

抗生剤軟膏混合による配合変化

川本庸太,^a 田山剛崇,^b 佐和章弘,^b 門出孝美,^a 佐島 進,^a
吉岡真理,^a 三宅勝志,^b 森田修之,^b 木平健治^{*,c}

**Effect of the Admixture of Tetracycline and Nadifloxacin Ointments
on Their Stability and Their Antibacterial Activity**

Tsunetaka KAWAMOTO,^a Yoshitaka TAYAMA,^b Akihiro SAWA,^b
Takami MONDE,^a Susumu SASHIMA,^a Mari YOSHIOKA,^a
Katushi MIYAKE,^b Shushi MORITA,^b and Kenji KIHIRA^{*,c}

^aOwl Pharmacy, My Life Co., Ltd., 1-3-12 Nakadori, Kure City 737-0046, Japan,

^bLaboratory of Drug Informatics, Faculty of Pharmaceutical Science, Hiroshima
International University, 5-1-1 Hirokoshingai, Kure City 737-0112, Japan,

^cDepartment of Pharmaceutical Services, Hiroshima University Hospital,
1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8553, Japan

(Received January 25, 2008; Accepted May 7, 2008)

Impetigo contagiosa staphylogenes is commonly treated by administering a combination of nadifloxacin and tetracycline ointments. However, it is not clear whether nadifloxacin and tetracycline are stable after mixing. The purpose of this study was to evaluate the stability of these agents in combination. We also evaluated changes in antibacterial activity after mixing. Mixing the two ointments caused tetracycline to change from yellow to brown in the admixture. Furthermore, the tetracycline content in the ointment decreased in a time-dependent manner, to about 40% at 288 h after mixing. In addition, the nadifloxacin content in the ointment did not change 288 h after mixing. In an alkaline environment (pH 9.0 and 11.0), the tetracycline content decreased and the color of tetracycline changed to brown. These results suggest that sodium hydroxide, which is an additive in nadifloxacin ointment, influences the content of tetracycline. We evaluated the chemical sensitivity of *Staphylococcus aureus* using disk tests. Nadifloxacin and tetracycline ointment showed the largest radius of inhibition circle, followed by the admixture 0 h after mixing and the admixture 72 h after mixing. These results suggest that the antibacterial activity is inhibited by the admixture. We propose that pharmacists should avoid mixing nadifloxacin with tetracycline ointment in the treatment of impetigo contagiosa staphylogenes and should take care to avoid interactions caused by additives in the ointments.

Key words—tetracycline; nadifloxacin; ointment; antibacterial activity; interaction

緒 言

皮膚科領域の薬物治療において、効果の相乗・相加作用・副作用の軽減に加え、コンプライアンスの向上を目的として、軟膏剤の混合調剤が多く行われている。^{1,2)}

また、従来、伝染性膿痂疹の薬物治療において、テトラサイクリン系抗生剤軟膏が汎用されていたが、近年、伝染性膿痂疹の MRSA に対して、ニ

ューキノロン系抗生剤であるナジフロキサシン軟膏の有効性が報告され、³⁾ それらの併用療法が試みられている。

これまで、副腎皮質ホルモンを中心に、軟膏剤混合時における主薬の安定性に関して報告がなされている。⁴⁻⁸⁾ しかし、伝染性膿痂疹の治療に使用される抗生剤軟膏の混合時における主薬の安定性及びその抗菌活性については、十分な検討がなされていない。既に、テトラサイクリン系抗生剤であるミノマイシンは、pH 依存的に、その色彩及び主薬量が変化することが報告されている。⁹⁾ また、テトラサイクリン系抗生剤は炭酸水素ナトリウムとの混合によ

^aオール薬局, マイライフ(株), ^b広島国際大学薬学部医療情報学講座, ^c広島大学病院薬剤部

*e-mail: kihirak@hiroshima-u.ac.jp

り褐色に変化し、抗菌効果が減少することも知られている。¹⁰⁾ われわれは、ニューキノロン系抗生剤であるナジフロキサシン軟膏（アクアチム®軟膏）とテトラサイクリン系抗生剤であるテトラサイクリン軟膏（アクロマイシン®軟膏）を混合調剤した際に色彩変化が生じることを経験し、混合により物理的・化学的変化を生じている可能性が考えられた。本研究では、ナジフロキサシン軟膏とテトラサイクリン軟膏の混合時における両主薬の安定性及び抗菌活性に及ぼす影響に関して検討を行ったので報告する。

