

## Pazufloxacin 注射薬の細菌学的検討 — *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について —

満山 順一・宮崎 修一・石井 良和・松本 哲哉・

館田 一博・金子 康子・山口 恵三

東邦大学医学部微生物学教室\*

新規注射用ニューキノロン系抗菌薬 pazufloxacin mesilate (PZFX mesilate) の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), imipenem (IPM), ceftazidime (CAZ), gentamicin (GM) および minocycline (MINO) と比較した。

グラム陽性菌のうち, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* に対する PZFX mesilate の MIC<sub>90</sub> は 0.25~4 µg/ml であり, さらに methicillin (DMPPC) 耐性 *S. aureus* (MRSA) に対する抗菌力 (MIC<sub>90</sub>; 16 µg/ml) は被験薬中最も強かった。腸内細菌科の菌種, IPM や GM 耐性 *Pseudomonas aeruginosa* を含むグラム陰性菌に対する PZFX mesilate の抗菌力は CPFX と同等で, 他の対照薬に比べ強かった。

キノロン耐性 *P. aeruginosa* (*nfxA*, *nfxB*, *nfxC* および *nalB* 変異株) に対する PZFX mesilate の MIC を親株と比較した場合, *nfxB* 変異株に対する MIC の上昇度が低かった。*S. aureus* における PZFX mesilate の菌体内蓄積量は CPFX と異なり, carbonyl cyanide-*m*-chlorophenyl hydrazone (CCCP) 添加の影響を受けなかった。

PZFX mesilate は短時間殺菌作用が強く, また高濃度, 短時間作用により対照薬より強い PAE を示した。

PZFX mesilate は MRSA, GM, IPM 耐性 *P. aeruginosa* を含むグラム陽性, 陰性菌によるマウス全身感染モデルに対し, *in vitro* の成績を反映した強い感染防御効果を, またマウス肺炎モデルおよび尿路感染モデルに対し, MIC から予想される以上の強い治療効果を示した。

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

β-ラクタム系注射用抗菌薬はその幅広い抗菌スペクトル, 強い抗菌力および高い安全性から, 細菌感染症の治療薬として広く用いられている。しかし, 近年 MRSA や抗菌薬耐性 *P. aeruginosa* を含む耐性菌の増加が問題となってきている。

このような耐性菌に対してもニューキノロン系抗菌薬は, 一般に β-ラクタム系抗菌薬よりも強い抗菌力や殺菌作用を示すことから, 臨床において高い評価が得られている<sup>1)</sup>。欧米において, ニューキノロン系抗菌薬はすでに注射薬として使用されているが<sup>2)</sup>, 汎用されている CPFX においてもその血中濃度は低く<sup>3)</sup>, これは近年ニューキノロン系抗菌薬に対する耐性化が進んでいる MRSA や *P. aeruginosa* に対し十分な濃度とは言えない。また, 血中濃度を上げるために投与量を増加すると, 中枢性等の副作用が懸念されることから<sup>4)</sup>, β-ラクタム薬と同等の安全性を有する注射用ニューキノロン系抗菌薬が望まれていた。

このような状況を背景として富山化学工業株式会社総合研究所で創製されたのが, 新規ニューキノロン系注射薬の pazufloxacin mesilate (PZFX mesilate) である (Fig. 1)。本薬は, 経口剤として臨床の有用性が検討された pazufloxacin (PZFX) をメタンスルホン酸塩とし, 水に対する溶解度を増加させた薬剤である<sup>5)</sup>。

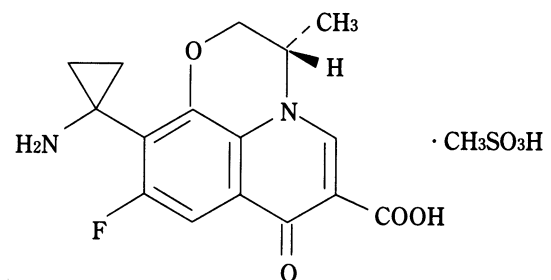


Fig. 1. Pazufloxacin mesilate.

今回、我々はPZFX mesilateの抗菌力の細菌学的特徴を明らかにするために、本薬の*in vitro*および*in vivo*抗菌力を同系薬のOFLX, CPFXおよび他系統の注射薬であるIPM, CAZ, GMおよびMINOと比較したので報告する。

## I. 実験材料および方法

### 1. 使用薬剤

PZFX mesilateは富山化学工業総合研究所より、OFLX(第一製薬), CPFX(バイエル薬品), IPM(imipenem/cilastatin: 萬有製薬), CAZ(日本グラクソ), GM(日本シェリングプラウ), MINO(日本レダグリー)は各製薬会社より分与を受けた。なお、*in vitro*の試験にはPZFX mesilateを活性本体であるPZFX換算して用いた。

### 2. 使用菌株

臨床分離DMPPC感受性*S. aureus*(MSSA: 75株), MRSA(80株), *S. epidermidis*(39株), *Streptococcus pyogenes*(16株), *Streptococcus pneumoniae*(45株), *Enterococcus faecalis*(36株), *Enterococcus faecium*(26株), *Escherichia coli*(39株), *Klebsiella pneumoniae*(33株), *Klebsiella oxytoca*(42株), *Citrobacter freundii*(16株), *Enterobacter cloacae*(29株), *Serratia marcescens*(30株), *Proteus mirabilis*(29株), *Proteus vulgaris*(42株), *Providencia rettgeri*(19株), *Morganella morganii*(32株), *Acinetobacter* spp.(34株), *Acinetobacter xylosoxydans*(27株), *Stenotrophomonas maltophilia*(21株), *Burkholderia cepacia*(13株), *P. aeruginosa*(114株: IPM耐性15株, GM耐性42株, IPMおよびGM耐性19株を含む), *Haemophilus influenzae*(60株), *Moraxella catarrhalis*(50株), 嫌気性菌として*Clostridium difficile*(16株), *Bacteroides fragilis*(30株)を用いた。なお、以上の菌株は1990年から1994年の間に臨床材料より分離された。

キノロン耐性*P. aeruginosa*(*nfxA*, *nfxB*, *nfxC*, *nalB*変異株)は杏林製薬より分与された。なお、*nfxA*(KH4023), *nfxB*(KH4013B), *nfxC*(KH4014a)はPAO4009より、また*nalB*(PAO6006)はPAO0969を親株として分離された株である。また薬剤の菌体内蓄積試験には*S. aureus* SA113<sup>6)</sup>を使用した。

### 3. 抗菌力測定

日本化学療法学会のMIC測定法<sup>7)</sup>に準じ微量液体希釈法で最小発育阻止濃度(MIC: Minimum Inhibitory Concentration)を測定した。

なお感受性測定用培地にはMueller-Hinton broth(Difco)にCa<sup>2+</sup> 50mg/lとMg<sup>2+</sup> 25mg/lを無菌的に添加したカチオン調整培地(Cation-adjusted Mueller-Hinton broth: CAMHB)を使用した。

*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *E. faecium* お

よび*M. catarrhalis*の感受性測定には、5%馬溶血液加CAMHBを、*H. influenzae*には15 μg/mlのβ-NAD(Sigma), 5%馬溶血液(日本バイオテスト研究所), 5 mg/mlの酵母エキス(Difco)加CAMHBを使用した。

嫌気性菌のMIC測定は日本化学療法学会のMIC測定法に準じ<sup>8)</sup>、前培養液にはGAM broth(日水製薬; ニッスイ), MIC測定用培地にはGAM agar(ニッスイ)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. 菌体内蓄積

菌体内への薬剤の蓄積はYoshidaらの方法<sup>9)</sup>に準じて行った。すなわち、37°CでOD<sub>600</sub> = 0.4まで振盪培養したCAMHB中の*S. aureus* SA113の菌液10mlに最終濃度10 μg/mlのPZFX mesilate(PZFX換算), CPFXを添加し、37°Cで10分間インキュベートした。上清を遠心(12,000rpm × 5分間)で除去し、菌体を2mlの1/15Mリン酸緩衝液(pH 7.0)に懸濁して再度遠心した。CCCP処理は、薬剤添加5分前にジメチルスルホキシドに溶解したCCCPを最終濃度0.1mMになるように添加した。5%酢酸0.5mlにより菌体から薬剤を抽出し、高速液体クロマトグラフ装置(HPLC)により薬剤濃度を測定した。

