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　ムスカリン受容体結合親和性（*in vitro*）----4
2.6.2.1.2　ムスカリン受容体サブタイプ 3（M3）に対する結合親和性の速度論的解析（*in vitro*）----4
2.6.2.1.3　モルモット摘出回腸標本収縮反応に対する作用（*in vitro*）----4
2.6.2.1.4　ウサギ散瞳作用（*in vivo*）----5
2.6.2.1.5　ラット発汗抑制作用（*in vivo*）----5
2.6.2.1.6　副次的薬理試験----5
2.6.2.1.7　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　ムスカリン受容体結合親和性（*in vitro*）----6
2.6.2.2.2　ムスカリン受容体サブタイプ 3（M3）に対する結合親和性の速度論的解析（*in vitro*）----7
2.6.2.2.3　モルモット摘出回腸標本収縮反応に対する作用（*in vitro*）----8
2.6.2.2.4　ウサギ散瞳作用（*in vivo*）----9
2.6.2.2.5　ラット発汗抑制作用（*in vivo*）---- 11
2.6.2.3　副次的薬理試験---- 13
2.6.2.3.1　各種分子に対する作用の網羅的解析（*in vitro*）---- 13
2.6.2.3.2　モルモット摘出回腸標本収縮反応に対する BBI-4000 代謝物（BBI-4010）の作用（*in vitro*）---- 16
2.6.2.4　安全性薬理試験---- 16
2.6.2.4.1　中枢神経系に対する作用---- 16
2.6.2.4.2　心血管系・呼吸器系に対する作用 ---- 17
2.6.2.4.2.1 イヌを用いた単回静脈内投与試験 ---- 17
2.6.2.4.2.2 ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（DB20 製剤）---- 19
2.6.2.4.3　hERG I_{Kr} 電流に対する作用---- 20
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 ---- 20
2.6.2.6　考察及び結論---- 20
2.6.2.7　図表---- 21
2.6.2.8　引用文献---- 21

表 2.6.2.2-1　BBI-4000、BBI-4000 を構成する各エピマー及びグリコピロニウム臭化物のムスカリン受容体結合親和性---- 6
表 2.6.2.2-2 BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物のムスカリン受容体サブタイプ 3（M3）に対する結合反応の各種パラメータ---- 7
表 2.6.2.2-3　BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物のカルバミルコリン誘発モルモット摘出回腸収縮反応に対する阻害作用（Schild plot 解析）---- 8

表 2.6.2.2-4　BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物の散瞳作用 ---------- 10
表 2.6.2.2-5　BBI-4000 のラット発汗抑制作用 ---------- 12
表 2.6.2.3-1　網羅的解析に用いた酵素、受容体、イオンチャネル及びトランスポーター一覧（90 項目） ---------- 14
表 2.6.2.3-2　BBI-4010 及び BBI-4000 のカルバミルコリン誘発モルモット摘出回腸収縮反応に対する阻害作用 ---------- 16
表 2.6.2.4-1　BBI-4000 のラット中枢神経系に対する作用 ---------- 17
表 2.6.2.4-2　BBI-4000 のイヌ心血管系・呼吸器系に対する作用 ---------- 18
表 2.6.2.4-3　BBI-4000 のイヌ テレメトリー試験でのトキシコキネティクスに関する試験成績 ---------- 19
表 2.6.2.4-4　BBI-4000 のミニブタ心血管系に対する作用 ---------- 19
表 2.6.2.4-5　BBI-4000 の hERG I_{Kr} 電流に対する作用 ---------- 20

図 2.6.2.2-1　BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物の散瞳作用 ---------- 10
図 2.6.2.2-2　BBI-4000 のラット発汗抑制作用 ---------- 12

用語及び略語一覧

略号	省略していない表現
AUC	Area under the plasma concentration-time curve（血漿中濃度－時間曲線下面積）
AUC_{last}	投与後 0 時間から最終測定時点までの AUC
CHO-K1 細胞	チャイニーズハムスター卵巣（Chinese hamster ovary, CHO）-K1 細胞
C_{max}	Maximum concentration（最高血漿中濃度）
CR 値	試験物質適用時の EC_{50}/媒体適用時の EC_{50}
FOB	Functional observational battery（機能観察総合評価法）
hERG	Human ether-a-go-go related gene（ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子）
IC_{50}	50% inhibitory concentration（50%抑制濃度）
I_{Kr}	遅延整流 K^+チャネルの速い成分
K_i	阻害定数
k_{off}	解離速度定数
k_{on}	結合速度定数
M	単位として使用する場合、「mol/L」を表す
M1 ～ M5	ムスカリン受容体サブタイプ 1～5
NZW 系ウサギ	New Zealand White（ニュージーランドホワイト種）系ウサギ
pA_2	アゴニストよる濃度反応曲線を 2 倍高濃度側に平行移動させるために必要な競合的アンタゴニストのモル濃度の負の対数
SD 系ラット	Sparague Dawley 系ラット
$T_{1/2}$	Elimination half-life period（消失半減期）
T_{max}	Time to reach maximum concentration（最高血漿中濃度到達時間）

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

多汗症とは、温熱や精神的な負荷の有無に関わらず、手掌、足底及び腋窩等に大量の発汗が起こり、日常生活に支障をきたす状態であり[1]、患者のQOLを著しく低下させる疾患である。多汗症の原因となる汗はエクリン汗腺[2]から分泌される。エクリン汗腺はコリン作動性神経により調節されており、アセチルコリンがエクリン汗腺のムスカリン受容体サブタイプ3（M3）を刺激することにより発汗を誘発すると考えられている[3]。

BBI-4000（一般名：ソフピロニウム臭化物）の効力を裏付ける試験として、*in vitro* でムスカリン受容体に対する結合親和性及びモルモット摘出回腸の収縮抑制作用、*in vivo* でウサギに対する散瞳作用及びラットに対する発汗抑制作用を評価した。なお、BBI-4000は抗コリン作用を有するグリコピロニウム臭化物[4, 5]のアナログとしてBodor Laboratories社が創製した新規化合物であるため、一連の薬理試験での陽性対照化合物としてグリコピロニウム臭化物を用いた。

BBI-4000は、投与局所で抗コリン作用を示す一方で、血中に到達した後は低活性代謝物（BBI-4010）に変換されることが推定されている[6]。そのため、副次的薬理試験としてBBI-4010の抗コリン活性をモルモット摘出回腸の収縮抑制作用にて評価した。

安全性薬理試験として、*in vitro* 及び *in vivo* 試験にて、中枢神経系、呼吸器系及び心血管系に対する影響を評価した。これらの安全性薬理試験は、安全性薬理試験ガイドライン（医薬審発第902号）に基づき、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

