

AM-715 に関する細菌学的検討

伊藤 明・平井 敬二・井上 松久・三橋 進

群馬大学医学部微生物教室

群馬大学医学部耐性菌研究施設

1. AM-715 は、グラム陽性、グラム陰性菌群に対して強い抗菌力を示した。特に、NA がほとんど無効であった *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* に対し強い抗菌作用を有し、*P. aeruginosa* に対する抗菌力は、GM より強いものであった。

2. AM-715 は、NA 耐性菌に対しても強い抗菌力を示し、NA との間には完全な交叉耐性を示さないことが特徴であった。

3. AM-715 は、MIC 以上の濃度で強い殺菌作用を示し、その作用は接種菌量による影響をほとんど受けなかった。

4. AM-715 は、マウス実験感染において、経口投与で良好な治療効果を示し、その効果は NA, PPA, MLX より優れていた。

AM-715 (1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolinocarboxylic acid) は、杏林製薬株式会社において合成された新キノリン系合成抗菌剤である。今回、臨床分離株に対するAM-715の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を、nalidixic acid (NA)¹⁾, pipemidic acid (PPA)²⁾, および miloxacin (MLX)³⁾ と比較検討したので、その成績を報告する。

I. 実験材料および方法

使用薬剤

AM-715 は杏林製薬、NA は第一製薬、PPA は大日本製薬、MLX は住友化学、gentamicin は塩野義製薬から分与を受けた。

使用菌株

標準菌株および各種病巣由来細菌(約2,000株)は群馬大学微生物教室保存株を用いた。

培地

Heart infusion agar (HIA, 栄研), Brain heart infusion agar (BHIA, Difco), Antibiotic medium 3 broth (AMB, Difco), 1% ペプトン水 (ポリペプトン 10g: NaCl 5g: 蒸留水 1000ml) を用いた。なお、*Haemophilus influenzae* 用培地として、100 µg の Hemine, 20 µg の β-Nicotinamide adenine dinucleotide 含有の BHIA (10ml) を用いた。

最小発育阻止濃度 (MIC) 測定

37°C, 18時間培養した菌液を1%ペプトン水にて適宜希釈し、菌数 10⁸ および 10⁶ cells/ml とした後、その1

白金耳を2倍希釈系列の薬剤を含むHIA培地に接種し、37°C, 18時間培養後にその最小発育阻止濃度(MIC)を判定した。この際、*Streptococcus pyogenes* にはBHIA平板、*Haemophilus influenzae* には上記培地をそれぞれ使用し、*Pseudomonas aeruginosa* の前培養液には、1%ペプトン水中に0.4%のKNO₃を加えたものを用いた。以上、日本化学療法学会標準法⁴⁾に準じて行なった。

殺菌効果測定

a) 増殖曲線に及ぼす影響

AMB, 37°C, 18時間培養菌液をAMBで10³ cells/mlに希釈し、振盪培養を行ない、振盪培養2時間後、MIC値前後の薬剤を添加し経時的に生菌数を測定した。

b) 最小殺菌濃度 (MBC) の測定

1菌株につき25株を用い、AMBで37°C, 18時間培養した菌液を希釈し、2倍希釈系列の薬剤を含むAMB中に、接種菌量が約10⁴ cells/mlとなるように接種した。37°C, 18時間培養後、肉眼で濁度を判定し、濁度の全くないところをもってMICとした。MIC以上の濃度のチューブから薬剤を含まないHIAに1白金耳ずつ接種し、37°C, 18時間培養後生菌の有無を判定した。生菌の全くないところをもってMBCとした。

50%菌発育阻止濃度 (ID₅₀) の測定

1%ペプトン水で前培養した菌液を希釈して約300個の菌を種々の濃度の薬剤を含むHIA平板に接種し、37°C, 18時間培養後、各平板上のコロニー数を測定した。ID₅₀値は、加藤ら⁵⁾の方法によって算出した。

マウス感染治療実験

ICR 系雄マウス 19 ± 1 g を、1 薬剤濃度あたり、1 群 15~30 匹使用した。試験菌には、*E. coli* ML4707, *K. pneumoniae* GN6445, *P. aeruginosa* GN11189, *S. marcescens* GN7577, *S. aureus* SMITH を用い、マウス腹腔内に感染させ、薬剤を、*E. coli* ML4707, *K. pneumoniae* GN6445 では、感染直後および 6 時間後に、経口投与し、他の菌株は、感染直後および 4 時間後に経口投与した。なお、*E. coli* ML4707, *K. pneumoniae* GN6445 は生理食塩水で菌液を調製したが、他の菌株は 5% mucin を含む BHI broth に懸濁し用いた。感染 7 日後の生存率から LITCHFIELD-WILCOXON 法⁹⁾に基づき、ED₅₀ 値および 95% 信頼限界値を求めた。