カラムはWakosil-II 3C18 AR(ガードカラムφ4.6mm × 10mm, 分離カラムφ4.6mm × 150mm)を用い、カラム温度は40°Cで行った。移動相はPZFX mesilateの場合はアセトニトリル:1Mクエン酸2ナトリウム:10%メタンスルホン酸:蒸留水 = 18:3:2:77, CPFXの場合は16:3:2:79を用い、流速1ml/minでPZFX mesilateは251nm, CPFXは271nmで検出した。菌体内蓄積量は乾燥菌体1mg当たりの量(ng/mg dry cell)で示した。

### 5. 増殖曲線に及ぼす薬剤の影響

37°Cで一晩静置培養したCAMHB中の*S. aureus* Smith, *E. coli* NIHJ JC-2および*P. aeruginosa* ATCC 27853の菌液を新鮮CAMHBに最終菌量が10<sup>6</sup>CFU/mlになるように接種した。37°Cで2時間培養後、1~8 MICのPZFX mesilate, OFLX, CPFXを添加し、経時的に生菌数を混釈法および平板塗抹法で測定した。

### 6. Postantibiotic effect (PAE)の測定

37°Cで一晩静置培養したCAMHB中の*K. pneumoniae* 3K-25, *P. aeruginosa* KU-1の菌液を新鮮CAMHBに最終菌量が約10<sup>6</sup>CFU/mlになるように接種し2時間振盪培養した。8 MICの薬物を30分間作用させた後、菌液を新鮮CAMHBで100倍に希釈して、経時的に生菌数を平板塗抹法で測定した。被験薬希釈直後の生菌数より1 log<sub>10</sub> CFU/ml増殖するのに要した時間から、被験薬無作用の菌が1 log<sub>10</sub> CFU/ml増殖するのに要した時間の差をPAEとした。

## 7. マウス実験感染モデルに対する治療効果

マウス全身感染、呼吸器感染モデルにはICR系4週齢の雄を、尿路感染モデルには4週齢の雌を使用した。動物は日本エスエルシー株式会社、日本チャールスリバー株式会社より購入した。PZFX mesilate, IPM, CAZ, GM, MINOは滅菌生理食塩水に、OFLX, CPFXXは0.1 N NaOHに溶解し滅菌生理食塩水で希釈することにより投与液を調製した。なお、PZFX mesilateのED<sub>50</sub>値はPZFXとして求めた。

### 1) 全身感染モデル

1群10匹のマウスを用いた。MHA平板上で一夜培養した被験菌体を滅菌生理食塩水、あるいは5%ムチン(Difco)加生理食塩水に懸濁し、0.5mlをマウス腹腔内に接種した。感染1時間後に各被験薬を1回背部皮下投与した。7日間マウスの生死を観察し、Probit法によりED<sub>50</sub>値と95%信頼限界を算出した。

### 2) 呼吸器感染モデル

1群15匹のマウスを用いた。MHA平板上で一夜培養した*K. pneumoniae* 3K-25の菌体を滅菌生理食塩水に懸濁し、接種用菌液とした。宮崎らの方法<sup>10)</sup>に従い、菌液20 μl (4.0 × 10<sup>6</sup> CFU/mouse)を経鼻的に接種し感染を惹起した。治療は接種24時間後より1日2回、0.125, 0.5, 2 mg/mouseの被験薬を3日間計6回背部皮下投与した。感染4日目に肺を摘出し、滅菌生理食塩水2mlを加えてホモジナイズ後、平板塗抹法にて生菌数を測定した。

### 3) 上行性尿路感染モデル

1群15匹のマウスを用いた。MHA平板上で一夜培養した*P. aeruginosa* KU-1の菌体を滅菌生理食塩水に懸濁し、接種用菌液とした。一夜絶水させエーテル麻酔下のマウスの膀胱を指で圧迫して強制排尿させた後、先端を鈍化させた26Gの注射針で菌液50 μlを経尿道的に膀胱内に接種した。接種後1時間、外尿道口をクリップで閉塞した。給水はクリップ解除1時間後より行った。治療は感染24時間後より1日2回、0.125, 0.5, 2 mg/mouseの被験薬を3日間計6回背部皮下投与した。感染4日目に両側腎を摘出し、滅菌生理食塩水2mlを加えてホモジナイズ後、平板塗抹法にて生菌数を測定した。

## 8. 統計解析法

2群間比較はStudent's t-検定を、3群間以上の比較はTukey検定を行った。なお、統計解析ソフトとしてはYukms I ver.5.0を用いた。またED<sub>50</sub>値の計算にはYukms II ver.5.0を用いた。

## II. 結 果

### 1. 臨床分離株に対する抗菌力

各種臨床分離株に対するPZFX mesilateおよび対照被験薬のMIC分布範囲、MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub>をTable 1に示す。MSSAに対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は0.25 μg/ml

であり、その値はIPMより大きかったが、MINOと同程度で、OFLX, CPFXX, CAZ, GMより小さかった。

MRSAに対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は16 μg/mlであり、その値は被験薬の中で最も小さかった。

*S. epidermidis*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は4 μg/mlであり、その値はIPM, MINOより大きかったが、OFLX, CPFXX, CAZ, GMより小さかった。

*S. pyogenes*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は4 μg/mlであり、その値はCPFXX, IPM, CAZより大きかったが、OFLXと同程度でGM, MINOより小さかった。

*S. pneumoniae*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は4 μg/mlであり、その値はIPMより大きかったが、OFLX, CPFXX, CAZと同程度でGM, MINOより小さかった。

*E. faecalis*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は128 μg/mlであり、その値はCAZ, GMと同程度でOFLX, CPFXX, IPM, MINOより大きかった。しかし、MIC<sub>50</sub>は2 μg/mlであり、その値はIPMより大きかったが、OFLX, CPFXXと同程度でCAZ, GM, MINOより小さかった。

*E. faecium*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は64 μg/mlであり、他の被験薬と明確な差は認められなかった。しかし、MIC<sub>50</sub>は8 μg/mlであり、その値はCPFXXより大きかったが、OFLXと同程度でIPM, CAZ, GM, MINOより小さかった。

腸内細菌科菌群のうち、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. Morganii*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は0.032~8 μg/mlであり、その値はCPFXXと同程度でOFLX, IPM, CAZ, GM, MINOより小さかった。*S. marcescens*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は8 μg/mlであり、その値はIPM, CAZ, GMより大きかったが、CPFXXと同程度でOFLX, MINOより小さかった。*P. rettgeri*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は64 μg/mlであり、その値はIPM, CAZより大きかったが、GMと同程度でOFLX, CPFXX, MINOより小さかった。

ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌のうち、*Acinetobacter* spp.に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は0.5 μg/mlであり、その値はIPM, MINOより大きかったが、OFLX, CPFXX, CAZ, GMより小さかった。*A. xylosoxydans*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は32 μg/mlであり、その値は被験薬中最も低値であった。*S. maltophilia*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は2 μg/mlであり、その値はMINOより大きかったが、OFLX, CPFXX, IPM, CAZ, GMより小さかった。*B. cepacia*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は4 μg/mlであり、その値は被験薬中最も低値であった。

*P. aeruginosa*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は16 μg/mlであり、その値は被験薬中最も低値であった。*P. aeruginosa*のうちIPM耐性菌に対するMIC<sub>90</sub>は1 μg/ml

Table 1-1. Antibacterial activity of pazufloxacin mesilate and other agents against clinical isolates

