市販フィトナジオン錠の製剤試験ならびに溶出におよぼすポリソルベート 80 の影響¹⁾永田マリ子, 松葉和久, 長谷川信策, 奥田哲也, 原田昌彦,
久田金春, 石嶋益男, 渡辺 淳名古屋市立大学病院薬剤部²⁾Pharmaceutical Studies on Commercial Phytonadion Tablets and
Effect of Polysorbate 80 on the Dissolution Test¹⁾MARIKO NAGATA, KAZUHISA MATSUBA, SHINSAKU HASEGAWA, TETSUYA OKUDA,
MASAHIKO HARATA, KANEHARU HISADA, MASUO ISHIJIMA and JUN WATANABEDepartment of Pharmacy, Nagoya City University Hospital²⁾

(Received December 11, 1978)

Dissolution test on 5 kinds of commercial tablets A—E of water-insoluble vitamin, phytonadion, was performed by USPX VIII method with and without a non-ionic surfactant, polysorbate 80. In addition, a study was made on the pharmaceutical properties of tablets as follows: weight variation, hardness, abrasion, content and disintegration time.

Our findings suggested that the effect of the surfactant on the dissolution of phytonadion was achieved by the enhancement of solubilization and wetting of the surface of insoluble granular particles.

In the presence of polysorbate 80 at higher levels than the critical micelle concentration (cmc), the influence of the surfactant on phytonadion dissolution varied from brand to brand, and the dissolution ratios increased with increment of the concentration of polysorbate 80 except for one case, which showed a specifically increasing tendency at the region of cmc.

However, the maximal dissolution ratio never exceeded $65.0 \pm 2.9\%$ (brand C) when the basket was rotated at 50 rpm, and $68.5 \pm 10.8\%$ (brand A) at 100 rpm after 90 min. Minimal dissolution ratios at 50 rpm and 100 rpm were 5.8 ± 2.9 and $12.6 \pm 3.2\%$ (brand D), respectively.

Keywords—phytonadion; commercial tablet; polysorbate 80; dissolution test; critical micelle forming concentration; wetting of surface of particle; surfactant

緒 言

難溶性薬物を含有する固形製剤のバイオアベイラビリティおよびバイオエクイバランスを予測する手段として、溶出試験による多くの証拠が集積されつつあるが、フィトナジオン製剤のような油状薬物を成分とした固形製剤の溶出試験は未だ報告されていない。しかし主薬が油状であるとしても固形製剤である以上他の薬物と同様に吸収の前段階で油状薬物の製剤からの放出・分散の過程が考えられる。油状薬物は消化管内で胆汁酸塩などの生理的な界面活性物質の影響を受けて乳化、あるいは可溶化されるとみられるので、そのモデル実験として、フィトナジオン製剤のポリソルベート 80 を含む溶出液への分散・溶出挙動を検討した。このような実験はそれら製剤のバイオアベイラビリティやバイオエクイバランスを *in vitro* で予測する可能性とも関連して重要な課題であると考えられる。

フィトナジオン製剤については、米国の FDA はバイオアベイラビリティ/バイオエクイバランス規則を公布し、現在 *in vivo* バイオアベイラビリティの資料提出を義務づけているが、1975 年当初の案では *in vitro* におけるバイオエクイバランス資料の要求を提案していた。また、日本国内でも現在 50 種以上のフィトナジオン錠

1) 日本薬学会第 98 年々会で発表, 岡山, 1978 年 4 月。

2) Location: 1-Aza-Kawasumi Mizuho-cho, Mizuho-ku, Nagoya, 467 Japan.

