トピロキソスタット

トピロリック錠 20mg，40mg，60mg
ウリアデック錠 20mg，40mg，60mg

第 2 部（モジュール 2）
2.6　非臨床概要文及び概要表

株式会社　富士薬品
株式会社　三和化学研究所

トピロキソスタット

トピロリック錠 20mg，40mg，60mg
ウリアデック錠 20mg，40mg，60mg

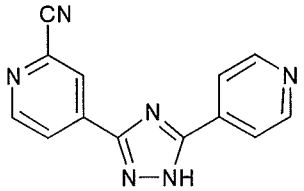
第 2 部（モジュール 2）
2.6　非臨床概要文及び概要表
2.6.1　緒言

株式会社　富士薬品
株式会社　三和化学研究所

2.6.1. 緒言

高尿酸血症を治療し，尿酸値を適正に是正するため尿酸降下薬が投与されるが，それには大きく分けて尿中への尿酸の排泄を増加させる尿酸排泄促進薬と尿酸の生合成の最終段階を阻害するキサンチン酸化還元酵素（XOR）阻害薬とがある。アロプリノールは比較的安全性が高い XOR 阻害薬であるが，皮膚粘膜眼症候群，中毒性表皮壊死症などの皮膚症状や過敏症状が報告されている。また，アロプリノール及びその代謝物であるオキシプリノールは腎排泄型であるために，特に腎機能の低下を伴う尿酸排泄低下型の患者には副作用の面から使いづらいという欠点を有している。

このような背景のもと，株式会社富士薬品では非プリン骨格で非腎排泄型の排泄経路を有する XOR 阻害薬の創製について検討した結果，強力な XOR 阻害活性を有するジピリジントリアゾール構造のトピロキソスタットを発見するに至った（図 2.6.1-1）。



4-[5-(Pyridin-4-yl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]pyridine-2-carbonitrile

図 2.6.1-1　トピロキソスタットの化学名及び構造式

トピロキソスタットは XOR を選択的かつ強力に阻害する高尿酸血症治療剤として開発された。トピロキソスタットは競合型の XOR 阻害作用を有し，阻害機序として XOR の反応中心のモリブデンと共有結合するとともにアミノ酸残基との相互作用も有しており，2 つの異なる阻害機序を持つ新しいタイプの阻害剤であることが示された。本薬は，経口投与により高尿酸血症患者の尿酸値を改善することが期待された。そこで，トピロキソスタットの高尿酸血症治療における有効性及び安全性を評価するため，*in vitro* 及び *in vivo* の試験系を用いて種々の非臨床試験を行った。

トピロキソスタット

トピロリック錠 20mg，40mg，60mg
ウリアデック錠 20mg，40mg，60mg

第 2 部（モジュール 2）
2.6　非臨床概要文及び概要表
2.6.2　薬理試験の概要文

株式会社　富士薬品
株式会社　三和化学研究所

2.6.2. 薬理試験の概要文

略語一覧

略語	省略していない表現
APA	活動電位振幅
APD_{50}	50%再分極持続時間
APD_{90}	90%再分極持続時間
Asn768	アスパラギン残基 768 番
DMSO	ジメチルスルホキシド
ED_{50}	50%有効用量
EDTA	エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム
GABA	γ-アミノ酪酸
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
Glu802	グルタミン酸残基 802 番
Glu1261	グルタミン酸残基 1261 番
HEK293 細胞	ヒト胎児腎細胞
hERG	human Ether-a-go-go Related Gene
HGPRT	ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	50%阻害濃度
Ki, Ki'	阻害定数
Phe914	フェニルアラニン残基 914 番
Phe1009	フェニルアラニン残基 1009 番
PNP	プリンヌクレオシドホスホリラーゼ
OMPDC	オロチジン 5'一リン酸デカルボキシラーゼ
OPRT	オロト酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ
QT	心室の興奮開始（Q 波）から終了（T 波）までの電気的収縮時間
QTc	補正 QT 間隔
RMP	静止膜電位
RNA	リボ核酸
Vmax	最大立ち上がり速度
XOR	キサンチン酸化還元酵素

2.6.2. 薬理試験の概要文

目　次

2.6.2.薬理試験の概要文 …… 4
2.6.2.1.まとめ …… 4
2.6.2.1.1.効力を裏付ける試験 …… 4
2.6.2.1.2.安全性薬理試験 …… 5
2.6.2.2.効力を裏付ける試験 …… 6
2.6.2.2.1.XOR 阻害作用 …… 6
2.6.2.2.2.代謝物の XOR 阻害作用 …… 8
2.6.2.2.3.アルデヒドオキシダーゼ及びプリン・ピリミジン代謝酵素に対する影響 …… 8
2.6.2.2.4.種々の酵素及び受容体・チャネルの結合能に対する影響 …… 9
2.6.2.2.5.オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症ラットにおける尿酸低下作用 …… 9
2.6.2.2.6.オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症マウスにおける尿酸低下作用 … 10
2.6.2.2.7.酵母 RNA 負荷チンパンジーにおける血中尿酸低下作用及び尿中尿酸排泄量低下作用 …… 11
2.6.2.3.副次的薬理試験 …… 13
2.6.2.4.安全性薬理試験 …… 14
2.6.2.4.1.中枢神経系 …… 14
2.6.2.4.2.心血管系 …… 14
2.6.2.4.3.呼吸系 …… 15
2.6.2.5.薬力学的薬物相互作用試験 …… 17
2.6.2.6.考察及び結論 …… 18
2.6.2.7.図表 …… 20
2.6.2.8.参考文献 …… 21

2.6.2.薬理試験の概要文

2.6.2.1.まとめ

トピロキソスタットはジピリジントリアゾール構造を有し，キサンチン酸化還元酵素（XOR）に対して特異的な阻害作用を示す痛風・高尿酸血症治療薬である。今回の国内申請にあたり，本薬の XOR 阻害作用，高尿酸血症モデル（ラット及びマウス）における尿酸低下作用，酵母 RNA 負荷チンパンジーにおける尿酸低下作用及び安全性薬理に関する作用を検討した。以下に本薬の効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の成績をまとめた。

2.6.2.1.1.効力を裏付ける試験

トピロキソスタットはウシミルク XOR に対して時間依存的な阻害を示した。酵素阻害の初期相を用いた Lineweaver-Burk プロット解析から，阻害様式は競合的な阻害であり，Ki 値は 5.1 nmol/L であることが示された。

阻害機序を明らかにするため，トピロキソスタットとウシミルク XOR との複合体の X 線結晶構造解析を行った結果，トピロキソスタットはトリアゾール環 5 位に結合したピリジン環窒素原子のオルト位で，酸素原子を介して XOR の反応中心であるモリブデンと共有結合し，反応中間体を形成していた。また，トピロキソスタットは基質結合ポケット内のアミノ酸残基との相互作用（水素結合及び芳香環間の相互作用）も有しており，2 つの阻害様式を併せ持つ，ハイブリッド型の阻害薬であることが示された。なお，主要な代謝物の XOR 阻害活性を検討した結果，トピロキソスタットに比べ N_1-及び N_2-グルクロン酸抱合体は 1000 倍以上，N-オキサイド体は約 200 倍弱かった。

酵素阻害の特異性を明らかにする目的で，XOR の類縁酵素であるアルデヒドオキシダーゼ及び XOR 以外のプリン・ピリミジン代謝酵素に対する影響を検討した。トピロキソスタットは 100 μmol/L においていずれの酵素に対しても阻害率が 10%未満であったことから，XOR に対して高い選択性を有すると考えられた。また，その他の酵素，受容体及びチャネル（酵素 30 種類，受容体及びチャネル 54 種類）に対する影響を検討した結果，トピロキソスタットはホスホジエステラーゼに対して阻害作用を示したものの，その程度は 100 μmol/L で 45%以下と弱かった。その他の酵素に対しては影響がなかった。

