

Pazufloxacinの細菌学的評価

高畑正裕・山城芳子・藤巻一雄・岡本世紀・満山順一・池田 靖・

南 新三郎・福岡義和・保田 隆・渡辺泰雄・成田弘和

富山化学工業株式会社総合研究所*

ニューキノロン系合成抗菌薬pazufloxacin (PZFX) の細菌学的評価をofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), norfloxacin (NFLX) およびtosufloxacin (TFLX) を対照薬剤として比較検討し、下記の結果を得た。

1) PZFXはグラム陽性菌, *Pseudomonas aeruginosa*を含むグラム陰性菌及び嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを示した。

2) PZFXは臨床分離のキノロン薬感受性methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)を含む*S. aureus*に対し, OFLX, CPFXより優れ, TFLXに次ぐ強い抗菌力を示した。*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella* sp. に対するPZFXのMIC₉₀は $\leq 0.05 \mu\text{g/ml}$ であり, *P. aeruginosa*を含むほとんどの菌種でOFLXより優れた抗菌力を示した。

3) PZFXの抗菌力は他のキノロン薬と同様, 培地の種類, 接種菌量, ヒト血清添加の影響をほとんど受けなかった。PZFXの抗菌力はアルカリ側より酸性側でやや強くなる傾向がみられた。またMg²⁺, Ca²⁺添加時の抗菌力はOFLX, CPFXと同様に若干低下した。

4) PZFXのMICとMBCは一致し, その抗菌作用は殺菌的であった。また増殖曲線に及ぼす影響では, 濃度依存的な作用が認められ, 1MIC以上では短時間で殺菌的に作用した。

5) PZFX作用時, *E. coli* KL-16は1/4MICで菌体の伸長化, 1MICで異常分裂像, 殺菌像が認められた。

6) PZFXによる耐性菌の選択頻度は低かった。

7) PZFXのDNA gyrase supercoiling活性に対する阻害作用はMIC値とほぼ相関しており, 強い阻害作用を示した。一方, 本剤の子牛胸腺由来topoisomerase IIに対する阻害作用はOFLX, CPFXより弱かった。

8) PZFXはマウス全身感染症に対し, OFLXの約2~8倍強い治療効果を示した。また呼吸器感染, 尿路感染, 皮下膿瘍に対してもPZFXは強い治療効果を示した。

Key words: PZFX, *in vitro* 抗菌作用, *in vivo* 抗菌作用

Pazufloxacin (PZFX), ((-)-(S)-10 (1-Aminocyclopropyl)-9-fluoro-3-methyl-7-oxo-2, 3-dihydro-7H-pyrido [1, 2, 3-*de*] [1, 4]benzoxazine-6-carboxylic acid) は富山化学工業株式会社総合研究所で合成されたニューキノロン系合成抗菌薬¹⁾である。本剤は高い血中濃度でも中枢神経系への影響が少ないことを目的に開発された²⁾。

構造的にはベンゾオキサジン環の10位結合様式が従来のニューキノロン薬のC-Nと異なりC-C結合を有する。

今回, 我々はPZFXの細菌学的評価についてofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), norfloxacin (NFLX) およびtosufloxacin (TFLX) を対照薬剤として検討を行った。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

PZFX, TFLX base, TFLXは富山化学工業株式会社綜

合研究所で合成されたものを用いた。OFLX(第一製薬), CPFX(バイエル薬品), NFLX(杏林製薬)は市販品から抽出したものを, imipenem/cilastatin (IPM/CS: 萬有製薬), gentamicin (GM: シェリングプラウ)は市販品を用いた。

2. 使用動物

ICR系, 雄性または雌性, 4週齢あるいは5週齢マウス(日本エスエルシー株式会社)を用いた。

3. 抗菌力の測定

当研究所保存のグラム陽性菌, グラム陰性菌および嫌気性菌の標準株, ならびに臨床分離株(1988~1993年分離)に対するPZFXの抗菌力をOFLX, CPFX, TFLX, NFLX (NFLXは標準株について)と比較検討した。好気性菌に対する抗菌力は日本化学療法学会最小発育阻止濃

度測定法²⁾に従って測定し、前培養液にはMueller Hinton broth (MHB: 栄研化学)、感受性測定用培地にはMueller Hinton agar (MHA: 栄研化学)を使用した。接種菌量は 10^6 CFU/mlとした。なお*Streptococcus*属は前培養液に10%羊血液添加MHBを、MIC測定用培地に10%羊血液添加MHAを用いた。*Pseudomonas aeruginosa*は前培養液に0.4% KNO₃添加MHBを用いた。また*Haemophilus influenzae*は前培養液にヘミン(sigma)を10 μ g/ml、 β -NAD(sigma)を2 μ g/ml添加したBrain heart infusion broth (BHIB: 栄研化学)を、MIC測定用培地は、Brain heart infusion agar (BHIA: 栄研化学)培地にFildes enrichment (Difco)を5%加え用いた。*Moraxella catarrhalis*の場合、前培養液としてBHIBに馬消化血液を5%加え、MIC測定培地はBHIAに馬消化血液を5%加え用いた。*Legionella* sp. の場合は、前培養液、MIC測定用培地にそれぞれBCYE α broth without charcoal (Oxoid)、BCYE α agar without charcoal (Oxoid)を使用した。

嫌気性菌に対する抗菌力は、嫌気性菌MIC測定法検討委員会³⁾の方法に基づき、前培養液にGAM broth (GAMB: 日水製薬)、MIC測定用培地にGAM agar (GAMA: 日水製薬)を用いた。嫌気性菌の培養は、嫌気培養装置(Forma scientific anaerobic system: model 1024)を用いた。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

PZFXの抗菌力に及ぼす諸因子の影響をOFLX, CPFXと比較した。

1) 培地の種類

MHA, Heart infusion agar (HIA: 栄研化学), Nutrient agar (NA: 栄研化学), Trypto-soy agar (TSA: 栄研化学), BHIAの5種の培地を用い、各薬剤の抗菌力を測定した。

2) 接種菌量

MHBで一夜培養した菌液を、接種菌量が 10^8 , 10^6 , 10^4 CFU/mlとなるよう生理食塩液で希釈し抗菌力を測定した。

3) ヒト血清添加

MHA培地をオートクレーブ後、濾過滅菌したヒトプール血清を10, 20, 50%になるよう各薬剤を含むMHA培地に添加し、抗菌力を測定した。

4) 培地pH

MHAをオートクレーブ後、1N NaOHあるいは1N HClを用いてMHA培地のpHを調整し、各薬剤の抗菌力を測定した。

5) Mg²⁺, Ca²⁺添加

MHAを用い、オートクレーブ後Mg²⁺としてMgCl₂を、Ca²⁺としてCaCl₂をそれぞれ0~32mM添加し、各薬剤の抗菌力を測定した。

5. 殺菌作用

1) MICとMBCの測定

Nutrient broth (NB: 栄研化学)で37℃、一夜培養した

菌液を 10^4 , 10^6 CFU/mlとなるよう適宜希釈し、各濃度の薬剤を含むNBに接種した。18時間培養後、肉眼的に菌の発育の有無を観察してMICを測定した。次いですべての培養液の1白金耳(5 μ l)を薬剤を含まないHIA平板に塗抹して37℃、18時間培養後菌の発育の有無を観察し、1コロニーの菌の発育も認められなかった最小薬剤濃度をMBCとした。なおこの時の菌の検出限界は 2×10^2 CFU/mlであった。

2) 増殖曲線に及ぼす影響

MHBで前培養した*Staphylococcus aureus* Smith, *Escherichia coli* NIHJ JC-2および*P. aeruginosa* IFO 3445株をMHBに 10^8 CFU/mlになる様接種し、37℃にて 10^6 CFU/mlまで振とう培養した後、所定濃度の薬剤を添加し、経時的に生菌数をHIA平板を用いて測定した。

6. 走査型電子顕微鏡による形態観察

PZFX作用時(1/4, 1 MIC: 2時間)の*E. coli* KL-16の形態変化について、走査型電子顕微鏡(日立S-4500)で検討を行った。電子顕微鏡の試料作製にあたっては、1.5% グルタルアルデヒド(和光純薬)、1% オスミウム酸(和光純薬)で固定後、アルコール脱水系一酢酸イソアミルで置換し、臨界点乾燥、金蒸着を行った。

7. 耐性菌の選択頻度

対数増殖期にある菌液を、3000rpm, 30分の遠心で約 10^8 CFU/mlに濃縮した。この菌液を4MIC濃度の薬剤を含むMHA平板上に0.1mlずつ塗り広げ、37℃で18時間培養後、形成されたコロニー(耐性菌数)より、耐性菌の選択頻度を算出した。

8. 作用機作

1) DNA gyraseに対する阻害作用

Sato⁴⁾らの方法に準じて、novobiocin sepharose 6Bおよびheparin sepharose CL-6Bを用いたアフィニティクロマトグラフィーにより試験菌からDNA gyraseを精製し、本酵素のsupercoiling活性に対するキノロン薬の阻害作用を検討した。薬剤の阻害作用は以下のごとく行った。1 unit(0.25 μ g)のrelaxed pBR322 DNAを1時間で50% supercoilさせる活性)のDNA gyrase 20 μ lと反応液[relaxed pBR322 DNA 0.5 μ g, 30mM Tris-HCl (pH7.5), 30mM KCl, 6mM MgCl₂, 1mM dithiothreitol (DTT), 2mM spermidine-HCl, 3mM ATP, 0.1 μ g tRNA (*E. coli*)] 20 μ l, 及び薬剤液10 μ lを2時間、反応後、1% agarose電気泳動を行った。Ethidium bromide染色後、写真撮影、デンシトメーターでDNAピークを定量し、50%反応阻害濃度(ID₅₀値)を算出した。なお本法でのethidium bromide染色によるDNAの検出限界は20ngであった。

2) 子牛胸腺由来topoisomerase IIに対する阻害作用

Halligans⁵⁾らの方法に準じて行った。新鮮な子牛の胸腺約500gをホモジナイザーにて破碎し、遠心分離で核を集めた後、再度ホモジナイザーで破碎してDNAを取

