低温プラズマ処理による輸液用プラスチック容器への薬剤吸着抑制効果

古田陽司, 西村公一, 葛谷昌之*

岐阜薬科大学薬品物理化学教室

Effect of Plasma-Treatment on Suppression of Drug Adsorption to the Surface of Plastic Infusion Bag

Youji FURUTA, Kouichi NISHIMURA, and Masayuki KUZUYA*

Laboratory of Pharmaceutical Physical Chemistry, Gifu Pharmaceutical, University,
5-6-1 Mitahora-Higashi, Gifu 502-8585, Japan

(Received June 8, 1999)

Plastics has been widely used at the hospitals and dominates the field of the manufacture of infusion bag sets and packaging materials as a disposable product. Recently, it has been reported, however, that expected drug effects could not be obtained owing mainly to the drug adsorption to the surface of plastic bags observed when several injection drugs such as nitroglycerin, isosorbide dinitrate, diazepam, and insulin were injected mixedly into a certain plastic intravenous bags. And there is a possibility of the occurrence of chemical reactions between the added drugs and the surface of plastic bags. We also can not deny the possibility of the dissolution of softener from the plastic bags.

On the other hand, we have been working on the nature of plasma treatment of polymer surfaces by irradiation of low temperature plasma and its pharmaceutical application studies.

In this study, we obtained the data concerning the effect of plasma treatment on the reduction of adsorption of insulin to the surface of ethylene-vinylacetate (EVA) bag.

Key words—plasma treatment; plastic bag; adsorption; insulin; ethylene-vinylacetate (EVA)

緒 言

今日、プラスチックは医療の場において汎用されており、ディスポーザブル製品として輸液容器、包装材料の分野で主要な地位を占めている。しかし、ある種のプラスチック製輸液バッグに特定の注射薬、例えばニトログリセリン、¹⁻⁴⁾ 硝酸イソソルビド、⁵⁻⁷⁾ ジアゼパム、^{1, 8-10)} インスリン^{1, 11-15)}などを混注した場合、その主薬がプラスチック容器やガラス製容器に吸着を来し、たとえ外観変化がなくても、含量、力価低下によって、期待し得る薬効が得られないという問題が近年報告されている。また、混注薬がプラスチック容器内表面と化学反応を起こす可能性もあり、プラスチック容器からの可塑剤の溶出の可能性も否定できない。

かかる状況下、幸保らは1980年に6万件を超えるデータから成る注射薬の配合変化及び薬物間相互作用による力価低下をまとめた“注射薬配合変化総覧”を出版している。¹⁶⁾

プラスチック製輸液バッグの材質に対する特定薬剤の吸着による含量低下例の1つに、輸液バッグに汎用されているエチレンビニルアセテート共重合体 (EVA) へのインスリンの吸着が

あり、その吸着は約 10% 程度起こり、しかも 10 分以内に飽和に達することやポリエチレン表面への吸着は起こらないことなどが報告されている。さらに、インスリンが疎水性のアミノ基を中央部に持つ親水性タンパク化合物であることから、その吸着現象はインスリン分子表面に存在するカルボキシル基などが EVA 表面の種々の官能基との相互作用によるとする吸着機構の推定などが報告されている。¹⁵⁾ その結果、吸着防止あるいは抑制のための様々な工夫の方法が報告されてきた。¹⁷⁻²⁰⁾

一方、近年、低圧気体の放電を利用する低温プラズマ化学が各種高分子材料の表面処理及び機能性素材の新技术として、加工産業、素材産業を初めとする多くの分野で応用展開されるようになった。

Monomer structures of ethylene vinylacetate (EVA)