II. 実験成績

1. 標準菌株に対する抗菌力

AM-715 の標準菌株に対する抗菌力を他の NA 系薬剤を対照薬として比較検討した。その結果を Table 1 に

示した。

グラム陽性菌群の *S. aureus* 3 株では、AM-715 の MIC は 0.2~1.56 μ g/ml, PPA は 6.25~50 μ g/ml, MLX は 3.13~12.5 μ g/ml であったが、NA は TERAJIMA 株で 25 μ g/ml を示すのみで他の株はいずれも 100 μ g/ml 以上で感受性を示さなかった。*Streptococcus pyogenes* では、AM-715 は 1.56 μ g/ml の MIC を示したが、他の薬剤はいずれも MIC 100 μ g/ml 以上であり、感受性を示さなかった。

一方、グラム陰性菌群では、*P. aeruginosa* を除く菌種で、AM-715 の MIC は 0.025~0.2 μ g/ml であり、PPA の 0.78~6.25 μ g/ml, MLX の 0.78~3.13 μ g/ml, NA の 0.78~12.5 μ g/ml に比べ強い抗菌力を示した。さらに、*P. aeruginosa* 2 株に対し、AM-715 は 0.2, 0.78 μ g/ml の MIC を示し、PPA, MLX の 3.13, 12.5 μ g/ml に比べ 10 数倍以上強い抗菌力を示した。

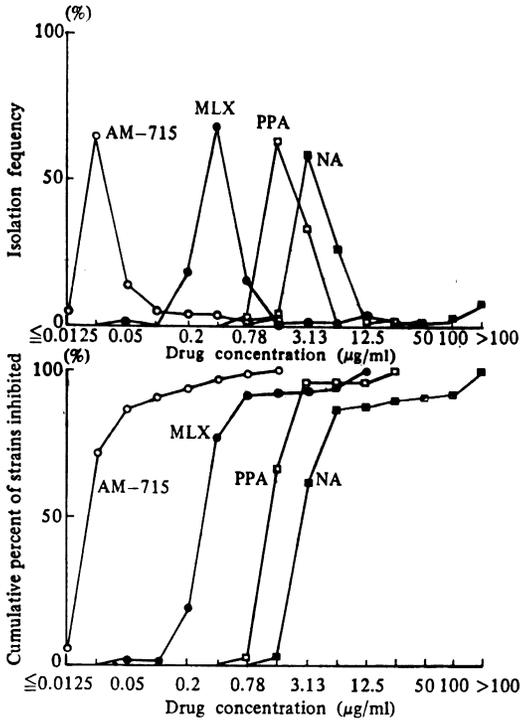
以上のように、AM-715 はグラム陽性菌、陰性菌に対

Table 1 Antibacterial activity of AM-715 against standard strains of bacteria

Organisms	MIC (μ g/ml)			
	AM-715	MLX	PPA	NA
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	0.10	0.78	3.13	3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	1.56	12.5	50	>100
<i>S. aureus</i> FDA209P JC-1	0.20	12.5	6.25	>100
<i>S. aureus</i> TERAJIMA	0.39	3.13	12.5	25
<i>Streptococcus pyogenes</i> COOK	1.56	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.05	0.78	1.56	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI-602	0.10	3.13	1.56	6.25
<i>Serratia marcescens</i> IID620	0.05	0.78	1.56	6.25
<i>S. marcescens</i> IAM1184	0.20	1.56	3.13	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO3445	0.78	12.5	12.5	>100
<i>P. aeruginosa</i> NCTC10490	0.20	3.13	3.13	25
<i>Proteus mirabilis</i> IFO3849	0.10	0.78	6.25	12.5
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.05	0.78	1.56	3.13
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.05	0.78	1.56	1.56
<i>P.morganii</i> IFO3848	0.025	0.78	1.56	1.56
<i>P. rettgeri</i> IFO3850	0.10	0.78	1.56	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> 963	0.05	0.78	1.56	6.25
<i>E. aerogenes</i> ATCC13048	0.10	0.78	1.56	3.13
<i>Salmonella typhi</i> 901	0.025	1.56	1.56	6.25
<i>S. typhimurium</i> IID971	0.10	0.78	1.56	6.25
<i>S. paratyphi</i> 1015	0.025	0.78	0.78	0.78
<i>S. schottmulleri</i> 8006	0.025	0.78	0.78	0.78
<i>S. enteritidis</i> G14	0.05	0.78	1.56	3.13