試薬と実験方法

1. 試薬 テトラサイクリン含有軟膏としてアクロマイシン®軟膏 [科薬㈱]、ナジフロキサシン含有軟膏としてアクアチム®軟膏 1% [大塚製薬㈱] を使用した。また、標品として、テトラサイクリン原末 [ナカライテスク㈱]、ナジフロキサシン原末 (LKT Laboratories, Inc) を用いた。さらに、標準菌株として、*Staphylococcus aureus* IFO12732 を使用した。培地は、トリプケース寒天培地 (Bio-merieux, Inc) 及び CASO 寒天培地 [メルク㈱] を使用した。

2. 軟膏中主薬含量の定量方法 各軟膏に、精製水を加え、20 mg/ml の溶液を作成し、60°C の温浴にて溶解した。その後、上層部分（油相）を取り除き、下層部分（水相）の溶液を 0.45 μm フィルターでろ過した。ろ液を精製水で 10 倍希釈後、高速液体クロマトグラフ (HPLC) (LC-10ADvp, 島津製

作所) にて各種抗生剤の濃度を測定した。なお、ナジフロキサシンは、酸性条件で不安定なため、0.1 N 水酸化ナトリウムで pH 9.0 に調整した溶液に、軟膏を溶解した。テトラサイクリンの定量は、カラム：Cosmosil 5C₁₈-MS-II (4.6 mm×150 mm) を用い、カラム温度：35°C、移動相：20 mM リン酸緩衝液：メタノール=80：20(v/v)、流速：1.0 ml/min、検出波長：254 nm の条件で行った (Fig. 1)。また、ナジフロキサシンの定量は、カラム：Inertsil ODS-3 (4.6 mm×250 mm) を用い、カラム温度：35°C、移動相：20 mM リン酸緩衝液：メタノール=45：55(v/v)、流速：0.5 ml/min、検出波長：270 nm の条件で行った (Fig. 1)。なお、本方法にて、テトラサイクリン軟膏及びナジフロキサシン軟膏中に含有される主薬含量を測定した結果、28.8±1.5 (n=5) と 9.9±0.6 mg/g (n=5) であり、医薬品のインタビューフォームに記載されている主薬含量は、テトラサイクリン (30 mg/g) 及びナジフロキサシン (10 mg/g) であった。^{11,12)}

3. 主薬含量の経時変化に及ぼす軟膏混合の検討 各種軟膏 5 g を正確に秤量したものを、等量混合し、4°C、暗所で栓を閉じた状態の軟膏壺に保存した。なお、軟膏の混合が終了し、軟膏壺に充填する直前を混合 0 時として、0, 24, 48, 72, 144, 288 時間後に、混合物を採取し、それぞれの主薬含量の定量を行った。なお、コントロールとして、テトラサイクリン軟膏と白色ワセリン、及びナジフロキサシン軟膏と白色ワセリンを等量混合したものを使用した。

