

## 耐性菌に有効な新規抗菌薬の創出

Meiji Seika ファルマ株式会社 医薬研究所

井上 洋子

1928 年にアレクサンダー・フレミングが penicillin を発見し、1940 年代には penicillin G が量産化された。その後、すぐに本剤耐性の黄色ブドウ球菌が出現し、世界各地に広がっていった。1960 年代には penicillin 耐性菌にも有効な methicillin が開発されたが、1970 年代後半以降、methicillin にも耐性を示す黄色ブドウ球菌 (methicillin resistant *Staphylococcus aureus* :MRSA) が問題となった。従来、MRSA は院内での感染症であったが、最近では健常人にも感染症を引き起こす市中感染の原因菌 (community acquired-MRSA : CA-MRSA) としても脅威となっている。

本邦で承認されている MRSA 感染症の治療薬は、グリコペプチド系抗菌薬の vancomycin 及び teicoplanin、アミノグリコシド系抗菌薬の arbekacin、オキサゾリジノン系抗菌薬の linezolid 及び tedizolid、環状リポペプチド系抗菌薬の daptomycin の 6 剤である。しかし、既にこれら薬剤に対する耐性菌が出現しており、新しい薬剤を準備しておく必要がある。これまでの創薬研究により、化合物の脂溶性を上げることでグラム陽性菌に対する活性が向上し、水溶性を付与することでグラム陰性菌における外膜透過性や薬剤排出の影響を軽減できることが分かってきた。しかし、同時にこれら二つのアプローチによりグラム陽性菌とグラム陰性菌に対する抗菌力を両立させることは難しいことから、グラム陽性菌に対する抗菌力を強化する戦略を選択した。我々は、MRSA を含む薬剤耐性グラム陽性菌に有効な新規抗菌薬を見出すため、作用機序が明らかであり、安全性及びクラスエフェクトについても情報の多い既存母核を用いたアプローチを行った。本論文では、カルバペネム系、アミノグリコシド系、及びリンコマイシン系の新規誘導体合成により、それぞれ見出した 3 つの新規化合物の有用性評価について報告する。

### 1) 新規注射用カルバペネム系抗菌薬 ME1036

カルバペネム系抗菌薬はグラム陽性・陰性菌に幅広く有効性を示すことが知られている。近年、MRSA や肺炎球菌などのグラム陽性菌では PBPs の変異による親和性の低下による耐性機序が報告されている。MRSA は、メチシリン耐性遺伝子である *mecA* (新たな細胞壁合成酵素:PB2') を獲得したことにより PB2' に対する  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬の結合親和性が低下し、耐性を示す。我々はカルバペネム系抗菌薬の誘導体を合成し、PB2' に対する親和性を向上させた新規カ

カルバペネム系抗菌薬 ME1036 を見出した。ME1036 は MRSA のみならず、耐性化が問題となっている肺炎球菌に対する抗菌活性も向上した。本学位論文では、PBPs の変異による耐性化が問題視されているペニシリン耐性肺炎球菌に焦点を当て、ME1036 の有効性を、変異 PBPs に対する親和性の強さと関連付けて解析した。その結果、ME1036 は、カルバペネム系抗菌薬の imipenem や panipenem、セファロsporin系抗菌薬の ceftriaxone との比較により、 $\beta$ -ラクタム感受性肺炎球菌及び耐性肺炎球菌のいずれに対しても強い抗菌力を示し、MIC 以上の濃度で強い殺菌力を示した。これらの試験で用いた肺炎球菌の PBP2A/2X 及び 2B に対する親和性を調べたところ、ME1036 は比較薬よりも強い親和性を示したことから、PBP2A/2X 及び 2B に対する親和性の改善により、ペニシリン耐性肺炎球菌に対しても強い抗菌力及び殺菌力を示すと考えられた。

