

新合成抗菌薬 pazufloxacin の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力

西野武志・池田 靖・大槻雅子・林 広成・今西律子

京都薬科大学微生物学教室*

新合成抗菌薬 pazufloxacin(PZFX) の *in vitro* および *in vivo* における抗菌力を既存の合成抗菌薬の ofloxacin(OFLX), ciprofloxacin(CPFX), tosfloxacin(TFLX) および sparfloxacin(SPFX) と比較検討した。その結果, PZFX は *in vitro* においてグラム陰性菌およびグラム陽性菌の各菌株に対して幅広い抗菌スペクトルを有し, その程度は OFLX より 2~4 倍強く, CFX と同等かやや強い抗菌力を示した。また, PZFX の抗菌力は接種菌量, 培地 pH の影響を受けず, また, 殺菌作用も対照薬と同様に用量依存的であった。

実験のマウス全身感染症において, PZFX は methicillin 感受性 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* に対して TFLX および SPFX に比べて劣るものの, OFLX および CFX に比べて優れた治療効果を示した。また, methicillin 耐性 *S. aureus* や *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* などのグラム陰性菌に対しては比較薬剤中最も優れた治療効果を示した。

各薬剤の 10mg/kg をマウスに経口投与したときの血中濃度を検討した。その結果, PZFX の最高血中濃度 (Cmax) は 2.76 μ g/ml と比較薬剤中最も高かったが, 血中半減期 (T_{1/2}) は 29.8min と最も短かった。

Key words : 合成抗菌薬, PZFX, 抗菌力

近年, norfloxacin(NFLX), ofloxacin(OFLX), tosfloxacin(TFLX) の様な幅広い抗菌スペクトルを有するキノロン薬が開発され, 各種細菌感染症に対して広く使用されている。

Pazufloxacin(PZFX) は, 富山化学工業株式会社において創製され, 株式会社ミドリ十字と共同開発中の新しいキノロン系合成抗菌薬で, ピリド [1, 2, 3-de] [1, 4] ベンゾオキサジン環の 10 位に 1-アミノシクロプロピル基を有し, methicillin 耐性 *Staphylococcus aureus* を含むグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有し, 動物における毒性が低く, 吸収が優れているという特徴をもった薬剤である。今回, 我々は本剤の *in vitro* と *in vivo* 抗菌作用について, OFLX¹⁾, ciprofloxacin(CPFX)²⁾, TFLX³⁾ および sparfloxacin(SPFX)⁴⁾ を対照薬として検討したので報告する。

I 実験材料および実験方法

1. 使用菌株および使用薬剤

菌株は教室保存の標準株および臨床より分離された *S. aureus* 53 株, methicillin 耐性 (DMPPC)⁵⁾ *S. aureus* 50 株, OFLX 耐性 (OFLX)⁶⁾ *S. aureus* 29 株, *Staphylococcus epidermidis* 42 株, OFLX⁷⁾ *S. epidermidis* 28 株, *Streptococcus pyogenes* 54 株, *Streptococcus pneumoniae* 26 株, *Enterococcus faecalis* 29 株, *Enterococcus faecium* 29 株, *Enterococcus avium* 28 株, *Escherichia coli* 49 株, *Citrobacter*

freundii 33 株, *Klebsiella pneumoniae* 40 株, *Enterobacter cloacae* 39 株, *Enterobacter aerogenes* 36 株, *Serratia marcescens* 39 株, *Proteus vulgaris* 40 株, *Proteus mirabilis* 37 株, *Morganella morganii* 36 株, *Providencia rettgeri* 35 株, *Pseudomonas aeruginosa* 48 株, *Neisseria gonorrhoeae* 34 株, *Acinetobacter calcoaceticus* 29 株および *Haemophilus influenzae* 48 株を用いた。また薬剤は, PZFX(富山化学), OFLX(第一製薬), CFX(バイエル薬品), TFLX(富山化学) および SPFX(大日本製薬)を用いた。

2. 感受性測定法

日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁸⁾ に従って Mueller Hinton agar(MHA: 栄研)を用いた寒天平板希釈法により MIC を測定した。ただし, *Streptococcus* 属, および *Corynebacterium diphtheriae* には 10% 馬脱繊維血液を添加した MHA を, *N. gonorrhoeae* には MHA に 10% 馬脱繊維血液を添加して作成したチョコレート培地を, また *H. influenzae* には 5% Fildes enrichment (Difco) を加えた MHA を用いて MIC を測定した。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす接種菌量 (10¹, 10², 10³, 10⁴, 10⁵ cells/ml), 培地 pH(pH6.0, 7.0, 8.0) および馬血清添加 (0, 10, 20, 40%) の影響を *S. aureus* 8 株, *E. coli* 8 株および *P. aeruginosa* 8 株を被検菌とした寒天平板希釈法により検討した。

* 〒607 京都市山科区御陵中内町5

4. 微分干渉顕微鏡による観察

スライドガラス上に種々の濃度の薬剤を添加したフィルム寒天培地を作成し、これに対数期の *E. coli* KC-14 を塗抹後、カバーガラスをかぶせてパラフィンで封入した。薬剤作用 3 時間後の形態変化を恒温装置付の微分干渉顕微鏡を用いて経時的に観察した。

5. 殺菌作用

Sensitivity test broth(STB: 栄研) で培養した対数期の菌液 (*S. aureus* Smith, *E. coli* KC-14, *S. marcescens* T-55, *P. aeruginosa* E-2) を同 broth 中にて 10^6 cells/ml に調製し、各薬剤添加 5 時間後までの生菌数を平板塗抹法により測定した。

6. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

一夜培養した菌体を *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* の場合は brain heart infusion broth(BHIB: Difco) に、他の菌は 5% gastric mucin(和光純薬)に浮遊して接種菌液とした。この菌液の 0.5ml を 1 群 10 匹の ddY 系雄性マウス(体重 20 ± 2 g)の腹腔内に接種して感染を惹起した。治療は感染 2 時間後に 0.5% sodium carboxymethyl cellulose にて懸濁した各薬剤の 0.2ml を 1 回経口投与する事により行った。感染 7 日後のマウスの生存率より、Litchfield-Wilcoxon 法⁹⁾により ED₅₀ 値および 95% confidence limit を算出した。

7. マウス血中濃度

1 群 5 匹のマウスに各薬剤の 10mg/kg を経口投与し、投与 6 時間後までの血液を採取し、遠心分離(3500rpm 15min)により血清を分離した。薬剤濃度は *E. coli* Kp を検定菌、heart infusion agar (栄研) を検定培地とした薄

層ペーパーディスク法により測定した^{7,8)}。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトル

PZFX の抗菌スペクトルを Table 1~3 に示した。PZFX はグラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対して、幅広い抗菌スペクトルを示した。その抗菌力はおおむね OFLX より 1~2 管強く、CPFEX とほぼ同程度であった。