In vivo での作用を検討した。オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症ラットにおいて，トピロキソスタットは用量依存的に血漿尿酸値を低下させた。尿酸低下作用は対照薬のアロプリノール及びフェブキソスタットに比べて低用量から認められた。また，オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症マウスにおいて，トピロキソスタットは用量依存的に血漿尿酸値を低下させた。更に，酵母 RNA を負荷して血中尿酸濃度を高めたチンパンジーにおいて，トピロキソスタットはアロプリノールに比べて低用量で尿酸低下作用を示した。

以上，トピロキソスタットは XOR に対して強力かつ選択的な阻害作用を示した。阻害機序として，XOR の反応中心であるモリブデンと共有結合を形成すると共に，基質結合ポケット内のアミノ酸残基との相互作用も有することから，2 つの阻害様式を併せ持つことが示された。また，高尿酸血症モデル（ラット，マウス及びチンパンジー）において，種差なく尿酸低下作用を示した。

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.1.2. 安全性薬理試験

ラット中枢神経系に対する作用を検討した結果，トピロキソスタットは経口投与で 300 mg/kg の用量まで影響を及ぼさなかった。

心血管系に対する作用を検討した結果，トピロキソスタットは 100 μmol/L の濃度まで hERG 電流に影響を及ぼさず，摘出モルモット乳頭筋の活動電位には 20 μmol/L まで影響を示さなかった。また，覚醒下イヌを用いたテレメトリーでは 30 mg/kg の用量でごく軽度な一過性の心拍数増加が認められたが，その他には何ら影響は見られなかった。

ラット呼吸系に対する作用を検討した結果，トピロキソスタット 300 mg/kg 投与後 150 分においてのみ分時呼吸量が増加したが，呼吸数及び 1 回換気量には影響は見られなかった。

2.6.2.2. 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1. XOR 阻害作用

(1) 酵素阻害活性及び阻害様式（試験番号：F1256, F1280）[資料 4.2.1.1-1, 2]

トピロキソスタットのウシミルク XOR 阻害活性及び阻害様式を検討した。トピロキソスタットは精製した XOR に対して，阻害が次第に強くなる時間依存的な阻害を示した。トピロキソスタットによる阻害作用は酵素とのプレインキュベーションを行うことによって増強し，アロプリノール及びフェブキソスタットよりも強かった（図 2.6.2.2-1）。次に，酵素反応の初速を取り阻害作用を検討した。Lineweaver-Burk プロットによる解析の結果，トピロキソスタットは XOR に対して競合型の阻害を示し，Ki 値は 5.1 nmol/L であり（図 2.6.2.2-2），Ki 値が 560 nmol/L のアロプリノールよりも約 100 倍強力であった。フェブキソスタットは混合型の阻害を示し，Ki 値及び Ki'値はそれぞれ 0.34 nmol/L 及び 2.0 nmol/L でトピロキソスタットよりも強かった（表 2.6.2.2-1）。

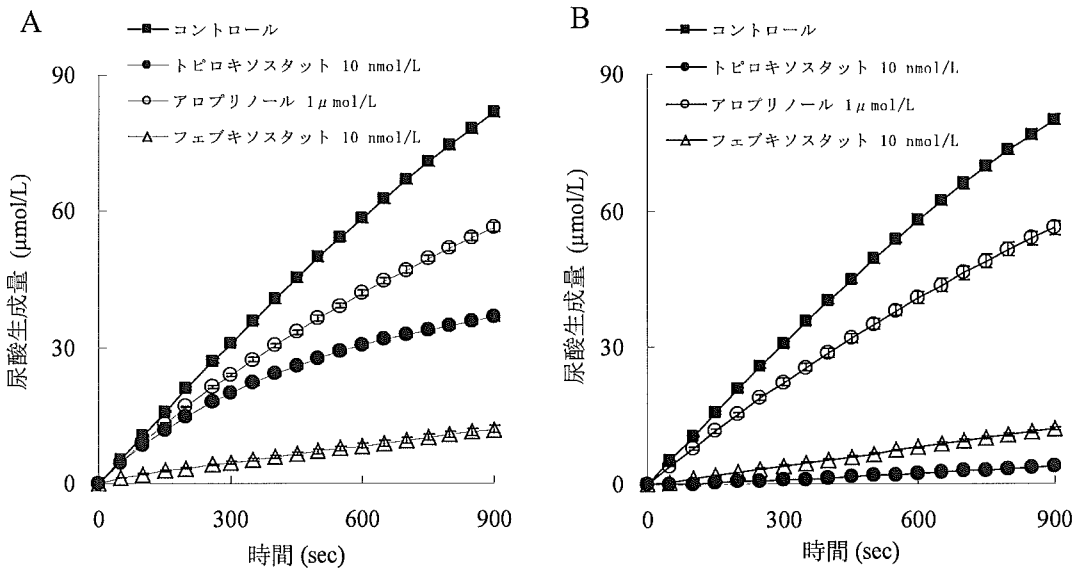


図 2.6.2.2-1 トピロキソスタット及び対照薬のプレインキュベーションがない場合（A）及びプレインキュベーションがある場合（B）の XOR 阻害のタイムコース

A：100 μmol/L キサンチンと各濃度の化合物を 0.2 mmol/L EDTA を含む 100 mmol/L ピロリン酸ナトリウム緩衝液（pH 8.5）中で 25℃，5 分間インキュベートした後，10 nmol/L の XOR を添加して反応を開始した。
B：各濃度の化合物と 10 nmol/L の XOR を 0.2 mmol/L EDTA を含む 100 mmol/L ピロリン酸ナトリウム緩衝液（pH 8.5）中で 25℃，10 分間プレインキュベートした後，キサンチン 100 μmol/L を添加して反応を開始した。
反応開始後 295 nm の吸光度変化を指標に尿酸生成量を 15 分間測定した。各値は 3 例の平均値±標準偏差を示す。

2.6.2. 薬理試験の概要文

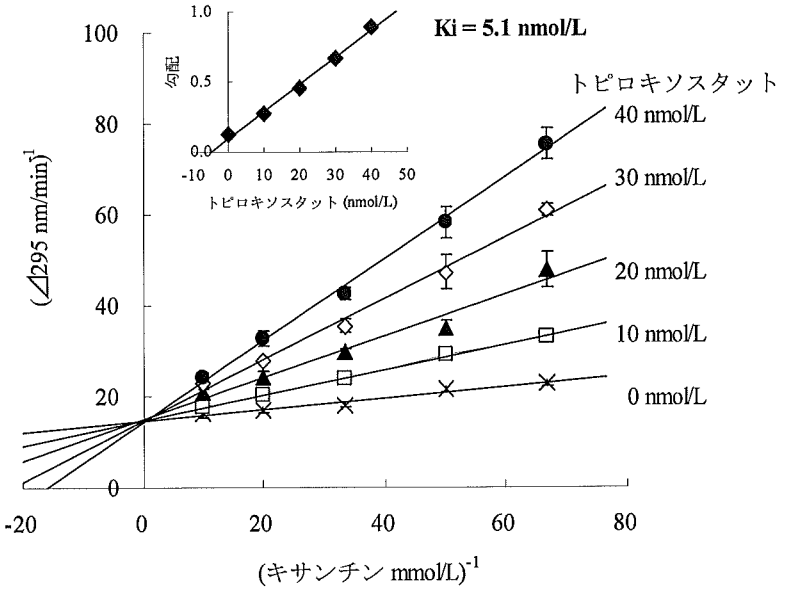


図 2.6.2.2-2　トピロキソスタットの XOR 阻害の Lineweaver-Burk プロット

0.2 mmol/L EDTA を含む 100 mmol/L ピロリン酸ナトリウム緩衝液（pH 8.5）中のキサンチン濃度は 15，20，30，50 及び 100 μmol/L とし，各濃度のキサンチンについて，0，10，20，30 及び 40 nmol/L のトピロキソスタット存在下で 25℃，5 分間インキュベートした後，10 nmol/L の XOR を添加して反応を開始した。295 nm の吸光度変化の初速を反応の指標とした。各値は 3 例の平均値±標準偏差を示す。

