

NM441 のヒト糞便内細菌叢に対する影響

本廣 孝・升永 憲治・大津 寧・池沢 滋・松尾 勇作・丸岡 隆之
 半田 祥一・長井 健祐・山田 秀二・沖 眞一郎・山田 孝・津村 直樹
 吉永陽一郎・織田 慶子・阪田 保隆・富永 薫・加藤 裕久・山下 文雄
 久留米大学医学部小児科学教室*

新しく開発されたプロドラッグ型のキノロン系合成抗菌薬である NM441 を健康成人 7 例に対し、活性本体 NM394 換算量として 100mg を含有する NM441 錠を 2 錠、すなわち 200mg を 1 日 2 回、8 日間経口投与し、糞便内細菌叢への影響をみるとともに、糞便内薬物濃度および糞便から分離した種々の細菌の NM394 およびその他の薬剤に対する感受性を測定した。併せて、体内動態および副作用と臨床検査値への影響について検討し、次のような結果を得た。

1) 糞便内細菌叢では全例で好気性菌の *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp., および *Enterobacter* sp. 等の Enterobacteriaceae は投与期間中に減少し検出限界以下となった。その他の好気性のグラム陰性桿菌やグラム陽性菌の *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp. も投与期間中に減少し、総好気性菌数は減少した。Yeast like organism では投与期間中および投与終了後に一時的に増加傾向を示したが、一定の変化を認めなかった。嫌気性菌の *Bifidobacterium* および *Bacteroides fragilis* group の菌数に変化はなかったが、*Veillonella*, *Fusobacterium*, Lecithinase(+) *Clostridium* は投与期間中に減少または検出限界以下となった。*Lactobacillus* は 3 例で投与期間中に減少した。しかし、総嫌気性菌数に変化は認められなかった。これらの変化は投与終了後に投与前の状態まで回復した。

2) *Clostridium difficile* は投与開始後から投与終了 30 日後までに 2 例から分離され、同日に D-1 antigen も 500ng/g 検出され、この 2 例中 1 例では D-1 antigen に対する血清中の中和抗体価が顕著に上昇した。その他の 5 例中 2 例では投与終了後に D-1 antigen が検出された。投与期間中は全例で *C. difficile* および D-1 antigen とともに検出されなかった。

3) 投与期間中に全例で糞便内に NM394 が検出され、その濃度は 320~1,491 μ g/g で、7 例中 5 例は投与終了時が最も高い濃度であった。7 例中 3 例は投与終了後 NM394 は検出限界以下で、3 例は投与終了後 3 日目まで、1 例は投与終了後 5 日目まで検出された。

4) 糞便から分離されたグラム陽性菌中 *Staphylococcus aureus*, α -hemolytic streptococci, *Enterococcus faecium*, Group D streptococci に対する NM394 の MIC は、ofloxacin(OFLX), ciprofloxacin(CPFX), tosufloxacin(TFLX), sparfloxacin(SPFX) に同じか類似し、*Staphylococcus epidermidis*, その他の coagulase-negative staphylococci, *Enterococcus avium*, *Enterococcus faecalis* に対する NM394 の MIC は TFLX より大であり、OFLX, CPFX, SPFX と同じか類似していた。グラム陰性菌中 *E. coli*, *Enterobacter cloacae* に対する NM394 の MIC は CPFX, TFLX, SPFX と同じか類似し、OFLX, fleroxacin より小であった。*Klebsiella pneumoniae* に対する NM394 の MIC は CPFX より大で、他の 4 薬剤と同じか類似していた。*Citrobacter freundii* に対する NM394 の MIC は CPFX と類似し、他の 4 薬剤より小であった。嫌気性菌の *B. fragilis* group 中 *B. fragilis* に対する NM394 の MIC は TFLX より大で、他の 4 薬剤と同じか類似し、やや弱い抗菌力を示した。その他の *B. fragilis* group に対する NM394 の抗菌力は TFLX を除く他のキノロン薬と同様に弱かった。

5) 初回投与時の血漿中 NM394 濃度の薬物動態パラメータ T_{max} , C_{max} および AUC_{0-12} は各々 2.07 h, 0.95 μ g/ml および 4.14 μ g \cdot h/ml であり、8 日間投与終了時のパラメータもこれらの値とほぼ一致し、蓄積性はないものと考えられた。また、各パラメータおよび尿中排泄率は臨床第 I 相試験時の値とほぼ一致した。

6) 下痢などの副作用は全例に認められず、臨床検査値では本剤によると考えられる異常は認められなかった。

Key words: キノロン系抗菌薬, NM441, ヒト糞便内細菌叢, 体内動態

NM441は日本新薬株式会社で創製され、日本新薬株式会社および明治製菓株式会社で共同開発中のプロドラッグ型のキノロン系合成抗菌薬である。本剤は経口投与後小腸上部より吸収され、活性本体 NM394 として体内に分布する¹⁾。NM394はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトルを示し、特に緑膿菌等のグラム陰性菌に対して優れた抗菌力を示す^{2,3)}。

我々は、健康成人に NM441 を経口投与し、糞便内細菌叢への影響をみるとともに、本剤の糞便中濃度を測定、糞便から分離した種々の細菌の NM394 および ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), tosufloxacin (TFLX), fleroxacin (FLRX), sparfloxacin (SPFX) に対する薬剤感受性を比較した。併せて、体内動態および副作用と臨床検査値への影響を検討したので、その成績を報告する。

I. 実験材料および方法

1 糞便内細菌叢の変動

1) 対象者

23~28歳、平均25歳、体重52.0~67.5kg、平均62.0kgの健康男性7例を対象とした。

対象者は本剤の非臨床試験成績、臨床第I相試験成績⁴⁾、本試験の目的と意義および方法について十分な説明を受け、書面による同意をした後に参加した。

2) 投与方法

NM441の錠剤(1錠中NM394として100mg含有)を1回2錠、1日2回(早朝排便後に1回目、その12時間後に2回目の投与を行った。投与終了日は朝の1回のみ)、8日間反復経口投与した。

3) 糞便内細菌数測定日

測定は投与開始前5日、投与開始日、投与中3、5日目、投与終了日、投与終了3、5、10、20、30日後までの10回実施し、いずれの測定日も早朝に排出した糞便につき細菌数を測定した (Fig. 1)。

4) 糞便内細菌数測定法

全例ともに早朝に排出した糞便の全量を直ちに攪拌し、糞便1.0gを光岡の培地 (Table 1) 9.0mlに入れ、よく混和後 dilution buffer (Table 2) で100倍段階希釈し、その0.1mlを各種平板培地 (Table 3) 上に塗抹し、好気性菌用の平板培地は30°C、48時間好気培養した。また、嫌気性菌用の平板培地は35°C、48~72時間嫌気培養し、種々の細菌につき菌数の測定を行うとともに、菌種の同定を実施した。なお、*Clostridium difficile* が産生する D-1 antigen は、菌数測定日の同一糞便につき、C.D. チェック・D-1[®]を用いてチェックした。*C. difficile* D-1 antigen に対する血清中の中和抗体価は、投与開始前5日、投与開始日、投与終了翌日、5、10、20、30日後に測定した⁵⁾。

2. 糞便中薬剤濃度測定

1) 対象者

糞便内細菌数測定例と同じ7例につき実施した。

2) 糞便中薬剤濃度測定日

投与開始前5日を除いた糞便内細菌数測定と同じ日の細菌数測定に用いた同一糞便につき濃度を測定した。

3) 糞便中薬剤濃度測定方法

排出糞便を氷冷下で homogenize し、その1.0gに氷水中で冷却した0.01Nリン酸39mlを加えて1分間 homogenize した。その1.0mlに同リン酸4.0mlおよび内部標準溶液500 μ lを加えてよく混和後、0.45 μ mのメンブランフィルター (COSTER 社製 SPIN-X[®]) で濾過 (3,000rpm, 5分間, 4°C) し、得られた濾液を被検体として高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法で NM394 濃度を測定した (Fig. 2)。HPLC法の検出限界は6.0 μ g/gであった。