2. 臨床分離株に対する感受性分布を Table 4 に示した。

1) *S. aureus*

臨床分離 *S. aureus* 53 株に対し、PZFX の MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.20 および 0.39 μg/ml で OFLX, CPFEX より 1~3 管優れていたが TFLX および SPFX に比べて 1~2 管劣った。また DMPPC[†] *S. aureus* 50 株に対する PZFX の MIC₉₀ は 12.5 μg/ml と OFLX, CPFEX より 2 管優れ TFLX および SPFX とほぼ同等であった。また、OFLX[†] *S. aureus* 29 株に対して PZFX の抗菌力は OFLX および CPFEX より 2~3 管優れ、TFLX および SPFX とほぼ同程度であった。

2) *S. epidermidis*

臨床分離 *S. epidermidis* 42 株に対して PZFX の MIC₅₀, MIC₉₀ はともに 0.39 μg/ml で OFLX よりやや優れ CPFEX と同等であった。OFLX[†] *S. epidermidis* 28 株に対する PZFX の抗菌力は OFLX および CPFEX より 1~3 管優れ、TFLX および SPFX とほぼ同等であった。

3) *S. pyogenes*

S. pyogenes 34 株に対する PZFX の MIC₅₀ および MIC₉₀

Table 1. Antibacterial spectrum-1

Organism	Pazufloxacin	Ofloxacin	MIC (μg/ml) Ciprofloxacin	Tosufloxacin	Sparfloxacin
<i>S. aureus</i> 209 P JC	0.20	0.20	0.10	0.025	0.05
<i>S. aureus</i> Smith	0.20	0.20	0.20	0.025	0.05
<i>S. aureus</i> Neumann	0.10	0.10	0.20	0.013	0.025
<i>S. aureus</i> E-46	0.20	0.20	0.39	0.025	0.05
<i>S. aureus</i> No. 80	0.10	0.20	0.39	0.025	0.05
<i>S. epidermidis</i>	1.56	1.56	1.56	0.39	0.78
<i>S. pneumoniae</i> Type I	1.56	0.78	0.39	0.10	0.10
<i>S. pneumoniae</i> Type II	1.56	0.78	0.20	0.05	0.05
<i>S. pneumoniae</i> Type III	1.56	0.78	0.39	0.05	0.05
<i>S. pyogenes</i> C-23	1.56	0.78	0.39	0.10	0.39
<i>S. pyogenes</i> Cook	1.56	0.39	0.20	0.05	0.10
<i>S. pyogenes</i> C-203	1.56	1.56	0.39	0.10	0.20
Virdans group <i>Streptococcus</i>	1.56	1.56	0.39	0.20	0.39
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	3.13	1.56	0.78	0.20	0.20
<i>E. faecium</i> IFO 12968	1.56	0.78	0.39	0.10	0.20
<i>E. faecium</i> ATCC 6056	0.78	0.39	0.20	0.05	0.10
<i>C. diphtheriae</i>	0.39	0.39	0.10	0.05	0.05
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	1.56	1.56	1.56	0.78	0.78
<i>B. subtilis</i> ATCC 219	0.05	0.05	0.05	≤0.0063	0.025
<i>B. anthracis</i>	0.05	0.10	0.05	0.013	0.05

は1.56 および 3.13 μ g/ml で OFLX, CPFIX より 1~2 管劣った。

4) *S. pneumoniae*

S. pneumoniae 26 株に対する PZFX の MIC₅₀ および MIC₉₀ は 1.56 および 3.13 μ g/ml で OFLX, CPFIX とほぼ同等であった。

5) *E. faecalis*

E. faecalis 40 株に対して PZFX の MIC₅₀, MIC₉₀ はとも

に 3.13 μ g/ml で OFLX とほぼ同等で CPFIX に比べて 1~2 管程度劣った。

6) *E. faecium*

E. faecium 29 株に対して PZFX の MIC₅₀ は 3.13 μ g/ml, MIC₉₀ は 6.25 μ g/ml で OFLX と同等であった。

7) *E. avium*

PZFX は *E. avium* 28 株に対し OFLX とほぼ同程度の抗菌力を示し, その MIC₅₀ および MIC₉₀ は 1.56 および

Table 2. Antibacterial spectrum-2

Organism	Pazufloxacin	Ofloxacin	MIC (μ g/ml) Ciprofloxacin	Tosufloxacin	Sparfloxacin
<i>E. coli</i> NIH JC-2	\leq 0.0063	0.013	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063
<i>E. coli</i> NIH	0.013	0.013	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063
<i>E. coli</i> K-12	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063
<i>E. coli</i> KC-14	\leq 0.0063	0.025	\leq 0.0063	0.025	0.025
<i>C. freundii</i> 10018-68	0.10	0.10	0.05	0.10	0.39
<i>S. paratyphi</i> A	0.013	0.025	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063
<i>S. paratyphi</i> B	0.013	0.05	0.013	0.013	0.025
<i>S. enteritidis</i>	0.013	0.025	\leq 0.0063	0.013	0.025
<i>S. dysenteriae</i> EW-7	0.013	0.05	0.025	\leq 0.0063	\leq 0.0063
<i>S. flexneri</i> 2a EW-10	0.025	0.05	0.05	0.013	0.013
<i>S. flexneri</i> KOMAGOME	0.025	0.05	0.025	0.013	0.013
<i>S. boydii</i> EW-28	0.013	0.05	0.013	\leq 0.0063	\leq 0.0063
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	3.13	3.13	3.13	0.78	0.39
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 9632	0.025	0.10	0.05	0.013	0.05
<i>E. cloacae</i> NCTC 9394	0.05	0.20	0.05	0.05	0.10
<i>E. aerogenes</i>	0.013	0.05	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063
<i>E. aerogenes</i> NCTC 10006	0.05	0.20	0.05	0.05	0.10
<i>H. alvei</i> NCTC 9540	0.025	0.39	0.05	0.20	0.39
<i>S. marcescens</i> IF 03736	0.05	0.10	0.05	0.20	0.39
<i>S. marcescens</i> T-55	0.10	0.39	0.20	0.20	0.39
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.025	0.05	0.025	0.05	0.10
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.025	0.10	0.05	0.10	0.20
<i>M. morgani</i> KONO	0.025	0.20	0.05	0.10	0.20
<i>P. rettgeri</i> NIH 96	0.05	0.78	0.20	0.20	0.39
<i>P. inconstans</i> NIH 118	0.78	0.20	0.05	0.05	0.05
<i>P. aeruginosa</i> No. 12	0.78	3.13	0.78	1.56	3.13
<i>P. aeruginosa</i> Nc-5	0.05	0.39	0.10	0.05	0.20
<i>P. aeruginosa</i> E-2	0.39	1.56	0.39	0.39	1.56
<i>P. cepacia</i> 25416	0.20	0.39	0.39	0.10	0.20
<i>A. calcoaceticus</i> Ac-54	0.39	0.20	0.20	0.05	0.05
<i>A. faecalis</i> 1311	1.56	1.56	3.13	1.56	1.56
<i>A. faecalis</i> 1015	0.20	0.39	0.78	0.025	0.05
<i>H. influenzae</i> ATCC 10211	\leq 0.0063	0.05	0.025	\leq 0.0063	0.013
<i>N. gonorrhoeae</i>	0.013	0.013	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063
<i>N. meningitidis</i>	0.013	0.025	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063
<i>M. catarrhalis</i>	0.05	0.10	0.10	0.025	0.05

