

色素沈着治療剤中のヒドロキノンの安定性

岸本清子*, 蓑輪佳子*, 守安貴子*,
重岡捨身*, 安田一郎*

The Stability of Hydroquinone in the Anti-pigmentation Compound

Kiyoko KISHIMOTO*, Keiko MINOWA*, Takako MORIYASU*,
Sutemi SHIGEOKA *and Ichiro YASUDA*

Keywords: 色素沈着治療剤 anti-pigmentation compound, 軟膏剤 ointment, ヒドロキノロン hydroquinone, 安定性 stability, 長期保存試験 long term testing, 加速試験 accelerated testing, 高速液体クロマトグラフィー HPLC, 赤外吸収スペクトル infrared spectra

はじめに

ヒドロキノロン軟膏はメラニン色素の生成抑制作用効果が期待され、色素沈着症の治療薬として汎用される院内製剤のひとつである。しかし、ヒドロキノロン (HQ) は容易に酸化され (図 1), 軟膏剤が褐色に変化するなど安定性確保に配慮を要する製剤であると言われている。このため、酸化防止剤の添加あるいは保存条件の検討などに関する報告がなされているが¹⁻⁵⁾, 製剤の褐色変化を解消するには至っていない。

院内製剤は市販品が存在しない等の理由から、医療機関が個別に調製消費する製剤で、薬事法の規制を直接受けなため、医療機関の自己責任の下、品質・有効性・安定性確保を図ることが求められている。

そこで今回、組成の異なるヒドロキノロン軟膏を試作し、安定性試験を実施した。安定性試験ガイドライン⁶⁾を参考とした各種 (温度, 光照射) 条件下で保存した場合の外観変化, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による HQ 含有量の変化, 赤外吸収スペクトル (FT-IR) 及び紫外可視吸収スペクトル等により品質の変化を観察した結果を報告する。

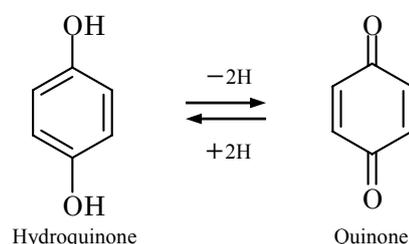


図 1. 酸化還元反応による HQ の相互変換

実験方法

1. 試薬及び試料

HQ: 和光純薬工業 (株) 製, 特級, アスコルビン酸: 日本薬局方標準品, 親水軟膏: 丸石製薬 (株) 製, 局方品, プラスチベース: 大正製薬 (株) 製, 5% ヒドロキノロン軟膏試作品: 親水軟膏を用いた軟膏 A, B, C (3 検体), プラスチベースを用いた軟膏 D, E, F (3 検体, F のみ 2%) の計 6 検体を用いた。

表 1. ヒドロキノロン軟膏の組成

A	B	C	D	E	F
ヒドロキノロン	ヒドロキノロン	ヒドロキノロン	ヒドロキノロン	ヒドロキノロン	ヒドロキノロン
親水軟膏	親水軟膏	親水軟膏	プラスチベース	プラスチベース	プラスチベース
アスコルビン酸	アスコルビン酸	アスコルビン酸	アスコルビン酸	アスコルビン酸	アスコルビン酸
無水エタノール	グリセリン	プロピレングリコール	流動パラフィン	流動パラフィン	乳酸
	無水エタノール	注射用水	ジエチルエーテル		精製ラノリン
					無水エタノール

* 東京都健康安全研究センター医薬品部医薬品研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

2. 装置

光安定性試験装置：日本医化器械製作所製 LH-100S, RTP-220, 高速液体クロマトグラフ：日本分光（株）製 GULLIVER シリーズ, フーリエ変換赤外分光光度計：島津製作所製 FTIR-8400S (全反射法, 測定範囲; 650–4500 cm^{-1}), 分光光度計：島津製作所製 UV-3100PC (測定範囲; 200–800 nm)

3. 安定性試験

1) 予備試験

(1) 溶液状態での安定性 HQ, 軟膏 A 及びアスコルビン酸を用いて, HQ 及びアスコルビン酸のそれぞれ約 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のアセトニトリル/水(1:4)溶液を調製した。

