

【原著・基礎】

Pharmacodynamic model における doripenem の殺菌効果

黒田 直美・宗景 正・山野 佳則

塩野義製薬株式会社創薬研究所*

(平成 17 年 1 月 24 日受付・平成 17 年 3 月 18 日受理)

1 回あたりの投与用量あるいは 1 日あたりの投与回数を変化させた種々の投与条件時に生ずるヒト血中濃度推移を試験管内で再現して新規カルバペネム系抗菌薬 doripenem (DRPM) の殺菌力を評価し、MIC 以上の濃度を維持する時間 ($T > MIC$) との相関性を検討した。その結果、多数株を用いた本試験において観察された殺菌効果は $T > MIC$ と相関しており、両者の相関関係を調べた結果、24 時間作用中の $T > MIC$ が 40% 程度まで達すると最大に近い殺菌効果が得られ、25% 程度まで達すると 24 時間培養後の生菌数が初菌数よりも低く維持できることが示された。

DRPM の MIC が $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下の *Escherichia coli*、メチシリン感性 *Staphylococcus aureus*、*Pseudomonas aeruginosa* 臨床分離株に対しては、DRPM を $250 \text{ mg} \times 2$ 回/日投与時の血中濃度推移をシミュレートした時に、24 時間あたり 35% 以上に相当する $T > MIC$ が得られ、強い殺菌効果が観察された。この場合、投与用量あるいは投与回数を増やした時に、 $T > MIC$ は増加するものの殺菌効果の大きな改善は観察されなかった。一方、MIC が $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の *P. aeruginosa* 臨床分離株については、DRPM を $250 \text{ mg} \times 2$ 回/日投与時の血中濃度推移をシミュレートした時に 25% 以下の $T > MIC$ が得られるにとどまった。このような場合には、投与用量あるいは投与回数を増やす投与条件とし、 $T > MIC$ を増加させることによって、殺菌効果の増大が観察された。また、1 回あたりの投与用量を増加するよりも 1 日あたりの投与回数を増やすほうが、 $T > MIC$ の増加の程度が大きく、殺菌効果も大きく改善する傾向が観察された。

以上の結果より、doripenem の薬効をより有効に発揮できる用法・用量を推定するうえで、 $T > MIC$ を指標にすることが有用であることが示唆された。

Key words: doripenem, bactericidal activity, time above MIC

新規カルバペネム系抗菌薬 doripenem (DRPM) は好気性グラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対してバランスのとれた抗菌力を有するとともに、*Pseudomonas aeruginosa* に対しては既存カルバペネム系薬である imipenem, panipenem, meropenem (MEPM), biapenem のいずれよりも優れた抗菌力を示すことが報告されている¹⁻³⁾。

本研究では、*in vitro* pharmacodynamic model を用いることによって、投与用量あるいは投与間隔を変化させた各種投与条件において生ずるヒト血漿中濃度推移を試験管内で再現し、各条件下での各種細菌に対する殺菌力の違いを評価した。

I. 材料と方法

1. 薬剤

DRPM (Lot No. BF2001, $950 \mu\text{g}$ 力価/mg) は塩野義製薬株式会社で製造されたものを使用した。MEPM (Lot No. E-188, 三水和物, $884 \mu\text{g}$ 力価/mg) は住友製薬株式会社で製造されたものを使用した。

2. 試験菌株

2000 年に臨床分離されたメチシリン感性 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* および *P. aeruginosa* を使用した。

3. MIC の測定

National Committee for Clinical Laboratory Standards で推奨されている方法に準じ、cation-adjusted Mueller Hinton broth (CAMHB) を用いた微量液体希釈法によって、MIC を測定した⁴⁾。

4. *In vitro* pharmacodynamic model による殺菌効果の検討

Auto-simulation Shionogi dilution type を使用して (Fig. 1), 試験管内でヒト血中濃度推移をシミュレートした時の各菌株に対する殺菌作用を調べた⁵⁾。それぞれの Phase 1 試験で報告されている血中濃度推移^{6,7)}をもとに算出した薬物動態パラメータ (Table 1) を用いることによって、DRPM 250 mg , 500 mg , MEPM 500 mg , $1,000 \text{ mg}$ の用量を 30 分間静注点滴投与した時の血漿中濃度