2.6.2.1.1 ムスカリン受容体結合親和性（*in vitro*）

BBI-4000のムスカリン受容体に対する結合親和性を検討するため、ヒト組換えムスカリン受容体サブタイプ（M1、M2、M3、M4、M5）のそれぞれを発現するCHO-K1細胞を用いた[^{3}H]-N-メチルスコポラミンによる放射性リガンド結合試験を実施した。その結果、BBI-4000はM1からM5のいずれに対しても強い結合親和性を示し［阻害定数（Ki）：4.13～12.8 nmol/L］、M3に対する結合親和性が最も強かった（Ki：4.13 nmol/L）。

2.6.2.1.2 ムスカリン受容体サブタイプ3（M3）に対する結合親和性の速度論的解析（*in vitro*）

M3に対する結合親和性の速度論的解析として、M3を発現するCHO-K1細胞の膜画分を用いて、BBI-4000の[^{3}H]-N-メチルスコポラミンに対する競合阻害反応を経時的に評価し、M3に対する結合速度定数（k_{on}）、解離速度定数（k_{off}）及び解離半減期を算出した。その結果、BBI-4000のk_{on}はグリコピロニウム臭化物と同程度であった（4.61×10^7 $M^{-1}\,min^{-1}$）。一方、k_{off}はグリコピロニウム臭化物に比して大きく（0.149 min^{-1}）、解離半減期は短かった（4.66 min）。

2.6.2.1.3 モルモット摘出回腸標本収縮反応に対する作用（*in vitro*）

In vitro でのBBI-4000の抗コリン作用を検討するため、モルモット（Hartley系雄性）摘出回腸収縮反応に対するBBI-4000の作用を検討した。その結果、BBI-4000は、ムスカリン受容体アゴニストであるカルバミルコリンにより誘発されるモルモット摘出回腸標本の収縮反応に対して、競合的阻害型の抗コリン剤であるグリコピロニウム臭化物と同様に濃度依存的な阻害作用を示した（pA_2：8.53）。

2.6.2.1.4　ウサギ散瞳作用（*in vivo*）

In vivo での BBI-4000 の抗コリン作用検討の一環として、BBI-4000 溶液（媒体：生理食塩液）を NZW 系雄性ウサギに点眼（単回）し、瞳孔径に及ぼす影響を検討した。その結果、BBI-4000 の 0.1%及び 1%溶液をウサギに点眼投与することにより、用量に応じた散瞳作用が示された。

2.6.2.1.5　ラット発汗抑制作用（*in vivo*）

In vivo での BBI-4000 の抗コリン作用を介した発汗抑制作用を検討するために、BBI-4000 溶液（媒体：エタノール）を SD 系雄性ラットの足蹠に塗布（単回）し、発汗に及ぼす影響を検討した。その結果、BBI-4000 の 20%溶液をラットの足蹠に塗布することにより、ムスカリン受容体アゴニストであるピロカルピン投与で誘発された発汗に対する抑制作用が示された。

2.6.2.1.6　副次的薬理試験

BBI-4000 のムスカリン受容体以外の分子に対する作用を検討するため、種々の酵素、受容体、イオンチャネル及びトランスポーター（90 項目）に対する作用の網羅的解析を実施した。その結果、BBI-4000 は、ムスカリン受容体に加え、ラット L 型 Ca^{2+}チャネルのジルチアゼム結合サイト及びベラパミル結合サイトに対して結合親和性を示した。しかし、それぞれの K_i は 7.83 及び 2.23 μmol/L であり、M3 に対する Ki（4.13 nmol/L）と比較すると 500 倍以上高値であった。また、その他の分子に対しては、10 μmol/L で明らかな作用は確認されなかった。

BBI-4000 の代謝物である BBI-4010 の抗コリン作用を BBI-4000 と比較するため、BBI-4010 のモルモット回腸の収縮に及ぼす作用を検討した。その結果、BBI-4010 はムスカリン受容体アゴニストであるカルバミルコリンにより誘発されるモルモット摘出回腸標本の収縮反応に対して阻害作用を示すものの、その IC_{50}（3.43×10^{-5} mol/L）は BBI-4000 の IC_{50}（2.77×10^{-8} mol/L）に比して 1000 倍以上高値であり、抗コリン作用は著しく減弱していることが示された。

2.6.2.1.7　安全性薬理試験

各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験にて、BB-4000 の中枢神経系、心血管系及び呼吸器系への作用を検討した。

中枢神経系に対する作用を検討するため、SD 系雌雄ラットに BBI-4000（1、5 及び 10 mg/kg/day）を 28 日間反復皮下投与した結果、Functional observational battery（FOB）パラメータに影響は認められなかった。

心血管系及び呼吸器系に対する作用を検討するため、雌性ビーグル犬に BBI-4000（0.001、0.01、0.1 及び 1 mg/kg）を単回静脈内投与した結果、BBI-4000 のもつ抗コリン作用によると考えられる心拍数増加とそれに伴う血圧及び心電図項目の変動が認められたが、その他には心血管系及び呼吸器系への影響は認められなかった。また、Sinclair 系雌雄ミニブタに BBI-4000 gel 10%（32 mg/kg/day）及び 20%（66 mg/kg/day）を 28 日間反復経皮投与した結果、心拍数及び心電図への影響は認められなかった。

更に、ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（Human ether-a-go-go related gene, hERG）遅延整流 K+チャネルの速い成分（I_{Kr}）電流に対する作用を検討した結果、BBI-4000 の hERG I_{Kr} 電

流に対する阻害率は、100 μmol/L 以上で媒体に比べ有意に高かったが、その IC_{50} は 300 μmol/L 超と推定された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 ムスカリン受容体結合親和性（*in vitro*）

資料番号 4.2.1.1-1

BBI-4000 及び BBI-4000 を構成する各エピマーのムスカリン受容体に対する結合親和性を検討した。

1. 試験方法

ヒト組換えムスカリン受容体の各種サブタイプ（M1、M2、M3、M4、M5）を発現する CHO-K1 細胞の膜画分を用いた[^{3}H]-*N*-メチルスコポラミンによる放射性リガンド結合試験を実施した。非線形最小二乗回帰分析法により得られた IC_{50} から阻害定数（Ki）を算出し、それぞれの受容体に対する結合親和性を検討した。グリコピロニウム臭化物を対照化合物として用いた。

2. 試験成績

BBI-4000 及び BBI-4000 を構成する各エピマーは、M1 から M5 のいずれに対しても強い結合親和性を示し、M3 に対する結合親和性が最も強かった。グリコピロニウム臭化物はいずれのムスカリン受容体サブタイプに対しても強い結合親和性を示した（表 2.6.2.2-1）。

表 2.6.2.2-1　BBI-4000、BBI-4000 を構成する各エピマー及びグリコピロニウム臭化物のムスカリン受容体結合親和性

化合物	Ki（nmol/L）		
	M1	M2	M3
BBI-4000	6.76 ± 0.708	12.8 ± 1.30	4.13 ± 0.518
(2*R*,3'*R*,1'*R*)-BBI-4000	6.38 ± 1.42	22.5 ± 0.878	5.57 ± 0.634
(2*R*,3'*R*,1'*S*)-BBI-4000	9.38 ± 1.60	16.8 ± 1.90	5.04 ± 0.720
グリコピロニウム臭化物	0.276 ± 0.0743	1.22 ± 0.114	0.953 ± 0.0733

