第 2 部　CTD の概要
一般名：アルチカイン塩酸塩・アドレナリン酒石酸水素塩
版番号：1.2

2.4　非臨床試験の概括評価

セプトカイン配合注カートリッジ

目次

目次 2
略語及び専門用語一覧表 4
2.4.1 **非臨床試験計画概略** 5
2.4.2 **薬理試験** 7
2.4.2.1 **まとめ** 7
2.4.2.1.1 効力を裏付ける試験：「歯科領域における浸潤麻酔又は伝達麻酔」を適応症とする承認申請に関連した薬理作用 7
2.4.2.1.1.1 *In vitro* 試験 7
2.4.2.1.1.2 *In vivo* 試験 7
2.4.2.1.2 副次的薬理試験：アルチカインのその他の薬理作用 8
2.4.2.1.2.1 心臓に対する作用 8
2.4.2.1.2.2 血圧に対する作用 8
2.4.2.1.2.3 筋組織に対する作用 8
2.4.2.1.2.4 心血管系、中枢神経系及び呼吸系に対する本剤の影響 9
2.4.2.1.3 薬力学的薬物相互作用 10
2.4.2.2 **アドレナリンの薬理作用** 10
2.4.3 **薬物動態試験** 11
2.4.3.1 **アルチカインの薬物動態** 11
2.4.3.1.1 吸収 11
2.4.3.1.2 分布 11
2.4.3.1.3 代謝 12
2.4.3.1.3.1 *In vitro* 代謝 12
2.4.3.1.3.2 *In vivo* 代謝 12
2.4.3.1.4 排泄 12
2.4.3.2 **アドレナリンの薬物動態** 12
2.4.3.3 **アドレナリン含有アルチカインの薬物動態** 13
2.4.3.3.1 吸収 13
2.4.3.3.2 分布 13
2.4.3.3.3 代謝 13
2.4.3.3.4 排泄 14
2.4.4 **毒性試験** 15
2.4.4.1 **アルチカインの毒性** 15
2.4.4.1.1 単回投与毒性 15
2.4.4.1.1.1 LD_{50} の検討 15
2.4.4.1.1.2 アルチカイン単回投与に関連した症状 17
2.4.4.1.1.3 アルチカインによる死亡の原因 17
2.4.4.1.2 反復投与毒性 17
2.4.4.1.2.1 静脈内投与亜急性毒性 17
2.4.4.1.2.2 筋肉内投与亜急性毒性 17
2.4.4.1.2.3 皮下投与亜急性毒性 18
2.4.4.1.3 遺伝毒性 18

2.4.4.1.3.1　*In vitro* 試験 18
2.4.4.1.3.2　*In vivo* 試験 19
2.4.4.1.4　がん原性試験 19
2.4.4.1.5　生殖発生毒性試験 19
2.4.4.1.5.1　受胎能試験 19
2.4.4.1.5.2　胚・胎児毒性及び催奇形性誘発能 19
2.4.4.1.5.3　出生前及び出生後の毒性 20
2.4.4.1.6　投与部位の忍容性 20
2.4.4.2　アドレナリンの毒性 20
2.4.4.2.1　単回投与毒性 20
2.4.4.2.2　反復投与毒性 21
2.4.4.2.3　遺伝毒性 22
2.4.4.2.4　がん原性 22
2.4.4.2.5　生殖発生毒性 22
2.4.4.2.5.1　受胎能試験 22
2.4.4.2.5.2　胎児毒性及び催奇形性 23
2.4.4.2.5.3　出生前及び出生後毒性 23
2.4.4.2.6　その他の試験 23
2.4.4.2.6.1　単回急性毒性試験 24
2.4.4.2.6.2　*In vitro* 遺伝毒性試験 24
2.4.4.3　アルチカイン及びアドレナリンの毒性 24
2.4.4.3.1　単回投与毒性 24
2.4.4.3.1.1　LD_{50} 中央値 24
2.4.4.3.1.2　皮下投与後の安全用量 25
2.4.4.3.1.3　アルチカインの単回投与に関連した症状 25
2.4.4.3.2　反復投与毒性 25
2.4.4.3.3　遺伝毒性 26
2.4.4.3.4　がん原性 27
2.4.4.3.5　生殖発生毒性 27
2.4.4.3.5.1　受胎能試験 27
2.4.4.3.5.2　胚胎児毒性及び催奇形性 27
2.4.4.3.5.3　周産期毒性 27
2.4.4.3.6　投与部位の忍容性 28
2.4.4.4　添加剤の毒性 28
2.4.6　参考文献一覧 30

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
ALT	Alanine Aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the plasma concentration　time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積
CHO	Chinese Hamster Ovary：チャイニーズハムスター卵巣（細胞）
C_{max}	Maximum Concentration：最高血漿中濃度
COMT	Catechol-*O*-Methyltransferase：カテコール-*O*-メチルトランスフェラーゼ
DNA	Deoxyribonucleic Acid：デオキシリボ核酸
GLP	Good Laboratory Practices：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
HPLC	High Performance Liquid Chromatography：高速液体クロマトグラフィー
LD_{50}	Median Lethal Dose：50%致死量
MAO	Monoamine Oxidase：モノアミン　オキシダーゼ
PF	Purkinje Fibre：プルキンエ線維
SS	Steady-State：定常状態
UV	Ultraviolet：紫外線
VM	Ventricular Muscle：心室筋
Vmax	Maximal rate of depolarisation：最大脱分極速度

2.4.1　非臨床試験計画概略

本製剤は、歯科領域及び口腔外科領域における浸潤麻酔又は伝達麻酔を効能とする局所麻酔剤である。本製剤は歯科で広く用いられているアルチカイン塩酸塩及びアドレナリンを含有する（図 2.4.1-1）。本製剤の投与方法は口腔内での浸潤及び神経周囲への使用である。

アルチカイン塩酸塩は 1970 年代後半にドイツで臨床に導入され、その後欧州全域及びカナダで、又 2000 年以降には米国で市販された。

本製剤は有効成分としてアドレナリン酒石酸水素塩を含有する。

アドレナリンの塩であるアドレナリン酒石酸水素塩は製造過程での量表示の点では使い易いが、用量を示す場合はアドレナリン塩基として示す方が都合がよい。したがって、本概要で示すアドレナリンの含量は全てアドレナリン塩基で示す。

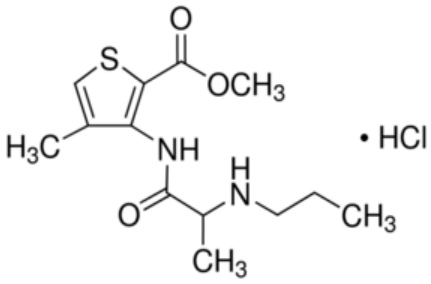
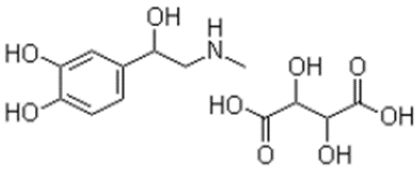
このため、アドレナリン 1:100 000 は注射液 100 mL に 1.0 mg のアドレナリン塩基を含有し、これはアドレナリン酒石酸水素塩 1.8 mg に相当する。

また、アドレナリン 1:200 000 は注射液 100 mL に 0.5 mg のアドレナリン塩基を含有し、これはアドレナリン酒石酸水素塩 0.9 mg に相当する。

現在、本製剤は世界の 60 カ国以上、欧州の 20 カ国以上において多くの商品名で市販されている。

本非臨床概括評価ではアルチカイン及びアドレナリンについて利用可能な非臨床試験成績を示し、本剤の薬理作用及び薬物動態について要約し、毒性の可能性について評価した。

図 2.4.1-1　　アルチカイン塩酸塩及びアドレナリン酒石酸水素塩の構造式

化学構造	化合物名
	Articaine hydrochloride
	Epinephrine Bitartrate

アルチカインは他のアミド系局所麻酔薬と共通した作用機序により神経伝導を可逆的に遮断する。この作用機序は通常膜の軽度脱分極により生じるナトリウム（Na^+）に対する興奮性膜の一過性の透過性亢進を低下又は抑制することである（Goodman and Gilman's 2011）。血管

収縮薬との併用なし又はアドレナリンとの併用時のアルチカインの局所麻酔作用は数種類の動物種（ラット、モルモット、ウサギ、ネコ及びイヌ）において *in vitro* 及び *in vivo* で詳細に検討されている。

アドレナリンは血管収縮作用を有することからアルチカイン液に添加し、アルチカインの全身吸収を遅くし、組織で薬物の治療濃度を維持することを担保している。

本製剤の開発中、動物での粘膜下投与は特にラットなどの小動物では実施できなかったので皮下投与を臨床で実施される粘膜下投与（浸潤及び神経周囲への使用）の代わりとみなした。臨床において歯科用麻酔薬を不注意により静脈内投与する危険性があるので、安全性のために静脈内投与経路についても文献データで調べた。

アルチカインの薬物動態学的パラメータはラット、イヌ、モルモット及びミニブタに静脈内、皮下又は筋肉内への単回投与後に測定した。アドレナリンの薬物動態学的性質は公表されている。またアドレナリンと併用した場合のアルチカインの主要な薬物動態学的性質も報告されている。

アルチカイン及び最終製剤の毒性学的プロフィルは以下の 6 つの主要部分で記載している：（1） 単回投与毒性、（2） 反復投与毒性、（3） 遺伝毒性、（4） がん原性、（5） 生殖発生毒性、（6） 投与部位の忍容性。試験はマウス、ラット、イヌ及びウサギを用いて皮下投与により実施した。投与部位の忍容性試験のみはモルモットを用いて局所投与及び皮内投与により評価した。毒性試験のいくつかは約 40 年前に実施されたので、現在の「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準」（GLP）を完全には遵守していない。しかし、アルチカインの毒性学的プロフィルを十分に把握するために自社内で実施した追加試験でアルチカインの臨床使用に関して安全性の懸念がないことが確認された。

アドレナリンの潜在的な毒性については文献に詳細に記載されている。しかし、アドレナリンの分解生成物について自社内で実施した追加試験はここで要約する。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　まとめ

アルチカインの局所麻酔作用は種々の動物種できわめて詳細に研究されている。したがって、申請者は今回承認申請を行う本剤の適応症に関してアルチカインの薬力学的作用を検討するために *in vitro* 又は動物試験を追加する必要はないと判断した。ここでは公表されている結果だけを記載した。

2.4.2.1.1　効力を裏付ける試験：「歯科領域における浸潤麻酔又は伝達麻酔」を適応症とする承認申請に関連した薬理作用

アルチカインで実施された *in vitro* 及び *in vivo* 試験において局所麻酔薬でよく知られている神経の脱分極抑制機序が確認された。

2.4.2.1.1.1　*In vitro* 試験

アルチカイン（0.1、0.2、0.5 及び 1.0 mM）のウサギ無髄神経に対する作用をリドカイン（0.1、0.2、0.5 及び 1.0 mM）と比較した。アルチカインは膜電位及び膜抵抗に影響を及ぼさず、活動電位を抑制し、神経伝導速度を低下させた。活動電位は 1.0 mM でほぼ完全に消失した。アルチカインはナトリウムコンダクタンスを減少させ、活動電位発生中のナトリウム流入を抑制すると結論付けた。この局所麻酔作用の発現時間及び持続時間はリドカインと同様であった（Den Hertog 1974）。

