약학회지 제41권 제2호 225~232(1997)
Yakhak Hoeji Vol. 41, No. 2

신합성 플로로퀴놀론계 항생물질인 DWP20367의 *In vitro* 항균효과

김지연# · 최문정 · 한승희 · 심점순 · 정연의 · 손호정 · 이재욱 · 유영효 · 박명환
(주) 대웅제약 중앙연구소

(Received January 22, 1997)

In vitro Antibacterial Activities of Novel Fluoroquinolone DWP20367

Ji Yeon Kim#, Moon Jung Choi, Seung Hee Han, Jeom Soon Shim, Yeon Eui Jung, Ho Jung Son, Jae Wook Lee, Young Hyo Yu and Myung Hwan Park
R & D Center, Daewoong Pharmaceutical Co., Ltd., Sungnam, Kyunggi-Do 462-120, Korea

Abstract—The *in vitro* antibacterial activity of DWP20367 (1-Cyclopropyl-6-fluoro-8-chloro-7-(2,7-diazabicyclo[3,3,0]oct-4-ene-7-yl)-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid), a new broad-spectrum fluoroquinolone, was compared with those of ciprofloxacin (CPFX), sparfloxacin (SPFX) and ofloxacin (OFLX). DWP20367 was showed antibacterial activity much higher than CPFX, SPFX and OFLX against gram-positive bacteria, while it was slightly more superior to quinolones against gram-negative bacteria. DWP20367 was particularly effective against MRSA, and its MIC_{90} against clinical isolates of methicillin-susceptible *S. aureus*, low methicillin-resistant *S. aureus* and high methicillin-resistant *S. aureus* were 0.098, 0.781 and 1.563 μg/ml, respectively. Against *S. pneumoniae*, MIC_{90} of DWP20367 was 2- to 8-fold higher than those of CPFX. With a view of MIC_{90}, DWP20367 showed slightly more potent activity against *P. aeruginosa* and *E. coli* isolates than the control quinolones. DWP20367 activity was not affected by inoculum size and medium pH. But addition of Mg^{2+}, Ca^{2+} or horse serum (25%) decreased its antibacterial activity. DWP20367 was showed rapidly bactericidal activity within 2 to 4 h, and regrowth was not observed even after 24 h incubation at concentrations near the 4-fold of MIC.

Keywords DWP20367, MIC, pH effect, Serum effect, Inoculum size effect, Metal ion effect, Killing curve

퀴놀론계 항생제는 세균의 염색체성 DNA supercoiling에서 촉매작용을 하는 DNA gyrase를 억제하여[6,8] 세균의 DNA 복제와 전사를 방해하므로써 세포를 용해시키는 기전으로 기존 항생제를 보완하는 역할을 하며, 반합성적으로 만들어지는 페니실린이나 세파로스포린계 항생제와는 달리 전합성에 의해서 제조되고 경구투여가 가능하다. 이러한 퀴놀론계 항생제가 1960년대 초반에 nalidixic acid[3-4]로 사용되기 시작한 후, 1978년 Koga 등이 정량적 구조활성 상관관계 (QRSA)에 기초하여 norfloxacin을 개발하면서 퀴놀론 모핵의 6번 위치에 불소 원자가 도입된 6-fluorinated quinolone의 장이 열렸으며, 그 후 1980년 초 퀴놀론 기본구조에서 7번 위치에 piperazinyl 잔기[1-2]를, 1번 위치에 새로운 잔기를 치환시켜 *P. aeruginosa*와 같이 항생제에 내성이 생긴 그람음성균 및 그람양성균에 대한 항균력이 크게 개선되고 광범위한 항균력을 지닌 퀴놀론[7]이 개발되고 있다. 그러나, 임상에서 퀴놀론계 항생제를 이용하는 비율이 증가함에 따라 이에 대한 내성을 나타내는 균이 출현하게 되어 퀴놀론계 항생제에 대한 균의 내성발현기작 및

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0342-41-7700 (교환 641) (팩스) 0342-731-7554

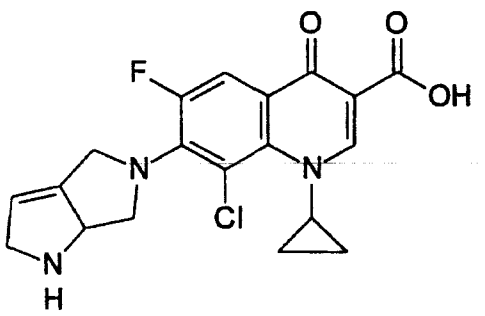

Fig. 1 · Chemical structure of DWP20367.

