

I. 評価対象動物薬の概要

1. 用途 (資料番号: ⑧-1)

ブロチゾラムは鎮静、抗痙攣、筋弛緩、睡眠効果を有する薬剤であり、動物用医薬品としては日本及びEUで使用されており、種々の措置後の食欲不振の改善の補助等を目的としている。

ブロチゾラムはヒトの医薬品としても睡眠導入、抗不安、催眠鎮静作用を効能として使用されている。

2. 有効成分の一般名

和名: ブロチゾラム

英名: Brotizolam

3. 化学名

IUPAC

和名: 2-ブロモ-4-(2-クロロフェニル)-9-メチル-6H-1-チア-5,7,8,9a-テトラアザ-シクロペンタ[e]アズレン

英名: 2-Bromo-4-(2-chlorophenyl)-9-methyl-6H-1-thia-5,7,8,9a-tetraaza-cyclopenta[e]azulene

CAS(No.57801-81-7)

和名: 2-ブロモ-4-(2-クロロフェニル)-9-メチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3a][1,4]ジアゼピン

英名: 2-Bromo-4-(2-chlorophenyl)-9-methyl-6H-thieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3a][1,4]diazepine

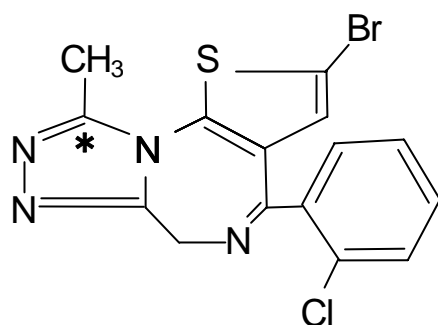
4. 分子式

$C_{15}H_{10}BrClN_4S$

5. 分子量

393.69

6. 構造式



7. 開発の経緯

ブロチゾラムは、ドイツ・バーリンガーインゲルハイム社において抗不安薬あるいは睡眠薬の研究の中から発見された 2-bromo-thieno-triazolo-1,4diazepine 誘導体である。ヒト用医薬品としては睡眠導入剤として開発されているが、動物に対しては食欲不振改善を効能として開発された。

わが国では、牛用注射剤として 1998 年 9 月に承認され、1999 年 6 月より販売されている。また、フランス (1987 年 6 月承認)、ドイツ (1988 年 9 月承認)、アイルランド (1990 年 10 月承認)、イタリア (1988 年 9 月承認) 等諸外国においても広く承認を受け、市販されている。

II. 安全性に係る試験の概要

1. 吸収・分布・代謝・排泄試験

(1) 雄マウスにおける投与試験 (資料番号：⑥-1)

Chbb: NMRI 系雄マウス (9 匹/群) に ^{14}C 標識プロチゾラム¹を単回経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重) 投与あるいは非標識プロチゾラムを 4 週間反復経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重) 投与後、同用量の ^{14}C 標識プロチゾラムを単回経口投与した際の体内動態が調べられている。なお、本試験の投与量はマウスを用いた 18 ヶ月間発がん性試験 (資料番号：④-1) と同一濃度に設定された。

^{14}C 標識プロチゾラムの単回投与および非標識プロチゾラム 0.3、10 mg の 4 週間前投与後の ^{14}C 標識プロチゾラムの単回投与における血中最大放射活性濃度は、全血量における投与放射活性の 2.1-4.6% の範囲にあった。一方、非標識プロチゾラム 200 mg を前投与した場合の血中最大放射活性濃度は 1.0-1.6% に低下し、 C_{\max} および AUC も低値が認められた。この原因として、反復投与による吸収率の低下や酵素誘導による代謝亢進が示唆された。しかしながら、 C_{\max} および AUC は ^{14}C 標識プロチゾラムの単回および非標識プロチゾラムの 4 週間前投与に関わらず、いずれの用量においても線形の相関性を示した。また、 $T_{1/2}$ については、前投与の有無および投与量による差は認められず ($T_{1/2}$: 2.5-3.8 時間)、いずれにおいても速やかな排泄が認められた。HPLC による分析により、 ^{14}C 標識プロチゾラムの単回および非標識プロチゾラムの前投与に関わりなく主要代謝物として **We964 代謝物 A** (22.2-30.7%) が認められ、その他に **We956 代謝物 D** (17.2%)、**We1061 代謝物 B** (12.3%) および未変化体 (9.3-23%) が認められた。なお、これらの代謝物はいずれも投与後 30 分に検出されていることから、いずれの用量においてもプロチゾラムは極めて速やかに代謝されることが示唆された。一方、非標識プロチゾラムの 10 および 200 mg を前投与した時に限り、代謝パターンに変化が生じ、高極性物質 (21.4-30.5%、プロチゾラムのフェニル環が水酸化されたものと考えられる) の割合が増加した。これに伴い **We1061 代謝物 B** および **We956 代謝物 D** の割合は減少したが、**We964 代謝物 A** の割合に変化は認められなかった。また、非標識プロチゾラムの 200 mg の前投与では未変化体の割合 (5.3%) が減少した。このことから、マウスにおける 10 および 200 mg の 4 週間前投与では、チトクローム P450 による酵素誘導が生じている可能性が示唆された。(表 1)

(2) 雄ラットにおける投与試験 (資料番号：⑥-2)

Sprague-Dawley 系雄ラットに ^{14}C 標識プロチゾラム 0.5 mg/kg 体重/日を単回および 7 日間反復経口投与した後の体内動態が調べられている。単回投与後の T_{\max} は 1 時間で、そのときの C_{\max} は 18.6 ng/mL であった。血中からの消失はおおむね二相性であり、 $T_{1/2}$ は 10.5 時間であった。7 日間反復経口投与後の T_{\max} は最終回投与後 30 分で、そのときの C_{\max} は 51.6 ng/mL であった。血中からの消失は単回投与時と比べ緩徐であったが経時的に減衰した。(表 2)

単回投与時の組織内濃度は投与後 1 時間までにほとんどの組織で最高値を示し、胃腸管、肝臓、副腎、腎臓および甲状腺に高濃度の分布が認められた。以降は経時的に減衰し、**投与 24 時間後**では極めて低値となった。7 日間反復経口投与後の組織内濃度は、単回投与時と同様に最終回投与後 1 時間までに最大となり、それらの濃度も単回投与時と同程度であった。投与 4 時間以降は単回投与時に比べ高値傾向にあったが経時的に減衰し、**投与 48 時間後**には全ての組織で最高値の 1/10 以下となった。また、特定組織に放射能が残留することはなかった。(表 3、表 4)

¹ 標識部位は炭素数 9 位(*)。以下、特に記載がなければ同じ。

1
2 単回投与後 48 時間までの尿中排泄率は 7.6%、糞中排泄率は 88.0%であった。7 日間反復経口投与に
3 おける最終回投与後 48 時間までの尿・糞中排泄率は、各々全投与量の 5.8%および 83.9%で、単回投与
4 と同様であった。(表 5)

5
6 単回投与後 24 時間までの胆汁中排泄率は 84.0%と高く、その約 1/2 は投与後 1 時間までに迅速に排
7 泄された。採取した胆汁を別の動物の十二指腸内に投与すると、**投与後** 24 時間以内に総放射能の 39.2%
8 が胆汁中に再排泄され、腸肝循環率は 32.9%であった。

9 ラット血漿**タンパク**との結合率は *in vivo* で 50.6%、*in vitro* で 77.7%であった。ヒト血漿および
10 血清アルブミンとの結合率は、各々 94.0%および 90.9%であった。

11 単回投与後 2-24 時間の血中放射能濃度と血漿中濃度の比はおおむね全期間にわたって一定であり、
12 約 1.5 であった。

13 14 (3) ラット、イヌおよびサルにおける投与試験 (資料番号：⑥-3)

15 Chbb: THOM ラット (雄) に ¹⁴C 標識プロチゾラムを単回経口あるいは静脈内 (0.5 mg/kg 体重/日)
16 投与した際の代謝、吸収および排泄、泌乳期のラットに単回経口 (1 mg/kg 体重/日) 投与した際の血中
17 および乳汁中への分布、雄ラットおよび妊娠ラット (妊娠 14、20 および 22 日) に単回経口あるいは静
18 脈内 (雄：2.8 mg/kg 体重/日、妊娠雌：3.4 mg/kg 体重/日) 投与した際の全身オートラジオグラフィー
19 による体内分布について調べられている。ビーグル犬 (雌、4 匹) およびアカゲザル (雄 3 頭、雌 2 頭)
20 については、それぞれ ¹⁴C 標識プロチゾラムを単回経口 (0.5 mg/kg 体重/日) 投与し、ビーグル犬は投
21 与 5 週間後に、アカゲザルでは投与 3 週間後に同用量を単回静脈内投与したときの体内動態について調
22 べられている。

23 いずれの種においても、経口投与後のプロチゾラムは迅速かつ良好な吸収性を示し、 C_{max} および T_{max}
24 はそれぞれラットで 63 ng eq/mL および 0.25 時間、イヌで 83 ng eq/mL および 1 時間、サルでは 167 ng
25 eq/mL および 1 時間であった。また、経口および静脈内投与ともに血漿中総放射能の消失は二相性を示
26 し、経口投与における第一相の $T_{1/2}$ はラットで 0.5 時間、イヌで 2.3 時間、サルでは 1.3 時間、第二相
27 の $T_{1/2}$ はそれぞれ 17.5 時間、20.8 時間および 17.1 時間であった。静脈内投与における第一相の $T_{1/2}$ は
28 ラットで 0.4 時間、イヌで 0.8 時間、サルでは 1.1 時間、第二相ではそれぞれ 14.8 時間、18.4 時間およ
29 び 18.9 時間であった。(表 6)

30 腎および糞中からの総排泄率は、経口投与ではラットで 83.6%、イヌで 93.6%、サルでは 87.8%、静
31 脈内投与ではそれぞれ 88.5%、82.6%および 87.0%であった。ラットでは腎排泄率は低く、経口および
32 静脈内投与後 6 時間において 5-6%であった。一方、イヌおよびサルにおける腎排泄率はそれぞれ 49-51%
33 および 28-34%であった。いずれの種においても、プロチゾラムは投与後 3-4 日**後に**完全に排泄され
34 た。

35 腸管吸収率はラットで 89%、イヌとサルでは 100%と高値を示し、いずれの種においても良好な吸収
36 性が認められた。(表 7)

37 胆汁中排泄率はラットにおいて投与後 10 時間まで調べられており、投与後 1-2 時間で最も高く、1 時
38 間あたりの排泄率は静脈内投与で 24.6%、経口投与では 14.3%であった。また、投与後 3 時間までに静
39 脈内投与では 54.7%、投与後 10 時間では経口投与で 72.9%、静脈内投与では 84.8%**胆汁中に**が排泄さ
40 れた。

41 (表 8)

1 血中および乳汁中排泄率は、泌乳期ラットにおいて投与後 24 時間まで調べられている。血中と乳汁
2 中濃度の推移には並行性が認められ、投与後 24 時間までにいずれも速やかな低下が認められた。投与
3 後4-8 時間後の乳汁サンプルを用いて TLC による分析を行なった結果、ほとんどの大部分がプロチゾ
4 ラムの代謝物でありは確認されたが、未変化体はごく微量であった。

5 全身オートグラフィーを用いた体内分布は、雄ラットを用いて投与後0.5、1、4、8 および24 時間後
6 に調べられている。経口および静脈内投与ともに同様の分布パターンを示し、投与後0.5 時間後には既
7 に全身への分布が認められ、肝臓、腎臓、胃腸管および副腎で高濃度の分布が認められた。また、いず
8 れの投与経路においても、被験物質は脳-血液関門を通過することが確認された。投与後8 時間後には
9 主に消化管および肝臓に分布が認められ、腎臓、副腎および膀胱への分布はわずかであった。その他の
10 臓器・組織への分布はほとんど認められなかった。妊娠 14 日と 20 日のラットにおける妊娠ラットにお
11 ける体内分布は、投与後 15 分および 24 時間に調べられており、経口および静脈内投与後、15 分及び
12 24 時間後ではともに妊娠 14 日には胎盤への通過が認められた。妊娠後期における放射活性の胎児およ
13 び母動物への分布は同程度であった。投与後24 時間後では、胎児に微量ながら放射活性が認められた。

14 ラットの胆汁中代謝物、サルおよびイヌの尿中代謝物について、TLC により調べられている。ラット
15 の胆汁およびサルの尿中に未変化体の放射活性はほとんど認められず、 β -グルクロニダーゼ/アリアル
16 スルファターゼによる加水分解前は TLC 上の原点以外に放射活性は認められなかった。一方、イヌの
17 尿中には未変化体と TLC 上で同じ挙動を示す放射活性体およびいくつかの非抱合代謝物が認められた。
18 β -グルクロニダーゼ/アリアルスルファターゼによる加水分解後は、個々の代謝物は異なるものの、い
19 ずれの種においても 2~3 種の主要代謝物が認められた。

20 ^{14}C 標識プロチゾラムのタンパク結合率が調べられている。ウシ血清アルブミンおよびヒト血清アル
21 ブミンとの結合率はそれぞれ 73-87%および 86-91%であった。また、ヒト血漿との結合率は 89-95%で
22 あった。血中における ^{14}C 標識プロチゾラムは、主に血清アルブミンと結合した状態で存在することが
23 示唆された。

24 (4) ラット、イヌ、サルおよびヒトにおける投与試験 (資料番号: ⑥-4)

25 Chbb: THOM ラット (計 6 匹) に ^{14}C 標識プロチゾラム 10 mg/kg を経口投与した後の胆汁中排泄物、
26 雌のビーグル犬およびアカゲザル (雌雄各 2 例) に ^{14}C 標識プロチゾラム 10 mg/kg を経口投与した後
27 の尿中排泄物、健常ヒトボランティア (男性 3 名、女性 1 名) に ^{14}C 標識プロチゾラム 0.5 mg を経口
28 投与した後の尿中排泄物について調べられている。

29 全ての種において、プロチゾラムはほぼ完全に代謝された。ラット、イヌ、サルおよびヒトにおいて、
30 主要代謝経路はプロチゾラム分子の様々な部位における水酸化とその後続く抱合であることが確認さ
31 れている。未変化体は排泄されたとしても非常に微量である。質量分析法により、ラットの胆汁および
32 サルの尿から未変化体の ^{14}C 標識プロチゾラムが分離同定されたが、その量はラットの胆汁中で 4%未
33 満、サルの尿中では 3%未満であった。イヌとヒトにおいてはさらに少なくなると考えられ、RIA を用
34 いた検討では、ヒトにおける未変化体の腎排泄量は投与量のおよそ 1%であることが確認された。

35 全ての種で認められた代謝物の中で最も多いものは We964-代謝物 A (メチル基の水酸化) および
36 We1061-代謝物 B (ジアゼピン環の水酸化) であった。ヒトとサルにおける主要代謝物は We964-代謝
37 物 A (各々 $\geq 27\%$ および約 46%、腎排泄) と We1061-代謝物 B (各々 $\geq 43\%$ および $\geq 20\%$ 、腎排泄) で
38 あり、ヒトにおけるプロチゾラムの代謝はサルと非常に類似していることが確認された。また、ヒトお
39 よびサルの尿抽出物における We964-代謝物 A と We1061-代謝物 B の比率はそれぞれ、およそ 4:1 およ
40 び 3:2 であった。イヌにおける主要代謝物は We964-代謝物 A と We1064 (各々 $\geq 43\%$ および $\geq 20\%$ 、

腎排泄) であり、尿中における **We964代謝物 A** と We1064 の比率は 2:1 以上であった。なお、We1064 は **We1061代謝物 B** の異性体であり、**We1061代謝物 B** はアルカリ媒体中で We1064 に変化する。それ故、イヌの尿中から同定された We1064 は **試料の抽出・精製過程幾多のクリーンアップおよび単離過程** で **We1061代謝物 B** から形成されるもので、実際に腎臓から排泄されているのものは **We1061代謝物 B** であると考えられている。ラットの主要代謝物は、フェニルヒドロキシル基を含むプロチゾラムと **We1061代謝物 B** (各々 \geq 14%および \geq 13%、胆汁中排泄) であった。

(5) マウス、ラット、イヌ、サル、ウシおよびヒトにおける投与試験 (資料番号:⑥-5)

マウス、ラット、イヌ、サルおよびヒトに ^{14}C 標識プロチゾラムを単回経口あるいは静脈内投与した後の体内動態について以下のように調べられている。

ラット、イヌおよびサルに ^{14}C 標識プロチゾラムを単回経口投与すると腸管から速やかに吸収された (ラット: 89%、イヌおよびサル: 100%)。

ラットおよびマウスに ^{14}C 標識プロチゾラムをそれぞれ単回経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与した際の投与量と AUC、 C_{\max} の間には良好な相関性が認められた。

^{14}C 標識プロチゾラムをマウス (0.3、10、200 mg/kg 体重/日)、ラット (0.3、0.5、10、200 mg/kg 体重/日)、イヌ (0.5 mg/kg 体重/日) およびサル (0.5、7、10 mg/kg 体重/日) にそれぞれ単回経口投与した際の T_{\max} および C_{\max} は、それぞれマウスで 0.5 時間および 86-71,539 ng/mL、ラットで 0.25-1.0 時間および 23-15,018 ng/mL、イヌで 1-2 時間および 83 ng/mL、サルで 0.5-2 時間および 167-1,800 ng/mL であった。また、マウス (10 mg/kg 体重/日)、ラット (0.5 mg/kg 体重/日)、イヌ (0.5 mg/kg 体重/日) およびサル (0.5、7、10 mg/kg 体重/日) にそれぞれ単回経口投与した際の分布相半減期および消失相半減期は、それぞれマウスで 0.8 時間および 5.6 時間、ラットで 0.5 時間および 17.5 時間、イヌで 1.8 時間および 20.8 時間、サルでは 0.5 mg 投与で 1.0 時間および 17.0 時間、7 mg 投与で 21 時間 (消失相半減期のみ)、10 mg 投与で 10 時間 (消失相半減期) であった。同様に、単回静脈内投与した際の分布相半減期および消失相半減期は、ラットで 0.33 時間および 14.8 時間、イヌで 0.9 時間および 18.4 時間、サル (0.5 mg 投与) で 1.25 時間および 18.9 時間であった。(表 9、表 10)

