目次

略語・略号一覧 2
2.6.4 薬物動態試験の概要文 3
2.6.4.1 まとめ 3
2.6.4.1.1 吸収 3
2.6.4.1.2 分布 3
2.6.4.1.3 代謝 4
2.6.4.1.4 排泄 4
2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用 4
2.6.4.2 分析法 5
2.6.4.2.1 放射性同位元素標識体 5
2.6.4.2.2 非標識体の分析 6
2.6.4.3 吸収 8
2.6.4.3.1 [^{14}C]標識体の単回投与 8
2.6.4.3.2 非標識体の単回投与 10
2.6.4.3.3 非標識体の反復投与（トキシコキネティクス） 11
2.6.4.4 分布 16
2.6.4.4.1 組織中放射能濃度 16
2.6.4.4.2 全身オートラジオグラフィー 19
2.6.4.4.3 たん白結合 22
2.6.4.4.4 血球移行性 22
2.6.4.4.5 胎盤通過 23
2.6.4.5 代謝 26
2.6.4.5.1 in vivo 代謝 26
2.6.4.5.2 in vitro 代謝 29
2.6.4.5.3 推定代謝経路 30
2.6.4.5.4 酵素誘導及び阻害 30
2.6.4.6 排泄 31
2.6.4.6.1 尿・糞・呼気中排泄 31
2.6.4.6.2 胆汁中排泄 33
2.6.4.6.3 乳汁中排泄 34
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 35
2.6.4.7.1 CYP 分子種に対する阻害作用 35
2.6.4.7.2 CYP 分子種に対する誘導作用 36
2.6.4.7.3 薬物トランスポーターに対する阻害作用 37
2.6.4.7.4 薬物トランスポーターによる輸送 38
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 39
2.6.4.9 考察及び結論 40
2.6.4.10 図表 44
2.6.4.11 参考文献 45

略語・略号一覧

略語・略号	内容
ARG	オートラジオグラフィー/オートラジオグラム
AUC	薬物濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}last}$	0 時間から最終測定時間までの AUC
BCRP	breast cancer resistance protein
Bq	ベクレル
Ci	キュリー
CL	クリアランス
CL_{total}	総クリアランス
C_{max}	最高薬物濃度
CYP	チトクローム P450
eq.	相当量
GAPDH	グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素
h	時間
IC_{50}	50%阻害濃度
Ki	阻害定数
Km	ミカエリス定数
LC/MS/MS	液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計
LSC	液体シンチレーションカウンター
MATE1	multidrug and toxin extrusion 1
MATE2-K	multidrug and toxin extrusion 2-K
MDR1	multidrug resistance 1
mRNA	メッセンジャーRNA
MRT_{inf}	無限大時間までの平均滞留時間
n	例数
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NANA	アセノイラミン酸 (N-アセチルノイラミン酸)
NGNA	N-グリコリルノイラミン酸
OAT1	有機アニオントランスポーター1
OAT3	有機アニオントランスポーター3
OATP1B1	有機アニオントランスポーティングポリペプチド 1B1
OATP1B3	有機アニオントランスポーティングポリペプチド 1B3
OCT1	有機カチオントランスポーター1
OCT2	有機カチオントランスポーター2
P-gp	P-糖たん白質
$t_{1/2}$	消失半減期
T_{max}	最高濃度到達時間
Vd_{ss}	定常状態分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

アセノイラミン酸（N-アセチルノイラミン酸、以下、NANA）の吸収、分布、代謝及び排泄について、ラット、イヌ及びウサギを用いて検討した。本項では、公表文献にて評価可能な項目については公表文献を使用し、必要な試験は申請者が実施してとりまとめた。放射性同位元素標識体を使用した吸収、分布、代謝及び排泄については、公表文献（経口投与、静脈内投与、経気道投与及び皮下投与）及び申請者の実施した静脈内投与試験により評価した。非標識体の単回経口投与及び反復経口投与時の血清中濃度については、申請者が実施した単回投与試験及び毒性試験に付随するトキシコキネティクス試験（ラット、イヌ及びウサギ）により、薬物動態学的薬物相互作用については、Ultragenyx 社の実施した in vitro 試験により評価した。

2.6.4.1 まとめ

2.6.4.1.1 吸収

[^{14}C]標識した NANA をラットに単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は、投与後 3 時間に C_{max} に達した後緩やかに低下し、投与後 24 時間には検出限界以下となった。このとき、尿及び呼気に投与放射能の 6.1%及び 62.4%がそれぞれ排泄され、少なくとも 68.5%（呼気及び尿中排泄率の合計）の放射能が吸収された。一方、[^{14}C]標識した NANA をラットに静脈内投与したとき、投与放射能の大部分が速やかに未変化体として尿中に排泄された。このことから、経口投与において尿に排泄された 6.1%が NANA の吸収率を反映するものと考えられ、NANA の経口吸収率は低いことが示唆された。また、ラットに非標識 NANA を反復経口投与したときの尿中排泄率が投与量の 1%程度であったことからも、NANA の吸収率の低いことが支持された。

血清中には高濃度の内因性 NANA が存在しており、NANA を経口投与後の血清中 NANA 濃度は、ラットでは 2000 mg/kg まで、イヌ及びウサギでは 600 mg/kg まで、投与前に比較して上昇が見られなかった。イヌ及びウサギに 2000 mg/kg 投与した場合には、投与前に対してそれぞれ 80～100 μg/mL 及び 40～50 μg/mL 程度の上昇が認められた。投与前後の血清中 NANA 濃度に、雌雄差は見られなかった。

2.6.4.1.2 分布

[^{14}C]で標識した NANA をラットに単回静脈内投与したときの血清中放射能濃度推移から求めた Vd_{ss} は 269.9 mL/kg であり、ラット細胞外容積（296.8 mL/kg）とほぼ同程度であった。また、静脈内投与後、0.5 時間の組織中放射能は、腎臓及び膀胱を除くと血清中放射能よりも低かった。これらのことから、NANA の組織移行性が低いことが示された。静脈内投与後 0.5 時間から 3 時間にかけて組織中放射能は低下したが、投与後 24 時間では、投与後 3 時間と比較して組織中放射能濃度の低下はみられず、多くの組織において上昇した。投与後 24 時間までに投与放射能の 92.35%及び 0.67%が尿及び糞中にそれぞれ排泄され、屍体中残存率が 2.40%であったことから、少ない量ではあるが、NANA が糖蛋白や糖脂質等に取り込まれ生体成分として利用されていることが推察された。NANA の血漿たん白結合率及び血球移行性はいずれも低いことが示された。

[^{14}C]標識した NANA を妊娠ラットに単回静脈内投与したとき、胎仔に放射能が検出された。胎仔に移行した放射能の存在形態は不明であるが、[^{14}C]NANA がオリゴ糖に取り込まれ、胎仔に移行した可能性が考えられた。

2.6.4.1.3 代謝

[^{14}C]標識した NANA をラットに静脈内投与又は経気道投与したとき、尿中にわずかながら N-アセチルマンノサミンが検出されたことに加えて、NANA をマウスの組織ホモジネートとインキュベートすると N-アセチルマンノサミン、ピルビン酸及び酢酸の生成が認められたとの報告[2)]があることから、経口吸収された NANA の一部は生体内において N-アセチルマンノサミンとピルビン酸に代謝され、更にそれぞれの代謝経路に入るものと考えられる。

[^{14}C]標識した NANA をラットに経口投与したとき呼気中に $^{14}CO_2$ が排泄された。[^{14}C]標識した NANA をラットに静脈内投与又は経気道投与したとき、投与放射能の大部分が未変化の NANA として尿中に排泄されたことから、$^{14}CO_2$ は体内では生成しないか、したとしてもわずかであろうと考えられる。また、[^{14}C]標識した NANA をラット消化管内容物とインキュベートしたとき、$^{14}CO_2$ が生成したことから NANA は腸内細菌により代謝されることが示唆された。

2.6.4.1.4 排泄

[^{14}C]標識した NANA を静脈内投与、経気道投与及び皮下投与した場合、投与した放射能の大部分が 24 時間までに尿中に排泄され、経口投与の場合は 72 時間までの尿、糞及び呼気にほぼ排泄された。静脈内投与及び経気道投与したときの尿中放射能を分析したところ、大部分が未変化の NANA であり、わずかに N-アセチルマンノサミンの排泄が確認された。反復皮下投与した場合、単回投与時と同様に、各回の投与後 24 時間までにほぼ 1 回投与量に相当する放射能が尿中に排泄された。

総胆管にカニューレを挿入した雄性ラットに[^{14}C]標識した NANA を経気道投与したとき、投与後 6 時間までの胆汁中に放射能は検出されなかった。なお、ラットに[^{14}C]標識した NANA を経気道投与したときの放射能の尿中排泄率が 99.8%であったことから、経気道投与における NANA の吸収率はほぼ 100%であると考えられる。

授乳ラットに[^{14}C]標識した NANA を単回静脈内投与したとき、乳汁中に放射能が検出された。乳汁中には遊離のシアル酸やシアリルラクトースを含む多くのオリゴ糖が存在していることが知られていることから、授乳ラットに投与した[^{14}C]NANA が遊離体として、あるいはオリゴ糖に取り込まれ、乳汁に移行したものと考えられた。

2.6.4.1.5 薬物動態学的薬物相互作用

NANA の CYP 分子種に対する阻害作用及び誘導作用並びに薬物トランスポーターに対する阻害作用及び輸送能について、ヒト試料を用いた in vitro 試験により評価した。その結果、NANA は高濃度において CYP3A4 を僅かに阻害及び誘導する傾向が見られた。しかしながら、臨床用量における NANA の血清中濃度及び推定消化管内濃度との比較から、CYP や薬物トランスポーターを介した薬物相互作用を生じる可能性は低いと考えられた。

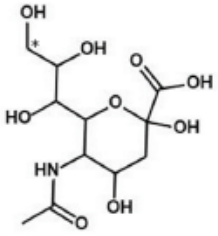
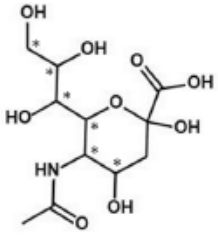
2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 放射性同位元素標識体

＜添付資料 4.2.2.1-1 参、4.2.2.2-2 参、4.2.2.2-3 参、4.2.2.2-4 参、4.2.2.3-1 参＞

申請者が[redacted]（[redacted]）に委託して合成した[^{14}C]標識 NANA 及び参考資料として採用した公表文献において使用されている[^{14}C]標識 NANA の構造式、標識位置及び特性を表 2.6.4-1 に示した。いずれも NANA の N-アセチルマンノサミン部分を標識したものである（図 2.6.4-11 参照）。

表 2.6.4-1　[^{14}C]標識 NANA

	申請者が委託合成した標識体	文献の標識体
構造式及び標識位置	 ＊：標識位置 [9-^{14}C]NANA	 ＊：標識位置 [4, 5, 6, 7, 8, 9-^{14}C]NANA
分子式	$^{14}C_1C_{10}H_{19}NO_9$	$^{14}C_6C_5H_{19}NO_9$
分子量	311.06	記載なし
ロット番号	[redacted]	記載なし
比放射能	56 mCi/mmol (6.66 MBq/mg)	11～12.1 GBq (300～327 mCi) /mmol
放射化学的純度	99.63%	97～99%
化学的純度	99.79%	記載なし
根拠資料	添付資料：4.2.2.1-1 参	添付資料：4.2.2.2-2 参 添付資料：4.2.2.2-3 参 添付資料：4.2.2.2-4 参 添付資料：4.2.2.3-1 参
適用した試験	添付資料：4.2.2.2-1 試験番号：[redacted]	添付資料：4.2.2.2-2 参 添付資料：4.2.2.2-3 参 添付資料：4.2.2.2-4 参 添付資料：4.2.2.3-1 参

2.6.4.2.2 非標識体の分析

＜添付資料 4.2.2.1-2、4.2.2.1-3、4.2.2.1-4、4.2.2.1-5＞

生体試料中には、糖鎖に結合している NANA（NGNA）と遊離の NANA（NGNA）が存在する。本測定法は、試料を塩酸加水分解後に固相抽出して試料中の総 NANA（NGNA）濃度を LC/MS/MS により測定するものである。各測定法のバリデーション試験結果を表 2.6.4-2 及び表 2.6.4-3 に示した。

表 2.6.4-2　ラット血清及び尿中 NANA 及び NGNA 濃度測定法のバリデーション試験結果

動物種		ラット			
マトリックス		血清		尿	
測定対象		NANA [a)]	NGNA [b)]	NANA [a)]	NGNA [b)]
測定方法		LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
定量範囲（μg/mL）		10～1000	1～100	25～1000	2.5～100
日内再現性	真度（%RE）	-1.6～2.6%	-8.1～5.0%	-1.1～1.0%	-7.9～6.4%
	精度（%CV）	0.5～1.2%	0.5～1.8%	1.1～4.2%	0.9～4.9%
日間再現性	真度（%RE）	0.2～1.2%	-2.1～1.5%	-1.1～0.1%	-9.0～4.8%
	精度（%CV）	1.6～2.6%	3.4～7.3%	1.6～3.8%	2.0～3.7%
凍結保存安定性		-20 ℃：84 日 -80 ℃：84 日	-20 ℃：84 日 -80 ℃：84 日	-20 ℃：164 日 -80 ℃：164 日	-20 ℃：164 日 -80 ℃：164 日
試験施設		[redacted] c)		[redacted] c)	
試験番号		[redacted]		[redacted]	
添付資料		4.2.2.1-2		4.2.2.1-3	
適用した試験		試験番号：[redacted] 添付資料：4.2.2.2-5 参 試験番号：[redacted] 添付資料：4.2.3.2-2		試験番号：[redacted] 添付資料：4.2.3.2-2	

a：アセノイラミン酸（N-アセチルノイラミン酸）
b：N-グリコリルノイラミン酸
c：[redacted]

表 2.6.4-3　イヌ及びウサギ血清中 NANA 及び NGNA 濃度測定法のバリデーション試験結果

動物種		イヌ		ウサギ	
マトリックス		血清		血清	
測定対象		NANA [a)]	NGNA [b)]	NANA [a)]	NGNA [b)]
測定方法		LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
定量範囲（μg/mL）		10～1000	1～100	25～1000	2.5～100
日内再現性	真度（%RE）	0.5～1.2%	-4.2～2.5%	-0.9～-0.3%	-3.5～5.3%
	精度（%CV）	0.5～1.0%	3.2～6.2%	0.8～2.6%	1.3～2.1%
日間再現性	真度（%RE）	0.5～2.1%	-3.3～-0.4%	-0.7～0.9%	-4.1～5.1%
	精度（%CV）	0.9～2.0%	6.7～10.1%	1.1～2.5%	1.6～2.4%
凍結保存安定性		-20 ℃：84 日 -80 ℃：84 日	-20 ℃：84 日 -80 ℃：84 日	-20 ℃：33 日 -80 ℃：33 日	-20 ℃：33 日 -80 ℃：33 日
試験施設		[redacted] [c)]		[redacted] [c)]	
試験番号		[redacted]		[redacted]	
添付資料		4.2.2.1-4		4.2.2.1-5	
適用した試験		試験番号：[redacted] 添付資料：4.2.2.2-6 参 試験番号：[redacted] 添付資料：4.2.3.2-3		試験番号：[redacted] 添付資料：4.2.3.5.2-4 参	

a：アセノイラミン酸（N-アセチルノイラミン酸）
b：N-グリコリルノイラミン酸
c：[redacted]

