

【原著・基礎】

Doripenem の *in vivo* 抗菌力

佐藤 剛章・辻 雅克・岡崎 健一・松田 早人・吉富とり子・三和 秀明

塩野義製薬株式会社創薬研究所*

(平成 17 年 1 月 17 日受付・平成 17 年 3 月 29 日受理)

マウスならびにラットを用いた各種の実験的感染モデルに対する新規注射用カルバペネム系抗菌薬 doripenem (DRPM) の *in vivo* 抗菌活性を, meropenem/cilastatin (MEPM/CS), imipenem/cilastatin (IPM/CS), ceftazidime (CAZ) および ampicillin (ABPC) と比較検討するとともに, DRPM ならびに DRPM/CS 投与後のマウス, ラットにおける DRPM 血漿中濃度推移も併せて検討した。

DRPM 単独投与時のマウス血漿中濃度推移は, CS 併用時とほぼ同じであった。一方, ラットにおいては, CS との併用により DRPM の血漿中濃度推移は明らかに改善された。マウスにおける DRPM ならびにラットにおける DRPM/CS の血漿中濃度推移は, それぞれの動物での MEPM/CS や IPM/CS の血漿中濃度推移と同程度であった。

ペニシリン耐性 *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) を含むグラム陽性菌 4 菌種 5 株ならびに CAZ 耐性 *Enterobacter cloacae* を含むグラム陰性菌 6 菌種 6 株を感染菌としたマウス全身感染に対し, DRPM は前者の感染系で 0.02 ~ 6.26 mg/kg (ED₅₀), 後者の感染系で 0.04 ~ 2.49 mg/kg と良好な治療効果を示した。グラム陽性菌感染に対する DRPM の治療効果は, MEPM/CS, CAZ や ABPC より強かったが, IPM/CS に比べて弱かった。一方, グラム陰性菌感染においては, IPM/CS に比べて強い治療効果を示したが, MEPM/CS より弱かった。

PRSP を感染菌に用いたマウス肺感染に対し, DRPM は 3 mg/kg 以上の投与で肺内生菌数を control 群に比べて有意に減少させ, ABPC より明らかに強い良好な治療効果を示した。また, PRSP 性ラット髄膜炎に対し, DRPM/CS の 10 mg/kg 以上の投与で control 群に比べて有意な除菌効果が観察され, ABPC より明らかに強い良好な治療効果を示した。これらの PRSP 性感染モデルに対する DRPM ならびに DRPM/CS の治療効果は, MEPM/CS に比べて同程度以上であったが, IPM/CS より明らかに弱かった。*Staphylococcus aureus* を感染菌に用いたラット心内膜炎では, DRPM/CS は 4 mg/kg 以上の投与で control 群に比べて有意な除菌効果を示し, MEPM/CS や CAZ よりも明らかに優れ, IPM/CS と同程度であった。

以上, DRPM は, PRSP を含むグラム陽性菌ならびに CAZ 耐性菌を含むグラム陰性菌による各種の動物感染モデルに対して, *in vitro* 抗菌活性と血漿中濃度推移を反映した優れた治療効果を示した。

Key words: doripenem, pharmacokinetic, animal model, efficacy

Doripenem (DRPM) は塩野義製薬株式会社で開発された新規注射用カルバペネム系抗菌薬である。DRPM は, imipenem (IPM) などのカルバペネム系抗菌薬と比べて, ヒト由来の dehydropeptidase-I (DHP-I) に対する安定性の向上, 腎および中枢毒性の軽減を目指して設計・開発されており, 単剤で投与可能な安全性の高い抗菌薬である¹⁾。本薬の抗菌スペクトルは, 好気性のグラム陽性菌から *Pseudomonas aeruginosa* を含む好気性のグラム陰性菌ならびに嫌気性菌と幅広い。好気性のグラム陽性菌に対する抗菌活性は meropenem (MEPM) より強く, グラム陰性菌では IPM より強いと報告されている²⁾。特に *P. aeruginosa* に対する強い抗菌活性は本薬の大きな特徴であり, その *in vitro* ならびに *in vivo* 活性

は, 既存のカルバペネム系抗菌薬の中で最も強い MEPM と同程度以上である³⁾。本研究では, 種々のグラム陽性菌および *P. aeruginosa* 以外のグラム陰性菌を感染菌とする各種の実験的感染モデルを用いて DRPM の *in vivo* 抗菌活性を検討するとともに, マウスならびにラットの DRPM 血漿中濃度推移に及ぼす DHP-I の阻害薬である cilastatin (CS) の影響も検討したので報告する。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

当研究所保存の標準株あるいは臨床分離株のグラム陽性菌 4 菌種 5 株, グラム陰性菌 6 菌種 6 株を使用した。菌株は -80 に凍結保存した菌液を試験直前に速やかに

融解し、それぞれの毒力に応じて heart infusion broth (HIB, 栄研) で適宜希釈して試験に供した。

2. 使用薬剤

DRPM (塩野義製薬), MEPM (住友製薬), CS (U.S. Pharmacopeia), IPM/CS (万有製薬), ceftazidime (CAZ, グラクソ・スミスクライン), ampicillin (ABPC, 明治製薬) を力価濃度で使用した。DRPM あるいは MEPM と CS との併用比は 1:1 とし、投与用量は DRPM あるいは MEPM 濃度で表記した。いずれの薬剤も生理食塩液で溶解して投与した。

