

図 14.3-30 被験者ごとの臨床検査値の推移 (尿・pH)

14.3.5 体重及びバイタルサインの推移

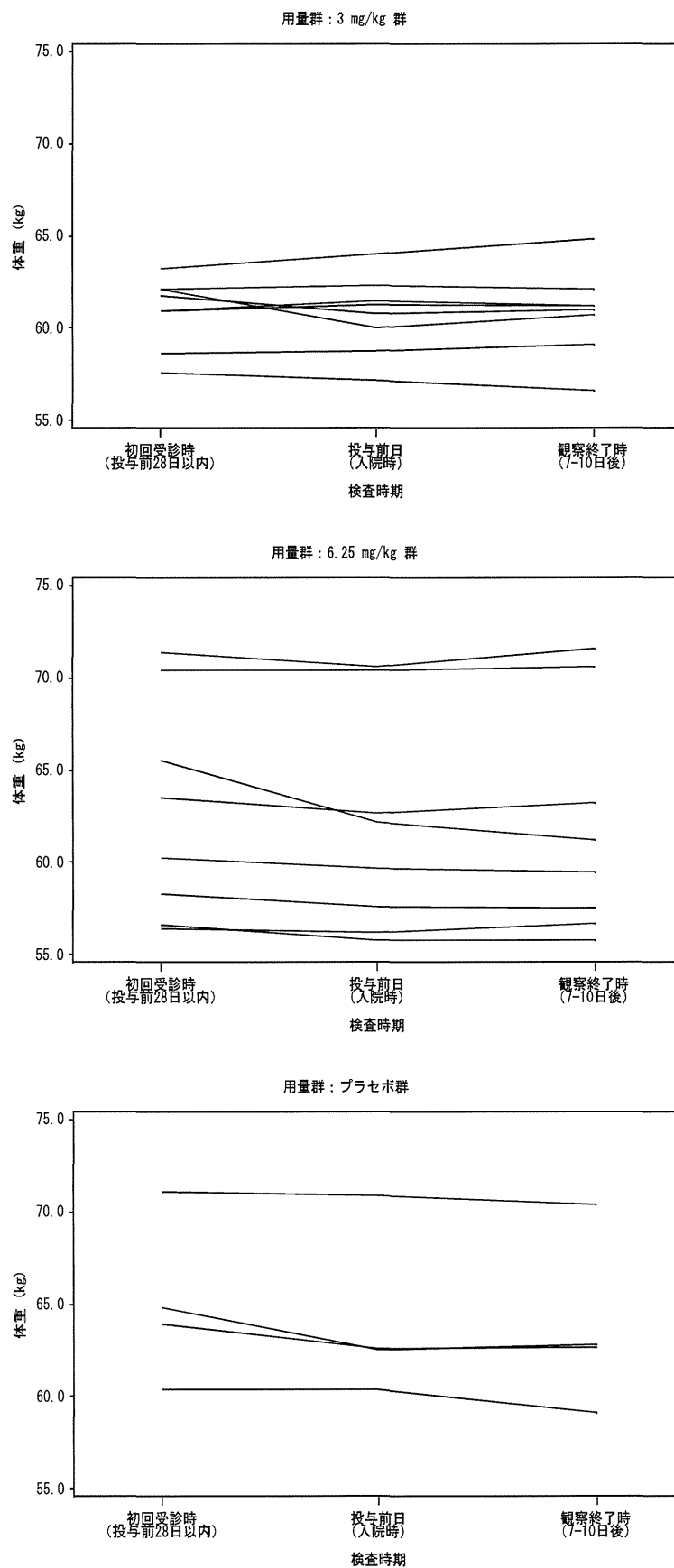


