目次

略号一覧 2
2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.3 反復投与毒性試験 9
2.6.6.4 遺伝毒性試験 11
2.6.6.5 がん原性試験 11
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 11
2.6.6.7 局所刺激性試験 13
2.6.6.8 その他の毒性試験 13
2.6.6.9 考察及び結論 17
2.6.6.10 図表 22

略号一覧

略号	説明
ALP	alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
ASA	active systemic anaphylaxis：能動的全身性アナフィラキシー反応
AST	aspartate transaminase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
C57BL/6Cr	マウスの系統名
Crl:CD®BR	チャールス・リバー株式会社の SD ラットの系統名
CNS	central nervous system：中枢神経系
F_1	first filial generation：第 1 世代
FDA	Food and Drug Administration：アメリカ食品医薬品局
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
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
ICR	institute of cancer research：マウスの系統名
IV	intravenous injection：静脈内投与
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration：平均赤血球ヘモグロビン濃度
PCA	passive cutaneous anaphylaxis：受動的皮膚アナフィラキシー反応
SD	Sprague-Dawley：ラットの系統名

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ドルミカムシロップはミダゾラムを有効成分とした小児における麻酔前投薬を目的として開発された。ミダゾラムの非臨床安全性評価として、全身投与による毒性試験は既承認製剤の承認時に評価済みであることから、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験、抗原性試験及び依存性試験について公表文献を引用した。また、経口投与した際の幼若動物への影響については [redacted] で実施されたミダゾラムシロップ製剤（[redacted]）の幼若ラットを用いた単回経口投与毒性試験及び 2 週間反復経口投与毒性試験成績を参考資料として一般毒性及び局所刺激性として記載した。なお、幼若ラットを用いた 2 つの試験は GLP に準拠して実施されている。

ドルミカムシロップの毒性試験一覧（表 2.6.6.1- 1 参照）に示した。

表 2.6.6.1- 1　ドルミカムシロップの毒性試験一覧

試験の種類	投与経路	試験系	被験物質	参考文献／試験報告書
単回投与毒性	経口	マウス	ミダゾラム	清水ら 1985[1]
		幼若ラット	ミダゾラムシロップ	試験番号：06827
		ラット	ミダゾラム	清水ら 1985[1]
		イヌ		FDA Pharmacology Review [redacted] 1998[2]
	静脈内	マウス		清水ら 1985[1]
		ラット		
		イヌ		FDA Pharmacology Review [redacted] 1998[2]
	筋肉内	マウス		清水ら 1985[1]
		ラット		
反復投与毒性	経口	幼若ラット	ミダゾラムシロップ	試験番号：06958
	静脈内	ラット	ミダゾラム	堀井ら 1985[3]
		イヌ		堀井ら 1985[4]

[1] 清水万律子，堀井郁夫，本間雅裕，高橋実，八木下正行，岡本敏，ほか. Midazolam の毒性に関する研究 ＜第 1 報＞マウスおよびラットにおける急性毒性試験. 薬理と治療. 1985;13(Suppl.4):871-878. ［資料 4.3-10］

[2] FDA Pharmacology Review [redacted]. NDA20-942.1998. ［資料 4.3-11］

[3] 堀井郁夫，小林和子，高橋実，蔵田幸次，宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 ＜第 2 報＞ラットにおける 13 週間静脈内投与毒性試験. 薬理と治療. 1985;13(Suppl.4):879-916. ［資料 4.3-12］

[4] 堀井郁夫，小林和子，堀江孝一，志賀敏彦，宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 ＜第 3 報＞イヌにおける 13 週間静脈内投与毒性試験. 薬理と治療. 1985;13(Suppl.4):917-953. ［資料 4.3-13］

表 2.6.6.1- 1　ドルミカムシロップの毒性試験一覧（続き）

試験の種類	投与経路	試験系	被験物質	参考文献／試験報告書
遺伝毒性	*in vitro*	ネズミチフス菌、大腸菌	ミダゾラム	FDA Pharmacology Review [redacted] 1998[2]
		V79 細胞（チャイニーズハムスター肺細胞由来）		
		Saccharomyces cerevisiae D7 細胞		
		ヒトリンパ球		
	経口	小核試験（動物種の情報なし）		
生殖発生毒性	静脈内	ラット	ミダゾラム	清水ら 1985[5]
				清水ら 1985[6]
				野田ら 1985[7]
		ウサギ		塩崎ら 1985[8]
局所刺激性	経口	幼若ラット	ミダゾラムシロップ	試験番号：06827
				試験番号：06958
その他の毒性試験				
抗原性	腹腔内（感作）	マウス	ミダゾラム	磯部ら 1985[9]
	皮下（感作） 静脈内（惹起）	モルモット		
依存性	静脈内	サル		久保田ら 1986[10]

[5] 清水万律子，竹内祐幸，堀井郁夫，宇高奎二，三枝雅，鈴木登志郎，ほか. Midazolam の毒性に関する研究 ＜第 5 報＞ラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験. 薬理と治療. 1985;13(Suppl.4):985-994. ［資料 4.3-14］

[6] 清水万律子，野田有俊，八木下和海，稲垣幹男，宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 ＜第 6 報＞ラットにおける胎仔の器官形成期投与試験. 薬理と治療. 1985;13(Suppl.4):995-1010. ［資料 4.3-15］

[7] 野田有俊，佐藤正伸，加藤智保，清水万律子，宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 ＜第 8 報＞ラットにおける周産期および授乳期投与試験. 薬理と治療. 1985;13(Suppl.4):1021-1034. ［資料 4.3-16］

[8] 塩崎裕通，中川信一，稲垣幹男，内田英一，野田有俊，清水万律子，ほか. Midazolam の毒性に関する研究 ＜第 7 報＞ウサギにおける胎仔の器官形成期静脈内投与試験. 薬理と治療. 1985;13(Suppl.4):1011-1019. ［資料 4.3-17］

[9] 磯部竹雄，小田島寿子，宇高奎二. Midazolam の毒性に関する研究 ＜第 9 報＞抗原性に関する検討. 薬理と治療. 1985;13(Suppl.4):1035-1039. ［資料 4.3-18］

[10] 久保田新，桑原明彦，八景正乃，中村圭二. 新規麻酔導入剤 Midazolam の薬物依存性試験について. 日薬理誌. 1986; 88:125-158. ［資料 4.3-19］

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

ミダゾラムを経口投与した時の概略の致死量は、マウスでは雌雄とも 500 mg/kg、ラットでは雌雄とも 164 mg/kg であり、イヌでは 300 mg/kg であった。静脈内投与した時の概略の致死量は、マウスでは雌雄とも 200 mg/kg を超える量、ラットでは雄で 100 mg/kg を超える量、雌で 100 mg/kg であった。イヌでは 10 mg/kg を超える量であった。筋肉内投与した時の概略の致死量は、マウス及びラットでは雌雄とも 50 mg/kg を超える量であった。

ミダゾラムシロップを幼若ラットに経口投与した時の概略の致死量は、雌雄とも 60 mg/kg であった。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