Organism (Number of strains)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>		
		MIC range	50 %	90 %
Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) (75)	pazufloxacin mesilate	0.125 ~ 1	0.25	0.25
	ofloxacin	0.25 ~ 2	0.5	1
	ciprofloxacin	0.25 ~ 2	0.5	1
	imipenem	0.016 ~ 0.125	0.032	0.125
	ceftazidime	4 ~ 32	8	8
	gentamicin	0.125 ~ >128	1	4
	minocycline	0.032 ~ 0.5	0.125	0.25
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (80)	pazufloxacin mesilate	0.125 ~ >128	8	16
	ofloxacin	0.25 ~ >128	8	64
	ciprofloxacin	0.25 ~ >128	16	>128
	imipenem	0.125 ~ 64	32	64
	ceftazidime	16 ~ >128	>128	>128
	gentamicin	0.125 ~ >128	64	>128
	minocycline	0.063 ~ 32	1	32
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (39)	pazufloxacin mesilate	0.125 ~ 16	0.25	4
	ofloxacin	0.25 ~ 32	0.5	16
	ciprofloxacin	0.125 ~ >128	0.25	32
	imipenem	0.016 ~ 128	0.125	1
	ceftazidime	2 ~ >128	8	32
	gentamicin	0.032 ~ >128	0.25	128
	minocycline	0.063 ~ 16	1	1
<i>Streptococcus pyogenes</i> (16)	pazufloxacin mesilate	1 ~ 4	2	4
	ofloxacin	1 ~ 4	2	4
	ciprofloxacin	0.5 ~ 2	1	2
	imipenem	0.002 ~ 0.016	0.004	0.008
	ceftazidime	0.125 ~ 1	0.125	0.125
	gentamicin	8 ~ 16	16	16
	minocycline	0.125 ~ 64	0.125	32
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (45)	pazufloxacin mesilate	2 ~ 4	2	4
	ofloxacin	1 ~ 4	2	4
	ciprofloxacin	0.5 ~ 4	1	4
	imipenem	0.004 ~ 0.25	0.008	0.063
	ceftazidime	0.25 ~ 4	1	4
	gentamicin	2 ~ 64	16	32
	minocycline	0.125 ~ 32	16	32
<i>Enterococcus faecalis</i> (36)	pazufloxacin mesilate	2 ~ >128	2	128
	ofloxacin	2 ~ >128	2	64
	ciprofloxacin	0.5 ~ >128	2	32
	imipenem	0.25 ~ 8	0.5	2
	ceftazidime	64 ~ >128	>128	>128
	gentamicin	32 ~ >128	64	>128
	minocycline	0.25 ~ 64	16	32
<i>Enterococcus faecium</i> (26)	pazufloxacin mesilate	1 ~ >128	8	64
	ofloxacin	2 ~ >128	8	>128
	ciprofloxacin	0.5 ~ >128	4	128
	imipenem	0.125 ~ >128	>128	>128
	ceftazidime	128 ~ >128	>128	>128
	gentamicin	2 ~ >128	16	>128
	minocycline	0.125 ~ 32	32	32

a: Broth microdilution method, inoculum size:  $10^5$  CFU/ml ( $10^4$  CFU/well)

Table 1-2. Antibacterial activity of pazufloxacin mesilate and other agents against clinical isolates

Organism (Number of strains)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>		
		MIC range	50 %	90 %
<i>Escherichia coli</i> (39)	pazufloxacin mesilate	0.016 ~ 0.5	0.032	0.032
	ofloxacin	0.032 ~ 2	0.125	0.25
	ciprofloxacin	0.008 ~ 0.25	0.016	0.032
	imipenem	0.063 ~ 2	0.125	0.5
	ceftazidime	0.063 ~ 2	0.125	0.5
	gentamicin	1 ~ 2	2	2
	minocycline	0.5 ~ 32	2	32
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (33)	pazufloxacin mesilate	0.016 ~ 0.25	0.032	0.032
	ofloxacin	0.063 ~ 2	0.25	0.25
	ciprofloxacin	0.008 ~ 0.25	0.032	0.032
	imipenem	0.125 ~ 1	0.25	0.5
	ceftazidime	0.125 ~ 0.5	0.25	0.5
	gentamicin	0.5 ~ 1	1	1
	minocycline	1 ~ 4	2	4
<i>Klebsiella oxytoca</i> (42)	pazufloxacin mesilate	0.016 ~ 0.063	0.016	0.032
	ofloxacin	0.032 ~ 0.5	0.125	0.25
	ciprofloxacin	0.016 ~ 0.125	0.032	0.063
	imipenem	0.125 ~ 2	0.25	1
	ceftazidime	0.063 ~ 2	0.25	2
	gentamicin	0.5 ~ 2	1	1
	minocycline	1 ~ 8	2	2
<i>Citrobacter freundii</i> (16)	pazufloxacin mesilate	0.016 ~ 4	0.032	1
	ofloxacin	0.063 ~ 16	0.125	4
	ciprofloxacin	0.008 ~ 4	0.032	1
	imipenem	0.125 ~ 2	1	2
	ceftazidime	0.125 ~ 128	0.5	128
	gentamicin	0.5 ~ 2	1	2
	minocycline	2 ~ 16	2	8
<i>Enterobacter cloacae</i> (29)	pazufloxacin mesilate	0.016 ~ 0.125	0.032	0.063
	ofloxacin	0.063 ~ 1	0.25	0.25
	ciprofloxacin	0.008 ~ 0.125	0.016	0.063
	imipenem	0.125 ~ 2	0.5	2
	ceftazidime	0.125 ~ >128	0.5	128
	gentamicin	0.5 ~ 8	1	2
	minocycline	2 ~ 8	4	8
<i>Serratia marcescens</i> (30)	pazufloxacin mesilate	0.032 ~ 32	0.125	8
	ofloxacin	0.25 ~ 128	0.5	32
	ciprofloxacin	0.032 ~ 64	0.063	8
	imipenem	0.5 ~ 4	2	2
	ceftazidime	0.125 ~ >128	0.25	4
	gentamicin	0.5 ~ 128	2	4
	minocycline	4 ~ 64	8	16
<i>Proteus mirabilis</i> (29)	pazufloxacin mesilate	0.032 ~ 0.125	0.063	0.125
	ofloxacin	0.125 ~ 4	0.25	0.5
	ciprofloxacin	0.032 ~ 0.5	0.063	0.125
	imipenem	1 ~ 8	2	4
	ceftazidime	0.032 ~ 4	0.125	0.25
	gentamicin	0.5 ~ 4	1	2
	minocycline	32 ~ >128	>128	>128

a ; Broth microdilution method, inoculum size :  $10^5$  CFU/ml ( $10^4$  CFU/well)

Table 1-3. Antibacterial activity of pazufloxacin mesilate and other agents against clinical isolates

Organism (Number of strains)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>		
		MIC range	50 %	90 %
<i>Proteus vulgaris</i> (42)	pazufloxacin mesilate	0.016 ~ 0.5	0.032	0.125
	ofloxacin	0.125 ~ 2	0.125	0.5
	ciprofloxacin	0.016 ~ 2	0.032	0.125
	imipenem	1 ~ 8	2	8
	ceftazidime	0.032 ~ >128	0.125	1
	gentamicin	0.25 ~ 8	2	2
	minocycline	0.25 ~ 32	16	16
<i>Providencia rettgeri</i> (19)	pazufloxacin mesilate	0.016 ~ 128	8	64
	ofloxacin	0.25 ~ >128	128	>128
	ciprofloxacin	0.016 ~ >128	64	>128
	imipenem	0.5 ~ 2	1	2
	ceftazidime	0.063 ~ 8	2	8
	gentamicin	0.5 ~ 128	2	64
	minocycline	16 ~ >128	>128	>128
<i>Morganella morganii</i> (32)	pazufloxacin mesilate	0.008 ~ 32	0.016	0.125
	ofloxacin	0.063 ~ 128	0.125	0.5
	ciprofloxacin	0.016 ~ 64	0.032	0.125
	imipenem	1 ~ 4	2	2
	ceftazidime	0.125 ~ 128	0.25	16
	gentamicin	0.5 ~ 4	2	2
	minocycline	1 ~ >128	8	32
<i>Acinetobacter</i> spp. (34)	pazufloxacin mesilate	0.125 ~ 32	0.125	0.5
	ofloxacin	0.125 ~ 64	0.25	1
	ciprofloxacin	0.125 ~ >128	0.25	1
	imipenem	0.125 ~ 1	0.125	0.25
	ceftazidime	1 ~ 128	4	16
	gentamicin	0.5 ~ >128	2	4
	minocycline	0.032 ~ 1	0.125	0.125
<i>Acinetobacter xylosoxydans</i> (27)	pazufloxacin mesilate	1 ~ >128	4	32
	ofloxacin	4 ~ >128	32	>128
	ciprofloxacin	4 ~ >128	32	>128
	imipenem	0.5 ~ 64	4	64
	ceftazidime	4 ~ >128	128	>128
	gentamicin	2 ~ >128	>128	>128
	minocycline	2 ~ 64	16	64
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (21)	pazufloxacin mesilate	0.5 ~ 8	1	2
	ofloxacin	1 ~ 64	4	8
	ciprofloxacin	1 ~ 64	4	8
	imipenem	64 ~ >128	>128	>128
	ceftazidime	2 ~ >128	32	128
	gentamicin	2 ~ >128	>128	>128
	minocycline	0.125 ~ 4	0.5	1
<i>Burkholderia cepacia</i> (13)	pazufloxacin mesilate	0.5 ~ 64	1	4
	ofloxacin	4 ~ >128	16	32
	ciprofloxacin	1 ~ >128	4	32
	imipenem	8 ~ 64	32	32
	ceftazidime	4 ~ 32	16	32
	gentamicin	- ~ >128	>128	>128
	minocycline	4 ~ 128	16	128

a ; Broth microdilution method, inoculum size :  $10^5$  CFU/ml ( $10^6$  CFU/well)