図 14.3-31 被験者ごとの体重の推移

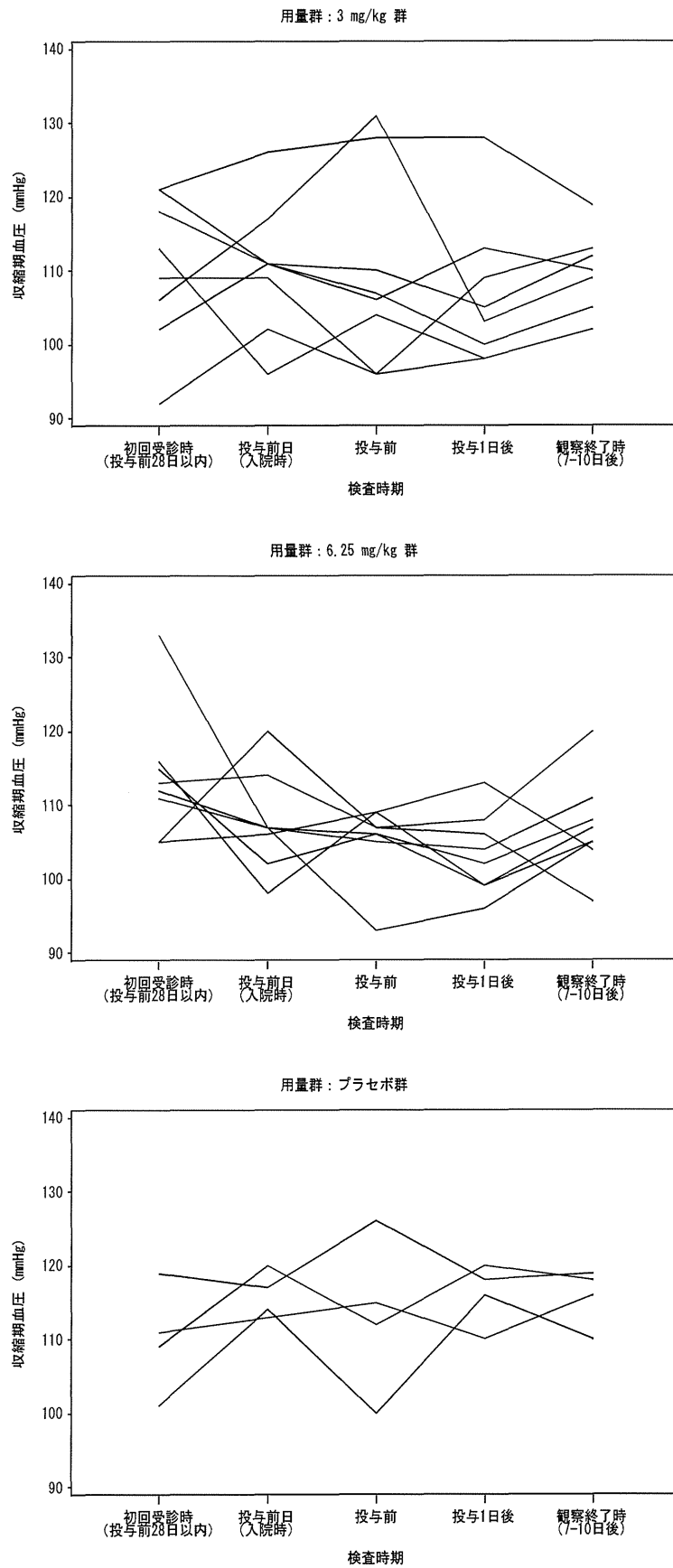


図 14.3-32 被験者ごとのバイタルサインの推移 (収縮期血圧)