^{14}C 標識プロチゾラムを単回経口および静脈内投与すると、いずれの投与経路でも全身に広く分布する。体内分布は投与後 30 分後には腸管 (胆汁排泄のため)、肝臓、腎臓および副腎に高濃度が認められ、投与後 8 時間後には主に腸管に残留がみられるが、肝臓では低濃度、腎臓および副腎ではごく微量が検出されるに過ぎない。

経口および静脈内投与により ^{14}C 標識プロチゾラムは血液-脳関門を通過する。妊娠ラットに投与すると胎盤を通過し、妊娠後期には胎児と母動物への分布は同等となる。授乳ラットに経口投与すると放射活性は乳汁中に認められ、乳汁中濃度は血中濃度と同様の推移を示し、速やかに消失することが確認された。泌乳牛に静脈内投与すると、放射活性は投与後 4 時間までに乳汁中に検出される。また、血漿中濃度は乳汁中濃度と同様に速やかな消失が認められた。

サルおよびラットを用いた反復投与試験の結果、プロチゾラムには蓄積傾向および酵素誘導は認められなかった。また、ラット肝ミクロソームを用いて薬物代謝酵素誘導について調べた結果、酵素誘導は認められなかった。一方、マウスではプロチゾラムを 4 週間反復経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与後、同用量の ^{14}C 標識プロチゾラムを単回経口投与した際に、200 mg 投与群でやや代謝亢進が認められ、酵素誘導が示唆された。

マウスにおける単回経口 (10 mg/kg 体重/日) 投与後 6 日までの尿中排泄率は 22.5%、糞中排泄率は 53.3% であった。尿中および胆汁中から 7 つの代謝物が同定されおり、胆汁中の主要代謝物は **We964**

1 代謝物 A および We1061-代謝物 B、その他に We1073-代謝物 C および We956-代謝物 D が低濃度に、
2 未変化体は極微量ながら検出された。胆汁中において、いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合
3 体及び／あるいは硫酸抱合体として認められた。血漿中の主要代謝物は We964-代謝物 A であり、その
4 他に We1061-代謝物 B および We956-代謝物 D が認められた。

5 ラットにおける単回経口あるいは静脈内 (0.5 mg/kg 体重/日) 投与後 7 日までの尿中排泄率は 5.3-6.0%、
6 胆汁中排泄率は 72.9-84.9%、糞中排泄率は 78.3-82.6% であり、尿中への排泄は主として未変化体であっ
7 った。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかった。胆汁中の主要代謝物はフェ
8 ニルヒドロキシ基を含むプロチゾラム (We941) および We1061-代謝物 B であり、未変化体は極微
9 量ながら検出された。胆汁中において、いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び／ある
10 いは抱合体として認められた。血漿中における主要代謝物は 2 種類の高極性物質で、その他に We964-代
11 謝物 A、We1061-代謝物 B、We1073-代謝物 C および We956-代謝物 D が検出された。

12 イヌでは単回経口あるいは静脈内 (0.5 mg/kg 体重/日) 投与後 8 日までの尿中排泄率は 51.5-49.3%、
13 糞中排泄率は 42.3-33.5% であった。尿中における主要代謝物は We964-代謝物 A (43%) および We1064
14 (20%) であり、未変化体は極微量ながら検出された。いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合
15 体及び／あるいは硫酸抱合体として認められた。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は
16 認められなかった。

17 サルにおける単回経口あるいは静脈内 (0.5、7、10 mg/kg 体重/日) 投与後 3 あるいは 5 日までの尿
18 中排泄率は 28-69.2%、糞中排泄率は 23.3-59% であった。尿中の主要代謝物は We964-代謝物 A (46%)
19 および We1061-代謝物 B (26%) であった。We941-プロチゾラム は尿中からほぼ完全に排泄され、未
20 変化体としての排泄はわずか 3% に過ぎなかった。いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及
21 び／あるいは硫酸抱合体として認められた。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認め
22 られなかった。また、1 年間反復経口 (7 mg/kg 体重/日) 投与においても代謝パターンは同様であった。

23 (表 1 1、表 1 2)

24 健常人におけるプロチゾラムの各剤型による吸収性が調べられており、溶液 > 錠剤 > カプセルの順
25 に良好な吸収性を示した。また、いずれの剤型においても AUC に差は認められなかった。プロチゾ
26 ラムの血漿中濃度は 0.125-1.0 mg の用量ではほぼ線形の上昇を示すが、1.5 mg 以上の用量では上昇に
27 明らかな停滞が認められた。健常人においてプロチゾラムは腸管から速やかに吸収され、絶対的生物
28 学的利用率はおおよそ 70% であった。血漿中の $T_{1/2}$ は 4.3-7.3 時間と短く、投与量の 64.9% は尿中から、23.6%
29 は糞中から排泄された。7 日間反復 (1 mg) 投与試験では、血漿中濃度および $T_{1/2}$ はそれぞれ初回投与
30 日に 19.2 ng/mL および 3.6 時間、最終投与日では 19.6 ng/mL および 3.7 時間と同一であり、蓄積性は
31 認められなかった。プロチゾラムはほぼ完全に代謝されて尿中排泄され、投与後 8 時間までに未変化体
32 の占める割合は 1% であった。主要代謝物である We964-代謝物 A および We1061-代謝物 B は、それぞ
33 れ 27% および 7% が尿中へ排泄された。いずれの代謝物も抱合体として認められた。また、これら代謝
34 物の排出半減期は未変化体のそれと大差はないことが確認された。

35 重度の腎疾患患者にプロチゾラムを単回あるいは 7 日間反復 (0.25 mg) 投与したときの $T_{1/2}$ は 6.9-7.6
36 時間で、健常人の値の範囲内にあった。高齢者患者に単回あるいは 3 週間反復投与 (0.25 mg) したと
37 きの $T_{1/2}$ は 6.0-9.8 時間であった。肝硬変の患者に単回 (0.25 および 0.5 mg) 投与したときの $T_{1/2}$ には
38 大幅な延長 (9.4-53.3 時間) が認められ、排出が遅く $T_{1/2}$ の検出できない患者も認められた。また、肝
39 硬変患者の 蛋白タンパク 結合率は健常人に比べてやや低いことが確認された。健常人、高齢者患者およ
40 び腎疾患患者のいずれにおいても反復投与による蓄積性および酵素誘導は認められなかった。(表 1 3)

1 (6) 泌乳牛における体内分布 (資料番号：⑥-6、⑥-7)

2 ¹⁴C 標識プロチゾラムを泌乳牛 3 頭 (動物番号：1 ♀、2 ♀および 3 ♀) に静脈内 (10 μg/kg) 投与し
3 際の吸収、分布および排泄について、次に示す 2 種類の試験で調べられている。

4 第 1 試験は 2 相試験 (Phase 1 および Phase 2) から構成されており、¹⁴C 標識プロチゾラムを泌乳牛 1
5 頭 (1 ♀) に単回静脈内投与した際の代謝および薬物動態について調べられている。

6 第 2 試験は ¹⁴C 標識プロチゾラムを泌乳牛 (2 ♀および 3 ♀) に単回静脈内投与した際の体内動態につ
7 いて調べられている。

8 ①第 1 試験

9 a. 第 1 相試験、Phase 1：試験開始後 1-6 日目

10 ¹⁴C 標識プロチゾラムを泌乳牛 1 頭 (1 ♀) に単回静脈内 (10 μg/kg) 投与した際の、総放射活性の回
11 収率および排泄経路、血漿、全血および乳汁中における残留量が調べられている。血液試料は投与前お
12 よび投与後 144 時間までに 19 時点で、糞尿は投与後 12-24 時間間隔で、乳汁は朝夕 (08:00 および 18:00
13 の 2 回) の時点で採取され、それぞれにおける回収率が測定された。

14 放射活性の総回収率は投与後 6 日目で 112%を示し、投与量の 25%は投与後 144 時間までに尿中に排
15 泄され (24 時間では 24%)、86%は糞中から排泄率された。

16 単回静脈内 (10 μg/kg) 投与した際の血漿中の総放射活性値は、投与後 5 分後の 16.4 から投与後 1
17 時間後には 8.6 ng eq/mL まで低下した。さらに、投与 12 時間後には 0.47 ng eq/mL まで低下し、そ
18 の後は検出限界未満以下となった。全血の放射活性値は血漿のそれに比べて低かったが、同様の動態傾
19 向を示した。(表 1 4、表 1 5)

20 乳汁中における総放射活性値は非常に低く、総投与量に対する回収量の比率はわずか 0.1%であった。
21 総放射活性の C_{max} (0.58 ng eq/mL) は初回乳汁サンプル (0-9 時間) で確認され、それ以降、乳汁中
22 の放射活性の濃度は検出限界未満以下であった。乳汁成分である乳脂、凝乳および乳清のうち、高濃度
23 の放射活性が認められたのは乳脂分画で C_{max} は 1.73 ng eq/mL であった。

24 b. 第 2 相試験、Phase 2：試験開始後 7 日目

25 第 1 相試験終了後、¹⁴C 標識プロチゾラムを泌乳牛 1 頭 (1 ♀) に単回静脈内 (10 μg/kg) 投与し、そ
26 の 6.5 時間後に安楽死させ、全血、血漿、臓器および組織中それぞれの総放射活性の残留量について調
27 べられている。血液試料は投与前および投与後 6.5 時間後までの計 5 時点で採取した。投与 6.5 時間後
28 に安楽死させた後、肺、心臓、骨格筋、肝臓、皮膚、胃粘膜、舌、骨塩、骨髄、脂肪 (腎臓および皮下)、
29 脾臓、腎臓、副腎、脳、乳汁、胆汁、乳房組織、血漿および全血が採取され、個々の組織および臓器に
30 ついては重量が測定された。また、投与後 6 時間までの糞尿、乳汁および胆汁が採取され、重量あるい
31 は容量の測定が行われた。

32 血漿中の総放射活性の濃度は投与後 30 分後に 14.05 ng eq/mL、投与 1 時間後では 10.71 ng eq/mL
33 を示し、投与 6.5 時間後には 1.22 ng eq/mL まで低下した。全血中の濃度は投与後 30 分後に 11.00 ng
34 eq/mL、投与 1 時間後では 8.25 ng eq/mL を示し、投与 6.5 時間後には 1.16 ng eq/mL まで低下した。
35 これらの結果は、第 1 相試験の結果と同程度であった。(表 1 6、表 1 7)

36 臓器および組織中濃度は胆汁、肝臓および腎臓の順で高く、総放射活性値はそれぞれ 192.5、16.9 お
37 よび 5.3 ng eq/g であった。

38 未変化体の存在について、第 1 相試験で投与 0.25、0.75、1.5、2 および 8 時間後に採取した血漿を用
39 いて調べたところ、それぞれ 5.91、5.71、2.97、1.85 および 0.59 ng/mL の未変化体が検出された。(表
40 1 8)

1 肝臓および腎臓中の代謝物産物について HPLC にて分析したところ、We964-代謝物 A あるいは
2 We1061-代謝物 B の代謝物は検出されなかったが、少量の未変化体（肝臓で 22.5%、腎臓で 21.5%）が
3 確認された。

4 ②第 2 試験

6 ¹⁴C 標識プロチゾラムを泌乳牛 2 頭（2♀および 3♀）に 12 時間毎に 2 回（0 および 12 時間）、単回
7 静脈内（10 μg/kg）投与したときの体内動態について調べられている。2 回目の静脈内投与後、泌乳牛 1
8 頭（2♀）は 24 時間に、泌乳牛 1 頭（3♀）は 72 時間に屠殺した。

9 泌乳牛 1 頭（2♀）では投与後 36 時間までに放射活性の 70%が回収され、そのうち 57%は糞中に、
10 13%は尿中に排泄された。乳汁中への排泄は 0.1%と微量であった。泌乳牛 1 頭（3♀）では投与後 84
11 時間までに放射活性の 79%が回収され、そのうち 63%は糞中に（36 時間までに 59%が排泄）、15%は
12 尿中に排泄された。乳汁中への排泄は 0.1%と微量であった。（表 19）

13 泌乳牛 1 頭（2♀）に初回（0 時間）単回静脈内投与したときの血漿中の総放射活性値は、投与後 5
14 分後の 30.9 ng eq/mL から投与後 3 時間後（ $T_{1/2}$ は投与後 0.5 時間であると推測）には 3.1 ng eq/mL ま
15 まで低下し、投与後 12 時間後では 0.5 ng eq/mL となった。2 回目（12 時間）の投与後の総放射活性値は、
16 投与後 5 分後で 15.2 ng eq/mL を示し、投与後 16 時間後（ $T_{1/2}$ は投与後 1 時間であると推測）では 1.0
17 ng eq/mL まで低下した後、投与後 20 時間後には 0.6 ng eq/mL となった。泌乳牛 1 頭（3♀）に初回
18 単回静脈内投与後の血漿中の総放射活性値は、投与後 5 分後の 23.9 ng eq/mL から投与後 2 時間後（ $T_{1/2}$
19 は投与後 1 時間と推測）には 5.0 ng eq/mL まで低下し、投与後 12 時間後では 1.0 ng eq/mL となった。
20 2 回目（12 時間）の投与後の総放射活性値は、投与後 5 分後で 27.0 ng eq/mL を示し、投与後 15 時間
21 後では 3.7 ng eq/mL まで低下した（ $T_{1/2}$ は投与後 1 時間であると推測）。その後、投与後 24 時間後では
22 1.1 ng eq/mL となった（ $T_{1/2}$ は投与後 5 時間であると推測）。泌乳牛 2 頭（2♀および 3♀）の総放射活
23 性値は、第 1 試験の第 1 相試験で確認した泌乳牛 1 頭（1♀）の結果と類似していた。（表 20）

24 低いことが明らかになった。また、肝臓では投与後 72 時間後において 0.1%以下のプロチゾラムおよ
25 び/あ泌乳牛 2 頭（2♀および 3♀）に ¹⁴C 標識プロチゾラムを 2 回、単回静脈内投与した後の乳汁中濃
26 度は、2 頭共に 0.1%と微量であった。2 回目の投与後 0-9 時間後に採取された乳汁中の最高値は、2♀
27 で 0.1 ng eq/mL、3♀で 0.7 ng eq/mL であった。乳汁中の濃度についても、第 1 試験の第 1 相試験の泌
28 乳牛 1 頭（1♀）の結果と類似していた。

29 泌乳牛 2 頭に ¹⁴C 標識プロチゾラムを 2 回、単回静脈内投与したときの 24 時間後（2♀）および 72
30 時間後（3♀）の肺、心臓、肝臓、腎臓、舌、皮膚、脂肪（腎臓および皮下）、全血、胆汁および骨格筋
31 の総放射活性値について調べたところ、肝臓以外のほとんどは検出限界未満以下であった。肝臓では 2
32 回目の投与後 24 時間後で 9.7 ng eq/mL（0.8%）、投与後 72 時間後では 12.0 ng eq/mL（0.7%）の濃度が
33 確認された。（表 21）

35 以上の 2 試験の結果から、¹⁴C 標識プロチゾラムを泌乳牛 3 頭（1♀、2♀および 3♀）に静脈内（10 μg/kg）
36 投与すると、放射活性は急速に排泄されることが確認された。主要排泄経路は糞中（57-86%）であり、
37 胆汁中に大量に排泄されることが考えられた。一方、尿中排泄は少量であった（15-25%）。これらの結
38 果は、先に実施されたラット（糞中排泄：86%、尿中排泄：6%）およびサル（糞中排泄：59%、尿中排
39 泄：28%）の試験結果と一致するものであった（参照 1、2）。また、いずれにおいても放射活性の大部
40 分は投与後 24 時間までに排泄された。

41 血漿中からも急速に排泄され、泌乳牛 3 頭に静脈内投与したときの $T_{1/2}$ は 0.5-1 時間であった。これ

らの結果は、ラット ($T_{1/2}$: 0.3 時間)、イヌ ($T_{1/2}$: 0.9 時間) およびサル ($T_{1/2}$: 1.3 時間) を用いた先の試験結果と一致している (参照 3)。全血中の濃度は血漿中よりも低い (1 ♀)、赤血球中への選択的な取り込みは示されていない。

泌乳牛 3 頭共に乳汁中の総放射活性値は低く、わずか 0.1% であることが確認された。乳汁成分の分析では、乳脂分画中に高濃度の放射活性が認められた (1 ♀)。

泌乳牛 3 頭に静脈内投与後 6.5 時間後 (1 ♀)、投与 24 時間後 (2 ♀) および投与 72 時間後 (3 ♀) に屠殺したときの肝臓における濃度は、それぞれ 16.9 ng eq/mL (2.6%)、9.7 ng eq/mL (0.8%) および 12.0 ng eq/mL (0.7%) あった。腎臓中の濃度は投与後 6.5 時間後で 5.3 ng eq/mL を示し、投与 24 および 72 時間後では検出限界未満以下となった。この結果より、糞中への排泄は高く、尿中への排泄はあるいはその代謝物の残留が確認された。((6-6))

