

レプリントン配合錠 L100 の生物学的同等性試験

辰巳化学株式会社

はじめに

レボドパはドパミンの前駆物質で血液脳関門を通過し脳内に取りこまれ、そこでドパミンに転換されて生理作用を発揮し、パーキンソン病およびパーキンソン症候群に効果をもたらす。一方カルビドパはレボドパ脱炭酸酵素の阻害剤で、それ自体は血液脳関門を通過せず、脳内へ移行しないのでレボドパとともに投与されるとレボドパの脳以外での脱炭酸反応を防ぎ、脳への移行を高める。

ネオドパストン配合錠 L100 は、1 錠中レボドパ 100 mg とカルビドパ 10.8 mg（無水カルビドパとして 10 mg）を含有し、消化管から吸収された後、作用を発現する。このことから吸収により作用を発現する製剤の生物学的同等性試験を目的として、ネオドパストン配合錠 L100（第一三共株式会社）に対するレプリントン配合錠 L100（辰巳化学株式会社）の 2 剤 2 期のクロスオーバー法により、健康な雄性ビーグル犬に経口投与したときのレボドパおよびカルビドパの血中濃度を測定し、Cmax および AUC_{0-7hr} について比較検討を行った。なお、この試験において健康人ではなくビーグル犬を用いた理由は、健康人に服用させた場合その副作用が懸念されるためである。¹⁾

I. 試験方法

1. 試験製剤及び標準製剤

試験製剤としてレプリントン配合錠 L100（辰巳化学株式会社）（以下、「試験製剤」という）を、標準製剤としてネオドパストン配合錠 L100（第一三共株式会社）（以下、「標準製剤」という）を用いた。なお、試験製剤は辰巳化学株式会社において製造された。

2. 被験動物

健康診断で正常であることが証明された雄性ビーグル犬 14 頭を選定した。

3. 実験計画

投与スケジュールを Table 1 に示した。試験は 2 群 2 期のラテン方格法により行い、休薬期間は 6 日間とした。また被験動物 14 頭は月齢および体重を考慮して 7 頭ずつの 2 群に割り付けた。

4. 投与方法および投与量

投与スケジュールに従い、被験動物 1 頭当たり、各製剤とも 1 錠（レボドパ 100 mg およびカルビドパ 10.8 mg）を水 30 mL とともに経口投与した。なお投与前 16 時間および投与後 7 時間は絶食とした。

5. 血液試料採取方法

市販の採血管、採血針を用い、投与前、投与後 0.33、0.67、1、1.5、2、3、4、5 および 7 時間後に前腕静脈より採血し、直ちに凝固促進タイプ血清分離剤入りスピ

ッツ管に静かに入れ、30 分間静置した後、遠心分離して血清を得た。血清は分析時まで凍結保存した。

6. 血中濃度の測定対象物および測定方法

血中のレボドパおよびカルビドパを測定対象として蛍光検出器を用いた HPLC 法により測定した。

7. データ解析

生物学的同等性を検討する比較項目として、Cmax および AUC_{0-7hr} を用いた。Cmax は血中レボドパおよびカルビドパ濃度の最高実測値とし AUC_{0-7hr} は台形法により算出した。

統計解析は、ラテン方格法の分散分析を行い、実験精度および試験製剤と標準製剤との差の標準製剤に対する比率の 95%信頼区間を算出し、同等性の判定は江島らの報告^{2)~4)}に従った。

Table1 投与スケジュール

被験動物	月齢	体重 (kg)	投与スケジュール		
			I 期	休薬期間	II 期
1	50	13.3	標準製剤	6 日間	試験製剤
2	50	10.5			
3	50	11.5			
4	22	14.7			
5	22	13.2			
6	22	12.3			
7	22	13.2			
8	50	10.4	試験製剤	6 日間	標準製剤
9	50	13.0			
10	50	15.5			
11	22	13.5			
12	22	13.2			
13	22	14.0			
14	22	13.0			

