

새로운 퀴놀론계 항균제 DWQ-013의 항균작용

유영효[#] · 박남준 · 김병오 · 최문정 · 심점순 · 강태충 · 이재욱 · 김대영*

(주) 대웅제약 중앙연구소, *순천향대학교 화학과

(Received February 14, 1994)

In vitro and in vivo Antibacterial Activities of the New Quinolone, DWQ-013

Young Hyo Yu[#], Nam Jun Park, Byung O Kim, Moon Jung Choi, Jeom Soon Shim,
Tae Chung Kang, Jae Wook Lee and Dae Young Kim*
R&D Center, Dae Woong Pharmaceutical Co., Ltd. 223-23, Sangdaewon-Dong,
Sungnam, Kyunggi-Do, 462-120, Korea

*Department of Chemistry, Soonchunhyang University, Onyang P.O. Box 97, Chungnam 336-600, Korea

Abstract—In vitro and in vivo antibacterial activities of DWQ-013(1-cyclopropyl-6,8-difluoro-7-(3-methylthiomethylpyrrolidinyl)-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoliniccarboxylic acid), a new fluoroquinolone antibacterial agent, were compared with those of ciprofloxacin, sparfloxacin and ofloxacin against aerobic and anaerobic standard strains and clinical isolates. DWQ-013 had a broad spectrum and potent antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. The antibacterial activity of DWQ-013 against *Staphylococcus aureus* was equal to that of sparfloxacin(SPFX) and superior to those of ciprofloxacin(CPFX). The antibacterial activity against Gram-negative bacteria was slightly lower than those of ciprofloxacin and sparfloxacin. MIC of DWQ-013 against *Pseudomonas aeruginosa*(0.781~1.563 µg/ml) was usually equal to that of sparfloxacin(0.781 µg/ml) and was inferior to that of ciprofloxacin(0.098 µg/ml). The number of viable cells was decreased rapidly after addition of DWQ-013 at concentration of 1~2 folds of MIC.

Keyword □ Quinolone, antibacterial agent, DWQ-013, MIC, MBC, ED₅₀, Viable cells, Killing curve, Morphological change.

1962년 nalidixic acid^{1,2)}의 발견으로, 그램음성균 감염증, 특히 이들에 의한 요로감염증에 우수한 치료제로 도입되었으나, 곧 녹농균을 비롯한 여러균주 들에 대한 내성출현을 가져왔다. 그후, 새로운 퀴놀론계 항균제³⁾ 개발을 위한 연구가 계속 진행되어, 70년대에 이르러 oxolinic acid, cinoxacin, pipemidic acid⁴⁾ 등의 개발로 nalidixic acid의 단점을 보완할 수 있게 되었으며, 거듭되는 연구결과로 80년대에 이르러서는 enoxacin(ENX), norfloxacin(NFLX), ofloxacin(OFLX), ciprofloxacin(CPFX)^{5,6)} 등 제3, 4세대 세파로스포린계 항균제와 동등 이상의 항균력을 가

지면서, 경구복용 가능한 장점을 가지는 우수한 퀴놀론계 항균요법 시대를 맞이하게 되었다. 이들은 화학구조 중 퀴놀린 또는 나프티리딘 모핵의 6위치에 fluorine, 7위치에 piperazine^{7,8)}을 가지는 것으로, 종래의 퀴놀론계 항균제에 비하여 보다 우수한 항균력을 가지며 항균범위도 보다 넓어지게 되었다.

그러나 현재 사용되고 있는 퀴놀론계 항균제들은 그램음성균에 대해서는 우수한 항균력을 나타내지만 그램양성균에는 항균력이 떨어지며, *Bacteroides spp.* *Clostridium spp.* 등과 같은 혐기성 세균에 대해서는 항균력이 크게 떨어지는 문제점이 대두되고 있다.

따라서 국내외적으로 이를 극복하기 위한 연구가 진행되고 있으며, 본 저자 등은 퀴놀론 카르복실산

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

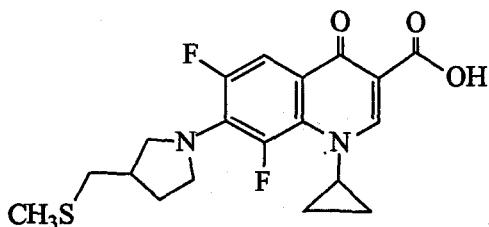


Fig. 1—Chemical structure of DWQ-013.