褐色及び透明のガラス容器に入れ, 冷蔵(4°C)及び室温に 2 週間保存し, HQ 及びアスコルビン酸含有量の変化を HPLC により測定した。

(2) 水分の影響 HQ10 mg, HQ10 mg+水 5 mL, 軟膏 A 0.1 g を透明のガラス容器に入れ, 加速試験条件(40°C, 75%RH, 光照射)下 1 週間保存し, 水で一定量とした溶液の HQ 含有量及び紫外可視吸収スペクトルを測定した。

(3) 基剤の影響 親水軟膏及びプラスチックベースに約 5% となるように HQ を添加し, 手動による簡易攪拌と器械攪拌による軟膏を調製した。加速試験条件で 4 週間保存し, 外観変化を肉眼及び顕微鏡により観察した。

また, アスコルビン酸添加により同条件で軟膏剤の褐色変化が防止されるかを観察した。

2) 長期保存試験

軟膏 A,B,C,D,E,F の 6 検体について, 軟膏瓶またはチューブに充填した試料を 4°C・遮光下に保存した。測定時期 (0, 12, 24 週) に各容器の表面から約 0.1g 採取し, 外観変化を観察した上で HPLC により HQ 含有量を測定した。

3) 加速試験

親水軟膏及びプラスチックベース基剤の軟膏剤各 1 検体 (A, D) について, 約 0.1 g をメスフラスコに採取し, 5 条件 ①4°C・遮光, ②25°C・遮光, ③25°C・光照射, ④40°C・遮光, ⑤40°C・光照射で保存した。測定時期 (0, 4, 12, 24 週) に外観変化を観察し, HPLC により HQ 含有量を測定した。

また, ①, ③, ⑤の条件で 48 週保存した試料について, 全反射法による FT-IR スペクトルを測定した。

4. 定量法

1) 試料溶液の調製

図 2. に従い調製し, HPLC により定量した。

2) HPLC 条件

(1) アスコルビン酸 カラム：L-column ODS 6.0 mm i.d. \times 150 mm, 温度：40°C, 移動相：メタノール/10 mM リン酸溶液(5:95), 流速：1 mL/min (tR:3.8 min), 検出波長：254 nm, 注入量：10 μL

(2) HQ カラム：L-column ODS 6.0 mm i.d. \times 150 mm, 温度：40°C, 移動相：アセトニトリル/水(1:4), 流速：0.8 mL/min (tR : 5.7 min), 検出波長：280 nm, 注入量：10 μL

結 果

1. 安定性に関する予備試験

(1) 溶液状態での安定性 HPLC 用試料溶液の状態での安定性を確認するため, HQ 及び軟膏 A を用いて HQ 約 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 5%メタノール含有 10 mM リン酸溶液を調製し, 4°C及び室温における HQ 及びアスコルビン酸含有量の変化を HPLC により測定した。その結果, 2 週間ではいずれの保存条件においても HQ 標準溶液及び軟膏溶液中の HQ の顕著な減少は認められなかった。

しかし, アスコルビン酸含有量は顕著な減少傾向が認められ, アスコルビン酸に期待される抗酸化作用は長期間の維持が危惧された。(図 3)