泌乳牛 (3 頭群) に ^{14}C 標識ブロチゾラムを静脈内 (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 投与後 6.5、24、72 時間後に各 3 頭から血液、乳汁および組織・臓器 (血漿、骨格筋、脂肪、腎臓、胆汁、肝臓) を採取し、各試料中のブロチゾラム濃度を測定した。血漿では二相性の半減期がみられ、投与後 7 分後に C_{max} (2.83 ng eq/mL) が認められ、投与 3 時間後には 0.53 ng eq/mL まで急速に減少 ($T_{1/2}$ は 1.2 時間) し、その後は緩やかな減少を示し投与 36 時間後には 0.01 ng eq/mL まで減少した ($T_{1/2}$ は 5 時間)。乳汁中の残留量は低く、初回搾乳後 7 時間後に C_{max} (0.08 ng eq/mL) が認められ、47 時間後には検出限界まで減少した。各組織・臓器中における残留は主に肝臓 (投与後 6.5 時間後 : 3.54 ng eq/mL、24 時間後 : 1.24 ng eq/mL、72 時間後 : 0.56 ng eq/mL) および腎臓 (投与後 6.5 時間後 : 1.12 ng eq/mL、24 時間後 : 0.13 ng eq/mL、72 時間後 : 0.02 ng eq/mL) で認められた。肝臓では投与後 72 時間後まで明らかな残留が認められ、 $T_{1/2}$ は 30 分であった。また、胆汁中にはかなりの量の残留が認められ (投与後 6.5 時間後 : 33.61 ng eq/mL、24 時間後 : 3.94 ng eq/mL、72 時間後 : 0.01 ng eq/mL)、ブロチゾラムの主要排泄経路は糞中であることが示唆された。筋肉および脂肪中の残留はいずれの時点においても微量であった。((6-7) (表 2 2、表 2 3、表 2 4))

(7) ウシにおける残留試験 (資料番号 : ⑦-2、⑦-3、⑦-4、⑦-5)

雌子牛 (約 6 ヶ月齢、31 頭) に SPV-708 (ブロチゾラム 0.2 mg/mL 製剤) を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL (有効成分として 0.2 mg、以下同じ) および 2 倍量群 2.0 mL (有効成分として 0.4 mg、以下同じ) として左頸静脈内に 1 日 1 回 3 日間連続投与し、最終投与後 2 時間、1、2、3 および 5 日後目に各群 3 頭から各組織・臓器 (血液、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸) を採取してブロチゾラムの経時的な残留推移を確認した。なお、対照群には 1 頭を供した。常用量群では、最終投与後 2 時間後目において全試料が検出限界未満であった。2 倍量群では、最終投与後 2 時間目において筋肉、肝臓、腎臓、小腸および血液は検出限界未満であった。一方、脂肪については 2/3 例で検出限界未満、1/3 例では 0.001 $\mu\text{g}/\text{g}$ が検出されたが、最終投与後 1 日後目には全例が検出限界未満となった。((7-2) (表 2 5、表 2 6))

雌子牛 (約 6 ヶ月齢、31 頭) に SPV-708 を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL および 2 倍量群 2.0 mL として左頸静脈内に 1 日 1 回 3 日間連続投与し、最終投与後 2 時間、1、2、3 および 5 日後目に各群 3 頭から各組織・臓器 (血液、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸) を採取してブロチゾラムの経時的残留推移を確認した。なお、対照群には 1 頭を供した。常用量群では、最終投与後 2 時間後において筋肉は検出限界未満であった。一方、肝臓については 2/3 例から 0.001 および 0.003 $\mu\text{g}/\text{g}$ が検出され、腎臓、脂肪、小腸および血液については各 1/3 例から 0.001-0.002 $\mu\text{g}/\text{g}$ が検出された。最終投与後 1 日後目におい

1 ては、いずれの試料も検出限界未満となった。2 倍量群においては、最終投与後2時間後に~~で~~全試料が
2 検出限界未満となった。(⑦-3) (表27、表28)

3
4 泌乳牛(2~6才齢、3頭/群)にSPV-708を体重100kgあたり常用量群1.0mLおよび2倍量群2.0mL
5 として、朝の搾乳直後に左頸静脈内に3日間連続投与した。乳汁採取は1回目投与前1回(対照)、最終投与後12、24、36、48、60および72時間後日に、血液採取は1回目投与前1回(対照)、最終投与後15、30分、1、2、6および12時間後日に右頸静脈から行い、ブロチゾラムの経時的な残留推移を確認した。乳汁では、常用量群および2倍量群ともに最終投与後24時間後日までに全試料が検出限界未満であった。血液においては、常用量群で最終投与後15分後日に全例から0.001-0.002 μg/g、2倍量群では15分および30分後日に全例から0.001-0.003 μg/gが検出されたが、最終投与後1時間後日にはいずれも検出限界未満となった。(⑦-4) (表29、表30)

12
13 泌乳牛(4才齢、3頭/群)にSPV-708を体重100kgあたり常用量群1.0mLおよび2倍量群2.0mL
14 として、朝の搾乳直後に左頸静脈内に1日1回3日間連続投与した。乳汁採取は1回目投与前1回(対照)、最終投与後12、24、36、48、60および72時間後日に、血液採取は1回目投与前1回(対照)、最終投与後15、30分、1、2、6および12時間後日に右頸静脈から行い、ブロチゾラムの経時的な残留推移を確認した。乳汁では、常用量群および2倍量群ともに最終投与後12時間後日に全試料が検出限界未満であった。血液においては、最終投与後15分後日に常用量群の全例で0.001 μg/g、2倍量群では0.002-0.003 μg/gが検出されたが、それぞれ最終投与後30分および1時間後日には検出限界未満となった。(⑦-5) (表31、32)

2. 急性毒性試験

(1) マウスを用いた急性毒性試験 (資料番号: ①-1a、①-1b、①-7)

24 Chbi: NMRI系アルビノマウス(雌雄各10匹/群)にブロチゾラムを単回強制経口(6,000、8,000、
25 10,000 mg/kg 体重/日)投与したときのLD₅₀は雌雄ともに10,000 mg/kg 体重以上であった。死亡例は
26 8,000 mg/kg 投与群の雄3例、10,000 mg/kg 投与群の雌1例で認められた。死亡した雄1/3例の胃腸管
27 内は乳白色の投与液で満たされていた。また、2/3例では胃腸管内に残留物は認められなかったものの、
28 1例の粘膜に充血が認められた。雄2/3例および雌1例では脱水が認められた。計画解剖例では投与に
29 関連すると思われる変化は認められなかった。

30 薬物による影響として、全例において投与後に自発運動の著しい減少あるいは睡眠が認められたが、
31 投与後4日までには完全に回復した。なお、これらの症状の程度に群間差および性差は認められなかつ
32 たら。(①-1a、①-7)

33
34 ICR-JCL系マウス(雌雄各5匹/群)にブロチゾラムを単回静脈内(0、20 mg/kg 体重/日)投与した
35 が、死亡例は認められず、LD₅₀は雌雄ともに20 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、鎮
36 静、自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、翌日には回復した。剖検では病理学的変化は認
37 められなかった。(①-1b)

38
39 ICR-JCL系マウス(雌雄各5匹/群)にブロチゾラムを単回腹腔内(0、1,000 mg/kg 体重/日)投与した
40 が、死亡例は認められず、LD₅₀は雌雄ともに1,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、
41 鎮静、睡眠、自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、投与2日後日には全例が回復した。剖

1 検ではいずれの投与群においても腹膜炎が認められた。(①-1b)

2 3 (2) ラットを用いた急性毒性試験 (資料番号：①-1b、①-2)

4 SD-JCL系ラット(雌雄各5匹/群)にブロチゾラムを単回静脈内(0、16(雌のみ)、20 mg/kg 体重
5 /日)投与したときのLD₅₀は雌雄ともに20 mg/kg 体重以上であった。死亡例は20 mg 投与群の雌2例
6 で認められ、1例は睡眠中投与5分後に、別の1例は投与6時間後に強直性痙攣および呼吸困難により
7 死亡した。

8 薬物による影響として、雌雄共に鎮静および睡眠が認められたが、投与後6時間以内に回復した。また、雌雄共に摂水量の高値が認められた。剖検では、死亡例および計画解剖例に病理学的変化は認められなかった。(①-1b)

11
12 SD-JCL系ラット(雌雄各5匹/群)にブロチゾラムを単回腹腔内(0、1,000 mg/kg 体重/日)投与した
13 ときのLD₅₀は雌雄ともに1,000 mg/kg 体重以上であった。投与翌日に1,000 mg 投与群の雄1例で
14 死亡が認められ、剖検では胃底部粘膜の点状出血、腹腔内には被験物質の白色沈着がみられた。

15 薬物による影響として、鎮静および睡眠、失調様歩行、自発運動の減少、軟便等が認められたが、投
16 与後2~3日後に回復した。体重変化は雄で投与後7日後まで遅延が認められ、この期間は摂水量に
17 も低値が認められた。雌では摂水量は高値を示した。計画解剖例ではいずれの投与群でも腹膜炎が認め
18 られた。(①-1b)

19
20 SD-JCL系ラット(雌雄各10匹)にブロチゾラムを単回強制経口(7,000 mg/kg 体重)投与したと
21 き死亡例は雌1例で認められ、LD₅₀は雌雄ともに7,000 mg/kg 体重以上であった。剖検では胃腸管内
22 に投与液が満たされていた以外、明らかな変化は認められなかった。

23 薬物による影響として、雌雄共に投与5分後から鎮静、投与10分後にうずくまり、投与1時間後に
24 腹臥位、投与3時間後には雄では失調様歩行を開始し、雌では腹臥位のまま労作性呼吸を行っていた。
25 雄は翌朝には回復していたが、雌の3例が衰弱状態に陥り、そのうち1例が死亡した。なお、雌雄共に
26 これらの症状は投与後48時間までには回復した。(①-2)

27 28 (3) イヌを用いた急性毒性試験 (資料番号：①-7)

29 イヌ(雌雄2頭/群、計6頭)にブロチゾラムを単回経口投与したときのLD₅₀は雌雄ともに2,000 mg/kg
30 体重以上であった。薬物による影響として、投与後1-28時間後に心拍数および呼吸数の増加、運動失
31 調が認められ、投与後48時間までに睡眠、鎮静、振戦および嘔吐が認められた。投与後2~4日後に摂
32 餌量の低値および体重の軽度な低値が認められた。

33 34 (4) ウサギを用いた急性毒性試験 (資料番号：①-7)

35 ウサギ(雌雄2羽/群、計4羽)にブロチゾラムを単回経口投与したときのLD₅₀は雌雄ともに2,000
36 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、運動失調、筋弛緩および鎮静が認められた。

37 38 (5) サルを用いた急性毒性試験 (資料番号：①-1c)

39 カニクイザル(雌雄各1頭)を用いた強制経口(0.063、0.25、1、4 mg/kg 体重/日)投与による急性
40 毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、投与は雌雄各1頭に対し、各用量
41 を7日間隔で行なった。

1 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

2 一般的な臨床症状観察では、0.063 mg 投与群の雌雄で発声やひっきりたりするひっかき行動の減少、
3 怯えや攻撃性の低下を示す例が認められた。また、振戦、握力の低下および探索行動の増加がいずれも
4 軽度ながら認められた。0.25 および1 mg 投与群では、自発運動および探索行動の増加が認められた後、
5 鎮静および無関心の状態となった。これ等の症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。
6 4 mg 投与群の症状および程度は1 mg 投与群と類似していたが、投与後に探索行動は認められず、鎮静
7 状態が長時間認められた。なお、鎮静状態は投与後 24 時間までに回復が認められた。

9 3. 亜急性毒性試験

10 (1) ラットを用いた4週間亜急性毒性試験 (資料番号：①-7)

11 ラット (雌雄各 20 匹群、最高用量の雌は 30 匹) を用いた強制経口 (0.3、10、400 mg/kg 体重/日)
12 投与における 4 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照
13 群と高用量群の雌雄各 10 匹は回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

14 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

15 一般的な臨床症状観察では、10 mg 以上投与群以上で鎮静を示した後、興奮が認められた。

16 摂餌量では、400 mg 投与群の雌で高値が認められた。

17 血液生化学検査では、400 mg 投与群で Tcho 血清コレステロールの高値が認められた。

18 臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の高値が認められたが、回復期間中に回復がみられた。

19 病理組織学的検査では、肝臓を含めて投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

20 (2) ラットを用いた5週間亜急性毒性試験 (資料番号：①-2、①-3)

21 SD-JCL 系ラット (雌雄各 15 匹群) を用いた強制経口 (0.5、100、1,000 mg/kg 体重/日、低用量の
22 0.5 mg/kg は推定臨床用量である 0.005 mg/kg の 100 倍量に相当) 投与における 5 週間の亜急性毒性試
23 験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群にはそれぞれ雌雄各 10
24 匹を加えて回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

25 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

26 一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 投与群に一般状態の変化はみられなかった。100 mg 以上投与群
27 で投与 10～15 分後から鎮静状態が認められた。鎮静は 100 mg 投与群では 4 時間、1,000 mg 投与群で
28 は 4～7 時間継続したが、投与回数を重ねるにつれて徐々に短くなり、投与終了時には両群ともに継続
29 時間は約 2 時間となった。また、両群共に投与 2 週目から攻撃性を示すようになり、1,000 mg 回復群
30 では投与終了後 3～4 日間、全例において興奮と自発運動の亢進が認められた。

31 体重変化では、1,000 mg 回復群の雄で体重増加に有意な低値が認められた。

32 摂餌量は 100 mg 投与群以上の雌で増加傾向が認められた。1,000 mg 回復群の雌雄では回復期間第 1
33 週に減少が認められた。

34 摂水量は 100 mg 投与群以上の雌および、1000 mg 投与群の雄で投与第 1 週中に増加が認められたが、
35 その後は投与に関連した変動は認められなかった。

36 血液学的検査では、0.5 mg 投与群の雌で白血球数の減少、100 mg 投与群の雌で赤血球・白血球数の
37 減少、MCH の増加、1,000 mg 投与群の雄で白血球の減少、雌では Hb 量、RBC、Ht 値および好酸球
38 率の減少、分葉核好中球率の増加が認められた。回復群では、1,000 mg 投与群の雌で RBC になお低値
39 が認められたが、その他の項目については対照群との間に有意差は認められなかった。

1 骨髄塗抹検査は対照群と 1,000 mg 投与群で実施され、1,000 mg 投与群の雌雄で分葉核好中球率の増
2 加、雌で桿状核好中球率の増加と好酸球率の減少に有意差が認められた。しかし、回復期間終了時には、
3 これらの値に有意差は認められなかった。

4 血液生化学検査では、0.5 mg 以上の雌でグルコースの有意な高値が認められ、1,000 mg 投与群の雌
5 雄でコレステロールの軽度な高値が認められた。また、雄ではカリウムおよびナトリウムの高値、雌で
6 は GPT、総タンパク、アルブミン、カルシウムの軽度な高値およびアルカリフォスファターゼ、クロラ
7 イドの低値が認められた²。その他、回復群ではいくつかの項目で有意差がみられたが、いずれも対照群
8 との差はわずかであった。

9 尿検査では、投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。(①- 3 では 1000mg の雄で尿
10 比重が有意に高値と有りますが、2 回のデータに再現性がないため不採用とし、①- 2 の文章のままで良い
11 と考えました。)

12 臓器重量では、1,000 mg 投与群の雌雄で甲状腺の絶対・相対重量の高値と脾臓および胸腺の絶対・相
13 対重量の低値が認められ、雄では肝臓と腎臓の相対重量の高値が、雌ではそれらの絶対・相対重量の有
14 意な増加が認められ、回復期間終了時においても肝重量の有意な高値が認められた。

15 剖検、病理組織学的検査および肝細胞の電子顕微鏡学的検査では、投与に関連すると考えられる変化
16 は認められなかった。

17 本試験の NOAEL は 0.5 mg/kg 体重/日と設定された。(グルコースの高値をどう扱ったらよいでしょ
18 う) (表 33)

20 SD-JCL 系ラット (雌雄各 15 匹/群) を用いた強制経口 (0.5、100、1,000 mg/kg 体重/日、低用量の
21 0.5 mg/kg は推定臨床用量である 0.005 mg/kg の 100 倍量に相当) 投与における 5 週間の亜急性毒性試
22 験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群にはそれぞれ雌雄各 10
23 匹を加えて回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

24 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

25 一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 投与群に一般状態の変化はみられなかった。100 mg 以上投与群
26 で投与 10~15 分後から鎮静状態が認められた。鎮静は 100 mg 投与群では 4 時間、1,000 mg 投与群で
27 は 4~7 時間継続したが、投与回数を重ねるにつれて徐々に短くなり、投与終了時には両群ともに継続
28 時間は約 2 時間となった。また、両群共に投与 2 週目から攻撃性を示すようになり、1,000 mg 回復群
29 では投与終了後 3~4 日間、全例において興奮と自発運動の亢進が認められた。

30 体重変化では、1,000 mg 回復群の雄で体重増加に有意な低値が認められた。

31 摂餌量は 100 mg 以上投与群以上の雌で増加傾向が認められた。1,000 mg 回復群の雌雄では回復期間

² 生データでは 0.5 mg 以上の雌でグルコースの有意な高値が認められる (Table 4, P286) (軽度な変化ですが、確かに用量依存性に増加しており、休薬後にも有意な増加をしています。投与の影響の可能性は否定できませんが、雌のみであり、この程度の増加が毒性であるのか、は疑問です。毒性とすべき変化ではないと思います。また他の試験での GLU 増加は高用量での変化です)。ラットを用いた 18 ヶ月間慢性毒性試験 (資料番号 : ①-6) においても、400 mg 投与群の雄で投与 25~52 週、雌では投与 25~65 週間にグルコースの高値が認められている。また、AP についても用量依存的な低値が認められている (1000 mg/kg 投与群の雌で有意差あり) (有意差のある群から影響だと思えます)。なお、AP の「低値」についての毒性学的な意味は不明であるが、ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験 (資料番号 : ①-7) およびラットを用いた 18 ヶ月間慢性毒性試験では、いずれも 400 mg 投与群において AP の低値が認められており、所見として採用されている。

