

新合成抗菌薬 pazufloxacin の *in vitro* および *in vivo* における postantibiotic effect

戸塚恭一・清水喜八郎*

東京女子医科大学内科*

(*現 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター)

新合成抗菌薬 pazufloxacin (PZFX) の *in vitro* および *in vivo* postantibiotic effect (PAE) を ofloxacin (OFLX) を対照として検討した。 *Staphylococcus aureus* Smith を 2MIC 濃度の PZFX あるいは OFLX にて 1 時間接触時の *in vitro* PAE はそれぞれ 1.75 時間および 1.95 時間で、ほぼ同程度であった。また *Klebsiella pneumoniae* BK に対する PZFX あるいは OFLX の 2MIC, 1 時間接触時の *in vitro* PAE は 1.35 時間および 0.85 時間であったが、薬剤濃度を 4MIC とした時の PZFX および OFLX の PAE は 2.08 時間および 1.95 時間で、薬剤濃度が高くなる事により PAE は延長した。

K. pneumoniae BK マウス大腿感染モデルに対する PZFX 4mg/kg 後背部 S.C. 投与時の *in vivo* PAE は 2.2 時間、最大殺菌力 (ΔLog_{10} CFU/Thigh) は 2.24 で、OFLX の 1.2 時間および 1.67 に比べてやや優れていた。

Key words : PZFX, *in vitro* PAE, *in vivo* PAE

感染症に対して十分な治療効果を期待するには抗菌薬をより効果的に投与する事を考慮すべきであり、抗菌薬の投与量および投与間隔の選定にはその薬剤の特性を十分に検討する必要がある。抗菌力、殺菌性、持続時間等はこれらの事を決定する最も重要な因子と言えるが、通常は有効血中濃度を維持する事を主眼とした投与方法が選択されている。しかし薬剤によっては殺菌性の有るものと無いもの、殺菌性が濃度に依存するものと時間に依存するもの、postantibiotic effect (PAE) の有るものと無いものなど、その殺菌性に関しても抗菌薬の特性はまちまちである。

キノロン薬の殺菌性はアミノ配糖体と同様に濃度依存性であり、しかもグラム陰性菌およびグラム陽性菌に対して PAE をもつ¹⁻³⁾。殺菌性が作用時間に依存し、グラム陰性菌に対して PAE をもたない β -ラクタム剤とは殺菌性における特性が異なり、これらの事を考慮した投与方法の検討も必要と思われる^{1,4,5)}。

Pazufloxacin (PZFX) は富山化学工業株式会社総合研究所にて合成されたキノロン系抗菌薬で、本剤は従来のキノロン薬と比べて最も高い最高血中濃度と最も短い血中半減期を示し、速やかに高濃度の薬剤が作用すると言う特徴を持つ抗菌薬である^{6,7)}。今回我々は PZFX の *in vitro* および *in vivo* における PAE を ofloxacin (OFLX) と比較検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 薬剤および使用菌株

薬剤は PZFX (富山化学) および OFLX (第一製薬) を用

いた。

最小発育阻止濃度 (MIC) は接種菌量を 10^6 CFU/ml とした液体希釈法にて測定した。

2. *In vitro* PAE

In vitro PAE の測定は対数増殖期の菌体に対して 2MIC および 4MIC の PZFX あるいは OFLX を 1 時間接触し、メンブレンフィルターにて薬剤除去後の生菌数を測定する事により行った。PAE は薬剤除去後の生菌数が 1 log 増殖する時間から、薬剤無添加のコントロールが 1 log 増殖する時間を引いた値とした。

