

## 新キノロン薬grepafloxacinの動物感染モデルにおける投与法の検討

戸塚恭一・柴田雄介・菊池 賢・長谷川裕美・清水喜八郎\*

東京女子医科大学内科・臨床中央検査部\*

(\*現 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター)

新キノロン薬grepafloxacin (GPFX)の白血球減少マウス大腿感染モデルにおける投与法の検討を行った。黄色ブドウ球菌感染症に対してGPFXはofloxacin (OFLX)と比較して強い殺菌作用と長いeffective regrowth time (ERT)を示した。肺炎桿菌に対してはOFLXは殺菌作用は優れていたが、血中半減期が短いためにすぐに再増殖した。GPFXでは投与回数の違いによる極端な菌数の増減はみられず、24時間後にはOFLXに比しややよい効果を示した。マウスにおけるGPFXとOFLXの皮下投与による薬物動態ではGPFXはOFLXと比較して血漿中のCmaxは低く、 $T_{1/2}$ が長く、AUCは低かった。しかし、筋肉組織中のAUCはほぼ同等の値であった。これらは、GPFXの長い血中半減期と優れた組織移行性を示唆しており、感染モデルでの治療効果を反映したものと考えられる。

**Key words** : grepafloxacin, PAE, ERT

新キノロン系抗菌薬は用量依存性殺菌効果を示すことから、効果と関連するファルマコキネティックパラメータとしてはAUCが重要であることが明らかとなっている<sup>1)</sup>。またグラム陰性桿菌に対しても postantibiotic effect (PAE)を示すことから投与間隔の延長が可能であり、血中半減期の長い薬剤では1日1回投与法が行われている<sup>2,3)</sup>。最適な投与法を設定するためにはその薬剤の持つ体内動態と殺菌作用の特徴についての検討が重要である。

新たに開発されたキノロン薬grepafloxacin (GPFX)は広域スペクトルの抗菌力を示すキノロン系抗菌薬であり、特にグラム陽性菌に強い抗菌作用を示すことが特徴とされている<sup>4,5)</sup>。また本薬は長い血中半減期と良好な組織移行性を示すことが特徴とされている<sup>6)</sup>。本薬の生体内における薬物動態と殺菌作用について、また本薬の最適な投与法について明らかにすることを目的として白血球減少マウス大腿感染モデルを使用して検討した。

### I. 材料と方法

#### 1. MIC測定

MICは化学療法学会標準法に基づいた液体希釈法にて求めた。

#### 2. 血漿中濃度と大腿筋肉内濃度測定

血漿中濃度および大腿筋肉内濃度はGPFXおよびofloxacin (OFLX)の4mg/kgおよび40mg/kgを背部皮下に投与し、15分、30分、60分、120分、360分にエーテル麻酔下に下大静脈からヘパリン採血し、直ちに1000 rpm, 10分間遠心分離して血漿を得た。採血後直ちにマウスの両側大腿筋肉を取り出し、3倍量の1/15Mリン酸

緩衝液pH7.4を添加し、ホモジェナイズした後、3000 rpmで10分間遠心し、上清中の薬剤濃度を測定した。血漿および筋肉内濃度測定検体は測定まで-20℃に保存した。

薬剤濃度はGPFXでは *Bacillus subtilis* ATCC6633, OFLXでは *Escherichia coli* Kpを用いたbioassay法にて測定した。体内動態はone-compartment open modelを用いて解析した。