모핵의 7위치에 여러가지 치환체를 도입하여 합성해 본 결과, 메틸치오메틸피롤리딘을 치환체로 도입한 DWQ-013(1-cyclopropyl-6,8-difluoro-7-(3-methylthiomethylpyrrolidinyl)-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline carboxylic acid)⁹⁾이 그람음성균 뿐만 아니라 그람양성균(특히, 황색포도상구균)에 대한 항균력이 우수하고 협기성 세균에 대한 항균력도 우수하였기에, 현재 개발되어 시판되고 있거나 개발진행 중인 퀴놀론계 항균제중 가장 우수한 CPFX, SPFX 및 OFLX와 비교 실험한 결과를 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

시험균주

표준균주 20균주와 OFLX내성균주 36균주 및 임상에서 분리한 *Staphylococcus aureus* 46균주, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) 18균주, *Streptococcus pneumoniae* 7균주, *Escherichia coli* 52균주, *Klebsiella pneumoniae* 31균주, *Salmonella spp.* 3균주, *Morganella morganii* 6균주, *Enterobacter cloacae* 12균주, *Enterobacter aerogenes* 6균주, *Proteus mirabilis* 12균주, *Pseudomonas aeruginosa* 27균주, *Serratia marcescens* 12균주, *Peptostreptococcus spp.* 6균주, *Clostridium spp.* 4균주, *Bacteroides spp.* 4균주, *Fusobacterium spp.* 3균주를 사용하였다.

사용약제

DWQ-013, sparfloxacin(SPFX) 및 ofloxacin(OFLX)은 본 연구소에서 합성한 것을 사용하였으며, ciprofloxacin(CPFX)은 한국 Bayer에서 공급받았다.

균주의 배양

항균력 측정에는 Mueller-Hinton 한천 배지(MHA, Difco cat. No. 0252-01-4)를 사용하였으며, 각종 균

배양을 위한 액체배지로는 Fleisch-extract broth(FEB, beef extract 1%, peptone 1%, NaCl 0.3%, Na₂HPO₄·12H₂O 0.2%, pH 7.4~7.5)를 사용하였다. *Streptococcus spp.*는 배지에 10% horse serum(또는 5% sheep blood)을 첨가하여 배양하였다.

최소 발육저지 농도(MIC)의 측정

최소 발육저지 농도(Minimum inhibitory concentration; MIC)는 일본화학요법학회 표준법¹⁰⁾에 준하여 한천평판 회석법으로 측정하였다. Fleisch extract broth에 37°C, 18시간 동안 배양한 균액을 10⁷ cfu/ml이 되도록 회석한 후, 최고농도 100 µg/ml에서 최저농도 0.002 µg/ml까지 2배 계단회석한 항생물질을 함유한 Mueller-Hinton 한천 배지에 조제한 균회석액을 자동접종기(MIC-2000, Dynatech)을 이용하여 접종한 뒤 37°C, 18시간 배양한 후 균의 성장을 관찰할 수 없는 최소 농도를 최소발육저지 농도(MIC)로 하였다.

협기성균주에 대한 항균력

협기성균주에 대한 MIC 측정은 일본화학요법학회 협기성균 MIC측정법¹¹⁾에 준하여 각 농도의 약제함유배지(GAM-한천 배지)에 균을 접종하여 37°C 협기성균 배양기에서 24시간 배양하여 MIC를 측정하였다. 균접종 등 모든 조작은 협기적 조건에서 실시하였다.

살균작용

MIC/MBC(minimum bactericidal concentration) 측정—*S. aureus*(2균주), *E. coli*(2균주), MRSA(3균주) 균주를 사용하여 MIC/MBC을 측정하였다.

Mueller-Hinton 액체배지(MHB)에 37°C에 18시간 시험균주를 전배양한 후, MHB를 사용하여 2단계로 계단회석한 항생제를 함유한 시험관내에 접종한다. 37°C에서 18시간 배양한 후, 육안으로 혼탁의 유무를 관찰하여 MIC 값을 정하고, MIC 이상의 농도 배양액을 MHB에 접종하여, 37°C에서 24시간 배양후, 균의 발육유무를 판정하였다.

증식곡선에 미치는 영향—본 시험은 전 배양한 *S. aureus* Smith, *E. coli* TEM, MRSA 5216 균액을 Fleisch-extract broth(FEB)로 회석하여 진탕 배양하고 1시간 후에 MIC치의 ±2단계 농도의 약제를 처리하여 약제작용 30분, 1시간, 2시간, 4시간 후에 생균수를

Table 1 - *In vitro* antibacterial activities of DWQ-013 and comparative drugs against Gram(+) and Gram(-)bacteria