1 第1週に減少が認められた。

2 摂水量は100 mg 投与群以上の雌雄で投与第1週中に増加が認められたが、回復期間には明らかな変
3 動は認められなかった。

4 血液学的検査では、100 mg 投与群の雌で赤血球数の減少、1,000 mg 投与群の雄で白血球の減少、雌
5 ではHb量、RBC、Ht値および好酸球率の減少、分葉核好中球率の増加が認められた。回復群では、
6 1,000 mg 投与群の雌でRBCになお低値が認められたが、その他の項目については対照群との間に有意
7 差は認められなかった。

8 骨髓塗抹検査は対照群と1,000 mg 投与群で実施され、1,000 mg 投与群の雌雄で分葉核好中球率の増
9 加、雌で好酸球率の減少にいずれも僅かな有意差が認められた。また、1,000 mg 投与群の雌で骨髓中の
10 桿状球にも有意な増加が認められている³。しかし、回復期間終了時には、これらの値に有意差は認めら
11 れなかった。

12 血液生化学検査では、1,000 mg 投与群の雌雄で~~Tehe~~コレステロールの軽度な高値が認められた。また、
13 雄ではカリウムおよびナトリウムの高値、雌ではGPT、総タンパクたん白、アルブミン、カルシウ
14 ムの軽度な高値およびクロライドの低値が認められた。その他、回復群ではいくつかの項目で有意差が
15 みられたが、いずれも対照群との差はわずかであった。

16 尿検査では、投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

17 臓器重量では、1,000 mg 投与群の雌で肝臓の絶対・相対重量の有意な増加が認められ、回復期間終了
18 時においても有意な差が認められた。

19 剖検、病理組織学的検査および肝細胞の電子顕微鏡学的検査では、投与に関連すると考えられる変化
20 は認められなかった。

21 本試験のNOAELは0.5 mg/kg 体重/日と設定された。(表3-3)

23 ~~(3) プロチゾラム、ニトラゼパムおよびフルゼパムのラットにおける5週間経口投与による比較経口~~ 24 ~~亜急性毒性試験】(資料番号:①-3)~~

25 SD-JCL系ラット(雌雄各15匹/群)を用いたプロチゾラムの強制経口(0.5、100、1,000 mg/kg 体
26 重/日)投与における5週間の亜急性毒性試験(資料番号:①-2)と、同時に実施した同効薬のニトラゼ
27 パム(25、100 mg/kg 体重/日)およびフルゼパム(50、400 mg/kg 体重/日)の結果を比較検討した
28 試験が行われている。プロチゾラム投与群では、最大無作用量を推定するために中間用量を設定した。
29 さらに、対照群と各被験物質の高用量群にはそれぞれ雌雄各10匹を加えた回復群を設け、投与終了後6
30 週間の観察と検査を行った。なお、各被験物質の安全域は低用量で100倍、高用量ではプロチゾラムで
31 200,000倍、ニトラゼパムで400倍、フルゼパムでは800倍であった。

32 本試験期間中、各被験物質ともに薬物に関連すると考えられる死亡は認められなかった。

33 一般的な臨床症状観察では、各被験物質ともに本来の薬理作用による鎮静が、プロチゾラム100 mg
34 投与群以上、ニトラゼパム25 mg 以上投与群 以上、フルゼパム50 mg 以上投与群 以上で認められた。
35 プロチゾラムおよびフルゼパム投与群でみられた鎮静の持続時間は投与2週より徐々に短縮したが、
36 これは連日投与により肝細胞における代謝酵素誘導作用が生じた結果、軽度の耐性が発現した可能性が
37 考えられた。また、プロチゾラム投与群では投与2週目以降に攻撃性を示すようになり、1,000 mg 投
38 与群では投与期間中に興奮状態を示し、投与中止直後数日間には中程度の禁断症状(顕著な体重、摂餌

³ 生データでは1,000 mg/kg 投与群の雌で骨髓中の桿状球にも有意な増加が認められている (Table 3, P285)。

1 量の減少、自発運動の亢進など) がみられた。ニトラゼパム 25 mg 投与群では軽度な振戦作用、100 mg
2 投与群では投与期間中に顕著な失調様歩行、立毛、濡れ犬の身震い動作、目瞼下垂、頻繁な身づくろい
3 動作が認められた。フルラゼパム 400 mg 投与群では興奮状態および多食現象が顕著に認められた。禁
4 断症状はブロチゾラムおよびフルラゼパム投与群で投与中止後 3~4 日間認められたが、症状の程度お
5 よび持続期間はフルラゼパム投与群に比べてブロチゾラム投与群は軽度であった。両者の違いはフルラ
6 ゼパム代謝物の蓄積に起因すると考えられた。なお、ニトラゼパム投与群では禁断症状は認められな
7 かった。

8 機能検査として、聴覚の Preyer 反射および瞳孔反射の検査を対照群および各被験物質の高用量群の
9 雌雄各 3 例について行なったところ、対照群と各投与群との間に差は認められなかった。

10 体重変化は、ブロチゾラム投与群では投与に関連した変化は認められなかった。ニトラゼパム投与群
11 では、100 mg 投与群の雄で体重増加に有意な低値が認められ、それは投与 1~2 週目に顕著であった。
12 フルラゼパム投与群では、400 mg 投与群の雄で有意な低値、雌では有意な高値が認められ、この増減
13 は投与 1~2 週後に顕著であった。一方、回復群では、ニトラゼパム投与群は雌雄共に投与中止の影
14 響はみられなかった。ブロチゾラムおよびフルラゼパムともに高用量群の雌雄では投与中止後 2~3 日
15 間に体重が著しく減少し、ブロチゾラム投与群の雄の体重は 2 日間で平均 12 g、フルラゼパム投与群の
16 雄では 3 日間で 39 g の減少がみられた。その後、両群の体重はそれぞれ急速に回復したが、投与中止時
17 の体重に回復するのにブロチゾラム投与群の雄で 6 日、雌では 11 日、フルラゼパム投与群では雄で 11
18 日、雌では 21 日を要した。

19 摂餌量は、ブロチゾラム投与群、ニトラゼパム 25 mg 投与群および 100 mg 投与群の雌、フルラゼパ
20 ム 50 mg 投与群では投与に関連した変化は認められなかった。一方、ニトラゼパム 100 mg 投与群およ
21 びフルラゼパム 400 mg 投与群の両群の雄の摂餌量は投与 1 および 2 週のみ有意に減少したが、フルラ
22 ゼパム 400 mg 投与群の雌では投与 3~5 週に有意に増加した。回復群では、投与中止後 1 週間にブロ
23 チゾラムおよびフルラゼパム投与群における雌雄の摂餌量は有意に減少したが、翌週には増加した。

24 摂水量は、いずれの被験物質においても投与期間および回復期間に、投与に関連した変化は認められ
25 なかった。

26 血液学的検査では、ブロチゾラム投与群およびフルラゼパム投与群ではいくつかの項目で有意差は認
27 められたものの、血液検査値の変動と病理所見との間に関連性は認められなかった。一方、ニトラゼパ
28 ム 100 mg 投与群の雌雄では Hb、RBC、Ht 値に極めて軽度な減少およびリンパ球数の有意な減少が認
29 められた。なお、回復期間終了時の検査では、投与に関連すると考えられる明らかな変化は認められな
30 かった。

31 骨髄検査では、対照群と各被験物質の高用量群との間に明らかな変化は認められなかった。しかしな
32 がら、ニトラゼパム 100 mg 投与群の雄 1 例では赤血球造血がやや低下しており、それが末梢血の赤血
33 球の軽度の減少に反映されていた。

34 血液生化学検査では、ブロチゾラム 1,000 mg 投与群の雌雄で Techo コレステロールの軽度~中程度の
35 高値、雌で GPT およびアルブミンの軽度な高値が認められた。ニトラゼパム投与群では、25 mg 以上
36 投与群 以上の雄で GOT の軽度な高値、25 mg 投与群の雌で Techo コレステロールの軽度な高値が認め
37 られた。フルラゼパム投与群では、50 mg 投与群の雄で BUN の軽度な低値、50 mg 投与群以上の雄で
38 GPT の軽度な高値、雌雄で Techo コレステロールの軽度~中程度 (50 mg) および重度 (400 mg) の高
39 値、400 mg 投与群の雌雄で GOT の中程度の高値、アルブミンの軽度な高値および BUN の高値が、雌
40 では GPT の軽度な高値が認められた。なお、回復期間終了時の検査では、各被験物質ともに対照群と

1 投与群との間に明らかな変動は認められなかった。

2 尿検査では、~~ブロチゾラム 1,000 mg 投与群の雄の尿比重は有意に高値を示し、2 例の~~蛋白タンパク
3 ~~反応は+++を示した。ニトラゼパム 100 mg 投与群では 2 例で潜血反応が認められたが、泌尿器系に関~~
4 ~~連すると考えられる病理学的変化は認められなかった。回復期間終了時の検査では、いずれの投与群で~~
5 ~~も明らかな変化は認められなかった。~~

6 剖検では、~~ブロチゾラム投与群に薬物に関連すると考えられる変化は認められなかった。一方、ニト~~
7 ~~ラゼパムおよびフルラゼパム両投与群で認められた所見は薬物との関連性が疑われた。ニトラゼパム 25~~
8 ~~mg~~ 以上 ~~投与群~~ 以上 ~~で精巣・精巣上体の萎縮がほぼ全例で認められ、萎縮した精巣は著しく小さく柔軟~~
9 ~~となり黄色を帯びていた。100 mg 投与群の雄で付属性腺の萎縮が 3 例で、雌雄で胸腺の萎縮が認めら~~
10 ~~れた。フルラゼパム 400 mg 投与群では肝臓の腫脹が雄 11 例および雌 9 例で認められ、中程度～著し~~
11 ~~く腫脹した肝臓は帯黄褐色で小葉構造が明瞭であった。また、雌雄ともに大多数の胃は拡張しており、~~
12 ~~そのうち 1 例には胃粘膜に点状出血が認められた。回復期間終了時には、各被験物質に特異的な変化は~~
13 ~~認められなかった。~~

14 臓器重量では、~~ブロチゾラム 1,000 mg 投与群の雄で肝臓の相対重量の高値、雌では肝臓、腎臓およ~~
15 ~~び甲状腺の絶対および相対重量の高値、脾臓および胸腺の絶対及び相対重量の軽度な低値が認められた。~~
16 ~~ニトラゼパム 25 mg~~ 以上 ~~投与群~~ 以上 ~~で精巣・精巣上体の絶対および相対重量の低値、100 mg 投与群の~~
17 ~~雌雄で胸腺の絶対および相対重量の低値、雌で脾臓の絶対および相対重量の低値が認められた。フル~~
18 ~~ラゼパム 400 mg 投与群では、雌雄の肝臓で絶対および相対重量の高値、雄で副腎および甲状腺の絶対お~~
19 ~~よび相対重量の有意な高値が認められた。回復群では、ブロチゾラム 1,000 mg 投与群の雌で肝臓の絶~~
20 ~~対および相対重量の高値、ニトラゼパム 100 mg 投与群の精巣・精巣上体の絶対および相対重量の低値、~~
21 ~~フルラゼパム 400 mg 投与群の雌で副腎の絶対および相対重量の高値が認められた。~~

22 病理組織学的検査では、~~ブロチゾラム投与群は薬物関連性と考えられる変化は認められなかった。~~
23 ~~一方、ニトラゼパムおよびフルラゼパムでは剖検所見と一致した薬物関連性と考えられる変化が認めら~~
24 ~~れた (ニトラゼパム：25 mg~~ 以上 ~~投与群~~ 以上 ~~で雄性腺の萎縮、100 mg 投与群で胸腺の萎縮、フルラゼ~~
25 ~~パム：400 mg 投与群で肝臓に脂肪変性)。ニトラゼパムでは、25 mg 投与群以上で片側性～両側性の精~~
26 ~~巣萎縮がみられ、両側性の萎縮を示す例では精子形成はほぼ完全に停止していた。100 mg 投与群では~~
27 ~~全例の精巣で両側性の萎縮がみられ、精細管の萎縮は顕著であった。また、前立腺、精巣上体および精~~
28 ~~囊の萎縮、精巣の間細胞の肥大が認められた。その他、全例で胸腺の萎縮が認められた。回復期間中、~~
29 ~~雄性腺に対する影響に回復傾向はみられたものの、精巣については依然として萎縮が認められた。フル~~
30 ~~ラゼパムでは、400 mg 投与群の全例で小葉中心性の肝細胞肥大が認められ、小葉構造は明瞭であった。~~
31 ~~また、肝小葉の中間帯および周辺帯には脂肪変性が認められた。回復群ではこれらの変化は認められな~~
32 ~~かった。~~

33 電子顕微鏡学的検査では、~~フルラゼパム 400 mg 投与群で小葉中心性に滑面小胞体の著しい増加と肥~~
34 ~~大および多数の脂肪粒がみられたが、回復群ではこれらの変化は完全に消失し、正常構造を示していた。~~
35 ~~本結果より、組織学的検査で認められた肝細胞の腫脹は滑面小胞体の肥大によるものであることが確認~~
36 ~~されたが、ベンゾジアゼピン類の中には薬物代謝亢進作用を有するものがあること、さらに酵素誘導剤~~
37 ~~により誘発された滑面小胞体の増加は可逆性であることから、肝細胞肥大はフルラゼパムの肝臓に対す~~
38 ~~る直接的な作用ではなく、単に適応現象であると考えられた。~~

39 以上のように、~~ブロチゾラム投与群では、同効薬であるニトラゼパムおよびフルラゼパムに比べて高~~
40 ~~用量が用いられたにも関わらず、ラットは十分に耐えて得て、肝臓における形態学的変化を伴わない軽~~

1 度の機能的反応と中程度の禁断症状がみられたに過ぎなかったことから、他の2剤に比べてその毒性は
2 極めて低いことが確認された。一方、ニトラゼパム 100 mg 投与群では顕著な一般状態の変化とともに、
3 雄では精巣の萎縮が、また雌では軽い貧血とリンパ球の減少が認められた。フルラゼパム 400 mg 投与
4 群では多食現象、顕著な禁断症状および可逆性ではあるが著しい肝臓肥大と脂肪変性が認められた。(表
5 3-4)

6 (4) ラットを用いた13週間亜急性毒性試験 (資料番号:①-7)

8 ラット(雌雄各20匹/群、高用量群は雌雄各30匹)を用いた混餌(0.3、10、400 mg/kg 体重/日)投
9 与における13週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照
10 群と高用量群の雌雄各10匹は回復群とし、投与終了後6週間の観察と検査を行った。

11 本試験期間中、投与に関連すると考えられる死亡例は認められなかった。

12 一般的な臨床症状観察では、400 mg 投与群の雌雄で、投与9週頃から触れると怖がり防御反応を示
13 すなど反応性の増強が認められたが、これらの反応は回復性を示した。

14 体重変化および摂餌量は、いずれも400 mg 投与群の雌雄で低値が認められた。

15 血液生化学的検査では、400 mg 投与群でAPの低値およびTcho血清コレステロールの高値が認めら
16 れたが、いずれも回復期間中に回復した。

17 臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の増加認められたが、回復期間中に回復した。

18 病理組織学的検査では、投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

19 (5) イヌを用いた4週間亜急性毒性試験 (参考) (資料番号:①-4)

21 ビーグル犬(雌雄各3匹/群)を用いた静脈内(0、0.05、0.1、0.3 mg/kg 体重/日)投与における4週
22 間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、試験は5群構成とし、
23 対照群には生理食塩液を、溶媒対照群には10%アルコール溶液を投与した。

24 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

25 一般的な臨床症状観察では、0.05 mg 投与群以上で重篤な運動失調が認められたが、症状は数分以内
26 に軽減し、1時間以内に消失した。なお、本症状の発現症は試験の経過とともに軽減した。溶媒対照群
27 および0.05 mg 以上投与群以上で軽度の流涎が認められ、0.1 および0.3 mg 投与群雄の各1例では下痢
28 が頻発した。

29 本薬の薬理作用として、自発運動能について投与2週および4週目の投与後34時間まで調べられて
30 いる。いずれの時点においても、0.05 mg 以上投与群以上で対照群に比べ自発運動の亢進がみられ、症
31 状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。

32 体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、臓器重量、剖検および病
33 理組織学的検査に、被験物質の投与による明らかな影響は認められなかった。

34 (6) サルを用いた13週間亜急性毒性試験 (資料番号:①-5)

36 赤毛アカゲザル(雌雄各3頭/群)を用いた強制経口(0、1、10、100 mg/kg 体重/日)投与による13
37 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、脳波検査用として、
38 別に100 mg 投与群(雌雄各3頭)を設定し、13週間の投与終了後に5週間の回復期間を設けて観察し
39 た後に脳波検査に供した。

40 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

1 一般的な臨床症状観察では、1 mg 以上投与群以上で運動失調、10 mg 以上投与群以上では嗜眠、攻
2 撃性の明らかな低下、運動失調に伴う筋肉の痙攣が認められ、症状の程度には用量相関性がみられた。
3 100 mg 投与群では過反射やハンドリングによる四肢筋肉の痙攣が認められた。回復群では、音刺激に
4 による強直性間代性痙攣を示す例が認められた。

5 体重変化では、投与群の全例において体重増加量の高値が認められたが、回復期間中に回復を示した。
6 摂餌量および摂水量の測定は行なわれていないが、投与期間中の摂餌は旺盛であった。

7 血液生化学的検査では、100 mg 投与群でカルシウムの低値が認められたが、回復期間中に回復した。
8 臓器重量では、100 mg 投与群で肝臓重量の高値が認められたが、回復期間中に回復した。

