

Ritipenem (ritipenem acoxil の活性本体) の白血球減少 マウス大腿感染モデルにおける *in vivo* 効果の検討

戸塚恭一・柴田雄介・長谷川裕美・菊池 賢

東京女子医科大学内科・臨床中央検査部*

清水喜八郎

聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター

新たに開発された経口ペネム系抗菌薬 ritipenem acoxil(RIPM-AC)の活性本体である ritipenem (RIPM)の白血球減少マウス大腿感染モデルにおける *in vivo* の殺菌作用, および effective regrowth time (ERT) を cefaclor (CCL) を対照として *Staphylococcus aureus* Smith, *Klebsiella pneumoniae* BK について検討した。また, 同感染モデルにて RIPM の 25 mg/kg, 50 mg/kg 投与時の血漿中濃度も併せて検討した。

両薬剤 25 mg/kg を背部皮下投与した際の *S. aureus* Smith に対する最大殺菌値 (ΔLog_{10} CFU/thigh) は, RIPM で投与後 2 時間に -1.31, CCL で投与後 3 時間に -0.32 であった。ERT はそれぞれ 3.5 時間, 2.9 時間であった。*K. pneumoniae* BK に対する最大殺菌値 (ΔLog_{10} CFU/thigh) は, RIPM は 0 であり, CCL では投与後 2 時間に -0.66 であった。ERT はそれぞれ 1 時間, 2.8 時間であった。また, RIPM 25 mg/kg を背部皮下投与した際の $T_{1/2}$ は 8.3 分, AUC は $180.6 \mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ であり, 50 mg/kg 投与では $T_{1/2}$ が 9.0 分, AUC が $314.0 \mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ であった。

Key words : ERT, PAE, pharmacokinetics

Ritipenem acoxil (RIPM-AC) は, イタリアのファルミタリア カルロエルバ社 (現ファルマシア社) において新たに創製された経口ペネム系抗菌薬である。本剤は経口投与時には腸管壁のエステラーゼにより加水分解されて活性本体である ritipenem (RIPM) として抗菌活性を示すプロドラッグである。今回, RIPM-AC の活性本体である RIPM について, *Staphylococcus aureus* Smith と *Klebsiella pneumoniae* BK に対する白血球減少マウス大腿感染モデルにおける *in vivo* 殺菌作用, effective regrowth time (ERT) および血漿中濃度について検討したので報告する。

I. 材料と方法

1. 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

RIPM と cefaclor (CCL) の MIC は薬剤感受性用 Mueller Hinton Broth (MHB, 日水製薬) を使用した, 日本化学療法学会標準法による微量液体希釈法により求めた¹⁾。

2. 使用薬剤

RIPM はファルミタリア カルロエルバ社 (現ファルマシア社) より, CCL は塩野義製薬株式会社より分与された力価が明らかなものを用いた。

3. 白血球減少マウス大腿感染モデルでの検討

雌 ICR マウス (25~27 g : 6 週齢) を使用した。感染 4 日前, 1 日前にそれぞれ cyclophosphamide 150 mg/kg, 100 mg/kg を腹腔内投与して白血球数を減少させた。対数増殖期の *S. aureus* Smith (5 %ムチンに懸濁) および *K. pneumoniae* BK の約 $10^5 \sim 10^6$ CFU を両大腿に接種後 2 時間に RIPM, CCL の各 25 mg/kg を背部皮下に投与した。経時的に投与 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 および 16 時間目に 2 匹のマウスを屠殺して両大腿のホモジェネートを作成し, 10 倍希釈系列より一部を寒天平板に塗布して生菌数を測定した。薬剤投与後, 最も殺菌された点を最大殺菌値 (ΔLog_{10} CFU/thigh) として薬剤投与前値との差で示した。また薬剤投与後の生菌数が投与前値に回復するまでの時間を ERT として示した。