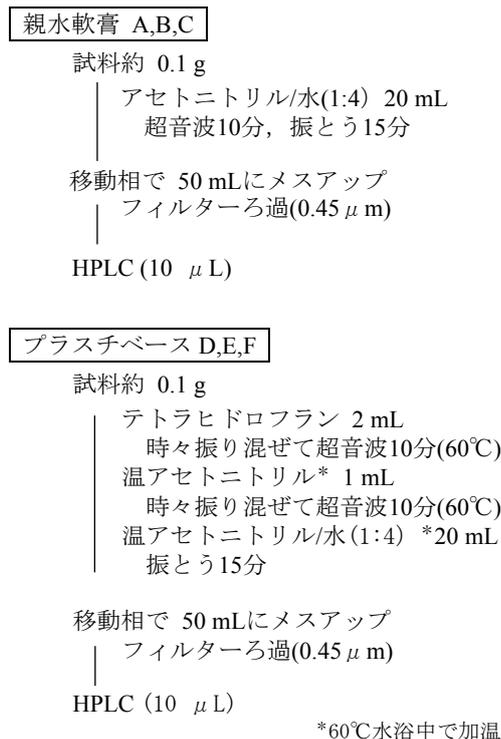


図 2. 試料溶液の調製

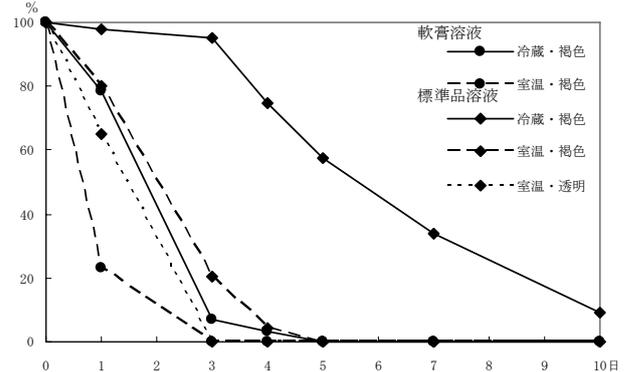


図 3. アスコルビン酸濃度変化

2) 水分の影響 水分の存在が与える影響について、HQ、HQ水溶液、軟膏Aを用いて加速試験条件(40°C, 75%RH, 光照射)における短期間(1週間)の変化を観察した。HQ及び軟膏AについてはHQ含有量の顕著な減少は認められなかった。しかし、HQ水溶液には褐色変化がみられ、HQ含有量も約10%減少した。紫外可視吸収スペクトルを測定した結果、極大吸収に大きな変化はなかったが、350nm付近の吸収に小さな肩が認められた。(図4)

これらの結果より、HQの分解等には水分の存在が大きく影響することが確認された。

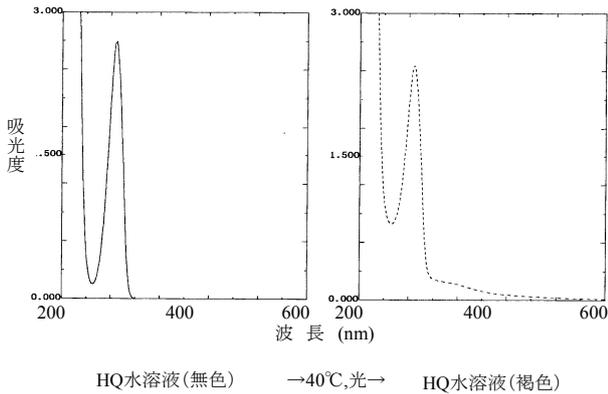


図4. ヒドロキノン水溶液の吸収スペクトル変化

3) 基剤の影響 HQを添加した親水軟膏は図5(左側)に示したように、十分に混合されていない簡易攪拌及び均質と思われる器械攪拌とも加速条件における4週後の外観変化に差はみられなかった。

HQ添加プラスチックベースに関しては、器械攪拌により調製した試料の褐色変化が簡易攪拌に比べて大きかった。

また、顕微鏡による観察からも親水軟膏の褐色変化が一樣で且つ著しいのに対し、プラスチックベースはHQが水溶性のため溶解しない結晶状態のままであり、褐色変化も少なく、攪拌の程度に応じた色調変化が観察された。(図5)

