

ナブトピン注 3.6 単位
生物学的同等性に関する資料

製造販売元 東菱薬品工業株式会社
販売元 株式会社バイオメディクス

【生物学的同等性試験】

試験製剤（ナプトピン注）と標準製剤（ノイロトロピン注）の生物学的同等性試験を実施した。

1. SART ストレス負荷マウスによる鎮痛作用

① ランダルセリット法

濃縮し生理食塩液による濃度調製をした試験製剤および標準製剤と、対照製剤（生理食塩液）を SART（反復寒冷）ストレス負荷マウスに皮下投与または腹腔内投与し、ランダルセリット式鎮痛効果測定装置を用い、マウス尾部（尾根部より 1.5cm の部位）に 16g/sec の割合で圧刺激を増加させ、逃避反応（ふりかえり、もがき等）を指標として疼痛閾値を測定した。

鎮痛係数 = 検体投与後の疼痛閾値 / 検体投与前 2 回の平均疼痛閾値

結果 (平均値±SD)	対照群	37.5 単位/12.5mL/kg 投与群		75 単位/12.5mL/kg 投与群	
		試験製剤	標準製剤	試験製剤	標準製剤
皮下投与	1.02±0.07	1.44±0.13	1.46±0.12	1.79±0.14	1.77±0.14
腹腔内投与	1.04±0.10	1.58±0.14	1.54±0.13	1.91±0.22	1.97±0.17

皮下投与、腹腔内投与それぞれについて、得られた鎮痛係数より 90%信頼区間法にて統計解析を行った結果、37.5 単位/kg 投与群、75 単位/kg 投与群ともに log (0.80) ~ log (1.25) の範囲内であり、両剤の生物学的同等性が確認された。

② 酢酸ライジング法

濃縮し生理食塩液による濃度調製をした試験製剤および標準製剤と、対照製剤（生理食塩液）を SART（反復寒冷）ストレス負荷マウスに皮下投与または筋肉内投与し、その 35 分後に 0.7% 酢酸溶液を 0.1mL/10g 腹腔内に投与した。酢酸溶液投与 15 分後から 15 分間の苦悶反応（ライジング）回数から抑制率（%）を求め、生物学的同等性を判定した。

抑制率(%) = $\frac{\text{対照群の平均苦悶反応回数} - \text{検体投与群の平均苦悶反応回数}}{\text{対照群の平均苦悶反応回数}} \times 100$

結果 (平均値±SD)	37.5 単位/12.5mL/kg 投与群		75 単位/12.5mL/kg 投与群	
	試験製剤	標準製剤	試験製剤	標準製剤
皮下投与	22.2±3.7	22.5±3.8	27.8±4.3	28.5±4.8
筋肉内投与	22.6±3.4	22.9±3.2	26.5±4.8	26.8±4.8

皮下投与、筋肉内投与それぞれについて、得られた鎮痛抑制率より 90%信頼区間法にて統計解析を行った結果、37.5 単位/kg 投与群、75 単位/kg 投与群ともに log (0.80) ~ log (1.25) の範囲内であり、両剤の生物学的同等性が確認された。

2. 抗アレルギー作用

① PCA 反応

ラットの剃毛背部2か所に抗 DNP-As・IgE 血清を 0.1mL ずつ皮内投与し、48 時間後に 1.7mg DNP-As 含有 0.25%エバンスブルー生理食塩液 1mL を尾静脈より投与し、炎症を誘発させた。誘発投与 30 分前に、濃縮し生理食塩液による濃度調製をした試験製剤および標準製剤と、対照製剤（生理食塩液）を皮下あるいは腹腔内投与した。誘発投与 30 分後に放血し死亡させ、エバンスブルー漏出部の皮膚を剥離し、1mol/L KOH を 1mL 加え、37°C、24 時間溶解させた。この液にアセトン／0.6 mol/L H₃PO₄（13 : 5）を 9mL 加え、遠心分離後、上清を採取し、波長 620nm における吸光度を測定し、エバンスブルー漏出量（色素濃度：μg/site）を求め、生物学的同等性を判定した。

結果 (平均値±SD)	対照群	37.5 単位/12.5mL/kg 投与群		75 単位/12.5mL /kg 投与群	
		試験製剤	標準製剤	試験製剤	標準製剤
皮下投与	17.2±1.1	14.9±1.3	14.3±1.9	12.1±1.4	12.6±0.9
腹腔内投与	18.7±0.8	15.7±1.2	15.6±0.9	13.2±0.7	13.7±1.0

皮下投与、腹腔内投与それぞれについて、得られたエバンスブルー漏出量より 90%信頼区間法にて統計解析を行った結果、37.5 単位/kg 投与群、75 単位/kg 投与群ともに log (0.80) ~ log (1.25) の範囲内であり、両剤の生物学的同等性が確認された。

② 抗補体活性化作用

補体活性として 50%溶血 (CH50) 1 単位を示すモルモット血清 1mL に、試験製剤または標準製剤 0.6 単位/mL（生理食塩液で 2 倍希釈）及び 1.2 単位/mL と、対照製剤（生理食塩液）をそれぞれ 1mL ずつ加えた。20°C で 30 分間培養したものを、溶血素で感作した 1mL のめん羊赤血球（2×10⁸/mL）溶液に添加した。37°C 60 分培養後、遠心分離し上清を採取した。波長 541nm の吸光度を測定し、対照の平均値に対する百分率を溶血率とし、生物学的同等性を判定した。

$$\text{溶血率 (\%)} = (1 - \text{対照吸光度の平均値} / \text{検体吸光度}) \times 100$$

結果	0.6 単位添加群		1.2 単位添加群	
	試験製剤	標準製剤	試験製剤	標準製剤
平均値±SD	13.9±2.8	15.4±3.2	22.8±5.2	23.0±2.5

得られた溶血率について 90%信頼区間法にて統計解析を行った結果、0.6 単位添加群、1.2 単位添加群ともに log (0.80) ~ log (1.25) の範囲内であり、両剤の生物学的同等性が確認された。

3. 下行性疼痛抑制系の活性化作用

濃縮し生理食塩液による濃度調製をした試験製剤および標準製剤と、対照製剤（生理食塩液）を SART（反復寒冷）ストレス負荷マウスにツベルクリン注射筒を用い後頭部から大槽内に 10 μ L ずつ注入した。ランダルセリット式鎮痛効果測定装置を用い、マウス尾部（尾根部より 1.5cm の部位）に 16g/sec の割合で圧刺激を増加させ、逃避反応（ふりかえり、もがき等）を指標として疼痛閾値を測定した。検体投与前 2 回の平均疼痛閾値と検体投与 30 分後の疼痛閾値を測定し、鎮痛係数を求め、生物学的同等性を判定した。

$$\text{鎮痛係数} = \frac{\text{検体投与後の疼痛閾値}}{\text{検体投与前 2 回の平均疼痛閾値}}$$

結果 (平均値 \pm SD)	対照群	5 単位/0.5mL/kg 投与群		10 単位/0.5mL/kg 投与群	
		試験製剤	標準製剤	試験製剤	標準製剤
大槽内投与	1.05 \pm 0.05	1.35 \pm 0.06	1.36 \pm 0.03	1.95 \pm 0.12	1.92 \pm 0.13

得られた鎮痛抑制率より 90%信頼区間法にて統計解析を行った結果、5 単位/0.5mL/kg 投与群、10 単位/0.5mL/kg 投与群ともに log (0.80) ~ log (1.25) の範囲内であり、両剤の生物学的同等性が確認された。