かかる低温プラズマによる応用技術の 1 つであるプラズマ表面処理においては、固体表面に短時間プラズマ照射すると効率よく表面フリーラジカルが生成するので、その反応性を利用して、表面架橋層の形成、表面グラフト化、表面官能基導入等の表面改質・修飾が行われている。しかしながら、生成する表面フリーラジカル種自身の動力学に関しては全く未検討であり、その分子機構に体系化された透徹理論は確立されていなかった。このような背景を受け、我々は、プラズマ表面処理の分子機構を解明するため、種々のプラズマ照射高分子（天然高分子を含む）に生成する表面フリーラジカル種の定量、構造及び反応特性などを、その ESR スペクトル測定とシミュレーション解析によって世界に先駆けて明らかにした。²¹⁻²⁷⁾ さらに、高分子構造に依存したプラズマ照射効果の解明により、固体表面加工の設計や新しい医薬学的应用研究の展開が可能になった。²⁸⁻³³⁾

これらの一連の研究結果の知見から、高分子の表面架橋反応を優勢にするアルゴンプラズマ照射は EVA フィルム表面の酸素官能基であるアセトキシ基を分解・飛散させるものと予測出来ること、及び、プラズマ表面処理は、完全に表面反応であるので、高分子のバルク特性を保持したまま、高分子の表面改質が可能であることなどから、今回、EVA 表面へのアルゴンプラズマ処理を種々の条件下で施し、親水性であるインスリンの吸着抑制効果について、高分子の分解反応を優勢にする酸素プラズマ処理と比較検討した。

実 験 の 部

1. EVA 試料及びその調製方法 EVA 製生理食塩液バッグ（テルモ生食：テルパック製造番号：970127HD テルモ社）を水洗し、風乾後 1 cm×5 cm (0.15 g) に切り揃えた。さらに、この試料表面の汚れを取り除くために、精製水 100 ml に対してコンタクトレンズ用タンパク除去剤（ALLERGAN ハイドロケア F 製造番号 EC2085）10 錠を加えて製したタンパク除去液に 3 時間浸した後、精製水、次いでエタノールで洗浄し、風乾した後デシケーター中で減圧乾燥した。なお、単位重量当たりの吸着量を測定するため、電子天秤（METTLER TOLEDO 5AB 104）を用いて、各 EVA フィルム試料を秤量した。

2. インスリン ノボリン R40 製造番号 3166365 ノボノルディスク社製。本品は、一相性の中性溶解剤であり、1 ml 中に、ヒトインスリン（遺伝子組み換え）を 40 単位含む。

3. プラズマ照射法 Fig. 1 はプラズマ照射法を示したものである。まず Fig. 1 に示したようなガラスアンプルに所定のサイズにカットした EVA フィルム (1 cm×5 cm) を入れ、これを真空ラインにつなぎ、所定圧力の Ar ガスあるいは酸素ガスを封入した。次に、40 W の出力

Fig. 1. Schematic Representation for Plasma-Irradiation

で、13.56 MHz の誘導結合方式を用いて所定の時間プラズマ照射を行った。

4. インスリン吸着量の測定 プラズマ照射後 24 時間放置したのち、EVA 試料 3.0 g を濃度（ノボリン R (40 単位/ml) 8 単位/100 ml 生理食塩液（扶桑社））のインスリン溶液に 3 時間浸し、溶液中のインスリン残量を吸光光度計（島津 UV 3100DS）にて 280 nm の吸光度より測定して、EVA 表面へのインスリンの単位吸着量を求めた。

なお、プラズマ未照射の EVA 試料へのインスリン吸着量についても、同様の方法によって求めた。

5. 接触角の測定 Ar プラズマ照射前後における EVA フィルム表面親水性の変化を観察するために、試料フィルムを 40℃ の水中に 24 時間攪拌放置し、エアーポンプにより水滴を取り除いた後、室温 25℃ において、直径 1.5 mm の水滴（蒸留水）に対する接触角をセシル・ドロップ法によって測定した。接触角の測定装置は、エルマゴニオメーター式接触角測定器 G-1 型 13-100-0 を使用した。

6. SEM アルゴンプラズマ及び酸素プラズマ処理した EVA フィルム表面状態の微少な変化を目視的に観察する目的で、走査電子顕微鏡 (SEM) (JEOL, JSMT-330A) により、プラズマ照射前後の表面を写真撮影した。（設定条件、加圧電圧：10 KV、倍率：×750）