化合物	Ki（nmol/L）	
	M4	M5
BBI-4000	6.08 ± 0.332	7.45 ± 0.409
(2*R*,3'*R*,1'*R*)-BBI-4000	8.57 ± 0.847	8.47 ± 1.16
(2*R*,3'*R*,1'*S*)-BBI-4000	7.19 ± 1.13	8.73 ± 1.08
グリコピロニウム臭化物	0.501 ± 0.118	1.87 ± 0.387

平均値 ± 標準誤差（n = 3）

2.6.2.2.2　ムスカリン受容体サブタイプ 3（M3）に対する結合親和性の速度論的解析（*in vitro*）

資料番号 4.2.1.1-2

放射性同位元素で標識されていない化合物の受容体に対する結合親和性の速度論的解析の手法として、放射性リガンドに対する競合阻害反応を経時的に評価する方法が報告されている[5), 7), 8)]。本方法を用いて、BBI-4000 の M3 に対する結合親和性の速度論的解析を実施し、結合反応の各種パラメータを算出した。

1. 試験方法

M3 を発現する CHO-K1 細胞の膜画分を用いて、BBI-4000 の[^{3}H]-*N*-メチルスコポラミンに対する競合阻害反応を経時的に評価し、M3 に対する結合速度定数（k_{on}）、解離速度定数（k_{off}）及び解離半減期を算出した。グリコピロニウム臭化物を対照化合物として用いた。

2. 試験成績

BBI-4000 の k_{on} はグリコピロニウム臭化物と同程度であった。一方、k_{off} はグリコピロニウム臭化物に比して約 10 倍高値を示し、解離半減期は 10 分の 1 程度であった（表 2.6.2.2-2）。

表 2.6.2.2-2　BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物のムスカリン受容体サブタイプ 3（M3）に対する結合反応の各種パラメータ

化合物	k_{on} ($\times 10^7\ M^{-1}\ min^{-1}$)	k_{off} (min^{-1})	解離半減期 (min)
BBI-4000	4.61 ± 0.0320	0.149 ± 0.00286	4.66 ± 0.0880
グリコピロニウム臭化物	2.88 ± 0.348	0.0143 ± 0.000909	48.9 ± 2.92

平均値 ± 標準誤差（n = 3）

2.6.2.2.3　モルモット摘出回腸標本収縮反応に対する作用（*in vitro*）

資料番号 4.2.1.1-3

In vitro での BBI-4000 の抗コリン作用を明らかにするため、モルモット摘出回腸収縮反応に対する BBI-4000 の作用を検討した。

1. 試験方法

マグヌス法を用い、ムスカリン受容体アゴニストであるカルバミルコリンによるモルモット（Hartley 系雄性）摘出回腸標本の収縮反応に及ぼす BBI-4000 の作用を検討した。グリコピロニウム臭化物を対照化合物として用いた。BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物の CR 値を算出し、縦軸を log（CR-1）、横軸を log（mol/L）として Schild plot を作成し、BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物の pA_2 を算出した。

2. 試験成績

BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物はいずれもカルバミルコリンによる回腸収縮反応を濃度依存的に阻害した。Schild plot より算出した BBI-4000 の pA_2 は 8.53 であり、グリコピロニウム臭化物の pA_2 は 8.23 であった。

以上の結果より、BBI-4000 は抗コリン作用を有することが示された（表 2.6.2.2-3）。

表 2.6.2.2-3　BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物のカルバミルコリン誘発モルモット摘出回腸収縮反応に対する阻害作用（Schild plot 解析）

化合物	濃度（nmol/L）	log（CR-1）[a)]	pA_2 ［-log (mol/L)］
BBI-4000	10	0.62 ± 0.35	8.53
	30	1.50 ± 0.46	
	100	2.22 ± 0.30	
	300	2.67 ± 0.06	
グリコピロニウム臭化物	3	-0.54 ± 0.35	8.23
	10	0.33 ± 0.19	
	30	1.50 ± 0.49	
	100	2.57 ± 0.45	

a)：平均値 ± 標準偏差（n = 6）

2.6.2.2.4　ウサギ散瞳作用（*in vivo*）

資料番号 4.2.1.1-4

In vivo での抗コリン作用を検討するため、BBI-4000 溶液を NZW 系雄性ウサギに点眼し、瞳孔径に及ぼす影響を検討した。

1. 試験方法

ウサギ（4 例/群）の右眼に媒体（生理食塩液）、BBI-4000 0.1%、1%溶液あるいはグリコピロニウム臭化物 0.2%溶液 100 μL を点眼した。点眼前（0 時間）、点眼 2 及び 24 時間後に右眼の瞳孔径を盲検下で測定し、0 時間の瞳孔径との差（瞳孔径変動長）を評価した。

2. 試験成績

媒体群では、いずれの時点でも瞳孔径の明らかな変化は認められなかった。点眼 2 時間後において、BBI-4000 0.1%及び 1%群の瞳孔径変動長は、いずれも媒体群に対して統計学的に有意に増加し、用量に応じた散瞳作用が認められた。点眼 24 時間後において、BBI-4000 0.1%群の瞳孔径変動長は、媒体群と同程度にまで低下した一方、BBI-4000 1%群では、媒体群に比べて高値を示した。グリコピロニウム臭化物 0.2%群の瞳孔径変動長は、点眼 2 及び 24 時間後でほぼ同一長であり、いずれも媒体群に比べ有意な増加であった（表 2.6.2.2-4、図 2.6.2.2-1）。

以上の結果から、BBI-4000 は抗コリン作用に基づく散瞳作用を有することが示された。

表 2.6.2.2-4　　BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物の散瞳作用

点眼後時間（h）	瞳孔径変動長（mm）			
	媒体	BBI-4000 0.1%	BBI-4000 1%	グリコピロニウム臭化物 0.2%
2	0.44 ± 0.33	2.43 ± 1.04 **	3.19 ± 0.29 **	3.00 ± 1.16 ##
24	-0.72 ± 0.46	-0.40 ± 0.47	2.24 ± 0.67 **	2.96 ± 0.99 ##

%：w/v%
各時点での各群の瞳孔径変動長の平均値 ± 標準偏差を示した（n = 4）
**：p < 0.01 媒体群との比較（Dunnett 検定）
##：p < 0.01 媒体群との比較（Student の t 検定）

