

그람양성세균에 대한 새로운 퀴놀론계 항균제 Zabofloxacin의 항균력

박희수 · 정성지 · 정지웅 · 최동락* · 김효현** · 최응칠** · 곽진환#
한동대학교 생명과학부, *동화약품 중앙연구소, **서울대학교 약학대학 종합약학연구소
(Received October 22, 2010; Revised November 12, 2010; Accepted November 16, 2010)

Antibacterial Activity of Zabofloxacin, a Novel Fluoroquinolone, against Gram-Positive Bacteria

Hee Soo Park, Sung Ji Jung, Ji-Woong Jeong, Dong-Rack Choi*, Hyo-Hyun Kim**, Eung-Chil Choi** and Jin-Hwan Kwak#

School of Life Science, Handong Global University, Pohang 791-708, Korea

*Dong Wha Pharmaceutical Industry Ltd., Yongin 446-902, Korea

**College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Seoul National University, Seoul 130-743, Korea

Abstract — Zabofloxacin is a novel broad spectrum fluoroquinolone with excellent anti-pneumococcal activity. We investigated the *in vitro* activity of zabofloxacin against clinical isolates of gram-positive bacteria and the *in vivo* activity against systemic infection in mice. Zabofloxacin was very active against gram-positive bacteria except QRSA (Quinolone-resistant *S. aureus*) and VRE (Vancomycin-resistant Enterococci). Especially, zabofloxacin was extremely potent against clinical isolates of Streptococci. Zabofloxacin was as active as gemifloxacin against systemic infection in mice. In view of its improved antibacterial activities against gram-positive bacteria and good pharmacokinetic profiles in animals, the clinical usefulness of zabofloxacin should be established by further studies.

Keywords □ zabofloxacin, fluoroquinolone, gram-positive bacteria, MIC, *in vivo* activity

퀴놀론 항균제는 구조적으로 유사한 nalidixic acid와 같은 계열의 항생제이며, DNA 복제와 형태에 관여하는 DNA gyrase를 저해함으로써 박테리아에 대해 살균작용을 갖는다. 초기의 퀴놀론은 좁은 스펙트럼과 낮은 항균력, 높은 내성 빈도, 낮은 혈중 농도 그리고 짧은 생체내 반감기 등으로 인해 요로감염에 대해서만 제한적으로 사용되었다.¹⁾ 1980년대부터는 2세대 퀴놀론 항균제인 norfloxacin, ofloxacin, enoxacin, ciprofloxacin, lomefloxacin, fleoxacin 등이 새롭게 개발되면서, 초기의 퀴놀론 항균제와는 달리 광범위한 항균력과 우수한 약동력학적 특성으로 인해 퀴놀론 항균제의 전성시대를 열게 되었다. 그러나 이들 2세대 퀴놀론들도 호흡기 감염의 주 원인균인 포도상구균이나 연쇄상구균과 같은 그람양성세균에 대해서는 낮은 항균력을 갖고 있

고, 특히 폐렴구균에서 이들 항균제들에 대한 내성균들이 증가하고 있다.^{2,3)} 따라서 최근의 퀴놀론 항균제의 개발 동향은 그람 음성세균에 대해서는 ciprofloxacin과 같은 항균력을 그대로 유지하면서, 폐렴구균이나 MRSA와 같은 그람양성세균에 대해서 약효가 더욱 향상된 새로운 퀴놀론항균제를 개발하는 것이 중요한 과제가 되고 있다.⁴⁾

Zabofloxacin은 동화약품에서 합성된 새로운 퀴놀론계 항균제로서, 광범위한 항균력을 갖고 있으며 특히 그람양성세균에 대해서는 시험관내에서와 실험동물에서 우수한 항균력을 갖고 있다.⁵⁻⁸⁾ Zabofloxacin은 현재 국내외에서 임상시험이 진행 중이며, 특히 호흡기감염, 요로감염, 피부감염, 골절 및 장관내 감염의 치료에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 최근에 국내에서 분리된 그람양성 임상세균에 대해 zabofloxacin의 시험관내 항균력을 ciprofloxacin, sparfloxacin, lomefloxacin, ofloxacin외 9종의 대조약제와 비교 실험하였다. 한편, 생쥐의 전신감염모델에서의 zabofloxacin의 치료 효과도 비

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 054-260-1353 (팩스) 054-260-1925
(E-mail) jhkwak@handong.edu

교 실험하였다.

