

新キノロン系抗菌剤 sparfloxacin の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用

中村信一・南 明・中田勝久・黒部暢之・河野 薫  
 阪口雄三・柏本茂樹・吉田博明・小島 毅・大植富夫  
 藤本孝一・中村美佳・橋本昌久・清水薫尚  
 大日本製薬株式会社総合研究所\*

(実施期間：昭和 61 年 2 月～昭和 63 年 12 月)

新キノロン系抗菌剤 sparfloxacin (SPFX), [5-amino-1-cyclopropyl-7-(*cis*-3,5-dimethyl-1-piperazinyl)-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid] の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を ciprofloxacin (CPFX), ofloxacin (OFLX), enoxacin (ENX) および norfloxacin (NFLX) と比較検討し、下記の結果を得た。

1) SPFX はグラム陰性菌、レジオネラには CPFX とほぼ同程度、グラム陽性菌、ブドウ糖非発酵菌、嫌気性菌、マイコプラズマ、クラミジア、結核菌、非定型抗酸菌には概して CPFX, OFLX, ENX および NFLX より強い抗菌作用を示した。

2) SPFX は ampicillin, cephalixin, tetracycline, chloramphenicol および streptomycin と交差耐性を示さず、また殆どの nalidixic acid (NA) 高度耐性菌 (MIC: 100  $\mu$ g/ml 以上) の増殖を低濃度 (0.025~0.78  $\mu$ g/ml) で阻止した。

3) SPFX の MIC 値は馬血清および胆汁の添加により殆ど影響されなかったが、培地 pH の低下および接種菌量の増加により若干高くなった。また SPFX の MIC 値は二価カチオン ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) 添加および人尿により殆ど影響されなかった。

4) SPFX は MIC 近辺で殺菌的に作用した。

5) SPFX に対する自然耐性変異菌の出現頻度は低かった。

6) SPFX は種々のマウス実験的感染症 (全身、肺、皮膚および尿路感染症) において経口投与で CPFX, OFLX, ENX および NFLX より優れた感染防御効果を示した。

**Key words:** Sparfloxacin, キノロン, 抗菌作用, *in vitro*, *in vivo*

現在、臨床に供せられているいわゆるニューキノロン剤はグラム陰陽両菌に抗菌作用を示し、尿路感染症はもとより、呼吸器感染症のような全身感染症にも広く使用されている。しかし既存のニューキノロン剤の連鎖球菌属、マイコプラズマ属、クラミジア属および抗酸菌に対する抗菌作用は必ずしも十分なものではない。我々はキノロン系抗菌剤のスクリーニングを長年続けているが、最近これらの点の改良された化合物、SPFX を見出した<sup>1-3)</sup>。

本報告では sparfloxacin (SPFX) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を ciprofloxacin (CPFX), ofloxacin (OFLX), enoxacin (ENX), norfloxacin (NFLX) および一部の抗生物質との比較のもとに述べる。

## I. 実験材料および方法

## 1. 使用薬剤

SPFX<sup>4)</sup>, CPFX<sup>5)</sup>, OFLX<sup>6)</sup>, ENX<sup>7)</sup>, NFLX<sup>8)</sup>, pipemidic acid (PPA)<sup>9)</sup> および nalidixic acid (NA)<sup>10)</sup> は当研究所で調製されたものを用いた。erythromycin (EM; ラクトビオン酸塩) は大日本製薬, streptomycin (SM; 硫酸塩) および ampicillin (ABPC; ナトリウム塩) は明治製薬, minocycline (MINO; 塩酸塩) は Sigma Chemical, ethambutol (EB; 塩酸塩), tetracycline (TC; 塩酸塩) は武田薬品, isoniazid (INH) は和光純薬, rifampin (RFP) は第一製薬, kanamycin (KM; 硫酸塩) は万有製薬, cephalixin (CEX) は塩野義製薬, chloramphenicol (CP) は三共および *p*-aminosalicylic acid (PAS)

Table 1. Media used

Organism	Medium
For preculture	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Brain heart infusion (BHI) broth <sup>1</sup>
<i>Actinomyces pyogenes</i>	BHI broth+5% horse serum
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Mueller-Hinton (MH) broth <sup>2</sup> +3% NaCl
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MH broth+0.3% KNO <sub>3</sub>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	MH broth+7% hemolyzed sheep blood
<i>Campylobacter jejuni</i>	MH agar <sup>2</sup> +7% hemolyzed horse blood
<i>Helicobacter pylori</i>	Brucella agar+5% hemolyzed horse blood
<i>Haemophilus influenzae</i>	MH broth+5% Fildes enrichment
Anaerobes	GAM broth <sup>3</sup>
<i>Legionella</i> spp.	BCYE $\alpha$ broth <sup>4</sup> without charcoal
<i>Branhamella catarrhalis</i>	Heart infusion (HI) broth <sup>5</sup> +5% hemolyzed horse blood
<i>Mycoplasma</i> spp.	Chanock broth <sup>6</sup>
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Chanock broth+1% glucose +0.002% phenol red
<i>Mycobacterium</i> spp.	Dubos broth <sup>7</sup>
The other organisms	MH broth
For MIC determination	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	BHI agar <sup>1</sup>
<i>Actinomyces pyogenes</i>	BHI agar
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	MH agar+7% hemolyzed sheep blood
<i>Campylobacter jejuni</i>	MH agar+7% hemolyzed horse blood
<i>Helicobacter pylori</i>	Brucella agar+5% hemolyzed horse blood
<i>Haemophilus influenzae</i>	MH agar+5% Fildes enrichment
Anaerobes	GAM agar <sup>3</sup>
<i>Legionella</i> spp.	BCYE $\alpha$ agar <sup>4</sup> without charcoal
<i>Branhamella catarrhalis</i>	HI agar <sup>5</sup> +5% hemolyzed horse blood
<i>Mycoplasma</i> spp.	Chanock broth
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Chanock agar <sup>6</sup> +1% glucose +0.002% phenol red
<i>Mycobacterium</i> spp.	Dubos broth
The other organisms	MH agar

<sup>1</sup> BHI broth and agar (Difco)<sup>3</sup> GAM broth and agar (Nissui)<sup>5</sup> HI broth and agar (Difco)<sup>7</sup> Dubos broth (Difco)<sup>2</sup> MH broth and agar (Difco)<sup>4</sup> BCYE  $\alpha$  broth and agar (Oxoid)<sup>6</sup> Chanock broth and agar<sup>41</sup>

は丸若化学の市販品を用い、いずれも用時滅菌蒸留水に溶解した。キノロン剤は MIC 測定時には必要に応じ等モルの水酸化ナトリウムを添加して滅菌蒸留水に溶解し、経口投与時には 0.4% carboxymethyl cellulose に懸濁または溶解した。

## 2. 使用菌株

嫌気性菌は岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設から、*Legionella* spp. は長崎大学医学部第 2 内科から、*Mycoplasma* spp. は東京大学医学部附属動物実験施設および久留米大学医学部小児科から、*Chlamydia*

*trachomatis* は岐阜大学医学部泌尿器科から、*Chlamydia psittaci* は川崎医科大学医学部呼吸器科から、*Mycobacterium intracellulare* と *Mycobacterium fortuitum* は刀根山病院内科から分与されたものを用い、臨床分離株は 1976 年から 1985 年に全国の病院から送付されたものを使用した。その他の使用菌株は当研究所の保存株である。

