目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 3
2.6.4.1 まとめ 3
2.6.4.2 分析法 5
2.6.4.3 吸収 5
2.6.4.4 分布 12
2.6.4.5 代謝 13
2.6.4.6 排泄 15
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 15
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 17
2.6.4.9 考察及び結論 17
2.6.4.10 図表 18
2.6.4.11 参考文献 18

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
AUC	area under plasma concentration-time curve：血漿中濃度-時間曲線下面積 AUC_{0-t}：時間 0 から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 $AUC_{0-tlast}$：時間 0 から検出可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積 $AUC_{2hr-last}$：2 時間から検出可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積 $AUC_{0-\infty}$：時間 0 から無限大までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性タンパク
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
C_{1min}	plasma concentration at 1 minutes：投与 1 分後の血漿中濃度
CL	total clearance：全身クリアランス
CYP	cytochrome P450：シトクロム P450
CHO	chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
eq.	equivalent：等量
HEK	human embryonic kidney：ヒト胎児由来腎臓
HPLC	high performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
LC-MS/MS	liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry（spectrometer）：高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（分析計）
MATE	multidrug and toxin extrusion：多剤排出輸送体
OAT	organic anion transporter：有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide：有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter：有機カチオントランスポーター
P-gp	P-glycoprotein：P 糖タンパク
$t_{1/2}$	elimination half-life：消失半減期
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス
t_{max}	time to maximum plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間
UGT	uridine diphosphate glucuronosyltransferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
V_{ss}	volume of distribution at steady state：定常状態における分布容積

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びミニブタを用いてデフィブロチドナトリウムの吸収、分布、代謝、排泄及び薬物相互作用を評価した。一部の試験についてはヒト試料を使用した。動物の系統として、マウスは CD-1 を、ラットは SD 並びに PVG を、ウサギは New Zealand White を、イヌは Beagle を、ミニブタは Göttingen を使用した。投与経路は臨床投与経路と同じ静脈内とした。試験ではデフィブロチドナトリウムの ^{125}I-標識体及び非標識体を使用した。

（1） 吸収

^{125}I-デフィブロチドナトリウムを 6.25 及び 12.5 mg/kg の用量でラットに単回静脈内投与すると、投与量に応じた曝露量の増加が認められた。一方で、デフィブロチドナトリウムを 40 及び 100 mg/kg の用量でラットに単回静脈内投与すると、投与量比以上に曝露量が増加した。

幼若及び成熟ラットにデフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与したとき、幼若ラットでは成熟ラットと比較して曝露量が低かったものの、投与量比以上に曝露量が増加した。消失半減期（$t_{1/2}$）は成熟ラットのみ算出可能であり、0.33～0.38 時間であった。幼若及び成熟ミニブタにデフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した場合、両者で曝露量に大きな違いはなく、$t_{1/2}$ も同程度であった。

ラットを用いた反復投与毒性試験／トキシコキネティクス（TK）試験（7 日間及び 13 週間、持続静脈内）では、投与初日と投与最終日との最高血漿中濃度（C_{max}）の間で著しい上昇は認められず、蓄積はないものと考えられた。また、幼若ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験／TK 試験（1 日 1 回、静脈内）では、雌雄のいずれにおいても投与量に応じた曝露量の増加が認められた。

ウサギを用いた反復投与毒性試験（4 回投与、静脈内）では、1 回目と 4 回目の投与後の C_{max} に大きな違いはなく、反復（4 回）投与による蓄積は認められなかった。

イヌを用いた 7 日間反復投与毒性試験／TK 試験（1 日 4 回、静脈内）では、投与初日と投与 7 日目で、血漿中のデフィブロチド濃度は同程度であった。また、イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験／TK 試験（1 日 4 回、静脈内）では、曝露量に顕著な性差はなく、反復投与による蓄積も認められなかった。

（2） 分布

ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の放射能は、主として腎臓、肝臓、脾臓などの血流量の多い組織や骨髄に分布した。一方で、脳内の放射能濃度は低く、デフィブロチドナトリウムは血液脳関門をほとんど通過しないと考えられた。組織中からの放射能の消失は速やかであり、投与後 168 時間までにはほとんどの組織中の放射能濃度は 1 μg eq./g 以下に低下した。甲状腺の放射能濃度は高く推移したが、これは遊離 ^{125}I が非標識の I と置換して蓄積したものと考えられた。また、メラニン含有組織への特異的な放射能の移行について有色ラットを用いて検討した。非有色皮膚と比較して有色皮膚の放射能濃度は投与 8 時間後では高かったが、

投与 168 時間後では差は認められなかった。眼球中の放射能濃度は白色ラットと比較して高く推移したが、差はないと考えられた。

デフィブロチドの血漿タンパク結合率はヒトを含め検討したすべての動物種で高く、88.5%以上を示した。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血液におけるデフィブロチドの血球移行率は 0.0%～36.4%であり、いずれの動物種においても血球移行性は低かった。

（3） 代謝

デフィブロチドナトリウムの代謝について、ウサギ血漿及びヒト肝細胞を用いて検討した。ヒト肝細胞においてはほとんど代謝を受けなかったが、オリゴヌクレオチドであるデフィブロチドナトリウムは、主に 3'-エキソヌクレアーゼによる代謝を受けると考えられた。

デフィブロチドナトリウムはヒト肝ミクロソームにおいて、各シトクロム P450（CYP）分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4）の活性に対して 30 μmol/L まで阻害作用を示さず、ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）の 2 分子種（UGT1A1 及び UGT2B7）に対して 500 μg/mL まで阻害作用を示さなかった。また、ヒト CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4/5 及び UGT1A1 に対して、500 μg/mL まで酵素誘導作用を示さなかった。デフィブロチドナトリウムは臨床用量においてはこれらの分子種の誘導や阻害に基づく薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

（4） 排泄

ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後、投与した放射能の約 65%が尿中に排泄され、約 25%が糞中に排泄された。また、投与 24 時間後までに投与された放射能の大部分が排泄されており、排泄は速やかであった。

（5） 薬物動態学的薬物相互作用

デフィブロチドナトリウムは、有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び OAT3、有機カチオントランスポーター（OCT）1 及び OCT2、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3、P 糖タンパク（P-gp）及び乳癌耐性タンパク（BCRP）の基質でも阻害剤でもなく、多剤排出輸送体（MATE）1 及び MATE2-K の阻害剤でもないと考えられたことから、デフィブロチドナトリウムは臨床用量においてはこれらの分子種の阻害に基づく薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 標識化合物

試験に用いた標識体（^{125}I-デフィブロチドナトリウム）は[redacted]社（イギリス）で合成した（試験番号 150184、資料番号 4.2.2.1-1、評価資料）。比放射能は 0.1314～1.3 MBq/mg であり、各種生体試料中放射能はガンマカウンターで測定した。なお、試験番号 150210（資料番号 4.2.2.2-2）では、標識体を投与する 16 時間前に、非標識のヨウ化カリウム（4 mg/kg）を経口投与した。

^{125}I-デフィブロチドナトリウムを添加した血漿を用いた計数効率に関するバリデーションは実施しなかった。

2.6.4.2.2 非標識化合物

血漿中デフィブロチド濃度は、高速液体クロマトグラフ法（HPLC 法）又は蛍光法により測定した。HPLC 法では、各種血漿から溶媒抽出し UV 検出器により測定した。蛍光法では、各種血漿を市販 DNA 蛍光測定キットで処理し、蛍光光度計により測定した。非臨床試験で用いられた測定法のバリデーション試験における定量範囲を表 2.6.4.2.2-1 に示す。

表 2.6.4.2.2-1 デフィブロチド濃度測定法バリデーション試験の一覧

測定法	マトリックス	定量範囲（μg/mL）	試験番号	CTD 記載箇所
HPLC	ラット血漿	50.0～1000	1529-008	4.2.2.1-2（評価資料）
HPLC	ラット血漿	5.119～1024	79800	4.2.2.1-3（評価資料）
HPLC	ウサギ血漿	5.392～1078	79790	4.2.2.1-4（評価資料）
蛍光光度計	ウサギ血漿	0.6～5	13-891	4.2.2.1-5（評価資料）
HPLC	イヌ血漿	50.0～1000	1529-007	4.2.2.1-6（評価資料）
蛍光光度計	ミニブタ血漿	2.5～60	12-650	4.2.2.1-7（評価資料）

2.6.4.3 吸収

デフィブロチドナトリウムの非臨床薬物動態の評価にはマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びミニブタを用い、投与経路は臨床と同じ静脈内とした。

2.6.4.3.1 マウスを用いた試験

2.6.4.3.1.1 マウスに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の薬物動態（試験番号 150205、資料番号 4.2.2.2-1、評価資料）

雄性 CD-1 マウスに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを 12.5 mg/kg で単回静脈内投与し、投与 48 時間後までの血液中総放射能を測定した（n=6）。

投与 1 分後（初回採血時点）での血中濃度（C_{1min}）が最も高く、74.72 μg eq./mL（平均値、eq.：等量）であった。また、血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-16hr}）の平均値は 39 μg eq.·hr/mL であった。

2.6.4.3.2 ラットを用いた試験

2.6.4.3.2.1 ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の薬物動態（試験番号 150210、資料番号 4.2.2.2-2、評価資料）

雄性 SD ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを 6.25 及び 12.5 mg/kg で単回静脈内投与した後の血漿中の総放射能を測定した（n=8、投与 1～5 分後は n=4）。

各投与量における初回採血時点の C_{1min} の平均値はそれぞれ 106.15 及び 227.83 µg eq./mL、$AUC_{0–48hr}$ の平均値はそれぞれ 62.49 及び 138.82 µg eq.·hr/mL であり、C_{1min} 及び $AUC_{0–48hr}$ は投与量に応じて増加した。

2.6.4.3.2.2 幼若及び成熟ラットにデフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の薬物動態（試験番号 94830、資料番号 4.2.2.2-3、評価資料）

雄性幼若 SD ラット（21 日齢）及び雄性成熟 SD ラット（10 週齢）にデフィブロチドナトリウムを 0（媒体 : 生理食塩液）、40 及び 100 mg/kg の用量で単回静脈内投与した後の薬物動態を検討した。

幼若ラットにおいては、デフィブロチドナトリウム投与群（40 及び 100 mg/kg）を各 12 例、非投与群（0 mg/kg）を 3 例とした。血漿中のデフィブロチド濃度は、どちらの用量群も最終測定時点（投与後 3 時間）まで検出され、C_{max}（平均値）及び $AUC_{0–tlast}$（平均値）は、40 mg/kg 投与群で 252.2 µg/mL 及び 212.86 µg·hr/mL、100 mg/kg 投与群で 868.5 µg/mL 及び 847.55 µg·hr/mL であり、いずれのパラメータも投与量比以上に増加した。血漿中からの消失が緩やかであったため、$t_{1/2}$ は算出不可であった。

成熟ラットにおいては、デフィブロチドナトリウム投与群（40 及び 100 mg/kg）を各 9 例、非投与群（0 mg/kg）を 3 例とした。血漿中のデフィブロチド濃度は、40 mg/kg 投与群では投与後 1 時間まで検出され、C_{max}（平均値）及び $AUC_{0–tlast}$（平均値）はそれぞれ 798.1 µg/mL 及び 311.68 µg·hr/mL、$t_{1/2}$ の平均値は 0.33 時間であった。100 mg/kg 投与群では投与後 2 時間まで検出され、C_{max}（平均値）及び $AUC_{0–tlast}$（平均値）は 2540 µg/mL 及び 1171.06 µg·hr/mL、$t_{1/2}$（平均値）は 0.38 時間であった。C_{max} 及び $AUC_{0–tlast}$ は投与量比以上に増加した。

2.6.4.3.2.3 ラットを用いた持続静脈内投与による 7 日間反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス（試験番号 1529-004、資料番号 4.2.3.2-1、参考資料）

雄性 SD ラットにデフィブロチドナトリウムを 4800 mg/kg/日の用量で 7 日間反復投与した際の TK を評価した（n=3）。デフィブロチドナトリウムは外科的に留置した大腿静脈カテーテルより 60 mL/kg/日の速度で 24 時間持続投与した。

投与開始後、血漿中薬物濃度は上昇し、投与開始から約 3 時間後以降に定常状態に達し、そのときの血漿中濃度は 787～995 µg/mL（投与開始 3、12 及び 24 時間後の個体値）であった。7 日目の血漿中濃度は、投与終了直前では 654～1110 µg/mL であったが、投与終了 3 時間後には定量下限（40.9 µg/mL）未満にまで低下した。

2.6.4.3.2.4 幼若ラットにデフィブロチドナトリウムを 4 週間反復静脈内投与した毒性試験におけるトキシコキネティクス（試験番号 82640、資料番号 4.2.3.5.4-1、評価資料）

雌雄幼若 SD ラット（21 日齢）にデフィブロチドナトリウムを 0（媒体：生理食塩液）、40、150 及び 320 mg/kg/日の用量で、28 日間反復投与した際の TK を評価した（各群雌雄 n=3）。デフィブロチドナトリウムは 1 日 1 回静脈内投与し、投与開始から 3、15、30 分、1、4 時間後における血漿中デフィブロチド濃度を測定した。

全てのデフィブロチドナトリウム投与群で曝露が確認された。曝露量に性差はなく、$AUC_{0\text{-}tlast}$ 及び C_{max} は用量に応じて増加し、t_{max} は投与開始 0.05 時間後（初回測定時点）であった。曝露量は、40 mg/kg/日及び 150 mg/kg/日投与群では用量に比例して増加したが、320 mg/kg/日投与群では用量比を上回る増加が認められた。消失相の分布容積、クリアランス及び半減期より、デフィブロチドは血液中に分布した後、体内から速やかに消失することが示唆された。

2.6.4.3.2.5 ラットを用いた持続静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス（試験番号 1529-001、資料番号 4.2.3.2-3、評価資料）

雌雄 SD ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（媒体：生理食塩液）、240、1200 及び 4800 mg/kg/日の用量で 13 週間反復投与した際の TK を評価した（n=3）。デフィブロチドナトリウムは外科的に留置した大腿静脈カテーテルより 60 mL/kg/日の速度で持続静脈内投与した。なお、媒体群を含む全ての投与群において、カテーテル留置に伴う投与合併症が複数の動物で発現したため、投与 9 週で試験を終了した。