4. RIPM の血漿中濃度の検討

同感染モデルに RIPM の 25 mg/kg, 50 mg/kg を背部皮下に投与後 5 分, 15 分, 30 分, 45 分, 60 分, 90 分, 120 分に心腔採血し直ちに, 血漿を分離して等量の安定化剤 (1 M MOPS (pH 5.0) : EG = 1 : 1) に混和し, 測定まで -20℃ で保存した。血漿中濃度は *Bacillus subtilis* ATCC12432 を検定菌とした bioassay (検出限界 : $0.16 \mu\text{g/ml}$) により測定した。体内動態は one-compartment model にて解析し AUC, $T_{1/2}$ を求めた。

*東京都新宿区河田町 8-1

II. 結 果

1. MIC の測定

S. aureus Smith に対する RIPM と CCL の MIC はそれぞれ $0.39 \mu\text{g/ml}$, $1.56 \mu\text{g/ml}$, *K. pneumoniae* BK に対しては RIPM, CCL とも $3.13 \mu\text{g/ml}$ であった。

2. 白血球減少マウス大腿感染モデルでの検討

S. aureus Smith に対して RIPM, CCL の 25 mg/kg を背部皮下投与した際の最大殺菌値は, それぞれ投与後 2 時間に -1.31 , 3 時間に -0.32 であり, ERT はそれぞれ 3.5 時間, 2.9 時間でいずれも CCL より優れていた (Table 1)。*K. pneumoniae* BK に対してはいずれの薬剤も殺菌作用は弱く, RIPM では最大殺菌値は 0 で

あり, CCL では -0.66 であった。また, ERT は RIPM が 1 時間, CCL が 2.8 時間であった (Table 2)。各薬剤投与時の生菌数の変化を Fig. 1, 2 に示した。

3. RIPM の血漿中濃度の検討

RIPM の 25 mg/kg 背部皮下投与時の血漿中濃度は 5 分: $9.85 \mu\text{g/ml}$, 15 分: $4.59 \mu\text{g/ml}$, 30 分: $0.80 \mu\text{g/ml}$, 45 分: $0.47 \mu\text{g/ml}$, 60 分: $0.07 \mu\text{g/ml}$, 90 分および 120 分では検出限界以下であった。また $T_{1/2}$ が 8.3 分, AUC が $180.6 \mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ であった。 50 mg/kg 投与では 5 分: $16.24 \mu\text{g/ml}$, 15 分: $8.28 \mu\text{g/ml}$, 30 分: $1.70 \mu\text{g/ml}$, 45 分: $0.61 \mu\text{g/ml}$, 60 分, 90 分および 120 分では検出限界以下であった。また $T_{1/2}$ が 9.0 分, AUC が $314.0 \mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ で

Table 1. Antibacterial effects of ritipenem and cefaclor against *Staphylococcus aureus* Smith in neutropenic mice

(dose: 25 mg/kg)

Drug*	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Maximum killing ($\Delta\text{Log}_{10} \text{CFU/thigh}$)	ERT (h)
ritipenem	0.39	-1.31	3.5
cefaclor	1.56	-0.32	2.9

ERT: effective regrowth time

* administered subcutaneously

Table 2. Antibacterial effects of ritipenem and cefaclor against *Klebsiella pneumoniae* BK in neutropenic mice

(dose: 25 mg/kg)

Drug*	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Maximum killing ($\Delta\text{Log}_{10} \text{CFU/thigh}$)	ERT (h)
ritipenem	3.13	0	1.0
cefaclor	3.13	-0.66	2.8

ERT: effective regrowth time

* administered subcutaneously

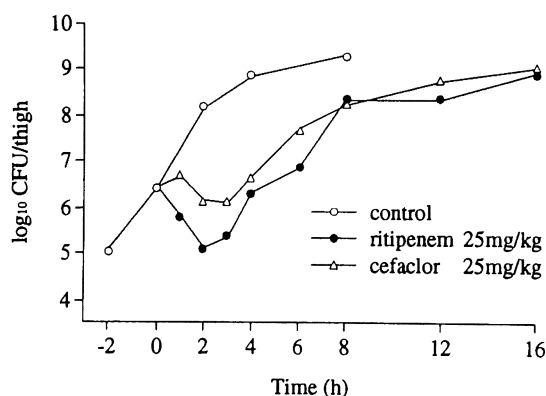


Fig. 1 Antibacterial effects of ritipenem and cefaclor against *Staphylococcus aureus* Smith neutropenic mice.

