

7. 要約統計量：線溶・凝固系因子（つづき）

被験者数：実薬 各コホート8名 プラセボ4名 定量範囲外の値は被験者数から除く

線溶・凝固因子	要約統計量	3 mg/kg 群			6.25 mg/kg 群			プラセボ群		
		投与前	投与開始2時間	投与終了後24時間	投与前	投与開始2時間	投与終了後24時間	投与前	投与開始2時間	投与終了後24時間
APTT	被験者数	8	8	8	8	8	8	4	4	4
	平均値	91.88	92.88	94.38	103.13	91.75	110.25	84.25	82.25	86.25
	標準偏差	20.34	17.16	21.08	18.69	14.65	19.67	8.96	8.96	8.96
	最小値	57	62	53	67	59	66	74	74	74
	中央値	90.50	94.50	94.50	104.50	98.00	116.00	84.50	82.50	88.00
	最大値	130.00	120.00	130.00	129.00	104.00	130.00	94.00	90.00	95.00
	幾何平均	89.84	91.39	92.01	101.47	90.51	108.34	83.89	81.88	85.89
	幾何CV	23.34	19.83	25.60	20.09	18.71	21.47	10.74	10.96	10.76
	第1四分位	85.00	83.50	90.50	95.00	87.50	106.00	77.00	74.50	80.00
第3四分位	98.50	102.50	101.00	115.00	100.00	121.00	91.50	90.00	92.50	
plasminogen活性	被験者数	8	8	8	8	8	8	4	4	4
	平均値	87.38	87.50	87.50	87.63	87.25	89.88	90.75	93.25	97.75
	標準偏差	19.20	19.89	19.04	4.72	4.46	6.27	9.71	11.27	8.73
	最小値	44	44	45	82	81	81	79	81	90
	中央値	93.00	90.50	91.50	86.50	88.00	90.50	91.00	92.50	96.50
	最大値	105.00	108.00	109.00	97.00	95.00	100.00	102.00	107.00	108.00
	幾何平均	84.88	84.90	85.10	87.52	87.15	89.68	90.36	92.74	97.46
	幾何CV	28.44	28.93	27.70	5.28	5.10	7.01	10.83	12.09	8.90
	第1四分位	83.50	83.50	85.00	84.50	83.50	85.00	83.50	84.50	90.50
第3四分位	98.50	100.00	96.50	90.00	89.50	93.50	98.00	102.00	105.00	
TFPI	被験者数	8	8	8	8	8	8	4	4	4
	平均値	17.16	26.16	17.28	18.49	43.33	18.06	15.68	15.40	15.88
	標準偏差	3.29	5.62	4.22	4.65	10.56	4.27	1.93	1.14	1.39
	最小値	13.2	19.6	12.5	13.1	28.9	12.3	13.1	13.8	14
	中央値	16.10	25.15	16.10	17.05	40.10	16.90	16.15	15.65	16.15
	最大値	22.30	36.10	25.00	25.90	61.30	24.40	17.30	16.50	17.20
	幾何平均	16.90	25.67	16.85	18.02	42.23	17.63	15.58	15.37	15.83
	幾何CV	18.63	20.85	24.03	24.08	24.47	23.72	12.83	7.61	9.02
	第1四分位	15.15	21.95	14.15	15.90	37.10	15.40	14.20	14.70	14.85
第3四分位	19.65	29.70	20.10	21.50	51.00	21.60	17.15	16.10	16.90	

