

Temafloxacinのヒトにおける体内動態 —代謝物および光学異性体について—

松岡正之・真野秀幸・藤本雄三・夜久晃治
伴野 清・西村紀之・柿本年雄
田辺製薬株式会社分析化学研究所*

松下忠弘

田辺製薬株式会社生物研究所***
(*現 田辺製薬株式会社薬理研究所)

健康成人男子志願者を対象に、新合成抗菌剤テマフロキサシン(TMFX)の600mg単回経口投与時における未変化体とその光学異性体及び代謝物の体内動態について検討した。

TMFXは、投与後約2時間で最高血清中濃度に達し、以後消失半減期約6.6時間で減衰した。TMFX投与後48時間までに、投与量の約65%が未変化体として尿中に排泄された。

ヒト血清及び尿中には、TMFXのグルクロン酸抱合体が検出された。また、ピペラジン環が酸化されたアミノキノロン体(AQ)、エチレンジアミン体(EDA)、メチルエチレンジアミン体(MEDA)の各代謝物ならびにこれらのグルクロン酸抱合体も検出された。しかし、これら各代謝物の尿中総排泄率は投与量の約3.5%であり、未変化体に比較して微量であった。

血清及び尿中における未変化体の光学異性体濃度を測定した結果、TMFXの吸収、排泄の推移については、血清中では光学異性体間の吸収と消失速度にほとんど差は認められなかった。尿検体でもR体に比してS体の排泄が遅延される傾向にあったが、その差は小さく、TMFX光学異性体のヒトにおける吸収、排泄速度は、ほぼ同等であると考えられた。

代謝物及び光学異性体の抗菌力を測定した結果、各代謝物はTMFXより明らかに弱い抗菌力を示した。一方、光学異性体間における抗菌力には差がなく、ラセミ体であるTMFXと同等の抗菌力を示すことが明らかとなった。

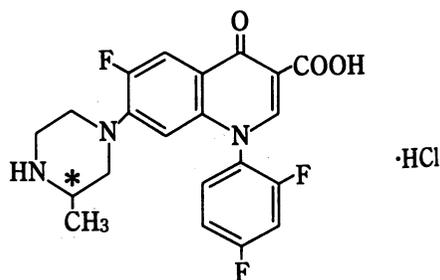
Key words : テマフロキサシン, 代謝物, 光学異性体, 吸収, 排泄

Temafloxacin(TMFX)は塩酸塩として、米国アボット社で創製されたニューキノロン系合成抗菌剤であり、その化学名は、(±)-1-(2, 4-difluorophenyl)-6-fluoro-1, 4-dihydro-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinoline carboxylic acid monohydrochlorideで示される。化学構造式はFig. 1に示す通りであり、キノロン環の1位に2, 4-ジフロロフェニル基、6位にフッ素原子、7位に3-メチルピペラジン基を有する。TMFXは、7-ピペラジンの3位の炭素に不斉中心を有するラセミ体である。

本剤はグラム陽性菌、グラム陰性菌及び嫌気性菌などに対し幅広い抗菌スペクトルを示し、特にグラム陽性菌、嫌気性菌、クラミジア、マイコプラズマなどに対して非常に強い抗菌力を示す¹⁻⁴⁾。また、TMFXは

良好な経口吸収と組織移行を示す⁵⁾。

TMFXの吸収、分布、代謝、排泄については、ラッ



*: Asymmetric center

Fig. 1. Chemical structure of temafloxacin.

ト⁶及びイヌ⁷を用いた¹⁴C標識化合物投与実験によりすでに研究されており、Fig. 2に示す代謝経路が推定されている。

今回著者らは、臨床第Ⅰ相試験⁸で実施した600mg単回経口投与時の血清及び尿中の未変化体と代謝物を測定し、その実測値に基づいて本薬物の生体内動態を考察した。また、本薬物がラセミ体として開発されていることから、生体内における光学異性体の挙動についても調査した。さらに上述した代謝物と光学異性体については、別途抗菌力を測定した。

以下、これらの成績を併せて報告する。

I. 試験方法

1. 血清及び尿検体

平成2年2月に新風会丸山病院(浜松医科大学薬理学教室・中島光好先生)にて実施された、臨床第Ⅰ相試験⁸の600mg単回経口投与における被験者6名(Table 1)の血清及び尿を用いた。但し、血清中の光学異性体については、被験者1名(No. 6)の血清量が不足したため測定することができなかった。

なお、被験者6名は年齢26~41歳(平均29.7歳)、体重54.0~77.0kg(平均66.3kg)であった。

2. 投与製剤

1錠中にTMFX塩基を150mg含有する治験用錠剤(Lot No. 9X001)を使用した。

3. 投与方法

上記投与製剤4錠を一夜絶食の空腹条件下で、

150mlの水と共に嚙まずに服用させた。なお、試験期間中は他の薬剤の服用を禁止し、食事は服用4時間後に摂取するようにした。

4. 採血及び採尿

血清中薬物濃度測定のための採血は、投与前と投与後0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 30及び48時間に行い、同時に投与後0~2, 2~4, 4~6, 6~8, 8~12, 12~24及び24~48時間に分けて蓄尿した。採取した血液は、室温で1時間放置後、遠心分離して血清を得、測定時まで-20℃で凍結保存した。尿検体は尿量を測定後、その一部を分取して測定時まで血清検体と同様に保存した。

5. 標品及び試薬

TMFX及びその代謝物であるAQ, EDA, MEDAは、米国アボット社で合成された標品を用いた。また内標

Table 1. Volunteers for the study on temafloxacin

No.	Sex	Age (yr)	Height (cm)	Weight (kg)
1	M	26	173.7	66.3
2	M	26	177.0	65.2
3	M	28	178.0	77.0
4	M	26	176.8	54.0
5	M	31	165.0	58.0
6	M	41	167.0	77.0
Mean ± S.D.		29.7 ± 5.9	172.9 ± 5.6	66.3 ± 9.5