#### 3. マウス大腿感染モデルにおける治療効果

雌ICRマウス(24~27g)を使用し、cyclophosphamide (CY)を感染実験4日前および1日前にそれぞれ150mg/kg, 100mg/kgを腹腔内に投与して白血球数を減少させた。マウスの両大腿へ対数増殖期の約 $10^6$ CFUの *Staphylococcus aureus* Smith株または *Klebsiella pneumoniae* BK株を接種し、2時間後よりGPFXまたはOFLXを背部皮下に投与した。経時的に1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16時間に両大腿を除去してホモジェネートとし、10倍希釈系列を作成し、各10 $\mu$ lをMueller-Hinton寒天培地に塗布し37℃で24時間培養した後の生菌数を計測した。また肺炎桿菌についてはGPFXの2mg/kg, 4mg/kg, 8mg/kgを単回投与およびGPFXとOFLXの24時間総投与量を12mg/kgとして1回投与、2分割12時間毎投与、3分割8時間毎投与した3通りの投与法による生菌数変化を24時間まで検討した。また、薬剤は全て0.2mlの皮下投与とした。

薬剤投与後、薬剤投与直前までの生菌数に再増殖するまでの時間をeffective regrowth time (ERT)とし、生菌数が最低値を示した値を最大殺菌値とした。

## II. 結 果

### 1. MICの検討

GPFXとOFLXの*S. aureus* Smithおよび*K. pneumoniae* BKに対するMICはそれぞれ0.024 $\mu$ g/ml, 0.2 $\mu$ g/mlおよび0.2 $\mu$ g/ml, 0.39 $\mu$ g/mlであった。

### 2. 血漿中濃度および筋肉内濃度の検討

GPFXの4mg/kg背部皮下投与では血漿中濃度が15分値が0.34 $\mu$ g/ml, 30分値が0.26 $\mu$ g/ml, 60分値が0.23 $\mu$ g/mlであった。筋肉内濃度では15分値が0.68 $\mu$ g/g, 30分値が0.56 $\mu$ g/g, 60分値が0.63 $\mu$ g/g, 120分値が0.32 $\mu$ g/gで筋肉内濃度は血漿中濃度の2~2.7倍であった。OFLXの血漿中濃度は15分値が0.91 $\mu$ g/ml, 30分値が0.64 $\mu$ g/ml, 60分値が0.29 $\mu$ g/mlであった。筋肉内濃度は15分値が1.02 $\mu$ g/g, 30分値が0.79 $\mu$ g/g, 60分値が0.4 $\mu$ g/gであり、

筋肉内濃度は血漿中濃度の1~1.4倍であった。40mg/kg投与時の結果もTable 1, Fig. 1に示したごとくであるが、GPFXの筋肉内濃度は血漿中濃度の1.5~3.4倍であり、OFLXでは1.2~1.9倍であった。GPFXでは血漿中濃度に対し筋肉内濃度が高い傾向を示した。

ファルマコキネティックパラメータはGPFX 4mg/kg (plasma/muscle)ではCmax ( $\mu$ g/ml or g)が0.408/0.681, T<sub>1/2</sub> (h)は0.908/1.213, AUC ( $\mu$ g $\cdot$ h/ml or g)が0.535/1.493であった。40mg/kg投与ではCmaxが1.446/3.221, T<sub>1/2</sub>が1.911/1.871, AUCが6.310/16.838であった。OFLX 4mg/kgではCmaxが1.223/1.014, T<sub>1/2</sub>が0.376/0.407, AUCが0.766/0.908であった。40mg/kg投与ではCmaxが14.078/12.805, T<sub>1/2</sub>では0.490/0.562, AUCは10.054/15.595であった(Table 2)。

Table 1. Plasma and muscle concentrations of grepafloxacin and ofloxacin after subcutaneous administration in mice

