかに下回っており、可逆的と考えられた。微量アルブミン及び ACR の変化に統計学的有意差はみられず、雌の個別データはラットの腎障害レベルをわずかに下回る値、又はヒトの慢性腎不全の判断基準¹⁶⁾を下回る値であった。腎臓に病理組織学的変化は認められず、腎臓重量には 1 例を除きデキストラン投与に関連する変化はみられなかった。2000 mg/kg 群でみられた限定的な所見は、最小影響量を示すと考えられた。したがって、2000 mg/kg で腎臓に対する影響が認められたことから、NOAEL は 600 mg/kg と考えられた。

雄ラットの体重変化に統計学的有意差はなかったが、ヒトに関連する唯一の毒性学的徴候であった。高用量群で体重変化の分散が大きかったことが統計学的有意差のみられなかった原因と考えられ、個々の体重に対する影響を無視することはできない。したがって、ラットに特異的なアナフィラキシー様腫脹／浮腫反応を除外しても、2000 mg/kg で雄の体重に影響が認められ、雌で散発的ながら臨床検査値の変化が認められたことから、NOAEL は 600 mg/kg と判断された。

サテライトで実施したトキシコキネティクス試験で、初回投与日と最終投与日にデキストラン 40 の曝露量を評価した。トキシコキネティクス試験では、特に最終投与日の一部のサテライト動物で、予想外の低曝露量を示唆する説明不能なばらつきの大きい結果が得られた。本試験を通して通常のデキストラン 40 の曝露を示す急性の腫脹／浮腫が観察されており、トキシコキネティクス試験の結果は本試験の結果を示すものではないと考えられた。このような背景から、毒性試験をサポートするため追加の 4 週間反復投与拡張薬物動態試験（XXXXXXXXXX）を実施した。当該試験では、4 週間反復投与毒性試験と薬物動態試験で動物に対する全身的影響が同等であることを確認するため、主要器官の病理組織学的検査を実施し、（泡状／空胞化細胞など）デキストラン 40 投与に関連する変化を検索した。

雌雄のトキシコキネティックプロファイルは類似することから、最初のサテライト試験及び追加して実施した薬物動態試験における曝露量パラメータの雌雄平均値を表 2.6.6-26 に示す。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-26 サテライトトキシコキネティクス試験及び追加拡張薬物動態試験における曝露量パラメータ（雌雄合算値）

	C _{max} (mg/mL)			AUC ₀₋₂₄ (mg•h/mL)		
	Group 2 200 mg/kg	Group 3 600 mg/kg	Group 4 2000 mg/kg	Group 2 200 mg/kg	Group 3 600 mg/kg	Group 4 2000 mg/kg
Satellite TK study 172.351.5266 (males + females)						
Day 1 mean ± S.D.	2.37 ± 1.04	9.37 ± 1.02	21.1 ± 6.93	18.8	108	312
Day 28 mean ± S.D.	11.1 ± 10.9	6.0 ± 5.37	30.3 ± 16.9	135	70.6	601
Additional repeat TK study 172.521.5589 (males + females)						
Day 1 mean ± S.D.	2.77 ± 0.29	9.65 ± 1.01	28.6 ± 1.81	17.5	109	438
Day 28 mean ± S.D.	2.67 ± 0.89	11.4 ± 6.59	64.9 ± 8.77	20.5	169	1310

Data from [REDACTED] and [REDACTED]

トキシコキネティックデータを総合的に精査した結果、初回投与日には投与量に比例した曝露が認められ、最終投与日には高用量群の動物で多少の蓄積がみられ、やや用量比を上回る曝露が観察された。毒性試験におけるデキストラン 40 曝露に関連する病理組織学的指標と、付随するトキシコキネティクス試験の結果が同等であることが確認された。

2.6.6.8.6.2 デキストラン 40 の腎障害ラットにおける毒性試験

試験番号：[REDACTED]（評価資料）、記載箇所：4.2.3.7.7.3

極めて高用量のデキストランは腎機能に影響を及ぼす可能性があり、特に腎障害の患者でリスクとなる。シスプラチン誘発性ラット急性腎症モデルを用いて、腎機能に及ぼす危険性を検討した。公表文献 (17), (18), (19) を基に、予備試験 ([REDACTED]) で重篤ながら可逆的な腎障害を誘発するシスプラチンの至適用量を設定した。

条件設定試験 ([REDACTED]) において、雄 Wistar ラットでシスプラチンの 6.5 mg/kg 単回腹腔内投与により適度な腎障害が誘発された。この投与量では、腎機能マーカー（血清：尿素窒素、クレアチニン及び尿素）及び（尿：微量アルブミン、クレアチニン及び ACR）に影響が認められ、可逆的であるがかなりの程度の腎障害が誘発されたが、忍容性は概して良好であった。しかし、シスプラチンに対する反応の変動が大きく、シスプラチン投与 5 日後に、事前に設定した至適な中等度の腎障害に適合したのは一部動物のみであった。このため、主試験では動物を腎障害の重篤度に応じて層別化して投与群及び対照群に割り付け、腎障害を発現しない動物や過剰に発現する動物は除外した。

毒性試験（10 又は 11 匹/群）及び回復性試験（5 匹/群）では、腎障害の重篤度が同等に分布するラットの 3 群に、溶媒（生理食塩液）又はデキストラン 40 の 200 又は 2000 mg/kg を、4 時間持続投与でシスプラチン投与後 5 日から 7 日間投与した。その後、7 日間の回復期間を設けた。デキストラン 40 の投与量は、正常ラットを使用した 4 週間投与毒性試験と同じ投与量とした。投与 1 日目及び最終日に、サテライト動物を用いて投与後 24 時間のデキストラン 40 の曝露量を評価した。シスプラチン投与前、投与後 3 及び 5 日（デキストラン 40 投与開始前）、投与後 7 日（シスプラチン投与後 5 日のデキストラン 40 投与開始後）及び投与後 12 日（動物の剖検前）に、腎機能に関連する血清マーカーを測定した。回復性試験の動物はシスプラチン

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

の投与後 19 日に、腎機能マーカーを測定した。尿中腎機能マーカーについても、同スケジュールで測定した。試験 11 日のデキストラン 40 投与終了後、5 時間かけて採取した尿試料で粘度を測定した。

シスプラチン投与後、血中尿素窒素及びクレアチニン濃度がベースライン値の 7~10 倍を上回る値に達した。尿中微量アルブミン濃度及び ACR はベースライン値の少なくとも 70~100 倍に達したが、尿中クレアチニン及び尿素はベースライン値の 1~2 倍であった。最高の変化は投与後 5 日（尿中マーカー）及び 7 日（血清マーカー）に観察された。いずれのマーカーもシスプラチン投与前のベースライン値に完全に戻ることはなく、腎障害が試験期間を通じて維持されたことが確認された。デキストラン投与期間中（試験 12 日）又は回復期間中（試験 19 日）に観察された、いずれの腎障害マーカーの変化も、デキストラン 40 投与群と対照群の動物で類似していた。尿の pH、尿量及び比重には、対照群とデキストラン 40 投与群の間に有意差は認められなかった。

一般症状観察では、全投与群で下痢及び立毛、時に自発運動低下及び背弯姿勢などのシスプラチン投与に関連する症状が試験 9 日まで観察された。デキストラン 40 投与に関連する症状としては、主試験でもみられたラットに特有の可逆的な浮腫様の腫脹が観察された。回復期間中に一般状態の変化はみられなかった。

シスプラチン投与後 7 日まで、全例で重篤な体重減少が認められた。その後、回復の兆しがみられた。デキストラン 40 の持続投与期間中及びそれ以降、対照群とデキストラン 40 投与群の間に体重増加に有意な差異はみられなかった。しかし、デキストラン 40 を投与した動物では、対照群の動物（シスプラチンのみ投与）と比べて体重の回復が早かった。

シスプラチンの細胞毒性を示す所見として、剖検時に胸腺及び脾臓の小型化、粘膜出血、腎臓蒼白化、時に腎表面粗造が認められた。病理組織学的検査では、対照群とデキストラン 40 投与群で類似したシスプラチン投与に関連する腎臓の退行性変化が認められた。デキストラン 40 投与群のみで認められた変化として、多巢性の核濃縮した泡状／空胞化尿細管上皮細胞がみられた。2000 mg/kg 投与群の少数例で、腎臓の肥大及び重量増加が認められた。後者の所見に付随して空胞化細胞が観察された。

デキストラン 40 の Day 1 及び最終日のトキシコキネティクスは 4 週間投与毒性試験（XXXXXXXXXX）と類似した血中濃度推移を示した。単回静脈内持続投与（Day 1）と 7 日間投与後の薬物動態を比較して評価した結果、デキストラン 40 の蓄積は 2000 mg/kg 群のみでみられ、4 週間投与試験と一致した結果であった。

デキストラン 40 の 2000 mg/kg 投与群で 11 日目に尿の粘度が軽度増加したが、毒性学的意義は乏しいと考えられ、7 日間休薬後にベースライン値に回復した。200 mg/kg 群で明らかな変化はみられなかった。

以上より、雄 Wistar ラットにシスプラチンを 6.5 mg/kg の用量で投与することによって、デキストラン 40 の毒性評価に適切な状態の腎障害を誘発することができた。デキストラン 40 の 200 及び 2000 mg/kg を 4 時間持続投与で 7 日間連日投与した結果、デキストラン 40 の非経口投与で誘発されるラットに特有なアナフィラキシー様反応である一過性の頭部／口吻及び四肢の腫脹が認められた。

デキストラン 40 の組織蓄積を反映して、2000 mg/kg で腎臓重量が増加し、核濃縮した空胞化尿細管上皮が観察された。

デキストラン 40 の反復投与によって、最高用量 2000 mg/kg までシスプラチン誘発性腎毒性が悪化する兆候はみられなかった。同様に、腎障害の回復に要する時間的経過にも明瞭な影響はみられなかった。

2.6.6.8.6.3 デキストラン 40 のウサギにおける毒性

日本白色種ウサギに、アミノ酸混合物、5%グルコース又は生理食塩液で調製した 10%デキストラン 40 溶液を静脈内投与して、反復投与毒性を評価した²¹⁾。デキストラン 40 を 2 g/kg の用量で 1、3 及び 6 ヶ月間、4 g/kg で 1 及び 3 ヶ月間、並びに 8 g/kg で 1 ヶ月間静脈内持続投与した。

デキストラン 40 のいずれの投与群でも、脳、下垂体、心臓、生殖器官、脾臓、胃、小腸、大腸及び骨髄に特記すべき変化はみられなかった。2 g/kg の 6 ヶ月間投与でも、生殖器官の絶対重量及び相対重量に影響は認められなかった。肉眼的検査及び病理組織学では、雌雄の生殖器官にデキストラン 40 投与の影響は認められなかった。

2.6.6.8.6.4 デキストラン 40 のラットにおける生殖発生毒性

デキストラン 40 をラットに 4 週間静脈内投与して、雌雄の生殖器官に及ぼす影響を評価した。また、ウサギ及びミニブタを用いた試験で溶媒対照群としてデキストラン 40 を投与し、生殖発生毒性について検討した。

2.6.6.8.6.4.1 デキストラン 40 のラットにおける 4 週間静脈内投与毒性試験

雌雄 Wistar ラットに生理食塩液に溶解したデキストラン 40 を 0、200、600 又は 2000 mg/kg の用量（投与容量 20 mL/kg）で、留置カテーテルを通して 4 時間の静脈内持続投与により 4 週間投与した。その後、2 週間の回復期間を設けた（XXXXXXXXXX、2.6.6.8.6.1 項）。

雌雄の生殖器官重量（絶対重量／脳比重量）にデキストラン 40 の影響はみられなかった（表 2.6.6-27、表 2.6.6-28）。

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-27 雌雄生殖器官の絶対重量 (g)

Group / Dose		Prostate*	Testes	Epididymides	Ovaries	Uterus with cervix
1 Vehicle	Mean	2.53	3.56	1.33	0.164	0.75
	S.D.	0.42	0.34	0.16	0.027	0.28
	N	10	10	10	10	10
2 Dextran 40 200 mg/kg	Mean	2.27	3.80	1.35	0.147	0.58
	S.D.	0.23	0.31	0.12	0.013	0.12
	N	10	10	10	10	10
3 Dextran 40 600 mg/kg	Mean	2.29	3.71	1.34	0.149	0.75
	S.D.	0.51	0.44	0.07	0.019	0.24
	N	10	10	10	10	10
4 Dextran 40 2000 mg/kg	Mean	2.34	3.38	1.35	0.153	0.67
	S.D.	0.35	0.34	0.18	0.018	0.18
	N	9	8	8	10	10

Data from [REDACTED]

* with seminal vesicles and coagulating glands.

表 2.6.6-28 雌雄生殖器官の相対重量 (g/100 g 脳重量)

Group / Dose		Prostate*	Testes	Epididymides	Ovaries	Uterus with cervix
1 Vehicle	Mean	123.41	173.64	65.09	9.00	40.94
	S.D.	18.79	10.74	6.22	1.40	14.82
	N	10	10	10	10	10
2 Dextran 40 200 mg/kg	Mean	111.06	185.83	66.17	7.98	31.66
	S.D.	9.43	15.79	6.87	0.81	6.94
	N	10	10	10	10	10
3 Dextran 40 600 mg/kg	Mean	109.41	178.79	64.49	8.14	40.88
	S.D.	20.73	21.85	4.50	1.01	13.42
	N	10	10	10	10	10
4 Dextran 40 2000 mg/kg	Mean	114.99	165.72	66.25	8.52	37.07
	S.D.	17.42	19.03	9.90	1.27	9.80
	N	9	8	8	10	10

Data from [REDACTED]

* with seminal vesicles and coagulating glands.

雄性生殖器官（前立腺、精巣及び精巣上体）の病理組織学的検査では、投与期間終了時及び回復期間終了時に、デキストラン 40 の投与量 2000 mg/kg で特記すべき所見は認められなかった（表 2.6.6-29）

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

表 2.6.6-29 雄性生殖器官の病理組織学的検査

Day of necropsy Groups	Day 29 (end of treatment)				Day 43 (end of recovery)	
	1	2	3	4	1	4
Organs and findings	Vehicle	200 mg/kg	600 mg/kg	2000 mg/kg	Vehicle	2000 mg/kg
Prostate						
No. of examined	10	0	1	9	5	5
Athrophy/ interstitial inflammation (ventral lobe)	0	0	1	0	0	1
Interstitial inflammation/oedema (coagulating gland)	0	0	0	0	0	1
Lymphocytic infiltration, focal (coagulating gland)	0	0	0	0	1	0
Testes						
No. of examined	10	0	0	9	5	5
Tubular atrophy/ degeneration (unilateral, focal/multifocal)	3	0	0	1	2	2
Dilated oedematous seminiferous tubules	0	0	0	1	1	0
Epididymis						
No. of examined	10	0	0	9	5	5
Spermatocele (unilateral)	0	0	0	1	0	0
Interstitial inflammation	0	0	0	1	0	0

Data from [REDACTED]

2.6.6.8.6.4.2 ウサギの静脈内持続投与による発生毒性用量設定試験

各群 6 匹のウサギ (NZW) にレミゾラム 0、15、20 及び 25 mg/kg の用量で、妊娠 6～19 日まで静脈内 (4 時間) 持続投与した ([REDACTED]、2.6.6.6.5 項)。対照群には溶媒 (デキストラン 40 の 3.96%及びラクトース水和物の 2.64%を生理食塩液に溶解) を同様に投与した。妊娠 29 日に剖検し、母動物及び胎児を観察した。交配後の雄ウサギ (各群 3 匹) に、溶媒又はレミゾラムを 25 mg/kg の用量で 4 週間、静脈内 (4 時間) 持続投与した。以下の指標について評価した。一般状態、体重、摂餌量、酸素飽和度、トキシコネティクス、交配、剖検、妊娠及び着床状況、胎児発育 (外表検査のみ)、精子検査 (雄)、病理組織学的検査 (投与部位の変化、血栓形成など)。

デキストラン 40 を含む溶媒を投与した動物で、変化は認められなかった。

2.6.6.8.6.4.3 ウサギの拡張受胎能／交配試験

レミゾラムを雌ウサギ (NZW) に交配前から離乳まで投与し、妊娠、周産期及び授乳中の毒性並びに出生前 (胚・胎児) 及び出生から生後 35 日までの発生に及ぼす影響を評価した ([REDACTED]、2.6.6.6.5 項)。レミゾラム及び溶媒 (デキストラン 40 の 3.96%及びラクトース水和物の 2.64%を生理食塩液に溶解) を交配の 2 週間前から連日投与した。投与は交配期中 (個体により変動) 及び妊娠期間中継続し、妊娠 29 日から授乳 5 日まで中断した。投与を授乳 6 日から再開し、授乳約 30 日まで継続した。1 日の総投与量のうちレミゾラムの 5 mg/kg (ほぼ 2 mL/分の速度で急速静注) 又は溶媒 (対照群) を、最初に緩徐に静脈内投与した。この導入投与に続けて、一定速度で各群に異なる時間持続投与した。