7. ESR スペクトル測定 プラズマ照射法による材料加工の特徴の 1 つは表面反応であるので、その固体ラジカルの研究は単位重量当たりの表面積が大きい粉末試料を用いることが優位である。既にかかる多くのラジカル研究で報告しているように、²¹⁻²⁷⁾ 我々が独自に考案した再現性の高い ESR スペクトルの測定法に従って、プラズマ照射 EVA 粉末の ESR スペクトルを系統的に測定した。すなわち、先端が毛管になった 50 ml アンプルに所定量の粉末試料を入れ、Ar ガスを一定圧力下で封入する。次いで 13.56 MHz の高周波電源装置を用い、誘導結合方式によって実効出力 50 W で所定時間プラズマ照射を行った後、アンプルを反転させ、試料を毛管部に移して ESR スペクトルを測定する。

有機固体ラジカルの ESR スペクトルの測定上で注意すべきことは過度のマイクロウェーブ照射による飽和現象が起こり易いことである。そのような条件下で観測されたスペクトルはその外形の歪のため正しい知見が得られないことがある。Fig. 4 に示されたスペクトルはすべて

飽和していないことが注意深く確認されたものである。

結 果

アルゴンプラズマ照射によるインスリンの EVA 表面への吸着量 EVA フィルムへのインスリンの吸着は既に、幸保¹⁾や浅川¹⁵⁾によって詳細に検討されているが、本実験条件下での吸着率及び再現性を検討するために、プラズマ未照射 EVA フィルムへのインスリンの吸着量を調べた。その結果、本実験系におけるインスリンの含有低下量は、平均 5.1% の値が得られ、既報の吸着率より小さい数値であったが、再現性良い吸着率が観察された。そこで、本測定方法に従って、EVA フィルム表面に対して、種々の条件下で Ar プラズマ照射し、それらの試料のインスリン吸着量を測定した。その結果、Fig. 2 に示したように、極短時間の Ar プラズマ照射によって、インスリンの吸着は著しく抑制され、約 1 分以上の照射ではインスリン吸着はほぼ 100% 抑制されることが示された。なお、酸素プラズマ照射した EVA フィルム試料においても、同様の方法で測定したが、約 5% のインスリン吸着が起り、酸素プラズマには EVA フィルムへのインスリン吸着抑制効果は認められなかった。

アルゴンプラズマ照射による EVA 表面の接触角変化 Ar プラズマ照射後の EVA 表面の親水性変化を観察するため、水中及び空気中において EVA フィルムの接触角を測定した。その結果、Fig. 3 に示すようにプラズマ照射表面は未照射表面と比較して、接触角が若干低下することが示された。すなわち、Ar プラズマ照射によって表面架橋が進行するものの、表面は疎水性とはならず、むしろ若干親水性に傾くことが示された。

アルゴンプラズマ照射による EVA 表面の SEM 写真及び IR 測定 プラズマ照射 EVA 表面の形態変化を SEM 写真で観察した。その結果、Ar、酸素の両プラズマ照射前後で表面形態にはともに大きな変化は観察されなかった。また、アルゴンプラズマ照射による EVA 表面の変化の官能基の検出を IR スペクトルによって検討したが、他の多くプラズマ照射高分子のケースと同様にスペクトル的な変化は認められなかった。

アルゴンプラズマ照射 EVA の ESR スペクトル測定 Fig. 4 は、EVA 粉末試料に Ar プラズマを種々の時間照射した時の ESR スペクトルを、HDPE (高密度ポリエチレン) 及び LDPE

Fig. 2. Relative Concentration of Insulin after Treatment of Ar Plasma-Irradiated EVA Films

Fig. 3. Water Contact Angle of EVA Film after Ar 3 min-Plasma Treatment Followed by Ageing in Air for 24 h

($\triangle$), in Air; ($\blacktriangle$), in Water; ($\circ$), Virgin.