ラットにおけるミダゾラム（投与量：0、2.5、5、10 及び 20 mg/kg/day）の 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、2.5 mg/kg/day 以上でよろめき歩行、自発運動減少、睡眠様状態、摂食様行動などがみられ、これらの症状はミダゾラムの薬理作用に起因した変化と考えられた。5 mg/kg/day 以上で投与部位（尾静脈）に局所刺激作用によると考えられる炎症性変化がみられた。20 mg/kg/day では尾静脈内投与が困難になったため投与途中から腹腔内投与に切り替えたが、3 例が腹腔内の局所刺激作用によると考えられる腸の癒着を伴って死亡した。20 mg/kg/day では、さらに体重増加抑制、摂餌量減少、血液学的及び血液生化学的パラメータの変動に加え、胸腺重量の減少、脾臓重量の増加がみられた。これらの変化は 5 週間の休薬期間後には回復した。無毒性量は雌雄ともに 2.5 mg/kg/day と考えられた。

イヌにおけるミダゾラム（投与量：0、2.5、5 及び 10 mg/kg/day）の 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、2.5 mg/kg/day 以上で、後肢脱力、よろめき歩行、自発運動減少、腹臥又は横臥静止状態などがみられ、これらの症状はミダゾラムの薬理作用に起因した変化と考えられた。5 mg/kg/day 以上で投与部位（前腕静脈）に局所刺激作用によると考えられる炎症性変化、体重増加抑制、ALP 値の上昇がみられた。10 mg/kg/day では、加えて血小板数の増加、肝臓重量の増加傾向が認められた。これらの変化は 5 週間の休薬期間後には回復した。無毒性量は雌雄ともに 2.5 mg/kg/day と考えられた。

幼若ラットにおけるミダゾラムシロップ（ミダゾラム投与量：0、5 及び 10 mg/kg/day）の 2 週間反復経口投与毒性試験では、中枢神経系（CNS）抑制に一致する一般状態の変化がミダゾラム投与群で観察された。血液生化学的検査においてコレステロールの軽度な増加、器官重量では肝重量増加がミダゾラム投与群で認められた。これらの変化を含め、投与に関連すると考えられる肉眼的所見及び病理組織学的所見は観察されなかった。雌雄ともに 10 mg/kg/day の用量まで忍容性は良好であった。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、ほ乳類細胞（チャイニーズハムスター肺細胞由来 V79 細胞、Saccharomyces cerevisiae D7 細胞、ヒトリンパ球）、並びに小核試験においても遺伝毒性を示唆する結果は得られなかった。

2.6.6.1.4 がん原性試験

ミダゾラムは、遺伝毒性試験において陰性であり、臨床での使用も長期投与にはならないことから、がん原性試験を実施していない。

2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験

ラットにおけるミダゾラム（投与量：0、2.5、5 及び 10 mg/kg/day）の静脈内投与による妊娠前及び妊娠初期投与試験では、2.5 mg/kg/day 以上で興奮、よろめき歩行、筋弛緩、自発運動減少、横臥又は腹臥姿勢での鎮静又は睡眠状態（雄）、外部刺激に対する反射の減退及び睡眠（雌）、摂食様行動などの一般状態の変化に加え、体重増加抑制や摂餌量の減少（雌）がみられた。一方、交尾能及び受胎能への影響はいずれの用量でもみられず、胎児への影響（致死作用、発育抑制作用及び催奇形性作用）も認められなかった。親動物の一般毒性学的無毒性量は 2.5 mg/kg/day 未満、雌雄の親動物の生殖能及び F_1 世代（胎児）に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と考えられた。

ラットにおけるミダゾラム（投与量：0、2.5、5、10 及び 20 mg/kg/day）の静脈内投与による胎児の器官形成期投与試験では、2.5 mg/kg/day 以上でよろめき歩行、自発運動減少、摂食様行動などの一般状態の変化に加え、体重増加抑制、5 mg/kg/day 以上で摂餌量の減少、20 mg/kg/day では鎮静状態、睡眠状態もみられた。20 mg/kg/day で胎児への影響（低体重、胸骨の不完全形成など）を認めたが胚致死作用及び催奇形性作用はみられなかった。また、同群の F_1 世代（出生児）で体重増加抑制及び発育分化（歯牙萌出）の遅延を認めた。母動物の一般毒性学的無毒性量は 2.5 mg/kg/day 未満、母動物の生殖能に対する無毒性量は 20 mg/kg/day、F_1 世代（胎児、出生児）に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と考えられた。

ウサギにおけるミダゾラム（投与量：0、1.25、2.5 及び 5 mg/kg/day）の静脈内投与による胎児の器官形成期投与試験では、1.25 mg/kg/day 以上で鎮静状態、筋弛緩、外的刺激への反応性の低下などの一般状態の変化に加えて、体重及び摂餌量の減少がみられた。2.5 mg/kg/day 以上で着床後死亡（特に早期死亡胚）率の増加を認めたが、発育抑制作用及び催奇形性作用は認められなかった。母動物の一般毒性学的無毒性量は 1.25 mg/kg/day 未満、母動物の生殖能及び F_1 世代（胎児）に対する無毒性量は 1.25 mg/kg/day と考えられた。

ラットにおけるミダゾラム（投与量：0、2.5、5、10 及び 20 mg/kg/day）の静脈内投与による周産期及び授乳期投与試験では、2.5 mg/kg/day 以上でよろめき歩行、自発運動減少、摂食様行動などの一般状態の変化に加え、体重増加抑制傾向及び摂餌量減少傾向がみられた。5 mg/kg/day 以上で母動物の哺育行動の異常（食殺）がみられ、それに伴い生後 4 日までの F_1 世代（出生児）の生存率が低下した。20 mg/kg/day では F_1 世代の体重増加抑制、発育分化（眼瞼開裂）及び化骨の遅延が認められた。本試験では、F_1 世代を出生直後から成熟期（10 週齢）まで観察してミダゾラムの乳汁を介した影響を検討したが、母動物の哺育能低下に起因した変化（食殺による生存率の低下、授乳動作の欠如による体重増加抑制、発育分化の遅延など）を除いて、感覚機能、性分化、情動性、学習能、生殖能などに対する影響は認められなかっ

た。以上の結果、母動物の一般毒性学的無毒性量は 2.5 mg/kg/day 未満、母動物の生殖能に対する無毒性量は 2.5 mg/kg/day、F_1 世代（出生児）に対する無毒性量は 2.5 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.1.6 局所刺激性試験

ミダゾラムシロップの幼若ラットを用いた単回経口毒性試験及び 2 週間反復経口投与毒性試験では、投与部位である胃を含む消化管組織の剖検又は病理組織学的検査で投与に関連した変化は認められなかった。

2.6.6.1.7 その他の毒性試験

抗原性試験では、モルモットにミダゾラム又はペニシリン（陽性対照）を皮下投与し、能動的全身性アナフィラキシー試験（ASA 反応）を、マウスにミダゾラム又はペニシリン（陽性対照）を腹腔内投与し、受動的皮膚アナフィラキシー試験（PCA 反応）を実施した。その結果、いずれの試験においてもミダゾラムは陰性、ペニシリンは陽性であったことから、ミダゾラムに抗原性はないと考えられた。