*大阪府豊中市二葉町 3 1 1

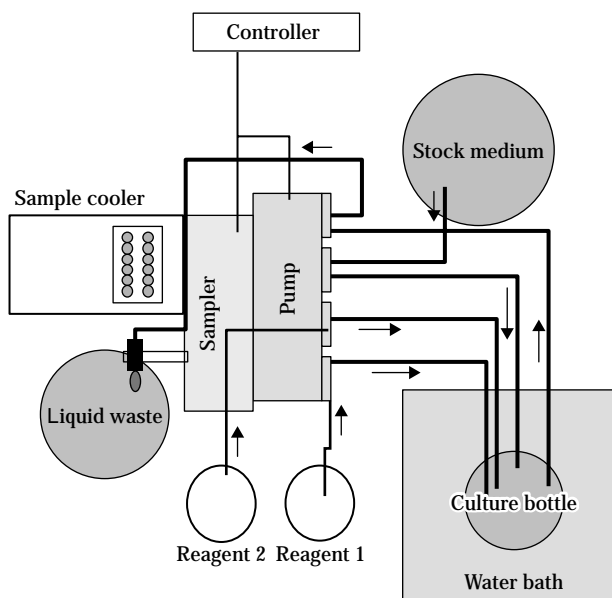


Fig. 1. Equipment for simulating pharmacokinetics of test compounds. Reagent 1 or 2 indicates the container for the test compound.

推移 (Fig. 2) を試験管内で生じさせた。

約 5×10^5 CFU/mL の対数増殖期に相当する菌に対して, 1 回あたりの投与用量 (250 あるいは 500 mg) や 1 日あたりの投与回数 (12 時間間隔の 2 回あるいは 8 時間間隔の 3 回) を変化させた種々の条件下での血中濃度推移をシミュレートした条件で DRPM を作用させ, 37 °C で 24 時間培養した。MEPM については, 500 あるいは 1,000 mg を 1 日 2 回投与した時に生ずる血中濃度推移をシミュレートして, 同様の試験を実施した。試験培地は CAMHB を使い, 経時的に培養液中の生菌数を測定して, 殺菌力を評価した。殺菌効果の指標として, 24 時間の間に生じた殺菌効果を面積で示す area above the curve (AAC₀₋₂₄)⁹⁾, および 24 時間培養時の生菌数 (24 時間の時点での最終菌数, Final kill) を算出して評価した (Fig. 3)。

II. 結 果

1. *S. aureus* と *E. coli* に対する殺菌効果

DRPM の MIC が $0.063 \mu\text{g}/\text{mL}$ である *S. aureus* SR 20406 株と $0.031 \mu\text{g}/\text{mL}$ である *E. coli* SR21262 株を,

Table 1. Pharmacokinetic parameters of DRPM

	Dose (mg)	Duration (min)	Vc (L)	Ke (hr ⁻¹)	(hr ⁻¹)	(hr ⁻¹)
DRPM	250	30	7.64	1.64	4.70	0.788
	500	30	7.77	1.87	5.04	0.818
MEPM	500	30	11.47	1.28	2.92	0.750
	1,000	30	9.407	1.79	6.67	0.856

Vc: distribution volume; Ke: rate constant of absorption; and : macro rate constant.

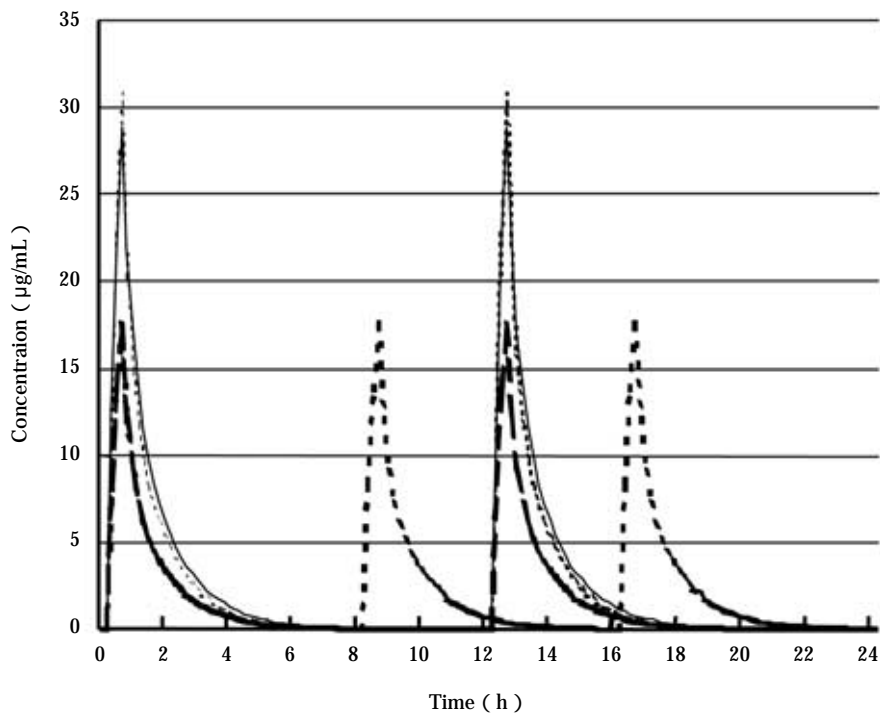


Fig. 2. Time-concentration curves simulating pharmacokinetics in human plasma after administration of 250 mg b.i.d. of DRPM (-----), 250 mg t.i.d. of DRPM (.....), 500 mg b.i.d. of DRPM (——), and 500 mg b.i.d. of MEPM (-·-·-·)