であり、その値はCPFXと同程度でOFLX, IPM, CAZ, GM, MINOより低く、またGM耐性菌に対するMIC<sub>90</sub>は32 µg/mlで、その値はIPMより大きかったがOFLX, CPFX, CAZ, GM, MINOより小さかった。IPMおよびGM耐性の*P. aeruginosa*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は8 µg/mlであり、その値はCPFXより大きかったが、OFLX, IPM, CAZ, GM, MINOより小さかった。

*H. influenzae*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は0.032 µg/mlであり、その値はCPFXより大きかったが、OFLXと同程度でIPM, CAZ, GM, MINOより小さかった。*M. catarrhalis*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は0.063 µg/mlであり、その値はCPFXより大きかったが、IPM, CAZと同程度でOFLX, GM, MINOより小さかった。*C. difficile*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は

Table 1-4. Antibacterial activity of pazufloxacin mesilate and other agents against clinical isolates

Organism (Number of strains)	Drug	MIC (µg/ml) <sup>a</sup>		
		MIC range	50 %	90 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (114)	pazufloxacin mesilate	0.125 ~ 128	0.5	16
	ofloxacin	1 ~ >128	2	128
	ciprofloxacin	0.125 ~ >128	0.5	32
	imipenem	0.25 ~ 64	1	32
	ceftazidime	0.5 ~ 128	8	64
	gentamicin	2 ~ >128	16	>128
	minocycline	8 ~ >128	32	>128
Imipenem-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <sup>b</sup> (15)	pazufloxacin mesilate	0.25 ~ 1	0.25	1
	ofloxacin	1 ~ 8	2	4
	ciprofloxacin	0.125 ~ 1	0.25	1
	imipenem	16 ~ 32	16	32
	ceftazidime	4 ~ 64	64	64
	gentamicin	4 ~ 8	8	8
	minocycline	16 ~ 64	32	64
Gentamicin-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <sup>c</sup> (42)	pazufloxacin mesilate	0.125 ~ 128	0.5	32
	ofloxacin	1 ~ >128	4	>128
	ciprofloxacin	0.125 ~ >128	0.5	64
	imipenem	0.5 ~ 8	1	8
	ceftazidime	0.5 ~ 128	4	64
	gentamicin	16 ~ >128	128	>128
	minocycline	8 ~ >128	32	>128
Imipenem, gentamicin- resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <sup>b, c</sup> (19)	pazufloxacin mesilate	0.25 ~ 32	1	8
	ofloxacin	2 ~ >128	8	16
	ciprofloxacin	0.25 ~ 64	0.5	4
	imipenem	16 ~ 64	32	64
	ceftazidime	2 ~ 64	32	64
	gentamicin	16 ~ >128	16	>128
	minocycline	16 ~ 128	64	128
<i>Haemophilus influenzae</i> (60)	pazufloxacin mesilate	0.008 ~ 0.125	0.016	0.032
	ofloxacin	0.016 ~ 0.125	0.016	0.032
	ciprofloxacin	0.004 ~ 0.125	0.008	0.016
	imipenem	0.125 ~ 8	1	2
	ceftazidime	0.016 ~ 1	0.063	0.125
	gentamicin	0.125 ~ 8	2	4
	minocycline	0.063 ~ 4	0.25	1
<i>Moraxella catarrhalis</i> (50)	pazufloxacin mesilate	0.016 ~ 0.125	0.032	0.063
	ofloxacin	0.032 ~ 0.125	0.063	0.125
	ciprofloxacin	0.016 ~ 0.063	0.032	0.032
	imipenem	0.004 ~ 0.125	0.032	0.063
	ceftazidime	0.016 ~ 0.25	0.032	0.063
	gentamicin	0.016 ~ 0.125	0.125	0.125
	minocycline	0.063 ~ 1	0.125	0.125

a; Broth microdilution method, inoculum size: 10<sup>5</sup> CFU/ml (10<sup>4</sup> CFU/well) b; imipenem MIC ≥ 16 µg/ml  
c; gentamicin MIC ≥ 16 µg/ml

Table 1-5. Antibacterial activity of pazufloxacin mesilate and other agents against clinical isolates

Organism (Number of strains)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>		
		MIC range	50 %	90 %
<i>Clostridium difficile</i> (16)	pazufloxacin mesilate	6.25 ~ >200	6.25	>200
	ofloxacin	6.25 ~ >200	12.5	>200
	ciprofloxacin	6.25 ~ 200	12.5	200
	imipenem	6.25 ~ 200	12.5	200
	ceftazidime	50 ~ >200	50	>200
	gentamicin	25 ~ >200	100	>200
	minocycline	0.025 ~ 25	3.13	25
<i>Bacteroides fragilis</i> (30)	pazufloxacin mesilate	3.13 ~ 200	6.25	6.25
	ofloxacin	1.56 ~ 100	1.56	6.25
	ciprofloxacin	3.13 ~ 100	3.13	25
	imipenem	0.1 ~ 12.5	0.39	1.56
	ceftazidime	6.25 ~ >200	25	>200
	gentamicin	- ~ >200	>200	>200
	minocycline	0.05 ~ 12.5	1.56	3.13

a ; Agar dilution method, inoculum size :  $10^6$  CFU/ml

Table 2. Antibacterial activity of pazufloxacin mesilate, ofloxacin and ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* wild-type and quinolone resistant mutants

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )					
	PAO4009 (wild)	KH4023 ( <i>nfxA</i> )	KH4013E ( <i>nfxB</i> )	KH4014a ( <i>nfxC</i> )	PAO0969 (wild)	PAO6006 ( <i>nalB</i> )
pazufloxacin mesilate	0.25	8	1	4	0.25	4
ofloxacin	2	32	16	32	2	16
ciprofloxacin	0.25	4	4	4	0.25	4

Table 3. Uptake of pazufloxacin mesilate and ciprofloxacin in *Staphylococcus aureus* SA113

Drug	Uptake (ng/mg dry cell)	
	without CCCP	with CCCP
pazufloxacin mesilate	1.12 $\pm$ 0.115	0.983 $\pm$ 0.128
ciprofloxacin	7.55 $\pm$ 0.783	22.3 $\pm$ 0.519**

\*\* p < 0.01 vs without CCCP

> 200  $\mu\text{g/ml}$ であり、その値はMINOより高く、他の被験薬と明確な差は認められなかった。しかし、MIC<sub>50</sub>は6.25  $\mu\text{g/ml}$ であり、その値はMINOより大きかったが、OFLX, CPFX, IPM, CAZ, GMより小さかった。*B. fragilis*に対するPZFX mesilateのMIC<sub>90</sub>は6.25  $\mu\text{g/ml}$ であり、その値はIPM, MINOより大きかったがOFLXと同程度で、CPF, CAZ, GMより小さかった。

### 3. キノロン耐性 *P. aeruginosa* に対する抗菌力

親株 (PAO4009, PAO0969) に対するPZFX mesilateの抗菌力はCPFと同程度であり、OFLXより強かった (Table 2)。*nfxA* 変異株, *nfxC* 変異株および *nalB* 変異株に対する本薬のMICは親株に比べ16~32倍大きい値であったが、*nfxB* 変異株に対するMICは4倍であった。一方、OFLX, CPFのこれら4種類の変異株に対するMICは親株の8~16倍であり、*nfxB* 変異株に対するMICの上昇率も他の変異株の場合と同じであった。

### 4. 菌体内蓄積

*S. aureus* SA113に対するPZFX mesilateのMICは0.25  $\mu\text{g/ml}$ , CPFのMICは0.5  $\mu\text{g/ml}$ であった。*S. aureus* SA113におけるCPFの菌体内蓄積量は7.55ng/mg dry cellであり、CCCP添加により無添加に比べて約3倍 (22.3 ng/mg dry cell) に上昇した (Table 3)。一方、PZFX mesilateの菌体内蓄積量は1.12ng/mg dry cellであり、CCCPを添加しても菌体内蓄積量の増加は認められなかった。

### 5. 増殖曲線に及ぼす影響

*S. aureus* Smith, *E. coli* NIHJ JC-2および *P. aeruginosa* ATCC27853に対して、PZFX mesilate, OFLXおよびCPFの短時間殺菌力には濃度依存性が見られた (Fig. 2)。また、いずれの抗菌薬も1MIC以上の濃度で菌数減少や増殖抑制が見られた。特にPZFX mesilate, OFLXではいずれの菌株においても2MIC添加で3 log<sub>10</sub>CFU/ml