り出し、ポリミンPにて沈澱させた。NaClを加えてDNA結合蛋白を溶出させ、硫酸分画後透析し、Biolex-70, Hydroxylapatite, Blue sepharoseのカラムクロマトグラフィーを行い、DNA topoisomerase IIを精製した。薬剤の阻害作用はrelax活性に対する阻害で検討した。1 unit (0.25 μ gのsupercoiled pBR322 DNA (日本ジーン)を1時間で全てrelaxさせる活性)の子牛胸腺由来topoisomerase II 20 μ lと反応液[super coiled pBR322 DNA 0.5 μ g, 50mM Tris-HCl (pH7.5), 100mM KCl, 10mM MgCl₂, 0.5mM dithiothreitol (DTT), 1mM ATP] 20 μ l, 及び薬剤液10 μ lを2時間反応後, 1% agarose電気泳動を行った。さらにethidium bromide染色後, 写真撮影, デンシトメーターでDNAピークを定量しID₅₀値を算出した。なお本法でのethidium bromide染色によるDNAの検出限界は20ngであった。

9. 実験的感染症に対する治療効果

1) マウス全身感染

各菌株をHIA平板にて37℃, 18時間培養後, 5% gastric mucin (半井化学)液に所定の菌量となるよう懸濁し, その0.5mlをマウス(1群10匹)の腹腔内に接種した。なお, *E. coli* TK-16及び*S. pneumoniae* D-289は生理食塩液に懸濁して用いた。薬剤は感染1時間後に0.5% methyl cellulose (MC: 信越化学)に懸濁して1回, 経口投与した。*S. pneumoniae* D-289の場合, 感染1, 3時間後に2回投与した。感染7日後の生存匹数から, Litchfield-Wilcoxon法⁶⁾によりED₅₀値 (mg/mouse) 及びその信頼限界を算出した。

2) マウス呼吸器感染

試験菌に *Klebsiella pneumoniae* Y-41, *P. aeruginosa* S-406株を用い, ネブライザー (池本理化工業株式会社)で約10⁵ CFU/mlの菌液を 1.0kg/cm²の圧力で約40分間かけてマウス (1群 9~35匹)に噴霧感染させた。なお*P. aeruginosa*の場合, 菌感染4日前にcyclophosphamide (塩

野義製薬) 250mg/kgを1回, 腹腔内投与した。*K. pneumoniae*感染では各薬剤 0.1mg/mouseを1日2回3日間, 計6回経口投与した。*P. aeruginosa*感染では感染4及び6時間後に各薬剤 0.5mg/mouseを経口投与した。治療効果を感染7日後の生存率及び肺からの除菌率で判定した。

3) マウス尿路感染

雌性マウス (1群10匹)の膀胱内に約10⁵あるいは10⁶CFU/mlの菌液0.1mlをマウス尿道口から注入し, 4時間尿道をクレンメで閉塞して感染を惹起させた。薬剤は感染4および6時間後, あるいは4および24時間後に, 0.25あるいは0.5mg/mouseを経口投与した。治療効果の判定は感染48時間後の腎内生菌数で行った。なお腎内生菌数は腎を摘出し, 生理食塩液を加えてホモジナイズ後適宜希釈し, HIA平板塗抹法にて測定した。

4) マウス皮下膿瘍

1%シリカゲル (和光純薬) 及び1%カザミノ酸 (Difco)を含む生理食塩液に, *S. aureus* F-1304のBHIB一夜培養液を懸濁させ, その菌液0.1ml (4.0 $\times$ 10⁸ CFU/mouse)をマウス (1群6~11匹)の背部皮下に接種した。薬剤は感染4, 6時間後の2回, 0.063, 0.25, 1.0mg/mouseを経口投与した。治療効果は感染48時間後にマウス背部皮膚を剥離後, 膿瘍面積を測定し, 無治療群の面積を100%とした時の薬剤投与群の膿瘍面積比で示した。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトル

好気性グラム陽性菌, グラム陰性菌及び嫌気性菌の標準株に対するPZFXの抗菌力を, OFLX, CPF, NFLX, TFLXと比較した。その結果をTable 1~3に示す。

PZFXは好気性グラム陽性菌, グラム陰性菌及び嫌気性菌に強い抗菌力を発揮し, 幅広い抗菌スペクトルを示した。本剤のグラム陽性菌群に対する抗菌力は, TFLXに比べ劣っていたが, staphylococciではNFLX, OFLXよ

Table 1. Antibacterial spectrum against Gram-positive bacteria

Organism	MIC (μ g/ml)				
	pazufloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin	norfloxacin	tosufloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	0.20	0.39	0.20	0.78	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> Terashima	0.20	0.39	0.39	1.56	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.20	0.39	0.39	1.56	0.025
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IID866	0.20	0.39	0.20	0.78	0.05
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-8*	1.56	0.78	0.20	1.56	0.10
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Cook*	1.56	0.78	0.20	1.56	0.10
<i>Streptococcus pneumoniae</i> IID552*	1.56	1.56	0.39	3.13	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i> IID553*	1.56	1.56	0.39	3.13	0.20
<i>Enterococcus faecalis</i> IID682	0.78	0.78	0.39	0.78	0.20
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	0.20	0.10	0.20	0.78	0.05

Inoculum size: one loopful of bacterial suspension (10⁶ CFU/ml)

Medium : Mueller-Hinton agar (MHA; Eiken)

(*MHA supplemented with 10% sheep blood)

り優れており、streptococciではOFLXとほぼ同等であった。グラム陰性菌群に対して、ほとんどの菌種でOFLX, NFLXより優れていた。嫌気性菌群に対しPZFXはTFLXより劣っていたが、OFLXとほぼ同等の抗菌力を示し、NFLXより優れていた。

2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床分離27菌種1260株に対するPZFXの抗菌力をOFLX, CPFX及びTFLXと比較した(Table 4)。

Staphylococciに対し、PZFXはOFLX, CPFXに比べ優れていた。キノロン薬感受性methicillin resistant *S. au-*

reus (MRSA) に対する本剤のMIC₅₀は0.39 μ g/mlであり、OFLX, CPFXの0.78 μ g/ml, 3.13 μ g/mlよりも優れており、TFLXの0.2 μ g/mlに次ぐ強い抗菌力を示した。また本剤のOFLX耐性 *S. aureus* (OFLX MIC: ≥ 6.25 μ g/ml, MIC₉₀:100 μ g/ml) に対するMIC₉₀は25 μ g/mlであった。*Staphylococcus epidermidis* に対してはOFLXより優れ、CPFXと同等であった。*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* に対して、PZFXはTFLX, CPFXより劣ったが、OFLXとほぼ同等の抗菌力を示した。

グラム陰性菌の場合、*E. coli*, *Salmonella enteritidis*,

Table 2. Antibacterial spectrum against Gram-negative bacteria

Organism	MIC (μ g/ml)				
	pazufloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin	norfloxacin	tosufloxacin
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	0.0125	0.025	0.00625	0.025	0.0125
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.025	0.05	0.0125	0.05	0.0125
<i>Salmonella paratyphi</i> IID605	0.025	0.025	0.00625	0.0125	0.0125
<i>Salmonella schottmuelleri</i> IID607	0.0125	0.025	0.00625	0.025	0.00313
<i>Shigella sonnei</i> EW33	0.0125	0.025	0.00625	0.025	0.00625
<i>Shigella boydii</i> EW28	0.025	0.05	0.00625	0.05	0.00313
<i>Shigella flexneri</i> IID642	0.025	0.05	0.0125	0.05	0.00625
<i>Citrobacter freundii</i> IFO12681	0.0125	0.0125	0.00625	0.0125	0.00313
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IID875	0.05	0.05	0.0125	0.05	0.025
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC10031	0.0125	0.0125	0.00625	0.025	0.00625
<i>Enterobacter aerogenes</i> IID972	0.0125	0.0125	0.00625	0.025	0.00313
<i>Enterobacter cloacae</i> IID977	0.025	0.025	0.0125	0.025	0.025
<i>Enterobacter cloacae</i> IID3320	0.025	0.0125	0.00625	0.05	0.0125
<i>Serratia marcescens</i> IID620	0.05	0.20	0.025	0.10	0.10
<i>Serratia marcescens</i> IID3736	0.10	0.39	0.10	0.20	0.20
<i>Proteus mirabilis</i> IFO3849	0.05	0.39	0.10	0.20	0.20
<i>Proteus vulgaris</i> IID874	0.025	0.10	0.025	0.10	0.05
<i>Proteus vulgaris</i> IFO3851	0.05	0.10	0.025	0.05	0.10
<i>Morganella morganii</i> IID602	0.025	0.10	0.0125	0.05	0.025
<i>Providencia rettgeri</i> IFO13501	0.0125	0.025	0.0125	0.05	0.025
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC10490	0.05	0.20	0.025	0.20	0.025
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO3445	0.20	0.39	0.10	0.78	0.10

Inoculum size: one loopful of bacterial suspension (10⁶ CFU/ml)

Medium : Mueller-Hinton agar (MHA; Eiken)

Table 3. Antibacterial spectrum against anaerobic bacteria

Organism	MIC (μ g/ml)				
	pazufloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin	norfloxacin	tosufloxacin
<i>Peptostreptococcus variabilis</i> ATCC14955	1.56	1.56	0.78	12.5	0.39
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> WAL3218	6.25	6.25	3.13	6.25	0.39
<i>Peptostreptococcus magnus</i> WAL2508	0.78	0.39	0.39	1.56	0.10
<i>Peptostreptococcus prevotii</i> GAI0444	50	25	6.25	25	0.78
<i>Clostridium perfringens</i> WAL3503	1.56	0.78	0.78	3.13	0.20
<i>Clostridium difficile</i> GAI0286	6.25	6.25	6.25	25	1.56
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC25285	3.13	0.78	3.13	25	0.20
<i>Bacteroides fragilis</i> GAI0004	3.13	1.56	3.13	25	0.20
<i>Bacteroides vulgatus</i> GN11479	3.13	1.56	12.5	100	0.39
<i>Bacteroides vulgatus</i> WAL1887	1.56	1.56	12.5	100	0.39
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL3304	6.25	6.25	12.5	100	0.78
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL2926	6.25	6.25	12.5	>100	0.78

Inoculum size: one loopful of bacterial suspension (10⁶ CFU/ml)

Medium : GAM agar (Nissui)