最終報告書

試験表題： 健康成人に対するデフィブロタイド（DF）の安全性試験および薬物動態試験におけるヒト血漿中濃度測定

試験番号： PBC714-003


当該資料は原本を正確に複写したものであり、原本と相違ないことを保証いたします。

日付 2013 年 9 月 26 日

試験責任者： 

署名

 2013 年 9 月 26 日


本最終報告書は表紙を含む 24 ページ

略号及び用語の一覧

DF	Defibrotide	(デフィブロタイド)
GLP	Good laboratory practice	
HPLC	High performance liquid chromatography	(高速液体クロマトグラフィー)
LLOQ	Lower limit of quantification	(定量下限)
ND	Not determined	(定量下限未満値)
PP	Polypropylene	(ポリプロピレン)
QC	Quality control	(精度管理)
RE	Relative error	(相対誤差)
SD	Standard deviation	(標準偏差)
UV	Ultraviolet	(紫外線)
r	Correlation coefficient	(相関係数)

目 次

	ページ
1. 要約.....	5
2. 試験関係者.....	5
3. 記録及び資料の保存.....	5
4. 試験目的.....	5
5. 適用規制.....	6
6. 試験委託者.....	6
7. 試験施設.....	6
8. 日程.....	6
9. 治験及び測定試料に関する情報.....	6
9.1 治験施設及び治験責任医師.....	6
9.2 測定試料.....	6
9.3 測定試料の保存.....	7
9.4 測定後の試料の処理.....	7
10. 材料及び方法.....	8
10.1 使用機器及び材料.....	8
10.2 標準物質, ブランク血漿及び試薬.....	8
10.3 標準溶液の調製.....	9
10.4 試薬溶液の調製.....	11
10.5 試料の調製.....	12
10.6 試料前処理法.....	12
10.7 測定条件.....	13
10.8 システム適合性.....	13
10.9 濃度の算出.....	14
10.10 測定試料実測時の測定系の精度管理.....	14
10.11 薬物動態パラメータ算出法.....	14
10.12 再測定.....	15
10.13 計算式.....	15
10.14 数値の取扱い.....	15
11. 統計学的手法.....	16
12. 予見することができなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 及び試験計画書に従わなかつたこと.....	16
13. 結果及び考察.....	16
14. 文献.....	17

Table 1 Plasma concentration of defibrotide after constant infusion for 120 minutes to healthy

Japanese subjects.....	18
Table 2-1 Pharmacokinetic parameters of defibrotide after constant infusion of defibrotide at 3 mg/kg for 120 minutes to healthy Japanese subjects.....	19
Table 2-2 Pharmacokinetic parameters of defibrotide after constant infusion of defibrotide at 6.25 mg/kg for 120 minutes to healthy Japanese subjects.....	20
Table 3 Assay results of calibration samples for determining defibrotide in human plasma.....	21
Table 4 Assay results of QC samples for determining defibrotide in human plasma	22
信頼性保証陳述書	23

1. 要約

国立大学法人浜松医科大学医学部附属病院で実施された「健康成人に対するデフィブロタイド (DF) の安全性試験及び薬物動態試験 (FMU-DF-001)」で健康成人に DF を 2 用量 (3 mg/kg, 6.25 mg/kg) 投与したときのヒト血漿中 DF の濃度測定を [REDACTED] で信頼性を確認した HPLC 法を用いて測定した。測定した結果、コホート 1 ではすべて LLOQ (10 µg/mL) 未満であったため薬物動態パラメータは算出しなかった。コホート 2 では、得られた血漿中濃度から薬物動態パラメータとして C_{max} , T_{max} , AUC_{0-3h} , Kel , $T_{1/2}$, $AUC_{0-\infty}$, CL_{total} 及び $Vdss$ を算出した。血漿中濃度測定における検量線及び QC 用試料はいずれも判定基準を満たしたことから、測定における信頼性は確認された。また、測定は安定性が確認されている期間内で実施した。

2. 試験関係者

試験責任者：

分析担当者：

3. 記録及び資料の保存

以下の記録及び資料を、最終報告書作成後 3 ヶ月を経過するまでは [REDACTED] 資料保存施設に保存し、その後は下記の施設に保存委託し、計 10 年間保存する。それ以降の保存については、試験委託者と [REDACTED] の間で協議する。