NM441 administration, fecal collection, blood collection, urine collection and clinical laboratory tests	Day of study																	
	5 Pre	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	10	20	30	
NM441: 200mg, b.i.d., p.o.		††	††	††	††	††	††	††	†									
Collection of fecal specimens																		
Test for fecal microflora	○	○*	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Test for <i>Clostridium difficile</i> antigen	○	○*	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Test for drug concentration	○	○*	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Test for β -lactamase activity	○	○*	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Collection of blood																		
Test for <i>Clostridium difficile</i> antigen	○	○*								○				○	○	○	○	
NT antibody titer																		
Test for drug concentration		○	○	○	○	○	○	○	○	○								
Collection of urine																		
Test for drug concentration		○	○						○			○		○	○			
Clinical laboratory test	○	○*								○						○		
Clinical symptoms	○	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→

* Just before

Fig. 1. Test schedule of NM441

Table 1. Composition of Mitsuoka medium

Brain heart infusion broth (Difco)	37.0g
Resazurin 0.1% alcoholic solution (Wako)	1.0ml
L-Cysteine · HCl · H ₂ O (Wako)	0.5g
Bacto agar (Difco)	1.0g
Deionized water	1.0L

Table 2. Dilution buffer

KH ₂ PO ₄ (Wako)	4.5g
Na ₂ HPO ₄ (Wako)	6.0g
L-Cysteine · HCl · H ₂ O (Wako)	0.5g
Polysorbate-80 (Katayama)	0.5g
Resazurin 0.1% alcoholic solution (Wako)	1.0ml
Bacto agar (Difco)	1.0g
Deionized water	1.0L

Table 3. Bacteriological medium

Aerobes	Brain heart infusion blood agar (Difco) DHL agar (Eiken) NAC agar (Eiken), SF agar (Difco, Eiken) <i>Staphylococcus</i> agar No. 110 (Eiken) <i>Candida</i> GE agar (Nissui)
Anaerobes	BL agar (Nissui), GAM agar (Nissui) <i>Bacteroides</i> agar (Nissui), BBE agar (Kyokuto) GM VCM <i>Brucella</i> Laked blood agar (Kyokuto) FM modified agar (Nissui) KM CW agar (Nissui) VCM <i>Veillonella</i> agar (Difco) REP ⁺ <i>Brucella</i> blood agar (Kyokuto) CCFA agar (Oxoid), LBS modified agar (Oxoid, BBL)

Plasma and urine

Samples (0.5ml of plasma, 0.1ml of urine)
↓
1ml of 0.05M phosphate buffer (pH 7.4) containing internal standard
↓
3.5ml of dichloromethane containing 1% ethyl chloroformate
Shaking for 10min. and centrifuge (2,500rpm, 15min.)
↓
The organic layer was evaporated to dryness
↓
The residue was dissolved in methanol
(plasma : 200 μ l, urine : 250 μ l)
↓
This solution was injected into HPLC apparatus
(plasma : 20 μ l, urine : 10 μ l)

Feces

1.0g of feces (after homogenization)
↓
39ml of 0.01N phosphoric acid solution
homogenization for 1min.
↓
1.0ml of homogenate
↓
4.0ml of 0.01N phosphoric acid solution
500 μ l of internal standard solution
↓
Filtration with 0.45 μ m membrane filter
(3,000rpm, 5min., 4 °C)
↓
30 μ l of this filtration was injected into HPLC apparatus

HPLC condition

column : Capcell Pak C₁₈ SG120
4.6mm ϕ × 250mm
Column temperature : 40°C
Flow rate : 1.0ml/min.
Wavelength : Plasma and urine ; 250nm (spectrophotometry)
Feces ; Ex. 280nm, Em. 425nm (fluorophotometry)
Mobile phase : Plasma ; 0.05M phosphate buffer (pH 2.0)/CH₃CN/CH₃OH = 10/6/5
Urine ; " " = 10/7/6
Feces ; 0.05M phosphate buffer (pH 2.0)/CH₃CN = 10/3

Fig. 2. Method for measurement of NM394 concentration in plasma, urine and feces

なお、同一糞便につき β -lactamase 活性をニトロセフィンスポットプレート法とアシドメトリー法を用いて測定した。

3. 薬剤感受性試験

分離株中 yeast like organism (YLO) に対する MIC は測定せず、その他の菌種では NM441 投与開始前 5 日、

投与開始日、投与中 3, 5 日目、投与終了日 (投与中 8 日目)、投与終了 3, 5, 10, 20, 30 日後に分離された種々の菌種を各 case から at random に選び、NM394, OFLX, CPFx, TFLX, FLRX, SPFX に対する感受性を測定した。なお、8 株以上得られた菌種について集計を行った。

1) 対象株

好気性菌中グラム陽性球菌は *Staphylococcus aureus* 8株, *Staphylococcus epidermidis* 11株, その他の coagulase-negative staphylococci (CNS) 20株, α -hemolytic streptococci 16株, *Enterococcus faecalis* 29株, *Enterococcus faecium* 19株, *Enterococcus avium* 25株, Group D streptococci 33株の計161株, グラム陰性桿菌では *Escherichia coli* 46株, *Klebsiella pneumoniae* 38株, *Citrobacter freundii* 25株, *Enterobacter cloacae* 23株の計132株, 嫌気性菌の対象株は *Bacteroides fragilis* group の *B. fragilis* 34株, *Bacteroides vulgatus* 65株, *Bacteroides distasonis* 44株, *Bacteroides ovatus* 12株, *Bacteroides thetaiotaomicron* 43株, *Bacteroides uniformis* 45株の計243株, 総計536株を対象とした。

2) 薬剤感受性測定法

いずれの菌種も日本化学療法学会標準法^{6,7)}に従い, 寒天平板希釈法で, 各菌種の接種菌量 10^6 CFU/ml に対する NM394, OFLX, CPMX, TFLX, FLRX, SPFX の MIC を測定した。

4. 血漿および尿中薬剤濃度測定

血漿中濃度測定のための採血は初回投与直前, 初回投与から0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12時間後, 投与2, 3, 5日目の第1回投与直前, 最終投与日の投与直前, 投与から0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24時間後に実施し, 尿中濃度測定のための蓄尿は初回投与日と最終投与日の12時間までは2時間おきに, それ以降, 初回投与後は48時間まで, 最終投与後は24時間まで12時間おきに実施した。さらに投与終了3, 5, 10日後の尿中濃度を測定した。

血漿および尿中 NM394 濃度は HPLC 法にて測定した。測定方法を Fig. 2 に示す。

T_{max} , C_{max} は実測値を使用し, $T_{1/2}$ は最小二乗法より算出, AUC_{0-12} は実測値を用い台形法より算出した。シミュレーションカーブ作成時使用パラメータは, two compartment model を用いて, 非線形最小二乗法のプログラム (MULTI) により算出した。

5. 副作用および臨床検査

NM441 を8日間連続投与した7例につき投与開始日から投与終了10日後までの副作用の有無を観察するとともに, 投与開始前5日, 投与開始日, 投与終了翌日, 投与終了10日後の早朝空腹時に, 血液一般検査(赤血球数, 白血球数, 白血球百分率, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値, 網状赤血球, 血小板数, 平均赤血球容積, 平均赤血球血色素量, 平均赤血球色素濃度), クームス試験(直接, 間接), プロトロンビン時間, 活性部分トロンボプラスチン時間, フィブリノーゲン量, protein induced by vitamin K antagonist (PIVKA-II), 血清生化学的検査〔総蛋白, アルブミン, A/G比, 総ビリルビ

ン, 総コレステロール, 中性脂肪, GOT, GPT, ALP, LDH, ロイシンアミノペプチダーゼ, クレアチンホスホキナーゼ, γ -GTP, コリンエステラーゼ, BUN, クレアチニン, 血清電解質(Na, K, Cl, Ca, P), 血糖, 尿酸), 尿検査(pH, 蛋白, 糖, ケトン体, ウロビリノーゲン, ビリルビン, 潜血, 沈渣), CRP を実施し, 臨床検査値への影響をチェックした。

