

Gatifloxacin 光学異性体の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力

安江徳太郎・三浦資子・弦巻葉子・保坂雅喜・平井敬二

杏林製薬株式会社中央研究所*

Gatifloxacin (GFLX) およびその光学異性体である S, R 体の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を測定し、以下の成績を得た。

1. 2種の光学異性体は幅広い抗菌スペクトルを示し、その活性はGFLXとほぼ同等であった。

2. マウス全身感染モデルにおいて、GFLX およびその光学異性体は経口および皮下投与によりほぼ同等の効果を示した。

以上、GFLXの光学異性体間に抗菌力の差はなく、ラセミ体であるGFLXと同等の活性を示すことが明らかとなった。

Key words : gatifloxacin, 光学異性体, *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力

Gatifloxacin (GFLX) はキノロン環7位に3-メチルピペラジニル基、8位にメトキシ基を有する新しいキノロン系抗菌薬である¹。本化合物はそのピペラジニル基3位に不斉炭素が存在することから2種の光学異性体が存在する。そこでわれわれは、この2種の光学異性体の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を測定し、ラセミ体であるGFLXと比較した。

材料と方法

1. 試験薬物

GFLX (Lot No. R759931, Lot No. G655321, Lot No. K939931, Lot No. K929951) およびその光学異性体である S (Lot No. R929911, Lot No. G9Y5323), R (Lot No. R929921, Lot No. G9Y5324) 体は杏林製薬株式会社で合成されたものを使用した。各薬物は、いずれも力価の明らかなものを使用し、濃度および投与量は、無水物に換算して表示した。

2. *In vitro* 抗菌力の測定

(1) 使用菌株

In vitro 抗菌力の測定には杏林製薬(株)中央研究所保存の標準株27株および臨床分離株177株を用いた。臨床分離株の内訳は、*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (以下 *S. aureus*) 27株、*Streptococcus pneumoniae* 27株、*Enterococcus faecalis* 27株、*Escherichia coli* 27株、*Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* 27株、*Pseudomonas aeruginosa* 27株、*Acinetobacter* spp. 15株である。*S. pneumoniae* Type IIIは京都薬科大学より分与された株を用いた。

(2) MIC 測定

In vitro 抗菌力は日本化学療法学会MIC測定法に準じて寒天平板希釈法により測定した^{2,3)}。なお、感受性測定用培地として、*S. pneumoniae* および *E. faecalis* には5%馬脱繊維血液添加 Mueller Hinton Medium (Difco)、嫌気性菌にはGAM寒天培地(日水製薬)を用い、それ以外の菌にはMueller Hinton Mediumを用いて測定した。

3. マウス全身感染に対する防御効果

マウス全身感染モデルはICR系マウス(雄性、3週齢、日本エスエルシーより購入、1群6あるいは8匹使用)に *S. aureus* Smith および *S. pneumoniae* Type III を感染させて作製した。*S. pneumoniae* Type III は京都薬科大学より分与された株を用いた。

S. aureus Smith はハート・インヒュージョン寒天培地(日水製薬)で37℃、一夜培養し、生育した菌を5%ムチン(Difco)を加えた生理食塩水に所定の濃度になるよう懸濁し、接種用菌液とした(3.5×10⁶CFU/マウス)。*S. pneumoniae* Type III は10%馬脱繊維血液を含むMueller Hinton broth (Difco) で一夜培養した菌を生理食塩水で希釈して接種用菌液とした(9.4×10⁶CFU/マウス)。これらの菌液0.5mLをマウス腹腔内に接種し感染を惹起した。薬物は0.1mol/L NaOHで溶解後、蒸留水で希釈し、その0.2mLを経口あるいは皮下投与した。薬物の投与は菌接種1時間後に行った。感染防御効果は、感染7日後のマウス生存数からProbit法あるいはLitchfield-Wilcoxon法によりED₅₀値を算出し判定した。

成 績

1. *In vitro* 抗菌力

GFLXおよびその光学異性体の抗菌スペクトルをTable 1

に示した。3化合物とも幅広い抗菌スペクトルを示し、各種好気性菌及び嫌気性菌に対するMICはGFLX及びR体では0.0125~1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、S体では ≤ 0.0063 ~