실험방법

시약

본 실험에 사용된 zabofloxacin(DW224a)은 동화약품 주식회사(An-Yang, Korea)에서 합성한 것을 이용하였다(Fig. 1). Zabofloxacin과 비교를 위해 현재 임상에서 사용되고 있는 퀴놀론계 항균제인 ciprofloxacin(Bayer, Inc., West Haven, Conn.), gemifloxacin(LG Biotech, Seoul, Korea), sparfloxacin(Rhone-Poulenc Rorer, Collegeville, Pa.), moxifloxacin(Bayer, Inc., West Haven, Conn.) 등을 이용하였다. Oxacillin, penicillin G, erythromycin, vancomycin은 Sigma Aldrich사에서 구입하여 사용하였으며 Linezolid와 Synercid는 HPLC(High-Performance Liquid Chromatography)(Dionex, Inc., Korea)로 정제하여 사용하였다.

시험균주

국내의 3차 의료기관에서 임상적으로 분리된 585종의 그람양성 세균을 이용하였으며, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212을 본 실험의 시험관내 항균력 평가를 위한 표준균주로 사용하였다.

시험관내 항균력 시험

실험 대상 균종에 대한 항균물질에 대한 최소 억제 농도(Minimal Inhibitory Concentration, MIC)의 측정은, Clinical Laboratory Standard Institutes(CLSI)의 고체 배지 희석법에 의하여 실시하였다.⁹⁾ 시험 균주는 Mueller-Hinton Broth(Difco, USA)에 접종하여 35°C에서 18시간 배양하였고 이후 배양액을 새로운 배지를 이용하여 희석하여 사용하였다. MIC 측정을 위해서는 Mueller-Hinton Agar(Difco, USA) 배지를 이용하였다. *S. pneumoniae*와 *Streptococcus pyogenes* 배양을 위해서는 Todd-Hewitt broth(Difco, USA)에 0.5% yeast extract(Difco, USA)를 첨가하여 배양을 하였으며, MIC 측정을 위해서는 Mueller-Hinton agar 배지에 5% defibrinated sheep blood(Hanil Komed,

Korea)을 첨가하여 사용하였다. 각 항균제는, 최고 농도가 64 µg/ml가 되도록 하여, 이 농도에서부터 2배씩 계단 희석하여 최저 농도가 0.008 µg/ml이 되도록 항균물질 희석계열을 만들었다. 여기에 전배양한 균액을 희석하여 최종 균액 농도가 10⁷ CFU/ml가 되도록 한 뒤, 마이크로접종기(microinoculator)를 이용하여 각 균액을 10 µl씩 접종하여 최종적으로 계단 희석된 항균물질을 함유하고 있는 배지에 10⁵ CFU의 균이 접종되도록 하였다. 균을 접종한 배지는 35°C에서 18시간 배양하였고 균의 성장을 관찰할 수 없는 최소 농도를 MIC로 결정하였으며, 모든 시험 물질의 항균력은 CLSI에서 권장하는 표준균주(*S. aureus* ATCC 25923, *S. pneumoniae* ATCC 6305, *E. faecalis* ATCC 29212) 이용하여 정도 관리(quality control) 하였다.

마우스의 전신감염모델에서의 약효 평가

Zabofloxacin의 생체내 약효는 마우스의 전신감염모델을 이용하여 다른 대조약물들과 비교 실험하였다. 감염에 사용한 *S. aureus* giorgio 균주는 Tryptic Soy Agar 배지에서 18시간 배양한 후, 5%의 돼지 유래 뮤신(Mucin from porcine stomach, Sigma)에 현탁하여 사용하였다. *S. pneumoniae* ATCC 6305 균주는 BHI(Brain Heart Infusion) 액체배지에서 정치배양 후 원심분리하여, 0.9% 생리식염수에 현탁하여 사용하였다. 체중 19~21 g의 수컷 ICR 생쥐(효창 사이언스)의 복강 내에, 최소치사농도의 5~10배에 해당하는 생균을 함유하고 있는 0.5 ml의 감염 균액을 주사하였다. 약물 투여 농도는 시험균주에 대한 약물의 시험관내 MIC를 참고하여, 저농도로부터 고농도까지 4단계의 용량을 사용하였다. 감염 후 1시간과 4시간 후에 각 약물에 대해 4가지의 다른 농도의 약물을 생쥐에 경구 투여한 후, 7일간 생쥐의 생존률을 관찰하여, 프로빗 분석법(Probit analysis)의 방법으로 50%의 생쥐를 생존시킬 수 있는 약물의 농도를(ED₅₀, Effective Dose) 측정하였다.¹⁰⁾ 약물을 처치하지 않은 생쥐군은 감염 후 이틀 안에 모두 사망하였다.

