ラスビック点滴静注キット 150mg

(ラスクフロキサシン塩酸塩)

第 2 部　CTD の概要(サマリー)

2.6.6　毒性試験の概要文

杏林製薬株式会社

目次

略語及び専門用語一覧表 3
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.1.1 局所刺激性試験 4
2.6.6.1.2 代謝物の毒性試験 4
2.6.6.1.3 不純物の毒性試験 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験(トキシコキネティクス評価を含む) 5
2.6.6.4 遺伝毒性試験 5
2.6.6.5 がん原性試験 5
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 5
2.6.6.7 局所刺激性試験 5
2.6.6.7.1 ウサギ筋肉内投与局所刺激性試験 5
2.6.6.8 その他の毒性試験 5
2.6.6.8.1 代謝物の毒性試験 5
2.6.6.8.1.1 代謝物のラット皮下投与による骨髄小核試験 6
2.6.6.8.2 不純物の毒性試験 6
2.6.6.8.2.1 不純物のラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験 6
2.6.6.8.2.2 不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験 7
2.6.6.8.2.3 不純物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 7
2.6.6.8.2.4 不純物の *in vivo* 遺伝子突然変異試験 8
2.6.6.9 考察及び結論 8
2.6.6.9.1 局所刺激性 8
2.6.6.9.2 代謝物の毒性 9
2.6.6.9.3 不純物の毒性 9
2.6.6.10 図表 10
2.6.6.11 参考文献 10

表一覧

表 2.6.6.1-1 毒性試験一覧 4
表 2.6.6.9-1 AM-1977 の反復静脈内投与試験における薬液濃度及び局所障害性病変発現の関係 9

略語及び専門用語一覧表

略語及び専門用語	用語の説明
AUC	血漿中濃度曲線下面積
AUC_{0-8}	投与 0 から 8 時間後までの AUC
AUC_t	投与間隔(t = 24 時間)までの AUC
CHL/IU 細胞	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞
C_{max}	最高血漿中濃度
CPFX	シプロフロキサシン(Ciprofloxacin)
DMSO	ジメチルスルホキシド(Dimethyl sulfoxide)
E. coli	*Escherichia coli*
gpt delta ラット	大腸菌 *gpt* 遺伝子導入ラット
LVFX	レボフロキサシン(Levofloxacin)
PZFX	パズフロキサシン(Pazufloxacin)
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*
TK	トキシコキネティクス
マウスリンフォーマ *Tk*	マウスリンフォーマ・チミジンキナーゼ

2.6.6.1　まとめ

AM-1977 の毒性試験成績は経口剤の承認申請時に提出(1.13.1.3)されている。今回、新投与経路医薬品として注射剤を申請するにあたり、表 2.6.6.1-1 に示す AM-1977、代謝物及び不純物の毒性試験を追加し、経口剤申請時の毒性試験成績と共に評価した。追加毒性試験としてウサギを用いた単回筋肉内投与による局所刺激性試験を実施し、投与局所への影響を評価した。また、皮下投与した際の骨髄細胞における小核誘発能を指標として、代謝物(AM2012-008)の *in vivo* 遺伝毒性を評価した。さらに、製剤中に含まれる不純物(　物質A＊　)の静脈内投与による反復毒性、並びに *in vitro* 及び *in vivo* における遺伝毒性を評価した。

被験物質は AM-1977 塩酸塩を使用し、AM-1977(フリー体)としての投与量及び濃度を記載した。代謝物は AM2012-008(フリー体)を使用した。不純物　物質A＊　は　物質A＊　塩酸塩を使用し、物質A＊　(フリー体)としての投与量及び濃度を記載した。

厚生省令第 21 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」(1997 年 3 月 26 日)を遵守して、これらの毒性試験を実施した。

表 2.6.6.1-1　毒性試験一覧

試験の種類及び期間	動物種	投与経路	試験番号	資料番号
局所刺激性試験	ウサギ	筋肉内	A[redacted]LU06	4.2.3.6-1
代謝物の毒性試験 小核	ラット	皮下	[redacted]	4.2.3.7.5-1
不純物の毒性試験 反復投与毒性試験 (*in vivo* 遺伝毒性評価含む) 2 週間	ラット	静脈内	[redacted]	4.2.3.7.6-1
復帰突然変異	*S. typhimurium*、*E. coli*	*in vitro*	[redacted]	4.2.3.7.6-2
染色体異常	CHL/IU 細胞	*in vitro*	[redacted]	4.2.3.7.6-3
遺伝子突然変異	F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)ラット	静脈内		4.2.3.7.6-5

2.6.6.1.1　局所刺激性試験

ウサギ筋肉内投与局所刺激性試験では、「注射剤の局所障害性に関する試験法(案)」[1]における分類をもとに 0.2 w/v% AM-1977 はグレード 2 [注1]、0.4 w/v% AM-1977 はグレード 3 [注2]と判断した。

2.6.6.1.2　代謝物の毒性試験

代謝物(AM2012-008)について、ラットを用いる皮下投与による骨髄小核試験(10、20 及び 30 mg/kg)を実施した結果、小核誘発作用は認められなかった。

2.6.6.1.3　不純物の毒性試験

製剤中に含まれる不純物(　物質A＊　)について、一般毒性試験としてラットを用いる 2 週間反復静脈内投与毒性試験を実施した結果、　物質A＊　の添加により AM-1977 単独投与で認められた症状や所見は増強されることはなく、新たな投与起因性の変化も認められなかった。遺伝毒性については、遺伝子突然変異誘発能の評価として、*in vitro* で細菌を用いる復帰突然変異試験、*in vivo* で *gpt* delta ラットを用いる遺伝子突然変異試験を実施した結果、いずれの試験も遺伝子突

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

注 1　投与 2 日後及び 14 日後のいずれの判定結果も 0.425 w/v%酢酸と比べて、その局所障害性が弱いが、いずれかの判定結果が生理食塩水と比べ、その局所障害性が強い。

注 2　投与 2 日後及び 14 日後のいずれの判定結果も 1.7 w/v%酢酸と比べて、その局所障害性が弱いが、いずれかの判定結果が 0.425 w/v%酢酸と比べ、その局所障害性が同等又は強い。

然変異を誘発しなかった。また、染色体異常誘発能の評価として、*in vitro* でほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を実施したところ染色体異常を誘発した。しかしながら、ラット反復静脈内投与試験において *in vivo* における小核誘発能を評価したところ、　物質A＊　の添加による影響は認められず、AM-1977 単独投与と同様にラット骨髄細胞に対し小核誘発作用は示さなかった。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

該当資料なし

2.6.6.3　反復投与毒性試験(トキシコキネティクス評価を含む)