II. 成績

1. 糞便内細菌叢の変動

1) 好気性菌

Enterobacteriaceae 中 *E. coli* では投与開始前の平均菌数は 10^7 CFU/g 台で, 投与開始3日目には 10^2 CFU/g 台, 投与開始5日目から検出限界以下となり投与終了5日後に 10^3 CFU/g 台, その後は $10^6 \sim 10^8$ CFU/g 台を示し, 投与期間中に一過性に減少した。*Klebsiella* sp. でも投与開始前の平均菌数は 10^5 か 10^7 CFU/g 台であったが, 投与開始3日目に 10^2 CFU/g 台, 投与開始5日目から投与終了3日後まで検出限界以下で投与終了5日後以降 $10^6 \sim 10^8$ CFU/g 台を示した。*Citrobacter* sp. および *Enterobacter* sp. においても投与期間中は検出限界以下であり, *Citrobacter* sp. では投与終了3日後に 10^3 CFU/g 台, その後は $10^6 \sim 10^8$ CFU/g 台に回復し, *Enterobacter* sp. では投与終了3日後に 10^2 CFU/g 台, 5日後に 10^4 CFU/g 台, その後 $10^6 \sim 10^7$ CFU/g 台に回復した。Enterobacteriaceae 全体でみた場合, 投与開始前の平均菌数は $10^7 \sim 10^8$ CFU/g 台で, 投与開始3日目に 10^3 CFU/g 台に減少し, その後投与期間中は検出限界以下, 投与終了3日後には 10^3 CFU/g 台, その後は $10^7 \sim 10^9$ CFU/g 台に回復した。グラム陽性菌中, *Staphylococcus* sp. および *Enterococcus* sp. は投与開始前は 10^7 CFU/g 台で, 投与期間中は $10^2 \sim 10^4$ CFU/g 台, 投与終了後は $10^6 \sim 10^7$ CFU/g 台となり, 投与期間中に一過性に減少した。その他のグラム陰性桿菌中 *Pseudomonas* sp. は投与開始5日目の1例で 10^6 CFU/g 台, 投与終了3日後の1例で 10^6 CFU/g 台の菌数が検出された。YLO では投与開始前の平均菌数は 10^3 CFU/g 台, 投与開始3日目は 10^8 CFU/g 台, その後の投与中の各検査日の平均菌数は $10^3 \sim 10^4$ CFU/g 台, 投与終了3日後は 10^6 CFU/g 台, その後の検査日では $10^2 \sim 10^4$ CFU/g 台で, 一時的に増加傾向を示した。総好気性菌の平均菌数では投与開始前は 10^8 CFU/g 台で, 投与期間中は $10^5 \sim 10^6$ CFU/g 台に減少し, 投与終了後増加し, 投与前値に回復した (Fig. 3)。

2) 嫌気性菌

B. fragilis group の総菌数および *Bifidobacterium* ではいずれの検査日も平均菌数 $10^9 \sim 10^{10}$ CFU/g 台で, 本剤の影響はなかった。*Lactobacillus* ではいずれの検査日も平均菌数 $10^5 \sim 10^7$ CFU/g 台で, 特に変化は認められなかったが, case ごとにみた場合には7例中3例が投与

期間中に一時的に減少した。*Veillonella* では投与開始前の平均菌数は 10^6 CFU/g 台か、 10^8 CFU/g 台で投与3日目、5日目に 10^4 CFU/g 台に減少、その後投与8日目から 10^8 CFU/g 台となり、投与期間中の一過性の減少が認められた。*Fusobacterium* では投与開始前の平均菌数は 10^7 CFU/g 台で、投与期間中は検出限界以下となり、投与終了後徐々に増加し、20日目には投与前値に回復した。*Lecithinase*(Lec.)(+) *Clostridium* では投与開始前の平均菌数は 10^6 CFU/g 台か 10^3 CFU/g 台で、投与開始5日目、8日目は検出限界以下となり、その後は $10^4 \sim 10^7$ CFU/g 台となった。総嫌気性菌の総菌数はいずれの検査日も平均菌数 10^{10} CFU/g 台で変化は認められなかった (Fig. 4)。

C. difficile は2例で分離された。Case 1では投与開始日、投与終了3, 5, 10, 20日後に分離され、投与終了後の *C. difficile* が分離された同日に *C. difficile* D-1 antigen が 500ng/g 検出された。Case 4では、*C. difficile* が投与終了20日後に、*C. difficile* D-1 antigen が投与開始日、投与終了20日後に 500ng/g 検出された。その他、2例で *C. difficile* D-1 antigen が投与終了後に 500ng/g 検出された。投与中は全例で *C. difficile* および D-1 antigen とともに検出されなかった (Table 4)。

C. difficile D-1 antigen に対する血清中の中和抗体価は、case 1において投与開始前5日と投与開始日が $< \times 20$ で、投与終了翌日に $\times 160$ と有意な上昇を示し、投与終了5日後も $\times 160$ 、投与終了10, 20, 30日後

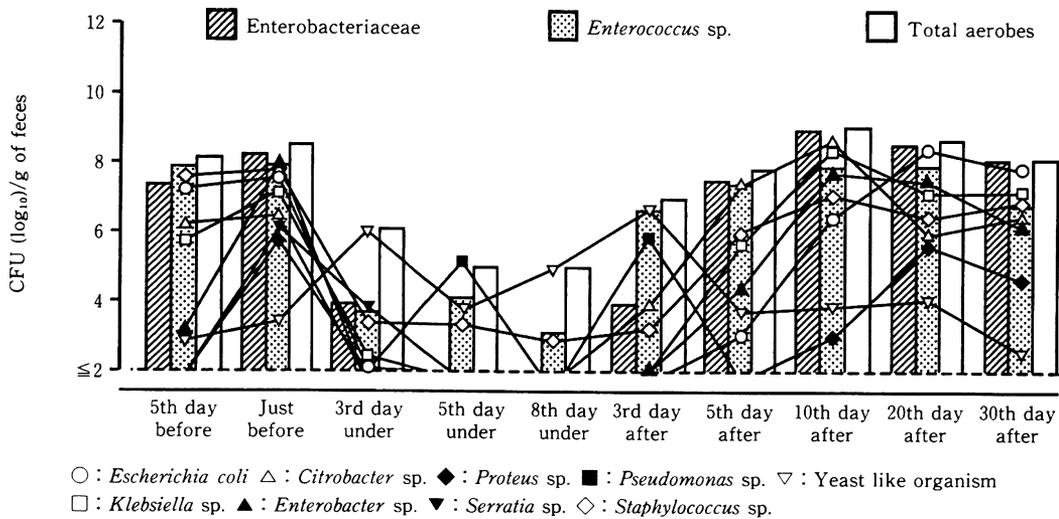


Fig. 3. Bacterial flora in feces of healthy volunteers administered NM441 (Aerobes)

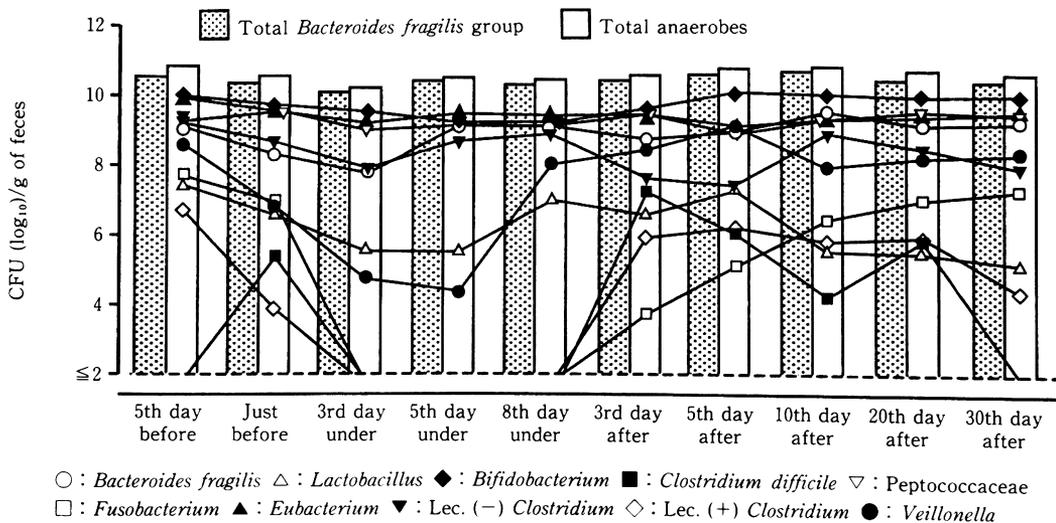


Fig. 4. Bacterial flora in feces of healthy volunteers administered NM441 (Anaerobes)

