

Azthreonom (SQ 26,776) の体液内および組織内濃度に関する検討

出口 浩一・深山 成美・西村由紀子・西家 綾子

東京総合臨床検査センター 研究所

単環系 β -ラクタム抗生物質 Azthreonom (AZT, SQ 26,776) の組織内濃度および、いくつかの組織ホモジネート中での安定性を、円筒平板法により検討した。検定菌は *Escherichia coli* AT CC 27166, 培地は Mueller Hinton Agar Modified (Eiken) を用い、AZT 標準希釈液は 1/10 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で希釈して調製した。検体は 5 倍量の 1/10 M リン酸緩衝液を加えてホモジナイズした後、既知量の AZT を加えて室温または 5°C に保存し、経時的に力価を測定した。ラット組織 (肺, 肝, 腎, 脾) とヒト扁桃は 20°C で 24 時間は安定であったが、ヒト胆のうでは 2 時間でやや力価の低下がみられた。ラット組織とヒト扁桃は、5°C で 3~7 日間安定であった。また、ヒト胆のうホモジネートを pH 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 のリン酸緩衝液中に懸濁して、室温で 2 時間放置した場合、pH 値が高いほど AZT の回収率、および安定性に低下がみられた。これらの事実は、AZT の組織中の安定性が温度と pH (特にアルカリ側) により影響を受けることを示している。

Azthreonom (以下 AZT) は、単環系 β -ラクタム抗生剤として初めて臨床に応用され、緑膿菌を含むグラム陰性菌に対してのみ強い抗菌力をもつ¹⁻³⁾という点が注目される。その構造は Fig. 1 に示すとおりである。本報では、臨床面での薬効評価の基礎となる AZT の組織内濃度測定法、および組織ホモジネート中での安定性について報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用薬剤

AZT は日本スクイブ (株) より提供された純末 (lot No. MB 00400, 927 μg 力価/mg) を使用した。

2. 検体

1) ラット

Wister 系雄ラット 150~200g 3 匹を断頭し、放血させた後、肺, 肝, 腎, 脾を摘出し、各臓器を 3 例分まとめてホモジナイズした。このホモジネートに AZT を最終添加量が 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように加えた。検体は 5°C および室温に保存され、経時的に力価を測定した。

2) ヒト扁桃

名古屋市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室より提供された 3 例分を、それぞれホモジナイズし、AZT の最終添加濃度が 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように調製した。検体は 5°C および室温で保存し、1~7 日目までの検体は各々の保存期日に凍結し、保存期間終了後にまとめて測定を行なった。

3) ヒト胆のう

名古屋市立大学医学部第一外科学教室より提供された、

胆石症により摘出された 5 例をまとめて検体 A とし、京都大学医学部第二外科学教室より提供された、胆石症により摘出された 2 例をまとめて検体 B とした。検体 A および検体 B の残存力価は、それぞれ 10.16 $\mu\text{g}/\text{g}$ および 4.30 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。また、検体 A および検体 B の一部を control として採り、室温で 2 時間放置した後、測定を行なった。一方、残りの検体に、それぞれ新たに AZT を残存力価とは無関係に最終添加濃度が 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように加えた。したがって、初期濃度は、添加濃度 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と残存力価の和で表わされる。検体 A および B をそれぞれ小分けして、pH 6.0, 7.0, 8.0 および 9.0 のリン酸緩衝液 (以下 P.B.) に懸濁させ、室温で 2 時間放置後、測定を行なった。一方、各 pH の P.B. に AZT を 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように加えた溶液も、同様の保存条件で検討を行なった。

3. Bioassay

各保存期間終了後の組織ホモジネートは、遠心後、上

Fig. 1 Chemical structure of Azthreonom

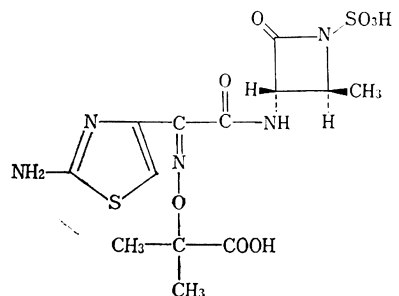
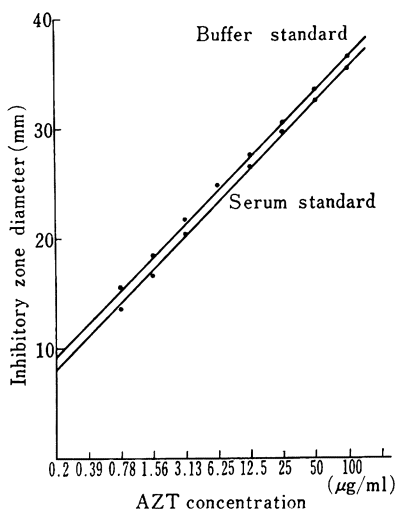