該当資料なし

2.6.6.4　遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.6.5　がん原性試験

該当資料なし

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

該当資料なし

2.6.6.7　局所刺激性試験

2.6.6.7.1　ウサギ筋肉内投与局所刺激性試験

資料番号 4.2.3.6-1

0.2 w/v%及び 0.4 w/v% AM-1977 の各 1 mL を 15 週齢の雄性 JW 系ウサギの外側広筋に単回筋肉内投与し、投与 2 及び 14 日後に肉眼的及び組織学的観察を行い、局所刺激性を評価した。溶媒対照には塩化マグネシウム含有生理食塩液、陰性対照には生理食塩液、陽性対照には 0.425 w/v%及び 1.7 w/v%酢酸をそれぞれ使用し、同様の方法で局所刺激性を評価した。

溶媒対照及び 0.2 w/v% AM-1977 の局所刺激性は、投与 2 日後で生理食塩液と比べやや強いが、投与 2 及び 14 日後では 0.425 w/v%酢酸と比べ明らかに弱かった。0.4 w/v% AM-1977 の局所刺激性は、投与 2 日後では 0.425 w/v%酢酸と比べやや強いが、投与 2 及び 14 日後では 1.7 w/v%酢酸と比べ明らかに弱かった。

以上の結果より、「注射剤の局所障害性に関する試験法(案)」[1]における分類に従い局所障害性を評価したところ、溶媒対照及び 0.2 w/v% AM-1977 はグレード 2、0.4 w/v% AM-1977 はグレード 3 に該当すると判断した。

用量設定の根拠：AM-1977 注射剤の臨床使用濃度と推定していた 0.2 w/v%を低用量とし、その 2 倍濃度である 0.4 w/v%を高用量として設定した。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　代謝物の毒性試験

AM-1977 150 mg(1 日目は 300 mg)を健康成人男性に 1 日 1 回、7 日間反復点滴静注した際(KRPAM1977Y-I103 試験、(2.7.2.2.2.2 参照))、投与 1 日目における代謝物(AM2012-008)の曝露量が総曝露量の 10%程度であったため、AM2012-008 の安全性評価を実施した。今回の承認申請では、

提出済みの経口剤の申請資料による評価に加え、新たにラットを用いる皮下投与による骨髄小核試験を実施した。

2.6.6.8.1.1　代謝物のラット皮下投与による骨髄小核試験

資料番号 4.2.3.7.5-1

AM2012-008 の 10、20 及び 30 mg/kg を 8 週齢の雄性 SD 系ラット(各群 6 匹)に 2 日間皮下投与し、最終投与 24 時間後の骨髄細胞における小核誘発能を評価した。

いずれの投与量でも、小核誘発頻度に有意な増加は認められず、AM2012-008 の小核誘発能は陰性と判断した。また、全赤血球に対する多染性赤血球の比率に変化は認められなかった。

単回皮下投与における TK を実施した結果、用量間で C_{max} に明確な変化は認められず、AUC_{0-8} は投与量に伴って増加したが、用量比に伴った増加ではなかった。30 mg/kg 群の C_{max} 及び AUC_{0-8} は、1.54 μg/mL 及び 3.84 μg·h/mL であった。

以上の結果より、AM2012-008 の皮下投与はラット骨髄細胞に対し小核誘発作用を示さないと考えられた。

用量設定の根拠：先に実施した皮下投与によるラット胚・胎児発生に関する試験(1.13.1.3：ラスビック錠 75mg:4.2.3.7.3-4 参照)において、10 mg/kg 以上から一般状態では投与部位の痂疲形成、剖検では投与部位の暗赤色巣が観察された。さらに、25 mg/kg において剖検で投与部位における筋肉の癒着が観察された。これらの結果から、25 mg/kg 付近が反復皮下投与の技術的な投与限界量と考えられたため、30 mg/kg を高用量、20 mg/kg を中用量に設定した。以下、公比 2 で 10 mg/kg を低用量に設定した。

2.6.6.8.2　不純物の毒性試験

製剤中不純物(　物質A＊　)について、一般毒性試験としてラットを用いる 2 週間反復静脈内投与毒性試験、*in vitro* 遺伝毒性試験として細菌を用いる復帰突然変異試験及びほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、並びに *in vivo* 遺伝毒性試験として *gpt* delta ラットを用いる遺伝子突然変異試験を実施した。なお、反復投与毒性試験では、骨髄細胞における小核誘発能を指標とした *in vivo* 遺伝毒性評価も併せて実施した。

2.6.6.8.2.1　不純物のラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験

資料番号 4.2.3.7.6-1

AM-1977 10 及び 30 mg/kg/日、並びに AM-1977 10 及び 30 mg/kg/日に　物質A＊　を 2.5%添加した AM-1977/ 物質A＊　10/0.25 及び 30/0.75 mg/kg/日を 6 週齢の雌雄 SD 系ラット(各群 10 匹)に 2 週間反復静脈内投与し、一般毒性を評価した。溶媒対照群にはトロメタモール加塩化マグネシウム含有生理食塩液を同様に投与した。併せて、2 週間反復静脈内投与した雄性ラット(各群 5 匹)から採取した骨髄を用いて、骨髄細胞における小核誘発能を評価した。

すべての投与群で死亡例は見られなかった。AM-1977/ 物質A＊　30/0.75 mg/kg/日群の雌雄、AM-1977/ 物質A＊　10/0.25 mg/kg/日群の雄及び AM-1977 30 mg/kg/日群の雌雄で着色尿(淡赤色)が観察されたが、尿検査及び病理組織学的検査に関連する所見は認められず、毒性学的意義は乏しいと判断した。そのほか、AM-1977 投与群及び AM-1977/ 物質A＊　投与群に好中球比又は好中球数の低値又は低値傾向及びリンパ球比の高値が認められたが、骨髄に病理組織学的変化はなく、毒性学的意義は乏しいと判断した。また、盲腸重量の増加については AM-1977 の薬理作用に関連した変化と考えられた。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

小核試験では、AM-1977 投与群及び AM-1977/ 物質A＊　　投与群とも小核誘発頻度に有意な増加は認められず、全赤血球に対する多染性赤血球の比率にも変化は認められなかった。

以上のとおり、AM-2013 投与群及び AM-1977/ 物質A＊　　投与群ともに被験物質投与に関連する毒性学的変化は認められなかった。 物質A＊　　の添加により AM-1977 単独投与で認められた症状や所見が増強されることはなく、新たな投与起因性の変化も認められなかった。小核誘発能についても 物質A＊　　の添加による影響は認められず、AM-1977 単独投与と同様、ラット骨髄細胞に対し小核誘発作用を示さないと考えられた。

用量設定の根拠：AM-1977 の投与量は、ラットにおける 2 週間静脈内投与試験の低用量及び中用量である 10 及び 30 mg/kg/日を設定した。 物質A＊　　の投与量は、AM-1977 の 2.5%を設定した。