別の試験で、カエル摘出単一無髄神経線維のナトリウム及びカリウムチャネル遮断作用を指標にアルチカイン（0.03～0.3 mM）の作用をリドカイン及びプロカインと比較した。アルチカインはカリウムチャネルを遮断するよりも低濃度でナトリウムチャネルを遮断した（Borchard and Drouin 1980）。

2.4.2.1.1.2　*In vivo* 試験

- 作用発現時間
  イヌにおいて、アルチカイン 20 mg/mL とアドレナリンの硬膜外投与後 2 分で麻酔が得られ、麻酔作用及び運動神経ブロックは約 120 分間持続した（Farbwerke Hoechst AG 1976）。
- 作用持続時間
  モルモットにおいて、アルチカインを単独で 10 mg/mL 皮内投与したときの局所麻酔作用持続はリドカイン 10 mg/mL 及びプリロカイン 10 mg/mL よりわずかに長かったが、ブタセトルイド 10 mg/mL よりわずかに短かった。麻酔作用はアルチカイン及びブタセトルイドに血管収縮薬を追加した後に軽度延長した（Farbwerke Hoechst AG 1976）。
  ウサギ角膜への点眼では、アルチカイン 10 mg/mL 単独の麻酔作用（作用持続時間：10～15 分）はリドカイン 5 mg/mL 及びテトラカイン 0.1 mg/mL（作用持続時間：20～25 分）より短く、プロカイン 10 mg/mL（作用持続時間：6～7 分）及びプリロカイン（作用持続時間：9.6 分）より長かった（Farbwerke Hoechst AG 1976）。
  カエル摘出坐骨神経標本を用いた *in situ* 試験において、アルチカインの局所麻酔作用をリドカイン及びプロカインと比較した（いずれも 0.5～5 mg/mL の濃度）。アルチカインの伝達麻酔作用はリドカインよりも 1～5 mg/mL で、プロカインよりも全ての濃度で 1.2～1.3 倍長く持続した（Farbwerke Hoechst AG 1976）。

2.4.2.1.2　副次的薬理試験：アルチカインのその他の薬理作用

局所麻酔薬が全身へ漏出すると心筋抑制や血管拡張等の心血管系作用が発現する。一連の非臨床試験によりアルチカインも他の局所麻酔薬と同様に心血管系に対して作用を示すことが示唆された。

2.4.2.1.2.1　心臓に対する作用

モルモット摘出心臓において、アルチカインは冠血管の収縮を抑制し、平均冠血流量を増加させた（Farbwerke Hoechst AG 1976）。心筋収縮の抑制はおそらく心筋のナトリウム電流を一部抑制することによる間接的な結果であると考えられた。

麻酔イヌにおいて、ストロファンチン誘発心室性期外収縮はアルチカイン又はリドカインの静脈内投与により消失した。アルチカインは 6 mg/kg で期外収縮を最大 17 分間抑制した。この作用持続はリドカインよりも短かった（Farbwerke Hoechst AG 1976）。

白色 New Zealand ウサギ摘出心臓標本を用いた無作為盲検試験において、アルチカイン、リドカイン及びブピバカインの心抑制作用を比較した（Moller and Covino 1993）。これら 3 種類の局所麻酔薬のプルキンエ線維（PF）及び心室筋（VM）組織の活動電位に対する作用を検討した。ブピバカイン（17.4 μM）及びアルチカイン（141 μM）は活動電位のオーバーシュート、振幅及び最大脱分極速度（Vmax）を同様に抑制した。ブピバカインの作用はアルチカイン及びリドカインよりも有意（$p<0.05$）に長く持続した。定常状態（SS）Vmax の頻度依存性抑制が全ての薬物で認められた。これらの薬物の最大濃度で、ブピバカイン（17 μM）及びリドカイン（85 μM）は最初の Vmax 反応から SS Vmax を減少させたが、アルチカイン（141 μM）は 1 及び 2 Hz で SS Vmax を増加させ、3 Hz でのみ SS Vmax を減少させた。静脈内への投与事故を再現するために、薬物を極めて高用量で潅流した。ブピバカインは PF-VM 伝導をアルチカイン及びリドカインよりも有意（$p<0.001$）に長く遮断した。これらの *in vitro* 試験において、アルチカインの臨床血中濃度の 10 倍でみられる心抑制作用はブピバカインの臨床血中濃度の 5 倍でみられる作用よりも有意に弱かった。

2.4.2.1.2.2　血圧に対する作用

一連の試験でアルチカインは単独又はアドレナリンとの併用で血圧を低下させることが示唆された。

麻酔ネコにおいて、アルチカイン、リドカイン及びプロカインの静脈内投与速度を 5 mg/kg まで増加させると血圧が低下した。アルチカインは 10 mg/kg を静脈内投与で前処置するとベラトリンによる血圧低下を抑制したが、ヒスタミン又はアセチルコリンによる血圧低下は抑制しなかった（Farbwerke Hoechst AG 1976）。

イヌにおいて、アルチカイン 40 mg/mL 及びアドレナリン 0.01 mg/mL の後部オトガイ孔への投与後歯髄腔圧は低下したが、大腿動脈圧及び下顎動脈圧は変化しなかった。（Simard-Savoie 1990）。

2.4.2.1.2.3　筋組織に対する作用

筋収縮に対するアルチカインの作用を検討した結果、アルチカインは他の局所麻酔薬と同様に摘出横紋筋及び全身臓器の横紋筋、及び摘出平滑筋の収縮を抑制することが示唆された（Farbwerke Hoechst AG 1976）。

2.4.2.1.2.4　　心血管系、中枢神経系及び呼吸系に対する本剤の影響

ビーグル犬（雌雄各 3 匹／群）に本剤をアドレナリン塩酸塩の濃度として 0mg(対照）、20mg、 40mg 及び 80 mg/kg/日を 4 週間皮下投与した試験（Study No.10653/97）において、本剤の心血管系（心電図検査）、中枢神経系（臨床的症状）及び呼吸系（血液学的検査）の影響について評価している。

臨床的症状については、0mg(対照）、 本剤 20mg、 40mg 群では、投薬期間中に心血管系、中枢神経系及び呼吸系に異常は認められなかった。しかしながら、80 mg/kg 群では、投与 9 日以降に、嘔吐、唾液分泌亢進、歩行失調、鎮静、脱糞、間代性又は強直性－間代性痙攣、腹臥位及び／又は側臥位等の行動学的変化がみられた。脱糞は投与後 20 分以内に、嘔吐は投与後 60 分以内に、唾液分泌亢進及び歩行失調は投与直後から 20 分後に、腹臥位及び痙攣は 6 から 20 分後に、側臥位及び鎮静は 20 分から 2 時間後に発現した。これらの症状は最短で 5 分、最長で 1 時間持続した。

心電図検査では、投薬期間中に心拍数並びに PQ、QT 及び QRS 間隔に対して被験物質に起因する影響はみられなかった。また、4 週間投与終了後の血液学的検査でも異常はみられなかった。

本剤の無毒性量は 40mg/kg であり、それを体表面積で補正したヒト等価用量はアルチカイン塩酸塩濃度として 22mg/kg と算出された。申請者が申請している用法・用量の最大投与量は 5.1mL（アルチカイン塩酸塩 204mg）であり、体重 60 kgの成人に投与した場合、3.4mg/kg となるため、ヒトに等価した無毒性量に対して 5~6 倍の安全域マージンがあることから、本剤の申請用法・用量において心血管系、中枢神経系及び呼吸系に対する影響が発生するリスクは小さいと考えられた。

また、本剤が誤って口腔粘膜下の血管内に注入された場合については、他の局所麻酔薬と同様に心血管系、中枢神経系及び呼吸系に対して影響する可能性がある。

アドレナリンについては、本剤が 1：100000 濃度であることから、本邦のリドカイン製剤の濃度（おおよそ 1：80000）よりも低濃度であり、リドカイン製剤の添付文書に記載されている用法・用量の最大投与量が 5mL で、申請用法・用量の最大投与量の 5.1mL とほとんど等量であることから、本剤が誤って口腔粘膜下の血管内に注入された場合においてアドレナリンに起因して心血管系、中枢神経系及び呼吸系に影響するリスクは、リドカイン製剤と同等あるいは小さいと考えられた。

アルチカインについては、誤って血管内に注射することを模倣したウサギの心臓を用いた研究において、リドカインとその約 2 倍量のアルチカインの心臓抑制効果は同等である（Moller RA and Covino BG 1993）と報告されていることから、心血管系への影響は 2%リドカイン製剤と本剤（4%アルチカイン製剤）は同等であることが示唆された。

また、臨床データでは、アルチカイン、リドカイン及びプリロカインを静脈内局所麻酔（IVRA）のため 0.5%濃度で 40mL（＝200mg）を投与しても、心血管系または中枢神経系において局所麻酔薬による中毒の兆候は認められず、酸素飽和度の変化も認められないことが報告されている（Simon et al 1997）。そのことから、申請者が申請している用法・用量の最大投与量が 5.1mL（アルチカイン塩酸塩 204mg）であることを考慮すると、アルチカインに起因に起因して心血管系、中枢神経系及び呼吸系に影響する可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本剤が誤って口腔粘膜下の血管内に注入された場合、他の局所麻酔薬と同様に心血管系、中枢神経系及び呼吸系に影響する可能性はあるが、それはアルチカインよりもアドレナリンに起因する影響が想定され、その発生リスクは、用法・用量とアドレナリン濃度を考慮すると本邦のリドカイン製剤と比較して同等または小さいと考えられた。

2.4.2.1.3　薬力学的薬物相互作用

アルチカインの静脈内投与により誘発されるけいれんに対する抗けいれん薬の抑制作用をラットにおいて検討した（Farbwerke Hoechst AG 1976）。アルチカイン（7.5、10 及び 12.5 mg/kg、静脈内）を以下の抗けいれん薬投与前後に投与した：ヘキソバルビタールナトリウム（静脈内）、プロパニジド（静脈内）、チオペンタール（静脈内）、カフェイン（経口）、フェノバルビタール（経口）及びヘキシルテオブロミン（経口）。これらの抗けいれん薬は全ての用量でアルチカインにより誘発されるけいれんを有意（$p<0.05$）に抑制した。

2.4.2.2　アドレナリンの薬理作用

アドレナリンは副腎で生合成される交感神経の内因性カテコールアミンであり、末梢神経の広範な機能の恒常性調節に関与している。この薬物については生理学的及び薬理学的物質として動物において広範に研究されている。

これらの研究結果の最も重要な知見は以下のとおりである。アドレナリンは血管及び腺の平滑筋に対して末梢性の興奮作用、消化管、気道及び血管平滑筋に対して末梢性の抑制作用、心臓に対して興奮作用、並びに代謝性及び内分泌作用を示す（Dietz 1990; Martindale 2005; Westfall and Westfall 2006）。特にアドレナリンは、心拍出量を増やし、骨格筋への血液供給を優先的に増加させ、血糖及び乳酸濃度を上昇させ、気道を拡張するが、これらはストレス、身体活動又は一般的なアレルギー反応に対する一連の反応としてみられる（Dietz 1990）。アドレナリンは α-及び β-アドレナリン作動性受容体とシナプス前部（α_2-及び β_2-受容体）及びシナプス後部（α_1-及び β_1-受容体）の両方で直接相互作用することにより作用を発現する（Dietz 1990; Martindale 2005）。