Table 4-1. Antibacterial activity of pazufloxacin against clinical isolates

Organism	No. of strains	Antibacterial agents	Range of MIC ^{a)}	MIC ₅₀ ^{a)}	MIC ₉₀ ^{a)}
<i>Staphylococcus aureus</i>	54	pazufloxacin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.39
		ofloxacin	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
		ciprofloxacin	0.20 ~ 1.56	0.39	0.78
		tosufloxacin	< 0.013 ~ 0.20	0.05	0.10
Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	110	pazufloxacin	0.10 ~ 25	0.39	12.5
		ofloxacin	0.10 ~ 100	0.78	50
		ciprofloxacin	0.10 ~ > 100	3.13	> 100
		tosufloxacin	0.013 ~ > 25	0.20	> 25
Ofloxacin resistant ^{b)} <i>Staphylococcus aureus</i>	76	pazufloxacin	0.78 ~ > 100	12.5	25
		ofloxacin	6.25 ~ > 100	50	100
		ciprofloxacin	6.25 ~ > 100	100	> 100
		tosufloxacin	1.56 ~ > 25	12.5	> 25
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	45	pazufloxacin	0.10 ~ 0.78	0.20	0.39
		ofloxacin	0.10 ~ 0.78	0.39	0.78
		ciprofloxacin	0.05 ~ 0.78	0.20	0.39
		tosufloxacin	0.013 ~ 0.10	0.05	0.10
Methicillin resistant <i>Staphylococcus epidermidis</i>	31	pazufloxacin	0.10 ~ 12.5	0.20	6.25
		ofloxacin	0.10 ~ 12.5	0.39	12.5
		ciprofloxacin	0.05 ~ 50	0.20	12.5
		tosufloxacin	0.025 ~ 12.5	0.05	6.25
<i>Streptococcus pyogenes</i>	25	pazufloxacin	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
		ofloxacin	0.78 ~ 3.13	0.78	1.56
		ciprofloxacin	0.20 ~ 1.56	0.39	1.56
		tosufloxacin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.20
<i>Streptococcus agalactiae</i>	18	pazufloxacin	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13
		ofloxacin	0.78 ~ 1.56	0.78	1.56
		ciprofloxacin	0.39 ~ 0.78	0.78	0.78
		tosufloxacin	0.20 ~ 0.39	0.39	0.39
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	25	pazufloxacin	1.56 ~ 6.25	1.56	3.13
		ofloxacin	0.78 ~ 3.13	1.56	1.56
		ciprofloxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	0.78
		tosufloxacin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.20
<i>Enterococcus faecalis</i>	53	pazufloxacin	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13
		ofloxacin	0.78 ~ 6.25	3.13	3.13
		ciprofloxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
		tosufloxacin	0.10 ~ 0.78	0.39	0.39
<i>Escherichia coli</i>	47	pazufloxacin	0.013 ~ 0.20	0.025	0.05
		ofloxacin	0.006 ~ 0.10	0.025	0.05
		ciprofloxacin	0.003 ~ 0.20	0.013	0.05
		tosufloxacin	0.006 ~ 0.10	0.013	0.025
<i>Salmonella enteritidis</i>	25	pazufloxacin	0.013 ~ 0.025	0.025	0.025
		ofloxacin	0.025 ~ 0.10	0.10	0.10
		ciprofloxacin	0.006 ~ 0.025	0.025	0.025
		tosufloxacin	0.006 ~ 0.05	0.05	0.05
<i>Citrobacter freundii</i>	25	pazufloxacin	0.025 ~ 0.39	0.10	0.39
		ofloxacin	0.05 ~ 1.56	0.20	0.78
		ciprofloxacin	0.006 ~ 0.78	0.025	0.78
		tosufloxacin	0.003 ~ 0.39	0.05	0.20
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	48	pazufloxacin	0.013 ~ 0.39	0.05	0.20
		ofloxacin	0.025 ~ 0.39	0.10	0.39
		ciprofloxacin	0.006 ~ 0.20	0.05	0.10
		tosufloxacin	0.013 ~ 0.39	0.05	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i>	25	pazufloxacin	0.025 ~ 0.10	0.05	0.10
		ofloxacin	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
		ciprofloxacin	0.006 ~ 0.05	0.013	0.05
		tosufloxacin	0.013 ~ 0.05	0.025	0.05
<i>Serratia marcescens</i>	63	pazufloxacin	0.025 ~ 6.25	1.56	3.13
		ofloxacin	0.10 ~ 25	3.13	12.5
		ciprofloxacin	0.025 ~ 6.25	1.56	3.13
		tosufloxacin	0.025 ~ 6.25	0.78	6.25
<i>Proteus mirabilis</i>	25	pazufloxacin	0.025 ~ 0.05	0.025	0.05
		ofloxacin	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
		ciprofloxacin	0.013 ~ 0.05	0.025	0.025
		tosufloxacin	0.05 ~ 0.20	0.10	0.20

a): µg/ml b): ofloxacin MIC ≥ 6.25 µg/ml

Inoculum size: one loopful of bacterial suspension (10⁶ CFU/ml)

Table 4-2. Antibacterial activity of pazufloxacin against clinical isolates

Organism	No. of strains	Antibacterial agents	Range of MIC ^{a)}	MIC ₅₀ ^{a)}	MIC ₉₀ ^{a)}
<i>Proteus vulgaris</i>	25	pazufloxacin	0.013 ~ 0.025	0.025	0.025
		ofloxacin	0.025 ~ 0.20	0.10	0.10
		ciprofloxacin	0.006 ~ 0.025	0.025	0.025
		tosufloxacin	0.013 ~ 0.10	0.05	0.10
<i>Morganella morganii</i>	25	pazufloxacin	0.013 ~ 0.05	0.025	0.025
		ofloxacin	0.025 ~ 0.39	0.10	0.20
		ciprofloxacin	0.013 ~ 0.025	0.013	0.025
		tosufloxacin	0.013 ~ 0.39	0.10	0.20
<i>Proteus rettgeri</i>	24	pazufloxacin	0.013 ~ 1.56	0.05	0.39
		ofloxacin	0.025 ~ 1.56	0.39	1.56
		ciprofloxacin	0.006 ~ 0.39	0.05	0.39
		tosufloxacin	0.013 ~ 1.56	0.10	0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	116	pazufloxacin	0.10 ~ 100	0.39	1.56
		ofloxacin	0.20 ~ > 100	1.56	6.25
		ciprofloxacin	0.025 ~ 100	0.20	0.78
		tosufloxacin	0.025 ~ > 25	0.39	1.56
Imipenem resistant ^{c)} <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	pazufloxacin	0.20 ~ 0.78	0.39	0.39
		ofloxacin	0.39 ~ 3.13	1.56	1.56
		ciprofloxacin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.39
		tosufloxacin	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
		imipenem	12.5 ~ > 100	25	50
Gentamicin resistant ^{d)} <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46	pazufloxacin	0.39 ~ > 100	3.13	50
		ofloxacin	1.56 ~ > 100	12.5	100
		ciprofloxacin	0.20 ~ 100	1.56	50
		tosufloxacin	0.20 ~ > 25	1.56	> 25
		gentamicin	6.25 ~ > 100	100	> 100
<i>Burkholderia cepacia</i>	25	pazufloxacin	0.20 ~ 100	1.56	3.13
		ofloxacin	0.39 ~ > 100	6.25	12.5
		ciprofloxacin	0.20 ~ 100	3.13	6.25
		tosufloxacin	0.10 ~ > 25	1.56	6.25
<i>Alcaligenes faecalis</i>	25	pazufloxacin	0.20 ~ 6.25	0.78	6.25
		ofloxacin	0.39 ~ 100	1.56	25
		ciprofloxacin	0.20 ~ 50	0.78	50
		tosufloxacin	0.10 ~ > 25	3.13	> 25
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	25	pazufloxacin	0.39 ~ 3.13	1.56	3.13
		ofloxacin	0.78 ~ 6.25	3.13	6.25
		ciprofloxacin	0.78 ~ 6.25	3.13	6.25
		tosufloxacin	0.10 ~ 6.25	0.78	6.25
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	25	pazufloxacin	0.025 ~ 0.78	0.39	0.39
		ofloxacin	0.05 ~ 0.78	0.20	0.78
		ciprofloxacin	0.025 ~ 0.78	0.20	0.78
		tosufloxacin	0.006 ~ 0.10	0.05	0.10
<i>Haemophilus influenzae</i>	25	pazufloxacin	0.013 ~ 0.05	0.025	0.025
		ofloxacin	0.025 ~ 0.05	0.05	0.05
		ciprofloxacin	0.013 ~ 0.025	0.025	0.025
		tosufloxacin	0.006 ~ 0.025	0.006	0.013
<i>Moraxella catarrhalis</i>	25	pazufloxacin	0.025 ~ 0.10	0.05	0.05
		ofloxacin	0.10 ~ 0.20	0.10	0.10
		ciprofloxacin	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
		tosufloxacin	0.013 ~ 0.025	0.025	0.025
<i>Legionella</i> sp.	13	pazufloxacin	< 0.006 ~ 0.025	0.013	0.025
		ofloxacin	0.025 ~ 0.10	0.05	0.05
		ciprofloxacin	0.013 ~ 0.05	0.025	0.05
		tosufloxacin	< 0.006 ~ 0.025	< 0.006	0.013
<i>Clostridium difficile</i>	25	pazufloxacin	6.25 ~	6.25	6.25
		ofloxacin	12.5 ~	12.5	12.5
		ciprofloxacin	12.5 ~	12.5	12.5
		tosufloxacin	1.56 ~	1.56	1.56
<i>Bacteroides fragilis</i>	75	pazufloxacin	1.56 ~ > 100	3.13	6.25
		ofloxacin	0.78 ~ 50	1.56	3.13
		ciprofloxacin	1.56 ~ 50	3.13	12.5
		tosufloxacin	0.10 ~ 6.25	0.20	0.78
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	43	pazufloxacin	0.78 ~ 50	6.25	50
		ofloxacin	0.20 ~ 50	6.25	25
		ciprofloxacin	0.20 ~ 12.5	1.56	6.25
		tosufloxacin	0.05 ~ 1.56	0.39	1.56

a): µg/ml c): imipenem MIC ≥ 12.5 µg/ml d): gentamicin MIC ≥ 6.25 µg/ml
Inoculum size: one loopful of bacterial suspension (10⁶ CFU/ml)