4. 主薬の安定性に及ぼす pH の影響 テトラ

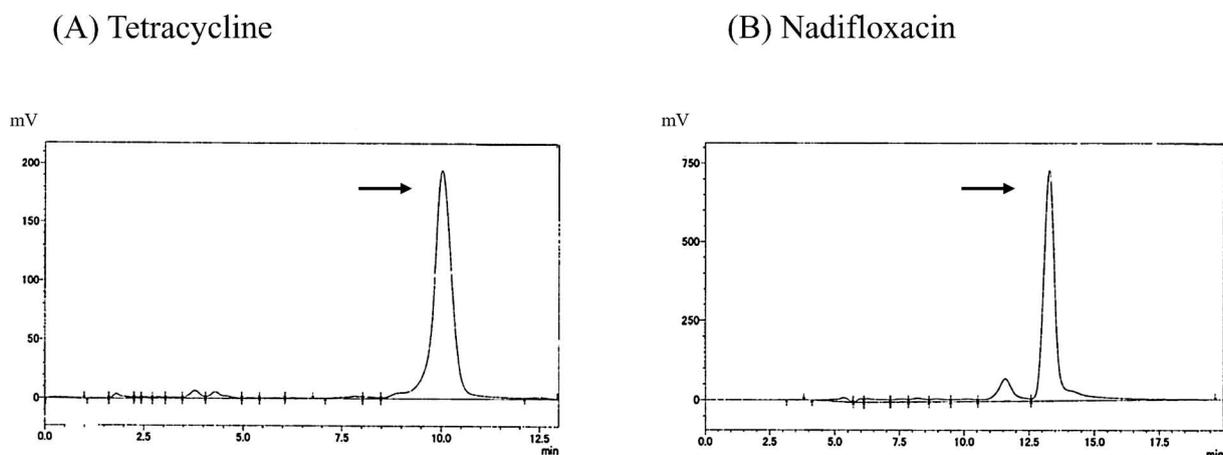


Fig. 1. Charts of Tetracycline and Nadifloxacin on HPLC

サイクリンを精製水に溶解し、0.2 mg/ml の溶液を作成した。その後、0.1 N 水酸化ナトリウム及び0.1 N 塩酸を用いて、pH を 3.0, 5.0, 7.0, 9.0, 11.0 に調整した。その後、4°C、暗所で栓を閉じた状態で保存した。なお、pH を調整した時点をも 0 時として、0, 1, 24, 48, 72, 144, 288 時間後に各溶液の濃度を測定した。また、ナジフロキサシンは、少量の dimethyl sulfoxide で溶解後、精製水にて、0.2 mg/ml の溶液を作成した。以下、テトラサイクリンと同様な方法で検討を行った。

5. 抗菌活性に及ぼす軟膏混合の影響 *S. aureus* をトリプケース寒天培地に接種し、培養 (37°C, 24 h) を行った。ついで、培地上のコロニーを McFarland が 0.5 となるように滅菌精製水で調整し、接種菌液とした。

テトラサイクリン軟膏、ナジフロキサシン軟膏、及びそれらの等量混合物、各 20 mg に精製水を加え 20 mg/ml の溶液を作成し、60°C の温浴にて溶解した。その後、脂溶部分である上層部分を取り除き、下層部分の溶液を 0.45 µm フィルターでろ過した。ろ液に滅菌精製水を加え、軟膏抽出液 (20 mg/ml) とした。

薬剤感受性試験にはディスク拡散法を用いた。すなわち、前述の方法で調整した接種菌液を滅菌棒にて CASO 寒天培地上に異なった方向から 3 回均等に塗布したのち、各軟膏抽出液を浸したディスクを置いた。培養 (37°C, 24 h) 後、阻止円半径を 2 方向から測定した。なお、等量混合軟膏は、混合直後及び 72 時間後のものを使用した。

6. 統計処理 得られた実験値は平均±標準偏差で表示し、有意差の検定は ANOVA を用いて行い、分散に差を認めた場合は、post hoc test を用いた。なお、危険率両側 5% 以下 ($p < 0.05$) を有意水準とした。

結 果

1. 混合による外観の経時変化 テトラサイクリン軟膏とナジフロキサシン軟膏を等量混合後の色彩変化を Fig. 2 に示した。混合直後では、変化が観察されなかったが、混合後 24 時間より褐色を呈し、72 時間後に、黒褐色に変化した。一方、テトラサイクリン軟膏と白色ワセリンの等量混合物及びナジフロキサシン軟膏と白色ワセリンの等量混合物では、288 時間後においても外観変化は観察されなかった (data not shown)。

2. 混合による主薬含量及び見掛けの pH の経時的变化 テトラサイクリン軟膏とナジフロキサシン軟膏を等量混合した際における両主薬の含量変化を検討した (Fig. 3)。テトラサイクリン含量は、混合後 24 時間で 85% の低下が観察され、288 時間後では 40% に低下した。一方、ナジフロキサシンは、混合 288 時間においても主薬含量の変化を認めなかった。なお、各軟膏抽出液における見掛けの pH は、テトラサイクリン軟膏 (pH 2.3)、ナジフロキサシン軟膏 (pH 12.4) であった。一方、等量混合物の見掛けの pH は、7.8 付近を示し、混合 288 時間まで一定値を示した (Fig. 4)。