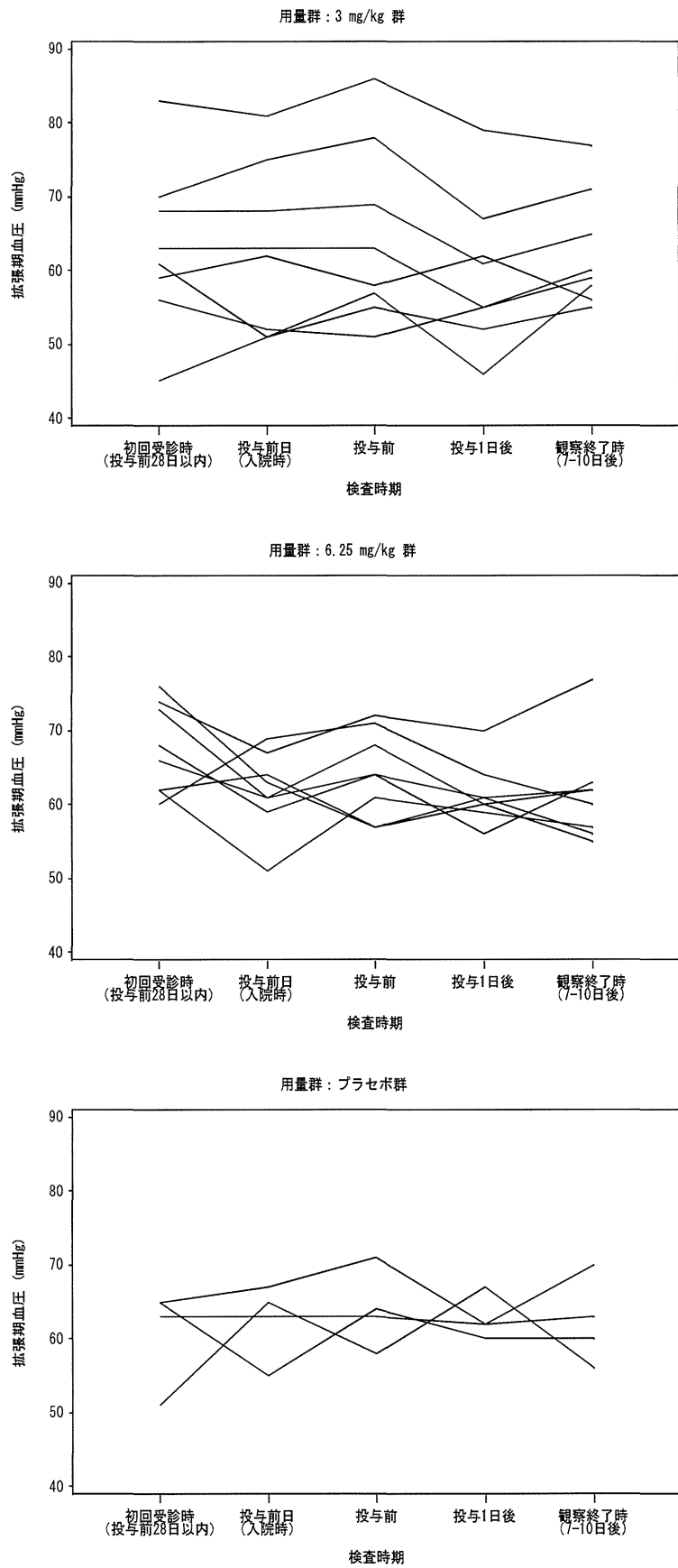


図 14.3-33 被験者ごとのバイタルサインの推移 (拡張期血圧)

