目次

略語・略号一覧 3
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 開発の背景 4
2.4.1.1 てんかん重積状態 4
2.4.1.2 ジアゼパム 4
2.4.1.3 Intravail® A3（ドデシルマルトシド） 5
2.4.1.4 ジアゼパム点鼻液（NRL-1） 5
2.4.2 非臨床試験計画概略 6
2.4.3 薬理試験 11
2.4.3.1 効力を裏付ける試験 11
2.4.3.2 副次的薬理試験 11
2.4.3.3 安全性薬理試験 11
2.4.3.4 薬力学的薬物相互作用 12
2.4.4 薬物動態試験 12
2.4.4.1 吸収 12
2.4.4.1.1 ウサギを用いた鼻腔内投与及び静脈内投与後の薬物動態試験（予備試験[0852LN45.001]及び[0852LN45.002]試験） 12
2.4.5 毒性試験 13
2.4.5.1 単回投与毒性試験 13
2.4.5.2 反復投与毒性試験 14
2.4.5.2.1 ジアゼパム 14
2.4.5.2.2 ジアゼパム点鼻液 14
2.4.5.3 遺伝毒性試験 23
2.4.5.4 がん原性試験 23
2.4.5.5 生殖発生毒性試験 23
2.4.5.6 局所刺激性試験 24
2.4.5.6.1 ウサギを用いた鼻腔内投与及び静脈内投与後の局所刺激性／薬物動態試験（[0852LN45.001]及び[0852LN45.002]試験） 24
2.4.5.7 その他の毒性試験 24
2.4.5.7.1 製剤中の不純物／分解物 24
2.4.5.7.2 その他の試験 26
2.4.6 総括及び結論 32
2.4.7 参考文献 33

表目次

表 2.4-1 ジアゼパム点鼻液の非臨床試験一覧 7
表 2.4-2 8290342 試験におけるジアゼパム点鼻液の鼻腔内投与後のジアゼパム、ノルジアゼパム及び Intravail® A3 の最高濃度及び曝露量 17
表 2.4-3 8290343 試験におけるジアゼパム点鼻液投与後のジアゼパム、ノルジアゼパム及び Intravail® A3 の最高濃度及び曝露量 22
表 2.4-4 Intravail® A3 に関する毒性試験 28

図目次

図 2.4-1 ジアゼパムの構造式 4
図 2.4-2 Intravail® A3 の構造式 5

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-24}	Area under the concentration-time curve (from 0 h to 24 h)	投与後 0 時間から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積
BSA	Body surface area	体表面積
CFSAN	Center for Food Safety and Applied Nutrition	（FDA の）食品安全・応用栄養センター
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
EPA	US Environmental Protection Agency	米国環境保護庁
FDA	Food and Drug Administration (United States)	米国食品医薬品局
GABA	γ-Aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GRAS	Generally recognized as safe	一般に安全と認められる
Intravail® A3	Dodecylmaltoside	ドデシルマルトシド
K_2EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt dihydrate	エチレンジアミン四酢酸二カリウム二水和物
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限
MRHD	Maximum recommended human dose	ヒト最大推奨用量
N/A	Not applicable	該当なし
NDA	New Drug Application	新医薬品承認申請
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無影響量
NRL-1	Diazepam nasal spray	ジアゼパム点鼻液
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PR	Measurement from beginning of P wave to beginning of QRS complex	P 波の開始から QRS 群の開始までの間隔
QOD	Once every other day	1 日おきに 1 回
QRS	Measurement from beginning of Q wave to end of S wave	Q 波の始まりから S 波の終わりまでの間隔
QT	Measurement from beginning of QRS complex to end of T wave	QRS 群の始まりから T 波の終わりまでの間隔
QTc	Corrected QT	補正 QT
RCB	Diazepam Related Compound B	ジアゼパム関連化合物 B
RR	Measurement from one R wave to following R wave	R 波から次の R 波までの間隔
SD	Sprague Dawley	Sprague Dawley

2.4　非臨床試験の概括評価

ジアゼパム点鼻液は、2 歳以上のてんかん患者における「てんかん重積状態及びてんかん重積状態に移行するおそれのある発作」を予定する効能効果として開発された。以下に開発の背景及び非臨床試験の概要について記載する。

2.4.1　開発の背景

2.4.1.1　てんかん重積状態

てんかん重積状態の定義として、けいれん発作が自然停止し難くなる発作持続時間（t1）及び脳に長期的な影響を及ぼすおそれがある発作持続時間（t2）を踏まえ、「てんかん重積状態とは、発作停止機構の破綻、あるいは（t1 時点以降の）異常に遷延する発作を引き起こす機構が惹起された状態である。また発作型や持続時間によっては、（t2 時点以降に）神経細胞死、神経細胞障害、神経ネットワーク変化を含む長期的な後遺症をもたらす状態である」と提唱されている（Trinka 2015）。

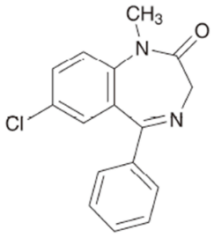
てんかん発作は通常 1～2 分で停止することが多く、持続時間が長くなると薬剤抵抗性となるため、けいれん発作の持続時間（t1）が 5 分以上続けばてんかんの重積状態と診断し、治療を開始することが推奨されている（[2.5.1.2.2]参照）。

2.4.1.2　ジアゼパム

ジアゼパムはベンゾジアゼピン誘導体である。化学名は 7-Chloro-1-methyl-5-phenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one である。ジアゼパムは無色から淡黄色の結晶性の粉末であり、水に不溶である。化学式は $C_{16}H_{13}ClN_2O$ であり、分子量は 284.74 である。

ジアゼパム（図 2.4-1）は水に難溶であるため、ジアゼパム点鼻液（NRL-1）製剤の開発プログラムでは、非水性溶剤及び水性懸濁剤の 2 種類の点鼻液製剤に焦点をおいた。

図 2.4-1　ジアゼパムの構造式



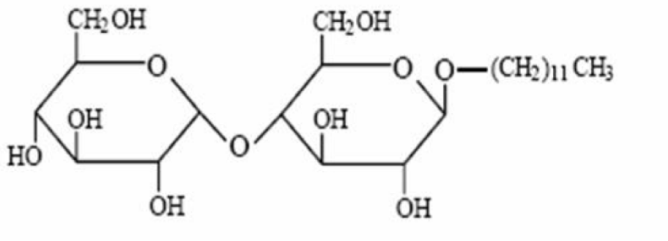
溶剤の開発に際し、多数の溶媒系から、薬物の溶解度、安定性及び市販のスプレーポンプと使用するときの適合性の最適化を主目的としてスクリーニングした。

2.4.1.3　Intravail® A3（ドデシルマルトシド）

Intravail® A3（以降、Intravail A3）は、ジアゼパムを経鼻送達させるための吸収促進剤としてジアゼパム点鼻液製剤中に含まれる。Intravail A3 の技術は穏やかな界面活性剤と密接に関連する分子に基づいており、極めて低い濃度で傍細胞経路及び経細胞経路による経粘膜輸送を促進させるために使用する。Intravail A3 はアルキルグリコシドとして知られる非イオン系界面活性剤の一種である。アルキルグリコシドは糖分子に結合した多様な長さのアルキル鎖からなり、経鼻、経口及び点眼投与する薬物のバイオアベイラビリティーを高める能力が広範に検討されている。

ドデシルマルトシドはマルトースと長鎖アルコールであるドデカノールがグリコシド結合したものである。Intravail A3 の化学名は Dodecyl-4-O-α-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (2R,3R,4S,5S,6R)-2-(((2R,3S,4R,5R,6R)-6-(Dodecyloxy)-4,5-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3-yl)oxy)-6-(hydroxymethyl) tetrahydro2H-pyran-3,4,5-triol（CAS #69227-93-6）である。別名は 1-O-n-Dodecyl-β-D-Maltopyranoside 及び n-Dodecyl β-D-Maltoside である。化学式は $C_{24}H_{46}O_{11}$ であり、分子量は 510.62 である。Intravail A3 の構造式を図 2.4-2 に示す。

図 2.4-2　Intravail® A3 の構造式



アルキルグリコシドのトキシコキネティクス及び代謝は、経済協力開発機構（OECD）テストガイドラインの下で詳細に検討されている。経口投与及び経鼻投与されたアルキルグリコシドは、グルコース及び対応する長鎖アルコールに加水分解される。代謝中に生成される毒性中間体はない。

2.4.1.4　ジアゼパム点鼻液（NRL-1）

ジアゼパム点鼻液（NRL-1）はてんかん発作の治療に使用されている既存のジアゼパム製剤よりも投与が容易な経鼻投与製剤として Neurelis 社により開発された。ジアゼパム点鼻液は新規の非水性（トコフェロールをベースとした）製剤であり、一般的な鼻腔内投与容量（100 µL）で投与したとき治療効果の発揮に適した血中濃度に達するように、50、75 及び 100 mg/mL の薬物濃度で開発している。投与容量である 100 µL は、製剤の鼻腔内投与に最適な容量と考えられる。この容量は鼻粘膜に適切に分布し、滴下量が最小限となる。また、この容量では喉に薬液が流れ出ることによって経口投与になってしまうことを避けられると考えられる。5 及び 10 mg の用量は 1 回の経鼻投与で送達されるが、15 及び 20 mg の用量を送達するためには各鼻腔に 1 回ず

つ、2 回投与が必要である。単回使用経鼻投与スプレー（[redacted]社）を用いて鼻腔内に投与する。

ジアゼパムは 50 年以上にわたり多くの臨床試験や臨床現場で使用され、ヒトに対する使用経験も豊富である。既承認の適応症における有効性及び安全性プロファイルは臨床で確立されている。

ジアゼパム点鼻液は専有の処方と Intravail A3 を組み合わせて鼻腔内投与することで、ジアゼパムのバイオアベイラビリティーが高くなるように製剤化及び設計されている。

2.4.2　非臨床試験計画概略

ジアゼパムの臨床での使用経験を考慮すると、ジアゼパムの薬理、毒性及び全般的安全性は十分に確認されていると考える。ジアゼパムの最初の販売承認以降、50 年以上が経過しておりジアゼパムの安全性及び有効性に関するデータは多くの臨床試験及び臨床使用経験から得られている。

世界中でジアゼパム経口剤、注射剤及び直腸ゲルが市販されており（ジアゼパムの世界で最初の承認は 1963 年）、非臨床及び臨床安全性プロファイルは十分に確立している。

ジアゼパムは経口投与による安全性が知られているため、経鼻投与による影響に重点を置き、ジアゼパム点鼻液の毒性及びトキシコキネティクスプロファイルを評価する目的で、主に以下のような毒性試験を計画し実施した。