Table 4. Postantibiotic effect of pazufloxacin mesilate and other agents against *Klebsiella pneumoniae* 3K-25 and *Pseudomonas aeruginosa* KU-1

Organism	Antimicrobial agent	PAE (h)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3K-25	pazufloxacin mesilate	2.96
	ciprofloxacin	1.73
	imipenem	0.380
	ceftazidime	0.103
	gentamicin	1.23
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KU-1	pazufloxacin mesilate	2.85
	ciprofloxacin	2.09
	imipenem	1.83
	ceftazidime	0.0286
	gentamicin	1.73

以上菌数が減少した。

#### 6. PAE

*K. pneumoniae* 3K-25, *P. aeruginosa* KU-1 に対する PZFX mesilate, CPF, CAZ および GM の PAE を Table 4 に示す。

*K. pneumoniae* 3K-25 における各被験薬の PAE は、PZFX mesilate が最も強く (2.96 時間)、次いで CPF (1.73 時間)、GM (1.23 時間)、IPM (0.380 時間) であった。CAZ の PAE は最も弱かった (0.103 時間)。

*P. aeruginosa* KU-1 における各被験薬の PAE は、PZFX mesilate が最も強く (2.85 時間)、次いで CPF (2.09 時間)、IPM (1.83 時間)、GM (1.73 時間) であった。CAZ の PAE (0.0286 時間) は *K. pneumoniae* 3K-25 の場合と同様に最も弱かった。

#### 7. マウス実験感染モデルにおける治療効果

##### 1) 全身感染モデル

マウス全身感染モデルに対する PZFX mesilate と対照被験薬の ED<sub>50</sub> 値と 95% 信頼限界を Table 5 に示す。

*S. aureus* Smith に対する PZFX mesilate の ED<sub>50</sub> 値は 0.0154mg/mouse であり、IPM, GM より大きかったが、CPF, MINO と同程度で OFL, CAZ より小さかった。

DMPPC 耐性 *S. aureus* MRK5-6 に対する PZFX mesilate の ED<sub>50</sub> 値は 0.0421mg/mouse であり、GM, MINO より大きかったが、OFL, CPF, IPM, CAZ より小さかった。

*E. coli* C11 に対する PZFX mesilate の ED<sub>50</sub> 値は 0.00358 mg/mouse であり、CPF より大きかったが、OFL と同程度で、IPM, CAZ, GM, MINO より小さかった。

*K. pneumoniae* 3K-25 に対する PZFX mesilate の ED<sub>50</sub> 値は 0.0762mg/mouse であり、CPF より大きかったが、OFL, GM と同程度であり、IPM, CAZ, MINO より小さかった。

*P. aeruginosa* E7 に対する PZFX mesilate の ED<sub>50</sub> 値は 0.0821mg/mouse であり、CPF, IPM より大きか

ったが、OFL, CAZ, GM, MINO より小さかった。

GM 耐性 *P. aeruginosa* GPAK-15 に対する PZFX mesilate の ED<sub>50</sub> 値は 0.266mg/mouse であり、CPF, IPM と同程度で OFL, CAZ, GM, MINO より小さかった。

CAZ 耐性 *P. aeruginosa* PAK-51 に対する PZFX mesilate の ED<sub>50</sub> 値は 0.0996mg/mouse であり、CPF, IPM より大きかったが、OFL, CAZ, GM, MINO より小さかった。

IPM 耐性 *P. aeruginosa* IPAK-10 に対する PZFX mesilate の ED<sub>50</sub> 値は 0.139mg/mouse であり、IPM より大きかったが、CPF と同程度で OFL, CAZ, GM, MINO より小さかった。

IPM と GM 耐性 *P. aeruginosa* IGPAK-3 に対する PZFX mesilate の ED<sub>50</sub> 値は 0.406mg/mouse であり、被験薬中最も小さかった。

##### 2) 呼吸器感染モデル

*K. pneumoniae* 3K-25 によるマウス実験的呼吸器感染モデルに対する PZFX mesilate および対照被験薬の治療効果を Fig. 3 に示す。

PZFX mesilate を含め、いずれの被験薬投与群においても濃度依存的な肺内生菌数の減少が認められた。

0.125mg/mouse の PZFX mesilate 投与群の肺内生菌数は無治療群, CAZ 投与群より、また 0.5mg/mouse, 2mg/mouse 投与群の肺内生菌数は無治療群より有意に少なかった。さらに、2mg/mouse の PZFX mesilate 投与群の肺内生菌数はすべて検出限界以下であるのに対し、他の被験薬では CPF で 5/15 例、IPM で 11/15 例、CAZ で 8/15 例、GM で 3/15 例で 1~2 log<sub>10</sub>CFU/肺の菌が残存していた。

##### 3) 尿路感染モデル

*P. aeruginosa* KU-1 によるマウス実験的尿路感染モデルに対する PZFX mesilate および対照被験薬の治療効果を Fig. 4 に示す。

0.125mg/mouse の PZFX mesilate 投与群の腎内生

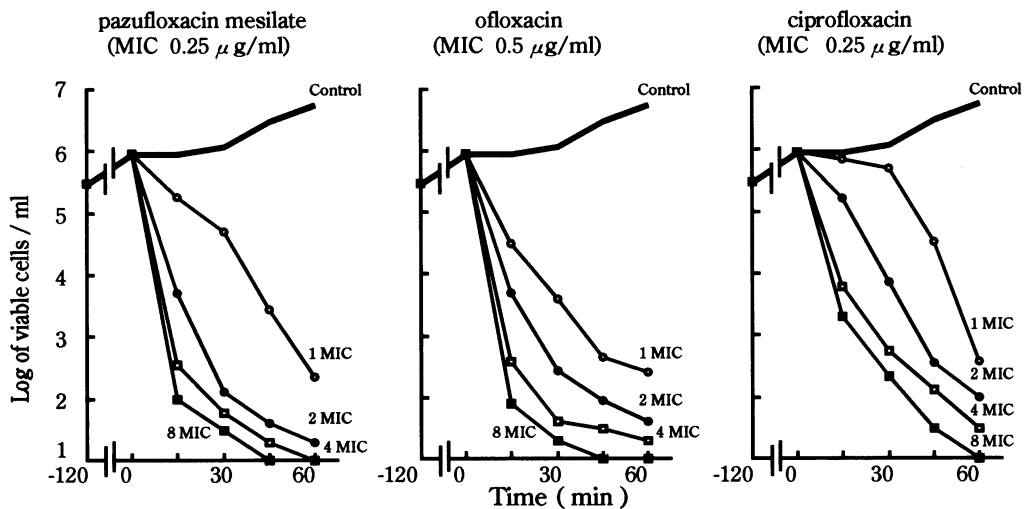
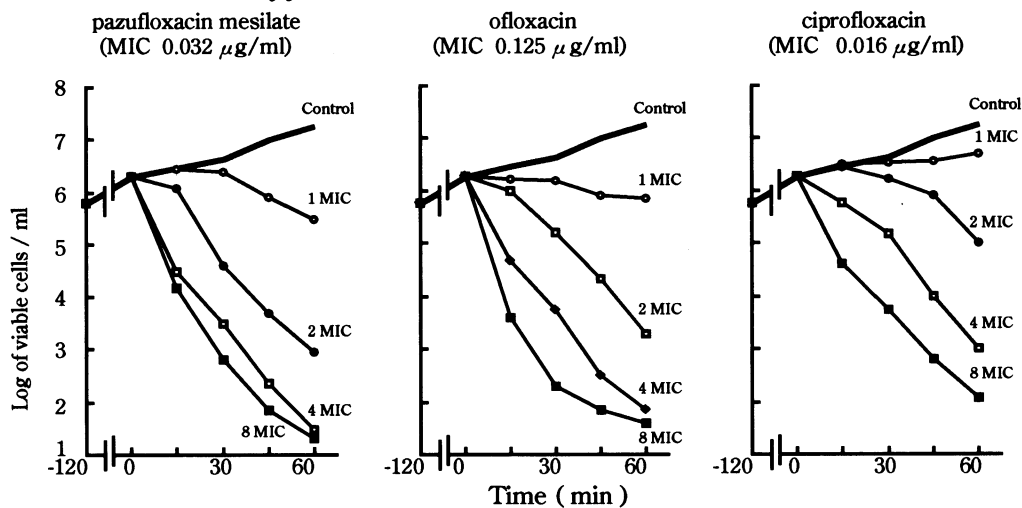
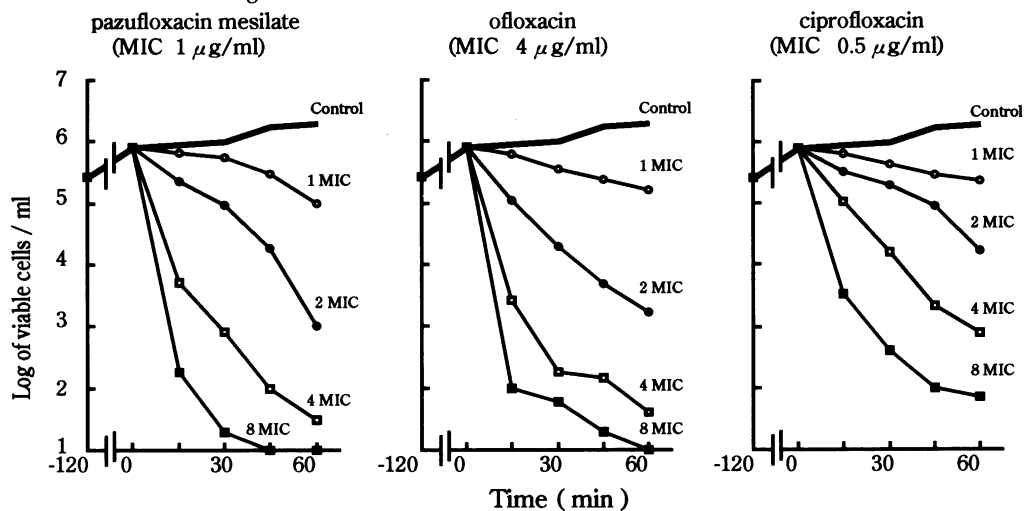
Table 5. Therapeutic effect of pazufloxacin mesilate against systemic infection in mice