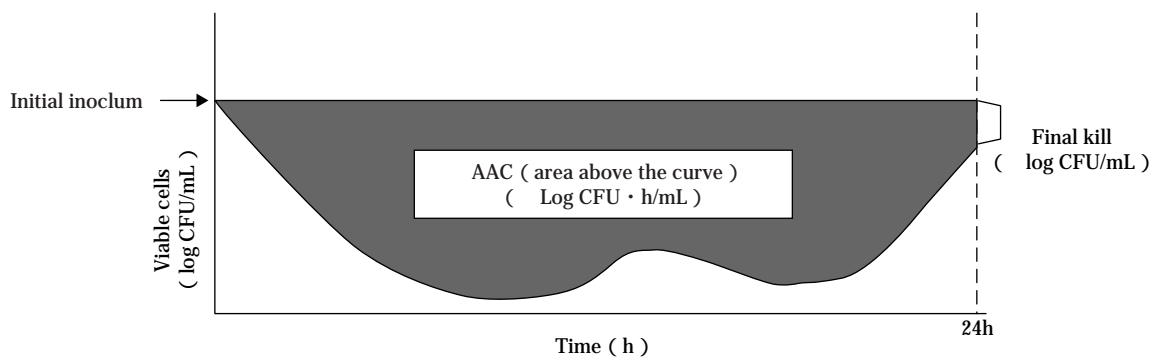


Fig. 3. Pharmacodynamic parameters. AAC indicates the area above time-viable cells curves. Final kill indicates the decrease in viable cells at 24 h incubation compared to the initial inoculum.

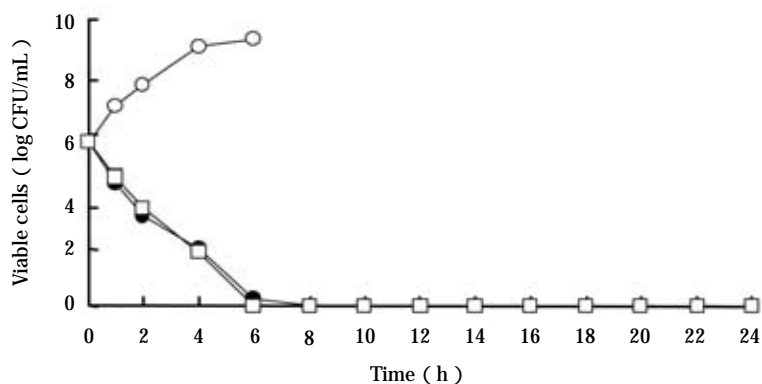


Fig. 4. Bactericidal activity against *S. aureus* SR20406 (MIC of DRPM: $0.063 \mu\text{g/mL}$, MIC of MEPM: $0.125 \mu\text{g/mL}$) under conditions simulating pharmacokinetics at administration of 250 mg b.i.d. of DRPM (□) and 500 mg b.i.d. of MEPM (●). Open circles (○) indicate the growth curve of the test strain in the absence of test compounds.

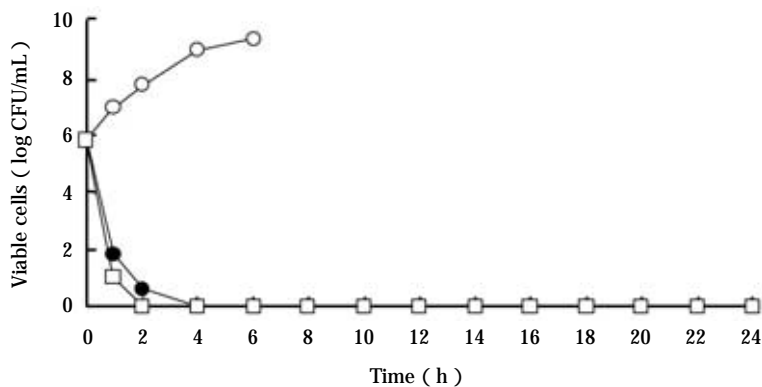


Fig. 5. Bactericidal activity against *E. coli* SR21262 (MIC of DRPM: $0.031 \mu\text{g/mL}$, MIC of MEPM: $0.016 \mu\text{g/mL}$) under conditions simulating pharmacokinetics at administration of 250 mg b.i.d. of DRPM (□) and 500 mg b.i.d. of MEPM (●). Open circles (○) indicate the growth curve of the test strain in the absence of test compounds.