내성균 발현빈도에 따른 연구가 진행 중에 있으며, 항균력의 증강, 항균범위의 확대, 독성의 감소, 대사 안정화 등의 약학적 특성을 달성하기 위하여 많은 유도체가 합성되고 있다. 이에, 본 실험에서는 기존 퀴놀론계 항생제의 그람음성균에 대한 항균활성을 유지하면서 그람양성균, 특히 MRSA (Methicillin-resistant *S. aureus*)에 항균력이 우수한 항생제를 합성하고자 하여 이러한 목적으로 퀴놀론 카르복실산 모핵의 6번 위치에 불소를 도입하여 DNA gyrase의 억제를 증가시켜 *in vitro* 항균력을 향상시켰으며, 퀴놀론의 입체효과와 전자효과, 약제의 물리화학적 특성을 결정하는 7번 위치에 2,7-디아자비시클로[3,3,0]옥트-4-엔-7-일기를, 8번 위치에 클로르기를 도입한 DWP20367 (Fig. 1)을 합성하여 *in vitro* 항균력을 평가한 결과를 보고하고자 한다.

실험방법

시험균주

1차 평가균주 28균주와 임상에서 분리한 *Staphylococcus aureus* (28균주), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA, 36균주), *Pseudomonas aeruginosa* (27균주), *Escherichia coli* (45균주), *Streptococcus pneumoniae* (6균주)를 사용하였다.

시험물질

DWP20367, spafloxacin (SPFX)은 본 연구소에서 합성한 것을 사용하였으며, ciprofloxacin (CPFX)은 대웅화학에서, ofloxacin (OFLX)과 methicillin (DMPPC)은 제일약품과 대한약품에서 구입하여 사용하였다.

시험배지

항균력 측정에는 Mueller-Hinton 한천배지 (MHA)를 사용하였으며, Fleisch extract broth (FEB: beef extract 1%, peptone 1%, NaCl 0.3 %, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 0.2%, pH 7.4~7.5)를 액체배지로 사용하였다. *Streptococcus* spp.는 MHA나 FEB에 5% defibrinated sheep blood를 첨가하여 배양하였다.

최소발육 저지농도(MIC)의 측정

최소발육 저지농도 (Minimum inhibitory concentration: MIC)는 일본화학요법학회 표준법[5](일본화학요법학회, 1975)에 준하여 한천평판 희석법으로 측정하였다. 최고농도 100 μg/ml에서 최저농도 0.002 μg/ml가 되도록 2단계씩 희석한 항생물질을 함유한 MHA 한천배지에 FEB에서 37°C에서 18시간 동안 전배양한 균액을 10^{-2}배 희석하여 자동접종기(MIC-2000 system, Dynatech)를 이용하여 접종하고(최종접종농도 10^4 cfu/spot) 37°C에서 18시간 동안 배양한 후, 균의 생장을 관찰할 수 없는 최소농도를 최소발육 저지농도(MIC)를 측정하였다.

균접종량이 항균력에 미치는 효과

시험균주를 전배양하여 DWP20367이 단계별로 첨가된 MHA 평판배지에 10^5 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, 108 cfu/ml로 각각 희석한 균희석액을 접종한 다음 37°C에서 18시간 동안 배양한 후 MIC를 측정하였다.

금속이온이 항균력에 미치는 효과

시험균주를 전배양하여 DWP20367이 단계별로 첨가된 MHA 평판배지에 $CaCl_2$와 $MgSO_4$를 최종농도가 5 mM이 되게 첨가하여 균희석액을 접종한 다음 37°C에서 18시간 동안 배양한 후 MIC를 측정하였다.