投与初日の薬物動態パラメータ及び投与 65 日目の平均血漿中濃度を表 2.6.4.3.2.5-1 に示す。投与初日の平均血漿中濃度は、デフィブロチドナトリウムを投与した全ての群において投与開始 24 時間後で最高値に達し（t_{max}：24 hr）、$AUC_{0\text{–}24hr}$ は雌に比べて雄でやや低かった。240 及び 1200 mg/kg/日投与群では、C_{max} 及び $AUC_{0\text{–}24hr}$ は投与量にほぼ比例して増加した。一方で、4800 mg/kg/日投与群では、1200 mg/kg/日投与群と比較し、C_{max} 及び $AUC_{0\text{–}24hr}$ は用量比以上に増加した。いずれの投与量群においても、65 日目の投与終了直前の血漿中濃度は投与初日の C_{max} 値と比較して上昇しておらず、蓄積はないと考えられた。

表 2.6.4.3.2.5-1 ラットにデフィブロチドナトリウムを 13 週間持続静脈内投与したときの投与初日の平均薬物動態パラメータ及び投与 65 日目の投与終了直前の平均血漿中濃度

	240 mg/kg/日	1200 mg/kg/日	4800 mg/kg/日
雄性			
投与初日			
AUC_{0-24hr}（μg·hr/mL）	807	4430	23300
AUC_{0-24hr} / 投与量（μg·hr/mL/(mg/kg)）	3.36	3.69	4.85
C_{max}（μg/mL）	51.8	267	1670
C_{max} / 投与量（μg/mL/(mg/kg)）	0.216	0.223	0.347
t_{max}（hr）	24	24	24
投与 65 日目			
血漿中濃度[a]（μg/mL）	69.4±60.7	97.2 ± 99.6	1790 ± 342
雌性			
投与初日			
AUC_{0-24hr}（μg·hr/mL）	1110	5100	30100
AUC_{0-24hr} / 投与量（μg·hr/mL/(mg/kg)）	4.62	4.25	6.28
C_{max}（μg/mL）	71.4	394	2310
C_{max} / 投与量（μg/mL/(mg/kg)）	0.298	0.328	0.481
t_{max}（hr）	24	24	24
投与 65 日目			
血漿中濃度[a]（μg/mL）	47.3 ± 82.0	57.4 ± 49.9	1920 ± 139
雌雄平均			
投与初日			
AUC_{0-24hr}（μg·hr/mL）	957	4770	26700
AUC_{0-24hr} / 投与量（μg·hr/mL/(mg/kg)）	3.99	3.97	5.56
C_{max}（μg/mL）	61.6	330	1990
C_{max} / 投与量（μg/mL/(mg/kg)）	0.257	0.275	0.414
t_{max}（hr）	24	24	24
投与 65 日目			
血漿中濃度[a]（μg/mL）	58.4 ± 65.6	77.3 ± 73.7	1850 ± 245

投与初日は平均値（雌雄各 3 例）、投与 65 日目は平均値 ± 標準偏差（雌雄各 3 例）
a：持続静脈内投与終了直前

［4.2.3.2-3 Appendix O Table 2、Table 3 を改変］

2.6.4.3.3 ウサギを用いた試験

2.6.4.3.3.1 ウサギにデフィブロチドナトリウムを静脈内投与したときの薬物動態（試験番号 80870、資料番号 4.2.2.2-4、評価資料）

雌性 New Zealand White ウサギにデフィブロチドナトリウムを 30、60、120 及び 320 mg/kg/日の用量で静脈内投与したときの血漿中デフィブロチド濃度を HPLC で測定した（n=3）。投与は 1 日量を 4 分割して行い、1 回の投与は 2 時間かけての静脈内投与とした。投与 1 回目及び 4 回目における薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.3.1-1 に示す。

60 mg/kg/日投与群の 1 例で 4 回目の投与終了時に死亡したが、死因は不明である。

30 mg/kg/日投与群においては、3 例中 1 例で 4 回目の投与終了後 20 分に検出されたのを除き、全ての試料で血漿中濃度は定量下限（5.392 μg/mL）未満であった。1 回目の投与においては、AUC_{0-2hr} 及び C_{max} は 60 及び 120 mg/kg/日の間で投与量比を超える増加を示したが、120 及び 320 mg/kg/日では投与量比に従って増加した。

4 回目の投与終了時において、$AUC_{2hr-last}$（投与終了後の AUC）は 120 及び 320 mg/kg/日投与群でそれぞれ 11.96 及び 33.40 μg·hr/mL であった。4 回目の投与終了後の $t_{1/2}$ は 0.22～0.27 時間であり、デフィブロチドナトリウムの血漿からの消失は速やかであることが示唆された。

また、1 回目及び 4 回目の投与後の C_{max} に大きな変化は認められず、ウサギにおいては 4 回の投与によって血漿中濃度は増加しなかった。120 及び 320 mg/kg/日投与群の C_{max} 及び AUC_{0-2hr} は、投与 1 回目及び 4 回目で投与量比に従って増加したが、60 mg/kg/日投与群では低値を示した。このことは、デフィブロチドナトリウムの $t_{1/2}$ が 0.22～0.27 時間と非常に速やかであることに起因すると推測された。

表 2.6.4.3.3.1-1 ウサギにデフィブロチドナトリウムを静脈内投与したときの投与 1 回目及び 4 回目における薬物動態パラメータ

投与量（mg/kg/日）	投与 1 回目		投与 4 回目		
	C_{max}（μg/mL）	AUC_{0-2hr}（μg·hr/mL）	C_{max}（μg/mL）	$AUC_{2hr-last}$（μg·hr/mL）	$t_{1/2}$（hr）
30	BLQ	NC	2.16 ± 3.75	0.52 [b]	NC
60	10.45 ± 9.12	19.57 [a]	12.95 [a]	1.21 [a]	NC
120	46.95 ± 7.08	70.99 ± 1.95	45.98 ± 9.80	11.96 ± 5.55	0.27 [a]
320	133.09 ± 47.23	192.87 ± 60.77	129.81 ± 72.92	33.40 ± 5.89	0.22 ± 0.09

平均値 ± 標準偏差（n=3）
BLQ：定量下限（5.392 μg/mL）未満、NC：Not calculated（算出せず）
a：平均値（n=2）、b：n=1

［4.2.2.2-4 Text-table I、Text-table II を改変］

2.6.4.3.3.2 ウサギを用いた胚・胎児発生試験における血漿中濃度測定（試験番号 95800、資料番号 4.2.3.5.2-4、評価資料）

妊娠が確認された雌性 New Zealand White ウサギを妊娠 6～10 日目、10～14 日目及び 14～18 日目の 3 つの部分群に分け、それぞれにデフィブロチドナトリウムを 80 mg/kg/日の用量で 5 日間反復静脈内投与した。投与は 1 日 4 回（1 日量を 4 分割し、6 時間間隔）とし、1 回の投与は 1 mL/kg/hr の速度で 2 時間かけての静脈内投与とした。最終投与時（投与最終日の 4 回目投与）に蛍光法により血漿中デフィブロチド濃度を測定した（n=2～4）。

すべての動物で血漿中にデフィブロチドが検出され、本薬の曝露が確認された。最終投与開始後 1 時間における血漿中濃度が最も高く、サンプルが得られた 2 個体の血漿中濃度はそれぞれ 46.38 及び 49.84 μg/mL であった。なお、本試験はスパースサンプリング法で行った。

2.6.4.3.4 イヌを用いた試験

2.6.4.3.4.1 イヌを用いた静脈内投与による 7 日間反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス（試験番号 1529-003、資料番号 4.2.3.2-5、参考資料）

雄性 Beagle イヌにデフィブロチドナトリウムを 1600 mg/kg/日の用量で 7 日間反復投与したときの TK を評価した。投与は 1 日 4 回（1 日量を 4 分割し、6 時間間隔）とし、1 回の投与は 2 時間かけての静脈内投与とした（n=3）。投与初日及び 7 日目の初回投与時（投与前、投与開始後 30 分、1、2 時間）と 4 回目投与時（投与終了直後、投与終了後 10、20、30 分、1、4、10 時間［7 日目のみ］）の各測定時点における血漿中デフィブロチド濃度を測定した。

各測定時点における血漿中デフィブロチド濃度は、投与初日及び投与 7 日目で同程度であった。なお、薬物動態パラメータの算出は行わなかった。

2.6.4.3.4.2 イヌを用いた静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス（試験番号 1529-002、資料番号 4.2.3.2-6、評価資料）

雌雄 Beagle イヌにデフィブロチドナトリウムを 0（媒体：生理食塩液）、60、300 及び 1600 mg/kg/日の用量で 13 週間反復投与したときの TK を評価した。投与は 1 日 4 回（1 日量を 4 分割し、6 時間間隔）とし、1 回の投与は 2 時間かけての静脈内投与とした（n=4）。

投与初日及び投与 91 日目の 4 回目の投与終了後における薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.4.2-1 に示す。投与初日及び投与 91 日目の C_{max} は、300 mg/kg/日以上の投与群において投与量の増加に伴い上昇した。AUC_{0-6hr}、C_{max}、全身クリアランス（CL）、半減期及び定常状態における分布容積（V_{ss}）に顕著な性差はなく、投与初日と投与 91 日目で同程度であった。しかしながら、91 日目の 300 mg/kg/日投与群の雌は他の動物に比べて、曝露量が高く、半減期が長く、CL は小さかった。V_{ss} は投与初日及び投与 91 日目を通して類似していた。全体として曝露量に顕著な性差はなく、1600 mg/kg/日を 91 日間反復投与しても、曝露量が大きく変化することはなかった。

表 2.6.4.3.4.2-1 イヌにデフィブロチドナトリウムを 13 週間反復静脈内投与（1 日 4 回）したときの投与初日及び投与 91 日目の最終投与終了後の平均薬物動態パラメータ

投与量（mg/kg/日）	投与初日			投与 91 日目		
	60	300	1600	60	300	1600
雄性						
AUC_{0-6hr}（μg·hr/mL）	NC	NC	626 ± 297	NC	NC	774 ± 149
AUC_{0-6hr} / 投与量（μg·hr/mL/(mg/kg)）	NC	NC	1.57 ± 0.741	NC	NC	1.94 ± 0.372
C_{max}（μg/mL）	BLQ	152 ± 217	481 ± 175	BLQ	69.0 ± 48.2	570 ± 93.1
C_{max} / 投与量（μg/mL/(mg/kg)）	NC	2.02 ± 2.90	1.20 ± 0.437	NC	0.920 ± 0.643	1.43 ± 0.233
CL（mL/min/kg）	NC	NC	37.4 ± 5.76	NC	NC	37.6 ± 7.91
$t_{1/2}$（hr）	NC	NC	0.182 ± 0.0269	NC	NC	0.195 ± 0.0203
V_{ss}（mL/kg）	NC	NC	2370 ± 359	NC	NC	2380 ± 476
雌性						
AUC_{0-6hr}（μg·hr/mL）	NC	NC	670 ± 165	NC	522 ± 132	619 ± 30.4
AUC_{0-6hr} / 投与量（μg·hr/mL/(mg/kg)）	NC	NC	1.68 ± 0.411	NC	6.96 ± 1.75	1.55 ± 0.0760
C_{max}（μg/mL）	BLQ	60.8 ± 6.19	495 ± 124	BLQ	146 ± 27.4	457 ± 16.8
C_{max} / 投与量（μg/mL/(mg/kg)）	NC	0.811 ± 0.0826	1.24 ± 0.309	NC	1.95 ± 0.365	1.14 ± 0.0421
CL（mL/min/kg）	NC	NC	44.6 ± 13.5	NC	0.598 ± 0.254	45.6 ± 2.13
$t_{1/2}$（hr）	NC	NC	0.205 ± 0.0158	NC	46.2 ± 13.3	0.200 ± 0.0298
V_{ss}（mL/kg）	NC	NC	2840 ± 874	NC	2690 ± 199	2900 ± 115
雌雄平均						
AUC_{0-6hr}（μg·hr/mL）	NC	NC	648 ± 223	NC	418 ± 260	697 ± 130
AUC_{0-6hr} / 投与量（μg·hr/mL/(mg/kg)）	NC	NC	1.62 ± 0.558	NC	5.57 ± 3.46	1.74 ± 0.324
C_{max}（μg/mL）	BLQ	106 ± 150	488 ± 140	BLQ	108 ± 54.9	513 ± 86.6
C_{max} / 投与量（μg/mL/(mg/kg)）	NC	1.42 ± 2.00	1.22 ± 0.351	NC	1.43 ± 0.732	1.28 ± 0.217
CL（mL/min/kg）	NC	NC	41.5 ± 10.8	NC	0.598 ± 0.254	41.6 ± 6.88
$t_{1/2}$（hr）	NC	NC	0.195 ± 0.227	NC	46.2 ± 13.3	0.197 ± 0.0237
V_{ss}（mL/kg）	NC	NC	2640 ± 698	NC	2690 ± 199	2640 ± 424

平均値 ± 標準偏差（雌雄各 4 例）
NC：Not calculated（算出せず）、BLQ：定量下限（50.0 μg/mL）未満

［4.2.3.2-6 Appendix P Table 3 を改変］

2.6.4.3.5 ミニブタを用いた試験

2.6.4.3.5.1 幼若及び成熟ミニブタにデフィブロチドナトリウムを静脈内投与したときの薬物動態（試験番号 [redacted]134330、資料番号 4.2.2.2-5、評価資料）

幼若（1.67 ヵ月齢、n=3）及び成熟（10.88 ヵ月齢、n=3）Göttingen ミニブタにデフィブロチドナトリウムを 7.5 mg/kg の用量で 2 時間かけて静脈内投与したときの薬物動態を検討した。

幼若及び成熟ミニブタの血漿中デフィブロチド濃度推移は類似しており、C_{max}（11.10 及び 12.60 μg/mL）、$AUC_{0-\infty}$（22.52 及び 32.75 μg·hr/mL）及び $t_{1/2}$（2.34 及び 2.00 hr）で差は認められなかった。

