

テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」の生物学的同等性試験に関する資料

テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」（富士製薬工業株式会社）と標準製剤の生物学的同等性について、皮膚糸状菌、酵母糸状菌及び癬風菌の標準菌株に対する抗真菌作用を指標に検討（*in vitro*）、モルモットを用いた実験的白癬菌感染症に対する治療効果及び、実験的脂漏性皮膚炎に対する治療効果により検討を行った。

<効力を裏付ける薬理作用についての比較試験>

テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」と標準製剤について、*in vitro*において多く使用される最小発育阻止濃度を指標として抗菌活性を比較した。

1. 試験条件

- ・試験製剤 テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」（富士製薬工業株式会社）
- ・標準製剤
いずれも1g中、テルビナフィン塩酸塩を10mg含有する。
- ・基剤 テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」基剤のみ
- ・使用菌株 テルビナフィン塩酸塩は糸状菌（特に白癬菌）、カンジダ属酵母菌および癬風菌に優れた抗真菌作用を示すことから以下の5つの菌を選定した。
 - 皮膚糸状菌 Trichophyton mantagrophytes：(財)発酵研究所 IFO No. 32410
 - Microsporum canis：(財)発酵研究所 IFO No. 32464
 - Epidermophyton floccosum：(財)発酵研究所 IFO No. 32461
 - 酵母糸状菌 Candida albicans：(財)発酵研究所 IFO No. 10108
 - 癬風菌 Malassezia furfur：(財)発酵研究所 IFO No. 0656

2. 試験結果

最小発育阻止濃度（MIC）の結果を表に示した。

3. 考察

表1に示すように、各菌株におけるMIC値はテルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」と標準製剤の最小発育阻止濃度（MIC）はほぼ等しかった。この結果から、両製剤は生物学的に同等であると判断した。

表. 最小発育阻止濃度（MIC）の結果

菌 株	製 剤	MIC 値 (μg/mL)
皮膚糸状菌 Trichophyton mantagrophytes	テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」	0.10~0.20
	基剤のみ	>100
	標準製剤	0.10~0.20
皮膚糸状菌 Microsporum canis	テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」	0.78~1.56
	基剤のみ	>100
	標準製剤	0.78~1.56
皮膚糸状菌 Epidermophyton floccosum	テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」	6.25~25
	基剤のみ	>100
	標準製剤	12.5~25
酵母糸状菌 Candida albicans	テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」	6.25~25
	基剤のみ	>100
	標準製剤	6.25~25
癬風菌 Malassezia furfur	テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」	1.56~3.13
	基剤のみ	>100
	標準製剤	1.56~3.13

＜モルモットの実験的白癬菌感染症に対する治療効果による比較試験 (in vivo) ＞

テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」と標準製剤について、モルモットの実験的白癬菌感染症に対する治療効果による比較試験 (in vivo) で効力を裏付ける薬理作用についての比較試験を行った。

1. 試験条件

- ・試験製剤 テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」(富士製薬工業株式会社)
- ・標準製剤
- ・基剤 テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」基剤のみ
- ・対照 (無処置群)

試験動物：8週齢Hertley系モルモット雄性，1群10匹の4群

試験方法：モルモットの背部の被毛を電気バリカン及び除毛クリームを用いて除毛した。除毛部位に約2cm角片のガムテープを貼り付け、ただちに勢よくはがす操作を4～6回繰り返して皮膚の角質層を除去した(ストリッピング)。ストリッピング部位に、Trichophyton mantagrophytes 菌液(2×10⁷孢子/mL)を50μL接種した(0日目)，菌接種部位は、1個体につき1箇所とした，菌接種5日目より両製剤を300μg/body，1日1回14日間連続で塗布した。対照群には塗布を行わなかった。菌接種翌日より標準製剤塗布終了翌日まで，菌接種部位を肉眼的に観察し，下記の病変スコアをつけた。被験製剤塗布終了翌々日，モルモット全例をエーテル麻酔下で致死させ，背部皮膚を摘出後，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，クロラムフェニコール(400μg/mL)及びカナマイシン(50μg/mL)添加サブロー寒天培地上に置き，27°Cで14日間培養して菌集落の有無を調べ，次式に従い切片陽性率を算出した(逆培養)。

《病変度の評価基準》

- 0：局所病変が全く認められない状態。
- 1：少数個の小さな紅斑性丘疹が島状に点在する状態。
- 2：紅斑が感染部位全面に拡大し，しかも部分的に強い紅斑，炎症，表皮剥離などの症状が認められる状態，
- 3：感染部位の中で部分的に痂皮形成が認められる状態。
- 4：厚い痂皮形成及び出血性膿瘍を伴って，病変が極期に達した状態。