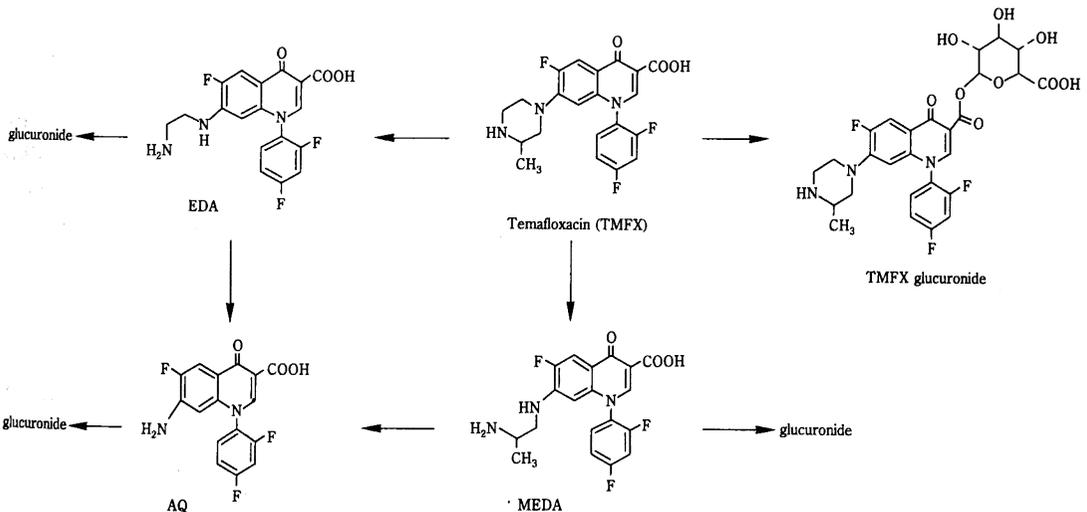


Fig. 2. Postulated metabolic pathways of temafloxacin.

準物質(A-57084)は、TMFXの類縁物質(Fig. 3)であり、同様にアボット社で合成されたものを使用した。光学異性体分離のための誘導体化試薬であるS(-)-N-1-(2-naphthylsulfonyl)-2-pyrrolidine carbonylchloride(L-NSPC)は、田辺製薬株式会社で合成されたものを用いた。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分析には市販のHPLC用試薬を、その他の試薬はすべて市販の試薬特級品を使用した。

6. 器具及び装置

未変化体及び代謝物測定のためのHPLC用分析カラムは、TSK-gel 80T_M(4.6mmφ×150mm, 東ソー社製)にガードカラムとしてTSK-gel 80T_M(3.2mmφ×15mm, 東ソー社製)を装着して使用した。また、光学異性体測定のためのHPLC用カラムは、ガードカラムとしてLichrospher Si 60(4.6mmφ×10mm, Merck社製)を装着したZorbax SIL(4.6mmφ×150mm, DuPont社製)を使用した。HPLC装置は島津製作所製LC-6A型高速液体クロマトグラフを用いた。限外ろ過器はセントリフリーMPS-3(アミコン社製)を用いた。

質量分析は、日立製作所製M-80A形質量分析計の二次イオン質量分析装置(SIMS)を用いた。

7. HPLC測定条件

未変化体及び代謝物については、リン酸二水素ナトリウム3.12g, 1-ラウリル硫酸ナトリウム4.0g, アセトヒドロキサム酸0.75g及びリン酸5.4mlに蒸留水1000mlを加えて溶かし、これにアセトニトリル567mlを加え混和して移動相とした。カラム温度は50°C, 移動相の流速は1.0ml/minに設定し、検出は280nmで励起して得られる460nmの蛍光強度を測定した。

光学異性体分離のための移動相は、ヘキサン・酢酸メチル・メタノール・強アンモニア水混液(150:100:10:1)を用いた。カラム温度は室温, 流速は0.8ml/minに設定し、検出は280nmにおける吸光度を測定した。

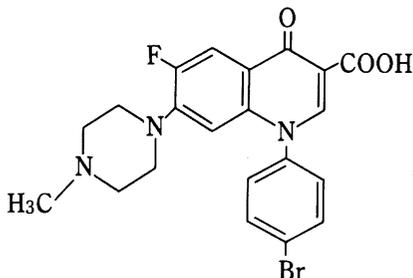


Fig. 3. Chemical structure of internal standard (A-57084).

8. 薬物濃度測定法

(1) 血清中未変化体及び代謝物

血清0.2mlに1/6Mリン酸緩衝液(pH7.0)0.4ml及び内標準溶液0.4ml(500ng/ml)を加えて攪はんした後、限外ろ過器に移し1000gで25分間限外ろ過して、得られたろ液100μlをHPLCに注入した。

(2) 尿中未変化体及び代謝物

尿0.1mlに内標準溶液0.1ml(100μg/ml)及び1/15Mリン酸緩衝液(pH7.0)9.8mlを加えて試料溶液とし、その20μlをHPLCに注入した。

(3) 血清中グルクロン酸抱合体

血清0.2mlに1/6Mリン酸緩衝液0.2ml及び2M水酸化ナトリウム溶液0.1mlを加えて攪はん後、37°Cで2時間加温した。冷後、2M塩酸溶液0.1ml及び内標準溶液0.4ml(500ng/ml)を加え、1000gで25分間限外ろ過し、得られたろ液100μlをHPLCに注入した。

なお、グルクロン酸抱合体の濃度は、ここで得られた測定値から上記(1)項で求めた遊離型の測定値を差し引いて求めた。

(4) 尿中グルクロン酸抱合体

尿0.1mlに1/15Mリン酸緩衝液1.9ml及び2M水酸化ナトリウム溶液1mlを加え、37°Cで60分間加温した。冷後、2M塩酸溶液1ml, 1/6Mリン酸緩衝液5.9ml及び内標準溶液0.1ml(100μg/ml)を加えて試料溶液とし、その20μlをHPLCに注入した。

なお、グルクロン酸抱合体の濃度は、上記(3)項と同様にして算出した。

(5) 光学異性体

血清0.5ml(尿は0.1ml)に1M酢酸アンモニウム溶液0.5ml及びジクロロメタン5mlを加えて振とう後、遠心分離した。続いて有機層3mlをとり濃縮乾固した後、メタノール・塩化チオニル混液(9:1)0.5mlを加え60°Cで30分間加温した。再び濃縮乾固した後、0.5M硫酸溶液0.5ml及びヘキサン1mlを加えて振とう、遠心分離し、水層に2M炭酸ナトリウム溶液1ml及びエーテル3mlを加え再び振とう、遠心分離した。エーテル層を乾固した後、L-NSPC溶液20μl(2mg/mlジクロロメタン溶液)及びトリエチルアミン3μlを加え室温で10分間放置した。この液を濃縮乾固した後、ジクロロメタン0.5mlを加えて溶かし、その50μlをHPLCに注入した。

Fig. 4に操作法のフローチャートを示す。

9. 薬動学的解析

薬物速度論的パラメータについては、最高血清中濃度(C_{max})及び最高血清中濃度到達時間(T_{max})は実測値より読み取り、消失半減期(t_{1/2})は減少域の血清中濃