Proteus mirabilis, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *Legionella* sp. に対する PZFX の MIC₉₀ は、 $\leq 0.05 \mu\text{g/ml}$ であり、強い抗菌力を示した。また他のほとんどの菌種に対して OFLX より優れ、多くの菌種で CPFX と同等の抗菌力を示した。*E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* では TFLX が PZFX より優れていたが、*Proteus* 属、*M. morganii* では PZFX の方が TFLX より強い抗菌力を示した。*Serratia marcescens* に対する本剤の MIC₉₀ はやや高く、CPFX と同等の $3.13 \mu\text{g/ml}$ を示した。*P. aeruginosa* に対しては、TFLX, CPFX と同等であった。Imipenem 耐性 (IPM MIC: $\geq 12.5 \mu\text{g/ml}$) *P. aeruginosa* に対し、PZFX の MIC₉₀ は $0.39 \mu\text{g/ml}$ と OFLX の $1.56 \mu\text{g/ml}$ より優れた抗菌力を示した。また Gentamicin 耐性 (GM MIC: $\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$) *P. aeruginosa* に対し、PZFX の MIC₉₀ は $50 \mu\text{g/ml}$ とやや低下していたが、CPFX と同等の抗菌力を示した。ブドウ糖非発酵菌の *Burkholderia cepacia*, *Alcaligenes faecalis*, *Xanthomonas maltophilia* に対する PZFX の抗菌力 (MIC₉₀) は CPFX, OFLX より優れていた。嫌気性菌の *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus* 属に対する本剤の MIC₉₀ は $6.25 \mu\text{g/ml}$, $50 \mu\text{g/ml}$ であり、OFLX とほぼ同等の抗菌力を示した。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

Table 5~7 に示したごとく、PZFX の抗菌力是他剤と同様、培地の種類、接種菌量、ヒト血清添加の影響をほ

とんど受けなかった。培地 pH の影響では、PZFX の抗菌力はアルカリ側より酸性側でやや強くなる傾向がみられた (Table 8)。本剤の抗菌力は、 $4 \sim 8 \text{mM}$ 以上の Mg^{2+} , Ca^{2+} 添加で他のキノロン薬同様若干低下した (Table 9)。

4. 殺菌作用

1) MIC と MBC

PZFX の MIC と MBC は Table 10 に示したごとくほぼ一致し、その抗菌作用は殺菌的であった。OFLX, CPFX も同様な傾向を示した。

2) 増殖曲線に及ぼす影響

PZFX は OFLX, CPFX と同様に、いずれの場合も濃度依存的な殺菌作用を示した。本剤は 1 MIC 以上で、作用後短時間に菌数を約 $10^4 \sim 10^5$ 程度減少させ、強い殺菌作用が認められた。*P. aeruginosa* IFO 3445 株では本剤は 2 MIC 以上で 24 時間後まで再増殖を抑えたが、OFLX, CPFX では 2 MIC で再増殖が認められた (Fig. 1)。

5. 走査型電子顕微鏡による形態観察

PZFX を *E. coli* KL-16 に作用させた時の形態変化を走査型電子顕微鏡で観察した。その結果を Fig. 2 に示す。 $1/4$ MIC ($0.0125 \mu\text{g/ml}$) で菌体は伸長化し、1 MIC では Fig. 2 の D, E に示したごとく、異常な分裂像や mini-cell が観察された。

6. 耐性菌の選択頻度

PZFX の耐性菌選択頻度は、Table 11 に示したごとく

Table 5. Effect of various medium on antibacterial activity

Agent	Medium	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		<i>S. aureus</i> FDA209P	<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	<i>P. aeruginosa</i> IFO3445
Pazufloxacin	HIA	0.20	0.025	0.20
	BHIA	0.39	0.025	0.20
	NA	0.20	0.025	0.20
	TSA	0.20	0.025	0.20
	MHA	0.20	0.025	0.20
Ofloxacin	HIA	0.39	0.025	0.78
	BHIA	0.39	0.05	0.78
	NA	0.39	0.05	0.78
	TSA	0.39	0.05	0.78
	MHA	0.39	0.05	0.39
Ciprofloxacin	HIA	0.20	0.0125	0.10
	BHIA	0.39	0.0125	0.10
	NA	0.20	0.0125	0.10
	TSA	0.20	0.0125	0.10
	MHA	0.20	0.0125	0.10

Inoculum size: one loopful of bacterial suspension (10^6 CFU/ml)

Medium : HIA : heart infusion agar (Eiken)
 BHIA: brain heart infusion agar (Eiken)
 NA : nutrient agar (Eiken)
 TSA : trypto-soy agar (Eiken)
 MHA: Mueller-Hinton agar (Eiken)

Table 6. Effect of inoculum size on antibacterial activity

Organism	Inoculum size (CFU/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		pazufloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin
<i>S. aureus</i> FDA209P	10^8	0.20	0.39	0.39
	10^6	0.20	0.39	0.20
	10^4	0.20	0.39	0.20
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	10^8	0.025	0.05	0.0125
	10^6	0.025	0.05	0.0125
	10^4	0.0125	0.025	0.0125
<i>P. aeruginosa</i> IFO3445	10^8	0.39	0.78	0.20
	10^6	0.20	0.39	0.10
	10^4	0.10	0.20	0.05

Inoculum size: one loopful of bacterial suspension

Medium : Mueller-Hinton agar (Eiken)

Table 7. Effect of human serum on antibacterial activity

Organism	Serum (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		pazufloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin
<i>S. aureus</i> FDA209P	0	0.20	0.39	0.20
	10	0.20	0.39	0.20
	20	0.20	0.39	0.20
	50	0.39	0.39	0.20
<i>E. coli</i> TK-16	0	0.0125	0.025	0.00625
	10	0.0125	0.025	0.00625
	20	0.0125	0.025	0.00625
	50	0.0125	0.025	0.00625
<i>P. aeruginosa</i> IFO3445	0	0.20	0.39	0.10
	10	0.20	0.39	0.10
	20	0.39	0.39	0.10
	50	0.78	0.78	0.20

Inoculum size: one loopful of bacterial suspension (10^6 CFU/ml)

Medium : Mueller-Hinton agar (Eiken)

Table 8. Effect of medium pH on antibacterial activity

Organism	pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		pazufloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin
<i>S. aureus</i> FDA209P	6.0	0.20	0.39	0.39
	6.5	0.20	0.39	0.20
	7.0	0.20	0.39	0.20
	7.5	0.39	0.39	0.20
	8.0	0.78	0.39	0.20
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	6.0	0.025	0.05	0.025
	6.5	0.025	0.05	0.0125
	7.0	0.025	0.05	0.0125
	7.5	0.05	0.025	0.00625
	8.0	0.05	0.025	0.00625
<i>P. aeruginosa</i> IFO3445	6.0	0.20	0.78	0.20
	6.5	0.20	0.39	0.10
	7.0	0.20	0.39	0.10
	7.5	0.39	0.39	0.10
	8.0	0.78	0.39	0.10

Inoculum size: one loopful of bacterial suspension (10^6 CFU/ml)

Medium : Mueller-Hinton agar (Eiken)

対照薬剤と同様低く、 $<1.3 \times 10^{-7} \sim <9.1 \times 10^{-10}$ であった。

7. 作用機作

1) DNA gyraseに対する阻害作用

各菌株から精製したDNA gyraseのsupercoiling活性に対するPZFXの阻害作用を対照薬剤と比較した。いずれの場合もOFLX, CPFXと同様、PZFXはDNA gyraseに対する阻害作用を示し、各菌株間での阻害作用はMIC値とほぼ相関していた(Table 12)。

2) 子牛胸腺由来topoisomerase IIに対する阻害作用

PZFXの子牛胸腺由来topoisomerase IIに対する阻害作

用はTable 13に示したごとく対照薬剤のOFLX, CPFXよりも弱かった。また子牛胸腺由来topoisomerase IIに対する阻害作用の強さ(ID₅₀)をTable 12に示した*E. coli*由来のDNA gyraseのsupercoiling活性に対する阻害作用の強さ(ID₅₀)で除した数値(selectivity)はPZFXの方がOFLX, CPFXより大きかった。

8. 実験的感染症に対する治療効果

1) マウス全身感染症

マウス全身感染症に対するPZFXの治療効果をOFLX, CPFX, NFLX及びTFLXと比較した。その結果をTable 14に示す。

Table 9. Effect of Mg²⁺ or Ca²⁺ on antibacterial activity

Organism	mM added (Mg ²⁺ or Ca ²⁺)	MIC (μg/ml)					
		pazufloxacin		ofloxacin		ciprofloxacin	
		Mg ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
<i>S. aureus</i> FDA209P	0	0.20	0.20	0.39	0.39	0.20	0.20
	1	0.20	0.20	0.39	0.39	0.20	0.20
	2	0.20	0.20	0.39	0.39	0.20	0.20
	4	0.20	0.20	0.39	0.39	0.39	0.20
	8	0.39	0.20	0.78	0.78	0.39	0.20
	16	0.78	0.39	1.56	0.78	0.78	0.39
	32	1.56	0.78	3.13	1.56	1.56	0.78
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0	0.025	0.025	0.05	0.05	0.0125	0.0125
	1	0.025	0.025	0.10	0.05	0.0125	0.0125
	2	0.025	0.025	0.10	0.05	0.025	0.0125
	4	0.025	0.025	0.20	0.05	0.025	0.0125
	8	0.05	0.025	0.20	0.05	0.05	0.025
	16	0.10	0.05	0.39	0.10	0.05	0.05
	32	0.20	0.05	0.78	0.20	0.10	0.10
<i>P. aeruginosa</i> IF03445	0	0.20	0.20	0.78	0.78	0.10	0.10
	1	0.20	0.20	0.78	0.78	0.20	0.39
	2	0.39	0.20	1.56	1.56	0.20	0.39
	4	0.39	0.39	1.56	1.56	0.39	0.39
	8	0.78	0.39	1.56	1.56	0.39	0.78
	16	1.56	0.39	3.13	1.56	0.78	0.78
	32	1.56	0.78	6.25	3.13	1.56	0.78

Inoculum size: one loopful of bacterial suspension (10⁶ CFU/ml)

Medium : Mueller-Hinton agar (Eiken)

