グラアルファ配合点眼液

第２部（モジュール２）

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

興和株式会社

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.1.1 局所刺激性試験 4
2.6.6.1.1.1 ウサギ眼粘膜一次刺激性試験 4
2.6.6.1.1.2 ウサギ眼粘膜累積刺激性試験 5
2.6.6.1.2 その他の毒性試験 5
2.6.6.1.2.1 不純物の毒性試験 5
2.6.6.1.2.2 ウサギ充血評価試験 5
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 6
2.6.6.7.1 ウサギ眼粘膜一次刺激性試験 6
2.6.6.7.2 ウサギ眼粘膜累積刺激性試験 6
2.6.6.8 その他の毒性試験 7
2.6.6.8.1 不純物の毒性試験 7
2.6.6.8.1.1 (Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価 7
2.6.6.8.2 ウサギ充血評価試験 7
2.6.6.9 考察及び結論 8
2.6.6.10 図表 8

2.6.6 毒性試験の概要文

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
AMES 試験	-	細菌を用いた復帰突然変異試験
Impurity G	[redacted]	-
(Q)SAR	(Quantitative) Structure-activity relationship	（定量的）構造活性相関
ブリモニジン点眼液	-	ブリモニジン酒石酸塩点眼液
リパスジル点眼液 [a]	-	リパスジル塩酸塩水和物点眼液

-: 該当なし

a: 点眼液の濃度はリパスジルとしての濃度を記載

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩配合点眼液（リパスジル 0.4%/ブリモニジン酒石酸塩 0.1%配合）（以下、本剤）は、緑内障及び高眼圧症治療を目的とした配合点眼液である。リパスジル塩酸塩水和物又はブリモニジン酒石酸塩を有効成分とする点眼剤は国内で上市されており、両点眼剤の安全性は既に評価されている。

本剤は「臨床での十分な併用投与経験がある後期開発ステージの 2 つの被験薬による配合剤」であり、「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（平成 22 年 2 月 19 日、薬食審査発 0219 第 4 号）」に従うと非臨床安全性試験の実施は不要であったが、局所刺激性については製剤ごとに確認が必要と判断したため、ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験及び眼粘膜累積刺激性試験を実施した。また、リパスジル点眼液 0.4%の副作用として充血が認められるため、ウサギを用いた充血評価試験を実施した。また、「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン（平成 30 年 6 月 27 日、薬食審査発 0627 第 1 号）」に基づいて、相補的な 2 種類の(Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価を実施した。表 2.6.6-1 に毒性試験プログラムを示した。

表 2.6.6-1 毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	GLP 適用
局所刺激性試験			
眼粘膜一次刺激性試験	点眼	ウサギ	適
眼粘膜累積刺激性試験	点眼	ウサギ	適
その他毒性試験			
不純物の毒性試験			
(Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価	-	-	非適
充血評価試験	点眼	ウサギ	非適

-: 該当なし

2.6.6.1.1 局所刺激性試験

2.6.6.1.1.1 ウサギ眼粘膜一次刺激性試験

本剤をウサギに 2 回/日又は 8 回/日点眼投与し眼粘膜に対する一次刺激性を評価した。その結果、前眼部刺激性の観察では、2 回/日、8 回/日点眼投与共に、投与後 1 時間に結膜の発赤が 4 例で認められたが、それ以降の観察では消失し、眼粘膜刺激性は「実際上刺激性なし」に分類された。また、特記すべき瞬目反応や角膜上皮障害は認められなかった。

2.6.6.1.1.2 ウサギ眼粘膜累積刺激性試験

本剤をウサギに 2 週間（4 回/日）反復点眼投与し、眼粘膜に対する累積刺激性を評価した。その結果、前眼部刺激性の観察では、投与期間を通して結膜の発赤が認められたが、累積刺激性は認められなかった。また、特記すべき瞬目反応の異常や角膜上皮障害は認められず、眼球（含．視神経）及び眼球付属器に対する器質的変化も認められなかった。