1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に分布し、その活性にほとんど差はみられなかった。

7菌種177株の臨床分離株に対するGFLXおよびその光

Table 1. Antibacterial spectrum of gatifloxacin and its optical isomers

Organisms	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		
	gatifloxacin	S-(-)-gatifloxacin	R-(+)-gatifloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> 209P	0.05	0.05	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Smith	0.05	0.05	0.10
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IID866	0.10	0.10	0.10
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Type III	0.20	0.20	0.20
<i>Streptococcus pyogenes</i> IID692	0.39	0.39	0.39
<i>Enterococcus faecalis</i> IID682	0.39	0.39	0.20
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.0125	≤ 0.0063	0.0125
<i>Proteus mirabilis</i> IID994	0.025	0.025	0.025
<i>Proteus vulgaris</i> IF03167	0.0125	0.0125	0.0125
<i>Morganella morganii</i> IID602	0.10	0.10	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i> IID977	0.05	0.05	0.10
<i>Citrobacter freundii</i> IID976	0.05	0.05	0.05
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> KY64	0.025	0.025	0.05
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> serovar <i>enteritidis</i> IID604	0.05	0.05	0.05
<i>Shigella sonnei</i> IID969	0.0125	0.0125	0.025
<i>Yersinia enterocolitica</i> IID981	0.10	0.05	0.10
<i>Serratia marcescens</i> IID618	0.10	0.10	0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IF012689	1.56	0.78	1.56
<i>Burkholderia cepacia</i> GIFU518	1.56	0.78	1.56
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> GIFU2491	0.20	0.20	0.20
<i>Acinetobacter baumannii</i> IID876	0.05	0.05	0.05
<i>Alcaligenes faecalis</i> 0114002	0.39	0.39	0.39
<i>Bacteroides fragilis</i> GM7000	0.39	0.39	0.20
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 0661	0.78	0.78	0.78
<i>Bacteroides vulgatus</i> KYA29327	0.39	0.39	0.20
<i>Propionibacterium acnes</i> 11828	0.20	0.20	0.20
<i>Clostridium difficile</i> I-E	1.56	1.56	1.56

Table 2. Comparison of antibacterial activity of gatifloxacin and its optical isomers against clinical isolates

Organisms (No. of isolates)	Compound	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (27)	gatifloxacin	0.05~6.25	0.10	1.56
	S-(-)-gatifloxacin	0.05~6.25	0.10	3.13
	R-(+)-gatifloxacin	0.05~3.13	0.10	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (27)	gatifloxacin	0.39~1.56	0.39	0.78
	S-(-)-gatifloxacin	0.39~1.56	0.78	0.78
	R-(+)-gatifloxacin	0.39~0.78	0.39	0.78
<i>Enterococcus faecalis</i> (27)	gatifloxacin	0.39~25	0.78	12.5
	S-(-)-gatifloxacin	0.39~25	0.78	25
	R-(+)-gatifloxacin	0.20~25	0.78	12.5
<i>Escherichia coli</i> (27)	gatifloxacin	≤ 0.0063 ~0.39	0.025	0.05
	S-(-)-gatifloxacin	≤ 0.0063 ~0.39	0.025	0.05
	R-(+)-gatifloxacin	≤ 0.0063 ~0.39	0.025	0.05
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> (27)	gatifloxacin	0.025~12.5	0.05	0.39
	S-(-)-gatifloxacin	0.025~12.5	0.05	0.39
	R-(+)-gatifloxacin	0.05~12.5	0.05	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27)	gatifloxacin	0.39~100	12.5	50
	S-(-)-gatifloxacin	0.39~100	25	100
	R-(+)-gatifloxacin	0.39~100	12.5	100
<i>Acinetobacter</i> spp. (15)	gatifloxacin	0.025~1.56	0.05	1.56
	S-(-)-gatifloxacin	0.0125~1.56	0.05	1.56
	R-(+)-gatifloxacin	0.05~1.56	0.05	1.56

学異性体の抗菌力を測定し、MIC₅₀、MIC₉₀ 値を Table 2 に示した。いずれの菌種においても MIC の違いは 2 倍以内であり、抗菌力に差はみられなかった。

2. マウス全身感染に対する防御効果

GFLX およびその光学異性体のマウス全身感染モデルに

対する防御効果を Table 3 に示した。*S. aureus* Smith に対して GFLX および光学異性体の間に効力の差は認められなかった。一方、*S. pneumoniae* Type III に対しては経口および皮下投与とも R 体の方が S 体より低い ED₅₀ 値を示したが、いずれの場合も有意差はみられなかった。

Table 3. Protective effects of gatifloxacin and its optical isomers on systemic infections in mice