が市販されているため、今回、我々はこれら市販フィトナジオン錠から 5 mg 錠 5 種類を選び、製剤学的な性状を検討するとともに、USP XVIII 法による溶出試験およびポリソルベート 80 を含む溶出液を用いた溶出試験を行ない比較検討を試みた。

実 験 の 部

実験材料 この実験に供した 5 種類のフィトナジオン 5 mg 錠は、昭和 51 年 11 月に購入した市販品で、商品名およびメーカー、ロット番号は Table I に示した。以下 5 種類の被験錠は無作為に A, B, C, D および E 錠として表現した。

フィトナジオン標準品 (Lot No. 01052900) はエーザイ株式会社から提供を受けた。本実験ではこの標準品をエタノールに 1 mg/ml の濃度で溶解し、その 5 ml を溶出試験における被験錠の対照として用いた。

試薬 イソオクタン (E. Merck 社) は吸光度測定用を、ポリソルベート 80 は半井化学薬品社製をそのまま用いた。その他の試薬はすべて試薬特級を用いた。

硬度試験 モンサント型錠剤硬度計 (萱垣医理化工業) によって各錠剤 20 錠について測定した。

重量偏差試験 J. P. IX 錠剤重量偏差試験法に従って行なった。

磨損度試験 錠剤磨損度試験器 (萱垣医理化工業) を用い、25 rpm で各々 20 錠ずつ 10 分間回転させ、回転前と回転後の重量差を測定、3 回の平均値によって磨損度を算出した。

崩壊試験 J. P. IX 法によって萱垣医理化工業製の崩壊試験器を用いて測定した。さらに、試験液にポリソルベート 80 を 0.01% 加えて測定した。

定量法と紫外部吸収スペクトルの測定 各 1 錠を秤量してから乳鉢で粉碎し、その一定量を秤取して攪拌しながらイソオクタンで一夜抽出し、不溶性残渣を遠心分離後、249 nm の吸光度を測定して含量を求めた。各錠剤はそれぞれ 6 個測定し平均値および標準偏差を求め、さらに紫外部吸収スペクトルパターンから光分解の有無を調べた。

溶出試験 USP XVIII の溶出試験法の装置を用いて行なった。バスケット回転数は特記するものを除いて 50 rpm で行なった。試験は 5 回繰返し、平均値を求めた。

溶出液の採取位置はバスケットの中心部から横へ 4 cm 離れた位置に定めて、1分、5分、10分、20分、40分、60分 および 90 分後に 5 ml を採取し、最終的には 24 時間後にも採取した。採取した溶出液は不溶性粒子を遠心分離してその上清 4 ml を減圧乾固したのち、4 ml のイソオクタンに溶解、249 nm の吸光度からフィトナジオン量を求めて表示量に対する溶出率を算出した。

溶出液としては裸錠には精製水を、フィルムコーティング錠には J. P. IX 崩壊試験法第 1 液を用い、さらにこれらに一定量のポリソルベート 80 を添加した溶出液を用いた。

C 錠溶出後の溶出液中からのフィトナジオン回収率 C 錠を 0.01% ポリソルベート 80 溶液を用いて 90 分間溶出し、5 ml を採取して溶出量を測定するとともに、溶出液の全量 900 ml を遠心分離して全不溶性残渣を集めた。この残渣を新たな溶出液で洗浄、減圧乾固後、定量法に準じてフィトナジオン量を測定した。さらに残渣分離処理後の上清をも再度測定し、回収率を求めた。

本実験はいずれの場合も光分解を避けるため遮光し、室温で行なった。

TABLE I. Manufacturers and Lot Numbers of 5 Kinds of Commercial
Phytonadion Tablets tested in This Experiment

Brand name and manufacturer	Lot No.
Vitamin K ₁ Tablets Meiji (Meiji Seika Kaisha, Ltd.)	KVTG2
Mephyton Tablets (Nippon Merck-Banyu Co., Ltd.)	J7776
Kaywan (Eisai Co., Ltd.)	J18HA
Vitamin K ₁ "Pfizer" Tablets (Pfizer Taito Co., Ltd.)	506-291079X
Keipole Tab. (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.)	V55CD