は×80であった。その他の case では×20~×80 と低い中和抗体価であった (Table 5)。

2. 糞便中薬剤濃度

7例全例で投与期間中に 320~1,491 $\mu\text{g/g}$ の濃度で、糞便中に NM394 が検出され、7例中5例は投与終了時が最も高い濃度であった。投与終了後は7例中3例で NM394 は検出されなかったが、残りの4例は投与終了

後も認められ、3例は投与終了後3日目まで(27~62 $\mu\text{g/g}$)、1例は投与終了後5日目まで(18 $\mu\text{g/g}$) 検出された (Table 6)。

なお、糞便中濃度測定を実施した同一糞便における β -lactamase 活性はいずれの糞便でもニトロロフェニルスポットプレート法、アシドメトリー法ともに陽性であった。

Table 4. *Clostridium difficile* and *C. difficile* D-1 antigen production in feces of healthy volunteers

Case no.	Name	Age (yr)	Sex	Body weight (kg)	<i>C. difficile</i> and <i>C. difficile</i> D-1 antigen	5th day before	Just before	3rd day under	5th day under	8th day under	3rd day after	5th day after	10th day after	20th day after	30th day after
1	H.T.	25	M	52.0	<i>C. difficile</i> *		2.0×10 ⁶				1.5×10 ⁸	8.0×10 ⁸	1.2×10 ⁵	6.0×10 ⁶	
					antigen**	—	—	—	—	—	500	500	500	500	—
2	K.M.	23	M	67.0	<i>C. difficile</i>										
					antigen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	H.R.	28	M	67.5	<i>C. difficile</i>										
					antigen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	Y.M.	26	M	63.0	<i>C. difficile</i>									3.0×10 ⁴	
					antigen	—	500	—	—	—	—	—	—	—	500
5	Y.O.	24	M	64.0	<i>C. difficile</i>										
					antigen	—	—	—	—	—	—	—	—	500	—
6	K.Y.	23	M	56.0	<i>C. difficile</i>										
					antigen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	Y.G.	25	M	64.5	<i>C. difficile</i>										
					antigen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

*: CFU/g, **: ng

Table 5. *Clostridium difficile* D-1 antigen NT antibody titers in serum of healthy volunteers

Case no.	Name	5th day before	Just before	1st day after	5th day after	10th day after	20th day after	30th day after
1	H.T.	<×20	<×20	×160	×160	×80	×80	×80
2	K.M.	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20
3	H.R.	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20
4	Y.M.	×40	×40	×40	×40	×40	×40	×80
5	Y.O.	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20
6	K.Y.	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20
7	Y.G.	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20	<×20

NT antibody titer: *C. difficile* toxin solution of 500ng/ml was used for neutralizing test

Table 6. Fecal concentration of NM394 in healthy volunteers

Case no.	Name	Fecal concentration ($\mu\text{g/g}$)								
		Just before	3rd day under	5th day under	8th day under	3rd day after	5th day after	10th day after	20th day after	30th day after
1	H.T.	ND	767	1,218	1,491	134	18	ND	ND	ND
2	K.M.	ND	320	427	866	ND	ND	ND	ND	ND
3	H.R.	ND	492	409	491	ND	ND	ND	ND	ND
4	Y.M.	ND	775	579	1,294	57	ND	ND	ND	ND
5	Y.O.	ND	493	967	876	27	ND	ND	ND	ND
6	K.Y.	ND	726	403	1,292	ND	ND	ND	ND	ND
7	Y.G.	ND	421	872	1,421	62	ND	ND	ND	ND

ND: not done < 6.0 $\mu\text{g/g}$

3. 薬剤感受性試験

1) 好気性菌

(1) グラム陽性菌 (Table 7)

① *S. aureus*

8株に対する NM394 の MIC は 0.39~6.25 μ g/ml 域にあり, MIC₅₀ と MIC₉₀ は各々 0.78, 6.25 μ g/ml であった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFX の MIC₅₀ は各々 0.39, 0.39, 0.05, 0.78, 0.10 μ g/ml であり, NM394 の MIC₅₀ は TFLX, SPFX より大で, OFLX, CPFX,

FLRX と同じか類似し, MIC₉₀ では FLRX より小であり, 他の 4 剤と同じか類似していた。

② *S. epidermidis*

11 株に対する NM394 の MIC は 0.20~50 μ g/ml 域にあり, MIC₅₀ と MIC₉₀ は各々 0.39, 50 μ g/ml であった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFX の MIC₉₀ は各々 50, 50, 12.5, 200, 25 μ g/ml で, NM394 の MIC は OFLX, CPFX, SPFX の MIC と同じか類似し, TFLX の MIC より大であり, FLRX の MIC より小であった。

Table 7. Antibacterial activity of NM394 and other quinolones against gram-positive cocci

Organism	No. of strains	Antibiotics	Inoculum size: 10 ⁶ CFU/ml		
			MIC (μ g/ml)		
			range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	NM394	0.39 ~ 6.25	0.78	6.25
		ofloxacin	0.39 ~ 12.5	0.39	12.5
		ciprofloxacin	0.39 ~ 6.25	0.39	6.25
		tosufloxacin	0.05 ~ 6.25	0.05	6.25
		fleroxacin	0.78 ~ 25	0.78	25
		sparfloxacin	≤ 0.025 ~ 6.25	0.10	6.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	11	NM394	0.20 ~ 50	0.39	50
		ofloxacin	0.20 ~ 50	0.78	50
		ciprofloxacin	0.39 ~ 100	0.39	50
		tosufloxacin	0.05 ~ 12.5	0.10	12.5
		fleroxacin	0.78 ~ 200	1.56	200
		sparfloxacin	0.20 ~ 25	0.39	25
Other coagulase-negative staphylococci	20	NM394	0.10 ~ 50	0.39	6.25
		ofloxacin	0.20 ~ 50	0.78	12.5
		ciprofloxacin	0.05 ~ 100	0.39	6.25
		tosufloxacin	≤ 0.025 ~ 12.5	0.05	1.56
		fleroxacin	0.39 ~ 200	0.78	25
		sparfloxacin	0.10 ~ 25	0.20	3.13
α -hemolytic streptococci	16	NM394	0.10 ~ 6.25	1.56	3.13
		ofloxacin	0.20 ~ 6.25	3.13	6.25
		ciprofloxacin	≤ 0.025 ~ 3.13	1.56	3.13
		tosufloxacin	≤ 0.025 ~ 3.13	0.39	1.56
		fleroxacin	1.56 ~ 25	6.25	25
		sparfloxacin	0.20 ~ 1.56	0.39	1.56
<i>Enterococcus faecalis</i>	29	NM394	0.20 ~ 6.25	3.13	6.25
		ofloxacin	0.20 ~ 6.25	6.25	6.25
		ciprofloxacin	≤ 0.025 ~ 6.25	3.13	3.13
		tosufloxacin	0.10 ~ 1.56	0.78	1.56
		fleroxacin	0.20 ~ 12.5	12.5	12.5
		sparfloxacin	0.20 ~ 3.13	1.56	3.13
<i>Enterococcus faecium</i>	19	NM394	0.39 ~ 6.25	0.78	6.25
		ofloxacin	1.56 ~ 12.5	6.25	12.5
		ciprofloxacin	0.39 ~ 12.5	1.56	12.5
		tosufloxacin	0.20 ~ 6.25	0.39	6.25
		fleroxacin	1.56 ~ 50	12.5	25
		sparfloxacin	0.39 ~ 6.25	0.78	3.13
<i>Enterococcus avium</i>	25	NM394	0.39 ~ 50	1.56	50
		ofloxacin	0.78 ~ 100	6.25	100
		ciprofloxacin	0.39 ~ 100	1.56	100
		tosufloxacin	0.20 ~ 6.25	0.39	6.25
		fleroxacin	0.78 ~ 200	12.5	200
		sparfloxacin	0.20 ~ 100	1.56	100
Group D streptococci	33	NM394	0.20 ~ 12.5	3.13	6.25
		ofloxacin	0.20 ~ 100	6.25	12.5
		ciprofloxacin	0.05 ~ 50	3.13	6.25
		tosufloxacin	0.05 ~ 6.25	0.78	3.13
		fleroxacin	0.78 ~ 200	12.5	50
		sparfloxacin	0.20 ~ 100	1.56	3.13