Fig. 4. Progressive ESR Spectral Changes of Plasma-Irradiated EVA Together with LDPE and HDPE

(低密度ポリエチレン) スペクトルとともに示したものである。Fig. 4 から明らかなように、EVA のスペクトル外形は、LDPE と類似している。HDPE, LDPE の両ポリエチレンの ESR スペクトル解析については、その酸素酸化反応過程も含めて既に詳細に報告している。^{24, 26)} すなわち、それらのスペクトルは複数の表面ラジカルから構成されているが、表面ラジカル生成の開始はいずれも、水素脱離による主鎖型アルキルラジカルである。然るに、LDPE は分岐構造であるため不定形部が多く、その部位での表面架橋反応が容易に進行する結果、HDPE と異なった外形のスペクトルが観測されたものである。

一方、既にプラズマ材料加工分野での多くの実験結果の集積によって、エステル基のような酸素官能基はプラズマ照射によって極めて分解脱離し易いことが明らかになっている。したがって、完全不定形の EVA においては、反応活性のアセトキシ基が優先的に脱離し、その結果、生成するラジカルは、ポリエチレンと同様の主鎖型アルキルラジカルであり、架橋反応の進行によって、LDPE 類似の ESR スペクトルが観測されたものと考えられる。

考 察

本実験結果の中で最も興味あることは、表面親水性が向上したにもかかわらず、親水性のインスリンの吸着が抑制されたことである。一般に、プラズマ表面処理によって高分子表面の親水性が向上すること（接触角の低下）はよく知られた事実であり、その機構は、高分子構造に依存して、ヒドロキシル基などの親水性酸素官能基の導入、あるいは、プラズマエッチング効果による表面粗化であることが知られている。然るに、本報告の EVA における SEM 写真の観察から、プラズマ照射前後において、その表面形態にほとんど差異が認められなかった事実から、プラズマ照射 EVA 表面の親水性の向上は酸素官能基の導入の結果と言える。

一方、前述のように我々は既に、多くのプラズマ照射高分子表面に生成するラジカルの構造を ESR スペクトル解析によって解明し、高分子構造とプラズマ表面反応の相関関係を確立している。²¹⁻²⁷⁾ それらの知見とともに、EVA の ESR スペクトルの観測結果を考慮するとき、

EVA 表面では、アセトキシ基の脱離飛散とともに、メチレン鎖部位での架橋反応が進行することは確実視できる。

したがって、インスリンの吸着抑制効果と接触角の関係を考察するに、Ar プラズマ照射によって EVA フィルム表面のアセトキシ基は脱離しインスリンの吸着は止まったものの、EVA フィルムを空気中に取り出した際、メチレン鎖の架橋部位などに生成したラジカルの一部が空気中の酸素と反応して、水酸基などの酸素官能基が導入され、接触角が僅かながら低下したものと結論づけられる。このような考えによって、プラズマ照射による親水性の向上と親水性のインスリン吸着の抑制結果を矛盾なく説明することが出来る。この事実は、浅川ら¹⁵⁾の報告のように、インスリンの吸着は EVA 表面のアセトキシ基が主要な要因であるとする考えと一致している。

このように、プラスチック製ワンデイズ輸液バッグに広く用いられている EVA へのインスリンの吸着に関する限り、短時間の Ar プラズマ照射による表面処理は、その吸着をほぼ完全に抑制し、かつその効果は持続性を持つことから、薬剤吸着抑制に対する簡便かつ有効な方法と判断される。さらに、プラズマ処理は純粋な表面反応であるので、EVA の高分子バルク特性を維持しつつ表面の改質を行うことができる技法であり、種々の医用高分子への適用も可能であると考えられる。