Strains	M.I.C.($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
	DWQ-013	SPFX	CPFX
<i>Streptococcus pyogenes</i> A308*	0.391	0.391	1.563
<i>Streptococcus pyogenes</i> A77*	0.195	0.391	0.391
<i>Streptococcus faecium</i> MD8b*	0.195	0.195	0.781
<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.002	0.002	0.098
<i>Staphylococcus aureus</i> 285	0.002	0.013	0.195
<i>Staphylococcus aureus</i> 503	0.002	0.007	0.195
<i>Escherichia coli</i> O 55	0.007	0.002	0.002
<i>Escherichia coli</i> DC 0	1.563	0.098	0.049
<i>Escherichia coli</i> DC 2	0.195	0.025	0.025
<i>Escherichia coli</i> TEM	0.025	0.002	0.013
<i>Escherichia coli</i> 1507E	0.049	0.013	0.013
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	0.781	0.781	0.098
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	1.563	0.781	0.098
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	0.781	0.391	0.098
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	0.013	0.049	0.098
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.098	0.025	0.013
<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	0.098	0.049	0.098
<i>Klebsiella aeruginosa</i> 1522E	0.391	0.025	0.049
<i>Enterobacter cloacae</i> P99	0.049	0.013	0.007
<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	0.025	0.013	0.004

*: MHA+10% horse serum

Table 2 - *In vitro* antibacterial activities of DWQ-013 and comparative drugs against ofloxacin-resistant strains

ofloxacin-resistant strains	Antibiotic	M.I.C.($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
		MIC ₉₀	MIC range
<i>Staphylococcus aureus</i> (9)	DWQ-013	1.563	0.781 - 1.563
	Ciprofloxacin	12.5	12.5 - 100
	Sparfloxacin	3.125	3.125 - 25
	Ofloxacin	50	12.5 - 100
<i>Streptococcus epidermidis</i> (7)	DWQ-013	3.125	1.563 - 6.25
	Ciprofloxacin	100	50 - 100
	Sparfloxacin	12.5	6.25 - 12.5
	Ofloxacin	6.25	1.563 - 50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (3)	DWQ-013	6.25	6.25
	Ciprofloxacin	1.563	1.563
	Sparfloxacin	25	1.563 - 25
	Ofloxacin	100	50 - 100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (11)	DWQ-013	>100	3.125 - >100
	Ciprofloxacin	6.25	0.781 - 50
	Sparfloxacin	25	3.125 - >100
	Ofloxacin	25	6.25 - 100
<i>Serratia spp.</i> (6)	DWQ-013	>100	12.5 - <100
	Ciprofloxacin	6.25	1.563 - 6.25
	Sparfloxacin	>100	25 - >100
	Ofloxacin	6.25	3.125 - 6.25

측정하였다.

전신감염동물에 대한 치료 효과

보통 한천평판배지에 시험균주를 20시간 증식 후, 집균하여 소정의 균량을 생리 식염수에 희석하여 ICR계 수컷 생쥐(체중 22±2 g)의 복강내에 접종하였다. 감염 1시간 후에 경구로 DWQ-013, CPFX을 투여하여 7일간 생존유무를 관찰하여 Litchfield-Wilcoxon method로 ED₅₀치를 산출하였다.

형태 변화 관찰

전 배양한 *E. coli* 029, *S. aureus* Smith 균액에 약제를 처리하여 2시간 후에 균액을 slide glass 위에 떨어뜨려 자연건조시키고, 고정하여 crystal violet 염색액으로 30초 동안 염색하여 자연건조시킨 후 광학현미경으로 균의 형태를 관찰하였다.

실험결과

표준균주에 대한 항균력

DWQ-013의 표준균주에 대한 항균력을 CPFX, SPFX과 비교한 결과를 Table 1에 나타내었다. DWQ-013은 Table 1에서의 결과와 같이 그람음성균과 그

Table 3—*In vitro* antibacterial activities of DWQ-013 and comparative drugs against clinical isolates

Strains	Antibiotic	M.I.C.($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Staphylococcus aureus</i> (46)	DWQ-013	0.025	0.025
	Ciprofloxacin	0.098	0.098
	Sparfloxacin	0.098	0.195
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (7)	DWQ-013	1.563	12.5
	Ciprofloxacin	6.25	25
	Sparfloxacin	0.781	3.125
MRSA* (18)	DWQ-013	<0.025	<0.025
	Ciprofloxacin	0.195	1.563
	Sparfloxacin	0.098	0.195
<i>Escherichiae coli</i> (52)	DWQ-013	0.391	6.25
	Ciprofloxacin	0.025	0.098
	Sparfloxacin	0.025	0.781
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (31)	DWQ-013	0.781	0.781
	Ciprofloxacin	0.025	0.098
	Sparfloxacin	0.098	0.195
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27)	DWQ-013	3.125	>100
	Ciprofloxacin	0.391	12.5
	Sparfloxacin	3.125	25
<i>Enterobacter cloacae</i> (12)	DWQ-013	0.391	1.563
	Ciprofloxacin	<0.025	<0.025
	Sparfloxacin	0.098	0.098
<i>Proteus mirabilis</i> (12)	DWQ-013	0.391	0.391
	Ciprofloxacin	<0.025	<0.025
	Sparfloxacin	0.781	1.563
<i>Morganella morganii</i> (6)	DWQ-013	0.391	0.391
	Ciprofloxacin	<0.025	<0.025
	Sparfloxacin	0.195	0.391
<i>Enterobacter aerogenes</i> (6)	DWQ-013	0.781	1.563
	Ciprofloxacin	<0.025	0.098
	Sparfloxacin	0.195	3.125
<i>Serratia marcescens</i> (12)	DWQ-013	3.125	3.125
	Ciprofloxacin	0.098	0.195
	Sparfloxacin	1.563	3.125
<i>Salmonella spp.</i> (3)	DWQ-013	0.391	0.391
	Ciprofloxacin	<0.025	<0.025
	Sparfloxacin	0.195	0.391