2.6.6.8.2.2　不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

資料番号 4.2.3.7.6-2

試験菌株として、*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び *E. coli* WP2*uvrA* の 5 菌株を用い、プレインキュベーション法により、代謝活性化系(ラット肝 S9)の非存在下及び存在下で 物質A＊　　の遺伝子突然変異誘発能を評価した。陰性対照(溶媒)には DMSO を用いた。用量設定試験をもとに決定した最高用量から公比 2 で、代謝活性化系の非存在下及び存在下ともに各菌株について 7 用量を設定した。

代謝活性化系の有無に関わらず、いずれの菌株も 物質A＊　　処理群の復帰変異コロニー数の増加は陰性対照値の 2 倍未満であった。

また、代謝活性化系の有無に関わらず、すべての菌株に生育阻害が認められ、いずれの用量もプレート上に 物質A＊　　の沈殿を認めなかった。

以上の結果より、 物質A＊　　は細菌に対する遺伝子突然変異誘発能を有さないと判断した。

用量設定の根拠：用量設定試験で認められた菌の生育阻害をもとに、代謝活性化系の非存在下では、TA100 は 0.0313 μg/plate、TA98、TA1535 及び TA1537 は 0.125 μg/plate、WP2*uvrA* は 2 μg/plate、代謝活性化系の存在下では、*S. typhimurium* 株は 0.125 μg/plate、WP2*uvrA* は 2 μg/plate を本試験の最高用量とした。

2.6.6.8.2.3　不純物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

資料番号 4.2.3.7.6-3

チャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞株である CHL/IU 細胞を用い、短時間処理法及び連続処理法のそれぞれの条件下で 物質A＊　　の染色体異常誘発能を評価した。短時間処理法は、代謝活性化系(ラット S9)の非存在下及び存在下で 物質A＊　　を 6 時間曝露し、連続処理法は代謝活性化系の非存在下で 24 時間曝露した。用量は、用量設定試験で決定した最高用量から公比$\sqrt{10}$以下で、短時間処理法の代謝活性化系非存在下及び存在下はそれぞれ 4 用量、連続処理法は 5 用量を設定した。

染色体構造異常をもつ細胞の出現頻度が、連続処理法の 25 μg/mL 以上の用量で 10.0%を示したことから、 物質A＊　　の染色体構造異常誘発能は陽性と判定した。また、倍数性異常をもつ細胞の出現頻度が短時間処理法の代謝活性化系非存在下の 40～60 μg/mL で 16.0%～23.0%を示したことから、 物質A＊　　の染色体数的異常誘発能は陽性と判定した。

以上の結果より、 物質A＊　　はほ乳類培養細胞に対し染色体異常誘発能を有すると考えられ

た。

用量設定の根拠：用量設定試験の結果[資料番号 4.2.3.7.6-4]をもとに、50%程度の細胞増殖抑制が推察される用量として短時間処理法の代謝活性化系非存在下は 60 μg/mL、代謝活性化系存在下は 80 μg/mL、連続処理法は 35 μg/mL を最高用量に設定した。

2.6.6.8.2.4　不純物の *in vivo* 遺伝子突然変異試験

資料番号 4.2.3.7.6-5

物質A＊　を 2.5、5 及び 10 mg/kg/日の用量で、10 週齢の雄性 F344/NSlc-Tg(*gpt* delta)ラット(各群 6 匹)に 28 日間静脈内投与した後、各群 5 匹について 3 日後に肝臓及び骨髄を採取して *gpt* アッセイを実施した。

肝臓及び骨髄における突然変異頻度は、いずれの 物質A＊ 投与群においても陰性対照群と比較して有意な増加は認められなかった。

以上の結果より、 物質A＊ は肝臓及び骨髄の *gpt* アッセイにおいて陰性であり、本試験条件下で *in vivo* 遺伝子突然変異を誘発しないと判断した。

用量設定の根拠：当該試験ではヒトでの最大投与量のおよそ 50 倍に相当する 10 mg/kg/日を最高用量とし、以下、公比 2 で 5 及び 2.5 mg/kg/日の計 3 用量を設定した。ラットからヒトへの換算係数 6.2[5]を用いて体表面換算を行うと、最高用量の 10 mg/kg はヒトでは 1.6 mg/kg 投与に相当する。これは、AM-1977 のヒトにおける最大投与量 300 mg/body(6 mg/kg、体重 50 kg)を投与した際、 物質A＊ の不純物としての設定規格値(0.5%)から算出される 物質A＊ のヒトでの最大投与量である 0.03 mg/kg の 50 倍の投与量に相当する。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.6.9　考察及び結論

2.6.6.9.1　局所刺激性

投与局所への刺激性は、ウサギの単回筋肉内投与試験並びにラット及びイヌの反復静脈内投与試験(1.13.1.3：ラスビック錠 75mg：2.6.6.3)で評価した。

AM-1977 をウサギの外側広筋に単回投与した際の局所刺激性を「注射剤の局所障害性に関する試験法(案)」[1]に基づき評価した。臨床使用濃度と推定していた 0.2 w/v%及びその 2 倍濃度である 0.4 w/v%で試験したところ、局所障害性はそれぞれグレード 2 及びグレード 3 に分類された。また、0.2 w/v%及び 0.4 w/v% AM-1977 による障害の回復性は良好であった。類薬においてもウサギによる同様の局所刺激性の評価が実施されており、LVFX では 0.098%及び 0.20%注射剤の 1.0 mL 投与による検討が行われ、0.098%注射剤でグレード 1、0.20%注射剤でグレード 2 と判定されている[2]。CPFX では 0.05 w/v%及び 0.2 w/v%溶液で検討され、いずれの濃度液も投与後 2 日目において生理食塩液よりも局所障害性が強いものの、陽性対照である酢酸溶液 0.425 w/v%より弱く、投与後 14 日目には生理食塩液と同じく局所障害性は認められず、回復性が見られたと報告されている(両濃度液ともグレード 2 に相当)[3]。PZFX では 2.6～7.8 mg/mL(0.26 w/v%~0.78 w/v%)溶液においてグレード 2 との報告がある[4]。以上のことから、AM-1977 のウサギ筋肉に対する障害性は国内で承認されているキノロン系抗菌薬の注射剤と比べて強いものではないと考えられた。

ラット 2 週間反復静脈内投与試験では 10～100 mg/kg/日のいずれの用量でも投与部位に変化は認められなかった。一方、4 週間反復静脈内投与試験では 100 mg/kg/日の雌で投与 15 日目以降に尾の投与部位やその周辺部(末梢側又は中枢側)に変色や硬化、尾の欠落が認められ、病理組織学的検査でも血管周囲の炎症性変化や皮膚炎といった障害性の病変が認められた。これらの変化は