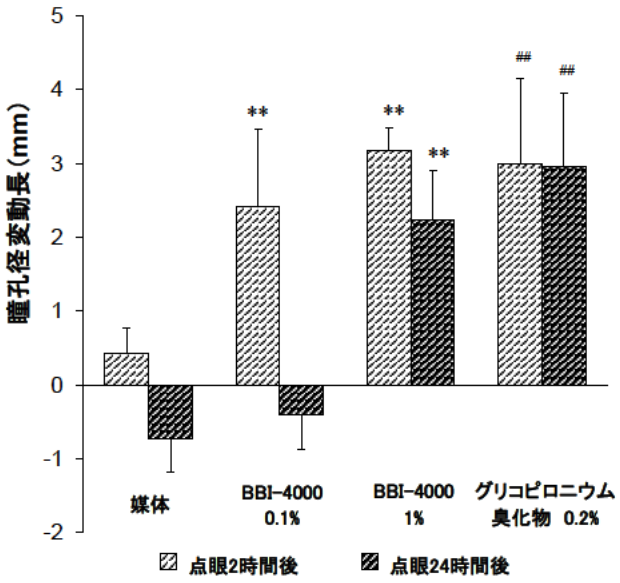


図 2.6.2.2-1　　BBI-4000 及びグリコピロニウム臭化物の散瞳作用

%：w/v%
瞳孔径変動長の平均値及び標準偏差（n = 4）
**：p < 0.01 vs 媒体群（Dunnett 検定）
##：p < 0.01 vs 媒体群（Student の t 検定）

2.6.2.2.5　ラット発汗抑制作用（*in vivo*）

資料番号 4.2.1.1-5

齧歯類ではヒトとは異なり、エクリン汗腺は足蹠のみに局在し、エクリン汗腺での発汗は、コリン作動性神経の支配を受けていることが報告されている[9), 10), 11)]。

In vivo での BBI-4000 の抗コリン作用を介した発汗抑制作用を検討するため、ピロカルピン投与により発汗を誘発した SD 系雄性ラットの足蹠に BBI-4000 溶液を塗布し、発汗に及ぼす影響を検討した。

1. 試験方法

ラット（7 又は 8 例/群）の右後肢足蹠に媒体（エタノール）、BBI-4000 2%及び 20%溶液 [redacted] µL を塗布した。投与 [redacted] 後に、[redacted] でムスカリン受容体アゴニストであるピロカルピン（[redacted] µg/[redacted] µL）を [redacted] に投与した。各個体のピロカルピン [redacted] 量を測定し、その [redacted]（[redacted] 量）を算出した。

2. 試験成績

媒体群では、ピロカルピン投与により非誘発群に比べて [redacted] 量が有意に増加した。BBI-4000 2%及び 20%群の [redacted] 量は、媒体群に比して低値を示し BBI-4000 20%群では、有意な差を認めた（表 2.6.2.2-5、図 2.6.2.2-2）。

以上の結果から、塗布された BBI-4000 はムスカリン受容体刺激を介する発汗に対して抑制作用を有することが示された。

表 2.6.2.2-5　　BBI-4000 のラット発汗抑制作用

[redacted]量（mg）			
非誘発	媒体	BBI-4000 2%	BBI-4000 20%
0.118 ± 0.184	1.080 ± 0.334 ***	0.813 ± 0.360	0.400 ± 0.199 ###

%：w/v%
平均値 ± 標準偏差（非誘発群及び BBI-4000 2%群：n = 7、媒体群及び BBI-4000 20%群：n = 8）
***：p < 0.001 非誘発群との比較（Student の t 検定）
###：p < 0.001 媒体群との比較（Dunnett 検定）

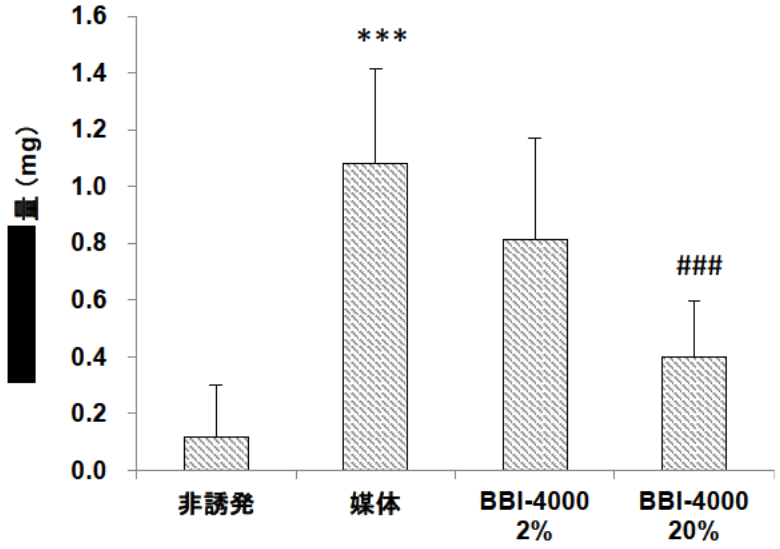


図 2.6.2.2-2　　BBI-4000 のラット発汗抑制作用

%：w/v%
[redacted]量の平均値及び標準偏差
（非誘発群及び BBI-4000 2%群：n = 7、媒体群及び BBI-4000 20%群：n = 8）
***：p < 0.001 vs 非誘発群（Student の t 検定）
###：p < 0.001 vs 媒体群（Dunnett 検定）

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 各種分子に対する作用の網羅的解析（*in vitro*）

資料番号 4.2.1.2-1

BBI-4000 の種々の酵素、受容体、イオンチャネル及びトランスポーター（90 項目）に対する作用の網羅的解析を実施した。

1. 試験方法

表 2.6.2.3-1 に示す種々の酵素、受容体、イオンチャネル及びトランスポーター（90 項目）に対する BBI-4000 の作用を網羅的に評価した。スクリーニング評価として、各項目において BBI-4000 10 μmol/L の作用を評価した。また、50%以上の活性値を示した項目（ムスカリン受容体を除く）は、BBI-4000 10 nmol/L～100 μmol/L での作用を評価し、IC_{50} から Ki を算出した。

2. 試験成績

BBI-4000 は、ムスカリン受容体に加え、ラット L 型 Ca^{2+}チャネルのジルチアゼム結合サイト及びベラパミル結合サイトに対して結合親和性を示した。しかし、それぞれの Ki は 7.83 及び 2.23 μmol/L であり、M3 に対する Ki（4.13 nmol/L）と比較すると 500 倍以上高値であった。その他の分子に対しては、10 μmol/L で明らかな作用は認められなかった。

