薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
104 (3) 311-315 (1984)

インシュリンの容器への吸着防止について

浅川直樹*

エーザイ株式会社製剤研究センター

Prevention of Adsorption of Insulin on Containers

NAOKI ASAKAWA*

Research Laboratories of Pharmaceutical Development, Eisai Co., Ltd.,
Kawashima-cho, Hashima-gun, Gifu, 483, Japan

(Received August 26, 1983)

Adsorption of insulin was studied by using glass ampule, silicone-coated glass ampule and polyvinylchloride tube.

Insulin was well adsorbed onto silicone-coated glass ampule and polyvinylchloride tube. It is suggested that the preferential adsorption of insulin on silicone-coated glass ampule and polyvinylchloride tube is probably the result of hydrophobic interaction between hydrophobic moieties of insulin molecule and hydrophobic portion of these containers. Phenomenon of this adsorption is assumed to be competitive interaction between hydrophobic moieties of insulin molecule and some substances on hydrophobic portion of containers.

I have tried to prevent the adsorption of insulin on containers by adding various kinds of surface-active substance which have hydrophobic group in molecule and rich solubility in water.

In conclusion, adsorption of insulin can be remarkably decreased by the slight addition of surface-active substance.

Keywords—insulin; glass ampule; silicone-coated glass ampule; polyvinylchloride tube; surface-active substance

近年インシュリンの少量持続点滴療法が推奨されるに伴い、容器への吸着¹⁾は大きな問題となっているが、未だこの防止策が見い出せていないのが現状である。このため、実用上有用な吸着防止法を検討するのは意義があると考え、一連の実験を行った。

著者は先に高感度検出が可能で、しかも迅速分析が可能な高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による簡便なインシュリンの定量法を確立し、インシュリンが水溶液中で容器に吸着する現象を HPLC を用いて追跡した。²⁾

本報告では、インシュリンの少量持続点滴療法を想定し、インシュリンの希薄濃度における吸着状態を調べ、その防止法について検討したので以下に報告する。

実 験 の 部

I) 試料および試薬 ウシ・インシュリン (シグマ社, 23.1IU/mg), メチルセルロース (MC, 信越化学株式会社), ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (HCO-60, 日光ケミカルズ株式会社), ヒドロキシプロピルセルロース (HPC-L, 日本曹達株式会社), エチレンオキサイドプロピレンオキサイド共重合体 (Pluronic-F68, 旭電化株式会社), ポリエチレングリコールソルビタンオレート (Tween-80, カオーアクタス株式会社), ソルビタンモノラウレート (SPAN-20, カオーアクタス株式会社), レシチン (大日本製薬株式会社), 塩化ナトリウム (試薬特級), 過塩素酸 (70%; 試薬特級), アセトニトリル (高速液体クロマトグラフィー用), 塩酸 (試薬特級)。

II) HPLC 装置 ポンプ; LC-3A (島津製作所), 検出器; SPD-2A (島津製作所), インジェクター; レオダイ 7125 型 (200 μ l ループ付)。

III) HPLC 条件 カラム; Nucleosil CN (5 μ , ナーゲル社, 4.6 $\times$ 150 mm), カラム温度; 30°C, 移動相; 1.4% 過塩素酸-アセトニトリル (65:35), 検出波長; UV 200 nm, 検出感度; 0.04 Auf, 流量; 1.0 ml/min。

IV) 実験方法 著者らが先に報告した HPLC 条件²⁾に従い、材質の異なる容器への吸着防止の検討を行った。なおインシュリンの濃度は少量持続点滴療法を想定し、10 IU/500 ml (0.02 IU/ml) とした。

1) インシュリン原液の調製——ウシ・インシュリン 21.2 mg (23.1 IU/mg) を精秤し、0.1 N 塩酸 1 ml を加えて溶解し、さらに水を加えて正確に 100 ml とした。この原液は 5.0 IU/ml に相当する濃度である。また原液調製に用いた容器への吸着を飽和させるため、調製後よく振り混ぜ 12 時間以上冷所に放置後、使用することにした。

2) インシュリン溶液の調製——先の報告²⁾と同様、市販の未使用の 3 ml 用ガラスアンプルおよびシリコンコートアンプルを用い、0.9% NaCl 2 ml をそれぞれのアンプルに正確にとり、さらに予めインシュリン原液で飽和させたマイクロシリンジを用いて、この溶液にインシュリン原液 8 μ l を正確に添加することにした。このインシュリン溶液の濃度は 10 IU/500 ml に相当するものである。