3. テトラサイクリン及びナジフロキサシン濃度

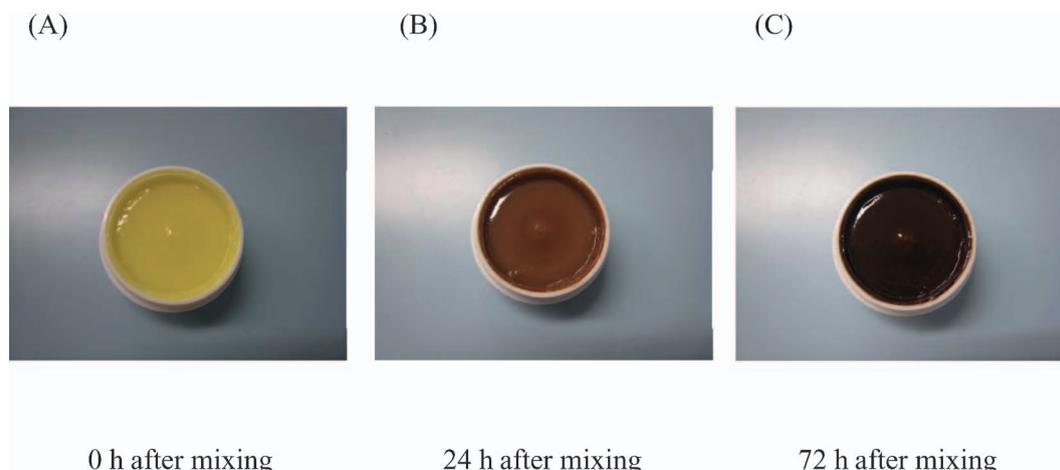


Fig. 2. Changes of Color after Mixing Tetracycline and Nadifloxacin

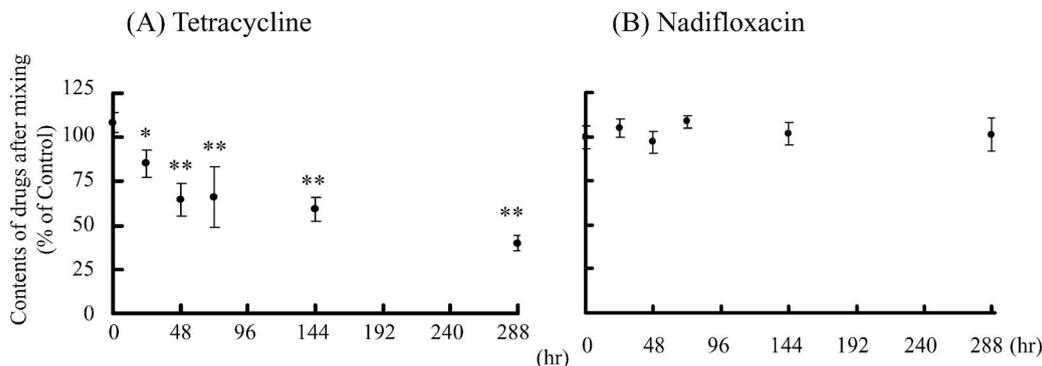


Fig. 3. (A) Changes of Tetracycline Content in the Ointment after Mixing with Nadifloxacin, (B) Changes of Nadifloxacin Content in the Ointment after Mixing with Tetracycline

Each point represents the mean \pm S.D. of 3 experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs 0 h.

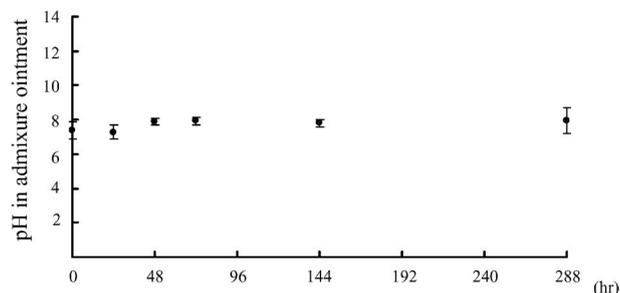


Fig. 4. Changes of pH in the Admixture Ointment (Tetracycline and Nadifloxacin Ointment)

Each point represents the mean \pm S.D. of 3 experiments.

に及ぼす pH の影響 各 pH 溶液中におけるテトラサイクリン原末の安定性を Fig. 5(A) に示した. pH 3.0, pH 5.0, 及び pH 7.0 に調整したテトラサイクリン溶液においては, 288 時間後まで, 濃度の低下は観察されなかった. 一方, アルカリ条件下 (pH 9.0, pH 11.0) では, 24 時間後より, 濃度低下が観察され, 72 時間では 56% (pH 11.0) 及び 80% (pH 9.0) を示した. また, アルカリ条件下では, 溶解直後より黄色から黒褐色への色彩変化が観察された.