アドレナリンはその血管収縮作用により局所麻酔薬の吸収を遅延し、麻酔作用を延長し、増強することから、1 世紀以上にわたり局所麻酔薬液中に添加されている。アドレナリンの血管収縮作用は特に皮膚及び粘膜、腹部内臓及び腎臓の血管中の α_1-受容体刺激によるものであり、これにより血圧が上昇する（Martindale 2005; Westfall and Westfall 2006）。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1　アルチカインの薬物動態

アルチカインのミニブタにおける吸収、分布、代謝及び排泄を検討するために、^{35}S 又は ^{3}H で標識したアルチカインを静脈内又は筋肉内に単回投与する 3 試験を実施した。

（Farbwerke Hoechst AG 1976；Hoffer et al 1974）。

非標識アルチカインをイヌに皮下、静脈内、筋肉内及び経口投与した試験も実施した（Farbwerke Hoechst AG 1976）。

アルチカインのヒト酵素による *in vitro* 代謝及びタンパク結合についても検討を加えた（Study No.10337/97）。

2.4.3.1.1 吸収

アルチカインはミニブタに筋肉内投与すると迅速かつ完全に吸収された（Farbwerke Hoechst AG 1976：Hoffer et al 1974）。

2.4.3.1.2 分布

放射性同位元素標識アルチカインを使用して組織分布を検討した（Farbwerke Hoechst AG 1976：Hoffer et al 1974）。放射能は主として肝臓、腎臓、肺及び脾臓で検出された。静脈内投与 15 分後及び筋肉内投与 60 分後に、少量の放射能が脳及び注射部位付近の筋肉にも検出された。

放射能の組織分布は静脈内投与 15 分後及び筋肉内投与 1 時間後に最大であり、両投与 48 時間後でも観察された。

アルチカインのヒト血清蛋白との結合は pH 依存的であった（Oertel and Richter 1998）。アルチカインのヒト血清蛋白との平均結合率は pH7.5 及び 8.5 においてそれぞれ 54%及び 76%であった。ヒト血清アルブミンとの結合率は pH7.5 で 50%、pH8.5 で 71%であった。アルチカイン及びリドカインの蛋白結合率は同じ程度であった。アルチカインの血漿タンパクとの結合率は 0.5～5 μg/mL の濃度範囲で線形であった。アルチカインのヒト血漿中濃度が 3 μg/mL より低いことより、この濃度範囲は正常な濃度範囲をカバーしていた。蛋白結合に飽和性が観察されなかったため、アルチカイン及びアーティカン酸の結合部位は非特異的であり、他薬物による干渉は予測されないと結論した。

アルチカインの蛋白結合は濃度非依存性であったが蛋白の種類に依存していた（Leuschner, and Leblanc 1999）。低及び高濃度（それぞれ約 500 及び 2000 ng/mL）のアルチカイン塩酸塩を通常の濃度（15～40 mg 蛋白/mL）のヒト血清アルブミン、ヒトγ-グロブリン及びヒトα-とβ-グロブリン画分とインキュベーションした。アルチカインの結合率はアルブミン（81%）及びα/β-グロブリン（73%）で高かったが、γ-グロブリンのみ（24%）では非常に低かった。

2.4.3.1.3　代謝

2.4.3.1.3.1　*In vitro* 代謝

アミド型の局所麻酔薬は全て肝ミクロソームで代謝される。アルチカインでは更に組織及び血液中の非特異的血漿エステラーゼによりエステル基が加水分解を受ける。加水分解は非常に速いので、約 90%のアルチカインはこの経路で不活性化される。主代謝物はアルチカイン酸である（Handbook of local anaesthesia 2004）。

アルチカインをラット、モルモット及びイヌ肝ミクロソーム画分と *in vitro* でインキュベーションすると、3 動物種全ての画分で 2 種類の代謝物が観察されたが、ラット肝ホモジネートでは 3 番目の代謝物が検出された（Farbwerke Hoechst AG 1976）。エステルの加水分解は血清では観察されなかった；しかしながら、アルチカインは 30～60 分間に亘り赤血球へ吸収されるようであった。

Leuschner, and Leblanc 1999)により発表された代謝試験では、広範囲の外因性物質を代謝できる異なるチトクロム P450 アイソザイムを含んでいるヒト肝細胞ミクロソームと低及び高濃度（1000 及び 4000 ng/mL）のアルチカイン塩酸塩を 37°C で 3 時間インキュベーションした。アルチカイン及びアルチカイン酸濃度を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定した。アルチカインの約 10%のみがアルチカイン酸に代謝されたので、P450 酵素系ではあまり代謝されないことが示された。検討したアルチカイン濃度ではアイソザイムの飽和はみとめられなかった。

2.4.3.1.3.2　*In vivo* 代謝

アルチカインを静脈内又は筋肉内投与すると、種々の代謝物が尿中で検出された（Farbwerke Hoechst AG 1976；Hoffer et al 1974）。未変化体であるアルチカイン及び 2～6 個の代謝物がミニブタの尿中に観測された。イヌ尿中に 2～4 個の代謝物が観測され、恐らく一つはカルボン酸、もう一つはアルチカインの *N*-脱アルキル誘導体であった。

2.4.3.1.4　排泄

ミニブタでは、ヒトと同様に、アルチカイン及びその代謝物の排泄は速かった（Farbwerke Hoechst AG 1976）。放射能の 80%近くが 24 時間までに尿中に回収された。放射能の 10～12%までが 60 時間までに糞中に排泄された。

イヌでは、投与放射能は投与 6～7 時間までの尿に 3%（静脈内又は筋肉内投与）、2%（皮下投与）及び 0.5%（経口投与）が排泄された（Farbwerke Hoechst AG 1976）。

2.4.3.2　アドレナリンの薬物動態

文献から得られた非臨床薬物動態のデータより、アドレナリンは投与経路に関係なく迅速に吸収されるが、経口投与されると全身循環に達する前に胃腸の粘膜で急速に代謝されるので、薬理学的には不活性となる（Dietz 1990）。

非経口投与すると、アドレナリンは体内に広範に分布するが、血液-脳関門を通過しないので脳には分布しない。

血液中では安定にもかかわらず、静脈内投与すると肝臓における初回通過効果の結果として血漿中アドレナリンの半減期は 1～2.5 分と短い（Dietz 1990；Martindale 2005）。アドレナリンは二つの酵素、カテコール-*O*-メチルトランスフェラーゼ（COMT）及びモノアミンオキ

シダーゼ（MAO）で代謝され、硫酸及びグルクロン酸抱合体を含む 6 つの代謝物が生成される（Dietz 1990）。COMT 及び MAO は両方とも特に肝臓に多く存在する（Westfall and Westfall 2006）。

アドレナリンは、主として硫酸抱合体として、一部はグルクロン酸抱合体として尿中に排泄される（Dietz 1990）。

2.4.3.3　アドレナリン含有アルチカインの薬物動態

本製剤の開発段階において、皮下投与を臨床で使用される粘膜下注射（浸潤及び神経周辺で使用）の代替投与とみなした。

アルチカイン（40 mg/mL）及びアドレナリン（0.01 mg/mL）をラット及びイヌに皮下投与する 28 日間毒性試験において、投与開始と終了時のアルチカインの血漿中濃度を測定した（Study No.10652/97、Study No.10653/97）。

2.4.3.3.1　吸収

2 種類の反復投与毒性試験（Study No.10652/97、Study No.10653/97）のトキシコキネティクスにおいて、アドレナリン 0.01 mg/mL 含有アルチカイン 40 mg/mL を、ラット（Sprague-Dawley ラット雌雄各 10 匹/用量）に 25、50 又は 100 mg/kg/日の用量で、イヌ（ビーグル犬雌雄各 3 匹/用量）に 20、40 又は 80 mg/kg/日の用量で皮下投与した。血液試料は、投与 1 日目の投与後 10、20、40 及び 90 分、投与 28 日目の投与前、投与後 10、20、40 及び 90 分に採取した。血漿アルチカインを UV 検出高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により分析した。

ラットにアドレナリン 0.01 mg/mL 含有アルチカイン塩酸塩を皮下投与すると、アルチカインの最高血漿中濃度（C_{max}）は用量に依存して増加した〔低用量（25 mg/kg/日）で約 1900 ng/mL～高用量（100 mg/kg/日）で約 7400 ng/mL〕。アルチカインの血漿中濃度の増加は血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）の増加（約 100～372 μg・min/mL）を反映していた。

同様に、イヌにアドレナリン 0.01 mg/mL 含有アルチカイン塩酸塩を皮下投与すると、アルチカインの血漿中 C_{max} は用量に依存して増加した〔低用量（20 mg/kg/日）で約 2700 ng/mL～高用量（80 mg/kg/日）で約 8900 ng/mL〕。アルチカインの血漿中濃度の増加は AUC の増加（約 102 から 293 μg*min/mL）を反映していた。アルチカインの最高血漿中濃度は、投与 1 日目では投与後 20～40 分、投与 28 日目では投与後 10～20 分であった。

2.4.3.3.2　分布

実施せず

2.4.3.3.3　代謝

アドレナリン 0.01 mg/mL 含有アルチカイン塩酸塩をラットに皮下投与すると、血漿中代謝物としてアルチカイン酸が同定された（Study No.10652/97）。アルチカイン酸の濃度はアルチカインの濃度と同じ濃度範囲であった。

アルチカインは、主に血中の非特異的エステラーゼ活性でアルチカイン酸に代謝され、尿中に排泄されることが既に知られており（Oertel 1997）、アルチカイン酸の副次的な薬理作用については活性を待たないことが報告されている。この報告では実際にアルチカイン酸

96.2 mg をヒトに静脈投与した際、脳波、心電図、血圧、心拍数に影響を認めず、同時に痙攣性活動の兆候は認めなかったと報告している（Oss et al 1988）。

2.4.3.3.4 排泄

実施せず

アルチカインは組織に効果的に浸透し、血漿蛋白と高い結合率を示した。概して、このような *in vitro* 及び *in vivo* における薬物動態の結果は、海外 PK-PD/第 II 相試験(S97001)におけるヒトの薬物動態と一致していた[2.7.2.2.3 項]。これらのデータを考慮すると、製品に含まれて口腔内に投与される少量のアドレナリンはゆっくりと吸収されて局所の血管収縮を引き起こしている。

2.4.4 毒性試験

アルチカインを用いた非臨床毒性試験において、種々の投与経路が検討された。特に重要な経路は、歯科麻酔目的で予定された投与経路に関連した投与経路（皮下及び筋肉内）である。臨床使用において、歯科麻酔剤を誤って血管内に投与する潜在的なリスクがある為、安全上の理由から静脈内投与も検討された。

多くの毒性試験が古いために新薬の毒性評価に必要な現在の標準試験法やガイドラインに適合していない。しかし、それらは当時の最新の情報を取り入れた試験計画書に基づいてハイレベルの研究所で実施されたため、この CTD に含めることは充分に妥当であると判断した。