9 性周期、筋電図、脳波、血液学的検査、尿排泄、尿検査、眼科学的検査、剖検および病理組織学的検
10 査に、被験物質の投与によると考えられる明らかな異常は認められなかった。

12 4. 慢性毒性試験および発がん性試験

13 (1) サルを用いた12ヶ月間慢性毒性試験 (資料番号：①-7)

14 アカゲサル (雌雄各4頭/群) を用いた強制経口 (0、1、7、50 mg/kg 体重/日) 投与による12ヶ月間
15 の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

16 本試験期間中に死亡例は認められなかった。

17 一般的な臨床症状観察では、7 mg 以上投与群以上で鎮静、運動失調、傾眠および睡眠が認められ、
18 症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。50 mg 投与群では投与4週目から反射性筋収
19 縮の亢進が認められた。また、禁断症状として、7 mg 以上投与群以上で嘔吐、50 mg 投与群では突発
20 性あるいは聴原性の強直性間代性発作が認められた。

21 体重変化では、7 mg 以上投与群以上で体重増加量の高値が認められた。

22 摂餌量は測定されていないが、摂餌は旺盛であった。

23 病理組織学的検査では、50 mg 投与群の4例で副腎皮質への脂肪浸潤が認められた。

25 (2) ラットを用いた18ヶ月間慢性毒性試験 (資料番号：①-6)

26 Chbb: THOM 系ラット (雌雄各25匹/群) を用いた混餌 (0、0.3、10、400 mg/kg 体重/日、低用量
27 は予想臨床用量の10倍量に相当) 投与による18ヶ月間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は
28 以下の通りであった。

29 本試験期間中に対照群の11例、0.3 mg 投与群の3例、10 mg 投与群の4例、400 mg 投与群の24
30 例に死亡が認められた。死因は自然発生性病変によるものに加え、採血時の麻酔死が多数を占めたが、
31 400 mg 投与群の死亡例増加は、腎盂腎炎と肺のリン脂質症に起因する一般状態の悪化によるもので
32 あった。

33 一般的な臨床症状観察では、各投与群の多くの例において、口周囲の皮膚にパスツレラ感染によると
34 考えられる小さな膿瘍が認められた。400 mg 投与群の雌雄では、投与第3週目から軽度な立毛と興奮
35 が認められたが、これらの症状は投与10週目には消失した。また、投与27週目から試験終了まで一般
36 状態の悪化が認められた。

37 体重変化は、10 mg 投与群の雌雄で体重増加量の軽度な高値が認められた。400 mg 投与群では、雌
38 雄で体重増加量の低値が認められた。特に、投与8週以降に明らかな低下が認められ、投与23週以降
39 は体重増加量の抑制が認められた。

40 摂餌量は体重変化に伴う変動を示し、10 mg 投与群では軽度な増加が、400 mg 投与群では明らかな

1 減少が認められた。

2 摂水量および尿検査には、投与に関連する変化は認められなかった。

3 血液学的検査では、400 mg 投与群で薬物投与に関連した変化が認められた。網状赤血球の明らかな
4 高値が雄で投与 65 週^目、雌では投与 25 週目から認められた。また、MCH および MCHC の軽度な低
5 値が、雌雄において投与 25 週^目より認められた。白血球数の軽度な高値が雌で投与 25 週^目より認めら
6 れた。また、好中球の中程度から顕著な高値とそれに伴うリンパ球の低値が雄で投与 6 週^目、雌では投
7 与 13 週^目より、血小板の軽度な低値が雄で投与 25 週^目、雌では投与 52 週^目より認められた。

8 生化学検査においても、400 mg 投与群で薬物投与に関連した変化が認められた。雌雄において、**Tcho**
9 **コレステロール**の顕著な高値、AP の明らかな低値、BUN の低値およびグルコースの軽度かつ一過性の
10 高値が認められた。また、雄ではカリウムの軽度な低値が認められた。

11 剖検では、4 例で精巣の萎縮等の所見が見られている。その他に薬物に関連すると考えられる変化は
12 認められなかった⁴。

13 臓器重量では、400 mg 投与群の雌雄で脾臓の顕著な低値および唾液腺の低値が、雄で精巣の顕著な
14 低値、心臓、肺および脳の低値が、雌では副腎の顕著な低値が認められた。

15 病理組織学的検査では、400 mg 投与群の雌雄において、肺の肺胞腔内に泡沫状細胞の集簇がみられ
16 るリン脂質症および腎臓で腎盂腎炎が認められた。また、雄では精上皮細胞の減少による精巣萎縮が 18
17 例で認められ、そのうち 10 例は重度な萎縮であった。

18 本試験における NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と設定された。(表 3 5)

20 (3) マウスを用いた 18 ヶ月間発がん性試験 (資料番号: ④-1)

21 Chbi: NMRI マウス (対照群: 雌雄各 100 匹、低用量および中用量群: 雌雄各 50 匹、高用量群: 雌
22 雄各 80 匹、計 560 匹) を用いた混餌 (0、0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与による 18 ヶ月間の発がん
23 性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

24 死亡率において、薬物に関連する変化はみられなかった。

25 一般的な臨床症状観察では、投与期間を通して全投与群の雌雄で明らかな用量依存性の鎮静が認めら
26 れ、特に雄で強い影響が認められた。また、10 mg 以上投与群^{以上}の雄の半数例で、膀胱の拡張に起因
27 すると考えられる腹部の膨張が認められた。

28 体重変化は、全投与群の雌雄で明らかな高値が認められ、特に雄で強く認められた。

29 摂餌量は雄でわずかな低値を示し、雌では高値を示した。

30 摂水量は、10 mg 以上投与群^{以上}の雌雄でわずかな低値が認められた。

⁴ 剖検では、精巣で小型化、萎縮等 (very small, shrunken, atrophy etc.) の所見が途中死亡例 (0 mg : 一、0.3 mg : 一、10 mg : 一、400 mg : 8 例) および計画解剖例 (0 mg : 1 例、0.3 mg : 2 例、10 mg : 一、400 mg : 4 例) で認められているが、剖検所見は、精巣を含めいづれについても薬物に関連する変化ではなく、ラットの自然発生性変化であると評価されている (P4)。一方、病理組織学的検査では、計画解剖例の 400 mg 投与群で認められた精巣萎縮 (0 mg : mild 23 例、0.3 mg : mild 3 例、severe 2 例、10 mg : mild 4 例、400 mg : mild 4 例、moderate 4 例、severe 10 例) は薬物投与による影響と評価されており、剖検で精巣に所見が認められた 4 例についても組織学的に精巣萎縮 (1/4 例 : moderate、3/4 例 : severe) が認められている。精巣の剖検所見については、薬物との関連性のない変化として評価することは可能か否か。(剖検所見も評価の対象ですが、病理組織学的検査が行われている場合はこちらを重視します。Table1 の今回の組織学的検査から、高用量の 400mg/kg のみ精巣に影響ありと考えるのが妥当だと思います)

1 血液学的検査では、投与に関連する変化は認められなかった。
2 臓器重量では、200 mg 投与群で肝重量の高値が認められた。
3 剖検では、10 mg 以上投与群以上の雄で膀胱の中程度～重度の拡張および膀胱壁の肥厚が認められた。
4 病理組織学的検査では、10 mg 投与群以上の雄で認められた膀胱の拡張に関連する所見として膀胱壁
5 の圧迫萎縮、肥厚に関連する所見として膀胱粘膜下における限局性あるいはびまん性の浮腫、繊維化が
6 認められた。また、雄では、膀胱壁における炎症細胞浸潤や包皮腺における慢性炎症の増加が認められ
7 た。200 mg 投与群では、膀胱の所見に随伴して片側性あるいは両側性に水腎症を示す例が 17 例認めら
8 れた。

9 558/560 匹 (2 例は試験中に行方不明) は死亡もしくは安楽死後に病理組織学的に検査されたが、自
10 然発生性腫瘍の頻度、腫瘍の種類および発生時期のいずれにおいても投与による影響は認められなかつ
11 た。

12 本試験において、被験物質投与に関連する発がん性は認められなかった。

14 (4) ラットを用いた2年間発がん性試験 (資料番号: ④-2)

15 Chbb: THOM (Wistar) ラット (対照群: 雌雄各 100 匹、低用量および中用量群: 雌雄各 50 匹、高
16 用量群: 雌雄各 80 匹、計 560 匹) を用いた混餌 (0, 0.3, 10, 200 mg/kg 体重/日) 投与による 2 年間
17 の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

18 死亡率は 200 mg 投与群雄では対照群より有意な増加が認められた。

19 一般的な臨床症状観察では、200 mg 投与群の雌雄でしばしば被毛の粗剛、雄では著しい鎮静および
20 尿量の増加、雌では後肢足底および膝の角質肥厚が認められた。

21 体重変化は、雌雄共に 0.3 および 10 mg 投与群で高値を示した。一方、200 mg 投与群では雌雄共に
22 低値を示し、特に雄で明らかであった。

23 摂餌量は 10 mg 投与群の雌で高値を示し、200 mg 投与群では雌雄共に低値を示した。

24 摂水量は 10 mg 投与群の雌で高値を示した。

25 血液学的検査では、白血球数の高値が 10 mg 以上投与群以上の雄 4 例、全投与群の雌 9 例で認められ
26 た。また、対照群を含む全投与群において相対的なリンパ球減少症が認められ、その発生頻度は 200 mg
27 投与群で高かった。本変化は加齢性的変化である可能性が考えられたが、200 mg 投与群については薬
28 物投与との関連性も示唆された。

29 途中解剖例の剖検では、200 mg 投与群で泌尿器系および雄の副生殖腺に所見の増加が認められた。
30 一方、計画解剖例では、200 mg 投与群の雌雄に共通して食道拡張、肺、肝臓および腎臓に所見が散見
31 された。また、性差がみられた所見として、雄で甲状腺の大きさおよび外観の変化、膀胱および副生殖腺の
32 変化、鼻汁産生を伴う鼻腔粘膜の変色 (茶褐色変化) が、雌では胸腺の大きさおよび外観の変化、後肢足底
33 表面の角質肥厚が認められた。

34 病理組織学的検査では、腫瘍性病変として、200 mg 投与群の雄で甲状腺濾胞腺腫、雌では胸腺型の
35 悪性リンパ腫および子宮における神経鞘腫の発生に有意な増加がみられた。また同群では、非腫瘍性病
36 変として、雌雄の甲状腺におけるコロイドの好塩基性化、嚢胞状濾胞、結節性過形成、濾胞上皮細胞の
37 びまん性過形成、肺のリポタンパク症、主として雄における泌尿生殖器系における炎症性 (腎盂炎、腎
38 盂腎炎、化膿性膀胱炎、前立腺炎、精囊腺炎) および増殖性 (腎盂粘膜上皮のびまん性過形成、膀胱の
39 粘膜上皮過形成) 変化が認められた。

40 本試験で観察された項目における NOAEL は 10 mg/kg 体重/日であった。(表 3 6)

1
2 吉田 いつくかの腫瘍が増加しています。その他の変化から、考えられる発生機序もないのですが、投与の影響である可能性は否定できません。しかし遺伝毒性試験が陰性であることから、ADI を設定することは可能
3 だと思えます。
4

5. 繁殖毒性試験及び催奇形性試験

8 二世世代繁殖毒性試験の代わりに FDA の 3 節試験が実施されている。

(1) ラットを用いた妊娠前及び妊娠初期投与試験 (第 I 節) (資料番号: ②-1、①-7)

10 SD 系ラット (雌雄各 20 匹群) を用いた強制経口 (雄; 0、0.05、2.5、100 mg/kg 体重/日、雌; 0、
11 0.05、2.5、50 mg/kg 体重/日) 投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被
12 験物質の投与は、雄は交配前 60 日から交配期間中を通じて、雌には交配前 14 日から妊娠 7 日までの間
13 行い、それぞれ交配期間終了後及び妊娠 21 日に剖検した。

14 ~~本試験では投与に関連した死亡はみられなかった。~~

15 一般的な臨床症状観察では、2.5 mg 投与群の雌雄で投与初日にのみ、投与後に薬理作用と考えられる
16 弱い鎮静を示す例がみられ、た。高用量群では投与 20~60 分後から鎮静状態が 3~4 時間みられたが、
17 その深さ、持続時間ともに投与期間中徐々に軽減していった。

18 体重変化は、雄では ~~0.05 および 2.5 mg 投与群でわずかに、~~100 mg 投与群で有意な低値が認められ
19 た。雌では ~~2.5 mg 投与群の体重は交配前期間で軽度な低値を示し、~~50 mg 投与群で投与期間終了後の
20 妊娠 8~9 日 の体重増加に有意な低値がみられたが、妊娠 21 日には対照群と同程度まで回復した。

21 摂餌量は雄では 有意な変化はみられず、雌では 50 mg 投与群で投与期間終了後に 有意な低値が認め
22 られた。

23 摂水量は 100 mg 投与群の雄で投与期間の最初の 2 週間に、雌では 50 mg 投与群で交配前第 1 週に
24 有意な高値がみられた。

25 臓器重量では、特記すべき変化は認められなかった。 ~~2.5 mg 投与群の雄で包皮腺の絶対重量に軽度~~
26 ~~な低値がみられた。~~

27 剖検では、雌雄ともに薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

28 いずれの投与群においても、交尾率、妊娠率、~~胎児数、胎児仔の子宮内位置、~~黄体数、生存胎児数、
29 死胚数 (早期・後期吸収胚数、死亡胎児数)、胎児体重に異常は認められなかった。~~なお、本試験では未~~
30 ~~熟児が対照群の 1 例および 0.05 mg 投与群の 2 例で、奇形胎児が対照群の 3 例で認められた。また、0.05~~
31 ~~mg 投与群で変異胎児発現率にわずかな高値がみられ、~~50 mg 投与群では胎児の 有意な骨化遅延格の成
32 熟にわずかな遅れが認められた。

33 本試験における親動物の一般毒性に対する NOAEL は ~~雄で 50 mg/kg 体重/日、雌で雌雄ともに 2.5~~
34 ~~mg/kg 体重/日、生殖発生に対する NOAEL は雄で 100 mg/kg 体重/日、雌では 50 mg/kg 体重/日、発生~~
35 に対する NOAEL は 2.5 mg/kg 体重/日であった。(②-1)

36
37 ラット (雌雄各 20 匹群) を用いた強制経口 (0、1、2、10 mg/kg 体重/日) 投与による試験において
38 認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、雄は交配前 9 週間、雌は交配前 2 週間
39 の間行なった。

40 親動物の一般状態、交配、妊娠および出産のいずれにおいても被験物質による影響は認められなかつ

た。また、胎児においても胎児毒性および催奇形性は認められなかった。

本試験におけるNO_AELは、親動物および胎児ともに10 mg/kg 体重/日であった。(①-7)

(2) ラットを用いた器官形成期投与試験 (第Ⅱ節) (資料番号: ②-1、②-2、②-3)

SD系ラット(雌37匹/群)を用いた強制経口(0、0.05、2.5、250 mg/kg 体重/日)投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠7日から17日までの間行い、21日に25匹を帝王切開して妊娠末期胎児(F_{1a})への影響を検査し、残りの母体については自然分娩させ新生児(F_{1a})を自然分娩させ離乳まで哺育して身体発達と行動を検査した。離乳後の新生児は各群の各母体腹から雌雄各2匹を選抜・飼育し、11週齢で交配して妊娠末期に次々世代胎児(F₂)を検査した。授乳を終えた母動物(F₀)は、離乳後1週間を経て再び第一産と同じ雄動物と交配させ、妊娠末期に次産胎児(F_{1b})を検査した。

本試験中に、250 mg 投与群の2例で死亡(1例:剖検では胃内に異嗜によると考えられる多量の床敷および噴門部に新鮮な潰瘍が認められた。1例:分娩予定日の24日後に死亡。子宮内に自家中毒によると考えられる浸軟胎児の残存が認められた。)が認められたが、いずれも薬物による直接作用ではないと考えられた。

F₀母動物の一般的な臨床症状観察では、2.5 mg 投与群で投与開始後1~2日間に、薬理作用と考えられる弱い鎮静作用が5例に認められた。250 mg 投与群では投与10~30分後から鎮静状態が3~4時間続いたが、この持続時間は投与回数を重ねるにつれて短くなった。立毛が若干数に認められた。体重変化は、250 mg 投与群で投与期間中に有意な低値を示し、投与期間終了後には一過性の低下値が認められた。自然分娩群では分娩後離乳時まで体重は徐々に回復した。250 mg 投与群では投与期間中に摂餌量は有意な低値を示し、摂水量は高値を示した。帝王切開時の剖検では、250 mg 投与群で母動物1例の左子宮角に水腫状の肥厚がみられた。自然分娩群では、250 mg 投与群の7例において妊娠期間が対照群に比べ1日延長した。

F_{1a}胎児では、250 mg 投与群の3例に死亡が認められたが、外表奇形はみられなかった。2.5および250 mg 投与群では各2例の発育遅延胎児未熟児がみられた。250 mg 投与群で同腹仔および胎児体重及び趾骨の化骨数に有意な低値がみられ、後肢の指骨化骨点数も対照群に比べて有意に少なかった。また、14肋骨の出現および仙椎の腰椎化の発現頻度が有意に上昇し、4例の奇形胎児(無尾症、胸椎の異常、水頭症および口蓋裂が各1例)が認められた。