③ CNS (*S. epidermidis* を除く)

20株に対するNM394のMICは0.10~50 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々0.39, 6.25 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は各々12.5, 6.25, 1.56, 25, 3.13 μ g/mlで、NM394のMICはOFLX, CPFX, SPFXのMICと同じか類似し、TFLXのMICより大であり、FLRXのMICより小であった。

④ α -hemolytic streptococci

16株に対するNM394のMICは0.10~6.25 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々1.56, 3.13 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は各々6.25, 3.13, 1.56, 25, 1.56 μ g/mlで、NM394のMICはFLRXのMICより小であり、他の4剤のMICと同じか類似していた。

⑤ *E. faecalis*

29株に対するNM394のMICは0.20~6.25 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々3.13, 6.25 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は各々6.25, 3.13, 1.56, 12.5, 3.13 μ g/mlで、NM394のMICはTFLXのMICより大であり、他の4剤のMICと類似していた。

⑥ *E. faecium*

19株に対するNM394のMICは0.39~6.25 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々0.78, 6.25 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀

は各々12.5, 12.5, 6.25, 25, 3.13 μ g/mlで、NM394のMICはFLRXのMICより小であり、他の4剤のMICと類似していた。

⑦ *E. avium*

25株に対するNM394のMICは0.39~50 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々1.56, 50 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は各々100, 100, 6.25, 200, 100 μ g/mlで、NM394のMICはOFLX, CPFX, SPFXのMICと類似し、TFLXのMICより大で、FLRXのMICより小であった。

⑧ Group D streptococci

33株に対するNM394のMICは0.20~12.5 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々3.13, 6.25 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は各々12.5, 6.25, 3.13, 50, 3.13 μ g/mlで、NM394のMICはFLRXのMICより小で、他の4剤のMICと類似していた。

(2) グラム陰性菌 (Table 8)

① *E. coli*

46株に対するNM394のMICは0.05~0.39 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々0.05, 0.39 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は各々3.13, 0.78, 0.39, 1.56, 0.78 μ g/mlで、NM394のMICはOFLX, FLRXのMICより小で、CPFX, TFLX, SPFXのMICと同じか類似していた。

Table 8. Antibacterial activity of NM394 and other quinolones against Enterobacteriaceae

Organism	No. of strains	Antibiotics	MIC (μ g/ml)		
			Inoculum size: 10 ⁶ CFU/ml		
			range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Escherichia coli</i>	46	NM394	0.05 ~ 0.39	0.05	0.39
		ofloxacin	0.05 ~ 3.13	0.20	3.13
		ciprofloxacin	\leq 0.025~ 0.78	\leq 0.025	0.78
		tosufloxacin	\leq 0.025~ 0.39	0.05	0.39
		floxacin	0.10 ~ 3.13	0.20	1.56
		sparfloxacin	0.05 ~ 0.78	0.10	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	38	NM394	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
		ofloxacin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.39
		ciprofloxacin	\leq 0.025~ 0.10	0.05	0.05
		tosufloxacin	0.05 ~ 0.10	0.05	0.10
		floxacin	0.20 ~ 0.39	0.39	0.39
		sparfloxacin	0.10 ~ 0.20	0.20	0.20
<i>Citrobacter freundii</i>	25	NM394	0.05 ~ 0.20	0.20	0.20
		ofloxacin	0.10 ~ 1.56	0.78	1.56
		ciprofloxacin	\leq 0.025~ 0.39	0.20	0.39
		tosufloxacin	\leq 0.025~ 0.78	0.39	0.78
		floxacin	0.20 ~ 1.56	0.78	0.78
		sparfloxacin	0.10 ~ 3.13	1.56	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i>	23	NM394	0.05 ~ 0.39	0.05	0.10
		ofloxacin	0.10 ~ 6.25	0.10	0.39
		ciprofloxacin	\leq 0.025~ 0.78	\leq 0.025	0.05
		tosufloxacin	\leq 0.025~ 1.56	0.05	0.20
		floxacin	0.10 ~ 3.13	0.20	0.39
		sparfloxacin	0.05 ~ 6.25	0.10	0.20

② *K. pneumoniae*

38 株に対する NM394 の MIC は 0.05~0.39 $\mu\text{g/ml}$ 域にあり, MIC₅₀ と MIC₉₀ は各々 0.10, 0.20 $\mu\text{g/ml}$ であった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFX の MIC₉₀ は各々 0.39, 0.05, 0.10, 0.39, 0.20 $\mu\text{g/ml}$ で, NM394 の MIC は CPFX の MIC より大で, 他の 4 剤の MIC に類似していた。

③ *C. freundii*

25 株に対する NM394 の MIC は 0.05~0.20 $\mu\text{g/ml}$ 域にあり, MIC₅₀ と MIC₉₀ はいずれも 0.20 $\mu\text{g/ml}$ であった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFX の MIC₉₀ は各々 1.56, 0.39, 0.78, 0.78, 3.13 $\mu\text{g/ml}$ で, NM394 の MIC は CPFX の MIC と類似し, 他の 4 剤の MIC より小であった。

④ *E. cloacae*

23 株に対する NM394 の MIC は 0.05~0.39 $\mu\text{g/ml}$ 域にあり, MIC₅₀ と MIC₉₀ は各々 0.05, 0.10 $\mu\text{g/ml}$ で

あった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFX の MIC₉₀ は各々 0.39, 0.05, 0.20, 0.39, 0.20 $\mu\text{g/ml}$ で, NM394 の MIC は OFLX, FLRX の MIC より小で, CPFX, TFLX, SPFX の MIC と類似していた。

2) 嫌気性菌 (Table 9)

(1) *B. fragilis*

34 株に対する NM394 の MIC は 3.13~100 $\mu\text{g/ml}$ 域にあり, MIC₅₀ と MIC₉₀ は各々 6.25, 25 $\mu\text{g/ml}$ であった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFX の MIC₉₀ は各々 50, 25, 3.13, 25, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ で, NM394 の MIC は TFLX の MIC より大で, 他の 4 剤の MIC に類似していた。

(2) *B. vulgatus*

65 株に対する NM394 の MIC は 3.13~>400 $\mu\text{g/ml}$ 域にあり, MIC₅₀ と MIC₉₀ は各々 100, 400 $\mu\text{g/ml}$ であった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFX の MIC₉₀ は各々 100, 100, 6.25, 50, 50 $\mu\text{g/ml}$ で, NM394 の MIC

Table 9. Antibacterial activity of NM394 and other quinolones against *Bacteroides fragilis* group