試験計画書及び試験計画書変更書

標準物質に関する資料

測定に関するチャート及び記録

最終報告書草案

最終報告書

その他、試験に関するすべての資料

保存受託施設：

4. 試験目的

国立大学法人浜松医科大学医学部附属病院で実施された「健康成人に対するデフィブロタイド (DF) の安全性試験及び薬物動態試験 (FMU-DF-001)」で健康成人に DF を 2 用量 (3 mg/kg, 6.25 mg/kg) 投与したときの血漿中 DF の濃度測定を実施し、体内薬物動態を評価した。測定には [REDACTED] で信頼性が確認された HPLC 法¹⁾を用いた。

5. 適用規制

本試験は、以下の GLP を準用して実施した。

厚生省令第 21 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成 9 年 3 月 26 日、一部改正 厚生労働省令第 114 号 平成 20 年 6 月 13 日）

6. 試験委託者

公立大学法人福島県立医科大学

臨床腫瘍センター 小児腫瘍部門

〒960-1295 福島県福島市光が丘 1 番地

TEL : 024-547-1111

FAX : 024-547-1443

研究代表者 :

菊田 敦

7. 試験施設



8. 日程

試験開始日 : 2013 年 5 月 17 日

測定操作開始日 : 2013 年 5 月 21 日

測定操作終了日 : 2013 年 6 月 11 日

試験終了日（最終報告書作成日） : 2013 年 9 月 26 日

9. 治験及び測定試料に関する情報

9.1 治験施設及び治験責任医師

国立大学法人浜松医科大学医学部附属病院 臨床研究管理センター 探索的臨床研究部

部長 梅村 和夫

〒431-3192 静岡県浜松市東区半田山 1-20-1



9.2 測定試料

測定対象物質 : デフィブロタイド (DF)

投与方法 : シリンジポンプにて静脈注射 (120 分)

用量 : 2 用量 (3 mg/kg 及び 6.25 mg/kg)

症例数 : 20 例 (1 用量につき実薬 8 例, プラセボ 2 例)

採血ポイント : 0 分 (No. 1), 1 時間 (No. 2), 2 時間 (終了直前, No. 3), 終了後 5 分 (No. 4), 終了後 15 分 (No. 5), 終了後 30 分 (No. 6),

受領方法： 終了後 60 分 (No. 7)
治験施設にて採血後、抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムを用いて分離された血漿をセラムサンプルチューブに分注し、 -80°C 以下で凍結保存後、XXXXXXXXXXへドライアイスとともに凍結状態で輸送された試料を受領した。

検体の発送元： 国立大学法人浜松医科大学医学部附属病院
臨床研究管理センター 探索的臨床研究部門 (TR)
〒431-3192 静岡県浜松市東区半田山 1-20-1
TEL : 053-435-2006 FAX : 053-435-2007

検体の発送先：



測定試料の識別： 症例番号, 採血ポイント No. 及び採血日
受領本数： 420 検体 (コホート 1 : 140 検体,
コホート 2 : 測定用 140 検体, 速報用 140 検体)
測定本数： 140 検体

9.3 測定試料の保存

保存場所： 超低温フリーザー4
保存法： 測定試料は受領から分析に供するまで及び分析後、超低温フリーザー -80°C (許容範囲： -70°C 以下) で保存した。なお、ヒト血漿中 DF は、 -20°C 及び -80°C で 3 ヶ月間 (95 日間) 安定²⁾であり、凍結融解安定性 3 回まで安定¹⁾であることが確認されている。
測定試料はすべてこの期間内に使用したため、安定であったと判断する。