- ラットでは 26 週間まで、イヌでは 4 週間までの反復投与毒性試験
- ラット及びイヌを用いたトキシコキネティクス試験
- ウサギを用いた局所刺激性試験

本概要中では、ジアゼパム点鼻液と企業開発コード名である NRL-1 とは同義である。Intravail A3 は一般名であるドデシルマルトシドと同義である。

これらの試験一覧を表 2.4-1 に示し、2.4.4.1 項及び 2.4.5.2 項で更に要約する。

表 2.4-1　ジアゼパム点鼻液の非臨床試験一覧

Study Number	Study Type	Species	Number/ Gender/Group	Dosage	Primary Findings	Where Conducted	GLP
Pharmacokinetics, Toxicokinetic, and Tolerability Studies							
[0852LN45.001]	Single Dose Formulation Development	New Zealand White rabbits	5M	70 mg/mL (3.5 mg/day); 200 mg/mL (10 mg/day)	Based on the evaluation of 12 intranasal formulations, one suspension and one solution were chosen as candidates for a human pharmacokinetic clinical study. An aqueous suspension formulation with a diazepam concentration of [redacted] mg/mL containing [redacted]% Intravail® A3, was designated as NRL-1.A and a non-aqueous diazepam solution at [redacted] mg/mL containing [redacted]% Intravail® A3 was designated as NRL-1.B for this study. The diazepam AUC and C_{max} for the intranasal suspension chosen to progress were 269 ng·h/mL and 80.7 ng/mL, respectively. For intranasal solution, the diazepam AUC and C_{max} were 366 ng·h/mL and 55 ng/mL, respectively. No clinical signs of toxicity. There were no gross or microscopic changes associated with the test material tested.	[redacted]	No
[0852LN45.002]			5M	100 mg/mL (5 mg/day); 200 mg/mL (10 mg/day)			
Repeated-dose Toxicity Studies							

Study Number	Study Type	Species	Number/ Gender/Group	Dosage	Primary Findings	Where Conducted	GLP
[8290337]	7-Day Rat Dose Range Finding	SD rats	Control: 7F Treatment:13F	Single-dose: 1, 2, 8, or 12 mg/day Repeat-dose: 0, 10, 20 mg/day	No test article-related deaths or macroscopic findings were observed. Test article-related microscopic findings were limited to the larynx (minimal neutrophil infiltrate), but were not considered adverse.	[redacted]	No
[20023862]	28-Day Rat Nasal Toxicity	SD rats	6F	0, 0.25, 0.5, 1 mg/day	No treatment related adverse effects.	[redacted]	No
[8290342]	4-Week Rat Nasal Toxicity	SD rats	15M/15F	0, 8 mg/day	No NRL-1-related clinical observations occurred in the dosing or recovery phase. Intravail® A3-related microscopic findings in the nose/nares (minimal to slight epidermal hyperplasia/ inflammation) and nasal turbinates (minimal to slight inflammation, reversible minimal erosion/ulcer, and reversible minimal to slight hemorrhage) were not considered adverse.	[redacted]	Yes
[2502-002]	26-Week Rat Nasal Toxicity	SD rats	18M/18F	0, 4, 6, 8 mg/day	Daily intranasal administration of NRL-1 in male and female rats for 26 consecutive weeks was tolerated at doses of 4, 6, and 8 mg/day. There were no test article-related findings in any parameter evaluated. Consequently, the no-observed-adverse-effect-level	[redacted]	Yes

Study Number	Study Type	Species	Number/ Gender/Group	Dosage	Primary Findings	Where Conducted	GLP
					(NOAEL) was considered to be 8 mg/day.		
[8290338]	5-Day Dog Nasal Toxicity	Beagle dog	Single-dose: 3F Repeat-dose: 2M/2F	Single-dose: 10, 20, 40, 60, 80 mg/day Repeat-dose: 0, 60, 120 mg/day	Ataxia and sedation occurred in a dose-dependent manner. Vehicle control and NRL-1 were well tolerated and resulted in no dose-limiting clinical observations or toxicologically important body weight or food consumption changes. Microscopically, nasal turbinate respiratory epithelial hyperplasia/inflammation in animals given vehicle control; a finding that appeared to be exacerbated by administration of NRL-1 in females, but not in males.	[redacted]	No
[20023863]	28-Day Dog Nasal Toxicity	Beagle dog	2F	0, 5, 10, 20 mg/day	No treatment related adverse effects.	[redacted]	No
[8290343]	4-Week Dog Nasal Toxicity	Beagle dog	4 or 6M/ 4 or 6F	0, 78 mg/day	Animals exhibited excessive salivation and struggling during dosing that was deemed a vehicle-related effect, but was not considered adverse.	[redacted]	Yes
Other Toxicity Studies							
Impurities							
[0470RN45.001]	Repeat-dose (Related Compound B)	SD rat	15M/15F	0, 0.9, 4.7, 9.4 mg/mL every other day	NOAEL = 20 µL/nare (40 µL total) at concentration of 9.4 mg/mL every other day	[redacted]	Yes

Study Number	Study Type	Species	Number/ Gender/Group	Dosage	Primary Findings	Where Conducted	GLP
[AG01VV.502ICH.BTL]	Genotoxicity (Related Compound B)	*S. typhimurium* and *E. coli*	N/A	up to 5000 µg/plate	No genotoxic effects.	[redacted]	Yes
[AG01VV.331ICH.BTL]	Genotoxicity (Related Compound B)	Chinese hamster ovary cells	N/A	up to 51.2 µg/mL (non-activated and S9-activated 4-hour exposure groups) up to 41 µg/mL (non-activated 20-hour exposure group)	No genotoxic effects.	[redacted]	Yes
Excipients							
See 表 2.4-4							

SD = Sprague Dawley; Single-dose = Single-dose or small doses

2.4.3　薬理試験

ジアゼパム点鼻液の薬理試験は実施しなかった。

2.4.3.1　効力を裏付ける試験

ジアゼパムはベンゾジアゼピン系薬剤の一つである。その他のベンゾジアゼピン系薬剤にはクロルジアゼポキシド、クロナゼパム、ロラゼパム、アルプラゾラム、ニトラゼパム、フルラゼパム、ブロマゼパム及びクロラゼプ酸などがある。ジアゼパムは一部のベンゾジアゼピン系薬剤に特有の抗けいれん作用を有する。ジアゼパムは GABA 濃度及びグルタミン酸脱炭酸酵素活性に影響を及ぼさないが、GABA トランスアミナーゼ活性に僅かな影響を及ぼす（Battistin 1984）。ベンゾジアゼピン系薬剤は μmol/L レベルの濃度でベンゾジアゼピン結合部位を介して作用し、ラット神経細胞における脱分極感受性カルシウム取込みを著しく阻害する（Taft 1984）。

ジアゼパムはマウス海馬シナプトソームにおけるアセチルコリン放出を阻害する。この作用は in vivo でマウスをジアゼパムで前処置した後に、in vitro でのマウス脳細胞中のナトリウム依存性高親和性コリン取込みを測定することにより見出された。この作用はジアゼパムの抗けいれん作用を説明する上で重要な役割を果たす可能性がある（Miller 1985）。

ジアゼパムは動物細胞培養液中のグリア細胞に結合する（Gallager 1981）。高用量のジアゼパムはベンゾジアゼピンーGABA 受容体複合体における直接作用を介して、マウス脳内のヒスタミン代謝回転を減少させることが示されている（Oishi 1986）。また、ジアゼパムはラットのプロラクチン放出を減少させる（Grandison 1982）。

ジアゼパムなどのベンゾジアゼピン系薬剤は、CNS の神経細胞膜に局在するイオンチャネル型の膜貫通型タンパク質である $GABA_A$ 受容体と結合する（Chebib 1999）。CNS における主要な抑制性神経伝達物質である GABA はこの受容体に作用し、膜チャネルを開口することにより塩素イオンを神経細胞内に流入させる。抑制性神経伝達物質である GABA は受容体と結合することにより、塩素イオンチャネルのゲートを開口し、抑制性電流を生じる（Barker 1978）。ベンゾジアゼピン系薬剤は GABA 結合部位とは異なる部位で受容体とアロステリックに結合し、チャネルのゲートの開口頻度を増やすことにより塩素イオンチャネルのコンダクタンスを高める（McKernan 1996、Campo-Soria 2006、Riss 2008）。ベンゾジアゼピン系薬剤に共通の化学構造がそれらに類似の作用機序の主な要因である。ベンゾジアゼピン系薬剤の効力はその受容体に対する薬物の in vivo での親和性を示している。ジアゼパムは中程度の効力に分類される（Chouinard 2004）。

2.4.3.2　副次的薬理試験

ジアゼパム点鼻液の副次的薬理試験は実施しなかった。

2.4.3.3　安全性薬理試験

ジアゼパム点鼻液の安全性薬理試験は実施しなかった。

2.4.3.4　薬力学的薬物相互作用

ジアゼパム点鼻液の薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.4.4　薬物動態試験

経口投与後のジアゼパム及びその主要代謝物は速やかに吸収される。臨床の文献では、ジアゼパムの鼻粘膜投与に関する過去の試みはほとんど成功をみていない。ジアゼパム静脈内投与と比較した場合の鼻粘膜からの吸収率は約 50%であった（Gizurarson 1999、Lindhardt 2001）。鼻腔内投与経路によるジアゼパム点鼻液中のジアゼパムの吸収を改善するために、Intravail A3（吸収促進剤）と高濃度のジアゼパム（液剤及び懸濁剤）の併用が探索的に検討されている。

以下の項では、ジアゼパムの非臨床薬物動態を示す。

2.4.4.1　吸収

2.4.4.1.1　ウサギを用いた鼻腔内投与及び静脈内投与後の薬物動態試験（予備試験[0852LN45.001]及び[0852LN45.002]試験）

最初の臨床薬物動態試験で用いる至適な製剤を選択するために、2 つの試験において、New Zealand White 雄ウサギを用いて、異なる量の Intravail A3 を含むジアゼパムの鼻腔内投与用の 12 種類の製剤（懸濁剤及び液剤）とジアゼパムの静脈内投与製剤の薬物動態プロファイルを比較した。ウサギを用いたこれらの薬物動態試験では、ジアゼパム点鼻液を 50 µL の容量で投与し、投与濃度は、2 種類の液剤で 70 mg/mL 及び 100 mg/mL、2 種類の懸濁剤で 200 mg/mL とした。ジアゼパムを動物に静脈内投与した後の血漿中濃度と比較することにより絶対バイオアベイラビリティーを評価した。