F_{1a}新生児では、250 mg 投与群で次のような所見がみられた。生後1日の離乳時の生後3日以内および哺乳期間中に新生の死亡率は有意に高かった上昇が認められた。また、奇形仔については、死亡仔1例に無尾症が、離乳仔1例に尿管膨大が認められた。体重変化では新生児の体重に有意な低値がみられ、哺乳期間中および離乳後11週齢までの体重増加にも停滞が認められた。哺乳期間中に成長、機能および行動の発達に関する変化では、哺育期間中に、児の死亡率が有意に増加し、生存児の立ち直り反射および眼瞼開裂に有意な遅延、耳介の開展および遊泳能の発達にわずかな遅れが認められた。離乳後も、精巣下降の遅延と11週齢までの体重に増加抑制が認められた。F₁の生殖能については、交尾率および妊娠率ともに明らかな影響は認められなかったが、黄体数、着床数および生存胎児(F₂)数は有意に少なかった。また生後28日に精巣下降が完了した児数は有意に少なかった。

離乳後、雄では精巣下降の時期に遅れがみられた。

⁵ 4と同様。

1 F₂次々世代胎児 (F₂) および次産胎児 (F_{1b}) には、薬物投与に関連すると考えられる変化は認めら
2 れなかった。

3 本試験における母動物 (F₀) および次世代 (F₁) 胎児 に対する NOAEL は、2.5 mg/kg 体重/日であっ
4 た。(②-1) (表 3 7)

5
6 Chbb: THOM ラット (雌 20 匹/群) を用いた強制経口 (0、1.5、3、30 mg/kg 体重/日) 投与による
7 催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から
8 15 日までの間行い、妊娠 21 日 に帝王切開して 2/3 例の妊娠末期胎児 は骨格検査に、残りの 1/3 例は内
9 臓検査に供した。

10 ~~本試験では~~投与に関連した死亡はみられなかった。

11 母動物の一般的な臨床症状観察では、投与に関連した異常は認められなかった。体重変化では、~~投与~~
12 ~~量依存的な低値傾向がみられ、~~30 mg 投与群では投与 10 日後日に有意な低値が認められたが、試験終
13 了時には回復傾向が認められた。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

14 胎児への影響は仔観察では、催奇形性は認められなかった。

15 本試験における母動物に対する NOAEL は 3 mg/kg 体重/日であった。求められなかった。一方、催
16 奇形性は認められなかったことから、胎児に対する NOAEL は 30 mg/kg 体重/日であった。催奇形性は
17 認められなかった。(②-2) (表 3 8)

18
19 SD 系ラット (雌 15 匹/群) を用いた強制経口 (0、10、30、250、500 mg/kg 体重/日) 投与による催
20 奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 17
21 日までの間行い、妊娠 21 日 に帝王切開して胎児の観察を行なった。

22 母動物の一般的な臨床症状観察では、10 mg 以上投与群以上で投与後10~30分後に鎮静が認められ、
23 3~4 時間持続した。なお、鎮静の持続時間および程度は、投与回数を重ねるごとに短縮あるいは軽減し
24 た。また、数例において色素涙が認められた。体重変化では 10 mg 以上投与群以上で有意な低値がみら
25 れ、250 mg 以上投与群以上では投与終了後に顕著な低下が認められた。摂餌量についても 10 mg 以上
26 投与群以上で有意な低値が認められ、250 mg 以上投与群以上ではより顕著であった。摂水量は 10 mg
27 以上投与群以上で有意な高値が認められた。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認めら
28 れなかった。

29 胎児観察では、250 mg 投与群以上で胎児体重の有意な低下、吸収死亡胚の増加、同腹児重量および
30 胎仔重量の低値がいずれも用量依存的に認められた。500 mg 投与群で胚/胎児死亡 (特に胎児死亡)
31 の増加が認められたは、後期死亡吸収胚が認められた。また、1 例の同腹児中に 2 例の死亡胎児が認め
32 られたが、肉眼的な異常は認められなかった。外表観察では無尾が 500 mg 投与群の 3 例で認められた。
33 内臓観察では大動脈右位が 250 mg 投与群の 2 例、500 mg 投与群の 1 例で認められたほか、500 mg 投
34 与群では胸腺の頸部残留が観察された。骨格変異では、30 mg 以上投与群以上で 14 肋骨の出現頻度が
35 有意に上昇し、250 mg 以上投与群以上では過剰肋骨および仙椎の腰椎化の出現頻度が有意に上昇し、
36 骨化遅延が認められ、500 mg 投与群では胸腺野頸部残留が観察された。

37 本試験における母動物に対する NOAEL は求められなかった。一方、胎児に対しては、30 mg 投与群
38 以上で 14 肋骨の出現頻度の上昇、250 mg 投与群で胚・胎児毒性、500 mg 投与群では胚死亡が認めら
39 れたことから、NOAEL は 10 mg/kg 体重/日であったと設定された。催奇形性は認められなかった。(②
40 -3) (表 3 9)

1
2 **(3) ウサギを用いた器官形成期投与試験 (第Ⅱ節) (資料番号: ②-1、②-4)**

3 ヒマラヤウサギ (妊娠雌 15 匹/群) を用いた強制経口 (0、0.05、0.5、3 mg/kg 体重/日) 投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日までの間行い、妊娠 29 日に帝王切開して~~妊娠末期~~胎児を検査した。

6 母動物の一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 以上投与群~~以上~~で投与開始直後から弱い鎮静が 1～4 時間みられたが、投与回数を重ねるにつれて持続時間は短くなり、およそ 1 週間後にはほとんど見られなくなった。3 mg 投与群の 1 例が妊娠 27 日に 8 匹例の胎児を流産した。~~体重変化は、~~0.5 mg 以上投与群~~以上~~で~~投与開始後に低下し、投与期間中の体重増加が有意に抑制されは停滞したが、投与期間終了後は急速に回復した。また、体重の低下と並行して摂餌量および摂水量は低下した。~~

11 ~~奇形胎児では、3 mg 投与群の 1 例で口蓋裂を伴う多発性関節湾曲症がみられ、この他に肋骨に変異が認められたが、その発現率は低く、用量との相関性被験物質投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。~~

14 本試験における母動物に対する NOAEL は、0.05 mg/kg 体重/日であった。胎児に対する NOAEL は 3 mg/kg 体重/日であった。また、催奇形性は認められなかったことから、胎児に対する NOEL は 3 mg/kg 体重/日であった。 (②-1) (表 4 0)

18 ヒマラヤウサギ (13 匹/群) を用いた強制経口 (0、1.5、3、9 mg/kg 体重/日) 投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日まで行い、妊娠 29 日に帝王切開して~~胎児妊娠末期胎仔 (F₁)~~を検査した。

21 ~~本試験では投与に関連した死亡はみられなかった。~~

22 母動物の一般的な臨床症状観察では、投与に関連した異常は認められなかった。~~また、死産および自然分娩も認められなかった。体重変化では、~~いずれの投与群においても投与初期に著しい体重低下過性の低値が認められ、9 mg 投与群では投与 7 日目に 100 g 低下しの低値が認められた。~~なお、母動物の体重低値による胎児への影響は認められなかった。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。~~

27 胎児には~~投与の影響、胚・胎児毒性および催奇形性~~は認められなかった。

28 本試験における母動物に対する NOAEL は求められなかった。~~また、催奇形性は認められなかったことから、~~胎児に対する NOAEL は 9 mg/kg 体重/日であった。 (②-4) (表 4 1)

31 **(4) ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験 (第Ⅲ節) (資料番号: ①-7、②-1、②-5、②-6)**

32 SD 系ラット (雌 23 匹/群) を用いた強制経口 (0、0.05、2.5、25 mg/kg 体重/日) 投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 17 日から分娩後 21 日までの間行った。母動物 (F₀) は自然分娩させ、新生児 (F₁) の成長、機能および行動および生殖に及ぼす影響を検討した。また、離乳時に各母体同腹仔から雌雄各 1 匹を選抜・飼育し、交配させ次々世代胎児生殖能への影響を検査した。

37 ~~本試験では投与に関連した死亡はみられなかった。~~

38 F₀母動物の一般的な臨床症状観察では、2.5 mg/kg 投与群で弱い鎮静が投与後約 2 時間続き、25 mg 投与群では投与 10 分後から鎮静が 2～3 時間持続したが、分娩後は次第に軽減し、やがて現れなくなった。体重変化は、2.5 mg 以上投与群~~以上~~で用量依存的に体重の低値が認められた。また、2.5 mg 以上

1 投与群以上で摂餌量に低値がみられ、摂水量は 25 mg 投与群で妊娠末期に高値が認められた。

2 F₀母動物の妊娠期間については、25 mg 投与群の 6 例で対照群に比べて 1 日延長した。剖検所見に薬
3 物投与の影響は認められなかった。

4 F₁新生児 (F₁) では、2.5 mg 以上投与群以上で生後 1 日および生後 3 日までの生存率の死亡仔数に
5 用量依存的な有意な低下増加がみられ、25 mg 投与群では離乳時の児までの生存率が有意に低かった低
6 下した。体重変化は、25 mg 投与群の生後 1 日および 21 日の雌児雄仔ともに生後 1 日の体重、0.05 mg
7 投与群以上の生後 21 日の雄児の体重が有意に低かったに低値がみられ、離乳後まで体重増加に停滞が
8 認められた。また、25 mg 投与群では耳介の開展、立ち直り反射および眼瞼開裂の遅れ、行動観察にお
9 けるオープンフィールド試験で立ち上がりの回数が有意に低下し、精巣下降および陰開口の時期にわず
10 かな遅れが認められた。

11 F₁の交配試験では、25 mg 投与群で交尾率および妊娠率には影響は認められなかったが、黄体数、着
12 床数および生存胎児 (F₂) 数に有意な低値が認められ、生殖能に対する薬物の影響が示唆されたが、F
13 1 新生仔の交尾率および妊娠率には影響は認められなかった。その他、胚吸収数、同腹子数、性比、胎
14 児体重に影響は認められなかった。

15 本試験の母動物 (F₀) に対する NOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日であった。次世代 (F₁) および新生
16 仔に対する NOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日未満であった。(表 4 2)

17
18 SD 系ラット (雌 10 匹/群) を用いた強制経口 (0、25 mg/kg 体重/日) 投与による交差乳母哺育試験
19 において認められた毒性所見は以下の通りであった。本試験では、母動物 (F₀) の分娩、哺育状態およ
20 び交換した新生児 (F₁) の死亡率、成長への影響を検査した。母動物 (F₀) は自然分娩させ、以下に示
21 す組み合わせに従って、いずれも生後 4 時間以内に児を交換し観察を行なった。

22 Cc : 溶媒投与母動物 (C) + 溶媒投与母動物の児新生仔 (c)

23 Ct : 溶媒投与母動物 (C) + 薬物投与母動物の児新生仔 (t)

24 Tc : 薬物投与母動物 (T) + 溶媒投与母動物の児新生仔 (c)

25 Tt : 薬物投与母動物 (T) + 薬物投与母動物の児新生仔 (t)

26
27 F₀母動物の一般的な臨床症状観察は、上記第 III 節試験の 25 mg 投与群の母動物と同様であった。

28 F₁児を交換した後 3 日齢までの児の死亡は Tt 群で多発し、Ct および Cc 群では少なかったことから、
29 児死亡は投薬中の母動物側に要因があることが確認された。3 日齢から離乳までの児死亡は Tt 群で多
30 数認められ、Tc 群でも有意に多かった。哺乳期間中の体重変化は、Cc 群では良好な増加がみられ、
31 Tt 群では児数の減少に伴って生存児の体重は特に哺乳期間の後半に増加し、Cc 群に近づいた。離乳
32 時における Tc 群の体重は最も低かった。(2-1) (表 4 3)

33
34 Chbb: THOM (SPF)ラット (雌 24 匹/群) を用いた強制経口 (0、1、2、10 mg/kg 体重/日) 投与に
35 による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 15 日から分娩
36 後 20 日までの間行った。また、児 (F₁) の機能 (遊泳試験、聴覚および視覚機能試験)、行動 (水迷路
37 試験による学習能および記憶能) および生殖能について検査した。

38 母動物の一般的な臨床症状観察では、妊娠および哺乳期間を通して、被験物質による影響は認められ
39 なかった。体重変化にも投与群と対照群で有意な差は認められなかった。

40 児 (F₁) では、10 mg 投与群で死産児数の増加および哺乳期間中の死亡率の増加が認められたが、

F₁新生仔の行動・機能、行動および生殖能に被験物質投与による影響は認められなかった。

本試験における母動物に対する NOAEL は 10 mg/kg 体重/日、F₁に対する NOAEL は 2 mg/kg 体重/日であった。(②-5) (表 4 4)

Chbb: THOM ラット (雌 24 匹/群) を用いた強制経口 (0、400 mg/kg 体重/日) 投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 15 日から離乳時 (分娩後 20 日) までの間行った。また、児 (F₁) の行動・機能および生殖能について検査した。なお、本試験では、前述の試験 (資料番号: ②-5) で母動物に投与による影響が認められなかったことから、ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験 (資料番号: ①-7) で体重低下作用が確認されている用量 (400 mg) について影響評価が行われた。

母動物の一般的な臨床症状観察では、投与後 30 分から立毛、鎮静および運動失調が認められ、それらの症状は数時間持続した。体重変化では、体重の低値が認められた。

F₁新生仔では、死産児数の増加および体重の有意な低値が認められた。生存例では、母動物の鎮静作用に起因する哺育能欠如による死亡率の増加が認められ (死亡率 90% : 15 腹/17 腹)、特に生後 3 日までに高頻度に認められた。~~剖検では胃内に内容物は認められず、児の奇形や変異も認められなかった。~~また、生存例では体重増加抑制および歩行遅延が認められたが、感覚機能、生殖能力および児新生仔の発生に異常は認められなかった。

本試験における母動物および F₁新生仔に対する NOAEL は求められなかった。(①-7,②-6) (表 4 4)

6. 遺伝毒性試験

遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を次表にまとめた。

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, E. coli WP2 uvrA	10-5,000 µg/plate (±S9) ⁶	陰性 (資料番号: ③-1)
	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0.3, 10, 200 mg/kg/day ⁷ ① 200 µL/plate ⁸ ② マウス: 100 µL/plate ⁹ ラット: 200 µL/plate ⁹	陰性 (資料番号: ③-2)
不定期 DNA 合成試験	ヒト胎児肺由来の線維芽細胞 (MRC-5)	20, 60, 100, 140, 180, 220, 260, 300 µg/mL (±S9) ^{6,10}	陰性 (資料番号:)

⁶ S9 はラット由来を使用。

⁷ Chbi: NMRI マウス (雄 3 例) および Chbb: THOM ラット (雄 3 例) にプロチゾラムをそれぞれ 6 日間および 8 日間強制経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与し、採取した尿 (マウス: 3 例のプール尿、ラット: 個体別の尿) を試験に供した。

⁸ マウスおよびラットから採取した各尿を 200 µL/plate の濃度で培地上にまいて検査を行なった。

⁹ マウスおよびラット共に 200 mg/kg 投与群から得られた尿を蒸留水で 10 倍希釈し、マウスは 100 µL/plate、ラットは 200 µL/plate の濃度で同様に検査を行なった。

¹⁰ 260 µg/mL 以上の濃度で沈殿が認められた。

			③-3)
形質転換試験	マウス胎児線維芽細胞 (C3H/10T1/2 Cl 8 cells)	50, 100, 150 µg/mL (±S9) ⁶	陰性 (資料番号: ③-4)
遺伝子変換試験	酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4)	62.6, 125, 250, 500, 1,000 µg/mL (±S9) ⁶	陰性 (資料番号:③-5)
HGPRT 突然変異試験	チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞	10, 100, 250, 350 g/mL (±S9) ⁶	陰性 (資料番号:③-6)
点突然変異試験 ¹¹	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 (ラット・マウ ス), TA1538 (ラット)	0, 100, 200 mg/kg/day ¹² 100 µL/plate (±S9) ⁶	陰性 (資料番号:③ -10)

1

2

in vivo 試験

試験	対象	投与量	結果
染色体異常試験	チャイニーズハムスター骨髄	62, 311 mg/kg 体重/day 5 日間経口投与	陰性 (資料番号:③-7)
小核試験	マウス骨髄	80, 400, 2,000 mg/kg 体重 /day 2 日間経口投与	陰性 (資料番号:③-8)
優勢致死試験	CD-1BR マウス	200, 640, 2,000 mg/kg 体重 /day 単回経口投与	陰性 (資料番号:③-9)

3

4

5

6

7

上記のように、*in vitro* の細菌、酵母、ヒトを含む動物細胞を用いた Ames 試験、不定期 DNA 合成試験、形質転換試験、遺伝子変換試験および突然変異試験、及び *in vivo* のげっ歯類を用いた染色体異常試験、小核試験および優勢致死試験のいずれも陰性であり、プロチゾラムはヒト生体内において問題となる遺伝毒性を有さないものと考えられる。

7

8

7. 一般薬理試験 (資料番号:⑤-1、⑤-2、⑤-3、⑤-4)

9

(1) 呼吸・循環器系への作用 (資料番号:⑤-1)

10

11

12

13

14

雌雄のビーグル雑種犬 (各 3 匹群、プロチゾラム 1、5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下) の呼吸数、血圧、心拍数、心電図を観察したところ、1 mg および 5 mg 投与群共に投与後 120 分まで心拍数の明らかな低下とこれに伴う T 波の増高および RR 間隔の延長がみられ、呼吸数の低下が投与後 120 分以上にわたり認められた。なお、血圧には明らかな影響は認められなかった。

15

16

17

18

雄ウサギ (プロチゾラム 5、10 mg/kg の静脈内投与、ウレタン麻酔下) の呼吸、血圧、心拍数を観察したところ、10 mg 投与群で呼吸数にわずかな低下が認められた。血圧と心拍には明らかな影響は認められなかった。なお、非麻酔下のウサギでも同様の影響が認められた。