2.6.4.3 吸収

2.6.4.3.1 [^{14}C]標識体の単回投与

＜添付資料 4.2.2.2-1、4.2.2.2-2 参、4.2.2.2-3 参、4.2.2.2-4 参＞

雄性ラットに[^{14}C]標識 NANA を 20 mg/kg 又は 0.08 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの血清（又は血漿）中放射能濃度推移を図 2.6.4-1 及び図 2.6.4-2 に示した。また、そのときの薬物動態パラメーターを表 2.6.4-4 に示した。

＜添付資料 4.2.2.2-1＞

雄性ラットに 20 mg/kg の用量で[9-^{14}C]NANA を単回静脈内投与したときの血清中放射能濃度は，最初の測定時点である投与後 2 分に最高濃度を示した後、速やかに低下した。投与後 3 時間には、最高濃度の 2.2%に低下したが、その後の消失は緩やかであった。投与後 3 時間までの放射能濃度を用いて算出した CL_{total} は 377 mL/h/kg であり、ラットの糸球体濾過速度（1.31 mL/min/0.25 kg [1)] = 314 mL/h/kg）に近似した値を示した。同様に算出した Vd_{ss} は 269.9 mL/kg であり、ラットの細胞外容積（74.2 mL/0.25 kg [1)] = 296.8 mL/kg）に近似した値が得られた。

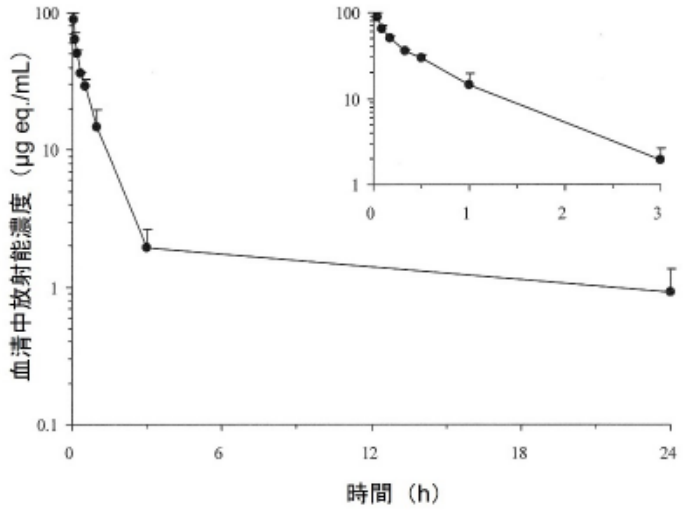


図 2.6.4-1　[9-14C]NANA を単回静脈内投与（20 mg/kg）したときの血清中放射能濃度推移
（投与後 3 時間までを拡大して図内に挿入した）

＜添付資料 4.2.2.2-2 参＞

雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で単回静脈内投与後の血漿中放射能濃度は速やかに低下し、投与後 3 時間以降は検出限界以下となった。投与後 3 時間までの AUC は 228 ng eq.･h/mL であった。CL_{total} は 351 mL/h/kg であり、20 mg/kg 投与時とほぼ一致した。このことから、NANA の静脈内投与後の薬物動態は、0.08 mg/kg から 20 mg/kg の範囲では概ね線形性を示すものと考えられた。

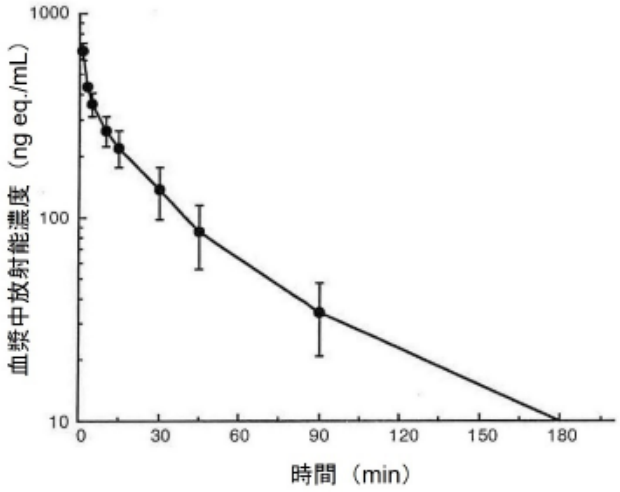


図 2.6.4-2　[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を単回静脈内投与（0.08 mg/kg）したときの血漿中放射能濃度推移

＜添付資料 4.2.2.2-2 参＞

雄性ラットに 0.08 mg/kg の用量で[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を単回経気道投与したときの血漿中放射能の薬物動態パラメーターを表 2.6.4-4 に示した。血漿中放射能濃度は、投与後 1.5 時間に C_{max}（33.1 ng eq./mL）を示し、6 時間に 11.0 ng eq./mL まで低下し、12 時間以降は測定限界以下となった。投与後 12 時間までの AUC は 173.0 ng eq.･hr/mL であり、静脈内投与時の AUC との比として求めた経気道投与における放射能の吸収率は 76%であった。

＜添付資料 4.2.2.2-3 参＞

雄性ラットに 0.08 mg/kg の用量で[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を単回経口投与したときの血漿中放射能の薬物動態パラメーターを表 2.6.4-4 に示した。血漿中放射能濃度は、投与後 1.5 時間までは検出限界以下であったが、投与後 3 時間に C_{max}（27.4 ng eq./mL）を示した後緩やかに低下し、投与後 24 時間には検出限界以下となった。

＜添付資料 4.2.2.2-4 参＞

雄性ラットに 0.08 mg/kg の用量で[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を単回皮下投与したときの血漿中放射能の薬物動態パラメーターを表 2.6.4-4 に示した。血漿中放射能濃度は、投与後 10 分に C_{max}（186.8 ng eq./mL）を示し、3 時間以降は測定限界以下となった。投与後 3 時間までの AUC は 194.5 ng eq.･hr/mL であり、静脈内投与時の AUC との比として求めた皮下投与における放射能の吸収率は 85%であった。

表 2.6.4-4　雄性ラットに[^{14}C]NANA を単回投与したときの薬物動態パラメーター

投与経路	静脈内	静脈内	経気道	経口	皮下
投与量（mg/kg）	20	0.08	0.08	0.08	0.08
C_0（μg eq./mL）	111±14	－	－	－	－
C_{max}(ng eq./mL)	－	－	33.1	27.4/27.5 a)	186.8
T_{max}	－	－	1.5 時間	3 時間	10 分
AUC	53.7±7.7 b) (0-∞) (ng eq.・h/mL)	228.0 (0-3 h) (ng eq.・h/mL)	173.0 (0-12 h) (ng eq.・h/mL)	－	194.5 (0-3 h) (ng eq.・h/mL)
CL_{total}（mL/h/kg）	377±52 b)	351	－	－	－
Vd_{ss}（mL/kg）	269.9±4.9 b)	－	－	－	－
MRT_{inf}（h）	0.7±0.1 b)	－	－	－	－
吸収率（%）	－	－	76	－	85
添付資料	4.2.2.2-1	4.2.2.2-2 参	4.2.2.2-2 参	4.2.2.2-3 参	4.2.2.2-4 参

a：原資料の本文と Table で値が異なるため並記した
b：原資料では投与後 24 時間の値を含めてパラメーターが計算されているが、投与後 24 時間の血清中放射能は生体成分に取り込まれた放射能と考えられたことから、投与後 3 時間までのデータを用いて申請者が計算した
－：該当しない又は原資料に記載がない

2.6.4.3.2 非標識体の単回投与

2.6.4.3.2.1 ラット

＜添付資料 4.2.2.2-5 参＞

雄性ラットに非標識 NANA を単回経口投与前及び投与後（200 及び 2000 mg/kg）の血清中 NANA 及び代謝物（NGNA）濃度を LC/MS/MS 法により測定した結果を表 2.6.4-5 に示した。

NANA 及び NGNA は内因性物質であり、投与前の血清中にも検出された。NANA 200 mg/kg 及び 2000 mg/kg 投与後の血清中 NANA 及び NGNA 濃度は、いずれも投与前（内因性レベル）とほぼ同様の値を示し、血清中濃度の上昇は認められなかった。

表 2.6.4-5　雄性ラットに非標識 NANA を単回経口投与したときの血清中 NANA 及び NGNA 濃度

定量物質	投与量 (mg/kg)	血清中濃度（μg/mL）						
		投与前 a)	10 分 b)	20 分 b)	30 分 b)	1 時間 b)	2 時間 b)	4 時間 b)
NANA	200	563 ±37	539 ±43	539 ±42	508 ±24	531 ±23	529 ±39	506 ±26
	2000	554 ±34	553 ±46	523 ±39	545 ±15	539 ±49	511 ±44	531 ±13
NGNA	200	16.2 ±1.3	16.2 ±1.0	15.4 ±0.5	14.5 ±1.7	15.8 ±0.8	14.7 ±0.5	13.9 ±1.3
	2000	16.8 ±1.8	17.8 ±1.6	14.9 ±1.3	14.6 ±0.7	17.4 ±1.2	14.6 ±1.6	14.6 ±0.8

a：平均値±標準偏差（n=15）
b：平均値±標準偏差（n=5）

2.6.4.3.2.2 イヌ

＜添付資料 4.2.2.2-6 参＞

雄性ビーグル犬に非標識 NANA を単回経口投与前及び投与後（200 及び 2000 mg/kg）の血清中 NANA 及び代謝物（NGNA）濃度を LC/MS/MS 法により測定した結果を表 2.6.4-6 に示した。

NANA 及び NGNA は内因性物質であり、投与前の血清中にも検出された。NANA 200 mg/kg 投与後の血清中 NANA 及び NGNA 濃度はいずれも投与前（内因性レベル）とほぼ同様の値を示し、血清中濃度の上昇は認められなかった。2000 mg/kg 投与後の血清中 NANA 濃度は、投与前の 557 μg/mL に対し、投与後 30 分に 636 μg/mL を示し、80 μg/mL 程度の上昇が認められた。血清中 NGNA 濃度は、投与前の 33.1 μg/mL に対し、投与後 20 分に 37.5 μg/mL を示し、わずかな濃度の上昇傾向が認められた。

表 2.6.4-6　雄性ビーグル犬に非標識 NANA を単回経口投与したときの血清中 NANA 及び NGNA 濃度

定量物質	投与量 (mg/kg)	血清中濃度（μg/mL）						
		投与前	10 分	20 分	30 分	1 時間	2 時間	4 時間
NANA	200	530 ±19	514 ±15	511 ±14	508 ±6	504 ±18	504 ±11	515 ±22
	2000	557 ±25	590 ±52	609 ±46	636 ±53	606 ±46	562 ±9	556 ±20
NGNA	200	26.7 ±4.4	25.6 ±4.8	25.4 ±5.1	24.1 ±4.2	24.5 ±4.7	25.4 ±5.0	26.0 ±5.7
	2000	33.1 ±9.4	34.8 ±4.8	37.5 ±8.0	37.0 ±6.4	34.5 ±6.1	32.2 ±4.1	31.4 ±4.6

平均値±標準偏差（n=4）

2.6.4.3.3 非標識体の反復投与（トキシコキネティクス）

2.6.4.3.3.1 ラット 26 週間反復経口投与

＜添付資料 4.2.3.2-2＞

雌雄ラットに非標識 NANA を 200、600 及び 2000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 26 週間（182 回）反復経口投与したときの初回及び 182 回投与後の TK パラメーターを表 2.6.4-7（NANA）及び表 2.6.4-8（NGNA）に示した。

＜NANA＞

初回投与後、血清中 NANA 濃度の投与量に依存した上昇は見られず、雌雄の血清中 NANA 濃度に差異は見られなかった。182 回反復投与後の血清中 NANA 濃度は、雌雄ともに初回投与後と比較して 10～50%の上昇を示したが、初回投与後と同様に用量に依存した血清中濃度の上昇は見られなかった。投与前と比較して明確な濃度の上昇は見られず、雌雄の血清中 NANA 濃度に差異は見られなかった。

表 2.6.4-7　雌雄ラットに NANA を反復経口投与したときの TK パラメーター（1）
～アセノイラミン酸（N-アセチルノイラミン酸）～

性別	投与日 (Day)	投与量 (mg/kg)	投与前 (μg/mL)	C_{max} a) (μg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{0-last} a) (μg·h/mL)
雄	1	200	-	565±44	9.9±12.9	12900±779
		600	-	588±40	15±13	13200±1424
		2000	-	572±60	5.3±10.5	12400±1205
	182	200	823±61	849±47	5.2±10.5	18800±976
		600	725±62	779±74	15±13	17000±1756
		2000	790±78	836±74	10±13	18200±1401
雌	1	200	-	611±31	10±13	13600±750
		600	-	586±25	5.2±10.5	12700±683
		2000	-	565±24	10±13	12200±492
	182	200	735±81	740±77	4.9±10.7	16300±1597
		600	640±61	646±59	0.10±0.22	13900±1274
		2000	671±44	691±43	0.70±0.27	15000±921

平均値±標準偏差（n=5）、-：測定していない、a：内因性レベルを含む

＜NGNA＞

初回投与後、血清中 NGNA 濃度の投与量に依存した上昇は見られなかった。雌雄の血清中 NGNA 濃度に差異は見られなかった。182 回反復投与後の血清中 NANA 濃度は、雌雄ともに初回投与後と比較して約 40～70%の上昇を示したが、初回投与後と同様に用量に依存した血清中濃度の上昇は見られなかった。投与前と比較して明確な濃度の上昇は見られず、雌雄の血清中 NANA 濃度に差異は見られなかった。

表 2.6.4-8　雌雄ラットに NANA を反復経口投与したときの TK パラメーター（2）
～N-グリコリルノイラミン酸～

性別	投与日 (Day)	投与量 (mg/kg)	投与前 (μg/mL)	C_{max} a) (μg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{0-last} a) (μg·h/mL)
雄	1	200	-	18.9±2.0	0.50±0.00	426±38
		600	-	19.0±1.4	0.80±0.67	420±25
		2000	-	19.4±1.5	0.50±0.00	415±36
	182	200	27.8±3.2	29.4±1.9	0.60±0.55	612±40
		600	28.3±3.1	30.4±5.1	1.4±1.5	635±53
		2000	30.5±1.4	32.3±1.6	0.80±0.45	671±44
雌	1	200	-	20.4±0.8	0.50±0.00	429±17
		600	-	19.2±1.2	0.60±0.22	395±13
		2000	-	19.5±2.0	0.60±0.22	413±39
	182	200	28.6±1.5	29.0±1.5	0.50±0.50	602±52
		600	25.8±2.0	26.6±2.1	0.50±0.50	547±29
		2000	28.3±4.6	29.4±3.9	0.60±0.42	603±81