依存性試験では、サルにミダゾラム又はペントバルビタール（陽性対照）を静脈内投与し、2 種の精神依存性試験（ペントバルビタールとの交差薬物自己摂取試験及び薬物自己摂取開始能試験）並びに 2 種の身体依存性試験（ペントバルビタールとの交差身体依存性試験及び身体依存形成能試験）を実施した。その結果、ミダゾラムの精神依存性及び身体依存性はペントバルビタールより弱く、トリアゾラムと同程度、もしくはより弱いものであった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ミダゾラムのマウス、ラット及びイヌにおける単回投与毒性試験

・・・・・・・・・資料 4.3-10 参照
・・・・・・・・・資料 4.3-11 参照

ミダゾラムのマウス、ラット及びイヌにおける単回経口投与、静脈内投与及び筋肉内投与毒性試験の結果概略を表 2.6.6.2-1 に示す。

表 2.6.6.2.1- 1　単回投与毒性試験の概略

動物種	投与経路	投与量（mg/kg）	性別及び例数／群	特記所見
ICR マウス	経口	0、256、320、400、500	雄：10 雌：10	≧256 mg/kg：自発運動減少、よろめき歩行、歩行困難、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態、体重減少／増加抑制 ≧320 mg/kg：睡眠様状態、流涙 500 mg/kg：雄 5 例及び雌 4 例死亡 概略の致死量：500 mg/kg（雌雄）
	静脈内	0、100、200	雄：10 雌：10	≧100 mg/kg：よろめき歩行、歩行困難、自発運動減少、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態 200 mg/kg：睡眠様状態、流涙 概略の致死量：>200 mg/kg（雌雄）
	筋肉内	0、25、50	雄：10 雌：10	≧25 mg/kg：自発運動減少、よろめき歩行、外的刺激への反応性低下傾向、腹臥／横臥静止状態、呼吸数低下、流涙 概略の致死量：>50 mg/kg（雌雄）
SD ラット	経口	0、131、164、205、256、320、400、500	雄：10 雌：10	≧131 mg/kg：自発運動減少、よろめき歩行、歩行困難、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態、睡眠様状態、体重減少／増加抑制、摂餌量減少 概略の致死量：164 mg/kg（雌雄）
	静脈内	0、60、100	雄：10 雌：10	≧60 mg/kg：自発運動減少、よろめき歩行、歩行困難、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態、睡眠様状態、流涙、体重減少／増加抑制、摂餌量減少 100 mg/kg：雌 1 例死亡 概略の致死量：>100 mg/kg（雄）、100 mg/kg（雌）
	筋肉内	0、25、50	雄：10 雌：10	≧25 mg/kg：自発運動減少、よろめき歩行、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥／横臥静止状態、流涙 50 mg/kg：体重増加抑制 概略の致死量：>50 mg/kg（雌雄）
ビーグル イヌ	経口（漸増用量）	3、10、30、100	性別：NI 例数：NI	≧3 mg/kg：嘔吐、粘液便、グルコース低下、AST 上昇 ≧10 mg/kg：運動失調、方向感覚消失、放心状態、流涎、自発運動減少 100 mg/kg：白血球（多形核白血球及びリンパ球）数増加、ALT 及び ALP の上昇 概略の致死量：>100 mg/kg
	経口（致死量）	100、300	性別：NI 例数：4	100 及び 300 mg/kg：運動失調、ALP 上昇、血清尿素窒素及び ALT の上昇 300 mg/kg：投与後 1、5 及び 8 日に 4 例中 3 例死亡 概略の致死量：300 mg/kg
	静脈内（単用量）	10	性別：NI 例数：NI	筋弛緩、舌舐めずり、流涎、運動失調、起立不能、水泳動作、踏み直り反射消失、放心状態、失見当識動作、嘔吐、鎮静 概略の致死量：>10 mg/kg

NI：不明

2.6.6.2.2 ミダゾラムシロップの幼若ラットにおける単回経口投与毒性試験

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.1-1 参照

2 週齢の Crl:CD®BR ラットにチェリー又はトウッティフルーティシロップに含有されたミダゾラムを 10、20、40 及び 60 mg/kg（投与容量：5、10、20 及び 30 mL/kg）の用量で 1 群当

たり雌雄各 5 例に単回強制経口投与した。また、溶媒対照（対照群）としてチェリー及びトウッティフルーティシロップを雌雄各 5 例のラットに投与（30 mL/kg）した。全例において、一般状態観察、体重測定及び剖検を実施し、60 mg/kg の 10 例について病理組織学的検査を実施した。

40 mg/kg の用量まで忍容性は良好であった。CNS 抑制に一致する一般状態の変化（自発運動減少、遅延正向反射、筋弛緩、呼吸抑制、正向反射の消失及び振戦）がミダゾラム投与群で観察された。一般状態の変化の重症度は、用量の増加に伴い重症化した。10、20 及び 40 mg/kg では、投与 1 日後に回復した。60 mg/kg では、対照群も含めて投与 1～2 日にかけて死亡例が観察された。また、60 mg/kg の生存例は投与 2 日までに回復した。60 mg/kg 及び対照群のラットの死因は脱水症と考えられた。脱水症は、ラット皮膚の弾力性が失われ、剖検時に胃・腸管が液体で膨張していたこと及び出血を呈したラット 1 例で血液濃縮が観察されたことから裏付けられた。脱水症は、製剤中の大量のソルビトールにより、組織から体液が胃・腸管腔に移動することから引き起こされたと考えられる（溶媒による影響と考えられる）。ミダゾラム投与群での死亡率のわずかな上昇（60 mg/kg のチェリーシロップで対照群の 10 例中 8 例に対してミダゾラム群 10 例中 10 例、トウッティフルーティシロップで対照群の 10 例中 2 例に対してミダゾラム群 10 例中 9 例）は、鎮静作用により適切な授乳行動がとれなかったことによると考えられた。

以上の結果、ミダゾラムシロップを 2 週齢のラットに経口投与したときの最大非致死量は 40 mg/kg、概略の致死量は 60 mg/kg であった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ミダゾラムのラット及びイヌにおける反復静脈内投与毒性試験

・・・・・・・・・資料 4.3-12 参照
・・・・・・・・・資料 4.3-13 参照

ミダゾラムのラット及びイヌにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験の結果概略を表 2.6.6.3.1-1 に示す。

表 2.6.6.3.1- 1　反復投与毒性試験の概略

動物種	投与経路 投与期間	投与量 （mg/kg/day）	性別及び 例数／群	特記所見
SD ラット （約 5 週齢）	静脈内 13 週間	0、2.5、5、 10、20	雄：16 雌：16 （5 週間回復性試験の動物雌雄各 6 例を含む）	≧2.5 mg/kg/day：よろめき歩行、自発運動減少、睡眠様状態及び摂食様行動 ≧5 mg/kg/day：投与部位の炎症性変化 20 mg/kg/day：静脈内投与から変更（局所障害により静脈内投与が困難になったため）した腹腔内投与の際の刺激性と考えられる腸管癒着のため雄 2 例及び雌 1 例死亡、体重増加抑制、摂餌量減少、血液学的検査及び血液生化学的検査における変化（ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCHC 及び赤血球数の減少（貧血傾向）、血小板数及び白血球数の増加、ロイシンアミノペプチターゼ、総蛋白及びアルブミンの減少）、胸腺重量減少及び脾臓重量増加（関連する肉眼及び病理所見なし） 上記変化は 5 週間の休薬後に回復 無毒性量：2.5 mg/kg/day（雌雄）
ビーグルイヌ （約 15 ヵ月齢）	静脈内 13 週間	0、2.5、5、10	雄：4 雌：4 （5 週間回復性試験の動物雌雄各 1 例を含む）	≧2.5 mg/kg/day：後肢脱力、よろめき歩行、自発運動減少、腹臥又は横臥静止状態 ≧5 mg/kg/day：局所刺激性と考えられる投与部位（前肢静脈）の炎症性変化､体重増加抑制、ALP 上昇 10 mg/kg/day：血小板数の増加､肝臓重量の増加傾向 上記変化は 5 週間の休薬後に回復 無毒性量：2.5 mg/kg/day（雌雄）