以下の指標について評価した。一般状態、鎮静作用、接触刺激、体重、体重増加量、摂餌量、

2.6.6 毒性試験の概要文

レミゾラムベシル酸塩

交配、妊娠期間、哺育行動、出生児の生存率、出生児の体重、オープンフィールド検査、生殖能、病理組織学的検査。

デキストラン 40 を含む溶媒を投与した動物で、変化は認められなかった。

2.6.6.8.6.4.4 ミニブタの 4 週間静脈内持続投与試験

ミニブタ（Göttingen）にレミゾラム 0、12、40 及び 120 mg/kg の用量で 4 週間静脈内投与した（ 、2.6.6.3.5 項）。レミゾラムは頸静脈内留置カテーテルを通して投与容量 4 mL/kg/h で 6 時間持続投与し、対照群には溶媒（デキストラン 40 の 3.96%及びラクトース水和物の 2.64%を生理食塩液に溶解）を投与した。各群雌雄各 3 匹を使用し、対照群及び高用量群では雌雄各 2 匹に 4 週間の回復期間を設けた。以下の指標について評価した。一般状態、体重及び体重増加量、摂餌量、摂水量、鎮静作用、ECG 検査、血圧、体温、眼科学的検査、聴覚検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量、精子検査（雄）、骨髓検査、病理組織学的検査。

デキストラン 40 を含む溶媒を投与した雄で、精子数、精子の運動能及び形態に影響は認められなかった。

以上のように、デキストラン 40 のラットにおける 4 週間静脈内投与試験、デキストラン 40 を対照群の溶媒として使用したウサギ及びミニブタの試験、並びにウサギを用いた毒性試験に関する公表論文 ²¹⁾では、デキストラン 40 が雌雄動物の生殖能に及ぼす影響、あるいは雌雄生殖器官に対する影響は認められなかった。また、デキストラン 40 の胎盤通過性は否定されている ^{22), 23), 24)}ことから、母動物に投与したデキストラン 40 が胎児に影響を及ぼすことは考え難い。したがって、デキストラン 40 が生殖・発生に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

2.6.6.9 考察及び結論

単回投与毒性試験、反復投与毒性試験（投与期間最長 4 週間）、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験（受胎能及び初期胚発生に関する試験、胚・胎児発生に関する試験、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験及び拡張受胎能／交配試験）及び局刺激性試験を実施し、レミマゾラムの毒性を総合的に評価した。また、9 種の不純物／分解生成物並びに主代謝物を含有する、レミマゾラムの不純物バッチの遺伝毒性試験及び 4 週間投与毒性試験、並びに特定の不純物の遺伝毒性試験及び分解生成物の *in vivo* 毒性試験を実施した。

主要な毒性試験は、医薬品規制調和国際会議（ICH）の医薬品の非臨床試験に関するガイダンスに従い、国際的な医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して非臨床試験を実施した。本薬の臨床投与経路は静脈内投与であることから、主要な毒性試験は、被験物質を静脈内投与（急速静注又は持続静脈内投与）した。

レミマゾラムで実施した毒性試験の一覧を、2.6.7.1 項（毒性試験一覧表）に示した。

レミマゾラムの急性毒性は弱かった。げっ歯類で最高 125 mg/kg、カニクイザル（最長 24 時間の静脈内持続投与）で最高 150 mg/kg まで投与した単回静脈内投与毒性試験で、過剰な薬理作用以外に重要な毒性所見は認められなかった。最小致死量はラットで 90～100 mg/kg の間、サルで 150 mg/kg であった。

ラット（急速静注）、カニクイザル（急速静注及び 12 時間までの静脈内持続投与）及びミニブタ（6 時間静脈内持続投与）を用いて反復投与毒性試験を実施した。マウス及びラットではレミマゾラムの代謝が著しく速いことから、本薬の毒性評価には非げっ歯類が最も適切な動物種と考えられた。

レミマゾラムの鎮静作用により被験物質の高用量・長時間投与は自発運動低下などの臨床症状及び摂餌量の減少を引き起こし、それが動物の全身状態に影響を及ぼす可能性が考えられる。ラットの 50 mg/kg 投与（急速静注）で死亡例がみられ、カニクイザルの 30 及び 60 mg/kg 投与（12 時間静脈内持続投与）で傾眠及び昏睡状態が認められた。これらのことから、反復投与毒性試験では忍容可能な最長時間の持続投与で、可能な最高用量が投与されたことが示される。

安全性薬理試験では、持続投与で QT 間隔が延長したが、急速静注では延長しなかった。妥当な説明として、この違いは QT 延長の原因として知られる体温低下により引き起こされた可能性が考えられる（2.4.3.3.2 及び 2.4.6 項）。レミマゾラムに QT 延長誘発能がないことは、安全性薬理試験で臨床試験の血漿中濃度より高い濃度まで、心臓興奮に影響を及ぼさなかったことから支持される。したがって、レミマゾラム又は CNS 7054 の心臓興奮に関する試験は必要ないと考えられた。

反復投与毒性試験で観察された大部分の全身的所見は、被験物質の過剰な薬理作用で説明可能である。

レミマゾラムの反復静脈内投与により投与部位に局所的な組織反応が引き起こされたが、その初期の変化は投与手法に伴う血管壁への機械的刺激に起因する。投与液中のレミマゾラム濃度に関して、血管サイズによって静脈内持続投与で 1～2 mg/mL、急速静注で 5～8 mg/mL を上回るレミマゾラムの濃度で、投与手法に起因する局所刺激作用が増強すると推測される。

反復投与毒性試験の結果、NOEL はラットで 20 mg/kg、カニクイザルで 5～50 mg/kg の間、ミニブタで 120 mg/kg と推定された。カニクイザルの NOEL における C_{max} は相当するヒトの C_{max} に達せず 0.5～0.8 倍であった（静脈内持続投与試験の遊離型濃度）。短期間の安全な使用法

2.6.6 毒性試験の概要文

レミマゾラムベシル酸塩

を想定して週 1 回で 4 週間、計 5 回静脈内持続投与を行ったサル試験では 5.9～7.2 倍の C_{max} であった。ミニブタでは C_{max} に関して 2.5～6.8 倍の曝露量比を示した。

サルの反復静脈内投与試験における NOAEL での遊離型濃度の AUC は、相当するヒトの AUC に対して急速静注で 1.2～1.5 倍、静脈内持続投与で 4.2～4.8 倍であった（サルの週 1 回 4 週間間歇投与では、ヒトの AUC の 11.8～14.5 倍であった）。ミニブタの静脈内持続投与では、雌雄及び 1 日目/28 日目を合算した AUC で、ヒトの AUC の 9.1～21.2 倍の範囲にあった。以上のように、ミニブタが最高の曝露量を示したため、毒性評価に最も適切な動物種と考えられた。

遺伝毒性試験（復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ TK 試験、コメット試験と組み合わせた *in vivo* 小核試験）を組み合わせて実施した結果、レミマゾラムに遺伝毒性はみられなかった。

MTD で実施した生殖発生毒性試験で、雌雄の受胎能及び生殖能パラメータに影響はみられなかった。ラット及びウサギの胚・胎児発生毒性試験では、胚・胎児の発育に影響はなかった。ウサギの拡張受胎能/交配試験では、交尾能及び受胎能に対する影響の NOAEL は 30 mg/kg であり、妊娠維持、胚・胎児発育、分娩、授乳期間中の母動物の哺育能、出生児の生存性・発育・成長、出生児の行動、接触刺激検査以外の行動検査に対する影響の NOAEL は 20 mg/kg であった。

不純物及び分解物について、遺伝毒性試験及びカニクイザルの 4 週間投与毒性試験（試験番号 [REDACTED]）を実施した。その結果、いずれの試験でも毒性所見は認められなかった。例外として、光曝露で形成される分解生成物 [REDACTED] [REDACTED] 適切な製剤保存条件では産生されない）は、ラットで致死作用がみられた。しかし、規格で規定されている含有濃度では危険性が強く否定される。

毒性試験に使用した動物種で、ヒトに特有なレミマゾラムの代謝物は見つかっていない。代謝物はレミマゾラムの毒性試験の中で十分に評価されていることから、CNS 7054 以外の各代謝物については特に毒性試験は実施していない。CNS 7054 を含む各種の不純物を含有するバッチを使用したカニクイザルの 4 週間投与毒性試験など、各種の安全性・毒性試験で CNS 7054 の安全性が確認された。

ラット及びサルを用いた試験に基づき、レミマゾラムは他のベンゾジアゼピン系薬と同様に、強化効果及び身体依存形成能を有することが示された。

デキストラン 40 について検討したラットの毒性試験での NOAEL は 600 mg/kg であり、公表されている一連のウサギの毒性試験と合致した。レミマゾラムを推奨される最大投与量で投与した場合のデキストラン 40 摂取量は 4g（体重 60 kg のヒトで 66.7 mg/kg）であり、少なくとも 9 倍の安全域が確保されている。

結論として、毒性試験により非臨床でのレミマゾラムの毒性プロファイルは十分に明らかにされており臨床使用上問題はないと判断される。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に掲載した。

2.6.6.11 参考文献

- 1) Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, et al.; A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J. Appl Toxicol.* 2001; 21: 15-23. (4.3.31)
- 2) Weber K, Mowat V, Hartmann E, Razinger T, Chevalier HJ, Blumbach K, et al. Pathology in Continuous Infusion Studies in Rodents and Non-Rodents and ITO (Infusion Technology Organisation)-Recommended Protocol for Tissue Sampling and Terminology for Procedure-Related Lesions. *J Toxicol Pathol.* 2011; 24(2): 113-24. (4.3.11)
- 3) Lilbert J and Burnett R. Main vascular changes seen in the saline controls of continuous infusion studies in the cynomolgus monkey over an eight-year period. *Toxicol Pathol.* 2003; 31(3): 273-80. (4.3.12)
- 4) Lilbert J and Mowat V. Common vascular changes in the jugular vein of saline controls in continuous infusion studies in the beagle dog. *Toxicol Pathol.* 2004; 32: 694-700. (4.3.13)
- 5) Perez A.Z., Azcarate J.M.A, Ojeda G.M., Sanz P.B., Zonzalez A.M. and Ratero J.A.F. Catheter-related central venous thrombosis in the course of an uncomplicated acute myocardial infarction: Diagnostic usefulness of echocardiography. *Rev Esp Cardiol.* 2002; 55: 446-8. (4.3.32)
- 6) Magni VC, Frost RA, Leung JWC, Cotton PB. A randomized comparison of midazolam and diazepam for sedation in upper gastrointestinal endoscopy. *Br J Anaesth.* 1983; 55: 1095-101. (4.3.14)
- 7) Graham CW, Pagano RR, Conner JT. Pain and clinical thrombophlebitis following intravenous diazepam and lorazepam. *Anaesthesia.* 1978; 33(2): 188-91. (4.3.15)
- 8) Hegarty JE and Dundee JW. Sequelae after the intravenous injection of three benzodiazepines – diazepam, lorazepam, and flunitrazepam. *British Medical Journal.* 1977; 2(6099): 1384-5. (4.3.16)
- 9) Jensen S, Hüttel MS, Olesen AS. Venous complications after i.v. administration of diazemuls (diazepam) and dormicum (midazolam). *Br J Anaesth.* 1981; 53(10): 1083-5. (4.3.17)
- 10) Hoggard J, Saad T, Schon D, Vesely TM, Royer T. A position statement from the American Society of Diagnostic and Interventional Nephrology Clinical Practice Committee and the Association for Vascular Access. *Seminars in Dialysis.* 2008; 21(2): 186-91. (4.3.33)
- 11) Lui KW, Yeow KM, Wan YL, Cheung YC, Ng KK, Tseng JH. Ultrasound guided puncture of the brachial artery for haemodialysis fistula angiography. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16: 98-101. (4.3.34)
- 12) Okudera Y, Matsunaga T, Sato M, Chida S, Hatakeyama K, Watanabe M, et al. The impact of high-frequency magnetic stimulation of peripheral nerves: muscle hardness, venous blood flow, and motor function of upper extremity in healthy subjects. *Biomedical Research (Tokyo).* 2015; 36(2): 81-7. (4.3.18)
- 13) Gözsy B and Kátó L; Investigations into the mechanism of dextran-induced edema in rats, *Canad J. Biochem Physiol.* 1963; 41(9): 1855-63. (4.3.22)
- 14) Kitazawa I, Ito S, Kagawa Y, Suehiro-Narita M, Hashizume N, Minamisawa Y, et al.; Effects of repeated intravenous administration of dextrans, water-soluble macromolecules, in rats. *J. Toxicol Pathol.* 2014; 27: 231-4. (4.3.23)

- 15) Angeli P, Guarda S, Fasolato S, Miola E, Craighero R, Piccolo DF, et al.; Switch therapy with ciprofloxacin vs. intravenous ceftazidime in the treatment of spontaneous bacterial peritonitis in patients with cirrhosis: similar efficacy at lower cost. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 23: 75-84. (4.3.35)
- 16) Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert Committee; Chronic Kidney Disease in Diabetes. *Can J Diabetes.* 2013; 37: S129-S136. (4.3.36)
- 17) Bagnis C, Beaufils H, Jacquiaud C, Adabra Y, Jouanneau C, Nahour GL, et al.; Erythropoietin enhances recovery after cisplatin-induced acute renal failure in the rat. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16(5): 932-8. (4.3.37)
- 18) Silkensen JR, Agarwal A, Nath KA, Manivel JC, Rosenberg ME.; Temporal induction of clusterin in cisplatin nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol.* 1997; 8(2): 302-5. (4.3.38)
- 19) Sinha V, Vence LM, Salahudeen AK; Urinary tubular protein-based biomarkers in the rodent model of cisplatin nephrotoxicity: a comparative analysis of serum creatinine, renal histology, and urinary KIM-1, NGAL, and NAG in the initiation, maintenance, and recovery phases of acute kidney injury. *J Investig Med.* 2013; 61(3): 564-8. (4.3.39)
- 20) Sugiyama A, Sun J, Nishinohara M, Fujita Y, Masuda A, Ochi T, et al.; Expressions of lipid oxidation markers, N(ε)-hexanoyl lysine and acrolein in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Vet Med Sci.* 2011; 73(6): 821-6. (4.3.40)
- 21) 丸岡久雄, 幸田昇一, 森峰雄, 川口義郎, 竹本義枝, 中川準子 他; デキストラン 40 製剤の毒性試験. *薬理と治療.* 1975; 3(2): 201-254. (4.3.24)
- 22) 株式会社大塚製薬工場: 医薬品インタビューフォーム 低分子デキストランL注, 2012年1月. (4.3.41)
- 23) 編集／財団法人日本薬剤師研修センター: 日本薬局方医薬品情報 2001 JPDI 2001. じほう 2001; p1229-1231. (4.3.42)
- 24) Falk V, Forkman B, Arfors KE; The permeability of the placenta to dextrans. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1967; 46:414-8. (4.3.43)

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

2.6.7 毒性試験概要表

ムンディファーマ株式会社

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

目次

	頁
2.6.7 毒性試験概要表	3
2.6.7.1 毒性試験：一覧表	3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表	12
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧	13
2.6.7.4 毒性試験：使用ロット	22
2.6.7.5 単回投与毒性試験	26
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験	28
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験	30
2.6.7.8 <i>In Vitro</i> 遺伝毒性試験	42
2.6.7.9 <i>In Vivo</i> 遺伝毒性試験	53
2.6.7.10 がん原性試験	56
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験	57
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	58
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験	65
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	69
2.6.7.15 新生児を用いた試験	74
2.6.7.16 局所刺激性試験	75
2.6.7.17 その他の毒性試験	78

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity	CD-1 Mouse	Intravenous (bolus)	NA	40/50/65/100/125	Yes	1	██████	4.2.3.1.1
	SD rat	Intravenous (bolus)	NA	0/1/2/5/10/20/50/100	No	10	██████	4.2.1.1.9
	SD rat	Intravenous (bolus)	NA	0/1/2/5/10/20/50/100	No	10	██████	4.2.1.1.10
	SD rat	Intravenous (bolus)	NA	0/0.5/1/2/5/10/20/40/60/80/90/100	No	8	██████	4.2.3.1.2
	SD rat	Oral (gavage)	NA	0/3/10/30	Yes	6	████	4.2.3.1.3
	NZW Rabbit	Oral (gavage)	NA	0/3/10/30	Yes	6	████	4.2.3.1.4
	Monkey Cynomolgus	Intravenous infusion	6 h	6/18/60/150	Yes	2	████████	4.2.3.1.5
	Monkey Cynomolgus	Intravenous infusion	24 h	0/30/60/120	Yes	2	████████	4.2.3.1.6

NA: not applicable.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity	Rat Sprague-Dawley	Intravenous bolus	1 week	0/15/ <u>30</u> /50	Yes	1	██████	4.2.3.2.1
	Rat Sprague-Dawley	Intravenous bolus	4 weeks	0/0/10/ <u>20</u> /30	Yes	1	██████	4.2.3.2.2
	Monkey Cynomolgus	Intravenous bolus	2 weeks High dose only	1/5/7.5/10/12.5/ 15/17.5/20	Yes	1	██████	4.2.3.2.3
	Monkey Cynomolgus	Intravenous infusion	2 weeks	0/6.75/9.0 11.25/ <u>22.5</u>	Yes	2	██████	4.2.3.2.4
	Monkey Cynomolgus	Intravenous infusion	4 weeks	0/12/ <u>30</u> /60	Yes	2	██████	4.2.3.2.5
	Monkey Cynomolgus	Intravenous infusion	4 weeks (dosing once/week)	0/12.5/25/ <u>50</u>	Yes	8	██████	4.2.3.2.6
	Monkey Cynomolgus	Intravenous bolus	4 weeks	0/ <u>5</u> /10/20	Yes	1	██████	4.2.3.2.7
	Monkey Cynomolgus	Intravenous infusion	5 days	1.6/3.2/6.4	No	2	██████	4.2.3.2.8
	Minipig	Intravenous infusion (4-6 h)	2 weeks High dose only	21/24/27/30/37.5/ 45/90/ <u>120</u>	No	6	██████	4.2.3.2.9
	Minipig	Intravenous infusion (6 h)	4 weeks	0/12/40/ <u>120</u>	Yes	6	██████	4.2.3.2.10
	Rat Sprague-Dawley	Intranasal and intravenous	3 days only high dose	2/4/8/16	No	9	██████	4.2.3.2.11
	Rat Sprague-Dawley	Intranasal and intravenous	4 days	0/2/4/8/ <u>16</u>	Yes	6	██████	4.2.3.2.12