4 週間の休薬により回復又は回復傾向を示した。イヌ 2 週間反復静脈内投与試験では 12.5～75 mg/kg/日のいずれの用量でも投与部位に変化は見られなかった。一方、4 週間反復静脈内投与試験では 30 mg/kg/日以上で投与部位やその中枢側に血栓が認められた。この所見は静脈壁の変性/壊死及び血管周囲の障害性変化を伴っていたが、これらの所見は休薬期間終了時には確認されなかった。反復静脈内投与試験で使用した投与薬液濃度と局所障害性病変発現の関係を以下の表 2.6.6.9-1 に示す。いずれの動物種も、投与期間の延長及び薬液濃度の上昇と障害性変化の発現に関連性が示唆された。

表 2.6.6.9-1　AM-1977 の反復静脈内投与試験における薬液濃度及び局所障害性病変発現の関係

反復静脈内投与試験	薬液濃度 (投与量)	局所障害性病変が見られた 薬液濃度 (投与量)
ラット 2 週間投与	1, 3, 10 mg/mL (10, 30, 100 mg/kg/日)	-
ラット 4 週間投与	1, 3, 10 mg/mL (10, 30, 100 mg/kg/日)	10 mg/mL (100 mg/kg/日)
イヌ 2 週間投与	2.5, 6, 15 mg/mL (12.5, 30, 75 mg/kg/日)	-
イヌ 4 週間投与	2.5, 6, 15 mg/mL (12.5, 30, 75 mg/kg/日)	6 mg/mL (30 mg/kg/日) 15 mg/mL (75 mg/kg/日)

-: 局所障害性病変なし

市販予定製剤では、これらの非臨床試験で使用した投与液にトロメタモールが添加されている。不純物のラット 2 週間反復静脈内投与試験において市販予定製剤と同様にトロメタモールを添加した投与液を使用して投与部位の局所障害性を確認した。その結果、AM-1977 30 mg/kg/日(3 mg/mL)の単独投与及び　物質A＊　750 μg/kg/日(75 μg/mL)をスパイクした AM-1977 30 mg/kg/日投与においても投与部位に局所障害性の変化は見られなかった。

予定されている臨床使用濃度は 1.5 mg/mL (0.15 w/v%)であり、今回試験したウサギの筋肉内投与試験の濃度よりも低く、ラット及びイヌの反復静脈内投与試験で局所障害性が見られなかった濃度の 1/2～3/5 の濃度であること、並びに不純物のラット 2 週間反復静脈内投与試験で使用したトロメタモールを添加した投与液においても AM-1977 で 3 mg/mL、　物質A＊　で 75 μg/mL まで局所障害性の変化が見られていないことから、AM-1977 注射剤の臨床使用において局所障害が生じる懸念は低いものと考えられた。

2.6.6.9.2　代謝物の毒性

注射剤の申請にあたり、代謝物(AM2012-008)の安全性評価に際して、新たにラットを用いる皮下投与による骨髄小核試験を実施した。

ラット皮下投与による骨髄小核試験では、30 mg/kg までラット骨髄細胞に対して小核誘発作用を示さなかった。また、AM2012-008 をラットに 30 mg/kg 単回皮下投与したときの C_{max} 及び AUC_{0-8} は、1.54 μg/mL 及び 3.84 μg·h/mL であり、臨床 C_{max} (0.157 μg/mL)及び AUC_t (2.74 μg·h/mL)の 9.8 倍及び 1.4 倍になることから、代謝物の *in vivo* 遺伝毒性評価はなされているものと判断した。

以上より、臨床使用において AM2012-008 の *in vivo* 染色体異常誘発に対する懸念は低いものと考えられた。

2.6.6.9.3　不純物の毒性

注射剤の申請にあたり、製剤中不純物(　物質A＊　)について、一般毒性試験としてラットを用いる 2 週間反復静脈内投与試験、*in vitro* 遺伝毒性試験として細菌を用いる復帰突然変異試験及び

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、並びに *in vivo* 遺伝毒性試験として *gpt* delta ラットを用いる遺伝子突然変異試験を実施した。なお、ラット 2 週間反復静脈内投与試験では、骨髄細胞における小核誘発能を指標とした *in vivo* 遺伝毒性評価も併せて実施した。

ラット 2 週間反復静脈内投与試験では、　物質A＊　の添加により AM-1977 単独投与で認められた症状や所見が増強されることはなく、新たな投与起因性の変化も認められなかった。遺伝毒性については、遺伝子突然変異誘発能の評価として実施した細菌を用いる復帰突然変異試験及び *gpt* delta ラットを用いる遺伝子突然変異試験ではともに遺伝子突然変異を誘発せず、陰性を示した。一方、染色体異常誘発能の評価として実施したほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験では AM-1977 処理において確認されている染色体構造異常に加え、短時間処理法の代謝活性化系非存在下で倍数性異常の誘発が見られた。しかしながら、反復投与毒性試験において検討した *in vivo* 遺伝毒性評価では　物質A＊　添加による影響は認められず、AM-1977 単独投与と同様にラット骨髄細胞に対して小核誘発作用を示さなかった。

以上より、臨床使用において　物質A＊　について毒性学的懸念は低いものと考えられた。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.6.10　図表

表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.6.11　参考文献

1) 厚生省．注射剤の局所障害性に関する試験法(案)．医薬ジャーナル．1979;15(3):447-449 [資料番号 4.3-1]
2) 申請資料概要．クラビット点滴静注バッグ 500 mg/100 mL、クラビット点滴静注 500 mg/20 mL（レボフロキサシン水和物）に関する資料．第一三共株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2010/P201000061/index.html (参照 2016-10-14)
3) 申請資料概要．シプロキサン注(シプロフロキサシン)に関する資料．バイエル薬品株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2000/g000911/index.html (参照 2016-10-14)
4) 申請資料概要．パシル点滴静注液 300 mg、500 mg、パズクロス注 300、500(メシル酸パズフロキサシン)に関する資料．富山化学工業株式会社、三菱ウェルファーマ株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2002/P200200014/index.html (参照 2017-2-10)
5) FDA Guidance for Industry. Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. July 2005.