실험결과

임상분리균주에 대한 Zabofloxacin의 항균력

*S. aureus*에 대한 zabofloxacin의 시험관내 약효는 Table I에 요약하였다. Zabofloxacin은 *S. aureus*에 대해서 시험한 퀴놀론계 항균제 중에서 gemifloxacin과 함께 가장 우수한 항균력을 보여주었다. 메치실린 감수성 *S. aureus*(MSSA, methicillin-susceptible *S. aureus*)에 대한 zabofloxacin의 MIC₉₀(전체 시험균주의 90%에 해당하는 균주에 대해 저해 활성을 갖는 농도는 0.03 µg/ml로서, zabofloxacin의 항균력은 ciprofloxacin보다 16 배 강력하였다. 또한 zabofloxacin은 메치실린 내성 *S. aureus*(MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*)에 대해서도 ciprofloxacin

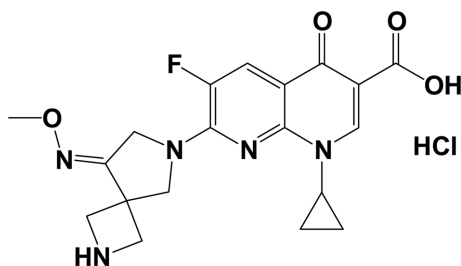


Fig. 1 – Chemical structure of zabofloxacin.

Table I – *In vitro* antibacterial activities of zabofloxacin against clinical isolates of *S. aureus*

Antimicrobial agent	MSSA (n=64) ^a			MRSA & QSSA (n=12) ^a			MRSA & QRSA (n=159) ^a		
	Range	50% ^b	90% ^b	Range	50%	90%	Range	50%	90%
Zabofloxacin	0.008-0.06	0.015	0.03	0.008-0.125	0.015	0.03	0.25-64	2	64
Ciprofloxacin	0.06-1	0.25	0.5	0.125-2	0.5	1	8->64	32	>64
Sparfloxacin	0.015-0.125	0.06	0.06	0.06-0.5	0.06	0.25	2->64	16	>64
Moxifloxacin	0.015-0.25	0.06	0.125	0.03-0.5	0.06	0.25	1->64	8	64
Gemifloxacin	0.008-0.06	0.015	0.03	0.008-0.25	0.03	0.03	0.25->64	2	64
Oxacillin	0.06-0.5	0.25	0.25	4->64	16	>64	64->64	>64	>64
Erythromycin	0.125->64	0.25	64	0.25->64	0.5	>64	16->64	>64	>64
Vancomycin	0.25-2	1	1	1	1	1	0.5-2	1	2
Linezolid	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Synercid	0.125-0.5	0.25	0.5	0.125-0.5	0.25	0.5	0.125-1	0.5	1

^aMSSA, methicillin-susceptible *S. aureus*; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; QSSA, quinolone –susceptible *S. aureus*; QRSA, quinolone-resistant *S. aureus*.

^b50% and 90%, MICs at which 50 or 90% of strains were inhibited, respectively.

Table II – *In vitro* antibacterial activities of zabofloxacin against clinical isolates of CNS^a

Antimicrobial agent	Methicillin-susceptible CNS (n=23)			Methicillin-resistant CNS (n=28)		
	Range	50%	90%	Range	50%	90%
Zabofloxacin	0.008-2	0.015	0.5	0.008-4	0.5	1
Ciprofloxacin	0.06-8	0.125	4	0.06-64	16	32
Sparfloxacin	0.03-8	0.125	4	0.03-32	4	8
Moxifloxacin	0.03-4	0.125	2	0.06-16	2	8
Gemifloxacin	0.008-0.5	0.015	0.5	0.008-8	0.5	1
Oxacillin	0.03-2	0.25	2	4->64	>64	>64
Erythromycin	0.06->64	8	>64	0.06->64	>64	>64
Vancomycin	1-2	2	2	1-2	2	2
Linezolid	1-2	1	1	1-2	1	1
Synercid	0.125-1	0.25	1	0.125-2	0.25	1

^aCNS, coagulase-negative staphylococcus.