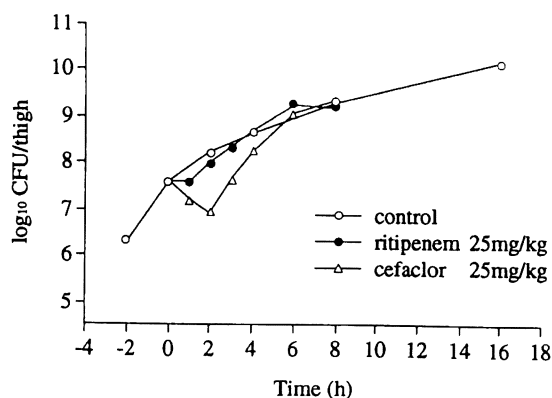
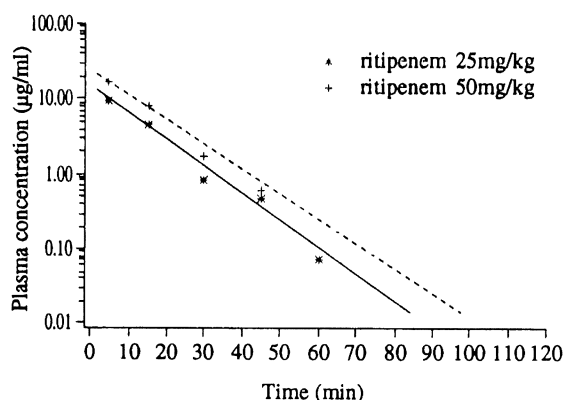


Fig. 2 Antibacterial effects of ritipenem and cefaclor against *Klebsiella pneumoniae* BK in neutropenic mice.

Table 3. Pharmacokinetic parameters in mice after subcutaneous administration of ritipenem

Dose (mg/kg)	Parameter			
	$T_{1/2}$ (min)	AUC ($\mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$)	Vd (ml/mg)	Cl (ml $\cdot$ min/mg)
25	8.3	180.6	1.661	0.138
50	9.0	314.0	2.072	0.159

Fig. 3 Plasma concentration of ritipenem in mice.
(n=5)

あった (Table 3, Fig. 3)。

Ⅲ. 考 察

ペネム系薬剤は, *in vitro* で優れた抗菌活性を示すが, 生体内においては腎デヒドロペプチダーゼ I (DHP-1) により不活化されるために *in vivo* での抗菌力を検討することが重要である。RIPM は methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) を含む, 好気性グラム陽性球菌に対して良好な抗菌力を有しており, 特に RIPM の MSSA に対する MIC_{90} 値は $0.39 \mu\text{g/ml}$ と他の経口セフェム剤 ($>100 \mu\text{g/ml}$) に比べて明らかに低い値を示している²⁾。我々の検討でも *S. aureus* Smith に対する最大殺菌値 ($\Delta \log_{10}$ CFU/thigh) は投与後 2 時間で -1.31 , ERT が 3.5 時間と CCL のそれを上回る強い殺菌作用を示した。一般臨床試験の結果でもこれら *S. aureus* に対する分離菌別細菌学的効果は 84.2% と高い値を示している³⁾。一般的に多くの β -ラクタム剤はグラム陰性桿菌に対して postantibiotic effect (PAE) を示さないことからグラム陰性桿菌感染症の治療法としては MIC や MBC などの有効濃度をできるだけ維持する投与法が効果を示すことが報告されている⁴⁾。本検討でも RIPM の *K. pneumoniae* BK に対する最大殺菌値は 0, ERT が 1 時間と殺菌作用は著明ではなかった。これは RIPM の *K. pneumoniae* BK に対する MIC が $3.13 \mu\text{g/ml}$ とやや高いこと, 25 mg/

kg 背部皮下投与時のマウスにおける血漿中濃度からすると time above MIC が約 20 分弱と短いことから不十分な成績が得られたものと考えられた。しかし臨床分離菌の MIC_{90} は $0.78 \mu\text{g/ml}$ ²⁾ と報告されており, 一般臨床試験における RIPM の *K. pneumoniae* に対する細菌学的効果は 76.2% と比較的良好な成績が示されている³⁾。