ラスビック点滴静注キット 150mg

(ラスクフロキサシン塩酸塩)

第 2 部　CTD の概要(サマリー)

2.6.7　毒性試験の概要表

杏林製薬株式会社

目次

略語及び専門用語一覧表 3
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 4
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 5
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 5
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 6
2.6.7.5 単回投与毒性試験 7
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 7
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 7
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 7
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 7
2.6.7.10 がん原性試験 7
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 7
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 7
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 7
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 8
2.6.7.15 新生児を用いた試験 8
2.6.7.16 局所刺激性試験 9
2.6.7.17 その他の毒性試験 11
2.6.7.17.1 代謝物の毒性 11
2.6.7.17.1.1 代謝物のラットを用いる皮下投与による骨髄小核試験 11
2.6.7.17.2 不純物の毒性試験 13
2.6.7.17.2.1 重要な試験以外の試験(不純物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常予備試験) 13
2.6.7.17.2.2 不純物のラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験 14
2.6.7.17.2.3 不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験 16
2.6.7.17.2.4 不純物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 22
2.6.7.17.2.5 不純物のラット静脈内投与による骨髄小核試験 23
2.6.7.17.2.6 不純物の *gpt* delta ラットを用いる *in vivo* 遺伝子突然変異試験 24
2.6.7.18 参考文献 24

略語及び専門用語一覧表

略語及び専門用語	用語の説明
AUC	血漿中濃度曲線下面積
AUC_{0-8}	投与 0 から 8 時間後までの AUC
CHL/IU 細胞	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞
C_{max}	最高血漿中濃度
E. coli	*Escherichia coli*
gpt delta ラット	大腸菌 *gpt* 遺伝子導入ラット
RRT	相対保持時間
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*
TK	トキシコキネティクス

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質は AM-1977 塩酸塩を使用し、本文中及び表中には AM-1977(フリー体)としての投与量及び濃度を記載した。また、代謝物は AM2012-008、不純物は　物質A＊　塩酸塩を使用し、不純物については　物質A＊　(フリー体)としての投与量及び濃度を記載した。

被験物質：AM-1977 塩酸塩
AM2012-008
物質A＊塩酸塩

試験項目		動物/細胞/菌種	投与(処置) 経路、期間	投与量 (mg/kg) 又は 濃度	無毒性量	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
局所刺激性		ウサギ	筋肉内、単回	0.2 w/v%, 0.4 w/v%	0.2 w/v%：グレード 2[a] 0.4 w/v%：グレード 3[a]	適	杏林製薬	A[redacted]LU06	4.2.3.6-1
代謝物	小核[b]	ラット	皮下、2 日間	10, 20, 30	陰性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.5-1
不純物	反復投与毒性 (*in vivo* 遺伝毒性評価含む)[c]	ラット	静脈内、2 週間	10/0[d] 30/0[d] 10/0.25[d] 30/0.75[d]	物質A＊　の添加により、AM-1977 単独で認められた症状や所見の増強及び新たな投与起因性の変化は認められない *in vivo* 遺伝毒性評価(小核誘発能)：陰性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.6-1 (小核試験)
	復帰突然変異[e]	*S. typhimurium*、*E. coli*	直接法 代謝活性化法	0.00049~2 μg/plate	陰性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.6-2
	染色体異常[e]	CHL/IU 細胞	短時間処理法(S9 +) 短時間処理法(S9 −) 連続処理法(24 時間)	20~80 μg/mL 20~60 μg/mL 5~35 μg/mL	陽性(構造異常、数的異常)	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.6-3
	遺伝子 突然変異[e]	F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)ラット	静脈内、28 日間	2.5, 5, 10	陰性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.6-5

a：「注射剤の局所障害性に関する試験法(案)」[1]における分類　　b：被験物質は AM2012-008　　c：被験物質は AM-1977 塩酸塩及び　物質A＊　塩酸塩

d：AM-1977 の用量(mg/kg)/　物質A＊　の用量(mg/kg)　　e：被験物質は　物質A＊　塩酸塩

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

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

被験物質：AM2012-008

試験の種類	動物/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	GLP 適用	試験番号	資料番号
代謝物のラット小核試験	ラット/SD 系	皮下	10, 20, 30	適	[redacted]	4.2.3.7.5-1

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

該当資料なし

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：AM-1977 塩酸塩

ロット番号	定量値(%)	規格設定された類縁物質(%)			試験番号	試験の種類
		RRT[redacted]	RRT[redacted]	合計		
G[redacted]9911	100.3	[redacted]	[redacted]	[redacted]	A[redacted]LU06	ウサギ局所刺激性試験
G[redacted]0211	100.4	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	不純物のラット 2 週間反復投与毒性試験及び小核試験(静脈内)

被験物質：AM2012-008

ロット番号	定量値(%)	類縁物質(%)				試験番号	試験の種類
		RRT[redacted]	RRT[redacted]	RRT[redacted]	合計		
K[redacted]0216	99.09	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	代謝物のラット小核試験(皮下)

被験物質：　物質A＊　塩酸塩

ロット番号	定量値(%)	類縁物質(%)		試験番号	試験の種類
		個別	合計		
K[redacted]0226	99.7	[redacted]	[redacted]	[redacted]	不純物のラット 2 週間反復投与毒性試験及び小核試験(静脈内)
				[redacted]	不純物の復帰突然変異試験
				[redacted]	不純物の染色体異常試験
K[redacted]0216	99.7	[redacted]	[redacted]	[redacted]	*in vivo* 遺伝子突然変異試験

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当資料なし

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

該当資料なし

2.6.7.8　*In Vitro* 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.10　がん原性試験

該当資料なし

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし

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

該当資料なし

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当資料なし

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

該当資料なし

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当資料なし

2.6.7.16　局所刺激性試験

報告書の題名　：Local Irritation Study of AM-2013 by intramuscular injection in Rabbits　　被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：雄性ウサギ/JW　　投与期間　：単回　　試験番号　：A[redacted]LU06
試験開始週齢　：15 週齢　　観察期間　：14 日間　　資料番号　：4.2.3.6-1
投与年月日　：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日又は[redacted] 日　　投与方法、投与容量　：筋肉内、1 mL
溶媒/投与形態　：塩化マグネシウム含有生理食塩液　　GLP 適用　：適
特記事項　：AM-1977 及び酢酸を各動物の右後肢に投与した。陰性対照（生理食塩液）を AM-1977 投与動物の左後肢、溶媒対照を酢酸投与動物の左後肢に投与した。
評価結果　：0.2 w/v%：グレード 2[a)]、0.4 w/v%：グレード 3[a)]

被験物質	陰性対照 (生理食塩液)	溶媒対照	AM-1977		酢酸	
投与液濃度 (w/v%)	0	0	0.2	0.4	0.425	1.7
観察対象数	6	6	3	3	3	3
投与 2 日後						
肉眼的検査						
変化部領域 (mm^2)	19.1	19.1	106.2	284.5	214.5	529.4
外側広筋						
赤色化	N: 1, ±: 5	N: 2, ±: 3, +: 1	N: 1, ±: 1, +: 1	±: 2, +: 1	+: 3	+: 2, ++: 1
白色化	N: 4, ±: 2	N: 4, ±: 2	±: 2, +: 1	+: 1, +++: 2	+: 2, ++: 1	++: 1, +++: 2
褐色化	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 3	+: 1, ++: 2
組織学的検査						
筋線維						
変性/壊死	±: 6	±: 6	±: 3	+: 1, ++: 2	+: 2, ++: 1	+++: 3
鉱質沈着	N: 5, ±: 1	N: 6	N: 3	±: 3	N: 3	N: 1, ±: 2
間質						
出血	N: 3, ±: 3	N: 1, ±: 5	±: 3	±: 2, +: 1	±: 1, +: 2	±: 1, +: 2
浮腫	N: 6	N: 3, ±: 3	±: 3	+: 3	+: 3	+: 3
組織球浸潤	±: 6	±: 6	±: 3	+: 2, ++: 1	+: 3	+: 3
偽好酸球浸潤	N: 6	±: 6	±: 3	±: 3	±: 3	±: 3

a: 「注射剤の局所障害性に関する試験法(案)」[1)]における分類
N: 著変なし　±:ごく軽度　+:軽度　++:中等度　+++:高度

2.6.7.16　局所刺激性試験

試験番号：A[redacted]LU06 (続き)