배지 pH가 항균력에 미치는 효과

시험균주를 전배양하여 DWP20367이 단계별로 첨가된 MHA 평판배지의 pH를 1N NaOH와 1N HCl을 사용하여 각각 pH6, pH7, pH8로 조정한 후 균희석액을 접종한 다음 37°C에서 18시간 동안 배양한 후 각 균주에 대한 MIC를 측정하였다.

마혈청이 항균력에 미치는 효과

시험균주를 전배양하여 DWP20367이 단계별로 첨

가된 MHA 평판배지에 마혈청을 5%, 10%, 25%가 되도록 첨가하여 균희석액을 접종한 다음 37°C에서 18시간 동안 배양한 후 MIC를 측정하였다.

살균작용

Mueller-Hinton broth (MHB)에서 37°C에서 18시간 동안 전배양한 *S. aureus* Smith, *E. coli* TEM, *P. aeruginosa* E-2 균액을 MHB 9 m*l*에 접종하여(최종 접종농도 10^5 cfu/m*l*) 37°C에서 1시간 동안 진탕배양한 후, ¼×MIC, ½×MIC, MIC, 2×MIC, 4×MIC 농도의 DWP20367을 1 m*l*씩 각각 첨가하여 37°C에서 진탕배양하면서 약제 작용 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 24시간에 생균수를 측정하였다.

결과 및 고찰

1차 항균력 평가균주에 대한 항균력

DWP20367의 1차 항균력 평가 균주에 대한 항균력을 CPFX, SPFX, OFLX과 비교한 결과를 Table I에 나타내었으며, 그람양성균과 그람음성균에 대해서 광범위한 항균력을 가진 것으로 나타났다. 특히, DWP 20367은 그람양성균에 대해 0.007~0.098 μg/m*l*로 CPFX보다는 4~16배, SPFX보다 2~4배, OFLX보다 8~16배까지 우수한 항균력을 보였다. 한편 그람음성균에 대해 CPFX와 SPFX와 유사한 항균력을 보였으며, OFLX에 대해서는 유사하거나 4배 정도 우수한 항균력을 보였다.

내성균주 및 임상분리균주에 대한 항균력

Methicillin 내성균주와 임상분리균주에 대한 DWP20367의 MIC_{50}, MIC_{90}을 Table II에 나타내었다. DWP20367의 MRSA 균주에 대한 항균력은 L-MRSA와 H-MRSA의 경우 0.025~0.781 μg/m*l*, 0.025~1.563 μg/m*l*로서 CPFX (0.195~50 μg/m*l*,

Table I— Antibacterial activities of DWP20367, ciprofloxacin, sparfloxacin and ofloxacin against standard strains

Strains[1]	MIC (μg/m*l*)			
	DWP20367	Ciprofloxacin	Sparifloxacin	Ofloxacin
S. pyogenes A77	0.098	0.391	0.195	0.781
E. faecium MD8b	0.098	0.781	0.391	0.781
S. pneumoniae typeI	0.098	0.195	0.098	0.781
S. pneumoniae typeII	0.098	0.391	0.195	0.781
S. aureus SG511	0.025	0.098	0.049	0.195
S. aureus FDA209P	0.013	0.098	0.025	0.098
S. aureus Smith	0.007	0.098	0.013	0.098
S. aureus C2379 (L-MRSA)[2]	0.013	0.195	0.025	0.195
S. aureus C5740 (H-MRSA)[3]	0.025	0.391	0.049	0.195
E. coli DC0	0.195	0.098	0.195	0.391
E. coli DC2	0.098	0.098	0.025	0.391
E. coli TEM	0.025	0.007	0.007	0.025
C. frdeundii ATCC6750	0.391	0.049	0.391	0.195
K. pneumoniae NCTC 9632	0.013	0.007	0.013	0.025
S. marcescens 421-094 (OR)[4]	0.781	3.125	1.563	3.125
S. marcescens IFO12648	0.098	0.049	0.195	0.195
P. aeruginosa 9027	0.781	0.195	0.781	0.781
P. aeruginosa 1592E	0.391	0.098	0.781	0.781
P. aeruginosa 1771	0.391	0.098	0.391	0.781
P. aeruginosa 1771M	0.195	0.049	0.195	0.098
P. aeruginosa E-2	0.391	0.195	0.781	0.781
P. aeruginosa C-1198	0.781	0.195	0.781	1.563
P. aeruginosa 101-181 (OR)	12.5	6.25	25	12.5
E. cloacae P99	0.013	0.007	0.007	0.025
E. cloacae 1321E	0.007	0.004	0.004	0.025
K. oxytoca 1082E	0.004	0.002	0.002	0.007
K. aerogenes 1522E	0.025	0.013	0.025	0.049
P. vulgaris GN76	0.025	0.013	0.049	0.049

