

ケトコナゾールクリーム 2% 「イワキ」

ケトコナゾールローション 2% 「イワキ」

の生物学的同等性に関する資料

(1) 生物学的同等性試験

1) 試験結果の概要

動物における実験的感染症治療効果及び、抗真菌作用 (*in vitro*) において生物学的同等性を確認した。

2) ガイドライン等

後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン(平成9年12月22日医薬審第487号)に基づいて実施した。

- 3) 試験時期 ケトコナゾールクリーム 2% 「イワキ」 2001年
 ケトコナゾールローション 2% 「イワキ」 2002年

(2) 試験方法の詳細と結果

① 動物における実験的感染症治療効果

[試験の概要]

- ・クリーム剤及びローション剤について、感染モデル動物（白癬菌及びマラセチア属菌）に対し製品を外用し、治療効果をとって病変スコアと皮膚切片の真菌培養を検討した。
- ・ローション剤については、カンジダの感染モデル動物についても検討した。

[同等性の要約]

[クリーム・ローション]

- ・モルモット白癬菌感染モデルに対し、試験製剤及び標準製剤を塗布した試験において、病変の進行を抑制し感染部位の菌を死滅させるなど高い治療効果が示された。
- ・同様に *Malassezia furfur* を感染させたモルモット脂漏性皮膚炎病態モデルにおいて、試験製剤及び標準製剤を塗布した試験において、同様に高い治療効果を示した。

[ローション]

- ・モルモットカンジダ菌感染モデルに対し、試験製剤及び標準製剤を塗布した試験において優れた治療効果が認められた。

いずれの試験においても試験製剤と標準製剤の効果に有意差は認められず、両剤の生物学的同等性が確認された。

【1】モルモットの実験白癬菌感染モデルに対する治療効果

モルモットの *Trichophyton mentagrophytes* による実験的感染モデル（背部を一部除毛し、テープストリッピングにより角質層を2cm四方除去して真菌を接種）に、後述する被験物質（500mg/body）を1日1回14日間塗布した。なお、被験物質の塗布は実験的感染後3日目より開始した。別に、いずれの被験物質も塗布しないグループを対照群として設けた。（各群10匹）

被験物質

クリームの試験	ローションの試験
<ul style="list-style-type: none"> ・試験製剤：ケトコナゾールクリーム2% 「イワキ」 ・試験製剤 基剤 	<ul style="list-style-type: none"> ・試験製剤：ケトコナゾールローション2% 「イワキ」 ・試験製剤 基剤

・ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」 標準製剤 (クリーム剤)	・ケトコナゾールローション2%「イワキ」 標準製剤 (クリーム剤) ※
-------------------------------------	--

※ローション開発時に同剤形の製品が発売されていなかったため、ローションの実際の標準製剤は同成分のクリーム剤 (ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」の標準製剤と同じ) である。

[試験方法〈1〉病変スコア]

次の基準に従い、菌接種部位を肉眼的に観察して病変スコアをつけた。

病変度の評価基準

スコア	状態
0	局所病変が全く認められない
1	数個の小紅斑又は紅斑清酒お丘疹が島状に散在するか、又は病変が改善に向かって新しい体毛の発育がみられる
2	紅斑性病変が局所前面に広がり、表皮の剥離を伴う
3	局所の一部に強い発赤、腫脹等の炎症症状が見られ鱗屑が豊富に形成される
4	肥厚した痂皮の形成により、局所全面が覆われる

[結果〈1〉病変スコア]

結果を図1、図2に示す。

ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」及びケトコナゾールローション2%「イワキ」の塗布群及び両製剤の標準製剤塗布群は、ともに塗布後7日目まではスコア値の増加が見られた。

クリームとその標準製剤は8日目以降、ローションとその標準製剤は10日目以降いずれの観察日においても対照群、基剤投与群と比較し有意な低下を示した。

また、ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」及びケトコナゾールローション2%「イワキ」塗布群と、両製剤の標準製剤の間に有意な差はなかった。

図1[クリーム]モルモットの実験白癬菌感染モデルに対する治療効果(n=10)

