

## ビホナゾール製剤の生物学的同等性に関する資料

岩城製薬株式会社 学術部

[目的] 試験製剤と標準製剤について以下の薬理試験を行い、両者の抗真菌作用を比較した。

### (1) モルモットの実験的白癬菌感染モデルに対する治療効果の検討

- i) 治療効果の検討
- ii) 逆培養試験

### (2) *in vitro* 抗真菌作用

[試験と結果]

### (1) モルモットの実験的白癬菌感染モデルに対する治療効果の検討

#### 試験製剤と標準製剤

・クリーム

	製剤名	製造販売業者
試験製剤	ビホナゾールクリーム 1%「イワキ」 (旧販売名 ビクロノールクリーム LotNo. L00017)	岩城製薬株式会社
基剤	ビホナゾールクリーム 1%「イワキ」基剤 (旧販売名 ビクロノールクリーム基剤 LotNo. L00023)	岩城製薬株式会社
標準製剤	マイコスポールクリーム LotNo. B985	バイエル薬品株式会社

・液

	製剤名	製造販売業者
試験製剤	ビホナゾール外用液 1%「イワキ」 (旧販売名 ビクロノール液 LotNo. L00025)	岩城製薬株式会社
基剤	ビホナゾール外用液 1%「イワキ」基剤 (旧販売名 ビクロノール液基剤 LotNo. L00024)	岩城製薬株式会社
標準製剤	マイコスポール液 LotNo. B157	バイエル薬品株式会社

#### i) 治療効果の検討 (病変スコア)

モルモットの背部を除毛後、約 2cm 角片のガムテープによる剥離操作を 4~6 回繰り返して皮膚の角質層を除去した。この部位に *Trichophyton mentagrophytes* 菌液 ( $2 \times 10^7$  孢子/mL) を 50  $\mu$ L ずつ、1 匹当たり 4 箇所接種した。

クリームの場合、菌接種 3 日目より 1 日 1 回 14 日間、1 匹当たり菌摂取箇所のうち 3 箇所に試験製剤および標準製剤を塗布した。塗布量は各 300mg/菌接種箇所であった。

液の場合、菌接種 3 日目より 1 日 2 回 14 日間、1 匹当たり菌摂取箇所のうち 3 箇所に試験製剤および標準製剤を塗布した。塗布量は各 0.15mL/菌接種箇所であった。

なお、いずれの試験も 1 匹当たり 1 箇所を薬剤無塗布とした。

薬剤塗布塗布終了日まで菌接種箇所を肉眼的に観察し、スコア化した。

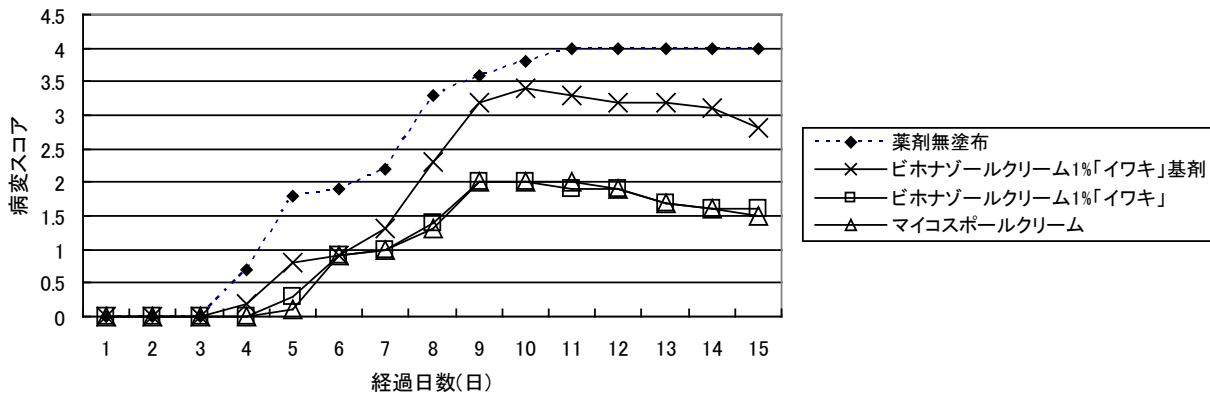
病変スコア	病変度判定基準
0	局所病変が全く認められない状態
1	数個の小紅斑または紅斑性小丘疹が島状に散在するかまたは病変が改善に向かって新しい体毛の発育が見られる状態
2	紅斑性病変が局所全面に広がり表皮の剥離を伴う状態
3	局所の一部に強い発赤、腫張等の炎症症状が見られ鱗屑が豊富に形成される状態
4	肥厚した痂皮の形成により局所全面が覆われている状態