II. 結果

試験製剤および標準製剤をイヌに投与したときのレボドパ、カルビドパそれぞれの血中濃度推移を Fig 1、2 に示した。また、血中レボドパ濃度、血中カルビドパ濃度（平均値±S.D.）を Table 2 に、Cmax および AUC_{0-7hr} とそれぞれにおける試験製剤と標準製剤との差の標準製剤に対する比率、更に Tmax および T_{1/2}（平均値±S.D.）を Table 3 に示した。レボドパでは試験製剤および標準製剤における Cmax の平均値は 2.136 μg/mL、2.314 μg/mL であり、AUC_{0-7hr} の平均値は 4.222 μg·hr/mL、4.506 μg·hr/mL であった。Cmax における試験製剤と標準製剤の差の標準製剤に対する比率は 7.7% であり、AUC_{0-7hr} の比率は 6.3% であった。また、試験製剤および標準製剤におけ

る T_{max} の平均値は 1.16 hr、1.13 hr であり、 $T_{1/2}$ の平均値は 1.39 hr、1.10 hr であった。一方カルビドパでは試験製剤および標準製剤における C_{max} の平均値は 323.59 ng/mL、319.08 ng/mL であり、 AUC_{0-7hr} の平均値は 634.58 hr·ng/mL、600.44 hr·ng/mL であった。 C_{max} における試験製剤と標準製剤の差の標準製剤に対する比率は 1.4 % であり、 AUC_{0-7hr} の比率は 5.7 % であった。また、試験製剤および標準製剤における T_{max} の平均値は 1.02 hr、1.27 hr であり、 $T_{1/2}$ の平均値は 1.37 hr、1.34 hr であった。

分散分析の結果を Table 4 に示した。 C_{max} および AUC_{0-7hr} にはいずれも有意水準 10 % で群又は持込効果に有意差は認められなかった。また薬剤および時期においても C_{max} および AUC_{0-7hr} にはいずれも有意水準 5 % で有意差は認められなかった。

実験精度を Table 5 に示した。有意水準を 5 % としたときのレボドパの C_{max} の実験精度は、最小検出差を 15 % としたときの検出力が 87 % であり、検出力を 80 % としたときの最小検出差は 14 % であり、最小検出差 15 %、検出力を 80 % 以上とするために必要な最小被験動物例数は 14 頭 (1 群 7 頭) であった。一方 AUC_{0-7hr} の実験精度は検出力が 85 %、最小検出差は 14 % であり、最小被験動物例数は 14 頭 (1 群 7 頭) であった。また、有意水準を 5 % としたときのカルビドパの C_{max} の実験精度は、最小検出差を 15 % としたときの検出力が 98 % であり、検出力を 80 % としたときの最小検出差は 10 % であり、最小検出差 15 %、検出力を 80 % 以上とするために必要な最小被験動物例数は 10 頭 (1 群 5 頭) であった。他方、 AUC_{0-7hr} の実験精度は検出力が 82 %、最小検出差は 15 % であり、最小被験動物例数は 14 頭 (1 群 7 頭) であった。

C_{max} および AUC_{0-7hr} について、試験製剤と標準製剤との差の標準製剤に対する比率の 95%信頼区間を Table 6 に示した。 C_{max} の 95%信頼区間は、レボドパでは -2.5 ~ 17.2 %、カルビドパでは -8.9 ~ 6.0 % であった。一方、 AUC_{0-7hr} の 95%信頼区間は、レボドパでは -3.6 ~ 16.5 %、

カルビドパでは -16.2 ~ 4.8 % であった。

III. 考察

試験製剤および標準製剤を、クロスオーバー法によりビーグル犬に経口投与し、血中のレボドパおよびカルビドパ濃度を測定し比較検討した。

分散分析の結果、 C_{max} および AUC_{0-7hr} のいずれにおいても群又は持込効果がなかったことより、本実験における 2 群 2 期のラテン方格法は適切であったと判断された。