For Repeat-Dose Toxicity, the highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Genotoxicity								
Ames Test	Bacterial cells	<i>In vitro</i>	NA/48 h	0/39.1–5000 µg/plate (Dose range finding) 0/156–5000 µg/plate (Main study)	No	3	██████	4.2.3.3.1.1
	Bacterial cells	<i>In vitro</i>	23 h (Dose range finding) 20min/66 h (Main study)	1.6 to 5000 µg/plate (Dose range finding) 0/8–5000 µg/plate (Main study)	Yes	4	██████	4.2.3.3.1.2
	Bacterial cells	<i>In vitro</i>	20min/48 h	5 to 5000 µg/plate (Dose range finding) 0/156–5000 µg/plate (Main study)	Yes	2	██████	4.2.3.3.1.3
Mouse Lymphoma Assay	L5178Y mouse lymphoma cells	<i>In vitro</i>	3h/24 h	0/25–900 µg/plate	Yes	4	██████	4.2.3.3.1.4
	L5178Y mouse lymphoma cells	<i>In vitro</i>	3h/24 h	0/200–800 µg/plate	Yes	2	██████	4.2.3.3.1.5
Micronucleus Study	Rat Wistar	Intravenous bolus	dosed twice within 24 h	0/10/20/30	Yes	4	██████	4.2.3.3.2.1

ND: not applicable.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Genotoxicity								
Micronucleus Study Including Comet Assay	Rat Sprague-Dawley	Intravenous infusion	3 days	37.5/75/150/300	No	5	██████████	4.2.3.3.2.2
	Rat Sprague-Dawley	Intravenous infusion	once daily for 3 days	0/0/18.8/37.5/75	Yes	5	██████████	4.2.3.3.2.3
Reproductive and Developmental Toxicity								
Effects on fertility and early embryonic development to implantation	Rat Sprague-Dawley	Intravenous bolus	M: 4 weeks prior to mating until 2 weeks after start of mating F: 2 weeks prior to mating through day G7	0/3/10/30	Yes	6	████	4.2.3.5.1.1
Extended Fertility/Mating study	Rabbit NZW	Intravenous infusion	F: G6 – G19 M: 4 weeks	15/20/25/30/37.5/45	No	9	████	4.2.3.5.1.2
	Rabbit NZW	Intravenous bolus + infusion	2 weeks prior to mating until weaning	0+0/5+7.5/5+15/5+25	Yes	9	████	4.2.3.5.1.3
Effects on embryo-fetal development	Rat Sprague-Dawley	Intravenous short term infusion	G6 – G17	0/3/10/30	No	6	████	4.2.3.5.2.1
	Rat Sprague-Dawley	Intravenous short term infusion	G6 – G17	0/3/10/30	Yes	6	████	4.2.3.5.2.2

G: Gestation day; L: Lactation day; ND: not applicable.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity								
Effects on embryo-fetal development	Rabbit Himalayan	Intravenous short term infusion	G6 – G20	0/2.5/5.0/7.5	No	6	■■■■■	4.2.3.5.2.3
	Rabbit Himalayan	Intravenous short term infusion	G6 – G20	0/1.25/2.5/5.0	Yes	6	■■■■■	4.2.3.5.2.4
Pre- and postnatal development, including maternal function	Rat CrI:CD(SD)	Intravenous bolus	G6 – L20	0/3/10/30	Yes	7	■■■■■	4.2.3.5.3.1

G: Gestation day; L: Lactation day

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Local Tolerance	Rat Sprague-Dawley	Single dose infusion or once daily for 5 days	6 h	0/0.4/0.8/1.2/1.6 mg/mL/kg/h	No	3	██████	4.2.3.6.1
	Rat Sprague-Dawley	i.v. infusion (6 h)	4 days (5 administrations)	0/80/200/400	No	3	██████	4.2.3.6.2
	Rat Sprague-Dawley	i.v. infusion	5 days	0/15/30/60/100/120/200/240	No	3	██████	4.2.3.6.3
	Rat Sprague-Dawley	i.v. infusion (6 h)	Single dose 5 days	15/30/60 30	No	3	██████	4.2.3.6.4
	Rat Sprague-Dawley	i.v. infusion (6 h)	5 days	0/0.05/0.1/0.2/0.5/1 mg/kg/h	No	3	██████	4.2.3.6.5
	Rabbit New Zealand White	Intravenous Paravenous	8 – 30 sec 9 – 23 sec	0.5 mL 0.3 mL	Yes	9	████	4.2.3.6.6
	Rabbit New Zealand White	Single dose infusion or once daily for 7 days	5 min	0/12 mg/kg/h	Yes	8	██████	4.2.3.6.7
	Pig Landrace cross	Single dose i.v. infusion or 6 bolus injections	1 h infusion or 6 bolus injections at 10 min intervals	0/1.5 mg/kg or 0/1.14 mg/kg total	Yes	9	████	4.2.3.6.8
	Monkey Cynomolgus	i.v. infusion	7 days	0/5/10/20	No	2	██████	4.2.3.6.9
	Monkey Cynomolgus	i.v. infusion (4 h)	Single dose	0/3.2/4.0/4.8/6.4	Yes	2	██████	4.2.3.6.10
	Monkey Cynomolgus	i.v. infusion (4 h)	Single dose	0/10	No	2	██████	4.2.3.6.11
	Göttingen minipig	Intranasal	Single dose	25 mg	No	6	████	4.2.3.6.12

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Other Toxicity Studies								
Active systemic anaphylaxis	Guinea Pig/ Hartley	i.p. (sensitization) i.v. (challenge)	NA (bolus)	0.2/1.0 0.4/2.0	Yes	8	██████	4.2.3.7.1.1
Phototoxicity	Balb/c 3T3 Cells	<i>In vitro</i>	50 min (5 J/cm ² UVA)	0/1.64 up to 1000 µg/mL	Yes	2	██████	4.2.3.7.1.2
Plasma Compatibility	Human blood	<i>In vitro</i>	1 h	5 mg/mL	Yes	9	████	4.2.3.7.2.1
	Human blood	<i>In vitro</i>	30 minutes	0.8 – 4.8 mg/mL	Yes	3	██████	4.2.3.7.2.2
	Human blood	<i>In vitro</i>	30 minutes	2.5 – 10 mg/mL	No	3	██████	4.2.3.7.2.3
	Rabbit erythrocytes	<i>In vitro</i>	3 h	2.5 mg/mL	Yes	8	██████	4.2.3.7.2.4
	Human plasma	<i>In vitro</i>	no data	0 – 2 mg/mL	No	9	████	4.2.3.7.2.5
	Pig plasma	<i>In vitro</i>	no data	0 – 2.5 mg/mL	No	9	████	4.2.3.7.2.6
Abuse liability dependence potential								
Drug discrimination	Rat/ Long-Evans	i.p.	Single dose	5/10/20	No	7	██████	4.2.3.7.4.1
	Rat/ Long-Evans	i.p.	NA	2.5/5/10/20	Yes	7	██████	4.2.3.7.4.2
Self-Administration	Rhesus monkey	i.v. bolus.	4 – 16 days/dose	0.008 – 0.125	Yes	7	██████	4.2.3.7.4.3
Physical Dependence	Rat/ Sprague-Dawley	i.v. bolus	4 weeks	10 – 30	No	12	██████	4.2.3.7.4.4
	Rat/ Sprague-Dawley	i.v. bolus	12 days	20 – 30/day	Yes	12	██████	4.2.3.7.4.5
	Rat/ Wistar (Han)	i.v. bolus + infusion	4 weeks	30 – 60/day	No	13	██████	4.2.3.7.4.6
	Cynomolgus monkey	i.v. infusion	4 weeks	0.5 – 1 mg/kg/h	Yes	7	██████	4.2.3.7.4.7

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: CNS 7054, [REDACTED], [REDACTED] and Dextran 40

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Metabolites	Rat/ Crl:CD (SD)	i.v. bolus	2 days	0/100/200	No	3	[REDACTED]	4.2.3.7.5.1
	Rat/ Crl:CD (SD)	i.v. bolus i.v. slow bolus	G6 – G10 G6	0/100/200 100/200	No	3	[REDACTED]	4.2.3.7.5.2
	Cynomolgus Monkeys	i.v. infusion	2 days 4 days	120 240	No	2	[REDACTED]	4.2.3.7.5.3
Impurities	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	<i>In vitro</i>	Ames Test	78.1/156/313/625/1250/ 2500/5000 µg/plate	Yes	2	[REDACTED]	4.2.3.7.6.1
	L5178Y mouse lymphoma cells	Mouse Lymphoma Assay	3 h and 24 h	402/482/579/ 694/833/1000/1200	Yes	2	[REDACTED]	4.2.3.7.6.2
	Rat/ Crl:CD (SD)	i.v. bolus	Single dose	0.2/0.5/1/2/5/ 10/20/50 mg/10 mL/kg	No	10	[REDACTED]	4.2.1.1.18
	Rat/ Crl:CD (SD)	i.v. bolus i.v. infusion	Single dose 1 h	0/1/5/20 20	No	3	[REDACTED]	4.2.3.7.6.3
	Rat/ Crl:CD (SD)	i.v. bolus i.v. infusion	Single dose 1 h	0/0.2/1/5/20 0/5/20	No	3	[REDACTED]	4.2.3.7.6.4
	Rat/ Crl:CD (SD)	i.v. bolus i.v. infusion	Single dose	0/20	No	3	[REDACTED]	4.2.3.7.6.5
	Rat/ Crl:CD (SD)	i.v. bolus i.v. infusion	Single dose	0/0.5/1/5/20 0/5/10/20	No	3	[REDACTED]	4.2.3.7.6.6
Excipients (Dextran 40)	Rat/ Crl:WI	i.v. infusion	4 weeks	0/200/600/2000	Yes	11	[REDACTED]	4.2.3.7.7.1
	Rat/ Crl:WI	i.v. infusion	4 weeks	0/200/600/2000	Yes	11	[REDACTED]	4.2.3.7.7.2
	Rat/ Crl:WI	i.v. infusion	7 days	0/200/2000	Yes	11	[REDACTED]	4.2.3.7.7.3

Testing Facilities

1	[REDACTED]
2	[REDACTED]
3	[REDACTED]
4	[REDACTED]
5	[REDACTED]
6	[REDACTED]
7	[REDACTED]
8	[REDACTED]

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

9	
10	
11	
12	
13	

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
28 day study	Sprague-Dawley Rat	Intravenous injection (bolus)	0/10/20/30	Yes	██████	4.2.3.2.2
Single Dose Toxicity	Cynomolgus Monkey	Intravenous infusion (24 h)	0/30/60/120	Yes	██████	4.2.3.1.6
Two week study	Cynomolgus Monkey	intravenous infusion (9 h/day)	0/6.75/9.0/ 11.25/22.5	Yes	██████	4.2.3.2.4
Four week study	Cynomolgus Monkey	Intravenous infusion (12 h/day)	0/12/30/60	Yes	██████	4.2.3.2.5
Four week study	Cynomolgus Monkey	Intravenous infusion (2 h/day) once weekly	0/12.5/25/50	Yes	██████	4.2.3.2.6
Four week study	Cynomolgus Monkey	Intravenous injection (bolus)	0/5/10/20	Yes	██████	4.2.3.2.7
Four week study	Minipig	Intravenous infusion (6 h/dosing)	0/12/40/120	Yes	████	4.2.3.2.10
Embryotoxicity study	Sprague-Dawley Rat	Intravenous short term infusion	0/3/10/30	Yes	████	4.2.3.5.2.2
Embryotoxicity study	Himalayan Rabbit	Intravenous short term infusion	0/1.25/ 2.5/5.0	Yes	████	4.2.3.5.2.4
Extendet Fertility Study	NZW Rabbit	Intravenous, bolus + infusion (up to 4 h)	0/12.5/20/30	Yes	████	4.2.3.5.1.3
Intranasal administration	Minipig	Administration of the lyophilisate (4 times)	25 mg	No	████	4.2.3.6.12
	Sprague-Dawley Rat	Intranasal via pipette and intravenous administration (once for 4 days)	0/2/4/8/16	Yes	████	4.2.3.2.12

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Table 2.6.7.3A: Toxicokinetic Parameters of Remimazolam and the Metabolite CNS 7054 after Administration (i.v., bolus) over 28 days in Rats

(); Group mean values)

Test Article: Remimazolam

Time	Anlyte	Dose (mg/kg)	Sex	C ₀ (ng/mL)	C _{max} (ng/mL)	AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	λ ₂ (1/h)	t _{1/2} (h)
Day 1	Remimazolam	10	Female	NC ^a	0	0	NC ^a	NC ^a
		10	Male	NC ^a	0	0	NC ^a	NC ^a
		20	Female	17.2	6.83	0.698 ^e	NC ^b	NC ^b
		20	Male	4.97	3.90	0.350 ^e	NC ^b	NC ^b
		30	Female	46.1	19.4	1.67 ^e	NC ^b	NC ^b
		30	Male	131	27.6	3.57 ^e	NC ^b	NC ^b
	CNS 7054	10	Female	-	20000	14100	NC ^b	NC ^b
		10	Male	-	22800	9370	2.99 ^f	0.232 ^f
		20	Female	-	44800	32400	0.522	1.33
		20	Male	-	49700	46600	0.456	1.52
		30	Female	-	66000	75000	0.549	1.26
		30	Male	-	67900	82900	0.300	2.31
Week 4	Remimazolam	10	Female	9.24 ^d	9.24	0.633 ^e	NC ^b	NC ^b
		10	Male	2.49 ^d	2.54	0.208 ^e	NC ^b	NC ^b
		20	Female	950	16.9	24.5 ^e	NC ^b	NC ^b
		20	Male	NC ^c	19.1	NC ^c	NC ^c	NC ^c
		30	Female	119	4.19	3.65 ^e	NC ^b	NC ^b
		30	Male	167	15.0	4.13 ^e	NC ^b	NC ^b
	CNS 7054	10	Female	-	22900	22500	0.574	1.21 ^g
		10	Male	-	22500	28700	0.545	1.27 ^g
		20	Female	-	51800	43000	0.546	1.27 ^g
		20	Male	-	50000	77800	0.518	1.34 ^g
		30	Female	-	70200	85400	0.571	1.21 ^g
		30	Male	-	77700	144000	0.582	1.19 ^g

NC: Not calculated.

a: All Remimazolam plasma concentrations were below the LLQ on Day 1. b: A mono-exponential terminal decline could not be unambiguously identified.

c: Only one measurable Remimazolam plasma concentration. d: C₀ could not be calculated by back-extrapolation of the first two data points therefore set to the first observed plasma concentration. e: AUC estimates based on ≤ 3 measurable concentrations therefore considered unreliable. f: This t_{1/2} estimate should be treated with caution as plasma concentrations were only measurable up to 1 hr post-dose. g: t_{1/2} estimate based on data up to 12 hr only.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

Table 2.6.7.3B: Mean TK parameters of remimazolam and CNS 7054 in cynomolgus monkey plasma (); Mean $\pm$ S.D.)