보다 32 배 우수한 항균력을 보였다. QRSA에 대해서는 모든 퀴놀론 항균제가 활성이 없었다.

메치실린 감수성 CNS(Coagulase-Negative *Staphylococcus*)에 대한 zabofloxacin의 MIC₉₀은 0.5 µg/ml로서 ciprofloxacin 보다 8배 우수하였고, 메치실린 내성 CNS에 대해서는 zabofloxacin (MIC₉₀, 1 µg/ml)^o ciprofloxacin(MIC₉₀, 32 µg/ml)보다 32배 우

수하였다(Table II).

페니실린 감수성 폐렴구균(PSSP, penicillin-susceptible *S. pneumoniae*) 및 페니실린 내성 폐렴구균(PRSP, penicillin-resistant *S. pneumoniae*)에 대한 zabofloxacin의 MIC₉₀는 0.03 µg/ml로서 ciprofloxacin보다 64배 우수하였고, 그람양성 세균에 대해 우수한 약효를 가진 것으로 알려진 sparfloxacin 및

Table III – *In vitro* antibacterial activities of zabofloxacin against clinical isolates of *Streptococci*

Antimicrobial agent	PSSP (n=29) ^a			PRSP (n=65) ^a			<i>S. pyogenes</i> (n=47)		
	Range	50%	90%	Range	50%	90%	Range	50%	90%
Zabofloxacin	0.008-0.03	0.015	0.03	0.008-0.03	0.015	0.03	0.008-0.125	0.03	0.06
Ciprofloxacin	0.5-4	1	2	0.5-4	1	2	0.5-4	1	2
Sparfloxacin	0.06-1	0.25	0.5	0.125-0.5	0.25	0.5	0.125-1	0.25	0.5
Moxifloxacin	0.03-0.25	0.125	0.25	0.06-0.25	0.125	0.25	0.125-0.5	0.125	0.25
Gemifloxacin	0.008-0.06	0.03	0.06	0.008-0.06	0.03	0.06	0.015-0.125	0.03	0.06
Oxacillin	0.015-16	0.5	8	2~16	16	16	0.03-32	0.5	8
Erythromycin	0.015->64	0.5	>64	0.03->64	>64	>64	0.008-8	0.06	2
Vancomycin	0.25-0.5	0.25	0.5	0.25-1	0.25	0.5	0.5-1	1	1
Linezolid	0.25-1	0.5	1	0.25-1	0.5	1	1-2	2	2
Synercid	0.125-2	1	1	0.25-2	0.5	1	0.25-2	1	2

^aPSSP, penicillin-susceptible *S. pneumoniae*; PRSP, penicillin-resistant *S. pneumoniae*.

Table IV – *In vitro* antibacterial activities of zabofloxacin against clinical isolates of *Enterococci*

Antimicrobial agent	<i>E. faecalis</i> (109)			<i>E. faecium</i> (33)			VRE (16) ^a		
	Range	50%	90%	Range	50%	90%	Range	50%	90%
Zabofloxacin	0.008-16	0.125	4	0.03-32	2	16	0.125-4	0.5	4
Ciprofloxacin	0.06->64	2	64	1-64	4	64	0.5-4	4	4
Sparfloxacin	0.25-64	1	32	0.5-32	4	32	0.25-4	4	4
Moxifloxacin	0.06-64	2	32	0.25-64	4	32	0.25-4	2	4
Gemifloxacin	0.008-16	0.125	4	0.03-64	2	16	0.015-2	0.5	2
Oxacillin	8->64	16	>64	16->64	>64	>64	32->64	>64	>64
Erythromycin	0.125->64	>64	>64	2->64	>64	>64	>64	>64	>64
Vancomycin	0.5-4	2	4	0.5-2	1	2	>64	>64	>64
Linezolid	1-2	2	2	2	2	2	2	2	2
Synercid	0.25-16	4	16	0.25-8	0.5	4	0.5-2	2	2

^aVRE, vancomycin-resistant *Enterococci*.

Table V – *In vivo* activity of zabofloxacin against systemic infections in mice

Microorganism inoculum (CFU/mouse)	Antimicrobial agent ^a	MIC (µg/ml)	ED ₅₀ (mg/kg) (95% confidence limits)	
			p.o	
<i>S. aureus</i> giorgio (5×10 ⁷) ^b	Zabofloxacin	<0.008	2.40 (0.82~5.07)	
	Gemifloxacin	<0.008	2.33 (1.37~3.84)	
<i>S. pneumoniae</i> ATCC6305 (2×10 ⁴) ^b	Zabofloxacin	0.008	6.74 (2.38~11.61)	
	Gemifloxacin	0.015	7.99 (3.66~14.02)	

^aAntimicrobial agent was administered orally at 1 and 4 h post infection.