3. *In vivo* PAE

In vivo PAE は *Klebsiella pneumoniae* BK 株を用いたマウス大腿感染モデルにて検討した。ICR 雌性マウス (体重 24~27g) の腹腔内に cyclophosphamide の 150mg/kg および 100 mg/kg を感染 4 日前および 1 日前に I.P. 投与して白血球を減少させた。対数増殖期の菌液 0.1ml をこのマウスの大腿筋に約 1×10^6 CFU/thigh になる様接種した。感染 2 時間後のマウス後背部に 4mg/kg の薬剤を S.C. 投与し、以後経時的に大腿部菌数を測定した。*In vivo* PAE は薬剤消失時点を起点として薬剤作用後の菌数が 1 \log_{10} 増殖するまでの時間から、薬剤非投与群の大腿部菌数が 1 \log_{10} 増殖するまでの時間を引いた値とした。また、あらかじめ薬剤投与 15 分毎に新鮮な菌を接種し、この菌の大腿部における増殖を薬剤非投与群における菌の増殖と比較し、残存薬剤が菌の増殖に影響を及ぼさなくなる時間を求め、これを薬剤消失時間とした⁸⁾。今回のモデルにおける薬剤消失時間は PZFX 2.0 時間に対し

てOFLXは2.5時間であった。

4. マウス血中濃度

一群4匹のマウスの背部皮下に0.2mlの薬剤を4mg/kgになる様投与した。経時的にマウス心臓より採血し、遠心分離により血清を分離した。薬剤濃度の測定はHPLC法により行った。

II. 結 果

1. *In vitro* PAE

*In vitro*におけるPZFXおよびOFLXのPAEをTable 1に示した。*Staphylococcus aureus* Smithに対するPZFX 2MIC接触時のPAEは1.75時間でOFLXの1.95時間と同等であった。*K. pneumoniae* BKに対するPZFX 2MICおよび4MIC接触時のPAEは1.35時間および2.08時間で、薬剤濃度に依存してPAEは延長した。OFLXの場合も同様に薬剤濃度に依存したPAEが得られ、2MICおよび4MICの接触時のPAEは0.85時間および1.95時間であった。

2. *In vivo* PAE

Fig. 1に*K. pneumoniae* BKマウス大腿感染モデルに対するPZFXおよびOFLXの4mg/kg S.C. 投与時の大腿部菌

Table 1. *In vitro* postantibiotic effect of pazufloxacin and ofloxacin against *Staphylococcus aureus* Smith and *Klebsiella pneumoniae* BK

	<i>S. aureus</i> Smith		<i>K. pneumoniae</i> BK	
	2MIC	4MIC	2MIC	4MIC
Pazufloxacin (MIC)	1.75 h (0.25 µg/ml)	2.08 h	1.35 h (0.125 µg/ml)	2.08 h
Ofloxacin (MIC)	1.95 h (0.5 µg/ml)	1.95 h	0.85 h (0.5 µg/ml)	1.95 h

1 h exposure

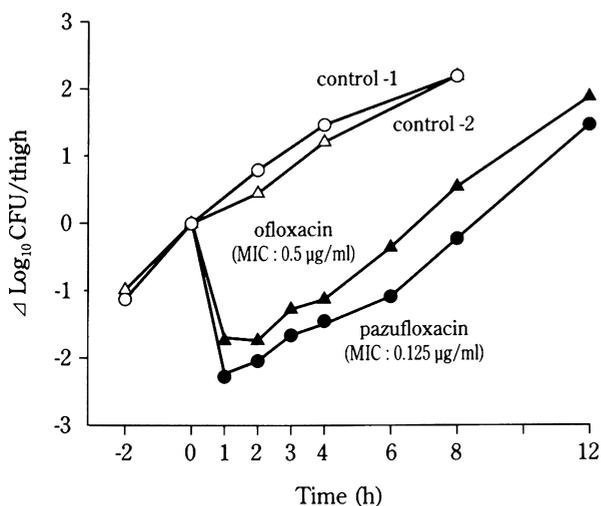


Fig. 1. *In vivo* time kill curve of pazufloxacin and ofloxacin against *Klebsiella pneumoniae* BK in mouse-thigh infection model at 4 mg/kg.