Test Article: Remimazolam

Sex	Male			Female		
Dose (mg/kg)	30	60	120	30	60	120
Remimazolam						
C_{max} (ng/mL)	669 $\pm$ 58	1250 $\pm$ 270	2370 $\pm$ 100	749 $\pm$ 76	1540 $\pm$ 750	2700 $\pm$ 420
AUC₀₋₄₈ (ng•h/mL)	14500 $\pm$ 2300	29000 $\pm$ 5800	48800 $\pm$ 3300	16300 $\pm$ 600	30600 $\pm$ 10200	55300 $\pm$ 4900
CNS 7054						
C_{max} (ng/mL)	2490 $\pm$ 370	7010 $\pm$ 3210	18300 $\pm$ 7600	2580 $\pm$ 1720	3790 $\pm$ 1480	13600 $\pm$ 3700
AUC₀₋₄₈ (ng•h/mL)	48100 $\pm$ 6300	128000 $\pm$ 43000	312000 $\pm$ 92000	52100 $\pm$ 26400	88900 $\pm$ 37700	236000 $\pm$ 47000

Table 2.6.7.3C: Toxicokinetic Parameters of Remimazolam and CNS 7054 after Administration of Remimazolam by infusion over 14 days in Cynomolgus Monkeys (); Group mean values)

Test Article: Remimazolam

Sex	Male				Female			
Dose (mg/kg/day)	6.75	9.0	11.25	22.5	6.75	9.0	11.25	22.5
Remimazolam (Day 1)								
C_{max} (ng/mL)	406	507	591	1290	340	435	582	1270
AUC₀₋₂₄ (ng•h/mL)	3500	4370	5510	10900	2800	3550	4980	10800
Remimazolam (Day 13)								
C_{max} (ng/mL)	422	574	609	1240	280	433	560	1170
AUC₀₋₂₄ (ng•h/mL)	3670	4840	5350	10400	2680	3730	4770	10400
CNS 7054 (Day 1)								
C_{max} (ng/mL)	1020	1310	1850	3990	919	1050	1730	3310
AUC₀₋₂₄ (ng•h/mL)	11100	13700	18200	39700	8680	10500	16600	31500
CNS 7054 (Day 13)								
C_{max} (ng/mL)	1290	1940	2200	5420	1060	1460	1700	4170
AUC₀₋₂₄ (ng•h/mL)	13300	19300	22900	53500	11200	14300	17700	42100

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

Table 2.6.7.3D: Toxicokinetic Parameters of Remimazolam and CNS 7054 after Administration of Remimazolam by infusion over 4 weeks to Cynomolgus Monkeys (); Group mean values)

Test Article: Remimazolam

Sex	Male			Female		
Dose (mg/kg)	12	30	60	12	30	60
Remimazolam (Day 0)						
C _{max} (ng/mL)	364	983	2220	374	1040	2160
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	4040	11200	24400	3920	11500	24800
Remimazolam (Day 27)						
C _{max} (ng/mL)	448	1000	1690	343	845	1600
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	4830	11100	19800	4050	10000	19100
CNS 7054 (Day 0)						
C _{max} (ng/mL)	1090	3550	7240	1160	4170	7670
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	10700	41100	83000	11300	42600	80700
CNS 7054 (Day 27)						
C _{max} (ng/mL)	1470	3640	6030	753	2710	4040
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	14800	40100	65500	9800	32500	49500

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

Table 2.6.7.3E: Toxicokinetic Parameters of Remimazolam and CNS 7054 after Administration of Remimazolam by infusion over 4 weeks to Cynomolgus Monkeys (); Group mean values)

Test Article: Remimazolam

Sex	Male				Female			
Dose (mg/kg)	12.5	25	50	25 *	12.5	25	50	25 *
Remimazolam (Day 1)								
C _{max} (ng/mL)	4573	8856	21012	8588	3954	6051	14221	6938
AUC _{0-26.083} (ng•h/mL)	12533	24646	48622	24594	11586	18474	44447	18967
t _{1/2} (h)	0.87	1.01	1.10	0.87	0.95	1.20	1.38	0.96
t _{max} (h)	0.58	0.08	0.58	0.08	1.08	1.08	0.58	0.58
Remimazolam (Day 29)								
C _{max} (ng/mL)	3913	7031	12225	6630	3173	5187	10105	5846
AUC _{0-26.083} (ng•h/mL)	10018	18784	34428	17421	8083	13406	28100	12715
t _{1/2} (h)	0.74	1.06	0.96	1.08	0.94	0.93	1.17	1.00
t _{max} (h)	0.08	0.58	1.08	0.08	0.58	0.08	0.71	0.08
CNS 7054 (Day 1)								
C _{max} (ng/mL)	13049	39126	108107	29810	13883	34198	73278	33382
AUC _{0-26.083} (ng•h/mL)	46501	131482	515384	99221	43897	112381	286167	110711
t _{1/2} (h)	1.37	2.63	2.46	1.31	2.15	1.97	2.59	1.05
t _{max} (h)	2.08	2.33	2.58	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08
CNS 7054 (Day 29)								
C _{max} (ng/mL)	7346	27979	67358	25396	9572	24818	45998	23877
AUC _{0-26.083} (ng•h/mL)	22476	90119	266800	96242	28436	85257	159811	83784
t _{1/2} (h)	1.78	1.85	2.21	2.11	1.99	2.52	2.41	1.85
t _{max} (h)	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08	2.08

* Original reference product ()

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

Table 2.6.7.3F: Toxicokinetic Parameters of Remimazolam and CNS 7054 after Administration of Remimazolam (i.v., bolus) over 4 weeks to Cynomolgus Monkeys (); Group mean values)

Test Article: Remimazolam

Sex	Male			Female		
Dose (mg/kg)	5	10	20	5	10	20
Remimazolam (Day 1)						
C _{max} (ng/mL)	3660	6490	12300	3490	6150	12000
AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	3180	6350	13800	3450	5630	12900
t _{1/2} (h)	0.683	1.02	0.620	0.861	0.811	NC ^a
Remimazolam (Week 4)						
C _{max} (ng/mL)	3810	6740	10000	4020	6490	11700
AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	2750	5730	12800	3420	4920	11100
t _{1/2} (h)	0.698	0.820	0.980	0.842	0.795	0.874
CNS 7054 (Day 1)						
C _{max} (ng/mL)	7840	12100	27900	7140	13900	30500
AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	17100	22200	56300	12300	31300	77100
t _{1/2} (h)	1.57	1.41	1.33	NC ^a	1.35	NC ^a
t _{max} (h)	0.333 ^b	0.083 ^b	0.333 ^b	0.099 ^b	0.083 ^b	0.333 ^b
CNS 7054 (Week 4)						
C _{max} (ng/mL)	7220	14000	27600	7670	17000	29700
AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)	15500	20600	56700	17300	35700	74700
t _{1/2} (h)	NC ^a	1.55	3.80 ^c	NC ^a	1.32	3.70 ^c
t _{max} (h)	0.333 ^b	0.083 ^b	0.333 ^b	0.083 ^b	0.083 ^b	0.333 ^d

NC: Not calculated

a: mono-exponential terminal decline could not be unambiguously identified

b: Range 0.083 – 0.33

c: t_{1/2}(0-24)

d: Range 0.33 – 0.35

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

Table 2.6.7.3G: Toxicokinetic Parameters of Remimazolam and CNS 7054 after Administration of Remimazolam (i.v., 6h infusion) over 4 Weeks to Göttingen Minipig (); group mean values)

Test Article: Remimazolam

Sex	Male			Female		
Dose (mg/kg)	12	40	120	12	40	120
Remimazolam						
Day 1						
C _{max} (ng/mL)	461	3756	12756	1376	1727	4618
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	2692	17175	55543	4413	9297	23682
Day 28						
C _{max} (ng/mL)	497	2286	9879	662	1398	6385
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	2587	12583	44618	3419	7915	30013
CNS 7054						
Day 1						
C _{max} (ng/mL)	1944	6044	26486	1872	6198	15735
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	7574	32923	308317	8907	34499	77576
Day 28						
C _{max} (ng/mL)	1315	4892	27306	1432	4258	18716
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	9749	28614	386514	8156	24307	103318

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

Table 2.6.7.3H: Toxicokinetic Parameters of Remimazolam and CNS 7054 in the Embryo-fetal Development Study in Rats (); group mean values)

Test Article: Remimazolam

Dose (mg/kg/day)	3	10	30
Remimazolam (Gestation day 6)			
C ₀ (ng/mL)	NC	2.92	4489.78
AUC _{0-0.18} (ng•h/mL)	NC	1.92	178.83
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	NC	2.00	179.71
t _{1/2} (h)	NC	0.03	0.03
Remimazolam (Gestation day 17)			
C ₀ (ng/mL)	12.44	69.40	279.28
AUC _{0-0.18} (ng•h/mL)	6.25	3.31 ^{a)}	41.00
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	7.47	NC	64.35
t _{1/2} (h)	0.05	0.07	0.10
CNS 7054 (Gestation day 6)			
C _{max} (ng/mL)	7658.00	31020.33	89879.00
AUC _{0-0.18} (ng•h/mL)	1032.63	4147.24	13243.44
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	2455.14	9539.65	217275.82
t _{1/2} (h)	0.21	0.20	1.72
CNS 7054 (Gestation day 17)			
C _{max} (ng/mL)	7318.00	26489.00	76690.00
AUC _{0-0.18} (ng•h/mL)	982.99	3742.34	11566.51
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	1761.38	11018.54	40634.45
t _{1/2} (h)	0.13	0.27	0.33

NC: Not calculated.

a: AUC_{0-0.18} (Area under the data, 0.18 h = 11 min)

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

Table 2.6.7.3I: Toxicokinetic Parameters of Remimazolam and CNS 7054 in the Embryo-fetal Development Study in Rabbits (); group mean values)

Test Article: Remimazolam

Dose (mg/kg/day)	1.25	2.5	5.0
Remimazolam (Gestation day 6)			
C ₀ (ng/mL)	1496.155	2976.982	4319.183
AUC ₀₋₁ (ng•h/mL)	507.081	1069.306	1605.595
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	576.494	1341.576	1767.320
t _{1/2} (h)	0.337	0.463	0.287
Remimazolam (Gestation day 20)			
C ₀ (ng/mL)	1977.795	3326.137	5535.251
AUC ₀₋₁ (ng•h/mL)	645.333	1315.800	2027.516
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	701.317	1530.394	2272.032
t _{1/2} (h)	0.280	0.357	0.317
CNS 7054 (Gestation day 6)			
C _{max} (ng/mL)	1771.2	2533.4	9436.5
AUC ₀₋₁ (ng•h/mL)	1161.965	1942.924	6825.174
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	1855.872	4161.857	10578.685
t _{1/2} (h)	0.603	0.940	0.600
CNS 7054 (Gestation day 20)			
C _{max} (ng/mL)	1646.4	3331.3	10792.1
AUC ₀₋₁ (ng•h/mL)	1043.268	2159.716	6769.119
AUC _{0-∞} (ng•h/mL)	1511.467	3399.596	9364.372
t _{1/2} (h)	0.513	0.560	0.480

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

Table 2.6.7.3J: Toxicokinetic Parameters of Remimazolam and CNS 7054 in a Extended Fertility/Mating Study in Rabbits (■■■■■, group mean values)

Test Article: Remimazolam

	Remimazolam			CNS 7054		
Dose (mg/kg/day)	12.5	20	30	12.5	20	30
Pre-mating Period						
C _{max} (ng/mL)	5200	7330	4420	8910	10800	14000
t _{max} (h)	0.033	0.033	0.033	1.2	2.4	4
AUC _{0-t} (ng•h/mL)	6270	7430	11600	19900	21500	55800
CL (mL/h/kg)	1990	2690	2600	NA	NA	NA
Gestation Period						
C _{max} (ng/mL)	4740	4490	NR	12900	14700	NR
t _{max} (h)	0.033	0.033	NR	1.2	2.4	NR
AUC _{0-t} (ng•h/mL)	5320	8290	NR	25900	44300	NR
CL (mL/h/kg)	2360	2560	NR	NA	NA	NA
Lactation Period						
C _{max} (ng/mL)	21300	15400	NR	9950	10200	NR
t _{max} (h)	0.033	0.033	NR	1.2	0.75	NR
AUC _{0-t} (ng•h/mL)	11300	10800	NR	16600	28400	NR
CL (mL/h/kg)	1110	2050	NR	NA	NA	NA

NA: Not applicable, NR: No result.

Table 2.6.7.3K: Toxicokinetic Parameters of CNS 7054 Following Intranasal Administration of Remimazolam in Rats. (■■■■■, group mean values)

Test Article: Remimazolam

Dose, mg/kg (mg/animal)	4 (1) (i.n.)	8 (2) (i.n.)	16 (4) (i.n.)	2 (0.5) (i.v.)	16 (4) (i.n.)	2 (0.5) (i.v.)
Test day	Day 1			Day 4		
C _{max} (ng/mL)	574.50	1442.40	2443.40	4188.60	1844.00	4311.40
t _{max} (min)	8.8	8.0	4.6	NA	6.4	NA
t _{1/2} (min)	72.62	23.81	47.26	17.18	87.57	15.16
AUC _{last} (ng•min/mL)	10444.25	25339.60	47675.70	67026.94	42955.00	64238.27
Bioavailability _(0-t last) (%)	7.8	9.5	8.9	100	8.4	100

i.n.: Intranasal administration, i.v.: Intravenous administration, NA: Not applicable.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット

Test Article: Remimazolam

Test Item Batch	Purity (%)	Specified Impurities	Study Number	Type of Study
PROPOSED SPECIFICATION:	> 95			
SOL12621/5	≥95.0%		██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████	Single Dose, Monkey Ames Test Mouse Lymphoma Assay Micronucleus Test, Rat Local Tolerance, Rat Repeat Dose, Monkey Local Tolerance, Rat Local Tolerance, Rat Local Tolerance, Rat Local Tolerance, Rat Hemolysis, Human Blood Single Dose, Rat
98.5% SOL12621/5 (S-enantiomer) 1.5% AW-268-02-01 (R-enantiomer)			██████████ ██████████	Single Dose, Mouse Repeat Dose, Rat
SOL12621/6	≥95.0%		██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████	Repeat Dose, Monkey Pre-postnatal Study, Rat Repeat Dose, Monkey Local Tol., Single Dose, Monkey Local Tolerance 7day, Monkey Local Tol., Single Dose, Monkey Phototoxicity Hemolysis, Human Blood Single Dose, Rat Drug Discrimination Prelim., Rat
TFM110113-1	98.4%		██████████	Single Dose, Monkey

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット（続き）

Test Article: Remimazolam

Test Item Batch	Purity (%)	Specified Impurities	Study Number	Type of Study
██████████	94.6%	██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████	██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████	Repeat Dose, Monkey Mouse Lymphoma Assay Micronucleus/Comet Assay, Rat Micronucleus/Comet Assay DRF, Rat Ames Reverse Mutation, Bacteria Impurity, Single Dose, Rat
10201238	100.1%		██████████	Repeat Dose, Minipig
11084	98.7%		██████████ ██████████ ██████████	Fertility Study Embryo-Fetal Dev Study, Rabbit Embryo-Fetal Dev Study, Rat
10201249	99.6%		██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████	Extended Fertility/Mating Study, Rabbit Extended Fertility/Mating DRF Study, Rabbit Physical Dependence, Rat Physical Dependence, Rat Physical Dependence, Rat
S6130401	106.2%		██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████	Repeat Dose, Monkey Single Dose, Rat Antigenicity, Guinea Pig Local tolerance, Rabbit Hemolysis, Rabbit

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット（続き）

Test Article: Remimazolam

Test Item Batch	Purity (%)	Specified Impurities	Study Number	Type of Study
AE-123-01			██████	Ames Test
025/CNS/27	98.1%		██████	Local Tolerance, Rabbit
P02308			██████ ██████ ██████ ██████ ██████	Local Tolerance, Pig Embryo-Fetal Dev DRF Study, Rat Embryo-Fetal Dev DRF Study, Rabbit Plasma Compatibility, Human Plasma Plasma Compatibility, Pig Plasma
TT284	99.1%		██████ ██████ ██████	Intranasal Repeat Dose, Rat Intranasal Local Tolerance, Minipig Oral Single Dose, Rabbit
TT280	95.5%		██████ ██████	Oral Single Dose, Rat Intranasal Repeat Dose DRF, Rat
LJC-105-004-1	97.5%		██████ ██████	Repeat Dose, Rat Repeat Dose, Monkey
10201253	98.8%		██████	Repeat Dose DRF, Minipig
008/CNS/07	100%		██████	Plasma Compatibility, Human Plasma
29000040	99.7%		██████ ██████ ██████	Drug Discrimination, Rat Self-Administration, Monkey Physical Dependence, Monkey
CNS2501A	96.0%		██████	Repeat Dose, Monkey

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット（続き）

Test Article: CNS 7054, [REDACTED], [REDACTED] and Dextran 40

Test Item Batch	Purity (%)	Specified Impurities	Study Number	Type of Study
Metabolites				
TMS120626-1	99.9%		[REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]	Metabolite, Rat Metabolite Embryo-fetal DRF Study, Rat Metabolite, Repeat Dose DRF Study, Monkey
Impurities				
[REDACTED] [REDACTED]	98.0%		[REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]	Impurity, Single Dose, Rat Impurity, Single Dose, Rat Impurity, Single Dose, Rat Impurity, Single Dose, Rat Impurity, Single Dose, Rat
[REDACTED] [REDACTED]	97.6%		[REDACTED] [REDACTED]	Impurity, Ames Test Impurity, Mouse Lymphoma Assay
Dextran 40				
DC508			[REDACTED]	Dextran 40, Repeat Dose, Rat
DF505			[REDACTED] [REDACTED]	Dextran 40, Repeat Dose TK Study, Rat Dextran 40, Renal Impaired, Rat

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: Remimazolam

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Mouse CD-1	Intravenous (bolus) 25.86% w/v β-Cyclodextrin (Captisol®)	40/50/65/ 100/125	5M / 5F	125	> 125	Symptoms related to the sedative effect of the test compound	██████	4.2.3.1.1
SD rat	Intravenous (bolus) Physiological saline, pH 3.3	0/1/2/5/10/ 20/50/100	10M	50	100	Remimazolam showed dose-dependent sedative effects.	██████	4.2.1.1.9
SD rat	Intravenous (bolus) Physiological saline, pH 3.3	0/0.1/0.2/0.5/ 1/2/5/10/20/ 50/100	10M	50	100	Remimazolam showed dose-dependent sedative effects. All animals died at the highest dose (100 mg/kg).	██████	4.2.1.1.10
SD rat	Intravenous (bolus) Physiological saline, pH 3.3	0/0.5/1/2/5/ 10/20/40/60/ 80/90/100	12M (Group 1-6) 6M / 6F (Group 7-11)	Male: 80 Female: 100	Male: 90 Female: > 100	Sedative effect of remimazolam was better than midazolam. Compared with midazolam, remimazolam was rapider onset and shorter duration of action.	██████	4.2.3.1.2
SD rat	Oral (Water for injection)	0/3/10/30	15M / 15F	30	> 30	none	██████	4.2.3.1.3
NZW Rabbit	Oral (Water for injection)	0/3/10/30	5M / 5F	30	> 30	none	██████	4.2.3.1.4
Monkey Cynomolgus	Intravenous (6 h infusion) (Physiological saline)	6/18/60/150	2M	150	> 150	Clinical signs related to the sedative effect of the test compound. Reactive lesions at the injection site	██████	4.2.3.1.5

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Test Article: Remimazolam

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Monkey Cynomolgus	Intravenous (24 h infusion) (Physiological saline)	0/30/60/120	3M / 3F	120	> 120	Clinical signs related to the sedative effect of the test compound. Reactive lesions at the injection site		4.2.3.1.6