Organism	No. of strains	Antibiotics	Inoculum size: 10 ⁶ CFU/ml		
			MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Bacteroides fragilis</i>	34	NM394	3.13~ 100	6.25	25
		ofloxacin	1.56~ 100	3.13	50
		ciprofloxacin	1.56~ 50	3.13	25
		tosufloxacin	0.10~ 6.25	0.39	3.13
		fleroxacin	1.56~ 50	6.25	25
		sparfloxacin	0.39~ 25	1.56	12.5
<i>Bacteroides vulgatus</i>	65	NM394	3.13~>400	100	400
		ofloxacin	1.56~ 200	25	100
		ciprofloxacin	1.56~ 400	25	100
		tosufloxacin	0.05~ 12.5	1.56	6.25
		fleroxacin	0.39~ 100	12.5	50
		sparfloxacin	0.20~ 50	6.25	50
<i>Bacteroides distasonis</i>	44	NM394	6.25~>400	100	200
		ofloxacin	3.13~ 100	50	100
		ciprofloxacin	6.25~ 400	50	100
		tosufloxacin	0.39~ 12.5	3.13	6.25
		fleroxacin	6.25~ 200	50	100
		sparfloxacin	0.78~ 50	6.25	25
<i>Bacteroides ovatus</i>	12	NM394	12.5 ~>400	100	>400
		ofloxacin	6.25~ 100	50	100
		ciprofloxacin	12.5 ~ 400	50	200
		tosufloxacin	1.56~ 6.25	3.13	6.25
		fleroxacin	25 ~ 100	50	100
		sparfloxacin	3.13~ 25	6.25	12.5
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	43	NM394	50 ~>400	100	400
		ofloxacin	12.5 ~ 100	50	100
		ciprofloxacin	12.5 ~ 200	50	200
		tosufloxacin	1.56~ 12.5	3.13	6.25
		fleroxacin	12.5 ~ 200	50	50
		sparfloxacin	3.13~ 25	6.25	12.5
<i>Bacteroides uniformis</i>	45	NM394	3.13~>400	50	200
		ofloxacin	1.56~ 100	25	100
		ciprofloxacin	3.13~ 200	50	100
		tosufloxacin	0.20~ 6.25	3.13	6.25
		fleroxacin	3.13~ 100	25	100
		sparfloxacin	0.78~ 50	12.5	50

はこれら5剤のMICより大であった。

(3) *B. distasonis*

44株に対するNM394のMICは6.25~>400 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々100, 200 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は各々100, 100, 6.25, 100, 25 μ g/mlで、NM394のMICはTFLX, SPFXのMICより大で、OFLX, CPFX, FLRXのMICに類似していた。

(4) *B. ovatus*

12株に対するNM394のMICは12.5~>400 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々100, >400 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は各々100, 200, 6.25, 100, 12.5 μ g/mlで、NM394のMICはこれら5剤のMICより大であった。

(5) *B. thetaiotaomicron*

43株に対するNM394のMICは50~>400 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々100, 400 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は

各々100, 200, 6.25, 50, 12.5 μ g/mlで、NM394のMICはこれら5剤のMICより大であった。

(6) *B. uniformis*

45株に対するNM394のMICは3.13~>400 μ g/ml域にあり、MIC₅₀とMIC₉₀は各々50, 200 μ g/mlであった。OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFXのMIC₉₀は各々100, 100, 6.25, 100, 50 μ g/mlで、NM394のMICはTFLX, SPFXのMICより大で、OFLX, CPFX, FLRXのMICと類似していた。

4. 血漿中濃度および尿中排泄

1) 血漿中濃度

NM441 200mgを1日2回反復経口投与(n=7)したときの血漿中NM394濃度推移をFig. 5に、薬物動態パラメータをTable 10に示した。初回投与時のT_{max}, C_{max}およびAUC₀₋₁₂の平均は各々2.07h, 0.95 μ g/mlおよび4.14 μ g·h/mlであり、投与8日目の最終投与(15回目)時のT_{max}, C_{max}およびAUC₀₋₁₂の平均は各々2.29h, 1.14 μ g/ml, 5.52 μ g·h/mlであった。初回投与

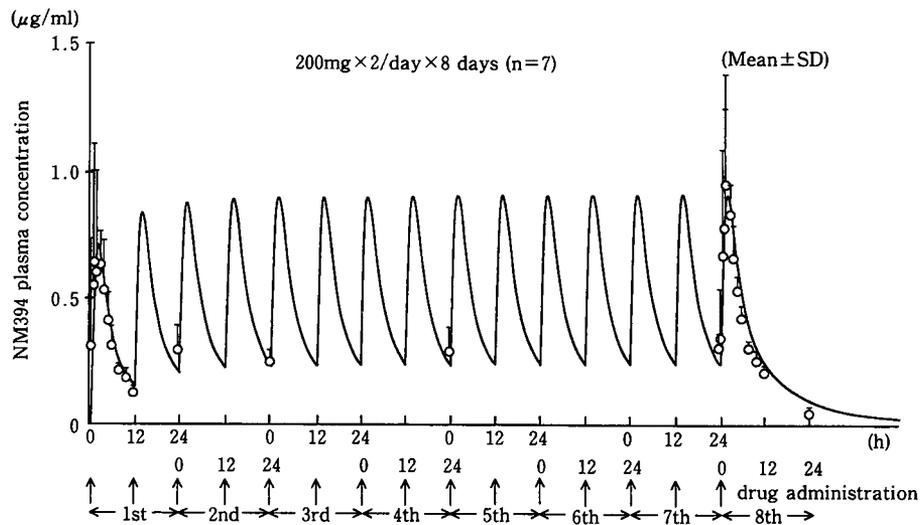


Fig. 5. Plasma concentrations of NM394 during and after multiple administration of NM441. Simulation curve was obtained from the mean plasma concentration after single oral administration for non-fasting.

Table 10. Pharmacokinetic parameters of NM394 after the 1st and 8th day administration during multiple administration of NM441

Case no.	1st day			8th day			
	T _{max} (h)	C _{max} (μ g/ml)	AUC ₀₋₁₂ (μ g·h/ml)	T _{max} (h)	C _{max} (μ g/ml)	T _{1/2} (h)	AUC ₀₋₁₂ (μ g·h/ml)
1	2	0.99	4.93	2	1.01	7.35	5.43
2	3	0.67	3.14	4	0.88	4.19	4.65
3	2	0.89	3.94	2	1.10	6.84	5.36
4	0.5	1.21	5.10	2	1.44	5.81	6.16
5	1.5	1.08	3.79	2	1.27	8.84	5.57
6	1.5	0.89	4.00	1	1.20	6.60	6.10
7	4	0.90	4.08	3	1.06	6.32	5.36
Mean	2.07	0.95	4.14	2.29	1.14	6.56	5.52
SD	± 1.13	± 0.17	± 0.67	± 0.95	± 0.18	± 1.42	± 0.51

時と最終投与時のパラメータはほぼ一致し、また、臨床第 I 相試験 200mg 食後単回投与時⁴⁾のパラメータをもとにシミュレートした血漿中濃度推移と本試験における血漿中濃度はほぼ一致した。

2) 尿中排泄

尿中薬物濃度および累積尿中排泄率を Fig. 6, 7 に示

した。投与初日の 0~12, 12~24, 24~36 および 36~48 時間の尿中 NM394 濃度は各々 86.5, 104.4, 179.5 および 142.5 $\mu\text{g/ml}$ で、1 回投与量 (200mg) に対する尿中排泄率は各々 28.6, 30.7, 39.5 および 38.6% であった。一方、最終投与日の 0~12, 12~24 時間の尿中 NM394 濃度は各々 138.6, 24.1 $\mu\text{g/ml}$ で、1 回投与量に対する尿中