[1] Inoculum size: 10^7 cfu/m*l* (10^4 cfu/spot)
[2] L-MRSA: Low-methicillin resistant *S. aureus* (6.25 μg/m*l*≤MIC of L-MRSA<100 μg/m*l*)
[3] H-MRSA: high-methicillin resistant *S. aureus* (MIC of H-MRSA≥100 μg/m*l*)
[4] OR: Ofloxacin-resistant strains

Table II — *In vitro* antibacterial activities of DWP203367, ciprofloxacin, sparfloxacin and ofloxacin against clinical isolates

Strains[1] (NO. of strains)	Antibiotics	MIC (μg/ml)		
		MIC_{50}	MIC_{90}	Range
Methicillin-susceptible *S. aureus*[2] (28)	DWP20367	0.049	0.098	0.025~0.781
	Ciprofloxacin	0.391	0.781	0.195~12.5
	Sparfloxacin	0.049	0.098	0.013~6.25
	Ofloxacin	0.391	0.391	0.195~6.25
Low methicillin-resistant *S. aureus*[3] (6)	DWP20367	0.049	0.781	0.025~0.781
	Ciprofloxacin	0.391	50	0.195~50
	Sparfloxacin	0.049	6.25	0.025~6.25
	Ofloxacin	0.391	6.25	0.195~6.25
High methicillin-resistant *S. aureus*[4] (30)	DWP20367	0.049	1.563	0.025~1.563
	Ciprofloxacin	0.781	50	0.195~100
	Sparfloxacin	0.098	6.25	0.025~12.5
	Ofloxacin	0.781	12.5	0.195~25
S. pneumoniae (6)	DWP20367	0.195	0.195	0.098~0.195
	Ciprofloxacin	0.781	1.563	0.391~1.563
P. aeruginosa (27)	DWP20367	1.563	12.5	0.391~25
	Ciprofloxacin	0.781	50	0.195~50
	Sparfloxacin	6.25	100	0.391~100
	Ofloxacin	6.25	100	0.781~100
E. coli (45)	DWP20367	0.013	6.25	0.004~12.5
	Ciprofloxacin	0.025	6.25	0.013~6.25
	Sparfloxacin	0.025	12.5	0.004~25
	Ofloxacin	0.049	12.5	0.004~25

[1] Inoculum size: 10^7 cfu/ml (10^4 cfu/spot)
[2] MIC of MSSA≤3.125 μg/ml
[3] 6.25 μg/ml≤MIC of L-MRSA<100 μg/ml
[4] MIC of H-MRSA≥100 μg/ml

0.195~100 μg/ml), SPFX (0.025~6.25 μg/ml, 0.025~12.5 μg/ml), OFLX (0.195~6.25 μg/ml, 0.195~25 μg/ml)보다 월등히 우수한 항균력을 나타내었다. 한편, 임상에서 분리한 *S. pneumoniae* spp. (6균주)는 0.098~0.195 μg/ml의 항균력을 보였으며, CPFX보다 2~8배 우수한 효과를 나타내었다. *P. aeruginosa* 임상분리균주 (27균주)와 *E. coli* 임상분리균주 (45 균주)에 대한 DWP20367의 항균력은 대조약물과 동등하거나 2~4배 정도 우수한 항균력을 나타내었다.