3. 感受性測定

MIC の測定は National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) で推奨されている方法に準じて、微量液体希釈法⁴⁾で行った。

4. 使用動物

マウスは ICR 系 (日本エスエルシー), 雌性, 5 週齢を使用した。ラットは SD 系 (日本クレア), 雌性を使用し、髄膜炎では 5 週齢、心内膜炎では 6 週齢を試験に供した。麻酔は、塩酸ケタミン (三共) と塩酸キシラジン (バイエル) の混合溶液を使用した。マウスでは後肢筋肉内に、ラットでは腹腔内に注射して麻酔を施した。

5. 体内動態

DRPM, DRPM/CS, MEPM/CS または IPM/CS の 20 mg/kg を、1 群 5 匹を用い、マウスでは皮下投与、ラットでは尾静脈内投与した後、経時的に血液を採取して血漿中濃度を測定した。血漿中濃度は、検定菌に *Escherichia coli* 7437, 検定培地に 1/2 濃度の Mueller Hinton agar を用いた band-culture 法⁵⁾で測定した。薬物動態パラメータは、WinNonlin (Pharsight) を用いて 1 コンパートメントモデルを当てはめて算出した。

6. マウス全身感染

感染菌液は、各感染菌の毒力に応じた菌数となるよう調製し、必要に応じて 5% ムチン (ICN) を添加して、マウス腹腔内に 0.5 または 1 mL を接種した。1 群 7 匹のマウスを用い、治療は感染 1 および 5 時間後に皮下投与して行った。感染 7 日目の生存率から logit 法を用いて 50% 有効量 (ED_{50}) および 95% 信頼区間を算出し、1 回当たりの投与用量で示した。

7. マウス肺感染

感染菌にペニシリン耐性 *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) SR11031 を用いた。感染 3 日前に 1% ホルムアルデヒド液 0.04 mL の経鼻注入による気道傷害処置を施したマウスに、感染菌液 0.07 mL (感染菌数: 6.7×10^6 CFU/mouse) を麻酔下で経鼻接種し、肺感染を惹起させた。1 群 7 匹のマウスを用いて感染 4 および 7 時間後に薬剤を皮下投与し、以後翌日より朝夕 2 回の 3 日間継続した治療を行った。最終投与翌日、すなわち感染 4 日後に肺を摘出し、HIB を加えてホモジナイズ後、0.5% yeast extract および 3% 馬脱線維血液添加 brain heart infu-

sion agar (BHIA) を用いて肺当たりの生菌数を求め、治療効果の指標とした。

8. ラット髄膜炎

感染菌に PRSP SR11031 を用いた。麻酔下でラット大槽内に感染菌液 0.05 mL (感染菌数: $1.8 \sim 1.9 \times 10^8$ CFU/rat) を接種し、髄膜炎を惹起させた。治療は、感染 48 および 54 時間後の尾静脈内投与で行った。感染 72 時間後に髄液を採取し、HIB を加えて希釈後、0.5% yeast extract および 3% 馬脱線維血液添加 heart infusion agar (HIA) を用いて髄液中の生菌数を求め、治療効果の指標とした。1 群 4 匹のラットを用い 2 回実験を繰り返した。

9. ラット感染性心内膜炎

感染菌に *Staphylococcus aureus* SR20201 を用いた。麻酔下でラットの総頸動脈よりカテーテルを挿入し、先端を大動脈弁経由で左心室内に固定留置した。留置 24 時間後、感染菌液 0.5 mL (感染菌数: $3.9 \sim 4.0 \times 10^8$ CFU/rat) を尾静脈内接種し、感染性心内膜炎を惹起させた。治療は、感染 6, 10, 24 および 30 時間後の尾静脈内投与で行った。感染 48 時間後に心臓を摘出し、HIB を加えてホモジナイズ後、BHIA を用いて心臓当たりの生菌数を求め、治療効果の指標とした。1 群 4 匹のラットを用い、2 回実験を繰り返した。

10. 統計解析

感染部位の生菌数を指標にして、マウス肺感染、ラット髄膜炎およびラット心内膜炎に対する DRPM の治療効果を、以下の方法で対照薬と比較検定した。薬剤非投与群 (control) と薬剤投与群との比較は、Dunnett の多重比較法を用いた。DRPM と CAZ あるいは ABPC との治療効果の比較は、2 薬剤間では Student の t 検定、3 薬剤間では Dunnett の多重比較法を用いた。DRPM とカルバペネム系抗菌薬間での比較には、薬剤用量および薬剤 × 用量相互作用を変動要因とする二元配置分散分析を適用し、薬剤 × 用量相互作用に有意差がみられなかったマウス肺感染では Tukey の多重比較法で、有意差がみられたラット髄膜炎およびラット心内膜炎では sigmoid E_{max} model で薬剤間の有意性を検定した。検定はすべて両側検定とし、有意水準は 0.05 とした。