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Remimazolam

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing (mg/kg)	Doses (mg/kg)	Gender No./Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat (Sprague-Dawley)	Intravenous (bolus) Vehicle: Captisol®	7 days	0/15/30/50	4M / 4F	MTD: 30	Findings associated to the pharmacological profile of the test compound. Lethality at 50 mg/kg	██████	4.2.3.2.1
Monkey (Cynomolgus)	Intravenous (infusion) Vehicle: Physiologi. saline	4 week (once a week)	0/12.5/25/50	4M/4F	50	No clear systemic toxicity reactions were observed other than observable muscle relaxation and closure of eyelids, drop in temperature, decelerated heart rate, prolonged Q-T interval and blood vessel irritant reaction. Basic safe dosage is 50 mg/kg.	██████	4.2.3.2.6
Monkey (Cynomolgus)	Intravenous (infusion 4 h/day) Vehicle: Physiolog. saline	5 days	1.6/3.2 6.4	3M	3.2	Vascular reaction at the injection sites (6.4 mg/kg)	██████	4.2.3.2.8
Monkey (Cynomolgus)	Intravenous (bolus) Vehicle: Captisol®	14 days High dose only	1/5/7.5/10/12.5/ 15/17.5/20	1M / 1F	MTD: 20	Findings associated to the pharmacological profile of the test compound.	██████	4.2.3.2.3

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Remimazolam

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing (mg/kg)	Doses (mg/kg)	Gender No./Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Minipig (Göttingen)	Intravenous (infusion 4-6 h) Vehicle: 26.4 g lactose monohydrate 39.6 g dextran 40 ad 1000 mL sodium chloride 0.9%	14 days only high dose	21/24/27/30/ 37.5/45/90/ 120	2M / 2F	120	Clinical signs associated to the pharmacology of the test compound. 120 mg/kg indicated the highest feasible dose.	■■■■■	4.2.3.2.9
Rat (Sprague-Dawley)	WFI alone or with 1% Chitosan or 20%PEG	3 days only high dose	4/8/16	6M	MFD:16	WFI as a vehicle had favourable physical properties, compared with Chitosan and PEG, was well tolerated, and s chosen as a preferred formulation.	■■■■■	4.2.3.2.11

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A

Repeat Dose Toxicity

Report [REDACTED]

Report Title: Four Week Intravenous (Bolus) Repeat Dose Toxicity Study in the Rat with a 2 Week Recovery Period

Test Article: Remimazolam

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.2.2

GLP Compliance: Yes

Species/Strain

Rat/Sprague-Dawley

Duration of Dosing

4 weeks

Initial Age

5 weeks

Duration of Postdose

2 weeks

Date of First Dose

[REDACTED]

Method of Administration

i.v. bolus (once daily)

Vehicle/Formulation

25.86% w/v β-Cyclodextrin (Captisol®) in pH 3.8, 25 mmol/L citrate buffer solution

Special Features

No Observed Adverse Effect Level: 20 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Saline control)		0 (Vehicle control)		10		20		30	
Number of Animals ¹	M:15	F:15	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:15	F:15
Toxicokinetics (Week 4):										
Mean C _{max} (ng/mL)					2.54	9.24	19.1	16.9	15	4.19
Mean AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL) ²					0.208	0.633	NC	24.5	4.13	3.65
t _{1/2} (hr) ³					NC	NC	NC	NC	NC	NC

1: Five males and five females were assigned to the controls and the 30 mg/kg groups to investigate the reversibility of toxicity during a 2-week recovery period.

2: AUC estimates based on 3 or less measurable concentrations, therefore considered unreliable.

3: Not calculated; a mono-exponential terminal decline could not be unambiguously identified or only one measurable remimazolam plasma concentration.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.7A: Remimazolam 4-Week Repeated Intravenous (Bolus) Study in Sprague-Dawley Rats (continued)

Study Number:

Daily Dose (mg/kg)	0 (Saline control)		0 (Vehicle control)		10		20		30	
Number of Animals	M:15	F:15	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:15	F:15
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0
Moribund ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (Day 13)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations:										
Sedative effects	-	-	-	-	P	P	P	P	P	P
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis										
Blood pigment [#]	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++
Protein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑ [#]
Hematology										
Neutrophils [#]	-	-	-	-	↑	-	↑	-	↑	-
Monocytes [#]	-	-	-	-	↑*	↑*	↑*	↑*	↑***	↑*
Reticulocytes [#]	-	-	-	-	-	-	↑	↑*	↑	↑**
Red blood cells [#]	-	-	-	↓***§	-	↓	-	↓	-	↓
Blood Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights										
Kidney weights (relativ.)	-	-	↑***§	-	-	-	-	-	-	↑*§§
Histopathology										
Local effects (Inject.-site)	+	+	+ ^{#p}	+ ^{#p}	+	+	+	+	++ ^{#p}	++ ^{#p}
Renal tubular vacuolation	-	-	+/ ⁺⁺⁺ ^{#p}	+/ ⁺⁺⁺ ^{#p}	+/ ⁺⁺⁺	+	+	+/ ⁺⁺⁺	+/ ⁺⁺⁺ ^{#p}	+/ ⁺⁺⁺ ^{#p}
Foamy macroph. (spleen)	-	-	+ [#]	+ [#]	-	+	+	+	+ [#]	+ [#]

-: No noteworthy findings, +: Mild, ++: Moderate, P: present, *: p < 0.05, **: p < 0.01, ***: p < 0.001, ↓/↑: decrease / increase, #: Reversible following recovery,

#p: Partially reversible following recovery, §: vs saline, §§: vs captisol vehicle control.

4: Two animals were euthanized due to injuries following orbital blood sampling. One death is related to respiratory suppression in the course of the sedative effect of the test compound.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.7B

Repeat Dose Toxicity

Report: [REDACTED]

Report Title: ONO-2745BS のカニクイザルにおける 2 週間反復静脈内持続投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.2.4

GLP Compliance: Yes

Species/Strain

Cynomolgus monkey (purpose bred)

Duration of Dosing

2 weeks

Initial Age

4 to 6 years

Duration of Postdose

2 weeks

Date of First Dose

[REDACTED]

Method of Administration

i.v. infusion (9 h/day)

Vehicle/Formulation

Physiological saline/Injection solution

No Observed Adverse Effect Level: 22.5 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		6.75		9.0		11.25		22.5	
Number of Animals ⁵	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Toxicokinetics (Day 14):										
Mean C _{max} (ng/mL)			422	280	574	433	609	560	1240	1170
Mean AUC (ng•h/mL)			3670	2680	4840	3730	5350	4770	10400	10400
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (Day 13) ⁶	4.59 kg	3.35 kg	+0.98%	-4.15%	-0.54%	+2.33%	-1.22%	+2.57%	+0.96%	+3.16%
Body weight gain D-1 vs day 13 per group (g)	+144	+80	+177	-93	+140	+47	+148	+96	+254	+96
Food Consumption (g) during treatment period	1506	1354	1512	1074*	1512	1280	1505	1391	1510	1389

*: p < 0.05.

5: Two males and two females were assigned to the 0 (control), 11.25, and 22.5 mg/kg groups to investigate the reversibility of toxicity during a 2-week recovery period.

6: At the end of the treatment period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.7B: 2-Week Repeated Intravenous Infusion Study in Cynomolgus Monkeys (continued)

Study Number: XXXXXXXXXX

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		6.75		9.0		11.25		22.5	
Number of Animals ⁷	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Noteworthy Findings										
Clinical Observations:										
Sedative effects	-	-	+	+	+	+	++	++	++	++
Body Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	Reactive lesions at the injection sites due to physical damage from the implanted catheter									

-: No noteworthy findings, +: Mild, ++: Moderate.

⁷: Two males and two females were assigned to the 0 (control), 11.25, and 22.5 mg/kg groups to investigate the reversibility of toxicity during a 2-week recovery period.

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.7C

Repeat Dose Toxicity

Report: [REDACTED]

Report Title: ONO-2745BS のカニクイザルにおける 4 週間反復静脈内持続投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 **Test Article:** Remimazolam

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.2.5

GLP Compliance: Yes

Species/Strain Cynomolgus monkey (purpose bred)

Duration of Dosing 4 weeks

Initial Age 3 to 6 years

Duration of Postdose 4 weeks

Date of First Dose [REDACTED]

Method of Administration i.v. infusion (12 h/day)

Special Features None

Vehicle/Formulation Physiological saline

No Observed Adverse Effect Level: 30 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		12		30		60	
Number of Animals ⁸	M:6	F:6	M:4	F:3	M:6	F:6	M:6	F:5
Toxicokinetics (Week 4):								
Mean C _{max} (ng/mL)			448	343	1000	845	1690	1600
Mean AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)			4830	4050	11100	10000	19800	19100
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations:								
Sedative effects	-	-	+	+	++	++	++	++

8: Two males and two females of the controls and the medium and high dose groups were evaluated at the end of the 4-week recovery period. One female of the low dose group and one female of the high dose group were excluded from the evaluation due to technical problems concerning the catheter implantation.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.7C: Remimazolam 4-Week Repeated Intravenous (Infusion) Study in Cynomolgus Monkeys (continued)

Study Number: XXXXXXXXXX

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		12		30		60	
Number of Animals	M:6	F:6	M:4	F:3	M:6	F:6	M:6	F:5
Body Weight (Day 27) ⁹	3.977 kg	3.053 kg	+2.67%	+5.37%	+2.59%	+15.79%*	-0.73%	+9.20%
Body weight gain Day-1 vs Day 27 per group (g)	+237	-67	+375	+110	+320	+148	+281	+220
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Day 12/26)								
Erythrocyte count	-	-	-	-	-	-	↓	↓
Hematocrit	-	-	-	-	-	-	↓	-
Hemoglobin	-	-	-	-	-	-	↓	-
Reticulocytes ratio	-	-	-	-	-	-	-	↑
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	Reactive lesions at the injection sites due to physical damage from the implanted catheter							

*: p < 0.05. -: No noteworthy findings, +: Mild, ++: Moderate, ↓/↑: Statistically sign. decrease / increase.

9: At the end of the treatment period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.7D

Repeat Dose Toxicity

Report: [REDACTED]

Report Title: Four Week Intravenous (Bolus) Repeat Dose Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey

Test Article: Remimazolam

with a 2 Week Recovery Period

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.2.7

GLP Compliance: Yes

Species/Strain

Cynomolgus monkey (purpose bred)

Duration of Dosing

4 weeks

Initial Age

1 to 2 years

Duration of Postdose

2 weeks

Date of First Dose

[REDACTED]

Method of Administration

i.v. bolus injection (once daily)

Vehicle/Formulation

25.86% w/v β -Cyclodextrin (Captisol®) in pH 3.8, 25 mmol/L citrate buffer solution

Special Features

No Observed Adverse Effect Level: 5 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		10		20	
Number of Animals ¹⁰	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Toxicokinetics (Week 4):								
Mean C _{max} (ng/mL)			3810	4020	6740	6490	10000	11700
Mean AUC ₀₋₁₂ (ng•h/mL)			2750	3420	5730	4920	12800	11100
t _{1/2} (hr)			0.698	0.842	0.820	0.795	0.980	0.874

10: Two males and two females were assigned to the 0 (control) and 20 mg/kg groups to investigate the reversibility of toxicity during a 2-week recovery period.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.7D: Remimazolam 4-Week Repeated Intravenous (Bolus) Study in Cynomolgus Monkeys (continued)

Study Number: [REDACTED]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		10		20	
Number of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (Week 4)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations:								
Sedative effects	-	-	P	P	P	P	P	P
Body Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry								
Reduction of LDH-values	-	-	-	P	P	P	P	P
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights								
Increase in Kidney weight	-	-	P §	-	P §	-	P §	-
Histopathology	Small increase in incidence of captisol vehicle-related focal or multifocal tubular vacuolation in kidney at 10 and 20 mg/kg/day; reactive lesions at the injection sites due to physical damage from the implanted catheter; Increased cytoplasmic rarefaction was noted in female animals at 10 and 20 mg/kg/day.							

-: No noteworthy findings, P: Present, §: not present in recovery animals.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.7E

Repeat Dose Toxicity

Report: [REDACTED]

Report Title: 4-week subchronic study of CNS7056 (remimazolam) in Göttingen minipigs

Test Article: Remimazolam

following repeated intravenous 6-hour infusion

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.2.10

GLP Compliance: Yes

Species/Strain

Ellegaard Göttingen minipigs A/S

Duration of Dosing

4 weeks

Initial Age

6 to 8 months (at dosing)

Duration of Postdose

4 weeks

Date of First Dose

[REDACTED]

Method of Administration

Intravenous 6-hour infusion into the vena jugularis via an indwelling pre-implanted catheter.

Vehicle/Formulation:

Stock solution: 26.4 g lactose monohydrate 39.6 g dextran 40 ad 1000 mL sodium chloride 0.9%

Administration solution: 350 mL stock solution ad 1000 mL sodium chloride 0.9 %

No Observed Adverse Effect Level: 120 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		12		40		120	
Number of Animals ¹¹	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Toxicokinetics (Day 28):								
Mean C _{max} (ng/mL)			497	662	2286	1398	9879	6385
Mean AUC _{0-∞} (ng•h/mL)			2587	3419	12583	7915	44618	30013
t _{1/2} (hr)			0.303	0.740	0.753	0.687	0.780	0.593

11: Two males and two females were additionally assigned to the 0 (control) and 120 mg/kg groups to investigate the reversibility of toxicity during the 4-week recovery period.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.7E: Remimazolam 4-week study in Göttingen minipigs following repeated 6-hour infusion (continued)

Study Number:

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		12		40		120	
Number of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (kg, Day 29)	12.06	12.24	10.47	11.97	11.50	11.80	11.12	12.74
% differences from controls			-13.2	-2.2	-4.6	-3.6	-7.8	+4.1
Body weight gain day1 vs day 29	17.58	14.25	7.73	16.46	15.05	14.89	5.60	15.78
Food Consumption [rel (g/kg b.w./day) week 4]	25.4	25.0	29.0	26.3	26.7	26.7	26.8	24.6
Clinical Observations:								
Sedative effects	-	-	+	+	++	++	+++	+++
Body Temperature	-	-	-	-	↓	-	↓	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Sperm motility and morphology	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone marrow examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology								
Infusion port, Swelling	++	-	++	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Changes caused by the technical infusion procedure	P	P	P	P	P	P	P	P

-: No noteworthy findings, +: Mild, ++: Moderate, +++: Marked, ↓: Decreased, P: Present.

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.7F

Repeat Dose Toxicity

Report: [REDACTED]

Report Title: Extended Repeated Dose Toxicity, Pharmacokinetic and Bioavailability Study Combined with Sedation

Test Article: Remimazolam

Score Profiling Following Intranasal and Intravenous Administration of Remimazolam to Male Sprague-Dawley® Rats

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.2.12

GLP Compliance: Yes

Species/Strain

Rat/Sprague-Dawley

Duration of Dosing

4 days

Initial Age

9 - 11 weeks

Duration of Postdose

2 weeks

Date of First Dose

[REDACTED]

Method of Administration

Intranasal

Vehicle/Formulation

Water for injection

Special Features: Intranasal and intravenous administration

No Observed Adverse Effect Level: 16 mg/kg/day

Daily Dose, mg/kg (mg/animal)	4 (1) ^{a)}	8 (2) ^{a)}	16 (4) ^{a)}	2 (0.5) ^{b)}	16 (4) ^{a)}	2 (0.5) ^{b)}
Number of Animals	M:5	M:5	M:5	M:5	M:5	M:5
Toxicokinetics (CNS 7054)						
Test day	Day 1				Day 4	
C _{max} (ng/mL)	574.50	1442.40	2443.40	4188.60	1844.00	4311.40
t _{max} (min)	8.8	8.0	4.6	NA	6.4	NA
t _{1/2} (min)	72.62	23.81	47.26	17.18	87.57	15.16
AUC _{last} (ng•min/mL)	10444.25	25339.60	47675.70	67026.94	42955.00	64238.27
Bioavailability _(0-t last) (%)	7.8	9.5	8.9	100	8.4	100

NA: Not applicable.

a: Intranasal administration

b: Intravenous administration

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.7F: Remimazolam intranasal repeated dose toxicity study in rats (continued)

Study Number:

Daily Dose, mg/kg (mg/animal)	0 (Control) ^{a)}	4 (1) ^{a)}	8 (2) ^{a)}	16 (4) ^{a)}	2 (0.5) ^{b)}
Number of Animals	M:15	M:5	M:5	M:10	M:5
Noteworthy Findings					
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0
General observation	-	-	-	-	-
Body Weight (g, day 5)	331.37	328.52	340.78	337.79	309.02
% differences from control	NA	-0.9	+2.8	+1.9	-6.7
Food Consumption (g/kg, day 4)	67.16	76.35	66.24	62.95	64.56
% differences from control	NA	+13.7	-1.4	-6.3	-3.9
Sedative effects					
Rotarod-test	-	-	-	-	-
Grip strength	-	-	-	-	-
Modified Irwin screening	-	-	-	-	-
Macroscopic observation	-	-	-	-	NA
Histopathology					
Organs of the respiratory tract	-	-	-	-	NA
Recovery period					
Number of Animals	M:5			M:5	
Died or Sacrificed Moribund	0			0	
General observation	-			-	
Body Weight (g, day 19)	379.20			377.96	
% differences from control	NA			-0.3	
Food Consumption (g/kg, day 19)	64.01			61.05	
% differences from control	NA			-4.6	
Macroscopic observation	-			-	
Histopathology					
Organs of the respiratory tract	-			-	

-: No noteworthy findings, NA: Not applicable.