## 2) 新規アミノグリコシド系抗菌薬 TS2037

アミノグリコシド系抗菌薬は、グラム陽性菌及び陰性菌に対して抗菌力を示すことが特徴の注射剤である。アミノグリコシド系抗菌薬に対する MRSA の耐性機序は、アミノグリコシド修飾酵素産生による薬剤の不活化である。特に、AAC(6')-APH(2'')のような修飾酵素を獲得した菌は、多くのアミノグリコシド系抗菌薬に耐性を示す。本邦で抗 MRSA 薬として上市されている arbekacin は、(S)-4-amino-2-hydroxybutyryl (HABA) を置換基として導入することで、MRSA の AAC(6')-APH(2'')修飾酵素に対しても安定となった。一方、AAC(6')-APH(2'')を過剰産生する一部の臨床分離株に arbekacin 耐性株がみられることから、我々は arbekacin 耐性 MRSA にも有効なアミノグリコシド系抗菌薬の誘導体を探索した。TS2037 は arbekacin の 5 位及び 4''位のそれぞれの水酸基をエピ化した 5,4''-diepi-arbekacin 誘導体である。TS2037 は、AAC(6')-APH(2'')修飾酵素に arbekacin 以上に安定化することで、arbekacin 耐性 MRSA に対しても強い抗菌力を示した。MRSA マウス全身感染モデルにおいても、抗 MRSA 薬である arbekacin、vancomycin 及び linezolid に比べて優れた有効性を示した。また、耐性緑膿菌についても arbekacin 及び tobramycin よりも優れた *in vivo* 有効性を示した。アミノグリコシド系抗菌薬のクラスエフェクトである腎毒性のリスクを評価するため、腎上皮細胞 LLC-PK1 細胞を用いた *in vitro* 評価系で薬剤を比較検討した。TS2037 処置後に放出される N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (細胞障害性のマーカーの 1 つ) の量は、arbekacin の約 2 倍であった。しかし我々は、米国で承認されているアミノグリコシド系抗菌薬 plazomicin にみる高用量短期治療のような例を参考にし、TS2037 の強力な有効性を活かす適切な用法用量があると考えている。また将来的には、腎毒性軽減剤の開発など、既存薬を生かすような薬剤開発も薬剤耐性菌問題を解決する 1 手段になる可能性がある。

### 3) 新規リンコマイシン系抗菌薬 Compound A

近年、CA-MRSA による市中の MRSA 感染症が問題となっている。Clindamycin は CA-MRSA に感受性を示すことから第一選択薬として用いられているが、その耐性化が課題となっている。一方で、Linezolid 及び tedizolid は、注射に加え経口投与も可能であることから、抗 MRSA 薬として汎用されている。しかし長期投与により、耐性菌の出現リスクや骨髄抑制の有害事象が課題となっている。我々は、それらの課題を解決する観点から、組織移行性に優れ、経口投与が可能でかつ安全性の高いリンコマイシン系抗菌薬に注目し、合成展開により抗 MRSA 活性を有する新しい化合物を見出した。Compound A は clindamycin 感性 MRSA に対し MIC<sub>90</sub> が 0.25 µg/mL の強い抗菌力を示し、clindamycin 耐性 MRSA に対しても、MIC<sub>90</sub> が 2.0 µg/mL の活性を示した。リンコマイシン系抗菌薬は、リボゾームのメチル化酵素遺伝子 (*erm*) による結合サイトのメチル化によって抗菌力が低下する。我々は、*erm* を構成的に産生する MRSA から実験的に linezolid 低感受性株を取得して評価したところ、compound A はこれらの株に対して交叉耐性を示した。一方、*erm* 非産生の linezolid 低感受性 MRSA に対しては、compound A は交叉耐性を示さなかった。さらに、実験的に取得した compound A 低感受性 MRSA 株に対して、linezolid は交叉耐性しなかった。以上のことから、我々は、compound A が clindamycin の結合部位だけでなく、linezolid 結合部位近傍に新たな結合部位を獲得したと考え、それは linezolid 結合部位と一部重複しているが一致はしていないと考えている。Compound A は clindamycin 感性及び耐性 MRSA によるマウス皮下膿瘍モデルにおいて、各々 clindamycin 及び linezolid よりも優れた有効性を示した。また、linezolid で臨床上問題となっている骨髄抑制のリスクについては、ミトコンドリア機能抑制を *in vitro* 評価系で比較検討したところ、compound A は linezolid よりも弱い抑制効果を示した。以上の結果から、compound A は市中及び院内での MRSA 感染症に対して幅広く有効であり、安全性の高い抗菌薬となることが期待される。

以上のように、我々は MRSA を含む多剤耐性グラム陽性菌に有効な新規抗菌薬の創出を目指して既存母核を用いた創薬を実施し、その中から臨床応用が期待される候補化合物を見出した (ME1036 は、安全性の問題で開発を中止した)。現在、薬剤耐性菌の対策として新規抗菌薬の開発が求められている。First in class の母核を用いたアプローチは、新規作用機序により耐性菌に対する有効性が期待されるものの、安全性でのハードルが高く、新薬開発段階でドロップアウトする可能性が高い。本論文では、有効性及び安全性に関する情報が豊富な既存母核を用いることで、より早く、より確実に、MRSA にも有効な新規抗菌薬を見出す

手段を検討した。現状、薬剤耐性菌としてはグラム陰性菌が注目されているが、歴史的にみても耐性 MRSA が近い将来問題になる可能性があり、本研究結果が今後のグラム陽性菌による薬剤耐性菌対策に貢献できるものと期待される。

以上