## 3. 最小発育阻止濃度

日本化学療法学会 MIC 測定法<sup>11, 12)</sup> および既報の方法<sup>1, 13)</sup> に従った。使用培地は菌種により異なるので、

Table 2. Experimental conditions for mouse infections

Infection		Route	Dose (cells/mouse)	Medication (h after infection)	Efficacy judgement
Organism					
<b>Systemic infection</b>					
<i>Staphylococcus aureus</i> 50774		iv	$5 \times 10^8$	0 or 0, 6	survival rate on day 14*
<i>Streptococcus pyogenes</i> A65		ip	$3 \times 10^7$	0 or 0, 6	on day 7
<i>Streptococcus pneumoniae</i> I Neufeld		ip	$3 \times 10^8$	0 or 0, 6, 24, 30	on day 14
<i>Escherichia coli</i> P-5101		ip+m	$9 \times 10^8$	0 or 0, 6	on day 7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12		ip+m	$4 \times 10^8$	0 or 0, 6	on day 7
<b>Pulmonary infection</b>					
<i>Klebsiella pneumoniae</i> P-5709		in	$2 \times 10^8$	0, 6	survival rate on day 14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12		in	$2 \times 10^7$	0, 1, 3	on day 5
<b>Dermal infection</b>					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12		sc	$9 \times 10^8$	0, 3, 6, 24, 27, 30	abscess formation on day 4
<b>Ascending kidney infection</b>					
<i>Staphylococcus aureus</i> 50774		ives	$2 \times 10^8$	3, 8, 24, 30, 48, 54	bacteria in kidney on day 5
<i>Escherichia coli</i> P-5101		ives	$2 \times 10^7$	"	on day 5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12		ives	$2 \times 10^4$	"	on day 5
<i>Serratia marcescens</i> S-9		ives	$3 \times 10^7$	"	on day 5

\* The day of infection is termed day 0.

Abbreviations : iv, intravenous ; ip, intraperitoneal ; ip+m, intraperitoneal+4% mucin ; in, intranasal ; sc, subcutaneous ; ives, intravesical

まとめて Table 1 に示した。

#### 4. 諸因子の MIC に及ぼす影響

馬血清およびコール酸ナトリウムの添加, 培地 pH の変化および接種菌の MIC 値に及ぼす影響は MH agar, pH 7.0 を用いる寒天希釈法により調べた。二価カチオン ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) 添加の影響は Sensitivity test broth (Nissui) を用い, また人尿の影響は培地の代わりに人尿そのものを用い液体希釈法 (接種菌濃度: 最終  $10^5$  CFU/ml) により調べた。

#### 5. 殺菌作用

SPFX を種々の濃度を含む MH broth, pH 7.0 に試験菌を最終約  $10^4$  CFU/ml 濃度に接種し,  $37^\circ C$ , 24 時間振盪培養した。生菌数を MH agar 上で測定し, 生菌数が減少した場合, 殺菌作用があると判定した。

#### 6. 自然耐性変異菌の出現頻度

SPFX を MIC の 4, 8 および 16 倍の濃度を含む 10 ml の HI agar 上に前培養菌液 (約  $10^8$  CFU/ml) またはその希釈液を 0.1 ml ずつ塗り広げ,  $37^\circ C$  で 20 時間培養後, 形成したコロニーを数え, 耐性菌数を算出した。別に薬剤を含まない同培地上で生菌数を測定した。なお各菌液当り 3 枚のシャーレを用いた。自然耐性変異菌の出現頻度は耐性菌数と生菌数との比で表わした。

#### 7. マウス感染防御試験

感染防御効果は 4 種のマウス実験的感染症 (全身, 肺, 皮膚および尿路感染症)<sup>1, 12)</sup> で調べた。用いた実験条件は Table 2 に示すとおりである。

## II. 実験結果

#### 1. 好気性菌および通性嫌気性菌に対する抗菌作用

グラム陽性菌 10 株, グラム陰性菌 30 株およびブドウ糖非発酵菌 8 株の合計 48 株の実験室保存株に対する SPFX の抗菌作用を CPFX, OFLX, ENX および NFLX と比較して Table 3 に示す。SPFX はグラム陽性菌に対し  $0.025 \sim 0.78 \mu g/ml$ , グラム陽性菌に対し  $0.0016 \sim 0.78 \mu g/ml$ , ブドウ糖非発酵菌に対し  $0.025 \sim 1.56 \mu g/ml$  の MIC 値を示した。SPFX のグラム陽性菌およびブドウ糖非発酵菌に対する抗菌作用は CPFX, OFLX, ENX および NFLX より概して強く, グラム陰性菌に対する抗菌作用は CPFX とほぼ同程度で OFLX, ENX および NFLX より概して強かった。

臨床分離株 625 株の SPFX に対する感受性を CPFX および OFLX と比較して Table 4 に示す。グラム陰性菌に対する SPFX の MIC<sub>90</sub> 値は OFLX より概して低く, CPFX とほぼ同程度であった。Branhamella

Table 3. Antibacterial activities of sparfloxacin and related compounds against aerobic and facultatively anaerobic organisms

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	sparfloxacin	ciprofloxacin	ofloxacin	enoxacin	norfloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	0.05	0.1	0.2	0.39	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> Terajima	0.025	0.2	0.2	0.39	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.05	0.2	0.2	0.78	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> 80	0.025	0.39	0.2	1.56	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 8	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook	0.39	0.39	0.78	3.13	1.56
<i>Enterococcus faecalis</i> 2473	0.78	1.56	1.56	6.25	3.13
<i>Actinomyces pyogenes</i> C-21	0.1	0.1	0.39	0.78	0.39
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	0.025	0.05	0.1	0.2	0.2
<i>Listeria monocytogenes</i> LI-2402	0.78	0.78	1.56	6.25	3.13
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.0125	0.0063	0.05	0.1	0.1
<i>Escherichia coli</i> Kp	0.0031	0.0031	0.025	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> P-51212	0.0016	0.0016	0.0125	0.05	0.05
<i>Escherichia coli</i> N-51	0.39	0.2	0.78	1.56	0.78
<i>Escherichia coli</i> N-31	0.0063	0.0016	0.025	0.025	0.025
<i>Salmonella typhimurium</i> S-9	0.0125	0.0063	0.025	0.1	0.05
<i>Salmonella typhi</i> 901	0.0063	0.0063	0.05	0.1	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> 1015	0.0125	0.0125	0.05	0.1	0.05
<i>Salmonella schottmuelleri</i> 8006	0.0125	0.0031	0.025	0.05	0.05
<i>Salmonella enteritidis</i> 1891	0.0063	0.0031	0.025	0.05	0.05
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW10	0.0125	0.0125	0.05	0.1	0.1
<i>Shigella sonnei</i> EW33	0.0063	0.0031	0.025	0.05	0.05
<i>Yersinia enterocolitica</i> MY-79	0.025	0.0125	0.1	0.1	0.1
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> S-1	0.1	0.05	0.2	0.2	0.2
<i>Morganella morganii</i> IFO 3848	0.0125	0.0063	0.025	0.05	0.05
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.05	0.0125	0.05	0.1	0.1
<i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849-4	0.78	0.1	0.39	0.78	0.1
<i>Proteus rettgeri</i> IFO 3850	0.05	0.025	0.2	0.2	0.1
<i>Providencia inconstans</i> P-5415	0.025	0.0063	0.025	0.1	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	0.0031	0.0016	0.0125	0.1	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> P-5707	0.025	0.025	0.1	0.2	0.2
<i>Klebsiella oxytoca</i> P-5708	0.025	0.0125	0.1	0.1	0.1
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	0.05	0.0125	0.1	0.1	0.2
<i>Enterobacter cloacae</i> 963	0.05	0.0125	0.1	0.2	0.2
<i>Citrobacter freundii</i> P-6802	0.025	0.0125	0.1	0.1	0.1
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.39	0.05	0.2	0.2	0.2
<i>Serratia marcescens</i> S-9	0.2	0.05	0.2	0.2	0.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445	0.39	0.2	1.56	1.56	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	0.78	0.1	0.78	0.78	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Tsuchijima	0.39	0.1	0.78	0.78	0.78
<i>Pseudomonas putida</i> P-5522	1.56	0.39	6.25	3.13	3.13
<i>Xanthomonas maltophilia</i> P-5523	0.2	0.78	1.56	6.25	12.5
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> P-6901	0.025	0.2	0.39	0.78	3.13
<i>Alcaligenes faecalis</i> P-7001	0.39	0.78	0.78	1.56	6.25
<i>Moraxella bovis</i> P-7101	0.39	3.13	1.56	3.13	3.13
<i>Moraxella lacunata</i> P-7102	0.78	6.25	6.25	12.5	25
<i>Flavobacterium</i> sp P-7291	0.05	0.39	0.39	1.56	3.13
<i>Brucella abortus</i> Kusayanagi	0.78	3.13	3.13	6.25	12.5