2.6.6.1.2 その他の毒性試験

2.6.6.1.2.1 不純物の毒性試験

(1) (Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価

本剤の実際の分解生成物である Impurity G を対象とし、相補的な 2 種類の(Q)SAR 法を用いて不純物の変異原性評価を実施した結果、クラス 4 に分類され非変異原性不純物と判断した。

2.6.6.1.2.2 ウサギ充血評価試験

本剤をウサギに 2 回/日点眼投与し、眼球結膜に対する充血誘発作用を評価した。その結果、1 回目の点眼投与では、投与後 5 分に「数本の血管拡張」又は「多数の血管拡張」が認められたが、その後は時間とともに弱まり、「多数の血管拡張」は投与後 15 分までに、「数本の血管拡張」は投与後 180 分までに消失した。2 回目の点眼投与では、投与後 5 分に「数本の血管拡張」が認められたが、その後は時間とともに弱まり、投与後 120 分までに消失した。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

該当なし。

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）

該当なし。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

該当なし。

2.6.6.5 がん原性試験

該当なし。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

該当なし。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 ウサギ眼粘膜一次刺激性試験

［資料 4.2.3.6-1］

本剤を 5 例の雄性白色ウサギに 2 回/日（4 時間間隔、左眼）又は 8 回/日（1 時間間隔、右眼）点眼投与し、眼粘膜に対する一次刺激性を評価した。また、比較対照としてブリモニジン点眼液 0.1%の単独投与群、ブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与群を設け、同様に評価した。

本剤を 2 回/日点眼投与した時の前眼部刺激性の観察では、投与後 1 時間に結膜の発赤が 4 例で認められたが、それ以降の観察では消失し、眼粘膜刺激性は「実際上刺激性なし」に分類された。また、瞬目反応の観察及び角膜上皮障害性の観察では特記すべき所見は認められなかった。本剤を 8 回/日点眼投与した時の前眼部刺激性の観察では、投与後 1 時間に結膜の発赤が 4 例で認められたが、それ以降の観察では消失し、眼粘膜刺激性は「実際上刺激性なし」に分類された。また、瞬目反応の観察及び角膜上皮障害性の観察では特記すべき所見は認められなかった。なお、ブリモニジン点眼液 0.1%の単独投与の眼粘膜刺激性は 2 回/日、8 回/日点眼投与共に「刺激性なし」に分類された。また、ブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与の眼粘膜刺激性は 2 回/日、8 回/日点眼投与共に「実際上刺激性なし」に分類された。

以上の結果から、本剤ではリパスジル塩酸塩水和物の薬理作用に基づく結膜の発赤が投与後 1 時間に認められたが、それ以降の観察では消失し、眼粘膜刺激性はブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与と同じ「実際上刺激性なし」に分類された。また、瞬目反応の観察及び角膜上皮障害性の観察では、特記すべき所見が認められないことが確認された。

2.6.6.7.2 ウサギ眼粘膜累積刺激性試験

［資料 4.2.3.6-2］

本剤を 5 例の雄性白色ウサギに 2 週間反復点眼投与［4 回/日（2 時間間隔）、右眼］し、眼粘膜に対する累積刺激性を評価した。また、対照として本剤のプラセボ点眼液を同様に点眼投与した。

前眼部刺激性の観察では、投与期間を通じて 3～5 例に結膜の発赤が認められたが、投与期間に応じた評点の増加は認められなかった。瞬目反応の観察及び角膜上皮障害性の観察では、いずれの期間も特記すべき所見は認められなかった。眼球（含．視神経）及び眼球付属器（ハーダー腺、眼瞼、涙腺、瞬膜）の病理学的検査では、いずれの動物にも特記すべき所見は認められなかった。

以上の結果から、本剤では投与期間を通じてリパスジル塩酸塩水和物の薬理作用に基づく結膜の発赤が認められたが、累積刺激性はないと判断した。また、本剤の 2 週間の反復投与でも、特記すべき瞬目反応の異常や角膜上皮障害は認められず、眼球（含．視神経）及び眼球付属器に対する器質的変化も認められないことが確認された。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 不純物の毒性試験