ナジフロキサシン濃度は, 酸性条件に調整した 1 時間後, 25% (pH 3.0) 及び 47% (pH 5.0) を示し, 急激な低下が観察された. その後, 72 時間で 16% (pH 3.0) 及び 19% (pH 5.0) まで低下した. 一方, アルカリ条件下, 濃度低下は観察されなかった (Fig. 5(B)).

4. 抗菌活性に及ぼす軟膏混合の影響 Table 1 に, テトラサイクリン軟膏, ナジフロキサシン軟膏及びそれらを等量混合した軟膏の阻止円の直径を

示す. 阻止円は, ナジフロキサシン, テトラサイクリン > 混合直後の軟膏 > 混合 72 時間後の軟膏の順であった.

考 察

本研究では, ナジフロキサシン軟膏とテトラサイクリン軟膏の混合による主薬の安定性及び抗菌活性の変化について検討を行った.

ナジフロキサシン軟膏とテトラサイクリン軟膏の混合により, テトラサイクリン量は, 24 時間で 85% に低下し, さらに, 288 時間で 40% を示した. 一方, ナジフロキサシンは混合 288 時間後においてもその含量は変化しなかった (Fig. 3). これらの結果より, 混合によりナジフロキサシン含量は変化しないが, テトラサイクリン含量は減少することが示された.

本研究にて検討を行ったナジフロキサシン軟膏 (アクアチム軟膏® 1%) には, 主薬のナジフロキサシンに加え, 白色ワセリン, オレイルアルコール, ステアリン酸, 水酸化ナトリウムが含有されており, 一方, テトラサイクリン軟膏 (アクロマイシン軟膏®) には, 主薬であるテトラサイクリン塩酸塩に加え, 精製ラノリン, 白色ワセリン, パラオキシ安息香酸プロピル, パラオキシ安息香酸メチルが含有されている (Table 2).^{11,12)} したがって, ナジフロキサシン軟膏中の水酸化ナトリウムとテトラサイクリン塩酸塩がこの配合変化に深く関与している可能性がある.

次に, これら配合変化の要因を詳細に検討する目的で, 各 pH におけるテトラサイクリン濃度の変化

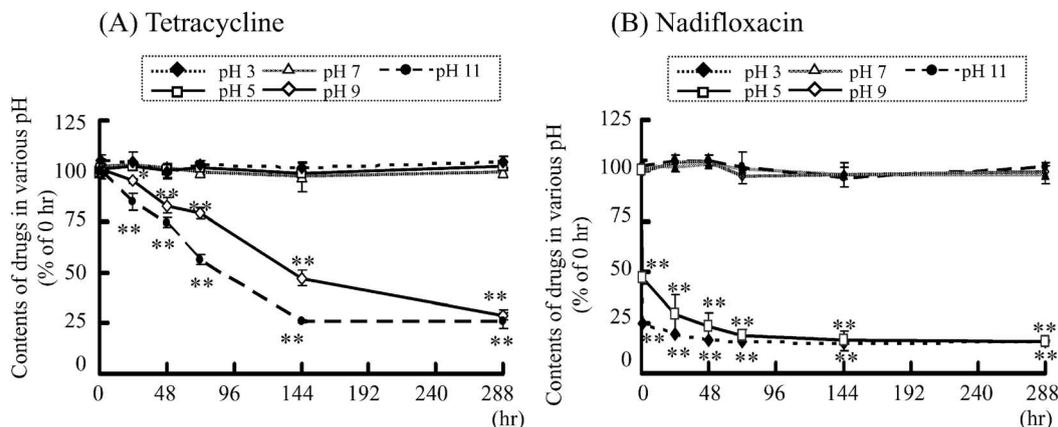


Fig. 5. (A) Changes of Tetracycline Content in Various pH, (B) Changes of Nadifloxacin Content in Various pH. Each point represents the mean \pm S.D. of 3 experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs 0 h.

Table 1. Antibacterial Activity of Admixing Nadifloxacin and Tetracycline on towards *S. aureus* (mm)

	20 mg/ml
Tetracycline	17.3 \pm 1.4**
Nadifloxacin	18.0 \pm 0.9**
Admixture after 0 h	15.5 \pm 0.8**
Admixture after 72 h	13.5 \pm 1.0

Each value represents the mean \pm S.D. of 6 experiments. $n = 6$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs admixture after 72 h.