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 *In vitro* タンパク結合及び血球移行率（試験番号 8313003、資料番号 5.3.2.1-1、評価資料）

CD-1 マウス、SD ラット、New Zealand White ウサギ、Beagle イヌ及びヒト血漿とデフィブロチドナトリウム（5、10、50、200 及び 500 µg/mL）を用いて、デフィブロチドの血漿タンパク結合率を限外濾過法で算出した。血漿タンパク結合率（平均値）は、マウスで 88.5%以上、ラットで 92.3%以上、ウサギで 94.3%以上、イヌで 95.3%以上、ヒトで 91.3%以上であった。いずれの種においても高いタンパク結合率を示し、種差は認められなかった。

CD-1 マウス、SD ラット、New Zealand White ウサギ、Beagle イヌ及びヒト血液とデフィブロチドナトリウム（10、50、200 及び 500 µg/mL）を用いて、デフィブロチドの血球移行を検討した。血球移行率（平均値）は、マウスで 14.1%以下、ラットで 9.16%以下、ウサギで 36.4%以下、イヌで 13.9%以下、ヒトで 23.6%以下であり、いずれの種においても血球移行率は低かった。

2.6.4.4.2 ラットを用いた試験

2.6.4.4.2.1 ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の組織分布（試験番号 150210、資料番号 4.2.2.2-2、評価資料）

白色雄性 SD ラット及び有色雄性 PVG ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の組織分布試験を実施した。

白色雄性 SD ラットに 12.5 mg/kg を静脈内投与した際、甲状腺、胃及び大腸を除き、組織中放射能濃度は初回採取時点である投与 2 時間後に最高値を示し、血流量が多い組織（腎臓、肝臓及び脾臓でそれぞれ 31.1、13.1 及び 8.7 µg eq./g）及び骨髄（14.9 µg eq./g）で高かった。組織中放射能濃度は、投与後 24 時間では、甲状腺及び大腸を除いて最高値より低下し、投与後 168 時間では骨髄、脾臓、甲状腺、腎臓及び肝臓を除いて 1 µg eq./g 以下に低下した。脳内濃度は最も低く、デフィブロチドナトリウムは血液脳関門をほとんど通過しないことが示された。また、脂肪への蓄積は認められなかった。

白色雄性 SD ラットに 6.25 mg/kg を静脈内投与した際の組織中放射能濃度は、その多くが投与後 2 時間及び 8 時間で最高値を示した。12.5 mg/kg 投与時と同様に投与 168 時間までに甲状腺を除く組織中放射能濃度は低値を示した。甲状腺を除いて投与後 8 時間までに最高値を示し、その後、大部分の組織では 12.5 mg/kg 投与時と同様な推移で低下した。

いずれの投与量を投与した場合においても甲状腺の放射能濃度が高く推移した原因としては、遊離 ^{125}I が非標識の I と置換して蓄積したものと推察された。

有色雄性 PVG ラットに 12.5 mg/kg を静脈内投与した場合、組織中の放射能濃度は白色ラットと同程度であった。投与 8 時間後では非有色皮膚と比較して有色皮膚の放射能濃度は高かった（非有色皮膚 : 3.99 µg eq./g、有色皮膚 : 5.58 µg eq./g）が、投与 168 時間後では差は認められなかった。また、眼球中放射能濃度においては、同濃度を投与した白色ラットと比較して高く推移したが、差はないと考えられた。

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 ヒト小児及び成人肝細胞における *in vitro* 代謝（試験番号 0251-2010、資料番号 5.3.2.2-1、評価資料）

核酸、ヌクレオシド、ヌクレオチド及び糖などの代謝物の生成を検討するために、150 µg/mL のデフィブロチドナトリウムをヒト小児（5 ヵ月齢及び 2 歳）肝細胞及びヒト成人肝細胞（5 例分を mix）と 60 分間インキュベーションし、反応液中における代謝物を高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計（LC-MS/MS）により測定した。想定される代謝物として、各遊離塩基（チミン、アデニン、グアニン、シトシン、ウラシル）、そのヌクレオシド及びヌクレオチド、並びにデオキシリボース糖、遊離塩基の代謝物（ヒポキサンチン、キサンチン）について測定した。成人ではウラシル、2 歳小児ではチミン及びウラシル、5 ヵ月齢小児ではグアニンがそれぞれ検出され、代謝プロファイルに差が認められた。しかしながら、いずれの肝細胞においても検出された代謝物濃度は 1.5 µg/mL 未満であり、肝細胞におけるデフィブロチドの代謝はほとんど認められなかった。

2.6.4.5.2 ウサギ血漿におけるデフィブロチドの代謝（試験番号 80870、資料番号 4.2.2.2-4、評価資料）

雌性 New Zealand White ウサギにデフィブロチドナトリウムを 211 mg/kg/日の用量で静脈内投与したときの代謝物を検討した（n=1）。投与は 1 日量を 4 分割して行い、1 回の投与は 2 時間かけての静脈内投与とした。投与開始前、初回投与及び 4 回目投与時の代謝物を LC-MS/MS により測定した。

デフィブロチドの代謝物は投与開始前と最終投与終了後 4 時間を除くすべての測定時点で認められた。初回投与開始後 30 分から代謝物が認められ、1 時間では遊離塩基とヌクレオシド及びヌクレオチドが認められた。グアニン、ウラシル及びデオキシシチジンは、最終投与終了時及び最終投与終了後の消失相においてのみ認められた。チミンは投与後 1 時間で認められ、最終投与終了後速やかに消失した。また、チミジン、デオキシウリジン、デオキシグアノシン及びデオキシシチジン一リン酸は投与中の早期から認められ、最終投与終了後 30 分～1 時間まで血漿中に残存していた。最終投与終了後 4 時間において代謝物が認められなかったことから、ウサギ血漿においてデフィブロチドの代謝物は蓄積していなかったと考えられる。

その他の代謝物については、クロマトグラム上に明らかなピークは認められなかった。

2.6.4.5.3 デフィブロチドの推定代謝経路（試験番号 80870, 0251-2010、資料番号 4.2.2.2-4, 5.3.2.2-1、評価資料）

デフィブロチドナトリウムはオリゴヌクレオチドであり、生体内では DNA と同様の分解／代謝を受けると考えられる。

マウス、ラット、ウサギ及びヒト血漿を用いた *in vitro* でのオリゴヌクレオチドの分解は、主としてエキソヌクレアーゼによる 3'末端から 5'末端への加水分解であると報告されている [1)]。その加水分解速度はヒト、マウス及びラット血漿では同程度であるが、ウサギ血漿では他の動物種と比較して数倍速い。加水分解の受けやすさは構造と配列に依存しており、一本鎖オリゴヌクレオ

チドは二本鎖オリゴヌクレオチドと比較して加水分解されやすく、3'-ピリミジンは 3'-プリンに比べて速やかに分解される。*In vivo* でも同様で、オリゴヌクレオチドの主な分解経路は 3'-エキソヌクレアーゼによる加水分解とされている [2)]。

In vivo での血漿中 DNA 分解の詳細な経路はほとんど知られていないが、ヌクレアーゼ、ヌクレオチダーゼ、ヌクレオシダーゼ、デアミナーゼなどにより、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、ヌクレオシド、デオキシリボース糖、プリン及びピリミジン塩基などへと分解されると推察される。

図 2.6.4.5.3-1 にデフィブロチドの推定分解／代謝経路を示す。

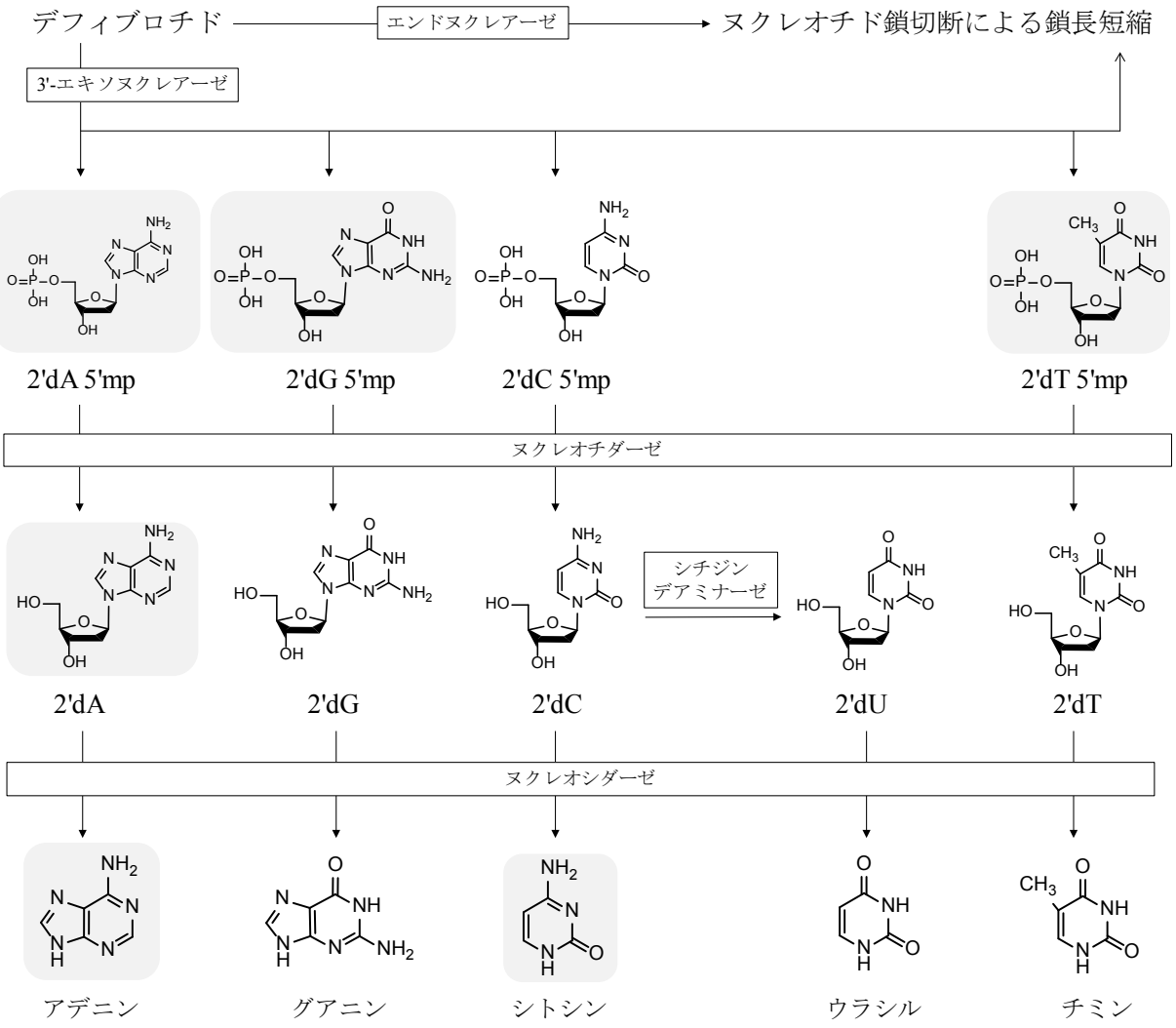


図 2.6.4.5.3-1 *In vivo* におけるデフィブロチドの推定分解／代謝経路

グレーの背景ありは推定代謝物を示す。
デフィブロチド：ブタ腸粘膜由来のポリデオキシリボヌクレオチドナトリウム
（分子量 13000～20000）
2'dA 5'mp：デオキシアデノシン一リン酸、2'dG 5'mp：デオキシグアノシン一リン酸、
2'dC 5'mp：デオキシシチジン一リン酸、2'dU 5'mp：デオキシウリジン一リン酸、
2'dT 5'mp：チミジン一リン酸、
2'dA：デオキシアデノシン、2'dG：デオキシグアノシン、2'dC：デオキシシチジン、
2'dU：デオキシウリジン、2'dT：チミジン

2.6.4.5.4 薬物代謝酵素の阻害又は誘導

2.6.4.5.4.1 ヒト肝ミクロソームを用いた CYP 阻害試験（試験番号 0184-2010、資料番号 5.3.2.2-2、評価資料）

ヒト肝ミクロソームを用いて、デフィブロチドナトリウム（3、10 及び 30 µmol/L）の *in vitro* におけるヒト CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 阻害作用について評価した。デフィブロチドナトリウムは 30 µmol/L の濃度まで阻害作用を示さなかった。

2.6.4.5.4.2 ヒト肝ミクロソームを用いた UGT 阻害試験（試験番号 8309087、資料番号 5.3.2.2-3、評価資料）

ヒト肝ミクロソームを用いて、デフィブロチドナトリウム（1、2、5、13、32、80、200 及び 500 µg/mL）の *in vitro* におけるヒト UGT1A1 及び UGT2B7 阻害作用について評価した。デフィブロチドナトリウムは 500 µg/mL の濃度まで阻害作用を示さなかった。

2.6.4.5.4.3 ヒト肝細胞を用いた CYP 及び UGT 誘導試験（試験番号 8305353、資料番号 5.3.2.2-4、評価資料）

ヒト肝細胞を用いて、デフィブロチドナトリウム（50、250 及び 500 µg/mL）の CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4/5 及び UGT1A1 に対する誘導作用を、mRNA 発現量及び酵素活性を指標として評価した。デフィブロチドナトリウムは mRNA 発現量及び酵素活性に対して誘導作用を示さなかった。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 ラットを用いた試験

2.6.4.6.1.1 ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の尿及び糞中排泄（試験番号 150210、資料番号 4.2.2.2-2、評価資料）

雄性 SD ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを 6.25 及び 12.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与（各 n=6）したときの排泄挙動を検討した。

6.25 及び 12.5 mg/kg 投与群において、投与後 120 時間までに、投与した放射能の 64.23%及び 68.14%が尿中に排泄され、23.51%及び 25.46%が糞中に排泄された。また、投与後 24 時間までに投与した放射能の 75.79%及び 81.59%が排泄されており、体内からの排泄は速やかであった。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 取り込みトランスポーターに対する基質認識性及び阻害作用（試験番号 8305354、資料番号 5.3.2.2-5、評価資料）