C_{max} における試験製剤と標準製剤との差の標準製剤に対する比率はレボドパでは 7.7 % でカルビドパでは 1.4 % であり、 AUC_{0-7hr} の比率はレボドパでは 6.3 % であり、カルビドパでは 5.7 % であった。従って、いずれも 15 % 以内にあり十分に基準を満たしていた。統計学的に生物学的同等性を保証するためには、製剤間に有意差がなく、さらに一定の実験精度を持つことが必要である。そこで生物学的同等性に関する基準では、分散分析の検定を有意水準 5 ~ 10 % として行い、そのときの実験精度は検出力 80 % 以上、最小検出差が 15 % 以下となることが望ましいとされている。

レボドパでは C_{max} において検出力が 87 %、最小検出差は 14 % であり、 AUC_{0-7hr} では検出力が 85 %、最小検出差は 14 % となり、また C_{max} の 95 % 信頼区間は -2.5 ~ 17.2 % であり、 AUC_{0-7hr} では -3.6 ~ 16.5 % となり $\pm 20 %$ の範囲内にあり実験精度の点で基準を満たしていた。

また、カルビドパでは、 C_{max} において検出力が 98 %、最小検出差は 10 % であり、 AUC_{0-7hr} では検出力が 82 %、最小検出差は 15 % となり、また C_{max} の 95%信頼区間は -8.9 ~ 6.0 % であり、 AUC_{0-7hr} では -16.2 ~ 4.8 % となり $\pm 20 %$ の範囲内にあり実験精度の点で基準を満たしていた。