平均値±標準偏差（n=5）、-：測定していない、a：内因性レベルを含む

2.6.4.3.3.2 イヌ 39 週間反復経口投与

＜添付資料 4.2.3.2-3＞

雌雄ビーグル犬に非標識 NANA を 200、600 及び 2000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 39 週間（273 回）反復経口投与したときの初回、91 回及び 273 回投与後の TK パラメーターを表 2.6.4-9（NANA）及び表 2.6.4-10（NGNA）に示した。

＜NANA＞

初回投与後の血清中 NANA 濃度は、投与前と比較して、600 mg/kg 以下の群では雌雄とも明確な上昇は認められなかった。2000 mg/kg 群では、雌雄とも若干の濃度上昇が見られ（雄：86 及び雌：94 μg/mL）、T_{max} は雌雄それぞれ 1.2 時間及び 0.92 時間であった。

投与 91 日及び 273 日の投与後の血清中 NANA 濃度は、初回投与時と同様の推移を示し、雌雄とも 2000 mg/kg 群のみで血清中濃度の上昇が認められた。

いずれの群においても反復投与による血清中濃度推移、C_{max} あるいは $AUC_{0\text{-}last}$ の変化は認められなかった。また、各群の血清中濃度に雌雄差は認められなかった。

表 2.6.4-9　雌雄ビーグル犬に NANA を反復経口投与したときの TK パラメーター（1）
～アセノイラミン酸（N-アセチルノイラミン酸）～

性別	投与日 (Day)	投与量 (mg/kg)	投与前	C_{max} [a)] (μg/mL)	T_{max} (h)	$AUC_{0\text{-}last}$ [a)] (h・μg/mL)
雄	1	200	494±17	523±11	8.0±0.0	12200±275
		600	509±16	517±18	3.0±3.4	12000±265
		2000	483±38	569±61	1.2±0.4	11800±870
	91	200	543±26	562±17	4.5±4.1	13100±289
		600	542±46	578±44	1.3±1.8	13200±1103
		2000	526±59	608±75	0.83±0.26	12700±1661
	273	200	462±6	490±20	8.0±0.0	11400±316
		600	459±56	477±61	2.7±3.6	11000±1476
		2000	479±36	584±49	0.8±0.3	12000±662
雌	1	200	485±72	496±62	9.0±10.5	11600±1406
		600	497±22	521±12	2.6±3.7	12200±191
		2000	497±53	591±89	0.92±0.20	12000±1303
	91	200	511±35	520±32	2.1±3.9	12100±806
		600	459±15	500±20	1.2±1.9	11400±520
		2000	511±59	623±101	0.83±0.26	12500±1618
	273	200	463±45	474±37	5.0±3.8	10800±886
		600	456±51	493±39	4.1±4.5	11300±748
		2000	478±41	677±160	0.83±0.26	12100±1046

平均値±標準偏差（200 及び 600 mg/kg：n=4、2000 mg/kg：n=6）
a：内因性レベルを含む

＜NGNA＞

初回投与後の血清中 NGNA 濃度は、投与前と比較して、600 mg/kg 以下の群では雌雄とも明確な上昇は認められなかった。2000 mg/kg 群では、雌雄とも投与後わずかに血清中濃度の上昇傾向が見られた。

投与 91 日及び 273 日の投与後の血清中 NGNA は初回投与後と同様の推移を示し、雌雄ともに 2000 mg/kg 群のみで投与後にわずかな血清中濃度の上昇傾向が認められた。

いずれの群においても反復投与による血清中濃度推移、C_{max} あるいは $AUC_{0\text{-}last}$ の変化は認められなかった。また、各群の血清中濃度及びその推移に明らかな雌雄差は認められなかった。

表 2.6.4-10　雌雄ビーグル犬に NANA を反復経口投与したときの TK パラメーター（2）
～N-グリコリルノイラミン酸～

性別	投与日 (Day)	投与量 (mg/kg)	投与前 (μg/mL)	C_{max} a) (μg/mL)	T_{max} (h)	$AUC_{0\text{-}last}$ a) (h・μg/mL)
雄	1	200	23.5±2.7	26.0±1.6	7.0±2.0	598±41
		600	26.4±5.7	26.9±5.9	2.4±3.8	608±126
		2000	28.3±4.1	30.8±4.6	2.2±2.9	683±94
	91	200	23.5±3.6	25.0±4.1	5.0±3.8	578±87
		600	27.9±5.9	30.0±5.3	4.2±4.4	682±134
		2000	27.8±3.7	30.5±3.9	0.67±0.26	683±87
	273	200	23.3±4.7	24.9±4.7	8.0±0.0	571±112
		600	27.0±5.1	28.6±6.1	7.0±2.0	653±132
		2000	29.2±3.2	33.1±3.7	3.1±3.8	736±92
雌	1	200	26.8±4.0	28.4±2.9	8.3±11.1	641±46
		600	21.4±3.0	24.9±3.3	4.3±4.3	556±86
		2000	26.3±3.5	28.7±4.3	0.61±0.33	618±96
	91	200	26.4±0.8	27.7±2.1	2.1±3.9	633±31
		600	20.7±3.4	22.5±3.5	5.0±2.0	511±71
		2000	26.2±3.0	28.5±3.6	1.7±3.1	643±79
	273	200	27.9±2.4	29.2±1.7	2.3±3.8	659±21
		600	25.4±5.3	27.4±4.8	4.6±3.9	618±102
		2000	25.1±2.3	29.4±3.8	0.67±0.73	628±76

平均値±標準偏差（200 及び 600 mg/kg：n=4、2000 mg/kg：n=6）
a：内因性レベルを含む

2.6.4.3.3.3 ウサギを用いた胚・胎仔発生に関する試験

＜添付資料 4.2.3.5.2-4 参＞

妊娠ウサギに非標識 NANA を 600 及び 2000 mg/kg/day の用量で、妊娠 6 日から 18 日まで、1 日 1 回反復経口投与したときの初回及び最終投与後の TK パラメーターを表 2.6.4-11 に示した。

NANA を 600 mg/kg の用量で妊娠 6 日目のウサギに投与したとき、投与前と比較して、血清中 NANA 濃度の上昇は認められなかった。2000 mg/kg では、投与前の 251 μg/mL に対して C_{max} が 292 μg/mL となり、わずかに血清中濃度の上昇が認められた。妊娠 6 日目から 18 日目まで反復投与したときの最終投与後の血清中 NANA 濃度は、初回投与時と同様に、600 mg/kg では投与前と比較して上昇は見られなかったが、2000 mg/kg ではわずかな上昇が認められた（投与前：332 μg/mL、C_{max}：383 μg/mL）。

血清中 NGNA 濃度は、NANA 濃度と同様の傾向であったが、その変化はより小さかった。

表 2.6.4-11　妊娠ウサギに NANA を反復経口投与したときの TK パラメーター

測定対象	投与日（妊娠日数）	投与量 (mg/kg)	投与前 (μg/mL)	C_{max} a) (μg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{0-last} a) (μg·h/mL)
NANA	6 b)	600	267±9	277±2	16.2±13.6	6310±85
		2000	251±9	292±9	1.0±0.9	6130±155
	18 c)	600	322±18	335±20	10.8±12.0	7850±552
		2000	332±43	383±45	0.5±0.0	8340±1232
NGNA	6 b)	600	26.6±0.6	26.8±0.9	3.3±4.2	620±26
		2000	26.9±4.5	28.7±4.7	0.5±0.0	641±97
	18 c)	600	25.1±0.2	26.1±1.2	4.0±4.0	600±35
		2000	24.7±3.8	26.6±2.6	0.7±0.3	595±64

平均値±標準偏差（n=3）
a：内因性レベルを含む
b：初回投与
c：最終投与

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 組織中放射能濃度

2.6.4.4.1.1 単回投与

＜添付資料 4.2.2.2-1＞

雄性ラットに[9-^{14}C]NANA を 20 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの組織中放射能濃度を表 2.6.4-12 に示した。

表 2.6.4-12　雄性ラットに[9-^{14}C]NANA を単回静脈内投与したときの組織中放射能濃度

組織/臓器	組織中放射能濃度（μg eq./g or mL）		
	0.5 h	3 h	24 h
血液	14.4±1.7	1.54±0.16	1.21±0.98
血清	23.3±2.6	1.07±0.06	0.937±0.825
脳	0.468±0.035	0.669±0.044	0.678±0.772
下垂体	2.02±0.27	0.667±0.153	2.03±2.24
眼球	3.62±0.69	0.508±0.034	0.431±0.527
顎下腺	4.18±0.53	0.850±0.100	1.51±1.62
甲状腺	3.26±0.60	0.641±0.126	2.44±2.73
気管	4.57±0.59	0.582±0.156	1.34±1.27
胸腺	1.90±0.21	0.440±0.018	2.16±2.60
心臓	2.41±0.19	0.302±0.030	0.664±0.664
肺	7.53±0.67	0.848±0.056	1.83±1.86
肝臓	3.64±0.39	1.37±0.04	4.68±5.57
副腎	3.13±0.51	0.707±0.015	2.75±2.66
腎臓	77.8±21.9	6.51±0.74	4.92±2.76
脾臓	5.61±1.24	4.14±0.81	3.49±3.05
膵臓	1.44±0.55	0.751±0.083	1.16±1.21
精巣	3.23±0.53	0.366±0.018	0.660±0.719
皮膚	9.13±1.74	0.735±0.161	2.41±2.93
骨髄	3.89±1.17	0.931±0.062	3.65±4.19
白色脂肪	2.62±1.05	0.142±0.013	1.70±1.53
膀胱	67.0±27.3	11.1±16.1	2.34±1.03
胃	11.5±7.3	1.19±0.85	1.93±2.37
小腸	1.89±0.47	4.86±3.49	1.87±1.86
大腸 [a)]	2.66±0.72	0.489±0.040	2.54±3.05
胸鎖乳突筋	2.17±0.07	0.196±0.021	1.04±1.27
掌側骨間筋 [b)]	4.28	0.497	0.467
前脛骨筋	1.82±0.12	0.189±0.020	0.847±1.051
大腿二頭筋	2.69±0.50	0.160±0.008	0.582±0.605
大腿四頭筋	2.08±0.23	0.150±0.005	0.575±0.602
腓腹筋	2.04±0.05	0.176±0.011	0.575±0.620

平均値±標準偏差（n=3）
a：盲腸を含む
b：3匹の試料をプールして測定

投与後 0.5 時間における放射能濃度は，腎臓、膀胱、血清の順で高値を示した。血清に次いで、血液、胃、皮膚、肺、脾臓及び気管で比較的高い放射能濃度が認められた。一方、脳、膵臓、前脛骨筋、小腸、胸腺、脳下垂体、腓腹筋、大腿四頭筋及び胸鎖乳突筋中放射能は低レベルであり、血清中放射能濃度の 1/10 未満であった。投与後 3 時間では、小腸及び脳を除く全ての

組織で放射能濃度が低下した。投与後 3 時間の組織中放射能は、膀胱が最も高く、次いで腎臓、小腸、脾臓、血液、肝臓、胃及び血清の順であった。投投与後 24 時間では、投与後 3 時間と比較して組織中放射能濃度の低下はみられず、多くの組織において上昇した。

＜添付資料 4.2.2.2-2 参＞

雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で単回経気道投与したときの組織中放射能濃度を表 2.6.4-13 に示した。

表 2.6.4-13　雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を単回経気道投与したときの組織中放射能濃度

組織/臓器	組織中放射能濃度 (ng eq./g or mL)				
	1.5 時間	6 時間	24 時間	48 時間	72 時間
血漿	64.8±8.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
血液	31.9±3.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
脳	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
下垂体	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
眼球	22.1±4.2	8.3±5.5	n.d.	n.d.	n.d.
顎下腺	41.2±9.1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
甲状腺	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
気管	852.7±303.5	42.3±20.5	32.8±5.6	11.5±4.7	19.3±5.5
肺	1373.7±195.3	138.6±137.0	147.2±101.6	60.6±20.1	66.0±19.6
心臓	40.4±17.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
胸腺	18.0±2.9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
肝臓	16.5±6.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
脾臓	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
腎臓	159.5±24.1	21.2±2.2	15.7±2.9	n.d.	n.d.
副腎	90.5±23.9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
精巣	18.1±8.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
膀胱	600.3±620.8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
胃	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
膵臓	12.3±1.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
小腸	16.6±7.1	31.4±11.2	n.d.	n.d.	n.d.
大腸	13.6±0.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
脂肪	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
骨格筋	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
皮膚	59.5±4.9 [a)]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
骨髄	27.1±3.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

平均値±標準偏差 (n=3)、n.d. ：検出限界以下
a：n=2

投与後 1.5 時間における放射能濃度は、投与部位である肺及び気管で最も高く、次いで排泄に関与する膀胱及び腎臓で高かった。それら以外の組織で血漿中濃度より高い濃度を示した組織は副腎のみであった。組織中放射能は比較的速やかに減少したが、6 時間以降の気管及び肺からの放射能の消失は緩やかであり、これらの組織では投与後 72 時間においても放射能の残存が認められた。

2.6.4.4.1.2 反復投与

＜添付資料 4.2.2.2-4 参＞

雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で 1 日 1 回反復皮下投与したときの組織中放射能濃度を表 2.6.4-14 に示した。

表 2.6.4-14　雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を反復皮下投与したときの組織中放射能濃度

組織/臓器	組織中放射能濃度（ng eq./g or mL）								
	初回投与			7 回反復投与		14 回反復投与			
	15 分	1.5 時間	24 時間	15 分	24 時間	15 分	1.5 時間	24 時間	72 時間
血漿	180.8	14.4	n.d.	226.1	n.d.	190.2	13.4 [a)]	n.d.	n.d.
血液	122.4	n.d.	n.d.	154.3	n.d.	161.9	33.8 [b)]	n.d.	n.d.
脳	16.0	n.d.	n.d.	19.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
下垂体	n.d	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
眼球	37.7	5.4	n.d.	41.8	n.d.	28.8	6.0	3.7	2.6
顎下腺	213.3	n.d.	n.d.	215.1	n.d.	166.6	13.8	n.d.	n.d.
甲状腺	89.8	n.d.	n.d.	99.2	n.d.	81.9 [b)]	n.d.	n.d.	n.d.
気管	98.2	16.7	n.d.	104.9	10.8	127.9	20.1	n.d.	n.d.
肺	50.9	n.d.	n.d.	92.3	16.9	96.2	22.9	16.4	12.3
心臓	40.0	n.d.	n.d.	85.5	n.d.	56.0	n.d.	n.d.	n.d.
胸腺	157.4	n.d.	6.6	165.5	n.d.	60.7	14.9 [a)]	n.d.	n.d.
肝臓	18.5	n.d.	n.d.	33.0	10.0 [a)]	29.5	9.8	n.d.	n.d.
脾臓	21.5	n.d.	n.d.	40.7	21.3 [a)]	34.6	13.4	15.0	n.d.
腎臓	380.7	58.1	17.1	471.6	58.5	552.5	93.5	58.5	39.7
副腎	177.4	n.d.	n.d.	247.8	n.d.	206.7	32.4	26.2 [a)]	15.5 [a)]
精巣	126.1	n.d.	n.d.	102.7	n.d.	68.5	10.2 [a)]	n.d.	n.d.
膀胱	1047.5	369.1	n.d.	763.6	n.d.	699.6	594.4	14.3	n.d.
胃	21.1 [a)]	n.d.	n.d.	45.2	n.d.	21.1	n.d.	n.d.	n.d.
膵臓	21.4	n.d.	n.d.	49.1	n.d.	30.0	n.d.	n.d.	n.d.
小腸	26.7	36.7	n.d.	44.2	n.d.	37.3	22.7	n.d.	n.d.
大腸	32.5	n.d.	n.d.	40.4	10.9 [a]	40.0	n.d.	n.d.	n.d.
脂肪	29.4	n.d.	n.d.	33.1	8.5 [a]	73.8	27.9	21.9	n.d.
骨格筋	122.2	5.2	n.d.	116.8	3.7	45.7	n.d.	n.d.	n.d.
皮膚	83.3	7.5	n.d.	107.7	55.6	360.9	26.0	29.8	70.9 [a)]
骨髄	169.3	n.d.	n.d.	205.1	n.d.	108.6	n.d.	n.d.	n.d.