今回の検討では CCL のマウス血漿中濃度の測定は行っていないが, CCL 25 mg/kg, 50 mg/kg 投与時の $T_{1/2}$ は 43.8 分, 55.2 分⁵⁾ と報告されており RIPM と比較すると明らかに長い値を示している。また, 今回の血漿中濃度の検討では 25 mg/kg 投与時の 60 分後の血漿中濃度は 5 匹中 2 匹で, ほぼ検出限界付近の値を示したが, 50 mg/kg 投与時の 60 分後の血漿中濃度は検出限界以下であった。またその原因は不明であった。

我々の検討では, RIPM の最大殺菌値とこれら殺菌力の強弱と PAE の概念を統合させた ERT について検討した。ERT は抗菌剤の投与間隔を決定する際に重要な要素になると考えられる⁶⁾。アミノグリコシド薬などの短時間殺菌効果が強く, PAE の長い薬剤, すなわち ERT の長い薬剤では間隔をあけた投与でも次に投与した薬剤の効果を上乘せすることができるために, 総投与量ないしは AUC と効果が関係する。一方, β -ラクタム剤などの PAE がないか短い, すなわち ERT の短い薬剤では細菌と薬剤の接触がなくなるとただちに再増殖を来し, 接触前値より増殖するため効果の上乘せができ

ず、抗菌剤の効果は MIC 以上の濃度持続時間との関連性が強くなると考えられる。RIPM の場合もその短い $T_{1/2}$ (200 mg 単回で 0.65 時間)³⁾ を考慮すると、他の β -ラクタム剤と同様に有効濃度をできるだけ維持する投与方法が重要であると考えられた。

文 献

- 1) 五島瑳智子, 他: 微量液体希釈による MIC (微量液体希釈法) - 日本化学療法学会標準法 -。Chemotherapy 38: 102~105, 1990
- 2) Goto S, Miyazaki S: *In vivo* antimicrobial activity of FCE22891. In Penem antibiotics Mitsuhashi S, Franceschi G ed: 101~113, Japan Societies Press, Tokyo, 1991
- 3) 熊澤浄一: 第 42 回日本化学療法学会総会新薬シンポジウム。FC/TA-891, 福岡, 1994
- 4) Vogelmann B, Gudmundsson S, Leggett J, Turnidge L, Craig W A: Correlation of antimicrobial pharmacokinetic parameters with therapeutic efficacy in an animal model. J Infect Dis 168: 831~847, 1988
- 5) 山下錦也, 辻 明良, 五島瑳智子: 新経口カルバセフェム剤 loracarbef に関する細菌学的研究。Chemotherapy 41 (S-3): 10~22, 1993
- 6) 戸塚恭一, 清水喜八郎: 抗菌薬の PAE。感染症, 19 (1): 27~32, 1989

In vivo activities of ritipenem in neutropenic mice

Kyoichi Totsuka, Yusuke Shibata, Hiromi Hasegawa and Ken Kikuchi

Department of Internal Medicine, Tokyo Women's Medical College,

8-1 Kawadacho, Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan

Kihachiro Simizu

Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine

The maximum killing and effective regrowth time (ERT) of ritipenem (RIPM), a novel penem, and cefaclor (CCL) were investigated. The maximum killing of RIPM and CCL against *Staphylococcus aureus* Smith were -1.31 and -0.32, respectively, and against *Klebsiella pneumoniae* BK, 0 and -0.66, respectively.

The durations of the ERT for RIPM and CCL against *S. aureus* Smith were 3.5 h and 2.9 h, respectively, and against *K. pneumoniae* BK, 1.0 h and 2.8 h, respectively, in a neutropenic mouse thigh-infection model.

Five neutropenic mice received 25 mg/kg and 50 mg/kg of RIPM by subcutaneous administration. The plasma concentration was fitted to a one-compartment model, and the mean pharmacokinetic parameters were, respectively, $T_{1/2}$ 8.3 min and 9.0 min, AUC 180.6 $\mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$ and 314.0 $\mu\text{g/ml} \cdot \text{min}$.