度を直線回帰して求めた。血清中濃度-時間曲線下面積(AUC)については、投与後30時間までの値(AUC₃₀)は台形法により、無限時間外挿値(AUC_∞)は、AUC₃₀に30時間の血清中濃度から $t_{1/2}$ を用いて外挿したAUC値(AUC_{30,∞})を加えて求めた。

10. 代謝物及び光学異性体の抗菌力測定法

感性ディスク用培地-N(ニッスイ)を用い、日本化学療法学会のMIC測定法⁹⁾に従い接種菌量 10^6 CFU/mlにて実施した。

II. 試験成績

1. 測定法の直線性、再現性及び測定感度

HPLC法による測定法を確立するためにヒト血漿及び尿を用い、これに未変化体ならびに代謝物(AQ, EDA, MEDA)の標品の一定量を添加し、前述の測定法により操作した。得られたクロマトグラムの1例をFig. 5に示す。

Serum 0.5 ml (Urine 0.1 ml)

0.5 ml of 1 M ammonium acetate added
extracted with 5 ml of dichloromethane

Organic layer 3 ml

evaporated to dryness

Residue

methanol : thianyl chloride (9:1) 0.5 ml
60°C, 30 min
evaporated to dryness

Residue

1 ml of hexane added
extracted with 0.5 ml of 0.5 M sulfuric acid

Aqueous layer

1 ml of 2 M sodium carbonate added
extracted with 3 ml of ether

Organic layer

evaporated to dryness

Residue

20 μ l of L-NSPC added
3 μ l of triethylamine added
R.T., 10 min
evaporated to dryness
dissolved in dichloromethane

HPLC

Fig. 4. Determination of S(-)- and R(+)-temafloxacin in serum and urine.

TMFXと各代謝物は血漿及び尿成分による妨害をほとんど受けなかった。また、各化合物の検量線は、Fig. 6に示すようにほぼ原点を通る直線を示した。尿についても同様に良好な直線性を示した。

ヒト血漿あるいは尿にTMFX及び各代謝物の標品の一定量を添加した場合の回収率をTable 2に示す。この結果、添加回収率は血漿の場合97~124%、尿の場合89~114%で、変動係数(C.V.%)はそれぞれ0.75~5.62, 0.61~1.52であった。

なお、血漿中TMFXの測定限界は5ng/ml、各代謝物についてはそれぞれ1ng/mlであった。

2. 血清中濃度

TMFX 600mg単回経口投与後の未変化体及び各代謝物の被験者6例の平均血清中濃度をTable 3に示す。なお、血清中濃度はすべてTMFX塩基に換算した。

未変化体の濃度は臨床第I相試験における結果⁹⁾とよく一致し、本薬物の吸収が比較的速やかであることを裏付けた。

代謝物のAQ, EDA, MEDAについては、いずれも

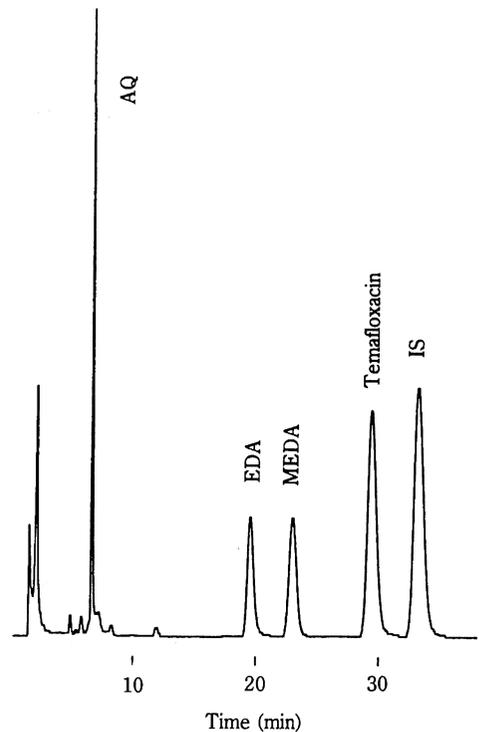


Fig. 5. Typical HPLC chromatogram of control plasma spiked with temafloxacin and its related compounds.

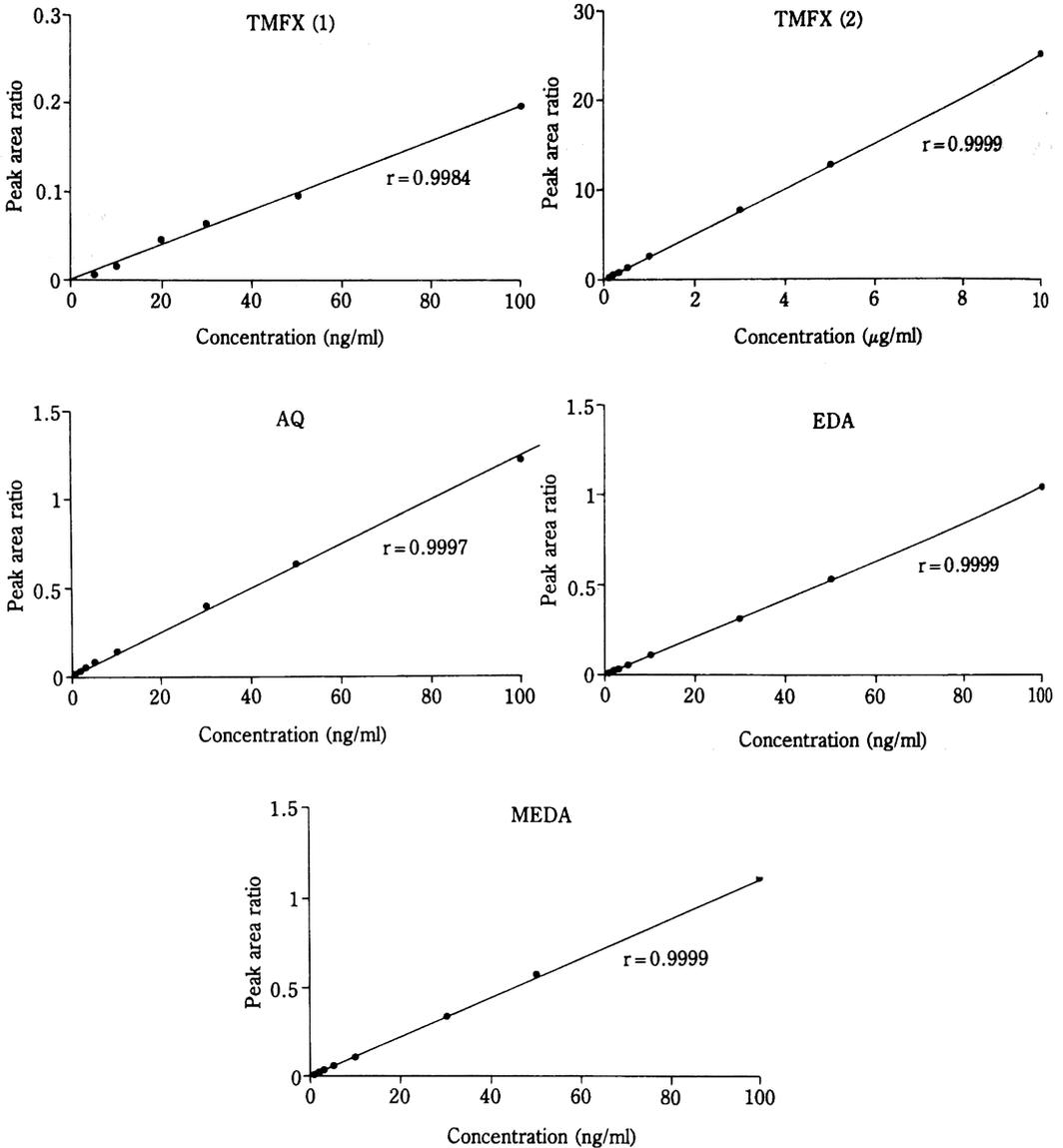
投与後緩やかに上昇し、 T_{max} は2~4時間に認められた。その後徐々に血清中から消失し、48時間後にはほとんど検出されなかった。各代謝物の6例の平均 C_{max} は、それぞれ0.01, 0.013, 0.011 $\mu\text{g/ml}$ であった。