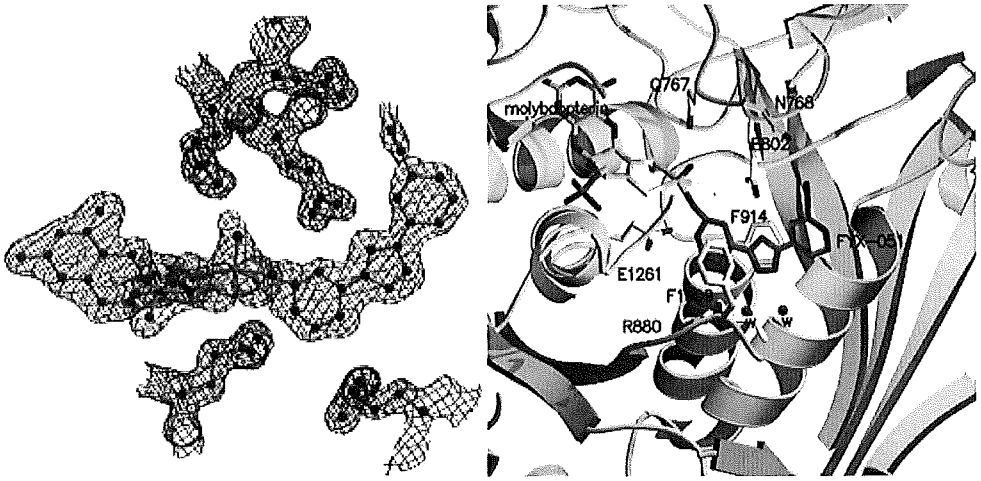
表 2.6.2.2-1 XOR 活性に対するトピロキソスタット及び対照薬の阻害作用

	Ki 値
トピロキソスタット	5.1 nmol/L
アロプリノール	560 nmol/L
フェブキソスタット	Ki = 0.34 nmol/L Ki' = 2.0 nmol/L

キサンチンと各化合物を種々の濃度で組合せ，0.2 mmol/L EDTA を含む 100 mmol/L ピロリン酸ナトリウム緩衝液(pH 8.5) 中で 25℃，5 分間インキュベートした後，10 nmol/L（フェブキソスタットの場合は 5 nmol/L）の XOR を添加して反応を開始した。295 nm の吸光度変化の初速（フェブキソスタットは定常状態の速度）を反応の指標とした。フェブキソスタットは混合型の阻害を示したため，Ki 及び Ki'値を算出した。トピロキソスタットの濃度は 10，20，30 及び 40 nmol/L，アロプリノールの濃度は 2，3，4 及び 6 μmol/L，フェブキソスタットの濃度は 1，1.5 及び 2 nmol/L で検討した。

(2) 阻害メカニズム（試験番号：F0474）[資料 4.2.1.1-3]（参考資料）

トピロキソスタットとウシミルク XOR との複合体の X 線結晶構造解析を行った。トピロキソスタットはトリアゾール環 5 位に結合したピリジン環窒素原子のオルト位で，酸素原子を介して XOR の反応中心であるモリブデンと共有結合し，反応中間体を形成していた（図 2.6.2.2-3）。また，トピロキソスタットのシアノ基と XOR の Asn768（図では N768），無置換のピリジン環の窒素と Glu1261（E1261），トリアゾール環の窒素と Glu802（E802）がそれぞれ水素結合するほか，芳香環間の相互作用（トリアゾール環と Phe914（F914）及び Phe1009（F1009））を有していることが示された [1]。



FYX-051：トピロキソスタット

図 2.6.2.2-3　トピロキソスタットとウシミルク XOR 複合体の X 線結晶構造
（電子密度図及びリボンモデル図）

2.6.2.2.2. 代謝物の XOR 阻害作用
（試験番号：F1291）[資料 4.2.1.1-4]

ヒトにおけるトピロキソスタットの主要な代謝物について，粗精製ウシミルク XOR に対する阻害活性を検討した。N_1-及びN_2-グルクロン酸抱合体の IC_{50} 値は 100 μmol/L より大きく，N-オキサイド体の IC_{50} 値は 13 μmol/L であり，トピロキソスタット（同時に実施した際の IC_{50} 値は 69 nmol/L）に比べ N_1-及び N_2-グルクロン酸抱合体は 1000 倍以上，N-オキサイド体は約 200 倍弱かった（表 2.6.2.2-2）。

表 2.6.2.2-2　トピロキソスタット代謝物の XOR 阻害作用

	IC_{50} 値
N_1-グルクロン酸抱合体	> 100 μmol/L
N_2-グルクロン酸抱合体	> 100 μmol/L
N-オキサイド体	13 μmol/L

100 μmol/L キサンチン，0.2 mmol/L EDTA を含む 100 mmol/L ピロリン酸ナトリウム緩衝液（pH 8.5）に種々の濃度のトピロキソスタット代謝物を加え 25℃で 5 分間インキュベートした後，3.2 mU/mL の XOR を添加して反応を開始した。295 nm の吸光度変化の初速を反応の指標とし，IC_{50} 値はプロビット法により算出した。

2.6.2.2.3. アルデヒドオキシダーゼ及びプリン・ピリミジン代謝酵素に対する影響
（試験番号：F0638，F0526）[資料 4.2.1.1-5, 6]

XOR の類縁酵素であるアルデヒドオキシダーゼ及び XOR 以外のプリン・ピリミジン代謝酵素への影響を検討した。トピロキソスタットは 100 μmol/L においていずれの酵素に対しても阻害率が 10%未満であり，阻害作用を示さなかった（表 2.6.2.2-3）。

表 2.6.2.2-3 アルデヒドオキシダーゼ及びプリン・ピリミジン代謝酵素に対する作用

	阻害率% (100 μmol/L)
アルデヒドオキシダーゼ	3.4 ± 4.4
プリンヌクレオシドホスホリラーゼ (PNP)	8.7 ± 7.2
グアニンデアミナーゼ	7.0 ± 5.4
ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT)	-4.4 ± 1.5
オロト酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (OPRT)	-3.3 ± 10.4
オロチジン 5'一リン酸デカルボキシラーゼ (OMPDC)	-1.7 ± 5.5

表中の各値は3例の平均値±標準偏差を示す。

アルデヒドオキシダーゼ活性は 5 mmol/L 1-メチルニコチンアミド，30 μmol/L アロプリノール及び酵素としてミニブタ肝臓ホモジネートの遠心上清を含む25℃の 160 mmol/L グリシン緩衝液 (pH 9.5) 中で1-メチルニコチンアミドからのピリドン生成を分光学的に測定した。

PNP 活性は 70 μmol/L 7-メチルグアノシン，3 mU/mL の PNP を含む 25℃の 50 mmol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) 中で 7-メチルグアノシンからの 7-メチルグアニン生成を分光学的に測定した。

グアニンデアミナーゼ活性は 1.25 mmol/L の 8-アザグアニン，80 mU/mL のグアニンデアミナーゼを含む 37℃の 50 mmol/L ビシン溶液中で 8-アザグアニンから 8-アザキサンチンの生成の際に生成するアンモニアを定量することにより測定した。

HGPRT 活性測定においては 1 mmol/L ヒポキサンチン，2 mmol/L ホスホリボシルピロリン酸，6 mmol/L 塩化マグネシウム及び 4 U/mL の HGPRT を含む 37℃の 50 mmol/L トリス塩酸緩衝液 (pH 7.4) 中でヒポキサンチンからイノシン酸を生成させた。アルカリホスファターゼを加え，生成したイノシンを HPLC により定量した。