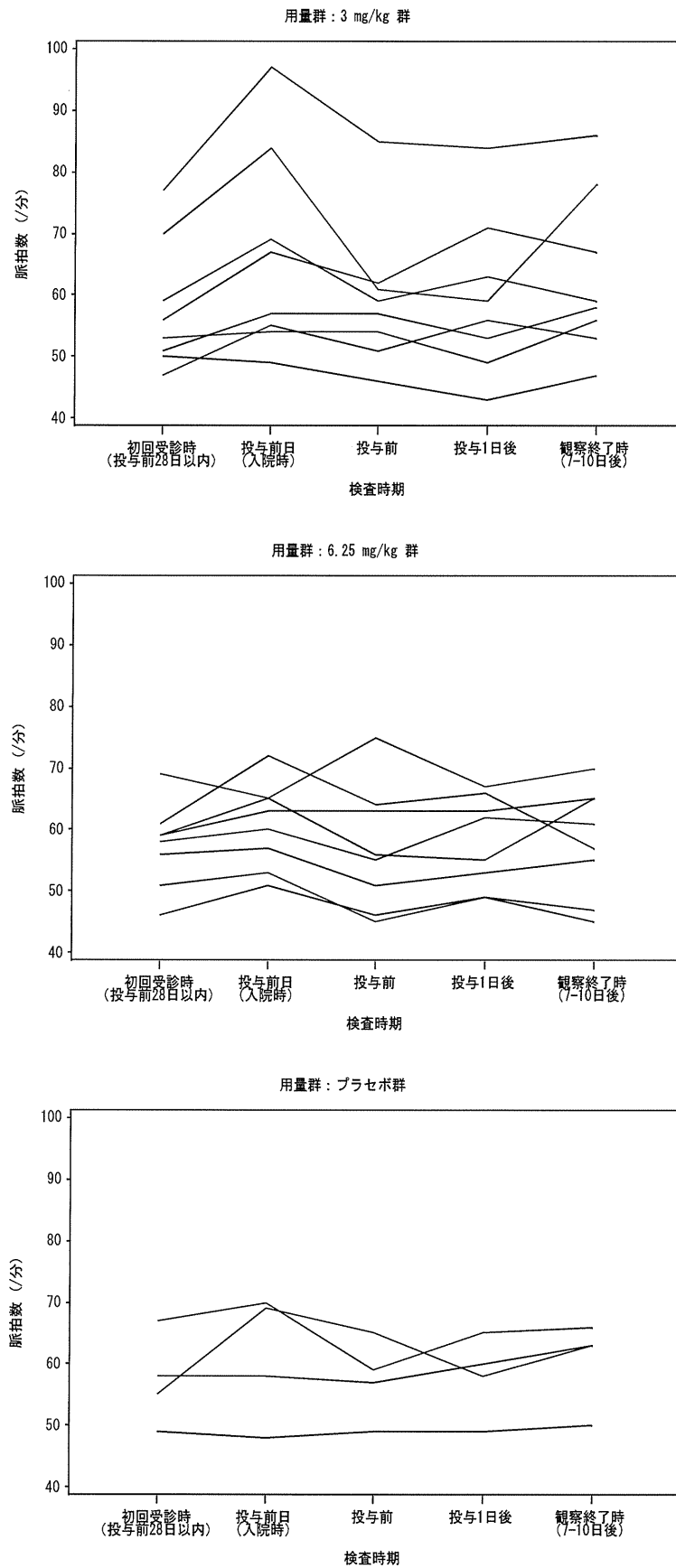


図 14.3-34 被験者ごとのバイタルサインの推移 (脈拍数)