被験物質	陰性対照 (生理食塩液)	溶媒対照	AM-1977		酢酸	
投与液濃度 (w/v%)	0	0	0.2	0.4	0.425	1.7
観察対象数	6	6	3	3	3	3
投与 14 日後						
肉眼的検査						
変化部領域 (mm^2)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	179.0
外側広筋						
赤色化	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 3	±: 2, +: 1
白色化	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 3	N: 1, +: 1, ++: 1
褐色化	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 3	+: 2, ++: 1
組織学的検査						
筋線維						
変性/壊死	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 2, ±: 1	+: 1, ++: 2
線維再生	N: 6	N: 6	N: 3	N: 2, ±: 1	N: 2, ±: 1	±: 2, +: 1
異物性肉芽腫	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 2, ±: 1	±: 3
鉱質沈着	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 2, ±: 1	±: 2, +: 1
間質						
出血	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 3	±: 2, +: 1
浮腫	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 2, ±: 1	±: 2, +: 1
組織球浸潤	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 2, ±: 1	±: 2, +: 1
線維化	N: 6	N: 6	N: 3	N: 3	N: 2, ±: 1	+: 2, ++: 1

N:著変なし　　±: ごく軽度　　+:軽度　　++:中等度　　+++:高度

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.1　代謝物の毒性

2.6.7.17.1.1　代謝物のラットを用いる皮下投与による骨髄小核試験

報告書の題名　：Micronucleus Study of AM2012-008 by Subcutaneous Administration in Rats
被験物質　：AM2012-008
動物種/系統　：雄性ラット/SD
投与期間　：2 日間　(CP 群：単回)
試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：8 週齢
検査時期　：最終投与後 23～24 時間
(CP 群：投与後 24~25 時間)
資料番号　：4.2.3.7.5-1
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
(CP 群：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日)
投与方法　：皮下
(CP 群：強制経口)
GLP 適用　：適
陽性対照　：CP
溶媒/投与形態　：塩化マグネシウム含有生理食塩液/溶液
(CP 群：注射用水)
特記事項　：なし
分析細胞数/培養　：4000 個
毒性/細胞毒性　：なし
遺伝毒性　：なし
曝露証明　：TK 実施

処置時間	被験物質	投与量 (mg/kg/日)	動物数	小核を有する多染性赤血球(%) 平均± S.D.	多染性赤血球(%) 平均± S.D.
24	溶媒対照	0	5	0.120 ± 0.054	48.4 ± 14.8
	AM2012-008	10	5	0.095 ± 0.027	37.7 ± 9.1
		20	5	0.110 ± 0.063	53.3 ± 9.3
		30	5	0.160 ± 0.142	56.1 ± 15.1
	CP	15	5	1.685 ± 0.493**	43.3 ± 16.3

**: $p<0.01$ (Fisher 直接確率法)

CP: Cyclophosphamide

2.6.7.17.1.1　代謝物のラットを用いる皮下投与による骨髄小核試験

試験番号：[redacted](続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	30
動物数		3	3
トキシコキネティクス：			
AM2012-008			
投与 1 日目	C_{max} (μg/mL)	0	1.54
	$AUC_{0\text{-}8}$ (μg·h/mL)	0	3.84

2.6.7.17.2　不純物の毒性試験

2.6.7.17.2.1　重要な試験以外の試験(不純物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常予備試験)

被験物質：　物質A＊　塩酸塩

細胞種	処理方法/(媒体/投与形態)	処理条件	濃度 (μg/mL)	プレート数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
CHL/IU 細胞	*in vitro* (媒体： DMSO / 溶液)	直接法及び代謝活性化法： 6 時間処理	直接法： 10.2~60.9 μg/mL 代謝活性化法： 10.2~81.2 μg/mL	2 枚/dose	・染色体構造異常：陰性 ・染色体数的異常：陽性 (直接法：40.6 μg/mL: 出現頻度 6.0%、 60.9 μg/mL: 出現頻度 20.5%)	[redacted]	4.2.3.7.6-4

DMSO: Dimethyl sulfoxide

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.2　不純物のラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験

報告書の題名　：2-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of 物質A＊ Hydrochloride in Rats
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
物質A＊塩酸塩
動物種/系統　：ラット/SD
試験開始週齢　：6 週齢
初回投与年月日　：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日(雄)
20[redacted]年[redacted]月[redacted]日(雌)
投与期間　：2 週間
休薬期間　：なし
投与方法、投与速度　：静脈内、1 mL/分
溶媒/投与形態　：トロメタモール加塩化マグネシウム含有生理食塩液
試験番号　：[redacted]
資料番号　：4.2.3.7.6-1
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：－

被験物質	溶媒対照		AM-1977		AM-1977		AM-1977/物質A＊		AM-1977/物質A＊	
投与量 (mg/kg/日)	0		10		30		10/0.25		30/0.75	
投与液濃度 (mg/mL)	0[a]		1[b]		3[b]		1/0.025[c]		3/0.075[c]	
動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
途中死亡	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態										
着色尿 (淡赤色)	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
体重 (%[d])										
投与 14 日目	339 g	228 g	1	-2	0	-2	-1	-2	1	-3
摂餌量 (%[d])										
投与 14 日目	27.0 g	20.1 g	2	-1	4	-3	-4	-2	0	-4
眼科的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし
a: 溶媒の pH 及び浸透圧: pH 6.51~6.78、浸透圧 278~288 mOsm　　b: 投与液(AM-1977)の pH 及び浸透圧: pH 6.56~6.75、浸透圧 289~291 mOsm
c: 投与液(AM-1977/物質A＊　)の pH 及び浸透圧: pH 6.55~6.79、浸透圧 290~291 mOsm
d: 対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.2　不純物のラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