Table 4. Susceptibilities of clinical isolates to sparfloxacin and related compounds

Organism (no. of strain)	MIC <sub>50</sub> /MIC <sub>90</sub> (μg/ml) <sup>a</sup>		
	sparfloxacin	ciprofloxacin	ofloxacin
<i>Escherichia coli</i> (57)	0.0125/0.1	0.0063/0.1	0.05/0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (53)	0.05/0.1	0.0125/0.025	0.1/0.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (51)	0.78/1.56	0.2/0.78	1.56/6.25
<i>Serratia marcescens</i> (47)	0.39/1.56	0.1/0.78	0.39/1.56
<i>Branhamella catarrhalis</i> (32)	0.0125/0.0125	0.025/0.05	0.1/0.1
<i>Campylobacter jejuni</i> (13)	0.025/0.1	0.1/0.39	0.2/0.78
<i>Helicobacter pylori</i> (6)	0.2/0.39	0.2/0.78	0.39/0.78
<i>Haemophilus influenzae</i> (20)	0.0063/0.0125	0.0125/0.0125	0.05/0.05
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (22)	0.0063/0.0125	0.0063/0.025	0.025/0.05
<i>Proteus mirabilis</i> (30)	0.39/0.78	0.05/0.1	0.2/0.78
Indole-positive <i>Proteus</i> spp. (56)	0.2/0.39	0.1/0.39	0.39/0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> (55)	0.1/0.1	0.39/0.78	0.39/0.39
MRSA <sup>b</sup> (42)	0.05/0.1	0.39/1.56	0.39/0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (38)	0.1/0.2	0.2/1.56	0.39/1.56
<i>Enterococcus faecalis</i> (58)	0.39/0.78	0.78/1.56	1.56/3.13
<i>Streptococcus pyogenes</i> (21)	0.39/0.78	0.39/1.56	0.78/1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (24)	0.2/0.78	0.78/1.56	3.13/3.13

<sup>a</sup>MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub>, MIC for 50 and 90% of the strains tested, respectively.

<sup>b</sup>MRSA, Methicillin-resistant *S. aureus* (MIC of methicillin, >12.5 μg/ml).

*catarrhalis*, *Campylobacter jejuni*, および *Neisseria gonorrhoeae* に対する SPFX の MIC<sub>90</sub> 値は CPFX より低く, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* およびインドール陽性 *Proteus* spp. に対しては CPFX と同等, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* および *Proteus mirabilis* に対しては CPFX より高かった。 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes* および *Streptococcus pneumoniae* のようなグラム陽性菌に対しては SPFX の MIC<sub>90</sub> 値は CPFX および OFLX より低かった。メチシリン耐性 *S. aureus* も同様に SPFX に高感受性であった。

## 2. 嫌気性菌に対する抗菌作用

SPFX および対照キノロン剤の嫌気性菌に対する抗菌作用を Table 5 に示す。 *Clostridium perfringens* および *Bacteroides fragilis* のような病原性嫌気性菌はそれぞれ 0.2 および 0.78 μg/ml の濃度の SPFX によって増殖が阻止された。 SPFX の嫌気性菌に対する抗菌活性は CPFX, OFLX, ENX および NFLX より概して強かった。

## 3. レジオネラ, マイコプラズマおよびクラミジアに対する抗菌作用

Table 6 はレジオネラ, マイコプラズマおよびクラミジアに対する SPFX, 対照キノロン剤および対照抗生剤の抗菌活性を示す。レジオネラは 0.0125~0.05 μg/ml の濃度の SPFX, CPFX および OFLX により増殖が阻止された。これらキノロンの MIC 値は ENX, NFLX および EM の MIC 値よりも低かったが, RFP の MIC 値より高かった。 *Mycoplasma pneumoniae* は SPFX に高感受性 (median MIC は 0.1 μg/ml) であり, 対照キノロン剤および MINO には相対的に低感受性であったが, EM には SPFX 以上に高感受性であった。しかし EM に耐性の *Mycoplasma buccale*, *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma orale* および *Mycoplasma salivarium* のようなマイコプラズマは SPFX と MINO にもみ高感受性 (0.0125~0.2 μg/ml の MIC) であった。 *C. trachomatis* および *C. psittaci* に対する SPFX の median MIC 値は 0.031~0.063 μg/ml であり, CPFX, OFLX, ENX および EM よりも低く, MINO とほぼ同等であった。

## 4. 結核菌および非定型抗酸菌に対する抗菌作用

SPFX は *Mycobacterium tuberculosis* の増殖を 0.1 μg/ml の濃度で阻止し, その MIC 値は CPFX の 1/3, OFLX の 1/10, ENX および NFLX の 1/30 であり, INH, PAS および RFP の MIC 値とほぼ同じで

Table 5. Antibacterial activities of sparfloxacin and related compounds against anaerobes