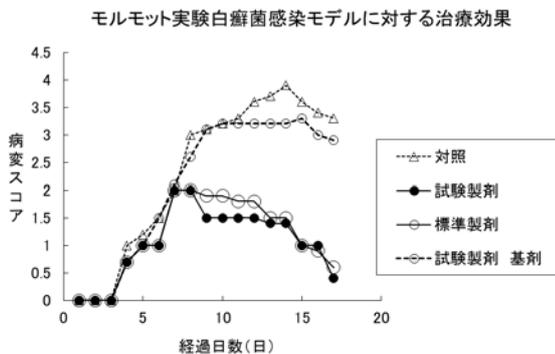
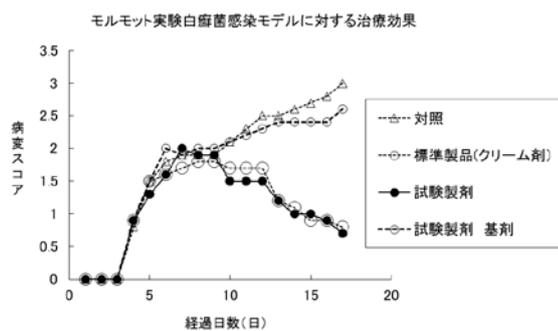


図2[ローション]モルモットの実験白癬菌感染モデルに対する治療効果(n=10)



[試験方法〈2〉逆培養試験]

被験物質塗布終了翌日、モルモット全例をエーテル麻酔下屠殺し、感染部位の表皮を切り取り、ほぼ同じ大きさの10個の小片を得た。

これらをシクロヘキサミド(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10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。

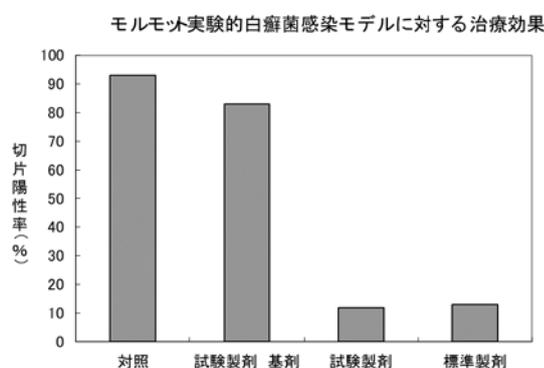
$$\text{切片陽性率 (\%)} = \text{陽性切片数} / \text{皮膚切片数} \times 100$$

[結果〈2〉逆培養試験]

ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」の結果を図3に示す。

対照群の切片陽性率は93.0%、ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」基剤の切片陽性率は83.0%であった。ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」の切片陽性率は12.0%、及び標準製剤の切片陽性率は13.0%であり、対照群及びケトコナゾールクリーム2%「イワキ」基剤投与群と比較して有意な低値を示した。また、ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」及びその標準製剤の間に有意な差はなかった。

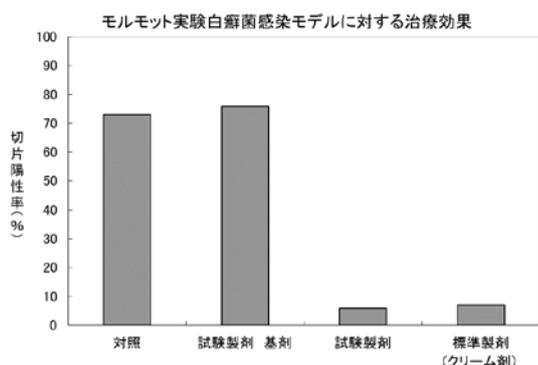
図3 [クリーム] モルモットの実験的白癬菌感染モデルにおける逆培養試験結果



ケトコナゾールローション2%「イワキ」の結果を図4に示す。

対照群の切片陽性率は73.0%、ケトコナゾールローション2%「イワキ」基剤の切片陽性率は76.0%であった。これに対し、ケトコナゾールローション2%「イワキ」の切片陽性率は6.0%及び標準製剤の切片陽性率は7.0%であり、対照群及びケトコナゾールローション2%「イワキ」基剤投与群と比較して有意な低値を示した。また、ケトコナゾールローション2%「イワキ」及びその標準製剤の間に有意な差はなかった。