平均値（n=3）、n.d.：検出限界以下
a：n.d.を含む、b：n=2

投与後 15 分の放射能濃度は、いずれの組織においても反復投与による大きな変化は認められなかった。一方、投与後 1.5 時間及び 24 時間における組織中放射能濃度は、反復投与により全般的にわずかであるが上昇傾向を示し、投与後 24 時間の濃度が 7 回と 14 回でほとんど差がないことから、組織中濃度は 7 回投与時までに定常状態に達していると考えられた。最終投与後 72 時間では、眼球、肺、腎臓、副腎及び皮膚でわずかに放射能の残留が認められた。

2.6.4.4.2 全身オートラジオグラフィー

2.6.4.4.2.1 単回投与

＜添付資料 4.2.2.2-4 参＞

雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの全身オートラジオグラムを図 2.6.4-3 に示した。放射能は投与後 15 分までに速やかに全身に分布した。投与後 24 時間では、投与部位を除くと腎臓に高い放射能が認められた。

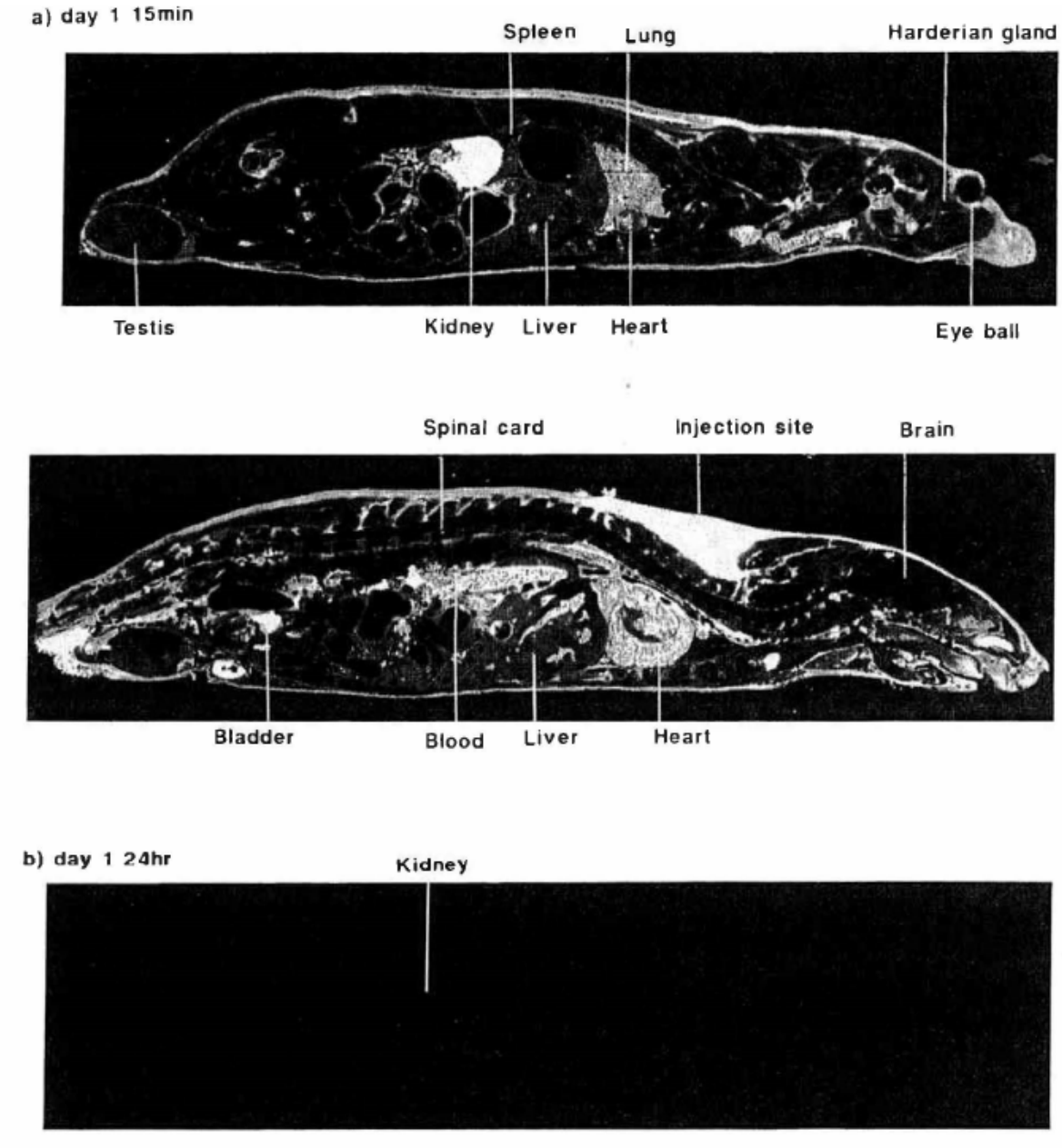


図 2.6.4-3　雄性ラットに[^{14}C]NANA を単回皮下投与後の全身オートラジオグラム

2.6.4.4.2.2 反復投与

＜添付資料 4.2.2.2-4 参＞

雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で 7 回反復皮下投与後の全身オートラジオグラムを図 2.6.4-4（投与後 15 分）及び図 2.6.4-5（投与後 24 及び 72 時間）に示した。7 回反復投与後 15 分及び 24 時間における分布状況は単回投与後と大きな差はなかったが、24 時間においては全般的に組織中放射能濃度の上昇が認められた。なお、7 回投与後 24 時間で口腔内に、72 時間で消化管内に認められた放射能は、ラットが排泄物の一部を経口摂取したことによるものと考えられる。

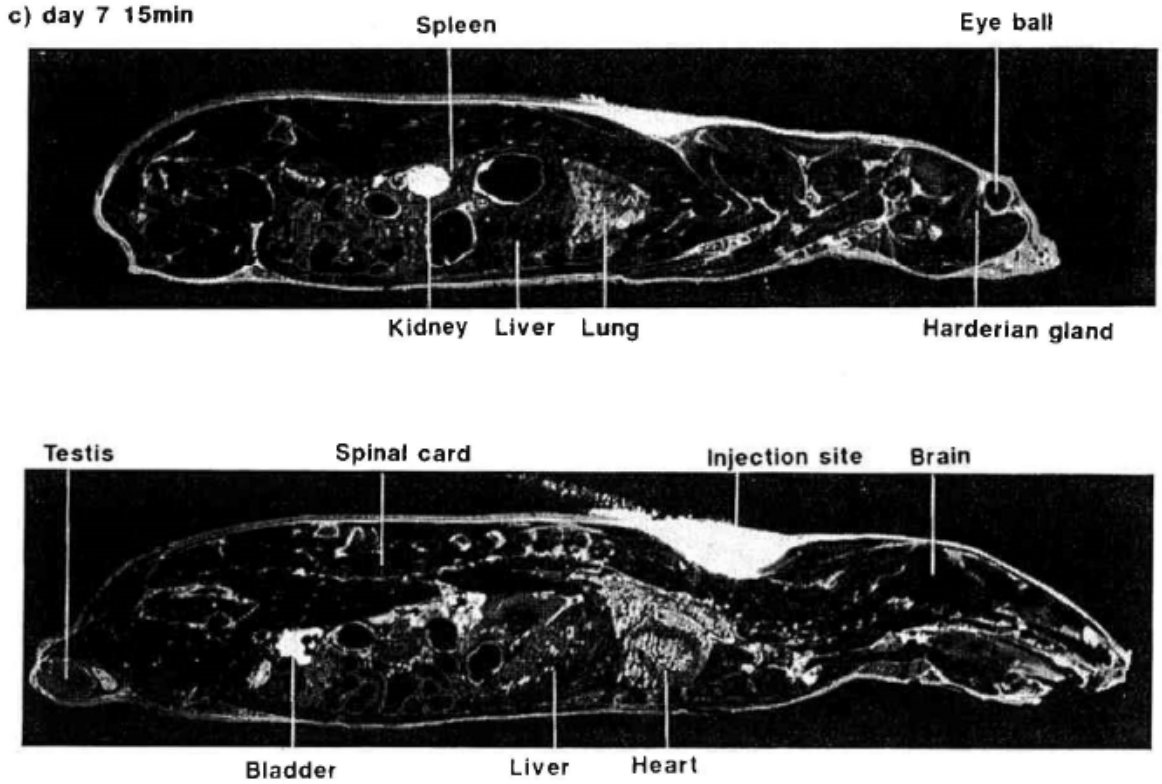


図 2.6.4-4　雄性ラットに[^{14}C]NANA を 7 回反復皮下投与後 15 分の全身オートラジオグラム

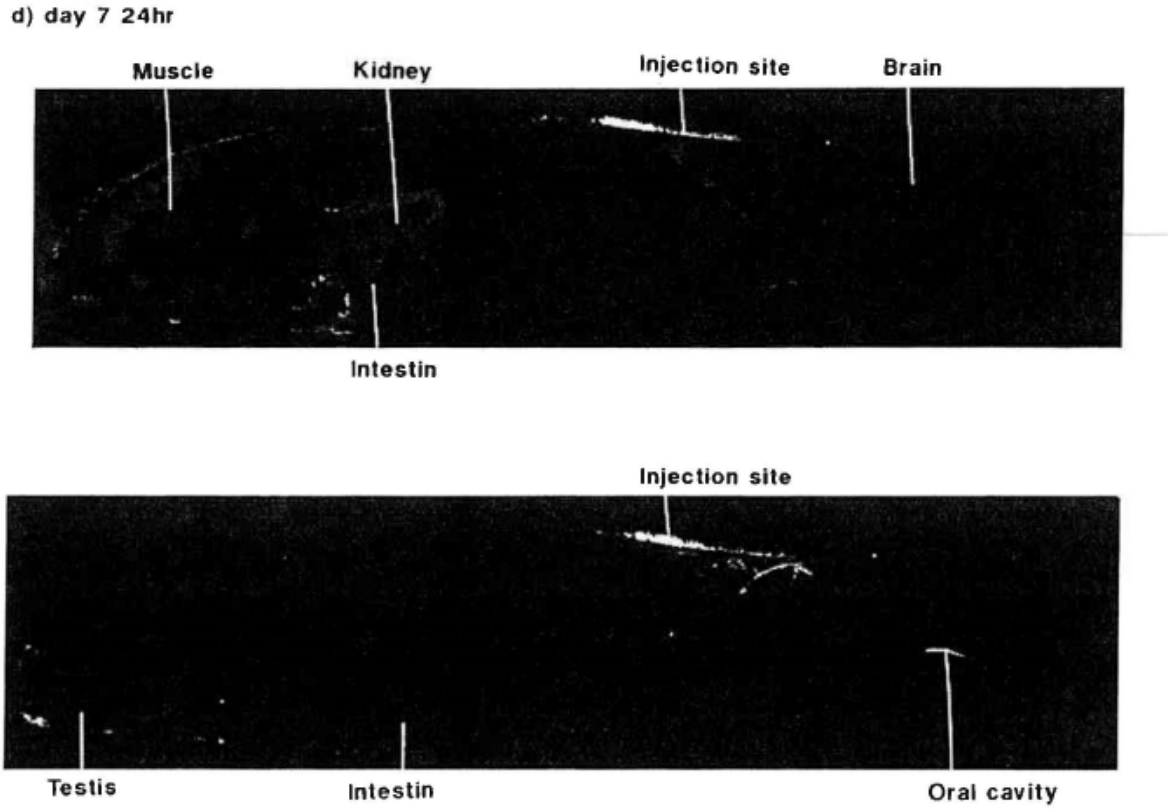


図 2.6.4-5　雄性ラットに[^{14}C]NANA を 7 回反復皮下投与後 24 及び 72 時間の
全身オートラジオグラム

2.6.4.4.3 たん白結合

＜添付資料 4.2.2.2-2 参＞

ラット又はヒト血漿 1 mL に[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 20 μg/0.1 mL を添加して 37℃で 15 分間インキュベートした後、限外ろ過法により NANA のたん白結合率を測定した。ヒト及びラット血漿に対する NANA の結合率は、それぞれ 3.1±3.1 及び 1.2±2.0%（平均値±標準偏差、n=3）であり、NANA は血漿たん白にほとんど結合しないことが示された。

2.6.4.4.4 血球移行性

＜添付資料 4.2.2.2-1、添付資料 4.2.2.2-2 参、添付資料 4.2.2.2-4 参＞

雄性ラットに[^{14}C]標識 NANA を単回投与後に組織中放射能濃度を測定した試験において、投与後最初の測定時点で得られた血液中放射能濃度、血漿（又は血清）中放射能濃度及びヘマトクリット値を用いて血球移行率を算出して表 2.6.4-15 に示した。