表 2.6.2.3-1　　網羅的解析に用いた酵素、受容体、イオンチャネル及びトランスポーター一覧（90 項目）

評価項目	リガンド/基質
＜酵素＞	
ATPase, Na^+/K^+	ATP
Acetylcholinesterase	Acetylthiocholine
Cyclooxygenase COX-1	Arachidonic acid
Cyclooxygenase COX-2	Arachidonic acid
Monoamine Oxidase MAO-A	Kynuramine
Monoamine Oxidase MAO-B	Kynuramine
Peptidase, Angiotensin Converting Enzyme	FAPGG
Peptidase, Cathepsin G (CTSG)	Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-AMC
Phosphodiesterase PDE3	cAMP
Phosphodiesterase PDE4	cAMP
Protein Serine/Threonine Kinase, PKC	Histone
Protein Tyrosine Kinase, Insulin Receptor	Poly(Glu:Tyr)
Protein Tyrosine Kinase, LCK	Poly(Glu:Tyr)
＜受容体＞	
Adenosine A_1	[^{3}H] DPCPX
Adenosine A_{2A}	[^{3}H] CGS-21680
Adrenergic α_{1A}	[^{3}H] Prazosin
Adrenergic α_{1B}	[^{3}H] Prazosin
Adrenergic α_{1D}	[^{3}H] Prazosin
Adrenergic α_{2A}	[^{3}H] Rauwolscine
Adrenergic α_{2B}	[^{3}H] Rauwolscine
Adrenergic β_1	[^{125}I] Cyanopindolol
Adrenergic β_2	[^{3}H] CGP-12177
Androgen (Testosterone) Receptor	[^{3}H] Methyltrienolone
Angiotensin AT_1	[^{125}I] (Sar^1, Ile^8)-Angiotensin II
Bradykinin B_2	[^{3}H] Bradykinin
Cannabinoid CB_1	[^{3}H] SR141716A
Cannabinoid CB_2	[^{3}H] WIN-55,212-2
Chemokine CCR1	[^{125}I] MIP-1α
Chemokine CXCR2 (IL-$8R_B$)	[^{125}I] IL-8
Cholecystokinin CCK_1 (CCK_A)	[^{125}I] CCK-8
Cholecystokinin CCK_2 (CCK_B)	[^{125}I] CCK-8
Dopamine D_1	[^{3}H] SCH-23390
Dopamine D_{2L}	[^{3}H] Spiperone
Dopamine D_{2S}	[^{3}H] Spiperone
Endothelin ET_A	[^{125}I] Endothelin-1
Estrogen ERα	[^{3}H] Estradiol
$GABA_{A,}$ Chloride Channel	[^{3}H] TBOB
$GABA_A$	[^{3}H] Flunitrazepam
$GABA_A$	[^{3}H] Ro-15-1788
$GABA_{B1A}$	[^{3}H] CGP-54626
Glucocorticoid Receptor	[^{3}H] Dexamethasone
Glutamate, AMPA Receptor	[^{3}H] AMPA
Glutamate, Kainate Receptor	[^{3}H] Kainic acid
Glutamate, $mGlu_5$	[^{3}H] Quisqualic acid
Glutamate, NMDA Receptor	[^{3}H] CGP-39653
Glutamate, NMDA Receptor	[^{3}H] MDL 105,519
Glutamate, NMDA Receptor	[^{3}H] TCP
Glutamate, NMDA Receptor	[^{3}H] Ifenprodil
Glycine Receptor	[^{3}H] Strychnine
Histamine H_1	[^{3}H] Pyrilamine
Histamine H_2	[^{125}I] Aminopotentidine
Leukotriene, $CysLT_1$	[^{3}H] LTD_4
Melanocortin MC_1	[^{125}I] NDP-α-MSH
Melanocortin MC_4	[^{125}I] NDP-α-MSH

表 2.6.2.3-1　　網羅的解析に用いた酵素、受容体、イオンチャネル及びトランスポーター一覧（90 項目）　（続き）

評価項目	リガンド/基質
＜受容体＞	
Muscarinic M_1	[^{3}H] N-Methylscopolamine
Muscarinic M_2	[^{3}H] N-Methylscopolamine
Muscarinic M_3	[^{3}H] N-Methylscopolamine
Muscarinic M_4	[^{3}H] N-Methylscopolamine
Neuropeptide Y, Y1	[^{125}I] Peptide YY
Nicotinic Acetylcholine Receptor	[^{125}I] Epibatidine
Nicotinic Acetylcholine Receptor α1	[^{125}I] α-Bungarotoxin
Nicotinic Acetylcholine Receptor α4β2	[^{3}H] Cytisine
Nicotinic Acetylcholine Receptor α7	[^{125}I] α-Bungarotoxin
Nicotinic Acetylcholine Receptor α7	[^{3}H] Methyllycaconitine
Opioid Receptor δ_1	[^{3}H] Naltrindole
Opioid Receptor κ	[^{3}H] Diprenorphine
Opioid Receptor μ	[^{3}H] Diprenorphine
Platelet Activating Factor (PAF) Receptor	[^{3}H] PAF
PPARγ	[^{3}H] Rosiglitazone
Progesterone Receptor B (PR-B)	[^{3}H] Progesterone
Serotonin, 5-HT_{1A}	[^{3}H] 8-OH-DPAT
Serotonin, 5-HT_{1B}	[^{3}H] GR125743
Serotonin, 5-HT_{2A}	[^{3}H] Ketanserin
Serotonin, 5-HT_{2B}	[^{3}H] Lysergic acid diethylamide (LSD)
Serotonin, 5-HT_{2C}	[^{3}H] Mesulergine
Serotonin, 5-HT_3	[^{3}H] GR-65630
Tachykinin NK_1	[^{3}H] Substance P
Vasopressin V_{1A}	[^{125}I] PhenylacetylTyr(Me)PheGlnAsnArgProArgTyr
＜イオンチャネル＞	
Calcium Channel L-Type	[^{3}H] Diltiazem
Calcium Channel L-Type	[^{3}H] Nitrendipine
Calcium Channel L-Type	[^{3}H] (-) - Desmethoxyverapamil (D-888)
Calcium Channel N-Type	[^{125}I] ω-Conotoxin GVIA
Potassium Channel K_{ATP}	[^{3}H] Glyburide
Potassium Channel hERG	[^{3}H] Astemizole
Sodium Channel	[^{3}H] Batrachotoxinin
＜トランスポーター＞	
Adenosine Transporter	[^{3}H] Nitrobenzylthioinosine
Dopammine Transporter (DAT)	[^{125}I] RTI-55
GABA Transporter	[^{3}H] GABA
Norepinephrine Transporter (NET)	[^{125}I] RTI-55
Serotonin Transporter (SERT)	[^{3}H] Paroxetine

2.6.2.3.2　モルモット摘出回腸標本収縮反応に対する BBI-4000 代謝物（BBI-4010）の作用（*in vitro*）

資料番号 4.2.1.2-2

BBI-4000 は、投与局所で抗コリン活性を示す一方で、血中に到達した後は低活性代謝物（BBI-4010）に変換されるように設計されている [6]。BBI-4010 の抗コリン作用を BBI-4000 と比較するため、BBI-4010 のモルモット回腸の収縮に及ぼす作用を検討した。