図4 [ローション] モルモットの実験的白癬菌感染モデルにおける逆培養試験結果



【2】モルモットの実験的脂漏性皮膚炎モデルに対する治療効果

モルモットの *Malassezia furfur* による実験的感染モデル (方法は白癬菌モデルと同様) 背部に、後述する被験物質 (500mg/body) を、1日1回14日間塗布した。なお、被験物質の塗布は実験的感染後11日目より開始した。また別に、いずれの被験物質も塗布しないグループを対照群として設けた。(各群10匹)

被験物質は、①の白癬菌モデルの試験と同様である。

[試験方法〈1〉病変スコア]

①の白癬菌モデルの試験と同様に病変スコアをつけた。

[結果〈1〉病変スコア]

結果を図5、図6に示す。

ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」投与群及びその標準製剤塗布群のスコア値は14日目以降25日目まで減少し、対照群と比較し有意な低値を示した。また、15日目以降はケトコナゾールクリーム2%「イワキ」基剤群に対しても有意な低値を示した。

ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」投与群及びその標準製剤塗布群の間に有意な差はなかった。

ケトコナゾールローション2%「イワキ」投与群及びその標準製剤塗布群のスコア値は16日目以降25日目まで減少し、対照群と比較し有意な低値を示した。また、17日目以降はケトコナゾールローション2%「イワキ」基剤群に対しても有意な低値を示した。

ケトコナゾールローション2%「イワキ」投与群及びその標準製剤塗布群の間に有意な差はなかった。

図5[クリーム]モルモットの実験脂漏性皮膚炎モデルに対する治療効果(n=10)

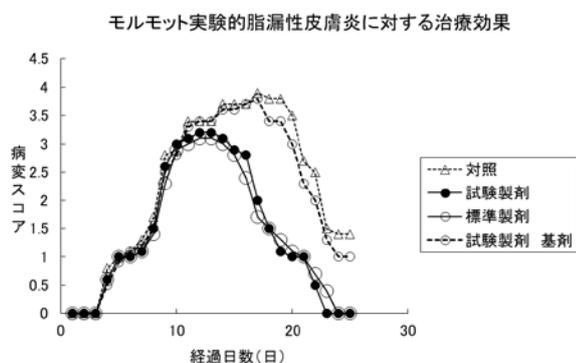
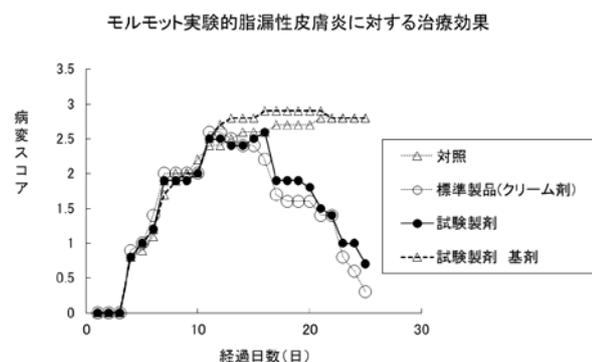


図6[ローション]モルモットの実験脂漏性皮膚炎モデルに対する治療効果(n=10)



[試験方法〈2〉逆培養試験]

被験物質塗布終了翌日、モルモット全例をエーテル麻酔下屠殺し、感染部位の表皮を切り取り、ほぼ同じ大きさの10個の小片を得た。

これらをシクロヘキサミド(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°C10日間(ローションは7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。

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

[結果〈2〉逆培養試験]

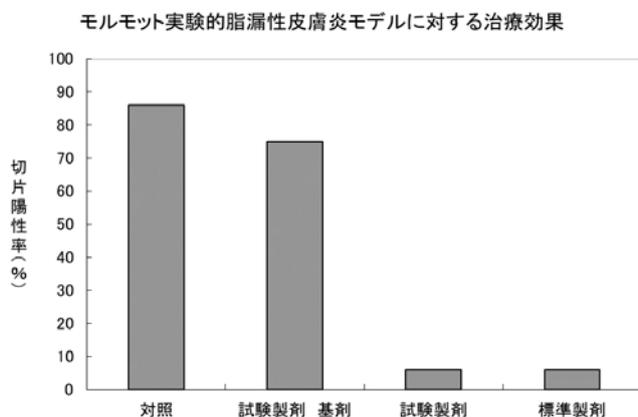
ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」の結果を図7に示す。