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

2. 試験結果

病変スコア結果を図1に，逆培養試験結果を図2に示す。

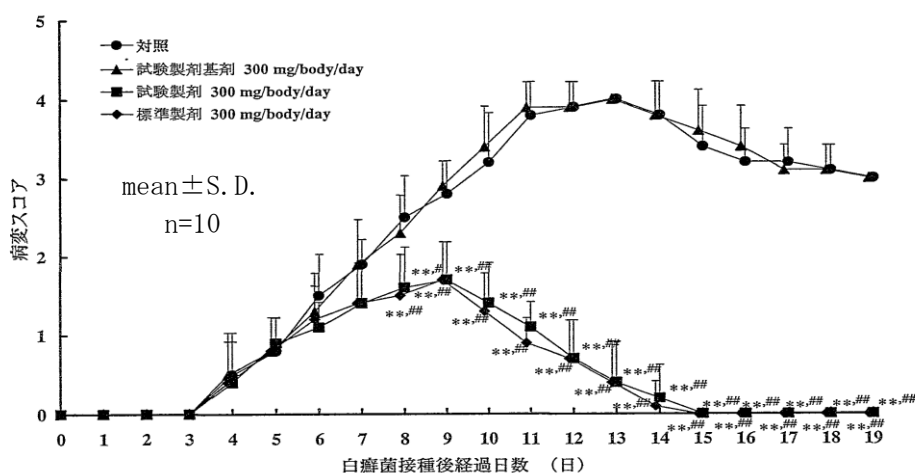


図1. 病変スコア (実験的白癬菌感染症)

**₁, p<0.01: 対照群と比較して tukey の多重比較検定で有意差あり。

#₁, p<0.05, ##₁, p<0.01: 試験製剤基剤群と比較して tukey の多重比較検定で有意差あり。

試験製剤及び標準製剤群間に tukey の多重比較検定で有意差なし。

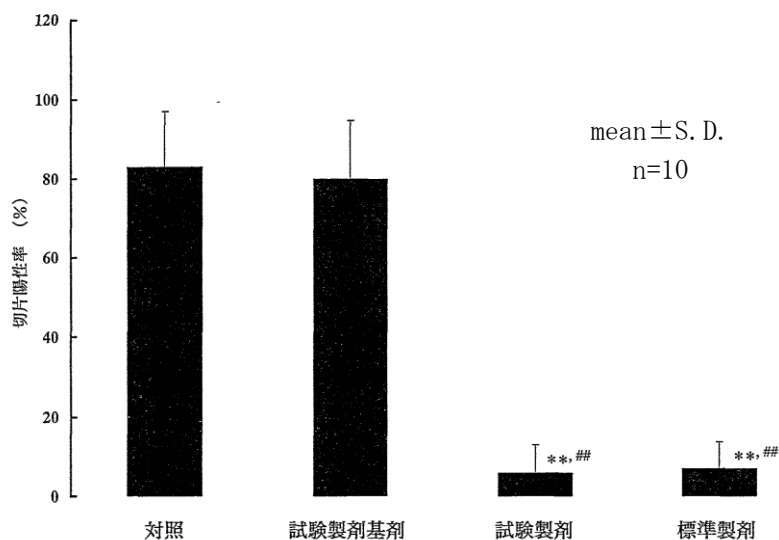


図-2. 逆培養試験結果 (実験的白癬菌感染症)

** , $p < 0.01$: 対照群と比較して tukey の多重比較検定で有意差あり.

, $p < 0.01$: 試験製剤基剤群と比較して tukey の多重比較検定で有意差あり.

試験製剤及び標準製剤群間に tukey の多重比較検定で有意差なし.

(1) 病変スコア

対照群は、菌接種4日目から徐々にスコアが増加し、13日目には最大値4.0を示した。その後徐々に減少し、19日目には3.0を示した。試験製剤、基剤投与群は、対照群とほぼ同様に推移した。試験製剤投与群は、4日目から徐々にスコアが増加し、9日目には最大値1.7を示し、その後徐々に減少した。また、8日目以降、対照及び試験製剤、基剤投与群と比較して有意な低値を示した。標準製剤投与群は、4日目から徐々にスコアが増加し、試験製剤投与群とほぼ同様に推移し、8日目以降、対照及び試験製剤基剤投与群と比較して有意な低値を示した。試験製剤及び標準製剤投与群間に有意差は認められなかった。

(2) 逆培養試験

対照群の切片陽性率は83.0%を示した、試験製剤基剤投与群では80.0%を示した。試験製剤及び標準製剤投与群については、それぞれ6.0及び7.0%を示し、いずれも対照及び試験製剤基剤投与群と比較して有意な低値を示した。試験製剤及び標準製剤投与群間に有意差は認められなかった。