結 果

製剤の性状

5 種類のフィトナジオン錠の硬度、重量偏差、磨損度、定量および崩壊の各試験結果を Table II および III に示した。

崩壊試験では E 錠 (フィルムコーティング錠) を除きいずれも崩壊が早く、D 錠は 2.3 ± 0.7 分であり、A, B, および C 錠も 10 分以内に崩壊した。また E 錠は他の裸錠と比べて約 31 分と長い時間を要したが、いずれの被

TABLE II. Pharmaceutical Properties of Commercial Phytonadion Tablets

Tablets	Hardness (kg) Mean $\pm$ S.D.	Weight variation (mg) Mean $\pm$ S.D.	Abrasion (%) Mean	Content ^{a)} (mg) Mean $\pm$ S.D.
A	3.09 $\pm$ 0.25	223.6 $\pm$ 2.1	0.31	5.2 $\pm$ 0.2
B	5.92 $\pm$ 0.61	349.2 $\pm$ 4.5	0.56	5.2 $\pm$ 0.2
C	9.30 $\pm$ 1.14	357.2 $\pm$ 6.6	0.31	5.1 $\pm$ 0.1
D	2.68 $\pm$ 0.40	129.0 $\pm$ 2.2	0.49	5.4 $\pm$ 0.2
E	10.01 $\pm$ 0.75	261.3 $\pm$ 4.1	0.11	5.3 $\pm$ 0.2

a) Contents were estimated by measuring optical density of isoocetan-extracts from tablets at 249 nm. In a case of tablet C, optical density of the additives was subtracted from total absorbance.

TABLE III. Disintegration Tests of Phytonadion Tablets with and without Polysorbate 80

Tablets	Disintegration time (min) ^{a)}	
	Without Polysorbate 80 Mean $\pm$ S.D.	With 0.01% Polysorbate 80 Mean $\pm$ S.D.
A	8.9 $\pm$ 0.5	4.3 $\pm$ 0.5
B	3.7 $\pm$ 0.8	3.6 $\pm$ 0.7
C	6.8 $\pm$ 1.4	7.2 $\pm$ 0.2
D	2.3 $\pm$ 0.7	2.2 $\pm$ 0.7
E	31.3 $\pm$ 2.6	30.0 $\pm$ 4.3

a) Tablet E, film-coated tablet, was tested with the first fluid of disintegration test J.P.IX and the others with purified water.

錠も J. P. IX の規定時間内に崩壊した。

つぎに、試験液に 0.01% のポリソルベート 80 を添加した場合、A 錠の崩壊時間は約 1/2 に短縮したが、他の 4 種の製剤では界面活性剤添加の影響は認められなかった。

ポリソルベート 80 非添加時の溶出試験

裸錠には精製水を、フィルムコーティング錠には J. P. IX 崩壊試験法第 1 液を溶出液として用い、USP XVIII の装置による溶出試験を試みた。フィトナジオン標準品を適用した場合、ポリソルベート 80 非添加時および 0.01% 添加時の 90 分後における定量値はそれぞれ 96.9 $\pm$ 2.4%, 94.4 $\pm$ 7.8% であった。

Fig. 1 はポリソルベート 80 非添加時における溶出試験の結果を表わす。この場合、錠剤から放出されたフィトナジオンは約 10 μ m の油滴として溶出液中に分散している状態が観察された。

A 錠のフィトナジオン放出量は 40 分後に表示量の 44.1 $\pm$ 3.7% が測定され、5 種類の被験錠のうちで最高値を示した。一方、D, E 錠では錠剤崩壊後、顆粒状のまま溶出液中に残存したり、あるいは回転バスケット内に泥状に付着する状態が認められ、これらのフィトナジオン放出量は 90 分後でも 10% 以下の測定値であった。