3) 測定方法——インシュリン溶液調製後、タッチミキサーで約 1 分間激しく攪拌後、試料溶液とした。100 μ l 用マイクロシリンジを用い、0.7% 過塩素酸-アセトニトリル混液 (70:30) を 50 μ l 正確にとり、さらに試料溶液 50 μ l を正確にとり、合せた 100 μ l を HPLC に注入した。

一方、0.7% 過塩素酸-アセトニトリル混液 (70:30) 2 ml およびインシュリン原液 8 μ l を正確に 3 ml 用ガラスアンプルにとり、1 分間激しく攪拌し標準溶液とした。その 50 μ l を正確に HPLC に注入した。

得られた各々のクロマトグラムより、ピーク高を測定し、次式を用い未吸着のインシュリンの回収率を算出した。また測定に当っては $n=2$ で行った。

$$\text{回収率 (\%)} = H/H_s \times 100$$

H ; 試料溶液のインシュリンのピーク高、

H_s ; 標準溶液のインシュリンのピーク高。

結果および考察

I) ガラス容器および輸液チューブへの吸着

1) ガラスアンプルへの吸着 0.9% NaCl 2 ml を正確にガラスアンプルおよびシリコンコートしたガラスアンプルにとり、前述のインシュリン溶液の調製の項に従って操作し、試料溶液とした。

この試料溶液を HPLC に注入し、インシュリンの回収率を求め、その結果を Fig. 1 に示した。

疎水性の大きいシリコンコートアンプルでは回収率約 30% と、ガラスアンプルの約 70% に比較して吸着は約 2 倍以上であった。この事実は、インシュリンの吸着は疎水的吸着であるとの前報に矛盾しない。すなわち、前報のガラス表面への吸着は、pH およびイオン強度にほとんど依存しなかった結果と、ガラス表面における蛋白の吸着はイオンの吸着と疎水的吸着によるものであると述べている R. S. Messing の報告³⁾ およびシリコンコート表面での蛋白の吸着は疎水的吸着によるという Mizutani 等の報告⁴⁾ と一致している。

2) 輸液チューブ (塩化ビニル製, i.d. 2×300 mm) への吸着 0.9% NaCl 2 ml を正確にガラスアンプルにとり、インシュリン溶液を調製した。調製後、正確に 50 μ l を HPLC に注入し、初期値を測定した。測定後、輸液チューブに満たし、静置した。一定時間後にサンプリングし、正確に HPLC に注入し、初期値に対する回収率

Fig. 1. Adsorption of Insulin on Glass Ampoule

Fig. 2. Adsorption of Insulin on Polyvinyl Chloride Tube

を Fig. 2 に示した.

インシュリンは時間と共に徐々に吸着し、その吸着率は 30 分間の静置で約 90% 程度と大きかった.

このことから、少量持続点滴療法での輸液チューブへのインシュリンの吸着は比較的大きいものと推測される.

II) 吸着防止法

Mizutani 等は、シリコンコート表面への洗剤の吸着について報告⁵⁾している. その中で洗剤の吸着は疎水性のシリコンコート表面と洗剤の疎水基との疎水的吸着によるものであると述べている. そこで吸着防止を検討するにあたり、インシュリンの疎水部分と添加剤の疎水部分とが容器表面の疎水点において、競合的に吸着するという現象を想定した.

吸着防止のための添加剤としては、水に対して溶解性があり、また分子内に疎水基を有するものとして界面活性剤および界面活性作用を有する化合物を選択した. いくつかの化合物において吸着防止に有効なものがあった.

1) ガラス容器への吸着防止 界面活性作用を有する化合物として、Pluronic F-68, Tween-80, HCO-60, SPAN-20, レシチン, ヒドロキシプロピルセルロース (HPC) およびメチルセルロース (MC) を選択し、0.9% NaCl で希釈し 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} および 10^{-4} % の溶液を調製した.

この溶液各々 2 ml を正確にガラスアンプルにとり、前述のインシュリン溶液の調製の項に従って操作し、試料溶液とした.

この試料溶液を HPLC に注入し、インシュリンの回収率を求め、その結果を Fig. 3 に示した.