Dose			4 mg/kg					40 mg/kg								
Time (h)			0.25	0.5	1	2	4	0.25	0.5	1	2	4	6	8	12	24
Grepafloxacin	plasma ( $\mu$ g/ml)	mean $\pm$ SD (ND: <0.1)	0.34 0.03	0.26 0.02	0.23 0.03	ND	ND	0.74 0.30	0.94 0.46	1.51 0.29	1.28 0.22	0.64 0.11	0.41 0.11	0.15 0.09	ND	ND
	muscle ( $\mu$ g/g)	mean $\pm$ SD (ND: <0.2)	0.68 0.14	0.56 0.16	0.63 0.10	0.32 0.09	ND	1.14 0.39	1.74 0.67	2.94 0.28	3.11 0.36	2.16 0.18	1.28 0.27	0.46 0.11	0.18 0.10	ND
Ofloxacin	plasma ( $\mu$ g/ml)	mean $\pm$ SD (ND: <0.2)	0.91 0.18	0.64 0.09	0.29 0.01	ND	ND	10.31 1.75	6.50 1.05	3.49 1.03	1.30 0.22	0.20 0.06	ND	ND	ND	ND
	muscle ( $\mu$ g/g)	mean $\pm$ SD (ND: <0.4)	1.02 0.16	0.79 0.11	0.40 0.06	ND	ND	12.22 4.93	12.13 2.24	6.60 0.99	2.29 0.91	ND	ND	ND	ND	ND

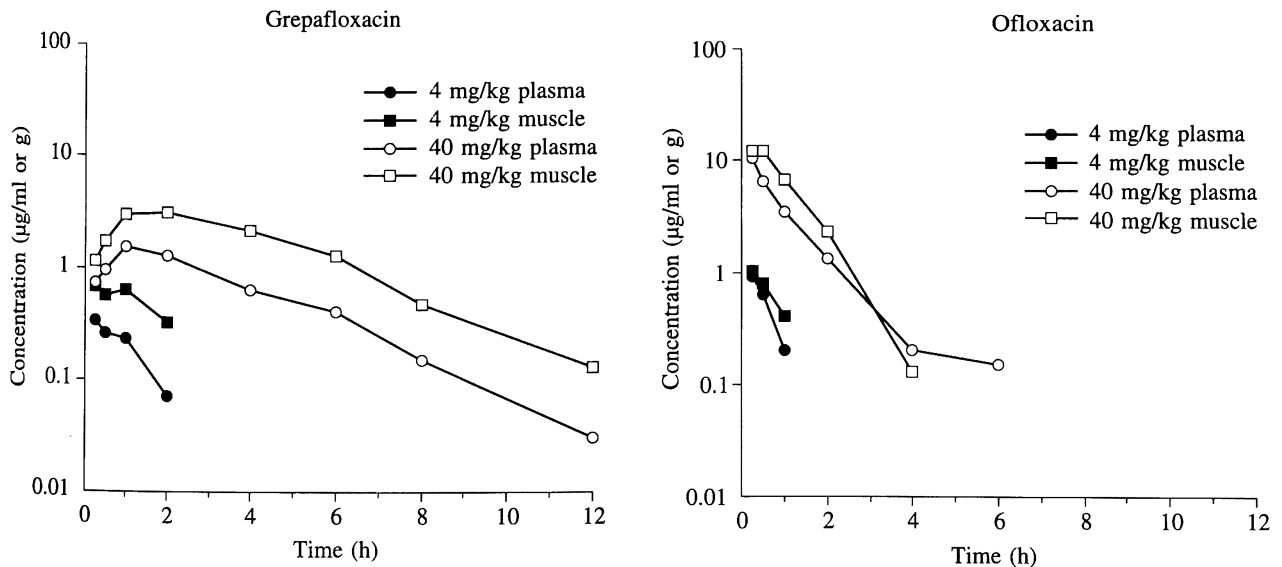


Fig.1. Plasma and muscle concentrations of grepafloxacin and ofloxacin after subcutaneous administration in mice.