対照群の切片陽性率は86.0%、ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」基剤の切片陽性率は75.0%であ

った。これに対しケトコナゾールクリーム2%「イワキ」の切片陽性率は6.0%及び標準製剤の切片陽性率は6.0%であり、対照群及びケトコナゾールクリーム2%「イワキ」基剤投与群と比較して有意な低値を示した。

また、ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」及びその標準製剤の間に有意な差はなかった

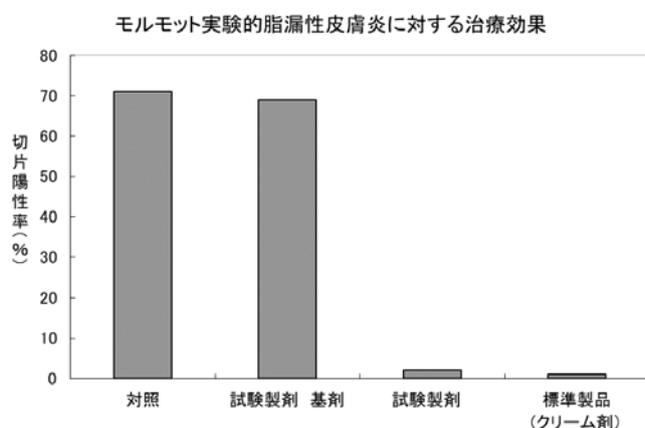
図7[クリーム]モルモットの実験的脂漏性皮膚炎モデルにおける逆培養試験結果



ケトコナゾールローション2%「イワキ」の結果を図8に示す。

対照群の切片陽性率は71.0%、ケトコナゾールローション2%「イワキ」基剤の切片陽性率は69.0%であった。これに対しケトコナゾールローション2%「イワキ」の切片陽性率は2.0%及び標準製剤の切片陽性率は1.0%であり、対照群及びケトコナゾールローション2%「イワキ」基剤投与群と比較して有意な低値を示した。また、ケトコナゾールローション2%「イワキ」及びその標準製剤の間に有意な差はなかった。

図8[ローション]モルモットの実験的脂漏性皮膚炎モデルにおける逆培養試験結果



【3】モルモットの実験的カンジダ感染モデルに対する治療効果（ローションのみ）

モルモットの *Candida albicans* により実験的感染モデル背部に、後述する被験物質（500mg/body）を、1日1回、3日間塗布した。なお、被験物質の塗布は実験的感染後5日目より開始した。また別に、いずれの被験物質も塗布しないグループを対照群として設けた。（各群10匹）

被験物質

ローションの試験
<ul style="list-style-type: none"> ・試験製剤：ケトコナゾールローション2%「イワキ」 ・試験製剤 基剤 ・ケトコナゾールローション2%「イワキ」 標準製剤（クリーム剤）※
<p>※ローション開発時に同剤形の製品が発売されていなかったため、ローションの実際の標準製剤は同成分のクリーム剤（ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」の標準製剤と同じ）である。</p>

[試験方法〈1〉病変スコア]

次の基準に従い、菌接種部位を肉眼的に観察して病変スコアをつけた。

(基準は①白癬菌モデルの試験・②脂漏性皮膚炎モデルの試験と同じ)

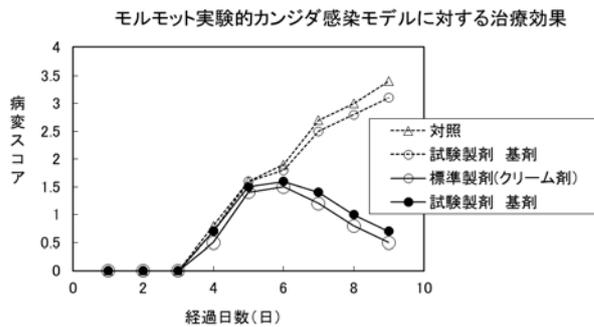
[結果〈1〉病変スコア]