保存期間及び実測保存温度：

受領日	最終使用日	保存温度 (実測値)
2013 年 5 月 24 日	2013 年 6 月 10 日	-83.6°C ~ -77.0°C

9.4 測定後の試料の処理

測定試料は試験終了時に臨床検体管理責任者に返却し、その後の取扱いについて試験委託者と協議し、XXXXXXXXXXで保管することになった。

10. 材料及び方法

10.1 使用機器及び材料

名称	型式	製造者又は販売業者
HPLC システム	Waters 2690	日本ウォーターズ株式会社
UV-検出器	Waters 2487	
データ処理システム	Empower	
超純水製造装置	Milli-Q Gradient-A10	メルク株式会社
冷却遠心機	MX305	株式会社トミー精工
	LX-120	
天秤	AT261	メトラー・トレド株式会社
上皿天秤	PM480	
pH メーター	F-22	株式会社堀場製作所
可変容量型ピペット	Finnpipette	Thermo Fisher Scientific Inc.
可変容量型ディスペンサー	Multipette	Eppendorf AG
冷蔵室	LVL1L	ダイキン工業株式会社
冷凍室	LVF4JB	
超低温フリーザー	ULT2090-5J-D32	Thermo Fisher Scientific Inc.
デシケーター	TDC-285-SA	トーリ・ハン株式会社
フィルター	セントリカット超ミニ (0.45 µm)	倉敷紡績株式会社

10.2 標準物質, ブランク血漿及び試薬

10.2.1 標準物質

名称: Defibrotide CRM (デフィブロタイド, DF)
 提供者: Gentium SpA
 受領日: 2012年10月31日
 ロット番号: CRM346/00/12
 受領量: 500 mg × 2本
 分子量: 15.6 KDa (±2 KDa)
 使用期限: 2013年5月
 保存条件: 室温, 防湿
 保存場所: 被験物質保管室1 デシケーター6(室温, 許容範囲: 1°C~30°C)
 保存期間及び実測保存温度:

受領日	最終使用日	保存温度 (実測値)
2012年10月31日	2013年5月22日	19.7°C~22.9°C

取扱い: 手袋, キャップ, 保護メガネ及びマスクを着用した。

10.2.2 ブランク血漿

種： ヒト（男女）
 抗凝固剤： クエン酸ナトリウム
 供給元： XXXXXXXXXX
 保存条件： 冷凍-20°C（許容範囲：-30°C~-10°C）

10.2.3 試薬

名称	等級	製造者
アセトニトリル	HPLC 用	和光純薬工業株式会社
メタノール		
28%アンモニア水	試薬特級	
ギ酸（98.0%）		
酢酸アンモニウム		
超純水	蒸留水を超純水製造装置で精製した。	

10.3 標準溶液の調製

検量線用標準原液（A-1 及び A-2）及び標準溶液と QC 用標準原液（B-1 及び B-2）及び標準溶液はそれぞれ別途に調製した。

10.3.1 標準原液

下記の方法で、標準物質を溶媒に溶かして標準原液（A-1, A-2, B-1 及び B-2）を用時調製した。

標準物質名： DF
 秤取量： 50 mg
 調製量： 5 mL
 調製濃度： 10 mg/mL（A-1 及び B-1）
 使用溶媒： 超純水
 使用器具： ガラス製メスフラスコ
 保存条件： 遮光，冷凍（許容範囲：-30°C~-10°C）

標準原液 No.	使用標準原液 No.	標準原液量 (mL)	調製量 (mL)	調製濃度 (µg/mL)
A-2	A-1	1	10	1000

使用溶媒： 超純水
 使用器具： ガラス製メスフラスコ及びホールピペット

標準原液 No.	使用標準原液 No.	標準原液量 (mL)	調製量 (mL)	調製濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
B-2	B-1	1	10	1000

使用溶媒： 超純水

使用器具： ガラス製メスフラスコ及びホールピペット

10.3.2 標準溶液

次表のとおり、標準原液を希釈し、検量線用、QC用標準溶液を調製した。

検量線用標準溶液

検量線用標準溶液 No.	使用標準溶液 No.	標準溶液量 (μL)	溶媒添加量 (μL)	調製濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
SS-7	A-2	300	700	300
SS-6	A-2	250	750	250
SS-5	A-2	150	850	150
SS-4	A-2	100	900	100
SS-3	A-2	50	950	50
SS-2	A-2	25	975	25
SS-1	A-2	10	990	10