## 3. マウス大腿感染モデルにおける治療効果の検討

1) *S. aureus* Smithについての検討

白血球減少マウス大腿感染モデルでは*S. aureus* Smith株に対してGPFX, OFLXを4mg/kg投与した際の最大殺菌( $\Delta\log_{10}\text{CFU/thigh}$ )はそれぞれ-1.7(薬剤投与後6時間), -0.7(薬剤投与後2時間), 投与直前生菌数までの回復時間(ERT)はそれぞれ13時間, 4時間であった(Fig. 2)。

2) *K. pneumoniae* BKについての検討

## &lt;単回投与&gt;

*K. pneumoniae* BK株に対してGPFXの2mg/kg, 4mg/kg, 8mg/kgを投与した際の最大殺菌はそれぞれ-0.57(薬剤投与後2~4時間), -0.92(薬剤投与後4時間), -1.12(薬剤投与後4時間)であり, ERTは5.1h, 8.8h, 10.4hであった(Fig. 3)。いずれも投与量に依存して増加した。

## &lt;分割投与&gt;

GPFXの4mg/kg 3回投与では最大殺菌( $\Delta\log_{10}\text{CFU/thigh}$ )が1回目投与後の-1.27であり, 2回目, 3回目投与後の生菌数の低下は軽度であった。24時間後では-0.22であった。6mg/kgの2回投与では1回目で最大-1.45, 2回目では-1.43の殺菌が認められ, 24時間後

Table 2. Pharmacokinetic parameters of grepafloxacin and ofloxacin in mice

Dose		4 mg/kg			40 mg/kg		
Parameter		Cmax ( $\mu\text{g/ml}$ )	T <sub>1/2</sub> (h)	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ )	Cmax ( $\mu\text{g/ml}$ )	T <sub>1/2</sub> (h)	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ )
Grepafloxacin	plasma	0.408	0.908	0.535	1.446	1.911	6.310
	muscle	0.681	1.213	1.493	3.221	1.871	16.838
Ofloxacin	plasma	1.223	0.376	0.766	14.078	0.490	10.054
	muscle	1.014	0.407	0.908	12.805	0.562	15.595

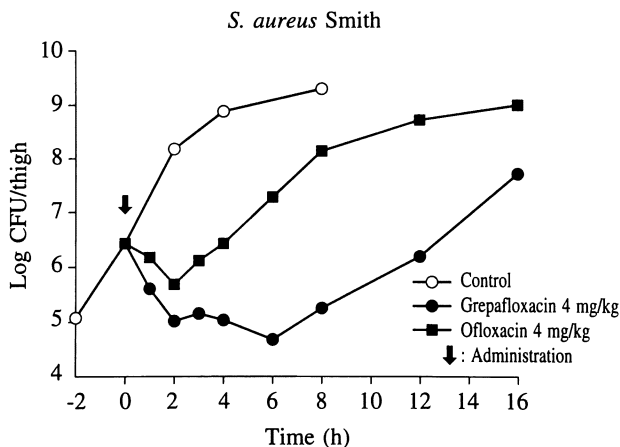


Fig. 2. Antibacterial activity of grepafloxacin and ofloxacin in mouse thigh infection after a single dosing.

では0.66であった。12mg/kgの1回投与では最大殺菌が4時間後に-1.97であり, その後の増殖は緩やかであり, 24時間後には-0.16で, 3通りの投与法にてあまり大きな差は認められなかった(Fig. 4)。

OFLX 4mg/kgの3回投与ではGPFXと異なり, 投与後の菌数の減少は認めるが, すぐに再増殖を認めた。最大殺菌は-2.03であり, 24時間後の生菌数は0.93であった。6mg/kgの2回投与では最大殺菌は1回目投与後の-2.3であり, 2回目投与後の生菌数の減少は-1.02であった。24時間には0.64であった。12mg/kgの1回投与による最大殺菌は-2.82であり, 24時間後では0.13であった。OFLXでも3通りの投与法にて24時間後の生菌数はほぼ同じ値を示した(Fig. 5)。