균 접종량이 항균력에 미치는 효과

그람양성균 중에서 MRSA와 *S. aureus* Smith는 비교적 균 접종량에 의한 항균력 변화가 적었으나, *E. faecium* MD8b와 *S. pneumoniae* type II는 균접종량 변화에 따라 DWP20367은 64배, CPFX는 256~512배, SPFX는 128~256배까지 항균력의 차이를 나타내었다. 한편, 그람음성균에서는 균 접종량이 항균력에 별다른 영향을 주지 않는 것으로 조사되었으나, *P. aeruginosa* spp.에 있어 균 접종량에 따라 DWP20367과 SPFX는 512배, CPFX는 64배의 항균력 차이를 보였다 (Table III).

금속이온이 항균력에 미치는 효과

DWP20367의 금속이온 첨가에 따른 항균력 변화를 Table IV에 나타내었다. DWP20367의 경우 5 mM $CaCl_2$를 배지에 첨가하였을 때 그람양성균은 2~32배, 그람음성균은 4~8배 정도 항균력이 감소하였으며, $MgSO_4$를 첨가하였을 때 그람양성균은 8~32배, 그람음성균은 8~16배 항균력이 감소하였다. 반면, CPFX와 SPFX는 $CaCl_2$ 첨가 시 비첨가 시와 유사하거나 2배 정도 증가된 항균력을 보였고, $MgSO_4$ 첨가 시 2~4배 정도 항균력이 감소하였다.

배지 pH가 항균력에 미치는 효과

DWP20367의 배지 pH에 따른 항균력 변화를

Table III — Effect of inoculum size of antibacterial activities on DWP20367, ciprofloxacin and sparfloxacin

Strains	Inoculum size (cfu/ml)	MIC (μg/ml)		
		DWP20367	Ciprofloxacin	Sparfloxacin
E. faecium MD8b	10^5	0.002	0.002	0.004
	10^6	0.098	0.391	0.195
	10^7	0.098	0.391	0.391
	10^8	0.098	0.781	0.391
S. pneumoniae typeII	10^5	0.004	0.002	0.002
	10^6	0.098	0.391	0.098
	10^7	0.098	0.391	0.195
	10^8	0.195	0.391	0.195
S. aureus Smith	10^5	0.004	0.049	0.007
	10^6	0.007	0.098	0.013
	10^7	0.007	0.098	0.013
	10^8	0.013	0.098	0.025
S. aureus C5740 (H-MRSA)	10^5	0.013	0.195	0.007
	10^6	0.025	0.195	0.025
	10^7	0.025	0.391	0.049
	10^8	0.025	0.391	0.049
E. coli TEM	10^5	0.007	0.007	0.007
	10^6	0.025	0.007	0.007
	10^7	0.025	0.007	0.007
	10^8	0.025	0.007	0.007
K. pneumoniae NCTC9632	10^5	0.013	0.007	0.007
	10^6	0.013	0.007	0.007
	10^7	0.025	0.007	0.013
	10^8	0.025	0.013	0.013
P. aeruginosa E-2	10^5	0.002	0.004	0.002
	10^6	0.391	0.098	0.391
	10^7	0.391	0.195	0.781
	10^8	0.781	0.195	0.781
P. aeruginosa 101-181 (OR)[1]	10^5	3.125	1.563	1.563
	10^6	6.25	3.125	12.5
	10^7	12.5	6.25	25
	10^8	12.5	6.25	25

[1] OR; Ofloxacin-resistant strains

Table IV — Effect of metal ions on antibacterial activities of DWP20367, ciprofloxacin and sparfloxacin

Strains[1]	Mic (μg/ml)			
	Antibiotics	$CaCl_2$	$MgSO_4$	Control
E. faecium MD8b	DWP20367	0.781	1.563	0.098
	Ciprofloxacin	0.391	1.563	0.391
	Sparfloxacin	0.391	1.563	0.391
S. pneumoniae typell	DWP20367	1.563	1.563	0.049
	Ciprofloxacin	0.391	1.563	0.391
	Sparfloxacin	0.195	0.391	0.195
S. aureus Smith	DWP20367	0.025	0.025	0.002
	Ciprofloxacin	0.098	0.195	0.098
	Sparfloxacin	0.049	0.098	0.049
S. aureus C5740 (H-MRSA)	DWP20367	0.049	0.195	0.025
	Ciprofloxacin	0.391	0.781	0.195
	Sparfloxacin	0.049	0.098	0.049