ポリソルベート 80 添加時の溶出試験

フィトナジオン標準品を 0.0013% ポリソルベート 80 水溶液に 36 mg/l (80 μ M) の濃度で溶解した場合は、油滴を認めないとともにその紫外吸収スペクトルパターンはイソオクタンを溶媒とした場合と同様 249 nm および 260—270 nm 附近に吸収極大を示した。また 36 mg/l (80 μ M) までのフィトナジオン濃度範囲では 249 および 270 nm での吸収はフィトナジオン濃度と比例関係にあり、臨界ミセル濃度、0.0013% (以後 cmc で表わす) 以上のポリソルベート 80 共存下の溶出試験におけるフィトナジオン 5 mg の可溶化を示した。

Fig. 2 は、ポリソルベート 80 の濃度を段階的に増加させた場合の C 錠の溶出試験結果を示す。ポリソルベート 80 の cmc, $1.3 \times 10^{-3}\%$ (25 $^{\circ}$)³⁾ 以下の濃度の共存では C 錠の溶出パターンは非添加時の場合と同様であり、

3) J.H. Fendler, E.J. Fendler, "Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems," Academic Press., Inc., New York, 1975, p. 21.

Fig. 1. Cumulative Curves of Phytonadion Released from Tablets in Dissolution Test without Polysorbate 80

These tests were performed under the condition of 50 rpm. All plots are the averages of five determinations. Dotted line shows standard solution.

●: Tablet A, △: Tablet B, ○: Tablet C,
▲: Tablet D, ×: Tablet E.

Fig. 2. Dissolution Profiles of Tablet C in Media with Various Concentration of Polysorbate 80

Dotted line shows standard solution.

Concentration of polysorbate 80 (%);

○: 0, ●: 6.5×10^{-4} , △: 1.3×10^{-3} ,
▲: 1.0×10^{-2} , ■: 5.0×10^{-2} , □: 1.0×10^{-1} .

Fig. 3. Dissolution Profiles of Phytonadion Tablets in Medium with 0.01% Polysorbate 80 under the Condition of 50 rpm

Each point is the mean of 5 results. Dotted line shows standard solution.

●: Tablet A, △: Tablet B, ○: Tablet C,
▲: Tablet D, ×: Tablet E.

Fig. 4. Dissolution Profiles of Phytonadion Tablets in Medium with 0.01% Polysorbate 80 under the Condition of 100 rpm

Each point is the mean of 5 results. Dotted line shows standard solution.

●: Tablet A, △: Tablet B, ○: Tablet C,
▲: Tablet D, ×: Tablet E.

界面活性剤の影響を認めなかった。しかし、cmc 以上では C 錠の最大溶出率は cmc 以下の場合と比較して約 3 倍の増加が認められた。

Fig. 3 および Fig. 4 はそれぞれ 50 および 100 rpm における 5 種類のフィトナジオン錠の cmc の約 7.7 倍の濃度の 0.01% ポリソルベート 80 を含む溶出液への溶出パターンを示す。バスケット回転数 50 rpm の条件の場合それぞれの溶出パターンは二つの傾向に分類された。C, A および B 錠はポリソルベート 80 非添加時に比べて溶解速度、最大溶出率共に増加傾向を示した。特に C 錠は A および B 錠に比較して cmc 領域での強い影響が観察された。しかし、D, E 錠は 0.05% 以下のポリソルベート 80 の添加ではその影響による溶出率の増加を認めなかった。

バスケット回転数 100 rpm の場合 (Fig. 4), 50 rpm と比べて各錠剤の溶出初期の溶解速度および最大溶出率はそれぞれ増加しており、その傾向は各錠剤によって異なっていた。D 錠の 90 分後の溶出率は 5.8% から 12.6% へと最も大きな増加率を示した。A 錠は 49.2% から 68.5% へ、B 錠は 42.7% から 53.4% へそれぞ

TABLE IV. Recovery of Phytonadion from Medium with 0.01% Polysorbate 80 after Dissolution Test of Tablet C

No.	Dissolved ^{a)} (%)	Adsorbed (%)	Total recovery (%)
1	87.6	15.0	102.6
2	78.2	19.7	97.9
3	76.5	19.5	96.0
4	82.5	14.2	96.7
5	82.1	15.9	98.0
Mean	81.4	16.9	98.2
±S.D.	4.3	2.6	2.6

a) Phytonadion adsorbed was extracted with isoocctan from the insoluble residue, which was collected with centrifugalizing of whole medium.