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Drugs	MIC* ( $\mu\text{g/ml}$ )	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	95% confidence limit	
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	1.0 × 10 <sup>7</sup> 5% mucin	pazufloxacin mesilate	0.25	0.0154	0.00958	- 0.0288
		ofloxacin	0.5	0.0324	0.0209	- 0.0572
		ciprofloxacin	0.25	0.0151	0.00921	- 0.0292
		imipenem	0.032	0.00219	0.00129	- 0.00448
		ceftazidime	8	0.453	0.267	- 1.25
		gentamicin	0.25	0.00518	0.00320	- 0.0106
		minocycline	0.125	0.0175	0.0120	- 0.0255
<i>Staphylococcus aureus</i> MRK5-6 (MRSA)	6.9 × 10 <sup>6</sup> 5% mucin	pazufloxacin mesilate	0.25	0.0421	0.0316	- 0.0526
		ofloxacin	1	0.230	0.169	- 0.286
		ciprofloxacin	2	0.253	0.167	- 0.332
		imipenem	32	0.376	0.156	- 0.551
		ceftazidime	>128	>2.00	-	-
		gentamicin	1	0.0222	0.0110	- 0.0300
		minocycline	0.5	0.00658	0.00505	- 0.00826
<i>Escherichia coli</i> C11	6.0 × 10 <sup>7</sup> mucin -	pazufloxacin mesilate	0.008	0.00358	0.00289	- 0.00469
		ofloxacin	0.016	0.00410	0.00328	- 0.00506
		ciprofloxacin	0.004	0.00148	0.00120	- 0.00182
		imipenem	0.125	0.0255	0.0205	- 0.0311
		ceftazidime	0.032	0.00705	0.00546	- 0.00894
		gentamicin	0.5	0.00659	0.00414	- 0.00855
		minocycline	0.5	0.0134	0.0100	- 0.0197
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3K-25	7.5 × 10 <sup>4</sup> 5% mucin	pazufloxacin mesilate	0.032	0.0762	0.0595	- 0.0982
		ofloxacin	0.125	0.0951	0.0676	- 0.130
		ciprofloxacin	0.016	0.0488	0.0366	- 0.0611
		imipenem	0.5	0.349	0.241	- 0.453
		ceftazidime	0.25	0.284	0.183	- 0.370
		gentamicin	0.5	0.0485	0.00937	- 0.0786
		minocycline	2	>2.00	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E7	2.8 × 10 <sup>5</sup> 5% mucin	pazufloxacin mesilate	0.25	0.0821	0.0664	- 0.107
		ofloxacin	1	0.299	0.230	- 0.393
		ciprofloxacin	0.125	0.0315	0.0258	- 0.0378
		imipenem	1	0.0191	0.0150	- 0.0250
		ceftazidime	4	2.04	1.52	- 5.63
		gentamicin	8	0.395	0.303	- 0.481
		minocycline	64	>2.00	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> GPAK-15	1.5 × 10 <sup>6</sup> 5% mucin	pazufloxacin mesilate	0.5	0.266	0.205	- 0.353
		ofloxacin	4	1.45	1.11	- 2.90
		ciprofloxacin	0.5	0.228	0.178	- 0.323
		imipenem	1	0.453	0.255	- 3.14
		ceftazidime	2	>2.00	-	-
		gentamicin	>128	>4.00	-	-
		minocycline	32	>2.00	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAK-51	2.0 × 10 <sup>6</sup> 5% mucin	pazufloxacin mesilate	0.5	0.0996	0.0809	- 0.123
		ofloxacin	2	0.252	0.189	- 0.338
		ciprofloxacin	0.25	0.0429	0.0305	- 0.0563
		imipenem	1	0.0193	0.0109	- 0.0363
		ceftazidime	64	>2.00	-	-
		gentamicin	4	0.190	0.144	- 0.242
		minocycline	>128	>2.00	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IPAK-10	5.0 × 10 <sup>6</sup> 5% mucin	pazufloxacin mesilate	0.5	0.139	0.108	- 0.177
		ofloxacin	4	0.461	0.346	- 0.719
		ciprofloxacin	1	0.191	0.126	- 0.646
		imipenem	32	0.0950	0.0729	- 0.122
		ceftazidime	4	>2.00	-	-
		gentamicin	8	0.626	0.424	- 1.46
		minocycline	64	>2.00	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IGPAK-3	2.6 × 10 <sup>6</sup> 5% mucin	pazufloxacin mesilate	2	0.406	0.293	- 0.529
		ofloxacin	16	>2.00	-	-
		ciprofloxacin	2	0.748	0.571	- 0.990
		imipenem	32	0.821	0.496	- 1.29
		ceftazidime	4	>2.00	-	-
		gentamicin	>128	>4.00	-	-
		minocycline	64	>2.00	-	-

Animal: 4-weeks-old male ICR strain mice, 10 mice/group

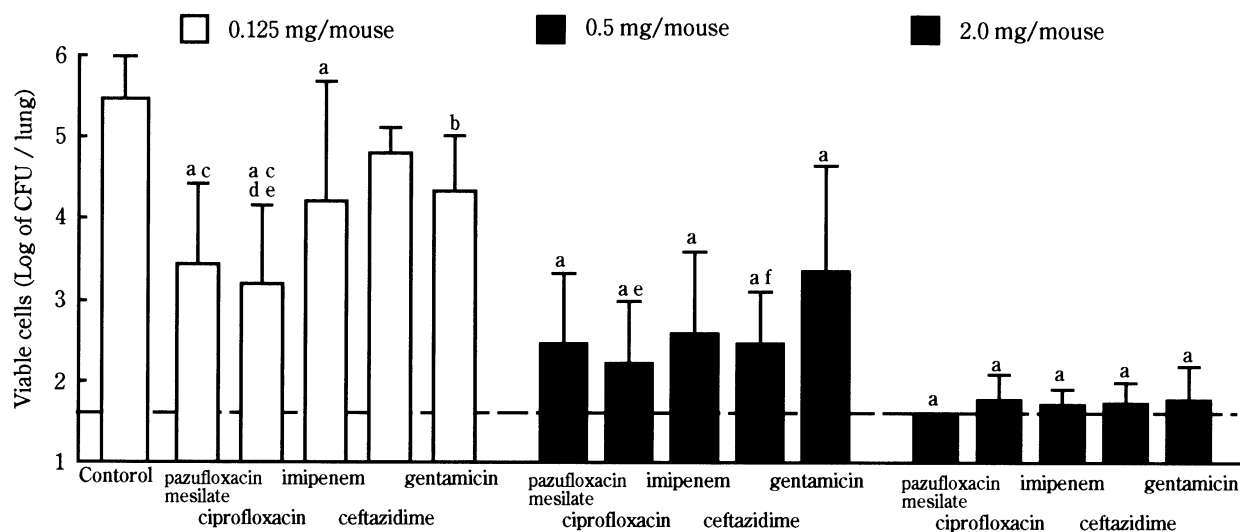
Therapy: s.c. administration at 1 h after infection

ED<sub>50</sub>: Calculated by Probit method\*10<sup>5</sup> CFU/ml

A. *Staphylococcus aureus* SmithB. *Escherichia coli* NIHJ JC-2C. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853

The initial inoculum size (zero time) against *Staphylococcus aureus* Smith, *Escherichia coli* NIHJ JC-2 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 were  $9.0 \times 10^5$ ,  $1.9 \times 10^6$  and  $8.0 \times 10^5$  CFU/ml, respectively.