Table IV — Continued

Strains[1]	Mic (μg/ml)			
	Antibiotics	$CaCl_2$	$MgSO_4$	Control
E. coli TEM	DWP20367	0.098	0.195	0.013
	Ciprofloxacin	0.013	0.025	0.013
	Sparfloxacin	0.013	0.025	0.013
K. pneumoniae NCTC9632	DWP20367	0.098	0.195	0.013
	Ciprofloxacin	0.013	0.025	0.007
	Sparfloxacin	0.025	0.025	0.013
P. aeruginosa E-2	DWP20367	1.563	3.125	0.391
	Ciprofloxacin	0.195	0.391	0.098
	Sparfloxacin	0.781	1.563	0.391
P. aeruginosa 101-181 (OR)[2]	DWP20367	25	50	6.25
	Ciprofloxacin	6.25	12.5	3.125
	Sparfloxacin	25	50	12.5

[1] Inoculum size; 10^7 cfu/ml (10^4 cfu/spot)
[2] OR; Ofloxacin-resistant strains

Table V — Effect of pH of antibacuterial activities on DWP20367, ciprofloxacin and sparfloxacin

Strains[1]	MIC (μg/ml)								
	DWP20367			Ciprofloxacin			Sparfloxacin		
	pH6	pH7	pH8	pH6	pH7	pH8	pH6	pH7	pH8
S. pneumoniae typel	0.195	0.098	0.195	0.781	0.391	0.781	0.195	0.195	0.391
S. aurdeus C2379	0.025	0.025	0.025	0.391	0.391	0.391	0.049	0.098	0.098
E. coli TEM	0.049	0.025	0.025	0.049	0.013	0.004	0.025	0.013	0.098
P. aeruginosa 1771M	0.049	0.049	0.049	0.049	0.025	0.013	0.049	0.025	0.049
P. aeruginosa E-2	0.195	0.391	0.391	0.195	0.098	0.049	0.195	0.195	0.391

[1] Inoculum size; 10^7 cfu/ml (10^4 cfu/spot)

Table VI — Effect of horse serum on antibacterial activities of DWP20367, ciprofloxacin and sparfloxacin

Antibiotics	Serum (%)	MIC (μg/ml)			
		S. pneumoniae typell	*S. aureus* Smith	*E. coli* TEM	*P. aeruginosa* E-2
DWP20367	0	0.098	0.007	0.025	0.391
	5	0.195	0.007	0.049	0.391
	10	0.098	0.007	0.049	0.781
	25	0.195	0.013	0.195	1.563
Ciprofloxacin	0	0.781	0.098	0.025	0.391
	5	1.563	0.049	0.049	0.391
	10	0.781	0.098	0.025	0.391
	25	0.781	0.098	0.025	0.391
Sparfloxacin	0	0.195	0.013	0.007	0.781
	5	0.195	0.007	0.007	0.781
	10	0.391	0.013	0.007	0.391
	25	0.098	0.013	0.004	0.391

Table V에 나타내었다. DWP20367과 SPFX는 pH 6-8 사이에서 항균력 변화가 거의 없었으며, CPFX는 *E. coli* TEM, *P. aeruginosa* sp.에서 pH가 증가할수록 항균력이 4~16배 우수한 것으로 나타났다.

마혈청이 항균력에 미치는 효과

5%, 10%, 25% 마혈청을 넣은 배지에서 대조물질의 항균력에는 거의 변화가 없었으나, DWP20367은 25% 마혈청을 넣은 배지 상에서 4~8배 정도 낮은 항균력을 보였다 (Table VI).