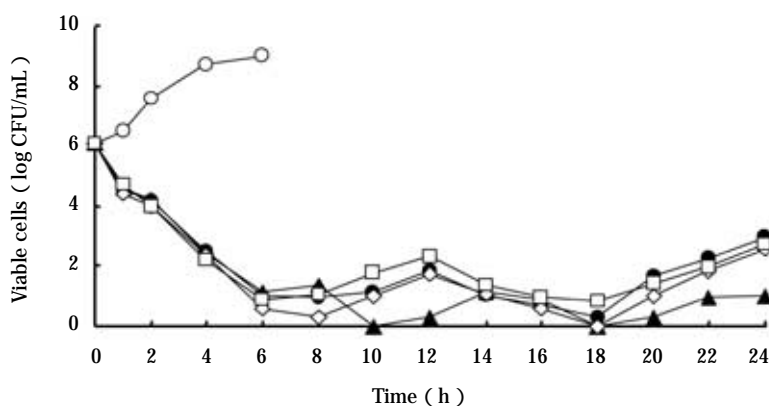


Fig. 6. Bactericidal activity against *P. aeruginosa* SR24854 (MIC of DRPM: 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MIC of MEPM: 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) under conditions simulating pharmacokinetics at administration of 250 mg b.i.d. of DRPM (□), 250 mg t.i.d. of DRPM (◇), 500 mg b.i.d. of DRPM (●) and 500 mg b.i.d. of MEPM (▲). Open circles (○) indicate the growth curve of the test strain in the absence of test compounds.

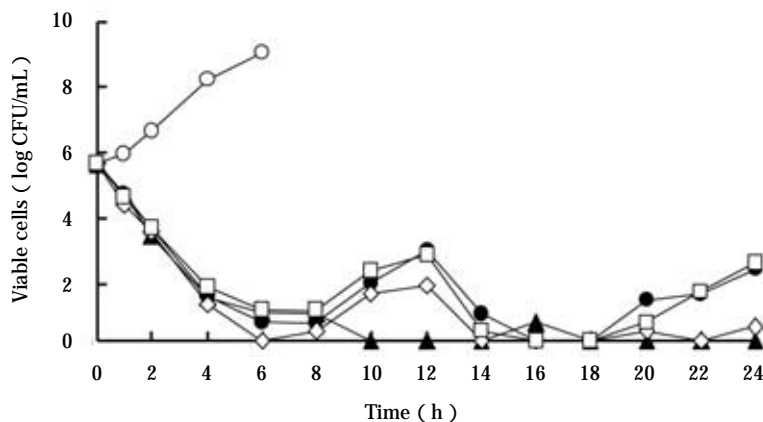


Fig. 7. Bactericidal activity against *P. aeruginosa* SR24859 (MIC of DRPM: 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MIC of MEPM: 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) under conditions simulating pharmacokinetics at administration of 250 mg b.i.d. of DRPM (□), 250 mg t.i.d. of DRPM (◇), 500 mg b.i.d. of DRPM (●) and 500 mg b.i.d. of MEPM (▲). Open circles (○) indicate the growth curve of the test strain in the absence of test compounds.

DRPM を 250 mg 点滴静注投与した時の血中濃度推移条件下で培養した結果、前者の株では 8 時間作用時、後者の株では 4 時間作用時に検出限界以下まで生菌数が低下した (Figs. 4, 5)。いずれの菌株においても、24 時間培養後も再増殖は観察されず、良好な殺菌効果を示し、MEPM を 500 mg \times 2 回/日の条件下で作用させた時と同程度の殺菌作用が観察された。さらに、データには示していないが、DRPM の 1 回あたりの投与用量を 500 mg に増加、あるいは 1 日の投与回数を 3 回に増加しても、生菌数の変化の程度に大きな差は生じなかった。

2. *P. aeruginosa* に対する殺菌効果

DRPM の MIC が 0.5 あるいは 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の *P. aeruginosa* SR24854 株と SR24859 株に、DRPM を 250 mg \times 2 回/日投与時の血中濃度推移下で作用させた場合、2 回目投与後に検出限界以下まで生菌数が減少し、良好な殺菌効果が観察された (Figs. 6, 7)。500 mg \times 2 回/日に投与用量を増加した条件では、250 mg \times 2 回/日よりもわずかに大きい生菌数の減少が観察されたにとどまったが、投与回数を増加させた 250 mg \times 3 回/日の条件にすると、投与用量が増加した場合よりもさらに大きい生菌数の減少が観察された。これらの株に対して、MEPM を 500 mg \times 2 回/日投与条件下で作用させた時の殺菌効果は