On the other hand, for the combination of the supernatant with the washings of the residue, the value of soluble phytonadion showed different value from the one previously calibrated before this treatment.

れ増加したが C および E 錠についてはバスケット回転数による有意な差を認めなかった ($p > 0.05$).

5 種類の被験錠のうちで 90 分後に最大の溶出率を示した錠剤は 50 rpm では C 錠の $65.0 \pm 2.9\%$, 100 rpm では A 錠の $68.5 \pm 10.8\%$ であったが、いずれも標準品の $94.4 \pm 7.8\%$, $99.3 \pm 2.3\%$ にはおよばなかった。

この C 錠の溶出 90 分後の溶出液全量を遠心分離によって不溶性成分と上清を分けてフィトナジオンを定量、その回収率を求めた結果を Table IV に示した。

不溶性成分中には未放出の残存フィトナジオン $16.9 \pm 2.6\%$ を、遠心分離後の全溶出液の上清からは $81.4 \pm 4.3\%$ を認め回収率は $98.2 \pm 2.6\%$ であった。この場合のフィトナジオン可溶化量は溶出試験時の測定値 $65.0 \pm 2.9\%$ より大きな値を示したが、これは全溶出液から不溶性成分を分離するための実験過程によるものと考えられる。

Fig. 5 はポリソルベート 80 の濃度と溶出率との関係を示している。A, B, C および D 錠におけるポリソルベート 80 の濃度増加に対応する溶出率 (40 分後) はそれぞれ増加傾向にあった。

しかし、溶出率の増加が界面活性剤濃度に依存する傾向は各錠剤によって異なっていた。特に C 錠の界面活性剤共存による溶出率増加傾向は cmc 領域で特異的に現われ、それ以上の濃度では溶出率は変らなかった。一方 D 錠は 0.05% ポリソルベート 80 の共存で初めて増加傾向が現われた。この場合 D 錠はポリソルベート 80 非添加時の場合と同様に 24 時間後でもバスケット内に崩壊後の錠剤が泥状となって残存しているのが認められた。また E 錠も同様な状態にあった。

考 察

フィトナジオンは脂溶性物質であり、その吸収には胆汁酸塩が必要とされ、特に胆汁の欠乏あるいは脂肪吸収の動揺時にひきおこされる重症の凝血障害が、生理的界面活性剤のフィトナジオン吸収への関与を裏付けている。⁴⁾ 一方, Hollander と Rim⁵⁾ の *in vitro* 反転腸管での実験による最近の報告によればフィトナジオンの吸収にお

Fig. 5. Relationship between Concentration of Polysorbate 80 and Dissolution

Ratio of phytonadion from 5 tablets in the condition of 50 rpm after 40 min.

●: Tablet A, △: Tablet B, ○: Tablet C, ▲: Tablet D, ×: Tablet E.

4) E. Deutsch, *Vitamin and Hormons*, **24**, 668 (1966).

5) D. Hollander, E. Rim, *Gut*, **17**, 450 (1976).