数の消長を、Table 2に、そのときの*in vivo* PAE, 最大殺菌力, 90%および99%殺菌持続時間を示した。マウス大腿部菌数はPZFXの投与後速やかに減少し、投与1時間後に最大殺菌力2.24 \log_{10} CFU/thighを示し、以後再増殖を示した。この時の99%および90%殺菌維持時間はそれぞれ2.2時間および6.35時間であり、*in vivo* PAEは2.2時間であった。OFLX投与の場合もPZFX投与の場合と同様にマウス大腿部菌数は推移したものの、PAE, 最大殺菌力, 殺菌維持時間ともPZFXに比べてやや劣った。

3. マウス血中濃度

Fig. 2にPZFXおよびOFLXの4mg/kg S.C. 時の血中濃度推移を示した。PZFXの血中濃度は投与15分後に最高血中濃度3.7µg/mlに達し、以後半減期0.33時間をもって減少した。OFLXの場合には投与15分後に最高血中濃

Table 2. *In vivo* PAE of pazufloxacin and ofloxacin against *Klebsiella pneumoniae* BK in mouse-thigh infection model

	PAE (h)	$\Delta \text{MAX.}$ ($\text{Log}_{10} \text{CFU/thigh}$)	Killing time (h)	
			90%	99%
Pazufloxacin	2.2	2.24	6.35	2.2
Ofloxacin	1.2	1.67	4.30	≤ 1

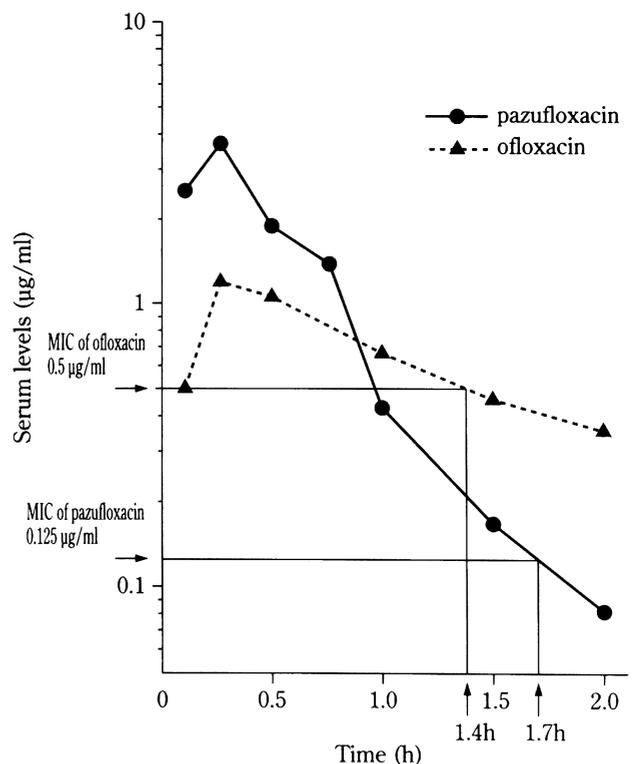


Fig. 2. Serum levels of pazufloxacin and ofloxacin after S.C. administration in mice at 4 mg/kg.

度1.2 μ g/mlに達し、半減期0.92時間をもって減少した。この時のPZFXおよびOFLXがMIC以上の濃度を維持した時間(time above MIC)はそれぞれ1.7時間および1.4時間であった。

Ⅲ. 考 察

感染症の治療において、抗菌薬の投与間隔は主にその有効血中濃度維持時間、血中半減期を考慮して決定される。しかし、実際の治療においては、常に有効血中濃度を維持する事は極めて困難であり、薬剤が消失して以降の菌に対しての作用、すなわちPAEが果たす役割は大きいと考えられる。

今回我々はニューキノロン系抗菌薬PZFXの*in vitro*および*in vivo*におけるPAEをOFLXと比較検討したが、*in vitro*でのPAEはOFLXとほぼ同程度であった。また*K. pneumoniae*について2MICと4MICでの*in vitro* PAEの比較を行ったが、PZFXおよびOFLXとも2MICより4MICでのPAEが明らかに優れていた。一般にキノロン薬のPAEは薬剤濃度と接触時間の双方に依存する傾向があるが、この点に関して、薬剤濃度、接触時間のどちらにより依存するかについての詳細な検討も必要と考えられる。

