

NM441のPAEおよびERTに関する基礎的検討

戸塚 恭一・柴田 雄介・菊池 賢・長谷川裕美・清水喜八郎*
東京女子医科大学内科* (*現：聖マリアンナ医科大学難治病治療研究センター)

新規キノロン系合成抗菌薬 NM441 の活性本体である NM394 の *in vitro* postantibiotic effect (PAE) および白血球減少マウスを用いた *in vivo* effective regrowth time (ERT) について検討した。

NM394 の PAE は *Staphylococcus aureus* Smith に 2 および 4 MIC を 2 時間作用させた時 0.85 時間および 0.95 時間で、ofloxacin (OFLX) のそれぞれ 0.15 時間および 0.65 時間よりやや長く、*Klebsiella pneumoniae* BK に 0.25 μg/ml を同様に 2 時間作用させた時の PAE は 3.15 時間であり、OFLX 0.6 時間、lomefloxacin 0.1 時間、fleroxacin (FLRX) 0.2 時間より長かった。

白血球減少モデルを用いた *in vivo* での NM394 の ERT は *K. pneumoniae* BK に対して 11.7 時間 (OFLX は 6.7 時間)、*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 に対して 7.25 時間 (ciprofloxacin は 4.0 時間、OFLX, FLRX は効果を認めず) であり、比較薬剤中最も長い ERT を示した。

Key words: NM441, NM394, キノロン系合成抗菌薬, PAE, ERT

NM394 は日本新薬株式会社で合成され、現在治験中のプロドラッグ型の新規キノロン系合成抗菌薬 NM441¹⁾ の活性本体である。本薬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ラムを示し、その抗菌力は特に *Pseudomonas aeruginosa* を含むグラム陰性菌に対して優れている。その作用は殺菌的であり MIC と MBC はほぼ等しく、増殖曲線に与える影響では速やかな殺菌作用を示す²⁾。

一般的にキノロン系合成抗菌薬は、postantibiotic effect (PAE)^{3,4)} および *in vivo* では PAE と殺菌作用が加味された effective regrowth time (ERT) が検討されている^{5,6)}。これらの作用は抗菌薬の投与間隔の考慮や臨床効果に密接に関係するものと考えられ、極めて重要な情報となる。今回、我々は NM394 の基礎評価の一端として PAE および ERT を測定し、結果を得たので報告する。

I. 実験材料と方法

1. 使用薬剤

NM394 (日本新薬株式会社) および対照として ofloxacin (OFLX: 第一製薬), lomefloxacin (LFLX: 北陸製薬), fleroxacin (FLRX: 杏林製薬) ならびに ciprofloxacin (CPFX: バイエル薬品) を用いた。

2. MIC の測定

MIC は感受性測定用ブイヨン (日水製薬) を用いた日本化学療法学会標準法による微量液体希釈法⁷⁾ により測定した。

3. PAE の測定

菌株は、*Staphylococcus aureus* Smith, *Klebsiella pneumoniae* BK を用いた。PAE は各薬剤を 2 時間作用させた後、メンブランフィルターを用いて集菌、薬剤を除去して再培養し、生菌数が 1 log₁₀ 増殖する時間から薬剤を接触させていない control が 1 log₁₀ 増殖する時間を差し引いた値とした。*S. aureus* Smith に対しては

NM394 および OFLX の 2 および 4 MIC を、*K. pneumoniae* BK に対しては NM394, OFLX, LFLX および FLRX の 0.25 μg/ml を用いた。

4. ERT の測定

菌株は *K. pneumoniae* BK および *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 を、動物は体重 24~26g の雌性 ICR 系マウスを用いた。マウスは cyclophosphamide を感染 4 日前に 150mg/kg, 1 日前に 100mg/kg 腹腔内に投与し白血球を減少させた。各菌株とも前培養して対数増殖期の細菌約 10⁶ CFU を両大腿に接種し、その 2 時間後に薬剤を背部皮下に投与した。*K. pneumoniae* 感染には NM394, OFLX の 4mg/kg を、*P. aeruginosa* 感染には NM394, OFLX, CPFX および FLRX の 16mg/kg を投与した。薬剤投与後、1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 時間後 (*P. aeruginosa* 感染では 16 時間後まで) にマウスを屠殺し、両大腿の 10% ホモジネートを作成して生菌数を求めた。ERT は薬剤投与後の生菌数が薬剤投与直前の生菌数に回復するまでの時間とした。