2.6.6.3.2 ミダゾラムシロップの幼若ラットにおける 2 週間反復経口投与毒性試験

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-1 参照

2 週齢の SD 系ラットに媒体シロップに含有させたミダゾラムを 5 及び 10 mg/kg/day（投与容量：2.5 及び 5 mL/kg）の用量で 1 群当たり雌雄各 9 例に 2 週間経口投与した。また、溶媒対照として溶媒シロップを雌雄各 9 例のラットに投与した。投与量は、単回経口投与試験（添付資料：4.2.3.1-1、投与量：10、20、40 及び 60 mg/kg）において、10 mg/kg で軽微な鎮静作用及び投与後 2、3 時間以内に回復性が認められたことから選択された。若齢ラットの発達期間における 2 週間にわたる長期鎮静の有害作用の可能性のため、高用量を 10 mg/kg/day とし、低用量を 5 mg/kg/day に設定した。評価は、一般状態観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検所見、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、本試験では製剤中の不純物に関する ICH ガイドラインに従い、分解物が評価されている。

ミダゾラムシロップ投与に関連した死亡はみられず、体重測定、血液学的検査及び尿検査に変化は認められなかった。雌ラット 3 例（5 mg/kg/day で 1 例、10 mg/kg/day で 2 例）は瀕死状態となったために安楽死させた。原因は病理組織学的検査の結果、誤投与であった。CNS 抑制に一致する一般状態の変化が（例：様々な程度の自発運動減少）、ミダゾラム投与群で観察された。血液生化学検査においてコレステロールの軽度な増加、器官重量では肝重量増

加（雄で 2.5～10.9 %、雌で 0.2～7.8 %）がミダゾラム投与群で認められた。これらの変化を含め、投与に関連すると考えられる肉眼的所見及び病理組織学的所見は観察されなかった。

以上の結果、雌雄とも 10 mg/kg/day まで忍容性は良好であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

・・・・・・・・・資料 4.3-11 参照

ネズミチフス菌（最高 500 μg/プレート）又は大腸菌（最高 278 μg/プレート）を用いた Ames 試験において、ミダゾラムは、S9 代謝活性化系存在下及び非存在下で変異原性を示さなかった。チャイニーズハムスター肺細胞由来 V79 細胞において突然変異は認められなかった（代謝活性化系存在下及び非存在下で最高 150 μg/mL）。ミダゾラムは Saccharomyces cerevisiae D7（最高 288 μg/mL）、ヒトリンパ球（代謝活性化系存在下で最高 100 μg/mL、非存在下で最高 50 μg/mL）、並びに *in vivo* 小核試験（最高 800 mg/kg 経口投与）においても遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

ミダゾラムは、遺伝毒性試験において陰性であり、臨床での使用も長期投与にはならないことから、がん原性試験は実施していない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 ミダゾラムのラットにおける妊娠前及び妊娠初期投与試験

・・・・・・・・・資料 4.3-14 参照

ミダゾラム（投与量：0、2.5、5 及び 10 mg/kg/day）を 6 週齢の SD 系雄ラットに交配前 9 週間及び交配期間終了後約 5 週間、9 週齢の SD 系雌ラットに交配前 2 週間、交配期間及び妊娠 7 日まで静脈内投与した。本試験の投与量は 2 週間静脈内投与試験（投与量：0、5、10 及び 20 mg/kg/day）の結果、20 mg/kg/day で顕著な投与部位での局所刺激性を、10 mg/kg/day で軽度な局所刺激性を認めたことより 10 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 2 で 5 及び 2.5 mg/kg/day を設定した。なお、ラットは雌雄とも 1 群各 20 例を用いた。

親動物では、ミダゾラム投与群で興奮、よろめき歩行、筋弛緩、自発運動減少、横臥又は腹臥姿勢での鎮静又は睡眠状態（雄）、摂食様行動、外部刺激に対する反射の減退および睡眠（雌）、体重増加抑制、摂餌量の減少（雌）が認められた。一方、交尾能及び受胎能に対してはミダゾラム投与に起因した変化はなく、胎児においても致死作用、発育抑制作用及び催奇形性作用は認められなかった。

以上の結果、親動物の一般毒性学的無毒性量は 2.5 mg/kg/day 未満、雌雄の親動物の生殖能及び F_1 世代（胎児）に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.6.2 ミダゾラムのラットにおける胎児の器官形成期投与試験

・・・・・・・・・資料 4.3-15 参照

ミダゾラム（投与量：0、2.5、5、10 及び 20 mg/kg/day）を 10 週齢の SD 系雌ラット（1 群あたり 34～36 例）に妊娠 7 日から 17 日まで（交尾確認日は妊娠 0 日とした）静脈内投与し、母動物、胎児及び出生児への影響を検討した。投与量はラット 2 週間静脈内投与毒性試験（投与量：0、5、10 及び 20 mg/kg/day）の結果より設定した。

母動物では、2.5 mg/kg/day 以上でよろめき歩行、自発運動減少、摂食様行動及び体重増加抑制、5 mg/kg/day 以上で摂餌量の減少、20 mg/kg/day では鎮静状態、睡眠状態もみられた。胎児では、母動物の体重増加抑制による二次的な影響であると考えられる体重低値、胸骨の不完全形成及び形成遅延が 20 mg/kg/day で認められたが、胚致死作用及び催奇形性作用はなかった。出生児では、20 mg/kg/day で体重増加抑制、発育分化における歯牙萌出（生後 12 日）の遅延が認められた。

以上の結果、母動物の一般毒性学的無毒性量は 2.5 mg/kg/day 未満、母動物の生殖能に対する無毒性量は 20 mg/kg/day、F_1 世代（胎児、出生児）に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.6.3 ミダゾラムのウサギにおける胎児の器官形成期投与試験

・・・・・・・・・資料 4.3-17 参照

ミダゾラム（投与量：0、1.25、2.5 及び 5 mg/kg/day）を 6 ヵ月齢の日本白色種雌ウサギ（1 群あたり 13～16 例）に妊娠 6 日から 18 日まで（交尾確認日は妊娠 0 日とした）静脈内投与し、母動物及び胎児への影響を検討した。投与量は 2 週間静脈内投与試験（投与量：0、2.5 及び 5 mg/kg/day）の結果、5 mg/kg/day で死亡例はみられなかったが、一般状態の変化に加え、体重減少を認めたため、5 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 2 で 2.5 及び 1.25 mg/kg/day を設定した。