*K. pneumoniae*マウス大腿感染モデルにおけるPZFX 4mg/kg S.C. 時における*in vivo* PAEは2.2時間でOFLXに比べて1時間長く、最大殺菌、あるいは殺菌持続時間においてもOFLXのそれを上回った。今回の実験におけるPZFXの血中半減期は0.33時間で、OFLXの0.92時間に比べて短かったがtime above MICは、PZFXの1.7時間に対してOFLXは1.4時間でPZFXの方がやや長かった。しかし、大腿部における薬剤消失時間はPZFXの2時間に対して、OFLX 2.5時間とOFLXの方がやや長かった。したがって、OFLXは他のキノロン薬と同様に血中time above MICと大腿部における薬剤消失時間とに約2倍の差があるのに対して、PZFXの場合は両者の間にほとんど差はなく、この点に関してPZFXは従来のキノロン薬よりはむしろ β -lactam薬に近い性質を持つと言える。

PZFXは大腿感染モデルにおいてOFLXに比べて薬剤消失時間は短かったにもかかわらず殺菌性あるいはPAEにおいて優れていた。これは殺菌性あるいはPAEが感染部における薬剤活性持続時間よりも、むしろその至

達濃度あるいは濃度/MICに依存する事を示唆すると言える。動物を用いた感染モデルにおける薬剤効果を検討するにあたり、これらpharmacokineticsとpharmacodynamicsの双方から考察する事も意義有る事と考えられる。

文 献

- 1) 戸塚恭一, 清水喜八郎: 抗菌薬のPAEと投与方法。総合臨床 37: 2187~2190, 1988
- 2) Craig W A, Gudmundsson S: The postantibiotic effect. In: Antibiotics in Laboratory Medicine. p. 515 ~ 536, 2nds edited by V. Lorian, Williams& Wilkins, 1986
- 3) 戸塚恭一, 清水喜八郎: 抗菌薬のPAE。感染症 19: 283~288, 1989
- 4) Rosendaal R et al.: Therapeutic efficacy of continuous versus intermittent administration of ceftazidime in an experimental *Klebsiella pneumoniae* pneumonia in rat. J Infect Dis 152: 373 ~ 378, 1985
- 5) Karlowsky J A, Zhanel G G, Davidson R J, Zieroth S R, Hoban D J: *In vitro* postantibiotic effects following multiple exposures of cefotaxime, ciprofloxacin, and gentamicin against *Escherichia coli* in pooled human cerebrospinal fluid and Mueller-Hinton broth. Antimicrob Agents Chemother 37: 1154~1157, 1993
- 6) 熊澤浄一, 小林宏行: 第42回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム。T-3761, 福岡, 1994
- 7) Fukuoka Y, Ikeda Y, Yamashiro Y, Takahata M, Todo Y and Narita H: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of T-3761, a new quinolone derivative. Antimicrob Agents Chemother 37: 384 ~ 392, 1993
- 8) 片平潤一, 春木宏介, 紫田雄介, 長谷川裕美, 菊池 賢, 戸塚恭一, 清水喜八郎: SparfloxacinのPAEを中心とした基礎的検討および臨床的検討。Chemotherapy 39(S-4): 255~260, 1991

In vitro and *in vivo* postantibiotic effects of pazufloxacin,
a new synthetic antimicrobial agent

Kyoichi Totsuka and Kihachiro Shimizu[#]

Department of Internal Medicine, Tokyo Women's Medical College

8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan

([#] Present address: Institute of Medical Science, St. Marianna University)

The *in vitro* and *in vivo* postantibiotic effects (PAEs) of pazufloxacin (PZFX), a new synthetic antimicrobial agent, were compared with those of ofloxacin (OFLX). After 1-hour exposure of *Staphylococcus aureus* Smith to 2 MICs of PZFX and OFLX, the *in vitro* PAEs were 1.75 and 1.95 hours, respectively. Similarly, the *in vitro* PAEs of PZFX and OFLX against *Klebsiella pneumoniae* BK were 1.35 and 0.85 hours, respectively. The PAEs of PZFX and OFLX at 4 MICs were 2.08 and 1.95 hours, respectively. Higher drug concentrations prolonged the PAEs.

PZFX was subcutaneously injected, at a dose of 4 mg/kg of body weight, to the back of mice infected with *K. pneumoniae* BK. The *in vivo* PAE and the maximum bactericidal activity (ΔLog_{10} CFU/Thigh) of PZFX were 2.2 hours and 2.24, respectively, slightly superior to the 1.2 hours and 1.67, respectively, of OFLX.