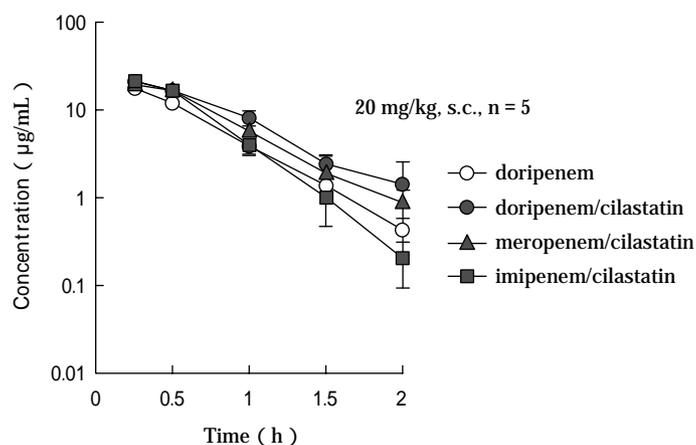
II. 結果

1. マウスおよびラット血漿中濃度

DRPM, DRPM/CS, MEPM/CS ならびに IPM/CS のそれぞれ 20 mg/kg を、マウスに皮下投与あるいはラットに尾静脈内投与した時の血漿中濃度推移を示す (Figs. 1, 2)。

マウスにおける DRPM 単独投与時の C_{max} および半減期は、それぞれ 16.6 μ g/mL, 0.30 h と DRPM/CS とほぼ同じであり、DRPM の血漿中濃度推移は CS 併用による影響をほとんど受けなかった。DRPM の血漿中濃度推移は MEPM/CS や IPM/CS とほぼ同じであった。

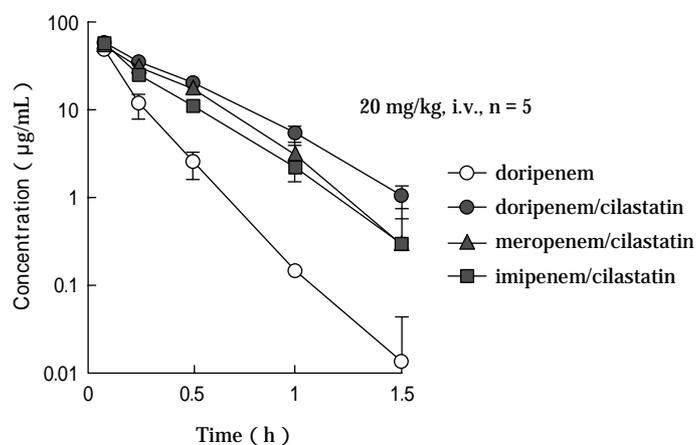
ラットにおける DRPM 単独投与時の C_{max} は、45.4



Compound	C _{max} (µg/mL)	AUC ₀₋ (µg · h/mL)	t _{1/2} (h)
doripenem	16.6	11.9	0.30
doripenem/cilastatin	18.3	16.7	0.35
meropenem/cilastatin	19.4	15.5	0.33
imipenem/cilastatin	20.0	13.9	0.18

Combination ratio; carbapenem : cilastatin = 1 : 1

Fig. 1. Plasma levels of doripenem, doripenem/cilastatin, and reference compounds in mice.



Compound	C _{max} (µg/mL)	AUC ₀₋ (µg · h/mL)	t _{1/2} (h)
doripenem	45.4	10.9	0.08
doripenem/cilastatin	57.4	24.8	0.24
meropenem/cilastatin	56.8	23.3	0.22
imipenem/cilastatin	53.3	17.5	0.16

Combination ratio; carbapenem : cilastatin = 1 : 1

Fig. 2. Plasma levels of doripenem, doripenem/cilastatin, and reference compounds in rats.

Table 1. Therapeutic efficacy of doripenem and reference compounds against systemic infection caused by gram-positive bacteria in mice

Organism (Challenge dose: CFU/mouse, mucin)	Compound	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ED ₅₀ (mg/kg/dose)	95% confidence limits
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith (2.4×10^6 , +)	DRPM	0.016	0.04	0.03-0.06
	MEPM/CS	0.063	0.19	0.05-0.71
	IPM/CS	0.016	0.02	0.01-0.03
	CAZ	8	3.83	1.03-14.3
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203 (1.4×10^2 , -)	DRPM	0.008	0.02	0.021-0.022
	MEPM/CS	0.008	0.09	N.C.
	IPM/CS	0.008	0.02	0.021-0.022
	CAZ	0.063	0.22	0.21-0.22
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type I (1.2×10^3 , -)	DRPM	0.008	0.35	0.22-0.56
	MEPM/CS	0.008	0.71	0.41-1.21
	IPM/CS	0.008	0.10	0.06-0.16
	CAZ	0.125	11.3	5.66-22.7
<i>Streptococcus pneumoniae</i> SR16754 (1.2×10^6 , +) penicillin-resistant strain	DRPM	0.25	1.41	1.06-1.89
	MEPM/CS	0.25	2.24	1.79-2.81
	IPM/CS	0.125	0.81	0.62-1.05
	CAZ	8	28.5	22.8-35.7
	ABPC	2	28.5	22.8-35.7
<i>Enterococcus faecalis</i> SR1004 (3.8×10^6 , +)	DRPM	2	6.26	4.35-9.00
	MEPM/CS	4	7.56	5.26-10.9
	IPM/CS	0.5	0.69	0.47-1.01
	CAZ	> 64	116	78.0-172

Animal: ICR mouse, female, 5 weeks old, n = 7.