Table 3. Antibacterial spectrum-3

Organism	Pazufloxacin	Ofloxacin	MIC (μ g/ml) Ciprofloxacin	Tosufloxacin	Sparfloxacin
<i>C. tetani</i>	0.20	0.39	0.39	0.10	0.39
<i>C. perfringens</i>	0.39	0.78	0.78	0.20	0.39
<i>C. sporogenes</i>	6.25	12.5	50	0.78	1.56
<i>B. fragilis</i> GM 7000	3.13	1.56	3.13	0.78	0.78
<i>B. thetaiotaomicron</i> 5600	6.25	12.5	50	0.78	1.56
<i>B. distasonis</i> clin-99-3	6.25	12.5	12.5	0.78	1.56
<i>B. vulgatus</i> ES-14	3.13	3.13	50	0.78	0.78
<i>B. ovatus</i> Ju-6-1	25	100	>100	12.5	25

Table 4-1. Comparative *in vitro* activities of pazufloxacin against clinical isolates

Organism (no. of isolates)	Antimicrobial agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		50%	90%	Range
<i>S. aureus</i> (53)	pazufloxacin	0.20	0.39	0.05 ~ 3.13
	ofloxacin	0.39	1.56	0.10 ~ 6.25
	ciprofloxacin	0.39	3.13	0.10 ~ 12.5
	tosufloxacin	0.05	0.10	0.013 ~ 1.56
	sparfloxacin	0.05	0.10	0.013 ~ 1.56
DMPPC ^r <i>S. aureus</i> (50)	pazufloxacin	0.39	12.5	0.10 ~ 12.5
	ofloxacin	0.78	50	0.20 ~ 50
	ciprofloxacin	3.13	50	0.39 ~ > 100
	tosufloxacin	0.10	6.25	0.013 ~ 12.5
	sparfloxacin	0.05	12.5	0.025 ~ 12.5
OFLX ^r <i>S. aureus</i> (29)	pazufloxacin	6.25	25	3.13 ~ 50
	ofloxacin	25	100	6.25 ~ 100
	ciprofloxacin	50	> 100	12.5 ~ > 100
	tosufloxacin	3.13	25	1.56 ~ 25
	sparfloxacin	3.13	25	1.56 ~ 25
<i>S. epidermidis</i> (42)	pazufloxacin	0.39	0.39	0.10 ~ 6.25
	ofloxacin	0.39	0.78	0.10 ~ 6.25
	ciprofloxacin	0.39	0.39	0.013 ~ 6.25
	tosufloxacin	0.05	0.05	0.013 ~ 1.56
	sparfloxacin	0.10	0.20	0.025 ~ 3.13
OFLX ^r <i>S. epidermidis</i> (28)	pazufloxacin	6.25	12.5	3.13 ~ > 100
	ofloxacin	12.5	50	6.25 ~ > 100
	ciprofloxacin	25	100	3.13 ~ 100
	tosufloxacin	3.13	6.25	1.56 ~ 12.5
	sparfloxacin	6.25	12.5	3.13 ~ 50
<i>S. pyogenes</i> (34)	pazufloxacin	1.56	3.13	0.78 ~ 3.13
	ofloxacin	0.78	1.56	0.78 ~ 1.56
	ciprofloxacin	0.39	0.78	0.20 ~ 0.78
	tosufloxacin	0.10	0.20	0.05 ~ 0.20
	sparfloxacin	0.20	0.39	0.10 ~ 0.39
<i>S. pneumoniae</i> (26)	pazufloxacin	1.56	3.13	1.56 ~ 3.13
	ofloxacin	1.56	1.56	0.78 ~ 3.13
	ciprofloxacin	0.78	3.13	0.39 ~ 3.13
	tosufloxacin	0.10	0.10	0.05 ~ 0.20
	sparfloxacin	0.10	0.20	0.05 ~ 0.20
<i>E. faecalis</i> (40)	pazufloxacin	3.13	3.13	1.56 ~ 6.25
	ofloxacin	1.56	3.13	0.78 ~ 6.25
	ciprofloxacin	0.78	1.56	0.39 ~ 3.13
	tosufloxacin	0.20	0.39	0.05 ~ 0.78
	sparfloxacin	0.39	0.39	0.10 ~ 0.78
<i>E. faecium</i> (29)	pazufloxacin	3.13	6.25	0.78 ~ 12.5
	ofloxacin	3.13	6.25	0.78 ~ 6.25
	ciprofloxacin	0.78	1.56	0.20 ~ 6.25
	tosufloxacin	0.39	0.78	0.05 ~ 1.56
	sparfloxacin	0.39	0.78	0.05 ~ 1.56
<i>E. avium</i> (28)	pazufloxacin	1.56	6.25	0.78 ~ 6.25
	ofloxacin	0.78	3.13	0.20 ~ 6.25
	ciprofloxacin	0.39	1.56	0.05 ~ 1.56
	tosufloxacin	0.10	0.39	0.025 ~ 0.39
	sparfloxacin	0.20	0.39	0.05 ~ 0.78
<i>E. coli</i> (49)	pazufloxacin	0.025	0.10	0.013 ~ 3.13
	ofloxacin	0.10	0.39	0.05 ~ 12.5
	ciprofloxacin	0.025	0.10	0.013 ~ 12.5
	tosufloxacin	0.025	0.05	\leq 0.0063 ~ 12.5
	sparfloxacin	0.05	0.10	0.013 ~ 12.5

Table 4-2. Comparative *in vitro* activities of pazufloxacin against clinical isolates