各試験は 7 群の雄ウサギ（各群 5 匹）を用いた無作為化、単回投与並行群間試験とした。各鼻腔内投与量は液剤 3.5 mg 及び 5 mg、懸濁剤 10 mg、比較用の静脈内投与量はジアゼパムとして約 5 mg とした。鼻腔内投与容量は Group 1～6 の全例について一貫して 50 µL とした。Group 7 には 1.4 mg/kg を単回静脈内投与した。

鼻腔内投与後、各個体から継続して血液試料を採取した。投与していない側の耳に静脈穿刺し、血液試料（それぞれ約 1.5 mL）を抗凝固剤 K_2EDTA 含有採血管に採取した。血液試料を投与 0（投与前）、0.0333、0.0833、0.1667、0.25、0.5、1、2、4、8、（12）、24（及び 48）時間後に採取した。

ジアゼパムを静脈内投与後の血漿中濃度と比較することにより絶対バイオアベイラビリティーを評価した。使用した全ての製剤は、[redacted]%の様々な濃度の Intravail A3 を含んでいた。処方及び Intravail A3 の濃度の組み合わせにより、ウサギに経鼻投与する薬物動態モデルでは計 12 種類の製剤を検討した。

動物を用いた薬物動態試験で検討したジアゼパム点鼻液のどの試験用製剤においても毒性徴候は認めらなかった。一部の製剤を投与されたウサギの鼻上皮細胞の肉眼的剖検及び病理組織学的検査において、刺激性及び重大な変化は認められなかった。

Intravail A3 濃度の[redacted]%の範囲で、Intravail A3 濃度の増加に伴う経鼻吸収増加の影響を評価した。ジアゼパムの吸収は懸濁剤では比例的に増加したが、Intravail A3 濃度が[redacted]%のとき最大に達し、[redacted]%製剤では[redacted]%製剤と比べて増加しなかった。用量を補正したときの液剤の成績（血漿中総ジアゼパム濃度）は全体的に懸濁剤と同様であったが、Intravail A3 濃度との関連性は懸濁剤より不明確であった。

これら 12 種類の試験用懸濁剤及び液剤を鼻腔内投与し、ジアゼパムの血漿中濃度を静脈内投与と比較したところ、用量で補正した AUC では 9%～73%であった。鼻腔内投与後の血漿中ノルジアゼパム（デスメチルジアゼパム）（ジアゼパムの主要代謝物）濃度を上記と同じ方法で評価したところ、AUC は静脈内投与の 16%～91%であった。

12 種類の経鼻投与製剤の評価に基づき、臨床薬物動態試験の候補製剤として懸濁剤 1 種類及び液剤 1 種類を選択した。この試験では、[redacted]mg/mL ジアゼパム及び[redacted]%Intravail A3 を含有する水性懸濁剤を NRL-1.A とし、[redacted]mg/mL ジアゼパム及び[redacted]%Intravail A3 を含有する非水性液剤を NRL-1.B とした。選択した経鼻投与懸濁剤でのジアゼパムの AUC 及び C_{max} は、それぞれ 269 ng·h/mL 及び 80.7 ng/mL であった。経鼻投与懸濁剤でのノルジアゼパムの AUC 及び C_{max} は、それぞれ 218 ng·h/mL 及び 22.6 ng/mL であった。経鼻投与液剤でのジアゼパムの AUC 及び C_{max} は、それぞれ 366 ng·h/mL 及び 55 ng/mL であった。経鼻投与液剤でのノルジアゼパムの AUC 及び C_{max} は、それぞれ 290 ng·h/mL 及び 19.5 ng/mL であった。ウサギを用いたジアゼパム点鼻液の薬物動態評価は、予定されるジアゼパム点鼻液剤の選択及び製剤中の Intravail A3 量をサポートする。

2.4.5　毒性試験

2.4.5.1　単回投与毒性試験

ジアゼパム点鼻液の単回投与毒性試験は実施していない。

ラット及びイヌを用いたジアゼパム点鼻液の用量設定試験で急性毒性を評価した。

雌 Sprague Dawley（SD）ラットを用いた用量設定試験（[8290337]試験）では、ジアゼパム点鼻液を 1、2、8 又は 12 mg/日の用量で鼻腔内単回又は少数回投与した結果、死亡はみられなかった。一般状態所見として鎮静及び運動失調のみが観察されたが、いずれも投与直後の一過性所見であった。体重、体重変動及び摂餌量に変化は認められなかった。これらの試験成績から、ラットにおける概略の致死量は 12 mg/日を超えるものと推定された。

雌ビーグル犬を用いた用量設定試験（[8290338]試験）では、ジアゼパム点鼻液を最大 80 mg/日で鼻腔内単回又は用量漸増投与した結果、死亡はみられず、一過性の鎮静及び運動失調が観察された。体重、体重変動及び摂餌量に変化は認められなかった。これらの試験成績から、イヌにおける概略の致死量は 80 mg/日を超えるものと推定された。

2.4.5.2 反復投与毒性試験

2.4.5.2.1 ジアゼパム

ジアゼパムの多数の経口及び静脈内反復投与毒性試験がこれまでに実施されている。概して、顕著な毒性は認められていない。ラット 3 ヵ月間投与毒性試験（50、100 及び 200 mg/kg/日、経口投与）及びイヌ 6 ヵ月間投与毒性試験（20 mg/kg/日、経口投与）では、肝臓サイズの一部増加及び血中コレステロールの上昇が認められ、イヌでは血漿中アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の上昇が認められたが（International Programme on Chemical Safety 2004）、これらの変化の臨床的意義は不明である。

2.4.5.2.2 ジアゼパム点鼻液

ラット及びイヌを用いたジアゼパム点鼻液の薬物動態／トキシコキネティクス試験が実施された。ウサギを用いた薬物動態試験では、ジアゼパムと Intravail A3（最大濃度[redacted]%）を含む合計 12 種類の製剤を評価した。ラット及びイヌの試験では、ジアゼパム 50～100 mg/mL 及び[redacted]% Intravail A3 を含むジアゼパム点鼻液製剤を評価した。

ジアゼパム点鼻液を用いて実施したこれらの試験の簡潔な要約を以下に示す。結果の概要表を表 2.4-1 に示す。

2.4.5.2.2.1 ラットにジアゼパム点鼻液を鼻腔内投与したときの毒性及びトキシコキネティクスを評価するための用量設定試験（[8290337]試験）

非 GLP 下で実施した用量設定試験は、SD ラットに濃度 50 又は 100 mg/mL のジアゼパム点鼻液を鼻腔内投与したときの毒性及び忍容性を評価するために実施した。鼻腔内投与用に Intravail A3（[redacted]%）を含む非水性アルコール製剤としてジアゼパム点鼻液を投与した。ジアゼパム点鼻液の溶媒対照（溶媒対照）は、ジアゼパムを Intravail A3（[redacted]%）及び高濃度のエタノールに置き換えて製剤化した。雌ラットを 10 群に割り付け、本試験を 2 フェーズ（A 及び B）に分けた。フェーズ A では、ジアゼパムの総用量 1、2、8 又は 12 mg/日に相当するジアゼパム点鼻液を 5 群の雌ラットに鼻腔内単日投与した。ジアゼパム及び Intravail A3 の曝露量を共に最大化するために、20 µL を単回又は少数回鼻腔内に投与した。

フェーズ A では、ジアゼパム及びノルジアゼパムの C_{max} 及び AUC_{0-24} は、ジアゼパム点鼻液の用量増加（1～12 mg/日）に伴いおおむね増加した（ジアゼパム点鼻液の投与回数又は投与スケジュール、及び／又は製剤濃度の変更に伴い用量増加）。少数回投与によるジアゼパム曝露量の増加割合は用量比以下であった。ジアゼパム点鼻液の 1 日用量が同一で、投与レジメンが異なる 2 群を比較したところ、ジアゼパム及びノルジアゼパムの曝露量は投与レジメンによって大きく異ならなかった。午前中に 4 回投与した群（第 5 群）又は午前中に 2 回／午後に 2 回投与した群（第 2 群）の 2 群におけるジアゼパムの総 1 日用量は 8 mg であった。ジアゼパムの C_{max} は午前中にのみ投与を行った群の方が僅かに高かったものの、AUC_{0-24} は午前／午後に投与した群の方が僅かに高値を示した。ジアゼパム及びノルジアゼパムの最高血中濃度にはおおむね速やかに到達した（午前中又は午後の初回投与後 30 分から 1 時間以内）。フェーズ A では、AUC_{0-24} の未

変化体に対する代謝物の比の群間差はみられず、0.376～0.453 の範囲であった。これは、1 日のうちの反復投与は未変化体に対する代謝物の比に影響を及ぼさないことを示す。Intravail A3 の C_{max} は投与回数の増加に伴い増加した。Intravail A3 の用量増加（0.1 mg から 0.4 mg を午前中投与）に伴い、C_{max} は 0.810 ng/mL から 13.5 ng/mL に増加した。午前中の投与後 4 時間時点の Intravail A3 濃度は LLOQ をおおむね下回っていた。

フェーズ B では、ジアゼパム及びノルジアゼパムの曝露量は、ジアゼパム点鼻液の用量増加（10～20 mg/日、1 日 5 回投与）に伴いおおむね増加した（第 9 群及び第 10 群）。ジアゼパム点鼻液（ジアゼパム 100 mg/mL 含有）によってジアゼパム 20 mg を投与したときのジアゼパム及びノルジアゼパムの曝露量は、Day 1、4 及び 7 に間歇投与した動物（第 8 群）よりも連日投与した動物の方が高かった。フェーズ B での AUC_{0-24} の未変化体に対する代謝物の割合は 0.301～0.339 であり、フェーズ A（単日投与後の曝露量）と類似しており、複数日投与によって未変化体に対する代謝物の割合は変化しないことが示された。

フェーズ B では、全群で各投与日（採血日を含む）の午前中に Intravail A3 を 0.5 mg/日の用量で投与した。ジアゼパム点鼻液の投与群又は溶媒対照群の一部として Day 1～7 に連日投与した場合の Intravail A3 曝露量は、ジアゼパム点鼻液投与群の一部として Day 1、4 及び 7 にのみ投与した場合よりも高かった。午前中の投与後 8～12 時間の Intravail A3 濃度は LLOQ をおおむね下回った。