II. 実験結果

1. MIC

S. aureus Smith に対する NM394 および OFLX の MIC はそれぞれ 0.125 および 0.25 μg/ml, *K. pneumoniae* BK に対する NM394, OFLX, LFLX および FLRX の MIC はそれぞれ 0.008, 0.125, 0.125 および 0.5 μg/ml であった。また、*P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する NM394, OFLX, CPFX および FLRX の MIC はそれぞれ 0.25, 4, 0.5 および 4 μg/ml であった。

2. *In vitro* PAE

NM394 の 2 および 4 MIC, 2 時間接触での *S. aureus* Smith に対する PAE はそれぞれ 0.85 および 0.95 時間

であり、OFLX は 0.15 および 0.65 時間であった。2 MIC では NM394 が OFLX よりやや長い PAE を示し、4 MIC では両薬剤間に顕著な差は認められなかったが、NM394 の 4 MIC 処理後の菌数が OFLX のそれより $2 \log_{10}$ 程度減少幅が大きく、強い殺菌力を示した (Fig. 1)。

K. pneumoniae BK に NM394, OFLX, LFLX および FLRX の $0.25 \mu\text{g/ml}$ を作用させたときの PAE はそれぞれ 3.15, 0.6, 0.1 および 0.2 時間であり、NM394 は最も長い PAE と強い殺菌力を示した (Fig. 2)。

3. In vivo ERT

白血球減少マウスの大腿部に *K. pneumoniae* BK を感染させ、その 2 時間後に NM394 および OFLX を 4 mg/kg 皮下投与した後の最大殺菌 ($\Delta \log_{10}/\text{thigh}$) はそれぞれ 2.23 および $1.67 \log_{10}$, ERT はそれぞれ 11.7 および 6.7 時間であり、NM394 は OFLX より最大殺菌お

よび ERT で優れていた (Fig. 3)。

同モデルでの *P. aeruginosa* ATCC 27853 感染に対する NM394 および CFX の最大殺菌はそれぞれ 2.05 および $0.82 \log_{10}$, ERT はそれぞれ 7.25 および 4.0 時間であり、NM394 がより優れた成績であった。なお、このモデルにおいては、OFLX および FLRX はいずれも大腿内菌数の減少は認められず、ERT は求められなかった (Fig. 4)。

III. 考 察

一般的にキノロン系合成抗菌薬の特徴として殺菌力と PAE は相関しており、殺菌力が強いと PAE も長くなることが明らかになっている⁹⁾。今回検討した NM394 も 2 時間の接触後の生菌数の大幅な減少と比較薬剤より長い PAE を示すことが認められた。*S. aureus* Smith を用いた検討では 4 MIC での比較では顕著な差は無かったものの、同濃度 ($0.5 \mu\text{g/ml}$) で比較した場合は NM394

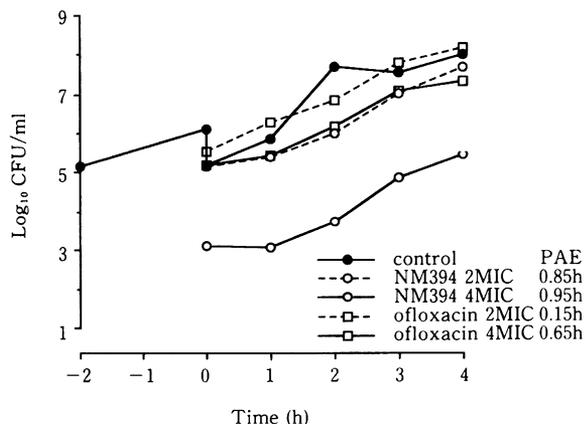


Fig. 1. In vitro postantibiotic effect (PAE) of NM394 and ofloxacin against *Staphylococcus aureus* BK. MIC; NM394 : $0.125 \mu\text{g/ml}$, ofloxacin : $0.25 \mu\text{g/ml}$.