母動物では、各投与群で死亡例は認められなかったが、2.5 mg/kg/day の 2 例で流産が発現した。一般状態の観察では、1.25 mg/kg/day 以上で鎮静状態、筋弛緩、外的刺激への反応性の低下が認められた。また、体重及び摂餌量の減少も認められた。帝王切開時の剖検では、ミダゾラム投与に起因した変化は認められなかった。胎児では、2.5 mg/kg/day 以上で、着床後死亡率の増加が認められ、特に早期死亡胚が増加した。発育抑制作用及び催奇形性作用は認められなかった。

以上の結果、母動物の一般毒性学的無毒性量は 1.25 mg/kg/day 未満、母動物の生殖能及び胎児に対する無毒性量は 1.25 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.6.4 ミダゾラムのラットにおける周産期及び授乳期投与試験

・・・・・・・・・資料 4.3-16 参照

ミダゾラム（投与量：0、2.5、5、10 及び 20 mg/kg/day）を 10 週齢の SD 系妊娠ラット（1 群あたり 22～36 例）に妊娠 17 日から分娩後 21 日まで（交尾確認日は妊娠 0 日とした）静脈

内投与し、母動物及び出生児（F_1 世代）の生後発達への影響を検討した。投与量はラットの 2 週間静脈内投与試験（投与量：0、5、10 及び 20 mg/kg/day）の結果より設定した。

母動物では、妊娠及び授乳期間中に 2.5 mg/kg/day 以上でよろめき歩行、自発運動減少、摂食様行動、睡眠状態を示したが、睡眠状態は投与後 2～3 週間で消失した。また、体重増加抑制傾向及び摂餌量減少傾向もみられた。分娩中、5 mg/kg/day の 1 例が激しい出血を伴い死亡した。死因は不明であるが、より高用量群では死亡例を認めず、単発的であることからミダゾラム投与との関連性はないと考えられた。分娩後 4 日までの哺育期間中、5 mg/kg/day 以上で食殺等の哺育異常が発現し、生後 4 日までの F_1 世代の生存率が著しく低下した。さらに 20 mg/kg/day では、生後 14 日以降の F_1 世代で離乳後も体重増加抑制が認められ、発育分化の指標である眼瞼開裂（生後 16 日）及び化骨の遅延が認められた。F_1 世代に対するミダゾラムの乳汁を介した影響については、出生直後から成熟期（10 週齢）まで観察したが、母動物の哺育能低下に起因した変化（食殺による生存率の低下、授乳動作の欠如による体重増加抑制、発育分化の遅延など）を除いて、感覚機能、性分化、情動性、学習能、生殖能等に対する影響は認められなかった。

以上の結果、母動物の一般毒性学的無毒性量は 2.5 mg/kg/day 未満、母動物の生殖能に対する無毒性量は 2.5 mg/kg/day、F_1 世代（出生児）に対する無毒性量は 2.5 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.7 局所刺激性試験

ミダゾラムシロップの幼若ラットを用いた単回経口毒性試験では、40 mg/kg までの用量を投与しても剖検時に肉眼的変化は認められなかった。また、幼若ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験では、10 mg/kg/day までの用量を投与しても投与部位である胃を含む消化管組織の剖検及び病理組織学的検査で投与に関連した変化は認められなかった（2.6.6.2.2 ミダゾラムシロップの幼若ラットにおける単回経口投与毒性試験及び 2.6.6.3.2 ミダゾラムシロップの幼若ラットにおける 2 週間反復経口投与毒性試験参照）。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 光毒性試験

ミダゾラムは 290 nm 以上の紫外線を吸収しない（2.3.P.5 参照）ことから、ICH S10 ガイドラインに従い、光毒性試験は実施していない。

2.6.6.8.2 抗原性試験

・・・・・・・・・資料 4.3-18 参照

5 週齢の Hartley 系雄モルモットを用いて能動的全身性アナフィラキシー試験（ASA 反応）を、6 週齢の C57BL/6Cr 系雄マウスを用いて受動的皮膚アナフィラキシー試験（PCA 反応）を実施した。

その結果、ミダゾラム群ではアナフィラキシー症状は認められず陰性であり、PCA 反応も陰性であったことから、ミダゾラムに抗原性はないと考えられた。

表 2.6.6.8.2- 1　抗原性試験の概略

試験名	モルモット ASA 反応	マウス PCA 反応
動物種、系統、 週齢、動物数	モルモット、Hartley 雄：5 週齢 ミダゾラム群：10 例 陽性対照群 ペニシリン G-K（PCG）群：10 例	マウス、C57BL/6Cr 雄：6 週齢 ミダゾラム群：10 例 陽性対照群 PCG 群：10 例 卵白アルブミン（OA）群 5 例 ラット（recipient)、SD、雄：7 週齢
試験方法	各感作用抗原液を皮下投与し、5 日後に同様に追加感作（感作量：ミダゾラム：1 mg/例/回、PCG：7.5 mg/例/回）、追加感作より 10 日及び 20 日後に惹起抗原液を耳静脈内に投与した。	各感作用抗原液をマウスに腹腔内投与し、4 週間後に同様に追加感作（感作量：ミダゾラム：10 μg/例/回、PCG：10 μg/例/回）、OA：10 μg（1μg）/例/回）、追加感作より 2 週間後に採血し、各抗血清を分離し、PCA 試験に供した。
観察項目	アナフィラキシー・ショック発現の有無	ラットを recipient とした 24 時間 PCA 反応における blue spot 発現の有無
結果	ミダゾラム群では陰性であったが、PCG 群では陽性であった。	ミダゾラム群では陰性であったが、PCG 及び OA 群では陽性であった。

ASA：能動的全身性アナフィラキシー試験 、PCA：受動的皮膚アナフィラキシー試験
PCG：ペニシリン G-K、OA：卵白アルブミン

2.6.6.8.3 依存性試験

・・・・・・・・・資料 4.3-19 参照

ミダゾラムを 3～4 歳の雄カニクイザルに静脈内投与し、精神依存性試験（薬物自己摂取試験）としてペントバルビタールとの交差薬物自己摂取試験及び薬物自己摂取開始能試験を、身体依存性試験としてペントバルビタールとの交差身体依存性試験及び身体依存形成能試験を実施した。