Infection: intraperitoneal injection with (+) or without (-) 5% mucin.

Therapy: subcutaneous administration at 1 and 5 h after infection.

ED₅₀: calculated by logit method.

MIC: determined by broth microdilution method.

N.C.: not calculated.

DRPM; doripenem, MEPM; meropenem, IPM; imipenem, CS; cilastatin, CAZ; ceftazidime, ABPC; ampicillin.

$\mu\text{g/mL}$ と DRPM/CS : $57.4 \mu\text{g/mL}$ に比べてやや低い程度であった。しかし、単独投与ではその後の消失が早く、AUC は $10.9 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ と CS 併用時の半分以下であり、マウスに比べて CS の影響が大きかった。DRPM/CS の血漿中濃度推移は、MEPM/CS や IPM/CS とほぼ同じであった。

2. マウス全身感染に対する治療効果

グラム陽性菌 4 菌種 5 株およびグラム陰性菌 6 菌種 6 株を感染菌に用いた全身感染に対する治療効果を検討した (Tables 1, 2)。

S. aureus Smith および *Streptococcus pyogenes* C-203 感染系に対する、DRPM の ED₅₀ は 0.04 および 0.02 mg/kg と良好な治療効果を示し、その効果は、MEPM/CS より 5 倍、CAZ より 10 ~ 100 倍優れ、IPM/CS とほぼ同じであった。ペニシリン感性 *S. pneumoniae* Type I および PRSP SR16754 感染系に対する DRPM の ED₅₀ は 0.35 および 1.41 mg/kg を示し、ABPC が 28.5 mg/kg と高い ED₅₀ を示す PRSP 感染系に対しても良好な治療効果を示した。これら *S. pneumoniae* 感染系に対する DRPM の治療効果は、CAZ に比べて 20 倍以上とはるかに強く、

MEPM/CS より約 2 倍強かったが、IPM/CS より弱かった。*Enterococcus faecalis* SR1004 感染系に対し、DRPM は 6.26 mg/kg と他のグラム陽性菌感染系に比べて高い値であったが、CAZ に比べて約 20 倍強く、MEPM/CS とほぼ同程度の治療効果であった。IPM/CS との比較では、*in vitro* 抗菌活性を反映して 1/9 程度の *in vivo* 抗菌活性であった。

E. coli EC-14 感染系に対し、DRPM は MEPM/CS と同様に 0.04 mg/kg と良好な治療効果を示し、その効果は IPM/CS より 5 倍優れていた。*Klebsiella pneumoniae* SR1 感染系に対する DRPM の ED₅₀ は 2.49 mg/kg を示し、IPM/CS と同程度の治療効果を示したが、MEPM/CS や CAZ より弱かった。*Proteus vulgaris* CN329 感染系に対し DRPM は良好な治療効果 (ED₅₀ : 0.35 mg/kg) を示し、その効果は IPM/CS に比べて 4 倍優れていた。しかし、MEPM/CS や CAZ より弱かった。CAZ 耐性の *Enterobacter cloacae* SR12254 および *Serratia marcescens* SR 25547 感染系に対し、DRPM は 0.12 および 0.35 mg/kg の ED₅₀ を示し、DRPM の治療効果は CAZ より 60 倍以上とはるかに強く、これら CAZ 耐性株による感染において

Table 2. Therapeutic efficacy of doripenem and reference compounds against systemic infection caused by gram-negative bacteria in mice

Organism (Challenge dose: CFU/mouse)	Compound	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ED ₅₀ (mg/kg/dose)	95% confidence limits
<i>Escherichia coli</i> EC-14 (3.2×10^5)	DRPM	0.031	0.04	0.0003-5.52
	MEPM/CS	0.016	0.04	0.0003-5.52
	IPM/CS	0.063	0.21	0.017-2.49
	CAZ	0.031	0.08	0.006-0.93
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SR1 (7.9×10^2)	DRPM	0.063	2.49	1.12-5.56
	MEPM/CS	0.031	1.45	0.65-3.21
	IPM/CS	0.5	2.99	1.33-6.73
	CAZ	0.063	0.55	0.25-1.22
<i>Proteus vulgaris</i> CN329 (1.3×10^6)	DRPM	0.5	0.35	0.27-0.46
	MEPM/CS	0.25	0.16	0.12-0.21
	IPM/CS	4	1.41	1.05-1.90
	CAZ	0.125	0.06	0.05-0.08
<i>Enterobacter cloacae</i> SR12254 (1.5×10^7) CAZ-resistant strain	DRPM	0.125	0.12	0.09-0.16
	MEPM/CS	0.063	0.09	0.07-0.12
	IPM/CS	0.5	0.32	0.24-0.42
	CAZ	32	7.66	5.88-9.96
<i>Serratia marcescens</i> SR25547 (2.5×10^5) CAZ-resistant strain	DRPM	0.5	0.35	0.26-0.48
	MEPM/CS	0.125	0.22	0.17-0.29
	IPM/CS	2	2.82	2.09-3.82
	CAZ	64	22.6	16.7-30.5
<i>Haemophilus influenzae</i> 88562 (1.5×10^6)	DRPM	0.125	0.07	0.04-0.10
	MEPM/CS	0.063	0.03	0.02-0.04
	IPM/CS	0.5	0.29	0.19-0.43
	CAZ	0.063	0.02	0.02-0.04

Animal: ICR mouse, female, 5 weeks old, n = 7.