*: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

그람양성균에 대해서 광범위한 항균력을 가진 것으로 나타났다. 그람양성균인 *S. aureus*, *S. pyogenes*에 대해서 DWQ-013은 0.002~0.391 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 CPFX와 동등하거나 우수한 항균력을 보였고, CPFX보다는 2~64배 우수한 항균력을 보였다. 또한 그람음성균에 대하여도 DWQ-013은 우수한 항균력을 보여 *E. coli*,

Enterobacter, *Salmonella* 등 각종 세균에 대하여 CPFX, SPFX과 거의 동등한 항균력을 나타내었다. 한편 *P. aeruginosa*에 대한 DWQ-013의 MIC치는 0.013~1.563 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 SPFX과 거의 동등한 항균력을 가지고 있으나 CPFX보다 항균력이 2~16배 떨어지는 것으로 나타났다.

Table 4-In vitro antibacterial activities of DWQ-013 and ciprofloxacin against anaerobic strains

Strains	M.I.C.($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	DWQ-013	CPFX
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 2733	0.195	0.781
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 29328	0.195	0.195
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> ATCC 14963	0.391	0.781
<i>Peptostreptococcus prevotii</i> ATCC 9321	0.781	0.781
<i>Streptococcus intermedius</i> GAI 1157	0.391	0.781
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827	0.195	0.391
<i>Propionibacterium granulosum</i> ATCC 25564	0.195	0.391
<i>Eubacterium limosum</i> ATCC 8486	0.195	0.781
<i>Clostridium difficile</i> ATCC 17859	1.563	6.25
<i>Clostridium perfringens</i>	0.049	0.195
<i>Clostridium tetani</i>	0.098	0.391
<i>Clostridium botulinum</i> type A	0.098	0.049
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	1.563	3.125
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	0.781	3.125
<i>Bacteroides distasonis</i> Ju-11-1	3.125	12.5
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> WAL 3304	1.563	12.5
<i>Fusobacterium mortiferum</i> 2507	3.125	1.563
<i>Fusobacterium necrophorum</i> S-45	1.563	0.781
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25568	0.049	1.563
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	<0.007	0.025
<i>Capnocytophaga gingivalis</i> ATCC 33624	<0.007	0.049

Medium: GAM agar

OFLX내성균주에 대한 항균력

DWQ-013의 OFLX-내성균주인 *S. aureus*(9균주), *S. epidermidis*(7균주), *P. aeruginosa*(11균주), *Serratia spp.*(6균주), *Klebsiella pneumoniae*(3균주)에 대한 감수성 분포는 Table 2에 나타내었다. *S. aureus*에 대한 DWQ-013의 MIC₉₀은 1.563 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 CPFX보다 8배, SPFX보다 2배, OFLX보다 32배 우수하였으며, *S. epidermidis*에 대한 DWQ-013의 MIC₉₀은 3.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 CPFX보다 32배, SPFX보다 4배, CPFX보다 2배 우수하였다. 그러나 *P. aeruginosa*와 *Serratia spp.*에 대해서는 대조물질보다 항균력이 떨어지는 것으로 나타났다.

임상분리균주에 대한 감수성

각종 임상분리균주에 대한 DWQ-013의 MIC₅₀ 및 MIC₉₀치는 Table 3에 나타내었다. DWQ-013의 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)에 대한 MIC₅₀은 0.025 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하로 CPFX보다 8배 이상,

SPFX보다 4배 이상 우수한 항균력을 나타내었다. 그람음성균에서 *E. coli*(52균주), *K. pneumoniae*(31균주), *P. aeruginosa*(27균주), *E. aerogenes*(6균주), *Serratia marcescens*(12균주)에 대한 DWQ-013의 MIC₅₀은 0.391~3.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 대조약물인 CPFX, SPFX과 동등하거나 다소 항균력이 떨어지는 것으로 나타났다.

협기성 균주에 대한 항균력

협기성 균주인 *Peptostreptococcus spp.*(6균주), *Clostridium spp.*(4균주), *Bacteroides spp.*(4균주), *Fusobacterium spp.*(3균주) 등에 대한 항균력 결과는 Table 4와 같다. DWQ-013의 MIC₉₀치는 대체로 0.049~3.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 대조물질인 CPFX보다 2~8배 항균력이 우수한 것으로 나타났다.