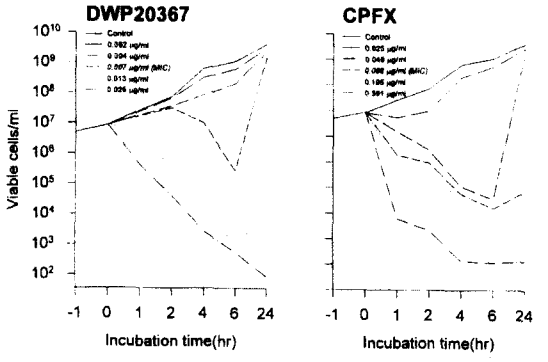

Fig. 2. Effect of DWP20367 and ciprofloxacin on viability of *S. aureus* Smith.

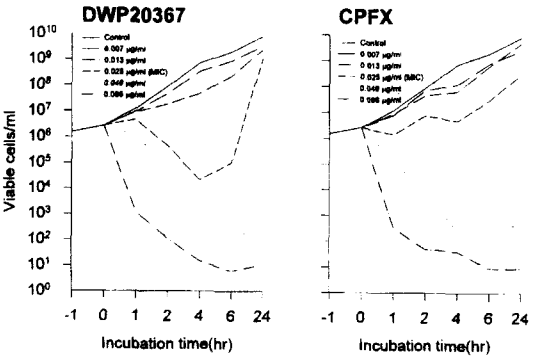

Fig. 3. Effect of DWP20367 and ciprofloxacin on viability of *E. coli* TEM.

살균작용

S. aureus Smith, *E. coli* TEM, *P. aeruginosa* E-2의 증식곡선에 대한 DWP20367의 살균효과를 조사하였다. DWP20367의 *S. aureus* Smith에 대한 살균작용은 약제 투여 60분부터 2×MIC (0.013 μg/ml) 농도 이상에서 살균작용이 관찰되었으나, 24시간 후에는 2×MIC 농도에서 균의 재성장이 확인되었고, CPFX 역시 MIC (0.098 μg/ml) 농도 이상에서 살균작용을 보이다가 24시간 후에는 MIC 이하 농도에서 균의 재성장이 관찰되었다 (Fig. 2). *E. coli* TEM에 대한 DWP 20367의 살균작용은 0.013 μg/ml 이하 농도에서 발견하지 못했으나 MIC (0.025 μg/ml) 농도 이상에서 살균효과를 보이다가 2×MIC 이하 농도에서는 24시간 이후에는 균이 재성장되는 경향을 보였다 (Fig. 3). *P. aeruginosa* E-2에 대한 살균작용은 약제농도가 4×MIC 농도에서 살균작용을 보였으며, CPFX의 경우 초기 접종농도나 그 이하 수준으로 정균작용을 보이다가 24시간 후에 균의 재성장 양상을 보였다 (Fig. 4).

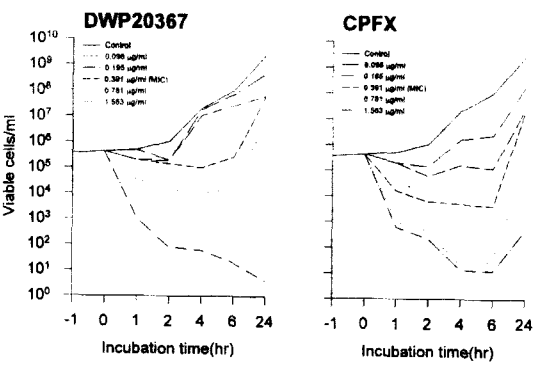

Fig. 4. Effect of DWP20367 and ciprofloxacin on viability of *P. aeruginosa* E-2.