得られた血球移行率は、-11.7～18.8%の範囲であり、NANA の血球移行性は低いことが示唆された。

表 2.6.4-15　雄性ラットに[^{14}C]NANA を単回投与後の放射能の血球移行率

投与経路	静脈内	経気道	皮下
投与量（mg/kg）	20	0.08	0.08
標識体	[9-^{14}C]NANA	[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA	[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA
試料採取時点	30 分	1.5 時間	15 分
血液中放射能濃度（B）	14.4	31.9	122.4
血清又は血漿中放射能濃度（P）	23.3	64.8	180.8
ヘマトクリット値（%）[a)]	45	45	45
血球移行率（%）[b)]	11.0	-11.7	18.8

a：原資料にはヘマトクリット値の記載がないため、一般的な値として 45%を採用した
b：血球移行率（%）={1-P/B(1-ヘマトクリット値/100)}×100

2.6.4.4.5 胎盤通過

＜添付資料 4.2.2.3-1 参＞

2.6.4.4.5.1 全身オートラジオグラフィー

妊娠 19 日目のラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で単回静脈内投与し、投与後 5 分、45 分及び 1.5 時間における全身オートラジオグラムを作成した。投与後 5 分における全身オートラジオグラムを図 2.6.4-6 に示した。投与後 5 分では、胎仔及び羊水に放射能は認められなかった。母獣では腎臓中放射能が最も高く、心臓、肺、脾臓、胎盤及び子宮にも血液と同程度あるいはそれ以下の放射能が認められた。投与後 45 分では腎臓と排泄口付近に放射能が認められたが、投与後 1.5 時間には放射能はラットの全身からほとんど消失した。

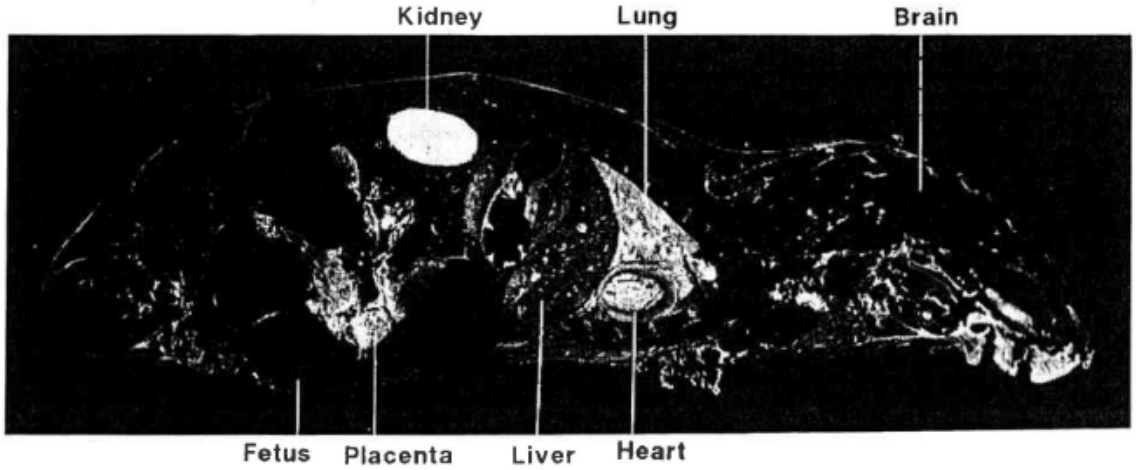


図 2.6.4-6　妊娠ラットに[^{14}C]NANA を単回静脈内投与後 5 分の全身オートラジオグラム

2.6.4.4.5.2 組織中放射能濃度

＜添付資料 4.2.2.3-1 参＞

妊娠 13 日目のラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの組織中放射能濃度を表 2.6.4-16 に示した。胎仔には投与後 45 分まで放射能が認められなかったが、投与後 24 時間ではわずかに放射能が認められた。この放射能は投与後 48 時間で減少し、投与後 72 時間には検出されなくなった。

表 2.6.4-16　妊娠 13 日目のラットに[^{14}C]NANA を単回静脈内投与後の組織中放射能濃度

妊娠 13 日目					
組織/臓器	組織中放射能濃度（ng eq./g or mL）				
	15 分	45 分	24 時間	48 時間	72 時間
血漿	327.0±30.7	57.1±7.8	n.d.	n.d.	n.d.
血液	170.6±42.1	24.8±3.6	n.d.	n.d.	n.d.
脳	8.5±0.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
下垂体	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
肺	110.8±9.2	26.7±3.5	n.d.	n.d.	n.d.
心臓	73.3±15.3	10.2±4.1 a)	n.d.	n.d.	n.d.
胸腺	53.1±5.2	11.5±1.9	n.d.	n.d.	n.d.
肝臓	36.9±2.0	10.9±4.2	6.8±2.4 a)	n.d.	n.d.
脾臓	104.3±78.6	14.8±6.0 a)	n.d.	n.d.	n.d.
腎臓	865.2±415.9	116.9±47.2	10.7±3.6	n.d.	n.d.
副腎	103.2±60.3	15.8±0.9	n.d.	n.d.	n.d.
膵臓	81.3±20.2	14.4±1.9	n.d.	n.d.	n.d.
乳腺	119.7±3.2	19.3±4.3	n.d.	n.d.	n.d.
子宮	114.0±30.9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
卵巣	50.3±11.0	17.2±3.5	n.d.	n.d.	n.d.
胎盤	42.3±5.0	13.0±5.2	4.2±1.4	4.4±1.3	n.d.
羊水	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
胎仔	n.d.	n.d.	3.4±1.2	2.2±1.0 a)	n.d.

平均値±標準偏差（n=3）、n.d.：検出限界以下
a：n.d.を含む

妊娠 19 日目のラットに[^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの組織中放射能濃度を表 2.6.4-17 に示した。投与後 5 分では胎仔の組織中に放射能は検出されなかったが、投与後 45 分では胎仔の肺、肝臓及び腸管に、また、24 時間では胎仔の脳、肺、肝臓及び腸管にわずかな放射能が検出された。

表 2.6.4-17　妊娠 19 日目のラットに[^{14}C]NANA を単回静脈内投与後の組織中放射能濃度

妊娠 19 日目			
組織/臓器	組織中放射能濃度（ng eq./g or mL）		
	15 分	45 分	24 時間
血漿	315.9±58.3	73.1±19.4	n.d.
血液	200.9±44.2	49.6±11.5	n.d.
脳	5.7±2.5	n.d.	n.d.
下垂体	71.1±10.1 [a)]	n.d.	n.d.
肺	101.1±9.0	19.8±7.0	n.d.
心臓	52.8±9.7	8.0±2.3	n.d.
胸腺	43.0±11.4	14.6±1.8	n.d.
肝臓	38.5±10.1	n.d.	n.d.
脾臓	46.4±7.3	n.d.	n.d.
腎臓	847.8±380.1	84.2±38.7	8.8±2.0 [a)]
副腎	34.3±6.5	n.d.	n.d.
膵臓	62.0±14.4	10.0±7.1 [a]	n.d.
乳腺	79.8±12.3	17.6±6.7	n.d.
子宮	441.8±610.0	24.1±16.6 [a)]	n.d.
卵巣	83.2±11.3	12.9±4.7	n.d.
胎盤	63.8±28.4	27.5±5.3	4.3±1.4 [a)]
羊水	n.d.	n.d.	n.d.
胎仔脳	n.d.	n.d.	1.8±0.1
胎仔肺	n.d.	3.9±0.2 [a)]	4.3±0.8
胎仔心臓	n.d.	n.d.	n.d.
胎仔肝臓	n.d.	3.1±0.8 [a)]	6.9±1.1
胎仔腎臓	n.d.	n.d.	n.d.
胎仔小腸	n.d.	3.3±4.4	8.1±2.8

平均値±標準偏差（n=3）、n.d.：検出限界以下
a：n.d.を含む

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 in vivo 代謝

＜添付資料 4.2.2.2-1＞

[9-^{14}C]NANA をラットに単回静脈内投与（20 mg/kg）し、投与後 3 時間に採取した血清及び投与後 24 時間までに回収した尿及びケージ洗液の放射能をラジオ HPLC により分析した。

血清をメタノールで除蛋白処理したとき、溶媒に抽出された放射能は 27.4%であったことから（表 2.6.4-18）、投与後 3 時間の血清中放射能の多くは、血清中の高分子に取り込まれた形で存在するものと考えられた。

メタノール抽出された放射能をラジオ HPLC で分析した結果、未変化の NANA ピーク（rSM-1）に加えて、2 本の未知ピーク（rSM-2 及び rSM-3）が検出された（図 2.6.4-7）。

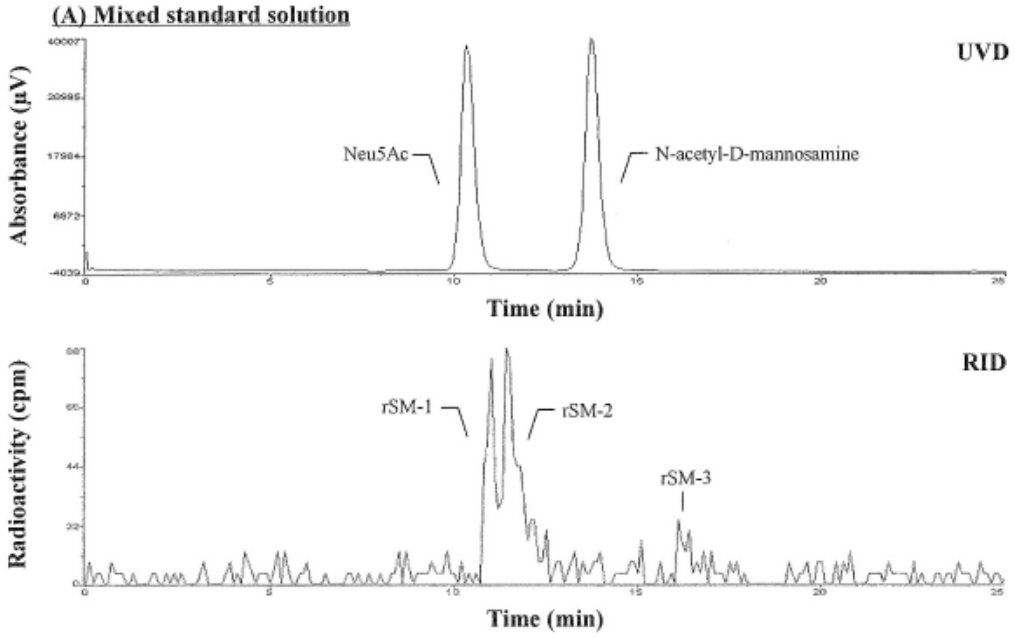


図 2.6.4-7　[9-^{14}C]NANA を単回静脈内投与後 3 時間の血清のラジオクロマトグラム

上段：標準品を UV にて検出、下段：血清中放射能のラジオクロマトグラム

投与後 1-24 時間までの尿及びケージ洗浄液中には、主として未変化の NANA（rUM-1 及び rWM-2）が検出され、微量の N-アセチルマンノサミン（rUM-2 及び rWM-3）と 2 本の未知ピーク（rWM-1 及び rWM-4）が検出された（図 2.6.4-8 及び図 2.6.4-9）。

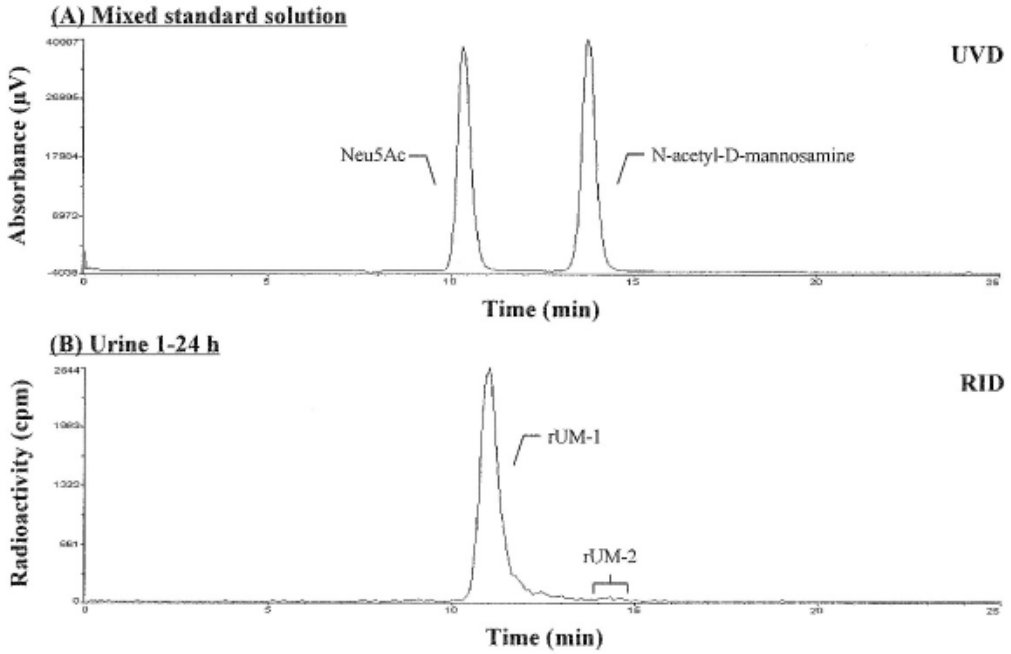


図 2.6.4-8　[9-^{14}C]NANA を単回静脈内投与後の尿のラジオクロマトグラム
上段：標準品を UV にて検出、下段：尿中放射能のラジオクロマトグラム

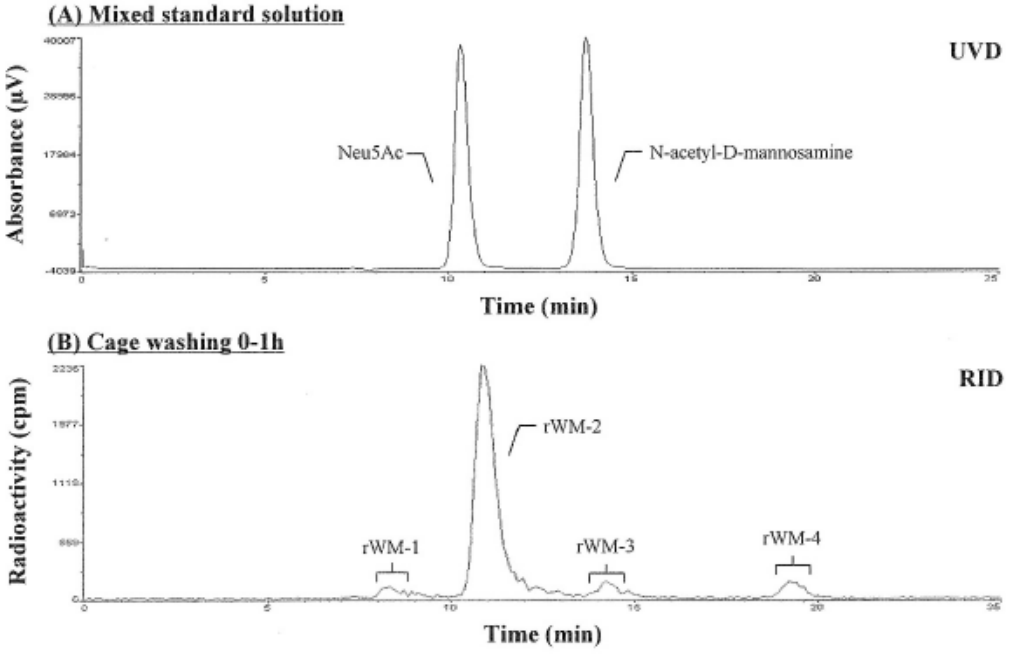


図 2.6.4-9　[9-^{14}C]NANA を単回静脈内投与後のケージ洗浄液のラジオクロマトグラム
上段：標準品を UV にて検出、下段：ケージ洗浄液中放射能のラジオクロマトグラム