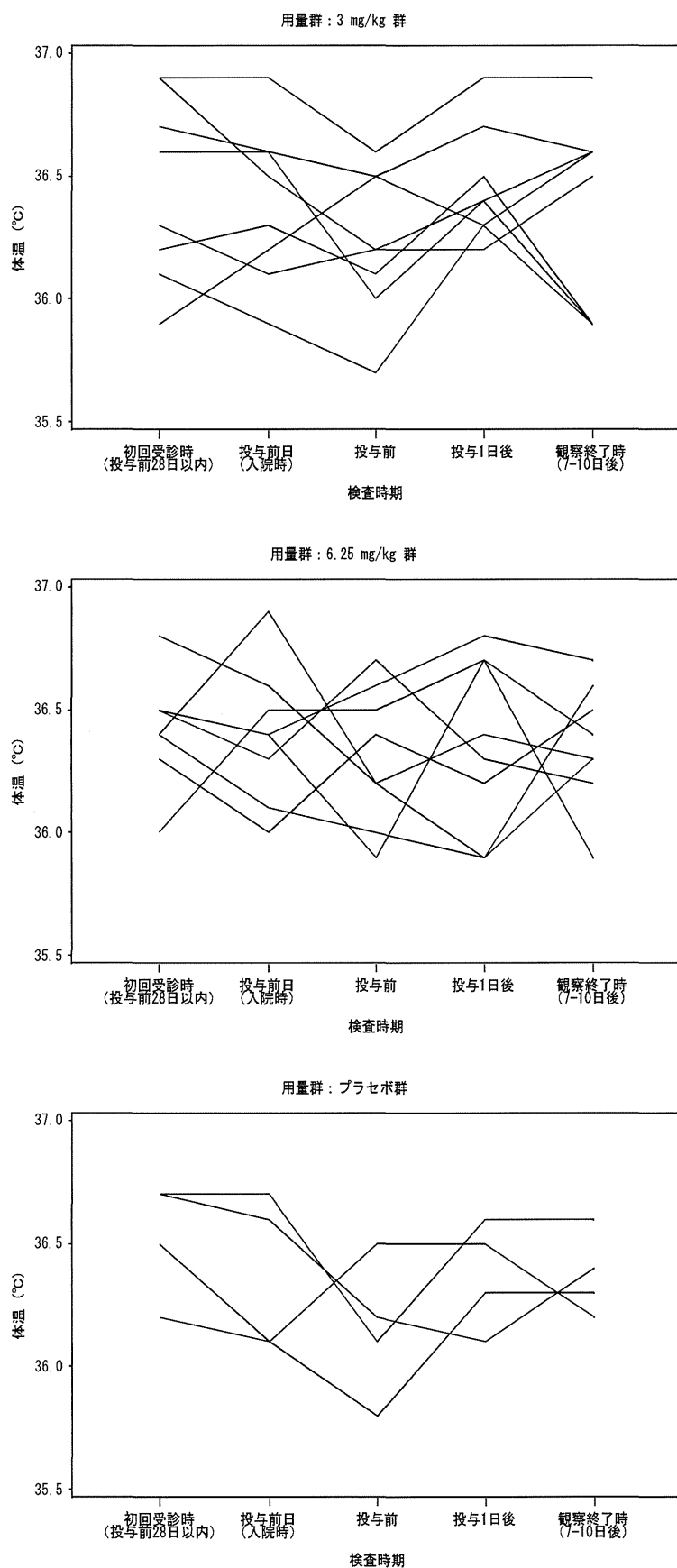


図 14.3-35 被験者ごとのバイタルサインの推移 (体温)

## 14.3.6 自他覚症状

表 14.3-3 自他覚症状の検査時期別集計 (FAS)

(1/2)

自他覚症状記載名	検査時期	3 mg/kg 群 8	6.25 mg/kg 群 8	プラセボ群 4
注入に伴う反応	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
注射部位反応	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
注入部位血管外漏出	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
皮膚硬結	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
蕁麻疹	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
喘鳴	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
錯感覚	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
潮紅	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
頭痛	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)

表 14.3-3 自他覚症状の検査時期別集計 (FAS)

(2/2)

自他覚症状記載名	検査時期	3 mg/kg 群 8	6.25 mg/kg 群 8	プラセボ群 4
灼熱感	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
熱感	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
異常感覚	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
悪心	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
そう痒症	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
斑状丘疹状皮疹	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
振戦	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
嘔吐	初回受診時 (投与前28日以内)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前日 (入院時)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与前	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	投与1日後	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
	観察終了時 (7-10日後)	0( 0.0)	0( 0.0)	0( 0.0)



14.3.7 その他の安全性の項目

表 14.3-4 標準 12 誘導心電図の検査時期別集計 (FAS)

検査時期	3 mg/kg 群				6.25 mg/kg 群				プラセボ群			
	被験者数	正常	異常	境界領域	被験者数	正常	異常	境界領域	被験者数	正常	異常	境界領域
初回受診時 (投与前28日以内)	8	8(100.0)	0( 0.0)	0( 0.0)	8	8(100.0)	0( 0.0)	0( 0.0)	4	4(100.0)	0( 0.0)	0( 0.0)
観察終了時 (7-10日後)	8	8(100.0)	0( 0.0)	0( 0.0)	8	8(100.0)	0( 0.0)	0( 0.0)	4	4(100.0)	0( 0.0)	0( 0.0)

表 14.3-5 PS の観察時期別集計 (FAS)

検査時期	3 mg/kg 群						6.25 mg/kg 群						プラセボ群					
	被験者数	0	1	2	3	4	被験者数	0	1	2	3	4	被験者数	0	1	2	3	4
初回受診時 (投与前28日以内)	8	8	0	0	0	0	8	8	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0
投与前日 (入院時)	8	8	0	0	0	0	8	8	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0
投与前	8	8	0	0	0	0	8	8	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0
投与前1日後	8	8	0	0	0	0	8	8	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0
観察終了時 (7-10日後)	8	8	0	0	0	0	8	8	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0