一方、グルクロン酸抱合体について、テマフロキサシングルクロナイドの T_{max} は約3時間に認められ、6例の平均 C_{max} は0.179 $\mu\text{g/ml}$ であり、遊離未変化体濃

度の約5%となった。EDA及びMEDAのグルクロナイドは、6例の平均 C_{max} でそれぞれの遊離型とほぼ等しく0.021, 0.018 $\mu\text{g/ml}$ となった。AQのグルクロナイドは検出されなかった。

3. 尿中排泄

TMFX投与後の0~12, 12~24, 24~48及び0~48時間の尿中における未変化体と各代謝物の6例の平



Concentration range: TMFX (1); 5~100 ng/ml, TMFX (2); 0.1~10 $\mu\text{g/ml}$, AQ, EDA, MEDA; 1~100 ng/ml

Fig. 6. Calibration curves of control plasma spiked with temafloxacin (TMFX) and its related compounds.

均累積尿中排泄率をTable 4に示す。また未変化体については尿中排泄速度と血清中濃度推移との関連をFig. 7に示す。なお、尿中濃度は血清中と同様にすべてTMFX塩基に換算した。

この結果、未変化体の尿中排泄速度は2~4時間に最大となり、血清中濃度推移とよく一致した。投与後48時間までの未変化体の尿中排泄率は、投与量に対して65.27%であった。

一方、代謝物の尿中排泄率は、TMFXのグルクロン酸抱合体>MEDA>EDA>EDA, MEDAのグルクロン酸抱合体>AQのグルクロン酸抱合体の順となり、遊離型のAQは検出されなかった。最も多く検出された

TMFXのグルクロン酸抱合体でもその排泄率は、投与量の2.94%と僅かであった。

4. 血清中光学異性体

TMFXは、Fig. 8に示すように7-ピペラジンの3位の炭素に不斉中心を有するラセミ体である。TMFX 600mg単回経口投与後の0.5, 2, 4, 8, 12及び24時間のS(-)及びR(+)-TMFXの5例の平均血清中濃度をTable 5に示す。また参考のために投与後30時間までの各採血時間における平均血清中濃度推移をFig. 9に示す。

投与後いずれの時間においてもS体及びR体の平均血清中濃度の差はほとんど認められなかった。なお、Table 5中に示した光学異性体比(S/R)は、投与前の血

Table 2. Recoveries from plasma and urine spiked with temafloxacin (TMFX) and its related compounds

Compounds	Added (μ g)	Recovery (%)					Mean	C.V.	
		1	2	3	4	5			
Plasma	TMFX	0.50	104.7	104.9	103.7	101.8	104.7	104.0	1.25
	AQ	0.05	111.8	128.3	127.5	125.4	127.6	124.1	5.62
	EDA	0.05	101.5	99.8	100.0	101.1	101.1	100.7	0.75
	MEDA	0.05	98.5	96.9	97.4	95.5	98.5	97.4	1.29
Urine	TMFX	40.0	94.3	95.9	95.3	93.5	94.4	94.7	0.99
	AQ	0.4	88.6	91.0	89.5	88.0	89.1	89.2	1.27
	EDA	0.4	112.9	114.6	114.1	113.4	114.3	113.9	0.61
	MEDA	0.4	95.6	98.7	99.6	97.6	97.9	97.9	1.52

Table 3. Serum concentrations of temafloxacin (TMFX) and its metabolites after oral administration at 600 mg (n=6) (μ g/ml)

Compounds		Time after administration (h)												
		0.5	1	2	3	4	6	8	10	12	24	30	48	
TMFX	free	Mean	2.261	3.178	3.580	3.391	3.201	2.634	2.072	1.700	1.381	0.396	0.202	0.037
	S.E.	0.417	0.444	0.391	0.202	0.252	0.084	0.071	0.061	0.061	0.061	0.037	0.032	0.008
	conj.	Mean	0.079	0.170	0.161	0.179	0.135	0.150	0.134	0.098	0.088	0.037	0.012	0.010
	S.E.	0.027	0.055	0.059	0.052	0.065	0.044	0.039	0.024	0.037	0.013	0.005	0.009	
AQ	free	Mean	0.006	0.009	0.010	0.010	0.010	0.009	0.008	0.009	0.007	0.001	0.000	0.000
	S.E.	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000
	conj.	Mean	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	S.E.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
EDA	free	Mean	0.002	0.006	0.010	0.011	0.013	0.010	0.009	0.009	0.008	0.004	0.003	0.001
	S.E.	0.001	0.002	0.003	0.003	0.004	0.002	0.002	0.002	0.002	0.001	0.000	0.000	0.000
	conj.	Mean	0.006	0.014	0.018	0.020	0.021	0.017	0.015	0.012	0.010	0.005	0.003	0.002
	S.E.	0.002	0.003	0.002	0.001	0.001	0.002	0.002	0.002	0.002	0.001	0.001	0.001	0.000
MEDA	free	Mean	0.003	0.007	0.009	0.011	0.009	0.009	0.007	0.006	0.006	0.003	0.001	0.000
	S.E.	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.002	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000
	conj.	Mean	0.005	0.013	0.016	0.016	0.018	0.014	0.013	0.011	0.009	0.004	0.003	0.001
	S.E.	0.001	0.003	0.003	0.003	0.003	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000

conj.: glucuronic acid conjugate

清にTMFXを添加した時の比を用いて補正した。

5. 尿中光学異性体

TMFX投与後のS(-)及びR(+)-TMFXの5例の平均尿中排泄率をTable 6に示す。

投与後0~2時間における尿中排泄率はS体で3.65%, R体では3.83%となった。しかし, 投与後4~6時間の尿中排泄率ではS体及びR体がほぼ等しくなり, その後S体の方が増加傾向を示し, 24~48時間で