살균작용

MIC/MBC-DWQ-013에 대한 MIC와 MBC 결과는 Table 5와 같다. DWQ-013의 MIC, MBC 결과는

Table 5—Comparison of MIC and MBC of DWQ-013 and Ciprofloxacin to *S. aureus*, MRSA and *E. coli*

Strains	DWQ-013		CPFX	
	MIC ^a	MBC ^b	MIC	MBC
<i>S. aureus</i> FDA 209P	0.004	0.049	0.098	6.25
<i>S. aureus</i> Smith	0.004	0.013	0.098	0.195
MRSA 57	<0.004	0.049	0.391	6.25
MRSA 5113	0.391	6.25	50	>100
MRSA 5216	0.391	3.125	25	>100
<i>E. coli</i> No. 29	0.195	0.781	0.025	0.195
<i>E. coli</i> KP	0.195	0.391	0.007	0.049

Broth dilution method, Inoculum size: 10^5 cfu/ml

a: Minimum inhibitory concentration

b: Minimum bactericidal concentration

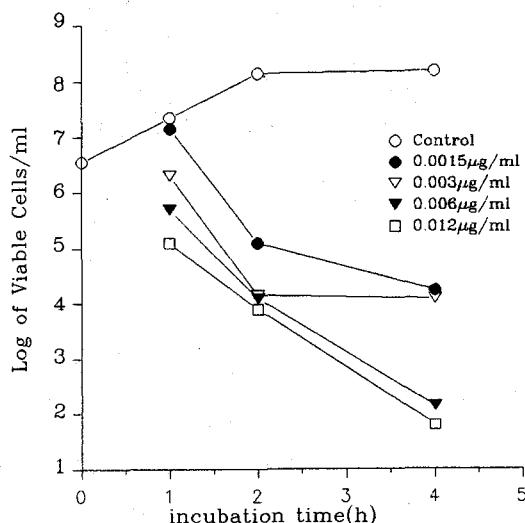


Fig. 2—Effect of DWQ-013 on Viability of *S. aureus* Smith(MIC: 0.06 µg/ml).

큰 차이가 없고, 특히 그람양성균에서는 대조물질인 CPFX보다 MBC치가 4배에서 최고 64배 이상 살균작용이 우수한 것으로 나타났다.

증식곡선에 미치는 영향—*S. aureus* Smith, *E. coli* KP, MRSA 5216을 사용하여 증식곡선에 대한 DWQ-013의 효과를 시험하였다(Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4). DWQ-013의 *S. aureus* Smith에 대한 살균작용에 관하여 검토한 결과 약제 투여 60분부터 0.0015 µg/ml 농도 이상에서 살균작용이 관찰되었다. *E. coli* KP에 대한 DWQ-013의 살균작용은 0.049 µg/ml에서는 발견하지

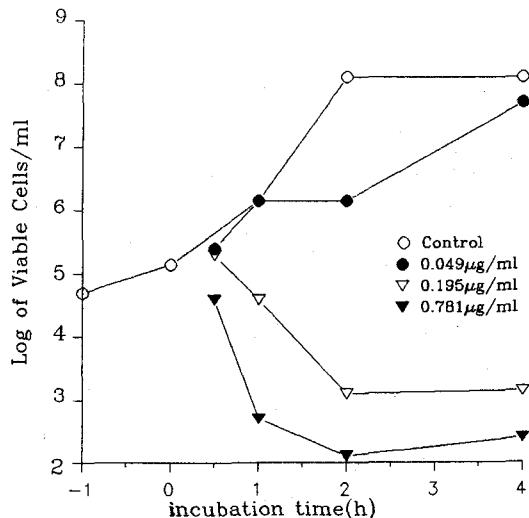


Fig. 3—Effect of DWQ-013 on Viability of *E. coli* KP (MIC: 0.195 µg/ml).

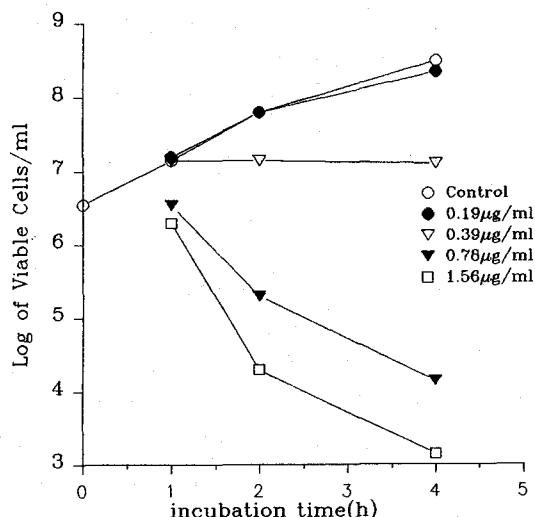


Fig. 4—Effect of DWQ-013 on Viability of MRSA 5216 (MIC: 0.391 µg/ml).