## 結果

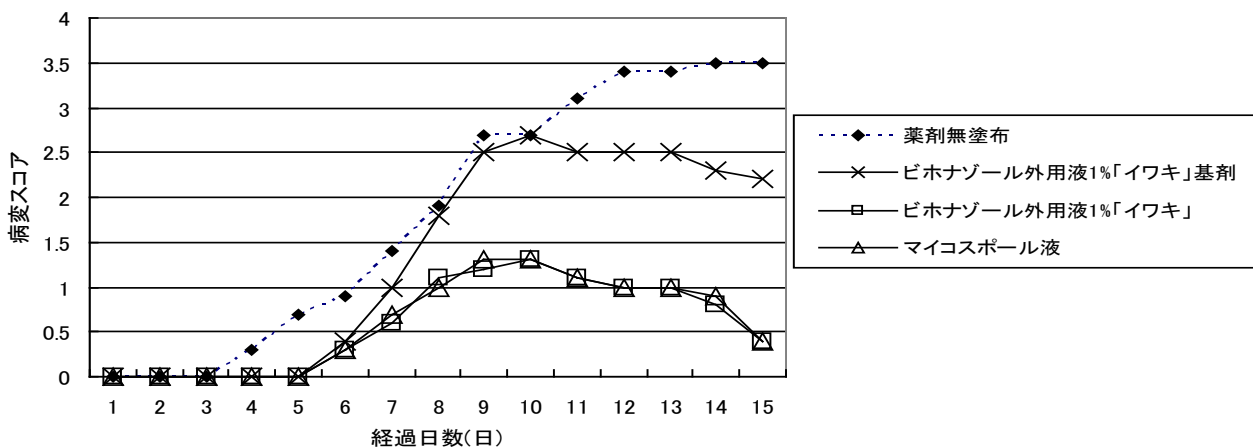
ビホナゾールクリーム1%「イワキ」塗布群、マイコスポールクリーム塗布群は9日目まではスコア値の増加が見られたが10日目以降はいずれの観察日においても薬剤無塗布群及びビホナゾールクリーム基剤塗布群と比較し有意な低下を示した。またビホナゾールクリーム1%「イワキ」塗布群とマイコスポールクリーム塗布群の間に有意な差はなかった。

また、ビホナゾール外用液1%「イワキ」塗布群、マイコスポール液塗布群は10日目まではスコア値の増加が見られたが11日目以降はいずれの観察日においても薬剤無塗布群及びビホナゾール外用液1%「イワキ」基剤塗布群と比較し有意な低下を示した。またビホナゾール外用液1%「イワキ」塗布群とマイコスポール液塗布群の間に有意な差はなかった。

ビホナゾールクリーム1%「イワキ」モルモット実験白癬菌感染モデルに対する治療効果  
(病変スコアの比較) (n=10)



ビホナゾール外用液1%「イワキ」モルモット実験白癬菌感染モデルに対する治療効果  
(病変スコアの比較) (n=10)



ii) 治療効果の検討 (逆培養試験)

「i)治療効果の検討 (病変スコア)」の薬剤塗布終了翌日、モルモット全例をエーテル麻酔下屠殺し、残存する薬剤を除去した後、感染部位の表皮を切り取り、ほぼ同じ大きさの10個の小片に細切し、シクロヘキサミド(500 μg/mL)、カナマイシン(50 μg/mL)およびシソマイシン(50 μg/mL)添加サブロー寒天培地上に置き、27°Cで14日間培養し、菌集落の有無を調べ、次式に従い切片陽性率を算出した。

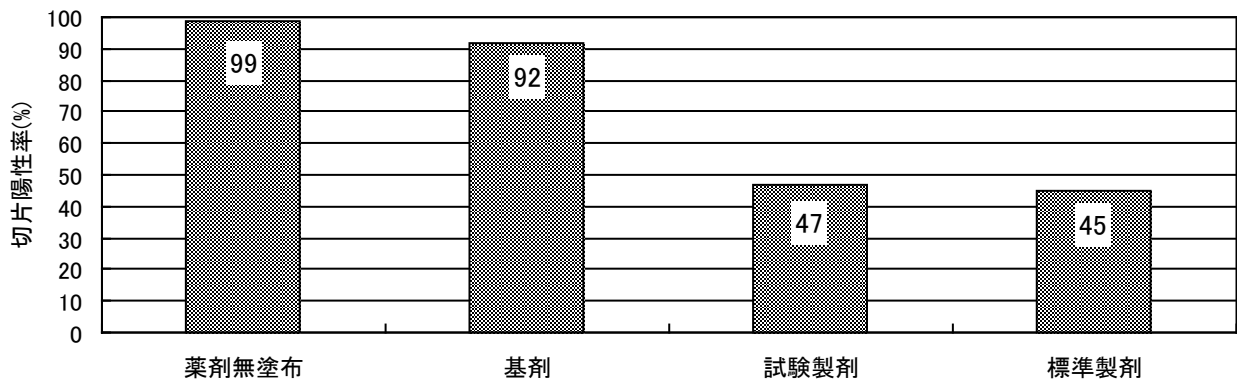
$$\text{切片陽性率 (\%)} = \text{陽性切片数} / \text{皮膚切片数} \times 100$$