결 론

DWP20367의 1차 항균력 평가 균주에 대한 항균력을 CPFX, SPFX, OFLX과 비교한 결과 그람양성균과 그람음성균에 대해서 광범위한 항균력을 가진 것으로 나타났다. 특히, DWP20367은 그람양성균에 대해 CPFX보다는 4~32배, SPFX보다 2~4배, OFLX보다 8~16배까지 우수한 항균력을 보였다. 한편 그람음성균에 대해 CPFX와 SPFX와 유사한 항균력을 보였으며, OFLX에 대해서는 유사하거나 4배 정도 우수한 항균력을 보였다. DWP20367의 MRSA 균주에 대한 항균력은 CPFX, SPFX 및 OFLX보다 월등하게 우수한 항균력을 나타내었으며, *S. pneumoniae* (6 균주), *P. aeruginosa* (27균주)와 *E. coli* 임상분리균주 (45 균주)에 대한 DWP20367의 항균력은 대조약물과 동등하거나 2~4배 정도 우수한 항균력을 나타내었다. *E. faecium* MD8b와 *S. pneumoniae* type II는 균접종량 변화에 따라 DWP20367은 64배, CPFX는 256~512배, SPFX는 128~256배까지 항균력의 차이를 나타내었고, 그람음성균 중에서 *P. aeruginosa* spp.는 균 접종량에 따라 DWP20367과 SPFX는 512배, CPFX는 64배의 항균력 차이를 보였다. DWP20367의 금속이온 첨가에 따른 항균력 변화는 DWP20367의 경우 $CaCl_2$ 또는 $MgSO_4$를 첨가하였을때 그람양성균은 각각 2~32배, 8~32배 감소하였고 그람음성균은 4~8배, 8~16배 항균력이 감소하였다. 반면, CPFX와 SPFX는 $CaCl_2$ 첨가 시 비첨가 시와 유사하거나 2배 정도 감소된 항균력을 보였고, $MgSO_4$ 첨가 시 2~4배 정도 감소된 항균력을 보였다. DWP20367과 SPFX는 pH 6-8 사이에서 항균력 변화가 거의 없었으며, 마혈청을 첨가

한 배지에서 대조물질의 항균력에는 거의 변화가 없었으나, DWP20367은 25% 마혈청을 넣은 배지 상에서 4~8배 정도 낮은 항균력을 보였다. DWP20367의 *S. aureus* Smith에 대한 살균작용은 약제 투여 60분 후부터 0.013 μg/m*l* 농도 이상에서 살균작용이 관찰되었으나, 24시간 후에는 균의 재성장이 확인되었다. *E. coli* TEM에 대한 살균작용은 0.013 μg/m*l* 이하 농도에서 발견하지 못했으나 0.025 μg/m*l* 농도 이상에서 살균효과를 보이다가 2×MIC 이하 농도에서는 24시간 이후에는 균이 재성장되는 경향을 보였다. 또한, *P. aeruginosa* E-2에 대해서는 약제농도가 1.563 μg/m*l* 이상 농도에서 살균작용을 보였으며, CPFX의 경우 초기 접종농도나 그 이하 수준으로 정균작용을 보이다가 24시간에 균의 재성장 양상을 보였다. 그러므로, DWP 20367은 대조약물보다 *in vitro* 항균력 평가 결과 그람양성균 및 그람음성균에 대하여 우수항 항균활성을 가지고 있으므로 향후 *in vivo* 및 약물동태 연구를 통하여 그 우수성을 확보할 필요가 있다.

문 헌

1) Caekengerghe, 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 (1984).
2) 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 (1988).
3) Hirai, K., Ito, A., Suzue, S., Irikura, T., Inoue, M., and Mitshashi, M. : Mode of action of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Gunma Reports on Medical Science.*, **19**, 37 (1982).
4) Ito, A., Hirai, K., Inoue, M., Koga, H., Suzue, S., Irikura, T. and Misuhashi, S. : *In vitro* antibacterial activity of AM-715, a new nalidiixic acid analog. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **77**, 103 (1980).
5) Japan Society of chemotherapy (日本化學療法學會) : 最小發育沮止濃度 (MIC) 測定法. *Chemotherapy.*, **23**, 1 (1975).
6) Mitscher, L. A., Sharma, P. N., Chu, D. T. W., Shen, L. L. and Pernet, A. G. : Chiral DNA gyrase inhibitors. 2. Asymmetric synthesis and biological activity of enantionmers of 9-fluoro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazynyl)-7-oxo-2,3-dihydro-7H-pyrido[1,2,3-de]-1,4- benzoxazine-6-carboxylic acid (Ofloxacin). *J. Med. Chem.* **30**, 2283 (1987).
7) 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 (1982).
8) Wise, R., Ashby, J. D. and Andrew, J. M. : *In vitro* activity of PD127, 391, and enhanced-spectrum quinolone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **32**, 1251 (1988).