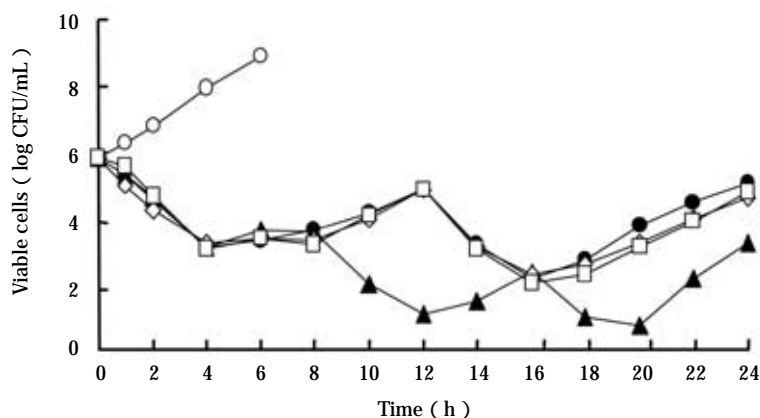


Fig. 8. Bactericidal activity against *P. aeruginosa* SR24838 (MIC of DRPM: 2 μ g/mL, MIC of MEPM: 4 μ g/mL) under conditions simulating pharmacokinetics at administration of 250 mg b.i.d. of DRPM (\square), 250 mg t.i.d. of DRPM (\diamond), 500 mg b.i.d. of DRPM (\bullet) and 500 mg b.i.d. of MEPM (\blacktriangle). Open circles (\circ) indicate the growth curve of the test strain in the absence of test compounds.

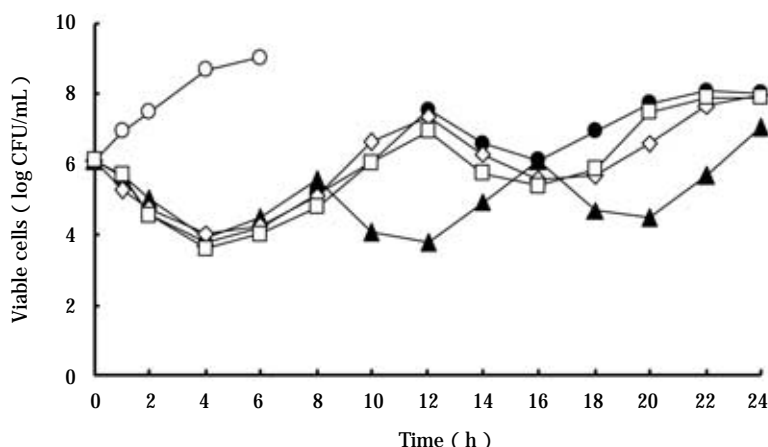


Fig. 9. Bactericidal activity against *P. aeruginosa* SR24826 (MIC of DRPM: 2 μ g/mL, MIC of MEPM: 8 μ g/mL) under conditions simulating pharmacokinetics at administration of 250 mg b.i.d. of DRPM (\square), 250 mg t.i.d. of DRPM (\diamond), 500 mg b.i.d. of DRPM (\bullet) and 500 mg b.i.d. of MEPM (\blacktriangle). Open circles (\circ) indicate the growth curve of the test strain in the absence of test compounds.

DRPM を 250 あるいは 500 mg \times 2 回/日の条件で作用させた時とほぼ同程度だった。

DRPM の MIC が 2 μ g/mL の SR24838 株と SR24826 株に, DRPM を 250 mg \times 2 回/日投与条件で作用させた場合, 明らかな生菌数の減少は観察されたものの (Figs. 8, 9), 生菌数の減少の程度は MIC が 0.5 あるいは 1 μ g/mL の株と比べて小さくなり, 検出限界以下までの生菌数減少はみられなかった。また, MIC が 0.5 あるいは 1 μ g/mL の株と同様に, MEPM の 500 mg \times 2 回/日投与条件と DRPM の 250 あるいは 500 mg \times 2 回/日投与条件の間に生菌数の減少について大きな差は観察されなかつ

た。しかし, 投与回数を増加した 250 mg \times 3 回/日投与条件下では, 生菌数の減少に明らかな増大が観察された。

DRPM の MIC が 4 μ g/mL の SR24848 株と SR24817 株に対しては, MEPM は 1,000 mg \times 2 回/日, DRPM は 500 mg \times 2 回/日, 250 mg \times 3 回/日, 500 mg \times 3 回/日の投与条件時に生ずる血中濃度推移下で殺菌効果を検討した。SR24848 株の場合は, DRPM 250 mg \times 3 回/日投与条件と MEPM 1,000 mg \times 2 回/日投与条件では, 24 時間作用時に初菌量よりも高い生菌数が観察されたものの, AAC の値は DRPM 250 mg \times 3 回/日投与条件が 25.78, MEPM 1,000 mg \times 2 回/日投与条件が 21.82 となり同程