a: Intranasal administration

b: Intravenous administration

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8A: 重要な試験以外の試験

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Treatment	Concentration (µg/plate)	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Reverse mutation in bacterial cells	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA	<i>In vitro</i>	Pre-incubation method: 48 h	156/313/625/1250/2500/5000	No dose-related or statistically significant increase in the number of revertant colonies compared to the vehicle control group (with and without metabolic activation).		4.2.3.3.1.1

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8B

Genotoxicity: In Vitro

Report [REDACTED]

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Test

Test Article: Remimazolam

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.3.1.2

GLP Compliance: Yes

Date of Treatment: [REDACTED]

Test for Induction of	Reverse mutation in bacterial cells	No. of Independent Assays	2
Strains	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA	No. of Replicate Cultures	3
Metabolizing System	S9-fraction of aroclor 1254 induced rat liver	No. of Cells Analyzed/Culture	-
Vehicles For Test Article	DMSO	For Positive Controls	DMSO
Concentration tested	0, 8, 40, 200, 1000, 5000 µg/plate		
Positive controls	2-nitrofluorene 0.5 µg/plate, sodium azide 1 µg/plate, 9-aminoacridine 50 µg/plate, 4-nitroquinoline-N-oxide 1 µg/plate, 2-aminoanthracene 2-10 µg/plate (+S9 mix)		
Treatment:	Experiment 1: plate incorporation; Experiment 2: pre-incubation (Incubation for 66 h for both experiments)		
Cytotoxic Effects	None		
Genotoxic Effects	None		
Results	There were no dose-related or statistically significant increases in revertant numbers under plate incorporation or pre-incubation conditions, at any dose in any strain, in the presence or absence of S-9 mix		

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8B: Remimazolam: Bacterial Reverse Mutation Test (continued)

Study Number:

Mean Number of Revertants per Plate – Experiment 1 – Plate Incorporation (Study Number:)							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP2 _{uvrA}
Without Activation	DMSO	0	17.0	7.3	22.0	110.0	24.7
	Remimazolam	8	20.7	9.3	18.7	103.3	27.0
		40	16.0	9.0	26.3	98.7	21.7
		200	22.3	8.7	26.3	83.3	23.3
		1000	26.0	10.3 srl	24.3	84.0	22.7
		5000	18.3 srl	rl	16.7	0.0	28.3
	Sodium Azide	1	549.3			509.0	
	9-Aminoacridine	50		229.7			
	2-Nitrofluorene	0.5			112.7		
	4-Nitroquinoline-N-oxide	1					597.3
With Activation	DMSO	0	14.3	12.3	43.3	177.3	38.3
	Remimazolam	8	19.3	19.7	37.3	168.0	33.3
		40	18.7	13.3	37.3	160.7	35.3
		200	13.7	8.7	40.7	161.3	29.3
		1000	13.0	16.7	32.3	130.0	35.7
		5000	11.3	10.3 srl	12.0	111.3	30.7
	2-Aminoanthracene	2	133.7		371.0		
		4		143.3		904.7	
		10					146.3

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8B: Remimazolam: Bacterial Reverse Mutation Test (continued)

Study Number:

Mean Number of Revertants per Plate – Experiment 2 – Pre-Incubation (Study Number:)							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP2 _{uvrA}
Without Activation	DMSO	0	17.3	6.0	21.0	95.3	12.0
	Remimazolam	8	14.7	9.0	26.5	102.5	16.3
		40	13.3	5.7	23.0	86.7	15.3
		200	16.7	11.3	22.0	98.0	20.0
		1000	13.3	4.0	29.0	85.3	18.0
		5000	9.3 ppt	6.3 srl ppt	19.7 ppt	96.0 srl ppt	18.3 ppt
	Sodium Azide	1	253.0			499.7	
	9-Aminoacridine	50		137.0			
	2-Nitrofluorene	0.5			178.7		
	4-Nitroquinoline-N-oxide	1					2362.0
With Activation	DMSO	0	16.0	12.3	35.0	86.0	33.3
	Remimazolam	8	18.7	17.7	36.0	98.3	33.3
		40	17.0	15.7	35.3	94.3	30.3
		200	22.3	16.0	35.0	97.3	34.3
		1000	11.7	20.3	29.7	86.7	29.7
		5000	11.0	11.3 srl	29.0	70.7	26.3
	2-Aminoanthracene	2	80.3		509.7		
		4		73.0		734.7	
		10					330.7

srl: slightly reduced background bacterial lawn; rl: reduced background bacterial lawn; ppt: compound precipitation

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8C

Genotoxicity: In Vitro

Report [REDACTED]

Report Title: ONO-2745BS (ロット番号 : YMK110831)の細菌を用いる復帰突然変異試験

Test Article: Remimazolam

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.3.1.3

GLP Compliance: Yes

Date of Treatment: [REDACTED]

Test for Induction of	Reverse mutation in bacterial cells	No. of Independent Assays	2
Strains	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA	No. of Replicate Cultures	3
Metabolizing System	S9 mix (enzyme induction by phenobarbital (PB) and 5,6-benzoflavone (BF))	No. of Cells Analyzed/Culture	-
Vehicles For Test Article	DMSO	For Positive Controls	DMSO
Concentrations tested	Pre-test 5, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate; Main test 156, 313, 625, 1250, 2500, and 5000 µg/plate		
Positive controls	2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, sodium azide, 9-aminoacridine hydrochloride hydrate, 2-aminoanthracene		
Treatment:	Pre-incubation for 48 h		
Cytotoxic Effects	-		
Genotoxic Effects	None		
Result	Under the conditions of the study, Remimazolam did not induce gene mutation in bacteria, regardless of the presence or absence of metabolic activation.		

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8C: Remimazolam Bacterial Reverse Mutation Test (continued)

Study Number:

Mean Number of Revertants per Plate – Experiment 1 (Study Number:)							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP2 _{uvrA}
Without Activation	DMSO	0	6	3	20	105	15
	Remimazolam	156	6	4	24	100	16
		313	7	5	15	98	19
		625	7	4	20	101	19
		1250	6	3	16	102	16
		2500	5	3	16	105	16
		5000	7	3	11	94	14
	Sodium Azide	0.5	353				
	9-Aminoacridine	80		481			
	2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide	0.01				511	
		0.02					511
		0.1			541		
With Activation	DMSO	0	7	8	23	109	20
	Remimazolam	156	6	8	25	107	19
		313	6	9	23	101	24
		625	7	6	24	112	20
		1250	7	8	20	96	17
		2500	4	7	24	115	19
		5000	7	6	22	103	18
	2-Aminoanthracene	0.5			421		
		1				532	
		2	204	152			
		10					302

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8C: Remimazolam Bacterial Reverse Mutation Test (continued)

Study Number:

Mean Number of Revertants per Plate – Experiment 2 (Study Number:)							
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	TA 1535	TA 1537	TA 98	TA 100	WP2 _{uvrA}
Without Activation	DMSO	0	6	6	15	94	18
	Remimazolam	156	6	6	13	96	19
		313	6	4	14	92	22
		625	5	4	20	95	23
		1250	4	4	15	97	23
		2500	6	4	15	89	18
		5000	7	2	15	85	19
	Sodium Azide	0.5	384				
	9-Aminoacridine	80		528			
	2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide	0.01				482	
		0.02					505
		0.1			569		
With Activation	DMSO	0	8	6	24	96	23
	Remimazolam	156	6	8	23	101	17
		313	10	7	22	104	22
		625	7	5	20	104	23
		1250	8	6	20	105	26
		2500	6	4	22	109	20
		5000	9	7	23	105	22
	2-Aminoanthracene	0.5			399		
		1				578	
		2	161	143			
		10					321

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8D

Genotoxicity: In Vitro

Report [REDACTED]

Report Title: Mouse Lymphoma Assay

Test Article: Remimazolam

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.3.1.4

GLP Compliance: Yes

Date of Treatment: [REDACTED]

Test for Induction of	Gene mutations in the gene coding for the enzyme thymidine kinase (TK)	No. of Independent Assays	3
Strains	L5178Y mouse lymphoma cell line	No. of Replicate Cultures	2
Metabolizing System	S9-fraction of aroclor 1254 induced rat liver	No. of Cells Analyzed/Culture	-
Vehicles For Test Article	DMSO	For Positive Controls	DMSO
Positive controls	Ethyl methanesulfonate, methylcholanthrene		
Treatment:	Experiment 1 and 2: with and without S9 mix; treatment period 3 hours. Experiment 3: without S9 mix; treatment period 24 hours.		
Cytotoxic Effects	Appropriate level of toxicity: 800 to 900 µg/mL (RTG = 10% to 18%) (+S9 mix); 550 to 610 µg/mL (RTG = 4% to 33%) (-S9 mix)		
Genotoxic Effects	None at non-cytotoxic concentrations		

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8D: Remimazolam Mouse Lymphoma Assay (continued)

Study Number:

Summary of Relative Total Growth (RTG) and Mutant Frequencies (MF) (Study Number:)								
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Exp. 1 (3 h treatment)		Exp. 2 (3 h treatment)		Exp. 3 (24 h treatment)	
			RTG	MF (×10 ⁻⁶)	RTG	MF (×10 ⁻⁶)	RTG	MF (×10 ⁻⁶)
Without Activation	DMSO	0	100% ref	82		130		68
	Remimazolam	25					63%	116
		100	89%	113	114%	78	71%	69
		250						
		300	107%	97				
		400	83%	118				
		450			85%	82		
		500	49%	170*	69%	132	21%	155*
		550			33%	123	13%	171*
		600	20%	175*	6%	77		
		610			4%	91		
	Ethyl Methanesulfonate	250					4%	2490*
		750	42%	1170*	44%	1380*		
With Activation	DMSO	0	100% ref	108		94		
	Remimazolam	50			113%	64		
		200	93%	105				
		500			107%	89		
		600	97%	97				
		700	79%	113				
		750			71%	87		
		800	78%	127	10%	196*		
		900	18%	129				
	Methylcholanthrene	5	32%	837*	35%	1060*		

*: p < 0.05 (Dunnett's t-test).

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8E

Genotoxicity: In Vitro

Report [REDACTED]

Report Title: ONO-2745BS (ロット番号: YMK110831) のマウスリンフォーマ TK 試験

Test Article: Remimazolam

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.3.1.5

GLP Compliance: Yes

Date of Treatment: [REDACTED]

Test for Induction of	Gene mutations in the gene coding for the enzyme thymidine kinase (TK)	No. of Independent Assays	2
Strains	L5178Y (<i>Tk</i> ^{+/−} -3.7.2c) mouse lymphoma cells	No. of Replicate Cultures	2
Metabolizing System	S9 mix (induction by phenobarbital (PB) and 5,6-benzoflavone)	No. of Cells Analyzed/Culture	-
Vehicles For Test Article	DMSO	For Positive Controls	physiological saline
Positive controls	Methyl methanesulfonate, cyclophosphamide monohydrate		
Treatment:	3 h treatment with and without S9 mix; 24 h treatment without S9 mix		
Cytotoxic Effects	Concentration showing 80% cytotoxicity: Short-term treatment −S9: 469 µg/mL; +S9: 729 µg/mL; 24-hour treatment −S9: 558 µg/mL		
Genotoxic Effects	None		

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.8E: Remimazolam Mouse Lymphoma TK Assay of ONO-2745BS (Lot number:) (continued)

Study Number:

Summary of Relative Total Growth (RTG) and Total Mutant Frequencies (T-MF) (Study Number:)										
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Exp. 1 (3 h treatment)		Exp. 2 (3 h treatment)		Exp. 1 (24 h treatment)		Exp. 2 (24 h treatment)	
			RTG	MF (×10 ⁻⁶)	RTG	MF (×10 ⁻⁶)	RTG	MF (×10 ⁻⁶)	RTG	MF (×10 ⁻⁶)
Without Activation	DMSO	0	100% ref	103	100% ref	113	100% ref	119	100% ref	109
	Remimazolam	200	108%	116	92%	140				
		250	105%	143	100%	96				
		300	103%	159	102%	119	109%	81	87%	106
		350	80%	173	96%	151	93%	150	91%	81
		400	67%	166	61%	191	92%	103	86%	103
		450	27%	318*	11%	329*	78%	161	86%	136
		500		n.t.		n.t.	77%	142	49%	197*
		550					26%	376*		n.t.
		600					n.t.	n.t.		n.t.
	Methyl Methanesulfonate	10	87%	464	65%	478	79%	680	74%	836
With Activation	DMSO	0	100% ref	104	100% ref	104				
	Remimazolam	450	87%	163	108%	134				
		500	93%	124	94%	195*				
		550	81%	143	81%	149				
		600	94%	149	43%	230*				
		650	54%	204*	2%	519 ^a				
		700	11%	343*		n.t.				
		750		n.t.		n.t.				
		800		n.t.		n.t.				
	Cyclophosphamide	3	12%	1471	10%	1805				

*: p < 0.05 (Dunnett's multiple comparison test), n.t.: not tested.

a: This datum was not used for evaluation because the relative total growth (RTG) was less than 10% (= cytotoxicity > 10%).

Dose-dependency was noted in the short-term treatment without metabolic activation (p < 0.05, Trend test with regression analysis).

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9A

Genotoxicity: In Vivo

Report [REDACTED]

Report Title: Rat Micronucleus Test

Test Article: Remimazolam

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.3.2.1

GLP Compliance: Yes

Test for Induction of	Micronuclei in bone marrow cells	Treatment Schedule	Dosing twice within 24 h
Species/Strain	Wistar rat [CrI:WI(Han)]	Sampling Time	24 h after last dose
Age	5 - 6 weeks	Method of Administration	i.v. bolus
Cells Evaluated	Polychromatic and normochromatic erythrocytes	Vehicle Formulation	25.86% w/v β-Cyclodextrin (Captisol®) in pH 3.8, 25 mmol/L citrate buffer solution
No. of Cells Analyzed/Animal	2000 polychromatic erythrocytes	Date of Dosing	[REDACTED]
Special Features	None	Evidence of Exposure	Clinical symptoms, deaths (dose dependent)
Positive control	Mitomycin C		
Toxic/Cytotoxic Effects	Dose range finding tests, 50 mg/kg was lethal toxic; in the main study, 40 mg/kg was lethal toxic; no cytotoxicity. No gender difference found in pre-study, main study in males.		
Genotoxic Effects	No evidence of clastogenicity or aneugenicity up to maximum tolerated dose in males.		

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	Mean MN-PCE	Mean PCE/NCE ratio
Vehicle	0	7M	1.00	1.05
Remimazolam	10	7M	0.71	1.52
	20	7M	1.14	1.33
	30	7M	1.00	1.55
Mitomycin C	3	7M	25.14**	1.18

**: p < 0.01 (Wilcoxon test).

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.9B

Genotoxicity: In Vivo

Report

Report Title: ONO-2745BS のラットにおけるコメット-小核コンビネーション試験

Test Article: Remimazolam

Study Number:

Location in CTD: 4.2.3.3.2.3

GLP Compliance: Yes

Test for Induction of	Micronuclei in bone marrow cells and DNA damage in hepatocytes	Treatment Schedule	Dosing once daily for 3 consecutive days
Species/Strain	Sprague-Dawley rat [CrI:CD(SD)]	Sampling Time	3 h after last dose
Age	8 weeks	Method of Administration	i.v. infusion (ca. 30 min)
Cells Evaluated	Polychromatic and normochromatic erythrocytes, hepatocytes	Vehicle Formulation	Physiological saline (pH 3.0)
No. of Cells Analyzed/Animal	2000 polychromatic erythrocytes 100 hepatocytes	Date of Dosing	
Special Features	None	Evidence of Exposure	Clinical symptoms, deaths (dose dependent)
Positive control	Ethyl methanesulfonate		
Toxic/Cytotoxic Effects	In a dose-finding study doses of 150 and 300 mg/kg were not tolerated (lethality); no cytotoxicity.		
Genotoxic Effects	Remimazolam was negative for inducing micronuclei in bone marrow and DNA damage in liver.		