3. 考察

本試験は、モルモット実験的白癬菌感染モデルを用いて、テルピナフィン塩酸塩クリーム1%「F」の白癬菌に対する作用について検討し、標準製剤との生物学的同等性を検討することを目的とした。病変スコアについて、対照及び試験製剤基剤投与群では、観察期間中に病変の進行が認められた。これに対し試験製剤投与群では、その進行が抑制され、8日目以降は、対照群と比較して有意にスコアの低下が認められた。標準製剤投与群についても、ほぼ同様であった。逆培養試験の結果においては、対照群では切片陽性率が83.0%を示し、試験製剤基剤投与群では80.0%を示した、これに対し、試験製剤投与群では切片陽性率が6.0%を示し、対照及び試験製剤基剤投与群と比較して有意な低値を示した。標準製剤投与群についても、ほぼ同様であった。病変スコア及び切片陽性率のいずれについても、試験製剤及び標準製剤投与群間に有意差は認められなかった。従って、モルモット実験的白癬菌感染モデルに対する治療効果を検討した結果、テルピナフィン塩酸塩クリーム1%「F」は病変の進行抑制を示し、逆培養試験では切片陽性率の顕著な低値を示した。これは、接種した白癬菌による皮膚の病変の進行を抑制し、更に感染部位の菌を死滅させたためと考えられる。また、その作用は標準製剤の作用と同等であった。以上のことから、両製剤は生物学的に同等であると判断された。

<モルモットの実験的脂漏性皮膚炎に対する治療効果による比較試験 (in vivo) >

テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」と標準製剤について、モルモットの実験的脂漏性皮膚炎に対する治療効果による比較試験 (in vivo) で効力を裏付ける薬理作用についての比較試験を行った。

1. 試験条件

- ・試験製剤 テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」(富士製薬工業株式会社)
- ・標準製剤
- ・基剤 テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」基剤のみ
- ・対照 (無処置群)

試験動物：8週齢Hertley系モルモット雄性，1群10匹の4群

被験方法：モルモットの背部の被毛を電気バリカン及び除毛クリームを用いて除毛した。除毛部位に約2cm角片のガムテープを貼り付け、ただちに勢いよくはがす操作を4～6回繰り返して皮膚の角質層を除去した(ストリッピング)。ストリッピング部位に、*Malassezia furfur*菌液(2×10⁷孢子/mL)を50μL接種した(0日目)，菌接種部位は、1個体につき1箇所とした，菌接種11日目より両製剤を300μg/body，1日1回14日間連続で塗布した。対照群には塗布を行わなかった。菌接種翌日より標準製剤塗布終了翌日まで，菌接種部位を肉眼的に観察し，下記の病変スコアをつけた。被験製剤塗布終了翌々日，モルモット全例をエーテル麻酔下で致死させ，背部皮膚を摘出後，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，クロラムフェニコール(400μg/mL)及びカナマイシン(50μg/mL)添加サブロー寒天培地上に置き，27°Cで14日間培養して菌集落の有無を調べ，次式に従い切片陽性率を算出した(逆培養)。

《病変度の評価基準》

- 0：局所病変が全く認められない状態。
- 1：少数個の小さな紅斑性丘疹が島状に点在する状態。
- 2：紅斑が感染部位全面に拡大し，しかも部分的に強い紅斑，炎症，表皮剥離などの症状が認められる状態，
- 3：感染部位の中で部分的に痂皮形成が認められる状態。
- 4：厚い痂皮形成及び出血性膿瘍を伴って，病変が極期に達した状態。

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

2. 試験結果

病変スコア結果を図3に，逆培養試験結果を図4に示す。

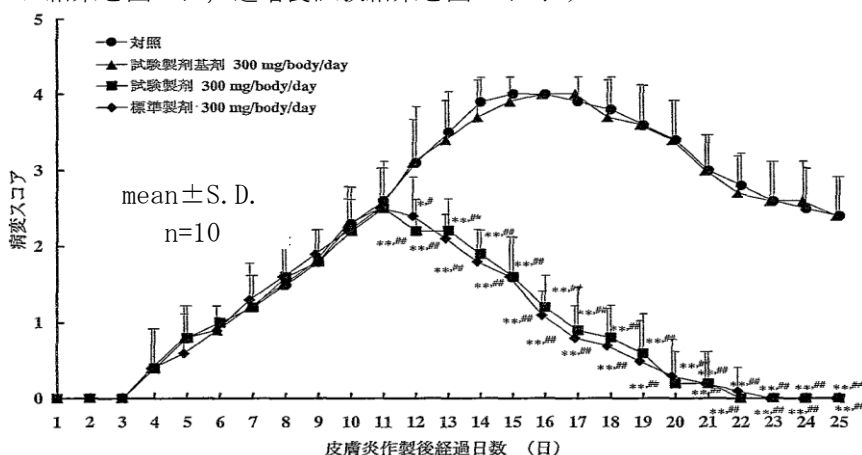


図3. 病変スコア (実験的脂漏性皮膚炎)

