

## 研究ノート

カルバペネム系抗菌薬・メロペネムの  
血液試料中での安定性に関する研究

<sup>1</sup>松元加奈                      <sup>2</sup>橋本湖澄  
<sup>3</sup>仲村弥栄子                  <sup>4</sup>森田邦彦

<sup>1</sup>同志社女子大学・薬学部医療薬学科臨床薬剤学研究室・専任講師

<sup>2</sup>同志社女子大学・薬学部医療薬学科臨床薬剤学研究室・6年次

<sup>3</sup>同志社女子大学大学院・薬学研究科臨床薬剤学研究室医療薬学専攻・大学院生

<sup>4</sup>同志社女子大学・薬学部医療薬学科臨床薬剤学研究室・教授

Stability of a carbapenem antibiotic, meropenem,  
in blood sample

<sup>1</sup>Kana Matsumoto              <sup>2</sup>Kosumi Hashimoto  
<sup>3</sup>Yaeko Nakamura              <sup>4</sup>Morita Kunihiko

<sup>1</sup>Department of Clinical Pharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
Doshisha Women's College of Liberal Arts, Assistant Professor

<sup>2</sup>Department of Clinical Pharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
Doshisha Women's College of Liberal Arts, A sixth-year undergraduate

<sup>3</sup>Department of Clinical Pharmaceutics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences Clinical Pharmaceutics,  
Doshisha Women's College of Liberal Arts, graduate student

<sup>4</sup>Department of Clinical Pharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
Doshisha Women's College of Liberal Arts, Professor

## Abstract

Meropenem is a relatively unstable compound when dissolved; therefore, in studying pharmacokinetics (PK), accurate PK analysis may be interrupted depending on the handling of collected blood samples because it also rapidly degrades during processing and preserving of the blood samples. Thus, prior to PK studies, we determined the stability of meropenem in plasma samples and evaluated the optimal preservation method. Plasma samples including meropenem with and without the same volume of 1 M 3-(N-morpholino)-propane-sulfonic acid (MOPS) buffer as a stabilizer were preserved under the conditions of -80°C, -20°C, 4°C and 25°C, and the remaining meropenem level upon high-performance liquid chromatography at 1, 3, 7, 14, 30, 60, 120 and 180 days following preservation was measured to calculate the meropenem residual rate. The residual rate of plasma samples preserved at -80°C was 95% or higher for 180 days. On the other hand, under the preservation condition over -20°C, the residual rate at 1 day following preservation was less than 95%. The stability of plasma sample was improved by adding MOPS buffer, and the residual rate was 95% or higher for 7 days at -20°C. Therefore, plasma samples for PK study of meropenem should be added MOPS buffer and preserved in a frozen state.

Keywords: meropenem, stability, storage condition, plasma concentration,

## 【背景・目的】

近年、感染症治療薬の適正使用に向けた、当該薬物の体内動態（pharmacokinetics, PK）と薬力学（pharmacodynamics, PD）の関係（PK/PD）解析に基づく投与設計のあり方が注目されている。実際、従来、医療現場で日常的に実施されている薬物血中濃度モニタリング（therapeutic drug monitoring, TDM）対象であるグリコペプチド系やアミノグリコシド系抗菌薬はもとより、 $\beta$ -ラクタム系やニューキノロン系など、TDM 対象外の多くの感染症治療薬にまで PK/PD 解析に基づく科学的根拠に裏付けられた投与設計の推進機運が高まっている。例えば、緑膿菌感染症等の重症例に投与されることが多いカルバペネム系抗菌薬のメロペネムはその典型的な薬物としてあげられ、患者への投与後経時的に採取された血液中のメロペネム濃度と原因菌の最少発育阻止濃度との関係解析が精力的に行われている。

ところで、これら臨床の場で実施される PK/PD 解析研究の成否を左右する因子として、いうまでもなく患者から採取され PK 解析に供される試料中の対象薬物濃度がいかに精度よく測定され得るかという点がある。すなわち、特に retrospective に測定されることが多い臨床研究では、数日もしくは数か月間にわたって、ある条件下で保存された後の患者検体が測定に供されるケースが少なくないことから、濃度測定段階まで試料中の薬物が安定に保存されていることの確証を得ること、あるいは安定保存法を確立することは、PK 解析上の必要最低条件といえる。

本研究では、溶液中での安定性に乏しいとされるメロペネム<sup>1)</sup>を対象薬物としてとりあげ、メロペネムを含む血漿試料をさまざまな条件下で長期間にわたり保存し、その残存量を測定することで安定保存条件の確立を試みた。