アルチカインを含有する製剤の非臨床安全性プロファイルを更に検討するため、以下に示した一連の追加試験を実施した。

・0.005 或いは 0.01 mg/mL アドレナリンを含有或いは含有しない 40 mg/mL アルチカインを用いた GLP 適合試験（Study No.870975、Study No.880001、Study No.871225、Study No.10376/97、Study No.10089/96、Study No.10090/96、Study No.10373/97、Study No.10374/97、Study No.10379/97、Study No.10137/96、Study No.10138/96）

・主要なアドレナリン分解物の GLP 適合試験（Study No.20110153TRP、Study No.FSR-IPL 100901、Study No.FSR-IPL 100902）及び可能性のあるアドレナリン分解物の試験（*in silico*）

2.4.4.1　アルチカインの毒性

2.4.4.1.1 単回投与毒性

アルチカイン単独の単回投与毒性は、マウス、ラット、ウサギ及びイヌを用いた静脈内投与、ラット、モルモット、ウサギ及びイヌを用いた筋肉内投与、マウス、ラット及びモルモットを用いた皮下投与、ウサギを用いた粘膜下投与、ラットを用いた経口投与により Farbwerke Hoechst AG 1976)によって最初に検討された。

これらの試験では、アルチカインの 50%致死量（LD_{50}）の算出に加えて、急性毒性症状及びアルチカインの毒性による死因も検討した。

2.4.4.1.1.1　LD_{50} の検討

・単回静脈内投与の LD_{50}

単回静脈内投与におけるアルチカインの LD_{50} は、マウスで約 37 mg/kg、ラットで約 23 mg/kg、ウサギで約 20 mg/kg であった。また、アルチカインの静脈内投与での最小致死量は、イヌで 56 mg/kg であった（Farbwerke Hoechst AG 1976；Baeder et al 1974）。

・単回筋肉内投与の LD_{50}

単回筋肉内投与におけるアルチカインの LD_{50} は、ラットで 270～278 mg/kg、モルモットで 100～150 mg/kg、ウサギで 20.6 mg/kg であった。また、アルチカインの筋肉内投与での最小致死量は、モルモットで 100 mg/kg、イヌで 160 mg/kg であった（Farbwerke Hoechst AG 1976；Baeder et al 1974）。

・単回皮下投与の LD_{50}

単回皮下投与におけるアルチカインの LD_{50} は、雄マウスで 500 mg/kg を超える量、雌マウスで 440 mg/kg であった。また、単回皮下投与におけるアルチカインの最小致死量は、雄マウスで 360mg/kg を超える量、雌マウスで 430mg/kg であった（Study No.870975）。

別の報告では、LD_{50} はマウスで 200～250 mg/kg、ラットで 500 mg/kg、最小致死量はマウスで 200 mg/kg であった（Farbwerke Hoechst AG 1976）。

・単回経口投与後の LD_{50}

アルチカインをラットに経口投与した時の LD_{50} は 978 mg/kg であった（Baeder et al 1974）。

結論として、主な臨床投与経路に類似した皮下投与による、マウスにおける最小の 50%致死量は 200～250 mg/kg であった。成人における臨床使用時の最大推奨用量は、70 kg の成人に対する 500 mg のアルチカイン用量に相当する 7 mg/kg である。ウサギにアルチカインを静脈内投与（歯科麻酔剤の偶発的な静脈内投与に該当）した時の最小 50%致死量は約 20 mg/kg であった。したがって、患者に対して最高用量の全量が誤って静脈内に投与された場合でも安全域を超えることはないと考えられた。

表 2.4.4.1.1.1　アルチカイン塩酸塩　単回毒性試験

試験番号又は参考文献	動物種	投与経路	投与量	最小致死量	LD_{50}
870975 試験	マウス	皮下	0, 100, 138, 190, 260, 360, 430 (female only), 500	雄：360mg/kg 雌：430mg/kg	雄：＞500mg/kg 雌：440mg/kg
Farbwerke Hoechst AG 1976	マウス	静脈内	0.1mg/10g	-	37mg/kg
		皮下	不明	200mg/kg	200~250mg/kg
	ラット	静脈内	4%溶液　0.1mg/10 秒	-	23mg/kg
		筋肉内	不明	–	270mg/kg
		皮下	不明	-	500mg/kg
	モルモット	筋肉内	不明	100mg/kg	100～150mg
	ウサギ	静脈内	4%溶液　2mL/2 分	-	20mg/kg
Baeder et al 1974	ラット	静脈内	4%溶液　2mL/分	-	23.2mg/kg
		筋肉内	3%溶液	-	278mg/kg
		経口	4%溶液	-	978mg/kg
	ウサギ	静脈内	4%溶液　2mL/分	-	19.6mg/kg
		筋肉内	3%溶液	-	20.6mg/kg
	イヌ	静脈内	15%溶液　15～20 秒	56mg/kg	-
		筋肉内	25%溶液	160mg/kg	-

2.4.4.1.1.2　　アルチカイン単回投与に関連した症状

全般的に、アルチカインの毒性症状は、薬剤の薬理効果に起因しており、投与経路や動物種とは無関係であることが示された。症状として、立毛、呼吸促迫、呼吸停止、振戦、よろめき、眩暈など、また、高用量では眼瞼下垂と眼球突出をしばしば伴う自発運動の緩慢並びに過呼吸或いは騒音に対する過敏反応をしばしば伴う強直性及び/又は間代性痙攣或いは間代性筋痙攣などがある。これら症状の発現期間や程度には用量依存性が認められた。

2.4.4.1.1.3　　アルチカインによる死亡の原因

アルチカインによる死亡は、マウスに静脈内投与、ラットに静脈内、筋肉内、又は経口投与した後に誘発される肺浮腫或いは肺うっ血に起因した。皮下投与で死亡したラットでは、うっ血が見られた。痙攣後に死亡したウサギでは腎被膜下の出血が認められた。イヌにおいて、筋肉内投与による死亡は痙攣に起因しており、腎臓のうっ血が剖検で確認された。

結論として、アルチカインの急性毒性症状は薬理作用に関連しており、投与経路や動物種とは無関係であることが示された。

2.4.4.1.2　反復投与毒性

多くの歯科用麻酔薬は通常単回投与されるか又は一回の使用時に複数回投与されるが、投与が数日間にわたって繰り返される可能性がある。したがって、アルチカインの反復投与毒性を検討した。

粘膜下投与は動物、特にラットのような小動物では困難なため、皮下あるいは筋肉内を投与経路とした。更に、アルチカインが処置される患者の主な危険性は、静脈内への不慮の投与によるものなので、静脈内投与によっても本薬の反復投与毒性を評価した。

上記の 3 投与経路を用いて投与期間が 4 週間までの亜急性毒性試験をラットとイヌで実施し、投与部位と全身の両方に対する影響を評価した。

2.4.4.1.2.1　　静脈内投与亜急性毒性

アルチカイン（3～12 mg/kg/日）をラットとイヌに 25～30 日間静脈内投与したときの毒性を評価した (Farbwerke Hoechst AG 1976)。

ラットでは、最低用量（3 又は 6 mg/kg/日）での忍容性は良好で、動物の行動や成長への影響はみられなかった。最高用量（12 mg/kg/日）では人工呼吸を必要とした呼吸停止が数例でみられた。また、投与部位に軽度なヘモジデリン沈着が認められた。

イヌでの所見もラットと同様であり、アルチカインに起因する毒性は最高用量の 10 mg/kg/日でみられた。5 mg/kg/日では一般状態、血液学的検査、血清生化学検査及び病理組織学的検査に異常はみられなかった。

2.4.4.1.2.2　　筋肉内投与亜急性毒性

アルチカイン 3%（25～100 mg/kg/日）をラットとイヌに 25～30 日間筋肉内投与したときの毒性を評価した（Farbwerke Hoechst AG 1976）。

ラットでは、50 mg/kg/日群の 1 例が死亡したが、痙攣、肺の浮腫、雄での副腎萎縮といった毒性徴候は最高用量の 100 mg/kg/日のみで認められた。また、投与各群の投与部位に皮下の血腫がみられ、病理組織学的には再生像を伴う筋線維の軽度の委縮が認められた。

イヌでは、50 mg/kg/日で投与 1 日目に振戦、流涎、平衡バランスの破綻を伴う痙攣といった毒性徴候が投与後最長 45 分までみられ、これらの症状はその他の日においても散見された。

2.4.4.1.2.3　皮下投与亜急性毒性

アルチカイン塩酸塩の 0（対照）、 25、 50 及び 100 mg/kg/日をビーグル犬 (雌雄各 1 匹／用量）に 14 日間皮下投与した (Study No.10376/97)。血液学的検査、血液生化学検査及び尿検査を投与開始前と 2 週間投与後に行ない、剖検で得た約 35 の組織について病理組織学的検査を実施した。

いずれの群でも投与期間中の死亡例はなかった。25 mg/kg/日では、14 日間の観察期間中の一般状態や外観に異常はみられず、投与 4 日目に軽度な流涎が雄でみられたのみであった。

皮下投与によるアルチカイン塩酸塩の無影響量は、25 mg/kg/日であった。

アルチカイン塩酸塩の無影響量は、ヒトにおける推奨最大用量を上回ることが示された。即ち、ラット及びイヌ 25～30 日間筋肉内投与及びイヌ 2 週間皮下投与における無影響量は、25 mg/kg/日であった。また、アルチカインが誤って静脈内投与された患者の危険性について、ラットとイヌを用いた反復静脈内投与毒性試験で検討した。ラット及びイヌを用いた 25-30 日間反復静脈内投与試験の無毒性量は、それぞれ 6 及び 5 mg/kg/日であった

2.4.4.1.3　遺伝毒性

アルチカインの遺伝毒性を評価するために *in vitro* と *in vivo* の一連の試験シリーズが実施された。

2.4.4.1.3.1　*In vitro* 試験

・微生物を用いた復帰突然変異試験（Ames テスト）

アルチカイン塩酸塩の遺伝毒性ポテンシャルを調べるため、サルモネラ菌 5 株（TA98、TA100、TA102、A1535 及び TA1537）を用い、代謝活性化の存在下及び非存在下で Ames テストを実施した（Study No.10089/96）。

アルチカイン塩酸塩の 100 から 10000 µg/plate の 5 濃度で代謝活性化の存在下及び非存在下で独立した 2 回の試験を実施した。試験の結果、全ての処理濃度において、全ての菌株に対して陰性結果を示した。

・*In vitro* 染色体異常試験

本試験の目的は、培養哺乳類チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用い、アルチカイン塩酸塩の染色体異常誘発作用を調べる事であった（Study No.10090/96）。

試験に用いたアルチカイン塩酸塩の濃度は、代謝活性化の非存在下では 125 から 1,000 µg/mL（20 時間処理）、代謝活性化の存在下では 250 から 2,000 µg/mL（4 時間処理）の濃度であった。染色体異常の増加が、細胞毒性のみられる処理濃度（1,000 及び 2,000 µg/mL）で認められた。同一試験において、マイトマイシン C とシクロフォスファミドは染色体異常を有意に誘発した。