結果を図9に示す。

ケトコナゾールローション2%「イワキ」投与群及びその標準製剤投与群のスコア値は4日目から徐々にスコアが増加したが、7日目以降いずれの観察日においても対照群及び基剤投与群と比較し有意な低値を示した。

ケトコナゾールローション2%「イワキ」投与群及びその標準製剤塗布群の間に有意な差はなかった。

図9[ローション]モルモットの実験的カンジダモデルに対する治療効果(n=10)



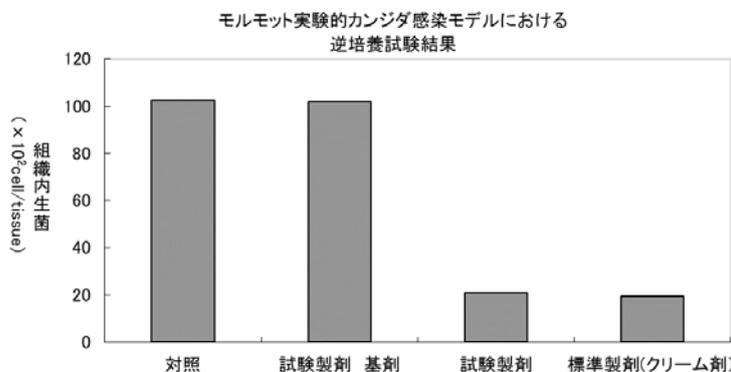
[試験方法〈2〉逆培養試験]

被験物質塗布終了翌日、モルモット全例をエーテル麻酔下屠殺し、感染部位の表皮を切り取り、細片後、10mLの生理食塩液を用いて破碎し均一な懸濁液とした。この懸濁液を、シクロヘキシミド(500 μ g/mL)、硫酸カナマイシン(50 μ g/mL)および硫酸シソマイシン(50 μ g/mL)添加サブロー寒天培地上に置き、37 $^{\circ}$ Cで48時間培養し、菌集落の有無を調べ、組織内生菌数を算出した。

[結果〈2〉逆培養試験]

対照群の生菌数は102.6 $\times 10^2$ cells/tissue示した。これに対し、ケトコナゾールローション2%「イワキ」投与群及びその標準製剤投与群はそれぞれ20.8 $\times 10^2$ cells/tissue、19.3 $\times 10^2$ cells/tissueであり、対照群と比較し有意な低値を示した。また、ケトコナゾールローション2%「イワキ」及びその標準製剤の間に有意な差はなかった。結果を図10に示す。

図10 [ローション] モルモットの実験的カンジダ感染モデルにおける逆培養試験結果



②抗真菌作用 (in vitro)

[試験の概要]

クリーム剤及びローション剤について、各種真菌と in vitro にて接触させ生菌数を計測した。

[同等性の要約]

皮膚糸状菌、酵母糸状菌、癬菌を用いて抗菌作用を検討した結果、顕著な抗真菌効果を示した。また、ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」及びケトコナゾールローション2%「イワキ」と標準製剤（クリーム剤、2%）の抗真菌作用に有意差は認められず、両剤の生物学的同等性が確認された。

[試験方法]

被験物質 15 g を滅菌チューブに入れ、各菌液 0.15mL ずつを接種し、混和後 30°C でインキュベートし、菌接種 5、10、20、30、及び 60 分後にそれぞれ試料 2 g を採取した。採取液を 2mL の生理食塩液に懸濁後、30°C で 1 週間培養し、生菌数を計測した。(n=6)

使用菌種

皮膚糸状真菌	酵母糸状菌	癬菌
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Malassezia furfur</i>
<i>Microsporum canis</i>		
<i>Epidermophyton floccosum</i>		
<i>Trichophyton rubrum</i> (クリームのみ)		