ヒトの主要な取り込みトランスポーターである OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 に対するデフィブロチドナトリウムの基質認識性及び阻害作用について検討した。各トランスポーターを安定的に発現させたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞又はヒト胎児由来腎（HEK）293 細胞を用い、デフィブロチドナトリウムは、基質認識性については 15 及び 100 µg/mL、阻害作用については 50 及び 500 µg/mL の濃度で検討した。

各トランスポーター発現細胞は、ベクターのみ導入した CHO 細胞又は HEK293 細胞に比べて典型基質薬の取り込み活性を 7 倍以上増加させ、その取り込み活性は典型阻害薬存在下において低下したことから試験系の確立を確認した。トランスポーター発現細胞において、デフィブロチドナトリウム（15 及び 100 µg/mL）の顕著な取り込みは認められなかったことから、デフィブロチドはこれらの取り込みトランスポーターの基質ではないと考えられた。また、デフィブロチドナトリウム（50 及び 500 µg/mL）存在下での典型基質薬の取り込み活性は溶媒対照の 75.9%～109%であり、デフィブロチドナトリウムはこれらのトランスポーターを阻害しないと考えられた。なお、典型阻害薬存在下における典型基質薬の取り込み活性は、いずれのトランスポーターも溶媒対照群の 4.95%以下であった。

以上、デフィブロチドナトリウムは OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質ではなく、阻害作用も示さないと考えられた。

2.6.4.7.2 排出トランスポーターに対する基質認識性及び阻害作用

（試験番号 8305354, BP-73-001、資料番号 5.3.2.2-5, 5.3.2.2-6、評価資料）

ヒトの主要な排出トランスポーターの基質認識性については P-gp 及び BCRP を、阻害作用については P-gp、BCRP、MATE1 及び MATE2-K を用いて、デフィブロチドナトリウムの影響を検討した。

P-gp 及び BCRP の評価には、C2BBel 細胞（Caco-2 細胞のサブクローン）を用いた。頂端膜側→基底膜側（A→B）及び基底膜側→頂端膜側（B→A）への見かけの膜透過係数の比より算出した efflux ratio（B→A / A→B）を指標に評価した。典型基質薬（P-gp：^{3}H-ジゴキシン［1 µmol/L］、BCRP：^{3}H-エストロン-3-硫酸［0.1 µmol/L］）の efflux ratio が 7 を超えること、及び典型阻害薬（P-gp：ゾスキダル［2 µmol/L］、BCRP：Ko143［1 µmol/L］）存在下において典型基質薬の efflux ratio を 80%以上阻害したこと、^{14}C-マンニトール及び ^{14}C-カフェインの見かけの膜透過係数（それぞれ 0.401×10^{-6} cm/sec 以下、24.6×10^{-6} cm/sec 以上）が Caco-2 単層膜試験における許容範囲に収まったことから試験系の確立を確認した。デフィブロチドナトリウム（15 及び 100 µg/mL）の A→B の見かけの膜透過係数は無視できる程度であり、また、B→A への膜透過係数は典型阻害薬の存在下でも変化しなかったことから、デフィブロチドナトリウムはこれらの排出トランスポーターの基質ではないと考えられた。また、デフィブロチドナトリウム（50 及び 500 µg/mL）存在下における ^{3}H-ジゴキシン（P-gp の典型基質薬）の efflux ratio は、それぞれ溶媒対照群の 94.9%及び 105%、^{3}H-エストロン-3-硫酸（BCRP の典型基質薬）の efflux ratio は、それぞれ溶媒対照群の 136%及び 115%であった。よって、デフィブロチドナトリウムは P-gp 及び BCRP を阻害しないと考えられた。

MATE1 の評価にはヒト MATE1 を発現させた HEK293 細胞を、MATE2-K の評価にはヒト MATE2-K を一過性に発現させた HEK293 細胞を用いた。各トランスポーター発現細胞における典型基質薬（^{14}C-メトホルミン）の取り込み活性は、トランスポーターを発現させていない細胞に比べて 10 倍以上増加し、その取り込み活性は典型阻害薬（シメチジン）存在下において低下したことから試験系の確立を確認した。デフィブロチドナトリウム（15、50、150 及び 500 µg/mL）存在下での典型基質薬の取り込み活性は溶媒対照の 97.0%～112.4%であり、デフィブロチドナトリ

ウムはこれらのトランスポーターを阻害しないと考えられた。なお、本評価にはクエン酸ナトリウムを含むデフィブロチドナトリウム注射液を用いたため、クエン酸ナトリウムの MATE1 及び MATE2-K に対する影響を検討したところ、クエン酸ナトリウムは MATE1 及び MATE2-K を阻害しなかった。

以上、デフィブロチドナトリウムは P-gp 及び BCRP の基質ではなく、阻害作用も示さないと考えられた。また、MATE1 及び MATE2-K も阻害しないと考えられた。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当試験なし。

2.6.4.9 考察及び結論

デフィブロチドナトリウムの吸収、分布、代謝、排泄及び薬物動態学的薬物相互作用について検討した。

マウス、ラット、ウサギ、ミニブタ及びイヌにデフィブロチドナトリウムを静脈内投与したとき、多くの場合で投与終了時点に最も高い血漿中濃度を示し、その後の血漿中からの消失は速やかであった。また、投与初日と反復投与後の C_{max}（もしくは平均血漿中濃度）の比較より、反復投与による蓄積性はないと考えられた。

ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の放射能は血流量の多い組織や骨髄に多く分布した。甲状腺を除いた組織では、投与後 168 時間までに放射能濃度は低くなったことから、これらの組織においては放射能の消失は速やかであり、蓄積性はないものと推察された。甲状腺の放射能濃度は高く推移したが、これは遊離 ^{125}I が非標識の I と置換して蓄積したものであり、デフィブロチドナトリウムの蓄積ではないと判断した。

ヒト肝細胞及びウサギ血漿を用いてデフィブロチドの代謝について検討した。DNA の代謝と同様に、オリゴヌクレオチドであるデフィブロチドは、主に 3'-エキソヌクレアーゼによって代謝されると考えられた。小児 2 例及び成人のヒト肝細胞におけるデフィブロチドの代謝を比較したところ、生成する代謝物に若干の違いは見られたものの、いずれの肝細胞においても代謝物の検出濃度が低く、ほとんど代謝を受けないと考えられた。

ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の放射能は主に尿中に排泄された。投与後 24 時間までに投与した放射能の大部分が排泄されており、排泄は速やかであると考えられた。

ヒトにデフィブロチドナトリウムを静脈内投与したとき、血漿中デフィブロチド濃度は投与終了時点で最も高く、その後速やかに低下した（2.7.2.3.1.2 項参照）。また、主な排泄経路は尿中であった（2.7.2.3.1.1 項参照）。非臨床試験（動物）におけるデフィブロチドナトリウムの薬物動態は、臨床試験（ヒト）の薬物動態の結果と類似しており、これらの動物種での試験データを用いてヒトでの薬物動態を評価することは可能であると考えられた。

デフィブロチドナトリウムは *in vitro* で CYP 及び UGT 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を示さなかった。国内第 II 相臨床試験（FMU-DF-002 試験）において、VOD 患者にデフィブロチドナトリウム（6.25 mg/kg）を 2 時間かけて静脈内投与

したときの C_{max} の平均値は 25.996 μg/mL と報告されている（2.7.6.5.5 項参照）。これは分子量 13000～20000 をもとにモル濃度換算すると 1.30～2.00 μmol/L となる。検討したデフィブロチドナトリウムの最高濃度はこの C_{max} 値よりも十分に高い濃度であり、また血漿タンパク結合率が高く遊離薬物濃度が低いと推察されることから、デフィブロチドナトリウムは臨床用量においてはこれらの分子種の誘導や阻害に基づく薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.6.4.10 図表

図表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.4.11 参考文献

1. Eder PS, DeVine RJ, Dagle JM, Walder JA. Substrate specificity and kinetics of degradation of antisense oligonucleotides by a 3' exonuclease in plasma. Antisense Res Dev. 1991;1:141-51. ＜資料番号 4.3-13＞

2. Sands H, Gorey-Feret LJ, Cocuzza AJ, Hobbs FW, Chidester D, Trainor GL. Biodistribution and metabolism of internally ^{3}H-labeled oligonucleotides. I. Comparison of a phosphodiester and a phosphorothioate. Mol Pharmacol. 1994;45:932-43. ＜資料番号 4.3-14＞

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 2
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 2
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 4
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 9
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 13
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 21
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合及び血球移行 24
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 25
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 25
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 26
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 27
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 28
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 29
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 32
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 33
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 34
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 39
2.6.5.17 参考文献 39

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

一覧表（1/2）

被験物質：defibrotide

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
分析法 / バリデーション		ガンマカウンター		[redacted]（スコットランド）	150184	4.2.2.1-1（評価資料）
		HPLC		[redacted]（米国）	1529-008	4.2.2.1-2（評価資料）
		HPLC		[redacted]（イタリア）	79800	4.2.2.1-3（評価資料）
		HPLC		[redacted]（イタリア）	79790	4.2.2.1-4（評価資料）
		蛍光光度計		[redacted]（フランス）	13-891	4.2.2.1-5（評価資料）
		HPLC		[redacted]（米国）	1529-007	4.2.2.1-6（評価資料）
		蛍光光度計		[redacted]（フランス）	12-650	4.2.2.1-7（評価資料）
吸収	血液中濃度（単回）	マウス	静脈内	[redacted]（スコットランド）	150205	4.2.2.2-1（評価資料）
	血漿中濃度（単回）	ラット	静脈内	[redacted]（スコットランド）	150210	4.2.2.2-2（評価資料）
	血漿中濃度（単回）	ラット	静脈内	[redacted]（イタリア）	94830	4.2.2.2-3（評価資料）
	血漿中濃度（反復）	ラット	持続静脈内	[redacted]（米国）	1529-004	4.2.3.2-1（参考資料）
	血漿中濃度（反復）	ラット	静脈内	[redacted]（イタリア）	82640	4.2.3.5.4-1（評価資料）
	血漿中濃度（反復）	ラット	持続静脈内	[redacted]（米国）	1529-001	4.2.3.2-3（評価資料）

HPLC：high performance liquid chromatography

一覧表（2/2）

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
吸収（続き）	血漿中濃度（反復）	ウサギ	静脈内	[redacted]（イタリア）	80870	4.2.2.2-4（評価資料）
	血漿中濃度（反復）	ウサギ（妊娠）	静脈内	[redacted]（イタリア）	95800	4.2.3.5.2-4（評価資料）
	血漿中濃度（反復）	イヌ	静脈内	[redacted]（米国）	1529-003	4.2.3.2-5（参考資料）
	血漿中濃度（反復）	イヌ	静脈内	[redacted]（米国）	1529-002	4.2.3.2-6（評価資料）
	血漿中濃度（単回）	ミニブタ	静脈内	[redacted]（フランス）	[redacted]134330	4.2.2.2-5（評価資料）
分布	タンパク結合 / 血球移行	マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血液及び血漿	*in vitro*	[redacted]（米国）	8313003	5.3.2.1-1（評価資料）
	分布（単回）	ラット（白色及び有色）	静脈内	[redacted]（スコットランド）	150210	4.2.2.2-2（評価資料）
代謝	代謝	ヒト肝細胞	*in vitro*	[redacted]（イタリア）	0251-2010	5.3.2.2-1（評価資料）
	代謝	ウサギ	静脈内	[redacted]（イタリア）	80870	4.2.2.2-4（評価資料）
	酵素阻害	ヒト肝ミクロソーム	*in vitro*	[redacted]（イタリア）	0184-2010	5.3.2.2-2（評価資料）
	酵素阻害	ヒト肝ミクロソーム	*in vitro*	[redacted]（米国）	8309087	5.3.2.2-3（評価資料）
	酵素誘導	ヒト肝細胞	*in vitro*	[redacted]（米国）	8305353	5.3.2.2-4（評価資料）
排泄	排泄	ラット	静脈内	[redacted]（スコットランド）	150210	4.2.2.2-2（評価資料）
薬物相互作用	トランスポーター関連	OAT1、OCT1 及び OATP1B3 発現 CHO 細胞、OAT3、OCT2 及び OATP1B1 発現 HEK293 細胞、Caco-2 細胞	*in vitro*	[redacted]（米国）	8305354	5.3.2.2-5（評価資料）
	トランスポーター関連	MATE-1 及び MATE2-K 発現 HEK293 細胞	*in vitro*	[redacted]	BP-73-001	5.3.2.2-6（評価資料）

OAT：organic anion transporter、OCT：organic cation transporter、OATP：organic anion transporting polypeptide、CHO：chinese hamster ovary、HEK：human embryonic kidney
MATE：multidrug and toxin extrusion

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

分析方法（1/2）

被験物質：defibrotide

測定試料	測定対象	測定法	試験番号	CTD 記載箇所
マウス血液	放射能	ガンマカウンター	150205	4.2.2.2-1
ラット血漿、血液、組織、尿及び糞	放射能	ガンマカウンター	150210	4.2.2.2-2
ラット血漿	デフィブロチド	HPLC	94830	4.2.2.2-3
ラット血漿	デフィブロチド	HPLC	1529-004	4.2.3.2-1
ラット血漿	デフィブロチド	HPLC	82640	4.2.3.5.4-1
ラット血漿	デフィブロチド	HPLC	1529-001	4.2.3.2-3
ウサギ血漿	デフィブロチド	HPLC	80870 95800	4.2.2.2-4 4.2.3.5.2-4
ウサギ血漿	デフィブロチドの代謝物	LC-MS/MS	80870	4.2.2.2-4
イヌ血漿	デフィブロチド	HPLC	1529-003 1529-002	4.2.3.2-5 4.2.3.2-6
ミニブタ血漿	デフィブロチド	蛍光光度計	[redacted]134330	4.2.2.2-5
マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血液及び血漿	デフィブロチド	蛍光光度計	8313003	5.3.2.1-1
ヒト肝細胞	デフィブロチドの代謝物	LC-MS/MS	0251-2010	5.3.2.2-1
ヒト肝ミクロソーム反応物	1-ヒドロキシタクリン、ヒドロキシブプロピオン、6α-ヒドロキシパクリタキセル、4'-ヒドロキシジクロフェナク、4'-ヒドロキシメフェニトイン、デキストロルファン、1'-ヒドロキシミダゾラム、6β-ヒドロキシテストステロン	LC-MS/MS	0184-2010	5.3.2.2-2
ヒト肝ミクロソーム反応物	17β-エストラジオール-3β-グルクロナイド、モルヒネ-3β-グルクロナイド	LC-MS/MS	8309087	5.3.2.2-3