以上のことより、試験製剤と標準製剤は生物学的に同等であると判断された。

Fig 1 平均血清中濃度推移

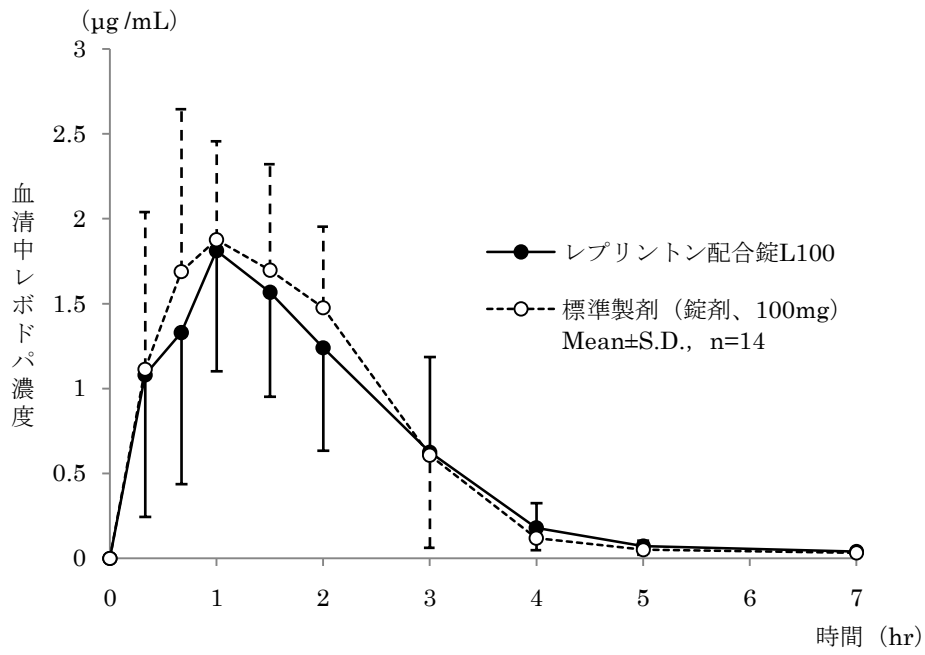


Fig 2 平均血清中濃度推移

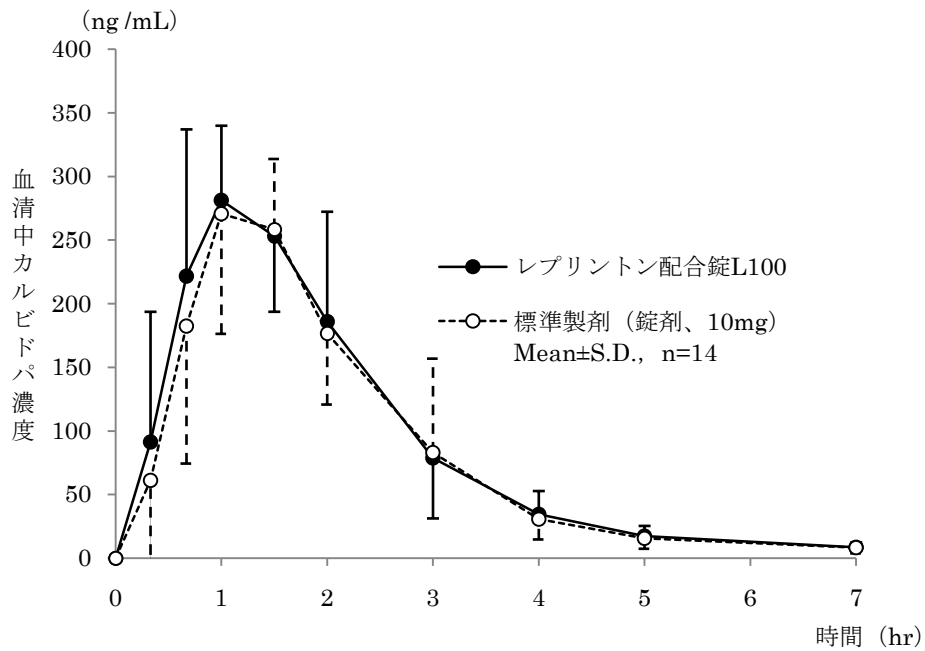


Table 2 レプリントン配合錠 L100 および標準製剤の平均血清中濃度

(1) レボドパ

薬剤名		血清中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)								
		0.33	0.67	1	1.5	2	3	4	5	7
レプリントン配合錠 L100	平均値	1.081	1.329	1.812	1.567	1.241	0.626	0.178	0.071	0.039
	\pm S.D.	0.838	0.893	0.711	0.616	0.608	0.559	0.146	0.032	0.015
標準製剤 (錠剤、100mg)	平均値	1.115	1.690	1.876	1.696	1.477	0.606	0.118	0.051	0.031
	\pm S.D.	0.924	0.955	0.580	0.625	0.476	0.545	0.071	0.031	0.016

(n=14)

(2) カルビドパ

薬剤名		血清中濃度 (ng/mL)								
		0.33	0.67	1	1.5	2	3	4	5	7
レプリントン配合錠 L100	平均値	91.16	221.54	281.16	252.93	185.78	78.69	34.39	17.26	8.44
	\pm S.D.	102.37	115.36	58.63	59.37	86.40	47.55	18.27	7.99	3.82
標準製剤 (錠剤、10mg)	平均値	61.04	182.29	270.69	258.46	176.56	82.91	30.56	15.51	8.16
	\pm S.D.	73.27	108.04	94.49	55.18	55.92	73.81	15.96	8.24	4.48

(n=14)

Table 3 レプリントン配合錠 L100 と標準製剤の AUC_{0-7hr} 、 C_{max} 、 T_{max} および $T_{1/2}$

(1) レボドパ

薬剤名	AUC_{0-7hr} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	T_{max} (hr)	$T_{1/2}$ (hr)
レプリントン配合錠 L100	4.222 \pm 1.008	2.136 \pm 0.295	1.16 \pm 0.66	1.39 \pm 0.81
標準製剤 (錠剤、100mg)	4.506 \pm 0.513	2.314 \pm 0.318	1.13 \pm 0.67	1.10 \pm 0.21

(平均値 \pm S.D., n=14)