## 【方法】

### 1. 血漿試料（試験試料）の調製

大日本住友製薬株式会社より提供されたメロペネムの標準品をヒトプール血漿（コージンバイオ株式会社）に溶解し、10 mg/L のメロペネム血漿試料を作成した。pH 緩衝液添加の有無による安定保存への影響を検討する目的で、1 M の 3-(N-morpholino)-propane-sulfonic acid (MOPS) 緩衝液（pH 7.0）（和光純薬工業株式会社）を 10 mg/L メロペネム血漿試料に等容量添加した試料とこれを含まない試料とを作成した。

### 2. 保存条件および観察ポイント

作成した試料をそれぞれ -80℃、-20℃、4℃ および 25℃ で遮光保存した。これらの温度は、それぞれ超低温冷凍庫、冷凍庫、冷蔵庫の一般的な設定温度および室温を基準として設定した。-80℃ および -20℃ に保存した試料は、保存開始 1 日後、3 日後、7 日後、14 日後、30 日後、60 日後、120 日後および 180 日後の 8 ポイントを、4℃ および 25℃ に保存した試料は、14 日後までの 4 ポイントを、それぞれのメロペネム残存量の測定ポイントとした。

### 3. メロペネム残存量測定方法

測定直前に各試料を室温に戻し、MOPS 緩衝液無添加の血漿試料には測定直前に等容量の MOPS 緩衝液を加えた。各試料 0.5 mL を限外濾過デバイス Centrifree<sup>®</sup> YM-30（Millipore 社製）に注入し、遠心分離（4℃、3,000 rpm、10 分間）して得られた濾液 30  $\mu$ L を高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography, HPLC）装置に注入した。送液ユニットとして LC-20ADXR（島津製作所製）、分光光度計として SPD-20A（島津製作所製）、カラムとして HYPERSIL<sup>®</sup> ODS-5（4.6 mm, L.D.  $\times$  250 mm ケコム株式会社製）からなる HPLC 装置を用いた。移動相は PIC<sup>®</sup>-A 試薬（Waters 社製）/メタノール

(75 : 25) の混液を用いた。測定条件は、流速 1.0 mL/min、検出波長300 nmとした。

なお、本法によるメロペネムの保持時間は12.5分、測定下限濃度は0.1 mg/Lであり、0.1~200 mg/Lの範囲で良好な直線性が得られ、日内および日間変動は5%以内であった。

#### 4. 各種保存条件下での血漿試料中のメロペネム残存率の評価

各測定ポイント日の試験試料のメロペネム残存量測定直前に10 mg/Lのメロペネム血漿溶液を調製し、これを標準試料として、試験試料と同様の方法でピーク面積を求めた。標準試料で得られた値を100%として、下式により各試験試料の残存率(%)を算出した。

$$\text{残存率(\%)} = \frac{\text{試験試料のメロペネムのピーク面積}}{\text{標準試料のメロペネムのピーク面積}} \times 100$$

なお、試験試料は、各保存条件および各ポイントで3本ずつ作成し、その3本のメロペネムピーク面積の平均値より残存率を求め、95%以上の残存を基準として評価した。

#### 【結果】

各保存条件でのメロペネム残存率を Table 1 に示す。

-80℃に保存した場合、MOPS 緩衝液添加の

有無にかかわらず180日間にわたり残存率95%以上を保った。-20℃保存では、MOPS 緩衝液添加試料においては14日後で90.9%、180日後で85.9%の残存率であった。MOPS 緩衝液無添加試料では、3日後にすでに残存率は82.0%にまで低下が認められた。4℃保存では、MOPS 緩衝液添加試料では3日後で91.6%、MOPS 無添加試料では1日後で90.3%の残存率であった。25℃保存では、MOPS 添加の有無にかかわらず1日後に90%未満にまで残存率は低下した。

#### 【考察】

従来、比較的短期間でのメロペネム血液試料の安定性を検討した報告<sup>2)</sup>はあったが、著者らが所属する研究室では実際に2年以上医療施設において-20℃で保存された血液検体の血中濃度測定依頼を受けたこともあり、retrospectiveな臨床研究の場合には長期間保存後の試料を取り扱わねばならないこともあるため、このようなケースを想定して、今回はより長期間でのメロペネムの安定性の検討を試みた。

今回の結果より、メロペネムの血漿試料の長期保存の際には-80℃で凍結保存すべきであること、また、MOPS 緩衝液の添加によりその安定性が飛躍的に向上することが明らかとなった。しかし、MOPS 緩衝液を添加しても、凍

Table 1. Stability of meropenem in plasma samples under various temperatures (n = 3)