結果

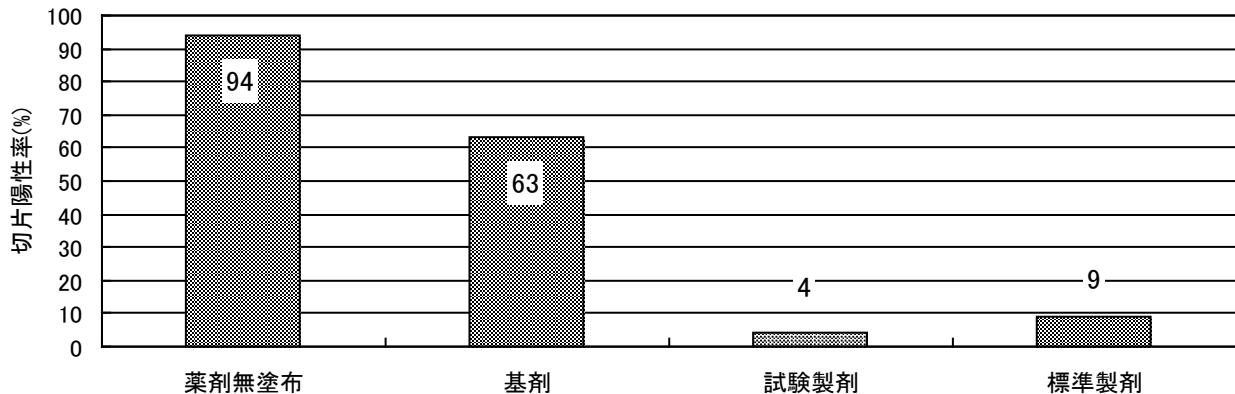
ビホナゾールクリーム1%「イワキ」塗布群、マイコスポールクリーム塗布群ともに、基剤及び薬剤無塗布群と比較して切片陽性率に有意差があり、感染局所の有意な陰性化が認められた。ビホナゾールクリーム1%「イワキ」塗布群とマイコスポールクリーム塗布群の間で有意差が認められなかった。

また、ビホナゾール外用液1%「イワキ」塗布群、マイコスポール液塗布群についても同様に、基剤及び薬剤無塗布群と比較して切片陽性率に有意差があり感染局所の有意な陰性化が認められた。ビホナゾール外用液1%「イワキ」塗布群とマイコスポール液塗布群の間で有意差が認められなかった。

ビホナゾールクリーム1%「イワキ」モルモット実験的白癬菌感染モデルに対する治療効果(逆培養) (n=10)



ビホナゾール外用液1%「イワキ」モルモット実験的白癬菌感染モデルに対する治療効果(逆培養) (n=10)



## (2) *in vitro* 抗真菌作用

### 試験製剤と標準製剤

#### ・クリーム

	製剤名	製造販売業者
試験製剤	ビホナゾールクリーム 1%「イワキ」 (旧販売名 ビクロノールクリーム LotNo. L00045)	岩城製薬株式会社
標準製剤	マイコスポールクリーム LotNo. B074	バイエル薬品株式会社

#### ・液

	製剤名	製造販売業者
試験製剤	ビホナゾール外用液 1%「イワキ」 (旧販売名 ビクロノール液 LotNo. L00046)	岩城製薬株式会社
標準製剤	マイコスポール液 LotNo. B188	バイエル薬品株式会社

### 試験菌種

分類	試験菌種
皮膚糸状菌	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM1189
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM1812
	<i>Trichophyton rubrum</i> IF05467
	<i>Trichophyton rubrum</i> IF05807
	<i>Microsporum canis</i> TIMM1502
	<i>Epidermophyton floccosum</i> TIMM0434
酵母	<i>Candida albicans</i> TIMM0144
	<i>Candida albicans</i> TIMM1529
	<i>Candida albicans</i> TIMM1623
	<i>Candida krusei</i> TIMM0271
癬風菌	<i>Malassezia furfur</i> TIMM2782