謝辞 注射薬、シリンジ類を供与していただいたテルモ社、ノボノルディスク社、扶桑社に深謝いたします。

引用文献

- 1) 幸保文治, 医薬ジャーナル, **24**, 2257—2265 (1988).
- 2) David M., Anton H., Dietmar M., Martha M., James E., Harvey J., Roger G., *Am. J. Hosp. Pharm.*, **37**, 201—205 (1980).
- 3) 幸保文治, 水上勇一, 関山泰司, 橋本哲哉, 三宅正一, 医薬ジャーナル, **24**, 2519—2527 (1988).
- 4) 幸保文治, 中村正明, 円堂 隆, 菅井克江, 医薬ジャーナル, **29**, 553—558 (1993).
- 5) 中島新一郎, 河野健治, 中沢一純, 薬剤学, **45**, 285—290 (1985).
- 6) 中島新一郎, 河野健治, 中沢一純, 金川久美子, 松村行栄, 吉田 豊, 栢野正則, 病院薬学, **12**, 316—321 (1986).
- 7) 幸保文治, 李 順実, 李 恵淑, 医薬ジャーナル, **23**, 1435—1447 (1987).
- 8) 矢内原洋, 村上克幸, 内田研三, 病院薬学, **11**, 328—333 (1985).
- 9) William A., Marilyn E., Cameron A., *Am. J. Hosp. Pharm.*, **36**, 505—507 (1979).
- 10) James C., Claude V., Kenneth W., *Am. J. Hosp. Pharm.*, **37**, 492—496 (1980).
- 11) Shirley W., Stephen P., Lowell G., Laurence Z., *Diabetes*, **17**, 766—771 (1968).
- 12) Clayton P., Nelson L., *Anesthesiology*, **40**, 400—404 (1974).
- 13) Whalen F. J., *Am. J. Hosp. Pharm.*, **36**, 330—335 (1979).
- 14) Hirsch J. I., *Am. J. Hosp. Pharm.*, **38**, 995—999 (1981).
- 15) 浅川直樹, 津野昌紀, 佐伯保治, 柿本文雄, 服部禎一, 上山政吾, 篠田愛信, 三宅康夫, 薬誌, **103**, 518—523 (1983).
- 16) 幸保文治, 注射薬配合変化総覧, 医薬ジャーナル社, 1980.

- 17) 永井博史, 窪田好記, 田村容子, 木村昭雄, 日本公開特許公報, JP01104264 [Chem. Abstr., 112: 104907y], 1104268 [Chem. Abstr., 112: 104903u], 1104269 (1989) [Chem. Abstr., 112: 104902t].
- 18) 中村 靖, 東雲修身, 日本公開特許公報, JP04272949 (1992) [Chem. Abstr., 118: 125845 r].
- 19) 三宅 誠, 杉山和伸, 日本公開特許公報, JP04303452 (1992) [Chem. Abstr., 118: 66954 a].
- 20) 東雲修身, 杉山和伸, 中村 靖, 落合庄司, 日本公開特許公報, JP07125159 (1995) [Chem. Abstr., 123: 85565u].
- 21) Kuzuya M., Noguchi A., Ishikawa M., Koide A., Sawada K., Ito A., Noda N., *J. Phys. Chem.*, **95**, 2398—2403 (1991).
- 22) Kuzuya M., Ito H., Kondo S., Noda N., Noguchi A., *Macromolecules*, **24**, 6612—6617 (1991).
- 23) Kuzuya M., Noda N., Kondo S., Washino K., Noguchi A., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 6505—6512 (1992).
- 24) Kuzuya M., Niwa J., Ito H., *Macromolecules*, **26**, 1990—1995 (1993).
- 25) Kuzuya M., Morisaki K., Niwa J., Yamauchi Y., Xu K., *J. Phys. Chem.*, **98**, 11301—11307 (1994).
- 26) Kuzuya M., Yamashiro T., Kondo S., Sugito M., Mouri M., *Macromolecules*, **31**, 3225—3229 (1998).
- 27) Kuzuya M., Kondo S., Sugito M., Yamashiro T., *Macromolecules*, **31**, 3230—3234 (1998).
- 28) Kuzuya M., Ito H., Noda N., Yamakawa I., Watanabe S., *DDS*, **6**, 437—441 (1991).
- 29) 葛谷昌之, フェルマシア, **30**, 511—515 (1994).
- 30) Kuzuya M., Ishikawa M., Noguchi T., Niwa J., Kondo S., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 192—195 (1996).
- 31) 葛谷昌之, 薬誌, **116**, 266—285 (1996).
- 32) 葛谷昌之, 日病薬誌, **33**, 84—85 (1997).
- 33) 葛谷昌之, 総合臨床, **47**, 3011—3012 (1998).