2.6.6.8.1.1 (Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価

［資料 4.2.3.7.6-1］

本剤を対象とし、「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン（平成 30 年 6 月 27 日、薬食審査発 0627 第 1 号）」に基づいて、(Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価を実施した。ソフトウェアは [redacted]を使用し、専門的経験に基づくルールベースの方法は [redacted]を、統計ベースの方法は [redacted]を用いた。

その結果、本剤の実際の分解生成物である Impurity G では、[redacted]、[redacted]共に Inconclusive の判定であり、変異原性の懸念を示唆する結果が得られたが、AMES 試験結果が陰性であることが確認されているブリモニジン原薬又は類似化合物と同じ警告構造であったことから、クラス 4 に分類し非変異原性不純物と判断した。

2.6.6.8.2 ウサギ充血評価試験

［資料 4.2.3.7.7-1］

本剤を 5 例の雄性白色ウサギに 2 回/日（4 時間間隔、左眼）点眼投与し、眼球結膜に対する充血誘発作用を評価した。また、比較対照として、リパスジル点眼液 0.4%の単独投与群、ブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与群を設け、同様に評価した。

本剤の 1 回目の点眼投与では、投与後 5 分に「数本の血管拡張」又は「多数の血管拡張」が認められたが、その後は時間とともに弱まり、「多数の血管拡張」は投与後 15 分までに、「数本の血管拡張」は投与後 180 分までに消失した。本剤の 2 回目の点眼投与では、投与後 5 分に「数本の血管拡張」が認められたが、その後は時間とともに弱まり、投与後 120 分までに消失した。リパスジル点眼液 0.4%の単独投与と比較すると、臨床で充血と判断される「数本の血管拡張」が消失するまでの時間が延長したが、最大の平均評点は同程度であった。ブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与と比較すると、眼球結膜の充血の平均評点の推移はおおむね同じであった。

以上の結果から、本剤の充血の発現時間はリパスジル点眼液 0.4%よりわずかに延長する可能性が示唆されたが、充血の程度の増強はないこと、本剤の充血の発現推移はブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与とおおむね同じであることが確認された。

2.6.6.9 考察及び結論

本剤は「臨床での十分な併用投与経験がある後期開発ステージの 2 つの被験薬による配合剤」であり、「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（平成 22 年 2 月 19 日、薬食審査発 0219 第 4 号）」に従うと非臨床安全性試験の実施は不要であったが、局所刺激性については製剤ごとに確認が必要と判断したため、ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験及び眼粘膜累積刺激性試験を実施した。また、リパスジル点眼液 0.4%の副作用として充血が認められるため、ウサギを用いた充血評価試験を実施した。また、本剤の不純物について(Q)SAR 法を用いた変異原性評価を実施した。

本剤を白色ウサギに 2 回/日又は 8 回/日点眼投与し眼粘膜に対する一次刺激性を評価した結果、薬理作用に基づく一過性の結膜の発赤のみが認められ、眼粘膜刺激性はブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与と同じ「実際上刺激性なし」に分類された。また、瞬目反応の観察及び角膜上皮障害性の観察でも特記すべき所見は認められなかった。本剤を白色ウサギに 2 週間（4 回/日）反復点眼投与し、眼粘膜に対する累積刺激性を評価した結果、累積刺激性はないこと、特記すべき瞬目反応の異常や角膜上皮障害がないこと、眼球（含．視神経）及び眼球付属器（ハーダー腺、眼瞼、涙腺、瞬膜）の病理学的検査でも特記すべき所見がないことが確認された。以上の結果から、本剤の臨床使用で眼局所刺激性が問題となる可能性は低いと判断した。