Days of preservation	Residual rate based on the preservation temperature (%)							
	10 mg/L plasma sample with MOPS				10 mg/L plasma sample			
	-80℃	-20℃	4℃	25℃	-80℃	-20℃	4℃	25℃
1	101.7 ± 1.0	104.1 ± 2.0	97.3 ± 2.1	89.9 ± 3.6	99.9 ± 0.3	93.9 ± 5.0	90.3 ± 1.0	70.8 ± 0.2
3	100.9 ± 2.4	97.9 ± 0.3	91.6 ± 5.3	73.2 ± 0.3	96.2 ± 5.6	82.0 ± 0.5	76.2 ± 3.8	38.9 ± 5.7
7	99.5 ± 3.5	97.1 ± 0.7	87.3 ± 3.0	53.6 ± 2.9	95.0 ± 5.9	73.5 ± 0.9	62.8 ± 7.3	19.5 ± 1.2
14	97.1 ± 3.1	90.9 ± 1.3	82.8 ± 2.1	30.0 ± 0.9	96.5 ± 4.3	67.2 ± 3.4	61.3 ± 5.9	0.0
30	98.2 ± 1.4	90.8 ± 1.4	-	-	95.3 ± 0.9	56.6 ± 3.2	-	-
60	100.2 ± 0.8	93.4 ± 3.4	-	-	96.8 ± 1.7	44.8 ± 1.8	-	-
120	99.5 ± 1.3	90.1 ± 2.6	-	-	100.5 ± 2.6	26.0 ± 3.0	-	-
180	98.6 ± 1.1	85.9 ± 0.8	-	-	97.2 ± 3.1	20.2 ± 4.9	-	-

All values are mentioned as mean ± standard deviation.

-, Not determined

結保存溶液が $-20^{\circ}\text{C}$ 程度であれば14日後には残存率が約90%にまで低下することが確認された。

一般医療施設では $-80^{\circ}\text{C}$ に設定可能な超低温冷凍保存の設備を有していない場合が多く、また、外部機関に血中濃度測定を依頼する場合には、その輸送時に $-80^{\circ}\text{C}$ を保つことは極めて困難であろうと思われる。したがって、メロペネム濃度測定のための血液採取後は、血漿分離後、直ちにMOPS緩衝液を添加し、 $-20^{\circ}\text{C}$ に凍結保存したうえで、7日以内に濃度測定の完了を目指すことが現実的対応であろうと考えられる。

本研究では血清試料と血漿試料でのメロペネムの安定性の比較は行っていない。しかし、血漿試料は血清試料に比べ赤血球の凝固に要する時間を無視できるため試料分離時間を大幅に短縮できること<sup>3)</sup>から、メロペネムのような血液試料中での安定性に乏しい薬物のPK研究では血漿試料を用いることが望ましいと考えられる。メロペネム注射剤の各種輸液中での配合変化が検討された報告では、糖濃度やL-システイン濃度が高くなるほどメロペネムの残存力価が低下すること<sup>4,5)</sup>、一般的に $\beta$ -ラクタム系抗菌薬の水溶液中での安定性はpHに依存し、中性付近より酸・アルカリ側で加水分解されやすいこと<sup>1,6)</sup>等が報告されているため、患者ごとの血液検体の特性の違いによるメロペネムの安定性の変動も検討する必要がある。

## 【参考文献】

- 1) Takeuchi Y, Sunagawa M, Isobe Y, Hamazume Y, Noguchi T: Stability of a 1 beta-methylcarbapenem antibiotic, meropenem (SM-7338) in aqueous solution. Chem Pharm Bull 43: 689-692, 1995.
- 2) 富尾貞治, 納田浩司, 上月庸生, 加藤益弘, 奥田隆夫, 深澤万左友: Meropenem のヒト体液および組織内濃度測定法. Chemotherapy 40: 114-122, 1992.
- 3) 扇谷茂樹, 弘末京子, 辻哲, 久城英人, 児玉順三, 田中一彦: 血漿分析による緊急検査の迅速化. 臨床病理 28: 567-570, 1980.
- 4) 濱詰ゆかり, 藤井聖子, 野口哲男: メロペネム注射剤の各種輸液・薬剤との配合変化試験. 病院薬学20: 139-148, 1994.
- 5) 板垣文雄, 工藤千恵, 片桐幸子, 忍足鉄太, 高橋秀依, 夏莉英昭, 渡邊真知子: L-システインが引き起こす注射用メロペネムとアミノ酸輸液製剤の配合変化. 医療薬学 39: 521-527, 2013.
- 6) Yamana T, Tsuji A: Comparative stability of cephalosporins in aqueous solution: kinetics and mechanisms of degradation. J Pharm Sci 65. 1563-1574. 1976.