Table 10. MIC and MBC of pazufloxacin, ofloxacin and ciprofloxacin

Organism	Inoculum size (cells/ml)	MBC/MIC (μg/ml)		
		pazufloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin
<i>S. aureus</i> FDA209P	1.2×10^4	0.20/0.20	0.39/0.39	0.20/0.20
	1.2×10^6	0.39/0.20	0.78/0.78	0.39/0.39
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	1.9×10^4	0.025/0.025	0.05/0.05	0.0125/0.0125
	1.9×10^6	0.05/0.05	0.05/0.05	0.025/0.025
<i>P. aeruginosa</i> IF03445	5.0×10^4	0.39/0.20	1.56/0.78	0.20/0.10
	5.0×10^6	0.78/0.39	3.13/1.56	0.78/0.39

Medium: nutrient broth (Eiken)

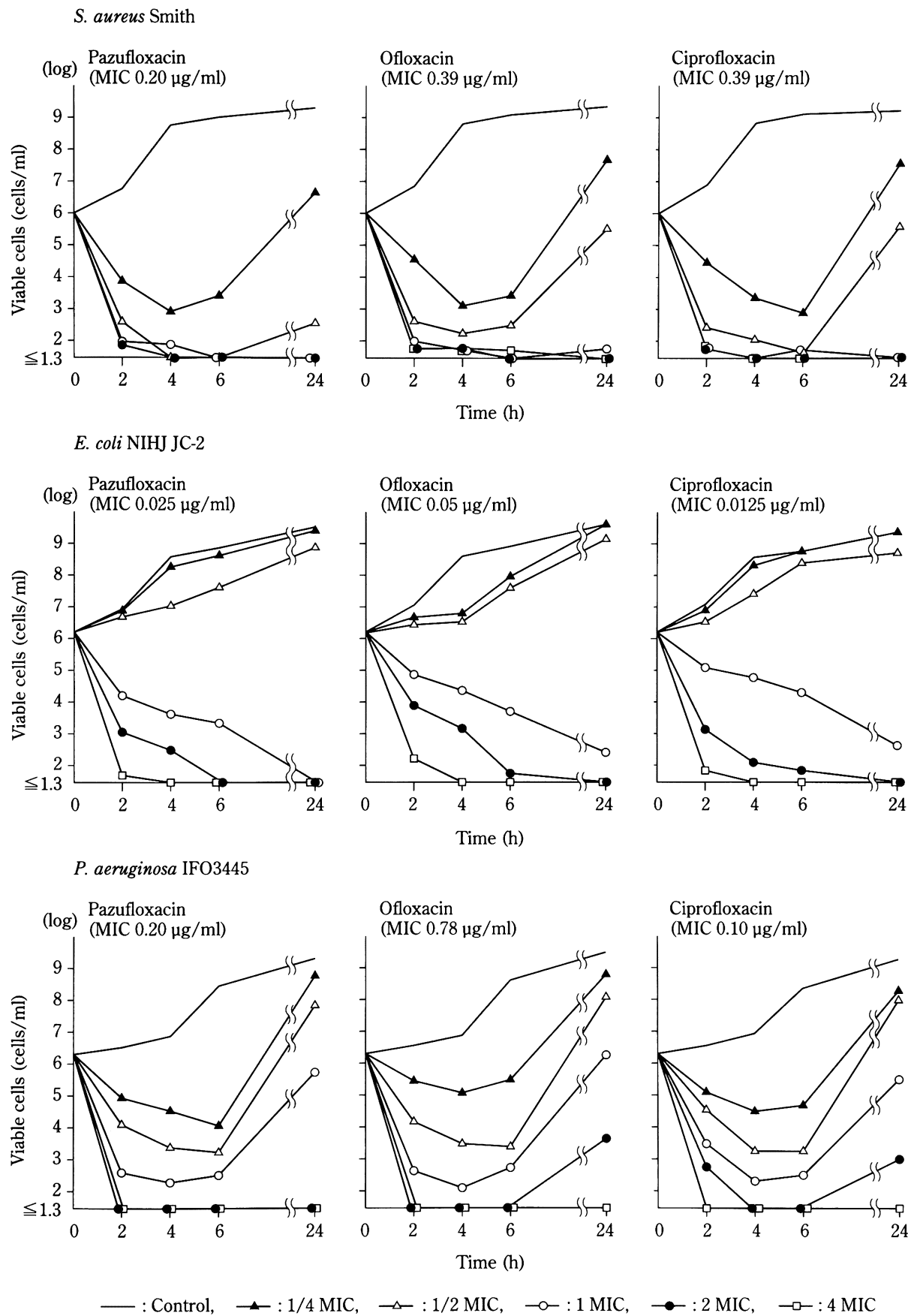


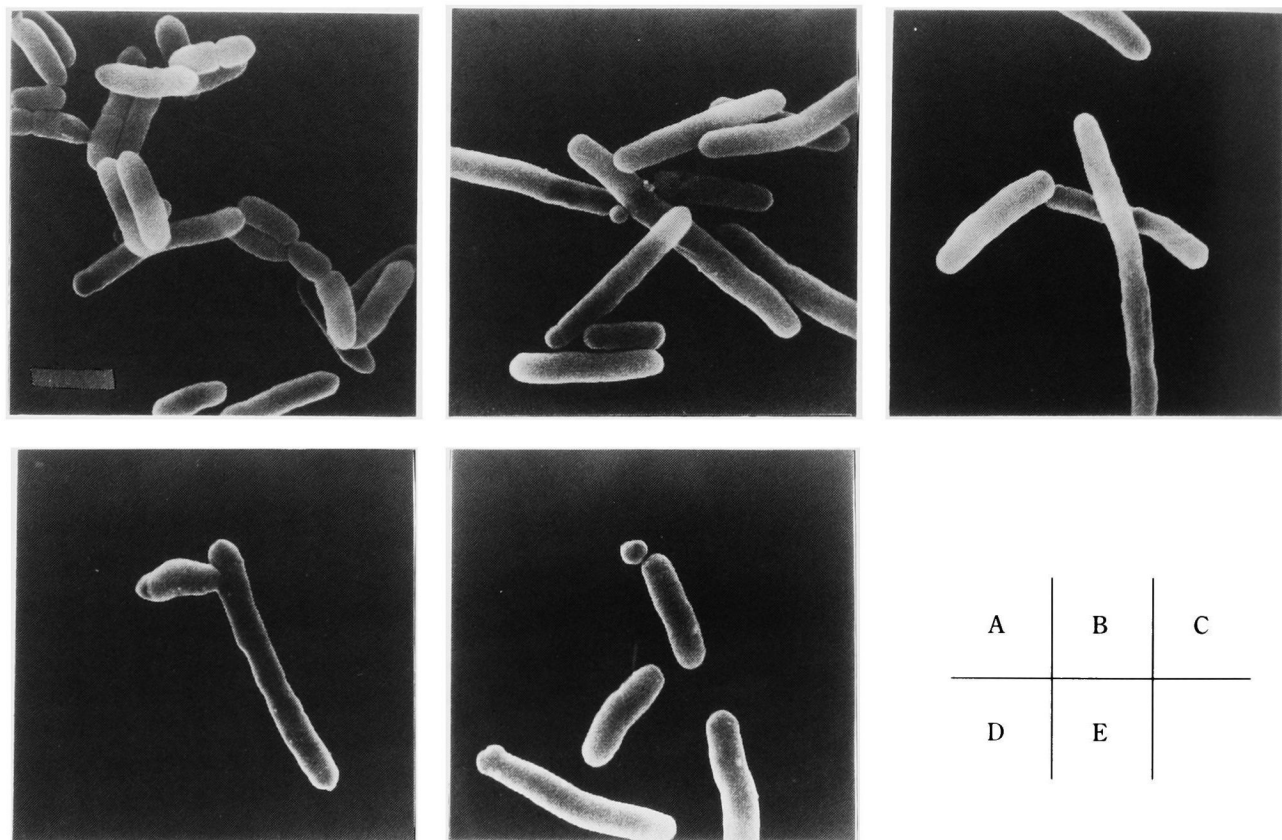
Fig. 1. Bactericidal activity of pazufloxacin and other quinolones.

PZFXは、*S. pneumoniae*感染に対して、TFLXより劣ったが、CPFX、NFLXより優れ、OFLXと同等の治療効果を示した。MRSA、*Proteus*属、*S. marcescens*、*P. aeruginosa*では比較薬剤中最も優れ、OFLXの約2～8倍程度の強い治療効果を示した。このうちキノロン薬中等度耐性の*S. marcescens* W-217 (OFLX MIC: $3.13\mu\text{g/ml}$)、*P. aeruginosa* S-916 (OFLX MIC: $12.5\mu\text{g/ml}$) に対して本剤はOFLXより2倍以上の優れた治療効果を示した。また*S. aureus*と

*P. aeruginosa*の混合感染に対しても本剤は比較薬剤中最も優れた治療効果を示した。

2) マウス呼吸器感染

マウス呼吸器感染に対するPZFXの治療効果をOFLX、CPFX、NFLX及びTFLXと比較した。その結果をTable 15に示す。*K. pneumoniae* Y-41の場合、生存率ではNFLXを除いていずれの薬剤も80～89%で、薬剤間に大きな差は見られなかったが、除菌率はPZFXの53%が最



A : Normal, B, C : $1/4$ MIC, 2 h, D, E : 1 MIC, 2 h, Bar represents $1\mu\text{m}$

Fig. 2. Morphological alteration of *Escherichia coli* KL-16 exposed to pazufloxacin.