Fig. 2. Bactericidal activities of pazufloxacin mesilate, ofloxacin and ciprofloxacin within 1 hr against *Staphylococcus aureus* Smith (A), *Escherichia coli* NIHJ JC-2 (B) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 (C).



Animal : 4-weeks-old male ICR strain mice, n=15.

Strain : *Klebsiella pneumoniae* 3K-25 : MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) : pazufloxacin mesilate (pasufloxacin) (0.032), ciprofloxacin (0.016), imipenem (0.5) ceftazidime (0.25), gentamicin (0.5).

Challenge dose :  $4.0 \times 10^6$  CFU/mouse.

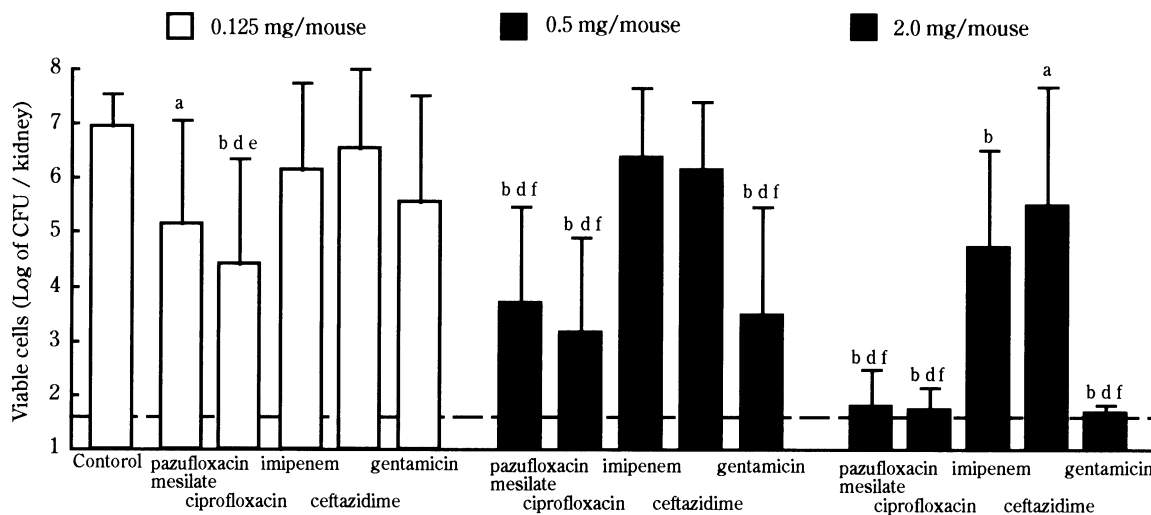
Therapy : Started at 24 h after infection, 0.125, 0.5 and 2 mg/mouse (s.c.)  $\times 2$  times/day for 3 days

Statistical analysis : Tukey (mean  $\pm$  S.D.).

a :  $p < 0.01$  vs Control b :  $p < 0.05$  vs Control c :  $p < 0.01$  vs ceftazidime

d :  $p < 0.05$  vs imipenem e :  $p < 0.01$  vs gentamicin f :  $p < 0.05$  vs gentamicin

Fig. 3. Therapeutic effect of pazufloxacin mesilate against experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* 3K-25.



Animal : 4-weeks-old female ICR strain mice, n=15.

Strain : *Pseudomonas aeruginosa* KU-1 : MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) : pazufloxacin mesilate (pazufloxacin) (0.5), ciprofloxacin (0.25), imipenem (1), ceftazidime (8), gentamicin (4).

Challenge dose :  $2.5 \times 10^7$  CFU/mouse.

Statistical analysis : Tukey (mean  $\pm$  S.D.).

a :  $p < 0.05$  vs Control b :  $p < 0.01$  vs Control c :  $p < 0.05$  vs ceftazidime

d :  $p < 0.01$  vs ceftazidime e :  $p < 0.05$  vs imipenem f :  $p < 0.01$  vs imipenem

Therapy : Started at 24 h infection, 0.125, 0.5 and 2 mg/mouse (s.c.)  $\times 2$  times/day for 3 days.

Fig. 4. Therapeutic effect of pazufloxacin mesilate against experimental urinary tract infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* KU-1 in mice.

菌数は無治療群より、また0.5mg/mouse, 2mg/mouse 投与群の腎内生菌数は無治療群, IPM, CAZ 投与群より有意に少なかった。

0.125, 0.5 mg/mouse の CAZ, IPM 投与群の腎内生菌数は無治療群との間に差が認められなかったが, 2 mg/mouse 投与群の腎内生菌数は無治療群より有意に少なかった。

### Ⅲ. 総括および考察

グラム陽性菌では, MSSA に対する PZFX mesilate の抗菌力は IPM より弱かったが CPFX と同程度であり, 他の対照薬より強い抗菌力を示した。特に現在, 治療上問題とされている MRSA に対する本薬の抗菌力 (MIC<sub>90</sub>: 16 μg/ml) は, 他の対照薬より強かった。

*Streptococcus* 属, *Enterococcus* 属に対する本薬の抗菌力は, IPM より弱かったが, OFLX と同程度であり, 他の対照薬より強かった。

グラム陰性菌に対する本薬の抗菌力は菌種により多少異なるものの, CPFX より劣るか同程度であり, 他の対照薬より強かった。特に IPM や GM 耐性 *P. aeruginosa* に対する本薬の抗菌力 (MIC<sub>90</sub>: 1 μg/ml ~ 32 μg/ml) は, OFLX, IPM, CAZ, GM, MINO より強かった。

以上のように本薬の抗菌力は CPFX と同程度であり, また作用メカニズムが他系統の注射薬と異なるため交差耐性が少ないことから, 既存薬に耐性の菌株に対しても強い抗菌活性が期待された。

実際, 本研究において MRSA, IPM や GM 耐性 *P. aeruginosa* を含む各種菌株による実験的マウス全身感染モデルに対する各抗菌薬の ED<sub>50</sub> 値はほぼ MIC の成績を反映しており, PZFX mesilate は強い感染防御効果を示した。さらに, 呼吸器感染, 尿路感染など局所感染モデルにおいて, PZFX mesilate はその MIC から予想される以上の強い治療効果を示した。以上の *in vitro*, *in vivo* の成績より, 本薬は既存注射薬が有効な細菌感染症および現在治療が困難な MRSA, IPM や GM 耐性 *P. aeruginosa* などの多剤耐性菌による感染症の治療薬にもなりうることが示唆された。

キノロン薬の主要な耐性機作として, DNA gyrase, topoisomerase IV など標的酵素の変異並びに薬物排出系の関与が知られている<sup>2)</sup>。

そこで, キノロン耐性部位が既知の *P. aeruginosa* を用いて抗菌力を測定したところ, PZFX mesilate の MIC は, DNA gyrase の変異した *nfxA* 変異株<sup>11-13)</sup>, 菌体外への薬剤排出が昂進した *nfxC*<sup>14)</sup> *nalB* 変異株<sup>11, 13)</sup> に対する抗菌力の低下レベルに比べて, *nfxB* 変異株<sup>11)</sup> に対する抗菌力の低下が少なかった。しかし, これら4種類の変異株に対する OFLX, CPFX の抗菌力の低下レベルはほぼ同じであった。