¹¹ ラットおよびマウスにおける血漿中の高極性代謝物に対する試験。

¹² Chbb: THOM ラット (雄 5 例群) および Chbb: NMRI マウス (雄 5 例群) にプロチゾラムをそれぞれ 2 週間強制経口 (0、100、200 mg/kg 体重/日) 投与し、最終投与後に採取した血液から血漿を分離・凍結乾燥し、メタノール抽出の後、試験に供した。

1 モルモットの摘出心房（ブロチゾラム 1-10 mg/L、5 分間隔で累積作用）の心筋収縮力と心拍数につ
2 いて観察したところ、心筋収縮力には明らかな影響は認められなかったが、心拍数は 10 mg/L の濃度で
3 軽度な低下が認められた。

4
5 雌雄の雑種犬（ブロチゾラム 0.05、0.5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下）の脊椎動
6 脈流および内頸動脈流について観察したところ、0.5 mg 投与群で脊椎動脈流の増加と頸動脈流の軽度な
7 増加が認められた。なお、これらの変動は 3 分以内に投与前値まで回復した。また、同様の方法でブロ
8 チゾラム 0.5、1 mg/kg の静脈内投与により、血圧、心拍数、心拍出量、冠血流および大腿動脈流につ
9 いて観察したところ、1 mg 投与群で血圧と心拍数の低下に伴い心拍出量および冠血流の軽度な減少が
10 認められた。なお、これらの変動は投与後 30 分後に正常値まで回復した。いずれの投与群において
11 も、大腿動脈流に変化は認められなかった。

12
13 雌雄の雑種犬（ブロチゾラム 5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下）の頸動脈洞反射、
14 迷走神経刺激、星状神経節の節前および節後神経刺激に対する反射性昇圧について観察したところ、頸
15 動脈洞反射刺激（30 秒間の閉塞）に対する血圧反応および迷走神経刺激に対する陰性変時作用にブロチ
16 ゾラム投与による影響は認められなかった。また、ブロチゾラムは星状神経節の節前および節後神経刺
17 激における陽性変時作用を増強したが、有意な増強（ブロチゾラム投与後 15 分）が認められたのは節
18 前神経刺激に対する影響であった。

19 雌雄の雑種犬（ブロチゾラム 5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下）に、ノルエピネフ
20 リンおよびエピネフリンを 1 µg/kg 投与した際の心血管系への作用に対するブロチゾラム投与の影響に
21 ついて確認したところ、両被験物質の投与による血圧および心拍数への作用はブロチゾラム投与後 15
22 分後および 60 分後で増強され、エピネフリン投与時の血圧に対する影響は有意であった。

24 (2) 自律神経系および平滑筋への作用（資料番号：⑤-1、⑤-3）

25 瞬膜反射に対する作用は、ネコ（ブロチゾラム 10 µg-3 mg/kg の舌動脈内投与、ウレタン麻酔下）の
26 上頸神経節の節前神経刺激による瞬膜の収縮について確認したところ、ブロチゾラム投与による明ら
27 かな影響は認められなかった。（⑤-1）

28
29 瞳孔径（マウス）に対する作用は、ブロチゾラム（3、30、100 mg/kg、経口）、ニトラゼパムおよび
30 エスタゾラム（各 30、100 mg/kg）について比較検討されている。ブロチゾラムは 30 mg 投与群まで
31 瞳孔径に明らかな影響を及ぼさず、100 mg 投与群では投与後 30 分後から 60 分後に縮瞳が認められた。
32 エスタゾラムは 30 mg 以上投与群以上で、ニトラゼパムは 100 mg 投与群で縮瞳が認められた。（⑤-3）

33
34 ラット摘出血管（胸部大動脈、Krebs 液）では、ブロチゾラムは 10 mg/L の濃度まで平滑筋収縮に影
35 響を及ぼさないが、塩化カリウム（5-30 mM）による収縮およびノルエピネフリン（3 mg/L）による持
36 続性収縮に対して抑制作用を示した。なお、ノルエピネフリンによる一過性収縮には影響は認められ
37 なかった。（⑤-1）

38
39 ウサギ摘出回腸（自動運動測定）に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討
40 されている。両被験物質ともに 0.001-1.0 mg/L の濃度まで自発運動に影響はみられなかったが、静止張
41 力については 10 mg/L でわずかな減少が認められた。（⑤-3）

1
2 モルモット摘出回腸（アセチルコリン誘導れん縮）に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパム
3 について比較検討されている。両被験物質ともに 10 mg/L でアセチルコリン収縮の抑制作用を示した。

4 (5-3)

5
6 ラット摘出子宮（妊娠および非妊娠子宮）に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて
7 比較検討されている。摘出非妊娠子宮では、ブロチゾラム 0.1-10 mg/L の濃度まで自発運動の振幅に影
8 響は認められなかった。ニトラゼパムについても 10 mg/L の濃度で自発運動に影響は認められなかった。
9 摘出妊娠子宮では、両被験物質ともに自発運動に明らかな影響は認められなかった。(5-3)

10
11 ラット生体位子宮に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。ブ
12 ロチゾラムを 10 mg/kg の濃度まで静脈内投与しても、自発運動能に影響は認められなかった。一方、
13 ニトラゼパムは同様の濃度で自発運動能にわずかな増幅が認められた。(5-3)

14
15 モルモットの摘出気管（自発収縮）に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検
16 討されている。両被験物質ともに 10 mg/L の濃度で摘出気管のヒスタミンによる収縮反応を低下させた。

17 (5-3)

18
19 モルモット摘出輸精管に対する作用がブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。
20 ブロチゾラムは 0.01-10 mg/L の濃度まで影響はみられなかった。一方、ニトラゼパムは 1.0-10 mg/L
21 の濃度で収縮反応が認められた。(5-3)

22 23 (3) 血液系への作用 (資料番号: 5-1)

24 溶血に対する作用は、ウサギの耳介静脈から得られた血液を用いて、ブロチゾラム、エスタゾラムお
25 よびニトラゼパムについて比較検討されている。各被験物質を 125-500 mg/L の濃度で血球とインキュ
26 ベートした結果、いずれにおいても溶血作用は認められなかった。

27 凝集に対する作用は、ブロチゾラム、エスタゾラムおよびニトラゼパムをウサギに強制経口（各 25
28 mg/kg 体重/日）投与し、投与後 15、30 および 60 分後に耳介静脈から得られた血液を用いて確認され
29 ている。いずれの被験物質についても、凝集作用は認められなかった。

30 31 (4) 中枢神経系への作用 (資料番号: 5-2、5-3、5-4)

32 脊髄反射に対する作用が、ブロチゾラムとエスタゾラムについて比較検討されている。エーテル麻酔
33 下で第一および第二頸椎間の脊髄神経を遮断した雌雄のネコに、ブロチゾラムを静脈内 (0.1 mg/kg)
34 あるいは強制経口 (1 mg/kg) 投与し、投与後 30、60 および 120 分後に単シナプス反射 (MSR) およ
35 び多シナプス反射 (PSR) の活動電位について確認したところ、いずれの投与経路および用量におい
36 ても PSR に影響を及ぼし、弱い抑制作用を有することが確認された。一方、エスタゾラムを強制経口 (1
37 mg/kg) 投与した場合は、MSR および PSR 共に投与後 30 および 60 分で抑制作用が認められた。ブ
38 ロチゾラムの脊髄反射に対する抑制作用は、エスタゾラムに比べて軽度であった。(5-2)

39
40 エチルアルコールおよびヘキソバルビタールで誘導される睡眠に対する作用は、ブロチゾラム、ニト
41 ラゼパムあるいはエスタゾラムを前投与した際の影響について比較検討されている。エチルアルコール

1 をマウスに皮下 (6.25 mg/kg) 投与した際に誘導される睡眠時間 (30 分) は、各被験物質を投与 30 分
2 前に経口 (0.125 mg/kg) 投与することにより有意な延長が認められた。ヘキソバルビタールをマウス
3 に腹腔内 (85 mg/kg) 投与する 30 分前に各被験物質を経口 (5、15、45 mg/kg) 投与すると、用量非
4 依存的ではあるが睡眠時間は 2.7~3.6 倍に延長した。(5-3)

5
6 メタンフェタミンを投与した際の自発運動量および咀嚼行動に対する作用は、ブロチゾラム、ニトラ
7 ゼパムあるいはエスタゾラムを前投与した際の影響について比較検討されている。自発運動量は、メタ
8 ンフェタミンをマウスに皮下 (5 mg/kg) 投与する 30 分前にブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタ
9 ゾラム (各 10、30 mg/kg)、陽性対照としてジアゼパム (10 mg/kg) をそれぞれ経口投与すると、ブロ
10 チゾラム、ニトラゼパム、ジアゼパムは 10 mg 投与群、エスタゾラムは 30 mg 投与群で自発運動量の
11 亢進が認められた。咀嚼行動は、メタンフェタミンをマウス (6 匹群) に静脈内 (16 mg/kg) 投与する
12 30 分前に、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラム (各 30、90 mg/kg)、陽性対照としてハロ
13 ペリドール (5 mg/kg) をそれぞれ経口投与すると、ハロペリドールは全例に抑制作用を示したが、ブ
14 ロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムでは明らかな抑制は認められなかった。(5-3)

15 無麻酔下の自発脳波に対する作用は、ウサギを用いて実施されている。ウサギ (雌雄、14 羽) にブロ
16 チゾラムを静脈内 (0.001、0.003、0.01 mg/kg 体重/日) 投与し、投与前 30 分 (最後の 10 分間：ベー
17 スライン) から投与後 2 時間まで脳波を測定したところ、0.003 mg 投与群以上では明らかにブロチゾ
18 ラムの鎮静催眠作用が認められた。一方、0.001 mg 投与群では、脳波に鎮静や中枢興奮作用を示す明ら
19 かな変動は認められなかった。

20 本試験における NOEL は 0.001 mg/kg 体重/日であった。(5-4)

21
22 鎮痛作用がブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。ラット (計 6 匹)
23 に各被験物質を強制経口 (ブロチゾラム：1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタ
24 ゾラム：1、10、100 mg/kg 体重/日) 投与後 30、60、120、180 および 240 分後に、ラットの尾を動脈
25 鉗子で止めた際の疼痛に対する鎮痛作用を確認した。ブロチゾラムに鎮痛作用は認められなかったが、
26 ニトラゼパムでは 10 mg 以上投与群以上で、エスタゾラムは 100 mg 投与群では明らかな鎮痛作用が認
27 められた。ブロチゾラムの鎮静作用の程度は、高用量においてもニトラゼパムおよびエスタゾラムの約
28 1/3 であった。(5-2)

29
30 正常体温に対する作用が、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムについて比較検討されて
31 いる。ラット (Wistar 系、雄) を用いて、各被験物質を強制経口 (ブロチゾラム：1、10、50、100 mg/kg
32 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾラム：1、10、50 mg/kg 体重/日) 投与後 30、60、120、180 お
33 よび 240 分後に体温を測定した。ブロチゾラムでは、10 mg 以上投与群以上で投与後 30 分後から用量
34 依存的な下降が認められたが、投与後 240 分以内には正常範囲まで回復あるいは回復傾向が認められた。
35 同様に、ニトラゼパムは 10 mg 以上投与群以上で、エスタゾラムは 1 mg 以上投与群以上で用量依存的
36 な下降がみられた。いずれの被験物質も高用量で体温下降作用を示し、類似の作用が認められた。(5-2)

37 38 (5) 消化器系への作用 (資料番号：5-3)

39 腸管運動 (雄イヌ、3 匹、空腸) に対する作用は、ブロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討
40 されている。両被験物質ともに 0.01-1 mg/kg の静脈内投与では影響は認められなかった。

1 腸管輸送能（マウス）に対する作用は、ブロチゾラムおよびニトラゼパを経口投与した時のバリウム
2 液の移動率について比較検討されている。ブロチゾラムは1-100 mg/kg で、ニトラゼパムは30 mg/kg
3 で影響は認められなかった。

4
5 唾液分泌（マウス）に対する作用は、カルバコール刺激時の唾液分泌作用への影響についてブロチゾ
6 ラムおよびニトラゼパで比較検討されている。ブロチゾラムは3 mg/kg までの皮下投与で影響は認めら
7 れなかった。一方、両被験物質ともに10 mg/kg では軽度ながら有意な分泌低下を示した。

8
9 胃液分泌（ラット）に対する作用は、ブロチゾラム1-10 mg/kg までの経口投与では胃液量および酸
10 分泌量ともに影響は認められなかった。

11
12 胆汁分泌（ラット：各被験物質ともに12.5、25、50 mg/kg、経口）に対する作用は、ブロチゾラム、
13 ニトラゼパムおよびエスタゾラムについて比較検討されている。ブロチゾラムおよびニトラゼパムでは
14 50 mg まで排泄量および胆汁量ともに影響は認められなかった。一方、エスタゾラムでは12.5 mg で胆
15 汁量の増加、25 mg では排泄量の増加が認められた。

16 17 (6) 体性神経系への作用（資料番号：⑤-2、⑤-3）

18 局所麻酔作用は、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。モルモツ
19 ト（Hartley系、雄）およびウサギ（日本白色種、雄）の目に各被験物質を1および2%の濃度で0.5 mL
20 滴下し、同様にもう片方の目には溶媒（0.5%メチルセルロース）を滴下した。滴下後10、20、30、60、
21 90 および120分に角膜をウマの尻尾で刺激して角膜反射を確認したところ、各被験物質ともにいずれ
22 の濃度および測定ポイントにおいても角膜反射は認められ、局所麻酔作用は認められなかった。ブロチ
23 ゾラムの局所麻酔作用は、ニトラゼパムおよびエスタゾラムと同様の傾向を示した。（⑤-2）

24
25 横隔膜神経筋標本（Wistar系ラット、雄）の電気刺激に対する作用が、ブロチゾラム、ニトラゼパム
26 およびツボクラリン（陽性対照）で比較検討されている。電気刺激に対する攣縮反応に対し、ブロチゾ
27 ラムは0.1 mg/L まで影響はみられなかったが、1-10 mg/L の濃度では軽度な抑制が認められた。ニトラ
28 ゼパムは10 mg/L で軽度な抑制が、ツボクラリンでは0.1 mg/L で明らかな抑制が認められた。（⑤-3）

29 30 (7) 水および電解質代謝への作用（資料番号：⑤-2）

31 尿量、電解質代謝（Na⁺、K⁺、Cl⁻、Na/K）、pH、グルコースおよび総タンパク質に対する作用が、
32 ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。ラット（Wistar系、雄、5匹
33 /群）に各被験物質をそれぞれ強制経口（ブロチゾラム：1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパム
34 およびエスタゾラム：1、10、100 mg/kg 体重/日）投与し、採取した尿について確認したところ、尿量
35 の増加がブロチゾラムでは50 mg 以上投与群以上で、ニトラゼパムおよびエスタゾラムでは100 mg 投
36 与群で認められた。尿中電解質、pH、グルコースおよび総タンパク質については、いずれの被験物質に
37 対しても明らかな影響は認められなかった。ブロチゾラムは高用量で尿排泄量を増加させたが、尿中電
38 解質、pH、グルコースおよび総タンパク質に影響を及ぼさず、ニトラゼパムおよびエスタゾラムと類似
39 の作用がみられた。

40 41 (8) 抗炎症作用（資料番号：⑤-2）

1 抗炎症作用は、ラット (Wister 系、雄) を用いた浮腫 (カラゲニン誘発の足蹠浮腫) に対する影響に
2 ついて、ブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。1%のカラゲニン 0.1
3 mL をラットの足蹠に投与後、直ちに各被験物質を強制経口 (1、10、100 mg/kg 体重/日) 投与し、足
4 蹠の体積を 1 時間毎に測定した。カラゲニン足蹠浮腫に対する抑制作用はブロチゾラムには認められず、
5 ニトラゼパムおよびエスタゾラムにも明らかな抑制作用は認められなかった。ブロチゾラム、ニトラゼ
6 パムおよびエスタゾラムとの間に作用差異は認められなかった。

8 (9) ラットを用いた 1 週間あるいは 1 ヶ月間投与試験による血液生化学的パラメータおよび体重への影響 (資料番号: ⑤-3)

10 ラットを用いたブロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムの 1 週間あるいは 1 ヶ月間強制経口
11 (10 mg/kg) 投与による血清中のグルコース、乳酸、TG、Tcho、非エステル化脂肪酸、インスリン値
12 および体重への影響について検討されている。

① 1 週間投与試験

15 体重変化は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。

16 グルコース、TG および Tcho 値は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。
17 一方、非エステル化脂肪酸はブロチゾラムおよびエスタゾラムで低値がみられ、乳酸はブロチゾラムで
18 高値、エスタゾラムで軽度な高値、ニトラゼパムでは軽度な低値を示し、インスリンはブロチゾラムお
19 よびニトラゼパムで軽度な低値、エスタゾラムでは低値が認められた。

② 1 ヶ月間投与試験

22 体重変化は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。

23 グルコース、TG およびインスリン値は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかつ
24 た。一方、非エステル化脂肪酸はブロチゾラムで高値、Tcho はブロチゾラムおよびニトラゼパムで高値、
25 乳酸はブロチゾラムで低値が認められた。

8. その他

28 ラットを用いた 2 年間発がん性試験において、200 mg 投与群の雌雄で甲状腺に結節性および腺腫性
29 病変が認められていることから、以下に示す甲状腺機能に関する特殊毒性試験が実施されている。

(1) ラットを用いた甲状腺機能に関する特殊毒性試験 (資料番号: ⑩-1、⑩-2、⑩-3)

32 Chbb: THOM (Wistar) ラット (雌雄各 24 匹/対照群、雌雄各 12 匹/投与群) を用いた強制経口 (0、
33 100、400 mg/kg 体重/日) 投与による 78 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は以下の通
34 りであった。なお、甲状腺ホルモン (T_3 および T_4) および甲状腺刺激ホルモン (TSH) の測定は、投
35 与 28 週目に全例について、投与 32 週目には対照群の雄 8 例、400 mg 投与群の雄 4 例について実施し
36 た。