(2) カルビドパ

薬剤名	AUC_{0-7hr} (ng \cdot hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$T_{1/2}$ (hr)
レプリントン配合錠 L100	634.58 \pm 96.73	323.59 \pm 36.62	1.02 \pm 0.40	1.37 \pm 0.29
標準製剤 (錠剤、10mg)	600.44 \pm 81.04	319.08 \pm 44.60	1.27 \pm 0.61	1.34 \pm 0.23

(平均値 \pm S.D., n=14)

Table 4 分散分析の結果

(1) レボドパ

パラメータ	変動要因	自由度	平方和	平均平方	分散比	検定
AUC _{0-7hr}	被験動物間変動	13	12.78	0.983	3.234	*
	群又は持込効果	1	0.27	0.266	0.255	
	被験動物/群	12	12.52	1.043	3.430	*
	時期	1	0.20	0.197	0.649	
	薬剤	1	0.56	0.563	1.851	
	残差	12	3.65	0.304		
	総変動	27	17.19			
Cmax	被験動物間変動	13	1.52	0.117	1.539	
	群又は持込効果	1	0.03	0.028	0.222	
	被験動物/群	12	1.50	0.125	1.637	
	時期	1	0.01	0.008	0.099	
	薬剤	1	0.22	0.220	2.883	
	残差	12	0.91	0.076		
	総変動	27	2.67			

* : P<0.05 † : P<0.10

F_{0.05}(1, 12)=4.747 F_{0.05}(12, 12)=2.687 F_{0.05}(13, 12)=2.664 F_{0.10}(1, 12)=3.177

(2) カルビドパ

パラメータ	変動要因	自由度	平方和	平均平方	分散比	検定
AUC _{0-7hr}	被験動物間変動	13	118870.85	9143.911	1.572	
	群又は持込効果	1	7735.61	7735.613	0.835	
	被験動物/群	12	111135.24	9261.270	1.592	
	時期	1	18329.61	18329.606	3.150	
	薬剤	1	8160.14	8160.143	1.402	
	残差	12	69821.48	5818.457		
	総変動	27	215182.08			
Cmax	被験動物間変動	13	33022.13	2540.164	3.062	*
	群又は持込効果	1	685.08	685.080	0.254	
	被験動物/群	12	32337.05	2694.754	3.248	*
	時期	1	312.22	312.223	0.376	
	薬剤	1	142.20	142.200	0.171	
	残差	12	9955.91	829.659		
	総変動	27	43432.46			

* : P<0.05 † : P<0.10

F_{0.05}(1, 12)=4.747 F_{0.05}(12, 12)=2.687 F_{0.05}(13, 12)=2.664 F_{0.10}(1, 12)=3.177

Table 5 実験精度

(1) レボドパ

パラメータ	検出力 1-β	最小検出差△	必要被験動物例数
	△=15%	1-β=80%	1-β≥80%、△=15%
AUC _{0-7hr}	85%	14%	7
Cmax	87%	14%	7

(2) カルビドパ

パラメータ	検出力 1-β	最小検出差△	必要被験動物例数
	△=15%	1-β=80%	1-β≥80%、△=15%
AUC _{0-7hr}	82%	15%	7
Cmax	98%	10%	5

Table 6 レプリントン配合錠 L100 と標準製剤との差の標準製剤に対する比率の 95%信頼区間

(1) レボドパ

パラメータ	95%信頼区間
AUC _{0-7hr}	-3.6~16.5 %
C _{max}	-2.5~17.2 %

(2) カルビドパ

パラメータ	95%信頼区間
AUC _{0-7hr}	-16.2~4.8 %
C _{max}	-8.9~6.0 %

- 1) 辰巳化学株式会社 社内資料
- 2) 江島 昭 他：生物学的同等性の試験方法についての解説. 医薬品研究 13 : 1106-1119, 1982
- 3) 江島 昭 他：生物学的同等性の試験方法についての解説—統計解析 その 2—. 医薬品研究 13 : 1267-1271, 1982
- 4) 江島 昭 他：生物学的同等性の試験方法についての解説—統計解析 その 3—. 医薬品研究 15 : 123-133, 1984