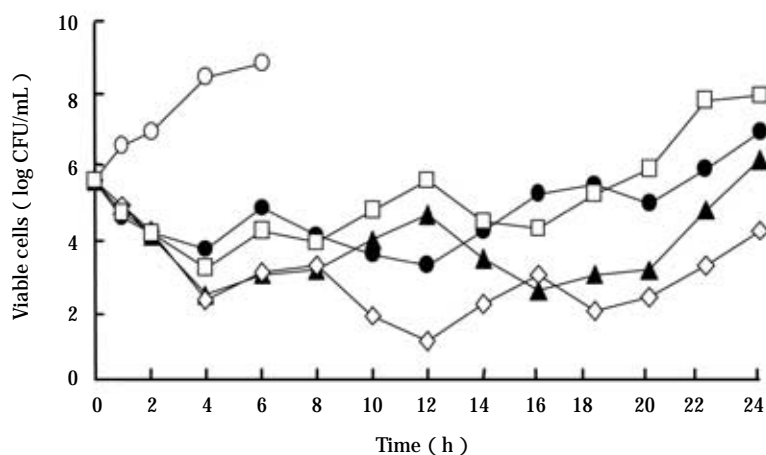


Fig. 10. Bactericidal activity against *P. aeruginosa* SR24848 (MIC of DRPM: $4 \mu\text{g}/\text{mL}$, MIC of MEPM: $8 \mu\text{g}/\text{mL}$) under conditions simulating pharmacokinetics at administration of 250 mg t.i.d. of DRPM (\square), 500 mg b.i.d. of DRPM (\bullet), 500 mg t.i.d. of DRPM (\blacktriangle) and 1,000 mg b.i.d. of MEPM (\diamond) Open circles (\circ) indicate the growth curve of the test strain in the absence of test compounds.

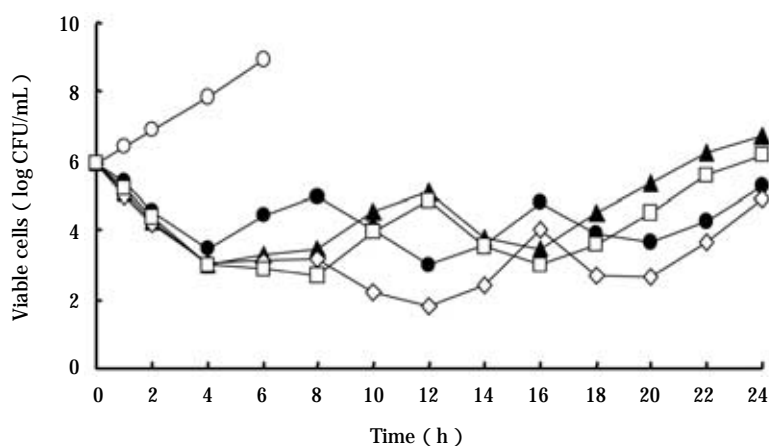


Fig. 11. Bactericidal activity against *P. aeruginosa* SR24817 (MIC of DRPM: $4 \mu\text{g}/\text{mL}$, MIC of MEPM: $4 \mu\text{g}/\text{mL}$) under the conditions simulating pharmacokinetics at administration of 250 mg t.i.d. of DRPM (\square), 500 mg b.i.d. of DRPM (\bullet), 500 mg t.i.d. of DRPM (\blacktriangle) and 1,000 mg b.i.d. of MEPM (\diamond) Open circles (\circ) indicate the growth curve of the test strain in the absence of test compounds.

度の殺菌効果が得られた。一方で, DRPM 500 mg \times 3 回/日投与条件と投与用量を増加させた場合の AAC の値は 66.13 を示し殺菌効果の改善が観察された (Fig. 10)。SR 24817 株の場合は, DRPM 250 mg \times 3 回/日投与条件, 500 mg \times 2 回/日投与条件と MEPM 1,000 mg \times 2 回/日投与条件の 3 者間で同程度の殺菌効果が観察され, 各 AAC 値は 42.19, 37.46, 46.83 を示した。投与用量および投与回数を増加した DRPM 500 mg \times 3 回/日投与条件にすることで AAC は 66.13 となり, 明らかな殺菌効果の増大が観察された (Fig. 11)。