Infection: intraperitoneal injection with 5% mucin.

Therapy: subcutaneous administration at 1 and 5 h after infection.

ED₅₀: calculated by logit method.

MIC: determined by broth microdilution method.

DRPM; doripenem, MEPM; meropenem, IPM; imipenem, CS; cilastatin, CAZ; ceftazidime.

も良好な治療効果を示した。また、IPM/CS より 3~8 倍強かったが、MEPM/CS に比べてやや弱かった。*Haemophilus influenzae* 88562 に対し DRPM は良好な治療効果 (ED₅₀: 0.07 mg/kg) を示し、その効果は IPM/CS より 4 倍優れていたが、MEPM/CS や CAZ の 1/2 程度であった。

3. マウス肺感染に対する治療効果

PRSP SR11031 を感染菌としたマウス肺感染に対する DRPM の治療効果を検討した (Table 3)。感染 4 日後の control 群の肺内生菌数 (log CFU/lung) は 5.50 に増殖していたのに対し、ABPC 10 mg/kg 投与群では 5.37 と control 群と同程度の生菌数が検出され、CAZ と同様に治療効果はみられなかった。一方、DRPM は用量依存的に肺内生菌数を減少させ、control 群に比べて 3 mg/kg 投与群では約 1/100、10 mg/kg 投与群では約 1/3,000 と有意な除菌効果を示した (p < 0.05)。MEPM/CS 10 mg/kg 投与群の生菌数は control 群に比べて約 1/80 に低下していたが、有意な除菌効果ではなかった。しかし、DRPM

と MEPM/CS との治療効果に有意差はみられなかった。IPM/CS は 3 mg/kg 投与で有意な除菌効果を示した (p < 0.01)。以上の結果、DRPM は、PRSP 性マウス肺感染に対して良好な治療効果を示し、その効果は ABPC や CAZ より明らかに強く (p < 0.01)、MEPM/CS と同程度であったが、IPM/CS (p < 0.01) に次ぐ成績であった。

4. ラット髄膜炎に対する治療効果

PRSP SR11031 を感染菌としたラット髄膜炎に対する DRPM/CS の治療効果を検討した (Table 4)。感染 3 日後の control 群の髄液内生菌数 (log CFU/mL) は 6.12 に増殖していたのに対し、ABPC 30 mg/kg 投与群では control 群と同程度の生菌数が残存し、CAZ と同様に治療効果はみられなかった。一方、DRPM/CS は用量依存的に髄液内生菌数を減少させ、control 群に比べて 10 mg/kg 投与群では約 1/400、30 mg/kg 投与群では約 1/6,000 に減少し、有意な除菌効果を示した (p < 0.01)。MEPM/CS は DRPM/CS と同様に、10 mg/kg 以上の投与群で有意な除菌効果 (p < 0.01) が観察されたが、DRPM/CS の治療

Table 3. Therapeutic efficacy of doripenem and reference compounds against lung infection caused by penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* SR11031 in mice

Dose (mg/kg)	Viable cells in the lung (Log CFU/lung, Mean ± SD)				
	doripenem	meropenem/ cilastatin	imipenem/ cilastatin	ceftazidime	ampicillin
10	2.05 ± 1.03 *	3.60 ± 2.71		6.33 ± 1.60 *	5.37 ± 2.10 *
3	3.45 ± 1.35 *	3.76 ± 2.46	1.47 ± 0.56 **		
1	6.31 ± 1.42	6.47 ± 1.08	4.64 ± 0.80		
0.3	6.84 ± 1.10	5.67 ± 1.35	5.19 ± 1.29		
0.1			7.23 ± 1.05		
Control	5.50 ± 2.15				
MIC (µg/mL)	0.25	0.25	0.125	8	4

Animal: ICR mouse, female, 5 weeks old, n = 6-7.

Airway injury: intranasal instillation with 1% formaldehyde solution on 3 days before infection.

Infection: intranasal injection, challenge dose; 6.7×10^6 CFU/mouse.

Therapy: subcutaneous administration at 4, 7, 24, 30, 48, 54, 72, and 78 h after infection.

Evaluation: the number of viable cells in the lung at 96 h after infection.

MIC: determined by broth microdilution method.