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	Mean MN-PCE [%]	Mean PCE/NCE ratio [%]	Mean %tail DNA (Comet assay)
No treatment		5M	0.15	49.2	2.39
Vehicle	0	5M	0.18	46.7	1.86
Remimazolam	18.8	5M	0.19	49.9	2.33
	37.5	5M	0.16	58.1	1.97
	75	5M	0.14	61.1 [#]	2.37
Ethyl methanesulfonate	200	5M	2.59 [*]	17.3 ^{\$}	17.46 ^{\$}

*: $p \leq 0.025$ Kastenbaum and Bowman method, #: $p \leq 0.05$ Dunnett test, \$: $p \leq 0.05$ Aspin-Welch t-test, §: $p \leq 0.025$ Student's t-test.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

Table 2.6.7.9C: Non-pivotal *in vivo* genotoxicity study

Test Article: Remimazolam

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Treatment	Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Micronucleus Study Including Comet Assay	Rat / Sprague-Dawley	Intravenous infusion	3 days	37.5/75/150/300	Serious toxic signs and deaths were observed at 300 mg/kg. 75 mg/kg of remimazolam is considered to be appropriate for the highest dose in a comet-micronucleus combination assay.		4.2.3.3.2.2

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.10 がん原性試験

被験物質: レミマゾラム

がん原性試験は実施していない。

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Remimazolam

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
DRF-Study Rat/ CrI:CD (SD)	Intravenous bolus injection (0.9% NaCl)	Day 6 to 17 of pregnancy	0/3/10/30	8 females	Reduced motility; abdominal position dose dependent; clonic convulsions (one intermediate-dosed dam); tremor (one high-dosed dam); prenatal fetal development not affected	■■■■■	4.2.3.5.2.1
DRF Study Rabbit Himalayan	Intravenous bolus injection (0.9% NaCl)	Day 6 to 20 of pregnancy	0/2.5/5.0/7.5	6 females	Sedation; body weight and food consumption were affected dose-related in dams (Statistically significant reductions at $p \leq 0.05$ compared to the control were noted for the mean maternal body weight change of the low dosed dams (2.5 mg/kg) on gestation days 9 to 12 and for the mean body weight of the high-dosed dams (7.5 mg/kg) on gestation days 15 to 23 and for the relative food consumption of all test item-treated dams on a few to several treatment days from gestation days 8 to 19); fetal and placental weight reduced at high dose (Statistically significant reductions at $p \leq 0.05$ compared to the control were noted only for the female fetal weights); reproductive and fetal endpoints not affected	■■■■■	4.2.3.5.2.3
DRF Study Rabbit Himalayan	Lactose monohydrate (2.64%)/Dextran 40 (3.96%) in 0.9% sodium chloride	Day 6 to 19 of pregnancy	15/20/25/30/37.5/45	6 females 6 males (25 mg/kg)	Signs of sedation, food consumption and body weight affected dose-dependently. Female and fetal reproductive endpoints not affected. Study included sperm assessment in 6 males following 4 week treatment 25 mg/kg/day; no effect noted.	■■■■■	4.2.3.5.1.2

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.7.12A: Remimazolam; Fertility and Early Development to Implantation of Rats Following Intravenous Administration

Study Number:

Location in CTD: 4.2.3.5.1.1

GLP Compliance: Yes

Design similar to ICH 4.1.1?	Yes ^a	Duration of Dosing	M: 4 weeks prior to mating until 2 weeks after start of mating F: 2 weeks prior to mating through day 7
Species/Strain	Rat/Crl:CD(SD)	Day of Mating	Day 0
Initial Age	50 - 56 days	Day of C-Section	13th day of gestation
Date of First Dose	M: F:	Method of Administration	Intravenous bolus injection (tail vein)
Daily Doses (mg/kg)	3/10/30		
Special Features	None	Vehicle/Formulation	0.9% NaCl solution/aquaeus solution
No Observed Adverse Effect Level			
Effect on parental animals:		30 mg/kg	
Effect on the female fertility and early embryonic development:		30 mg/kg	
Effect on male fertility:		30 mg/kg	

^a: Guideline for Reproductive and Developmental Toxicity Studies on Drugs (Notification No. 316, Apr. 14, 1997, Ministry of Health and Welfare, Japan).

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.12A: Remimazolam; Fertility and Early Development to Implantation of Rats Following Intravenous Administration (continued)

Study Number: [REDACTED]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
Males:				
Toxicokinetics: AUC	No data			
Number Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations				
Reduced motility, sedation, chewing movements, increased grooming behavior	-	+	+	+
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Number of ultrasound-resistant spermatids per g testicular tissue × 10⁶	80	89	85	85
Motile spermatozoa in the epididymal cauda	71	61	69	53*
Morphologically normal spermatids in the cauda epididymis (%)	99	99	99	99
No. of Males that Mated	20	20	20	20
No. of Fertile Males	20	20	20	20

-: No noteworthy findings, +: Mild.

*: $p \leq 0.05$ Fisher test or χ^2 -test

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.12A: Remimazolam; Fertility and Early Development to Implantation of Rats Following Intravenous Administration (continued)

Study Number:

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
Females:				
Toxicokinetics: AUC	No data			
No. Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations				
Reduced motility, sedation, chewing movements, increased grooming behavior	-	+	+	+
Necropsy Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight	-	-	-	-
Mean No. Estrous Cycles during the treatment period/14 days	2.6	2.3	2.4	2.5
Mean No. Estrous Cycles during the mating period/14 days	0.2	0.2	0.1	0.4
Mean No. Days prior to Mating	3.1	3.5	2.2	3.8
No. of Pregnant Females	20	19	19	20
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Mean No. Corpora Lutea	14.3	14.3	14.5	15.0
Mean No. Implantations	14.2	13.8	14.2	14.2
Mean % Preimplantation Loss	0.6	3.5 ^a	2.5	6.1 ^b
Mean No. Live fetuses	13.7	12.9	13.7	13.2
Mean % Postimplantation Loss	3.6	6.6	2.8	6.3

-: No noteworthy findings, +: Mild, *: $p < 0.05$ Fisher test or χ^2 -test.

a: below historical mean background value 4.2.

b: within historical background range 1.0 - 7.7.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

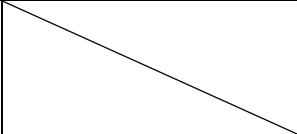
2.6.7.12B: Remimazolam; Extended Fertility/Mating Study of Remimazolam by Intravenous Infusion and Intravenous (Bolus) Injection in Rabbits

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.5.1.3

GLP Compliance: Yes

Design similar to ICH 4.1.1?	Yes ^a , and 4.1.2	Duration of Dosing:	Approximately 12 weeks
Species/Strain:	Rabbit/New Zealand White	Day of Mating:	Day 0
Initial Age:	Approximately 4 to 7 months	Method of Administration:	IV bolus injection followed by IV infusion
Date of First Dose:	██████████	Vehicle/Formulation:	Lactose monohydrate (2.64%)/Dextran 40 (3.96%) in 0.9% sodium chloride
Special Features:	Daily dose represents sum of constant 5 mg/kg IV bolus injection plus 7.5, 15 or 25 mg/kg IV infusion doses. Treatment was withdrawn for a few days to allow uninterrupted parturition and early postnatal care.		
No Observed Adverse Effect Level:			
F ₀ Females Mating Performance and Fertility:		30 mg/kg/day (highest dose tested)	
F ₀ Females Maintenance of Pregnancy, Development of Conceptus and Parturition :		20 mg/kg/day (highest dose tested)	
F ₀ Females Maintenance of Litter during Lactation :		20 mg/kg/day (highest dose tested)	
F ₁ Litters Survival, Development, Growth and Behaviour (all except the tactile test) :		20 mg/kg/day (highest dose tested). Not identified for tactile test as results were inconclusive.	

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	12.5 (5+7.5)	20 (5+15)	30 (5+25)
Females:				
Toxicokinetics: AUC_{0-t} (ng•h/mL)				
Premating: Remimazolam / CNS 7054		6270 / 19900	7430 / 21500	11600 / 55800
Gestation: Remimazolam / CNS 7054		5320 / 25900	8290 / 44300	NR
Lactation: Remimazolam / CNS 7054		11300 / 16600	10800 / 28400	NR

a: Guideline for Reproductive and Developmental Toxicity Studies on Drugs (Notification No. 316, Apr. 14, 1997, Ministry of Health and Welfare, Japan).

NR: No result.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.12B: Remimazolam; Extended Fertility/Mating Study of Remimazolam by Intravenous Infusion and Intravenous (Bolus) Injection in Rabbits.
(continued)

Study Number:

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	12.5 (5+7.5)	20 (5+15)	30 (5+25)
Females:				
No. of Females Evaluated	21	26	26	5
No. Died or Sacrificed Moribund	5	6	7	5
Clinical Observations				
Recoverable convulsive-like episode ^a	-	+	+	NA
Rapid eye movement ^a	-	+	++	NA
Excessive licking ^a	-	+	+	NA
Chewing action ^a	-	-	+	NA
Sneezing/nasal discharge ^a	-	+	+	NA
Slightly aggressive/agitated behaviour	-	+	+	NA
Abnormal gait	-	+	+	+
Fur loss	+	++	++	-
Decedents only:				
Shallow breathing, thin, pale eyes	-	+	+	+
Irregular respiration rate, pale skin, head tilt	-	-	+	+
Low carriage, hunched posture	-	-	-	+
Convulsion	-	-	+	+
Sedative Effect	NA	+	+	+++
Impaired Response to Tactile Stimulus	-	+	+	NA
Paradoxical reactions to study manipulation	-	+	+	+
Necropsy Observations	-	-	-	-

-: No noteworthy findings, +: Mild, ++: Moderate, +++: Marked.

NA: Not applicable.

^a: Clinical observation seen only in Batch 2 and 3 animals (comprising Groups 1 to 3 only).

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.12B: Remimazolam; Extended Fertility/Mating Study of Remimazolam by Intravenous Infusion and Intravenous (Bolus) Injection in Rabbits
(continued)

Study Number:

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	12.5 (5+7.5)	20 (5+15)	30 (5+25)
Females:				
Premating Body Weight Change d1-d14 %^a	-1.4	-5.8	-4.9	-0.9
Gestation Body Weight Change d0-d30 %^a	+14.0	+14.6	+17.8	NA
Lactation Body Weight Change d4-d29 %^a	-12.4	-6.8	-6.8	NA
Premating Food Consumption (g/day)^a				
Day 1	61 g/day	-36%*	-47%**	-52%
Day 14	98 g/day	-21%*	-17%	-18%
Gestation Food Consumption (g/day)^a				
Day 18	106 g/day	+20%	+26%**	NA
Day 19	104 g/day	+17%**	+20%**	NA
Day 20	118 g/day	+8%	+20%*	NA
Lactation Food Consumption (g/day)^a				
Day 24	254 g/day	+33%	+61%**	NA
Day 25	236 g/day	+38%	+74%*	NA
No. Pregnant/No. Paired	18/20	21/26	20/22	1/3
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	NA
Mean Duration of Gestation (days)	31.2	31.3	31.1	NA

-: No noteworthy findings.

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnett, Dunn).

a: % changes relative to individual group start value. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

NA: Not applicable.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.12B: Remimazolam; Extended Fertility/Mating study of Remimazolam by Intravenous Infusion and Intravenous (Bolus) Injection in Rabbits (continued)

Study Number: XXXXXXXXXX

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	12.5 (5+7.5)	20 (5+15)	30 (5+25)
Litters:				
No. of Litters Evaluated Preweaning	18	18	18	NA
Mean No. of Implantations^b	7.7	6.1	7.6	NA
Mean No. of Kits Born/Litter at Birth^b	7.4	5.7	7.6	NA
Postnatal Survival to Day 4^b	6.9	5.4	6.8	NA
Postnatal Survival to Day 29^b	4.7	4.3	4.6	NA
No. of Total Litter Losses	11	9	9	NA
No. of Litters at End of Lactation	6	8	8	NA
Kit Body Weight Change, Day 14-29 (g)	259.1	299.9	286.3	NA
Kit Clinical Signs	-	-	-	NA
Kit Necropsy Observations	-	-	-	NA
No. of Kits Evaluated Postweaning	19	20	16	NA
Open Field Evaluation^c	-	-	-	NA

-: No noteworthy findings.

b: Excludes total litter losses.

c: Note : tactile test results were inconclusive.

NA: Not applicable.

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13A: Remimazolam; Embryo-Fetal Development in Rats by Intravenous Administration)

Study Number:

Location in CTD: 4.2.3.5.2.2

GLP Compliance: Yes

Design similar to ICH 4.1.3?	Yes ^a	Duration of Dosing:	6th to 17th day of pregnancy
Species/Strain:	Rat/Crl:CD(SD)	Day of Mating	Day 0 of pregnancy
Initial Age (on day 0 of pregnancy):	8 - 9 weeks	Day of C-Section:	Twenty (20) days after mating
Date of First Dose:		Method of Administration:	Intravenous short term infusion (180Sec,tail vein)
Special Features:	None	Vehicle/Formulation:	0.9% NaCl
No Observed Adverse-Effect Level			
F ₀ Females:	3 mg/kg		
F ₁ Litters:	10 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
Dams:				
Toxicokinetics				
AUC _{0-∞} (ng·h/mL) [#] (Day G 17)	-	7.47	n.d.	64.35
No. Treated	25	25	25	25
No. not Pregnant Dams	0	2	0	0
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
No. Evaluated Litters	20	20	20	20
Clinical Observations				
Sedation; increased chewing movements; clonic or tonic convulsions (single animals on single occasions)	-	+	+	+
Body Weight	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Mean No. Corpora Lutea	14.2	13.1	14.9	14.6
Mean No. Implantations	13.7	12.8	14.5	13.6
Mean % Preimplantation Loss	3.7	2.2	3.0	6.1

a: Guideline for Reproductive and Developmental Toxicity Studies on Drugs (Notification No. 316, Apr. 14, 1997, Ministry of Health and Welfare, Japan).

#: Values obtained with an extrapolated value at the end of administration; calculation of the TK-parameters by using the mean plasma levels.

n.d.: no data, -: No noteworthy findings, +: Mild, G: Gestation day.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.13A: Remimazolam; Embryo-Fetal development in Rats by Intravenous Administration (continued)

Study Number:

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
Evaluation of Litters:				
No. Litters Evaluated	20	20	20	20
No. Live Fetuses (mean)	13.2	12.4	14.0	12.6
No. Resorptions (abs./mean)	9/0.5	8/0.4	10/0.5	21*/1.1
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	3.4	2.9	3.6	7.4
Mean Fetal Body Weight (litter mean, g)	3.4	3.4	3.5	3.5
Fetal Sex Ratios (absol.; f/m)	135/129	126/122	139/140	122/129
Fetal Anomalies:				
Gross External	0	1 ^a	0	0
Visceral Anomalies	0	0	0	0
Skeletal Anomalies				
Sternebra(e) bipartite and/or misaligned in slight degree and the rib(s) (wavy).	-	-	-	-
Sternebra(e) misaligned (severity: slight) (fetal incidence, %)	0	4.8	2.1	3.2
Skeletal Variations %; Total Affected Fetuses (Litters)	1.5(10)	5.6(25)	2.9(15)	3.2(20)

-: No noteworthy findings.

*: $p \leq 0.05$, within range of historical background data (Dunnett or Student)

a: Multiple malformations: Encephalocele (diameter approx. 2 mm), short snout, malrotated hind limbs.

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.13B: Remimazolam; Embryo-Fetal Development in Rabbits by Intravenous Administration

Study Number:

Location in CTD: 4.2.3.5.2.4

GLP Compliance: Yes

Design similar to ICH 4.1.3?	Yes ^a	Duration of Dosing:	6th to 20th day of pregnancy
		Day of Mating:	Day 0 of pregnancy
Species/Strain:	Rabbit/Himalayan	Day of C-Section:	29th day of gestation
Initial Age (on day 0 of pregnancy)	4 - 6.5 months	Method of Administration	Intravenous short term infusion (240 sec, medial ear)
Date of First Dose:		Vehicle/Formulation:	0.9% NaCl
Special Features	None		
No Observed Adverse-Effect Level			
F ₀ Females:	< 1.25 mg/kg		
F ₁ Litters:	2.5 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1.25	2.5	5.0
Dams:				
Toxicokinetics				
AUC _{0-∞} (ng·h/mL) [#] (Day G 20)	-	701.3	1530.4	2272.0
No. Treated	24	24	24	24
No. not Pregnant Dams	3	2	2	3
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	1	0	0
No. Evaluated Litters	20	20	20	20
Clinical Observations				
Sedation	-	+	+	+
Body Weight ¹	2935 g	-7.2%*	-3.7%	-8.5%**
Relative Food Consumption (Day G8 – G18 for low and intermediated dose, Day G9 – G20)	-	-44%**	-49%**	-55%**
Mean No. Corpora Lutea	7.6	7.8	7.4	7.6
Mean No. Implantations	6.6	7.0	6.3	7.1
Mean % Preimplantation Loss	12.7	11.1	14.2	6.4

a: Guideline for Reproductive and Developmental Toxicity Studies on Drugs (Notification No. 316, Apr. 14, 1997, Ministry of Health and Welfare, Japan).

#: Values obtained with an extrapolated value at the end of administration.

1: Gestation Day 29; for controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

-: No noteworthy findings, +: Mild, *: p ≤ 0.05, **: p ≤ 0.01.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.13B: Remimazolam; Embryo-Fetal development in Rabbits by Intravenous Administration (continued)

Study Number: XXXXXXXXXX

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1.25	2.5	5.0
Evaluation of Litters:				
No. Litters Evaluated	20	20	20	20
No. Live Fetuses (abs.)	119	132	120	132
No. Resorptions (mean per dam)	0.7	0.7	0.3	0.5
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	9.7	7.6	4.8	7.1
Mean Fetal Body Weight (g)	41.9	39.6*	41.7	38.3**
Mean Placental Weight (g)	5.61	5.31	5.44	4.95*
Fetal Sex Ratios (% males)	46	52	53	53
Fetal Anomalies:				
Gross External	0	0	2 fetuses in 2 litters a; b	3 fetuses in 3 litters a; a; c
Visceral Anomalies	0	0	0	0
Skeletal Anomalies				
Sternebra(e) fused	2.5	0.0*	9.2*	4.5
Skeletal Variations (fetal incidence, %);	6.7	0.8**	10.0	5.3

-: No noteworthy findings.

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnett or Student).

a: Malrotated fore paw (bilateral);

b: Multiple malformations: Gastroschisis with prolapse of liver, stomach, intestines - Amelia of left hind limb - Malrotated right hind limb (one fetus);

c: Multiple malformations: Spina bifida – Gastroschisis with prolapse of liver, intestines - Malformed head.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.7.14: ONO-2745BS のラットにおける静脈内投与による出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

Study Number: [REDACTED]

Location in CTD: 4.2.3.5.3.1

GLP Compliance: Yes

Design similar to ICH 4.1.2?	Yes ^a	Duration of Dosing:	Gestation day 6 –Lactation day 20
Species/Strain:	Rat/ CrI:CD(SD)	Day of Mating:	Day 0
Initial Age:	Males: 11 - 13 weeks Females: 10 - 12 weeks	Method of Administration:	Intravenous (tail vein) at a rate of approximately 1.2 mL/min (Dose Volume: 12 mL/kg)
Date of First Dose:	[REDACTED]	Vehicle/Formulation:	Isotonic Sodium Chloride Solution
Special Features:	None	Litters Culled/not Culled:	culled to 4/sex/litter
No Observed Adverse-Effect Level			
F₀ Females:	30 mg/kg		
F₁ Males:	30 mg/kg		
F₁ Females:	30 mg/kg		

a: Guideline for Reproductive and Developmental Toxicity Studies on Drugs (Notification No. 316, Apr. 14, 1997, Ministry of Health and Welfare, Japan).