^b*S. aureus* giorgio was suspended in 0.9% saline solution containing 5% mucin, and *S. pneumoniae* ATCC6305 was suspended in 0.9% saline solution.

moxifloxacin보다도 각각 16배, 8배 우수하였다. *S. pyogenes*에 대해서도 zabofloxacin는 ciprofloxacin, sparfloxacin, moxifloxacin에 비해서 각각 32배, 8배, 4배 우수한 항균력을 보였다(Table III).

장구균세균(*Enterococci*)은 다른 그람양성세균에 비해 zabofloxacin에 덜 감수성이었지만, 이들 균주에 대해서도 zabofloxacin의 항균력은 gemifloxacin을 제외한 다른 퀴놀론에 비해 8~16배 우수하였다. VRE에 대해서는 모든 퀴놀론 항균제가 동등한 효과를 보여주었다(Table IV).

마우스의 전신감염모델에서의 약효 평가

마우스의 전신감염모델에서의 zabofloxacin의 치료효과를 Table V에서 gemifloxacin과 비교하였다. *S. aureus* giorgio 균주의 감염에 대한 zabofloxacin 및 gemifloxacin의 ED₅₀는 각각 2.40 mg/kg, 2.33 mg/kg로서 서로 비슷한 치료효과를 보여주었다. *S. pneumoniae* ATCC6305 균주의 전신감염에 대해서는 zabofloxacin(ED₅₀, 6.74 mg/kg)이 gemifloxacin(ED₅₀, 7.99 mg/kg)보다 약간 우수한 치료효과를 보여주었다. Zabofloxacin의 생체내 치료효과는 이 화합물의 실험관내에서의 항균력과 좋은 상관관계를 보여 주었다.

고찰 및 결론

퀴놀론 항균제는 현재 그람양성 및 그람음성세균의 감염에 대

해 유용한 치료제로서 사용되고 있지만, 임상에서 퀴놀론 항균제의 사용이 증가됨에 따라 그람양성세균 중에서 특히 폐렴구균 및 MRSA 등에서 내성 균주의 발현이 급격히 증가되고 있는 추세이다. 그러나 현재 사용 중인 퀴놀론 항균제들은 폐렴구균을 포함한 그람양성 세균에 대한 항균력이 낮기 때문에, 이들 내성 균들에 의한 감염 질환의 치료에는 사용되지 못하고 있는 실정이다.^{11,12)}

Zabofloxacin는 그람음성세균에 대한 우수한 항균력을 그대로 유지하면서, MRSA, MRSE, 폐렴구균, *S. pyogenes*, 장구균 등의 그람양성 세균에 대해서도 우수한 항균력을 가지고 있다는 점에서 기존의 퀴놀론 항균제에 비해 장점이 있음을 보여준다.⁵⁻⁸⁾ Zabofloxacin의 그람양성세균에 대한 우수한 약효는 naphthyridone 모핵에 oxime이 활성화된 새로운 aminomethyl-pyrrolidine이 치환되어있기 때문이다. 일반적으로 퀴놀론 모핵의 3번 위치에 3-aminomethyl-pyrrolidine 잔기가 치환되어 있으면, 시험관 내에서 뿐만 아니라 생체 내에서 그람양성세균에 대한 항균력이 증강되는 것으로 알려지고 있다.^{13,14)} 한편, Zabofloxacin는 실험동물에서 경구 투여 시 우수한 약동력학적 특성을 보여 주고 있을 뿐만 아니라 50%를 치사시킬 수 있는 약물의 농도인 LD₅₀이 마우스에서는 2,000 mg/kg 이상이며, 랫드를 통해서 5,000 mg/kg 이상으로서 동물에서 매우 안전한 것으로 확인되었다.^{15,16)} 이러한 여러 특성들은 Zabofloxacin가 중요한 치료제로서 사용될 수 있는 가능성을 보여주는 것이다.