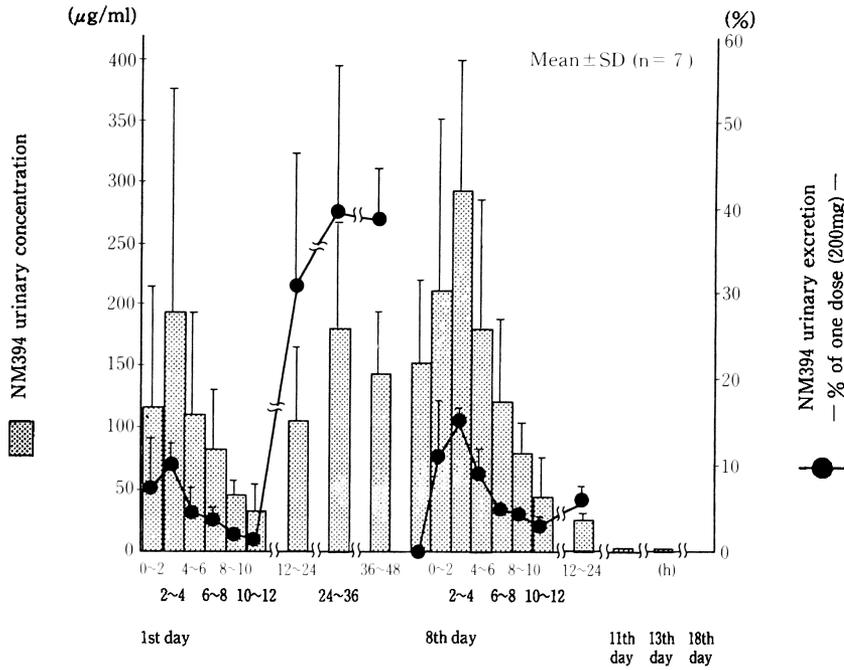


Fig. 6. Urinary concentration and urinary excretion of NM394 during and after multiple administration of NM441

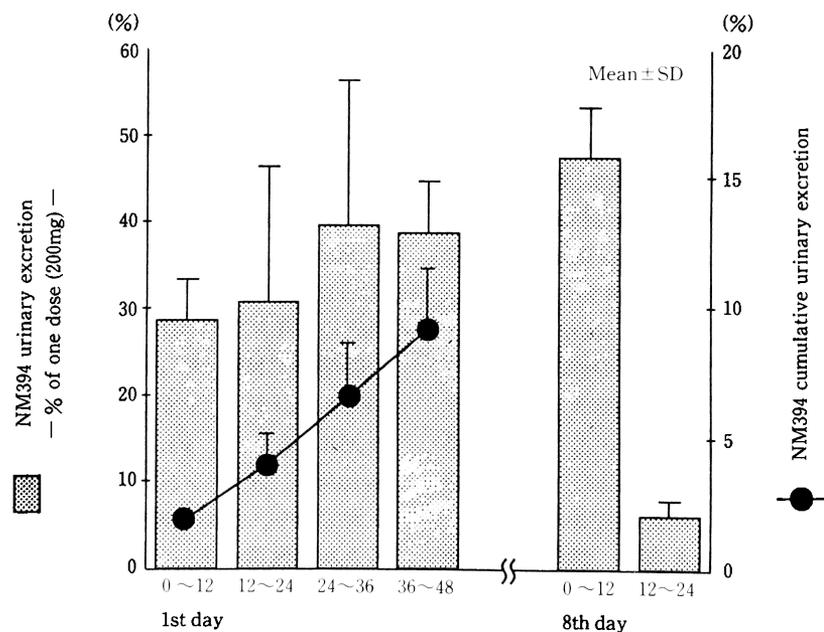


Fig. 7. Urinary excretion and cumulative excretion of NM394 during and after multiple administration of NM441

排泄率は各々47.4, 6.0%であった。

5 副作用および臨床検査値異常

1) 副作用

全例に副作用の出現は認めなかった。

2) 臨床検査値異常

いずれの臨床検査値でも異常値を示した case はなかった。

III. 考 察

抗菌薬をヒトに経口投与した場合、その副作用の1つとして下痢がある。抗菌薬を投与すると腸内細菌叢が変化し、激しい腸内細菌叢の乱れや菌交代、場合によっては *C. difficile* の産生する toxin が下痢を誘発することもあることが知られている⁸⁾。しかし、このような腸内細菌叢への影響は個体差もあり、薬剤の有する抗菌スペクトルおよびその強さ、体内動態、薬剤の消化管内における残存活性量と移行性等の特性によっても影響は異なるものと考えられる。

NM441 はプロドラッグ型としては初めてのキノロン系合成抗菌薬である。その活性本体 NM394 はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し、幅広い抗菌スペクトルを有し、特に緑膿菌等のグラム陰性菌に対して優れた抗菌力を示す^{2,3)}。

NM441 は経口投与後小腸上部より吸収され、活性本体 NM394 として体内に分布するが、未吸収の NM441 の一部は NM394 に変換され糞便中に残存する。また、NM394 は胆汁中へも良好に移行することから、腸内細菌への影響が懸念される。そこで、健康成人7例に対し、NM394 として100mg 含有する NM441 錠を2錠、すなわち200mg を1日2回、8日間経口投与し、糞便内細菌叢への影響をみるとともに、糞便中濃度を測定、糞便から分離した種々の細菌の薬剤感受性を測定した。また、反復投与による体内動態、副作用および臨床検査値への影響について検討した。

まず、糞便内細菌叢への影響であるが、好気性菌を平均菌数でみた場合、*E. coli*, *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp. および *Enterobacter* sp. 等の Enterobacteriaceae は投与期間中に一過性に減少し検出限界以下となったが、投与終了後には増加し、ほぼ投与前値まで回復した。グラム陽性菌中 *Staphylococcus* sp. や *Enterococcus* sp. でも投与期間中に一過性に減少した。その他のグラム陰性桿菌では、*Pseudomonas* sp. が投与開始5日目と投与終了3日後に一時的に増加したが、case ごとにみた場合、いずれも1例のみの増加であった。YLO では投与期間中および投与終了後に一時的に増加傾向を示したが、一定の変化を認めなかった。これを受け、総好気性菌数は投与期間中に一過性に減少した。投与終了10日後位ではほぼ投与開始前の値に回復したが、個々にみるとバラツキが多くなる細菌もあり、回復には投与終了30日後位までかかるのではないかと考えられた。嫌気性菌を平

均菌数でみた場合、最も優勢に存在する *Bifidobacterium* および *B. fragilis* group の総菌数に大きな変化はなかった。*Lactobacillus* は平均菌数では影響はなかったが、case ごとにみると3例で投与期間中に一時的に減少した。*Veillonella*, *Fusobacterium*, Lec. (+) *Clostridium* は投与期間中に一過性の減少か検出限界以下を示した。総嫌気性菌数では変化は認められなかった。以上、NM441 は Enterobacteriaceae に影響を及ぼすが、*B. fragilis* group への影響は少なく、総嫌気性菌数に変化は認められなかった。これは他のキノロン系抗菌薬の CPFX⁹⁾, TFLX¹⁰⁾ および FLRX¹¹⁾ と同様の傾向であった。*C. difficile* が投与開始後に検出された case は case 1, case 4 であり、case 1 では投与終了後3日、5日、10日、20日目に、case 4 では投与終了後20日目に検出され、同日に D-1 antigen も 500ng/g 検出された。その他、投与終了後には case 5 と case 7 で D-1 antigen が検出され、投与開始前に case 1 で *C. difficile* が、case 4 で D-1 antigen が検出された。以上のごとく、*C. difficile* または D-1 antigen が7例中4例に検出されたが、下痢は認められなかった。Case 1 においては D-1 antigen に対する血清中和抗体価の有意な上昇がみられ、*C. difficile* およびその D-1 antigen の検出と相関していた。

糞便中には投与期間中7例全例で NM394 が認められ、320~1,491 μ g/g の濃度を示した。投与終了後に *C. difficile* および D-1 antigen が検出された case 1, case 4 の糞便中濃度は比較的高い値を示した。投与終了後には7例中3例は NM394 が認められなかったが、case 1 は投与終了5日目まで、case 4 を含む残り3例は投与終了3日目まで認められた。

抗菌剤投与は腸内細菌に対する耐性化を引き起こすことが知られている。そこで前述の糞便内細菌叢への影響をみた7例の糞便から分離された種々の細菌の接種菌量 10⁶ CFU/ml における NM394 と OFLX, CPFX, TFLX, FLRX, SPFX に対する薬剤感受性をみた。グラム陽性菌中 *S. aureus*, α -hemolytic streptococci, *E. faecium*, Group D streptococci に対する NM394 の MIC は OFLX, CPFX, TFLX, SPFX の MIC と同じか類似し、FLRX の MIC より小であった。*S. epidermidis*, その他の CNS, *E. avium* に対する NM394 の MIC は OFLX, CPFX, SPFX の MIC と同じか類似し、TFLX の MIC より大、FLRX の MIC より小であった。*E. faecalis* に対する NM394 の MIC は TFLX の MIC より大であり、他の4薬剤の MIC と同じか類似していた。グラム陰性菌中 *E. coli*, *E. cloacae* に対する NM394 の MIC は CPFX, TFLX, SPFX の MIC と同じか類似し、OFLX, FLRX の MIC より小であった。*K. pneumoniae* に対する NM394 の MIC は CPFX の MIC より大で、他の4薬剤の MIC と同じか類似していた。*C. freundii*