III . 考 察

本研究においては, DRPM のヒト血中濃度推移を試験管内で再現することによって, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* に対する殺菌効果を検討した。DRPM の投与条件として 1 回あたりの投与用量を 250 あるいは 500 mg, 1 日あたりの投与回数を 2 あるいは 3 回として, それぞれの投与条件下で生ずる血中濃度推移を試験管内で再現し, 各投与条件における殺菌効果を比較した。その結果, 感受性が高い株においては, DRPM を 250 mg \times 2 回/日で投与した時に生ずる血中濃度推移下で,

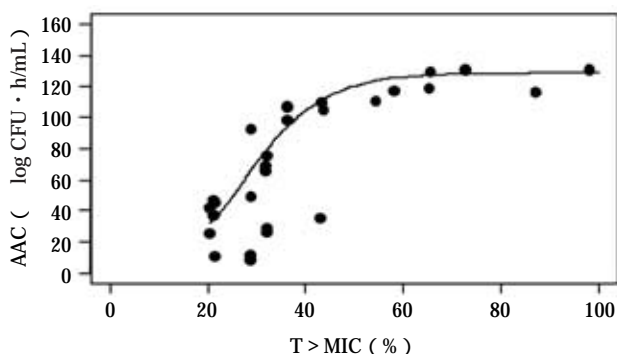


Fig. 12. Time above MIC(% during 24 h)versus bactericidal activity measured by the area above the curve (AAC). Each circle indicates the result of each *in vitro* pharmacokinetic experiment under conditions simulating dosage regimens of DRPM.

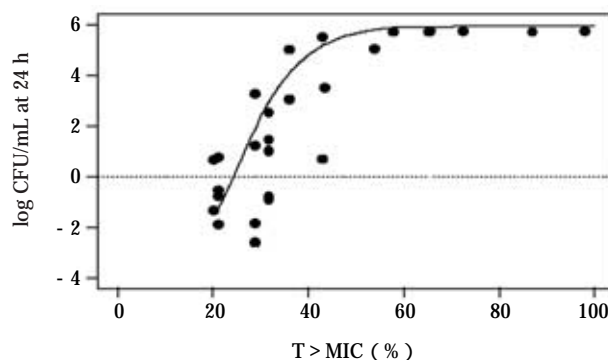


Fig. 13. Time above MIC(% during 24 h)versus bactericidal activity measured by the decrease in the number of viable cells at 24 h. Each circle indicates the result of each *in vitro* pharmacokinetic experiment under conditions simulating dosage regimens of DRPM.

Table 2. Time above MIC (% during 24 h) of DRPM against MIC administered at dosage regimens

Dose	Time above MIC (% during 24 h) at MIC ($\mu\text{g/mL}$) of							
	0.031	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	3
250 mg b.i.d.	65.7	58.1	50.6	43.1	35.7	28.2	20.8	12.9
500 mg b.i.d.	68.2	61.0	53.8	46.5	40.1	32.9	25.0	17.8
250 mg t.i.d.	98.5	87.1	75.8	64.6	53.5	42.3	31.3	19.4
500 mg t.i.d.	99.9	91.5	80.6	69.8	60.2	49.4	37.5	26.7

十分に強い殺菌効果が観察されたものの、MICの上昇に伴って殺菌効果が減弱することが観察された。一方、1回あたりの投与用量あるいは1日あたりの投与回数を増やして1日あたりの総投与用量を増やすことによって、殺菌効果が増強すること、殺菌効果の増強は特に1日あたりの投与回数を増やすことによって顕著に生ずることも観察された。ただし、後者のような現象は、*S. aureus* や *E. coli* のように感受性の高い菌種を用いた際には観察されず、比較的感受性が低い *P. aeruginosa* を用いた際に顕著に現れた。

一般に、カルバペネム系薬を含む β ラクタム系薬の*in vivo*における薬効を決定する重要なPK/PDパラメータは血中においてMIC以上の濃度を維持する時間、つまりTime above MIC (T > MIC)であることが多数報告されている^{9,10)}。そこで、本試験結果をPK/PDの面から解析するために、各菌種に対する各作用条件における薬効の指標としてAAC, PK/PDパラメータとしてT > MICを24時間作用中に占める割合(%)として算出したところ、Fig. 12に示すように高い相関性が観察された。その結果、本試験において最大に近い殺菌効果は40%近いT > MICが得られる投与条件を設定することによって得られることが示唆された。さらに、24時間作用時における生菌数が初菌数から減少した程度(Final