못했으나 0.195 µg/ml에서는 생균수가 현저히 감소하였다. 또한 MRSA 5216에 대한 살균작용은 약제농도가 0.78 µg/ml 이상에서 나타났다.

Horse serum에 의한 영향 평가—표준균주들을 이용하여 horse serum에 대한 DWQ-013의 항균력을 평가한 결과는 Table 6에 나타내었다. horse serum 농도가 10%, 25%로 증가함에 따라 DWQ-013의 항균력은 2배 이상 떨어지나 CPFX는 horse serum

Table 6-Influence of horse serum on the antibacterial activity of DWQ-013

Strains	serum conc.	M.I.C.(μg/ml)			
		CPFX		DWQ-013	
		10 ⁶ cfu/ml	10 ⁸ cfu/ml	10 ⁶ cfu/ml	10 ⁸ cfu/ml
<i>Streptococcus spp.</i> (3)	serum	0%	0.098-0.391	0.195-0.391	0.049-0.195
		10%	0.391-1.563	0.781-1.563	0.098-0.781
		25%	0.195-1.563	0.391-1.563	0.781-3.125
<i>Staphylococcus spp.</i> (3)	serum	0%	0.098-0.391	0.195-0.781	0.007-0.025
		10%	0.195-0.391	0.391-1.563	0.025-0.049
		25%	0.098-0.391	0.195-1.563	0.195-0.391
<i>Escherichiae coli</i> (5)	serum	0%	0.004-0.098	0.004-0.195	0.049-1.563
		10%	0.004-0.098	0.004-0.195	0.781-6.25
		25%	0.004-0.098	0.004-0.098	1.563-12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (4)	serum	0%	0.098-0.195	0.195-0.781	0.391-1.563
		10%	0.098-0.195	0.195-0.781	0.781-6.25
		25%	0.098-0.195	0.098-0.391	1.563-12.5
<i>Salmonella typhimurium</i>	serum	0%	0.007	0.013	0.195
		10%	0.007	0.013	0.391
		25%	0.007	0.007	0.391
<i>Klebsiella spp.</i> (2)	serum	0%	0.004-0.013	0.013-0.025	0.098-0.195
		10%	0.004-0.013	0.013-0.025	0.098-0.781
		25%	0.007	0.007-0.013	0.195-1.563
<i>Enterobacter cloacae</i> (2)	serum	0%	0.013-0.025	0.025-0.049	0.195
		10%	0.013-0.025	0.025-0.049	0.391
		25%	0.013-0.025	0.013-0.025	0.319-1.563

*: MHA + 10% horse serum

농도에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

전신감염동물에 대한 치료 효과-생쥐 감염방어 실험으로 ED₅₀을 산출하기 위하여 DWQ-013의 *in vivo* 항균력을 대조약물과 비교하였다(Table 7). 그람양성균인 *S. aureus* Smith, *S. aureus* giorgio 및 *S. pyogenes* A77에 대해서 DWQ-013은 대조물질인 CPFX보다 ED₅₀치가 2배에서 최고 8배 우수하였다. 그람음성균인 *E. coli* 078과 *P. aeruginosa* E-2에 대한 DWQ-013은 대조물질인 CPFX보다 ED₅₀치가 4~20배 떨어지는 것으로 나타났다.

형태 변화 관찰-*E. coli* 029에 대해서 DWQ-013을 처리하여 배양 2시간 후, 현미경으로 관찰한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 0.049 μg/ml 이상의 농도에서 균체의 길이가 늘어나는 것이 관찰되었으며, 0.195 μg/ml 농도 이상에서는 신장된 세포에 bulge가 형성되어 균이 사멸되는 것이 관찰되었다. *S. aureus* Smith에 대한 형태관찰은 Fig. 6에 나타내었다. DWQ-

Table 7-Protective effects of DWQ-013 and Ciprofloxacin in mice

Strains	Drug	Challenge dose (cfu/mouse)	MIC (μg/ml)	ED ₅₀ (mg/kg)
<i>S. aureus</i> Smith	DWQ-013	3.8×10^6	0.006	2.70
	CPFX		0.05	11.03
<i>S. aureus</i> giorgio	DWQ-013	9.0×10^5	0.002	12.38
	CPFX		0.195	>100
<i>S. pyogenes</i> A77	DWQ-013	1.5×10^3	0.098	>50
	CPFX		0.391	>100
<i>E. coli</i> 078	DWQ-013	6.0×10^6	0.013	>50
	CPFX		0.007	2.41
<i>P. aeruginosa</i> E-2	DWQ-013	7.2×10^7	1.563	>100
	CPFX		0.781	24.57

Calculated by Litchfield-Wilcoxon method(95% Confidence limits), P<0.05. Drugs were administrated orally to mice at 1 h after infection.

Mucin was added at 5% of final concentration.