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	sparfloxacin	ciprofloxacin	ofloxacin	enoxacin	norfloxacin
Gram-positive					
<i>Streptococcus intermedius</i> 17408	1.56	3.13	6.25	25	25
<i>Streptococcus parvulus</i> VPI 0546	0.39	0.78	1.56	12.5	12.5
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> GAI 0290	0.2	3.13	12.5	6.25	1.56
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 13953	0.39	0.39	0.78	1.56	3.13
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13123	0.2	0.39	0.78	3.13	1.56
<i>Eubacterium limosum</i> ATCC 8486	0.78	1.56	3.13	12.5	6.25
<i>Eubacterium aerofaciens</i> ATCC 25986	0.39	1.56	1.56	12.5	6.25
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827	0.39	1.56	1.56	12.5	6.25
<i>Propionibacterium granulosum</i> ATCC 25564	0.2	0.78	0.39	6.25	3.13
Gram-negative					
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	0.78	6.25	1.56	12.5	25
<i>Bacteroides vulgaris</i> ATCC 29327	0.78	25	3.13	25	100
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL 3304	1.56	12.5	6.25	25	>100
<i>Bacteroides distasonis</i> GM 7007	3.13	25	12.5	25	>100
<i>Fusobacterium varium</i> ATCC 8501	6.25	12.5	12.5	50	100
<i>Fusobacterium mortiferum</i> ATCC 9817	12.5	12.5	12.5	50	50
<i>Fusobacterium nucleatum</i> GAI 0476	1.56	3.13	3.13	12.5	50

あった (Table 7)。SPFX は INH, PAS および SM に耐性な *M. tuberculosis* にも強い増殖阻止作用を示した。SPFX はまた多くの抗結核剤に耐性である *M. intracellulare* および *M. fortuitum* にも作用した。これら両菌種に対する SPFX の median MIC 値は 0.1 ~ 0.3  $\mu\text{g/ml}$  で CPF とならほぼ等しく、概して OFLX, ENX および NFLX より低い値であった。

#### 5. 交差耐性

抗生物質耐性菌および NA 高度耐性菌に対する SPFX の作用を Table 8 に示す。SPFX は ABPC, CEX, TC, CP, SM などの抗生物質耐性菌に 0.0063 ~ 0.2  $\mu\text{g/ml}$  の MIC 値を示し、感受性菌とはほぼ同程度の MIC 値であった。NA 高度耐性菌 (MIC 100  $\mu\text{g/ml}$  以上) に対し SPFX は 0.025 ~ 0.78  $\mu\text{g/ml}$ , CPF は 0.05 ~ 0.39  $\mu\text{g/ml}$ , PPA は 6.25 ~ 200  $\mu\text{g/ml}$  の MIC 値を示した。SPFX と他のキノロン剤との間に交差耐性は認められたが、SPFX は CPF と同様、NA 高度耐性菌に対してもかなり強い抗菌作用を示した。

#### 6. 諸因子の MIC 値に及ぼす影響

SPFX の MIC 値は Table 9 に示すとおり、馬血清およびコール酸ナトリウムの添加により殆ど影響されなかったが、培地 pH が酸性の場合および接種菌量が増加した場合、やや高くなった。Table 10 に示すとおり、SPFX の MIC 値は二価カチオン ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) の添加により殆ど影響されず、ヒト尿中での MIC 値も培地中での MIC 値とほぼ同じであった。

#### 7. 殺菌作用

対数増殖期の *S. aureus*, *E. coli* および *P. aeruginosa* に SPFX を種々の濃度で作用させ、生菌数の変化を経時的に検討した結果を Fig. 2 に示す。SPFX は MIC 近辺の濃度で 6 時間まで殺菌的に作用し、生菌数の著明な減少が認められた。24 時間では各試験菌とも 1 MIC で再増殖が見られたが、2 MIC では再増殖は認められなかった。

#### 8. 自然耐性菌出現頻度

Table 11 は SPFX の自然耐性変異菌の出現頻度を示したものである。SPFX 自然耐性菌 (選択濃度: 4 MIC, 8 MIC, 16MIC) は 4 ~ 8 MIC では一部の菌種で低頻

Table 6. Antibacterial activities of sparfloxacin and reference compounds against genera *Legionella*, *Mycoplasma* and *Chlamydia*

Organism (no. of strains)	MIC or median MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )							
	sparfloxacin	ciprofloxacin	ofloxacin	enoxacin	norfloxacin	erythromycin	rifampin	minocycline
<i>Legionella</i> spp.								
<i>L. pneumophila</i> (7)	0.05	0.05	0.05	0.2	0.1	1.56	$\leq 0.0031$	-
<i>L. bozemanii</i> ATCC 33127	0.025	0.0125	0.0125	0.2	0.05	0.78	$\leq 0.0031$	-
<i>L. micdadei</i> ATCC 33218	0.0125	0.0125	0.05	0.2	0.05	3.13	$\leq 0.0031$	-
<i>L. dumoffii</i> ATCC 33279	0.05	0.025	0.05	0.2	0.1	0.78	$\leq 0.0031$	-
<i>Mycoplasma</i> spp.								
<i>M. pneumoniae</i> (11)	0.1	0.78	0.78	6.25	6.25	0.0063	-	1.56
<i>M. buccale</i> CH-20247	0.0125	0.39	0.39	1.56	1.56	>100	-	0.05
<i>M. fermentans</i> PG-18	0.0125	0.1	0.1	0.78	0.39	25	-	0.05
<i>M. hominis</i> PG-21	0.05	1.56	0.78	12.5	12.5	>100	-	0.1
<i>M. orale</i> CH-19299	0.2	1.56	1.56	6.25	12.5	>100	-	0.1
<i>M. salivarium</i> PG-20	0.1	3.13	6.25	25	25	>100	-	0.1
<i>Chlamydia</i> spp.								
<i>C. trachomatis</i> (8)	0.063	1.0	1.0	8.0	16	0.13	-	0.031
<i>C. psittaci</i> (3)	0.031	1.0	0.5	8.0	-	0.13	-	0.031

Table 7. Antibacterial activities of sparfloxacin and reference compounds against *Mycobacterium* species

Compound	Median MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	<i>M. tuberculosis</i> (2) <sup>a</sup>	<i>M. tuberculosis</i> INH, PAS, SM-r <sup>a</sup> (1)	<i>M. intracellulare</i> (3)	<i>M. fortuitum</i> (2)
Sparfloxacin	0.1	0.1	0.3	0.3
Ciprofloxacin	0.3	0.3	0.3	1
Ofloxacin	1	1	1	0.3
Enoxacin	3	3	3	3
Norfloxacin	3	3	1	10
Isoniazid	0.03	>30	10	100
<i>p</i> -Aminosalicylic acid	0.1	100	100	>100
Ethambutol	3	3	10	>100
Streptomycin	3	>100	3	30
Kanamycin	1	1	10	100
Rifampin	0.1	0.1	0.1	100

<sup>a</sup>INH-, PAS- and SM-resistant.<sup>b</sup>Figures in parentheses are the number of strains.