使用溶媒： 50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 9.0)

使用器具： 可変容量型ピペット、可変容量型ディスペンサー及び PP 製チューブ

保存条件： 遮光、冷蔵 (許容範囲：1°C~8°C)

保存場所： 冷蔵室 3

保存期間及び実測保存温度：

調製日	最終使用日	保存温度 (実測値)
2013年5月22日	2013年6月10日	2.4°C~6.6°C

保存期間： 35日間¹⁾

安定性期間内に使用した。

QC用標準溶液

標準溶液 No.	使用標準溶液 No.	標準溶液量 (μL)	溶媒添加量 (μL)	調製濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
QS-3	B-2	225	775	225
QS-2	B-2	140	860	140
QS-1	B-2	30	970	30

使用溶媒： 50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 9.0)

使用器具： 可変容量型ピペット，可変容量型ディスペンサー及び PP 製チューブ

保存条件： 遮光，冷蔵（許容範囲：1°C～8°C）

保存場所： 冷蔵室 3

保存期間及び実測保存温度：

調製日	最終使用日	保存温度（実測値）
2013年5月22日	2013年6月10日	2.4°C～6.6°C

保存期間： 35日間¹⁾
安定性期間内に使用した。

10.4 試薬溶液の調製

試薬溶液は下記の割合で調製した。使用期限は調製後，室温で2週間とした。

10.4.1 25 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

酢酸アンモニウム（分子量 77.08）1.93 g を超純水に溶かし，全量を 1000 mL とした。

10.4.2 50 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

酢酸アンモニウム（分子量 77.08）3.85 g を超純水に溶かし，全量を 1000 mL とした。

10.4.3 50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液（pH 9.0）

50 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液に 28%アンモニア水を加えて pH 9.0 に調整した。

10.4.4 0.1%ぎ酸含有アセトニトリル

アセトニトリルにぎ酸（98.0%）1 mL を加えて全量を 1000 mL とした。

10.4.5 移動相 A：25 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液（pH 9.0）

25 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液に 28%アンモニア水を加えて pH 9.0 に調整した。

10.4.6 移動相 B：50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液（pH 9.0）／アセトニトリル／メタノール（50/45/5，v/v/v）

50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液（pH 9.0）500 mL，アセトニトリル 450 mL 及びメタノール 50 mL を混合した。

10.4.7 移動相 C：1%アンモニア溶液

28%アンモニア水 35.7 mL を超純水に溶かし，全量を 1000 mL とした。

10.4.8 移動相 D：0.1%ぎ酸含有アセトニトリル／超純水（9/1，v/v）

0.1%ぎ酸含有アセトニトリル 900 mL 及び超純水 100 mL を混合した。

10.5 試料の調製

10.5.1 検量線用試料

次表のとおり，PP製チューブにブランク血漿をとり，検量線用標準溶液[ブランク試料 (SB) は 50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 9.0)]を加えて十分に攪拌して検量線用試料を調製した。

検量線用試料 No.	使用標準溶液 No.	標準溶液量 (μL)	ブランク血漿量 (μL)	血漿中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
S7	SS-7	50	50	300
S6	SS-6	50	50	250
S5	SS-5	50	50	150
S4	SS-4	50	50	100
S3	SS-3	50	50	50
S2	SS-2	50	50	25
S1	SS-1	50	50	10
ブランク試料 (SB)	*	50	50	-

* : 50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 9.0)

10.5.2 QC 用試料

次表のとおり，PP製チューブにブランク血漿をとり，QC用標準溶液を加えて十分に攪拌してQC用試料を調製した。

QC 用試料 No.	使用標準溶液 No.	標準溶液量 (μL)	ブランク血漿量 (μL)	血漿中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
Q3	QS-3	50	50	225
Q2	QS-2	50	50	140
Q1	QS-1	50	50	30