ラジオクロマトグラムから算出した未変化体及び代謝物の組成比を表 2.6.4-18 に示した。静脈内投与された[9-^{14}C]NANA の大部分が未変化体として尿中に排泄され、ごくわずかに N-アセチルマンノサミンとして排泄されることが示された。

表 2.6.4-18　[^{14}C]NANA を単回静脈内投与後の放射能ピークの組成比

測定試料	血清	尿	ケージ洗浄液		
	3 時間	1-24 時間	0-1 時間	1-3 時間	0-24 時間
試料からの放射能抽出率（%）	27.4	100.9	*	*	*
放射能ピークの組成比（%）					
未変化体（NANA）	25.5	94.9	78.6	84.3	81.7
N-アセチルマンノサミン	ND	1.7	4.8	ND	1.8
未知代謝物 rSM-2	45.3	-	-	-	-
未知代謝物 rSM-3	7.8	-	-	-	-
未知代謝物 rWM-1	-	-	3.6	ND	1.8
未知代謝物 rWM-4	-	-	5.6	ND	6.9
その他	21.4	3.4	7.4	15.7	7.8
合計	100	100	100	100	100

*：抽出操作を行わず試料を直接 HPLC に注入、ND：検出せず、-：該当しない

＜添付資料 4.2.2.2-2 参＞

[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA をラットに単回経気道投与（0.08 mg/kg）し、投与後 3 時間までの尿中放射能をラジオ HPLC により分析した結果を図 2.6.4-10 に示した。放射能の 98%が未変化の NANA であり、2%が N-アセチルマンノサミンであった。

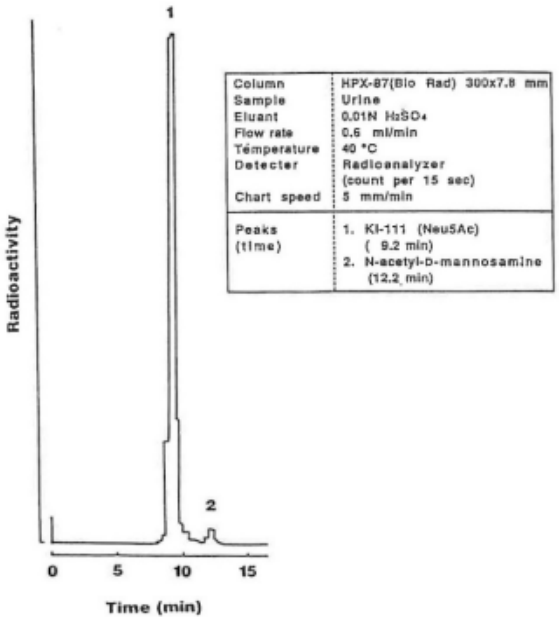


図 2.6.4-10　[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を単回経気道投与後の尿のラジオクロマトグラム

1：NANA、2：N-アセチルマンノサミン

2.6.4.5.2 in vitro 代謝

＜添付資料 4.2.2.2-3 参＞

[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA 及びラット消化管内容物をリン酸緩衝液に加え、窒素ガス流入下に 37℃で嫌気培養した。流出する気体中の $^{14}CO_2$ を炭酸ガス吸着剤に捕集し放射能を測定した結果を、表 2.6.4-19 に示した。

表 2.6.4-19　ラット消化管内容物（腸内細菌）による代謝

試料採取時間（h）	累積回収率（% of dose）		
	$^{14}CO_2$	反応液	総回収率
0-1	8.5±1.5	－	－
0-2	14.5±0.3	－	－
0-3	17.5±0.0	－	－
0-4	19.2±0.2	－	－
0-6	21.7±0.4	78.1±4.1	99.9±3.7

平均値±標準偏差（例数の記載なし）
－：測定していない

培養開始後 6 時間までに、添加した放射能の 21.7%が炭酸ガス吸着剤中に検出され、NANA が腸内細菌によって CO_2 に代謝されることが示された。使用した標識体は NANA の 4～9 位の炭素を標識したものであることから、生成した CO_2 は、NANA の N-アセチルマンノサミンに由来するものと考えられる（図 2.6.4-11）。

2.6.4.5.3 推定代謝経路

前項までの成績及び文献情報[2]に基づいて推定したNANAの推定代謝経路を図 2.6.4-11に示した。NANAはN-アセチルノイラミン酸リアーゼにより、N-アセチルマンノサミンとピルビン酸に解離する[3,4]。生成したN-アセチルマンノサミンとピルビン酸はそれぞれの代謝系に入り更に代謝され、酢酸やCO_2を生成する。

一方、ラット及びイヌではNANAのアセチル基が水酸化されN-グルコリルノイラミン酸が生成するが、ヒトではこの酵素が欠損しているために生成しない[5]。

[^{14}C]NANAをラットに静脈内投与したとき、大部分の放射能が未変化体として尿中に排泄されたことから、NANAの主たる排泄経路は尿中排泄であることが示された。投与後3時間までの血漿中放射能の消失は速やかであったが、その後の消失は緩徐であったこと、投与後3時間の血漿中放射能の約70%はメタノールで抽出されなかったこと、組織中放射能濃度の測定においては低レベルながら残留傾向が認められたことから、[^{14}C]NANAが生体高分子（糖脂質、糖蛋白等）に取り込まれたものと考えられた。

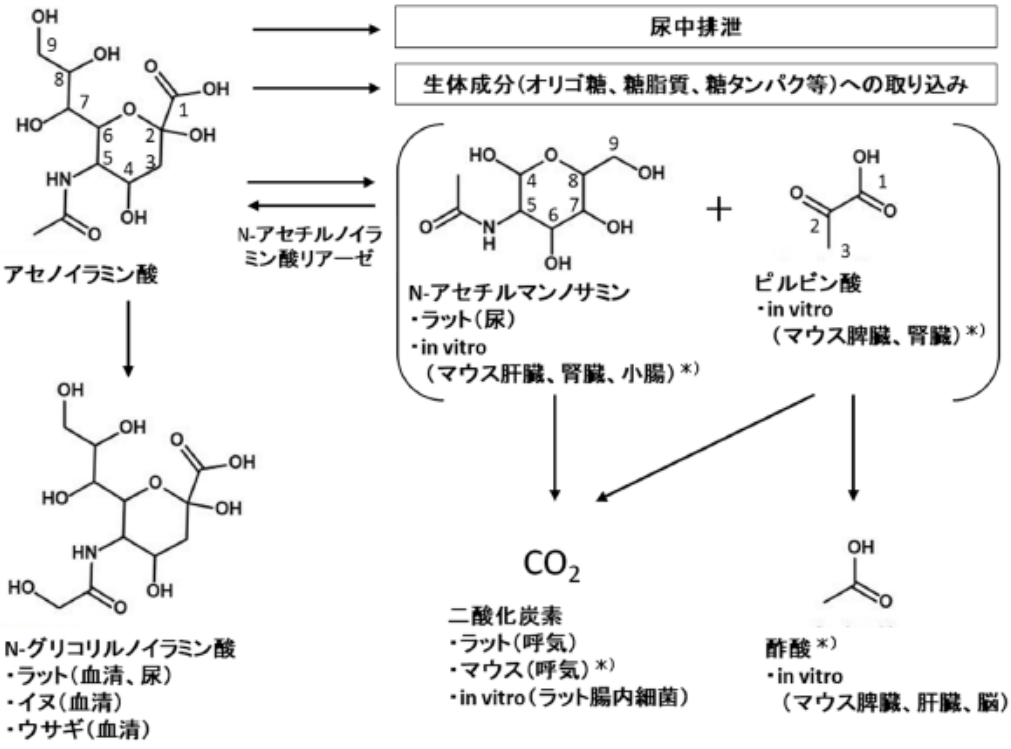


図 2.6.4-11　アセノイラミン酸の推定代謝経路

アセノイラミン酸、N-アセチルマンノサミン及びピルビン酸、それぞれの炭素が対応するように番号を付した。
*：文献[2]からの引用。

2.6.4.5.4 酵素誘導及び阻害

薬物動態学的薬物相互作用の項に記載した。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 尿・糞・呼気中排泄

2.6.4.6.1.1 単回投与

＜添付資料 4.2.2.2-1、4.2.2.2-2 参、4.2.2.2-3 参＞

雄性ラットに[9-^{14}C]NANA 又は[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を単回投与したときの放射能の累積排泄率（% of dose）を表 2.6.4-20 に示した。

表 2.6.4-20　雄性ラットに[^{14}C]標識 NANA を単回投与したときの放射能の累積排泄率

標識体		[9-^{14}C]NANA	[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA		
投与経路（投与量）		静脈内 (20 mg/kg)	静脈内 (0.08 mg/kg)	経気道 (0.08 mg/kg)	経口 (0.08 mg/kg)
試料	採取時間	累積排泄率（% of dose）			
尿	0-3	9.46±7.40 (83.36) a)	－	87.4±4.6	－
	0-6	－	97.2±3.4	98.6±0.9	2.0±1.1
	0-24	18.17±4.10 (92.35) a)	100.1±2.7	99.8±0.8	4.3±2.0
	0-72	－	－	－	6.1±2.8
糞	0-24	0.67±0.17	－	－	28.8±11.3
	0-72	－	－	－	29.5±11.4
呼気	0-6	－	－	－	43.3±13.2
	0-24	－	－	－	52.7±5.3
	0-72	－	－	－	62.4±9.6
ケージ洗液	0-1	68.13±9.63	－	－	－
	0-3	73.90±3.86	－	－	－
	0-24	74.18±3.68	－	－	－
合計	0-3	83.36±8.57	－	－	－
	0-6	－	－	－	45.3±12.5
	0-24	93.02±6.96	100.1±2.7	99.8±0.8	85.8±12.3
	0-72	－	－	－	97.9±7.2
屍体中残存率	24	2.40±0.02	－	－	－

平均値±標準偏差（n=3）
－：該当しない又は原資料に記載がない
a：ケージ洗液中放射能は尿に由来すると考えられることから尿中排泄率に算入して表示

20 mg/kg の用量で[^{14}C]NANA を静脈内投与したとき、投与後 3 時間までに投与放射能の 83.36%が尿中に排泄され、投与後 24 時間までに投与放射能の 92.35 及び 0.67%がそれぞれ尿及び糞中に排泄された。屍体中には 2.40%の放射能が残存した。

0.08 mg/kg の用量で[^{14}C]NANA を静脈内及び経気道投与したとき、投与後 6 時間までに、それぞれ投与放射能の 97.2 及び 98.6%が尿中に排泄され、投与後 24 時間までの排泄率はそれぞれ 100.1 及び 99.8%であった。経気道投与された[^{14}C]NANA は速やかに吸収され、循環血に至った[^{14}C]NANA は速やかに尿中に排泄されることが示された。

0.08 mg/kg の用量で[^{14}C]NANA を経口投与したとき、投与後 6 時間までに、投与放射能の 2.0 及び 43.3%がそれぞれ尿及び呼気中に排泄された。投与後 72 時間までに投与放射能の 6.1、

29.5 及び 62.4%が尿、糞及び呼気中にそれぞれ排泄され、総排泄率は 97.9%であった。
[^{14}C]NANA を経口投与したときの放射能の主たる排泄経路は呼気であった。

2.6.4.6.1.2 反復投与

＜添付資料 4.2.2.2-4 参＞

0.08 mg/kg の用量で[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を単回皮下投与並びに 7 回及び 14 回反復皮下投与したときの尿中への放射能の排泄率を表 2.6.4-21 に示した。いずれの投与回数においても、投与後 24 時間までに 1 回投与量のほぼ 100%が尿中に排泄された。

表 2.6.4-21　[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を反復皮下投与したときの放射能の尿中排泄率

投与回数	試料採取時間 (h)	排泄率（1 回投与量に対する%）
単回	0-24	97.4±4.3
7 回	0-24	101.4±0.3
14 回	0-24	97.2±0.6
	24-48	n.d.
	48-72	n.d.

平均値±標準偏差（n=3）、n.d.：検出限界以下

＜添付資料 4.2.3.2-2＞

雌雄ラットに NANA を 26 週間（182 回）反復経口投与したときの 91 日目及び 182 日目投与直後から 24 時間の間に排泄された NANA 及び NGNA の尿中排泄量及び排泄率を表 2.6.4-22 に示した。尿中には内因性の NANA 及び NGNA を含むため、回復期間 7 日目の 24 時間の排泄量を内因性成分として 91 日目及び 182 日目の排泄量から差し引いた値を排泄量として示した。

91 日目及び 182 日目の投与後直後から 24 時間の間に排泄された NANA の量は雌雄ともに投与量に依存して増加した。1 回投与量に対する排泄率（% of dose）は-0.65～1.57%であり、経口投与した NANA の尿中排泄率はわずかであった。

同様に求めた NGNA の排泄量は NANA と比較して少なく、投与量に依存した増加は認められなかった。

表 2.6.4-22　雌雄ラットに NANA を反復経口投与したときの尿中排泄率

定量物質	性	投与量		排泄量（μg）[a]		排泄率（% of dose）[b]	
		mg/kg	mg/body [c]	91 日目	182 日目	91 日目	182 日目
NANA	雄	200	100	730	650	0.73	0.65
		600	300	1360	1280	0.45	0.43
		2000	1000	15670	11370	1.57	1.14
	雌	200	60	-390	270	-0.65	0.45
		600	180	227	427	0.13	0.24
		2000	600	4761	6311	0.79	1.05
NGNA	雄	200	100	313	159	0.31	0.16
		600	300	128	-21	0.04	-0.01
		2000	1000	468	305	0.05	0.03
	雌	200	60	-36	14	-0.06	0.02
		600	180	-37	-1	-0.02	0.00
		2000	600	-21	37	-0.00	0.01

a：排泄量＝[各投与後 24 時間の総排泄量の平均値]－[回復期間 7 日目 24 時間の総排泄量の平均値]、回復期間 7 日目の排泄量を内因性成分として計算
b：排泄率＝[投与直後から 24 時間の間に排泄された薬物量の 1 回投与量に対する割合]＝排泄量/投与量*100
c：投与 91 日目以降の体重はほぼ一定であるとみなし、雄は 500 g、雌は 300 g として算出

2.6.4.6.2 胆汁中排泄

＜添付資料 4.2.2.2-2 参＞

総胆管にカニューレを挿入した雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で経気道投与したとき、投与後 6 時間までの胆汁中に放射能は検出されなかった。

2.6.4.6.3 乳汁中排泄

＜添付資料 4.2.2.3-1 参＞

分娩後 10～12 日目の雌ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの、乳汁及び血液中の放射能濃度を測定した結果を表 2.6.4-23 に示した。母獣血液中放射能濃度は投与後速やかに減少し、投与後 6 時間には検出限界以下となった。乳汁中の放射能濃度は投与後 1.5 時間に 15.2±3.7 ng eq./mL と最高値を示し、投与後 3 時間後に 10.5±3.5 ng eq./mL に低下し、以後検出限界以下となった。