## III. 考 察

GPFXは好中球減少マウス大腿感染モデルにおける*S. aureus*感染症に対してはOFLXに比較して優れた抗菌作用を示し, MICの成績を反映した結果であった。GPFXは*K. pneumoniae*に対しては投与量に依存した殺菌作用を示した。分割投与法による検討ではGPFXは比較的, 投与法の違いによる生菌数の変動が少なかった。OFLXでは最大殺菌は優れていたが, 早期に再増殖が認められ24時間後ではGPFXがやや優れていた。しかし両薬とも3投与法間ではほぼ近い生菌数を示した。キノロン薬の効果が総投与量に依存しており, 投与回数は少なくできる可能性を示唆する結果であった。

4mg/kgと40mg/kg投与時のファルマコキネティックパラメータでは血漿でGPFXのCmaxが0.408, 1.446  $\mu\text{g/ml}$ , T<sub>1/2</sub>が0.908, 1.911であり, OFLXではCmaxが1.223, 14.078  $\mu\text{g/ml}$ , T<sub>1/2</sub>が0.376, 0.490とCmaxではOFLXが高値であるが, T<sub>1/2</sub>はGPFXがOFLXの3~4倍を示した。血漿中のAUCで見るとOFLXが0.766, 10.054であり, GPFXの0.535, 6.310より高い値であった。筋

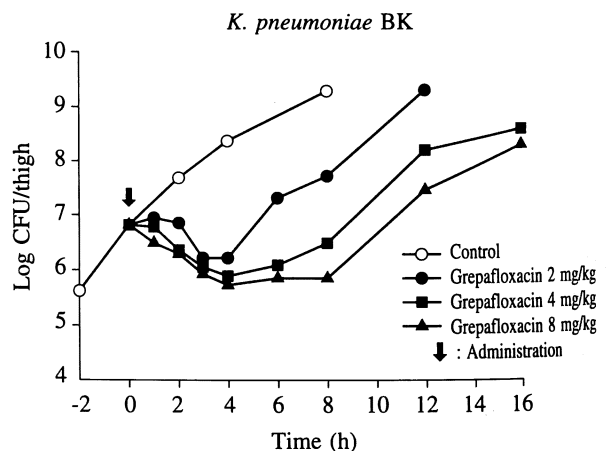


Fig. 3. Antibacterial activity of grepafloxacin in mouse thigh infection with three different dosing.

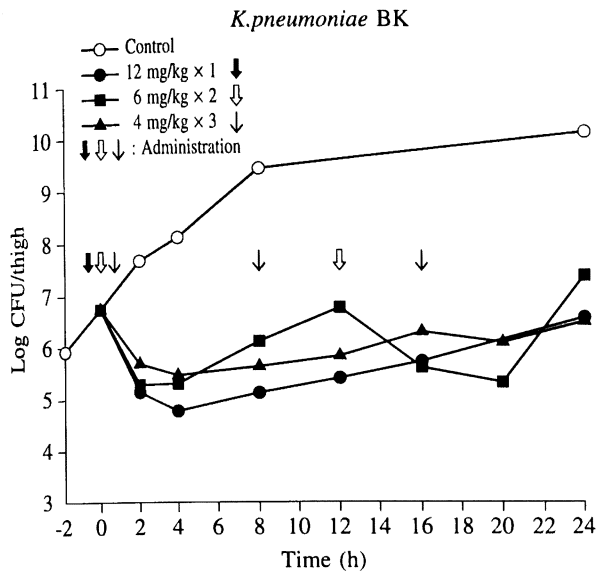


Fig. 4. Antibacterial activity of grepafloxacin in mouse thigh infection after single or multiple dosing.