HPLC：high performance liquid chromatography、LC-MS/MS：liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry

分析方法（2/2）

測定試料	測定対象	測定法	試験番号	CTD 記載箇所
ヒト肝細胞反応物	アセトアミノフェン、ヒドロキシブプロピオン、6β-ヒドロキシテストステロン、17β-エストラジオール-3β-グルクロナイド	LC-MS/MS	8305353	5.3.2.2-4
ヒト肝細胞反応物	mRNA	リアルタイム PCR	8305353	5.3.2.2-4
ヒトトランスポーター発現細胞及び Caco-2 細胞	放射能	LSC	8305354	5.3.2.2-5
transport buffer 及びヒトトランスポーター発現細胞溶解液	デフィブロチド	蛍光光度計	8305354	5.3.2.2-5
transport buffer 及びヒトトランスポーター発現細胞溶解液	放射能	LSC	BP-73-001	5.3.2.2-6

LC-MS/MS：liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry、PCR：polymerase chain reaction、LSC：liquid scintillation counting

バリデーション試験（1/3）

被験物質：defibrotide

測定試料	測定対象	測定法	検量線範囲	バリデーション結果	試験番号	CTD 記載箇所
ラット血漿及び血液	遊離 ^{125}I、^{125}I-デフィブロチド	ガンマカウンター		ラット血漿及び血液を用いて、遊離 ^{125}I と ^{125}I-デフィブロチドとを Sep-pak を用いることで分離測定可能であることを確認。	150184	4.2.2.1-1
ラット血漿	デフィブロチド	HPLC	50.0～1000 μg/mL	特異性：6 ロットのブランク血漿で確認（定量下限の約 30%程度） 直線性：決定係数（相関係数の 2 乗）0.985 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内） キャリーオーバー：キャリーオーバーが確認された。影響を最小限にするため、未知試料測定前にダブルブランク試料を 4 回以上の注入が必要 定量下限：50.0 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内） 精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 回収率：91.2～97.7% 希釈：20 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 24 時間 凍結（–70℃）・融解（室温）3 回繰り返し 凍結（−70℃）325 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 5℃設定 74 時間	1529-008	4.2.2.1-2
ラット血漿	デフィブロチド	HPLC	5.119～1024 μg/mL	特異性：6 個体のブランク血漿で確認 直線性：相関係数 0.99 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内） 定量下限：5.119 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内） 精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 希釈：10 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 6 時間 凍結（−20℃）・融解（室温）3 回繰り返し 凍結（−20℃）136 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 10℃設定 70 時間 標準物質原液及び標準物質溶液安定性確認：4℃49 日間	79800	4.2.2.1-3

精度：CV%=標準偏差／平均値×100
真度：相対誤差%＝（実測値－理論値）／理論値×100

バリデーション試験（2/3）

測定試料	測定対象	測定法	検量線範囲	バリデーション結果	試験番号	CTD 記載箇所
ウサギ血漿	デフィブロチド	HPLC	5.392～1078 μg/mL	特異性：6 個体のブランク血漿で確認 直線性：相関係数 0.99 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内） 定量下限：5.392 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内） 精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 血漿中安定性確認：室温 24 時間 凍結（−20℃）・融解（室温）3 回繰り返し 凍結（−20℃）176 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 10℃設定 72 時間 標準物質原液及び標準物質溶液安定性確認：4℃49 日間	79790	4.2.2.1-4
ウサギ血漿	デフィブロチド	蛍光光度計	0.6～5 μg/mL	特異性：10 個体のブランク血漿で確認。溶血させた血漿においては特異性が確認できなかった。 直線性：真度±20%以内（定量下限及び上限は±25%以内） 平行性：高濃度の実サンプルをブランク血漿で段階希釈して確認 定量下限：0.6 μg/mL 日内及び日間変動：真度±20%以内（定量下限及び上限は±25%以内） 精度 20%以下（定量下限及び上限は 25%以下） 希釈：4、10 及び 20 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：凍結（−20℃）・融解（室温）1 回繰り返し 凍結（−20℃）368 日間 凍結後の血漿中安定性確認：4℃で 3 時間 47 分間	13-891	4.2.2.1-5

精度：CV%=標準偏差／平均値×100
真度：相対誤差%＝（実測値－理論値）／理論値×100

バリデーション試験（3/3）

測定試料	測定対象	測定法	検量線範囲	バリデーション結果	試験番号	CTD 記載箇所
イヌ血漿	デフィブロチド	HPLC	50.0～1000 μg/mL	特異性：6 個体のブランク血漿で確認 直線性：決定係数（相関係数の 2 乗）0.985 以上、真度±15%以内 （定量下限は±20%以内） キャリーオーバー：キャリーオーバーが確認された。影響を最小限にするため、未知試料測定前にダブルブランク試料を 4 回以上の注入が必要。 定量下限：50.0 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内） 精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 回収率：90.6～96.3% 希釈：20 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 5 時間 凍結（−70℃）・融解（室温）3 回繰り返し 凍結（−70℃）90 及び 374 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 5℃設定 86 時間 標準物質原液安定性確認：室温 6 時間、4℃20 日間	1529-007	4.2.2.1-6
ミニブタ血漿	デフィブロチド	蛍光光度計	2.5～60 μg/mL	特異性：3 個体のブランク血漿で確認。 直線性：真度±20%以内（定量下限及び上限は±25%以内） 平行性：高濃度のサンプルをブランク血漿で段階希釈して確認 定量下限：2.5 μg/mL 日内及び日間変動：真度±20%以内（定量下限及び上限は±25%以内） 精度 20%以下（定量下限及び上限は 25%以下） 血漿中安定性確認：凍結（−80℃）・融解（室温）3 回繰り返し 凍結後の血漿中安定性確認：室温で 2 時間	12-650	4.2.2.1-7

精度：CV%=標準偏差／平均値×100
真度：相対誤差%＝（実測値－理論値）／理論値×100

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.1 マウスに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の薬物動態

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-1
試験番号：150205

動物種（系統）		マウス（CD-1）									
性別（雄/雌）/ 動物数		雄 / 6									
摂餌条件		非絶食									
溶媒/投与形態		生理食塩液									
投与方法		静脈内投与									
投与量		12.5 mg/kg									
比放射能		1.3 MBq/mg									
試料		血液									
測定（対象）物質		放射能									
測定法		ガンマカウンター									
平均血中濃度	採血時間	1 分	2.5 分	5 分	7.5 分	10 分	15 分	30 分	1 時間	1.5 時間	2 時間
	濃度（μg eq./mL）	74.72[a]	67.44[a]	37.36[a]	26.93[a]	16.81[a]	12.30[a]	7.56	5.31	4.03	3.45
	採血時間	4 時間	6 時間	8 時間	16 時間	24 時間	48 時間				
	濃度（μg eq./mL）	2.27	2.04	1.67	0.13	0.12	0.07				
AUC_{0-16hr}		39 μg eq.·hr/mL									

各値は平均値（n=6）
a：平均値（n=3）

2.6.5.3.2 ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の薬物動態

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-2
試験番号：150210

動物種（系統）	ラット（SD）	
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 8	
摂餌条件	非絶食	
溶媒/投与形態	生理食塩液	
投与方法	静脈内投与	
投与量	6.25 mg/kg	12.5 mg/kg
比放射能	0.2910 MBq/mg	0.1659 MBq/mg
試料	血漿	
測定（対象）物質	放射能	
測定法	ガンマカウンター	
薬物動態パラメータ		
C_{1min} (μg eq./mL)[a]	106.15	227.83
$AUC_{0–48hr}$ (μg eq.·hr/mL)[b]	62.49	138.82

標識体を投与する 16 時間前に、非標識のヨウ化カリウム（4 mg/kg）を経口投与した。
C_{1min}：投与 1 分後の血漿中濃度
a：平均値（n=4）、b：4 例（投与 5 分後まで）または 8 例（投与 0.25 時間後以降）の平均血漿中濃度より算出

2.6.5.3.3 幼若及び成熟ラットにデフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の薬物動態

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-3
試験番号：94830

動物種（系統）	幼若ラット（21 日齢）（SD）		成熟ラット（10 週齢）（SD）	
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 12		雄 / 9	
摂餌条件	非絶食			
溶媒/投与形態	生理食塩液			
投与方法	静脈内投与			
投与量	40 mg/kg	100 mg/kg	40 mg/kg	100 mg/kg
試料	血漿			
測定（対象）物質	デフィブロチド			
測定法	HPLC			
薬物動態パラメータ [a]				
C_{max} (μg/mL)	252.2	868.5	798.1	2540
$t_{1/2}$ (hr)	NC	NC	0.33	0.38
$AUC_{0-tlast}$ (μg·hr/mL)	212.86	847.55	311.68	1171.06
V_d (L/kg)	NC	NC	0.052	0.047
CL (L/hr/kg)	NC	NC	0.108	0.085

a：3 例の平均値より算出、NC：not calculated（算出せず）

2.6.5.3.4　幼若及び成熟ミニブタにデフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与したときの薬物動態

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-5
試験番号：[redacted]134330

動物種（系統）	幼若ミニブタ（1.67 ヵ月齢）（Göttingen）	成熟ミニブタ（10.88 ヵ月齢）（Göttingen）
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 3	
摂餌条件	絶食	
溶媒/投与形態	生理食塩液	
投与方法	2 時間かけて静脈内投与	
投与量	7.5 mg/kg	
試料	血漿	
測定（対象）物質	デフィブロチド	
測定法	蛍光光度計	
薬物動態パラメータ		
C_{max} (μg/mL)	11.10	12.60
t_{max} (hr)	1.50	1.00
$AUC_{0-\infty}$ (μg·hr/mL)	22.52	32.75
$t_{1/2}$ (hr)	2.34	2.00
CL (L/hr/kg)	0.33	0.23
V_d (L/kg)	1.06	0.66

各値は平均値（n=3）

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.4.1 ラットを用いた 7 日間反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.3.2-1
試験番号：1529-004

動物種（系統）	ラット（SD）		
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 9		
摂餌条件	非絶食		
溶媒/投与形態	生理食塩液		
投与方法	持続静脈内投与（投与速度：60 mL/kg/日）、7 日間		
投与量	4800 mg/kg/日		
試料	血漿		
測定（対象）物質	デフィブロチド		
測定法	HPLC		
血漿中濃度（μg/mL）	No.1[a]	No.2[a]	No.3[a]
投与開始前（Day1）/ 投与終了直前（Day7）	BLQ / 654	BLQ / 1110	BLQ / 742
投与開始後 30 分（Day1）/ 投与終了後 10 分（Day7）	379 / 363	882 / 533	375 / 478
投与開始後 1 時間（Day1）/ 投与終了後 20 分（Day7）	593 / 345	754 / 189	725 / 278
投与開始後 2 時間（Day1）/ 投与終了後 30 分（Day7）	732 / 126	777 / 285	719 / 201
投与開始後 3 時間（Day1）/ 投与終了後 1 時間（Day7）	836 / 40.9	963 / 64.1	826 / 53.8
投与開始後 12 時間（Day1）/ 投与終了後 3 時間（Day7）	904 / BLQ	842 / BLQ	846 / BLQ
投与開始後 24 時間（Day1）/ 投与終了後 12 時間（Day7）	787 / BLQ	974 / BLQ	995 / BLQ

BLQ：定量下限（40.9 μg/mL）未満、a：TK 群 9 例から各時間点 3 例を採血

2.6.5.4.2　幼若ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.3.5.4-1
試験番号：82640

動物種（系統）	幼若ラット（21 日齢）（SD）								
性別（雄/雌）/ 動物数	雌雄 / 各 6								
摂餌条件	非絶食								
溶媒/投与形態	生理食塩液								
投与方法	静脈内投与、28 日間								
投与量	40 mg/kg/日			150 mg/kg/日			320 mg/kg/日		
試料	血漿								
測定（対象）物質	デフィブロチド								
測定法	HPLC								
薬物動態パラメータ	雄性	雌性	平均	雄性	雌性	平均	雄性	雌性	平均
C_{max} (μg/mL)	488.8 ± 113.9	468.7 ± 59.78	478.7	1373.0 ± 120.6	1655.0 ± 381.0	1514	3666.0 ± 176.1	3812.0 ± 361.9	3739
t_{max} (hr)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
$AUC_{0–tlast}$ (μg·hr/mL)	143.47	117.89	130.65	620.17	556.13	587.29	1848.61	1550.11	1698.6
$AUC_{0–\infty}$ (μg·hr/mL)	150.81	126.99	138.78	625.06	562.23	592.76	1857.48	1562.0	1708.89
$AUC_{0–tlast}$/Dose (μg·hr/mL/(mg/kg))	3.59	2.95	3.27	4.13	3.71	3.92	5.78	4.84	5.31
CL (L/hr/kg)	0.27	0.31	0.29	0.24	0.27	0.25	0.17	0.20	0.19
V_Z (L/kg)	0.31	0.42	0.36	0.19	0.22	0.21	0.13	0.18	0.15
$t_{1/2}$ (hr)	0.82	0.92	0.86	0.55	0.58	0.56	0.54	0.59	0.56

各値は平均値（n=3）又は平均値 ± 標準偏差（n=3）、各群 6 例の TK 動物より各時間点 3 例を採血

2.6.5.4.3　ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.3.2-3
試験番号：1529-001