ける大量の胆汁酸塩,あるいは非イオン性界面活性剤の共存はミセル形成による可溶化能を除いて吸収への直接的な役割を持たないと述べている。

今回試験した5種類の市販フィトナジオン錠の,製剤の性状についての試験結果はいずれの項目も均一性を示し,本実験に用いた条件の範囲では品質管理面での問題点はなかった。しかし溶出試験では5種類の被験錠間に差のみられるものがあった。

被験錠の崩壊時間と溶出速度および量との間には相関が認められず,フィトナジオンの溶出の律速は錠剤崩壊後の顆粒からの放出であることが推測された。

ポリソルベート 80 非添加時あるいは cmc 以下の濃度では放出されたフィトナジオンは微細な油滴状となって試験液中に分散された。しかし cmc 以上のポリソルベート 80 添加時では溶出液中へ放出されたフィトナジオンは可溶化しており,濃度の増加に伴って溶出率は一定率まで増加傾向にありポリソルベート 80 の溶出率への影響は被験錠の種類によって大きく異なっていた。特に C 錠は cmc 領域で特異的に溶出率の増加を示した。

界面活性剤と薬物溶出の関係について,Weintraub と Gibaldi⁶⁾ は固形の難溶性薬物の場合,低濃度の非イオン性界面活性剤が薬物と溶出液間の表面張力を低下させ,粒子表面のぬれを促進することによって難溶性薬物および製剤からの溶出速度を増加させると報告している。フィトナジオン錠の場合,界面活性剤はフィトナジオンの吸着によってより疎水性が強くなっていると思われる担体賦形剤粒子表面のぬれを促進すると考えられ,さらに C 錠の cmc 領域における溶出挙動からみて油状フィトナジオンの可溶化の関与も考えられる。

今回の溶出試験の条件では界面活性剤の共存下でも 100% の溶出が得られていない。また被験錠の種類によって溶出に差がみられる。これは Solvang と Finholt⁷⁾ が述べているように個々の製剤の処方内容や工程の相異が各被験錠の溶出傾向に影響を与えているといえよう。特に D, E 錠の低い溶出率については,試験中,回転バスケット内に泥状に付着したり,あるいは粗い顆粒状に崩壊したまま回転バスケット内に滞留する現象が測定結果に影響していることも考えられる。

一方, C 錠の溶出液中に浮遊する不溶性の賦形剤粒子中に 16.9% の残存フィトナジオンを検出したことはそれぞれの被験錠に処方された賦形剤へのフィトナジオンの吸着性が溶出に影響を与えていることも考慮せねばならないことを示唆している。これらの結果はフィトナジオン錠のバイオアベイラビリティ追求を前提とした今後の製剤設計へ一つの問題点を提起している。

結 論

フィトナジオンを 5 mg 含有する市販の錠剤 5 種について製剤試験ならびにポリソルベート 80 の溶出試験におよぼす影響を検討した結果次の結論を得た。

1. 5 種類の被験錠はいずれも重量偏差,磨損度,崩壊度および定量などの製剤試験に問題点はなかった。しかし,ポリソルベート 80 添加時の溶出率には差のみられるものがあった。最大の溶出率を示した被験錠は 50 rpm では C 錠, 100 rpm では A 錠でそれぞれ 90 分後の値は $65.0 \pm 2.9\%$ および $68.5 \pm 10.8\%$ であった。最小の溶出率を示した被験錠は 50 rpm, 100 rpm とともに D 錠でそれぞれ 90 分後で $5.8 \pm 2.9\%$, $12.6 \pm 3.2\%$ であった。
2. フィトナジオンの溶出率は界面活性剤濃度上昇に伴って一般的に増大し,臨界ミセル濃度における溶出量の著しい変化は 5 種類の被験錠のうち 1 種類しか認められなかった。
3. 界面活性剤のフィトナジオン溶出への関与はフィトナジオンの可溶化にあるとともに製剤崩壊後の賦形剤粒子のぬれを促進させることが推測された。

謝辞 この研究にあたり,御助言頂きました名古屋市立大学薬学部製剤学教室 池田 憲教授,四柳智久助教授,大学院院生 富田久夫氏,またフィトナジオン標準品を提供頂きましたエーザイ株式会社に厚く感謝致します。

6) H. Weintraub, M. Gibaldi, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 1368 (1969).

7) S. Solvang, P. Finholt, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 49 (1970).