表 2.6.4-23　雌ラットに[^{14}C]NANA を単回静脈内投与したときの乳汁中放射能濃度

試料採取時間 (h)	放射能濃度 (ng eq./mL)	
	乳汁	血液
0.75	13 [a)]	120 [a)]
1.5	15.2±3.7	30 [a)]
3.0	10.5±3.5	7 [b)]
6.0	n.d.	n.d.

a：原資料のグラフから申請者が読み取った値を記載した
b：原資料の本文には「検出限界以下となった」と記載されているが、グラフには値がプロットされているため、その値を読み取って記載した
平均値±標準偏差 (n=5)
n.d. ：検出限界以下

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 CYP 分子種に対する阻害作用

＜添付資料 4.2.2.6-1 参＞

ヒト肝ミクロソームを用いて CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5）の特異的な代謝反応に対する NANA の直接阻害作用、プレインキュベーション時間依存的阻害作用及び代謝依存的阻害作用を検討した（表 2.6.4-24）。評価濃度は、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 の場合は 0.16～160 μmol/L、CYP3A4/5 の場合は 0.015～15 mmol/L とした。

その結果、NANA の IC_{50} 値は、 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対しては、いずれのインキュベーション条件においても＞160 μmol/L であった。CYP3A4/5 に対しては、NANA はテストステロン及びミダゾラムの代謝を直接阻害したが、試験した最高濃度（15 mmol/L）において阻害率はそれぞれ 51%及び 34%であり、IC_{50} 値はいずれも＞15 mmol/L と算出された。時間依存的阻害及び代謝依存的阻害は認められなかった。

表 2.6.4-24　CYP 分子種に対する NANA の阻害作用

CYP 分子種	基質	IC_{50} 値		
		直接阻害 [a)]	時間依存的阻害 [b)]	代謝依存的阻害 [c)]
CYP1A2	Phenacetin	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L
CYP2B6	Efavirenz	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L
CYP2C8	Amodiaquine	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L
CYP2C9	Diclofenac	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L
CYP2C19	(S)-Mephenytoin	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L
CYP2D6	Dextromethorphan	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L	＞160 μmol/L
CYP3A4/5	Testosterone	＞15 mmol/L (阻害率 [d)]：51%)	＞15 mmol/L (阻害率 [d)]：48%)	＞15 mmol/L (阻害率 [d]：54%)
CYP3A4/5	Midazolam	＞15 mmol/L (阻害率 [d)]：34%)	＞15 mmol/L (阻害率 [d)]：33%)	＞15 mmol/L (阻害率 [d)]：33%)

a：肝ミクロソーム、基質、被験物質を NADPH 生成系存在下で 37℃、5 分間インキュベーション
b：肝ミクロソームと被験物質を 37℃、30 分間プレインキュベーションした後、
　NADPH 生成系と基質を加えて更に 5 分間インキュベーション
c：肝ミクロソーム、被験物質及び NADPH 生成系を 37℃、30 分間プレインキュベーションした後、
　基質を加えて更に 5 分間インキュベーション
d：試験した最高濃度（15 mmol/L）における阻害率

2.6.4.7.2 CYP 分子種に対する誘導作用

＜添付資料 4.2.2.6-2 参＞

3 ロットのヒト凍結肝細胞に NANA を 3 日間曝露した後、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 遺伝子（mRNA）の発現量を測定した（表 2.6.4-25）。CYP1A2 では 3 ロットの肝細胞において mRNA の増加は認められなかった。CYP2B6 の mRNA も同様であり、HC7-5 に 8800 μmol/L を曝露したとき、2.20 倍の増加が認められたが、それは陽性対照の効果の 18.1%であった。CYP3A4 では、HC10-8 において、用量依存的に mRNA の増加が認められ、8800 μmol/L では 2.71 倍の増加が見られたが、その変化は陽性対照のわずかに 1.79%であった。

表 2.6.4-25　ヒト凍結肝細胞における CYP 分子種に対する NANA の誘導作用

CYP 分子種	被験物質	濃度（μmol/L）	溶媒対照に対する増加倍数（陽性対照に対する%）[e]		
			肝細胞のロット番号		
			HC10-8（女性）	HC4-18（男性）	HC7-5（女性）
1A2	NANA	1.5	0.740 (-0.380)	0.629 (-0.742)	0.775 (-0.643)
		5	0.828 (-0.251)	0.573 (-0.854)	0.641 (-1.03)
		15	0.828 (-0.251)	0.507 (-0.985)	0.732 (-0.776)
		50	0.920 (-0.117)	0.531 (-0.937)	0.701 (-0.854)
		100	0.951 (-0.0716)	0.683 (-0.634)	0.710 (-0.829)
		1000	0.916 (-0.123)	0.701 (-0.598)	0.638 (-1.03)
		8800	1.09 (0.130)	0.787 (-0.426)	0.964 (-0.103)
	陰性対照[a]	25	0.718 (-0.412)	0.971 (-0.0580)	0.424 (-1.65)
	陽性対照[b]	50	69.4 (100)	51.0 (100)	36.0 (100)
2B6	NANA	1.5	1.07 (0.493)	1.19 (3.16)	1.56 (8.49)
		5	1.18 (1.28)	1.27 (4.44)	1.44 (6.70)
		15	1.24 (1.75)	1.37 (6.09)	1.44 (6.66)
		50	1.38 (2.70)	1.45 (7.33)	1.31 (4.61)
		100	1.40 (2.84)	1.54 (8.73)	1.44 (6.60)
		1000	1.52 (3.70)	1.50 (8.07)	1.35 (5.35)
		8800	1.52 (3.70)	1.77 (12.5)	2.20 (18.1)
	陰性対照[a]	25	1.10 (0.730)	1.28 (4.59)	0.822 (-2.69)
	陽性対照[c]	750	15.0 (100)	7.14 (100)	7.62 (100)
3A4	NANA	1.5	1.45 (0.472)	0.865 (-2.45)	1.16 (0.913)
		5	1.55 (0.572)	0.872 (-2.32)	1.08 (0.442)
		15	1.63 (0.655)	0.826 (-3.15)	1.02 (0.118)
		50	1.74 (0.772)	0.899 (-1.83)	1.21 (1.22)
		100	1.97 (1.02)	0.972 (-0.508)	1.21 (1.24)
		1000	2.10 (1.15)	0.992 (-0.145)	1.13 (0.778)
		8800	2.71 (1.79)	1.02 (0.417)	1.51 (2.98)
	陰性対照[a]	25	1.41 (0.434)	2.02 (18.5)	0.859 (-0.831)
	陽性対照[d]	20	96.4 (100)	6.52 (100)	18.0 (100)

a：フルマゼニル、b：オメプラゾール、c：フェノバルビタール、d：リファンピン

e：陽性対照に対する%＝（[NANA 処置群の増加倍数]－1）／（[陽性対照群の増加倍数]－1）×100

2.6.4.7.3 薬物トランスポーターに対する阻害作用

＜添付資料 4.2.2.6-3 参、添付資料 4.2.2.6-4 参＞

P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K による各典型基質の輸送に対する NANA の阻害作用を検討した結果を表 2.6.4-26 に示した。P-gp、BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 については 4000 μmol/L まで、その他のトランスポーターについては 100 μmol/L まで、典型基質の輸送に対する阻害作用は認められなかった。

表 2.6.4-26　各種薬物トランスポーターに対する NANA の阻害作用

トランスポーター	典型基質	溶媒対照に対する残存活性（%）				
		NANA 添加濃度（μmol/L）				陽性対照
		10	100	400	4000	
P-gp	ジゴキシン	-	-	102	143	0.8
BCRP	プラゾシン	-	-	92.0	102	-0.270
OATP1B1	エストラジオール 17β-グルクロナイド	-	-	101	108	5.6
OATP1B3	エストラジオール 17β-グルクロナイド	-	-	102	103	2.8
OAT1	p-アミノ馬尿酸	105	97.7	-	-	4.6
OAT3	エストロン 3-硫酸	124	111	-	-	5.1
OCT2	メトフォルミン	119	111	-	-	11.9
MATE1	メトフォルミン	99.6	110.5	-	-	12.2
MATE2-K	メトフォルミン	100.2	97.9	-	-	16.9

残存活性(%)=[NANA 又は陽性対照添加時の輸送活性]÷[溶媒対照添加時の輸送活性]×100
-：実施していない

OCT1 の典型基質であるテトラエチルアンモニウムブロミド（5 μmol/L）の輸送に対する NANA の阻害作用を検討した結果を表 2.6.4-27 に示した。NANA は 1000 μmol/L までの濃度では OCT1 の輸送を阻害しなかったが、3000 μmol/L 以上では OCT1 を軽度に阻害した。

表 2.6.4-27　OCT1 に対する NANA の阻害作用

被験物質	被験物質濃度（μmol/L）	OCT1 発現細胞の基質取込み量（pmol/mg/min）	溶媒対照に対する残存活性（%）
溶媒対照	0	55.4	100
NANA	10	58.2	105
	30	58.3	105
	100	62.5	113
	300	64.1	116
	1000	60.3	109
	3000	40.3	72.7
	4000	30.6	55.2
陽性対照	100	7.67	13.8

溶媒対照に対する残存活性（%）＝[NANA 又は陽性対照の取込み量]/[溶媒対照の取込み量]×100

2.6.4.7.4 薬物トランスポーターによる輸送

＜添付資料 4.2.2.6-3 参、4.2.2.6-4 参＞

P-gp 及び BCRP による NANA の輸送について検討した（表 2.6.4-28）。トランスウェルに P-gp 又は BCRP 発現細胞を培養し、基底膜側（B）から頂端膜側（A）への透過係数を反対方向の透過係数で除した flux ratio を求め、評価指標とした。

P-gp 発現細胞における NANA の flux ratio は、0.914 で 2 を超えることはなく、また、P-gp 阻害剤（バルスポダル）添加により変化しなかった。このことから、NANA は P-gp により輸送されないと判断された。

BCRP 発現細胞における NANA の flux ratio は、0.689 で 2 を超えることはなく、また、BCRP 阻害剤（Ko143）添加により変化しなかった。このことから、NANA は BCRP により輸送されないと判断された。

表 2.6.4-28　P-gp 及び BCRP による NANA の輸送

トランスポーター	阻害剤	透過係数（$\times 10^{-6}$ cm/s）		Flux ratio
		A to B	B to A	
P-gp	なし	0.544±0.202	0.497±0.105	0.914
	バルスポダル	0.674±0.269	0.663±0.246	0.983
BCRP	なし	1.01±0.23	0.693±0.119	0.689
	Ko143	1.07±0.32	0.993±0.228	0.925

平均値±標準偏差（n=3）
Efflux ratio＝[B to A の透過係数]/[A to B の透過係数]

OCT1 による NANA の輸送について検討した（表 2.6.4-29）。OCT1 発現細胞及びコントロール細胞を培養して NANA の取込み量を測定し、OCT-1 発現細胞の取込み量をコントロール細胞の取込み量で除した取込み率を算出した。

OCT1 発現細胞における NANA の取込み率は、反応時間 1 分において 2.39 であり、OCT1 阻害剤（キニジン）存在下において 1.55 に低下した。反応時間 10 分では、1.30 の取込み率がキニジン存在化で 1.02 に低下した。反応時間 1 分の結果から、NANA は OCT1 に輸送される可能性が示唆された。

表 2.6.4-29　OCT1 による NANA の輸送

阻害剤	反応時間（分）	取込み量（pmol/mg protein）		取込み率
		コントロール細胞	OCT1 発現細胞	
なし	1	4.44±1.02	10.6±1.4	2.39
	10	4.71（n=2）	6.12（n=2）	1.30
キニジン	1	3.44±0.59	5.35±3.60	1.55
	10	5.81（n=2）	5.91±2.03	1.02

平均値±標準偏差（n=3）
取込み率＝[OCT1 発現細胞の取込み量]/[コントロール細胞の取込み量]

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当する試験を実施していない。

2.6.4.9 考察及び結論

【吸収】

[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA をラットに単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は、投与後 3 時間に C_{max} に達した後緩やかに低下し、投与後 24 時間には検出限界以下となった。このとき、尿及び呼気に投与放射能の 6.1%及び 62.4%がそれぞれ排泄され（表 2.6.4-20）、少なくとも 68.5%（呼気及び尿中排泄率の合計）の放射能が吸収された。また、糞中には 29.5%の放射能が排泄されたが、[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を経気道投与したときに胆汁中への排泄が認められなかったこと及び[9-^{14}C]NANA を静脈内投与したときの糞中排泄がわずか（投与放射能の 0.67%）であったことから、経口投与時に糞中に排泄された放射能（29.5%）は未吸収の放射能であると考えられる。

一方、[9-^{14}C]NANA（20 mg/kg）をラットに単回静脈内投与したとき、又は [4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA（0.08 mg/kg）をラットに単回経気道投与したとき、いずれも投与放射能の大部分が速やかに未変化体として尿中に排泄されたことから、消化管から吸収された未変化の NANA も大部分が代謝されることなく、速やかに尿中に排泄されるものと考えられる。従って、呼気中へ排泄された放射能（$^{14}CO_2$）は吸収された NANA から生じたものとは考え難い。[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA をラット消化管内容物とインキュベートした結果、$^{14}CO_2$ の生成が確認されたことから（表 2.6.4-19）、消化管内で腸内細菌により生成した $^{14}CO_2$ が吸収され呼気中に排泄されたものと考えられる。以上のことから、尿に排泄された投与放射能の 6.1%が NANA の吸収率を反映するものと考えられ、NANA の経口吸収率は低いことが示唆された。

ラット 26 週間反復投与毒性試験において、91 回目投与直後から 24 時間及び 182 回目投与直後から 24 時間に回収した尿中の NANA 排泄量を測定したところ、投与量に依存して増加した。投与後 24 時間の尿中 NANA 排泄量から内因性の NANA（回復期間中に 24 時間採取した尿中の NANA）を差し引いて 1 日当たりの NANA 排泄量を算出し、更に、1 回投与量に対する割合を計算したところ、-0.65～1.57%であったことからも（表 2.6.4-22）、NANA の吸収率の低いことが支持された。

ラット、イヌ及びウサギの血清中には高濃度の内因性 NANA が糖鎖に結合した状態で存在している（ラット及びイヌの場合で 500 μg/mL 程度、ウサギの場合で 250 μg/mL 程度）。NANA を経口投与後の血清中 NANA 濃度は、ラットでは 2000 mg/kg まで、イヌ及びウサギでは 600 mg/kg まで、投与前に比較して上昇が見られなかった。イヌ及びウサギに 2000 mg/kg 投与した場合には、投与前に対してそれぞれ 80～100 μg/mL 及び 40～50 μg/mL 程度の上昇が認められた（表 2.6.4-9 及び表 2.6.4-11）。本試験で使用した測定法は糖鎖に結合した NANA を酸加水分解により遊離させ、血清中の総 NANA 濃度を測定するものであるが、消化管から吸収される NANA は遊離型であることから、イヌ及びウサギで認められた投与後の濃度上昇は、遊離型 NANA 濃度の上昇を反映していると考えられる。