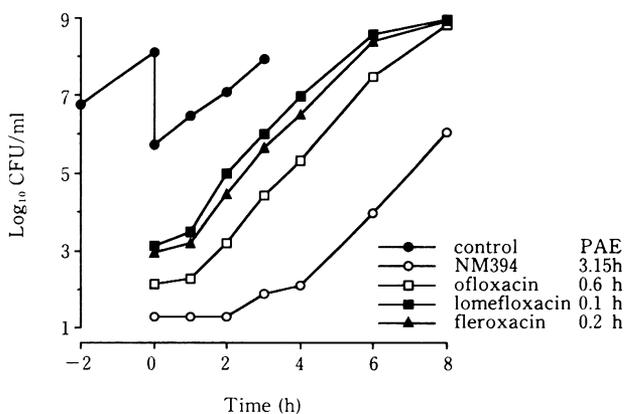


Fig. 2. In vitro postantibiotic effect (PAE) of quinolone antibacterials against *Klebsiella pneumoniae* BK. Concentration of antibacterials : $0.25 \mu\text{g/ml}$. MIC; NM394 : $0.008 \mu\text{g/ml}$, ofloxacin : $0.125 \mu\text{g/ml}$, lomefloxacin : $0.125 \mu\text{g/ml}$, fleroxacin : $0.5 \mu\text{g/ml}$.

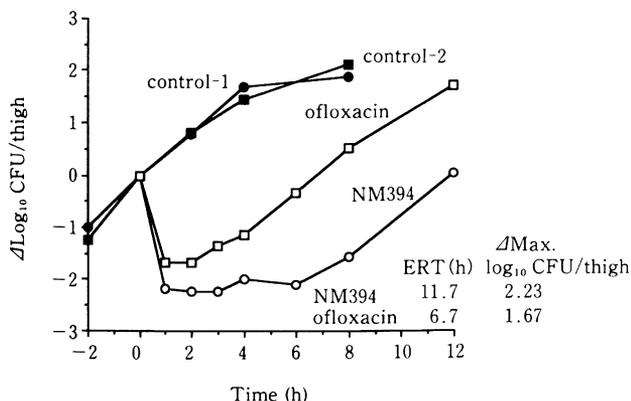


Fig. 3. In vivo effective regrowth time (ERT) of NM394 and ofloxacin against *Klebsiella pneumoniae* BK. Dose : 4mg/kg MIC; NM394 : $0.008 \mu\text{g/ml}$, ofloxacin : $0.125 \mu\text{g/ml}$

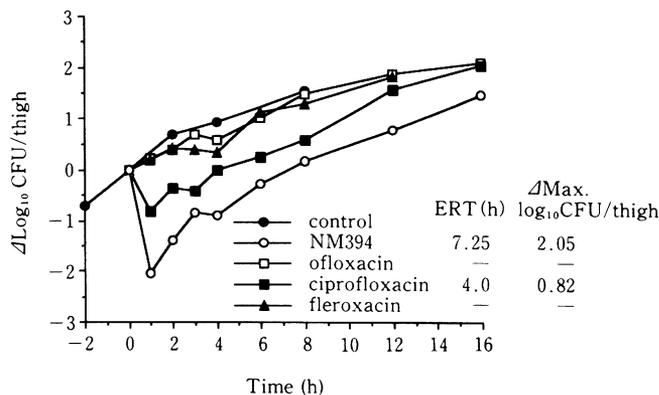


Fig. 4. In vivo effective regrowth time (ERT) of quinolone antibacterials against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Dose : 16mg/kg MIC; NM394 : $0.25 \mu\text{g/ml}$, ofloxacin : $4 \mu\text{g/ml}$, ciprofloxacin : $0.5 \mu\text{g/ml}$, fleroxacin : $4 \mu\text{g/ml}$

0.95時間、OFLX 0.15時間となり、殺菌力が反映した結果となっている。この傾向は各薬剤を同一濃度 (0.25 $\mu\text{g/ml}$) で検討した *K. pneumoniae* BK を用いた結果でより明確となり、3.15時間のPAEはOFLXの5倍以上であり、NM394は優れた殺菌力と長いPAEを示すことが確認された。

一方、*in vivo*でのPAEの測定は薬剤の影響が無くなった時点からの菌の再増殖時間を求めることにより行うが、キノロン系合成抗菌薬は組織移行性に優れ、組織内濃度が長時間維持されたり、subMICでも殺菌作用を示すこと等から、菌の再接種により残存薬剤の影響がなくなる時間をまず求める必要がある⁹⁾。しかし、今回の*in vivo*の検討では薬剤残存時間は未検討であるためERTとして求めた。NM394の*K. pneumoniae* BKに対する*in vivo*殺菌力(最大殺菌)は*in vitro*と同様に優れ、11.7時間と長いERTを示した。*P. aeruginosa* ATCC 27853に対するERTは7.25時間であり、殺菌力およびERTはCPFXを含めた比較薬剤中最も優れた成績であった。本モデルでの緑膿菌感染症に対する効果の発現は比較的困難であるが⁹⁾、NM394が有効性を示したことから、本薬が緑膿菌感染に対して全身感染やその他の局所感染¹⁾と同様に優れた治療効果を示すことが確認された。