## 15. 引用文献の一覧表

- 1) Coppell, J.A., et al., Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010. 16(2): 157-68.
- 2) McDonald, G.B., et al., Venocclusive disease of the liver after bone marrow transplantation: diagnosis, incidence, and predisposing factors. *Hepatology*, 1984. 4(1): 116-22.
- 3) Helmy, A., Review article: updates in the pathogenesis and therapy of hepatic sinusoidal obstruction syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2006. 23(1): 11-25.
- 4) Richardson, P.G., et al., Defibrotide for the treatment of severe hepatic veno-occlusive disease and multiorgan failure after stem cell transplantation: a multicenter, randomized, dose-finding trial. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010. 16(7): 1005-17.
- 5) EPP Corbacioglu, S., et al., Defibrotide for prophylaxis of hepatic veno-occlusive disease in paediatric haemopoietic stem-cell transplantation: an open-label, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet*, 2012. 379(9823): 1301-9.
- 6) A double-blind randomized crossover trial to define the ECG effects of defibrotide using a clinical and supratherapeutic dose compared to placebo and moxifloxacin (a positive control) in healthy men and women: a thorough ECG trial. Cetero Research, Cary, NC, USA, 2010.
- 7) Palmer KJ, Goa L, Defibrotide. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in vascular disorders. *Drugs*, 1993, 45(2): 259-94.
- 8) Falanga A, Vignoli A, Marchetti M, and Barbui T, Defibrotide reduces procoagulant activity and increases fibrinolytic properties of endothelial cells. *Leukemia*, 2003, 17(8), 1636-42.
- 9) Eissner G, Multhoff G, Gerbitz A, Kirchner S, Bauer S, Haffner S, et al., Fludarabine induces apoptosis, activation, and allogenicity in human endothelial and epithelial cells: protective effect of defibrotide. *Blood*, 2002, 100(1), 334-40.

## 付録

### 16.1 治験に関する情報

- 16.1.1 治験実施計画書及びその改訂
- 16.1.2 症例記録用紙の見本（内容の異なるページのみ）
- 16.1.3 治験審査委員会の一覧（確認が行われた年月日、並びに委員の氏名及び職名）、被験者への説明文書及び同意書の見本
- 16.1.4 治験責任医師及び他の重要な治験参加者の一覧表及び説明（簡潔な（1 ページ）履歴書又は治験の実施に関連する訓練や経験についての履歴書と同等の要約を含む）
- 16.1.5 自ら治験を実施する者の署名
- 16.1.6 複数のロットが用いられた場合には、治験に用いられたロットごとの薬剤を投与された被験者一覧表
- 16.1.7 無作為化の方法及びコード（被験者の識別及び割り付けられた治療）
- 16.1.8 監査手順に関する資料、監査証明書
- 16.1.9 統計手法に関する文書
- 16.1.10 臨床検査に関して施設間の標準化及び品質保証を行ったのであればその方法と手順に関する文書
- 16.1.11 治験に基づく公表文献
- 16.1.12 治験総括報告書で引用された重要な公表文献

### 16.2 被験者データ一覧表

- 16.2.1 中止症例
- 16.2.2 治験実施計画から逸脱した症例
- 16.2.3 安全性の解析から除外された症例
- 16.2.4 人口統計学的データ
- 16.2.5 薬物動態データ
- 16.2.6 薬力学データ
- 16.2.7 被験者ごとの有害事象一覧表
- 16.2.8 被験者ごとの臨床検査値一覧表
- 16.2.9 被験者ごとのPS、体重及びバイタルサイン一覧表
- 16.2.10 被験者ごとの自他覚症状一覧表
- 16.2.11 被験者ごとの標準 12 誘導心電図所見一覧表