その結果、ミダゾラムの精神依存性及び身体依存性はペントバルビタールによるものよりも弱く、トリアゾラムと同程度、もしくはより弱いものであった。

表 2.6.6.8.3- 1　依存性試験の概略

試験名			動物種、系統、動物数	薬物の用量（mg/kg IV）	結果
精神依存性試験（薬物自己摂取試験）	ペントバルビタールとの交差薬物自己摂取試験	FR1[a]及びFR10[b]交差薬物自己摂取試験	カニクイザル 雄：15 例 （1～6 例/用量）	ミダゾラム 0.003～0.3（5 用量） トリアゾラム 0.0001～0.03 クロルジアゼポキシド 0.03～3（FR1 のみ） フルラゼパム 1、3（FR1 のみ）	ミダゾラムにトリアゾラムと同等あるいはそれ以下の弱い交差薬物自己摂取を認めた。 クロルジアゼポキシド及びフルラゼパムに交差薬物自己摂取を認めなかった。
		日内累進比率試験	カニクイザル 雄：5 例 （1～5 例/用量）	ミダゾラム 0.01～0.3（4 用量） トリアゾラム 0.0001～0.03 ペントバルビタール 0.1～1	ミダゾラムの自己摂取維持能は、トリアゾラム及びペントバルビタールに比べはるかに弱かった。
	薬物自己摂取開始能試験		カニクイザル 雄：12 例 （1～4 例/用量）	ミダゾラム 0.003～0.1（4 用量） トリアゾラム 0.0003～0.01 ペントバルビタール 0.1～3	ミダゾラムは、トリアゾラム同様、自己摂取開始能は弱く、さらにペントバルビタールよりも明らかに弱かった。
身体依存性試験	ペントバルビタールとの交差身体依存性試験		カニクイザル 雄：7 例 （3～7 匹/用量）	ミダゾラム 0.003～1（6 用量） トリアゾラム 0.001～0.3 ペントバルビタール 0.3～30	ミダゾラムはトリアゾラムよりさらに弱い交差身体依存性しか有さなかった。
	身体依存形成能試験	突然休薬による禁断症状の観察	カニクイザル 雄：11 例 （3～4 例/用量）	1 日 2～3 回 4 週間及び 1 日 4 回 2 週間反復投与 ミダゾラム 0.3 トリアゾラム 0.03 ペントバルビタール 20	ミダゾラムの身体依存形成能は、ペントバルビタール、トリアゾラムよりも弱かった。
		ベンゾジアゼピン受容体拮抗薬による禁断症状誘発試験	カニクイザル 雄：6 例 （3 例/用量）	1 日 4 回 2 週間反復投与 ミダゾラム 0.3 トリアゾラム 0.03	ミダゾラムの身体依存形成能は微弱であり、トリアゾラムに比べ明らかに弱かった。

FR：Fixed ratio、IV：静脈内投与

a：FR1（1 回の有効レバー押し反応が 1 回の薬物注入を引き起こすようにセットしたもの）

b：FR10（10 回の有効レバー押し反応が 1 回の薬物注入を引き起こすようにセットしたもの）

2.6.6.8.4 代謝物の毒性試験

安全性評価が必要な代謝物は存在しなかったため、代謝物単独の毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.5 不純物の毒性試験

ICH Q3A（R2）、ICH Q3B（R2）、ICH Q3C（R6）、ICH Q3D（R1）及び ICH M7（R2）ガイドラインに規定された安全性確認の必要な閾値を超える不純物は認められなかったため、個々の不純物に対する安全性評価は実施しなかった。

2.6.6.9 考察及び結論

ドルミカムシロップの安全性評価として、有効成分であるミダゾラムは単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験、抗原性試験及び依存性試験の公表文献を用いて評価した。また、経口投与した際の幼若動物への影響については [redacted] で実施されたミダゾラムシロップ製剤（[redacted]）の幼若ラットを用いた単回経口投与毒性試験及び 2 週間反復経口投与毒性試験成績を参考資料として一般毒性及び局所刺激性を評価した。毒性試験結果の一覧を表 2.6.6.9- 1 に示した。

2.6.6.9.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験において、マウス、ラット及びイヌに単回投与した時の一般症状は、いずれの投与経路においても自発運動減少、よろめき歩行、呼吸数低下、外的刺激への反応性低下、腹臥又は横臥静止状態などが共通して認められた。また、マウス及びラットのいずれの投与経路においても高用量投与群で体重減少あるいは体重増加抑制がみられた。

ミダゾラムを経口投与した時の概略の致死量は、マウスでは雌雄とも 500 mg/kg、ラットでは雌雄とも 164 mg/kg であった。イヌの致死量は 300 mg/kg であった。静脈内投与した時の概略の致死量は、マウスでは雌雄とも 200 mg/kg を超える量、ラットでは雄で 100 mg/kg を超える量、雌で 100 mg/kg であった。イヌの致死量は 10 mg/kg を超える量であった。筋肉内投与した時の概略の致死量は、マウス及びラットでは雌雄とも 50 mg/kg を超える量であった。

ミダゾラムシロップを幼若ラットに経口投与した時の概略の致死量は、雌雄とも 60 mg/kg であった。

2.6.6.9.2 反復投与毒性試験

ラット及びイヌにおける 13 週間反復静脈内投与試験では、ミダゾラムの薬理作用に起因したよろめき歩行や自発運動減少などの一般症状がみられた。いずれの種も用量増加に伴い、体重増加抑制や摂餌量減少などがみられた。また、投与部位の局所刺激性作用によると考えられる血液学的及び血液生化学的パラメータの変動に加え、器官重量の変化がみられた。しかし、これらの変化はいずれの種も 5 週間の休薬期間後に回復した。以上の結果、13 週間反復静脈内投与毒性試験における無毒性量は、ラット及びイヌの雌雄とも 2.5 mg/kg/day と考えられた。

ミダゾラムシロップの幼若ラットにおける 2 週間反復経口投与毒性試験では、ミダゾラムの薬理作用に起因した自発運動減少などの一般状態の変化がみられた。また、血液生化学検査においてコレステロールの軽度な増加、及び肝重量増加がミダゾラム投与群で認められた。これらの変化を含め、投与に関連すると考えられるような肉眼的所見及び病理組織学所見は観察されなかった。以上の結果、雌雄とも 10 mg/kg/day まで忍容性は良好であった。

2.6.6.9.3 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験はいずれも陰性であり、ミダゾラムは遺伝毒性を有さないと考えられた。

2.6.6.9.4 生殖発生毒性試験

ラットにおけるミダゾラムの静脈内投与による妊娠前及び妊娠初期投与試験では、親動物でミダゾラムの薬理作用に起因した自発運動減少などの一般状態の変化及び体重増加抑制や摂餌量の減少がみられた。一方、交尾能及び受胎能への影響はいずれの用量でもみられず、胎児への影響（致死作用、発育抑制作用及び催奇形性作用）も認められなかった。親動物の一般毒性学的無毒性量は 2.5 mg/kg/day 未満、雌雄の親動物の生殖能及び F_1 世代（胎児）に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と考えられた。

ラットにおけるミダゾラムの静脈内投与による胎児の器官形成期投与試験では、母動物でミダゾラムの薬理作用に起因した自発運動減少などの一般状態の変化及び体重増加抑制や摂餌量の減少がみられた。高用量（20 mg/kg/day）で胎児への影響（低体重、胸骨の不完全形成など）を認めたが胚致死作用及び催奇形性作用はみられなかった。また、同群の F_1 世代（出生児）で体重増加抑制及び発育分化（歯牙萌出）の遅延を認めた。母動物の一般毒性学的無毒性量は 2.5 mg/kg/day 未満、母動物の生殖能に対する無毒性量は 20 mg/kg/day、F_1 世代（胎児、出生児）に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と考えられた。

ウサギにおけるミダゾラムの静脈内投与による胎児の器官形成期投与試験では、母動物でミダゾラムの薬理作用に起因した自発運動減少などの一般状態の変化及び体重増加抑制や摂餌量の減少がみられた。2.5 mg/kg/day 以上で着床後死亡（特に早期死亡胚）率の増加を認めたが、発育抑制作用及び催奇形性作用は認められなかった。母動物の一般毒性学的無毒性量は 1.25 mg/kg/day 未満、母動物の生殖能及び F_1 世代（胎児）に対する無毒性量は 1.25 mg/kg/day と考えられた。