はS体が3.47%であったのに対し, R体は2.93%となった。また0~48時間の累積尿中排泄率では, S体が32.66%, R体が31.54%であった。

6. 抗菌力

(1) 代謝物

Table 7にTMFXのヒトにおける代謝物の抗菌力を示す。各代謝物ともグラム陽性菌及びグラム陰性菌に対してTMFXより明らかに弱い抗菌力を示した。

Table 4. Urinary excretion of temafloxacin (TMFX) and its metabolites after oral administration at 600 mg (n=6, Mean \pm S.E.)

Compounds		Time after administration (h)			
		0~12	12~24	24~48	0~48
TMFX	free	42.65 \pm 1.41	15.94 \pm 1.24	6.67 \pm 0.76	65.27 \pm 1.64
	conj.	2.02 \pm 0.44	0.52 \pm 0.16	0.40 \pm 0.24	2.94 \pm 0.66
AQ	free	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
	conj.	0.03 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	0.05 \pm 0.02
EDA	free	0.09 \pm 0.01	0.05 \pm 0.00	0.03 \pm 0.00	0.17 \pm 0.01
	conj.	0.04 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.03 \pm 0.02	0.08 \pm 0.03
MEDA	free	0.11 \pm 0.02	0.05 \pm 0.01	0.04 \pm 0.00	0.20 \pm 0.03
	conj.	0.04 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.02	0.08 \pm 0.02
Total		44.98 \pm 1.59	16.61 \pm 1.13	7.20 \pm 0.79	68.79 \pm 1.25

conj.: glucuronic acid conjugate

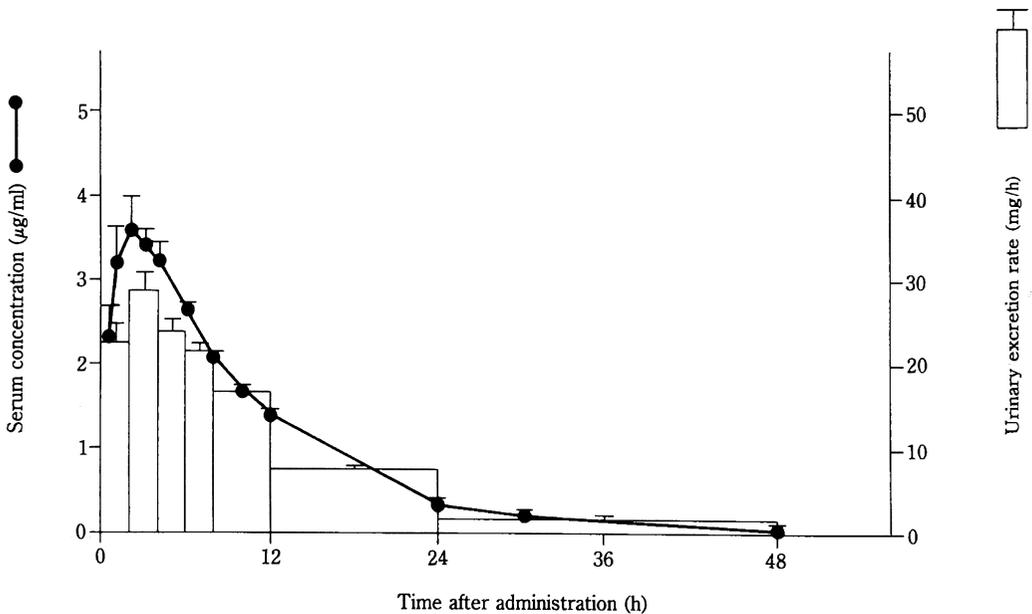


Fig. 7. Serum concentration and urinary excretion rate of temafloxacin after oral administration at 600 mg (n=6, Mean \pm S.E.).

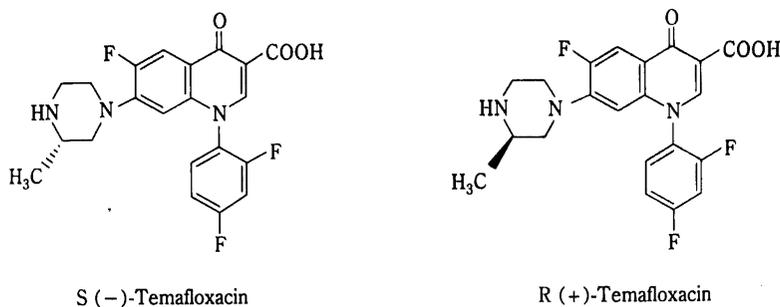


Fig. 8. Chemical structures of S(-)- and R(+)-temafloxacin.

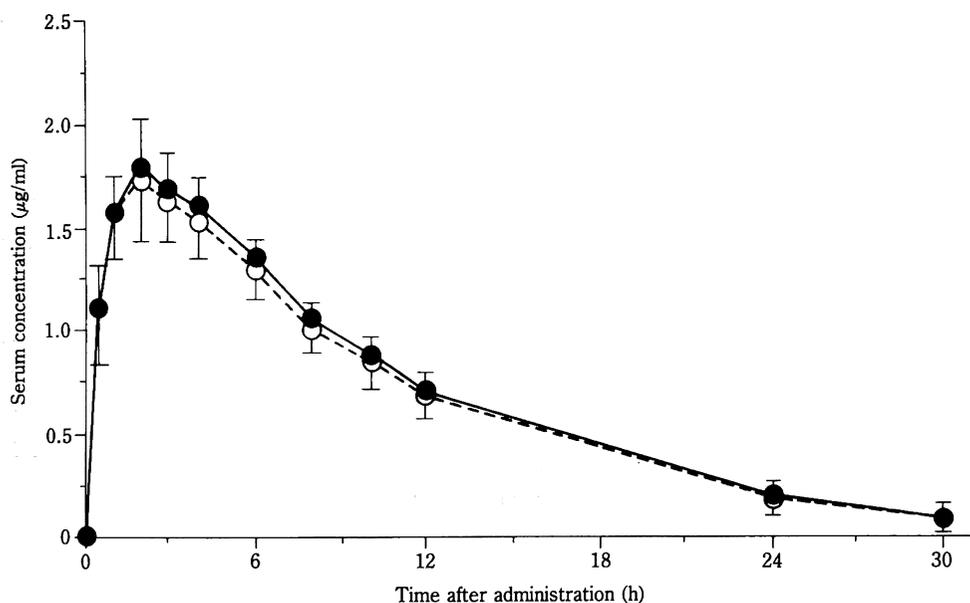


Fig. 9. Time course of serum concentrations of S(-) (●)- and R(+)(○)-temafloxacin after oral administration at 600 mg (n=5, Mean ± S.E.).