被験物質

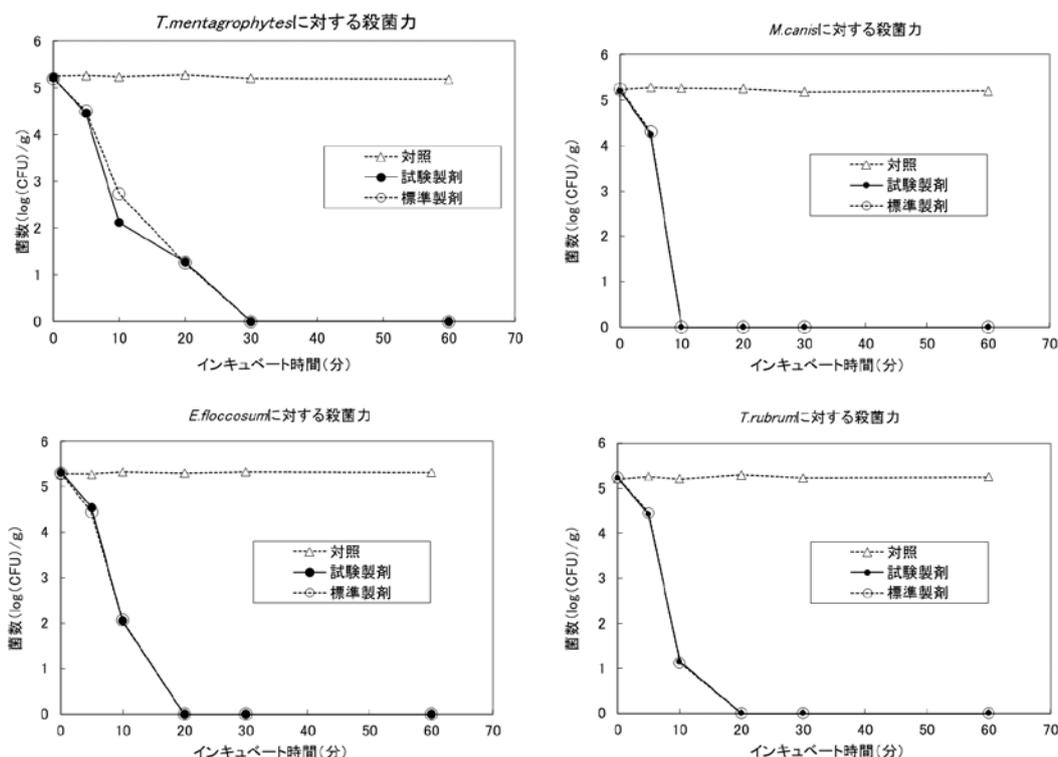
クリームの試験	ローションの試験
<ul style="list-style-type: none"> 試験製剤：ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」 試験製剤 基剤 ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」標準製剤（クリーム剤） 	<ul style="list-style-type: none"> 試験製剤：ケトコナゾールローション2%「イワキ」 試験製剤 基剤 ケトコナゾールローション2%「イワキ」標準製剤（クリーム剤）※

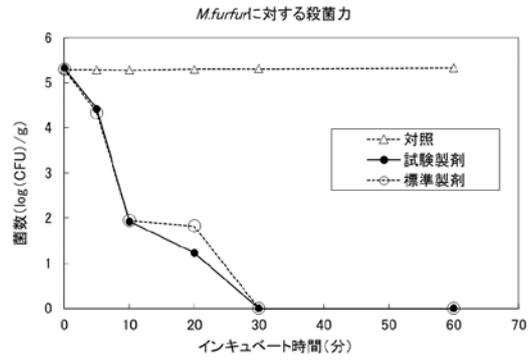
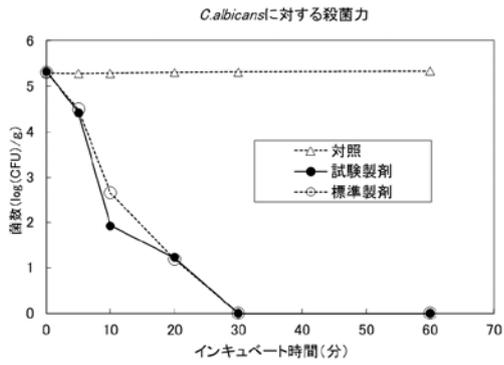
※ローション開発時に同剤形の製品が発売されていなかったため、ローションの実際の標準製剤は同成分のクリーム剤（ケトコナゾールクリーム2%「イワキ」の標準製剤と同じ）である。