: vs control (; $P < 0.05$, **; $P < 0.01$, Dunnett's multiple comparison test)

+: vs 10 mg/kg of doripenem ($P < 0.01$, Dunnett's multiple comparison test)

: vs doripenem ($P < 0.01$, Tukey's multiple comparison test)

Table 4. Therapeutic efficacy of doripenem and reference compounds against meningitis caused by penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* SR11031 in rats

Dose (mg/kg)	Viable cells in cerebrospinal fluid (Log CFU/mL, Mean ± SD)				
	doripenem/ cilastatin	meropenem/ cilastatin	imipenem/ cilastatin	ceftazidime	ampicillin
30	2.32 *	2.32 *	2.32 *	6.28 ± 0.57 *	5.98 ± 0.60 *
10	3.48 ± 1.18 *	4.46 ± 1.15 *	2.42 ± 0.29 *		
3	6.27 ± 0.50	6.27 ± 0.62	4.59 ± 1.32 *		
1	5.93 ± 1.05	6.38 ± 0.53	6.30 ± 0.37		
Control	6.12 ± 0.42				
MIC (µg/mL)	0.25	0.25	0.125	8	4

Animal: SD rat, female, 5 weeks old, n = 8.

Infection: intracisternal injection, challenge dose; $1.8-1.9 \times 10^5$ CFU/rat.

Therapy: intravenous administration at 48 and 54 h after infection.

Evaluation: the number of viable cells in cerebrospinal fluid at 72 h after infection.

MIC: determined by broth microdilution method.

*: vs control ($P < 0.01$, Dunnett's multiple comparison test)

+: vs 30 mg/kg of doripenem/cilastatin ($P < 0.01$, Dunnett's multiple comparison test)

: vs doripenem/cilastatin ($P < 0.05$, sigmoid E_{max} model)

効果はMEPM/CSより明らかに強かった ($p < 0.05$)。IPM/CSは3 mg/kg以上の投与でcontrol群に比べて有意な除菌効果を示した ($p < 0.01$)。以上の結果, DRPM/CSはPRSP性ラット髄膜炎に対し良好な治療効果を示し, その効果は, ABPC ($p < 0.01$), CAZ ($p < 0.01$)やMEPM/CS ($p < 0.05$)より明らかに強かったが, IPM/CS ($p < 0.05$)に次ぐ成績であった。

5. ラット心内膜炎

S. aureus SR20201を感染菌としたラット心内膜炎に対するDRPM/CSの治療効果を検討した (Table 5)。感染2日後のcontrol群の心臓内生菌数 (log CFU/heart) が

8.26に増殖していたのに対し, DRPM/CSは用量依存的に心臓内生菌数を減少させ, 4 mg/kg投与群では4.30, 20 mg/kg投与群では2.54と有意な除菌効果が観察された ($p < 0.01$)。CAZの20 mg/kg投与群では, control群に比べて1/200と有意に減少していたが, その効果はDRPM/CSに比べて明らかに弱かった ($P < 0.05$)。MEPM/CSおよびIPM/CSは, DRPM/CSと同様に4 mg/kg以上の投与群で有意な除菌効果 ($p < 0.01$)を示したが, DRPM/CSの治療効果はMEPM/CSより明らかに強かった ($P < 0.05$)。以上の結果, DRPM/CSは, *S. aureus*を感染菌としたラット心内膜炎に良好な治療効果を示

Table 5. Therapeutic efficacy of doripenem and reference compounds against endocarditis caused by *Staphylococcus aureus* SR20201 in rats

Dose (mg/kg)	Viable cells in the heart (Log CFU/heart, Mean ± SD)			
	doripenem/ cilastatin	meropenem/ cilastatin	imipenem/ cilastatin	ceftazidime
20	2.54 ± 1.03 **	4.62 ± 1.60 **	2.16 ± 0.78 **	5.99 ± 2.19 *, +
4	4.30 ± 1.45 **	6.02 ± 1.69 *	3.60 ± 2.48 **	
0.8	7.62 ± 0.38	7.99 ± 0.37	6.29 ± 1.58	
0.16	7.79 ± 0.37	7.20 ± 2.32	7.78 ± 0.45	
Control	8.26 ± 0.34			
MIC (µg/mL)	0.063	0.125	0.016	8

Animal: SD rat, female, 6 weeks old, n = 5-8.

Infection: intravenous injection at 24 h after placement of catheter in heart, challenge dose; 3.9-4.0 × 10⁵ CFU/rat.

Therapy: intravenous administration at 6, 10, 24, and 30 h after infection.

Evaluation: the number of viable cells in the heart at 48 h after infection.

MIC: determined by broth microdilution method.

*: vs control (*; P < 0.05, **; P < 0.01, Dunnett's multiple comparison test)

+: vs 20 mg/kg of doripenem/cilastatin (P < 0.01, Student's t test)

: vs doripenem/cilastatin (P < 0.05, sigmoid E_{max} model)

し、その効果は、CAZ (p < 0.01) や MEPM/CS (p < 0.05) より明らかに強く、IPM/CS と同程度であった。

III. 考 察

DRPM は PRSP などのグラム陽性菌から CAZ 耐性グラム陰性菌にわたる広域な抗菌スペクトルを有し²⁾、特に強い抗 *P. aeruginosa* 活性を示す³⁾新規注射用カルバペネム系抗菌薬である。本研究では、種々の耐性菌を含めたグラム陽性菌および陰性菌を感染菌としたマウスならびにラットの各種実験的感染モデルで、DRPM の *in vivo* 抗菌活性について検討した。