いずれのフェーズにおいても被験物質に関連した死亡はみられなかった。被験物質に関連した一般状態所見は鎮静及び運動失調に限定され、いずれも投与直後の一過性所見であった。フェーズ B では、これらの一般状態所見の重症度及び発現頻度は反復投与に伴い減少する傾向がみられ、これらの所見の発現に耐性があることが示唆された。フェーズ B では、溶媒又はジアゼパム点鼻液を投与した動物で鼻の被毛及び皮膚の変色が認められたが、生理食塩液を投与した動物ではみられなかった。これらの所見は、1 週間間歇投与した動物よりも連日投与した動物でより頻繁に認められた。これらの所見の発現頻度は溶媒群とジアゼパム点鼻液群の間で同程度であったことから、この作用は溶媒によるものであり、被験物質とは関連がないと考えられた。いずれのフェーズにおいても、体重、体重変化又は摂餌量において対照群と処置群で差は認められなかった。被験物質に関連した肉眼的所見は認められなかった。フェーズ B では、被験物質に関連した病理組織学的所見は、60～140 mg/週を投与した動物の喉頭に極く僅かな好中球浸潤のみが観察された。この所見発現に用量依存性が認められず、この所見は毒性ではないと考えられた。

結論として、ジアゼパム点鼻液の投与量、投与頻度又は投与期間は用量制限的ではないと考えられた。溶媒の投与頻度に関連した刺激性変化が認められたことから、長期投与に際しては 1 日あたりの投与回数を減らすべきであると示唆された。

2.4.5.2.2.2　ラットを用いた鼻腔内投与によるジアゼパム点鼻液の 28 日間試験（[20023862]試験）

この非 GLP 試験は、雌 SD ラットに、ジアゼパム点鼻液（吸収促進剤 Intravail A3 を用いて製剤化したジアゼパムの非水性溶液）を 28 日間連日又は 28 日間中 5 日ごとに、鼻腔内に微細噴霧

又は滴下したときの影響を評価するために実施した。試験は 2 つの異なるフェーズ（A 及び B）を用いて実施した。フェーズ A と B の唯一の違いは、鼻腔内投与によってジアゼパム点鼻液を送達するために用いたデバイス（微細噴霧又は滴下）が異なる点であった。ジアゼパム点鼻液（Intravail A3 の [redacted] mg/mL を用いて製剤化）、対照（0.9%塩化ナトリウム注射液）又はプラセボ（Intravail A3 以外のジアゼパム点鼻液の添加剤）を 1 日 1 回又は 5 日ごとに左右の鼻腔に交互に投与した（各群 6 例）。

ラットに対し、ジアゼパム点鼻液（Intravail A3 を用いて製剤化）を 0（対照物質群及びプラセボ群）、0.25、0.5 又は 1 mg/日の用量で 1 日 1 回又は 5 日ごとに左右の鼻腔内に交代で最長 28 日間投与（微細噴霧又は滴下）したときの忍容性は良好であった。被験物質投与に関連した死亡又は一般状態の異常所見は認められず、体重、体重変化又は摂餌量に対する影響も認められなかった。ジアゼパム点鼻液に関連した肉眼的剖検所見又は器官重量に対する影響は認められず、被験物質に関連した病理組織学的所見も観察されなかった。

トキシコキネティクスのデータは、投与期間全体を通して達成したジアゼパム及びノルジアゼパムの曝露量と一致した。ジアゼパム点鼻液を 1 日 1 回又は 5 日ごとに微細噴霧又は滴下によって投与したときのジアゼパムとノルジアゼパムの曝露量の差はどちらの投与方法の場合も 2 倍以下であり、両投与方法でのジアゼパム及びノルジアゼパムの曝露量はほぼ一致していた。

ラットでのジアゼパム点鼻液の無影響量（NOEL）は、検討した最高用量である 1 mg/日の 1 日 1 回又は 5 日ごとの間歇投与と考えられた。

2.4.5.2.2.3　ラットを用いたジアゼパム点鼻液の鼻腔内滴下による 4 週間反復投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 4 週間回復性試験（[8290342]試験）

この GLP 適用試験は、ラットにジアゼパム点鼻液を連日又は間歇的（週に 1、3 又は 6 回）に 28 日間鼻腔内滴下によって投与したときの毒性及びトキシコキネティクスを評価し、4 週間の休薬期間後に変化の回復性、持続性又は遅発性を評価するために実施した。鼻組織及び関連する剖検部位における被験物質の局所忍容性を評価した。ジアゼパム、ノルジアゼパム及び製剤に含まれる吸収促進剤である Intravail A3 のトキシコキネティクスを評価した。雌雄 SD ラットを 5 群に割り付け、各鼻腔あたり容量 20 µL の生理食塩液（生理食塩液対照）、ジアゼパム点鼻液の溶媒対照（溶媒対照）又は濃度 100 mg/mL のジアゼパムを含むジアゼパム点鼻液を鼻腔内滴下して投与した。動物には週 1、3 又は 6 回の投与頻度（それぞれジアゼパム投与量 8、24 又は 48 mg/週に相当）で 28 日間投与した。生理食塩液は週 6 日投与した。溶媒対照はジアゼパムを Intravail A3（[redacted]%、[redacted] mg/mL）及び高濃度のエタノールに置き換えて製剤化した。溶媒対照は週 6 日投与した。投与期間中の Day 29 に 1 群あたり雌雄各 10 例を剖検した。30 日間の休薬期間終了後に、1 群あたり雌雄各 5 例を剖検した。

第 3～5 群の Day 1 及び 28 におけるジアゼパム、ノルジアゼパム及び Intravail A3 の曝露量は一致していた。第 2 群（溶媒対照）の Day 1 及び 28 における Intravail A3 の曝露量も一致していた。ただし、ジアゼパム点鼻液を週 6 日投与した雌（第 5 群）では、Day 28 のジアゼパム及びノルジアゼパム曝露量は Day 1 の約 2 倍であった。ジアゼパムを含まない溶媒対照を週 6 日投与した動物（第 2 群）での Intravail A3 の曝露量はジアゼパム点鼻液を週 6 日投与した動物（第 5

群）とおおむね同程度であり、ジアゼパムの存在は Intravail A3 の曝露量に影響しないことが示された。Day 1 及び 28 のジアゼパム及びノルジアゼパムの C_{max} 及び AUC_{0-24} 値は、雄よりも雌の方が 2 倍以上高かった。Intravail A3 の C_{max} 及び AUC_{0-24} に一貫した性差は認められなかった。Day 1 及び 28 の C_{max} の未変化体に対する代謝物の比は 0.267～0.495 であった。Day 1 及び 28 の AUC_{0-24} の未変化体に対する代謝物の比は 0.354～0.502 であった。未変化体に対する代謝物の比において性差は認められなかった。結果を表 2.4-2 に示す。

表 2.4-2 8290342 試験におけるジアゼパム点鼻液の鼻腔内投与後のジアゼパム、ノルジアゼパム及び Intravail® A3 の最高濃度及び曝露量

	Test Article	Dose Level (mg/week)	Male		Female	
			C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)
1 Day/Week						
Day 1	NRL-1 - Diazepam	8	98.1	831	184	1650
	NRL-1 - Nordiazepam	8	42.7	325	75.3	607
	NRL-1 - Intravail® A3	0.2	1.06	1.86	4.42	4.00
Day 28	NRL-1 - Diazepam	8	98.7	592	141	1360
	NRL-1 - Nordiazepam	8	26.4	271	56.2	557
	NRL-1 - Intravail® A3	0.2	0.803	0.857	0.390	0.364
3 Days/Week						
Day 1	NRL-1 - Diazepam	24	91.2	756	256	1950
	NRL-1 - Nordiazepam	24	32.3	293	79.7	717
	NRL-1 - Intravail® A3	0.6	1.53	6.84	2.50	7.57
Day 28	NRL-1 - Diazepam	24	69.3	584	241	2170
	NRL-1 - Nordiazepam	24	34.3	293	87.9	861
	NRL-1 - Intravail® A3	0.6	4.24	3.89	2.05	1.80
6 Days/Week						
Day 1	NRL-1 - Diazepam	48	81.3	730	216	1930
	NRL-1 - Nordiazepam	48	29.6	273	66.6	736
	NRL-1 - Intravail® A3	1.2	1.24	5.04	9.73	8.53
	Intravail® A3 vehicle	1.2	3.02	4.67	1.82	4.49
Day 28	NRL-1 - Diazepam	48	119	790	392	3680
	NRL-1 - Nordiazepam	48	46.0	279	158	1420
	NRL-1 - Intravail® A3	1.2	0.907	1.95	0.983	0.945
	Intravail® A3 vehicle	1.2	1.44	2.65	1.26	1.95

全動物が剖検予定日まで生存した。ジアゼパム点鼻液に関連した一般状態所見は認められなかった。溶媒対照又はジアゼパム点鼻液（全ての投与頻度）で投与した動物において、投与後 5～7 時間に鼻又は眼窩周囲部の被毛の変色（赤色）が散発的に認められたが、生理食塩液を投与した動物（週 6 日投与）では変色は認められなかった。この所見は溶媒に関連したものであり、可逆的変化と考えられた。溶媒又はジアゼパム点鼻液を投与した動物と生理食塩液投与動物との間で平均体重又は体重変化量の差は認められなかった。ジアゼパム点鼻液投与による臨床病理検査結果に対する軽微な影響が少数例に認められた。ただし、その程度は小さかったことから、毒性学的に重要な影響ではないと考えられた。影響は可逆的であり、程度は極く僅かであった。これらの影響は、全用量群の雌における赤血球パラメーター（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）の高値、総たん白の高値（アルブミン及びグロブリンの高値による）及びカルシウムの高値、48 mg/週を投与した雌におけるカリウムの高値、48 mg/週を投与した雄及び 24 mg/週以

上を投与した雌におけるリンパ球絶対数の低値（いずれも生理食塩液対照との比較）などであった。

投与終了時及び休薬期間終了時の剖検時に、鼻甲介及び鼻／鼻孔において溶媒に関連した所見が観察された。鼻甲介の所見は、僅かに持続的な軽微ないし軽度の炎症（休薬期間後の剖検時の方が出現頻度は低いことから、回復傾向を示した）、可逆的な軽微なびらん／潰瘍、可逆的で軽微ないし軽度の出血などであった。鼻甲介の所見の出現頻度は、溶媒のみを投与した動物の方がジアゼパム点鼻液の全用量を投与した動物よりもおおむね高かったことから、被験物質に関連した所見ではなく、溶媒対照に関連した所見であることが示された。

鼻／鼻孔については、溶媒又はジアゼパム点鼻液を投与した動物で病理組織学的検査によって軽微ないし軽度の表皮過形成／炎症が観察された。鼻孔粘膜への影響は認められなかった。ジアゼパム点鼻液を投与した動物において用量反応関係が認められなかったことから、この鼻／鼻孔の所見は鼻腔内滴下後の溶媒対照物質に対する刺激性の表皮反応と考えられた。回復期間中に溶媒対照群の雌 1 例のみが軽微な限局性の表皮過形成／炎症を示したが、この所見はほぼ完全に回復した。