【分布】

[9-^{14}C]NANA をラットに単回静脈内投与（20 mg/kg）したときの血清中放射能濃度推移から求めた Vd_{ss} は 269.9 mL/kg であり、ラット細胞外容積（74.2 mL/0.25 kg BW [1)] =296.8 mL/kg）と

ほぼ同程度であった。また、投与後、0.5時間の組織中放射能は、腎臓及び膀胱を除くと血清中放射能よりも低かった（表 2.6.4-12）。これらのことから、NANAの組織移行性が低いことが示された。静脈内投与後0.5時間から3時間にかけて組織中放射能は低下したが、投与後24時間では、投与後3時間と比較して組織中放射能濃度の低下はみられず、多くの組織において上昇した（表 2.6.4-12）。投与後24時間までに投与放射能の92.35%及び0.67%が尿及び糞中にそれぞれ排泄され、屍体中残存率が2.40%であったことから（表 2.6.4-20）、少ない量ではあるが、NANAが糖蛋白や糖脂質等に取り込まれ生体成分として利用されていることが推察された。

NANAを静脈内、経気道、皮下投与した後、最初の測定時点における血液中放射能濃度及び血清又は血漿中放射能濃度から血球移行率を計算したところ、-11.7～18.8%の範囲であり（表 2.6.4-15）、NANAの血球移行性は低いことが示唆された。また、NANAの血漿たん白への結合性は低いことが示された。

[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANAを妊娠13日目及び19日目のラットに単回静脈内投与（0.08 mg/kg）したとき、13日目のラットでは投与後24時間から48時間にかけて、19日目のラットでは投与後45分から24時間にかけて、それぞれ胎仔に放射能が検出された（表 2.6.4-16及び表 2.6.4-17）。胎仔に移行した放射能が未変化の[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANAなのか、代謝物なのか、あるいはそれらが生体高分子に取り込まれたものなのかは不明である。分娩時に採取した妊婦血清及び臍帯血清中にはシアリルラクトースを含む種々のオリゴ糖が存在することから、オリゴ糖が胎盤を通過することが示唆されている[6)]。このことから、妊娠ラットに投与した[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANAがオリゴ糖に取り込まれ、胎仔に移行した可能性が考えられる。

【代謝】

[9-^{14}C]NANAをラットに静脈内投与したとき、及び[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANAをラットに経気道投与したとき、尿中にわずかながらN-アセチルマンノサミンが検出されたこと（2.6.4.5 ）に加えて、放射性同位元素で標識したNANA（[9-^{3}H]NANAと[2-^{14}C]NANAの混合物）をマウスの組織ホモジネートとインキュベーションした結果、[^{3}H]N-アセチルマンノサミン、[^{14}C]ピルビン酸及び[^{14}C]酢酸の生成が認められたこと[2)]から、経口吸収されたNANAの一部は生体内においてN-アセチルマンノサミンとピルビン酸に代謝され、更にそれぞれの代謝経路に入るものと考えられる。NANA のN-アセチルマンノサミンとピルビン酸へ分解はN-アセチルノイラミン酸リア―ゼによるものと考えられる[3,4)]。

NANAのN-アセチルマンノサミン部分が[^{14}C]標識されている[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANAをラットに経口投与したとき（表 2.6.4-20）、及びピルビン酸部分が[^{14}C]標識されている[2-^{14}C]NANAをマウスに経口投与したとき[2)]、いずれも呼気中に$^{14}CO_2$が排泄されたことから、NANAから生成したN-アセチルマンノサミン及びピルビン酸は、それぞれが$^{14}CO_2$にまで代謝されるものと考えられた。

[9-^{14}C]NANAをラットに静脈内投与したとき、及び[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANAを経気道投与したとき、投与放射能の大部分が未変化のNANAとして尿中に排泄されたことから（2.6.4.5.1 ）、$^{14}CO_2$は体内では生成しないか、したとしてもわずかであろうと考えられる。また、[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANAをラット消化管内容物とインキュベートしたとき、$^{14}CO_2$が生成したことから（表

2.6.4-19)、NANA は腸内細菌により代謝されることが示唆された。NANA の代謝に関与する腸内細菌の詳細については不明であるが、大腸菌[7]、乳酸菌[8]及びビフィズス菌[9]等の腸内細菌が NANA を代謝することが報告されている。これらのことから、経口投与時に呼気中に排泄された $^{14}CO_2$ は、少なくともその一部は、消化管内で腸内細菌により生成したものが吸収されて呼気に排泄された可能性が考えられる。

ラット、イヌ及びウサギの血清中並びにラットの尿中に N-グリコリルノイラミン酸（NGNA）が検出された。NGNA は、NANA のアセチル基が水酸化された代謝物（図 2.6.4-11）であるが、ヒトではこの酵素が欠損している[5]ため生成しない。事実、本薬の国内第Ⅰ相試験（1）において血清及び尿中 NGNA が測定されたが、検出されなかった（5.3.3.2-1 参）。

【排泄】

[^{14}C]標識した NANA を静脈内投与、経気道投与及び皮下投与した場合、投与した放射能の大部分が 24 時間までに尿中に排泄され、経口投与の場合は 72 時間までの尿、糞及び呼気にほぼ排泄された（表 2.6.4-20 及び表 2.6.4-21）。静脈内投与及び経気道投与したときの尿中放射能を分析したところ、大部分が未変化の NANA であり、わずかに N-アセチルマンノサミンの排泄が確認された。

反復皮下投与した場合も、単回投与時と同様に、各回の投与後 24 時間までにほぼ 1 回投与量に相当する放射能が尿中に排泄された（表 2.6.4-21）。

総胆管にカニューレを挿入した雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で経気道投与したとき、投与後 6 時間までの胆汁中に放射能は検出されなかった。なお、雄性ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を 0.08 mg/kg の用量で経気道投与したときの放射能の尿中排泄率が 99.8%であったことから（表 2.6.4-20）、経気道投与における NANA の吸収率はほぼ 100%であると考えられる。

授乳ラットに[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA を単回静脈内投与（0.08 mg/kg）したところ、乳汁中に放射能が検出された（表 2.6.4-23）。乳汁中には遊離のシアル酸やシアリルラクトースを含む多くのオリゴ糖が存在していること[10]から、授乳ラットに投与した[4,5,6,7,8,9-^{14}C]NANA が遊離体として、あるいはオリゴ糖に取り込まれ、乳汁に移行したものと考えられた。

【薬物動態学的薬物相互作用】

NANA の薬物動態学的薬物相互作用の可能性を評価する目的で、CYP 分子種に対する阻害作用及び誘導作用並びに薬物トランスポーターの阻害作用及び輸送について in vitro 試験を実施した。

＜CYP 阻害作用＞

NANA の CYP 分子種に対する阻害作用を検討した結果（表 2.6.4-24）、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 に対しては、160 μmol/L まで阻害作用はみられなかった。一方、CYP3A4/5 に対しては、15 mmol/L の濃度でテストステロン及びミダゾラムの代謝活性をそれぞれ 51%及び 34%阻害し、IC_{50} はいずれも＞15 mmol/L と算出された。

NANA の臨床使用における有効用量は 1 回 2 g、1 日 3 回（CTD2.7.3.4 及び CTD2.7.3.5）であり、国内第 I 相試験（2）で得られた 2 g 投与時の血清中遊離型 NANA 濃度は個体別にみた最大値でも 1.6 μg/mL 程度であった（CTD2.7.2.2.2 図 2.7.2.2-5 の被験者番号 5)。NANA の分子量を 309 としてモル濃度に換算すると 5.2 μmol/L であり、160 μmol/L 及び 15 mmol/L に対して十分低いことから、NANA は肝臓の CYP に対して阻害作用を示す可能性は小さいものと考えられた。一方、CYP3A4/5 は消化管上皮にも発現している。NANA の臨床における 1 回投与量である 2 g を 250 mL で除して最大消化管内濃度（$[I]_g$）[11]を算出すると 8 g/L である。NANA の分子量を 309 としてモル濃度に換算すると $[I]_g$=25.9 mmol/L であり、CYP3A4/5 に対する NANA の IC_{50}（＞15 mmol/L）を上回る可能性があることから、R 値（$R=1+[I]_g/Ki$）[11]を計算するため IC_{50} を Ki に換算した。阻害形式が非拮抗阻害及び不拮抗阻害の場合は $Ki=IC_{50}$ であり、拮抗阻害の場合は $Ki=IC_{50}/(1+[S]/Km)$の関係（[S]：基質濃度、Km：ミカエリス定数）にあることから[12]、阻害形式は不明であるがより小さい Ki の得られる拮抗阻害として Ki を算出した。Km は文献値（テストステロン：56 μmol/L 及びミダゾラム：3.3 μmol/L）[13]を使用し、[S]は実験に使用した 60 μmol/L（テストステロン）及び 3 μmol/L（ミダゾラム）を使用した。その結果、テストステロン代謝及びミダゾラム代謝に対する NANA の Ki は、それぞれ＞7.2 mmol/L 及び＞7.9 mmol/L であった。そこで、Ki を 7.2 mmol/L とすると、$R=1+[I]_g/Ki$[11]から、R=1+25.9/7.2=3.6 が得られた。この値はカットオフ値[11]である 11 より小さいことから、NANA が消化管上皮の CYP3A4/5 を阻害する可能性は小さいと考えられた。

なお、NANA はいずれの CYP 分子種に対してもプレインキュベーション時間依存的阻害及び代謝依存的阻害を示さなかった。

＜CYP 誘導作用＞

NANA の CYP 分子種に対する誘導作用をヒト凍結肝細胞を用いて検討した結果（表 2.6.4-25)、CYP1A2 では 3 ロットの肝細胞において mRNA の増加は認められなかった。CYP2B6 の mRNA は、3 ロット中 1 ロット（HC7-5）において 8800 μmol/L を曝露したときに 2.20 倍の増加が認められたが、臨床投与時の血清中遊離型 NANA 濃度（5.2 μmol/L：CYP 阻害の項参照）と比較しても十分に高い 1000 μmol/L では誘導は認められなかった（溶媒対照の 1.35 倍、陽性対照の 5.35%)。CYP3A4 では、3 ロット中 1 ロット（HC10-8）において、用量依存的に mRNA の増加が認められ、[I]g の 3 分の 1 に当たる 8800 μmol/L を曝露したときに 2.71 倍の増加が見られたが、その変化は陽性対照のわずかに 1.79%であった。加えて、代謝の項で述べたように NANA が消化管内で代謝されることを考慮すると、NANA が消化管上皮において CYP3A4 を誘導する可能性は小さいと考えられる。

＜トランスポーターに対する阻害作用＞

NANA の薬物トランスポーターに対する阻害作用を検討した結果（表 2.6.4-26 及び表 2.6.4-27)、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、に対しては 4000 μmol/L まで、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対しては 100 μmol/L まで阻害は認められなかった。OCT-1 に対しては、3000 μmol/L で阻害が認められたが、臨床投与時の血清中遊離型 NANA 酸濃度（5.2 μmol/L：CYP 阻害の項参照）と比較して十分に高い 1000 μmol/L では阻害が認められなかった。

＜トランスポーターによる輸送＞

NANA の P-gp、BCRP 及び OCT1 による輸送について検討した結果（表 2.6.4-28 及び表 2.6.4-29）、P-gp 及び BCRP には輸送されなかった。NANA は OCT1 によりわずかに輸送される可能性が示唆されたものの、OCT1 は肝細胞特異的に発現するトランスポーターであり、NANA の排泄経路は腎臓からの尿中排泄であることから、OCT1 を介した薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。

以上をまとめると、経口投与された NANA はその大部分が消化管内で腸内細菌に代謝され、代謝物と共に少量の未変化体が吸収される。吸収された NANA の組織移行性は低く、大部分は速やかに尿中に未変化体として排泄されるが、一部は組織に移行し生体成分（糖脂質、糖蛋白等）に取り込まれるか、さらに代謝される。代謝の最初のステップは N-アセチルマンノサミンとピルビン酸への開裂である。NANA が薬物代謝酵素（CYP）や薬物トランスポーターを介した薬物相互作用を生じる可能性は低いと考えられる。

2.6.4.10 図表

本文中に記載した。

2.6.4.11 参考文献

1) Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res 1993;10(7):1093-5
2) Nöhle U, Schauer R. Uptake, metabolism and excretion of orally and intravenously administered, 14C- and 3H-labeled N-acetylneuraminic acid mixture in the mouse and rat. Hoppe Seylers Z Physiol Chem. 1981;362(11):1495-506.
3) Comb DG and Roseman S. The sialic acids. I. The structure and enzymatic synthesis of N-acetylneuraminic acid. J Biol Chem 1960;235:2529-37.
4) Cheng C, Hu ZX, He M, et al. Recombinant human N-acetylneuraminate lyase as a tool to study clinically relevant mutant variants. Carbohydr Res 2022;516:108561
5) Irie A, Koyama S, Kozutsumi Y, et al. The molecular basis for the absence of N-glycorylneuraminic acid in human. J Biol Chem 1998;273(25):15866-71
6) Hirschmugl B, Brandl W, Csapo B, et al. Evidence of human milk oligosaccharides in cord blood and maternal-to-fetal transport across the placenta. Nutrients 2019;11(11):2640.
7) Plumbridge J, Vimr E. Convergent pathways for utilization of the amino sugars N-acetylglucosamine, N-acetylmannosamine, and N-acetylneuraminic acid by Escherichia coli. J Bacteriol. 1999;181(1):47-54.
8) Anba-Mondoloni J, Chaillou S, Zagorec M, et al. Catabolism of N-acetylneuraminic acid, a fitness function of the food-borne lactic acid bacterium Lactobacillus sakei, involves two newly characterized proteins. Appl Environ Microbiol. 2013;79(6):2012-8.
9) Egan M, O'Connell Motherway M, Ventura M, et al. Metabolism of sialic acid by Bifidobacterium breve UCC2003. Appl Environ Microbiol. 2014;80(14):4414-26.
10) Wang B, Brand-Miller J, McVeagh P, et al. Concentration and distribution of sialic acid in human milk and infant formulas. Am J Clin Nutr. 2001;74(4):510-5.
11) 「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」について（平成 30 年 7 月 23 日薬生薬審発 0723 第 4 号）
12) Cheng Y, Prusoff WH. Relationship between the inhibition constant (KI) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I50) of an enzymatic reaction. Biochem Pharmacol. 1973;22(23):3099-108.
13) Galetin A, Houston JB. Intestinal and hepatic metabolic activity of five cytochrome P450 enzymes: Impact on prediction of first-pass metabolism. J Pharmacol Exp Ther. 2006;318(3):1220-9.