Table 11. Frequency of mutational resistance

Organism	Mutation frequency (at $4 \times \text{MIC}$)				
	pazufloxacin	ofloxacin	ciprofloxacin	norfloxacin	tosufloxacin
<i>S. aureus</i> Smith	$<5.5 \times 10^{-9}$	$<5.5 \times 10^{-9}$	$<5.5 \times 10^{-9}$	$<5.5 \times 10^{-9}$	$<5.5 \times 10^{-9}$
<i>E. coli</i> TK-16	$<6.6 \times 10^{-10}$	4.7×10^{-9}	$<6.6 \times 10^{-10}$	6.6×10^{-10}	$<6.6 \times 10^{-10}$
<i>K. pneumoniae</i> Y-41	$<1.3 \times 10^{-9}$	$<1.3 \times 10^{-9}$	$<1.3 \times 10^{-9}$	$<1.3 \times 10^{-9}$	$<1.3 \times 10^{-9}$
<i>S. marcescens</i> IID620	$<9.1 \times 10^{-10}$	1.1×10^{-8}	$<9.1 \times 10^{-10}$	$<9.1 \times 10^{-10}$	$<9.1 \times 10^{-10}$
<i>P. mirabilis</i> T-111	8.7×10^{-10}	1.7×10^{-9}	4.3×10^{-10}	$<4.3 \times 10^{-10}$	$<4.3 \times 10^{-10}$
<i>P. vulgaris</i> T-319	$<5.0 \times 10^{-10}$	$<5.0 \times 10^{-10}$	$<5.0 \times 10^{-10}$	$<5.0 \times 10^{-10}$	$<5.0 \times 10^{-10}$
<i>P. aeruginosa</i> S-68	5.8×10^{-9}	7.9×10^{-9}	2.4×10^{-8}	2.1×10^{-8}	3.7×10^{-8}
<i>P. aeruginosa</i> S-406	$<5.0 \times 10^{-10}$	$<5.0 \times 10^{-10}$	$<5.0 \times 10^{-10}$	$<5.0 \times 10^{-10}$	$<5.0 \times 10^{-10}$

も優れ、次いでTFLX, OFLX, CPFXの順で、NFLXでは全く除菌されなかった。*P. aeruginosa* S-406感染の場合、生存率、除菌率共にPZFXが94%で最も強い効果を示した。次いでCPFX, TFLX, OFLX, NFLXの順であった。

3) マウス尿路感染

マウス尿路感染に対するPZFXの治療効果をOFLX, CPFX, NFLX及びTFLXと比較した。その結果をTable 16に示す。いずれの場合もPZFX投与群は薬剤非投与群より3~5logの菌数減少がみられ、強い治療効果が認められた。なお、0.4mg/mouse経口投与(*P. aeruginosa*尿路感染時)2時間後の腎内濃度をHPLC法⁷⁾で測定したところ、PZFXが最も高く $14.7 \pm 3.4 \mu\text{g/g}$ 、次いでOFLXが $8.0 \pm 3.7 \mu\text{g/g}$ 、CPFXが $3.7 \pm 1.9 \mu\text{g/g}$ であった。

4) マウス皮下膿瘍

マウス皮下膿瘍に対するPZFXの治療効果をOFLX, CPFX, NFLX及びTFLXと比較した。その結果をFig. 3に示す。PZFXは投与量に依存して強い治療効果がみられた。

Ⅲ. 考 察

今回、ニューキノロン系合成抗菌薬PZFXの細菌学的

評価についてCPFX, OFLX, NFLX及びTFLXを比較薬剤とし検討した。PZFXはグラム陽性菌、*P. aeruginosa*を含むグラム陰性菌及び嫌気性菌に対して強い抗菌活性を発揮し、幅広い抗菌スペクトルを示した。

臨床分離のグラム陽性菌に対するPZFXの抗菌力はMRSAを含む*Staphylococcus*属に対し、TFLXより劣るものの、OFLXより優れており、*Streptococcus*属に対してはOFLXとほぼ同等であった。陰性菌では、Enterobacteriaceaeの5菌種と*H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *Legionella* sp. に対する本剤のMIC₉₀は $\leq 0.05 \mu\text{g/ml}$ でOFLXより優れ、多くの菌種でCPFXとほぼ同等の抗菌力を示した。*S. marcescens*に対するPZFXのMIC₉₀はCPFXと同等の $3.13 \mu\text{g/ml}$ であり、他のEnterobacteriaceaeに比べると高かった。キノロン薬感受性*S. marcescens*由来のgyraseに対する薬剤の阻害作用(IC₅₀)は強く⁸⁾、キノロン薬の抗菌力が全体にやや弱いのは本菌種の膜透過性も関与しているものと考えられた。*P. aeruginosa*に対してはPZFXのMIC₉₀は $1.56 \mu\text{g/ml}$ とTFLXと同等で、OFLXの $6.25 \mu\text{g/ml}$ より優れていた。Imipenem耐性*P. aeruginosa*には、いずれのキノロン薬も比較的良好な抗菌力を示した。加藤

Table 12. Inhibitory effect of pazufloxacin and other quinolones against supercoiling activity of gyrase

Organism	Agent	MIC* ($\mu\text{g/ml}$)	ID ₅₀ ** ($\mu\text{g/ml}$)
<i>E. coli</i> KL-16	pazufloxacin	0.025	0.68
	ofloxacin	0.025	0.70
	ciprofloxacin	0.00625	0.35
	norfloxacin	0.025	0.80
	tosufloxacin	0.00625	0.28
<i>E. cloacae</i> 963	pazufloxacin	0.05	0.39
	ofloxacin	0.10	0.72
	ciprofloxacin	0.05	0.32
	norfloxacin	0.10	0.95
	tosufloxacin	0.025	0.30
<i>P. aeruginosa</i> IFO3445	pazufloxacin	0.20	9.8
	ofloxacin	0.39	12.1
	ciprofloxacin	0.10	5.3
	norfloxacin	0.78	12.0
	tosufloxacin	0.10	8.1

* One loopful of bacterial suspension (10^6 CFU/ml)

** 50% Inhibitory dose

Table 13. Inhibitory effect of pazufloxacin and other quinolones against mammalian topoisomerase II

Agent	ID ₅₀ * for topoisomerase II from calf thymus ($\mu\text{g/ml}$)	ID ₅₀ for gyrase from <i>E. coli</i> ($\mu\text{g/ml}$)	Selectivity**
Pazufloxacin	2010	0.68	2956
Ofloxacin	1358	0.70	1940
Ciprofloxacin	236	0.35	674

* 50% Inhibitory dose

** ID₅₀ against topoisomerase II/ID₅₀ against *E. coli* gyrase (Table 12)

ら⁹⁾は臨床分離株では、NFLXとIPMが共に耐性を示す比率が低いことを報告しているが、今回我々が用いたIPM耐性菌もキノロン薬に比較的感受性であった。一方、GM耐性*P. aeruginosa*に対してはいずれのキノロン薬も抗菌力がやや低下した。これは臨床的にアミノグリコシド剤耐性と同時にキノロン耐性を保有する株が多い事実を示している。これらのうち、一部の株では、Kureishiらが報告した*gyrA*変異¹⁰⁾が認められたが(データ未発表)、外膜変異については現在明らかでない。嫌気性菌に対するPZFXの抗菌力はTFLXより劣るが、OFLXとは

ほぼ同等であった。また*B. fragilis*や*Peptostreptococcus*属でキノロン薬低感受性の株がみられた。

PZFXはMICとMBCにほとんど差が見られず、また増殖曲線に及ぼす影響では濃度依存的に短時間で殺菌的な作用を示した。この特徴はβ-ラクタム剤¹¹⁾には見られないニューキノロン薬共通のものであった。

PZFX作用時、*E. coli* KL-16株の形態は1/4 MICではfilamentous像が、1 MICではmini-cellや異常分裂像が観察された。これらの形態変化は他のキノロン系抗菌薬¹²⁻¹⁵⁾でみられたものとほぼ同様であった。キノロン系

Table 14-1. Therapeutic effect of antibacterial agents on systemic infection in mice

Organism challenge dose (cells/ml)	Agent	MIC* (μg/ml)	Route	ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limit)
<i>S. aureus</i> Smith 2.2 × 10 ⁷ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.20	po	0.056 (0.033 ~ 0.095)
	ofloxacin	0.39	po	0.11 (0.05 ~ 0.23)
	ciprofloxacin	0.39	po	0.14 (0.08 ~ 0.26)
	norfloxacin	1.56	po	0.56 (0.29 ~ 1.1)
	tosufloxacin	0.025	po	0.013 (0.007 ~ 0.024)
<i>S. aureus</i> F-1282 (MRSA) 4.0 × 10 ⁷ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.20	po	0.090 (0.064 ~ 0.13)
	ofloxacin	0.78	po	0.42 (0.31 ~ 0.57)
	ciprofloxacin	1.56	po	1.45 (1.15 ~ 1.83)
	norfloxacin	12.5	po	> 8
	tosufloxacin	0.20	po	0.18 (0.12 ~ 0.27)
<i>S. pneumoniae</i> D-289 1.5 × 10 ⁵ (mucin -)	pazufloxacin	3.13	po	2.95 (1.94 ~ 5.16)
	ofloxacin	3.13	po	2.80 (1.97 ~ 3.99)
	ciprofloxacin	0.78	po	> 8
	norfloxacin	6.25	po	> 8
	tosufloxacin	0.20	po	0.22 (0.15 ~ 0.32)
<i>E. coli</i> TK-16 1.2 × 10 ⁷ (mucin -)	pazufloxacin	0.0125	po	0.003 (0.002 ~ 0.004)
	ofloxacin	0.025	po	0.013 (0.008 ~ 0.020)
	ciprofloxacin	0.00625	po	0.008 (0.005 ~ 0.010)
	norfloxacin	0.05	po	0.045 (0.036 ~ 0.056)
	tosufloxacin	0.0125	po	0.003 (0.002 ~ 0.004)
<i>K. pneumoniae</i> Y-193 7.0 × 10 ³ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.05	po	0.11 (0.081 ~ 0.16)
	ofloxacin	0.10	po	0.32 (0.23 ~ 0.46)
	ciprofloxacin	0.05	po	0.20 (0.14 ~ 0.29)
	norfloxacin	0.10	po	1.85 (1.28 ~ 2.68)
	tosufloxacin	0.025	po	0.14 (0.094 ~ 0.19)
<i>P. mirabilis</i> T-111 3.0 × 10 ⁷ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.025	po	0.011 (0.008 ~ 0.015)
	ofloxacin	0.10	po	0.025 (0.019 ~ 0.033)
	ciprofloxacin	0.025	po	0.030 (0.021 ~ 0.043)
	norfloxacin	0.20	po	0.15 (0.12 ~ 0.20)
	tosufloxacin	0.20	po	0.025 (0.018 ~ 0.032)
<i>P. vulgaris</i> T-319 7.6 × 10 ⁷ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.025	po	0.005 (0.003 ~ 0.009)
	ofloxacin	0.10	po	0.042 (0.032 ~ 0.055)
	ciprofloxacin	0.025	po	0.060 (0.037 ~ 0.098)
	norfloxacin	0.05	po	0.16 (0.12 ~ 0.21)
	tosufloxacin	0.05	po	0.042 (0.022 ~ 0.079)
<i>S. marcescens</i> IID620 1.0 × 10 ⁷ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.05	po	0.014 (0.010 ~ 0.019)
	ofloxacin	0.20	po	0.027 (0.021 ~ 0.034)
	ciprofloxacin	0.025	po	0.019 (0.012 ~ 0.029)
	norfloxacin	0.10	po	0.092 (0.071 ~ 0.12)
	tosufloxacin	0.10	po	0.045 (0.034 ~ 0.060)

Animal: ICR mouse, 4 weeks old, male, 19 ± 1 g, 10 mice/1 group (n=10)

Therapy: 1 h after infection (po), In case of *S. pneumoniae* D-289, therapy was done at 1 and 3 h after infection (po).