Organism (no. of isolates)	Antimicrobial agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		50%	90%	Range
<i>C. freundii</i> (33)	pazufloxacin	0.05	0.20	0.013 ~ 0.39
	ofloxacin	0.20	0.39	0.05 ~ 3.13
	ciprofloxacin	0.05	0.20	\leq 0.0063 ~ 0.39
	tosufloxacin	0.10	0.39	\leq 0.0063 ~ 1.56
	sparfloxacin	0.39	0.78	0.025 ~ 3.13
<i>K. pneumoniae</i> (40)	pazufloxacin	0.025	0.05	0.013 ~ 0.20
	ofloxacin	0.10	0.20	0.05 ~ 0.78
	ciprofloxacin	0.05	0.10	0.013 ~ 0.39
	tosufloxacin	0.05	0.10	\leq 0.0063 ~ 0.20
	sparfloxacin	0.10	0.20	0.013 ~ 0.39
<i>E. cloacae</i> (39)	pazufloxacin	0.025	0.10	\leq 0.0063 ~ 0.39
	ofloxacin	0.10	0.39	0.013 ~ 1.56
	ciprofloxacin	0.025	0.10	\leq 0.0063 ~ 0.78
	tosufloxacin	0.025	0.05	\leq 0.0063 ~ 1.56
	sparfloxacin	0.10	0.20	\leq 0.0063 ~ 3.13
<i>E. aerogenes</i> (36)	pazufloxacin	0.025	0.05	0.013 ~ 0.05
	ofloxacin	0.20	0.20	0.05 ~ 0.39
	ciprofloxacin	0.05	0.05	0.013 ~ 0.10
	tosufloxacin	0.025	0.10	\leq 0.0063 ~ 0.10
	sparfloxacin	0.10	0.20	0.05 ~ 0.20
<i>S. marcescens</i> (39)	pazufloxacin	0.78	6.25	0.05 ~ 25
	ofloxacin	3.13	25	0.10 ~ 50
	ciprofloxacin	0.78	12.5	0.05 ~ 25
	tosufloxacin	0.78	6.25	0.025 ~ > 25
	sparfloxacin	1.56	25	0.05 ~ 50
<i>P. vulgaris</i> (40)	pazufloxacin	0.025	0.05	0.013 ~ 0.10
	ofloxacin	0.10	0.20	0.05 ~ 0.39
	ciprofloxacin	0.05	0.05	0.013 ~ 0.10
	tosufloxacin	0.10	0.20	0.025 ~ 0.20
	sparfloxacin	0.20	0.39	0.05 ~ 0.78
<i>P. mirabilis</i> (37)	pazufloxacin	0.025	0.10	0.025 ~ 12.5
	ofloxacin	0.20	1.56	0.10 ~ 25
	ciprofloxacin	0.05	0.39	0.05 ~ 25
	tosufloxacin	0.20	0.78	0.05 ~ 25
	sparfloxacin	0.39	1.56	0.10 ~ 50
<i>M. morgani</i> (36)	pazufloxacin	0.025	0.10	0.013 ~ 3.13
	ofloxacin	0.20	0.78	0.10 ~ 25
	ciprofloxacin	0.05	0.39	0.025 ~ 12.5
	tosufloxacin	0.20	0.39	0.05 ~ 6.25
	sparfloxacin	0.39	0.78	0.10 ~ 6.25
<i>P. rettgeri</i> (35)	pazufloxacin	1.56	6.25	0.025 ~ 25
	ofloxacin	6.25	100	0.10 ~ > 100
	ciprofloxacin	1.56	100	0.025 ~ > 100
	tosufloxacin	1.56	25	0.05 ~ > 25
	sparfloxacin	3.13	50	0.05 ~ 100
<i>P. aeruginosa</i> (48)	pazufloxacin	0.39	> 100	0.20 ~ > 100
	ofloxacin	1.56	> 100	0.78 ~ > 100
	ciprofloxacin	0.39	100	0.20 ~ > 100
	tosufloxacin	0.39	> 25	0.20 ~ > 25
	sparfloxacin	1.56	> 100	0.39 ~ > 100
<i>N. gonorrhoeae</i> (34)	pazufloxacin	\leq 0.0063	0.013	\leq 0.0063 ~ 0.20
	ofloxacin	0.013	0.025	\leq 0.0063 ~ 0.39
	ciprofloxacin	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063 ~ 0.05
	tosufloxacin	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063 ~ 0.05
	sparfloxacin	\leq 0.0063	\leq 0.0063	\leq 0.0063 ~ 0.025

6.25 μ g/ml であった。

8) *E. coli*

PZFX は *E. coli* 49 株に対して CPFX および TFLX と同等の優れた抗菌力を示し、その MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.025 および 0.10 μ g/ml であった。

9) *C. freundii*

C. freundii 33 株に対し、PZFX は CPFX および TFLX と同等の優れた抗菌力を示し、その MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.05 および 0.20 μ g/ml であった。

10) *K. pneumoniae*

K. pneumoniae 40 株に対し PZFX は比較薬剤中最も優れた抗菌力を示し、MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.025 μ g/ml および 0.05 μ g/ml であった。

11) *E. cloacae*

PZFX は *E. cloacae* 39 株に対して CPFX と同等の優れた抗菌力を示し、その MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.25 および 0.10 μ g/ml であった。

12) *E. aerogenes*

E. aerogenes 36 株に対して PZFX は比較薬剤中最も優れた抗菌力を示し、MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.025 μ g/ml および 0.05 μ g/ml であった。

13) *S. marcescens*

S. marcescens 39 株に対し PZFX は、他剤と同様に比較的幅広い感受性分布を示したものの、その抗菌力は TFLX と同等で、他剤より 1~2 管優れていた。

14) *P. vulgaris*

PZFX は *P. vulgaris* 40 株に対して比較薬剤中最も優れた抗菌力を示し、MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.025 μ g/ml および 0.05 μ g/ml であった。

15) *P. mirabilis*

P. mirabilis 37 株に対して PZFX は比較薬剤中最も優れた抗菌力を示し、MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.025 μ g/ml および 0.10 μ g/ml であった。

16) *M. morgani*

M. morgani 36 株に対して PZFX は 0.013~3.13 μ g/ml

の幅広い感受性分布を示したものの、他剤と比べて 1~4 管優れ、その MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.025 μ g/ml および 0.10 μ g/ml であった。

17) *P. rettgeri*

P. rettgeri 35 株に対して PZFX の MIC は 0.025~25 μ g/ml と広範囲な分布を示したものの、他剤と比べて 1~4 管優れ、その MIC₅₀ および MIC₉₀ は 1.56 μ g/ml および 6.25 μ g/ml であった。

18) *P. aeruginosa*

P. aeruginosa 48 株に対する PZFX の MIC は 0.20~>100 μ g/ml と幅広い分布を示したものの、その MIC₅₀ は 0.39 μ g/ml で OFLX および SPFX より 2 管優れ、CPFV および TFLX とは同等であった。

19) *N. gonorrhoeae*

N. gonorrhoeae 34 株に対して PZFX は優れた抗菌力を示し、MIC₅₀ は \leq 0.0063 μ g/ml、MIC₉₀ は 0.013 μ g/ml で OFLX より 1 管優れていた。

20) *A. calcoaceticus*

PZFX は *A. calcoaceticus* 29 株に対し OFLX および CPFV と同等の抗菌力を示し、その MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.39 μ g/ml および 1.56 μ g/ml であった。

21) *H. influenzae*

H. influenzae 48 株に対し PZFX は他剤と同様に強い抗菌力を示し、その MIC₅₀ および MIC₉₀ は 0.013 μ g/ml および 0.025 μ g/ml であった。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす諸因子の影響を *S. aureus*, *E. coli* および *P. aeruginosa* のそれぞれ 8 株を用いて検討し、その MIC 値の指数平均を Table 5~7 に示した。

1) 接種菌量の影響

PZFX は他のキノロン薬と同様に接種菌量の増加により抗菌力の低下を示す傾向があったが、その程度は低かった。

2) 培地 pH の影響

培地 pH6.0, 7.0, 8.0 において、PZFX の MIC は変動せ

Table 4-3. Comparative *in vitro* activities of pazufloxacin against clinical isolates

Organism (no. of isolates)	Antimicrobial agent	MIC (μ g/ml)		
		50%	90%	Range
<i>A. calcoaceticus</i> (29)	pazufloxacin	0.39	1.56	0.025~3.13
	ofloxacin	0.39	1.56	0.05~3.13
	ciprofloxacin	0.39	1.56	0.05~6.25
	tosufloxacin	0.10	0.39	0.013~0.39
	sparfloxacin	0.05	0.20	\leq 0.0063~0.39
<i>H. influenzae</i> (48)	pazufloxacin	0.013	0.025	\leq 0.0063~0.025
	ofloxacin	0.025	0.05	\leq 0.0063~0.05
	ciprofloxacin	0.025	0.025	\leq 0.0063~0.05
	tosufloxacin	0.025	0.025	0.013~0.025
	sparfloxacin	0.025	0.025	\leq 0.0063~0.05