に対する NM394 の MIC は CFX の MIC と類似し、他の 4 薬剤の MIC より小であった。このように好気性菌に対する NM394 の抗菌力は今までの報告とほぼ同様の成績であった¹²⁾。嫌気性菌の *B. fragilis* group 中、*B. fragilis* に対する NM394 の MIC は TFLX の MIC より大で、他の 4 薬剤の MIC と同じか類似し、やや弱い抗菌力を示した。*B. vulgatus*, *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. uniformis* に対する NM394 の MIC は TFLX の MIC より大で、MIC₉₀ は 200 µg/ml 以上と他の 4 剤と同様に抗菌力は弱かった。そこで、投与開始前、投与期間中または投与終了後に分離された菌種に対する NM394 の MIC を解析したところ、投与期間中および投与終了後の MIC が高くなっている菌種が多かった。このようにキノロン系抗菌薬投与により *B. fragilis* group に対する MIC が高くなることは類薬でも報告されている^{10,13)}。一方、好気性菌ではほとんどの菌種で MIC の変化は認められなかったが、一部のグラム陽性菌では投与期間中の MIC が高い株も認められた。

血漿中濃度および尿中排泄について検討した結果、初回投与時と最終投与時の T_{max}, C_{max} および AUC₀₋₁₂ はほぼ一致し、蓄積性はないものと考えられた。また、本試験における血漿中濃度の実測値は臨床第 I 相試験 200 mg 食後単回投与時⁴⁾ のパラメータをもとにシミュレートした血漿中濃度推移にほぼ一致していた。さらに各パラメータおよび尿中排泄率は臨床第 I 相試験時の値⁴⁾ とほぼ一致した。

副作用の出現は全例に認められなかった。臨床検査値への影響では、いずれの臨床検査値でも異常値を示した case はなかった。

文 献

- 1) Morino A, Okuyama Y, Momota K, Ohya M, Ushimaru K: Pharmacokinetics of NM441, a new quinolone, in laboratory animals. 32nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Anaheim, October, 1992
- 2) Ozaki M, et al: *In vitro* antibacterial activity of a new quinolone, NM394. Antimicrob Agents Chemother 35: 2490~2495, 1991
- 3) Ozaki M, et al: *In vivo* evaluation of NM441, a new thiazeto-quinoline derivative. Antimicrob Agents Chemother 35: 2496~2499, 1991
- 4) 中島光好, 植松俊彦, 小菅和仁: NM441 の臨床第 I 相試験。日化療会誌 44(S-1): 180~206, 1996
- 5) 常岡健二, 上野一恵, 加藤岸夫, 川崎賢二, 坂口正之, 下岡新雄: ヒト腸内菌叢・糞便性状におよぼす sultamicillin の影響。Chemotherapy 33(S-2): 154~169, 1985
- 6) 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
- 7) 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
- 8) 坂崎利一: 下痢。腸炎と腸内細菌叢。最新医学 33: 2030~2033, 1979
- 9) 本廣 孝, 他: 成人における BAYo 9867 (Ciprofloxacin) 経口投与時の糞便内細菌叢への影響。Chemotherapy 33(S-7): 100~139, 1985
- 10) 渡辺邦友, 加藤直樹, 武藤吉徳, 沢 赫代, 沢村治樹, 上野一恵: T-3262 のヒト糞便内細菌叢におよぼす影響。Chemotherapy 36(S-9): 126~136, 1988
- 11) 渡辺邦友, 加藤直樹, 武藤吉徳, 板東香お里, 沢 赫代, 上野一恵: Fleroxacin のヒト糞便内細菌叢におよぼす影響。Chemotherapy 38(S-2): 328~337, 1990
- 12) 名出頼男, 副島林造: 第 42 回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム。NM441, 名古屋, 1994
- 13) 稲垣好雄, チャルアイ エカタクシン, 千田俊雄, 中谷林太郎, 高橋 悟, 長山義明, 辻野大二郎, 染谷一彦: 新キノロン系経口抗菌剤 NY-198 剤投与による健康成人腸内細菌叢の変動。Chemotherapy 36(S-2): 120~131, 1988

Influence of NM441 on human fecal flora

Takashi Motohiro, Kenji Masunaga, Yasushi Ootsu, Shigeru Ikezawa,
Yusaku Matsuo, Takayuki Maruoka, Shoichi Handa, Kensuke Nagai,
Shuji Yamada, Shinichiro Oki, Takashi Yamada, Naoki Tsumura,
Yoichiro Yoshinaga, Keiko Oda, Yasutaka Sakata, Kaoru Tominaga,
Hirohisa Kato and Fumio Yamashita

Department of Pediatrics, Kurume University School of Medicine
67 Asahi-machi, Kurume 830, Japan

NM441, a newly developed prodrug type quinolone, was administered to 7 healthy adults at a dose of 200mg, twice a day for 8 days, to study the effects of this drug on the fecal bacterial flora, to determine the fecal concentration of NM394, which is the active form of NM441, and to examine the drug sensitivities of NM394 and other quinolones to various bacteria isolated from fecal samples. In addition, the pharmacokinetics and safety of NM441 were evaluated. The results were as follows.

1) Enterobacteriaceae temporarily decreased below the detection limits during the administration of the drug in all cases. The average number of other gram-negative bacilli and gram-positive cocci including *Staphylococcus* sp. and *Enterococcus* sp. also temporarily decreased during the administration. The total number of aerobes decreased during the administration. However, no constant change was noted in the average number of Yeast like organisms.

No changes were observed in the average number of *Bifidobacterium* and *Bacteroides fragilis* group, but the average number of *Veillonella*, *Fusobacterium*, and Lecithinase (+) *Clostridium* temporarily decreased during the course of drug treatment. No change was observed in the total number of anaerobes.

After the drug treatment, however, the fecal flora soon returned to their former levels.

2) *Clostridium difficile* was isolated from 2 cases from the first day of treatment to the 30th day after administration of drug, and D-1 antigen was detected the same day. One of the 2 cases showed a significant increase in neutralized antibody titer in the serum. Furthermore, D-1 antigen was detected in 2 other cases after administration. During administration, *C. difficile* and D-1 antigen were not observed in all cases.

3) The fecal concentrations of NM394 were 320~1,491 $\mu\text{g/g}$ in all cases during the administration, and the highest fecal concentrations were determined at the end of the administration in 5 cases out of 7. After the administration of drug, the fecal concentration was below the limit of detection in 3 cases out of 7. In the other cases, NM394 was detected in 3 cases to the 3rd day after treatment and in 1 case to the 5th day after treatment.

4) The MICs of NM394 for some species of gram-positive cocci were similar to those of ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX) and sparfloxacin (SPFX). The MICs of NM394 against *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* were equal or similar to those of CPFX, tosufloxacin (TFLX) and SPFX, less than those of OFLX or fleroxacin. The MIC of NM394 against *Klebsiella pneumoniae* was greater than that of CPFX and equal or similar to that of the other quinolones. The MIC of NM394 against *Citrobacter freundii* was similar to that of CPFX and less than that of the other quinolones. The MICs of NM394 against *Bacteroides fragilis* group were larger than those of TFLX and equivalent to those of the other quinolones.

5) The T_{max} , C_{max} and AUC_{0-12} of the 1st dose were almost equal to those of the last dose, no accumulation was observed. Each parameter and the urinary excretion rate were almost equal to those of the phase I study.

6) No side effects and no abnormal laboratory findings were observed.