Fig. 2 Bioassay cup plate method



清濃度を以下の方法により測定した。検定菌として、*Escherichia coli* ATCC 27166, 培地は Mueller Hinton Agar Modified (Eiken) を用いてカップによる寒天平板拡散法を行なった。検量線は、1/10 M P. B. (pH 7.0) で調製した標準希釈液により作製した。上記の検定菌と培地により 1/10 M P. B. で作製された検量線でヒト尿中、胆汁中 AZT 濃度を、Monitrol I および 1/10 M P. B. で作製された検量線でヒト血中 AZT 濃度を測定することができる (Fig. 2)。

II. 実験結果

1. ラット組織ホモジネート中での AZT の安定性

5°C で保存した検体は、3日後まで力価の低下はみられなかった。一方、室温で保存した場合は、2日目まで力価の低下はみられなかった。3日目でも肺ホモジネートでは 93.8%, 肝ホモジネートでは 91.0%, 腎ホモジネートでは 91.0%, 脾ホモジネートでは 93.8% の力価を保持していた (Fig. 3)。

2. ヒト扁桃ホモジネート中での AZT の安定性

5°C で保存した検体は、7日後までも力価の低下はみられなかった。室温では1日間は安定であったが、2日目以降に急激な力価の低下がみられ、7日目には約 10% にまで低下した (Fig. 4)。

3. ヒト胆のうホモジネート中および各種 pH の P. B.

B. に懸濁した、ホモジネート中での安定性

胆のうホモジネートを室温で2時間保存した場合の力価の低下は、検体 A で 15.4%, 検体 B で 18.6% と顕著であった (Fig. 5)。この力価の低下の原因として、胆のう組織内の胆汁酸、酵素などが予想されたので、まず、各種 pH の P. B. 中での AZT の室温における安定性を検討したところ、pH がアルカリ性になるほど力

Fig. 3 Stability of Azthreonom in tissue homogenate of rat

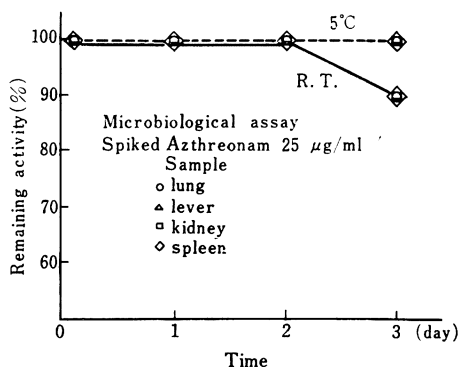


Fig. 4 Stability of Azthreonom in tonsil homogenate

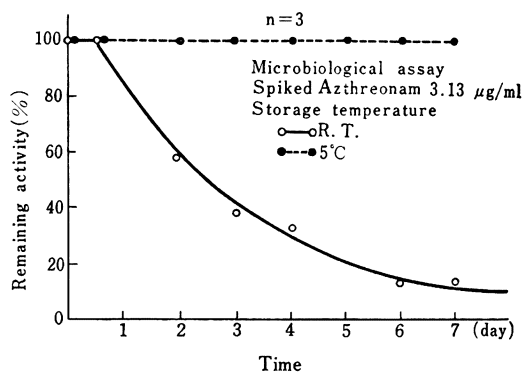
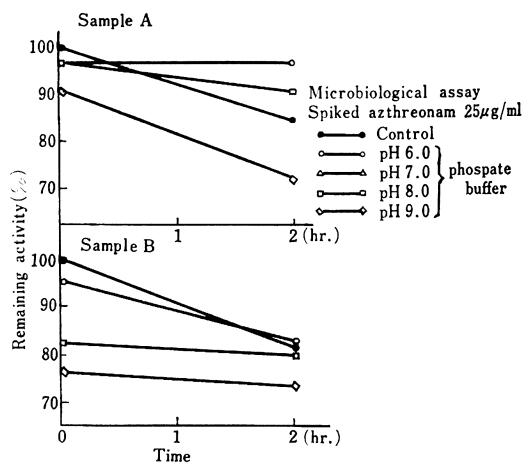