*MLX: miloxacin, PPA: pipemidic acid, NA: nalidixic acid

Fig. 1 Antibacterial activity of AM-715 against 219 *E. coli*



し、1.56 $\mu\text{g/ml}$ 以下で試験したすべての標準株の発育を阻止した。

2. 臨床分離株の感受性分布

グラム陰性菌、グラム陽性菌について、群馬大学微生物教室、耐性菌保存センターの臨床分離株を用い、AM-715 の抗菌力を検討した。

臨床分離 *E. coli* 219 株の感受性分布のピークは AM-715 で 0.025 $\mu\text{g/ml}$ であった。そのとき MLX は 0.39 $\mu\text{g/ml}$, PPA は 1.56 $\mu\text{g/ml}$, NA は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ にそれぞれピークを示した。一方、約 10% の株が、NA に対し 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性を示したが、AM-715 は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ で、試験した全株の発育を阻止した (Fig. 1)。

K. pneumoniae 248 株の感受性分布のピークは、AM-715 で 0.1 $\mu\text{g/ml}$, MLX で 1.56 $\mu\text{g/ml}$, PPA で 3.13 $\mu\text{g/ml}$, NA で 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。0.2 $\mu\text{g/ml}$ で AM-715 は全株の 90% 前後を阻止し、また 3.13 $\mu\text{g/ml}$ で全株の発育を阻止した。一方、NA に対して 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示す耐性菌が約 10% 存在していた (Fig. 2)。

Proteus mirabilis 50 株の感受性分布のピークは AM-715 で 0.05 $\mu\text{g/ml}$ にあり、MLX, PPA それぞれのピー