本剤を白色ウサギに 2 回/日点眼投与し、眼球結膜に対する充血誘発作用を評価した結果、「数本の血管拡張」又は「多数の血管拡張」が認められたが、その後は時間とともに弱まり、「多数の血管拡張」は遅くても投与後 15 分までに、「数本の血管拡張」は遅くても投与後 180 分までに消失した。また、充血の程度及び発現時間は、ブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与とおおむね同じであったことから、本剤の臨床使用で充血が重篤な副作用に至ることはないと判断した。

本剤の実際の分解生成物である Impurity G について、(Q)SAR 法を用いた変異原性評価を実施した結果、クラス 4 に分類され、非変異原性不純物と判断した。

以上より、本剤の臨床使用では、眼局所での一過性の充血の発現が考えられるが、臨床上問題となるような副作用が発現する可能性は低いと判断した。

2.6.6.10 図表

表は本文中の適切な場所に記載した。

グラアルファ配合点眼液

第２部（モジュール２）

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

興和株式会社

目次

2.6.7 毒性試験概要表 4
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 8
2.6.7.13 生殖発生毒性試験: 胚 · 胎児発生に関する試験 8
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
2.6.7.16.1 ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験 9
2.6.7.16.2 ウサギを用いた眼粘膜累積刺激性試験 10
2.6.7.17 その他の毒性試験 11
2.6.7.17.1 不純物の毒性試験 11
2.6.7.17.1.1 (Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価 11
2.6.7.17.2 ウサギを用いた充血評価試験 12

略語・略号一覧

略語・略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
Impurity G	[redacted]	-
(Q)SAR	(Quantitative) Structure-activity relationship	（定量的）構造活性相関
ブリモニジン点眼液	-	ブリモニジン酒石酸塩点眼液
リパスジル点眼液 [a]	-	リパスジル塩酸塩水和物点眼液

-: 該当なし

a: 点眼液の濃度はリパスジルとしての濃度を記載

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験: 一覧表

被験物質: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
局所刺激性試験								
眼粘膜一次刺激性試験	ウサギ/JW	点眼	1 日間	K-232 (2 回/日又は 8 回/日)[a]	適	興和株式会社	G6601	4.2.3.6-1
眼粘膜累積刺激性試験	ウサギ/JW	点眼	14 日間	プラセボ(4 回/日), K-232 (4 回/日)	適	興和株式会社	G6602	4.2.3.6-2
その他の毒性試験								
不純物の毒性試験	*In silico*[b]	-	-	-	非適	興和株式会社	E20[redacted]/6616	4.2.3.7.6-1
充血評価試験	ウサギ/JW	点眼	1 日間	K-232 (2 回/日)[c]	非適	興和株式会社	T20[redacted]/6601	4.2.3.7.7-1

-: 該当なし

K-232: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩配合点眼液（リパスジル 0.4%/ブリモニジン酒石酸塩 0.1%配合）

プラセボ: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩配合点眼液プラセボ

a: 比較対照として、ブリモニジン点眼液 0.1%単独投与、ブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与を設定

b: 相補的な 2 種類の(Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価

c: 比較対照として、リパスジル点眼液 0.4%単独投与、ブリモニジン点眼液 0.1%とリパスジル点眼液 0.4%の併用投与を設定

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

該当なし。

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

該当なし。

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩

ロット番号	点眼液濃度	リパスジル			ブリモニジン酒石酸塩			試験番号	試験の種類
		含量 (%)	不純物の規格 (%)		含量 (%)	不純物の規格 (%)			
			個々の類縁物質	総類縁物質		個々の類縁物質	総類縁物質		
申請規格:	RIP0.4% /BMD0.1%	95.0-107.0	≤ 0.625	≤ 3.0	95.0-107.0	≤ 1.0	≤ 3.0	-	-
[redacted]	RIP0.4% /BMD0.1%	98.4	未測定	未測定	98.5	未測定	未測定	G6601	眼粘膜一次刺激性試験
								G6602	眼粘膜累積刺激性試験
								T20[redacted]/6601	充血評価試験