OPRT 活性は 15 μmol/L オロト酸，2 mmol/L 塩化マグネシウム，0.5 mmol/L ホスホリボシルピロリン酸，1 mmol/L ジチオスレイトール，120 mU/mL OPRT 及び 250 mU/mL OMPDC を含む 25℃の 50 mmol/L トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) 中でオロト酸からのオロチジル酸生成を分光学的に測定した。

OMPDC 活性は 10 μmol/L オロチジル酸，2 mmol/L 塩化マグネシウム及び 240 mU/mL OMPDC を含む 25℃の 50 mmol/L トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) 中でオロチジル酸からのウリジル酸生成を分光学的に測定した。

2.6.2.2.4. 種々の酵素及び受容体・チャネルの結合能に対する影響

(試験番号：F0517) [資料 4.2.1.1-7]

ホスホジエステラーゼ，シクロオキシゲナーゼ，各種ペプチダーゼ等計 30 種の酵素活性に対する影響を検討した結果，トピロキソスタットはホスホジエステラーゼに対して阻害作用を示したものの，その程度は 100 μmol/L で 45%以下と弱かった。その他の酵素に対しては影響がなかった。

また，アドレナリン，ドパミン，ムスカリン，ニコチン，セロトニン，ヒスタミン，オピオイド，GABA，グルタミン酸等の受容体及びカルシウムチャネル，カリウムチャネル，ナトリウムチャネル等計 54 種の受容体・チャネルの結合能に対する影響を検討した結果，トピロキソスタットはいずれに対しても影響を示さなかった。

2.6.2.2.5. オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症ラットにおける尿酸低下作用

(試験番号：F1228) [資料 4.2.1.1-8]

雄性 Wistar ラットにオキソン酸カリウム 250 mg/kg を皮下投与して高尿酸血症モデルを作製した後，トピロキソスタット及び対照薬を経口投与した。

トピロキソスタット，アロプリノール及びフェブキソスタット経口投与 1 時間後において，いずれの投与群でも用量依存的な血中尿酸低下作用が認められた。ED_{50} 値はそれぞれ 0.21，9.4 及び 3.1 mg/kg であり，トピロキソスタットはアロプリノール及びフェブキソスタットに比べそれぞれ 45 倍及び 15 倍低値であった (図 2.6.2.2-4，表 2.6.2.2-4)。トピロキソスタッ

トは投与 6 時間後において 1～2 時間後と同等の尿酸低下作用を示した。投与 12 時間後において，アロプリノールの作用がほぼ消失し ED_{50} 値は 100 mg/kg より大きかったのに対して，トピロキソスタット及びフェブキソスタットでは作用が認められ，ED_{50} 値はそれぞれ 0.94 及び 8.1 mg/kg であった。

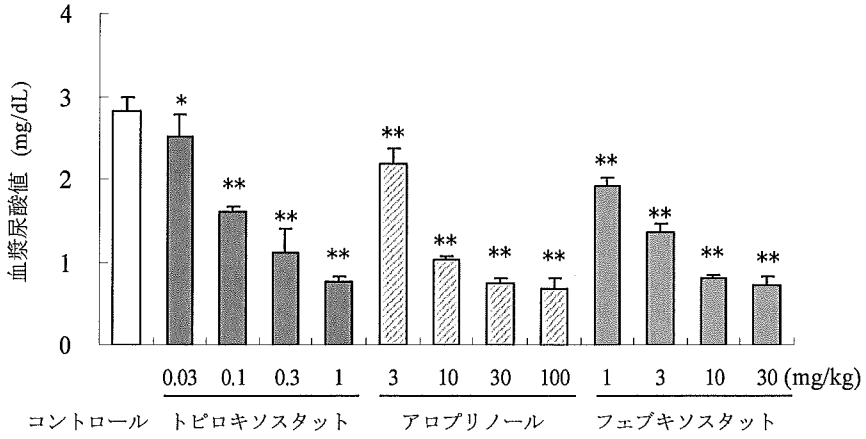


図 2.6.2.2-4 オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症ラットにトピロキソスタット，アロプリノール及びフェブキソスタット経口投与 1 時間後の血漿尿酸濃度

トピロキソスタット及び対照薬を経口投与する 1 時間前にオキソン酸カリウムを 250 mg/kg の用量で皮下投与した。投与 1 時間後に採血し，血漿中の尿酸値をリンタングステン酸法により測定した。各値は 5 例の平均値+標準偏差を示す。*，**はコントロール群に対する有意差を示す（* ; $p<0.05$, ** ; $p<0.01$，Dunnett の多重比較検定）。

表 2.6.2.2-4 オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症ラットにおけるトピロキソスタット，アロプリノール及びフェブキソスタットの尿酸低下作用の ED_{50} 値

	ED_{50} 値 (mg/kg)			
	1 時間後	2 時間後	6 時間後	12 時間後
トピロキソスタット	0.21	0.19	0.28	0.94
アロプリノール	9.4	12	35	> 100
フェブキソスタット	3.1	2.5	3.0	8.1

トピロキソスタット及び対照薬を経口投与する 1 時間前及び投与 4，10 時間後にオキソン酸カリウムを 250 mg/kg の用量で皮下投与した。投与 1，2，6 及び 12 時間後に採血し，血漿中の尿酸値をリンタングステン酸法により測定した。各投与群の平均尿酸値からコントロール群に対するトピロキソスタット及び対照薬投与群の尿酸低下率を求め，各化合物の ED_{50} 値をプロビット法により算出した。

2.6.2.2.6. オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症マウスにおける尿酸低下作用（試験番号：F1222）[資料 4.2.1.1-9]

雄性 ICR マウスにトピロキソスタット及び対照薬を経口投与し，0.5 又は 2 時間後に採血した。なお，採血の 0.5 時間前にオキソン酸カリウム 250 mg/kg を皮下投与した。

トピロキソスタット，アロプリノール及びフェブキソスタット投与 0.5 時間後において用量依存的な血中尿酸低下作用が認められ，ED_{50} 値はそれぞれ 0.23，3.7 及び 1.3 mg/kg であり，トピロキソスタットはアロプリノール及びフェブキソスタットに比べそれぞれ 16 倍及び 6 倍低値であった（図 2.6.2.2-5，表 2.6.2.2-5）。また，投与 2 時間後におけるトピロキソスタ

ット，アロプリノール及びフェブキソスタットの ED_{50} 値はそれぞれ 2.6，12 及び 2.6 mg/kg であった。

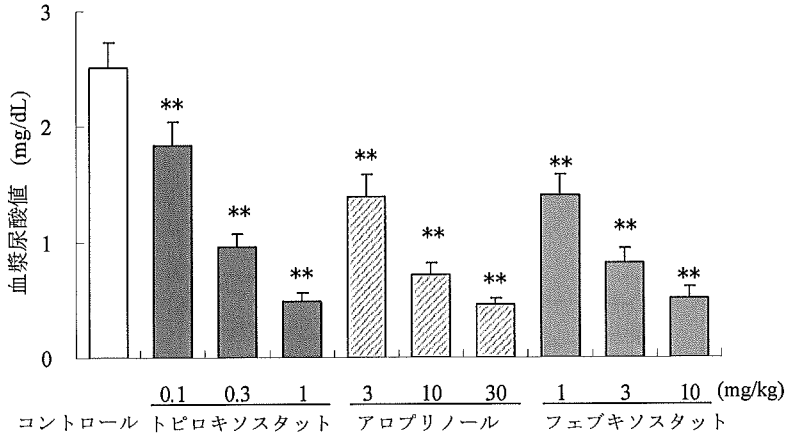


図 2.6.2.2-5 オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症マウスにトピロキソスタット，アロプリノール及びフェブキソスタットを経口投与した 0.5 時間後の血漿尿酸濃度