* One loopful of bacterial suspension (10⁶ CFU/ml)

抗菌薬の細菌菌体の形態に及ぼす影響は、菌のSOS反応¹⁶⁻¹⁸⁾に基づくものと示唆されているが、本剤も他剤と同様な作用様式と推察された。

PZFXの抗菌力は培地の種類、ヒト血清添加、接種菌量などの影響をほとんど受けなかったが、OFLX, CPFXと同様にMg²⁺, Ca²⁺添加によってやや低下した。Mg²⁺, Ca²⁺によるキノロン薬の抗菌力の低下は、これら金属イオンとキレート形成するためと言われている¹⁹⁾。さらにキレート能はキノロン薬によって異なるとの報告²⁰⁾もあるが、今回、抗菌力の低下は薬剤間に大きな差異は認められなかった。また培地pHの影響では、PZFXの抗菌力

はアルカリ側より、酸性側でやや強くなる傾向がみられ、Nalidixic acid (NA)と同様な性質²¹⁾を示した。PZFXの耐性菌選択頻度を4 MIC濃度で検討したところ、OFLX, CPFXと同様低かった。しかし臨床においては*S. aureus*, *P. aeruginosa*を中心に耐性菌の問題があり、今後臨床株の感受性に十分注意を払う必要があるものと考えられる。

PZFXは*E. coli* KL-16株等から精製したDNA gyraseのsupercoiling活性をCPFX, OFLXと同様、強く阻害した。一方、子牛胸腺由来のtopoisomerase IIに対する阻害活性はCPFX, OFLXに比べ弱かった。各薬剤の*E. coli* DNA

Table 14-2. Therapeutic effect of antibacterial agents on systemic infection in mice

Organism challenge dose (cells/mouse)	Agent	MIC* (μg/ml)	Route	ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limit)
<i>S. marcescens</i> W-196 1.5 × 10 ⁷ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.10	po	0.022 (0.015 ~ 0.033)
	ofloxacin	0.20	po	0.072 (0.053 ~ 0.097)
	ciprofloxacin	0.05	po	0.062 (0.043 ~ 0.089)
	norfloxacin	0.20	po	0.14 (0.10 ~ 0.19)
	tosufloxacin	0.10	po	0.090 (0.061 ~ 0.13)
<i>S. marcescens</i> W-217 4.3 × 10 ⁶ (5% mucin +)	pazufloxacin	1.56	po	0.18 (0.097 ~ 0.33)
	ofloxacin	3.13	po	0.78 (0.58 ~ 1.05)
	ciprofloxacin	1.56	po	1.23 (0.84 ~ 1.81)
	norfloxacin	12.5	po	> 2.5
	tosufloxacin	3.13	po	1.63 (1.15 ~ 2.30)
<i>P. aeruginosa</i> S-68 4.9 × 10 ⁶ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.39	po	0.16 (0.11 ~ 0.23)
	ofloxacin	0.78	po	0.39 (0.26 ~ 0.58)
	ciprofloxacin	0.20	po	0.26 (0.23 ~ 0.29)
	norfloxacin	1.56	po	0.85 (0.63 ~ 1.15)
	tosufloxacin	0.20	po	0.16 (0.11 ~ 0.23)
<i>P. aeruginosa</i> S-406 4.0 × 10 ⁵ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.39	po	0.20 (0.13 ~ 0.32)
	ofloxacin	0.78	po	0.76 (0.55 ~ 1.04)
	ciprofloxacin	0.10	po	0.33 (0.24 ~ 0.45)
	norfloxacin	0.78	po	1.47 (1.00 ~ 2.16)
	tosufloxacin	0.20	po	0.24 (0.16 ~ 0.37)
<i>P. aeruginosa</i> S-916 4.0 × 10 ⁶ (5% mucin +)	pazufloxacin	3.13	po	1.00 (0.74 ~ 1.36)
	ofloxacin	12.5	po	> 2.5
	ciprofloxacin	1.56	po	> 2.5
	norfloxacin	6.25	po	> 2.5
	tosufloxacin	3.13	po	2.34 (1.69 ~ 3.24)
<i>S. aureus</i> Smith 2.1 × 10 ⁷ + <i>P. aeruginosa</i> S-1299 1.7 × 10 ⁷ (5% mucin +)	pazufloxacin	0.20 ^a	po	0.22 (0.16 ~ 0.30)
		0.39 ^b		
	ofloxacin	0.39 ^a	po	0.88 (0.78 ~ 1.00)
		1.56 ^b		
	ciprofloxacin	0.39 ^a	po	0.40 (0.34 ~ 0.47)
		0.39 ^b		
	norfloxacin	1.56 ^a	po	1.70 (1.47 ~ 2.00)
		0.78 ^b		
	tosufloxacin	0.025 ^a	po	0.30 (0.20 ~ 0.44)
		0.78 ^b		

Animal: ICR mouse, 4 weeks old, male, 19 ± 1 g, 10 mice/1 group (n = 10)

Therapy: 1 h after infection (po)

* One loopful of bacterial suspension (10⁶ CUF/ml)

a: MIC against *S. aureus* Smith, b: MIC against *P. aeruginosa* S-1299

gyraseに対する阻害作用との比 (selectivity: topoisomerase II ID₅₀/DNA gyrase ID₅₀) はPZFXでは2956とOFLXの1940, CFXの674に比べて高い値を示した。このPZFXの値はキノロン薬の中でも高い部類²²⁾に属し、真核生物由来のtopoisomeraseに対する選択毒性に優れて

いた。

マウス実験の全身感染におけるMRSA, *Proteus*属, キノロン薬中等度耐性菌を含む*S. marcescens*, *P. aeruginosa*単独感染及び*S. aureus*と*P. aeruginosa*混合感染に対し、PZFXはOFLXに比べ約2~8倍程度の強い治療効果を示

Table 15. Therapeutic effect of pazufloxacin on experimental pneumonia in mice

Organism Challenge dose (cells/lung)	Agent	MIC* (μg/ml)	Route	Survival (%)	Eradication** (%)
<i>K. pneumoniae</i> Y-41 1.0 × 10 ⁵	pazufloxacin	0.05	po	87 ^a	53 ^b
	ofloxacin	0.10	po	80	20
	ciprofloxacin	0.025	po	80	7
	norfloxacin	0.10	po	10	0
	tosufloxacin	0.05	po	89	44
<i>P. aeruginosa</i> S-406 3.5 × 10 ⁵	pazufloxacin	0.39	po	94 ^c	94 ^d
	ofloxacin	0.78	po	55	55
	ciprofloxacin	0.10	po	83	83
	norfloxacin	0.78	po	33	33
	tosufloxacin	0.20	po	74	74

Animal: ICR mouse, 4 weeks old, male, 19 ± 1 g, 9–15 mice/1 group: *K. pneumoniae* Y-41. 12–35 mice/1 group: *P. aeruginosa* S-406.

Therapy: Started at 4 h after infection, 0.1 mg/mouse × 2 times/day for 3 days: *K. pneumoniae* Y-41. 0.5 mg/mouse at 4, 6 h after infection: *P. aeruginosa* S-406

* One loopful of bacterial suspension (10⁶ CFU/ml)

** No. of bacterial negative (kidney) mice/No. of tested mice

p < 0.05: a, vs norfloxacin, c, vs ofloxacin, norfloxacin (Logrank test)

b, vs ofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, d, vs ofloxacin, norfloxacin (χ²-test, multiple comparison)

Table 16. Therapeutic effect of pazufloxacin on urinary tract infection in mice

Organism challenge dose (cells/mouse)	Agent	Therapy	MIC* (μg/ml)	Log of viable cells/kidney** (mean ± SD)
<i>P. mirabilis</i> T-111 2.0 × 10 ⁵	control			8.3 ± 1.2
	pazufloxacin	0.5	0.025	3.8 ± 1.9
	ofloxacin		0.10	4.3 ± 3.0
	ciprofloxacin	(at 4,	0.025	4.7 ± 2.8
	norfloxacin	24 h)	0.20	4.8 ± 2.0
	tosufloxacin		0.20	4.8 ± 1.8
<i>S. marcescens</i> IID620 2.4 × 10 ⁵	control			6.3 ± 0.5
	pazufloxacin	0.25	0.05	2.5 ± 1.0
	ofloxacin		0.20	4.1 ± 1.9
	ciprofloxacin	(at 4,	0.025	2.9 ± 1.1
	norfloxacin	24 h)	0.10	4.2 ± 2.0
	tosufloxacin		0.10	2.8 ± 1.5
<i>P. aeruginosa</i> S-68 5.0 × 10 ⁶	control			8.1 ± 1.6
	pazufloxacin	0.5	0.39	3.5 ± 2.5
	ofloxacin		0.78	4.3 ± 3.1
	ciprofloxacin	(at 4,	0.20	4.5 ± 1.6
	norfloxacin	24 h)	1.56	6.0 ± 2.0
	tosufloxacin		0.20	4.3 ± 3.3
<i>P. aeruginosa</i> S-429 5.0 × 10 ⁶	control			6.1 ± 2.0
	pazufloxacin	0.5	0.05	2.9 ± 1.3
	ofloxacin		0.20	4.5 ± 1.8
	ciprofloxacin	(at 4,	0.05	4.0 ± 1.5
	norfloxacin	6 h)	0.20	4.7 ± 1.7
	tosufloxacin		0.05	4.6 ± 2.4

Animal: ICR mouse, 4 weeks old, female, 19 ± 1 g, 10 mice/1 group

* One loopful of bacterial suspension (10⁶ CFU/ml)