10.6 試料前処理法

- 1) 検量線用試料 (SB 及び S1~S7) 及び QC 用試料 (Q1~Q3) 各 100 μL に 50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 9.0) 400 μL を加えて十分に攪拌した。
測定試料 (50 μL) に 50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 9.0) 450 μL を加えて十分に攪拌した。
- 2) 遠心ろ過 [セントリカット超ミニ (0.45 μm) , 5000 \times g, 4 $^{\circ}$ C, 5 min] し，そのろ液を HPLC 測定用試料とした。

10.7 測定条件

10.7.1 HPLC 条件

分析カラム： Waters X Bridge C8 (3.5 μ m, 2.1 mm I.D. \times 100 mm, Waters 株式会社)

ガードカラム： Waters X Bridge C8 (3.5 μ m, 2.1 mm I.D. \times 10 mm, Waters 株式会社)

移動相 A： 25 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 9.0)

移動相 B： 50 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 9.0) / アセトニトリル / メタノール (50/45/5, v/v/v)

移動相 C： 1%アンモニア溶液

移動相 D： 0.1% ぎ酸含有アセトニトリル / 超純水 (9/1, v/v)

ニードル洗浄液： 移動相 C

測定波長： 260 nm

タイムプログラム： グラジエント (以下の容量比で行った)

時間 (min)	流速 (mL/min)	移動相 A (%)	移動相 B (%)	移動相 C (%)	移動相 D (%)
0.00	0.4	100	0	0	0
4.00	0.4	95	5	0	0
4.50	0.4	40	60	0	0
6.00	0.5	30	70	0	0
7.00	0.5	0	0	0	100
10.00	0.5	0	0	0	100
10.50	0.5	0	0	100	0
16.00	0.5	0	0	100	0
16.80	0.5	0	100	0	0
17.00	0.5	0	100	0	0
17.10	0.5	100	0	0	0
20.00	0.4	100	0	0	0

カラム恒温槽設定温度： 50°C

オートサンプラー設定温度： 4°C

注入量： 20 μ L

測定時間： 20 分

測定間隔： 5 分

10.8 システム適合性

各測定日の測定前に下記の試料を測定し、得られたクロマトグラムのベースライン、ピーク形

状、保持時間及びピーク面積などを指標に測定系が正常に機能していることを確認した。

測定試料： 検量線用試料 (S1) , n=1

測定回数： 1回

10.9 濃度の算出

測定ごとに検量線用試料を分析法により測定した。ブランク試料により、妨害ピークがないことを確認し、検量線用試料の測定により得られたピーク面積を用いて、最小二乗法による一次回帰直線式から検量線 ($Y = aX + b$, $Y =$ ピーク面積, X : 濃度) を作成した。ブランク試料は検量線の回帰分析には用いなかった。作成した検量線において、手技的エラー等により偏差が異常に大きいポイント (検量線の最低あるいは最高濃度でなく、そのポイントを除いても当初の濃度水準数の 75%以上かつ最低 6 点の濃度) は、検量線から除外して再計算したものを検量線として採用した。

測定試料及び QC 用試料を測定し、それらのピーク面積を検量線に当てはめて測定値を算出した。

検量線用試料	ブランク試料及び S1~S7, 各濃度 n=1
重み付け ¹⁾	1/X
算出値	r, 各試料の逆回帰値及び RE
検量線の判定基準	
妨害ピークのピーク面積	LLOQ 試料の標準物質ピーク面積の 20%以下
r	0.99 以上
RE	LLOQ で±20%以内, その他の濃度で±15%以内