・培養ハムスターV79 細胞を用いた *in vitro* 姉妹染色分体試験

培養ハムスターV79 細胞を用いた姉妹染色分体試験の結果も、陽性対照物質が強い変異原性を示した条件下で陰性であった（Study No.10373/97）。

2.4.4.1.3.2　*In vivo* 試験

アルチカイン塩酸塩の 75 mg/kg を皮下投与した NMRI マウスを用いた小核試験が実施された（Study No.10374/97）。動物は、投与後 24、48 及び 72 時間後に屠殺された。

同時に設けた陰性対照群と比較し、アルチカイン塩酸塩は 3 回のいずれの採取時間においても小核を有する多染性赤血球の増加を誘発しなかった。

これらの *in vivo* 条件下で、アルチカイン塩酸塩は染色体異常誘発性のないことが示された。

結論として、アルチカインは *in vitro* と *in vivo* の試験において、いかなる遺伝毒性も示さなかった。

2.4.4.1.4　がん原性試験

通常、歯科治療でのアルチカイン単独或いはアルチカインとアドレナリンの併用療法は単日投与に限られていることから、ガイドライン（EMEA 1995）に従い、がん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.1.5　生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験は、アルチカイン塩酸塩をラットとウサギの 2 種動物に皮下投与して実施した。

2.4.4.1.5.1　受胎能試験

受胎能試験はアルチカイン塩酸塩の単独投与では実施せず、アルチカインとアドレナリンを含む製剤で実施した。

2.4.4.1.5.2　胚・胎児毒性及び催奇形性誘発能

アルチカインの発生毒性は、ラット（Study No.10137/96）とウサギ（Study No.10379/97）を用いて評価した。GLP に準拠したこれらの試験の目的は、アルチカインを妊娠動物の器官形成の感受期（例えば妊娠 6 日から 17 日まで）に皮下投与（ウサギ；20、40、80 及び 120 mg/kg/日、ラット；25、50、100、200、300 及び 500 mg/kg/日）して母動物と胎児への影響を評価することであった。

ウサギではアルチカイン塩酸塩の母動物の全身毒性に対する無影響量は 40 mg/kg/日であった（妊娠 6 日から 18 日まで投与）。アルチカイン塩酸塩の 80 mg/kg/日以上の用量では側臥位、強直性痙攣、軽度振戦、運動量低下、呼吸数の軽度増加、弛緩がみられた。120 mg/kg/日では、3 例中 2 例の母動物が試験期間中に途中死亡した。アルチカイン塩酸塩の胎児に対する無影響量は 120 mg/kg/日以上であった。

ラットではアルチカイン塩酸塩の母動物の全身毒性に対する無影響量は 50 mg/kg/日であった。アルチカイン塩酸塩の 100 mg/kg/日以上では立毛と振戦がみられた。300 mg/kg/日以上は致死量であった（1 例が死亡）。500 mg/kg/日では 2 例中 2 例の母動物が死亡した。胎児に対する無影響量は 100 mg/kg/日であった。

結論として、催奇形性はウサギ胎児ではアルチカイン塩酸塩の 120 mg/kg/日（皮下投与）まで、また、ラット胎児では 100 mg/kg/日（皮下投与）まで認められなかった。

2.4.4.1.5.3　出生前及び出生後の毒性

雌 SD ラットの妊娠期及び授乳期（妊娠 6 日から離乳期まで）にアルチカインの 20、40 及び 80 mg/kg/日を皮下投与し、児の出生前及び出生後発育を調べる試験を GLP 準拠で実施した（Study No.10138/96）。F1 世代の動物を検査した。1 腹あたり雌雄各 1 例の出生時を成熟期まで観察して交配させた。F2 世代児は授乳 3 週の離乳時まで観察した。

F1 児にみられた毒性変化は、母動物に影響する用量における死産児数の軽度増加、眼瞼開裂時期の軽度遅延及び受動的回避学習テスト成績の低下であった。これらの F1 児の生殖能に関するパラメータ値は正常範囲であった。F2 世代も正常であった。

以上、アルチカイン単独を皮下投与した今回の試験条件下では、特記すべき出生前及び出生後毒性はみられなかった。

結論：ヒトにおけるアルチカインの推奨最大臨床用量 (6.8 mg/kg)の 10 倍を超える用量を用いて実施したラットとウサギの生殖試験では、母毒性が発現する用量においても受胎能への影響、胎児毒性、催奇形性及び出生前／出生後毒性は認められなかった。しかし、妊娠中のアルチカイン服用は、ベネフィットが胎児へのリスクを上回ると判断される場合のみに限定されるべきである。

2.4.4.1.6　投与部位の忍容性

アルチカイン 40 mg/mL のアレルギー誘発性及び感作性を調べるために Magnusson と Kligman のマキシマイゼーションテスト（Study No.871225）を実施した。薬剤は Hartley 系モルモットに密封包帯下で皮内投与した。アルチカイン 40 mg/kg は、包帯を除去後 6、24 及び 48 時間のいずれにおいてもアレルギー反応を誘発しなかった。

2.4.4.2　アドレナリンの毒性

2.4.4.2.1　単回投与毒性

数種類のアドレナリンの急性毒性試験結果は、米国の National Toxicology Program 1991)によって実施された 2 年間の発がん性試験報告書の緒言の中で Dietz 1990)が要約している。

アドレナリンをラットに皮下投与及び経口投与した時の LD_{50} 値は、それぞれ 5 及び 24 mg/kg と報告されている（Dietz 1990）。アドレナリンをラットに静脈内投与した時、雌より雄において死亡例が多かった（Dietz 1990）。ラットのアドレナリンに対する感受性の更なる性差として、アドレナリンがラット肝ミクロゾーム酵素活性を雄では抑制するにもかかわらず、雌では抑制しないことがあげられる（Dietz 1990）。

より初期の試験でマウスにおけるアドレナリンの LD_{50} が確認されている。この化合物の致死性は、単独で飼育した動物より群飼育（10 匹/ゲージ）した動物において高いことが確認されている。即ち、この試験で確認された LD_{50} は、群飼育マウスで 1.98-2.17 mg/kg、単独飼育マウスでは 3.96-4.58 mg/kg であった（Dietz 1990）。また、より最近の報告では、アドレナリンを静脈内投与した時の LD_{50} は、ラットで 0.15 mg/kg、マウスで 0.217 mg/kg、イヌで 0.1 mg/kg であった。アドレナリンを皮下投与した時の LD_{50} は、ラットで 5 mg/kg、マウスで

1.47 mg/kg、イヌで 5 mg/kg であった。アドレナリンを経口投与した時の LD_{50} は、ラットで 30 mg/kg（Lewis 2004）。

結論として、ラットにおけるアドレナリンの最小 50%致死量は、皮下投与では 5 mg/kg、経口投与では 24～30 mg/kg であった。したがって、成人への臨床使用の最高用量の全量が誤って患者に皮下投与されたとしても安全域を超えることはない。

表 2.4.4.2.1　アドレナリン酒石酸水素塩　単回毒性試験

参考文献	動物種	投与経路	投与量	最小致死量	LD_{50}
Dietz 1990	ラット	皮下	不明	-	5mg/kg
		経口	不明	-	24mg/kg
	マウス（単独飼育）	静脈内	不明	-	3.96~4.58 mg/kg
	マウス（群飼育）	静脈内	不明	-	1.98~2.17 mg/kg
Lewis 2004	ラット	静脈内	不明	-	0.15mg/kg
		皮下	不明	-	5mg/kg
		経口	不明	-	30mg/kg
	マウス	静脈内	不明	-	0.217mg/kg
		皮下	不明	-	1.47mg/kg
	イヌ	静脈内	不明	-	0.1mg/kg
		皮下	不明	-	5mg/kg

2.4.4.2.2 反復投与毒性

我々の知る限り、ラット及びマウスを用いたがん原性試験の用量設定のための 14 日間、13 週間及び 15 カ月間試験とがん原性試験（Dietz 1990）を除いて、アドレナリンについての反復投与毒性試験は報告されていない。雌雄の F344/N ラット及び B6C3F1 マウスがこれらの試験の全てで使用された。アドレナリン塩酸塩は吸入チャンバー内で水溶性エアロゾルとして曝露され、対照動物には塩酸希釈液 (pH2.8)のエアロゾルを曝露した。動物は、1 日 6 時間で週 5 日 (最高用量は 200 mg/m^3）エアロゾルに曝露された。

これらの試験で吸入曝露によって得られたアドレナリンの血中濃度は、一般的な臨床血中アドレナリン濃度より低かったことから、アドレナリンに起因する異常や器質的変化は曝露部位（気道粘膜及び消化管粘膜）に限局していた。

これら非臨床試験では、臨床用量より高い用量のアドレナリンが極めて長期間投与されたが、歯科領域での局所麻酔剤としての使用において本医薬品に含まれるアドレナリンの臨床曝露が長期間に及ぶことはありえない。

2.4.4.2.3　遺伝毒性

アドレナリンの遺伝毒性は、数種類の試験によって評価され、用いた試験系によって遺伝毒性陰性或いは低レベルの遺伝毒性を示した。

代謝活性化の非存在下で2種の*Salmonella typhimurium*と2種の*Escherichia coli*を用いたAmes試験において、遺伝毒性は観察されなかった（Watanabe et al, 1998）。同様に、10%のAroclor1254で誘導したハムスター或いはラットの肝S-9ホモジェネートを用いた代謝活性化及び非代謝活性化の条件で、4種の*Salmonella typhimurium*を用いたAmes試験においても陰性の結果が得られた（Dietz 1990）。一方、デオキシリボ核酸（DNA）修復能欠損株と保有株の*Bacillus subtilis*を用いた直接的DNA損傷試験において、アドレナリンはDNA修復能欠損株により強い毒性を示したことから、DNA損傷作用のあることが示唆された。同様に、非代謝活性化の条件で、*Salmonella his*　遺伝子座をエンドポイントとして1種の*Salmonella*株で調べた試験において、アドレナリンは低いながらも有意な遺伝毒性を示した（Dietz 1990）。

マウスリンフォーマL5178Y細胞及び他の哺乳類細胞株を用い、チミジンキナーゼ遺伝子座をエンドポイントとした試験において、アドレナリンは、低レベルの遺伝子突然変異とDNA鎖切断を誘発した（Dietz 1990）。CHO細胞を用いた*in vitro*試験において染色体異常誘発能は陰性、姉妹染色分体試験では陰性とも陽性とも判定不能な結果が得られた（Dietz 1990）。マウスを用いた小核誘発及び精子異常の誘発を調べる*in vivo*試験において、アドレナリンは陰性の結果を示した（Dietz 1990）。

これらの相反する試験結果が得られたが、少量注射であること、注射の頻度が低いこと、アルチカイン/アドレナリン製剤の投与経路などを考慮した時、本製剤に含まれるアドレナリンはおそらく遺伝毒性を持たないと評価することは妥当と考えられる。

2.4.4.2.4　がん原性

アドレナリンのがん原性は、ラットとマウスを用いた 2 年のがん原性試験により調べられた（Dietz 1990; National Toxicology Program 1991）。

ラット試験では、各群雌雄各 60 匹の F344/N ラットに、L-アドレナリン塩酸塩の 0、1.5 及び 5 mg/m^3 の濃度のエアロゾルを 1 日当たり 6 時間、1 週間に 5 日間、104 週間曝露した。同様に各群雌雄各 60 匹の B6C3F$_1$ マウスに、L-アドレナリン塩酸塩の 0、1.5 及び 3 mg/m^3 の濃度のエアロゾルを 1 日当たり 6 時間、1 週間に 5 日間、104 週間曝露した。