Table 5. Serum concentrations and the ratios of S (-) and R (+)-temafloxacin after oral administration at 600 mg (n=5)

Isomer		Time after administration (h)					
		0.5	2	4	8	12	24
S (µg/ml)	Mean	1.099	1.792	1.593	1.049	0.697	0.193
	S.E.	0.246	0.247	0.170	0.039	0.033	0.019
R (µg/ml)	Mean	1.103	1.719	1.525	0.989	0.668	0.182
	S.E.	0.261	0.226	0.122	0.037	0.040	0.019
S/R (ratio)	Mean	1.007	1.040	1.036	1.060	1.047	1.066
	S.E.	0.015	0.010	0.029	0.005	0.019	0.030

(2) 光学異性体

Table 8にTMFX及びその光学異性体の抗菌力を示す。*Enterococcus faecalis* CN-478 および *Micrococcus luteus* ATCC9341でS(-)formが1管高いMICを示したが、他の11菌株では光学異性体間に抗菌力の差は認められなかった。

III. 考 察

TMFXの臨床第I相試験における600mg単回経口投与時の血清と尿検体を用い、ヒト代謝物を検索した。また、TMFXはラセミ体として開発されていることから、生体内での異性体比の変動についても検討した。

1. 測定法

血清中未変化体及び代謝物の測定法について、G.R.Grannemanらが限外ろ過法と溶媒抽出法による前処理法を報告している¹⁰⁾。この二つの前処理法による測定は、再現性及び回収率の点においてほとんど差が

なかったため、前処理操作が簡便な限外ろ過法を用いた。限外ろ過法の場合に懸念のあったタンパク質との結合については、血清検体にアセトニトリル及びラウリル硫酸ナトリウムを加えることにより遊離させた。尿検体については、存在するタンパク質等がわずかであるため、前処理操作をすることなく希釈のみで測定が可能であった。

一方、グルクロン酸抱合体については、アルカリ溶液を用いる加水分解法を設定した⁶⁾。加水分解時の至適条件を設定するために、TMFX投与後の血清及び尿検体を用い37℃における加温時間の影響を検討した。その結果、TMFX及び各代謝物の遊離型の量は、血清では1~2時間、尿では0.5~1.5時間でほぼ一定値に達した。したがって加水分解条件として、血清検体の場合は2時間、尿検体の場合は1時間を設定した。

光学異性体の分析については、HPLC法によるキラ

Table 6. Urinary excretion of S (-)- and R (+)-temafloxacin and their ratios (S/R) after oral administration at 600 mg (n=5)

Isomer		Time after administration (h)							
		0~2	2~4	4~6	6~8	8~12	12~24	24~48	0~48
S (% of dose)	Mean	3.65	4.71	3.99	4.24	5.64	7.76	3.47	32.66
	S.E.	0.36	0.36	0.26	0.55	0.18	0.30	0.43	0.73
R (% of dose)	Mean	3.83	4.89	3.97	4.19	5.48	7.04	2.93	31.54
	S.E.	0.39	0.36	0.23	0.56	0.18	0.23	0.43	0.69
S/R (ratio)	Mean	0.956	0.963	1.004	1.013	1.029	1.101	1.199	1.036
	S.E.	0.005	0.008	0.014	0.007	0.008	0.012	0.036	0.004

Table 7. Antibacterial activity of temafloxacin (TMFX) and its metabolites

Test strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	TMFX	AQ	EDA	MEDA
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.1	6.25	0.39	0.78
<i>S. epidermidis</i> Kawamura	0.1	1.56	1.56	1.56
<i>E. faecalis</i> CN-478	0.78	>100	6.25	25
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	3.13	>100	12.5	25
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.025	0.39	0.39	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.05	1.56	0.39	1.56
<i>S. typhi</i> T-58	0.1	1.56	0.39	1.56
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	0.1	1.56	0.78	3.13
<i>P. mirabilis</i> TU-1698	0.2	0.1	0.78	3.13
<i>P. vulgaris</i> IID-874	0.2	1.56	0.78	3.13
<i>M. organii</i> Kono	0.39	0.78	0.78	3.13
<i>C. freundii</i> GN-346	0.1	0.78	0.2	1.56
<i>S. marcescens</i> 7006	0.39	1.56	1.56	3.13
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	0.39	6.25	0.39	3.13

10⁶ CFU/ml

ル固定相あるいはキラル移動相を用いる直接分離が困難であったため、光学異性体分離用試薬を用いるジアステレオマー誘導体化法を検討した。この方法は、ピペラジン環の2級アミンに着目し¹¹⁾、これにL-NSPCを反応させてジアステレオマーに導き、HPLC法で分離分析するものである。この誘導体は、Fig. 10のクロマトグラムに示したようにS, Rの順序で溶出した。また、Fig. 11にそれぞれのジアステレオマーを分取して得られたSIMS法によるマススペクトルを示した。m/z719にプロトン付加分子イオンが検出されたことから目的化合物であることが確認された。

2. 体内動態

TMFX600mgを単回経口投与後の平均血清中未変化体濃度は、約2時間で最高に達し、吸収はヒトにおいても速やかであるものと考えられた。ピペラジン環が酸化された代謝物(AQ, EDA, MEDA)については、いずれも投与後緩やかに上昇し T_{max} は2~4時間に認められ、その後徐々に血清中から消失し、48時間後にはほとんど検出されなかった。これら代謝物の6例の平均 C_{max} は、それぞれ0.01, 0.013, 0.011 $\mu\text{g/ml}$ であった。また、TMFX, EDA及びMEDAのグルクロン酸抱合体についても、その平均 C_{max} が0.179, 0.021, 0.018 $\mu\text{g/ml}$ と僅かであり、本薬物はofloxacin (OFLX)¹²⁾やlomefloxacin(LFLX)¹³⁾と同様に代謝されにくい化合物と推定された。