Fig. 5 Stability of Azthreonom in gallbladder homogenate suspended in phosphate buffer of various pH



価の低下がみられた (Table 1)。さらに、pH の変動と胆のう組織中の成分との両方の AZT の安定性に対する影響を検討するために、既知量の AZT を添加した胆の

Table 1 Stability of Azthreonom in phosphate buffer of various pH

pH	Spiked AZT	Remaining activity (%)	
		initial	2 hr.
6.0	25 µg/ml	100.0	100.0
7.0	25 µg/ml	100.0	100.0
8.0	25 µg/ml	96.9	96.9
9.0	25 µg/ml	96.9	93.6

うホモジネートを各種 pH の P. B. に懸濁した後、室温で2時間保存し力価を測定した (Table 2)。胆のうホモジネートを P. B. に懸濁直後の力価は、検体 A, B ともに pH が高いほど低下しており、特に検体 B では pH 8.0, pH 9.0 では 20% も力価が低下した。この傾向は、室温の2時間後ではさらに顕著になり、検体 A では pH 9.0 で 30% も低下し、検体 B では pH 6.0, 7.0 では 20% も低下した。一方、検体 B で pH 8.0, pH 9.0 では懸濁直後、力価が低下したが、2時間後にはそれ以上の低下は認められなかった。したがって、胆のう組織内での AZT の安定性は、検体によって差があり、また pH によっても影響を受けることが推察される。

III. 考察と結論

AZT の各種組織ホモジネート中での安定性を検討した。ラットの肺、肝、腎、脾ホモジネート、ヒト扁桃ホモジネート中では、AZT は 5°C で 3~7 日間安定であった。しかし、ヒト胆のうホモジネートでは、検体により差がみられ、安定性が充分とはいえない。このような検体は、より低温で (-20°C 以下) 保存し、極力早くその力価を測定することが正確な力価を与えらる。

Table 2 Stability of Azthreonom in gallbladder homogenate suspended in phosphate buffer of various pH

		Spiked AZT	Remaining activity (%)	
			initial	2 hr.
Sample A	Control	25 µg/ml	100.0	84.6
	pH 6.0	25 µg/ml	96.9	96.9
	pH 7.0	25 µg/ml	96.9	96.9
	pH 8.0	25 µg/ml	96.9	90.8
	pH 9.0	25 µg/ml	90.8	72.0
Sample B	Control	25 µg/ml	100.0	81.4
	pH 6.0	25 µg/ml	95.2	82.8
	pH 7.0	25 µg/ml	95.2	82.8
	pH 8.0	25 µg/ml	82.8	79.6
	pH 9.0	25 µg/ml	76.4	73.6

文 献

- 1) NEU, H. C. & P. LABTHAVIKUL: Antibacterial activity of monocyclic β -lactam SQ 26,776. J. Antimicrob. Chemother. 8 (suppl. E): 111~122, 1981
- 2) SYKES, R. B.; D. P. BONNER, K. BUSH & N. H. GEORGOPAPADAKOU: Aztreonam (SQ 26,776), a synthetic monobactam specifically active against aerobic Gram-negative bacteria. Antimicrob. Agent Chemother. 21: 85~92, 1982
- 3) SYKES, R. B.; D. P. BONNER, K. BUSH, N. H. GEORGOPAPADAKOU & J. S. WELLS: Monobactam-monocyclic β -lactam antibiotics by bacteria. J. Antimicrob. Chemother. 8 (Suppl. E): 1~16, 1981

MICROBIOLOGICAL ASSAY OF AZTHREONAM (SQ 26,776) IN BIOLOGICAL FLUIDS AND ORGAN TISSUES

KOHICHI DEGUCHI, SHIGEMI FUKAYAMA, YUKIKO NISHIMURA and AYAKO NISHIKI

Department. of Research Development, Tokyo Clinical Research Center

The tissue level of Azthreonom and the stability of Azthreonom in the tissue homogenates were investigated by a cup plate method by using *Escherichia coli* ATCC 27166 for the test organism and Mueller Hinton Agar Modified (Eiken) medium.

The following results were obtained:

- 1) Azthreonom showed an excellent stability in rat tissue homogenates (lung, liver, kidney and spleen) and in human tonsil homogenate for 7 days at 5°C and for 24 hr. at 20°C.
- 2) Azthreonom potency was considerably decreased in human gallbladder homogenate. It was found that Azthreonom stability depends on the samples of gallbladder. The microbiological assay should be performed as soon as possible for the biological specimens such as human gallbladder.