1. 試験方法

マグヌス法を用い、ムスカリン受容体アゴニストであるカルバミルコリンによるモルモット（Hartley 系雄性）摘出回腸標本に対する収縮反応に及ぼす BBI-4010 の作用を検討した。BBI-4000 を対照化合物として用いた。各濃度での収縮抑制率（%）を算出し、非線形最小二乗回帰分析法により BBI-4010 及び BBI-4000 の IC_{50} を算出した。

2. 試験成績

BBI-4010 の IC_{50} は 3.43×10^{-5} mol/L であり、BBI-4000 の IC_{50} は 2.77×10^{-8} mol/L であった（表 2.6.2.3-2）。

以上の結果より、BBI-4010 は抗コリン作用を有するものの、その IC_{50} は BBI-4000 に比して 1000 倍以上高値であった。このことから、BBI-4000 は、加水分解により BBI-4010 に変換されることで、抗コリン作用は著しく減弱することが示された。

表 2.6.2.3-2　BBI-4010 及び BBI-4000 のカルバミルコリン誘発モルモット摘出回腸収縮反応に対する阻害作用

試験物質	IC_{50}（mol/L）	95%信頼区間（mol/L）
BBI-4010	3.43×10^{-5}	$3.17 \times 10^{-5} \sim 3.71 \times 10^{-5}$
BBI-4000	2.77×10^{-8}	$2.55 \times 10^{-8} \sim 3.02 \times 10^{-8}$

2.6.2.4　安全性薬理試験

2.6.2.4.1　中枢神経系に対する作用

資料番号 4.2.1.3-1

1. 試験方法

SD 系雌雄ラット（5 例/群）に媒体（生理食塩液）又は BBI-4000（1、5 及び 10 mg/kg/day）を 28 日間反復皮下投与し、投与前と投与 26 日目（投与後 0.5～1 時間）に機能観察評価法（Functional observational battery, FOB）に基づいて一般症状及び行動を観察した。なお、本評価は 28 日間反復皮下投与毒性試験の一部として実施した。

2. 試験成績

ケージ内観察、ケージ外観察、取扱い時の観察及び反射確認などの FOB パラメータにおいて、BBI-4000 に関連した影響は認められなかった（表 2.6.2.4-1）。

表 2.6.2.4-1　　BBI-4000 のラット中枢神経系に対する作用

評価法	動物種、系統、性別、（1 群の動物数）	投与期間 投与経路	投与量 （mg/kg/day）	成績
FOB[1)]	ラット、SD 系、雌雄、（5）	28 日間 反復皮下投与	0、1、5、10	影響なし

1) 投与前及び投与 26 日目に評価

2.6.2.4.2　心血管系・呼吸器系に対する作用

2.6.2.4.2.1　イヌを用いた単回静脈内投与試験

資料番号 4.2.1.3-2

1. 試験方法

テレメトリー送信器を埋め込んだ雌性ビーグル犬（4 例）に、媒体（生理食塩液）又は BBI-4000（0.001、0.01 及び 0.1 mg/kg）を単回静脈内投与（3 分、0.23 mL/分）した。また、1 mg/kg での投与も実施した（1 例）。

血圧（平均動脈血圧、収縮期血圧、拡張期血圧）、心拍数、心電図項目（QT、QTcV、QRS 及び PR 間隔）及び体温を投与前 30 分から投与後 24 時間にかけて記録した。肺機能に関する項目（呼吸数、1 回換気量、毎分換気量）は、投与前 30 分から投与後 3 時間まで記録した。更に、血中曝露評価を行うため、BBI-4000 を 0.001、0.01 及び 0.1 mg/kg で投与し、トキシコキネティクス測定を行った（2 例/群）。

2. 試験成績

本試験中、死亡又は瀕死の状態の動物はなく、また BBI-4000 に関連した毒性徴候は認められなかった。

0.01 mg/kg 以上の投与で心拍数の増加（頻脈）及びその持続期間延長が用量依存的に認められた。本所見は BBI-4000 の抗コリン剤としての作用機序によるものと考えられた。0.001 mg/kg 投与による心血管系パラメータに対する影響は認められなかった（表 2.6.2.4-2）。

0.1 及び 1 mg/kg 群で投与後 30 分以内に認められた拡張期血圧の上昇は、BBI-4000 の直接作用ではなく、頻脈に対する生理学的反応と考えられた。QRS 間隔（1 mg/kg）及び PR、QT、QTcV 間隔（0.1 及び 1 mg/kg）の短縮も、同様に BBI-4000 の直接作用ではないと考えられた。体温、呼吸数、1 回換気量及び毎分換気量は BBI-4000 投与の影響を受けなかった。

表 2.6.2.4-2　　BBI-4000 のイヌ心血管系・呼吸器系に対する作用

試験項目	動物種、性別（動物数）	投与期間 投与経路	投与量 [1)]（mg/kg）	成績
血圧、心拍数、心電図、体温、呼吸数、1 回換気量、毎分換気量	ビーグル犬、雌（4）	単回 静脈内投与（3 分、0.23 mL/分）	0、0.001、0.01、0.1、1[2)]	死亡又は瀕死の状態の動物は認められなかった。 0.01 mg/kg 以上で心拍数の増加及びその持続期間延長が用量依存的に認められた。 無影響量 心血管系：0.001 mg/kg 呼吸器系：1 mg/kg

1) 4 例すべてに 0～0.1 mg/kg をラテン方格法で投与
2) 1 mg/kg は 1 例のみ投与

トキシコキネティクスの結果を表 2.6.2.4-3 に示す。C_{max} 及び AUC_{last} は投与量の増加に伴い増加した。0.01 mg/kg 群と 0.1 mg/kg 群の投与量比は 10 倍であるが、C_{max} 及び AUC_{last} の増加は 10 倍を下回った。なお、0.001 mg/kg 群の血漿中 BBI-4000 濃度は検出限界（1.00 ng/mL）以下の値であった。BBI-4000 の血漿中濃度推移は BBI-4000 静脈内投与で認められた心拍数増加の経時的推移と近似していた。

このデータに基づき、心血管系に対する無影響量は 0.001 mg/kg と推定された。また、呼吸器系に対する無影響量は 1 mg/kg と推定された。

表 2.6.2.4-3　　BBI-4000 のイヌ テレメトリー試験でのトキシコキネティクスに関する試験成績

投与量、動物種、性別、動物数及び薬物動態パラメータ	成績	
投与量（mg/kg）	0.01	0.1
動物種、性別、動物数	ビーグル犬、雌、2	ビーグル犬、雌、2
T_{max}（h）	0.083	0.083
$T_{1/2}$（h）	0.119	0.123
C_{max}（ng/mL）	18.3	81.5
AUC_{last}（ng·h/mL）	3.11	15.9