なお、これらのHQ添加基剤にアスコルビン酸を添加した場合については、予試験でも示唆されたように、加速条件保存下では軟膏剤の褐色変化は防止されなかった。

2. 長期保存試験

1) 外観変化 親水軟膏基剤、プラスチックベース基剤のいずれの試料についても、4°C・遮光条件下では、24週後で外観変化は認められなかった。

2) HQ含有量 いずれの試料についても、図6に示したように24週でほとんどHQ含有量の低下は見られなかった。

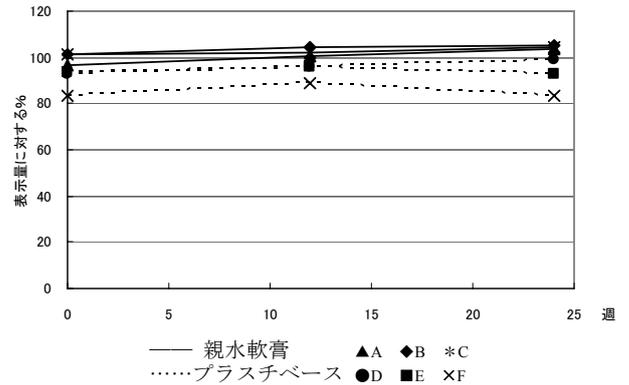


図6. 長期保存試験におけるヒドロキノン含有量の変化

3. 加速試験

1) 外観変化 親水軟膏基剤の軟膏は、加速条件においては遮光保存下でも12週以降徐々に褐色変化が見られ、25°C保存よりも40°C保存試料のほうがその傾向は顕著であった。光照射保存では、4週後で着色が観察され、遮光下に比べていずれの場合も変化が顕著であった。(図7)