Fig. 2 Antibacterial activity of AM-715 against 248 *K. pneumoniae*

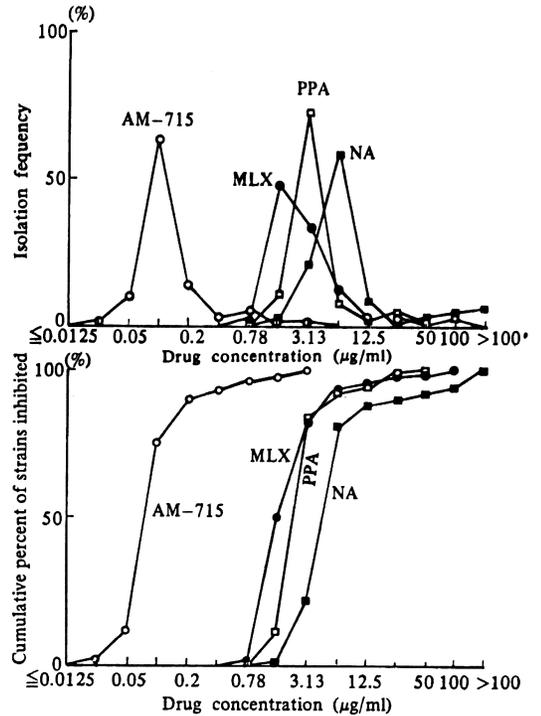


Fig. 3 Antibacterial activity of AM-715 against 50 *P. mirabilis*

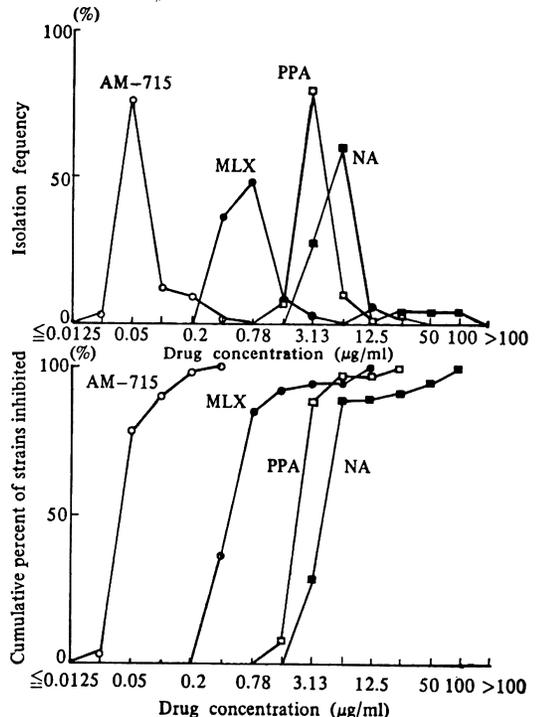
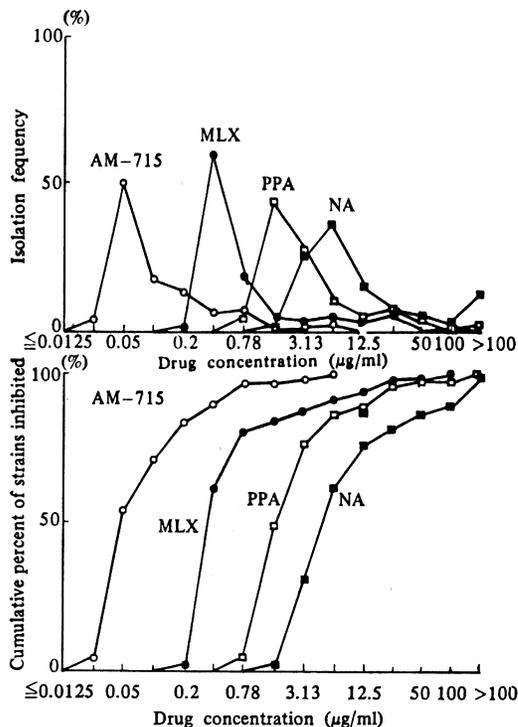


Fig. 4 Antibacterial activity of AM-715 against 152 *Proteus indole (+)*



0.78, 3.13 $\mu\text{g/ml}$ に比べ強い抗菌力を示した。また、0.1 $\mu\text{g/ml}$ で AM-715 は全株の 90% の発育を阻止した (Fig. 3)。

Indole-positive *Proteus* (*P. vulgaris*, *P. morganii*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*) 152 株の感受性のピークは AM-715 で 0.05 $\mu\text{g/ml}$ にあり、0.39 $\mu\text{g/ml}$ で 90% の株の発育を阻止し、MLX, PPA, NA よりも強い抗菌力を示した (Fig. 4)。

近年、日和見感染症の原因菌として注目され、多くの β -ラクタム抗生物質に耐性を示す *S. marcescens* 160 株の感受性分布のピークは、AM-715 で 0.2, 1.56 $\mu\text{g/ml}$ の二峰性を示し、他の菌種とは異なるパターンであったが、3.13 $\mu\text{g/ml}$ で全株中 95% の株の発育を阻止した。一方、NA においては、MIC 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性株が 20% 以上存在しており、PPA, MLX にも耐性株が認められた (Fig. 5)。

Enterobacter sp. 130 株の感受性は、AM-715 で 0.05 $\mu\text{g/ml}$ にピークがみられ、0.78 $\mu\text{g/ml}$ で全株の菌の発育を阻止した。また、この濃度で、MLX で約 40%、PPA で 3% の発育の阻止がみられたが、NA ではこの濃度では、一株の阻止もみられなかった (Fig. 6)。

P. aeruginosa 232 株の感受性分布のピークは、AM-

Fig. 5 Antibacterial activity of AM-715 against 160 *S. marcescens*

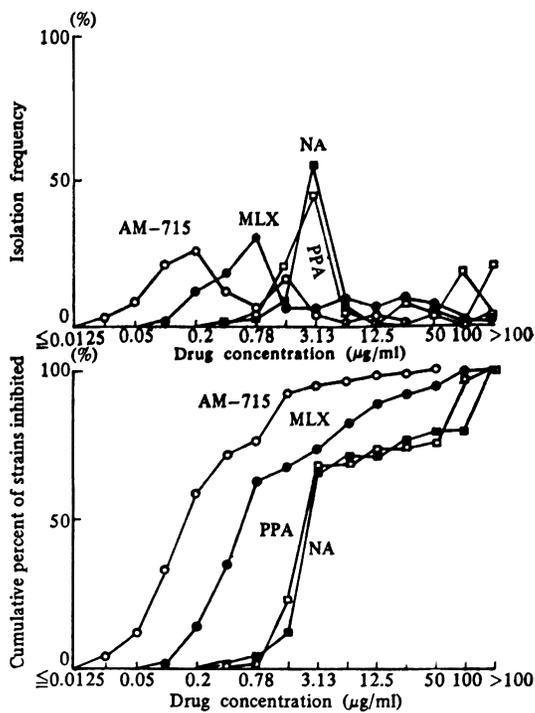


Fig. 6 Antibacterial activity of AM-715 against 130 *Enterobacter* spp.