### 16.3 症例記録

- 16.3.1 死亡、その他の重篤な有害事象発現例及び有害事象による投与中止例の症例記録
- 16.3.2 提出された他の症例記録

最終報告書

試験表題： 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

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 2014 年 2 月 21 日

試験責任者：

署名

2014 年 2 月 21 日

本最終報告書は表紙を含む 19 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)
PP	Polypropylene	(ポリプロピレン)
QAU	Quality Assurance Unit	(信頼性保証部門)
RE	Relative error	(相対誤差)
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.....	5
6. 試験委託者.....	6
7. 試験施設.....	6
8. 日程.....	6
9. 材料及び方法.....	6
9.1 使用機器及び材料.....	6
9.2 標準物質, ブランク血漿及び試薬.....	7
9.3 標準溶液の調製.....	8
9.4 試薬溶液の調製.....	9
9.5 試料の調製.....	10
9.6 試料前処理法.....	11
9.7 測定条件.....	11
9.8 システム適合性.....	12
9.9 濃度の算出.....	12
9.10 分析バリデーション法.....	13
9.11 計算式.....	14
9.12 数値の取扱い.....	14
10. 統計学的手法.....	14
11. 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.....	14
12. 結果及び考察.....	14
12.1 冷凍保存安定性.....	14
12.2 標準溶液安定性.....	15
13. 文献.....	15

## Tables

Table 1	Stability of Defibrotide in human plasma stored at -20°C .....	16
Table 2	Stability of Defibrotide in human plasma stored at -80°C .....	17
Table 3	Standard solution stability of Defibrotide at -20°C or 4°C.....	18

信賴性保証陳述書..... 19

## 1. 要約

██████████で信頼性が確認された HPLC 法<sup>1)</sup>をもとに、ヒト血漿中 DF の長期保存安定性を確認した。血漿中の DF は冷凍（許容範囲：-30℃~-10℃ 及び -70℃ 以下）で 9 ヶ月（283 日間）安定であることを確認した。

標準原液は冷凍（許容範囲：-30℃~-10℃）で、標準溶液は冷蔵（許容範囲：1℃~8℃）で 3 ヶ月（95 日間）安定であることを確認した。

以上の結果から、ヒト血漿中及び溶液中のデフィブロタイドの長期保存安定性が確認された。

## 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 ██████████  
██████████ 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 ██████████ 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

██████████で信頼性が確認された HPLC 法をもとに、ヒト血漿中の DF の冷凍における長期保存安定性試験（3、6 及び 9 ヶ月保存）を実施した。また、標準溶液安定性（3 ヶ月保存）を確認した。

## 5. 適用規制

本試験は、以下の基準に従って実施した。また、試験計画書、生データ及び最終報告書間の整合性について、QAU による信頼性調査が行われた。

- ・「申請資料の信頼性の基準」（薬事法施行規則第 43 条：平成 17 年 3 月 23 日厚生労働省令第 37 号）



## 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4月11日

測定操作開始日 : 2013年4月11日

測定操作終了日 : 2014年1月21日

試験終了日 (最終報告書作成日) : 2014年2月21日

## 9. 材料及び方法

## 9.1 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	AX205	メトラー・トレド株式会社
	AT261	
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	LVL1X5KA, LVL1L	ダイキン工業株式会社
冷凍室	LVF4JA, 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

## 9.2 標準物質, ブランク血漿及び試薬

## 9.2.1 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  
 受領量 : 500 mg × 2本  
 分子量 : 15.6 KDa (±2 KDa)  
 使用期限 : 2014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10月18日	19.7°C~25.2°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。

## 9.2.2 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)

## 9.2.3 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	
ぎ酸 (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。	

## 9.3 標準溶液の調製

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

## 9.3.1 標準原液

下記の割合で、標準物質を溶媒に溶かして標準原液 (A-1, A-2 及び B-1) 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

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 ( $\mu\text{g/mL}$ )
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

## 9.3.2 標準溶液

次表の割合で、標準原液を希釈し、検量線用及び安定性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.	使用標準原液 No.	標準原液量 ( $\mu\text{L}$ )	溶媒添加量 ( $\mu\text{L}$ )	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10月18日	2014年1月20日	1.3°C～8.0°C

保存期間： 95日間\*

\*本試験内で安定性が確認された期間内に使用した。

安定性用標準溶液

安定性用標準溶液 No.	使用標準原液 No.	標準原液量 ( $\mu\text{L}$ )	溶媒添加量 ( $\mu\text{L}$ )	調製濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
STS-2	B-1	450	550	4500
STS-1	B-1	60	940	600

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

#### 9.4 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，期限内に使用した。

##### 9.4.1 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。

##### 9.4.2 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。

##### 9.4.3 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。

##### 9.4.4 0.1%ギ酸含有アセトニトリル

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

##### 9.4.5 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。

##### 9.4.6 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。