プラスチックベース基剤の軟膏は、25°C遮光保存下では24週で顕著な変化は見られなかったが、40°C遮光保存下では

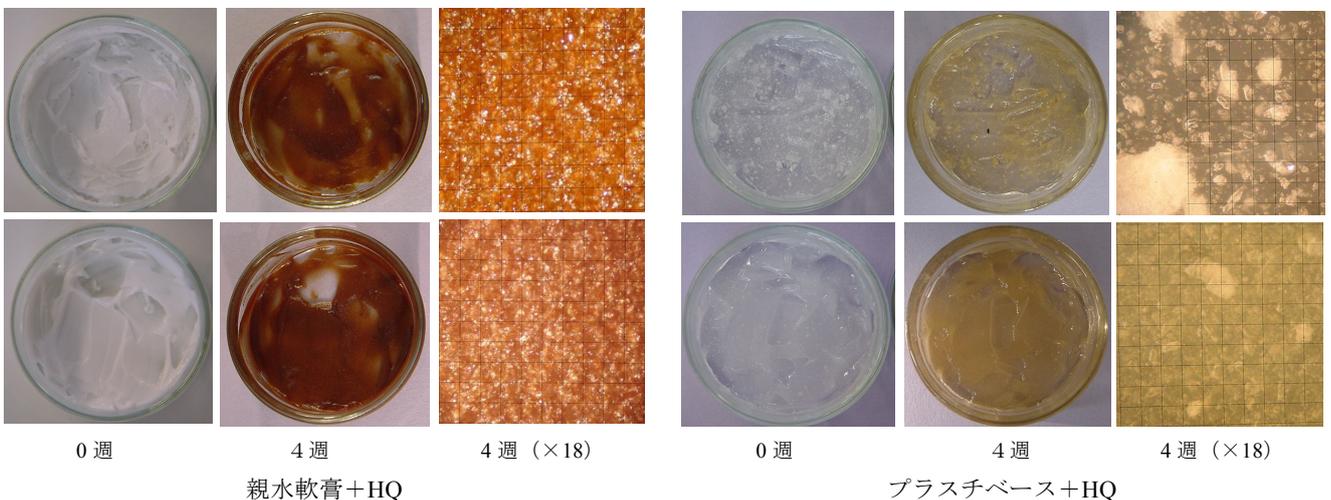


図5. 基剤の影響

上段：簡易攪拌，下段：器械攪拌

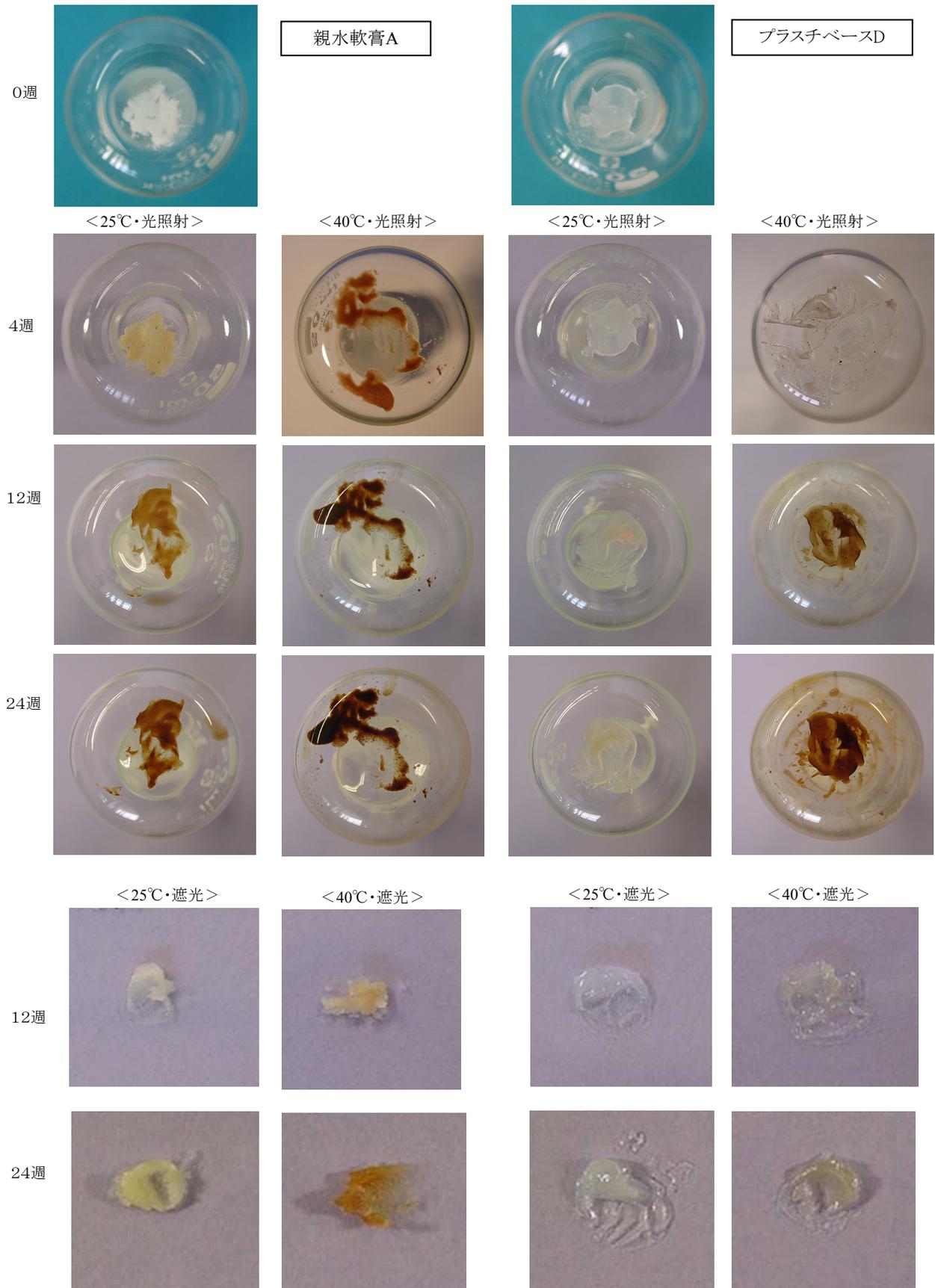


図7. 保存による外観変化

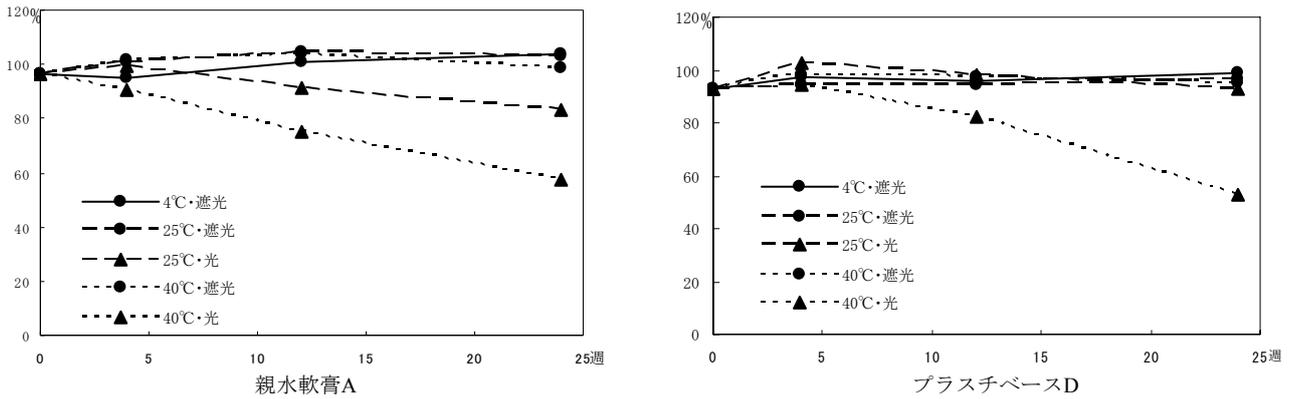


図8. 加速試験におけるヒドロキノン含有量変化

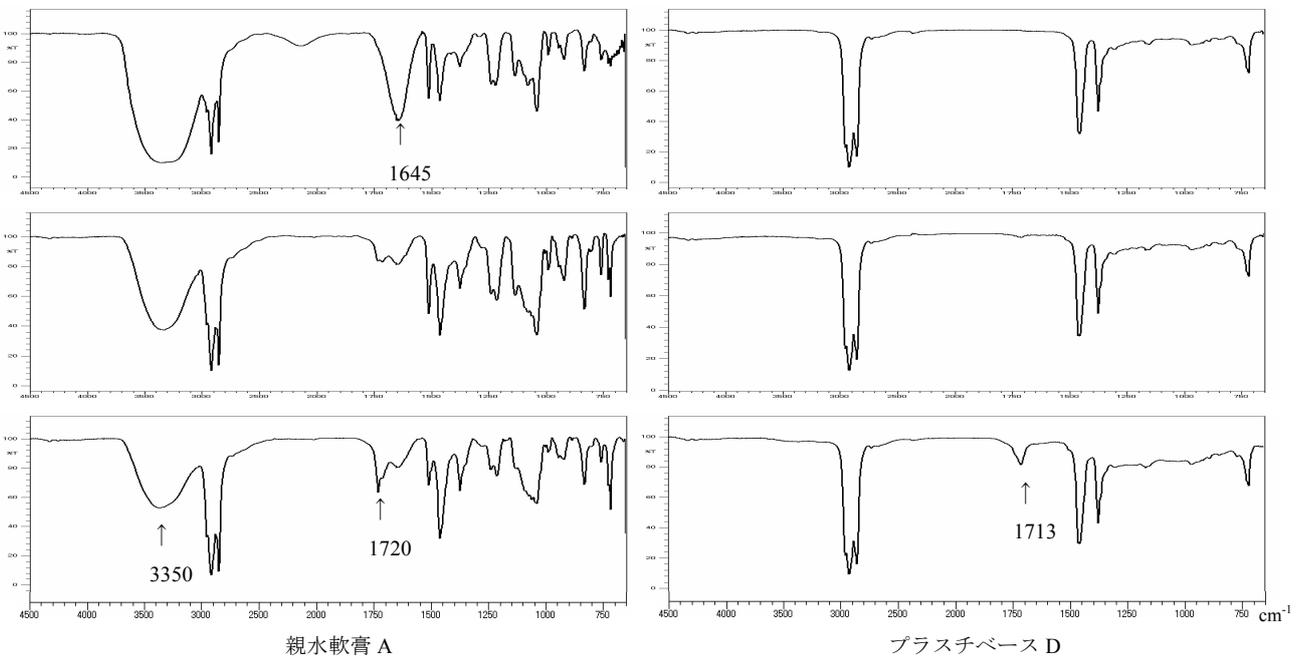


図9. 保存条件の違いによるFT-IR スペクトルの変化

上段：4°C・遮光
 中段：25°C・光
 下段：40°C・光

徐々に淡褐色に変化した。光照射保存では、4週で着色が観察され、遮光下に較べいずれの場合も変化が顕著であった。また、その度合いは保存温度に依存していた。

2) HQ含有量 図8に示したように、親水軟膏基剤の軟膏に関しては、いずれの試料についても遮光保存では温度条件によるHQの含量低下はみられなかった。しかし、光照射保存では、12週以降含量の低下が認められ、25°C保存よりも40°C保存試料のほうがその傾向は顕著であった。