試験に用いたアドレナリン用量は、薬理及び毒性作用ががん原性評価という主目的を混乱させる可能性があることやこの内因性ホルモンのヒトにおける曝露レベル並びにヒトにおけるエアロゾル化したアドレナリンの長期間に及ぶ治療的使用中に到達する濃度を考慮し、短期試験において薬理或いは毒性作用を引き起こさない濃度を選択した。

結論として、本製剤との関連において、アドレナリンの使用は通常単日投与に限られることから、使用する濃度でのがん原性に関する懸念はないと考えられた。

2.4.4.2.5　生殖発生毒性

2.4.4.2.5.1　受胎能試験

アドレナリン又はノルアドレナリンを 500 µg/kg の用量で妊娠ハムスター（cream strain）の妊娠 7～10 日に投与すると生殖成功率が低下することが報告された。アドレナリン投与では着床数と黄体数から算出した着床前胚損失率の割合が対照の 1.3 から 1.9 に増加したことから、着床前胚損失を誘発する傾向が示された（Hirsch and Fritz 1981）

2.4.4.2.5.2　　胎児毒性及び催奇形性

アドレナリンの 25～100 μg をラットの妊娠 15～21 日に腹腔内投与すると、胎児に徐脈（心拍数が通常の 140～180 拍/分が 20 拍未満/分に低下）、低血圧及び血清中カリウム濃度の上昇が誘発された（Dietz 1990)。これらの変化は胎児にアドレナリンを直接注射しても誘発されないことから、アドレナリンによる母動物子宮動脈狭窄 (clamping)に起因した子宮血流低下が原因で回復性のある現象と考えられた。アドレナリンのラット子宮と胎盤の血管収縮及び胎児成長に及ぼす影響検討で、妊娠 13～19 日にアドレナリンの 0.72 μg/kg/日を静脈内持続投与し、^{85}Sr でラベルしたマイクロスフェアを頸動脈カテーテルで投与して血流を定量的に測定したところ、子宮及び胎盤の血流が生理食塩液を投与した対照の 40%を超える有意な低下を示した（Birnbaum et al 1994）。しかし、胎児の成長には影響はみられなかった。この子宮胎盤血流の低下はサルにおいても生じた（Dietz 1990）。

アドレナリンを妊娠ラットに腹腔内投与すると出生児に奇形（尾の変形や麻痺）が誘発されることを Dietz 1990)は報告した。このアドレナリンの催奇形作用は鶏胚を用いたいくつかの研究でも示された。Dietz 1990)は 10～12 日の鶏胚の尿漿膜腔に 20～200 μg のアドレナリンを投与すると最低用量においても頭部血腫及び皮膚や肢に出血が生じることも報告した。また、0.4× 10^{-9}～20×10^{-9}M のアドレナリンの 5 μL の鶏胚暴露によって、種々の心血管系異常（動脈弓欠損、心室中隔欠損、二重右室、大動脈低形成、動脈管開存)が生じることも Dietz 1990)は報告した。これらの発生頻度はβ受容体拮抗薬のプロプラノロールの前処置で有意に抑制されたことから、このような変化はアドレナリンのβアドレナリン作動性作用に起因したものであった。Rajala et al 1984)は、アドレナリンに暴露した鶏胚における奇形誘発や生存率低下が本薬で生じた心拍数リズム異常や徐脈と関連する可能性を示した。

2.4.4.2.5.3　　出生前及び出生後毒性

ウサギの試験では、妊娠期間中にアドレナリンを投与された母動物の胎児や出生児は対照動物よりも小さく、体重低値は生後約 3 週目まで持続した（Dietz 1990）。

妊娠中のラットやマウスをストレスを介した内因性又は外因性のアドレナリンに暴露した場合に、新生児にどのような行動変化が生じるのかについてはいくつかの研究がある。これらの研究では生後の行動にアドレナリンが影響したという証拠は示されていない（Dietz 1990）。

ラットにおけるアドレナリンの催奇形性は、ヒトにおける治療用量の約 25 倍の用量で観察されたが、妊婦に対するベネフィットが胎児に対するリスクを上回ると判断される場合にのみ投与すべきである（Physician’s Desk Reference 2005）。

2.4.4.2.6　その他の試験

分解産物であるアドレナリンスルホン酸塩（エピネフリンスルホン酸塩とも呼ぶ）の非臨床安全性プロファイルを調べるため、いくつかのデータベース（Web of Science, OPS2 (via MatheoPatent), Orbit, PubMed, SpringerLink,ScienceDirect, Wiley, Ingentaconnect, Biomedsearch）を元に以下のキーワードを用いて文献レビューを実施したが、2011 年 9 月から現在に至るまで文献は見つからなかった。キーワード：“Toxicity” AND “epinephrin(e) sulfonic acid, sulfonate d'adrenaline, (1R)-1-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-methylaminoethanesulphonic Acid, Adrenaline β-Sulphonate, CAS Number: 78995-75-2”

したがって、GLP 基準に基づいて 3 試験を実施した（Study No.20110153TRP、Study No.FSR-IPL 100901、Study No.FSR-IPL 100902）。

2.4.4.2.6.1　単回急性毒性試験

より感度が高い静脈内投与で、ラットを用いた急性毒性試験を実施した（Study No.20110153TRP）。試験の結果、LD_{50} は実施した最高用量（アドレナリンスルホン酸の溶解性により制限された）である 50 mg/kg よりも高かった。本試験の最低用量（150 μg/kg）はアドレナリンをラットに静脈内投与した時の LD_{50} であったことは注目に値する。より高用量（50 mg/kg）では呼吸困難、横臥位或いは側臥位、眼瞼下垂、自発運動の低下、腹部緊張の低下が雄 1 例で投与直後から 1 時間後まで認められた。しかし、これらの作用はアドレナリンスルホン酸塩の合成に用いたアドレナリンが残留していたために生じた可能性を除外できなかった。

2.4.4.2.6.2　*In vitro* 遺伝毒性試験

アドレナリンスルホン酸を用いた Ames 試験（Study No.FSR-IPL 100901）及び哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験（Study No.FSR-IPL 100902）の 2 試験が実施された。Ames 試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験のいずれにおいても変異原性は持たないことが確認された。更に、想定しうるアドレナリン分解物の *in silico* 試験において、治療用量では遺伝毒性懸念のないことが確認された。

結論として、アドレナリンスルホン酸をラットに静脈内投与した時の最小 LD_{50} は、50 mg/kg 以上であった。この用量は、アドレナリンをラットに静脈内投与した時の最小 50%致死量（0.15 mg/kg）より 333 倍高かった。更に、バクテリアを用いた Ames 試験及び哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験において遺伝毒性は認められなかった。したがって、アドレナリンスルホン酸に安全上の懸念は認められなかった。

2.4.4.3　アルチカイン及びアドレナリンの毒性

アルチカインを含む製剤の非臨床安全性プロファイルをより詳しく調べるため、アドレナリン 0.005 或いは 0.01 mg/mL を含有或いは非含有のアルチカイン 40 mg/mL を用いた一連の追加試験を GLP 基準に従って実施した（Study No.870973、Study No.870974、Study No.871299、Study No.880001、Study No.10376/97、Study No.10137/96、Study No.10379/97、Study No.10651/97、Study No.10652/97、Study No.10653/97、Study No.10654/97、Study No.10655/97、Study No.10656/97）。

2.4.4.3.1　単回投与毒性

単回投与毒性試験は、アドレナリン（0.005 又は 0.01 mg/mL）含有アルチカインを用い、マウス、ラット及びウサギへの静脈内投与並びにマウスへの皮下投与で実施した（試験番号 Study No.870973、Study No.870974、Study No.871299）。アルチカインは 72 mg/kg を投与した。

これら試験はアドレナリンとアルチカインを併用した時の LD_{50} を調べるために実施した。

2.4.4.3.1.1　LD_{50} 中央値

LD_{50} を調べるために単回静脈内投与を実施した。

一般に、アドレナリン 0.005 及び 0.01 mg/mL 含有アルチカインの致死率はアルチカイン単独の場合と比べて増加した（Farbwerke Hoechst AG 1976）。アドレナリン 0.01 mg/mL 含有ア

ルチカインの LD_{50} 値は、マウスでは 37 mg/kg から 3.75 mg/kg へと 1/10 に、ラットでは 23 mg/kg から 11.4 mg/kg へと 1/2 に低下した。アドレナリン 0.005 mg/mL 含有アルチカインの LD_{50} 値は、マウスでは 37 mg/kg から 7.58 mg/kg へと 1/5 に低下した。

しかし、ラットの 1 試験では、血管収縮剤の添加は死亡率に無影響であったと結論されている（Sonnabend and Maschinski 1976）。更に、ウサギではアルチカインの死亡率に対してアドレナリンは無影響であった。

2.4.4.3.1.2　皮下投与後の安全用量

単回皮下投与時の毒性を調べるため、GLP 基準に従い、アドレナリン 0.005 又は 0.01 mg/mL 含有アルチカイン 40 mg/mL（Carticaine®、Alphacaine SP®）を 72 mg/kg の用量で雌雄の Swiss マウスを用いた 2 試験が実施された（Study No.870973、Study No.870974）。一般評価項目（臨床症状、体重）について 14 日間定期的に観察した。毒性変化として、投与約 15 分後に複数の動物で自発運動の低下が観察された。この症状は、アドレナリン 0.01 及び 0.005 mg/mL 含有アルチカイン 40 mg/mL の投与の数時間後には完全に消失した。

アドレナリン 0.01 又は 0.005 mg/mL 含有アルチカイン 40 mg/mL を 72 mg/kg 皮下投与しても安全であると考えられた。

GLP 基準に従った 2 試験において、37℃で 3～6 カ月保存して劣化させたアドレナリン 0.01 mg/mL 含有及び非含有のアルチカイン溶液の毒性を、室温保存したアルチカイン溶液と比較した（Study No.880001、Study No.871299）。両試験において、アルチカイン溶液（血管収縮剤含有及び非含有）の局所及び全身性毒性に保存条件による違いは認められなかった。

結論として、アドレナリン 0.005 又は 0.01 mg/mL 含有アルチカインの静脈内投与後のマウスにおける最小 50%致死量は、それぞれ 7.58 及び 3.72 mg/kg であった（本試験は歯科麻酔剤の偶発的な静脈内投与に該当）。マウスにおける安全用量は、成人に用いる最大推奨臨床用量である 7 mg/kg（70 kg の成人への 500 mg 投与に相当）より 10 倍高い 72 mg/kg であった。

2.4.4.3.1.3　アルチカインの単回投与に関連した症状

全体として、アルチカインの毒性症状は、薬理作用に関連しており、投与経路や動物種とは無関係であった。症状として、立毛、呼吸促迫、呼吸停止、振戦、よろめき、或いは眩暈をしばしば伴う自発運動の緩慢化；高用量における眼瞼下垂と眼球突出、強直性及び/或いは間代性痙攣；或いはしばしば多呼吸や騒音に対する過敏反応をしばしば伴う間代性筋痙攣などが認められた。これら症状の発現期間と程度には用量依存性が認められた。