被験物質	溶媒対照		AM-1977		AM-1977		AM-1977/物質A＊		AM-1977/物質A＊	
投与量 (mg/kg/日)	0		10		30		10/0.25		30/0.75	
動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量 (%[a])										
盲腸(内容物有り：絶対重量)	3.41 g	2.31 g	+104**	+129**	+126**	+147**	+91*	+94**	+116**	+148**
盲腸(内容物有り：相対重量)	1.10 g%	1.09 g%	+103**	+135**	+127**	+151**	+95**	+100**	+114**	+154**
盲腸(内容物無し：絶対重量)	1.11 g	0.86 g	+57**	+47**	+53**	+47**	+37*	+23**	+61**	+45**
盲腸(内容物無し：相対重量)	0.36 g%	0.41 g%	+56**	+49**	+53**	+49**	+39*	+24**	+61**	+46**
病理組織学的検査										
尾(投与部位)										
痂皮形成	0	1	NE	NE	0	1	NE	NE	0	1
血栓	0	2	NE	NE	0	1	NE	NE	2	2
血管又は血管周囲の炎症	2	10	NE	NE	6	9	NE	NE	6	9
異物肉芽腫(静脈壁)	0	0	NE	NE	0	0	NE	NE	0	1

-：特記すべき所見なし　　NE：実施せず

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法)

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

2.6.7.17.2.3 不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書の題名 : Bacterial Reverse Mutation Test of 物質A＊ Hydrochloride
菌株 : *S.typhimurium* 及び *E.coli*
代謝活性化系 : PB 及び BF で誘導したラット肝 S9
溶媒 : DMSO (物質A＊ , AF-2, 9-AA, 2-AA), 注射用水 (NaN_3)
陽性対照 : AF-2, NaN_3, 9-AA, 2-AA
細胞毒性 : 菌の生育阻害あり
遺伝毒性 : なし

独立して実施した試験数 : 2
プレート数 : 1 枚(用量設定試験), 3 枚(本試験-1 及び 2)
分析細胞数/培養 : —
処理 : プレインキュベーション法、48 時間培養

被験物質 : 物質A＊ 塩酸塩
試験番号 : [redacted]
資料番号 : 4.2.3.7.6-2
GLP 適用 : 適

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	用量設定試験 – 復帰変異コロニー数				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	15	120	9	12	29
	物質A＊	0.00477	13	84	5	19	32
		0.0191	19	103*	5	22	31
		0.0763	23*	79*	2*	14*	31
		0.305	11*	16*	0*	14*	35
		1.22	0*	0*	0*	0*	0*
		4.88	0*	0*	0*	0*	0*
		19.5	0*	0*	0*	0*	0*
		78.1	0*	0*	0*	0*	0*
		313	0*	0*	0*	0*	0*
		1250†	0*	0*	0*	0*	0*
		5000†	0*	0*	0*	0*	0*
	陽性対照 a		460	556	344	197	128

*: 菌の生育阻害　†: プレート上の沈殿物

DMSO: Dimethyl sulfoxide　PB: Phenobarbital　BF: 5,6-benzoflavone
AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide　NaN_3: Sodium azide　9-AA: 9-Aminoacridine hydrochloride　2-AA: 2-Aminoanthracene
a: AF-2: 0.1 μg/plate(TA98), 0.01 μg/plate(TA100, WP2*uvrA*), NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535), 9-AA: 80 μg/plate(TA1537)

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.3　不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	用量設定試験 – 復帰変異コロニー数				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	25	76	9	20	27
	物質A＊	0.00477	16	94	7	16	32
		0.0191	21	79	8	18	30
		0.0763	30*	97*	9*	11*	21
		0.305	13*	25*	0*	5*	17
		1.22	0*	0*	0*	0*	0*
		4.88	0*	0*	0*	0*	0*
		19.5	0*	0*	0*	0*	0*
		78.1	0*	0*	0*	0*	0*
		313	0*	0*	0*	0*	0*
		1250†	0*	0*	0*	0*	0*
		5000†	0*	0*	0*	0*	0*
	陽性対照 [a]		420	680	169	105	624

*: 菌の生育阻害　　†: プレート上の沈殿物

DMSO: Dimethyl sulfoxide

a: 2-AA: 0.5 μg/plate(TA98), 1 μg/plate(TA100), 2 μg/plate(TA1535, TA1537), 10 μg/plate(WP2*uvrA*)

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.3　不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	本試験(1 回目) – 復帰変異コロニー数				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	14	106	6	11	23
	物質A＊	0.00049	NT	96	NT	NT	NT
		0.00098	NT	94	NT	NT	NT
		0.00195	15	93	4	15	NT
		0.00391	15	109	7	12	NT
		0.00781	15	96	6	10	NT
		0.0156	17	86*	5	14	NT
		0.0313	18	90*	5*	13*	20
		0.0625	13*	NT	3*	9*	23
		0.125	17*	NT	3*	9*	32
		0.25	NT	NT	NT	NT	34
		0.5	NT	NT	NT	NT	22*
		1	NT	NT	NT	NT	0*
		2	NT	NT	NT	NT	0*
	陽性対照 [a]		473	620	355	193	121

NT: 実施せず　　*: 菌の生育阻害

DMSO: Dimethyl sulfoxide

a: AF-2: 0.1 μg/plate(TA98), 0.01 μg/plate(TA100, WP2*uvrA*), NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535), 9-AA: 80 μg/plate(TA1537)

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.3　不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	本試験(1 回目) – 復帰変異コロニー数				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	23	87	7	15	22
	物質A＊	0.00195	25	94	7	19	NT
		0.00391	23	94	8	17	NT
		0.00781	25	93	7	16	NT
		0.0156	25	104	5	16	NT
		0.0313	23	88	5	18	18
		0.0625	21	94*	5*	16*	22
		0.125	23*	47*	3*	10*	32
		0.25	NT	NT	NT	NT	35
		0.5	NT	NT	NT	NT	26
		1	NT	NT	NT	NT	3*
		2	NT	NT	NT	NT	0*
	陽性対照 [a]		400	845	168	143	485

NT: 実施せず　　*: 菌の生育阻害

DMSO: Dimethyl sulfoxide

a: 2-AA: 0.5 μg/plate(TA98), 1 μg/plate(TA100), 2 μg/plate(TA1535, TA1537), 10 μg/plate(WP2*uvrA*)

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.3　　不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	本試験(2回目)– 復帰変異コロニー数				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	12	75	9	10	20
	物質A＊	0.00049	NT	79	NT	NT	NT
		0.00098	NT	83	NT	NT	NT
		0.00195	15	82	4	13	NT
		0.00391	14	83	5	9	NT
		0.00781	17	89	6	11	NT
		0.0156	18	88*	5	11	NT
		0.0313	15	79*	5*	12*	20
		0.0625	15*	NT	3*	13*	22
		0.125	14*	NT	3*	8*	27
		0.25	NT	NT	NT	NT	30
		0.5	NT	NT	NT	NT	22*
		1	NT	NT	NT	NT	0*
		2	NT	NT	NT	NT	0*
	陽性対照 [a]		501	472	325	207	103

NT: 実施せず　　*: 菌の生育阻害

DMSO: Dimethyl sulfoxide

a: AF-2: 0.1 μg/plate(TA98), 0.01 μg/plate(TA100, WP2*uvrA*), NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535), 9-AA: 80 μg/plate(TA1537)