結論として、ジアゼパム点鼻液に関連した毒性学的に重要な所見は認められなかった。溶媒に関連した鼻／鼻孔（軽微ないし軽度の表皮過形成／炎症）及び鼻甲介（軽微ないし軽度の炎症、可逆的な軽微なびらん／潰瘍、可逆的な軽微ないし軽度の出血）の病理組織学的所見は有害ではないと考えられた。本試験における無毒性量（NOAEL）は 8 mg/日（48 mg/週）と推定された。

2.4.5.2.2.4　ラットにおけるジアゼパム点鼻液の鼻腔内投与による 26 週間鼻腔内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（[2502-002]試験）

この GLP 適用試験は、ラットに新規臨床製剤であるジアゼパム点鼻液を 1 日 1 回、26 週間まで鼻腔内投与したときの鼻咽頭への毒性及びトキシコキネティクスのプロファイルを明確にするために実施した。加えて、てんかん発作をコントロールするための治療薬として、本剤のヒトでの間歇投与をサポートする上で必要な安全性情報を提供するために本試験を実施した。投与終了後 8 週間の休薬期間を設け、投与期間中に観察された変化の可逆性を評価した。ジアゼパム、ノルジアゼパム及び製剤に含まれる吸収促進剤である Intravail A3 のトキシコキネティクスを評価した。

トキシコキネティクス群では、雌雄 SD ラットを 4 群に割り付けた（ジアゼパム点鼻液の溶媒対照群［雌雄各 4 例］及びジアゼパム点鼻液の 3 群：4、6 及び 8 mg/日［1 群あたり雌雄各 8 例］）。各鼻腔内には、各動物の総 1 日投与容量の半分を 10 µL 刻みで投与した。動物には最長 26 週間連日投与した。

Day 1 に処置動物から採取した投与前の全ての検体中のジアゼパム、ノルジアゼパム及び Intravail A3 濃度は分析の LLOQ を下回った（ジアゼパムの LLOQ：1.00 ng/mL、ノルジアゼパム及び Intravail A3 の LLOQ：0.50 ng/mL）。Day 1 及び 180 に対照群動物から採取した全ての血漿検体中のジアゼパム及びノルジアゼパム濃度は分析の LLOQ を下回っていた。

トキシコキネティクス試験によって以下のことが明らかになった。

ジアゼパム、ノルジアゼパム及び Intravail A3 の全身曝露量は性別に依存しなかった。

ジアゼパム

- ジアゼパム点鼻液を連日鼻腔内投与したときの Day 1 及び 180 における C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量増加に伴いほぼ用量比例的に増加した。
- ジアゼパム点鼻液を鼻腔内反復投与後のジアゼパムの全身曝露量は変化しなかった。

ノルジアゼパム

- ジアゼパム点鼻液を連日鼻腔内投与したときのノルジアゼパムの C_{max} は、Day 1 では用量増加に伴いほぼ用量比例的に増加し、Day 180 では用量比例性を僅かに下回った。
- ジアゼパム点鼻液を連日鼻腔内投与したときの Day 1 及び 180 におけるノルジアゼパムの AUC_{0-24} は用量増加（6～8 mg/日）に伴いほぼ用量比例的に増加した。
- ノルジアゼパムの全身曝露量（AUC_{0-24}）は、ジアゼパム点鼻液の鼻腔内反復投与によって変化しなかった。
- ノルジアゼパムの全身曝露量（AUC_{0-24}）は、ジアゼパム点鼻液を鼻腔内投与したときのジアゼパムの全身曝露量を下回った（10 分の 1 未満）。

Intravail® A3

- Intravail A3 を連日鼻腔内投与したときの Day 1 及び 180 における Intravail A3 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量増加に伴いほぼ用量比例的に増加した。
- Intravail A3 の全身曝露量（AUC_{0-24}）は Intravail A3 の反復投与によって変化しなかった。

結論として、雌雄ラットにジアゼパム点鼻液を 4、6 及び 8 mg/日の用量で 26 週間連日鼻腔内投与したときの忍容性は良好であった。8 mg/日群における Day 180 のジアゼパムの AUC_{0-24} 及び C_{max}（雌雄を合算したデータ）はそれぞれ 5400 ng·h/mL 及び 1030 ng/mL であった。8 mg/日群における Day 180 のノルジアゼパムの AUC_{0-24} 及び C_{max}（雌雄を合算したデータ）はそれぞれ 257 ng·h/mL 及び 53.7 ng/mL であった。8 mg/日群における Day 180 の Intravail A3 の AUC_{0-24} 及び C_{max}（雌雄併合のデータ）はそれぞれ 218 ng·h/mL 及び 47.0 ng/mL であった。

評価したどのパラメーターにおいても被験物質に関連した所見は認められなかった。したがって、無毒性量（NOAEL）は 8 mg/日と考えられた。

2.4.5.2.2.5　イヌにおけるジアゼパム点鼻液の鼻腔内投与による毒性及びトキシコキネティクスを検討する用量設定試験（[8290338]試験）

この非 GLP 試験は、ビーグル犬にジアゼパム点鼻液を 50 又は 100 mg/mL の濃度で鼻腔内投与したときの毒性及び忍容性を評価するために実施した。加えて、本試験は、有効成分ジアゼパム、その活性代謝物ノルジアゼパム及び Intravail A3 のトキシコキネティクスを評価するために実施した。本試験は 2 つのフェーズで実施された。フェーズ A はイヌの用量漸増試験であり、鼻腔内滴下によってジアゼパム点鼻液を 1 日で単回及び少数回投与した。フェーズ B では、3 群の動物にジアゼパム点鼻液を 5 日間連日反復鼻腔内滴下し、同様の投与を行った生理食塩液及び溶媒対照群と比較した。両フェーズ共に、Intravail A3（[redacted] mg/mL 又は [redacted]%）を含む非水性アルコール製剤としてジアゼパム点鼻液を鼻腔内投与した。ジアゼパム点鼻液の溶媒対照物質（溶

媒対照）は、ジアゼパムを Intravail A3（[redacted] mg/mL 又は [redacted]%）及び高濃度のエタノールに置き換えて製剤化した。

雌雄ビーグル犬を 6 群に割り付け、各鼻腔あたり 100 µL の生理食塩液対照物質（生理食塩液対照）、溶媒対照又はジアゼパム点鼻液（ジアゼパム 50 又は 100 mg/mL 含有）を鼻腔内に投与した。同一動物に対し、Day 1、4、8、11 及び 15 に投与した後にストックコロニーに戻した。フェーズ B では、別の群の動物に 5 日間連日投与した後に剖検した。フェーズ A の各投与日及びフェーズ B の投与期間中の Day 5 に、ジアゼパム、ノルジアゼパム及び Intravail A3 のトキシコキネティクスを評価するための血液検体を採取した。評価項目は、生死及び一般状態観察、体重及び摂餌量測定、剖検所見及び病理組織学的検査（フェーズ B のみ）とした。

5 日後、ジアゼパム点鼻液の 6 回投与によってジアゼパム 120 mg/日を投与したイヌでのジアゼパムの C_{max} 及び AUC_{0-24} はそれぞれ 705 ng/mL 及び 4870 ng·h/mL（雄）、551 ng/mL 及び 4150 ng·h/mL（雌）であった。最大投与頻度における Intravail A3 の C_{max} 及び AUC_{0-24} はそれぞれ 1.06 ng/mL 以下及び 3.49 ng·h/mL 以下であった。

フェーズ A では、雌イヌにジアゼパム点鼻液を最大 80 mg/日で鼻腔内滴下によって用量漸増投与した。1 日のうちの投与回数を増やし（最大 4 回まで）漸増投与した。用量制限毒性は認められなかった。被験物質に関連した一般状態所見（鎮静及び運動失調）及び一過性の所見はジアゼパムの薬理作用と一致した。

反復投与フェーズ（フェーズ B）では、雌雄のイヌに生理食塩液、溶媒対照又はジアゼパム点鼻液（用量 60 又は 120 mg/日）を 5 日間連日鼻腔内に投与した。溶媒対照及びジアゼパム点鼻液の忍容性は良好であり、用量制限毒性となるような一般状態所見あるいは毒性学的に意義のある体重又は摂餌量の変化は認められなかった。病理組織学的検査では、溶媒対照を投与した動物に鼻甲介の呼吸上皮の過形成／炎症が観察された。この所見は、雌ではジアゼパム点鼻液投与によって悪化したが、雄では悪化は認められなかった。ジアゼパム点鼻液を 60 mg/日の用量で 5 日間投与した雌 1 例及び 120 mg/日を 5 日間投与した雄 1 例で、鼻甲介の呼吸上皮に有害な潰瘍が認められたが、1 日あたりの投与頻度（6 回投与）によるものと考えられた。したがって、全ての用量が忍容性は良好であり、軽微な病理組織学的変化のみが観察された。

以上から、用量制限毒性は認められなかった。Intravail A3 及びジアゼパム点鼻液の忍容性は良好であり、用量制限毒性となるような一般状態所見又は毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

2.4.5.2.2.6　イヌにおけるジアゼパム点鼻液の鼻腔内投与による 28 日間試験（[20023863]試験）

この非 GLP 試験は、雌ビーグル犬にジアゼパム点鼻液を噴霧器によって 28 日間連日又は 28 日間中 5 日ごとに鼻腔内投与したときの影響を評価するために実施した。ジアゼパム点鼻液（[redacted] mg/mL Intravail A3 を用いて製剤化）、対照（生理食塩液）又はプラセボ（Intravail A3 以外のジアゼパム点鼻液の添加物）を、鼻腔内噴霧器を用いて鼻腔内滴下によって 1 日 1 回又は 5 日ごとに左右の鼻腔に交互に投与した（各群 2 例）。この試験では吸収促進剤の対照群は設定しなかった。

この試験では以下のパラメーター及び評価項目を評価した。生死及び一般状態観察、体重及び摂餌量測定、体重変化、ジアゼパム及び活性代謝物ノルジアゼパムのトキシコキネティクスパラメーター、肉眼的剖検所見、器官重量、並びに病理組織学的検査。病理組織学的検査は鼻腔（上咽頭を含む 5 段階）、中咽頭及び咽頭に限定し、全動物で実施した。

イヌにジアゼパム点鼻液を最大 20 mg/日まで鼻腔内投与したときの忍容性は良好であった。被験物質に関連した一般状態所見、体重及び摂餌量の変化、肉眼的病理所見、器官重量の変化、並びに病理組織学的所見は認められなかった。

これらの結果に基づき、ジアゼパム点鼻液の NOEL はジアゼパムを連日鼻腔内投与した最高用量の 20 mg/日と考えられた。

2.4.5.2.2.7　イヌを用いたジアゼパム点鼻液の鼻腔内滴下による 4 週間反復投与毒性及びトキシコキネティクス試験並びに 4 週間回復性試験（[8290343]試験）