各値は平均値

2.6.2.4.2.2　ミニブタを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（DB20 製剤）

資料番号 4.2.1.3-3

1.　試験方法

反復経皮投与毒性試験（資料番号 4.2.3.2-6）の一部として、心血管系に対する作用を評価した。Sinclair 系雌雄ミニブタを用い、BBI-4000 gel 0%（媒体）、10%及び 20%（0、32 及び 66 mg/kg/day）を背部皮膚（総体表面積の 10%）に 1 日 1 回 5 mL、28 日間反復経皮投与した（3 例/群）。また、投与を実施しない無処置群も設定した（2 例/群）。回復性試験として媒体群、32 及び 66 mg/kg/day 群には 14 日間の回復期間を設けた（2 例/群）。

心拍数、心電図検査（RR、PR、QRS、QT 及び QTc）を投与開始前、投与 24 日目及び回復期間の剖検前に実施した。

2.　試験成績

媒体群と比較して、いずれの用量でも BBI-4000 gel に関連した心拍数及び心電図項目に対する影響は認められなかった（表 2.6.2.4-4）。

表 2.6.2.4-4　　BBI-4000 のミニブタ心血管系に対する作用

試験項目	動物種 系統、性別	投与期間 投与経路	投与群（動物数）	成績
心拍数、 心電図 [1)]	ミニブタ Sinclair 系、 雌雄	28 日間 反復経皮投与	無処置（2、回復期間 0） 媒体（3、回復期間 2） 32 mg/kg/day[2)]（3、回復期間 2） 66 mg/kg/day[2)]（3、回復期間 2）	影響なし

1) 投与開始前、投与 24 日目及び回復期間の剖検前に評価
2) 測定した体重に基づく投与量の平均値

2.6.2.4.3　hERG I_{Kr} 電流に対する作用

資料番号 4.2.1.3-4

1.　試験方法

ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（Human ether-a-go-go related gene, hERG）チャネルを安定発現するヒト胎児腎臓（Human embryonic kidney, HEK）293 細胞に媒体（ジメチルスルホキシド、最終濃度：0.3 v/v%）又は BBI-4000（10、100 及び 300 μmol/L）を灌流適用し、灌流前後の hERG 遅延整流 K^+チャネルの速い成分（I_{Kr}）電流をホールセルパッチクランプ法にて測定した。陽性対照としてテルフェナジン（0.06 μmol/L）を用いた。

2.　試験成績

陽性対照（テルフェナジン 0.06 μmol/L）は hERG I_{Kr} 電流を 76.0%阻害した。BBI-4000 による hERG I_{Kr} 電流の阻害率は 100 及び 300 μmol/L で媒体より統計学的に有意に高かった。BBI-4000 の hERG I_{Kr} 電流に対する阻害作用の IC_{50} は算出不能であったが、300 μmol/L 超と推定された（表 2.6.2.4-5）。

本実験において、10 μmol/L では統計学的に有意な hERG I_{Kr} 電流阻害を誘発しなかった。ミニブタを用いた 39 週間反復経皮投与毒性試験での血漿中 BBI-4000 濃度の最大値（190 ng/mL）から換算した 317 nmol/L（190 ng/mL に非結合型分率 0.652 を乗じ、モル換算した値）及び国内治験で BBI-4000 gel 5%を外用塗布したときの BBI-4000 の C_{max} の最大値（7.42 ng/mL）から換算した 12.4 nmol/L（7.42 ng/mL に非結合型分率 0.652 を乗じ、モル換算した値）からは、経皮投与された BBI-4000 が hERG I_{Kr} 電流を阻害する可能性は低いことが示唆された。

表 2.6.2.4-5　　BBI-4000 の hERG I_{Kr} 電流に対する作用

試験物質	濃度（μmol/L）	例数	阻害率（%）[1)]
媒体	0	3	1.2 ± 1.4
BBI-4000	10	4	3.7 ± 1.1
	100	3	6.9 ± 1.8*
	300	3	22.6 ± 2.5*
テルフェナジン	0.06	2	76.0[2)]

1)：平均値 ± 標準偏差
2)：平均値
*：$p < 0.05$ vs 媒体群（Dunnett 検定）

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

本申請における本項に該当する資料はない。

2.6.2.6　考察及び結論

BBI-4000 のムスカリン受容体に対する結合親和性を検討した結果、BBI-4000 は M1 から M5 のいずれの受容体に対しても結合親和性を有し、M3 に対する結合親和性が最も強かった（2.6.2.2.1 項）。BBI-4000 の M3 に対する結合親和性の速度論的解析を実施した結果、BBI-4000 はグリコピロニウム臭化物と比較して、k_{off} が大きく、解離半減期が短かったものの、k_{on} は同程度であった（2.6.2.2.2 項）。

BBI-4000 は、カルバミルコリン誘発のモルモット摘出回腸収縮反応を濃度依存的に阻害

した（2.6.2.2.3 項）。

BBI-4000 の 0.1%及び 1%溶液をウサギに点眼することにより、用量に応じた散瞳作用が示された。また、BBI-4000 の 20%溶液をラットの足蹠に塗布することにより、ピロカルピンで誘発された発汗に対する抑制作用が示された（2.6.2.2.4 項、2.6.2.2.5 項）。

以上の結果より、BBI-4000 は *in vitro* でムスカリン受容体へのリガンド結合阻害による抗コリン作用を示し、*in vivo* でも局所投与による抗コリン作用（散瞳及び発汗抑制作用）を発揮した。これらのことから、BBI-4000 は投与局所でエクリン汗腺に発現する M3 を介したコリン作動性反応を阻害することで、原発性腋窩多汗症の発汗を抑制することが期待された。

種々の酵素、受容体、イオンチャネル及びトランスポーター（90 項目）に対する作用の検討において、BBI-4000 は M3 に対して結合活性を示す濃度では、ムスカリン受容体以外の分子に作用しなかった（2.6.2.3.1 項）。また、BBI-4000 のヒトの主代謝物である BBI-4010 は、カルバミルコリンで誘発されたモルモット摘出回腸の収縮反応を阻害したものの、その IC_{50} は BBI-4000 に比して 1000 倍以上高値であり、抗コリン作用が著しく減弱していることが示された（2.6.2.3.2 項）。

安全性薬理試験では、ビーグル犬に BBI-4000 を静脈内投与することで、抗コリン作用によると考えられる心拍数増加が 0.01 mg/kg 以上で、それに伴う血圧及び心電図項目の変動が 0.1 mg/kg 以上で認められた（2.6.2.4.2 項）。また、*in vitro* において BBI-4000 は 100 µmol/L 以上で hERG I_{Kr} 電流に対して有意な阻害作用を示したものの、その IC_{50} は 300 µmol/L 超と推定された（2.6.2.4.3 項）。hERG I_{Kr} 電流を阻害しなかった濃度（10 µmol/L）は、ミニブタを用いた反復経皮投与毒性試験（無毒性量）での血漿中 BBI-4000 濃度の最大値（190 ng/mL）から換算した 317 nmol/L 及び国内治験で BBI-4000 gel 5%を外用塗布したときの BBI-4000 の C_{max} の最大値（7.42 ng/mL、5.3.3.2-1）から換算した 12.4 nmo/L と比較してそれぞれ 32 及び 806 倍の開きがあることから、外用塗布された BBI-4000 が hERG I_{Kr} 電流を阻害する可能性は低いことが示唆された。その他の安全性薬理試験においては、BBI-4000 の特記すべき作用は認められなかった。