一方, グラム陽性菌のうち *S. aureus* では, DNA gyrase の変異による耐性化<sup>15-17)</sup> の他に, Proton motive force (PMF) により駆動する NorA により, 薬剤が菌体外に排出されることが知られている<sup>9, 18-21)</sup>。山田らは, *S. aureus* の *norA* 破壊株を用いて各キノロン薬の感受性を測定したところ, PZFX mesilate の活性本体である pazufloxacin (PZFX) の抗菌力は親株と *norA* 破壊株で変化がなかったことを報告している<sup>22)</sup>。本検討においても, *S. aureus* における被験薬の菌体内蓄積において, PZFX mesilate は CPFX と異なり, 脱共役剤である CCCP を添加しても, 菌体内蓄積量に差は認められなかった。

これらのことから, PZFX mesilate は OFLX, CPFX より菌体内からの薬剤排出の影響を受けにくい薬剤であると考えられた。

ニューキノロン系抗菌薬は β-ラクタム薬やアミノグリコシドと同様に殺菌的に作用することが知られている<sup>2)</sup>。本薬は *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* に対し濃度依存性の殺菌作用を示し, 短時間殺菌能が同程度の MIC を有する CPFX に較べてやや強かった。また本薬の PAE は他の被験薬より強かった。本薬の細菌学的特徴と投与後高い血清中濃度に達する体内動態の特性<sup>23)</sup> が, 局所感染モデルにおいて MIC から予想される以上の治療効果を示した要因の一つであると考えられた。

以上, PZFX mesilate は強い抗菌力と殺菌作用を示し, 既存広域注射剤にない特性を有することから臨床においても優れた効果が期待される薬剤であると考えられた。

### 文 献

- 1) 上田 泰: キノロン薬開発の世界の現況, キノロン薬第 I 版。ライフサイエンス: 378~381, 1991
- 2) Moellering Jr R C: Quinolone antimicrobial agents: Overview and conclusions. Quinolone antimicrobial agents (Second edition), American Society for Microbiology, Washington, D.C., 527~535, 1993
- 3) 安永幸二郎, 上野一恵, 渡邊邦友, 他: BAY q 3939 (注射用 Ciprofloxacin) の第 I 相臨床試験。基礎と臨床 31: 2433~2466, 1997
- 4) Domagala J M: Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. J Antimicrob Chemother 33: 685~703, 1994
- 5) Todo Y, Takagi H, Iino F, et al.: Pyridonecarboxylic acids as antibacterial agents. IX. Synthesis and structure-activity relationship of 3-substituted 10-(1-aminocyclopropyl)-9-fluoro-7-oxo-2, 3-

- dihydro-7H-pyrido [1, 2, 3-*de*] -1, 4-benzoxazine-6-carboxylic acids and their 1-thio and 1-aza analogues. Chem Pharm Bull 42 : 2569~2574, 1994
- 6) Iordanescu S: Recombinant plasmid obtained from two different, compatible staphylococcal plasmid. J Bacteriol 124 : 597~601, 1975
  - 7) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法改訂委員会: 微量液体希釈法によるMIC測定法(微量液体希釈法)-日本化学療法学会標準法-。Chemotherapy 38 : 102~105, 1990
  - 8) 嫌気性菌MIC測定法改訂委員会: 嫌気性菌の最小発育濃度(MIC)測定法。Chemotherapy 27 : 559~560, 1979
  - 9) Yoshida H, Bogaki M, Nakamura S, et al.: Nucleotide sequence and characterization of the *Staphylococcus aureus norA* gene, which confers resistance to quinolones. J Bacteriol 172 : 6942~6949, 1990
  - 10) 宮崎修一, 大野 章, 北矢 進, 他: 呼吸器感染における *H. influenzae* 及び *S. pneumoniae* の組織親和性と発症機序に関する実験的研究。感染症学雑誌 61 : 310~317, 1987
  - 11) Hirai K, Suzue S, Irikura T, et al.: Mutations producing resistance to norfloxacin in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 31 : 582~586, 1987
  - 12) Rella M, Hass D: Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* PAO to nalidixic acid and low levels to  $\beta$ -lactam antibiotics : mapping of chromosomal genes. Antimicrob Agents Chemother 22 : 242~249, 1982
  - 13) Robillard N J, Scarpa A: Genetic and physiological characterization of ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* PAO. Antimicrob Agents Chemother 32 : 535~539, 1988
  - 14) Fukuda H, Hosaka M, Hirai K, et al.: New norfloxacin resistance gene in *Pseudomonas aeruginosa* PAO. Antimicrob Agents Chemother 34 : 1757~1761, 1990
  - 15) Hopewell R, Oram M, Briesewits R, et al.: DNA cloning and organization of the *Staphylococcus aureus gyrA* and *gyrB* genes: close homology among gyrase proteins and implications for 4-quinolone action and resistance. J Bacteriol 172 : 3481~3484, 1990
  - 16) Sreedharan S, Oram M, Jensen B, et al.: DNA gyrase *gyrA* mutations in ciprofloxacin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*: close similarity with quinolone resistance mutations in *Escherichia coli*. J Bacteriol 172 : 7260~7262, 1990
  - 17) Sreedharan S, Petersen L R, Fisher L M: Ciprofloxacin resistance in coagulase-positive and negative Staphylococci: role of mutations at serine 84 in the DNA gyrase A protein of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Antimicrob Agents Chemother 35 : 2151~2154, 1991
  - 18) Neyfakh A A, Borsch C M, Kaatz G W: Fluoroquinolone resistance protein NorA of *Staphylococcus aureus* is a multidrug efflux transporter. Antimicrob Agents Chemother 37 : 128~129, 1993
  - 19) Ohshita Y, Hiramatsu K, Yoshida T: A point mutation in *norA* gene is responsible for quinolone resistance in *Staphylococcus aureus*. Biochem Biophys Res Commun 172 : 1028~1034, 1990
  - 20) Kaatz G W, Seo S M, Ruble C A: Efflux-mediated fluoroquinolone resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 37 : 1086~1094, 1993
  - 21) Hori S, Ohshita Y, Utsui Y, et al.: Sequential acquisition of norfloxacin and ofloxacin resistance by methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 37 : 2278~2284, 1993
  - 22) Yamada H, Kurose-Hamada S, Fukuda Y, et al.: Quinolone susceptibility of *norA*-disrupted *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 41 : 2306~2309, 1997
  - 23) 山城芳子, 大懸直子, 高畑正裕, 他: マウスおよびラットにおける pazufloxacin 注射薬の体内動態 - Ciprofloxacin および ceftazidime との比較。日化療会誌 47 (S-1) : 76~80, 1999

## Antibacterial activity of a new injectable quinolone pazufloxacin mesilate *in vitro* and *in vivo*

Junichi Mitsuyama, Shuichi Miyazaki, Yoshikazu Ishii,  
Tetsuya Matsumoto, Kazuhiro Tateda, Yasuko Kaneko  
and Keizo Yamaguchi

Department of Microbiology, Toho University, School of Medicine  
5-21-16 Ohmori-nishi, Ohta-ku, Tokyo 143-0015, Japan

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of pazufloxacin mesilate (PZFX mesilate), a new injectable quinolone, were compared with those of ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), imipenem (IPM), ceftazidime (CAZ), gentamicin (GM), and minocycline (MINO).

In gram-positive bacteria, the MIC<sub>50</sub>s of PZFX mesilate against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* ranged from 0.25 to 4  $\mu\text{g/ml}$ . The antibacterial activity of PZFX mesilate against methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) was the most potent (MIC<sub>50</sub>: 16  $\mu\text{g/ml}$ ) among the agents tested.

The antibacterial activity of PZFX mesilate against gram-negative bacteria including Enterobacteriaceae and IPM- and GM-resistant *Pseudomonas aeruginosa* was comparable to that of CPFX, and superior to that of the other agents.

When the MIC of PZFX mesilate for the parent strain was compared with the MIC of quinolone-resistant *P. aeruginosa* (*nfxA*, *nfxB*, *nfxC* and *nalB*), the increase in MIC for the *nfxB* mutant was lower than for the other mutants.

Uptake of PZFX mesilate by *S. aureus* was unaffected by the addition of carbonyl cyanide-*m*-chlorophenyl hydrazone (CCCP), in contrast to CPFX.

PZFX mesilate showed potent bactericidal activity in a short period, and it also showed a longer postantibiotic effect (PAE) at high drug concentrations and in short periods than the other agents.

PZFX mesilate showed a potent protective effect against systemic infection in mice caused by gram-positive and -negative bacteria, including MRSA, and IPM-, GM-resistant *P. aeruginosa*, which reflected its *in vitro* antibacterial activity. PZFX mesilate also showed a potent therapeutic effect against pulmonary and urinary infection in mice, that exceeded expectations based on the MIC.