結論として、アルチカインとアドレナリンの急性毒性症状は、薬理作用に関連しており、投与経路や動物種とは無関係であった。アドレナリン含有アルチカインをマウスに皮下投与した時の急性毒性症状は、自発運動の一時的な低下だけであった。

2.4.4.3.2　反復投与毒性

多くの歯科用麻酔薬は通常単回投与されるか又は一回の使用時に複数回投与されるが、投与が数日間にわたって繰り返される可能性がある。したがって、アルチカインの反復投与毒性を検討した。

粘膜下投与は動物、特にラットのような小動物では困難なため、皮下投与を選択し、ラットとイヌの 2 種で皮下投与毒性試験を実施した。

アドレナリン0.01 mg/mL含有アルチカイン塩酸塩の0（対照）、25、 50及び100 mg/kg/日をSprague-Dawleyラット（雌雄各10匹/群）に4週間皮下投与した（Study No.10652/97）。また、0 （対照）、 20、 40及び80 mg/kg/日をビーグル犬（雌雄各3匹／群）に4週間皮下投与した（Study No.10653/97）。イヌでの投与量は、14日間用量設定試験（Study No.10376/97）に基づいて設定した。血液学的検査、血液生化学検査及び尿検査は４週間の投与開始前と投与終了後に実施し、剖検で得た約35の組織を病理組織学的に調べた。

ラット４週間試験では、各群雌雄 10 例のうち、100 mg/kg 群の雄 3 例と雌 1 例並びに 50 mg/kg 群の雄 2 例が投与 6 日～27 日目に死亡した。いずれの動物でも死亡前に行動学的変化はみられなかった。50 及び 100 mg/kg 群では、ヘモグロビン量とリンパ球百分比の低値並びに白血球数、血小板数、網状赤血球数及び分葉核好中球百分比の高値がいずれも用量依存的にみられた。100 mg/kg 群では総ビリルビン、ALT 及び AST の高値も認められた。病理組織学的検査では、50 及び 100 mg/kg 群でも全身性の病理変化はみられなかった。一方、被験物質を投与された全ての動物で投与部位に血腫がみられ、その大きさは用量依存的であった。また、血腫に関連して皮膚の硬結や無毛化もみられた。更に、対照群と比較して瘡蓋、表皮/真皮及び皮下の壊死、炎症性細胞浸潤、肉芽組織、出血、浮腫、筋肉の壊死・萎縮・再生、表皮の過形成並びに脱毛を伴う皮膚潰瘍の頻度と程度の増加がすべての用量で認められた。これらの変化は投薬に関連し、被験物質の局所刺激作用に起因すると考えられた。無影響量は 25 mg/kg/日であった。

イヌ４週間試験では、いずれの群にも投薬期間中の死亡例はなかったが、80 mg/kg/日群では、嘔吐、唾液分泌亢進、歩行失調、鎮静、脱糞、間代性又は強直性痙攣、腹臥位／側臥位がみられた。投与部位の肉眼観察では、皮下の硬結、浮腫及び又は多発性の血腫が全ての動物にみられたが、対照群と被験物質投与群の間に差はみられなかった。全身性の変化として、ALT 及び AST の高値が 80 mg/kg 群にみられたが、投与部位を除いて器質的な変化は認められなかった。無影響量は 40 mg/kg/日であった。

アドレナリン 0.01 mg/mL 含有アルチカイン塩酸塩を４週間投与した時の無影響量はラット及びイヌでそれぞれ 25 及び 40 mg/kg/日であり、ヒトでの推奨最大用量を上回ることが示された。

2.4.4.3.3　遺伝毒性

一連のアルチカイン単独で実施された *in vitro* 及び *in vivo* 試験に加え、NMRI マウスを用いた 1 試験を、アルチカインとアドレナリンの併用時の遺伝毒性能を評価するために実施した。

アドレナリン 0.01 mg/mL 含有アルチカイン塩酸塩 75 mg/kg を NMRI マウスに皮下投与した小核試験を実施した（Study No.10651/97）。動物は投与の 24、48 及び 72 時間後に屠殺した。

同時に設定した陰性対照群との比較において、アドレナリン 0.01 mg/mL 含有アルチカインは、標本を採取した 3 回のいずれの投与後時間においても小核を有する多染性赤血球の出現率を増加させなかった。

これら *in vivo* 条件下において、アドレナリン 0.01 mg/mL 含有アルチカイン塩酸塩は染色体異常誘発作用を持たないことが証明された。

結論として、*in vitro* 及び *in vivo* 試験において、アドレナリン 0.01 mg/mL 含有アルチカイン塩酸塩はいかなる遺伝毒性も示さなかった。

2.4.4.3.4　がん原性

通常、歯科治療でのアルチカインとアドレナリンの併用療法は単日投与に限られていることから、ガイドライン（EMEA 1995）に従い、がん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.3.5　生殖発生毒性

生殖発生毒性試験はラットとウサギの 2 種の動物を用い、アドレナリンとともにアルチカイン塩酸塩を皮下投与して実施した。

2.4.4.3.5.1　　受胎能試験

アドレナリンの 0.01 mg/mL とともにアルチカイン塩酸塩の 20、40 及び 80 mg/kg/日を各群雌雄各 20 匹の SD ラットに皮下投与して、その影響を検討した(Study No.10654/97)。雄には交配の 4 週間前から交配期間終了まで毎日投与し、雌には交配の 2 週間前から妊娠 7 日まで毎日投与した。

ラットの受胎能への影響はいずれの用量でもみられなかった。交配能と受胎能の結果は対照群と同等であった。いずれの用量でも精子の数、形態及び生存性に被験物質起因の変化はなかった。黄体数、着床数、吸収胚数は正常範囲内であった。死亡胎児や肉眼的奇形はなかった。雌雄の親動物の剖検では被験物質起因の病理学的変化はみられなかった。

アドレナリンの 0.01 mg/mL とアルチカイン塩酸塩の併用投与は受胎能及び着床までの初期胚発生に影響を及ぼさず、生殖に関する無影響量は 80 mg/kg/日以上と結論した。

2.4.4.3.5.2　　胚胎児毒性及び催奇形性

アドレナリンの 0.01 mg/mL とアルチカインの発生毒性をラット（Study No.10655/97）とウサギ（Study No.10656/97)を用いて評価した。GLP 基準に準拠したこれらの試験の目的は、アドレナリンの 0.01 mg/mL とアルチカインの 20、40 及び 80 mg/kg/日を両動物種の器官形成の感受期（たとえば妊娠 6～17 日）に皮下投与した場合の母動物と胎児への影響検討であった。

その投与量は、母体に対してわずかに影響するかしないかの量であり、別途実施した 2 種の予備用量探索試験（Study No.10137/96、Study No.10379/97）の結果に基づいて決定した。

両動物種に軽度の母毒性を示す用量を投与しても胚胎児毒性はみられなかった。アドレナリンの 0.01 mg/mL 含有アルチカイン塩酸塩の 80 mg/kg/日（ラット）又は 40 mg/kg/日（ウサギ）を皮下投与しても（それぞれ臨床での最大投与量の約 11 倍及び 6 倍に相当）、催奇形性は示さなかったと結論した。

2.4.4.3.5.3　　周産期毒性

試験は実施しなかった。

結論として、臨床でのアルチカインの推奨最大投与量（7 mg/kg）の 10 倍を超える用量をラットとウサギに投与したこれらの生殖試験では、0.01 mg/mL アドレナリン併用の有無にかかわらず、親動物には毒性を示したものの、受胎能には影響はなく、また、胚毒性、催奇形

性並びに出生前及び出生後毒性はなかったと判断した。ただし、アルチカインは妊婦に対するベネフィットが胎児に対するリスクを上回ると判断される場合にのみ投与すべきである。

2.4.4.3.6 投与部位の忍容性

未実施。

2.4.4.4　添加剤の毒性

本製剤は、ピロ亜硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩酸及び水酸化ナトリウムといった添加剤を含有する。

ピロ亜硫酸ナトリウムは、抗菌防腐剤及び抗酸化剤として様々な医薬品に使用されている。しかし、非常に刺激性のある物質として知られており、気管支痙攣やアナフィラキシーを含む過敏症をおこすことが報告されている。

塩化ナトリウムは、注射用麻酔液の浸透圧調整に用いられ、基本的に無毒性、且つ、無刺激性物質であると考えられている。

全体を通じ、主にピロ亜硫酸ナトリウムに関連する過敏症反応は完全には否定できないが、本製剤を製造する際に用いられている特定濃度の添加剤は、安全であると考えられる。

2.4.5 総括及び結論

歯科領域及び口腔外科領域における浸潤麻酔又は伝達麻酔に使用する 40 mg/mL のアルチカイン塩酸塩（アドレナリン 0.01 mg/mL 含有）を医薬品として市販許可を得るために申請する。

アルチカインは 1976 年にドイツで初めて市販された。アルチカインとアドレナリンの合剤は、現在世界中の多くの国で市販されている。

この非臨床概要は、アルチカインとアドレナリンの主要な公開非臨床成績、Farbwerke Hoechst AG 1976 によって 1970 年代にアルチカインを用いて実施された非臨床試験、並びに GLP 基準に従って実施した追加試験に基づいている。

アルチカインの麻酔作用機序は、他の通常良く使われる麻酔薬と類似していることが *in vitro* モデル及び動物を用いた薬理試験で明らかにされている。本剤は、ナトリウム及びカリウムチャンネルの用量依存的な阻害により、膜電位及び膜抵抗に影響を与えることなく、活動電位の抑制及び伝達速度の低下により痛みを導く神経伝導を抑制する。これらの非臨床薬理学的特性から、アルチカインは歯科患者に対しての麻酔作用を発揮すると予想される。血管収縮作用を期待して添加されるアドレナリンは、アルチカインの吸収を遅らせてその麻酔作用を持続させる。

ラットとイヌを用いた薬物動態試験は、様々な経路で投与されたアルチカインの *in vivo* 動態に関する充分な情報を提供した。

一般毒性試験はアドレナリン 0.005 或いは 0.01 mg/mL 添加アルチカインを用いて実施された。アルチカインの非臨床毒性が、数多くの投与経路を用いて調べられた。歯科麻酔目的で用いられことが想定される投与経路（皮下及び筋肉内）は特に重要であった。臨床使用において、歯科麻酔剤が誤って血管内に投与される潜在的リスクがある為、安全上の理由から、静脈内投与経路も同様に検討された。

数種の動物種を用いた皮下投与による単回及び反復 4 週間投与試験では、それぞれ、72 及び 25 mg/kg/日が最大耐量であり、臨床における単日投与と比較して少なくとも 10 倍の安全域が得られた。ただし、誤って血管内に投与された場合を想定した静脈内投与では、重篤な毒性兆候が認められた。

アルチカインの受胎能に及ぼす影響は見られなかった。本剤の直接作用による胚毒性及び催奇形性も認められなかった。更に、本剤の遺伝毒性を調べるために実施された *in vitro* 及び *in vivo* 試験においても陰性の結果が得られた。アドレナリンを投与した動物において、受胎能への何らかの影響及び催奇形性作用が観察されたが、その用量は、ヒトにおける歯科治療で推奨される用量よりかなり高用量であった。

以上、非臨床試験で得られた全ての結果から、アドレナリン含有或いは非含有アルチカインはヒトにおける歯科麻酔剤としての使用上、充分に安全であることが明らかとなった。

2.4.6 参考文献一覧

Baeder et al 1974

Baeder C, Bähr H, Benoit W, Doerr BJ, Engelbart K, Hergott J et al. Studies on the tolerance of the new local anesthetic carticaine.　Prakt Anaesth. 1974; 9(3): 147-52.