これら界面活性作用を有する化合物を添加することにより、ガラスへのインシュリンの吸着は顕著に防止され、しかも添加濃度 10^{-3} % と極微量においても充分防止効果が認められた.

2) シリコンコートガラス容器への吸着防止 前述のガラス容器への吸着防止の項と同様に操作し、シリコンコートアンプルを用い、インシュリンの吸着防止効果について検討し、その結果を Fig. 4 に示した.

界面活性作用を有する化合物を添加することにより、シリコンコートアンプルへの吸着は顕著に防止され、ガラスアンプルと同様に 10^{-3} % の添加で充分吸着防止効果が認められた. また両容器における防止効果の傾向は同じであった.

以上のように、ガラスおよびシリコンコートと性質の異なった容器においても、極微量の界面活性作用を有する化合物を添加することにより、インシュリンの吸着は防止可能となった.

Fig. 3. Adsorption of Insulin on Glass Ampule

A: 0.1%,
B: 0.01%,
C: 0.001%,
D: 0.0001%.

Fig. 4. Adsorption of Insulin on Silicone-Coated Glass Ampule

A: 0.1%,
 B: 0.01%,
 C: 0.001%,
 D: 0.0001%.

Fig. 5. Adsorption of Insulin on Polyvinyl Chloride Tube

A: 0.01%,
 B: 0.001%.

これは容器の疎水点で、インシュリンの疎水部と界面活性作用を有する化合物の疎水基とが競合的な疎水吸着現象にあり、界面活性作用を有する化合物の疎水基の方が優位に容器の疎水点と吸着し、インシュリンの吸着が抑制されたものと考えられる。

3) 輸液チューブへの吸着防止 界面活性作用を有する化合物の添加による輸液チューブへの吸着防止効果を検討した。

インシュリンは Fig. 2 で見られたように、輸液チューブに時間と共に吸着したため、輸液チューブに試料溶液を満した後、正確に 15 分後にサンプリングし、HPLC に 50 μ l を正確に注入した。

また界面活性作用を有する化合物の添加濃度は 10^{-2} および $10^{-3}\%$ で行い、その結果を Fig. 5 に示した。本実験の結果では、界面活性作用を有する化合物の添加は輸液チューブに対しても、顕著な防止効果を示した。 $10^{-2}\%$ の添加では SPAN を除くと、ほとんど 90% 以上のインシュリンを回収することが可能となった。

また界面活性作用を有する化合物の種類により、吸着防止効果の差が見られたが、この原因については不明である。

ま と め

インシュリンは疎水性の大きい容器、例えばシリコンコート容器および塩化ビニール容器に比較的よく吸着した。これはインシュリンの吸着の主因は疎水的吸着によるものと考ええる。しかし、これらへの吸着は界面活性作用を有する化合物のわずかの添加により、容易に吸着を防止することが可能となった。

謝辞 本研究に際し、御指導・御助言をいただきました当社製剤研究センター長・三宅康夫博士、ならびに本論文に関し御校閲をいただきました名古屋市立大学薬学部 池田 憲教授に心から感謝致します。

引用文献および注

- 1) a) 岡本博夫, 菊地武夫, 谷沢久之, 薬剤学, **39**, 107 (1979); b) 小川尚徳, 麻酔, **29**, 581 (1980); c) F. P. Mitrano, D. W. Newton, *Am. J. Hosp. Pharm.*, **39**, 1491 (1982).
- 2) 浅川直樹, 津野昌紀, 佐伯保治, 柿本文雄, 服部禎一, 上山政晤, 篠田愛信, 三宅康夫, 薬誌, **103**, 518 (1983).
- 3) R. A. Messing, *J. Non-Cryst. Solids*, **19**, 277 (1975).
- 4) a) T. Mizutani, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 1102 (1978); b) T. Mizutani, A. Mizutani, *J. Polymer Sci.*, **68**, 129 (1980); c) T. Mizutani, *J. Chromatogr.*, **196**, 485 (1980); d) T. Mizutani, K. Wagi, Y. Terai, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 1182 (1981); e) T. Mizutani, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 493 (1981); f) T. Mizutani, *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**, 608 (1982).
- 5) T. Mizutani, R. Hiramatsu, *J. Non-Cryst. Solids*, **41**, 283 (1980).