一方、投与48時間後の尿中には投与量の65.27%が未変化体として回収され、ヒトについても比較的尿中排泄の多いことが示された。また代謝物については、TMFXのグルクロン酸抱合体とピペラジン環が酸化されたEDA, MEDAが微量ながら尿中に存在することを

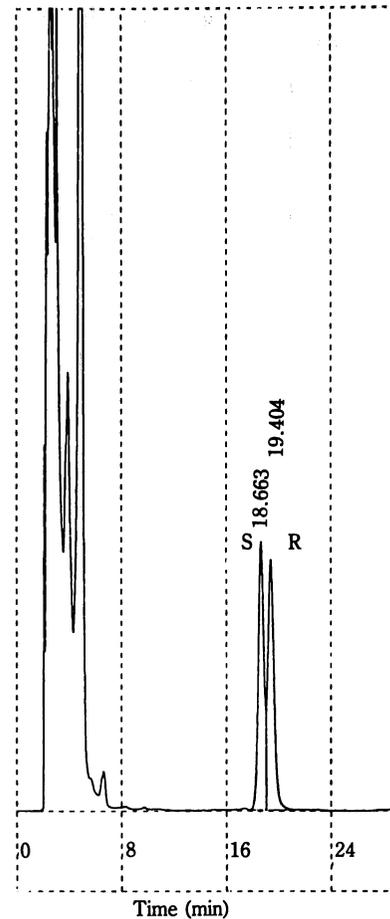


Fig. 10. Typical HPLC chromatogram of control urine spiked with S(-)- and R(+)-temafloxacin.

Table 8. Antibacterial activity of temafloxacin (TMFX) and its optical isomers

10⁶ CFU/ml

Test strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	TMFX	S (-) form	R (+) form
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.2	0.2	0.2
<i>S. epidermidis</i> Kawamura	0.1	0.1	0.1
<i>E. faecalis</i> CN-478	0.78	1.56	0.78
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	3.13	6.25	3.13
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.05	0.05	0.05
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.1	0.1	0.1
<i>S. typhi</i> T-58	0.2	0.2	0.2
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	0.78	0.78	0.78
<i>P. vulgaris</i> IID-874	0.39	0.39	0.39
<i>M. morgani</i> Kono	0.39	0.39	0.39
<i>C. freundii</i> GN-346	0.1	0.1	0.1
<i>S. marcescens</i> 7006	0.78	0.78	0.78
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	0.39	0.39	0.78

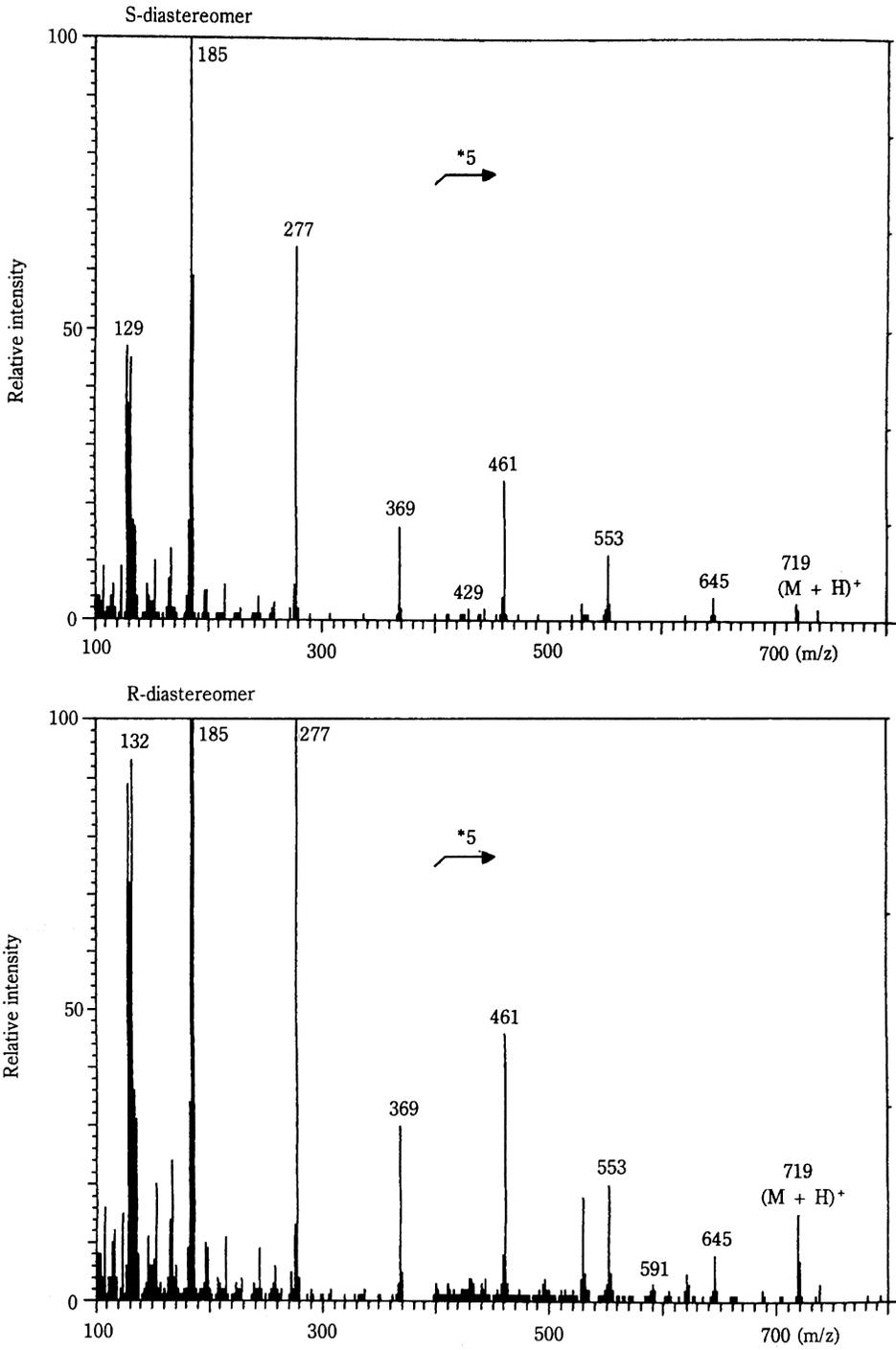


Fig. 11. Mass spectra of S and R diastereomers for temafloxacin.