カルバペネム系抗菌薬の体内動態を左右する因子の一つに、DHP-I に対する安定性が知られている。MEPM はヒト由来の DHP-I に対して安定であるので、臨床では MEPM 単剤で使用される^{6,10)}が、IPM は速やかに分解されるためその阻害薬である CS との 1 : 1 の併用薬として用いられている⁷⁾。一方、MEPM はマウスやラット由来の DHP-I に対して不安定であり、マウスにおける肺や腎臓内濃度推移は CS との併用により大きく改善されると五島ら⁸⁾は報告している。カルバペネム系抗菌薬の DHP-I に対する安定性には種特異性がみられることから、*in vivo* 抗菌活性評価では、試験に用いる実験動物の DHP-I が DRPM の血漿中濃度推移に対してどのような影響を及ぼすのかを考慮する必要がある。マウスおよびラットを用いて DRPM の血漿中濃度推移に及ぼす CS の影響を検討した結果、マウスにおいては単独投与時と CS 併用時 (1 : 1) ではほとんど変化はみられなかったが、ラットにおいては CS との併用で DRPM の血漿中濃度推移は大きく改善された。これらの成績は、データには示していないが、マウスやラットの腎ホモジネートに対する DRPM の安定性とほぼ一致していた。さらに、マウス感

染モデルでは DRPM の単独投与で、ラット感染モデルでは CS との併用投与で、これらの動物における DRPM の血漿中濃度推移は MEPM/CS (1 : 1 の併用) や IPM/CS とほぼ同じであった。DRPM はヒト由来の DHP-I に対して安定であるため⁹⁾、臨床試験においては DRPM 単剤で使用され、ヒトでの血中濃度推移は MEPM や IPM/CS とほぼ同じであると報告されている^{1,7,10)}。これらのことを考慮して、実験的感染モデルの成績から DRPM の臨床有効性をより正確に推測する目的で、マウス感染モデルでは単独投与で、ラット感染モデルでは CS との併用投与で DRPM の *in vivo* 抗菌活性を評価した。

PRSP を含むグラム陽性菌ならびに CAZ 耐性菌を含むグラム陰性菌を感染菌に用いたマウス全身感染において、グラム陽性菌感染に対する DRPM の ED₅₀ 値は 0.02 ~ 6.26 mg/kg と良好な治療効果を示し、特に耐性菌の蔓延が憂慮されている PRSP 感染系に対しても ABPC より 20 倍強い治療効果を示した。一方、グラム陰性菌感染に対しても 0.04 ~ 2.49 mg/kg と優れた治療効果を示し、CAZ 耐性の *E. cloacae* や *S. marcescens* 感染系では CAZ に比べて明らかに強かった。MEPM/CS や IPM/CS と比較した場合、グラム陽性菌感染系では MEPM/CS より強く、グラム陰性菌感染系では IPM/CS より強く、*in vitro* 抗菌活性をほぼ反映した、バランスのよい *in vivo* 抗菌活性を示した。PRSP を感染菌としたマウス肺感染ならびにラット髄膜炎に対しても、DRPM (DRPM/CS) は ABPC より明らかに強く、優れた治療効果を示した。特に、MEPM の適応が認められている髄膜炎に対する治療効果は、MEPM/CS より有意に強かった。また、IPM/CS の適応症の一つである *S. aureus* 性心内膜炎に対する治療効果は、IPM/CS に匹敵していた。これらの局所感染系

においても, DRPM は *in vitro* 抗菌活性を反映した良好な治療成績を示しており, これら重篤な感染症に対する臨床での有効性が示唆された。

近年, 抗菌薬の実験的感染モデルに対する治療成績から臨床有効性を推測する手段として, pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) の概念が注目されている。カルバペネムを含む β ラクタム系抗菌薬の場合, 治療効果に最も関連する PK/PD パラメータは, 血液内の非結合型薬剤濃度が感染菌の MIC 以上の濃度を維持する時間, すなわち time above MIC ($T > MIC$) であることが知られている¹¹⁾。マウスならびにラットでの血漿蛋白非結合率は DRPM, MEPM および IPM の 3 薬剤間で大きく変らず^{6,12,13)}, またこれらの血漿中濃度推移はほぼ類似していたので, 3 薬剤の血漿中非結合型薬剤濃度もほぼ同じであると考えられた。一方, 全身感染や局所感染系におけるカルバペネム系抗菌薬の治療効果はそれぞれの MIC をほぼ反映した成績であったので, DRPM の治療効果に必要な $T > MIC$ は, 対照薬のカルバペネム系抗菌薬とほぼ同程度であると推測された。一方, ヒトにおける DRPM の血中濃度推移や血漿蛋白非結合率は MEPM や IPM/CS とほぼ同じであると報告されている^{6,11-13)}ことから, DRPM は臨床においても動物感染モデルと同様に *in vitro* 抗菌力を反映した有効性が期待されると考えられた。

以上, DRPM は種々の耐性菌を含めたグラム陽性菌ならびにグラム陰性菌による各種感染モデルに対して優れた治療効果を示したことから, 本薬の臨床における有効性が期待された。