トピロキソスタット及び対照薬を経口投与した直後にオキソン酸カリウムを 250 mg/kg の用量で皮下投与した。0.5 時間後に採血し，血漿中の尿酸値をリンタングステン酸法により測定した。各値は 5 例の平均値+標準偏差を示す。
**はコントロール群に対する有意差を示す（$p<0.01$，Dunnett の多重比較検定）。

表 2.6.2.2-5 オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症マウスにおけるトピロキソスタット，アロプリノール及びフェブキソスタットの尿酸低下作用の ED_{50} 値

	ED_{50} 値 (mg/kg)	
	0.5 時間後	2 時間後
トピロキソスタット	0.23	2.6
アロプリノール	3.7	12
フェブキソスタット	1.3	2.6

トピロキソスタット及び対照薬を経口投与し，その 0.5 又は 2 時間後に採血し，血漿中の尿酸値をリンタングステン酸法により測定した。採血 0.5 時間前にオキソン酸カリウムを 250 mg/kg の用量で皮下投与した。各投与群の平均尿酸値からコントロール群に対するトピロキソスタット及び対照薬投与群の尿酸低下率を求め，各化合物の ED_{50} 値をプロビット法により算出した。トピロキソスタット投与 2 時間後の ED_{50} 値を算出する実験においては，0.3，1，3 及び 10 mg/kg の用量で検討した。

2.6.2.2.7. 酵母 RNA 負荷チンパンジーにおける血中尿酸低下作用及び尿中尿酸排泄量低下作用

（試験番号：F0436）[資料 4.2.1.1-10]

類人猿であり，尿酸の分解酵素であるウリカーゼを持たず，最終プリン代謝産物として尿酸を排泄するチンパンジー [2] はヒトと尿酸代謝経路が類似すると考えられる。そこで，チンパンジーを用いてトピロキソスタットの薬効を検討した。あらかじめ酵母 RNA を負荷して血中尿酸濃度を高めた雄性チンパンジーを一晩絶食し，トピロキソスタットを 1 mg/kg 経口投与した。7～8 日間の回復期間をおいた後，再度酵母 RNA を負荷し，アロプリノール 5

mg/kg を経口投与して同様に測定した。トピロキソスタットは投与後持続的な血中尿酸低下作用を示し，投与前に対する投与後 6 及び 24 時間における尿酸低下率は 30 及び 41%であった。一方，アロプリノール投与後 6 及び 24 時間における尿酸低下作用はトピロキソスタットに比べて弱く，低下率はそれぞれ 19 及び 16%であった（図 2.6.2.2-6）。また，トピロキソスタット投与により 0～24 及び 24～48 時間の尿中尿酸排泄量の減少が認められたが，アロプリノール投与ではその変化がトピロキソスタットに比べて小さかった（表 2.6.2.2-6）。

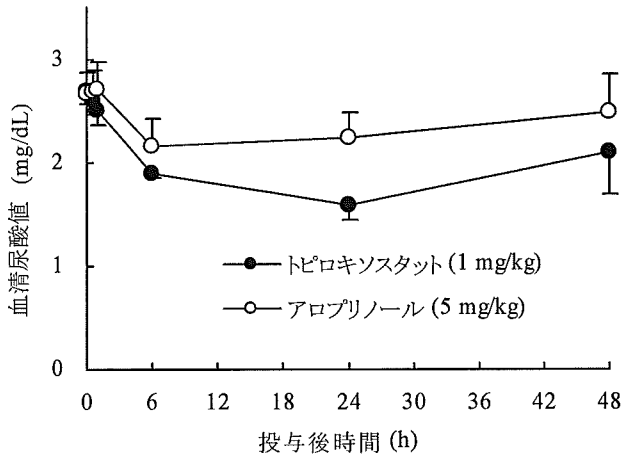


図 2.6.2.2-6 酵母 RNA を負荷したチンパンジーにおけるトピロキソスタット及びアロプリノールの血中尿酸低下作用

酵母 RNA を 120～480 mg/kg/日の用量で化合物投与前 8～18 日間，投与日及び投与翌日の計 10～20 日間混餌投与し，高尿酸血症を誘発させた。トピロキソスタット及びアロプリノールを経口投与し，その 0，0.5，1，6，24 及び 48 時間後に採血した。血清尿酸値をウリカーゼ法により測定した。各値は 3 例の平均値±標準偏差を示す。

表 2.6.2.2-6 酵母 RNA を負荷したチンパンジーの尿中尿酸排泄量に対するトピロキソスタット及びアロプリノールの影響

	投与前 24 時間の尿酸排泄量と比較した減少率(%)	
	0～24 時間	24～48 時間
トピロキソスタット (1 mg/kg)	24.8±15.8	31.7±9.5
アロプリノール (5 mg/kg)	9.0±4.6	4.5±29.2

酵母 RNA を 120～480 mg/kg/日の用量で化合物投与前 8～18 日間，投与日及び投与翌日の計 10～20 日間混餌投与し，高尿酸血症を誘発させた。トピロキソスタット及びアロプリノールを経口投与し，投与時点を 0 時間として，-24～0，0～24 及び 24～48 時間の各 24 時間で蓄尿した。尿中尿酸値をウリカーゼ法により測定し，尿中尿酸排泄量を求めた。-24～0 時間の尿中尿酸排泄量に対する 0～24 及び 24～48 時間の排泄量の低下率を算出した。各値は 3 例の平均値±標準偏差を示す。

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.3.副次的薬理試験

副次的薬理作用に該当する試験は行わなかった。

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.4. 安全性薬理試験

2.6.2.4.1. 中枢神経系

(1) ラット Irwin 試験

(試験番号：[redacted]007) [資料 4.2.1.3-1]

トピロキソスタットを雄性 Wistar 系ラットに 30, 100 及び 300 mg/kg の用量で経口投与し，行動及び一般状態のスコア化並びに体温・自発運動量を測定した。また，投与後 7 日目まで死亡と遅延性毒性の有無について観察した。

トピロキソスタットの 30，100 及び 300 mg/kg のいずれの群においても，対照群と比べて行動及び一般状態並びに体温・自発運動量に変化は認められなかった。また，投与後 7 日目までの観察で死亡及び毒性兆候は見られなかった。

2.6.2.4.2. 心血管系

(1) hERG 電流に対する作用

(試験番号：[redacted]030926) [資料 4.2.1.3-2]

hERG (human Ether-a-go-go Related Gene)を発現させた HEK293 細胞を用いて，このイオンチャネル電流に対するトピロキソスタット（4，20，100 μmol/L）の作用を検討した。なお，トピロキソスタットの高濃度には溶解限界濃度を設定した。

トピロキソスタットは 100 μmol/L の濃度まで hERG テール電流に影響を及ぼさなかった（表 2.6.2.4-1）。

表 2.6.2.4-1 hERG 電流に対するトピロキソスタット及び E-4031 の作用

被験物質又は陽性対照薬	濃度 (μmol/L)	化合物投与前値に対する相対値%
コントロール	-	88.5 ± 4.1
トピロキソスタット	4	89.5 ± 5.8
	20	87.6 ± 5.1
	100	83.4 ± 2.0
E-4031	0.1	4.7 ± 2.6 #

コントロール及びトピロキソスタット投与群は 0.1%DMSO を含む。E-4031 は陽性対照薬として使用した。
#：コントロールと比較して Student t 検定で有意差あり ($p<0.05$)。
各値は 5 例の平均値±標準偏差を示す。

(2) モルモット心筋活動電位に対する作用

(試験番号：[redacted]030925) [資料 4.2.1.3-3]