動物種（系統）		ラット（SD）								
性別（雄/雌）/ 動物数		雌雄 / 各 9								
摂餌条件		非絶食								
溶媒/投与形態		生理食塩液								
投与方法		持続静脈内投与（投与速度：60 mL/kg/日）、65 日間 [a]								
投与量		240 mg/kg/日			1200 mg/kg/日			4800 mg/kg/日		
試料		血漿								
測定（対象）物質		デフィブロチド								
測定法		HPLC								
薬物動態パラメータ		雄性	雌性	平均	雄性	雌性	平均	雄性	雌性	平均
Day 1	C_{max} (μg/mL)	51.8	71.4	61.6	267	394	330	1670	2310	1990
	C_{max}/Dose (μg/mL/(mg/kg))	0.216	0.298	0.257	0.223	0.328	0.275	0.347	0.481	0.414
	t_{max} (hr)	24	24	24	24	24	24	24	24	24
	$AUC_{0–24hr}$ (μg·hr/mL)	807	1110	957	4430	5100	4770	23300	30100	26700
	$AUC_{0–24hr}$/Dose (μg·hr/mL/(mg/kg))	3.36	4.62	3.99	3.69	4.25	3.97	4.85	6.28	5.56
Day 65	投与終了直前の血漿中濃度(μg/mL)	69.4 ± 60.7	47.3 ± 82.0	58.4 ± 65.6	97.2 ± 99.6	57.4 ± 49.9	77.3 ± 73.7	1790 ± 342	1920 ± 139	1850 ± 245

各値は平均値（n=3、Day 1）又は平均値 ± 標準偏差（n=3、Day 65）、9 例の TK 群より各時間点 3 例を採血
a：投与合併症により、9 週間で試験を終了した

2.6.5.4.4　ウサギにデフィブロチドナトリウムを静脈内投与したときの薬物動態

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-4
試験番号：80870

動物種（系統）		ウサギ（New Zealand White）			
性別（雄/雌）/ 動物数		雌 / 3			
摂餌条件		非絶食			
溶媒/投与形態		生理食塩液			
投与方法		2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回			
投与量		30 mg/kg/日	60 mg/kg/日	120 mg/kg/日	320 mg/kg/日
試料		血漿			
測定（対象）物質		デフィブロチド			
測定法		HPLC			
薬物動態パラメータ					
1 回目	C_{max} (μg/mL)	BLQ	10.45 ± 9.12	46.95 ± 7.08	133.09 ± 47.23
	$AUC_{0\text{-}2hr}$ (μg·hr/mL)	NC	19.57[a]	70.99 ± 1.95	192.87 ± 60.77
4 回目	C_{max} (μg/mL)	2.16 ± 3.75	12.95[a]	45.98 ± 9.80	129.81 ± 72.92
	$t_{1/2}$ (hr)	NC	NC	0.27[a]	0.22 ± 0.09
	$AUC_{2hr\text{-}last}$ (μg·hr/mL)	0.52[b]	1.21[a]	11.96 ± 5.55	33.40 ± 5.89
	$AUC_{2hr\text{-}\infty}$ (μg·hr/mL)	NC	NC	20.49[a]	35.67 ± 5.60

各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）、BLQ：定量下限（5.392 μg/mL）未満、NC：not calculated（算出せず）
a：平均値（n=2）、b：n=1

2.6.5.4.5　ウサギを用いた胚・胎児発生試験における血漿中濃度

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-4
試験番号：95800

動物種	ウサギ（New Zealand White）		
性別（雄/雌）/ 動物数	雌 / 2～4		
摂餌条件	非絶食		
溶媒/投与形態	生理食塩液		
投与方法	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回、5 日間		
投与量	80 mg/kg/日		
試料	血漿		
測定（対象）物質	デフィブロチド		
測定法	蛍光光度計		
最終投与時の血漿中濃度(μg/mL)	投与期間		
	妊娠 6～10 日目	妊娠 10～14 日目	妊娠 14～18 日目
投与開始前	NS	0.9750[a]	0.7170[a]
投与開始後 0.5 時間	NS	40.91[a]	41.26[a]
投与開始後 1 時間	NS	46.38[a]	49.84[a]
投与開始後 2 時間	NS	5.572[a]	25.78[a]
投与終了後 0.17 時間	NS	2.959[a]	15.28[a]
投与終了後 0.33 時間	NS	1.921[a]	3.698[a]
投与終了後 0.5 時間	4.679 ± 1.009[b]	7.353[c]	8.084 ± 7.853[d]
投与終了後 1 時間	4.307 ± 0.980[b]	6.131[c]	3.377 ± 2.203[d]
投与終了後 1.5 時間	3.763 ± 1.317[b]	8.629[c]	1.617 ± 1.621[d]
投与終了後 2 時間	3.003 ± 1.511[b]	4.802[c]	5.510 ± 8.044[d]
投与終了後 3 時間	3.584 ± 1.371[b]	5.184[c]	3.268 ± 2.944[d]
投与終了後 4 時間	3.136 ± 1.041[b]	5.708[c]	1.713 ± 2.244[d]

NS：サンプル未採取のためデータなし、a：n=1、b：平均値 ± 標準偏差（n=4）、c：平均値（n=2）、d：平均値 ± 標準偏差（n=3）

2.6.5.4.6　イヌを用いた 7 日間反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.3.2-5
試験番号：1529-003

動物種		イヌ（Beagle）					
性別（雄/雌）/ 動物数		雄 / 3					
摂餌条件		非絶食					
溶媒/投与形態		生理食塩液					
投与方法		2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回、7 日間					
投与量		1600 mg/kg/日					
試料		血漿					
測定（対象）物質		デフィブロチド					
測定法		HPLC					
血漿中濃度（μg/mL）		No.1		No.2		No.3	
		Day1	Day7	Day1	Day7	Day1	Day7
各投与日における初回投与	投与前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与開始後 30 分	384	344	361	314	380	325
	投与開始後 1 時間	510	418	443	355	503	406
	投与開始後 2 時間	457	444	441	367	436	471
各投与日における 4 回目投与	投与終了直後	437	285	291	355	395	462
	投与終了後 10 分	207	206	84.1	148	216	198
	投与終了後 20 分	112	88.3	60.2	61.2	119	100
	投与終了後 30 分	70.3	49.9	46.4	30.9	81.1	53.6
	投与終了後 1 時間	33.1	20.3	ND	16.7	32.5	18.7
	投与終了後 4 時間	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	投与終了後 10 時間（Day7 のみ）		ND		ND		ND

BLQ：定量下限（50.0 μg/mL）未満、ND：not detected（検出せず）

2.6.5.4.7　イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.3.2-6
試験番号：1529-002

（1/2）

動物種	イヌ（Beagle）								
性別（雄/雌）/ 動物数	雌雄 / 各 4								
摂餌条件	非絶食								
溶媒/投与形態	生理食塩液								
投与方法	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回、13 週間								
投与量	60 mg/kg/日			300 mg/kg/日			1600 mg/kg/日		
試料	血漿								
測定（対象）物質	デフィブロチド								
測定法	HPLC								
薬物動態パラメータ									
Day 1 の 4 回目投与終了後	雄性	雌性	平均	雄性	雌性	平均	雄性	雌性	平均
C_{max} (μg/mL)	BLQ	BLQ	BLQ	152 ± 217	60.8 ± 6.19	106 ± 150	481 ± 175	495 ± 124	488 ± 140
C_{max} / Dose (μg/mL/(mg/kg))	NC	NC	NC	2.02 ± 2.90	0.811 ± 0.0826	1.42 ± 2.00	1.20 ± 0.437	1.24 ± 0.309	1.22 ± 0.351
AUC_{0-6hr} (μg·hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	626 ± 297	670 ± 165	648 ± 223
AUC_{0-6hr} / Dose (μg·hr/mL/(mg/kg))	NC	NC	NC	NC	NC	NC	1.57 ± 0.741	1.68 ± 0.411	1.62 ± 0.558
$AUC_{0-tlast}$ (μg·hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	562 ± 288	609 ± 151	585 ± 214
$AUC_{0-\infty}$ (μg·hr/mL)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	723 ± 107	633 ± 156	672 ± 135
$t_{1/2}$ (hr)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	0.182 ± 0.0269	0.205 ± 0.0158	0.195 ± 0.227
CL (mL/min/kg)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	37.4 ± 5.76	44.6 ± 13.5	41.5 ± 10.8
V_{ss} (mL/kg)	NC	NC	NC	NC	NC	NC	2370 ± 359	2840 ± 874	2640 ± 698

各値は平均値 ± 標準偏差（n=4）、BLQ：定量下限（50.0 μg/mL）未満、NC：not calculated（算出せず）

（2/2）

薬物動態パラメータ									
Day 91 の 4 回目投与終了後	雄性	雌性	平均	雄性	雌性	平均	雄性	雌性	平均
C_{max} (μg/mL)	BLQ	BLQ	BLQ	69.0 ± 48.2	146 ± 27.4	108 ± 54.9	570 ± 93.1	457 ± 16.8	513 ± 86.6
C_{max} / Dose (μg/mL/(mg/kg))	NC	NC	NC	0.920 ± 0.643	1.95 ± 0.365	1.43 ± 0.732	1.43 ± 0.233	1.14 ± 0.0421	1.28 ± 0.217
AUC_{0-6hr} (μg·hr/mL)	NC	NC	NC	NC	522 ± 132	418 ± 260	774 ± 149	619 ± 30.4	697 ± 130
AUC_{0-6hr} / Dose (μg·hr/mL/(mg/kg))	NC	NC	NC	NC	6.96 ± 1.75	5.57 ± 3.46	1.94 ± 0.372	1.55 ± 0.0760	1.74 ± 0.324
$AUC_{0-tlast}$ (μg·hr/mL)	NC	NC	NC	NC	522 ± 132	418 ± 260	704 ± 124	563 ± 22.6	633 ± 112
$AUC_{0-\infty}$ (μg·hr/mL)	NC	NC	NC	NC	9630 ± 4560	7220 ± 6090	731 ± 136	585 ± 27.1	658 ± 120
$t_{1/2}$ (hr)	NC	NC	NC	NC	46.2 ± 13.3	46.2 ± 13.3	0.195 ± 0.0203	0.200 ± 0.0298	0.197 ± 0.0237
CL (mL/min/kg)	NC	NC	NC	NC	0.598 ± 0.254	0.598 ± 0.254	37.6 ± 7.91	45.6 ± 2.13	41.6 ± 6.88
V_{ss} (mL/kg)	NC	NC	NC	NC	2690 ± 199	2690 ± 199	2380 ± 476	2900 ± 115	2640 ± 424

各値は平均値 ± 標準偏差（n=4）、BLQ：定量下限（50.0 μg/mL）未満、NC：not calculated（算出せず）

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 白色雄性ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した場合の組織分布（組織摘出法）（1）6.25 mg/kg

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-2
試験番号：150210

動物種（系統）	白色ラット（SD）						
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 各時間点 1						
摂餌条件	非絶食						
溶媒/投与形態	生理食塩液						
投与方法 / 投与薬物 / 投与量	静脈内投与/ ^{125}I-デフィブロチドナトリウム/ 6.25 mg/kg						
比放射能	0.2570 MBq/mg						
試料	血液、血漿、組織						
測定（対象）物質 / 測定法	放射能 / ガンマカウンター						
組織中濃度（μg eq./g or μg eq./mL）							
計測時間	2 hr	8 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	168 hr
血液	2.012	2.702	1.176	0.351	0.150	0.093	0.014
血漿	2.269	3.121	1.277	0.448	0.209	0.140	0.035
大動脈	1.817	2.755	1.598	0.415	0.201	0.199	0.104
副腎	3.956	2.562	2.351	1.275	0.996	0.758	0.332
脳	0.094	0.116	0.039	0.031	0.004	0.001	0.001
骨髄	5.242	5.609	4.517	2.609	3.005	2.464	1.687
眼球	0.518	0.762	0.313	0.184	0.059	0.045	0.131
脂肪	1.021	0.996	0.552	0.222	0.089	0.097	0.030
脾臓	6.377	5.245	4.434	3.204	2.565	1.639	1.033
精巣	0.854	1.316	0.629	0.223	0.93	0.057	0.031
甲状腺	96.858	506.755	455.346	945.53	871.651	514.548	335.566
心臓	0.831	0.804	0.439	0.192	0.116	0.089	0.034
腎臓	15.633	12.175	9.546	7.525	7.037	5.402	2.697
肝臓	9.158	9.276	7.108	4.649	4.764	3.430	1.495
肺	1.346	1.607	0.780	0.321	0.186	0.134	0.050
筋肉（骨格筋）	0.511	0.612	0.291	0.096	0.053	0.032	0.015
皮膚	2.092	1.949	1.307	0.610	0.238	0.159	0.039
血球	1.897	2.459	1.007	0.318	0.086	0.079	0.016
胃及びその内容物	7.084	15.827	4.749	2.632	0.430	0.584	0.118
小腸及びその内容物	29.261	13.433	6.903	1.782	0.446	0.313	0.082
大腸及びその内容物	1.262	30.452	5.811	1.030	0.726	0.320	0.092

標識体を投与する 16 時間前に、非標識のヨウ化カリウム（4 mg/kg）を経口投与した。

2.6.5.5.2 白色雄性ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した場合の組織分布（組織摘出法）（2）12.5 mg/kg