ず比較的その影響を受けにくかった。しかし、他の比較薬剤は酸性側で抗菌力が低下した。

3) 馬血清添加量の影響

比較薬においては馬血清添加量の影響が見られなかったが、PZFXは添加により若干抗菌力低下がみられた。

4. 微分干渉顕微鏡による形態変化

PZFXの*E. coli*に及ぼす薬剤添加3時間後の形態変化をFig. 1に示した。PZFXは1/4 MIC濃度の0.0032 μ g/ml添加においてフィラメント化を、0.013 μ g/ml以上の濃度で溶菌を引き起こした。

Table 5. Effect of inoculum size on antibacterial activity

Organism	Inoculum size (cells/ml)	Geometric mean of MIC (μ g/ml)				
		Pazufloxacin	Ofloxacin	Ciprofloxacin	Tosufloxacin	Sparfloxacin
<i>S. aureus</i> (8 strains)	10 ⁴	0.086	0.17	0.15	0.021	0.016
	10 ⁵	0.11	0.19	0.17	0.025	0.020
	10 ⁶	0.16	0.25	0.27	0.029	0.043
	10 ⁷	0.19	0.36	0.36	0.050	0.058
	10 ⁸	0.45	0.62	0.53	0.058	0.046
<i>E. coli</i> (8 strains)	10 ⁴	0.015	0.043	0.0080	0.016	0.011
	10 ⁵	0.015	0.050	0.0080	0.016	0.010
	10 ⁶	0.018	0.054	0.012	0.027	0.025
	10 ⁷	0.018	0.050	0.013	0.027	0.027
	10 ⁸	0.031	0.086	0.013	0.025	0.016
<i>P. aeruginosa</i> (8 strains)	10 ⁴	0.12	0.46	0.092	0.16	0.27
	10 ⁵	0.16	0.54	0.14	0.16	0.46
	10 ⁶	0.21	1.06	0.18	0.34	0.98
	10 ⁷	0.31	1.24	0.39	0.39	1.34
	10 ⁸	0.36	2.26	0.53	0.53	1.82

Table 6. Effect of medium pH on antibacterial activity

Organism	pH	Geometric mean of MIC (μ g/ml)				
		Pazufloxacin	Ofloxacin	Ciprofloxacin	Tosufloxacin	Sparfloxacin
<i>S. aureus</i> (8 strains)	6.0	0.20	0.57	0.53	0.074	0.093
	7.0	0.16	0.25	0.27	0.029	0.043
	8.0	0.20	0.31	0.25	0.029	0.034
<i>E. coli</i> (8 strains)	6.0	0.043	0.46	0.19	0.12	0.22
	7.0	0.018	0.054	0.012	0.027	0.025
	8.0	0.034	0.050	0.0086	0.023	0.014
<i>P. aeruginosa</i> (8 strains)	6.0	0.34	5.36	1.56	1.24	4.96
	7.0	0.21	1.06	0.18	0.34	0.98
	8.0	0.31	1.06	0.15	0.29	0.58

Table 7. Effect of horse serum on antibacterial activity

Organism	Serum (%)	Geometric mean of MIC (μ g/ml)				
		Pazufloxacin	Ofloxacin	Ciprofloxacin	Tosufloxacin	Sparfloxacin
<i>S. aureus</i> (8 strains)	0	0.16	0.25	0.27	0.029	0.043
	10	0.23	0.25	0.27	0.043	0.037
	20	0.36	0.27	0.25	0.043	0.040
	40	0.39	0.39	0.37	0.068	0.063
<i>E. coli</i> (8 strains)	0	0.018	0.054	0.012	0.027	0.025
	10	0.025	0.029	0.0080	0.025	0.013
	20	0.046	0.054	0.0080	0.027	0.013
	40	0.058	0.11	0.016	0.050	0.020
<i>P. aeruginosa</i> (8 strains)	0	0.21	1.06	0.18	0.34	0.98
	10	0.62	1.06	0.18	0.38	0.62
	20	0.62	0.73	0.11	0.43	0.50
	40	0.72	1.24	0.16	0.43	0.62

5. 殺菌作用

PZFX, OFLX, CPFX, TFLX および SPFX の *S. aureus* Smith, *E. coli* KC-14, *S. marcescens* T-55 および *P. aeruginosa* E-2 に対する殺菌作用について検討した結果を Fig. 2~Fig. 5 に示した。

PZFX は、いずれの菌株に対しても試験した薬剤濃度範囲において dose response のある比較的すみやかな殺菌作用を示し、1/4~1/2 MIC 以上の濃度で生菌数を減

少させた。また他の薬剤も同様の傾向を示した。

6. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

PZFX の *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* を用いたマウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果を Table 8 に示した。

PZFX の治療効果は、*S. aureus* Smith 株, *S. pneumoniae* Type III 株および *S. pyogenes* C-203 株に対しては TFLX