-: 該当なし

RIP: リパスジル

BMD: ブリモニジン酒石酸塩

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当なし。

2.6.7.6 反復投与毒性試験: 重要な試験以外の試験

該当なし。

2.6.7.7 反復投与毒性試験: 重要な試験

該当なし。

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

該当なし。

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

該当なし。

2.6.7.10 がん原性試験

該当なし。

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

該当なし。

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当なし。

2.6.7.16 局所刺激性試験

2.6.7.16.1 ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

被験物質: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩

動物種/系統	投与方法 [a]	性別及び一群の動物数	被験物質/対照物質	瞬目反応の観察				前眼部刺激性の観察						角膜上皮障害性の観察 [f]	試験番号(記載箇所)
				平均瞬目回数(回/分)		半眼 [c]	閉眼 [c]	MTS[d]				MMTS[d]	眼粘膜刺激性の分類 [e]		
				投与前	投与後 [b]			投与後時間 [b](h)							
								1	24	48	72				
ウサギ/JW	点眼(2 回/日, 1 日間)	雄: 5	ブリモニジン点眼液 0.1%	0.6	3.0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	刺激性なし	-	G6601 (4.2.3.6-1)
		雄: 5	ブリモニジン点眼液 0.1% + リパスジル点眼液 0.4%	0.6	1.6	0	0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.8	実際上刺激性なし	-	
		雄: 5	K-232	0.6	1.4	0	0	1.6	0.0	0.0	0.0	1.6	実際上刺激性なし	-	
	点眼(8 回/日, 1 日間)	雄: 5	ブリモニジン点眼液 0.1%	0.8	0.6	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	刺激性なし	-	
		雄: 5	ブリモニジン点眼液 0.1% + リパスジル点眼液 0.4%	0.6	1.0	0	0	1.6	0.0	0.0	0.0	1.6	実際上刺激性なし	-	
		雄: 5	K-232	0.4	1.4	0	0	1.6	0.0	0.0	0.0	1.6	実際上刺激性なし	-	

-: 特記すべき所見なし

K-232: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩配合点眼液（リパスジル 0.4%/ブリモニジン酒石酸塩 0.1%配合）

MTS (Mean total score): 合計評点の群平均

MMTS (Maximum mean total score): MTS の最大値

a: 2 回/日点眼投与は 50 μL/眼/回を 4 時間間隔で左眼に点眼投与、8 回/日点眼投与は 50 μL/眼/回を 1 時間間隔で右眼に点眼投与、併用投与はブリモニジン点眼液 0.1%を点眼投与後 5 分にリパスジル点眼液 0.4%を点眼投与

b: 2 回/日点眼投与は 2 回目投与後、8 回/日点眼投与は 8 回目投与後

c: 発現例数を記載

d: Draize の基準に従い評点化

e: Kay and Calandra の基準に従い分類

f: Hickey らの評価法で評価

2.6.7.16.2 ウサギを用いた眼粘膜累積刺激性試験

被験物質: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩

動物種/系統	投与方法[a]	性別及び一群の動物数	被験物質/対照物質	瞬目反応の観察[b]												前眼部刺激性の観察[d]					角膜上皮障害性の観察[f]				病理組織学的検査[g]	試験番号(記載箇所)
				平均瞬目回数(回/分)				半眼[c]				閉眼[c]				MTS[e]										
				相対日				相対日				相対日				相対日					相対日					
				P	1	7	14	P	1	7	14	P	1	7	14	1	2-6	7	8-13	14	P	1	7	14		
ウサギ/JW	点眼(4 回/日, 14 日間)	雄: 5	プラセボ	1.0	0.8	1.8	3.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	-	-	-	G6602 (4.2.3.6-2)
		雄: 5	K-232	1.0	1.0	1.4	1.4	0	0	0	0	0	0	0	0	1.6	1.6-2.0	1.6	1.2-1.6	1.2	-	-	-	-	-	