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-2
試験番号：150210

動物種（系統）	白色ラット（SD）						
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 各時間点 1						
摂餌条件	非絶食						
溶媒/投与形態	生理食塩液						
投与方法 / 投与薬物 / 投与量	静脈内投与/ ^{125}I-デフィブロチドナトリウム/ 12.5 mg/kg						
比放射能	0.1314 MBq/mg						
試料	血液、血漿、組織						
測定（対象）物質 / 測定法	放射能 / ガンマカウンター						
組織中濃度（μg eq./g or μg eq./mL）							
計測時間	2 hr	8 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	168 hr
血液	3.753	2.421	1.823	0.498	0.393	0.157	0.047
血漿	4.317	2.710	1.984	0.642	0.440	0.297	0.054
大動脈	4.427	2.666	1.976	0.583	0.467	0.306	0.354
副腎	8.773	3.769	2.619	3.436	0.759	0.823	0.344
脳	0.163	0.070	0.064	0.009	0.009	0.006	0.006
骨髄	14.869	9.430	7.701	4.363	4.293	5.591	2.416
眼球	1.032	0.716	0.541	0.165	0.117	0.103	0.032
脂肪	1.421	0.885	0.736	0.269	0.245	0.146	0.047
脾臓	8.652	6.298	5.066	4.040	2.987	3.226	1.395
精巣	1.657	1.286	1.076	0.314	0.221	0.241	0.054
甲状腺	306.636	1408.088	564.609	3257.061	1064.353	1234.713	714.082
心臓	1.824	1.011	0.941	0.319	0.297	0.312	0.072
腎臓	31.068	22.271	18.346	15.370	13.350	10.724	4.457
肝臓	13.063	10.809	10.423	7.251	5.818	4.272	1.935
肺	2.727	1.678	1.178	0.490	0.356	0.293	0.092
筋肉（骨格筋）	1.512	0.630	0.423	0.189	0.131	0.069	0.025
皮膚	4.135	2.675	1.842	0.942	0.671	0.383	0.147
血球	3.299	1.881	1.636	0.326	0.203	0.195	0.057
胃及びその内容物	3.690	16.817	8.225	2.494	1.050	0.664	0.129
小腸及びその内容物	61.344	10.513	7.010	2.056	1.069	0.796	0.162
大腸及びその内容物	2.454	3.205	16.219	73.656	0.763	0.793	0.406

標識体を投与する 16 時間前に、非標識のヨウ化カリウム（4 mg/kg）を経口投与した。

2.6.5.5.3 有色雄性ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した場合の組織分布（組織摘出法）

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-2
試験番号：150210

動物種（系統）	有色ラット（PVG）			
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 各時間点 1			
摂餌条件	非絶食			
溶媒/投与形態	生理食塩液			
投与方法 / 投与薬物 / 投与量	静脈内投与/ ^{125}I-デフィブロチドナトリウム/ 12.5 mg/kg			
比放射能	0.1314 MBq/mg			
試料	血液、血漿、組織			
測定（対象）物質 / 測定法	放射能 / ガンマカウンター			
組織中濃度（µg eq./g or µg eq./mL）				
計測時間	8 hr	24 hr	48 hr	168 hr
血液	3.52	0.41	0.07	0.20
血漿	4.07	0.62	0.33	0.10
肝臓	13.31	8.26	5.64	2.75
眼球	1.21	0.22	0.13	0.10
有色皮膚	5.58	0.90	0.48	0.18
非有色皮膚	3.99	0.72	0.23	0.19
血球	2.79	0.29	0.15	0.05

標識体を投与する 16 時間前に、非標識のヨウ化カリウム（4 mg/kg）を経口投与した。

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合及び血球移行

2.6.5.6.1 デフィブロチドの血漿タンパク結合及び血球移行（*In vitro*）

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：5.3.2.1-1
試験番号：8313003

試験方法	タンパク結合：限外濾過法 被験物質と血漿サンプルを混和し、37℃で 15 分間インキュベーションした後、37℃、2000×g で遠心分離した （3 例以上をプールし、n=3 で測定） 血球移行：血液サンプルを被験物質と混和後 37℃で 30 分間インキュベーションし、血液及び血漿中放射能を測定した （3 例以上をプールし n=3 で測定、ヒトのみ個体別に n=3 で測定）				
動物種（系統）	マウス（CD-1）、ラット（SD）、ウサギ（New Zealand White）、イヌ（Beagle）、ヒト				
被験物質	デフィブロチドナトリウム				
測定（対象）物質	デフィブロチド				
測定法	蛍光光度計				
濃度 （μg/mL）	血漿タンパク結合率（%）				
	マウス	ラット	ウサギ	イヌ	ヒト
5	88.5 ± 0.5	92.3 ± 2.91	94.3 ± 0.78	95.7 ± 0.77	92.5 ± 1.36
10	91.5 ± 0.71	93.4 ± 0.58	94.9 ± 0.70	95.8 ± 0.39	91.3 ± 1.75
50	93.1 ± 0.17	92.5 ± 1.36	97.0 ± 0.03	95.3 ± 0.81	93.4 ± 0.26
200	94.3 ± 0.33	93.9 ± 0.68	96.1 ± 0.45	96.6 ± 0.45	93.5 ± 0.31
500	94.2 ± 1.17	93.3 ± 0.60	95.9 ± 0.37	96.0 ± 0.52	95.3 ± 0.21

濃度 （μg/mL）	血球移行率（%）						
	マウス	ラット	ウサギ	イヌ	ヒト		
					ヒト 1	ヒト 2	ヒト 3
10	14.1 ± 2.2	7.53 ± 2.23	36.4 ± 1.6	13.3 ± 2.5	9.26 ± 1.29	23.6 ± 1.2	22.4 ± 1.0
50	8.57 ± 2.05	8.08 ± 1.96	22.2 ± 0.1	11.3 ± 2.4	12.7 ± 0.8	2.03 ± 2.47	2.61 ± 2.67
200	0.00 ± 0.00	9.16 ± 1.25	17.2 ± 2.3	13.8 ± 2.3	11.9 ± 1.5	4.04 ± 0.71	13.6 ± 1.1
500	9.34 ± 0.23	6.92 ± 3.82	12.4 ± 1.8	13.9 ± 2.8	0.173 ± 0.300	0.727 ± 1.26	7.87 ± 1.85

各値は平均値 ± 標準偏差(n=3)

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当試験なし。

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

該当試験なし。

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

2.6.5.9.1 ウサギ血漿中におけるデフィブロチドの代謝物

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-4
試験番号：80870

動物種（系統）	ウサギ（New Zealand White）	投与薬物	デフィブロチドナトリウム
性別（雌雄）/ 動物数	雌 / 1	投与量	211 mg/kg/日
摂餌条件	非絶食	試料	血漿
溶媒/投与媒体	生理食塩液	測定（対象）物質	デフィブロチドの代謝物
投与方法	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回	測定法	LC-MS/MS

代謝物									
測定時間		G	T	U	2'dC	2'dT	2'dU	2'dG	2'dC5'mp
1 回目投与	投与開始前	−	−	−	−	−	−	−	−
	開始後 30 分	−	−	−	−	+	+	+	+
	開始後 1 時間	−	+	−	−	+	+	+	+
	開始後 2 時間	−	+	−	−	+	+	+	+
4 回目投与	開始後 2 時間	+	+	−	+	+	+	+	+
	終了後 10 分	+	−	−	+	+	+	+	+
	終了後 20 分	−	−	+	−	+	+	+	+
	終了後 30 分	−	−	+	−	+	+	+	+
	終了後 1 時間	−	−	−	−	+	+	+	−
	終了後 4 時間	−	−	−	−	−	−	−	−

−：検出されず、+：検出された
G：グアニン、T：チミン、U：ウラシル、2'dC：デオキシシチジン、2'dT：チミジン、2'dU：デオキシウリジン、2'dG：デオキシグアノシン、
2'dC5'mp：デオキシシチジン一リン酸

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

2.6.5.10.1 ヒト肝細胞中におけるデフィブロチドの代謝物

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：5.3.2.2-1
試験番号：0251-2010

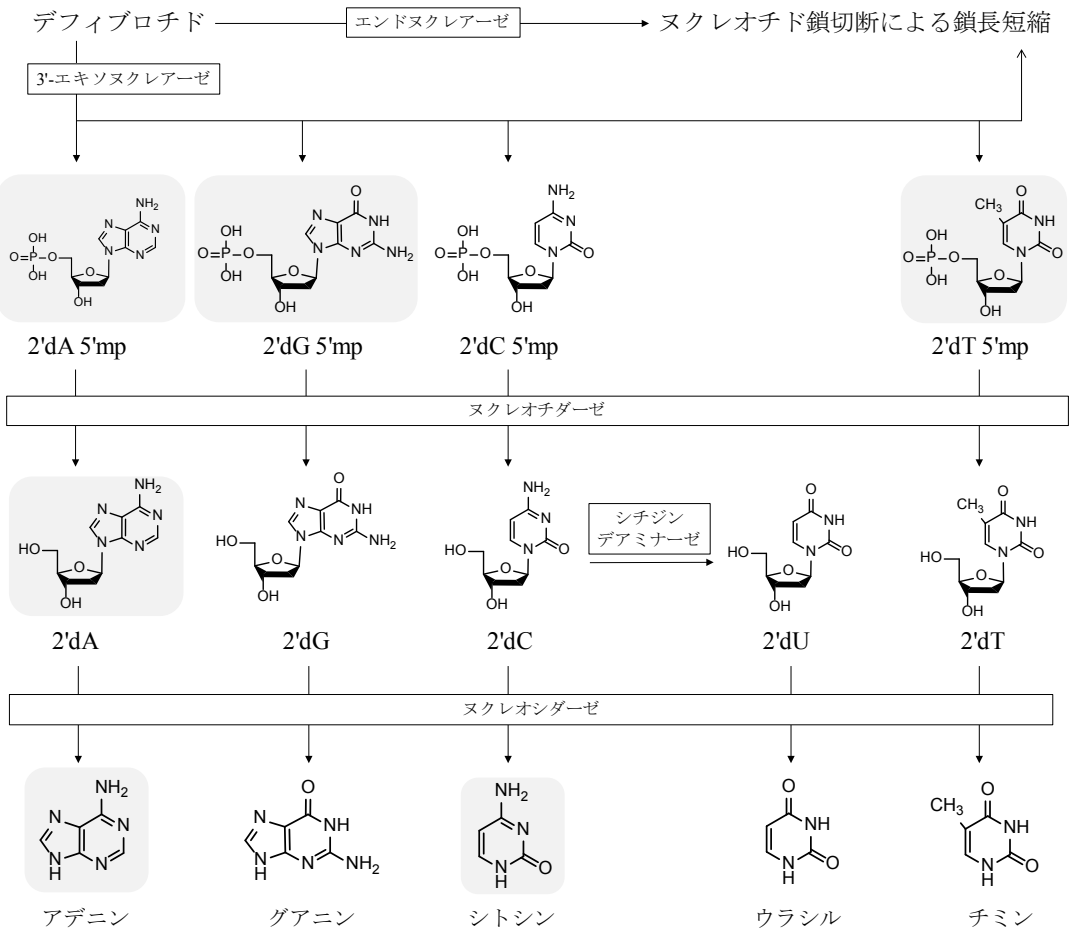
試験方法	デフィブロチドナトリウムをヒト肝細胞（成人又は小児）と反応させた時に生成する代謝物を測定した。				
試料	ヒト肝細胞：成人（5 例分を mix）、小児（5 ヵ月齢女児、2 歳男児）				
反応条件	Leibovitz L-15 培地 肝細胞密度：1×10^6 cells/mL インキュベーション：37℃、60 分間				
被験薬物（濃度）	デフィブロチドナトリウム（150 µg/mL）				
測定（対象）物質	デフィブロチドの代謝物				
測定法	LC-MS/MS				
試料	代謝物				
	T	G	C	A	U
成人	−	−	−	−	+
小児（2 歳児）	+	−	−	−	+
小児（5 ヵ月齢）	−	+	−	−	−

−：検出されず、+：検出された、代謝物濃度はすべて定量下限（1.5 µg/mL）未満で、感度の良いイオン化法で測定した場合に検出された塩基を+とした。
T：チミン、G：グアニン、C：シトシン、A：アデニン、U：ウラシル

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

CTD における記載箇所：4.2.2.2-4、5.3.2.2-1
試験番号：80870、0251-2010

in vivo における推定分解／代謝経路を示す。グレーの背景ありは推定代謝物を示す。



2'dA 5'mp：デオキシアデノシン一リン酸
2'dG 5'mp：デオキシグアノシン一リン酸
2'dC 5'mp：デオキシシチジン一リン酸
2'dU 5'mp：デオキシウリジン一リン酸
2'dT 5'mp：チミジン一リン酸
2'dA：デオキシアデノシン
2'dG：デオキシグアノシン
2'dC：デオキシシチジン
2'dU：デオキシウリジン
2'dT：チミジン

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1 ヒト肝ミクロソームを用いた CYP 阻害作用（*In vitro*）

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：5.3.2.2-2
試験番号：0184-2010

試験方法	ヒト肝ミクロソームを用いてデフィブロチドナトリウムの各 CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4）活性に対する阻害作用を評価した。			
被験物質（濃度）	デフィブロチドナトリウム（3、10、30 µmol/L[a]）			
基質（濃度）	CYP1A2：タクリン（4 µmol/L）、CYP2B6：ブプロピオン（30 µmol/L） CYP2C8：パクリタキセル（10 µmol/L）、CYP2C9：ジクロフェナク（5 µmol/L）、CYP2C19：(S)-メフェニトイン（50 µmol/L） CYP2D6：デキストロメトルファン（3.5 µmol/L）、CYP3A4：ミダゾラム（1.5 µmol/L）、テストステロン（30 µmol/L）			
陽性対照阻害薬（濃度）	CYP1A2：フラフィリン（1、3、9 µmol/L）、CYP2B6：チクロピジン（0.33、1、3 µmol/L） CYP2C8：クエルセチン（2、6、18 µmol/L）、CYP2C9：スルファフェナゾール（0.33、1、3 µmol/L） CYP2C19：チクロピジン（0.33、1、3 µmol/L）、CYP2D6：キニジン（0.03、0.1、0.3 µmol/L） CYP3A4：ケトコナゾール（0.03、0.1、0.3 µmol/L）			
測定（対象）物質	各基質代謝物			
測定法	LC-MS/MS			
CYP 分子種	基質	活性残存率（%）		
		3 µmol/L[a]	10 µmol/L[a]	30 µmol/L[a]
CYP1A2	タクリン	109.19 ± 6.28	98.54 ± 2.29	76.48 ± 1.79
CYP2B6	ブプロピオン	93.53 ± 6.55	92.06 ± 3.89	89.23 ± 0.78
CYP2C8	パクリタキセル	104.01 ± 2.08	102.33 ± 1.70	100.84 ± 1.81
CYP2C9	ジクロフェナク	106.71 ± 0.78	107.63 ± 4.42	103.30 ± 2.01
CYP2C19	(S)-メフェニトイン	102.49 ± 3.80	102.28 ± 2.52	104.25 ± 3.18
CYP2D6	デキストロメトルファン	106.48 ± 2.43	104.44 ± 1.40	104.32 ± 1.10
CYP3A4	ミダゾラム	99.53 ± 1.70	97.74 ± 1.84	93.59 ± 4.00
	テストステロン	95.84 ± 1.62	92.57 ± 1.64	87.61 ± 2.61