** , p<0.01 : 対照群と比較して tukey の多重比較検定で有意差あり。

, p<0.05, ## , p<0.01 : 試験製剤基剤群と比較して tukey の多重比較検定で有意差あり。

試験製剤及び標準製剤群間に tukey の多重比較検定で有意差なし。

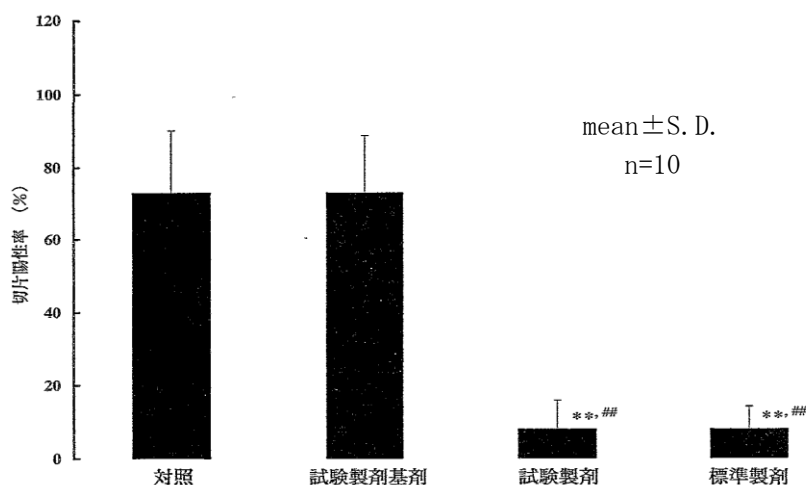


図4. 逆培養試験結果（実験的脂漏性皮膚炎）

** , $p < 0.01$: 対照群と比較して tukey の多重比較検定で有意差あり.

, $p < 0.01$: 試験製剤基剤群と比較して tukey の多重比較検定で有意差あり.

試験製剤及び標準製剤群間に tukey の多重比較検定で有意差なし.

(1) 病変スコア

対照群は、菌接種4日目から徐々にスコアが増加し、15～16日目には最大値4.0を示した。その後徐々に減少し、25日目には2.4を示した。試験製剤、基剤投与群は、対照群とほぼ同様に推移した。試験製剤投与群は、4日目から徐々にスコアが増加し、11日目には最大値2.5を示し、その後徐々に減少した。また、12日目以降、対照及び試験製剤、基剤投与群と比較して有意な低値を示した。標準製剤投与群は、4日目から徐々にスコアが増加し、試験製剤投与群とほぼ同様に推移し、12日目以降、対照及び試験製剤基剤投与群と比較して有意な低値を示した。試験製剤及び標準製剤投与群間に有意差は認められなかった。

(2) 逆培養試験

対照群の切片陽性率は73.0%を示した、試験製剤基剤投与群でも73.0%を示した。試験製剤及び標準製剤投与群については、いずれも8.0%を示し、対照及び試験製剤基剤投与群と比較して有意な低値を示した。試験製剤及び標準製剤投与群間に有意差は認められなかった。

3. 考察

本試験は、モルモット実験的脂漏性感染モデルを用いて、テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」の白癬菌に対する作用について検討し、標準製剤との生物学的同等性を検討することを目的とした。病変スコアについて、対照及び試験製剤基剤投与群では、観察期間中に病変の進行が認められた。これに対し試験製剤投与群では、その進行が抑制され、12日目以降は、対照群と比較して有意にスコアの低下が認められた。標準製剤投与群についても、ほぼ同様であった。逆培養試験の結果においては、対照群では切片陽性率が73.0%を示し、試験製剤基剤投与群では73.0%を示した、これに対し、試験製剤投与群では切片陽性率が8.0%を示し、対照及び試験製剤基剤投与群と比較して有意な低値を示した。標準製剤投与群についても、ほぼ同様であった。病変スコア及び切片陽性率のいずれについても、試験製剤及び標準製剤投与群間に有意差は認められなかった。従って、モルモット実験的脂漏性感染モデルに対する治療効果を検討した結果、テルビナフィン塩酸塩クリーム1%「F」は病変の進行抑制を示し、逆培養試験では切片陽性率の顕著な低値を示した。これは、接種した菌による皮膚の病変の進行を抑制し、更に感染部位の菌を死滅させたためと考えられる。また、その作用は標準製剤の作用と同等であった。以上のことから、両製剤は生物学的に同等であると判断された。