また、プラスチックベース基剤に関しては、いずれの試料についても親水軟膏と同様、遮光保存では温度条件によるHQの含有量低下の違いはみられなかった。しかし、光照射保存では、25°C保存で含有量の低下は認められないが、

40°C保存試料は、12週以降顕著にHQ含有量の低下が認められた。

3) FT-IRスペクトルの変化 温度、光による軟膏の状態変化について、親水軟膏及びプラスチックベース基剤軟膏の4°C遮光と加速試験条件(25°C, 40°C, 光照射)における48週保存後のFT-IRスペクトルを図9に示した。

40°C, 光照射の過酷な条件では、親水軟膏Aでは水酸基由来の3350 cm⁻¹付近の吸収が減少し、1720 cm⁻¹付近にカルボニルの吸収が認められるようになっていく。一方、プラスチックベース基剤の軟膏Dにおいても1713 cm⁻¹にカルボニルの吸収が出現するなどの構造変化を起こしているのが明らかになっている。

考 察

以上のことから、ヒドロキノン軟膏の経時的な品質変化に関しては、UV 及び FT-IR スペクトルの変化からわかるように、光や熱によるフェノールの自動酸化により HQ が酸化されること、またキノンが一部多量体を形成していることが推測された。これらが褐色変化の一因であると考えられる。また、HQ 含有量の減少がわずかであっても、褐色変化が顕著に現れることがわかった。

また、冷蔵や室温など日常想定される保存条件において、HQ の溶解状態を考慮に入れなければ、プラスチックベースは親水軟膏に比べて HQ の減少が少なく、褐色変化の程度も少ない基剤であると思われる。

今回の結果からヒドロキノン軟膏の褐色変化を助長する要因としては光、温度、水分などが挙げられ、特に光の影響が大きいと考えられる。また、原料試薬のヒドロキノンにはフェノール類の酸化に触媒として作用する鉄を不純物として含有するものもあるため、原料は高純度のものを使用するなど製剤時及び薬剤の保管には酸化に配慮する必要があると考える。

ま と め

色素沈着症治療薬であるヒドロキノン軟膏の安定性を確認するため、親水軟膏とプラスチックベースの2種類の基剤を用いた製剤について長期保存試験、加速試験を行った。

加速条件においては温度、光に応じた褐色変化が観察され、紫外可視吸収スペクトル及び FT-IR スペクトル上でも変化が認められた。しかし、外観変化が著しいことに比べ、

HQ 含有量の低下は少なかった。分解生成物と思われるものは本 HPLC 条件下では確認できなかった。また、アスコルビン酸添加による長期間の褐色変化防止は期待できないと思われた。

長期保存試験の結果、いずれの試料についても、通常設定される貯法である冷暗所では24週間でほとんどHQ含有量の低下及び外観変化は観察されず、品質の低下は認められなかった。

謝 辞 試料の調製にご協力いただいた東京都病院薬剤師会の各位に深謝致します。

文 献

- 1) Matsubayashi, T., Sakaeda, T., and Kita, T., : *Biol.Pharm. Bull.* , **26**(1), 120 - 122, 2003.
- 2) Matsubayashi, T., Sakaeda, T., and Kita, T., : *Biol.Pharm. Bull.* , **25**(1), 92 - 96, 2002.
- 3) 河崎陽一, 森山雅弘, 五味田裕, 他 : 日病薬誌, **40**(1), 41 - 44, 2004.
- 4) 辛島直子, 安生紗枝子, 永田由紀子, 他 : 日病薬誌, **24**(7), 801 - 804, 1988.
- 5) 植田公年, 吉田弘直 : 医薬ジャーナル, **20**(10), 99 - 104, 1984.
- 6) 厚生労働省医薬局審査管理課長通知“安定性試験ガイドラインの改定について”平成 15 年 6 月 3 日医薬審発第 0603001 号(2003).