マウスにNM441を経口投与した場合、NM394は比較的速やかに排出され、CPFXと比較して血中半減期は短く、AUCにおいても劣ることから¹⁾、今回の皮下投与においても体内動態的にCPFXを上回ることは無いと考えられ、今回の成績はNM394の優れた殺菌力が有効に作用したものと思われる。

今回の検討結果から、NM394は*in vitro*において優れた殺菌力とそれに伴う長いPAEを示すこと、*in vivo*においても殺菌力を発揮し、長いERTを示すことが明らかとなり、各種菌株による種々の実験的感染症に対するNM441の有効性の一因であると考えられる。

ヒトにおいては、臨床第I相試験の成績からNM441単回投与時のNM394血中半減期は7.7~8.9時間であり、比較的長時間血中濃度が持続することが分かっている⁹⁾。今回の基礎検討の結果からNM441の1日2回投与は十分な薬効の発揮が期待できる投与方法であると考えられる。

文 献

- 1) Ozaki M, et al: *In vivo* evaluation of NM441, a new thiazeto-quinoline derivative. *Antimicrob Agent Chemother* 35: 2496~2499, 1991
- 2) Ozaki M, et al: *In vitro* antibacterial activity of a new quinolone, NM394. *Antimicrob Agent Chemother* 35: 2490~2495, 1991
- 3) Chin N X, Brittain D C, Neu H C: Post-antibiotic suppressive effect of ciprofloxacin against gram-positive and gram-negative bacteria. *Am J Med* 82(4A): 58~62, 1987
- 4) Espinoza A M, Chin N A, Novelli A, Neu H C: Comparative *in vitro* activity of a new fluorinated 4-quinolone, T-3262 (A-60969). *Antimicrob Agent Chemother* 32: 663~670, 1988
- 5) 戸塚恭一, 柴田雄介, 菊池 賢, 長谷川裕美, 清水喜八郎: 新キノロン剤 Fleroxacin の Post-antibiotic effect. *Chemotherapy* 38(S-2): 669~670, 1990
- 6) 片平潤一, 春木宏介, 柴田雄介, 長谷川裕美, 菊池 賢, 戸塚恭一, 清水喜八郎: Sparfloxacin の PAE を中心とした基礎的検討, 及び臨床的検討. *Chemotherapy* 39(S-4): 255~260, 1990
- 7) 日本化学療法学会: 微量液体希釈による MIC 測定法 (微量液体希釈法). *Chemotherapy* 38: 103~105, 1990
- 8) 清水喜八郎, 戸塚恭一, 深田智子: ニューキノロン薬の postantibiotic effect (PAE). キノロン薬 (上田 泰, 清水喜八郎, 紺野雅俊, 松本文夫編), p. 121~126, ライフ・サイエンス, 東京, 1991
- 9) Nakashima M, Uematsu T, Kosuge K, Okuyama Y, Morino A, Ozaki M, Takebe Y: Pharmacokinetics and safety of NM441, a new quinolone, in healthy male volunteers. *J Clin Pharmacol* 34: 930~937, 1994

Studies on postantibiotic effect and effective regrowth time of NM441

Kyoichi Totsuka, Yusuke Shibata, Ken Kikuchi,

Hiroimi Hasegawa and Kihachiro Shimizu*

Department of Internal Medicine, Tokyo Women's Medical College

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

* Present Address: Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine

The *in vitro* postantibiotic effect (PAE) and *in vivo* effective regrowth time (ERT) of NM394, an active form of NM441, a new quinolone derivative, were studied.

The *in vitro* PAE of NM394 against *Staphylococcus aureus* Smith after exposure at the concentration of 2 and 4 MIC for 2 hrs was 0.85 and 0.95 hrs, respectively, which was slightly longer than that of ofloxacin (OFLX) (0.15 and 0.65 hrs, respectively).

The PAE of NM394 against *Klebsiella pneumoniae* BK after the exposure at the concentration of 0.25 $\mu\text{g/ml}$ for 2 hrs was 3.15 hrs which was longer than that of OFLX (0.6 hrs), lomefloxacin (0.1 hrs) and fleroxacin (0.2 hrs).

The *in vivo* ERT of NM394 against *K. pneumoniae* BK in a neutropenic mice thigh infection model was 11.7 hrs (that of OFLX was 6.7 hrs) and that against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 was 7.25 hrs which was longer than that of ciprofloxacin (4.0 hrs).