Table 8. Antibacterial activities of sparfloxacin and other drugs against various drug-resistant bacteria

Organism	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	sparfloxacin	ampicillin	cephalexin	tetracycline	chloramphenicol	streptomycin	ciprofloxacin	pipemidic acid	nalidixic acid	
<i>E. coli</i> 47	0.0125	3.13	6.25	>100	>100	50	—	—	—	
<i>E. coli</i> 50 c	0.0125	$\leq 1.56$	3.13	12.5	$\leq 1.56$	25	—	—	—	
<i>E. coli</i> 76	0.0125	>100	6.25	25	>100	25	—	—	—	
<i>E. coli</i> 77	0.0125	6.25	6.25	>100	3.13	—	—	—	—	
<i>E. coli</i> 140 a	0.0063	>100	>100	>100	>100	50	—	—	—	
<i>E. coli</i> 209	0.0125	>100	6.25	>100	3.13	>100	—	—	—	
<i>E. coli</i> 382	0.0125	6.25	6.25	>100	12.5	100	—	—	—	
<i>K. pneumoniae</i> 224	0.025	>100	6.25	6.25	6.25	$\leq 1.56$	—	—	—	
<i>K. pneumoniae</i> 286	0.0063	100	6.25	>100	>100	>100	—	—	—	
<i>K. pneumoniae</i> 338	0.05	50	6.25	6.25	6.25	3.13	—	—	—	
<i>S. sonnei</i> 219	0.0125	$\leq 1.56$	6.25	$\leq 1.56$	3.13	25	—	—	—	
<i>S. sonnei</i> 313	0.0125	3.13	6.25	>100	3.13	100	—	—	—	
<i>P. mirabilis</i> 74	0.2	$\leq 1.56$	12.5	50	12.5	12.5	—	—	—	
<i>P. mirabilis</i> 161 a	0.05	$\leq 1.56$	6.25	100	6.25	6.25	—	—	—	
<i>P. mirabilis</i> 362	0.2	$\leq 1.56$	12.5	100	25	6.25	—	—	—	
<i>E. coli</i> 174	0.2	—	—	—	—	—	0.1	12.5	400	
<i>E. coli</i> 184	0.2	—	—	—	—	—	0.2	25	400	
<i>E. coli</i> 233	0.1	—	—	—	—	—	0.1	25	400	
<i>E. coli</i> 244	0.2	—	—	—	—	—	0.1	12.5	400	
<i>E. coli</i> 307	0.1	—	—	—	—	—	0.1	12.5	100	
<i>E. coli</i> 509	0.025	—	—	—	—	—	0.05	25	100	
<i>E. coli</i> 1196 b	0.2	—	—	—	—	—	0.39	50	>400	
<i>E. coli</i> 1297 a	0.1	—	—	—	—	—	0.1	50	>400	
<i>E. coli</i> 1589 a	0.1	—	—	—	—	—	0.1	12.5	200	
<i>E. coli</i> 1767 a	0.39	—	—	—	—	—	0.1	12.5	400	
<i>E. coli</i> 2049	0.05	—	—	—	—	—	0.05	50	100	
<i>E. coli</i> 17328	0.2	—	—	—	—	—	0.1	25	400	
<i>K. pneumoniae</i> 256	0.39	—	—	—	—	—	0.39	50	400	
<i>K. pneumoniae</i> 2128	0.2	—	—	—	—	—	0.2	50	>400	
<i>K. pneumoniae</i> 17157	0.39	—	—	—	—	—	0.39	50	>400	
<i>K. pneumoniae</i> 17177	0.2	—	—	—	—	—	0.2	25	200	
<i>P. mirabilis</i> 17267	0.78	—	—	—	—	—	0.1	6.25	400	
<i>P. mirabilis</i> 17269	0.39	—	—	—	—	—	0.05	6.25	200	
<i>E. cloacae</i> 17148	0.1	—	—	—	—	—	0.1	25	200	
<i>C. freundii</i> 15599	0.2	—	—	—	—	—	0.1	25	>400	
<i>S. marcescens</i> 17360	0.2	—	—	—	—	—	0.1	200	>400	
<i>S. marcescens</i> 17481	0.39	—	—	—	—	—	0.39	100	>400	
<i>S. marcescens</i> 17496	0.78	—	—	—	—	—	0.39	100	>400	

度に認められたが、16 MIC では調べた 6 株のいずれにおいても全く認められなかった。

#### 9. 感染防御効果

マウス全身感染モデルにおける SPFX の経口投与による感染防御効果を CPFX, OFLX, ENX および NFLX と比較して Table 12 に示す。*S. aureus*, *S. pyogenes* および *S. pneumoniae* のグラム陽性菌感染

症に対する SPFX の 2 ないし 4 回投与による ED<sub>50</sub> 値はそれぞれ 0.828, 3.36 および 6.31 mg/kg/dose であり, CPFX の約 1/5~1/10, OFLX の約 1/3~1/7, ENX の約 1/12~1/39 および NFLX の約 1/33~1/56 の ED<sub>50</sub> 値であった。*E. coli* および *P. aeruginosa* のグラム陰性菌感染症に対する SPFX の 2 回投与による ED<sub>50</sub> 値はそれぞれ 0.478 および 1.57 mg/kg/dose で



Table 9. Influence of some factors on the MICs of sparfloxacin

Factor	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Tsuchijima	
pH	6.0	0.2	0.025	0.39
	6.5	0.1	0.0125	0.39
	7.0	0.1	0.0125	0.2
	7.5	0.1	0.0125	0.2
	8.0	0.1	0.0125	0.2
Inoculum size (dilution)	$10^0$	0.05	0.0125	0.39
	$10^1$	0.05	0.0125	0.39
	$10^2$	0.05	0.0063	0.2
	$10^3$	0.025	0.0063	0.1
	$10^4$	0.025	0.0063	0.05
Hores serum	0%	0.05	0.0125	0.2
	40%	0.05	0.0063	0.2
Sodium cholate	0%	0.05	0.0125	0.2
	1%	0.05	0.0125	0.2
	5%	no growth	0.0125	0.2

Table 10. Influence of divalent cations and human urine on the MICs of sparfloxacin

pH	Additive	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	
7.4	Control	0.1	0.05	
	CaCl <sub>2</sub>	0.2 mM	0.1	0.05
		2.0 mM	0.1	0.1
	MgCl <sub>2</sub>	0.2 mM	0.1	0.05
		2.0 mM	0.2	0.05
	Human urine	0.1	0.05	
5.5	Control	0.2	0.2	
	CaCl <sub>2</sub>	0.2 mM	0.2	0.2
		2.0 mM	0.2	0.39
	MgCl <sub>2</sub>	0.2 mM	0.2	0.2
		2.0 mM	0.39	0.2
	Human urine	0.2	0.78	