** Assay at 48 h after infection

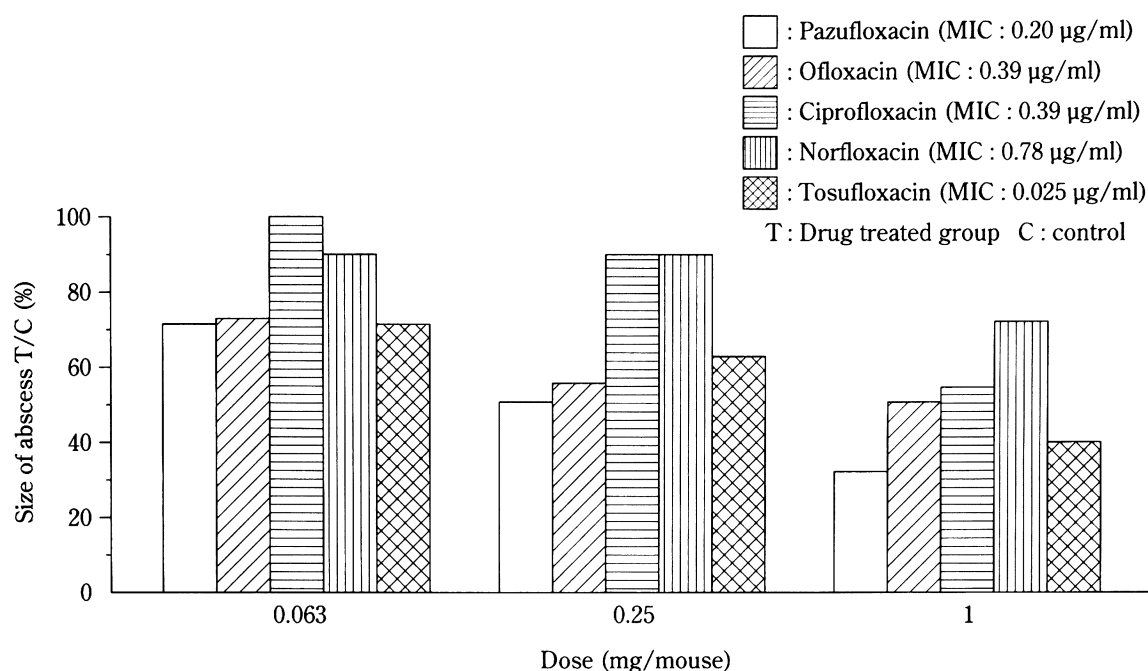


Fig. 3. Therapeutic effect of pazufloxacin on the experimental subcutaneous abscess in mice caused with *Staphylococcus aureus* F-1304.

した。PZFXは*in vitro*のsimulation model²³⁾やpostantibiotic effectの検討²⁴⁾で高濃度、短時間作用時の方が低濃度、長時間作用時より効果を示す。またPZFXはOFLXと比較し、マウスを含む各種動物で血中半減期は短い、そのCmaxは高い²⁵⁾。本剤の良好な治療効果は高い血中Cmaxが反映し、半減期の短いことは効果に影響を及ぼさなかった。また実験的呼吸器感染や尿路感染においても、OFLX, CPFXより治療効果は優れ、除菌率や腎内生菌数に差がみられた。これは本剤の強い抗菌力と良好な感染組織移行性(炎症巣内移行性)²⁶⁾によるものと考えられた。

以上、PZFXは*in vitro*, *in vivo*において良好な抗菌力を示し、本剤の臨床的な有用性が期待された。

文 献

- 1) Todo Y, et al.: Pyridonecarboxylic acids as antibacterial agents. IX. Synthesis and structure-activity relationships of 10-(1-aminocyclopropyl)-9-fluoro-7-oxo-2, 3-dihydro-7H-pyrido[1, 2, 3-de][1, 4] benzoxazine-6-carboxylic acid derivatives. Chem Pharm Bull 42: (12) 2569~2574, 1994
- 2) 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
- 3) 日本化学療法学会嫌気性菌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
- 4) Sato K, Inoue Y, Fujii T, Aoyama H, Inoue M and Mitsunashi S: Purification and properties of DNA gyrase from a fluoroquinolone-resistant strain of *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 30: 777~780, 1986
- 5) Halligan B D, Edwards K A and Liu L F: Purification and characterization of a type II DNA topoisomerase from bovine calf thymus. J Biol Chem 260: 2475~2482, 1985
- 6) Litchfield J T and Wilcoxon F: A simplified method of evaluating dose effect experiments. J Pharmacol Exp Ther 96: 99~113, 1949
- 7) 田井 賢, 藤巻久美, 清水祐子：T-3761の高速液体クロマトグラフィーによる体液内濃度測定法。Jap J Antibiotics 48: 621~625, 1995
- 8) Masecar B L and Robillard N J: Spontaneous quinolone resistance in *Serratia marcescens* due to a mutation in *gyrA*. Antimicrob Agent Chemother 35: 898~902, 1991
- 9) 加藤広行, 都築 浩, 伊豫部志津子：臨床由来緑膿菌のニューキノロン剤耐性変異について。Chemotherapy 38: 1003~1012, 1990
- 10) Kureishi A, Diver J M, Beckthold B, Schollaardt T and Bryan L E: Cloning and nucleotide sequence of *Pseudomonas aeruginosa* DNA gyrase *gyrA* gene from PAO1 and quinolone-resistant clinical iso-

- lates. Antimicrob Agent Chemother 38: 1944 ~ 1952, 1994
- 11) 西野武志, 中村和則, 田中真由美, 後藤季美, 大槻雅子, 谷野輝雄: Imipenem (MK-0787) の *in vitro* 抗菌力について. Chemotherapy 33(S-4): 74 ~ 90, 1985
- 12) 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
- 13) 熊澤浄一, 松本文夫: 第42回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム. Balofloxacin (Q-35), 福岡, 1994
- 14) 上野一恵, 原 耕平, 河田幸道: 第38回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム. Sparfloxacin (AT-4140), 岐阜, 1990
- 15) 守殿貞夫, 原 耕平: 第41回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム. Greparfloxacin (OPC-17116), 神戸, 1993
- 16) Walker G C: Mutagenesis and inducible responses to deoxyribonucleic acid damage in *Escherichia coli*. Microbiol Rev: 60~93, 1984
- 17) Walters R N, Piddock J V and Wise R: The effect of mutations in the SOS response on the kinetics of quinolone killing. J Antimicrob Chemother 24: 863~873, 1989
- 18) Drlica K: Biology of bacterial deoxyribonucleic acid topoisomerases. Microbiological Reviews 48: 273~289, 1984
- 19) Timmers K and Sternhlonz R: Ionization and divalent cation dissociation constants of nalidixic acid and oxolinic acid. Bioorganic Chem 9: 145~155, 1978
- 20) Okabayashi Y, Hayashi I, Terui Y and Kitagawa T: Studies on the interaction of pyridone carboxylic acids with metals. Chem Pharm Bull 40: 692 ~ 696, 1992
- 21) 西野武志, 尾花芳樹, 和田美智, 中澤昭三: 新合成化学療法剤 AB-206に関する細菌学的評価. Chemotherapy 26(S-4): 27~40, 1978
- 22) Sato K, Hoshino K, Une T, Hayakawa I, Sato M and Osada Y: Inhibitory effect of DR-3355 (1-Ofloxacin) on mammalian topoisomerase II and bacterial DNA gyrase. 29th ICAAC. Abstract no. 1191, 1989
- 23) 山城芳子, 中田光人, 高畑正裕, 福岡義和, 保田 隆, 渡辺泰雄, 成田弘和: *In vitro* simulation modelにおけるpazufloxacinの殺菌効果. 日化療会誌43(S-2): 97~105, 1995
- 24) 山城芳子, 高畑正裕, 島倉雅子, 黒瀬朱美子, 福岡義和, 保田 隆, 渡辺泰雄, 成田弘和: Pazufloxacinの短時間殺菌力と *in vitro* postantibiotic effectに関する検討. 日化療会誌43(S-2) 90~96, 1995
- 25) 南 新三郎, 他: T-3761の各種動物における吸収・分布・代謝および排泄. Jap J Antibiotics 48: 626~642, 1995
- 26) 高畑正裕, 山城芳子, 島倉雅子, 黒瀬朱美子, 福岡義和, 保田 隆, 渡辺泰雄, 成田弘和: Pazufloxacinの炎症巣移行および治療効果. 日化療会誌43(S-2): 113~119, 1995

Antibacterial activity of pazufloxacin, a new quinolone

Masahiro Takahata, Yoshiko Yamashiro, Kazuo Fujimaki, Seiki Okamoto, Junichi Mitsuyama, Yasushi Ikeda, Sinzaburo Minami, Yoshikazu Fukuoka, Takashi Yasuda, Yasuo Watanabe and Hirokazu Narita

Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd.,
2-4-1, Shimookui, Toyama City, Toyama 930, Japan

We compared the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of pazufloxacin (PZFX) with those of other new quinolones.

The results are summerized as follows:

- 1) PZFX exhibited a broad spectrum with potent antibacterial activity against Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria including *Pseudomonas aeruginosa* and anaerobic bacteria.
- 2) The antibacterial activity of PZFX was superior to that of ofloxacin (OFLX) against *Staphylococcus aureus* including methicillin-resistant *S. aureus*. Against *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Haemophilus influenzae* and *Legionella* sp., the MIC₉₀ of PZFX were below 0.05 µg/ml. The activities of PZFX against Gram-negative bacteria were superior to those of OFLX.
- 3) The antibacterial activity of PZFX was decreased by Ca²⁺, Mg²⁺, but its activity was unaffected by the type of culture medium, inoculum size or addition of human serum except for medium pH.
- 4) PZFX exhibited potent bactericidal action against various bacteria at the concentration above the MIC.
- 5) PZFX changed the morphology of *E. coli* KL-16 to filamentous shape (1/4 MIC), and caused abnormal cell division (1 MIC).
- 6) The appearance rate of spontaneous resistant mutants by PZFX was very low.
- 7) PZFX was strongly inhibited the supercoiling activity of DNA gyrase purified from *E. coli* and others. On the other hand, the inhibitory effect of PZFX against mammalian topoisomerase II from calf thymus was more weaker than those of OFLX or ciprofloxacin (CPFX).
- 8) The therapeutic effects of PZFX against mouse systemic infection were c.a. 2~8 fold superior to those of OFLX. Against mouse experimental respiratory tract infection and urinary tract infection, PZFX were also superior to those of OFLX, CPFX.