文 献

- 1) 中島光好, 尾熊隆嘉: Doripenem の健康成人における第 I 相臨床試験。日化療会誌 53 (Suppl 1) 104 ~ 123, 2005
- 2) 藤村享滋, 木村美司, 吉田 勇, 他: Doripenem の *in vitro* 抗菌力。日化療会誌 53 (Suppl 1) 57 ~ 70, 2005

- 3) 三和秀明, 木村美司, 地主 豊, 他: Doripenem の抗緑膿菌活性。日化療会誌 53 (Suppl 1) 80 ~ 91, 2005
- 4) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-sixth edition, M7-A6. NCCLS, Wayne, Pa, 2003
- 5) 中野雅夫, 木村靖男, 渡辺芳浩, 他: 新規エステル型経口セフェム剤, S-1108 の微生物学的定量法による体液内濃度測定法の検討。日化療会誌 41 (Suppl 1) 144 ~ 153, 1993
- 6) 住田能弘, 納田浩司, 多田央子, 他: Meropenem の各種実験動物における体内動態。日化療会誌 40 (Suppl 1) 123 ~ 131, 1992
- 7) 中川圭一, 小山 優, 早瀬 清, 他: Imipenem (MK-0787), cilastatin sodium (MK-0791), MK-0787/MK-0791 臨床第一相試験。日化療会誌 33 (Suppl 4) 357 ~ 378, 1985
- 8) 五島瑳智子, 宮崎修一, 金子康子: 新カルバペネム系薬剤 Meropenem の細菌学的評価。日化療会誌 40 (Suppl 1) 16 ~ 29, 1992
- 9) 山野佳則, 川井悠唯, 湯通堂隆: Doripenem のヒト dehydropeptidase-I に対する安定性。日化療会誌 53 (Suppl 1) 92 ~ 95, 2005
- 10) 中島光好, 植松俊彦, 金丸光隆, 他: Meropenem の第 I 相臨床試験。日化療会誌 40 (Suppl 1) 258 ~ 275, 1992
- 11) Mouton J W, Touw D J, Horrevorts A M, et al: Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: clinical implications. Clin Pharmacokinet 39: 185 ~ 201, 2000
- 12) Kimura Y, Murakami K, Onoue H, et al: S-4661, a new carbapenem: III. Pharmacokinetics in laboratory animals. abstr. No. 595. The 34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1994
- 13) 濱島健二, 小林速雄, 亀井啓介, 他: イヌおよびウサギにおける imipenem (MK-0787), cilastatin sodium (MK-0791) の血漿中濃度および尿中排泄。日化療会誌 33 (Suppl 4) 315 ~ 322, 1985

Therapeutic efficacy of doripenem, a novel parenteral carbapenem antibiotic, against experimental infection in mice and rats

Takafumi Sato, Masakatsu Tsuji, Kenichi Okazaki,
Hayato Matsuda, Toriko Yoshitomi and Hideaki Miwa

Discovery Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.,
3-1-1 Futaba-cho, Toyonaka, Osaka, Japan

The *in vivo* antibacterial efficacy of doripenem (DRPM), a new parenteral carbapenem antibiotic, was compared to that of meropenem/cilastatin (MEPM/CS), imipenem/cilastatin (IPM/CS), ceftazidime (CAZ), and ampicillin (ABPC) against experimental infection in mice and rats.

Compared to a single administration of DRPM in mice, plasma concentration of DRPM with administration combined with CS (DRPM : CS = 1:1) did not improve, but plasma concentration of DRPM in rats was improved by combination with CS. No difference was seen in pharmacokinetic properties of plasma among DRPM, MEPM/CS, and IPM/CS in mice and among DRPM/CS, MEPM/CS, and IPM/CS in rats.

Against murine systemic infection caused by gram-positive bacteria including penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP), DRPM exhibited good efficacy with ED₅₀ of 0.02-6.26 mg/kg, superior to MEPM/CS, CAZ, and ABPC but inferior to IPM/CS. DRPM also showed potent efficacy (ED₅₀s: 0.04-2.49 mg/kg) against gram-negative bacterial infection including CAZ-resistant *Enterobacter cloacae* and was more active than IPM/CS, but less active than MEPM/CS. In a mouse lung infection model caused by PRSP, DRPM caused significant reduction of viable cells in the lung at 3 mg/kg or more, though ABPC was not effective at 10 mg/kg. The therapeutic efficacy of DRPM was more active significantly than that of ABPC and CAZ and similar to that of MEPM/CS, but inferior to that of IPM/CS. In rat meningitis caused by PRSP, DRPM/CS caused significant reduction of viable cells in cerebrospinal fluid at 10 mg/kg or more than. DRPM was more active than ABPC, CAZ, and MEPM/CS, but less active than IPM/CS. In a rat endocarditis model caused by *Staphylococcus aureus*, DRPM showed excellent efficacy with significant reduction of viable cells in the heart at 4 mg/kg or more. Its efficacy was more potent than that of CAZ and MEPM/CS and was comparable to that of IPM/CS.

The *in vivo* antibacterial efficacy of DRPM against experimental systemic and local infection in mice and rats well reflected its *in vitro* activity and plasma concentrations in these animals.