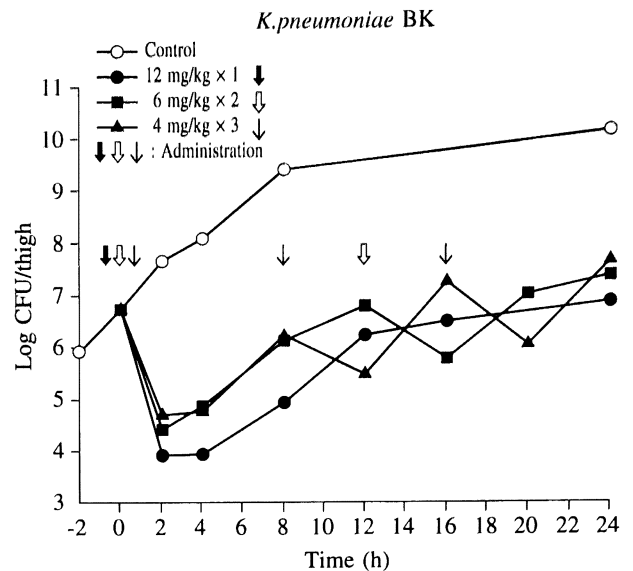


Fig. 5. Antibacterial activity of ofloxacin in mouse thigh infection after single or multiple dosing.

肉内濃度と血漿中濃度比ではGPFXがOFLXに比較して高く、筋肉組織中のAUCではGPFXが1.493, 16.838, OFLXが0.908, 15.595とほぼ同等の値であり、GPFXの組織移行性が優れていた。両薬による*K. pneumoniae*に対する最大殺菌値の違いはCmaxの違いによるものと考えられる。今回の検討ではGPFXのヒトにおける1日投与回数は2回ないしは1回投与が可能であることが推察された。

## 文 献

- 1) 戸塚恭一, 菊池 賢, 長谷川裕美, 清水喜八郎: 抗菌薬の投与計画。化学療法の領域 6(2): 296~302, 1990
- 2) 戸塚恭一, 清水喜八郎: 抗菌薬のPAEと投与方法。総合臨床 37(9): 2187~2190, 1988
- 3) 戸塚恭一, 清水喜八郎: 半減期とPAEからみた

用量設定。ニューキノロンの正しい使い方(藤井良知, 島田 馨編), pp122~130, 医薬ジャーナル社, 大阪, 1991

- 4) Neu H C, Fang W, Gu J and Chin N: *In vitro* activity of OPC-17116, Antimicrob Agents Chemother 36: 1310~1315, 1992
- 5) Imada T, Miyazaki S, Nishida M, Yamaguchi K and Goto S: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of a new quinolone, OPC-17116. Antimicrob Agents Chemother 36: 573~579, 1992
- 6) 秋山 仁, 阿部佳史, 小池正己, 急式和代, 藤尾直希, 小富正昭, 向井典江, 大森和則: Grepafloxacinの体内動態 (I) - HPLC法による各種動物における吸収, 分布, 排泄。日化療会誌43(S-1): 99~106, 1995

## Administration method of a new quinolone antibiotic, grepafloxacin, in an animal infection model

Kyoichi Totsuka, Yusuke Shibata, Ken Kikuchi, Hiromi Hasegawa and Kihachiro Shimizu\*

Department of Internal Medicine and Central Laboratories, Tokyo Women's Medical College

(\* Present: Study Center for Intractable Diseases, St. Marianna University School of Medicine)

8-1, Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan

The administration method of a new quinolone antibiotic, grepafloxacin (GPFX), was examined in a neutropenic mouse thigh-infection model. As compared with ofloxacin (OFLX), GPFX showed a stronger antibacterial effect and longer effective regrowth time against *Staphylococcus aureus* infections. The antibacterial effect of OFLX on *Klebsiella pneumoniae* was superior to that of GPFX, but regrowth was soon observed due to its short half-life ( $T_{1/2}$ ). GPFX, in spite of differences in administration times, did not cause an extremely increased or decreased number of bacteria, and showed a slightly better result after 24 hours than OFLX. Concerning its pharmacokinetics in mice, GPFX had a lower  $C_{max}$  and longer  $T_{1/2}$  in plasma than OFLX. In addition, GPFX showed less AUC in plasma but almost equal AUC in muscle tissues as compared with OFLX. These results indicate that GPFX has a long  $T_{1/2}$  in plasma and excellent penetration into tissue.