雄性 Hartley 系モルモットの右心室から摘出した乳頭筋を用いて，活動電位における静止膜電位（RMP），活動電位振幅（APA），活動電位のそれぞれ 50 及び 90%再分極持続時間（APD_{50} 及び APD_{90}）及び最大立ち上がり速度（Vmax）に対するトピロキソスタット（4, 20, 100 μmol/L）の影響を検討した。なお，トピロキソスタットの高濃度には溶解限界濃度を設定した。

トピロキソスタット 20 μmol/L の濃度までいずれの評価項目にも影響はなかったが，100 μmol/L では RMP 及び APA がわずかに減少し，APD_{50} 及び APD_{90} が短縮した。Vmax には影響を及ぼさなかった（表 2.6.2.4-2）。

表 2.6.2.4-2 モルモット心筋活動電位に対するトピロキソスタット及びソタロールの作用

被験物質又は陽性対照薬	濃度 (μmol/L)	化合物投与前値に対する相対値%				
		RMP	APA	APD_{50}	APD_{90}	Vmax
コントロール	-	100.4 ± 0.9	99.9 ± 0.3	99.5 ± 0.8	99.5 ± 0.6	100.6 ± 0.7
トピロキソスタット	4	99.6 ± 0.6	100.0 ± 0.5	98.0 ± 0.9	98.6 ± 0.9	103.3 ± 5.1
	20	99.5 ± 0.6	99.8 ± 0.9	95.4 ± 5.0	96.1 ± 4.5	103.5 ± 3.3
	100	97.2 ± 1.6 *	98.1 ± 1.2 #	58.1 ± 29.3 #	64.7 ± 25.9 #	105.3 ± 6.3
ソタロール	30	100.2 ± 1.1	99.9 ± 0.6	119.9 ± 8.1 $	123.4 ± 8.0 $	99.4 ± 2.9

いずれの投与群も 0.1%DMSO を含む。ソタロールは陽性対照薬として使用した。
*：コントロールと比較してパラメトリックな Dunnett 検定で有意差あり（$p<0.05$）。
#：コントロールと比較してノンパラメトリックな Dunnett 検定で有意差あり（$p<0.05$）。
$：コントロールと比較して Aspin-Welch t 検定で有意差あり（$p<0.05$）。
各値は 6 例の平均値±標準偏差を示す。

(3) イヌ循環器系に対する作用

(試験番号：[redacted]008) [資料 4.2.1.3-4]

トピロキソスタットを雌雄ビーグル犬に 3，10 及び 30 mg/kg の用量で経口投与し，投与後 12 時間まで血圧，心拍数及び第 II 誘導心電図を遠隔測定法でモニターした。

30 mg/kg で投与後 0～2 時間にごく軽度な心拍数増加（心拍数は，媒体対照群の 75 回/分に対して，30 mg/kg 群で 88 回/分）が観察されたものの，持続的な変動ではなく，血圧，第 II 誘導心電図等には影響は見られなかった。10 mg/kg 以下の用量では何ら影響は認められなかった。

2.6.2.4.3. 呼吸系

(1) ラット呼吸系に対する作用

(試験番号：[redacted]009) [資料 4.2.1.3-5]

トピロキソスタットを雄性 Wistar ラットに 30，100 及び 300 mg/kg の用量で経口投与し，呼吸機能に及ぼす影響を全身プレスチモグラフィー法により検討した。

トピロキソスタット 300 mg/kg 群の投与後 150 分の分時呼吸量について対照群との間に有意差が認められた。しかしながら，当該時点と前後の時点の測定値を比較してほとんど変動は認められなかった。一方，対照群の投与後 150 分値は前後値と比べて低かった（表 2.6.2.4-3）。

表 2.6.2.4-3 トピロキソスタットのラット呼吸系試験における分時呼吸量の値

群	投与	用量	分時呼吸量 (mL)					
		(mg/kg)	投与前	投与後 30 分	投与後 90 分	投与後 150 分	投与後 300 分	投与後 24 時間
1	溶媒	-	408 ±55.2	318 ±65.2	211 ±50.5	192 ±56.9	259 ±54.8	315 ±42.1
4	トピロキソスタット	300	427 ±44.1	292 ±49.6	244 ±32.9	251** ±24.5	240 ±15.8	312 ±46.0

**：溶媒と比較して Williams の検定で有意差あり（$p<0.01$）
各値は 8 例の平均値±標準偏差を示す。

2.6.2. 薬理試験の概要文

当該試験の行われた2002年に試験実施施設で実施された5試験（本試験を除く）における対照群の投与150分後の分時呼吸量の平均値はそれぞれ221，233，208，253及び206 mLであり，本試験の対照群の値はこれらの値より低値であった。したがって，本試験で認められた300 mg/kg投与群の分時呼吸量の有意差については，対照群の低値に起因した偶発的なものであり，投与起因性の可能性は低いものと推察された。

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.5. 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用に該当する試験は行わなかった。

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.6. 考察及び結論

精製したウシミルクXORを用いて，阻害作用を調べたところ，トピロキソスタットはアロプリノールと同様にXORとのプレインキュベーションがないとき，阻害が次第に強くなる時間依存的な阻害を示した。アロプリノールの時間依存的な阻害は代謝物であるオキシプリノールがXORの反応中心であるモリブデンと複合体を形成し，その複合体が徐々に蓄積するために起こるとされている［3］。トピロキソスタットも同様に，モリブデンとの複合体形成による阻害が予想された。X線結晶構造解析によりXORとの結合様式を検討した結果，トピロキソスタットは基質としてXORのモリブデンに対して強く結合し，安定な反応中間体を形成することが示された［1，4，5］。XOR阻害におけるプレインキュベーションの影響を検討した結果，トピロキソスタットによる阻害はアロプリノールやフェブキソスタットと異なり増強が認められた。プレインキュベーション時もトピロキソスタットとモリブデンとの複合体形成が阻害作用の発現に寄与すると考えられた。アロプリノールの場合は，基質によって酸化型から還元型となったモリブデンとオキシプリノールが共有結合することにより阻害作用を発現する［6］。したがって，モリブデンが酸化型の状態であるプレインキュベーション時はオキシプリノールが複合体を形成できず，アロプリノールによる阻害が増強しなかったと考えられた。

トピロキソスタット及び対照薬によるXOR阻害の初期相（フェブキソスタットは定常状態）を用い，モリブデンとの相互作用の影響を除外した条件で，Lineweaver-Burkプロット解析を行った。その結果，トピロキソスタットはXORに対して競合型の阻害を示し，Ki値は5.1 nmol/Lであり，アロプリノールに比べ約100倍強かった。X線結晶構造解析［1］で示されたように，トピロキソスタットは反応機構に基づく阻害のほかに，複数のアミノ酸残基との相互作用による構造に基づく阻害も併せ持つことから，酵素反応の初速度を指標とした検討においてもXORを強く阻害したと考えられた。また，フェブキソスタットは基質結合ポケット内のアミノ酸残基との相互作用により阻害作用を発現する［7］とされているが，混合型の阻害を示し，定常状態におけるKi及びKi'値はトピロキソスタットの初期相におけるKi値よりも小さかった。

以上，トピロキソスタットはアロプリノールと同様に XOR の反応中心であるモリブデンと共有結合し反応中間体を形成すると共に，フェブキソスタットと同じく基質結合ポケット内のアミノ酸残基との相互作用も有しており，2 つの異なる機序を併せ持つ，従来にないハイブリッド型の XOR 阻害薬であることが示された。

オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症ラット及びマウスにおいて，トピロキソスタットはアロプリノール及びフェブキソスタットに比べ低用量から尿酸低下作用を示した。ラットを用いた評価においては対照薬であるアロプリノール及びフェブキソスタットと比べ，10 倍以上の用量比で同程度の尿酸低下作用が認められた。また，マウスにおける尿酸低下作用も類似した結果であった。更に，酵母 RNA を負荷して血中尿酸濃度を高めたチンパンジーにおいてもトピロキソスタットはアロプリノールに比べ低用量で尿酸低下作用を示した。以上，2 種のげっ歯類及びチンパンジーにおいてトピロキソスタットによる尿酸低下作用が確認された。前述のように，本薬の XOR 阻害には Ki 値で表される阻害（モリブデンとの相互作用以外の機序による阻害）のみではなく，モリブデンとの結合に基づく機構も関与し，両者を合わせたものが総合的な酵素阻害の強さを示すと考えられる。*In vivo* ではトピロキソスタット

が有する2つの異なった作用が複合的に働き,低用量から薬効を発現したことが考えられる。

アロプリノールやオキシプリノールは XOR 以外の核酸代謝酵素によって代謝され，これら代謝物も含め種々のプリン・ピリミジン代謝酵素を阻害することが報告されている[8-10]。また，PNP の阻害はリンパ球機能に異常をもたらし免疫反応に影響することが示唆されている［11]。トピロキソスタットは高濃度においても PNP を含む核酸代謝酵素に対して阻害作用を示さなかったことから，XOR に対して高い選択性を有するものと考えられた。

イヌ循環器系に対する影響を検討した結果，30 mg/kg で投与後 0～2 時間にごく軽度な心拍数増加が観察された。また，モルモット心筋活動電位に対する影響を検討した結果，100 μmol/L で RMP 及び APA がわずかに減少し，APD_{50} 及び APD_{90} の短縮が認められた。イヌでみられた心拍数の増加は，2 時間以降は認められなかったことから持続的な変動ではないと考えられた。また，30 mg/kg までの投与量で血圧変化及びイヌ第 II 誘導心電図における QT あるいは QTc 間隔に対する影響は見られなかった。一方,イヌの 13 週間投与毒性試験(2.6.6.3.5.項）における 100 mg/kg までの用量及びサルの 52 週間投与毒性試験（2.6.6.3.7.項）における 300 mg/kg までの用量で心拍数及び心電図検査の異常は認められていない。ヒトにトピロキソスタットを 60 及び 180 mg 単回投与した場合でも，QT/QTc 延長作用は認められなかった（2.7.6.4.1.項)。hERG 電流に悪影響を及ぼさなかった結果も合わせると，トピロキソスタットは臨床において循環器系に影響し，致死性の不整脈を引き起こす可能性は低いものと考えられる。

2.6.2.7. 図表

図表は，各項の本文中の適切な場所に挿入した。

2. 6. 2. 8. 参考文献

[1] Okamoto K, Matsumoto K, Hille R, Eger BT, Pai EF, Nishino T. The crystal structure of xanthine oxidoreductase during catalysis: Implications for reaction mechanism and enzyme inhibition. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101(21): 7931-7936. [4.3.1.1]

[2] Fanelli Jr GM, Bohn DL, Reilly SS, Renal urate transport in the chimpanzee. Am J Physiol 1971; 220(3): 613-620. [4.3.1.2]

[3] Massey V, Komai H, Palmer G, Elion GB. On the mechanism of inactivation of xanthine oxidase by allopurinol and other pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines. J Biol Chem 1970; 245(11): 2837-2844. [4.3.1.3]

[4] 岡本 研. 尿酸生成抑制薬. 高尿酸血症・痛風 Update, 日本臨床 2008; 66(4): 748-753. [4.3.1.4]

[5] 松本 浩二. 新規高尿酸血症・痛風治療薬トピロキソスタットのキサンチン酸化還元酵素阻害機構. 高尿酸血症, BIO Clinica 2012; 27(2): 51-56. [4.3.1.5]

[6] Okamoto K, Eger BT, Nishino T, Pai EF, Nishino T. Mechanism of inhibition of xanthine oxidoreductase by allopurinol: crystal structure of reduced bovine milk xanthine oxidoreductase bound with oxipurinol. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 2008; 27(6): 888-893. [4.3.1.6]

[7] Okamoto K, Eger BT, Nishino T, Kondo S, Pai EF, Nishino T. An extremely potent inhibitor of xanthine oxidoreductase. J Biol Chem 2003; 278(3): 1848-1855. [4.3.1.7]

[8] Nishida Y, Kamatani N, Tanimoto K, Akaoka I. Inhibition of purine nucleoside phosphorylase activity and of T-cell function with allopurinol-riboside. Agents Actions 1979; 9(5/6): 549-552. [4.3.1.8]

[9] Fyfe JA, Miller RL, Krenitsky TA. Kinetic properties and inhibition of orotidine 5'-phosphate decarboxylase. Effects of some allopurinol metabolites on the enzyme. J Biol Chem 1973; 248(11): 3801-3809. [4.3.1.9]

[10] Krenitsky TA, Elion GB, Strelitz RA, Hitchings GH. Ribonucleosides of allopurinol and oxoallopurinol. Isolation from human urine, enzymatic synthesis, and characterization. J Biol Chem 1967; 242(11): 2675-2682. [4.3.1.10]

[11] 崎山 武志. プリンヌクレオシドホスホリラーゼ (PNP). 尿酸代謝異常症, 日本臨床 1996; 54(12): 3220-3225. [4.3.1.11]

トピロキソスタット

トピロリック錠 20mg，40mg，60mg
ウリアデック錠 20mg，40mg，60mg

第 2 部（モジュール 2）
2.6　非臨床概要文及び概要表
2.6.3　薬理試験概要表

株式会社　富士薬品
株式会社　三和化学研究所

2.6.3. 薬理試験概要表

略語一覧

略語	省略していない表現
APA	活動電位振幅
APD_{50}	50%再分極持続時間
APD_{90}	90%再分極持続時間
ED_{50}	50%有効用量
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HEK293 細胞	ヒト胎児腎細胞
hERG	human Ether-a-go-go Related Gene
HGPRT	ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ
IC_{50}	50%阻害濃度
Ki, Ki'	阻害定数
PDE	ホスホジエステラーゼ
PNP	プリンヌクレオシドホスホリラーゼ
OMPDC	オロチジン 5'一リン酸デカルボキシラーゼ
OPRT	オロト酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ
QT	心室の興奮開始（Q 波）から終了（T 波）までの電気的収縮時間
QTc	補正 QT 間隔
RMP	静止膜電位
RNA	リボ核酸
Vmax	最大立ち上がり速度
XOR	キサンチン酸化還元酵素

2.6.3. 薬理試験概要表

目　次

2.6.3.薬理試験概要表 ····· 4
2.6.3.1.薬理試験：一覧表 ····· 4
2.6.3.2.効力を裏付ける試験 ····· 6
2.6.3.3.副次的薬理試験 ····· 8
2.6.3.4.安全性薬理試験 ····· 9
2.6.3.5.薬力学的薬物相互作用試験 ····· 10

2.6.3.1. 薬理試験：一覧表（その1）

被験物質：トピロキソスタット

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	資料番号
効力を裏付ける試験					
XOR 阻害作用（1）酵素阻害活性及び阻害様式	ウシミルクから精製した XOR	*In vitro*	富士薬品	F1256	4.2.1.1-1
				F1280	4.2.1.1-2
XOR 阻害作用（2）阻害メカニズム	ウシミルクから精製した XOR	*In vitro*	[redacted]	F0474	4.2.1.1-3 （参考資料）
代謝物の XOR 阻害作用	粗精製ウシミルク XOR（市販品）	*In vitro*	富士薬品	F1291	4.2.1.1-4
アルデヒドオキシダーゼ及びプリン・ピリミジン代謝酵素に対する影響	アルデヒドオキシダーゼ PNP	*In vitro*	富士薬品	F0638	4.2.1.1-5
	グアニンデアミナーゼ HGPRT OPRT OMPDC	*In vitro*	富士薬品	F0526	4.2.1.1-6
種々の酵素及び受容体・チャネルの結合能に対する影響	各種酵素，受容体，チャネル	*In vitro*	[redacted]	F0517	4.2.1.1-7
オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症ラットにおける尿酸低下作用	雄性 Wistar ラット	経口	富士薬品	F1228	4.2.1.1-8
オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症マウスにおける尿酸低下作用	雄性 ICR マウス	経口	富士薬品	F1222	4.2.1.1-9
酵母 RNA 負荷チンパンジーにおける血中尿酸低下作用及び尿中尿酸排泄量低下作用	雄性チンパンジー	経口	三和化学研究所旧熊本霊長類パーク 富士薬品	F0436	4.2.1.1-10