[結果]

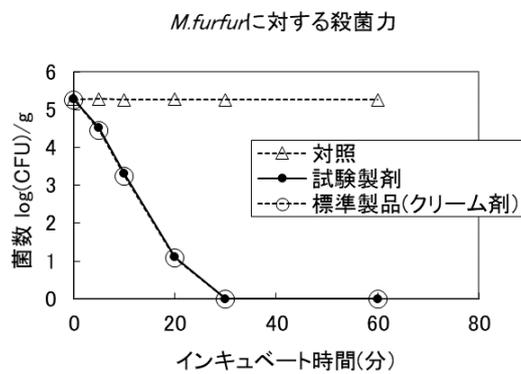
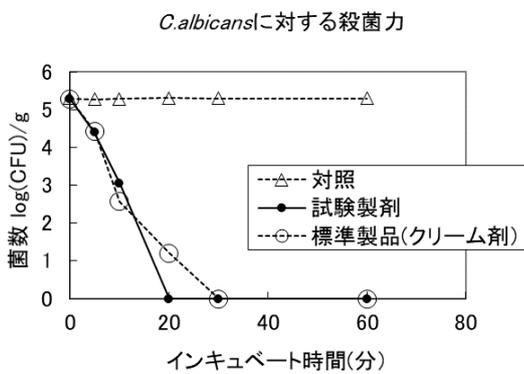
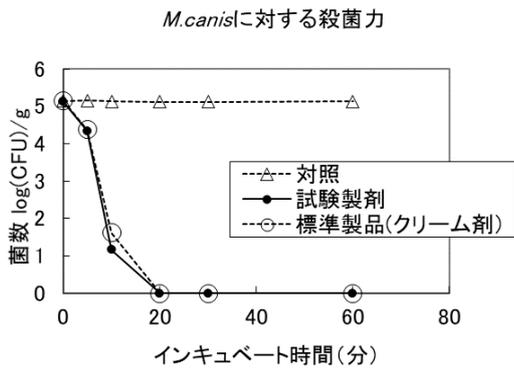
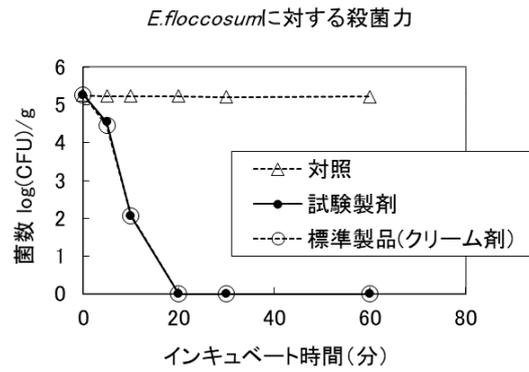
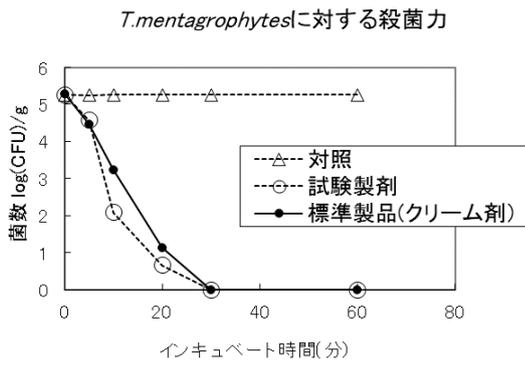
クリーム、ローション及びその標準製剤ともに 5 分で生菌数の減少が認められ、その後 20 分～30 分の間には生菌数を認めなかった。対象群と比較し、有意な生菌数の減少が認められた。また、クリームとその標準製剤、ローションとその標準製剤の間に有意な差を認めなかった。次に結果をグラフで示す。

[クリーム] グラフ 抗真菌作用 (in vitro)





[ローション] グラフ 抗真菌作用 (*in vitro*)



以上