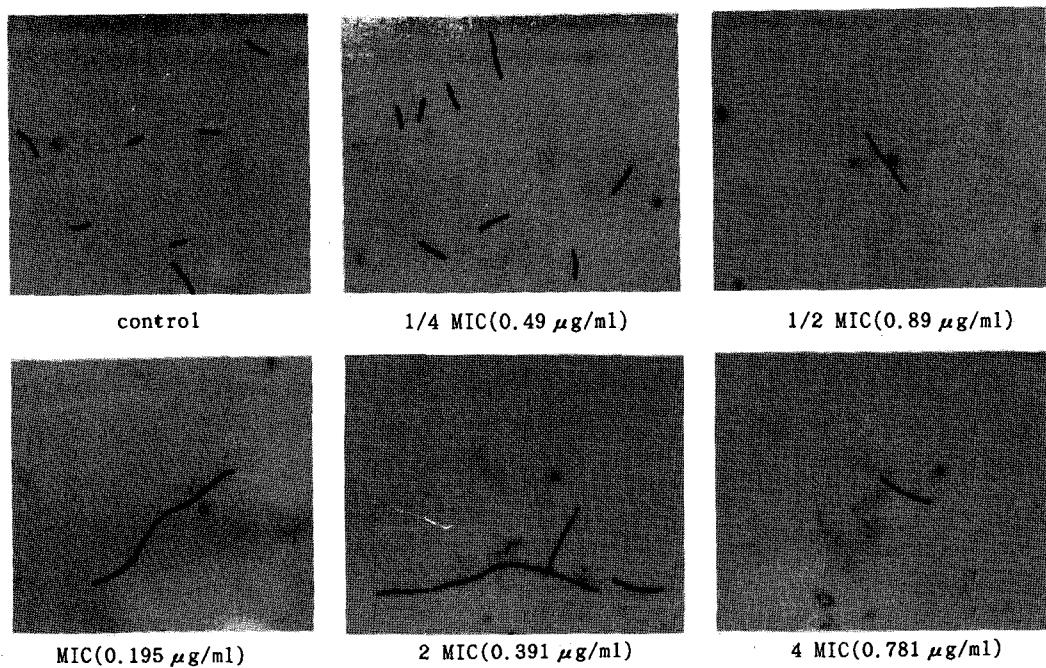


Fig. 5—Microscopic observation of *E. coli* 029 exposed to DWQ-013 ($\times 1000$).

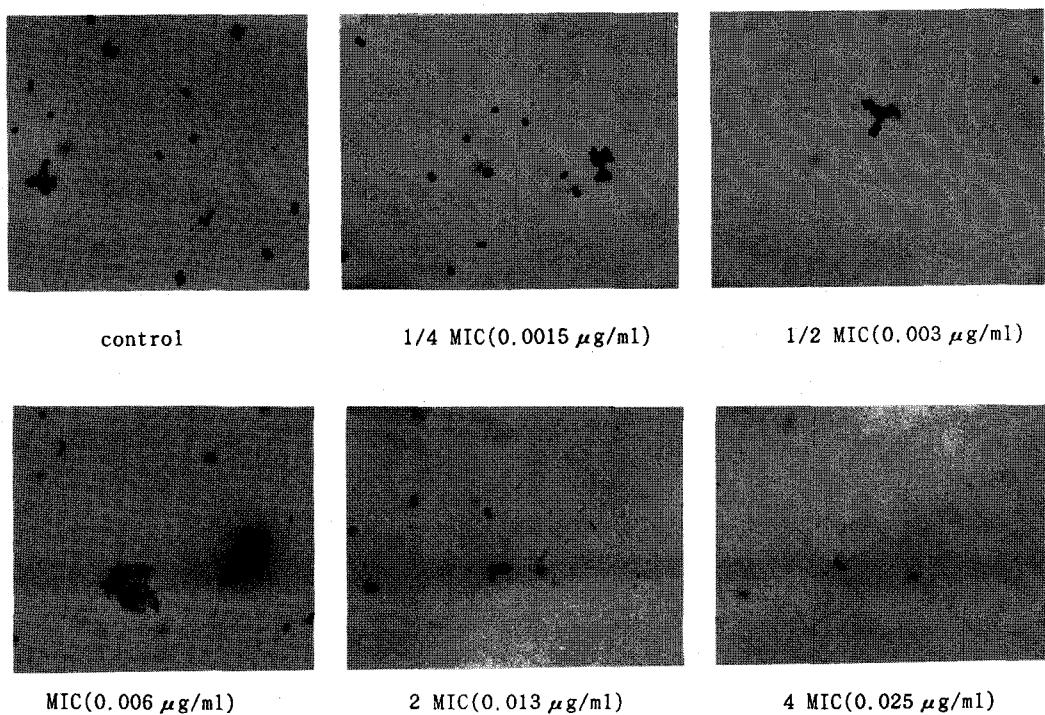


Fig. 6—Microscopic observation of *S. aureus* Smith exposed to DWQ-013($\times 1000$).