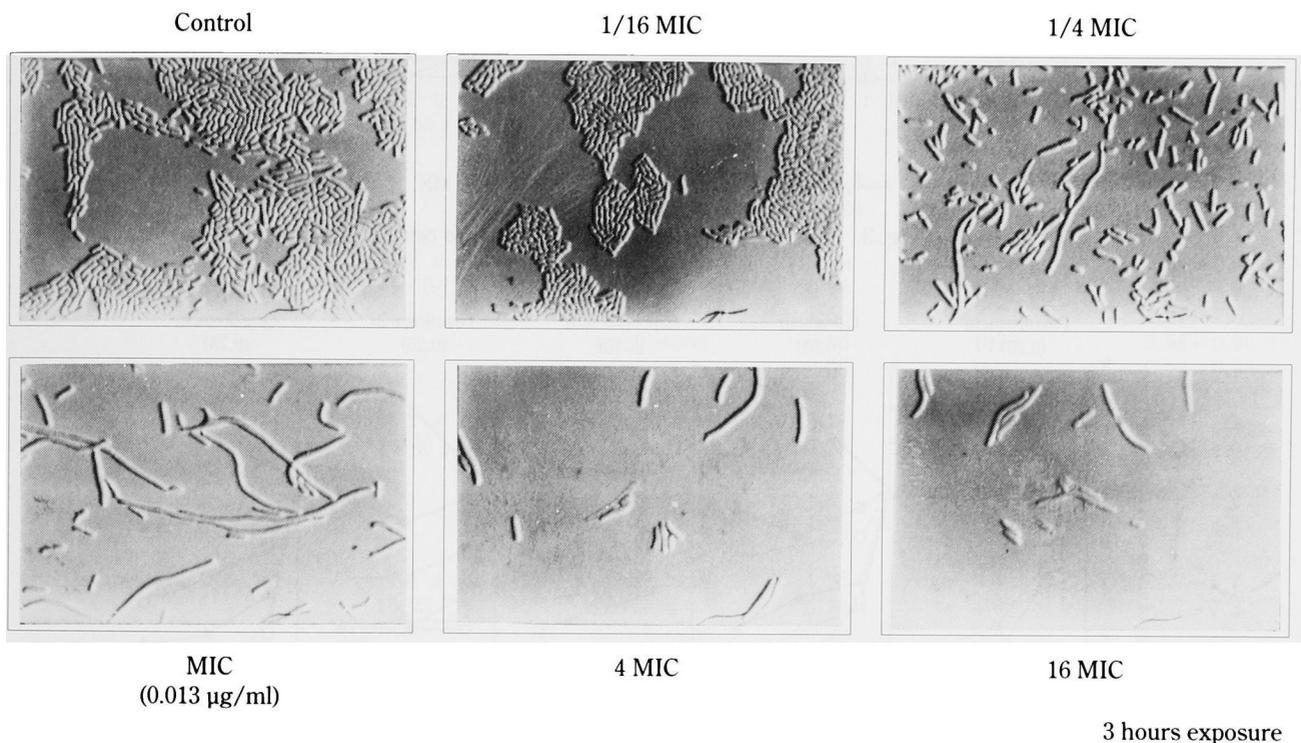


Fig. 1. Morphological effect of pazufloxacin against *Escherichia coli* KC-14.

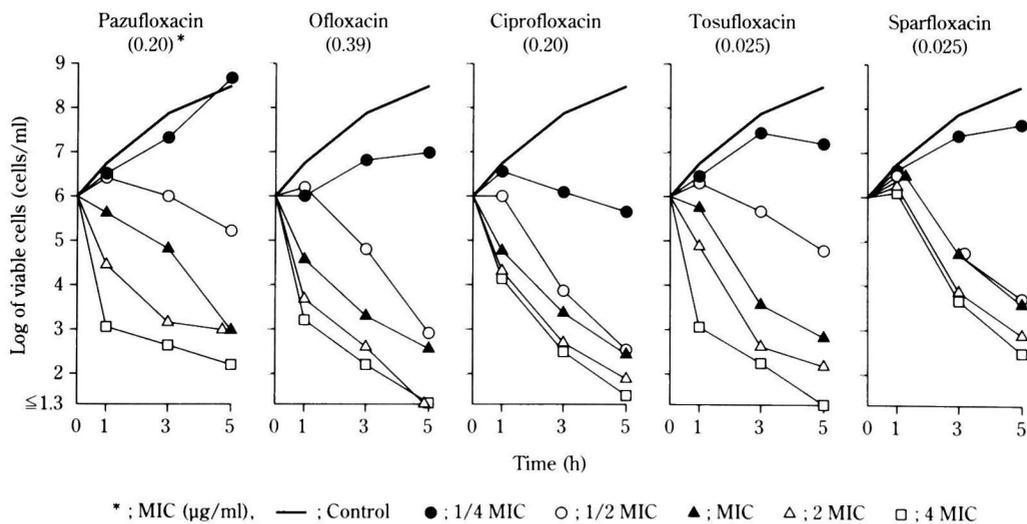
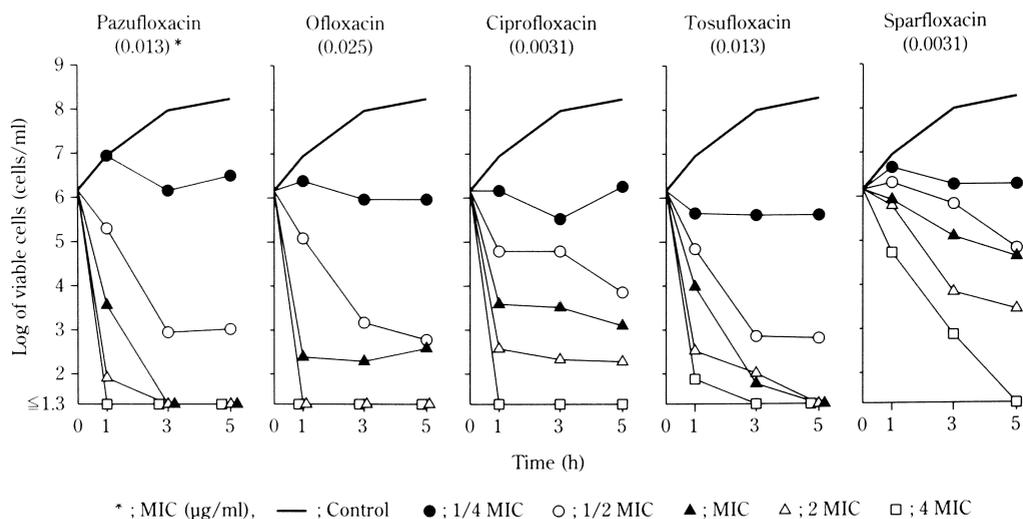
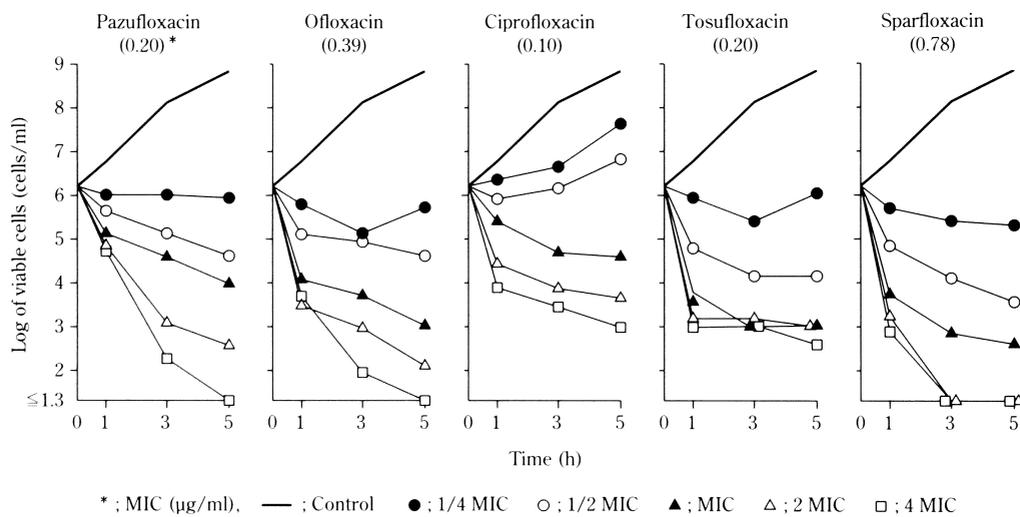
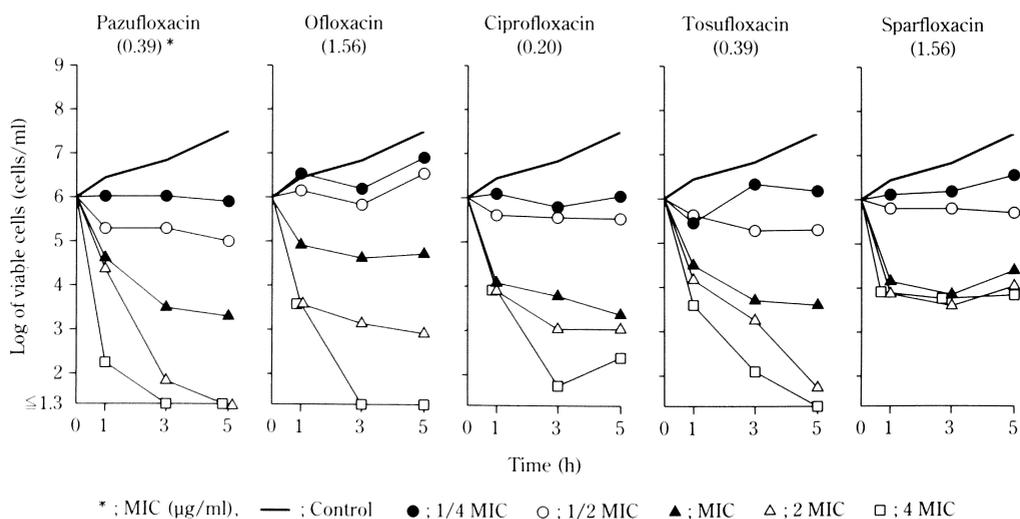