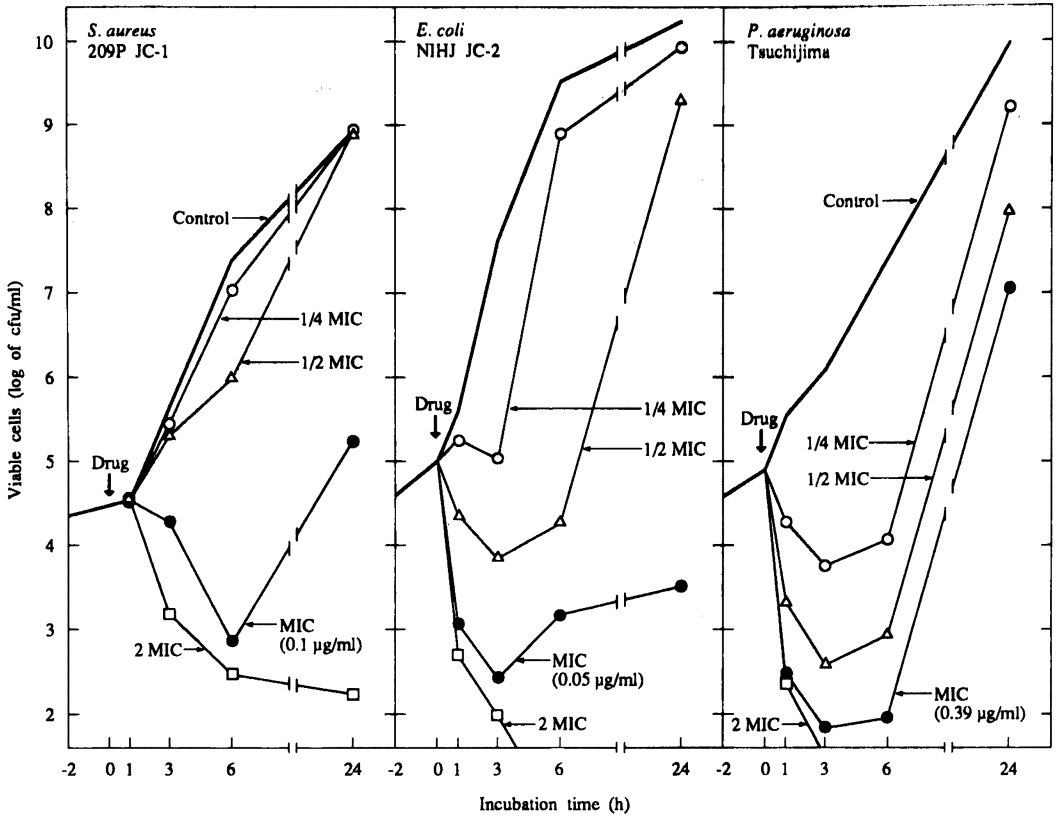


Fig. 2. Bactericidal activity of sparfloxacin

Table 11. Frequencies of mutants resistant to sparfloxacin

Organism	MIC (µg/ml)	Selective concentration		
		4 MIC	8 MIC	16 MIC
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	0.05	$<1.9 \times 10^{-9}$	$<1.9 \times 10^{-9}$	$<1.6 \times 10^{-9}$
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.0125	$1.1 \times 10^{-8}$	$<1.3 \times 10^{-9}$	$<1.3 \times 10^{-9}$
<i>Morganella morganii</i> Kono	0.1	$5.0 \times 10^{-9}$	$<1.0 \times 10^{-9}$	$<1.0 \times 10^{-9}$
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	0.0031	$1.3 \times 10^{-7}$	$1.5 \times 10^{-9}$	$<1.0 \times 10^{-9}$
<i>Enterobacter cloacae</i> 963	0.05	$1.1 \times 10^{-8}$	$<7.1 \times 10^{-10}$	$<7.1 \times 10^{-10}$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	0.78	$1.3 \times 10^{-7}$	$3.1 \times 10^{-8}$	$<7.7 \times 10^{-10}$

あり, CPFX の約 1~1/2, OFLX の約 1/2~1/4, NFLX の約 1/10~1/11 および ENX の約 1/5 の ED<sub>50</sub> 値であった。1 回投与の場合も *S. pneumoniae* を除き, 2 回投与とはほぼ同様の ED<sub>50</sub> 値を示した。SPFX の感染防御効果は一般に CPFX, OFLX, ENX および NFLX より優れていた。SPFX の MIC 値が CPFX のそれよりも高かった *S. pyogenes* および *P. aeruginosa* による感染症に対しても SPFX は CPFX より優

れた効果を示した。また *S. pyogenes* に対する SPFX の MIC は OFLX と同じであったが, 感染防御効果は SPFX の方が約 3 倍優れていた。肺, 皮膚および尿路感染症モデルにおける SPFX の感染防御効果を対照薬と比較して Table 13 に示す。*K. pneumoniae* および *P. aeruginosa* 肺感染症における SPFX の ED<sub>50</sub> 値はそれぞれ 1.61 および 2.86 mg/kg/dose であり, CPFX の約 1/2~1/3, OFLX の約 1/2, ENX の約

Table 12. Comparative oral activities of sparfloxacin and related compounds against systemic infections in mice

Infecting organism (challenge dose)*	Compound	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Medication times	ED <sub>50</sub> (95% confidence limits)(mg/kg/dose)
<i>Staphylococcus aureus</i> 50774 ( $5 \times 10^8$ )	sparfloxacin	0.05	2	0.828 (0.618-1.11)
	ciprofloxacin	0.2	2	8.24 (5.41-12.6)
	ofloxacin	0.2	2	5.18 (4.32-6.21)
	enoxacin	0.39	2	9.89 (7.31-13.4)
	norfloxacin	0.78	2	27.0 (19.3-37.8)
	sparfloxacin	0.05	1	0.831 (0.470-1.47)
	ciprofloxacin	0.2	1	13.3 (6.77-26.0)
	ofloxacin	0.2	1	6.04 (3.56-10.3)
	enoxacin	0.39	1	14.1 (9.31-21.5)
	norfloxacin	0.78	1	29.3 (16.1-53.3)
<i>Staphylococcus pyogenes</i> A65 ( $3 \times 10^7$ )	sparfloxacin	0.39	2	3.36 (2.39-4.43)
	ciprofloxacin	0.2	2	20.3 (13.8-29.7)
	ofloxacin	0.39	2	10.8 (7.82-14.9)
	enoxacin	1.56	2	86.4 (76.7-97.3)
	norfloxacin	1.56	2	188 (152-233)
	sparfloxacin	0.39	1	3.45 (2.78-4.29)
	ciprofloxacin	0.2	1	25.0 (16.1-38.7)
	ofloxacin	0.39	1	13.2 (9.66-18.0)
	enoxacin	1.56	1	100 (76.2-132)
	norfloxacin	1.56	1	282 (171-465)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> I Neufeld ( $3 \times 10^3$ )	sparfloxacin	0.39	4	6.31 (3.83-10.4)
	ciprofloxacin	0.78	4	31.3 (15.6-62.7)
	ofloxacin	1.56	4	41.7 (23.4-74.2)
	enoxacin	6.25	4	247 (196-313)
	norfloxacin	3.13	4	340 (175-659)
	sparfloxacin	0.39	1	18.4 (13.5-25.1)
	ciprofloxacin	0.78	1	257 (122-541)
	ofloxacin	1.56	1	88.9 (67.4-117)
	enoxacin	6.25	1	496 (366-672)
	norfloxacin	3.13	1	> 800 / *
<i>Escherichia coli</i> p-5101 ( $9 \times 10^4$ )	sparfloxacin	0.0125	2	0.478 (0.390-0.585)
	ciprofloxacin	0.0063	2	0.468 (0.367-0.597)
	ofloxacin	0.05	2	0.749 (0.603-0.931)
	enoxacin	0.05	2	2.15 (1.79-2.59)
	norfloxacin	0.05	2	4.84 (3.57-6.57)
	sparfloxacin	0.0125	1	0.481 (0.364-0.637)
	ciprofloxacin	0.0063	1	0.898 (0.591-1.36)
	ofloxacin	0.05	1	0.987 (0.639-1.53)
	enoxacin	0.05	1	3.12 (2.09-4.65)
	norfloxacin	0.05	1	5.51 (3.72-8.17)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12 ( $4 \times 10^3$ )	sparfloxacin	0.39	2	1.57 (1.25-1.98)
	ciprofloxacin	0.1	2	2.78 (2.17-3.56)
	ofloxacin	0.78	2	6.62 (5.85-7.48)
	enoxacin	0.78	2	8.41 (7.61-9.29)
	norfloxacin	0.78	2	17.4 (14.7-20.7)
	sparfloxacin	0.39	1	1.73 (1.38-2.17)
	ciprofloxacin	0.1	1	3.82 (3.14-4.65)
	ofloxacin	0.78	1	8.81 (6.85-11.3)
	enoxacin	0.78	1	12.2 (9.96-15.0)
	norfloxacin	0.78	1	18.5 (14.7-23.3)

\*CFU/mouse

\*The 95% confidence limit is not calculable.