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.3　　不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	本試験(2 回目) – 復帰変異コロニー数				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	21	78	8	14	25
	物質A＊	0.00195	29	84	10	13	NT
		0.00391	26	89	7	14	NT
		0.00781	24	88	8	15	NT
		0.0156	23	96	9	12	NT
		0.0313	28	105	9	18	24
		0.0625	32	89*	4*	20*	22
		0.125	29*	47*	4*	16*	33
		0.25	NT	NT	NT	NT	32
		0.5	NT	NT	NT	NT	32
		1	NT	NT	NT	NT	4*
		2	NT	NT	NT	NT	0*
	陽性対照 [a]		413	787	148	158	562

NT: 実施せず　　*: 菌の生育阻害

DMSO: Dimethyl sulfoxide

a: 2-AA: 0.5 μg/plate(TA98), 1 μg/plate(TA100), 2 μg/plate(TA1535, TA1537), 10 μg/plate(WP2*uvrA*)

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.4　不純物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

報告書の題名　：Chromosomal Aberration Study of　物質A＊　Hydrochloride in Cultured Mammalian Cells　　被験物質　：　物質A＊塩酸塩
系統　：CHL/IU 細胞(チャイニーズ・ハムスター肺由来)　　独立して実施した試験数　：1　　試験番号　：[redacted]
代謝活性化系　：PB 及び BF で誘導したラット肝 S9　　プレート数　：2 枚　　資料番号　：4.2.3.7.6-3
溶媒　：DMSO　　分析細胞数/培養　：200 個
陽性対照　：BP　　処理　：6 時間(代謝活性化あり/なし)　　GLP 適用　：適
24 時間(代謝活性化なし)
細胞毒性　：80 μg/mL (RPD 54.9%, S9 添加 6 時間処理), 60 μg/mL (RPD 56.7%, S9 非添加 6 時間処理), 35 μg/mL (RPD 54.9%, S9 非添加 24 時間処理),
遺伝毒性　：あり(染色体構造異常, 染色体数的異常)

代謝活性化	処理時間	被験物質	濃度 (μg/mL)	構造異常細胞の出現頻度 (平均%)	倍数体の出現数 (平均%)
代謝活性化あり	6 時間	陰性対照(DMSO)	0	0.5	1.5
		物質A＊	20	0.0	1.0
			40	1.0	1.0
			70	0.0	4.0
			80	1.0	6.0
		陽性対照(BP)	30	64.5**	1.5
代謝活性化なし	6 時間	陰性対照(DMSO)	0	2.0	0.0
		物質A＊	20	2.0	0.0
			40	6.5	16.0
			50	4.5	18.0
			60	9.0	23.0
代謝活性化なし	24 時間	陰性対照(DMSO)	0	1.5	0.0
		物質A＊	5	4.0	0.0
			15	6.0	0.0
			25	10.0	0.5
			30	10.0	7.5
			35	10.0	6.5

RPD: Relative population doubling (相対的細胞集団倍加)　　**: $p<0.01$ (Fisher 直接確率法)
DMSO: Dimethyl sulfoxide　PB: Phenobarbital　BF: 5,6-benzoflavone　BP: Benzo[a]pyrene

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.5　不純物のラット静脈内投与による骨髄小核試験

報告書の題名　：2-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of　物質A＊　Hydrochloride in Rats

被験物質　：AM-1977 塩酸塩
物質A＊ 塩酸塩

動物種/系統　：雄性ラット/SD
試験開始週齢　：6 週齢
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
(CP 群：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日)
特記事項　：なし
毒性/細胞毒性　：なし
遺伝毒性　：なし
曝露証明　：なし (濃度確認により判定基準に適合した調製物を用い、個体ごとに直近の体重をもとに算出した液量を静脈内投与した。)

投与期間　：2 週間 (CP 群：単回)
検査時期　：投与期間終了の剖検時
(CP 群：投与後 24~25 時間)
投与方法、投与速度　：静脈内、1 mL/分 (CP 群：強制経口)
溶媒/投与形態　：トロメタモール加塩化マグネシウム含有生理食塩液 (CP 群：注射用水)
分析細胞数/培養　：2000 個

試験番号　：[redacted]
資料番号　：4.2.3.7.6-1
GLP 適用　：適

被験物質	投与量 (mg/kg/日)	動物数	小核を有する多染性赤血球(%) 平均± S.D.	多染性赤血球(%) 平均± S.D.
溶媒対照	0	5	0.21 ± 0.11	53.8 ± 7.3
AM-1977	10	5	0.21 ± 0.05	53.2 ± 11.2
	30	5	0.20 ± 0.10	50.7 ± 7.2
AM-1977/物質A＊	10/0.25	5	0.27 ± 0.10	53.4 ± 4.0
	30/0.75	5	0.20 ± 0.09	50.0 ± 7.6
CP	15	5	1.58 ± 0.46**	29.1 ± 6.0§§

**: $p<0.01$ (Fisher 直接確率法)　　§§: $p<0.01$ (Student の t 検定)
CP: Cyclophosphamide

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17.2.6　不純物の *gpt* delta ラットを用いる *in vivo* 遺伝子突然変異試験

報告書の題名　：　物質A＊　塩酸塩の *gpt* delta ラットを用いる遺伝子変異試験
被験物質　：　物質A＊塩酸塩
動物種/系統　：雄性ラット/ F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)
投与期間　：28 日間
試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：10 週齢
発現期間　：最終投与後 3 日
資料番号　：4.2.3.7.6-5
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
投与方法　：静脈内、1 mL/分 (陽性対照は経口)
陽性対照　：ENU
溶媒/投与形態　：塩化マグネシウム含有生理食塩液/溶液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
分析細胞数/培養　：タイター値 100 万以上
毒性/細胞毒性　：なし
遺伝毒性　：なし
曝露証明　：なし (濃度確認により判定基準に適合した調製物を用い、個体ごとに直近の体重をもとに算出した液量を静脈内投与した。)

被験物質	投与量 (mg/kg/日)	動物数	突然変異体頻度($\times 10^{-6}$)、平均± S.D.	
			肝臓	骨髄
溶媒対照	0	5	0.95 ± 0.96	1.30 ± 0.80
物質A＊	2.5	5	0.30 ± 0.29	1.20 ± 0.74
	5	5	1.07 ± 0.42	1.42 ± 0.65
	10	5	1.14 ± 0.99	0.58 ± 0.62
ENU	10	5	10.97 ± 4.11**	114.14 ± 44.72**

**：$p<0.01$ (Aspin-Welch の t 検定)
ENU：*N*-Ethyl-*N*-nitrosourea

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.18 参考文献

1) 厚生省．注射剤の局所障害性に関する試験法(案)．医薬ジャーナル．1979;15(3):447-449 [資料番号 4.3-1]