kill)とT > MICの間にも同様に高い相関性が観察され(Fig. 13)、24時間作用後も初菌数以上に増菌させないためには25%程度のT > MICが必要であることが示唆された。各投与条件におけるT > MICの計算値をTable 2に示したが、MICが0.5 $\mu\text{g/mL}$ 以下の高感受性株では250 mg \times 2回/日の投与時の血中濃度推移において、35%以上のT > MICが得られることから、強い殺菌効果につながっていたこと、さらに用量あるいは投与回数を増加してT > MICを大きくすることによる殺菌作用の増強効果は強くないものと考えられた。一方、MICが2 $\mu\text{g/mL}$ 以上の株の場合には、250 mg \times 2回/日、500 mg \times 2回/日、250 mg \times 3回/日、500 mg \times 3回/日の順に各投与条件時に得られるT > MICが順次大きくなり、40%に近づいていくため、T > MICが大きくなるような投与条件下で、より強い殺菌効果が観察されたものと考えられた。また、250 mg \times 2回/日から投与用量を増やして500 mg \times 2回/日の投与条件とするよりも、投与回数を増やして250 mg \times 3回/日の投与条件とすることによってT > MICがより大きくなることから、1日あたりの投与回数を増やした条件下でより強い殺菌効果が得られたものと考えられた。Craigの報告によると、カルバペネム系薬についてはstatic effectに必要なT > MICは薬剤を作用させている総時間のうちの25%程度、最大の効果を得るのに必要

な $T > MIC$ は 40% 程度が必要であると報告されており¹¹⁾、今回の報告で観察された最大効果および static effect に必要とされる $T > MIC$ とよく合致していた。

In vitro pharmacodynamic model を用いた以上の結果より、DRPM の薬効を決定する要因として $T > MIC$ が重要であり、特に MIC が高い株に対しては、投与用量の増量よりも投与回数の増加によって $T > MIC$ 延長を図ることが殺菌効果の改善につながると示唆された。

文 献

- 1) 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
- 2) 佐藤剛章, 辻 雅克, 岡崎健一, 他: Doripenem の *in vivo* 抗菌力。日化療会誌 53(Suppl 1) 71-79, 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 Testing for Bacteria that Aerobically-Second Edi-

tion: Approved Standard M7-A2 NCCLS, Villanova, PA, 1990

- 5) 園山高康, 西村欣也, 今村信彦, 他: *in vitro* における抗生物質の殺菌効果。基礎と臨床 18: 71-80, 1984
- 6) 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
- 7) 中嶋光好, 上松俊彦, 金丸光隆: Meropenem の第 I 相臨床試験。日化療会誌 40: 258-275, 1992
- 8) 佐々木繁, 西村欣也, 吉田 勇, 他: ヒト血中濃度動態下における抗菌薬の殺菌作用評価のための auto-simulation 装置についての検討。chemotherapy 41: 1056-1063, 1993
- 9) Tsuji M, Ishii Y, Ohno A, et al: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of S-4661, a new carbapenem. Antimicrob Agents Chemother 42: 94-99, 1998
- 10) Yano Y, Oguma T, Nagata H, et al: Application of logistic growth model to pharmacodynamic analysis of *in vitro* bactericidal kinetics. J Pharm Sci 87: 1177-1183, 1998
- 11) Craig W A: Antimicrobial resistance issues of the future. Diagn Microbiol Infect Dis 25: 213-217, 1996

Bactericidal activity of doripenem using *in vitro* pharmacodynamic models

Naomi Kuroda, Tadashi Munekage and Yoshinori Yamano

Discovery Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.,

3 1 1 Futaba-cho, Toyonaka, Osaka, Japan

We evaluated the bactericidal activity of doripenem, a novel carbapenem antibiotic, against clinical isolates by exposing strains for 24 h to doripenem concentrations likely to be produced in human plasma by intravenous injection in different dosage regimens. We observed the relationship between bactericidal activity and the percentage of time for which concentration was higher than the MIC for each isolate ($T > MIC$). Maximum bactericidal activity was observed when $T > MIC$ exceeded 40%, and the number of viable cells at 24 h incubation remained no more than the initial inoculum when $T > MIC$ exceeded 25%.

Doripenem showed strong bactericidal activity against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* with a MIC of $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$, under conditions simulating plasma concentrations when 250 mg of doripenem was administered twice a day. Under these conditions, $T > MIC$ exceeded 35% of the total exposure period. Bactericidal activity did not improve significantly when $T > MIC$ duration was prolonged by simulating plasma concentration under the administration of 500 mg twice a day or 250 mg three times a day. Against *P. aeruginosa* strains with MIC of $\geq 2 \mu\text{g/mL}$, $T > MIC$ was less than 25% under the conditions simulating serum concentration when 250 mg of doripenem was administered twice a day. In these cases, bactericidal activity increased when $T > MIC$ duration was prolonged by simulating serum concentration under the administration of 500 mg twice a day or 250 mg three times a day. The increase in the number of administrations per day caused more potent bactericidal activity than an increase in doses per administration because it prolonged $T > MIC$ duration.

These results show a good relationship between the bactericidal activity of doripenem and the $T > MIC$ duration, useful in determining the optimal dosing regimen.