Fig. 2. Bactericidal effect against *Staphylococcus aureus* Smith.

Fig. 3. Bactericidal effect against *Escherichia coli* KC-14.Fig. 4. Bactericidal effect against *Serratia marcescens* T-55.Fig. 5. Bactericidal effect against *Pseudomonas aeruginosa* E-2.

や SPFX より劣るものの OFLX と同程度、CPFX より約 2 倍優れていた。PZFX は DMPPC^r の *S. aureus* QR-51 株に対しては SPFX とほぼ同等で OFLX, CPFX および TFLX に比べて約 2~10 倍優れた治療効果を示した。また PZFX は OFLX 中等度耐性 DMPPC^r の *S. aureus* QR-38 株に対しては、比較薬剤中最も優れた治療効果を示し、他剤に比べて ED₅₀ 値は 3~8 倍以上優れていた。

E. coli KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55 および *P. aeruginosa* E-2 などのグラム陰性桿菌において PZFX は比較薬剤中最も優れた治療効果を示し、特に、*S. marcescens* T-55 株においては ED₅₀ 値が 0.0019mg/mouse と OFLX, CPFX および SPFX の約 8 倍、TFLX の 27 倍優れていた。

Table 8. Therapeutic effect against systemic infection in mice

Organism	Challenge dose (cells/ml)	Drugs	MIC (μg/ml)	ED ₅₀ (mg/mouse)	95% confidence limit
<i>S. aureus</i> Smith	2.1 × 10 ⁶ (× 16 LD ₅₀)	pazufloxacin	0.20	0.13	0.77~0.20
		ofloxacin	0.39	0.22	0.14~0.34
		ciprofloxacin	0.20	0.29	0.21~0.41
		tosufloxacin	0.025	0.039	0.013~0.069
		sparfloxacin	0.025	0.056	0.037~0.084
<i>S. aureus</i> QR-51	3.2 × 10 ⁷ (× 50 LD ₅₀)	pazufloxacin	0.39	0.48	0.34~0.67
		ofloxacin	0.78	2.2	1.6~2.9
		ciprofloxacin	1.56	4.7	3.1~7.0
		tosufloxacin	0.10	0.72	0.58~0.90
		sparfloxacin	0.05	0.33	0.12~0.93
<i>S. aureus</i> QR-38	1.2 × 10 ⁷ (× 50 LD ₅₀)	pazufloxacin	3.13	0.94	0.69~1.3
		ofloxacin	6.25	6.4	3.7~11
		ciprofloxacin	12.5	> 8	—
		tosufloxacin	1.56	4.2	2.8~6.2
		sparfloxacin	1.56	2.9	1.2~4.3
<i>S. pneumoniae</i> Type III	7.0 × 10 ¹ (× 25 LD ₅₀)	pazufloxacin	1.56	3.5	2.7~5.7
		ofloxacin	0.78	4.4	2.7~7.3
		ciprofloxacin	0.39	6.6	2.7~12
		tosufloxacin	0.05	0.48	0.34~0.68
		sparfloxacin	0.05	0.73	0.49~1.1
<i>S. pyogenes</i> C-203	2.0 × 10 ² (× 200 LD ₅₀)	pazufloxacin	1.56	4.0	2.4~6.6
		ofloxacin	1.56	4.8	3.2~7.3
		ciprofloxacin	0.39	> 8	—
		tosufloxacin	0.10	0.23	0.16~0.34
		sparfloxacin	0.20	1.9	1.3~2.7
<i>E. coli</i> KC-14	1.6 × 10 ⁶ (× 100 LD ₅₀)	pazufloxacin	0.013	0.0052	0.0039~0.0070
		ofloxacin	0.025	0.023	0.018~0.029
		ciprofloxacin	0.0031	0.011	0.0084~0.015
		tosufloxacin	0.013	0.012	0.0080~0.018
		sparfloxacin	0.0031	0.0078	0.0039~0.016
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	3.0 × 10 ³ (× 100 LD ₅₀)	pazufloxacin	0.013	0.018	0.011~0.030
		ofloxacin	0.05	0.042	0.033~0.053
		ciprofloxacin	0.013	0.071	0.044~0.11
		tosufloxacin	0.025	0.019	0.0085~0.038
		sparfloxacin	0.05	0.052	0.036~0.075
<i>S. marcescens</i> T-55	8.4 × 10 ⁴ (× 525 LD ₅₀)	pazufloxacin	0.20	0.0019	0.0013~0.0029
		ofloxacin	0.39	0.015	0.0080~0.038
		ciprofloxacin	0.10	0.015	0.0075~0.024
		tosufloxacin	0.20	0.051	0.034~0.077
		sparfloxacin	0.78	0.014	0.0078~0.025
<i>P. aeruginosa</i> E-2	1.3 × 10 ⁶ (× 87 LD ₅₀)	pazufloxacin	0.39	0.14	0.094~0.20
		ofloxacin	1.56	0.57	0.44~0.73
		ciprofloxacin	0.20	0.19	0.13~0.28
		tosufloxacin	0.39	0.31	0.17~0.55
		sparfloxacin	1.56	0.20	0.14~0.28

7. 血中濃度

PZFX, OFLX, CPFX, TFLX および SPFX の 10mg/kg をマウスに経口投与したときの血中濃度推移および薬動学的パラメータを Fig. 6 および Table 9 に示した。

PZFX の最高血中濃度は投与 15 分後に 2.76 μ g/ml を示し、OFLX の約 2.3 倍で比較薬中最も高かった。また PZFX の AUC は 2.71 μ g \cdot hr/ml であり、OFLX の約 1.4 倍で比較薬中最も大きかった。しかし、PZFX の血中半減期は 29.8 分であり比較薬中最も短く、血中濃度は速やかに減少した。

III. 考 察

近年 OFLX, CPFX, TFLX 等、抗菌力の強いキノロン薬が次々に開発され臨床応用されている。PZFX は抗菌力的にはこれらのキノロン薬と同等あるいはそれ以上で、しかも動物における毒性の少ない薬剤として開発中の薬剤である。