この GLP 試験は、イヌにジアゼパム点鼻液を間歇的（週に 1、3 又は 6 回）に 28 日間鼻腔内滴下によって投与したときの毒性及びトキシコキネティクスを評価し、4 週間の休薬期間後に回復性、持続性又は遅発性を評価するために実施した。ジアゼパム、ノルジアゼパム及び Intravail A3 のトキシコキネティクス評価を実施した。

雌雄ビーグル犬を 5 群に割り付け、動物の各鼻腔に生理食塩液（生理食塩液対照）、ジアゼパム点鼻液の溶媒対照（溶媒対照）又は濃度 100 mg/mL のジアゼパム点鼻液のいずれかを容量 130 µL で鼻腔内滴下によって投与した。

28 日間の投与期間中に、鼻腔内投与用に Intravail A3（[redacted]%、[redacted]mg/mL）を用いて製剤化したアルコール製剤として、ジアゼパム 78 mg/日を週 1、3 又は 6 日の頻度で投与した（ジアゼパム用量 78、234 及び 468 mg/週に相当）。生理食塩液対照は週 6 日投与した。溶媒対照は、ジアゼパムを Intravail A3（[redacted]%、[redacted] mg/mL）及び高濃度のエタノールに置き換えて製剤化し、週 6 日投与した。各動物の鼻腔あたり投与容量 130 µL を 1 日に 6 回（各鼻腔に 3 回）投与した。Day 29 に雌雄各 4 例を剖検し、33 日間の休薬期間終了後（休薬期間 Day 33）に第 1、2、4 及び 5 群の残りの雌雄各 2 例を剖検した。

イヌにジアゼパム点鼻液を週 1、3 又は 6 日投与したときのジアゼパム及びノルジアゼパムの曝露量は Day 1 と Day 28 でおおむね同程度であった。全てのジアゼパム点鼻液投与群で、ジアゼパム及びノルジアゼパムの平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ の性差はおおむね 2 倍未満であった。平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ の未変化体に対する代謝物の比は全体で 2.25～13.6 であり、Day 1 と Day 28 でおおむね同程度であった。

ジアゼパム点鼻液又は溶媒対照に含まれる Intravail A3 を 1.95 mg/回で投与したときの Intravail A3 の平均 C_{max} は 2.41 ng/mL 以下であった。Intravail A3 の血漿中濃度は、Day 1 及び 28 の初回投与後 8 時間（3 回投与後 4 時間）までに LLOQ をおおむね下回った。ジアゼパム点鼻液を週 1、3 又は 6 日、あるいは溶媒対照を週 6 日、4 週間投与したときの Intravail A3 の曝露量はおおむね同程度であった。休薬期間中の Intravail A3 の血漿中濃度は LLOQ を下回った。全てのジアゼパム点鼻液又は溶媒対照投与群で、Intravail A3 の平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ の性差はおおむね 2 倍未満であった。ジアゼパムを含まない溶媒対照を週 6 日投与した動物（第 2 群）での曝露

量はジアゼパム点鼻液を週 6 日投与した動物（第 5 群）とおおむね同程度であり、ジアゼパムの存在は Intravail A3 の曝露量に影響しないことが示された。結果を表 2.4-3 に示す。

表 2.4-3　8290343 試験におけるジアゼパム点鼻液投与後のジアゼパム、ノルジアゼパム及び Intravail® A3 の最高濃度及び曝露量

Day	Test Article	Dose Level (mg/week)	Male		Female	
			C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng·h/mL)
1 Day/Week						
Day 1	NRL-1 - Diazepam	78	505	1250	648	1990
	NRL-1 - Nordiazepam	78	1120	10800	1850	22400
	NRL-1 - Intravail® A3	1.95	1.36	4.64	2.15	7.53
Day 28	NRL-1 - Diazepam	78	444	919	239	868
	NRL-1 - Nordiazepam	78	1190	11000	1110	12200
	NRL-1 - Intravail® A3	1.95	0.968	2.84	0.653	3.41
3 Days/Week						
Day 1	NRL-1 - Diazepam	234	449	1120	607	1660
	NRL-1 - Nordiazepam	234	1030	10100	1320	12300
	NRL-1 - Intravail® A3	5.85	1.43	4.26	2.33	7.46
Day 28	NRL-1 - Diazepam	234	439	1220	399	1100
	NRL-1 - Nordiazepam	234	1240	11100	1410	13000
	NRL-1 - Intravail® A3	5.85	0.948	2.72	0.809	2.56
6 Days/Week						
Day 1	NRL-1 - Diazepam	468	580	1730	696	1980
	NRL-1 - Nordiazepam	468	1360	15100	1570	17400
	NRL-1 - Intravail® A3	11.7	1.39	5.72	1.94	6.12
	Intravail® A3 vehicle	11.7	2.12	4.25	2.41	7.01
Day 28	NRL-1 - Diazepam	468	635	1830	612	1620
	NRL-1 - Nordiazepam	468	1580	14500	2090	22100
	NRL-1 - Intravail® A3	11.7	0.779	2.41	0.568	2.92
	Intravail® A3 vehicle	11.7	0.838	2.40	1.19	2.45

全動物が計画剖検日まで生存した。被験物質に関連した一般状態所見は 234 又は 468 mg/週を投与した動物でみられた鎮静の評価スコアの僅かな増加のみであり、これはジアゼパムの薬理作用と一致する。溶媒対照及び全被験物質投与群の動物で投与期間中の過度の流涎及び身悶えが観察された。したがって、これらの一般状態所見は製剤投与に関連すると考えられた。

平均体重又は体重変化量に差は認められなかった。雄では摂餌量の変化は認められなかった。ジアゼパム点鼻液を投与した雌では、全ての投与頻度で週平均摂餌量の僅かな増加が認められた。78 mg/週を投与した動物では投与期間中の Day 21、234 mg/週を投与した動物では投与期間中の Day 26 又は休薬期間中の Day 29、468 mg/週を投与した動物では投与期間中の Day 27 又は休薬期間中の Day 29 に、PR 間隔、QRS 間隔、QT 間隔、補正 QT（QTc）間隔、RR 間隔又は心拍数において被験物質に関連した変化は認められなかった。心電図の定性的評価において、ジアゼパム点鼻液による調律異常又は定性的変化は認められなかった。

ジアゼパム点鼻液投与によって、投与期間中に以下の軽微な臨床病理検査値への影響のみが認められた：コレステロールの軽微ないし軽度の上昇（78 mg/週以上の雄及び 234 mg/週以上の雌）、トリグリセリドの軽微な上昇（468 mg/週の雌）、アルカリホスファターゼ活性の軽微な上昇（468 mg/週の雌雄）、尿量増加及び尿比重減少（468 mg/週の雄及び 234 mg/週以上の雌）。こ

れらの所見は休薬期間終了時に回復し、程度が僅かであったことから有害又は毒性学的に重要とは考えられなかった。

468 mg/週の雌では、肝臓／胆嚢重量の被験物質に関連する増加が認められたが、これは病理組織学的変化を伴わず毒性ではなく、適応反応と考えられた。これらの変化は 4 週間休薬期間終了後に完全に回復した。投与終了時及び休薬期間終了時の剖検において、その他の被験物質に関連する肉眼的病理所見及び病理組織学的所見は認められなかった。鼻甲介では、ジアゼパム点鼻液の溶媒を投与した雌雄で粘膜への好中球浸潤の増加が認められたが、ジアゼパム点鼻液を投与した雌では同様の所見は認められなかったことから、被験物質に関連した変化ではなく、溶媒対照に関連した変化であると考えられた。生理食塩液対照群の動物はこの所見を示さなかったことから、鼻甲介内の粘膜内好中球の増加はジアゼパム点鼻液の溶媒に関連したものであり、鼻腔内滴下の投与手技又は被験物質に関連したものではないことが確認された。休薬期間終了時の剖検において、被験物質又は溶媒を投与した動物ではこの病変を示す動物はいなかったため、この変化は可逆的であると考えられた。

結論として、1 週あたりのいずれの投与頻度でも、ジアゼパム点鼻液の投与によって毒性学的に重要な臨床病理学的及び病理組織学的所見は認められなかった。動物は投与に対する嫌悪（投与中の過度の流涎及び身悶え）を示した。これは溶媒に関連した影響と推測されるが、毒性とは考えられなかった。さらに、溶媒及び投与手技に関連した影響は認められたが、これらの作用は適応反応であり、毒性ではないと考えられた。NOAEL は 78 mg/日（468 mg/週）と推定された。

2.4.5.3 遺伝毒性試験

ジアゼパム点鼻液の遺伝毒性試験は実施していない。

2.4.5.4 がん原性試験

ジアゼパム点鼻液のがん原性試験は実施していない。ラット及びマウスにジアゼパム 75 mg/kg/日をそれぞれ 104 及び 80 週間混餌投与したときの腫瘍発生率の上昇は認められないことが示されている（de la Iglesia 1981）。

2.4.5.5 生殖発生毒性試験

ジアゼパム点鼻液の生殖発生毒性試験は実施していない。

ジアゼパムを 100 mg/kg 以上（mg/m^2 ベースで最大推奨臨床用量［MRHD=1 mg/kg/日］の約 8 倍）の用量でマウス及びハムスターに単回経口投与したときに催奇形性が示されている。最も多い所見は口蓋裂及び外脳であり、これらの動物種の器官形成期に母動物毒性が生じる高用量のジアゼパムを投与したときに一貫して報告される奇形である。げっ歯類の試験から、出生前に臨床用量付近のジアゼパムを曝露されると細胞性免疫応答、脳神経化学及び行動に長期的な変化が生じることが示されている（Diastat 2016）。

ラットにジアゼパムを経口投与した生殖発生毒性試験において、交配前及び交配期間中並びに妊娠及び授乳期を通じて 100 mg/kg/日（mg/m^2 ベースで MRHD の約 16 倍）の用量で経口投与し

た結果、妊娠動物数及び生存出生児数が減少した。80 mg/kg/日（mg/m^2 ベースで MRHD の約 13 倍）の用量では受胎能及び出生児の生存への毒性はみられなかった（Diastat 2016）。

本邦で承認されたジアゼパム製剤の情報によると、ラットにジアゼパムを 50 mg/kg までの用量で経口投与した妊娠前及び妊娠初期投与試験では、性周期及び生殖能に異常は認められなかった。妊娠ラットにジアゼパムを 10、100 又は 500 mg/kg の用量で妊娠 7～12 日に経口投与した結果、500 mg/kg 投与群では胎児死亡率が上昇したが、100 mg/kg 以下の投与群では対照群と差異はみられなかった。また、胎児に催奇形性は認められなかった。ラットを用いてジアゼパムを 50 mg/kg までの用量で経口投与した周産期、授乳期投与試験では、新生児の生後発育（形態分化、学習能、生殖能など）に影響は認められなかった（ジアパックス®インタビューフォーム）。