Table 13. Comparative oral activities of sparfloxacin and related compounds against pulmonary, dermal, and urinary tract infections in mice

Type of infection and organism (challenge dose)*	Compound	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	ED <sub>50</sub> (95% confidence limits)(mg/kg/dose)
<b>Pulmonary infection</b>			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1775b ( $2 \times 10^8$ )	sparfloxacin	0.025	1.61 (0.764-3.39)
	ciprofloxacin	0.025	4.03 (1.87-8.65)
	ofloxacin	0.1	3.39 (2.07-5.54)
	enoxacin	0.2	14.9 (10.2-21.8)
	norfloxacin	0.1	130 (87.7-251)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12 ( $2 \times 10^7$ )	sparfloxacin	0.39	2.86 (1.81-4.52)
	ciprofloxacin	0.1	5.39 (3.41-8.52)
	ofloxacin	0.78	5.84 (7.82-14.9)
	enoxacin	0.78	9.28 (5.89-14.6)
	norfloxacin	0.78	13.9 (6.59-29.4)
<b>Dermal infection</b>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12 ( $9 \times 10^8$ )	sparfloxacin	0.39	1.06 (0.555-2.03)
	ciprofloxacin	0.1	5.32 (4.02-7.03)
	ofloxacin	0.78	7.49 (5.08-11.1)
	enoxacin	0.78	11.3 (7.40-17.2)
	norfloxacin	0.78	32.6 (20.4-52.0)
<b>Urinary tract infection</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i> 50774 ( $2 \times 10^8$ )	sparfloxacin	0.05	17.8 (12.5-25.2)
	ciprofloxacin	0.2	54.4 (17.6-168)
	enoxacin	0.39	24.2 (6.13-95.4)
<i>Escherichia coli</i> P-5101 ( $2 \times 10^7$ )	sparfloxacin	0.0125	0.782 (0.304-2.01)
	ciprofloxacin	0.0063	0.939 (0.658-1.34)
	enoxacin	0.05	1.48 (0.773-2.85)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12 ( $2 \times 10^4$ )	sparfloxacin	0.39	1.12 (0.344-3.65)
	ciprofloxacin	0.1	5.88 (1.88-18.4)
	enoxacin	0.78	3.38 (1.46-7.79)
<i>Serratia marcescens</i> S-9 ( $3 \times 10^7$ )	sparfloxacin	0.2	5.77 (3.95-8.45)
	ciprofloxacin	0.05	11.7 (5.72-24.1)
	enoxacin	0.2	11.9 (2.81-50.1)

\*CFU/mouse

1/3~1/9 および NFLX の約 1/5~1/81 の ED<sub>50</sub> 値であった。*P. aeruginosa* 皮膚感染症における SPFX の ED<sub>50</sub> 値は 1.06 mg/kg/dose であり, CPFX の約 1/5, OFLX の約 1/7, ENX の約 1/11 および NFLX の約 1/31 の ED<sub>50</sub> 値であった。SPFX は CPFX よりも MIC 値が高いにもかかわらず *in vivo* 抗緑膿菌作用は優れていた。*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* および *S. marcescens* 尿路感染症における SPFX の ED<sub>50</sub> 値は, それぞれ 17.8, 0.782, 1.12 および 5.77 mg/kg/dose であり, CPFX の 1~1/5, ENX の 1~1/3 の ED<sub>50</sub> 値であった。

### III. 考 察

CPFEX, OFLX, ENX, NFLX などの最近開発されたキノロン系抗菌剤は抗菌スペクトルが広く, かつ強い抗菌作用を有し, 種々の感染症の治療に使用されている。しかし, ある種の重要な病原菌, たとえばグラム陽性球菌, マイコプラズマ, クラミジア, 結核および非定型抗酸菌に対する抗菌作用は必ずしも十分でない。SPFX は, このような病原菌に対し強い抗菌作用を示し, かつグラム陰性菌に対しても強い抗菌作用を示した。

呼吸器感染症は種々の菌により惹起されるので, その

原因菌に応じて適切な治療薬を用いねばならない。肺炎球菌による感染症は $\beta$ -ラクタム剤で十分に治療できるが、*M. pneumoniae*による感染症はマクロライド系薬剤による治療が必要である。グラム陰性菌による慢性感染症は $\beta$ -ラクタム、アミノ配糖体、あるいはキノロン剤による治療が必要であり、結核の場合は抗結核剤が必要である。しかしながら臨床では、原因菌の同定が必ずしも容易ではなく、そのため適切な処置が遅れ、治療を困難にしている場合もあると考えられる。もし一薬剤が殆どの呼吸器由来病原菌に有効であるならば、原因菌が容易に同定されない感染症の治療に役立つと思われる。SPFXはそのような場合に有用であるかもしれない。MRSAは最近、院内感染症の起因菌として注目されているが、殆どの抗菌剤に耐性であるため、MRSAによる感染症の治療は容易ではない。SPFXはMRSAにMSSAと同様の抗菌活性を示し、既存のキノロン剤より1オーダー程度抗菌力が強いので、MRSA感染症の治療に役立つかもしれない。*C. psittaci*はオーム病の、*C. trachomatis*は尿道炎や子宮頸管炎等のSTD感染症の起因菌であり、テトラサイクリン系薬剤が有効であるが、テトラサイクリン系薬剤は他剤に比べ副作用が多い欠点がある。一部のキノロン系薬剤は*C. trachomatis*感染症に臨床で有効であると報告されているので<sup>15)</sup>、SPFXのMINOに匹敵する強い抗クラミジア作用は、この薬剤のクラミジア感染症に対する臨床的有効性を期待させるものである。*M. intracellulare*や*M. fortuitum*のような非定型抗酸菌は通常、抗結核剤や抗菌剤に耐性であり現在有効な薬剤は殆どないといわれている。SPFXはこれらの菌に対して強い抗菌作用を示したが、臨床的に使用し得るか否かは今後の検討課題である。SPFXは抗生物質(ABPC, CEX, TC, CP, SM)とは差差耐性を示さず、NA高度耐性菌にもかなり強い抗菌作用を示した。また作用は殺菌的で、諸因子によりMIC値は殆ど影響されなかった。これらの点については既存のキノロン剤とはほぼ同じである。