-: 特記すべき所見なし
K-232: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩配合点眼液（リパスジル 0.4%/ブリモニジン酒石酸塩 0.1%配合）
プラセボ: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩配合点眼液プラセボ
MTS (Mean total score): 合計評点の群平均
P (Pre): 投与前検査

a: 50 µL/眼/回を右眼に 1 日 4 回（2 時間間隔）、14 日間反復点眼投与
b: 4 回目投与後に観察
c: 発現例数を記載
d: 4 回目投与後 1 時間に観察
e: Draize の基準に従い評点化
f: Hickey らの評価法で評価
g: 眼球（含．視神経）、ハーダー腺、眼瞼、涙腺、瞬膜を観察

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 不純物の毒性試験

2.6.7.17.1.1 (Q)SAR 法を用いた不純物の変異原性評価

被験物質: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩

(Q)SAR ソフトウェア	評価対象不純物	クラス分類	試験番号 (記載箇所)
[redacted] 専門的経験に基づくルールベース: [redacted] 統計ベース [redacted]	製剤 (K-232) Impurity G	クラス 1 該当なし クラス 2 該当なし クラス 3 該当なし クラス 4 Impurity G クラス 5 該当なし	E20[redacted]/6616 (4.2.3.7.6-1)

K-232: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩配合点眼液（リパスジル 0.4%/ブリモニジン酒石酸塩 0.1%配合）

2.6.7.17.2 ウサギを用いた充血評価試験

被験物質: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩

動物種/系統	投与方法[a]	性別及び一群の動物数	被験物質/対照物質	評価項目	投与後時間(分)															試験番号(記載箇所)
					1 回目点眼投与								2 回目点眼投与							
					Pre	5	15	30	60	90	120	180	Pre	5	15	30	60	90	120	180	
ウサギ/JW	点眼(2 回/日, 1 日間)	雄: 5	ブリモニジン点眼液 0.1% + リパスジル点眼液 0.4%	眼球結膜の充血(平均評点)[b]	0.0	2.4	2.4	1.8	1.8	1.4	1.2	0.8	0.2	2.2	2.0	1.4	1.2	1.0	0.6	0.0	T20[redacted]/6601 (4.2.3.7.7-1)
				評点 2 以上の発現率(%)	0	100	100	80	80	40	20	0	0	100	80	40	20	0	0	0	
				評点 3 以上の発現率(%)	0	40	40	0	0	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	0	
				評点 4 以上の発現率(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		雄: 5	リパスジル点眼液 0.4%	眼球結膜の充血(平均評点)[b]	0.0	2.4	2.2	1.6	1.2	0.8	0.6	0.2	0.0	2.6	2.4	1.4	0.8	0.4	0.4	0.0	
				評点 2 以上の発現率(%)	0	100	100	60	40	0	0	0	0	100	100	40	0	0	0	0	
				評点 3 以上の発現率(%)	0	40	20	0	0	0	0	0	0	60	40	0	0	0	0	0	
				評点 4 以上の発現率(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		雄: 5	K-232	眼球結膜の充血(平均評点)[b]	0.0	2.4	1.8	1.8	1.8	1.6	1.4	0.8	0.6	2.0	2.0	1.8	1.6	1.2	0.8	0.4	
				評点 2 以上の発現率(%)	0	100	80	80	80	60	40	0	0	100	100	80	60	20	0	0	
				評点 3 以上の発現率(%)	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				評点 4 以上の発現率(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

K-232: リパスジル塩酸塩水和物/ブリモニジン酒石酸塩配合点眼液（リパスジル 0.4%/ブリモニジン酒石酸塩 0.1%配合）

P (Pre): 投与前検査

a: 50 μL/眼/回を 4 時間間隔で左眼に点眼投与、併用投与はブリモニジン点眼液 0.1%を点眼投与後 5 分にリパスジル点眼液 0.4%を点眼投与

b: 観察時間ごとに評点［0 点（血管拡張なし）、1 点（わずかな血管拡張を認めるが生理的な変化）、2 点（数本の血管拡張）、3 点（多数の血管拡張）、4 点（全体の血管拡張）］をつけ、各群の平均評点を算出