2.4.5.6　局所刺激性試験

反復投与毒性試験の一部として局所刺激性を評価した（2.4.5.2.2 項）。反復投与毒性試験によると、鼻粘膜に対し重大な急性及び慢性の刺激性はないと推察される。さらに、2 つの薬物動態試験の一部として局所刺激性を評価した。以下に要約を示す。

2.4.5.6.1　ウサギを用いた鼻腔内投与及び静脈内投与後の局所刺激性／薬物動態試験（[0852LN45.001]及び[0852LN45.002]試験）

2.4.4.1.1 項で述べたように、ウサギを用いた 2 つの薬物動態試験では、ジアゼパムの 12 種類の鼻腔内投与製剤の毒性を評価した。異なる量の Intravail A3 を含むジアゼパム点鼻液の 2 製剤（懸濁剤及び液剤）を評価した。New Zealand white 雄ウサギ（1 群あたり 5 例）に、ジアゼパム点鼻液を 50 µL の容量で投与した。被験製剤中濃度は、2 種類の被験液剤では 70 mg/mL 及び 100 mg/mL、2 種類の被験懸濁剤では 200 mg/mL とした。開発した製剤は全て Intravail A3 を [redacted]%以下の様々な濃度で含有した。

動物を用いた薬物動態試験で検討したジアゼパム点鼻液のどの検討製剤においても毒性を示す一般状態所見は認められず、予測される主な副作用は鎮静であった。一部の製剤を投与したウサギの鼻上皮の肉眼的剖検及び病理組織学的検査において、刺激性又はその他の重大な影響を示唆するエビデンスは認められなかった。

2.4.5.7　その他の毒性試験

2.4.5.7.1　製剤中の不純物／分解物

3 つの GLP 適用毒性試験（ラット 90 日間鼻腔内投与試験、細菌を用いる in vitro 復帰突然変異試験、及びチャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる in vitro 哺乳類染色体異常試験）により、製剤中のジアゼパム関連化合物 B（RCB）の安全性は確認されている。

2.4.5.7.1.1　Sprague-Dawley ラットを用いたジアゼパム関連化合物 B の 90 日間鼻腔内投与毒性試験及び 3 週間回復性試験（[0470RN45.001]試験）

この GLP 適用試験は、SD ラット（1 群あたり雌雄各 15 例）に不純物である RCB の濃度 0、0.9、4.7 及び 9.4 mg/mL を 2 日に 1 回、最長 90 日間鼻腔内投与（各鼻腔あたり容量 20 µL で投与）したときの安全性を確認するために実施した。3 週間の休薬期間後、観察された変化の回復性を評価した（1 群あたり雌雄各 5 例）。被験物質に関連した死亡は認められなかった。一般状態所見は、動物の鼻孔周囲の赤色化及び脱毛、眼周囲の赤色化、鼻汁、痂皮形成などであった。これらの所見の発現頻度は対照動物と処置動物で同程度であり、用量との相関は認められなかった。一般状態所見は全て、投与終了後 1 週以内に消失した。血液学的検査又は凝固検査に対する被験物質に関連した影響は認められなかった。高用量を投与した雄、及び中用量・高用量を投与した雌において統計学的に有意なナトリウム高値が認められた。3 週間の休薬期間終了後もナトリウム濃度は高値のままであった。しかし、雌雄共に増加の程度は小さく、過去の正常範囲内であった。尿検査項目に対する被験物質に関連した影響は認められなかった。器官重量、肉眼的剖検及び病理組織学的所見に対する被験物質に関連した影響は認められなかった。これらの結果に基づき、ジアゼパム RCB を 2 日に 1 回、90 日間投与したときの NOAEL は、最大濃度 9.4 mg/mL で各鼻腔あたり容量 20 µL（計 40 µL）で投与した用量と推定された。

この試験では、1）ラットの鼻腔表面積で標準化した動物の NOAEL 用量のヒトの鼻腔表面積で標準化した臨床用量に対する比、及び 2）体表面積（BSA）で調整した動物の NOAEL 用量の予定するヒト用量に対する比を求めることにより安全域を算出した（[M2.6.6]、表 2.6.6-21、表 2.6.6-22）。上記 1）又は 2）のどちらも FDA の業界向けガイダンスと一致する。FDA ガイダンス「健康成人被験者を対象とした治療薬の初回臨床試験における最大限安全な開始用量の推定（2005 年 7 月）」では、鼻腔内「治療薬は濃度（例：mg/適用部位面積）で標準化すること」及びラットとヒトの BSA の適切な換算係数を示すことを推奨している。

0470RN45.001 試験の結果に基づき、鼻腔内濃度及び体表面積を用いて RCB 5.0%及び 8.0%での安全域を算出した。どちらの方法及び濃度を用いても許容可能な安全域が示され、全身及び局所作用についての RCB の安全性が確認された。

RCB の最大 8.0%においても許容可能な安全域が得られた。

2.4.5.7.1.2　細菌を用いる復帰突然変異試験（[AG01VV.502ICH.BTL]試験）

この GLP 適用試験は、細菌を用いる復帰突然変異試験（エームス試験）プレート法を用いて RCB の変異原性を検討するために実施した。代謝活性化のために Aroclor 1254 で誘導したラット肝 S9 存在下及び非存在下で、RCB をネズミチフス菌株（*Salmonella typhimurium*）TA98、TA100、TA1535 及び TA1537、並びに大腸菌株（*E. coli*）WP2 *uvrA* と共にインキュベートした。変異原性試験で検討した用量は 15.0、50.0、150、500、1500 及び 5000 µg/plate であった。500、1500 又は 5000 µg/plate 開始時に全ての条件下で沈殿物が認められた。500、1500 又は 5000 µg/plate 開始時にいくつかの条件下で毒性が認められた。いずれの試験菌株においても、S9 活性化の存在下及び非存在下で変異原性は認められなかった。代謝活性化の存在下及び非存在下で陽性対照は適切な反応を示したため、試験方法の妥当性が確認された。

これらの結果、代謝活性化系の存在下又は非存在下において、ネズミチフス菌のいくつかの株の一部の遺伝子座及び大腸菌株（WP2 *uvrA*）のトリプトファン遺伝子座において、RCB は復帰突然変異試験で変異原性を示さなかった。

2.4.5.7.1.3　チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた in vitro 哺乳類染色体異常試験（[AG01VV.331ICH.BTL]試験）

この GLP 適用試験は、代謝活性化系（S9）の存在下及び非存在下で、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いて、RCB の染色体構造異常の誘発能を評価するために実施した。S9 存在下及び非存在下で CHO 細胞を 4 時間処理し、S9 非存在下で 20 時間処理した。

予備試験の結果に基づき、染色体異常試験での設定濃度は 15.7～80 µg/mL であった。S9 非存在化 4 時間曝露群では 64 µg/mL 以上、S9 存在下 4 時間曝露群では 51.2 µg/mL 以上、及び S9 非存在下 20 時間曝露群では 41 µg/mL 以上の濃度で細胞毒性が認められた。処理期間終了時に、S9 非存在下及び S9 存在下 4 時間曝露では 51.2 µg/mL 以上、S9 非存在下 20 時間曝露群では 64 µg/mL 以上の濃度について目視で確認可能な沈殿物が認められた。したがって、染色体異常評価のために選択された用量は、S9 非存在下及び S9 存在下 4 時間曝露では 26.2、41 及び 51.2 µg/mL、S9 非存在下 20 時間曝露では 15.7、32.8 及び 41 µg/mL であった。

S9 の有無に関わらず、処置群のいずれの濃度においても、構造異常又は数的異常（倍数体又は核内倍加細胞）の統計学的に有意な又は濃度依存的な増加は認められなかった（$p > 0.05$、Fisher の正確確率検定及び Cochran-Armitage 検定）。結果は背景データの 95%範囲内であった。

これらの結果より、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、RCB は染色体の構造的及び数的異常を誘発しないことが示された。

2.4.5.7.1.4　RCB の安全性確認試験の結論

ラット 90 日間毒性試験及び 2 つの in vitro 遺伝毒性試験の結果、ジアゼパム点鼻液の RCB の安全性が確認され、RCB はリスクを生じないことが示された。RCB の安全性の懸念はないと考えられた。

2.4.5.7.2　その他の試験

2.4.5.7.2.1　新規添加剤

Intravail A3 などのアルキルグリコシドのトキシコキネティクス及び代謝は、OECD ガイドラインの下で詳細に検討されている。経口及び局所投与されたアルキルグリコシドは、マルトース及び対応する長鎖アルコールに加水分解される。代謝プロセスのどの段階においても毒性代謝物は生じない。

米国では、Intravail A3 は FDA により GRAS に指定されており、ヒトでの経口又は局所曝露量についての許容限度はない。

多数の研究者により、Intravail A3 の非臨床毒性試験が実施されている。これらの試験の結果の概要表を表 2.4-4 に示す。

ジアゼパム点鼻液製剤に含まれるその他の添加物のトコフェロール、ベンジルアルコール及び無水エタノールについては、日本での使用前例の範囲外となり新添加物として扱われるため、これらの安全性評価を行った（[2.6.6.8.3.2]）。

ドデシルマルトシドのラットがん原性試験を実施した。ドデシルマルトシドのラットがん原性試験（104 週間）は、0.1（[redacted]%）、0.3（[redacted]%）、1.0（[redacted]%）又は 3.0（[redacted]%） mg/動物/日鼻腔内投与で実施し、鼻腔上皮の扁平上皮化生などは投薬により認められているが、発がん性は有さないことが示唆された（[8322452]試験）。

表 2.4-4　Intravail® A3 に関する毒性試験

Study Number	Study Type	Species	Number/ Gender	Dosage of Intravail® A3	Primary Findings	Where Conducted	GLP
Repeat-Dose Toxicity							
[0437RA33.001]	14-Day Rat Nasal Toxicity	SD rats	15M/15F/ group	0, 80, 200, 400 µg/dose QOD for two-week with two-week recovery	Nasal inflammation in males and females was noted at doses of 200 and 400 µg/dose. In some animals, focal areas of epithelial hyperplasia, degeneration and/or necrosis were present as a change secondary to the inflammation. All evidence of inflammation in the nasal cavity resolved during a two-week recovery period. NOEL determined as 80 µg/dose for 7 intranasal administrations over a two-week period.	[redacted]	Yes
[8272935]	4-Week Rat Nasal Toxicity	SD rats	10M/10F/ group	[redacted] %	No Intravail® A3 related adverse effects. NOAEL = [redacted] %	[redacted]	Yes
[8281782]	26-Week Rat Nasal Toxicity	SD rats	15M/15F/ group	[redacted] %	No Intravail® A3 related adverse effects on clinical signs, body weights, ophthalmology, food consumption, organ weights,	[redacted]	Yes

Study Number	Study Type	Species	Number/ Gender	Dosage of Intravail® A3	Primary Findings	Where Conducted	GLP
					hematology, urine analysis, blood chemistries, or macroscopic findings. Microscopic findings: Squamous cell metaplasia present in the transitional or respiratory epithelium of the nasal cavity in rats given [redacted]. Atrophy of the olfactory epithelium in males and females receiving [redacted]. After 4-week recovery period, a reduction in the incidence and severity observed in animals receiving [redacted] and complete recovery animals given [redacted].		