一方マウスの実験的感染モデルでは、SPFXは経口投与で有効であり、CPFX, OFLX, ENXおよびNFLXより一般に優れた感染防御効果を示した。SPFXのグラム陽性菌に対する抗菌作用は他のキノロン剤より一般に優れているので、グラム陽性菌感染症に対しては他剤より良好な成績であるのは当然と思われる。しかし、SPFXはグラム陰性菌感染症に対しても他のキノロン剤より優れた効果を示し、とりわけSPFXよりMIC値の低いCPFXより優れた効果を示した。SPFXとCPFXの*in vitro*効果と*in vivo*効果が必ずしも平行

しないのは、両剤の薬動学的性質に違いがあるためと推定される。体内動態試験において、SPFXは経口で良く吸収され、長い血中半減期と、良好な組織移行性を示す<sup>16)</sup>。SPFXのマウスの血中濃度および組織中濃度はCPFXより高く、かつ半減期はCPFXより長いので<sup>17)</sup>、このことがSPFXの*in vivo*効果に有利に影響していると思われる。SPFX 100~400 mgを1回服用したヒトの血漿中濃度のピークは0.44~1.39  $\mu\text{g/ml}$ であり、消失相の半減期は約16時間であると報告されている<sup>18)</sup>。このSPFXの半減期はCPFX(3.3~4.9時間)、OFLX(7時間)、ENX(6.2時間)およびNFLX(3~4時間)より長い<sup>19)</sup>。またマウスの感染防御試験では1回投与でも十分な薬効が認められている。既存のキノロン剤は臨床で、1日2~4回投与されているが、このような性質を考慮するとSPFXは1日1回投与による治療も可能であるように思われる。

#### 文 献

- 1) Nakamura S, et al. : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of AT-4140, a new broad-spectrum quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 33 : 1167~1173, 1990
- 2) Kojima T, Inoue M and Mitsuhashi S : *In vitro* activity of AT-4140 against clinical bacterial isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 33 : 1980~1989, 1989
- 3) Kojima T, Inoue M and Mitsuhashi S : *In vitro* activity of AT-4140 against quinolone- and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 34 : 1123~1127, 1990
- 4) Miyamoto T, et al. : Synthesis and structure-activity relationships of 5-substituted 6, 8-difluoroquinolones, including sparfloxacin, a new quinolone antibacterial agent with improved potency. *J Med Chem* 33 : 1645~1656, 1990
- 5) Grohe K and Heitzer H : Synthese von 4-Quinolone-3-Carbonsäuren. *Liebigs Ann Chem* 1987 : 29~37, 1987
- 6) Hayakawa I, Hiramatsu T and Tanaka Y : Synthesis and antibacterial activities of substituted 7-oxo-2, 3-dihydro-7H-pyrido [1, 2, 3-*de*] [1, 4] benzoxazine-6-carboxylic acids. *Chem Pharm Bull* 32 : 4907~4913,

- 1984
- 7) Matsumoto J, Miyamoto T, Minamida A, Nishimura Y, Egawa H and Nishimura H : Pyridonecarboxylic acids as antibacterial agents. 2. Synthesis and structure-activity relationships of 1, 6, 7-trisubstituted 1, 4-dihydro-4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylic acids, including enoxacin, a new antibacterial agent. *J Med Chem* 27 : 292~301, 1984
- 8) Koga H, Itoh A, Murayama S, Suzue S and Irikura T : Structure-activity relationships of antibacterial 6, 7- and 7, 8-disubstituted 1-alkyl-4-oxoquinolone-3-carboxylic acids. *J Med Chem* 23 : 1358~1363, 1980
- 9) Matsumoto J and Minami S : Pyrido[2, 3-*d*] pyrimidine antibacterial agents. 3, 8-Alkyl-and 8-vinyl-5, 8-dihydro-5-oxo-2-(1-piperazinyl)-pyrido [2,3-*d*] pyrimidine-6-carboxylic acids and their derivatives. *J Med Chem* 18 : 74~79, 1975
- 10) Leshner G Y, Froelich E J, Gruett M D, Bailey J H and Brundage R P : 1, 8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agent. *J Med Pharm Chem* 5 : 1063~1065, 1962
- 11) MIC 測定法改定委員会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改定について. *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 12) 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
- 13) 中村信一, 片江宏己, 南 明, 中田勝久, 井上了, 山岸純一, 高瀬善行, 清水薫尚 : AT-2266 の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用. *Chemotherapy* 32 (S-3) : 70~84, 1984
- 14) 尾形 学 : マイコプラズマとその実験法, 分離培地と分離培養法 (山本孝史) : 332~336頁, 近代出版, 1988
- 15) 2nd Int Symp New Quinolones, Abstract : 243~257, Geneva, Aug. 25~27, 1988
- 16) Sekine Y, et al. : 28th ICAAC : abstr. no. 1489, 1988
- 17) Nakamura S, Kurobe N, Ohue T, Hashimoto M and Shimizu M : Pharmacokinetics of a novel quinolone, AT-4140, in animals. *Antimicrob Agents Chemother* 34 : 89~93, 1990
- 18) Kanamaru M, Nakashima M, Uematsu T and Takikuchi T : 28th ICAAC : abstr. no. 1490, 1988
- 19) Hooper D C and Wolfson J S : The fluoroquinolones : pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 28 : 716~721, 1985

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY  
OF NEW QUINOLONE, SPARFLOXACIN

Sinichi Nakamura, Akira Minami, Katsuhisa Nakata, Nobuyuki Kurobe,  
Kaoru Kouno, Yuzo Sakaguchi, Shigeki Kashimoto, Hiroaki Yoshida,  
Tsuyoshi Kojima, Tomio Ohue, Kouichi Fujimoto, Mika Nakamura,  
Masahisa Hashimoto and Masanao Shimizu

Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.  
Enoki-cho 33-94, Suita, Osaka 564, Japan

*In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of a new quinolone, sparfloxacin (SPFX), were compared with those of ciprofloxacin (CPFX), ofloxacin (OFLX), enoxacin (ENX) and norfloxacin (NFLX) with the following results.

1. SPFX was similar to CPFX in activity against gram-negative bacteria and *Legionella* spp., and more potent than CPFX, OFLX, ENX and NFLX in activity against gram-positive bacteria, glucose-nonfermenters, anaerobes, *Mycoplasma* spp., *Chlamydia* spp., and *Mycobacterium* spp. Most clinical isolates were as susceptible to SPFX as laboratory strains.

2. SPFX was not cross-resistant with ampicillin, cephalixin, tetracycline, chloramphenicol and streptomycin, and inhibited bacteria highly resistant to nalidixic acid (MIC :  $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ ) in a concentration range of 0.025–0.78  $\mu\text{g/ml}$ .

3. The MIC values of SPFX were scarcely affected by the addition of horse serum, sodium desoxycholate or divalent cations such as  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Ca}^{2+}$ , but slightly rose when medium pH lowered or inoculum sizes were enlarged. The MICs of SPFX in human urine were no higher than those in sensitivity test broth.

4. SPFX was bactericidal around its MICs.

5. Frequencies of mutants resistant to SPFX were  $< 1.6 \times 10^{-9}$  at selective concentrations of 16 times the MICs.

6. SPFX was more effective than CPFX, OFLX, ENX and NFLX by the oral route in systemic, pulmonary, kidney and dermal infections in mice.

These results indicate that SPFX is a quinolone with broad and potent antibacterial activity *in vitro* and *in vivo*, and may be useful for various kinds of infections in humans.