Birnbaum et al 1994

Birnbaum SC, Kien N, Martucci RW, Gelzleichter TR, Witschi H, Hendrickx AG et al.　Nicotine- or epinephrine-induced uteroplacental vasoconstriction and fetal growth in the rat. Toxicology 1994;94 (1-3) :69-80.

Borchard and Drouin 1980

Borchard U and Drouin H Carticaine: action of the local anesthetic on myelinated nerve fibres.　Eur J Pharmacol. 1980; 62(1): 73-9.

Den Hertog 1974

Den Hertog A.　The effect of carticain on mammalian non-myelinated nerve fibres. Eur J Pharmacol. 1974; 26(2): 175-8.

Derek Nexus Assessment of 18 Septodont Impurities 2012

Derek Nexus Assessment of 18 Septodont Impurities.　Computational Toxicology Services LLC, Maryland. 25 May 2012.

Dietz 1990

Dietz D　NTP Technical Report on the toxicology and carcinogenesis studies of l-epinephrine hydrochloride (CAS no. 55-31-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies).　National Toxicology Program, March 1990. NTP TR 380. NIH Publication No. 90-2835. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health.

EMEA 1995

EMEA　Note for guidance on the need for carcinogenicity studies of pharmaceuticals.　December 1995

Farbwerke Hoechst AG 1976

Farbwerke Hoechst AG　Pharmacology and toxicology study on the experimental product HOE 40 045 (carticaine hydrochloride INN) 1976.

Goodman and Gilman's 2011

Goodman and Gilman's Chapter 20. Local Anaesthetics – pp 565-582.　The pharmacological basis of therapeutics. Twelfth edition. Editor: Laurence Brunton　Associate editors: Bruce Chabner, Bjorn Knollman. 2011.

Handbook of local anaesthesia 2004

Handbook of local anaesthesia 5th edition, Malamed SF. Editor Mosby. 2004.

Hirsch and Fritz 1981

Hirsch KS and Fritz HI　Teratogenic effects of mescaline, epinephrine, and norepinephrine in the hamster.　Teratology 1981; 23: 287-91.

Hoffer et al 1974

Hoffer, Eberl R, and Altmann H.　PharmakokinetischeUuntersuchungen mit 35 S-markiertem carticaine.　Prakt Anästh 1974; 9: 157-61.

Leuschner, and Leblanc 1999

Leuschner J, and Leblanc D　Studies on the toxicological profile of the local anaesthetic articaine. Arzneimittelforschung. 1999; 49(2): 126-32.

Lewis 2004

Lewis, RJ　Sr. (ed) Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials. 11th Edition. Wiley-Interscience　Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ. 2004., p. 3664.

Martindale 2005

Martindale The Complete Drug Reference　34th edition. Sweetman SC (ed), London, Chicago: Pharmaceutical Press, 2005, pp. 852-856.

Moller and Covino 1993

Moller RA and Covino BG　Cardiac electrophysiologic effects of articaine compared with bupivacaine and lidocaine.　Anesth Analg. 1993; 76(6): 1266-73.

National Toxicology Program 1991

National Toxicology Program　Toxicology and carcinogenesis studies of L-epinephrine hydrochloride (CAS No. 55-31-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies).　Govt Reports Announcements & Index (GRA&I), issue 08, 1991.

Oertel and Richter 1998

Oertel R and Richter K　Plasma protein binding of the local anaesthetic drug articaine and its metabolite articainic acid.　Pharmazie. 1998; 53(9): 646-7.

Oss et al 1988

van Oss G E, Vree T B, Baars A M, Termond E F, Booij L H: Clinical effects and pharmacokinetics of articainic acid in one volunteer after intravenous administration. Pharm Weekbl Sci. 10: 284-6. 1988

Physician’s Desk Reference 2005

Physician’s Desk Reference　59th ed. 2005.

Rajala et al 1984

Rajala GM, Kuhlmann RS and Kolesari GL　The role of dysrhythmic heart function during cardiovascular teratogenesis in epinephrinetreated chick embryos.　Teratology 1984; 30: 385-392.

Simard-Savoie 1990

Simard-Savoie S, Perrault I and Perron MJ　Effects of articaine on intrapulpal, mandibular, and femoral pressures in dogs.　Anesth Prog. 1990; 37(1): 16-9.

Simon et al 1990

Simon MA, Gielen MJ, Alberink N, Vree TB, van Egmond J. Intravenous regional anesthesia (IVRA) with 0.5% articaine, 0.5% lidocaine, or 0.5% prilocaine. A double-blind randomized clinical study. Reg Anesth. 1997;22:29–34.

Sonnabend and Maschinski 1976

Sonnabend E and Maschinski G　Animal experimental studies on the toxicity of carticaine and lidocaine.　Dtsch Zahnarztl Z. 1976; 31(2): 126-7.

Study No.10089/96

Study No.10089/96. Leuschner J　Mutagenicity study of articaine hydrochloride in the Salmonella typhimurium reverse mutation assay (in vitro).　Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 20 October 1997.

Study No.10090/96

Study No.10090/96. Leuschner J　In vitro assessment of the clastogenic activity of articaine hydrochloride in cultured CHOcells.　Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 15 October 1997.

Study No.10137/96

Study No.10137/96. Leuschner J　Dose-range-finding sudy to determine the dose levels for an examination of the influence of articaine hydrochloride on the pre- and postnatal development and rat

embryotoxicity by subcutaneous administration to the dams of the F0-generation. Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 15 October 1997.

Study No.10138/96

Study No.10138/96. Leuschner J　Examination of articaine hydrochloride for effects on the pre- and postnatal development (including maternal function) following subcutaneous administration to the dams of the F0-generation (Segment III study). Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 28 October 1997.

Study No.10337/97

Study No.10337/97. Leuschner J　Metabolism of articaine by human isoenzymes, protein binding and stability of articain in human plasma in vitro including validation of the analytical method. Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 11 November 1997.

Study No.10373/97

Study No.10373/97. Leuschner J　Mutagenicity study of articaine hydrochloride in mammalian cells (V79) in the in vitro gene mutation assay (HPRT test). Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 6 October 1997.

Study No.10374/97

Study No.10374/97. Leuschner J　Micronucleus test of articaine hydrochloride in bone marrow cells of the NMRI mouse by subcutaneous administration. Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 23 May 1997.

Study No.10376/97

Study No.10376/97. Leuschner J　14-day dose-range-finding sudy for a 4-week subchronic toxicity study of articaine hydrochloride by subcutaneous administration to beagle dogs. Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 12 May 1997.

Study No.10379/97

Study No.10379/97. Leuschner J　Dose-range-finding sudy to determine the dose levels for an examination of the influence of articaine in the pregnant rabbit and the fetus by subcutaneous administration. Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 12 May 1997.

Study No.10651/97

Study No.10651/97. Leuschner J Micronucleus test of Septanest 1/100,000 epinephrine in bone marrow cells of the NMRI mouse by subcutaneous administration (base set). Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 29 October 1997.

Study No.10652/97

Study No.10652/97. Leuschner J　4-week subchronic toxicity study of Septanest 1/100,000 epinephrine by subcutaneous administration to Sprague-Dawley rats. Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 10 November 1997.

Study No.10653/97

Study No.10653/97. Leuschner J　4-week subchronic toxicity study of Septanest 1/100,000 epinephrine by subcutaneous administration to beagle dogs. Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 7 November 1997.

Study No.10654/97

Study No.10654/97. Leuschner J　Examination of the influence of Septanest 1/100,000 epinephrine on the fertility and early embryonic development to implantation of Sprague-Dawley rats by subcutaneous

administration to the animals of the F0-generation (Segment I Study). Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 29 October 1997.

Study No.10655/97

Study No.10655/97. Leuschner J　Examination of the influence of Septanest® 1/100,000 adrenaline on the pregnant rat and the foetus by subcutaneous administration (Embryotoxicity Study/Segment II Study).　Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 29 October 1997.

Study No.10656/97

Study No.10656/97. Leuschner J　Examination of the influence of Septanest 1/100,000 epinephrine on the pregnant rabbit and the fetus by subcutaneous administration (Embryotoxicity Study/Segment II Study).　Laboratory of Pharmacology and Toxicology. 29 October 1997.

Study No.870973

Study No.870973. Demons C　Carticaine (articaine 4 per cent epinephrine 1/100,000) in comparison with Alphacaine SP (articaine 4 per cent epinephrine 1/100,000): comparison of safety in the mouse using the subcutaneous route.　Centre de Recherches Biologiques. 9 December 1987.

Study No.870974

Study No.870974. Demons C　Carticaine (articaine 4 per cent epinephrine 1/200,000) in comparison with Alphacaine N (articaine 4 per cent epinephrine 1/200,000): comparison of safety in the mouse using the subcutaneous route.　Centre de Recherches Biologiques. 9 December 1987.

Study No.870975

Study No.870975. Demons C　Carticaine 4 per cent without epinephrine: toxicity after a single administration subcutaneously in the mouse.　Centre de Recherches Biologiques. 23 February 1988.

Study No.871225

Study No.871225. Demons C　Articaine 4 per cent without vasoconstrictor: study of skin sensitivity according to Magnusson and Kligman.　Centre de Recherches Biologiques. 22 February 1988.

Study No.871299

Study No.871299. Demons C　"Aged" articaine solution (6 months) in comparison with "fresh" articaine solution: safety in the mouse via the subcutaneous route.　Centre de Recherches Biologiques. 15 February 1988.

Study No.880001

Study No.880001. Demons C　"Aged" articaine solution (3 months) in comparison with "fresh" articaine solution: safety in the mouse via the subcutaneous route.　Centre de Recherches Biologiques. 22 February 1988.

Study No.20110153TRP

Study No.20110153TRP　EPINEPHRINE SULFONIC ACID Acute toxicity study in the rat by the intravenous route.　Centre de Recherches Biologiques. 8 February 2012.

Study No.FSR-IPL 100901

Study No. FSR-IPL 100901　EPINEPHRINE SULFONIC ACID- BACTERIAL REVERSE MUTATION TEST on five strains of Salmonella typhimurium His- using B.N. AMES' Technique. Institut Pasteur de Lille. 12 July 2011.

Study No.FSR-IPL 100902

Study No. FSR-IPL 100902　EPINEPHRINE SULFONIC ACID- In Vitro mammalian chromosome aberration test. Institut Pasteur de Lille. 12 August 2011.

Watanabe et al 1998

Watanabe K, Sakamoto K and Sasaki T　Comparisons on chemically-induced mutation among four strains, Salmonella typhimurium TA102 and TA2638, and Escherichia coli WP2/PKM101 and WP2 UVRA/PKM101: collaborative study II. Mutat Res 1998; 412: 17-31.

Westfall and Westfall 2006

Westfall TC and Westfall DP　Adrenergic agonists and antagonists.　Goodman and Gilman’s The Pharmacologic Basis of Therapeutics, 11th edition; Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. New York: McGraw Hill, Medical Publishing Division, 2006. pp 237-295.