Table 2. Additives of Tetracycline Ointment and Nadifloxacin Ointment

	Main component	Additives
Nadifloxacin ointment	Nadifloxacin	White petrolatum, oleyl alcohol, stearic acid, and sodium hydroxide
Tetracycline ointment	Tetracycline hydrochloride	Purified lanolin, white petrolatum, propyl parahydroxybenzoate, and methyl parahydroxybenzoate

を検討したところ、pH 及び時間依存的な減少が認められた [Fig. 5(A)]. さらに、テトラサイクリン原末を中性及び塩基性溶液にて溶解した際、外観が黄色から黒褐色に変化した。一方、ナジフロキサシンでは、いずれの液性においても、その色彩変化は観察されなかった。加えて、酸性条件下において、調整 1 時間後に、急激な濃度の減少を認めたが、中性・塩基性条件下では変化を認めなかった [Fig. 5 (B)]. 軟膏混合物抽出液における見掛けの pH は 7.8 を示し (Fig. 4), これらの結果は、Fig. 3 (B) に

示す軟膏混合物中のナジフロキサシン含量が低下しないことと一致する。加えて、テトラサイクリンは、アルカリ条件化において、外観色の変化やその濃度の減少が認められたことより、Fig. 2 に示す軟膏の色彩変化、及び Fig. 3 (A) に示す含量低下を生じると考えられる。

混合により主薬含量の低下を認めたことより、伝染性膿痂疹の標準菌株である *S. aureus* を用いて、その抗菌活性の変化を検討した。テトラサイクリン軟膏とナジフロキサシン軟膏を混合した際、それら単独群に比して、抗菌活性の有意な低下が観察された (Table 1). これらの結果は、pH 変化に伴う主薬含量の低下に起因した抗菌活性の減弱と考えられる。

本研究にて、テトラサイクリン軟膏とナジフロキサシン軟膏を混合することにより、抗菌活性の低下が観察され、その要因として主薬と添加剤による酸・塩基反応が関与していることを示した。したがって、これらの軟膏を混合調剤することは避けるべきと考える。しかし、これら軟膏を混合する必要がある場合は、pH 5.0-7.0 では、両主薬含量の低下が観察されなかったこと (Fig. 5) より、混合軟膏の pH を調節する必要があると考える。

今後、製薬企業は市販されている軟膏製剤に含有されている添加剤の詳細な情報を提供するべきである。加えて、われわれ薬剤師は、軟膏を混合する際、主薬のみならず添加物による配合変化も十分に注意する必要がある。

REFERENCES

- 1) Ethou T., *Hifubyou Shinryou*, **24**, 363–368 (2002).
- 2) Ohtani M., Nakai T., Ohsawa K., Kim S, Matsumoto M., Etoh T., Kariya S., Kanou S., Uchino K., *Yakugaku Zasshi*, **122**, 1153–1158 (2002).
- 3) Ozawa K., Yoshikawa K., *Gekashinryou*, **88**, 374–377 (2003).
- 4) Ohtani M., Yokoyama M., Kotaki H., Sawada Y., Iga T., *Jpn. J. Hosp. Pharm.*, **19**, 493–502 (1993).
- 5) Ohishi T., Shinagawa R., Okazaki Y., Tanabe T., *Med. Drug J.*, **29**, 1415–1424 (1993).
- 6) Nagatani K., Ohishi T., Shinagawa R., Harada Y., *J. Jpn. Soc. Hosp. Pharm.*, **26**, 45–51 (1990).
- 7) Ohishi T., Tanabe T., Shinagawa R., Yamasaki K., *J. Jpn. Soc. Hosp. Pharm.*, **12**, 1449–1450 (1995).
- 8) Ohtani M., *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, **29**, 1–10 (2003).
- 9) Goto K., Miyashita M., Hiramata A., Kato K., Sumitani S., Ohishi H., *J. Hokkaido Soc. Hosp. Pharm.*, **19**, 42 (1977).
- 10) Umezawa O., Sugihara M., “Yakuzaigaku,” eds. by Murata T., Fukuoka E., Koizumi T., Nankodo, Tokyo, 1995, p. 58.
- 11) Interview form of Acuatim cream, lotion, ointment (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.).
- 12) Interview form of Achromycin ointment (Kayaku Co., Ltd.).