Organisms (Challenge dose : CFU/mouse)	Compound	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	ED ₅₀ (95% confidence limits) (mg/kg)	
			PO	SC
<i>S. aureus</i> Smith (3.5×10^7) ^{a)}	gatifloxacin	0.05	2.6 [1.9~3.4]	0.51 [0.45~0.57]
	S(-)-gatifloxacin	0.05	2.7 [2.2~3.4]	0.50 [0.44~0.56]
	R(+)-gatifloxacin	0.10	2.9 [2.3~3.7]	0.49 [0.38~0.64]
<i>S. pneumoniae</i> Type III (9.4×10^7)	gatifloxacin	0.20	32 [24~42]	23 [16~32]
	S(-)-gatifloxacin	0.20	32 [27~37]	33 [24~46]
	R(+)-gatifloxacin	0.20	23 [16~30]	20 [14~27]

a) with 5% gastric mucin

考 察

GFLX はキノロン環 7 位の 3-メチルピペラジニル基に不斉炭素を有することから 2 種の光学異性体が存在する。そこで、この 2 種の光学異性体について抗菌力を測定し GFLX と比較した結果、2 種の光学異性体とも GFLX とほぼ同等の *in vitro* 抗菌活性を示した。さらに、マウス全身感染モデルを用いて *in vivo* 効果を検討したところ、経口および皮下投与において、GFLX とその光学異性体の効果に差はみられなかったことから、これらの化合物の間には *in vitro* 抗菌力のみならず経口吸収性や組織移行性にもほとんど差がないものと推察された。サルにおける GFLX の血中動態および尿中排泄の検討でも、GFLX とその光学異性体の薬物動態に大差がないことが示されている¹⁾。

光学分割により開発された薬剤として levofloxacin (LVFX) がすでに臨床使用されている。LVFX はベンゾオキサジン環 3 位に不斉炭素を有する ofloxacin (OFLX) の (S) - (-) 体であり OFLX の 2 倍強い抗菌活性を示すが、(R) - (+) 体である DR-3354 は活性が弱く、その立体配置が抗菌活性に大きく影響することが報告されている²⁾。

一方、temafloxacin (TMFX) は GFLX と同じ 7 位側鎖をその構造中に有するキノロン系化合物である。松岡らは TMFX のピペラジニル基 3 位の不斉炭素による光学異性体について抗菌力およびヒトにおける体内動態を比較し、いずれも光学異性体間でほとんど差がないことを報告している³⁾。今回のわれわれの試験結果は、TMFX で得られた成績と同様に、抗菌活性に及ぼす 7 位置換基の立体配置の影響が少ないことを示している。

以上のことから、GFLX の光学異性体は、両者でその抗菌力に差がなく、ラセミ体である GFLX と同等の抗菌力を示すことが明らかとなった。

文 献

- Hosaka M, Yasue T, Fukuda H, et al: In vitro and in vivo antibacterial activities of AM-1155, a new 6-fluoro-8-methoxy quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 36: 2108~2117, 1992
- 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
- 嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。 *Chemotherapy* 27: 559~560, 1979
- 町田正明, 伊澤 成, 堀 弥, 他: 新キノロン系抗菌薬 gatifloxacin 及びその光学異性体の体内動態, II. 実験動物における体内動態の光学選択的分析法による検討。 *日本化学療法学会雑誌* 47 (S-2): 124~130, 1999
- Hayakawa I, Atarashi S, Yokohama S, et al: Synthesis and antibacterial activities of optically active ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 29: 163~164, 1986
- 松岡正之, 真野秀幸, 藤本雄三, 他: 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 -。 *Chemotherapy* 41 (S-5): 260~272, 1993

In vitro and *in vivo* antibacterial activity
of optical isomers of gatifloxacin

Tokutaro Yasue, Motoko Miura, Yoko Tsurumaki, Masaki Hosaka, and Keiji Hirai

Central Research Laboratories, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.

2399-1 Mitarai, Nogi-machi, Shimotsuga-gun,

Tochigi 329-0114, Japan

In vitro and *in vivo* antibacterial activity of gatifloxacin (GFLX), and its S and R isomers were examined.

1. The two optical isomers showed a broad spectrum of antibacterial activity which was as potent as that of GFLX.

2. The efficacy of the optical isomers by oral administration on systemic infections in mice was comparable to that of GFLX.

These results indicate that there is no difference in antibacterial activity between GFLX and its optical isomers.