37 T_3 値は、投与 28 週目に 100 mg 投与群以上の雄および 400 mg 投与群の雌で有意な高値が認められ、
38 その程度には用量相関性が認められた (100 mg: $p \leq 0.05$, 400 mg: $p \leq 0.01$)。また、400 mg 投与群では
39 投与 32 週目においても有意 ($p \leq 0.01$) な高値が認められ、いずれの例も投与 28 週目の測定値より高
40 値を示した。一方、 T_4 値は投与 28 週目に 400 mg 投与群の雄で有意 ($p \leq 0.01$) な低値が認められたが、
41 32 週目には回復が認められた。TSH 値については、100 mg 投与群以上で軽度ながら高値傾向がみられ、

1 400 mg 投与群の雌では有意 ($p \leq 0.01$) であった。(10-1)

2
3 Chbb: THOM (Wistar) ラット (雌 12 匹、雄 36 匹/対照群、雌 12 匹、雄 12-24 匹/投与群) を用いた強制経口 (0、100、400 mg/kg 体重/日) 投与による 65 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、 T_3 および T_4 および TSH の測定は、投与 28 週目に全投与群の雌雄各 12 例について、投与 32、53 および 65 週目には対照群の雄 8 例、400 mg 投与群の雄 4 例について実施した。

8 T_3 値は、投与 28 週目に 100 mg 投与群以上の雄および 400 mg 投与群の雌で有意な高値が認められ、その程度には用量相関性が認められた (100 mg: $p \leq 0.05$ 、400 mg: $p \leq 0.01$)。また、400 mg 投与群では投与 32 週目においても有意 ($p \leq 0.01$) な高値が認められ、平均値は投与 28 週目より高値を示した。投与 53 および 65 週目では、いずれも各 1 例に高値が認められた。一方、 T_4 値には低値傾向が認められ、400 mg 投与群の雄では投与 28 および 53 週に有意 (各々 $p \leq 0.01$ 、 $p \leq 0.05$) であった。

13 TSH 値は、投与 28 週目に 100 mg 投与群以上で高値がみられ、400 mg 投与群の雌では有意 ($p \leq 0.01$) であった。なお、投与群では対照群に比べて雄で 2.5 倍、雌では 5.7 倍の高値が認められた。投与 32 およ 53 週目では 400 mg 投与群の 2 例で高値が認められたが、投与 65 週目にはいずれの例においても対照群と同程度の値であった。(10-2)

18 Chbb: THOM (Wistar) ラット (雄各 60/群) を用いた強制経口 (試験番号 G44 : 0、200 mg/kg 体重/日、試験番号 G61 : 0、0.5、2.5 mg/kg 体重/日) 投与による 13 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、本試験では高用量試験 (G44) および低用量試験 (G61) の 2 種類の試験が実施されている。G44 ではラットにおける発がん性試験で甲状腺に影響 (甲状腺腫、甲状腺濾胞の変性、甲状腺の結節性過形成、腺腫性甲状腺腫等) が認められた 200 mg の用量を設定しており、甲状腺の経時的な機能変化について確認することを目的としている。一方、G61 で用いている 0.5 および 2.5 mg の用量は、推定臨床用量の各々 100 および 500 倍であり、低用量における甲状腺機能への影響確認および NOEL の設定を目的としている。血液生化学検査 (TSH および T_4) は、投与 1 週 (2 日および 7 日目)、2 週 (7 日目)、4、8 および 13 週 (各 2 日目) に各群 10 例について実施し、その 2 日あるいは 3 日後に剖検に供した。

28 本試験期間中、いずれの試験においても被験物質に起因する死亡は認められなかった。

29 一般的な臨床症状観察、体重、摂餌量では、いずれの試験においても被験物質による明らかな影響は認められなかった。摂水量は測定されていない。

31 血液生化学検査では、G44 の 200 mg 投与群で投与 2 週目から TSH の有意な高値が認められたが、試験の経過と共に値は低下し、投与 13 週目には回復が認められた。 T_4 値は投与 1、2 および 4 週目に一過性の低値が認められた。G61 では TSH および T_4 値ともに影響は認められなかった。

34 臓器重量では、G44 の 200 mg 投与群では、肝臓の絶対・相対重量の高値が投与 3、4、8 および 13 週目に認められた。また、甲状腺は投与 3 週目より高値傾向が認められ、投与 13 週目には絶対・相対重量に有意な高値が認められた。G61 では異常は認められなかった。

37 剖検では、投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

38 病理組織学的検査は実施されていない。(10-3)

40 (2) ヒトを用いた甲状腺機能に関する特殊毒性試験 (資料番号: 10-4)

1 健常人ボランティア（男女各3名）に0.25 mg/日の錠剤を1日1回14日間経口投与し、T₃、T₄およ
2 びTSHの変動について検査した。各項目について投与前8週（対照値）、初回投与前および最終投与後
3 の計3回測定した結果、甲状腺機能に投与による明らかな影響は認められなかった。

4 9. ヒトにおける知見について（参照6）（資料番号：⑩-4）

6 健常人ボランティアによる甲状腺機能への影響が調べられており、臨床用量である0.25 mg/日を14
7 日間投与した際に甲状腺機能に影響は認められなかった。また、類薬であるジアゼパムを12 mg/日の用
8 量で12～18週間投与した場合においても、甲状腺機能に影響は認められなかった。

9 ヒトにおけるプロチゾラムの精神活性作用は、0.1 mg/ヒト/日（1.7 µg/kg 体重/日、経口）である。

10 10. ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響について

12 プロチゾラムに関しては、*in vivo*および*in vitro*において抗菌作用を示唆するデータは得られていな
13 い。

14 III. 食品健康影響評価について

15 1. 繁殖毒性および催奇形性について⁶⁾

- 17 ・催奇形性は認められていない
- 18 ・母動物に対する最も低いNOAELは器官形成期投与試験と周産期及び授乳期投与試験の母動物へ
19 の影響0.05mg/Kg 体重/日であった。

20 2. 遺伝毒性／発がん性について^{4,7)}

- 21 ・遺伝毒性は*in vivo* および*in vitro* すべて陰性であったことから、遺伝毒性はなし。
- 22 ・発がん性については、マウスを用いた試験では発がん性は認められていない。
- 23 ・ラットを用いた試験では、腫瘍性病変として甲状腺濾胞腺腫（雄）、胸腺型の悪性リンパ腫（雌）、
24 子宮における神経鞘腫（雌）が認められている。甲状腺濾胞腺腫については、ヒト及びラットに
25 よる甲状腺機能に関する特殊毒性試験において検討されている。ラットでは甲状腺ホルモン及び
26 甲状腺刺激ホルモンに影響が認められているが、ヒトに関しては甲状腺機能の影響は認められな
27 かった。甲状腺ホルモン制御にはヒトとラットの間で種差が認められ、ヒトでは甲状腺に対する
28 影響が認められないこと。さらにプロチゾラムは非遺伝毒性物質であることから、ラット2年間
29 発がん性試験で認められた甲状腺腫の発生については、ヒトへの外挿性は極めて低いと考えられ
30 る。
- 31 ・雌の子宮で認められた神経鞘腫の発生率増加の原因については不明であるが、悪性リンパ腫につ
32 いては被験物質投与によるストレス及び摂餌量の低下に伴う栄養状態の悪化が一因である可能性
33 が考えられる。
- 34 ・遺伝毒性による発がん性とは考えられず、ADI設定は可能と判断

35 3. 一般薬理試験について

- 36
- 37
- 38
- 39
- 40 ・ウサギを用いて、静脈投与による自発脳波の影響が認められている。

1 ・ NOEL 0.001mg/Kg 体重/日であった。

2 4. ヒトにおける影響について⁷⁾⁹⁾

- 3 ・ 健常人ボランティア試験、経口投与による脳波の影響が認められている。
- 4 ・ LOAEL は 0.1mg/ヒト/日 (=0.00166mg/kg 体重/日 =1.7 µg/kg 体重/日)
- 5 ・ 公表論文では LOAEL 0.125 (0.0625) mg/ヒト/日

6 5. 毒性学的影響のエンドポイントの選択について

- 7 ・ 一般毒性試験で最も低い NOAEL は、ラットを用いた 35 日間亜急性毒性試験で NOAEL は
- 8 0.5mg/Kg 体重/日であった。
- 9 ・ ウサギの薬理試験（静脈投与、脳波）、ヒトの薬理試験（経口投与、脳波）
- 10 ・ 安全係数

11 6. 一日摂取許容量(ADI)の設定について

12
13 以上より、ブロチゾラムの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適切と考
14 えられる。

15
16 ブロチゾラム _____ µg/kg 体重/日

17
18 IV. 付帯事項

- 19 1. 暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

略称	一般名	体系名
代謝物A	<u>WE-964</u>	<u>2-ブロモ-4-(o-クロロフェニル)-9-(ヒドロキシメチル)-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン</u>
代謝物B	<u>WE-1061</u>	<u>2-ブロモ-4-(o-クロロフェニル)-9-メチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-オール</u>
代謝物C	<u>WE-1073</u>	<u>2-ブロモ-4-(o-クロロフェニル)-9-(ヒドロキシメチル)-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-6-オール</u>
代謝物D	<u>WE-956</u>	<u>2-ブロモ-4-(o-クロロフェニル)-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン</u>

1 <別紙 1 検査値等の略称>

ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン／グロブリン比
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中薬物濃度－時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック AMP
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C _{max}	最高血(漿)中濃度
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(→AST)
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(→ALT)
Hb	ヘモグロビン(血色素)
HPLC	高速液体クロマトグラフ
Ht	ヘマトクリット
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MCV	平均赤血球容積
MBC	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
RBC	赤血球数
RIA	放射免疫測定法(ラジオイムノアッセイ)
PEG	ポリエチレングリコール
T _{1/2}	消失相半減期
T ₃	トリヨードサイロニン
T ₄	サイロキシシン
TBIL	総ビリルビン
TBG	サイロキシシン結合グロブリン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐容一日摂取量
TG	トリグリセリド
TLC	薄層クロマトグラフ法
T _{max}	最高血(漿)中濃度到達時間
TSH	甲状腺刺激ホルモン

<別紙2 各試験における毒性比較>

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量(mg/kg 体重/日)	
			社内資料	EMA
ラット、 イヌ、 サル	反復投与 試験(18ヶ月 以下)	ラット(経口) <1000 イヌ(静脈内) 0-0.3 サル(経口) 0-100		0.3(ラット) EMA SR 5 自発運動の亢進、攻撃性(サル除く)、暴食、鎮静、運動失調、運動性の向上、行動変化
ラット、 マウス	発がん性 試験(マウス:18ヶ月、 ラット:2年間)	0, 0.3, 10, 200		無毒性量の記載なし (発がん性なし) EMA SR 10
ラット	4週間 亜急性 毒性試験	0, 0.3, 10, 400	0.3 鎮静	
	35日間 亜急性 毒性試験	0, 0.5, 100, 1000	0.5 鎮静、摂水量の高値 雌:赤血球の減少、摂餌量の高値	
	5週間 亜急性 毒性試験	0, 0.5, 100, 1000	100 興奮状態、禁断症状、Cholの高値 雄:尿比重の高値、肝相対重量の高値 雌:GPT・アルブミンの高値、肝臓・腎臓・甲状腺の絶対及び相対重量の高値、脾臓・胸腺の絶対及び相対重量の低値	
	13週間 亜急性 毒性試験	0, 0.3, 10, 400	10 体重・摂餌量の低値、APの低値、Tchoの高値、肝臓重量の高値	
	18ヶ月間 慢性毒性 試験	0, 0.3, 10, 400	10 立毛、興奮、体重増加量・摂餌量の低値、網状赤血球の高値、MCH・MCHCの低値、好中球の高値、リンパ球の低値、血小板の低値、Tchoの高値、APの低値、BUNの低値、グルコースの高値、臓器重量の低値(脾臓、唾液腺)、肺のリン脂質症、腎盂腎炎 雄:カリウムの低値、臓器重量の低値(精巣、心臓、肺、脳)、精巣萎縮 雌:白血球数の高値、臓器重量の低値(副腎)	

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	
			社内資料	EMA
ラット	2年間 発がん性 試験	0, 0.3, 10, 200	10 被毛粗剛、鎮静、体重増加量・摂餌量の低 値、リンパ球減少、食道拡張、甲状腺の非腫 瘍性病変、肺のリポタンパク症 雄：死亡率増加、尿量増加、甲状腺濾胞腺 腫、泌尿生殖器系の炎症性および増殖性病 変 雌：胸腺型悪性リンパ腫・神経鞘腫(子宮)、後 肢足底・膝の角質厚肥	
	妊娠前及び 妊娠初期 投与試験	雄；0, 0.05, 2.5, 100 雌；0, 0.05, 2.5, 50	母動物：2.5 生殖発生：雄 100、雌 50 母動物：体重増加の低値	
		0, 1, 2, 10	母動物：10 胎児：10 (催奇形性は認められなかった)	
	器官形成期 投与試験	0, 0.05, 2.5, 250	母動物：2.5 胎児：2.5 母動物：体重増加の低値、左子宮角に水腫状 の肥厚 胎児：死亡 3/25 例、体重の低値、奇形児増 加	
		0, 1.5, 3, 30	母動物：— 胎児：30 母動物：体重増加の低値 (催奇形性は認められなかった)	
	器官形成期 投与試験	0, 10, 30, 250, 500	母動物：— 胎児：10 母動物：鎮静、体重増加の低値 胎児：14 肋骨の出現頻度の上昇	
	周産期及び 授乳期 投与試験	0, 0.05, 2.5, 25	母動物：0.05 新生児：0.05 母動物：体重増加量の低値、 新生児：死亡児数増加、体重増加の停滞、黄 体数・着床数・生存胎児数の低値	
		0, 1, 2, 10	母動物：10 新生児：2 新生児：死産児数の増加	
0, 400		母動物：— 新生児：— 母動物：鎮静、運動失調、体重増加抑制 新生児：死産児数増加、体重増加の低値、歩 行遅延		
出産前及び 出産後 投与試験	0.05-400		0.05 死産の増加、出 産後胎児の死 亡増加 EMA SR 8	

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)		
			社内資料	EMA	
ラット	繁殖毒性試験	0.05-100		無毒性量の記載なし (繁殖への影響なし) EMA SR 6	
	催奇形性試験	0.05-500		母動物: 2.5 胎児 : 2.5 EMA SR 7	
マウス	18ヶ月間発がん性試験	0, 0.3, 10, 200	0.3 鎮静、体重増加の高値 雄: 膀胱の拡張及び肥厚 (発がん性認められない)		
ウサギ	器官形成期投与試験	0, 0.05, 0.5, 3	母動物: 0.05 胎児 : 3 母動物: 鎮静、体重増加の低値 (催奇形性は認められなかった)		
		0, 1.5, 3, 9	母動物: - 胎児 : 9 母動物: 体重増加の低値 (催奇形性は認められなかった)		
	催奇形性試験	0.05-9			母動物: 0.05 EMA SR 7
	自発脳波に対する作用	0.001, 0.003, 0.01	0.001 鎮静催眠作用		0.001
イヌ	4週間亜急性毒性試験	0, 0.05, 0.1, 0.3	- 自発運動の亢進、重篤な運動失調		
サル	13週間亜急性毒性試験	0, 1, 10, 100	- 体重増加量の高値、失調様歩行		
	12ヶ月間慢性毒性試験	0, 1, 7, 50	1 鎮静、運動失調、傾眠、睡眠、禁断症状(嘔吐)、体重増加量の高値		
毒性学的 ADI				0.00001mg/kgbw/dy NOEL: 0.001mg/kgbw/day (ウサギ自発脳波に対する作用) SF: 100	
ADI				0-0.00001	

1
2

1 <参照>

2
3 <参考資料>

4 メデランチル食品健康影響評価に係る補足資料 No.1-2

5
6 <参考文献>

- 7 1. Bechtel, W.D., Kramer, I. and Stiasni, M., Biochemical investigations with
8 [¹⁴C]-WE 941 BS in rats. (ADME I). Confidential report from Boehringer
9 Ingelheim Vetmedica, July 1975.
- 10
- 11 2. Meirau, J., Biochemical investigations with [¹⁴C]-WE 941 BS in monkeys.
12 (ADME II). Confidential report from Boehringer Ingelheim Vetmedica,
13 January 1977.
- 14
- 15 3. Bechtel, W.D., Biochemical study of WE 941 BS in man. (ADME III, Oral
16 administration.) Confidential report from Boehringer Ingelheim
17 Vetmedica, January 1978.
- 18
- 19 4. キャサレット&ドール トキシコロジー 第6版, 仮家公夫, 佐藤哲男, 高橋道
20 人, 野口英世 総監訳, 株式会社サイエンティスト社, 東京, 2004, p.827-839
- 21
- 22 5. Finch, J.M, Capen, C.C.; A mode of action for induction of thyroid gland
23 tumors by Pyrethrins in the rat.; Toxicol. Appl. Pharmacol. 2006; 214,
24 253-262,
- 25
- 26 6. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS,
27 BROTIZOLAM, SUMMARY REPORT
- 28
- 29 7. 日本医薬品集 医療薬 2007年版, 日本医薬品集フォーラム監修, 株式会社じ
30 ほう, 東京, 2007, p. 2082-2083
- 31
- 32 8. 医薬品インタビューフォーム 睡眠導入剤グッドミン®錠 0.25 mg 第7版,
33 2007
- 34
- 35 9. グッドマン・ギルマン薬理書 上 第10版, 高折修治, 福田英臣, 赤池昭紀 監
36 訳, 廣川書店, 東京, 2003, p. 501-530
- 37
- 38