보통 퀴놀론 항균제는 세균의 DNA gyrase 및 DNA topoisomerase IV 중에서 하나의 효소에 대해서만 저해작용을 가짐으로써 살균 효과를 나타낸다. 그러나 zafloxacin은 폐렴구균에서 DNA gyrase뿐만 아니라 DNA topoisomerase IV에 대해서도 모두 강한 저해 효과를 갖고 있기 때문에, 기존의 다른 퀴놀론 항균제보다 항균력에서 뿐만 아니라 내성균 발현율에서도 유리한 작용기전을 갖고 있음을 알 수 있다.¹⁷⁾ 결론적으로 기존의 퀴놀론 항균제보다 우수한 항균력과 약물동력학적 특성들을 고려할 때, zafloxacin는 인체의 다양한 감염질환의 치료에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단되며, 따라서 이 화합물의 임상 시험에서도 좋은 치료 효과가 기대된다.

감사의 말씀

본 연구는 2010년도 한동대학교 교내연구지원사업에 의해 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- 1) Hooper, D. C. and Rubinstein, E. : Quinolone antimicrobial agents. *ASM Press*. (2003).
- 2) Emmerson, A. M. and Jones, A. M. : The quinolones: decades of development and use. *J. Antimicrob. Chemother.* **51**(Suppl. S1), 13 (2003).
- 3) Levy, S. B. and Marshall, B. : Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat. Med.* **10**, s122 (2004).
- 4) Oh, J. I., Paek, K. S., An, M. J., Kim, M. Y., Hong, C. Y., Kim, I. C. and Kwak, J. H. : *In vitro* and *in vivo* evaluations of LB20304, a new Fluoronaphthyridone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **40**, 1564 (1996).
- 5) Park, H. S., Kim, H. J., Seol, M. J., Choi, D. R., Choi, E. C. and Kwak, J. H. : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of DW-224a, a new fluoronaphthyridone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 2261 (2006).
- 6) Kim, H. J., Seol, M. J., Park, H. S., Choi, D. R., Seong, S. K., Shin, H. K. and Kwak, J. H. : Antimicrobial activity of DW-224a, a new fluoroquinolone, against *Streptococcus pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemotherapy* **57**, 1256 (2006).
- 7) Kwon, A. R., Min, Y. H., Ryu, J. M., Choi, D. R., Shim, M. J. and Choi, E. C. : *In vitro* and *in vivo* activities of DW-224a, a novel fluoroquinolone antibiotic agent. *J. Antimicrob. Chemother.* **58**, 684 (2006).
- 8) Kosowska-Shick, K., Credito, K., Pankuch, G. A., Lin, G., Bozdogzn, B., McGhee, P., Dewasse, B., Choi, D. R., Ryu, J. M. and Appelbaum, P. C. : Antipneumococcal activity of DW-224a, a new quinolone, compared to those of eight other agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 2064 (2006).
- 9) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 15th informational Supplement. Document M100-S15, CLSI, Wayne, PA (2005).
- 10) Bliss, C. I. : Statistics in bioassay. Academic Press, Inc., New York (1985).
- 11) Acar, J. F. and Francoual, S. : The clinical problems of bacterial resistance to the new quinolones. *J. Antimicrob. Chemother.* **26**(Suppl B), 207 (1990).
- 12) Hamett, N., Brown, S. and Krishnan, C. : Emergence of quinolone resistance among clinical isolate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Ontario, Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.* **35**, 1911 (1991).
- 13) Domagala, J. M. : Structure-activity and structure-side effect relationships for the quinolone antibacterials. *J. Antimicrob. Chemother.* **33**, 685 (1994).
- 14) Hong, C. Y., Kim, Y. K., Lee, Y. H. and Kwak, J. H. : Methyloxime-substituted aminopyrrolidine: A new surrogate for 7-basic group of quinolone. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters.* **8**, 221 (1998).
- 15) Kim, E. J., Shin, W. H., Kim, K. S. and Han, S. S. : Safety pharmacology of DW-224a, a novel fluoroquinolone antibiotic agent. *Drug Chem. Toxicol.* **27**, 295 (2004).
- 16) Han, J., Kim, J. C., Chung, M. K., Kim, B. and Choi, D. R. : Subacute toxicity and toxokinetics of a new antibiotics, DW-224a, after single and 4-week repeated oral administration in dogs. *Biol. Pharm. Bull.* **26**, 832 (2003).
- 17) Park, H. S., Jung, S. J., Choi, D. R., Choi, E. C. and Kwak, J. H. : DNA gyrase and topoisomerase IV are dual targets of zafloxacin in *Streptococcus pneumoniae*. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **36**, 97 (2010).