2.6.3.1.薬理試験：一覧表（その 2）　　被験物質：トピロキソスタット

試験の種類	試験系	投与方法	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
安全性薬理試験						
中枢神経系						
ラット Irwin 試験	雄性 Wistar ラット	経口	適	[redacted]	[redacted]007	4.2.1.3-1
心血管系						
hERG 電流に対する作用	hERG 発現 HEK293 細胞 （ホールセルパッチクランプ）	*In vitro*	適	[redacted]	[redacted]30926	4.2.1.3-2
モルモット心筋活動電位に対する作用	雄性 Hartley モルモット 摘出乳頭筋	*In vitro*	適	[redacted]	[redacted]30925	4.2.1.3-3
イヌ循環器系に対する作用	雌雄ビーグルイヌ （覚醒下テレメトリー）	経口	適	[redacted]	[redacted]008	4.2.1.3-4
呼吸系						
ラット呼吸系に対する作用	雄性 Wistar ラット （全身プレスチモグラフィー）	経口	適	[redacted]	[redacted]009	4.2.1.3-5

2.6.3.2. 効力を裏付ける試験（その 1）　　被験物質：トピロキソスタット

試験項目	試験系（例数）	投与方法	試験成績						試験番号（資料番号）
			トピロキソスタット		アロプリノール		フェブキソスタット		
			濃度	結果	濃度	結果	濃度	結果	
XOR 阻害作用及び特異性									
XOR 阻害作用（1）酵素阻害活性及び阻害様式	ウシミルク XOR (3)	*In vitro*	10, 20, 30, 40 nmol/L	競合型の阻害 Ki 値：5.1 nmol/L	2, 3, 4, 6 µmol/L	競合型の阻害 Ki 値：560 nmol/L	1, 1.5, 2 nmol/L	混合型の阻害 Ki 値：0.34 nmol/L Ki'値：2.0 nmol/L	F1256 (4.2.1.1-1) F1280 (4.2.1.1-2)
代謝物の XOR 阻害作用	ウシミルク XOR (3)	*In vitro*	IC_{50} 値：トピロキソスタットの N_1-及び N_2-グルクロン酸抱合体　＞100 µmol/L トピロキソスタットの N-オキサイド体　13 µmol/L						F1291 (4.2.1.1-4)
アルデヒドオキシダーゼ及びプリン・ピリミジン代謝酵素に対する影響	アルデヒドオキシダーゼ，PNP (各 3)	*In vitro*	100 µmol/L	阻害を示さなかった	100 µmol/L	阻害を示さなかった（PNP）	100 µmol/L	阻害を示さなかった	F0638 (4.2.1.1-5)
	グアニンデアミナーゼ HGPRT OPRT OMPDC (各 3)	*In vitro*	100 µmol/L	阻害を示さなかった	100 µmol/L	阻害を示さなかった	100 µmol/L	阻害を示さなかった	F0526 (4.2.1.1-6)
種々の酵素及び受容体・チャネルの結合能に対する影響	各種酵素，受容体及びチャネル (各 2)	*In vitro*	10 又は 100 µmol/L	PDE に対して 100 µmol/L で 45%以下の阻害あり その他には影響なし					F0517 (4.2.1.1-7)

2.6.3.2. 効力を裏付ける試験（その 2）　　被験物質：トピロキソスタット

試験項目	動物（例数）	投与方法	試験成績						試験番号（資料番号）
			トピロキソスタット		アロプリノール		フェブキソスタット		
			投与量	結果	投与量	結果	投与量	結果	
尿酸低下作用									
オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症ラットにおける尿酸低下作用	雄性 Wistar ラット (5)	経口	0.03, 0.1, 0.3, 1 mg/kg	ED_{50}値 (mg/kg) 1 時間：0.21 2 時間：0.19 6 時間：0.28 12 時間：0.94	3, 10, 30, 100 mg/kg	ED_{50}値 (mg/kg) 1 時間：9.4 2 時間：12 6 時間：35 12 時間：> 100	1, 3, 10, 30 mg/kg	ED_{50}値 (mg/kg) 1 時間：3.1 2 時間：2.5 6 時間：3.0 12 時間：8.1	F1228 (4.2.1.1-8)
オキソン酸カリウム誘発高尿酸血症マウスにおける尿酸低下作用	雄性 ICR マウス (5)	経口	0.1, 0.3, 1, 3, 10 mg/kg	ED_{50}値 (mg/kg) 0.5 時間：0.23 2 時間：2.6	3, 10, 30 mg/kg	ED_{50}値 (mg/kg) 0.5 時間：3.7 2 時間：12	1, 3, 10 mg/kg	ED_{50}値 (mg/kg) 0.5 時間：1.3 2 時間：2.6	F1222 (4.2.1.1-9)
酵母 RNA 負荷チンパンジーにおける血中尿酸低下作用及び尿中尿酸排泄量低下作用	雄性チンパンジー (3)	経口	1 mg/kg	血中尿酸低下率 6 時間：30% 24 時間：41%	5 mg/kg	血中尿酸低下率 6 時間：19% 24 時間：16%			F0436 (4.2.1.1-10)

2.6.3. 薬理試験概要表

2.6.3.3. 副次的薬理試験

副次的薬理作用に該当する試験は行わなかった。

2.6.3.4. 安全性薬理試験

被験物質：トピロキソスタット

評価対象となる組織，評価項目		動物種/系統（例数）	投与方法	濃度又は投与量	特記すべき所見	GLP適用	試験番号（資料番号）
中枢神経系	一般状態，体温及び自発運動量（Irwin 法）	雄性 Wistar ラット (4)	経口	30, 100, 300 mg/kg	影響なし	適	[redacted]007 (4.2.1.3-1)
心血管系	hERG 電流	hERG 発現 HEK293 細胞 (5)	*In vitro*	4, 20, 100 μmol/L	影響なし	適	[redacted]30926 (4.2.1.3-2)
	摘出乳頭筋活動電位持続時間	雄性 Hartley モルモット (6)	*In vitro*	4, 20, 100 μmol/L	20 μmol/L まで影響なし 100 μmol/L で APD_{50} 及び APD_{90} が短縮，RMP 及び APA がわずかに減少 Vmax には影響なし	適	[redacted]30925 (4.2.1.3-3)
	心拍数，血圧及び心電図（QT，QTc 間隔）	ビーグルイヌ (4) 雌雄各 2 匹	経口	3, 10, 30 mg/kg	30 mg/kg で投与後 0～2 時間にごく軽度な心拍数増加 血圧及び心電図には影響なし	適	[redacted]008 (4.2.1.3-4)
呼吸系	呼吸数，1 回換気量及び分時呼吸量	雄性 Wistar ラット (8)	経口	30, 100, 300 mg/kg	300 mg/kg の投与後 150 分でのみ分時呼吸量が増加 呼吸数及び 1 回換気量には影響なし	適	[redacted]009 (4.2.1.3-5)

2.6.3. 薬理試験概要表

2.6.3.5. 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用に該当する試験は行わなかった。