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.14: Remimazolam; Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function (continued)

Study Number: XXXXXXXXXX

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
F₀ Females:				
Toxicokinetics: AUC	No TK data			
No. Pregnant	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	+	++	++
Necropsy Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight (% ^a)	420 g	-3.3%	-0.95%	-0.2%
Lactation Body Weight (% ^a)	331 g	-0.6%	0	-0.6%
Gestation Food Consumption (% ^a)	26.8 g	-11.6%**	-9.7%**	-7.1%
Lactation Food Consumption (% ^a)	61.4 g	-2.3%	-4.6%	-1.6%
Mean Duration of Gestation (days)	21.9	21.9	22.0	21.9
Abnormal Parturition	0	0	0	0

a: At end of gestation or lactation. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

-: No noteworthy findings, +: Mild, ++: Moderate.

**: $p \leq 0.01$, Dunnett's Test.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.14: Remimazolam; Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function (continued)

Study Number: XXXXXXXXXX

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
F₁ Litters: (Prewaning)				
No. Litters Evaluated	22	21	22	22
Mean No. of Implantations	15.9	15.2	15.6	16.3
Mean No. Pups/Litter	14.9	15.0	14.7	15.2
Mean No. Liveborn Pups/Litter	14.7	14.6	14.3	14.5
No. of Litters with Stillborn Pups	0.2	0.3	0.4	0.6
Postnatal Survival to Day 4	14.0	14.2	14.1	14.3
Postnatal Survival to Weaning (Weaning Index %)	100	100	100	100
No. of Total Litter Losses	0	0	0	0
Pup Body Weights (g)	M 56.6 F 54.3	M 55.3 F 54.2	M 55.1 F 53.5	M 57.4 F 54.8
Pup Sex Ratios	51	53	52	50
Pup Clinical Signs	-	-	-	-
Pup Necropsy Obs.	-	-	-	-

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.14: Remimazolam; Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function (continued)

Study Number: XXXXXXXXXX

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
F₁ Males: (Postweaning)				
No. Evaluated Postweaning	21	21	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body-Weight ^b (g)	424	427	415	433
Preputial Separation (Day 42 and Day 49)	20/21	18/21	20/22	18/22
Sensory Function	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Learning and Memory	-	-	-	-
No. of Males that Mated	19/20	21/21	20/22	21/22
No. of Fertile Males	19/19	20/21	20/20	21/21

-: No noteworthy findings.

a: From birth to weaning.

b: From weaning to mating.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.14: Remimazolam; Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function (continued)

Study Number:

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
F₁ Females: (Postweaning)				
No. Evaluated Postweaning	21	21	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Premating Body-Weight (g)	253	253	251	251
Gestation Body-Weight (g)	347	345	343	345
Vaginal Patency (day 35 / day 42)	16 / 21	18 / 21	18 / 22	21 / 22
Sensory Function	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Learning and Memory	-	-	-	-
No. of Females Sperm-Positive	20	21	22	22
No. of Pregnant Females	19	21	20	21
Mean No. Corpora Lutea	14.8	15.6	15.2	15.3
Mean No. Implantations	14.2	15.1	14.7	14.8
Mean % Preimplantation Loss	3.6	3.3	2.9	3.7
F₂ Litters:				
Mean No. Live Conceptuses/Litter	13.7	14.2	14.1	13.8
Mean No. Resorptions	0.5	0.9	0.7	1.0
No. of Litter with Dead Conceptuses	0	0	0	0
No. Dead Conceptuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	3.7	5.8	4.4	6.4

-: No noteworthy findings.

2.6.7.15 新生児を用いた試験

幼若動物を用いた試験は現在のところ実施していない。

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.16 局所刺激性試験

Test Article: Remimazolam

Species/Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley	Intravenous infusion (6 h) single dose and repeated administration (5 days) midazolam as comparator (0.06/ 0.18/ 0.54 mg/mL/kg/h)	0.4/0.8/1.2/1.6 mg/mL/kg/h	5 M	Histopathology (injection site): Perivascular edema, cellular infiltration (single dose, 1.6 mg/mL/kg/h). After 5 days of administration, thrombus formation (from 1.2 mg/mL/kg/h onwards; midazolam high dose group); perivascular cellular infiltration (1.6 mg/mL/kg/h; midazolam).	████████	4.2.3.6.1
Rat/ Sprague-Dawley	i.v infusion (6 h) 4 days (5 administrations)	0/80/200/400 0/2/5/10 mg/mL	3 M	The planned duration of five consecutive days of administration could not be realized in the 5 and 10 mg/mL remimazolam groups because of severe irritation at the injection site (tail). No changes were observed in the saline controls.	████████	4.2.3.6.2
Rat/ Sprague-Dawley	i.v infusion (6 h) 5 days	15/30/60/100/ 120/200/240 0/2.5/5/10 mg/mL	3 M	No macroscopic changes at the injection site (caudal vein). Histopathology revealed venous thrombosis in the 2.5 mg/mL group. Findings at 5 and 10 mg/mL included necrosis and ulcer of the skin of the tail; thrombus and necrosis of the caudal vein; and edema, fibrosis, and mononuclear cellular infiltration around the caudal vein. In the saline control group fibrosis and mononuclear cellular infiltration were found around the caudal vein.	████████	4.2.3.6.3
Rat/ Sprague-Dawley	i.v infusion (6 h) single dose and 5 days	Single dose: 15/30/60 5 days: 30 2.5/ 5/10 mg/mL (Midazolam: 0.2/2/5 mg/mL)	4 M	Thrombus, edema, or necrosis was noted at the injection site (tail) with all tested doses of remimazolam. Animals receiving doses of 12 mg/kg midazolam or more showed discoloration, ulcers, or defects of the injection site.	████████	4.2.3.6.4

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.16 局所刺激性試験（続き）

Test Article: Remimazolam

Species/Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley	i.v infusion (6 h) 5 days	0.05/0.1/0.2/0.5/1 mg/kg/h 0.05/0.1/0.2/0.5/1 mg/mL	5 M	None of the animals showed any changes in general condition or the administration site (based on visual inspection of tail).	██████	4.2.3.6.5
Rabbit/ New Zealand white	Intravenous Paravenous	0.5 mL 0.3 mL	6 F	Injection sites: slight focal erythema (both intra- and paravenous administration; including administration of vehicle). No substance dependent histological findings.	██████	4.2.3.6.6
Rabbit/ New Zealand white	Intravenous 5 min. infusion) Single dose up to 7 days	12 mg/kg/h 2.5 mg/mL	2 M/2 F	Morphological lesions of test (left) and control ears (right) generated by the dosing procedure rather than by the test compound.	██████	4.2.3.6.7
Pig/ Landrace cross	Intravenous 6 bolus injection or infusion	0/1.14 or 0/1.5 0/1.5 mg/mL or 0/0.5 mg/mL	3	No substance dependent histological findings	██████	4.2.3.6.8
Monkey Cynomolgus	Repeated Infusion (4 h) for 7 days	0/5/10/20 0/1.25/2.5/5 mg/mL	2 M	Thrombus, inflammation, and fibrosis of the vascular wall at the injection site observed in all remimazolam groups. Changes caused by physical irritation were enhanced by the test item. Lowest observed effect concentration: 1.25 mg/mL for thrombus formation.	██████	4.2.3.6.9

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.16 局所刺激性試験（続き）

Test Article: Remimazolam

Species/Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Monkey Cynomolgus	Single intravenous infusion (4 h) Vehicle: Physiological saline	0/3.2/4.0/4.8/ 6.4 0/0.8/1.0/1.2/1.6 mg/mL	5 M	Clinical signs: Incomplete eyelid opening/ eyelid closure; somnolence/ sedation; ataxic gait; decreased spontaneous activity. Necropsy: No substance related findings at the injection sites. Histopathology (injection sites): desquamation of the endothelium (4.0 mg/kg group and above); deposition of fibrinoid material on the intimal surface, necrosis of the vascular intima, very slight inflammation of the vascular wall and slight thrombus (4.8 mg/kg group and above).	████████	4.2.3.6.10
Monkey Cynomolgus	Single infusion (4h)	10 2.5 mg/mL	3 M	Mechanical damage, with and without remimazolam, can induce thrombus formation, and remimazolam exposure enhanced thrombus generation.	████████	4.2.3.6.11
Göttingen minipig	Intranasal	200 mg lyophilisate (25 mg remimazolam) per animal	3 F	No test substance related findings in the nasal mucosa (rhinoscopic investigation). Plasma concentration of remimazolam: below limit of quantification except 1 animal, exhibiting sedative effects [Plasma concentration of 50 ng/mL (0.25 h after the administration)].	██████	4.2.3.6.12

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17A Antigenicity/ Phototoxicity

Test Article: Remimazolam

Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Antigenicity							
Guinea Pig/ Hartley	i.p. (sensitization)/ i.v. (challenge)	NA	0.2/1.0 0.4/2.0	3 M + 3 F	No anaphylactic reactions	████████	4.2.3.7.1.1
Phototoxicity							
Balb/c 3T3 Cells	<i>In vitro</i>	NA	Up to 1000 µg/mL	NA	No phototoxic effects	████████	4.2.3.7.1.2

NA: not applicable.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.17B Plasma Compatibility

Test Article: Remimazolam

Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Plasma Compatibility							
Human blood	<i>In vitro</i>	1 h incubation at 37°C	0.25 mg/mL	3 male donors	No hemolytic effects	██████	4.2.3.7.2.1
Human blood	<i>In vitro</i>	30 min incubation at 37°C	0.8/1.2/1.6/2.4/4.8 mg/mL	5 donors	No hemolytic effects	██████	4.2.3.7.2.2
Human blood	<i>In vitro</i>	1 h incubation at 37°C	1/2/2.5/3/4/5/7.5/10 mg/mL	3 donors	No hemolytic effects	██████	4.2.3.7.2.3
Rabbit erythrocytes	<i>In vitro</i>	3 h incubation at 37°C	2.5 mg/mL	5 test article tubes	2.5 mg/mL remimazolam has No hemolysis and aggregation effect on rabbit erythrocyte <i>in vitro</i> .	██████	4.2.3.7.2.4
Human plasma	<i>In vitro</i>	Mixed at 37°C	Plasma/Test Item Ratio 6:4 - 10:0	4 donors	The highest ratio of remimazolam that did not cause precipitation was 2.75:7.25 (remimazolam:plasma), equivalent to a concentration of 1.325 mg/mL.	██████	4.2.3.7.2.5
Pig plasma	<i>In vitro</i>	Mixed at 37°C	Plasma/Test Item Ratio 5:5 - 10:0	a control pig (donor)	The highest ratio of remimazolam that did not cause precipitation in pig plasma was 2.50 parts of test item to 7.50 parts plasma.	██████	4.2.3.7.2.6

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.17C Abuse liability dependence potential

Test Article: Remimazolam

Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Abuse liability dependence potential							
Discrimination test							
Rat/ Long-Evans	i.p.	Single dose	5/10/20	2-4 M	The least effective dose of remimazolam in rats was 10 mg/kg.	██████	4.2.3.7.4.1
Rat/ Long-Evans	i.p.	NA	2.5/5/10/20	7-20 M	The discriminative stimulus effects of remimazolam were likely to be similar to those of midazolam.	██████	4.2.3.7.4.2
Reinforcing effect							
Rhesus Monkey	i.v.	2 h self-admin: 4 days 24 h self-admin: 9 - 16 days	0.008 – 0.125 0.015 – 0.06	Total 6 (4 M + 2 F)	Remimazolam was considered to possess the reinforcing effect in the intravenous self-administration experiment in rhesus monkeys.	██████	4.2.3.7.4.3
Physical dependence							
Rat/ Sprague-Dawley	i.v bolus	28 days	10-30/day	5-6 F	Repeated administration of midazolam associated with a very mild physical dependence on withdrawal.	██████	4.2.3.7.4.4
Rat/ Sprague-Dawley	i.v. bolus	12 days	20-30/day	9-10 F	Remimazolam has mild physical dependence producing potential comparable to midazolam.	██████	4.2.3.7.4.5
Rat/ Wistar (Han)	i.v. bolus + infusion	28 days	30-60/day	8-10 M	There is no evidence for physical dependence potential of remimazolam in the male Wistar (Han) rat under the condition of this study.	██████	4.2.3.7.4.6
Cynomolgus monkey	i.v. infusion	28 days	0.5-1 mg/kg/h	6 M	Remimazolam was considered to possess the physical dependence-producing potential in cynomolgus monkeys.	██████	4.2.3.7.4.7

NA: not applicable.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.17D Metabolites (CNS 7054)

Test Article: CNS 7054

Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Metabolites (CNS 7054)							
Rat/ Crl:CD (SD)	i.v. bolus	2 days	0/100/200	3 M	No anomalies were found on the general condition, body weight or autopsies for either the 100 or 200 mg/kg group of CNS 7054.	████████	4.2.3.7.5.1
Rat/ Crl:CD (SD)	i.v. bolus i.v. slow bolus	G6 - G10 G6	0/100/200 100/200	4 F 2 F	Marked sedative effect in one animal, explained by residual activity of CNS 7054. No effects during slow bolus.	████████	4.2.3.7.5.2
Cynomolgus Monkey	i.v. infusion	2 days 4 days	120 240	2 M	No clear toxicity was shown at 120 or 240 mg/kg/day of CNS 7054 and the exposure was dose dependent.	████████ ██████	4.2.3.7.5.3

G: Gestation day

2.6.7 毒性試験概要表

レミゾラムベシル酸塩

2.6.7.17E Impurities

Test Article: [REDACTED], [REDACTED]

Type of Study Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Impurities							
[REDACTED]							
Ames Test <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	<i>In vitro</i>	48 h	78.1/156/313/ 625/1250/2500 /5000 µg/plate	NA	[REDACTED] did not induce gene mutation in bacteria.	[REDACTED] [REDACTED]	4.2.3.7.6.1
Mouse Lymphoma Assay L5178Y mouse lymphoma cells	<i>In vitro</i>	3 h and 24 h	402/482/579/ 694/833/1000/ 1200	NA	[REDACTED] did not induce gene mutation in mouse lymphoma cells.	[REDACTED] [REDACTED]	4.2.3.7.6.2
[REDACTED]							
Rat/ CrI:CD (SD)	i.v. bolus	Single dose	0.2/0.5/1/2/ 5/10/20/50 mg/10 mL/kg	6 M	The potency of the sedative effect of [REDACTED] was estimated to be about 1/4 of remimazolam. However, deaths were observed with administration of [REDACTED].	[REDACTED]	4.2.1.1.18
Rat/ CrI:CD (SD)	i.v bolus i.v infusion	Single dose 1 h	0/1/5/20 20	5 M	Lethal respiratory suppression at doses of 20 mg/kg Non-lethal dose: 5 mg/kg NOAEL: 5 mg/kg (bolus)	[REDACTED]	4.2.3.7.6.3
Rat/ CrI:CD (SD)	i.v bolus i.v infusion	Single dose 1 h	0/0.2/1/5/20 0/5/20	10 M	The non-lethal dose and no observed adverse effect level of [REDACTED] for single-dose intravenous bolus injection to rats were 5 and 1 mg/kg, respectively.	[REDACTED]	4.2.3.7.6.4
Rat/ CrI:CD (SD)	i.v bolus i.v infusion	Single dose 1 h	0/20 0/20	6 M	Intravenous bolus injection of 20 mg/kg [REDACTED] caused lethality. The cause of death was considered to be pulmonary edema and respiratory failure due to hemorrhage.	[REDACTED]	4.2.3.7.6.5
Rat/ CrI:CD (SD)	i.v bolus i.v infusion	Single dose 1 h	0/0.5/1/5/20 0/5/10/20	3 M	The pulmonary changes observed in rats administered with single i.v. bolus injection of [REDACTED] at 10 mg/kg or higher were considered not due to immune reaction or effects on the coagulation system.	[REDACTED]	4.2.3.7.6.6

NA: not applicable.

2.6.7 毒性試験概要表

レミマゾラムベシル酸塩

2.6.7.17F Excipients (Dextran 40)

Test Article: Dextran 40

Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Excipients (Dextran 40)							
Rat/ Crl:WI	i.v infusion	4 weeks	0/200/600/2000	10 + 5 M/ 10 + 5 F (0 and 2000 mg/kg) 10M/10F (200 and 600 mg/kg)	Anaphylactoid reaction specific to rats. Negative effect on body weight in high dose males and increases in weights of various organs due to Dextran accumulation. NOAEL: 600 mg/kg	██████ ██████	4.2.3.7.7.1
Rat/ Crl:WI	i.v infusion	4 weeks	0/200/600/2000	3 M + 3 F (0 mg/kg) 9 M + 9 F (200 mg/kg) 9 M + 21 F (600 mg/kg) 9 M + 12 F (2000 mg/kg)	The results of this 28-day infusion study of Dextran 40 to Wistar rats at doses of 200, 600 and 2000 mg/kg/day are in line with results obtained in the previous study 172.351.5266.	██████ ██████	4.2.3.7.7.2
Rat/ Crl:WI	i.v infusion	7 days	0/200/2000	10-11 + 5 M	No enhancement of the degree of cisplatin induced kidney injury and no influence on the course of recovery from renal damage	██████ ██████	4.2.3.7.7.3

WI: Wistar