ラットにおけるミダゾラムの静脈内投与による周産期及び授乳期投与試験では、母動物でミダゾラムの薬理作用に起因した自発運動減少などの一般状態の変化及び体重増加抑制傾向や摂餌量減少傾向がみられた。5 mg/kg/day 以上で母動物の哺育行動の異常（食殺）がみられ、それに伴い生後 4 日までの F_1 世代（出生児）の生存率が低下した。20 mg/kg/day では F_1 世代の体重増加抑制、発育分化（眼瞼開裂）及び化骨の遅延が認められた。F_1 世代を出生直後から成熟期（10 週齢）まで観察してミダゾラムの乳汁を介した影響を検討したが、母動物の哺育能低下に起因した変化（食殺による生存率の低下、授乳動作の欠如による体重増加抑制、発育分化の遅延など）を除いて、感覚機能、性分化、情動性、学習能、生殖能などに対する影響は認められなかった。以上の結果、母動物の一般毒性学的無毒性量は 2.5 mg/kg/day 未満、母動物の生殖能に対する無毒性量は 2.5 mg/kg/day、F_1 世代（出生児）に対する無毒性量は 2.5 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.9.5 局所刺激性試験

ミダゾラムシロップの幼若ラットを用いた単回経口毒性試験では、40 mg/kg までの用量を投与しても剖検時に肉眼的変化は認められなかった。また、幼若ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験では、投与部位である胃を含む消化管組織の剖検及び病理組織学的検査で

投与に関連した変化は認められなかったことから、ヒト小児への投与時の忍容性は良好であると考えられる。

2.6.6.9.6 その他の毒性試験

モルモットを用いた ASA 試験及びマウスを用いた PCA 試験において、モルモットにアナフィラキシー・ショックの発現はみられず、ラットを recipient とした PCA 反応は陰性であったことから、ミダゾラムは抗原性を有さないと考えられた。

カニクイザルを用いた精神依存性試験（薬物自己摂取試験）及び身体依存性試験において、比較対照薬（ペントバルビタールあるいはトリアゾラム）に比べその作用は弱いながら交差薬物自己摂取あるいは自己摂取維持能及び身体依存形成能が認められた。以上の結果、ミダゾラムは依存性を有するものと考えられた。

表 2.6.6.9- 1　毒性試験結果

試験の種類	投与経路/処置（投与期間）	動物種等	投与量（mg/kg）又は処置濃度	試験結果（mg/kg/day）
単回投与毒性試験	経口	マウス	0、256、320、400、500	雄、雌：500[a]
		ラット	0、131、164、205、256、320、400、500	雄、雌：164[a]
		幼若ラット	0、10、20、40、60	雄、雌：60[a]
		イヌ	3、10、30、100	＞100[a]
			100、300	300[a]
	静脈内	マウス	0、100、200	雄、雌：＞200[a]
		ラット	0、60、100	雄：＞100[a]、雌：100[a]
		イヌ	10	＞10[a]
	筋肉内	マウス	0、25、50	雄、雌：＞50[a]
		ラット	0、25、50	雄、雌：＞50[a]
反復投与毒性試験	経口（2 週間）	幼若ラット	0、5、10	雄、雌：10[b]
	静脈内（13 週間）	ラット	0、2.5、5、10、20	雄、雌：2.5[c]
		イヌ	0、2.5、5、10	雄、雌：2.5[c]

表 2.6.6.9- 1　毒性試験結果（続き）

遺伝毒性試験				
復帰突然変異	*in vitro*	*S.typhimurium* *E.coli*	～500 μg/plate ～278 μg/plate	陰性
染色体異常	*in vitro*	V79 細胞（チャイニーズハムスター肺細胞由来）	～150 μg/mL	陰性
		Saccharomyces cerevisiae D7 細胞	～288 μg/mL	陰性
		ヒトリンパ球	～100 μg/mL	陰性
小核試験	経口	不明	～800 mg/kg	陰性
生殖発生毒性試験				
妊娠前及び妊娠初期投与	静脈内	ラット	0、2.5、5、10	親動物： 一般毒性 雄、雌：<2.5[c] 生殖機能 雄、雌：10[c] F_1 世代（胎児）：10[c]
胎児の器官形成期投与	静脈内	ラット	0、2.5、5、10、20	母動物： 一般毒性 <2.5[c] 生殖機能 20[c] F_1 世代（胎児、出生児）：10[c]
	静脈内	ウサギ	0、1.25、2.5、5	母動物： 一般毒性 <1.25[c] 生殖機能 1.25[c] F_1 世代（胎児）：1.25[c]
周産期及び授乳期投与	静脈内	ラット	0、2.5、5、10、20	母動物： 一般毒性 <2.5[c] 生殖機能 2.5[c] F_1 世代（出生児）：2.5[c]
局所刺激性試験				
単回投与毒性	経口	幼若ラット	0、10、20、40、60	刺激性なし
反復投与毒性	経口（2 週間）	幼若ラット	0、5、10	刺激性なし

表 2.6.6.9- 1　毒性試験結果（続き）

その他の毒性試験					
抗原性試験					
能動的全身性アナフィラキシー試験（ASA）	皮下（感作） 静脈内（惹起）	モルモット	1 mg/例/回（感作） 1 mg/mL（惹起）	陰性	
受動的皮膚アナフィラキシー試験（PCA）	腹腔内（感作）	マウス	10 μg/例/回（感作）	陰性	
依存性試験					
精神依存性試験	交差薬物自己摂取試験	静脈内	カニクイザル	ミダゾラム：0.003～0.3 トリアゾラム：0.0001～0.03	ミダゾラムはトリアゾラムと同等あるいはそれ以下の弱い交差薬物自己摂取を認めた。
				ミダゾラム：0.01～0.3 トリアゾラム：0.0001～0.03 ペントバルビタール：0.1～1	ミダゾラムはトリアゾラム及びペントバルビタールに比べはるかに弱い自己摂取維持能を認めた。
	薬物自己摂取開始能試験			ミダゾラム：0.003～0.1 トリアゾラム：0.0003～0.01 ペントバルビタール：0.1～3	ミダゾラムはトリアゾラムと同等、ペントバルビタールよりも明らかに弱い自己摂取開始能を認めた。
身体依存性試験	交差身体依存性試験	静脈内	カニクイザル	ミダゾラム：0.003～1 トリアゾラム：0.001～0.3 ペントバルビタール：0.3～30	ミダゾラムはトリアゾラムよりさらに弱い交差身体依存性を認めた。
	身体依存形成能試験			ミダゾラム：0.3 トリアゾラム：0.03 ペントバルビタール：20	ミダゾラムはトリアゾラム及びペントバルビタールより弱い身体依存性能を認めた。
				ミダゾラム：0.3 トリアゾラム：0.03	ミダゾラムはトリアゾラムに比べ明らかに弱い身体依存形成能を認めた。

a：概略の致死量、b：最大耐量、c：無毒性量

2.6.6.9.7 総括

ミダゾラムの毒性に関する文献情報及びミダゾラムシロップを用いた幼若ラットの試験成績を評価した結果、ドルミカムシロップの小児患者集団（生後 6 ヶ月以上 16 歳未満）において特段の懸念はないと考えられる。