013의 MIC(0.006 µg/ml) 이상의 농도에서 세포가 비
후되는 것이 관찰되었다.

고 칠

표준균주의 그람양성균에 대한 DWQ-013의 MIC는 0.391 µg/ml 이하로 나타나 CPFX와 SPFX보다 우수하였다. 특히 *S. aureus*에 대해서는 0.002 µg/ml의 농도로서 저해효과를 나타낼 수 있었다. 한편, 그램음성균주에 대해서는 DWQ-013의 MIC가 1.563 µg/ml 이하로 나타나 SPFX와 거의 동등한 항균력을 나타내었고 CPFX와 비교해서는 항균력이 떨어지는 것으로 나타났다.

임상분리균주에 대해서도 DWQ-013은 우수한 항균활성을 보였다. 25균종에서 MIC를 측정한 결과 DWQ-013은 그람양성균인 *S. aureus*, *S. pneumoniae*, MRSA에 대해서 CPFX와 SPFX보다는 항균력이 우수하였으나, 그램음성균에 대해서는 CPFX와 SPFX보다 항균력이 떨어졌다. DWQ-013은 OFLX내성균주 및 혐기성균주에 대해서도 우수한 항균력을 보였다. 특히, 임상에서 치료에 어려움이 많은 *Bacteroides fragilis*, *Clostridium spp.*, *Fusobacterium spp.*에 속하는 세균종에 대한 MIC가 CPFX보다 우수하였다. MIC와 MBC차이는 거의 없었고, *E. coli* KP와 *S. aureus* Smith의 증식 곡선에 미치는 영향을 관찰한 결과 DWQ-013은 살균작용을 나타내는 항균제라는 것을 확인할 수 있었다.

DWQ-013의 *in vivo*에서의 효과를 예측할수 있는 *in vitro*실험으로 Horse serum을 첨가하여 항균력을 측정한 결과 DWQ-013은 Horse serum 농도의 증가에 따라 항균력에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 전신감염동물에 대한 치료효과도 *in vitro*항균력 측정 결과와 마찬가지로 CPFX에 비하여 그람양성균에 대해서는 우수하나 그램음성균에 대하여는 감염방어 효과가 떨어지는 것으로 나타났다.

감사의 말씀

이 연구는 1992년도 과기처 G-7 프로젝트 연구비로 이루어졌으며 신약조합 기술연수 프로그램에 의해 일본 오츠카제약 도쿄시마연구소 바이러스연구실에서 일부 연구가 수행되어 관계자 여러분에게 깊이 감사

드립니다.

문 헌

- 1) Ito, A., Hirai, K., Inoue, M., Koga, H., Suzue, S., Irikura, T. and Mitsuhashi, S.: *In vitro* antibacterial activity of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **77**, 103-108 (1980).
- 2) Hirai, K., Ito, A., Suzue, S., Irikura, T., Inoue, M., and Mitsuhashi, M.: Mode of action of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Gunma Reports on Medical Science.*, **19**, 375-392 (1982).
- 3) Sato, K., Matsura, Y., Inoue, M., Une, T., Osada, Y., Ogawa, H., and Mitsuhashi, S.: *In vitro* activity of DL-8280, a new axazine derivative. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **22**, 548-553 (1982).
- 4) Shimizu, M., Takase, Y., Nakamura, S., Katae, H., and Minami, A.: Pipemidic acid: Its activities against various experimental infections. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **9**, 569-574 (1976).
- 5) Chin, N. and Neu, H. C.: Ciprofloxacin, a quinolone carboxylic acid compound active against aerobic and anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agent Chemother.*, **25**, 319-326 (1991).
- 6) Burine, J. and Burine, R.: Ciprofloxacin. *Drugs Future.*, **9**, 179-182 (1984).
- 7) Caekenbergh, D. L. and Pattyn, S.: *in vitro* activity of ciprofloxacin compared with those of other new fluorinated piperazinyl-substituted quinolone derivatives. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **25**, 518-521 (1984).
- 8) Fujimaki, K., Noumi, T. and Mitsuhashi, S.: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of T-3262, a new fluoroquinolone. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **32**, 827-833 (1988).
- 9) Yoon, G. J., Lee, J. W., Park, N. J., Lee, K. S. and Kang, T. C.: A novel quinolone carboxylic acid derivative. wo 92/04342 (1992).
- 10) Japan Society of chemotherapy(日本化學療法學會): 最小發育阻止濃度(MIC) 測定法. *Chemotherapy.*, **23**, 1-2 (1975).
- 11) 日本化學療法學會 嫌氣性菌MIC測定法檢討委員會: 嫌氣性菌の最小發育阻止濃度(MIC)測定法. *Chemotherapy.*, **27**, 559-560 (1979).