今回の我々の検討において、*in vitro* 抗菌力はおおむね CPFX とほぼ同等であるものの *in vivo* の感染防御効果はこれらの薬剤より強い事が確認できた。これはおそらく PZFX の優れた体内動態を反映した結果と考えられる。抗菌薬の効果と体内動態との関係を考える上で、その薬剤の抗菌力とともに、体内における薬剤の到達濃度、持続時間、AUC 等を考慮する必要がある。今回の我々の結果から、PZFX の血中半減期は OFLX の約 1/2、CPFX の約 1/5 で、比較薬剤中最も短かかったにもかかわらず、治療効果はこれらの薬剤より優れていた。この事は血中半減期が短い事が治療効果においては不利に働いていない事を意味する。PZFX と OFLX のマウス血中濃度を比較すると Cmax は OFLX に比べて約 2.3 倍、AUC は OFLX に比べて約 1.4 倍優れていた。また、今回計 9 菌株を用いてマウス全身感染症に対する治療効果を検討したが、PZFX の ED₅₀ 値は OFLX に比べて 1.2 倍~7.9 倍 (平均 3.8 倍) 優れていた。これは *in vitro* 抗菌力と体内動態が反映された結果と考えられるが、とりわけ *S. aureus* QR-51, QR-38, *S. pneumoniae* type III, *E. coli* KC-14 あるいは *S. marcescens* T-55 等の株での ED₅₀ 値は OFLX の約 2.3 倍の Cmax が反映した可能性が示唆された。

今回の検討において PZFX の *in vitro* 抗菌力の特徴と

していくつかの事が明らかとなった。PZFX の *S. aureus* に対する抗菌力は TFLX あるいは SPFX に比べて劣り、OFLX あるいは CPFX と同程度であったが、DMPPC *S. aureus* あるいは OFLX *S. aureus* に対しては TFLX あるいは SPFX と同程度であった。また、他の薬剤が弱酸性域で抗菌力の低下が見られたのに対して PZFX の場合はみられず、馬血清添加の影響の出方においても他剤との違いがみられた。これらの事は PZFX の抗菌作用の特徴と考えられ、作用メカニズム等の検討も必要と考えられる。PZFX はその優れた抗菌力あるいは体内動態から考えて各種細菌感染症に対して優れた臨床効果が期待できると考えられる。

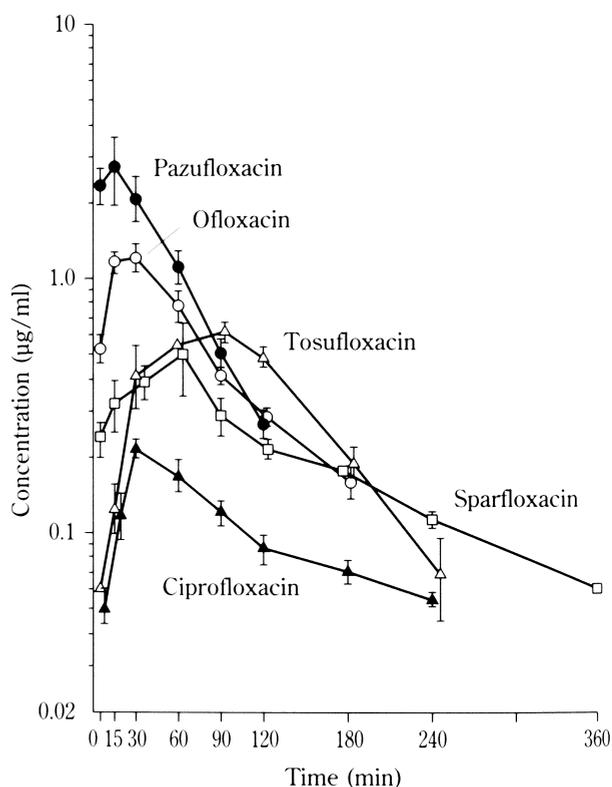


Fig. 6. Serum levels after oral administration at 10 mg/kg in mice (Fasting).

Table 9. Pharmacokinetic parameters after oral administration at dose of 10 mg/kg in mice

Drug	Cmax (μ g/ml)	Tmax (min)	T _{1/2β} (min)	AUC (0~ ∞) (μ g \cdot hr/ml)
Pazufloracin	2.76	15	29.8	2.71
Ofloxacin	1.21	30	65.3	1.91
Ciprofloracin	0.22	30	151.5	0.62
Tosufloracin	0.60	90	39.6	1.31
Sparfloracin	0.50	60	113.0	1.32

文 献

- 1) 西野武志, 田中真由美, 監物英男, 谷野輝男: 新しい合成化学療法剤 BAYo-9867(Ciprofloxacin) に関する細菌学的評価。Chemotherapy 33(S-7): 39~63, 1985
- 2) 西野武志, 田中真由美, 河端繁勝, 藪 千晶, 山中邦俊, 谷野輝男: 新しい合成化学療法剤 DL-8280 に関する細菌学的評価。Chemotherapy 32(S-1): 62~83, 1984
- 3) Takahata M, Otuki M and Nishino T: *In vitro* and *in vivo* activities of T-3262, a new pyridone carboxylic acid. J Antimicrob Chemother 22:143~154, 1988
- 4) 西野武志, 中村美佳, 輪野富子, 大槻雅子: 新しい合成化学療法剤 Sparfloxacin の *in vitro* および *in vivo* の抗菌力。Chemotherapy 39(S-4): 59~77, 1991
- 5) 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
- 6) Litchfield J T and Wilcoxon F: A simplified method of evaluating dose-effect experiment. J Pharmacol Exp Therap 96:99~113, 1949
- 7) 保田 隆, 渡辺泰雄, 南 新三郎, 熊野克彦, 恒田礼子, 金山淳子: 新ピリドンカルボン酸系抗菌剤 T-3262 の体液内濃度測定。Chemotherapy 36(S-9): 137~142, 1988
- 8) 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

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

Takeshi Nishino, Yasushi Ikeda, Masako Otsuki, Hironari Hayashi and Ritsuko Imanishi

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University
5 Nakauchi-cho, Misasagi, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan

The *in vitro* and *in vivo* antimicrobial activities of pazufloxacin (PZFX), a new synthetic antimicrobial agent, were studied and compared with those of reference agents, such as ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), tosufloxacin (TFLX) and sparfloxacin (SPFX). PZFX showed a broad *in vitro* antibacterial spectrum against both gram-negative and gram-positive organisms, showing 2~4 times higher antimicrobial activity than OFLX and equal to or slightly higher than that of CPFX. The antibacterial activity of PZFX was not influenced with inoculum size, but it was reduced slightly with addition of horse serum. As the control drugs, PZFX showed dose-dependent bactericidal activity.

In experimental systemic infections in mice, the therapeutic effect of PZFX against methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* was less than that of TFLX and SPFX, but higher than that of OFLX and CPFX. PZFX showed the highest therapeutic effect of the drugs examined against methicillin-resistant *S. aureus* and gram-negative organisms including *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa*.

To determine their levels in blood, 10 mg/kg of individual drugs were orally administered to mice. The maximum serum level (C_{max}) of PZFX, 2.76 μg/ml, was the highest among the drugs examined, however, its half-life in blood (T_{1/2}), 29.8 min, was the shortest.