各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）
a：本試験で用いた本薬の[redacted] を用いて算出しており、3、10、30 µmol/L はそれぞれ 48、160、480 µg/mL に相当する。

2.6.5.12.2　ヒト肝ミクロソームを用いた UGT 阻害作用（*In vitro*）

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：5.3.2.2-3
試験番号：8309087

試験方法	ヒト肝ミクロソームを用いてデフィブロチドナトリウムの各 UGT 分子種（UGT1A1 及び UGT2B7）活性に対する阻害作用を評価した	
被験物質（濃度）	デフィブロチドナトリウム（1、2、5、13、32、80、200、500 µg/mL）	
基質（濃度）	UGT1A1：エストラジオール（10 µmol/L）、UGT2B7：モルヒネ（500 µmol/L）	
陽性対照阻害薬（濃度）	UGT1A1：トログリタゾン（25 µmol/L）、UGT2B7：メフェナム酸（50 µmol/L）	
測定（対象）物質	各基質代謝物	
測定法	LC-MS/MS	
UGT 分子種	基質	活性残存率（%）[a]
UGT1A1	エストラジオール	98.8～110
UGT2B7	モルヒネ	91.8～102

a：デフィブロチド 1～500 µg/mL の濃度範囲で検討した最小値と最大値を記載した（各条件 n=3 で実施）。

2.6.5.12.3　ヒト肝細胞を用いた CYP 及び UGT 誘導作用（*In vitro*）

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：5.3.2.2-4
試験番号：8305353

試験方法	ヒト肝細胞（3 ロット）にデフィブロチドナトリウムの各 CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4/5）及び UGT 分子種（UGT1A1）に対する誘導作用を評価した。				
被験物質（濃度）	デフィブロチドナトリウム（50、250、500 µg/mL）				
基質（濃度）	CYP1A2：フェナセチン（100 µmol/L）、CYP2B6：ブプロピオン（500 µmol/L） CYP3A4/5：テストステロン（250 µmol/L）、UGT1A1：エストラジオール（100 µmol/L）				
陽性対照誘導薬（濃度）	CYP1A2：オメプラゾール（50 µmol/L）、CYP2B6：フェノバルビタール（1000 µmol/L） CYP3A4/5：リファンピシン（20 µmol/L）、UGT1A1：3-メチルコラントレン（5 µmol/L）及びクリシン（25 µmol/L）				
陰性対照誘導薬（濃度）	共通：フルマゼニル（20 µmol/L）				
測定（対象）物質	mRNA 及び各基質代謝物				
測定法	mRNA：リアルタイム PCR、基質代謝物：LC-MS/MS				
CYP 及び UGT 分子種	mRNA 発現 [a,b]			酵素活性 [a,b]	
	デフィブロチドナトリウム	陽性対照薬	陰性対照薬	デフィブロチドナトリウム	陽性対照薬
CYP1A2	0.258～2.30	7.42～13.4	0.406～3.17	0.694～1.01	11.3～23.4
CYP2B6	0.489～1.17	7.80～32.4	0.651～2.74	0.610～1.02	4.77～11.3
CYP3A4/5[d]	0.109～0.994	15.4～45.7	0.287～2.42	0.573～1.38	12.9～14.6
UGT1A1	0.379～1.66	4.87～22.5[c] 1.04～1.59[c]	0.895～1.38	0.490～1.06	0.487～2.22[c] 1.64～2.01[c]

a：溶媒対照との比較（fold induction）
b：3 ロットの肝細胞における最小値と最大値を記載した（各条件 n=3 で実施）。
c：上段　3-メチルコラントレン、下段　クリシン
d：mRNA 発現については CYP3A4 のみ、酵素活性については CYP3A4/5 の結果を示す。

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 ラットに ^{125}I-デフィブロチドナトリウムを単回静脈内投与した後の尿糞中排泄

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：4.2.2.2-2
試験番号：150210

動物種	ラット（SD）					
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 6					
摂餌条件	非絶食					
溶媒/投与形態	生理食塩液					
投与方法	静脈内投与					
投与量	6.25 mg/kg			12.5 mg/kg		
比放射能	0.2570 MBq/mg			0.1314 MBq/mg		
測定（対象）物質	放射能					
測定法	ガンマカウンター					
採取時間 (hr)	尿 [a]	糞 [a]	合計 [a,b]	尿 [a]	糞 [a]	合計 [a,b]
0～6	36.46	–	–	42.00	–	–
0～12	43.34	–	–	48.88	–	–
0～24	55.26	18.87	75.79	60.12	20.51	81.59
0～48	61.12	21.87	85.05	65.23	23.95	90.27
0～72	62.83	22.75	87.97	66.84	24.84	92.80
0～96	63.67	23.20	89.32	67.64	25.26	94.03
0～120	64.23	23.51	90.44	68.14	25.46	94.83

各値は平均値（n=6）、－：サンプル未回収
標識体を投与する 16 時間前に、非標識のヨウ化カリウム（4 mg/kg）を経口投与した。
a：投与放射能量に対する割合（%）
b：投与放射能に対して 4.02～5.35%がラット屍体から回収された。

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

該当試験なし。

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1　取り込みトランスポーターに対する基質認識性及び阻害作用（*In vitro*）

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：5.3.2.2-5
試験番号：8305354

（1）　OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 に対する基質認識性

試験方法	デフィブロチドナトリウムの各種トランスポーターに対する基質認識性について、ヒト OAT1、OCT1 及び OATP1B3 を発現させた CHO 細胞並びにヒト OAT3、OCT2 及び OATP1B1 を発現させた HEK293 細胞を用いて検討した。			
インキュベーション	OAT1、OAT3、OCT1、OCT2 及び OATP1B1：37℃で 15 分間、 OATP1B3：37℃で 5 及び 15 分間			
被験物質（濃度）	デフィブロチドナトリウム（15、100 µg/mL）			
典型阻害薬（濃度）	OAT1 及び OAT3：プロベネシド（200 µmol/L）、OCT1 及び OCT2：キニジン（256 µmol/L）、 OATP1B1 及び OATP1B3：シクロスポリン A（10 µmol/L）			
測定（対象）物質	デフィブロチド			
測定法	蛍光光度計			
トランスポーター	取り込み活性 [a]			
	典型阻害薬なし		典型阻害薬あり	
	15 µg/mL	100 µg/mL	15 µg/mL	100 µg/mL
OAT1	1.13	1.05	1.12	1.06
OAT3	1.35	1.26	1.24	1.01
OCT1	1.61	1.62	1.64	1.60
OCT2	0.536	0.517	0.547	0.514
OATP1B1	0.983	0.987	1.01	0.951
OATP1B3[b]	1.01 0.994	1.01 0.961	1.01 1.02	0.958 0.937

a：各濃度における取り込み活性の平均値（OAT1 は n=2、それ以外は n=3）から、典型阻害薬非存在下でのベクターのみ導入した CHO 又は HEK293 細胞に対する比率を算出
b：反応時間は、上段：5 分、下段：15 分

（2） OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3 に対する阻害作用

試験方法	デフィブロチドナトリウムの各種トランスポーターに対する阻害作用について、ヒト OAT1、OCT1 及び OATP1B3 を発現させた CHO 細胞並びにヒト OAT3、OCT2 及び OATP1B1 を発現させた HEK293 細胞を用いて検討した。		
インキュベーション	37℃で 5 分間		
被験物質（濃度）	デフィブロチドナトリウム（50、500 μg/mL）		
基質（濃度）	OAT1：^{14}C-p-アミノ馬尿酸（1 μmol/L）、OAT3：^{3}H-エストロン-3-硫酸（1 μmol/L）、 OCT1：^{14}C-テトラエチルアンモニウム（1 μmol/L）、OCT2：^{14}C-メトホルミン（1 μmol/L）、 OATP1B1：^{3}H-エストラジオール-17β-D-グルクロナイド（0.5 μmol/L）、OATP1B3：^{3}H-コレシストキニンオクタペプチド（1 μmol/L）		
典型阻害薬（濃度）	OAT1 及び OAT3：プロベネシド（200 μmol/L）、OCT1 及び OCT2：キニジン（256 μmol/L）、 OATP1B1 及び OATP1B3：シクロスポリン A（10 μmol/L）		
測定（対象）物質	各基質		
測定法	LSC		
トランスポーター	取り込み活性の残存率（%）[a]		
	デフィブロチドナトリウム		典型阻害薬
	50 μg/mL	500 μg/mL	
OAT1	95.6	108	4.95
OAT3	75.9	89.9	4.44
OCT1	89.2	86.8	3.72
OCT2	109	93.6	1.72
OATP1B1	101	91.0	2.60
OATP1B3	90.5	79.0	0.00

a：各濃度における取り込み活性の平均値（n=3）から溶媒対照に対する比率（%）を算出

2.6.5.15.2　排出トランスポーターに対する基質認識性及び阻害作用（*In vitro*）

（1）　P-gp 及び BCRP に対する基質認識性

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：5.3.2.2-5
試験番号：8305354

試験方法		デフィブロチドナトリウムのヒトの排出トランスポーターである P-gp 及び BCRP に対する基質認識性について C2BBe1 細胞（Caco-2 細胞のサブクローン）を用いて検討した。			
インキュベーション		37℃で 2 時間			
被験物質（濃度）		デフィブロチドナトリウム（15、100 μg/mL）			
典型阻害薬（濃度）		P-gp：ゾスキダル（2 μmol/L）、BCRP：Ko143（1 μmol/L）			
測定（対象）物質		デフィブロチド			
測定法		蛍光光度計			
デフィブロチドナトリウム濃度（μg/mL）	典型阻害薬	膜透過係数（× 10^{-6} cm/s）			
		A to B		B to A	
		平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
15	−（溶媒対照）	NA[a]	NA	4.83	0.212
	ゾスキダル	NA[a]	NA	4.67	1.12
	Ko143	NA[a]	NA	4.81	0.408
100	−（溶媒対照）	NA[a]	NA	0.722	0.0893
	ゾスキダル	NA[a]	NA	0.700	0.128
	Ko143	NA[a]	NA	0.618	0.152

n=3、NA：算出せず
A to B：頂端膜側から基底膜側への輸送
B to A：基底膜側から頂端膜側への輸送
本細胞における ^{14}C-マンニトール及び ^{14}C-カフェインの見かけの透過係数（A to B）はそれぞれ 0.401 × 10^{-6} cm/s 以下及び 24.6 × 10^{-6} cm/s 以上
a：レシーバー側（基底膜）の溶液中デフィブロチド濃度を定量できなかった（定量下限は 0.005 μg/mL）

（2） P-gp 及び BCRP に対する阻害作用

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：5.3.2.2-5
試験番号：8305354

試験方法		デフィブロチドナトリウムのヒトの排出トランスポーターである P-gp 及び BCRP に対する阻害作用について C2BBe1 細胞（Caco-2 細胞のサブクローン）を用いて検討した。			
インキュベーション		37℃で 2 時間			
被験物質（濃度）		デフィブロチドナトリウム（50、500 µg/mL）			
基質（濃度）		P-gp：^{3}H-ジゴキシン（1 µmol/L）、BCRP：^{3}H-エストロン-3-硫酸（0.1 µmol/L）			
典型阻害薬（濃度）		P-gp：ゾスキダル（2 µmol/L）、BCRP：Ko143（1 µmol/L）			
陰性対照阻害薬（濃度）		P-gp：Ko143（1 µmol/L）、BCRP：ゾスキダル（2 µmol/L）			
測定（対象）物質		各基質			
測定法		LSC			
薬物		P-gp		BCRP	
		efflux ratio[a]	コントロール比[b]（%）	efflux ratio[a]	コントロール比[b]（%）
溶媒対照		7.61	NA	11.8	NA
典型阻害薬		1.13	14.8	2.24	18.9
陰性対照阻害薬		6.88	90.5	9.47	80.2
デフィブロチドナトリウム	50 µg/mL	7.22	94.9	16.0	136
	500 µg/mL	7.97	105	13.6	115

NA：算出せず
a：頂端膜側から基底膜側への輸送に対する基底膜側から頂端膜側への輸送における見かけの膜透過係数（各 n=3 の平均値）の比
b：見かけの膜透過係数の比（efflux ratio[a]）から溶媒対照に対する比率（%）を算出

（3） MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用

被験物質：defibrotide
CTD における記載箇所：5.3.2.2-6
試験番号：BP-73-001

試験方法		デフィブロチドナトリウムの MATE-1 及び MATE2-K に対する阻害作用について、ヒト MATE1 及びヒト MATE2-K を発現させた HEK293 細胞を用いて検討した。	
インキュベーション		MATE1、MATE2-K：37℃で 5 分間	
被験物質（濃度）		デフィブロチドナトリウム[a]（15、50、150、500 µg/mL）、クエン酸ナトリウム（62.5 µg/mL）	
基質（濃度）		MATE1、MATE2-K：^{14}C-メトホルミン（10 µmol/L）	
典型阻害薬（濃度）		MATE1：シメチジン（10 µmol/L）、MATE2-K：シメチジン（100 µmol/L）	
測定（対象）物質		放射能	
測定法		LSC	
		Cleared Volume（%）[b]	
薬物		MATE1	MATE2-K
デフィブロチドナトリウム[a]	15 µg/mL	111.0	101.6
	50 µg/mL	106.3	100.9
	150 µg/mL	112.4	109.9
	500 µg/mL	107.8	97.0
クエン酸ナトリウム	62.5 µg/mL	112.7	100.9
典型阻害薬		8.0	17.2

a：クエン酸ナトリウムを含むデフィブロチドナトリウム注射液
b：各濃度の cleared volume の平均値（n=3）から溶媒対照に対する比率（%）を算出

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

該当試験なし。

2.6.5.17 参考文献

なし。