2.6.6.10 図表

本文中に記載した。

目次

略号一覧 2
2.6.7　毒性試験概要表 3
2.6.7.1　毒性試験一覧表 3
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 4
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表 5
2.6.7.4　毒性試験：被験物質一覧 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：用量設定試験 8
2.6.7.7　反復投与毒性試験 9
2.6.7.7.A　反復投与毒性試験：幼若ラット 2 週間反復経口投与 9
2.6.7.8　遺伝毒性試験 11
2.6.7.9　がん原性試験 12
2.6.7.10　生殖発生毒性試験 13
2.6.7.11　局所刺激性試験 14
2.6.7.12　その他の毒性試験 15
2.6.7.12.A　光毒性試験 15
2.6.7.12.B　抗原性毒性試験 16
2.6.7.12.C　依存性試験 17
2.6.7.12.D　代謝物の毒性試験 18
2.6.7.12.E　不純物の毒性試験 19

略号一覧

略号	説明
Crl:CD®BR	チャールス・リバー株式会社の SD ラットの系統名
FDA	Food and Drug Administration：アメリカ食品医薬品局
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
SD	Sprague-Dawley：ラットの系統名

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：ミダゾラムシロップ

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/day）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所 Section
単回投与毒性試験	幼若ラット/Crl:CD®BR	強制経口	単回	0, 10, 20, 40, 60	適 [a]	[redacted]	06827 (RESEARCH REPORT No. N-138782)	4.2.3.1-1
反復投与毒性試験	幼若ラット/SD	強制経口	2 週間	0, 5, 10	適 [a]	[redacted]	06958 (RESEARCH REPORT No. N-139383)	4.2.3.2-1

a：GLP（FDA）適用試験として実施されている。

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

該当資料なし

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表

該当資料なし

2.6.7.4　毒性試験：被験物質一覧

該当資料なし

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：ミダゾラムシロップ

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量（mg/kg）	性別・1群の動物数	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
幼若（2週齢）ラット /Crl:CD®BR	強制経口（シロップ[a]）	0, 10, 20, 40, 60（投与容量：30, 5 10, 20, 30 mL/kg）	雌雄 各5例	40	60	中枢神経系の抑制に一致する一般状態の変化が､すべてのミダゾラム投与ラットで観察された。一般状態の変化の重症度は用量の増加に伴い増加した。 10、20、40 mg/kg：投与1日後に、ミダゾラムの作用から回復した。 60 mg/kg（30 mL/kg）：ミダゾラム群及び溶媒対照群の両方で死亡（死因はソルビトールの大量投与による脱水症であり、さらに、ミダゾラムの鎮静作用により適切な対応行動がとれなかったことによるものと考えられた）。 最大非致死量：40 mg/kg（20 mL/kg）	06827 (RESEARCH REPORT No. N-138782)

a：組成：[redacted]

2.6.7.6　反復投与毒性試験：用量設定試験

該当資料なし

2.6.7.7　反復投与毒性試験

2.6.7.7.A　反復投与毒性試験：幼若ラット 2 週間反復経口投与

報告書の題名：Midazolam Syrup (Ro21-3981): A Two-Week Oral (Intubation) Toxicity Study in Two-Week Old Rats (Study No.06958)

被験物質：ミダゾラムシロップ

動物種/系統：ラット/SD　　投与期間：2 週間　　試験番号：06958

試験開始週齢：2 週齢　　休薬期間：なし　　CTD における記載箇所：4.2.3.2-1

初回投与年月日：19[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　投与方法：強制経口　　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：シロップ[a]　　投与容量：2.5、5 mL/kg

特記事項：分解物と非分解物との比較試験

最大耐量：雌雄 10 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**5（分解物）**		**10（分解物）**		**5（非分解物）**		**10（非分解物）**	
動物数	**雄：9**	**雌：9**	**雄：9**	**雌：9**	**雄：9**	**雌：9**	**雄：9**	**雌：9**	**雄：9**	**雌：9**
特記すべき所見										
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0-	1	0	2-
一般状態（投与1週）										
自発運動減少[b]	-, ±		±, +, ++		±, +, ++		±, +, ++, +++		±, +, ++, +++	
体重（%）[c]										
投与0日	43.3g	39.4g	101.2	106.1	95.4	102.5	96.5	104.3	98.8	102.5
投与14日	101.1g	89.7g	106.6	106.9	99.7	104.7	103.8	108.7*	103.0	98.0
体重増加量（g、投与0-14日）	57.8	50.2	64.0	54.1	59.4	53.4	63.1	55.5*	61.3	47.3
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査										
コレステロール（mg/dL）	99	109	112*	118	109	122	111*	119	104	122
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.A　反復投与毒性試験：幼若ラット 2 週間反復経口投与（続き）

試験番号：06958　　被験物質：ミダゾラムシロップ

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		5（分解物）		10（分解物）		5（非分解物）		10（非分解物）	
動物数	雄：9	雌：9	雄：9	雌：9	雄：9	雌：9	雄：9	雌：9	雄：9	雌：9
器官重量										
脳　絶対重量（g）	1.563	1.430	1.562	1.476	1.449*	1.438	1.566	1.461	1.533	1.413
脳　相対重量（%体重）	1.500	1.543	1.408	1.484	1.382	1.463	1.409	1.451	1.406	1.549
肝臓　絶対重量（g）	4.587	4.137	5.057	4.464	5.107	4.738	4.974	4.570*	5.232*	4.314
肝臓　相対重量（%体重）	4.366	4.460	4.534	4.469	4.840	4.808	4.475	4.519	4.765*	4.724*
剖検	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査										
脳										
骨化生	2	1	1	1	-	1	2	1	1	-
異所性組織	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
肝臓										
慢性炎症	2	-	-	-	-	-	-	-	2	-
単細胞壊死	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
空胞変性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
赤血球増生	7	9	8	9	9	8	7	7	9	5
顆粒球増生	3	5	2	1	-	2	1	4	2	3

-：特記すべき所見なし、*：$p<0.05$

a：組成：[redacted]

b：-: None、±: Slight、+: Moderate、++: Marked、+++: Severe

c：対照群は平均値を示し、投薬群については、対照群とのパーセント差を表示している。統計学的有意性は実際のデータに基づいている（パーセント差ではない）

2.6.7.8　遺伝毒性試験

2.6.6.4 項に示す。

2.6.7.9　がん原性試験

該当資料なし

2.6.7.10　生殖発生毒性試験

2.6.6.6 項に示す。

2.6.7.11　局所刺激性試験

2.6.6.7 項に示す。

2.6.7.12　その他の毒性試験

2.6.7.12.A　光毒性試験

該当資料なし

2.6.7.12.B　抗原性毒性試験

2.6.6.8.2 項に示す。

2.6.7.12.C　依存性試験

2.6.6.8.3 項に示す。

2.6.7.12.D　代謝物の毒性試験

該当資料なし

2.6.7.12.E　不純物の毒性試験

該当資料なし