試験製剤または標準製剤を添加した平板培地の希釈系列を作成し、これらに菌液を接種し、各条件で培養し、MICの判定を行った。なお、ブランクとして薬剤無添加で同様の操作を行った。

菌液：菌は前培養を経て  $10^6$  cells/mL の菌液を調製した。培地はサブロー培地を用いた。  
作成した平板培地に各 0.1 mL を接種した。

平板培地の希釈系列：薬剤の希釈は 5%DMSO であらかじめ希釈したものをサブロー寒天培地で更に 10 倍希釈した。これらで平板培地を作成した。なお、酵母類の試験の場合、各試験薬剤を直接サブロー寒天培地で希釈し、平板培地を作成した。最終希釈倍率は全ての条件で 0~51200 倍。

培養条件：以下の条件で、薬剤無添加条件においてに十分な菌の発育が認められるまで培養した。

- ・皮膚糸状菌類：27℃、4~7 日間、好気培養
- ・酵母類：30℃、48 時間、好気培養

## 結果

試験製剤と標準製剤は以下の真菌に対して抗真菌作用を示した。

ビホナゾールクリーム 1%「イワキ」、ビホナゾール外用液 1%「イワキ」は MIC でそれぞれの標準製剤と同じ値を示した。

ビホナゾールクリーム 1%「イワキ」 MIC (最小発育阻止濃度)

試験菌属性	試験菌種	薬剤名	ビホナゾールクリーム 1%「イワキ」	マイコスポールクリーム
皮膚糸状菌	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM1189		×12800 (0.78)	×12800 (0.78)
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM1812		×12800 (0.78)	×12800 (0.78)
	<i>Trichophyton rubrum</i> IF05467		×12800 (0.78)	×12800 (0.78)
	<i>Trichophyton rubrum</i> IF05807		×25600 (0.39)	×25600 (0.39)
	<i>Microsporum canis</i> TIMM1502		×1600 (6.25)	×1600 (0.39)
	<i>Epidermophyton floccosum</i> TIMM0434		×25600 (0.39)	×25600 (0.39)
酵母	<i>Candida albicans</i> TIMM0144		×320 (31.25)	×320 (31.25)
	<i>Candida albicans</i> TIMM1529		×320 (31.25)	×320 (31.25)
	<i>Candida albicans</i> TIMM1623		×320 (31.25)	×320 (31.25)
	<i>Candida krusei</i> TIMM0271		×320 (31.25)	×320 (31.25)
癬風菌	<i>Malassezia furfur</i> TIMM2782		×400 (25)	×400 (25)
表示 ×数値：薬剤の希釈倍率 ( ) 内数値：ビホナゾール濃度( $\mu$ g/mL)				

ビホナゾール外用液 1%「イワキ」 MIC (最小発育阻止濃度)

試験菌属性	試験菌種	薬剤名	ビホナゾール外用液 1%「イワキ」	マイコスポール液
皮膚糸状菌	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM1189		×12800 (0.78)	×12800 (0.78)
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM1812		×3200 (3.13)	×3200 (3.13)
	<i>Trichophyton rubrum</i> IF05467		×12800 (0.78)	×12800 (0.78)
	<i>Trichophyton rubrum</i> IF05807		×1600 (6.25)	×1600 (6.25)
	<i>Microsporum canis</i> TIMM1502		×3200 (3.13)	×3200 (3.13)
	<i>Epidermophyton floccosum</i> TIMM0434		×25600 (0.39)	×25600 (0.39)
酵母	<i>Candida albicans</i> TIMM0144		×320 (31.25)	×320 (31.25)
	<i>Candida albicans</i> TIMM1529		×320 (31.25)	×320 (31.25)
	<i>Candida albicans</i> TIMM1623		×320 (31.25)	×320 (31.25)
	<i>Candida krusei</i> TIMM0271		×320 (31.25)	×320 (31.25)
癬風菌	<i>Malassezia furfur</i> TIMM2782		×200 (50)	×200 (50)
表示 ×数値：薬剤の希釈倍率 ( ) 内数値：ビホナゾール濃度( $\mu$ g/mL)				

### [考察]

ビホナゾールクリーム 1%「イワキ」とビホナゾール外用液 1%「イワキ」はモルモットの実験的白癬菌感染モデルに対する治療効果の検討、および *in vitro* 抗真菌作用において各対照薬に対しては有意差を認めなかった。

以上の結果からビホナゾールクリーム 1%「イワキ」またビホナゾール外用液 1%「イワキ」とそれぞれの標準製剤は生物学的に同等であると推定される。

これらの試験は 1994 年に行われました。