Table 9. Pharmacokinetic parameters of S(-)- and R(+)-temafloxacin after oral administration at 600 mg (n=5)

Isomer		C _{max} (μg/ml)	T _{max} (h)	t _{1/2} (h)	AUC ₀₋₃₀ (μg·h/ml)	AUC _∞ (μg·h/ml)
S	Mean	1.90	2.80	6.27	20.99	21.89
	S.E.	0.21	0.86	0.68	1.02	1.15
R	Mean	1.85	2.40	6.22	20.13	20.97
	S.E.	0.21	0.93	0.72	1.00	1.16

確認した。

TMFXのグルクロン酸抱合体の尿中排泄率は2.94%であったが、AQ, EDA, MEDAとこれらのグルクロン酸抱合体の総和でも0.58%であることから、主たる代謝物はTMFXのグルクロン酸抱合体であると考えられる。動物においてもイヌ⁷⁾の場合6.8%, ラット⁶⁾の場合0.6%認められている。

次に光学異性体について、血清中濃度はS体とR体がほぼ同じであり、血清中濃度-時間曲線下面積(AUC₀₋₃₀)値についても前者は20.99μg·h/ml, 後者は20.13μg·h/mlとなり、ほとんど差のないことがわかった。また、消失半減期(t_{1/2})についても両者間でよく一致した(Table 9)。尿検体については、投与後0~2時間で光学異性体比(S/R)が、0.956となりR体が若干多くなったが、その後徐々にS体が増加傾向を示し24~48時間ではS/R比が1.199と逆転した。しかし、0~48時間における累積排泄率ではS体が32.66%であったのに対し、R体は31.54%でその比は約1.0となり、光学異性体間の尿中排泄にはほとんど差を認めなかった。この傾向はイヌを用いた動物実験⁷⁾の結果とよく一致した。

以上の結果から、TMFX光学異性体間のヒトにおける吸収並びに排泄速度には、ほとんど差がないものと考えられた。

3. 代謝物及び光学異性体の抗菌力

TMFXの各代謝物の抗菌力は、TMFXより弱く、尿中におけるこれらの代謝物の量も少ないことから、TMFXの治療効果に及ぼす代謝物の影響は無視しうると推察される。また、光学異性体間の抗菌力及び血清中濃度推移にほとんど差がなかったことから、ラセミ体であるTMFXの治療効果及び体内動態は、各光学異性体の性状を等しく反映した結果であることを示唆している。

文 献

- 1) 松下忠弘, 押田忠弘, 恩田時男, 内藤真智子, 山口東太郎: Temafloxacinの*in vitro* 抗菌作用。Chemotherapy 41 (S-5): 67~80, 1993
- 2) 谷 佳都, 芝田和夫, 恩田時男, 山口東太郎: Temafloxacinのマウス実験感染症に対する治療効果。Chemotherapy 41 (S-5): 89~101, 1993
- 3) Hardy D J, Swanson R N, Hensey D M, Ramer N R, Bower R R, Hanson C W, Chu D T W and Fernandes P B: Comparative antibacterial activities of temafloxacin hydrochloride(A-62254) and two reference fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother 31: 1768~1774, 1987
- 4) Swanson R N, Hardy D J, Chu D T W, Shipkowitz N L and Clement J J: Activity of temafloxacin against respiratory pathogen. Antimicrob Agents Chemother 35: 423~429, 1991
- 5) 武田勝男, 矢野 茂, 佐久間由光, 小山八重子, 山口東太郎: Temafloxacinの各種実験動物における吸収, 分布および排泄。Chemotherapy 41 (S-5): 128~139, 1993
- 6) 河野通弘, 児玉裕彦, 遠藤美香, 大塚峯三, 高市雄之: [¹⁴C]Temafloxacinのラットにおける代謝物の単離, 同定および定量。Chemotherapy 41 (S-5): 164~176, 1993
- 7) 河野通弘, 児玉裕彦, 遠藤美香, 大塚峯三, 高市雄之, 矢野 茂, 佐久間由光, 武田勝男: [¹⁴C] Temafloxacinのイヌにおける吸収, 代謝および排泄。Chemotherapy 41 (S-5): 177~187, 1993
- 8) 中島光好, 植松俊彦, 長嶋 悟, 小菅和仁, 金丸光隆: Temafloxacinの臨床第I相試験。Chemotherapy 41 (S-5): 242~259, 1993
- 9) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 10) Granneman G R and Varga L L: High-performance liquid chromatographic procedures for the determination of temafloxacin in biological matrices. J Chromatogr 568: 197~206, 1991

1) 松下忠弘, 押田忠弘, 恩田時男, 内藤真智子, 山口東太郎: Temafloxacinの*in vitro* 抗菌作用。

- 11) 齋木加代子, 松岡正之: 生体内光学活性有機酸のGC/MSによる分離分析。質量分析 39 (3): 113~121, 1991
- 12) 一原規方, 立澤晴男, 津村光義, 采 孟, 佐藤敬喜: DL-8280の第一相臨床試験。Chemotherapy 32 (S-1): 118~149, 1984
- 13) 中島光好, 植松俊彦, 滝口祥令, 水野淳宏, 金丸光隆, 久保信治, 高原義男, 桶崎英一, 永田治: NY-198の第I相臨床試験。Chemotherapy 36 (S-2): 201~239, 1988

Pharmacokinetics of temafloxacin in humans
—Quantification of metabolites and enantiomers—

Masayuki Matsuoka, Hideyuki Mano, Yuzo Fujimoto, Koji Yaku, Kiyoshi Banno,
Noriyuki Nishimura and Toshio Kakimoto
Analytical Chemistry Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.
3-16-89 Kashima, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

Tadahiro Matsushita
Pharmacological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.
2-2-50 Kawagishi, Toda, Saitama 335, Japan

We studied the pharmacokinetics of temafloxacin (TMFX) after a single oral administration of the drug to healthy volunteers at a dose of 600 mg.

Average serum levels of TMFX reached the maximum concentration at 2 h after oral dosing, then declined with a half-life of 6.6 h.

When TMFX was administered orally, 65% of the dose was excreted as unchanged TMFX in urine within 48 h after dosing.

In addition to unchanged TMFX, three metabolites (AQ, EDA, MEDA), which were oxidized at the piperazine ring, were found in serum and urine. Glucuronic acid conjugates of TMFX and its metabolites were also found. The amounts of these metabolites were small.

The time-course of the serum level of S(-)-TMFX was similar to that of R(+)-TMFX. The antibacterial activities of metabolites were less potent than those of TMFX. No difference in antibacterial activities between enantiomers was observed.