10.10 測定試料実測時の測定系の精度管理

測定試料を測定するときは、QC 用試料を測定試料間に配置して測定し、測定法の信頼性を確認した。

QC 用試料： Q1~Q3, 各濃度 n=2

測定順序： 測定試料間にほぼ均等に配置した。

判定基準：

RE	6 試料中少なくとも 4 試料が±15%以内, かつ同一濃度のうち 1 試料が±15%以内
----	---

10.11 薬物動態パラメータ算出法

各個体の血漿中濃度を用いて、以下の薬物動態パラメータを算出した。算出の際は実際の投与量及び実時間を用いて算出した。各群の薬物動態パラメータの平均値, SD, 最小値, 中央値, 最大値, 幾何平均, 幾何 CV (%), 第 1 四分位値 (Q1) 及び第 3 四分位値 (Q3) を Microsoft

Excel で算出した (T_{max} は平均値及び SD のみ) . 投与開始日の投与前値及び ND は 0 $\mu\text{g/mL}$ とみなして算出した.

算出に用いるデータ： 個別別の血漿中薬物濃度

算出する薬物動態パラメータ： 下表参照

解析ソフト： WinNonlin version 5.2.1 (Pharsight Corporation)

解析モデル： コンパイルドモデル・ライブラリーのノンコンパートメンタル解析 (NCA, NCA setting : Linear Trapezoidal)

薬物動態パラメータ	WinNonlin での表示	薬物動態パラメータの説明
C_{max}	Cmax	最高血漿中濃度
T_{max}	Tmax	最高血漿中濃度到達時間
AUC_{0-3h}	AUCall	投与開始から投与終了後 60 分 (合計 3 時間) までの血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	AUCINF_obs	0 時間から無限大時間までの血漿中濃度時間曲線下面積
$T_{1/2}$	HL_Lambda_z	消失半減期
CL_{total}	Cl_obs	全身クリアランス
Vd_{ss}	Vss_obs	定常状態における分布容積
Kel	Lambda_z	消失速度定数

10.12 再測定

再測定は行わなかった.

10.13 計算式

次の計算式から算出した.

1) 真度 (相対誤差 : RE)

$$RE (\%) = (\text{測定値} - \text{理論値}) / \text{理論値} \times 100$$

10.14 数値の取扱い

数値は以下のとおり, 四捨五入し, n 桁で記載した. また LLOQ (10 $\mu\text{g/mL}$) 未満は ND と表記し, 0 $\mu\text{g/mL}$ として扱った.

数値	単位	記載方法
測定値	$\mu\text{g/mL}$	有効数字 4 桁
RE	%	小数点以下 1 桁
SD	-	平均値の桁数に合わせる

数値	単位	記載方法
r	-	小数点以下4桁
C _{max} 及び平均値	µg/mL	有効数字4桁
T _{max} 及び平均値	h	小数点以下2桁
AUC 及び平均値	µg·h/mL	有効数字4桁
T _{1/2}	h	小数点以下2桁
CL _{total}	L/h	有効数字4桁
Vd _{ss}	L	小数点以下2桁
Kel	l/hr	小数点以下2桁
最小値	-	各パラメータと同じ桁数
中央値	-	各パラメータと同じ桁数
最大値	-	各パラメータと同じ桁数
幾何平均	-	各パラメータと同じ桁数
幾何 CV	-	各パラメータと同じ桁数
第1四分位値	-	各パラメータと同じ桁数
第3四分位値	-	各パラメータと同じ桁数

11. 統計学的手法

統計学的手法は用いなかった。

12. 予見することができなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたこと

2013年5月28日に実施した測定の解析をした結果、QC用試料が判定基準を満たしていなかつた。測定の途中で著しくピーク強度が低下していたため、原因はカラムの劣化と考えられた。新品のカラムに交換後、オートサンプラー内の安定性が確認されている48時間以内で再注入を実施した。再注入した結果、クロマトグラムに異常はなく、判定基準を満たす結果が得られたため、試験への影響はなかつたものと判断した。