これらの結果から、BBI-4000 は、臨床で望まれている原発性腋窩多汗症に対する外用療法において、薬理学的な観点から有効性と安全性の面で有用な薬剤となることが期待された。

2.6.2.7　図表

図表は本文中の適切な場所に記載した。

2.6.2.8　引用文献

1) 藤本智子，横関博雄，片山一朗，金田眞理，室田浩之，田村直俊ら．原発性局所多汗症診療ガイドライン．日本皮膚科学会雑誌. 2015; 125: 1379-1400
2) 中村元信．汗腺の発生と構造. MB Derma. 2014; 220: 9-12.
3) Schlereth T, Dieterich M, Birklein F. Hyperhidrosis - Causes and treatment of enhanced sweating. Dtsch Arztebl Int. 2009; 106: 32-7.
4) Ji F, Wu W, Dai X, Mori N, Wu J, Buchwald P, Bodor N. Synthesis and pharmacological effects of new, N-substituted soft anticholinergics based on glycopyrrolate. J Pharm Pharmacol. 2005; 57: 1427-1435.

5) Sykes DA, Dowling MR, Leighton-Davies J, Kent TC, Fawcett L, Renard E, Trifilieff A, Charlton SJ. The Influence of receptor kinetics on the onset and duration of action and the therapeutic index of NVA237 and tiotropium. J Pharmacol Exp Ther. 2012; 343: 520-8.
6) Wu WM, Buchwald P, Mori N, Ji F, Wu J, Bodor N. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluations of the zwitterionic metabolite of a new series of N-substituted soft anticholinergics. Pharm Res. 2005; 22: 2035-44.
7) Motulsky HJ, Mahan LC. The kinetics of competitive radioligand binding predicted by the law of mass action. Mol Pharmacol. 1984; 25: 1-9.
8) Dowling MR, Charlton SJ. Quantifying the association and dissociation rates of unlabelled antagonists at the muscarinic M3 receptor. Br J Pharmacol. 2006; 148: 927-37.
9) Taylor DK, Bubier JA, Silva KA, Sundberg JP. Development, structure, and keratin expression in C57BL/6J mouse eccrine glands. Vet Pathol. 2012; 49: 146-54.
10) Grant MP, Francis NJ, Landis SC. The role of acetylcholine in regulating secretory responsiveness in rat sweat glands. Mol Cell Neurosci. 1995; 6: 32-42.
11) Matsui S, Murota H, Takahashi A, Yang L, Lee JB, Omiya K, Ohmi M, Kikuta J, Ishii M, Katayama I. Dynamic analysis of histamine-mediated attenuation of acetylcholine-induced sweating via GSK3β activation. J Invest Dermatol. 2014; 134: 326-334.

目次

2.6.3 薬理試験の概要表----------2
2.6.3.1 薬理試験----------2
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 ----------3
2.6.3.3 副次的薬理試験 ----------3
2.6.3.4 安全性薬理試験 ----------3
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 ----------4

2.6.3 薬理試験の概要表

2.6.3.1 薬理試験

一覧表（1）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
効力を裏付ける試験					
ムスカリン受容体結合親和性	ヒト組換えムスカリン受容体を発現する CHO-K1 細胞	*in vitro*	[redacted]	[redacted]1001	4.2.1.1-1
M3 受容体に対する結合親和性の速度論的解析	ヒト組換え M3 受容体を発現する CHO-K1 細胞	*in vitro*	[redacted]	[redacted]5269	4.2.1.1-2
モルモット摘出回腸標本収縮反応に対する作用	モルモット摘出回腸（雄）	*in vitro*	[redacted]	[redacted]57	4.2.1.1-3
ウサギ散瞳作用	ウサギ（雄）	点眼（単回）	[redacted]	[redacted]6753R	4.2.1.1-4
ラット発汗抑制作用	ラット（雄）	塗布（単回）	科研製薬株式会社	P[redacted]402	4.2.1.1-5
副次的薬理試験					
各種分子に対する作用の網羅的解析	種々の酵素、受容体、イオンチャネル及びトランスポーター（90 項目）	*in vitro*	[redacted]	[redacted]5117	4.2.1.2-1
モルモット摘出回腸標本収縮反応に対する BBI-4000 代謝物（BBI-4010）の作用	モルモット摘出回腸（雄）	*in vitro*	[redacted]	[redacted]69	4.2.1.2-2
安全性薬理試験					
中枢神経系に対する作用	ラット（雌雄）	皮下（28 日間反復）	[redacted]	[redacted]28	4.2.1.3-1
心血管系・呼吸器系に対する作用	イヌ（雌）	静脈内（単回）		[redacted]71	4.2.1.3-2

一覧表（2）

被験物質：ソフピロニウム臭化物

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
安全性薬理試験					
心血管系・呼吸器系に対する作用	ミニブタ（雌雄）	経皮（28 日間反復）	[redacted]	[redacted]828	4.2.1.3-3
hERG I_{Kr} 電流に対する作用	hERG チャネル発現 HEK293 細胞	*in vitro*	[redacted]	[redacted]0506[redacted]	4.2.1.3-4

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

概要文中に記載。

2.6.3.3　副次的薬理試験

概要文中に記載。

2.6.3.4　安全性薬理試験

被験物質：ソフピロニウム臭化物

評価対象となる組織	動物種／系統	投与方法	投与量	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号
中枢神経系	ラット／SD	皮下（28 日間反復）	1、5、10 mg/kg/day	雌雄各 5 例/群	－	適	[redacted]428
心血管系・呼吸器系	イヌ／ビーグル	静脈内（単回）	0.001、0.01 及び 0.1 mg/kg	雌 4 例/群	心血管系：0.01 mg/kg 以上で用量依存性の心拍数増加及び時間延長 0.1 mg/kg 以上で血圧及び心電図の変動	適	[redacted]571
			1 mg/kg	雌 1 例/群			
	ミニブタ／Sinclair	経皮（28 日間反復）	32、66 mg/kg/day	雌雄各 3 例/群（回復性試験：雌雄各 2 例/群）	－	適	[redacted]828
hERG I_{Kr} 電流	hERG チャネル発現 HEK293 細胞	*in vitro*	10、100 及び 300 μmol/L	n ≧ 3	100 μmol/L 以上で有意な阻害率の増加	適	[redacted]0506[redacted]

－：特記すべき所見なし

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

本項に該当する資料はない。