Study Number	Study Type	Species	Number/ Gender	Dosage of Intravail® A3	Primary Findings	Where Conducted	GLP
[8275552]	4-Week Dog Nasal Toxicity	Beagle dog	3M/3F/ group	[redacted]%	No Intravail® A3 adverse effects. NOAEL = [redacted]%	[redacted]	Yes
[8281784]	39-Week Dog Nasal Toxicity	Beagle dog	4M/4F/ group	[redacted]%	No evidence of Intravail® A3 toxicity. Microscopically, squamous cell metaplasia present [redacted]	[redacted]	Yes
Genotoxicity							
[963114]	Mutagenicity	*S. typhimurium* and *E. coli*	N/A	up to 5000 µg/plate	No genotoxic effects.	[redacted]	Yes
[963115]	Chromosomal aberration	Human peripheral lymphocytes	N/A	up to 5000 µg/mL	No cytotoxic or genotoxic effects.	[redacted]	Yes
[963116]	In vivo mammalian	Rat bone marrow	5M/5F/ group	[redacted]mg/kg	No genotoxic effects.	[redacted]	Yes

Study Number	Study Type	Species	Number/ Gender	Dosage of Intravail® A3	Primary Findings	Where Conducted	GLP
	micronucleus Intravenous infusion						
Reproductive and Development Toxicity							
[AA99567]	Embryo-fetal development	Wistar rats	8F/group	0, 30 mg/kg	[redacted] NOAEL = 30 mg/kg/day	[redacted]	Yes
Local Tolerance							
[C78787]	1 day Guinea Pig Contact hypersensitivity	Dunkin Hartley Guinea pigs	5M 10M/ group	[redacted]% [redacted]%	No toxic signs or mortality. No local adverse skin effects.	[redacted]	Yes
[503595]	Day 1, Day 8 Rabbit Local Tolerance	New Zealand White rabbits	3M	30 mg/mL	Microscopically, minimal to marked subacute inflammation.	[redacted]	Yes

SD = Sprague Dawley; QOD = Once every other day

2.4.6　総括及び結論

ジアゼパムの薬理、薬物動態及び毒性は文献で十分明らかにされており、ジアゼパムは既承認の製品である。公表されている薬理及び安全性薬理試験において、重大な毒性の懸念は認められていない。その他のベンゾジアゼピン系薬剤と比べて、ジアゼパムは心血管系へ影響を及ぼす可能性は低く、呼吸系に対して用量依存的な影響を及ぼす可能性は低い。

Intravail A3 を添加して製剤化したジアゼパム点鼻液（ジアゼパム濃度が [redacted] mg/mL 以下及び Intravail A3 濃度が [redacted]%以下）について、ラット、ウサギ及びイヌで評価した。ウサギを用いた薬物動態予備試験で、最適な製剤を決定し動物及びヒトでの試験を更に進めるために、Intravail A3 を添加した合計 12 種類のジアゼパム製剤を評価した。ウサギを用いたジアゼパム点鼻液の薬物動態評価で、開発するジアゼパム点鼻液及び製剤に含める Intravail A3 量の選択をすることができる。また、Intravail A3 はマルトースとドデカノールに速やかに代謝された後、更に一般的に知られている内因性の脂肪酸であるドデカン酸（ラウリン酸）に代謝される。ジアゼパム点鼻液製剤で用いられる他の添加剤は、安全性が知られており、鼻腔内投与での使用は安全であると考えられる（[2.6.6.8.3.2]）。

ジアゼパムの 12 種類の鼻腔内投与製剤を用いたウサギの薬物動態試験で、初回の臨床薬物動態試験のための 2 つの製剤（NRL-1.A 及び NRL-1.B）を選択するデータが得られた。ジアゼパム静脈内投与との比較を行った薬物動態試験（DIAZ.001.01 試験）の結果、ジアゼパム点鼻液の液剤（NRL-1.B）の絶対バイオアベイラビリティーは 95%を上回ることが示され、この製剤を次の臨床評価試験のために選択した。

ジアゼパムの毒性は文献で十分明らかにされており、承認済みの市販製品での文献に基づく。Intravail A3 を含有するジアゼパム点鼻液をラット、ウサギ及びイヌに鼻腔内投与したとき、急性の刺激性を示す著しい毒性徴候はみられず、剖検後に粘膜組織を肉眼検査及び病理組織学的検査したところ毒性及び局所刺激性の徴候はみられなかった。ラットで最長 6 ヵ月間反復投与によりジアゼパム点鼻液の長期毒性を検討した。

Intravail A3 を鼻腔内滴下した毒性試験において、ラット又はイヌを用いた試験で認められた鼻甲介の炎症、びらん／潰瘍は、鼻腔内投与のためのピペットの使用による可能性がある（全液滴滴下の結果である可能性が高い）。それに対し、イヌを用いた毒性試験では経鼻投与スプレー作動装置（ヒトでの投与を代表する微細噴霧として送達するため）を用いたところ、これらの所見は認められず、臨床試験でのリスクはほとんどないと結論付けた。

不純物である RCB の毒性試験（ラット 90 日間試験及び 2 つの in vitro 遺伝毒性試験）では、ジアゼパム点鼻液の RCB の安全性が確認された。

イヌにおけるジアゼパム点鼻液の 1 ヵ月間連日投与した場合の NOEL は、最高用量であるジアゼパム 20 mg/日と考えられ、イヌ 1 ヵ月間間歇投与試験での NOAEL は、78 mg/日（468 mg/週）と推定された。また、ラットを用いたジアゼパム点鼻液の 26 週間投与試験における NOAEL は 8 mg/日であった。

臨床でのバイオアベイラビリティーのデータから、経鼻投与による曝露量は直腸投与と同程度であることが立証された（[2.7.2.2.2]）。ただし、経鼻投与時の曝露量の方が変動は小さい。

ジアゼパム点鼻液は直腸投与に比べ、変動が著しく小さく吸収が速やかであり、安全性プロファイルは同様である。また、ジアゼパム点鼻液は既存のジアゼパム製剤より投与が簡便であることから、てんかん発作に対する有望な鼻腔内投与薬と考えられる。動物試験では、鼻粘膜に対し重大な急性及び慢性の刺激性を示さないと考えられる。全体を考慮すると、てんかん重積状態及びてんかん重積状態に移行するおそれのある発作の治療にはアンメットメディカルニーズがあり、データからジアゼパム点鼻液を用いた治療がこれらのアンメットメディカルニーズを満たす薬剤であることが裏付けられる。

2.4.7　参考文献

Barker JL, Ransom BR. Amino acid pharmacology of mammalian central neurones grown in tissue culture. J Physiol.1978;280:331-54.

Battistin L, Varotto M, Berlese G, et al. Effects of some anticonvulsant drugs on brain GABA level and GAD and GABA-T activities. Neurochem Res. 1984;9:225-31.

Campo-Soria, C, Chang Y, Weiss DS. Mechanism of action of benzodiazepines on $GABA_A$ receptors. Br J Pharmacol. 2006;148:984-90.

Chebib M, Johnston GAR. The 'ABC' of GABA receptors: a brief review. Clin Exp Pharmacol Physiol. 1999;26:937-40.

Chouinard G. Issues in the clinical use of benzodiazepines: potency, withdrawal, and rebound. J Clin Psychiatry. 2004;65(Suppl 5):7-12.

de la Iglesia FA, Barsoum N, Gough A, et al. Carcinogenesis bioassay of prazepam (Verstran) in rats and mice. Toxicol Appl Pharmacol. 1981;57:39-54.

Diastat® Prescribing Information. Food and Drug Administration: Valeant Pharmaceuticals North America LLC; 12/2016.

Gallager DW, Mallorga P, Oertel W, et al. [^{3}H]Diazepam binding in mammalian central nervous system: a pharmacological characterization. J Neurosci. 1981;1:218-25.

Gizurarson S, Gudbrandsson FK, Jonsson H, et.al. Intranasal administration of diazepam aiming at the treatment of acute seizures: clinical trials in health volunteers. Biol Pharm Bull. 1999;22:425-7.

Grandison L. Suppression of prolactin secretion by benzodiazepines in vivo. Neuroendocrinology. 1982;34:369-73.

International Programme on Chemical Safety; Evaluation, Antidotes for Poisoning by Organophosphorus Pesticides: Diazepam (2004). Available from:
https://inchem.org/documents/antidote/antidote/diazepam.htm

Lindhardt K, Gizurarson S, Stefansson S, et.al. Electroencephalographic effects and serum concentrations after intranasal and intravenous administration of diazepam to healthy volunteers. Br J Clin Pharmacol. 2001;52:521-7.

McKernan RM, Whiting PJ. Which $GABA_A$-receptor subtypes really occur in the brain? Trends Neurosci. 1996;19:139-43.

Miller JA, Richter JA. Effects of anticonvulsants in vivo on high affinity choline uptake in vitro in mouse hippocampal synaptosomes. Br J Pharmacol. 1985;84:19-25.

Oishi R, Nishibori M, Itoh Y, et al. Diazepam-induced decrease in histamine turnover in mouse brain. Eur J Pharmacol. 1986;124:337-42.

Riss J, Cloyd J, Gates J, et al. Benzodiazepines in epilepsy: pharmacology and pharmacokinetics. Acta Neurol Scand. 2008;118:69-86.

Taft WC, DeLorenzo RJ. Micromolar-affinity benzodiazepine receptors regulate voltage-sensitive calcium channels in nerve terminal preparations. Proc Natl Acad Sci USA.1984;81:3118-22.

Trinka E, Cock H, Hesdorffer D, et al. A definition and classification of status epilepticus - Report of the ILAE task force on classification of status epilepticus. Epilepsia. 2015;56:1515-23.

医薬品インタビューフォーム　ジアパックス®錠 2mg　ジアパックス®錠 5mg、2018 年 6 月改訂