その他、予見することができなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたことはなかつた。

13. 結果及び考察

国立大学法人浜松医科大学医学部附属病院で実施された「健康成人に対するデフィブロタイド (DF) の安全性試験及び薬物動態試験 (FMU-DF-001)」で健康成人に DF を 2 用量 (3 mg/kg, 6.25 mg/kg) 投与したときの血漿中 DF の濃度測定を [] で信頼性を確認した HPLC 法¹⁾を用いて測定した。

DF の血漿中濃度を Table 1 に、薬物動態パラメータを Table 2-1 及び Table 2-2 にそれぞれ示す。

コホート 1 において血漿中濃度はすべて LLOQ (10 µg/mL) 未満であったため、薬物動態パラメータの算出は行わなかった。

コホート 2 において血漿中濃度は 10.01~30.03 µg/mL の範囲で検出された。各パラメータの平均値はそれぞれ C_{max} が 20.59 µg/mL, T_{max} が 2.00 h, AUC_{0-3h} が 37.09 µg·h/mL, Kel が 1.55 1/hr, $T_{1/2}$ が 0.47 h, $AUC_{0-\infty}$ が 42.32 µg·h/mL, CL_{total} が 9.269 L/h 及び $Vdss$ が 7.31 L であった。

血漿中濃度測定における検量線 (Table 3) 及び QC 用試料 (Table 4) はいずれも判定基準を満たしたことから、測定における信頼性は確認された。また、安定性の確認されている期間内²⁾で測定を実施した。

14. 文献

- 1) ██████████: HPLC 法によるヒト血漿中デフィブロタイド (DF) の濃度測定法バリデーション, ██████████, 試験番号: PBC714-001, 最終報告書, 2013 年
- 2) ██████████: HPLC 法によるヒト血漿中デフィブロタイド (DF) の長期保存安定性試験, ██████████, 試験番号: PBC714-002, 中間報告書, 2013 年

Table 1 Plasma concentration of defibrotide after constant infusion for 120 minutes to healthy Japanese subjects

Cohort	Dose level	Subject No.	Defibrotide concentration ($\mu\text{g/mL}$)							
			Sampling time							
			Pre	1 hour	2 hours	5 min after dosing	15 min after dosing	30 min after dosing	60 min after dosing	
1	3 mg/kg	101 *	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		102	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		104	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		105 *	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		106	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		108	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		109	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		111	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		112	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		113	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		2	6.25 mg/kg	201 *	ND	ND	ND	ND	ND	ND
202	ND			17.61	20.02	18.22	13.15	10.23	ND	
204	ND			17.52	18.67	16.77	12.43	10.01	ND	
205 *	ND			ND	ND	ND	ND	ND	ND	
206	ND			18.54	22.49	20.82	14.44	10.54	ND	
208	ND			26.79	30.03	27.30	18.03	11.63	ND	
209	ND			16.49	19.08	17.61	13.29	ND	ND	
211	ND			16.15	17.78	15.72	10.67	ND	ND	
212	ND			16.97	19.01	16.00	12.66	ND	ND	
213	ND			16.86	17.65	15.96	12.26	10.37	ND	

ND: Less than the LLOQ (10 $\mu\text{g/mL}$)

*: Placebo controls

Table 2-1 Pharmacokinetic parameters of defibrotide after constant infusion of defibrotide at 3 mg/kg for 120 minutes to healthy Japanese subjects

Subject No.	C _{max} (µg/mL)	T _{max} (h)	AUC _{0-3h} (µg·h/mL)	Kel (1/hr)	T _{1/2} (h)	AUC _{0-∞} (µg·h/mL)	CL _{total} (L/h)	V _{dss} (L)
102	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
104	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
106	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
108	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
109	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
111	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
112	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
113	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Mean	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
SD	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Min	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Median	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Max	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Geometric mean	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Geometric CV	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Q1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Q3	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
n	0	0	0	0	0	0	0	0

NC: Not calculated