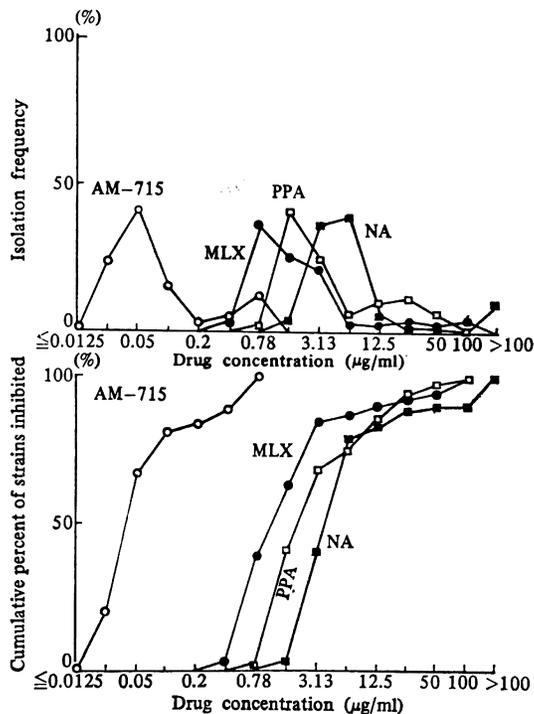
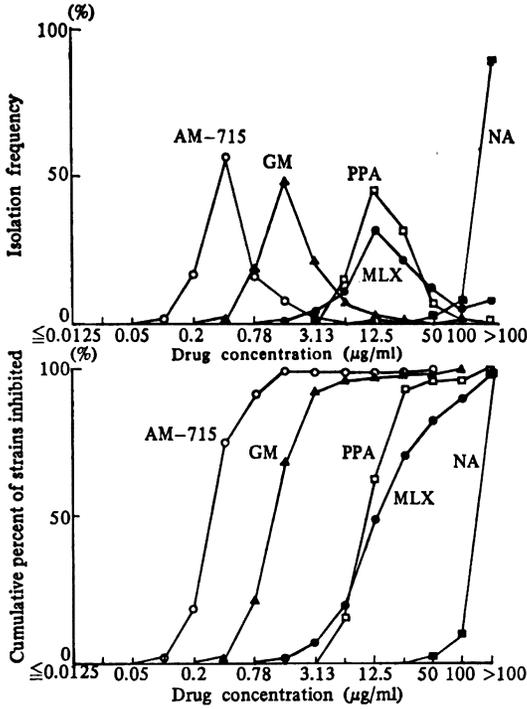


Fig. 7 Antibacterial activity of AM-715 against 232 *P. aeruginosa*



715で0.39 $\mu\text{g/ml}$ にあり, gentamicin の 1.56 $\mu\text{g/ml}$, PPA の 12.5 $\mu\text{g/ml}$ に比べ, それぞれ4, 32倍強い抗菌力を示した。NA では, 90%以上の株が MIC 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布した。AM-715 は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ で 95%以上の菌株の発育を阻止した。この濃度で gentamicin は 70%の発育を阻止したが, PPA は全く発育の阻止ができなかった (Fig. 7)。

S. aureus 297 株の感受性分布のピークは AM-715 で 0.78 $\mu\text{g/ml}$ にあり, 対照薬剤に比べ強い抗菌力を示した。AM-715 は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で全株の発育を阻止したが, この濃度では PPA, NAとも全く発育の阻止ができなかった (Fig. 8)。

以上代表的な菌種について, 感受性分布, 累積分布を示したが, これらの菌種と, 他にここで図示しなかった菌種について, 全株の 50%および 75%発育阻止する濃度を求めることにより, AM-715 と他剤との抗菌力の比較をに Table 2 まとめた。この表に示すように, AM-715 は他の NA 系薬剤よりも, はるかにすぐれた抗菌力を有していた。なお, ここで示した MIC は接種菌量 10^6 cells/ml での値である。

3. 耐性菌に対する抗菌力

最近, 臨床分離株の中に NA 耐性菌の増加傾向がみ

Fig. 8 Antibacterial activity of AM-715 against 297 *S. aureus*

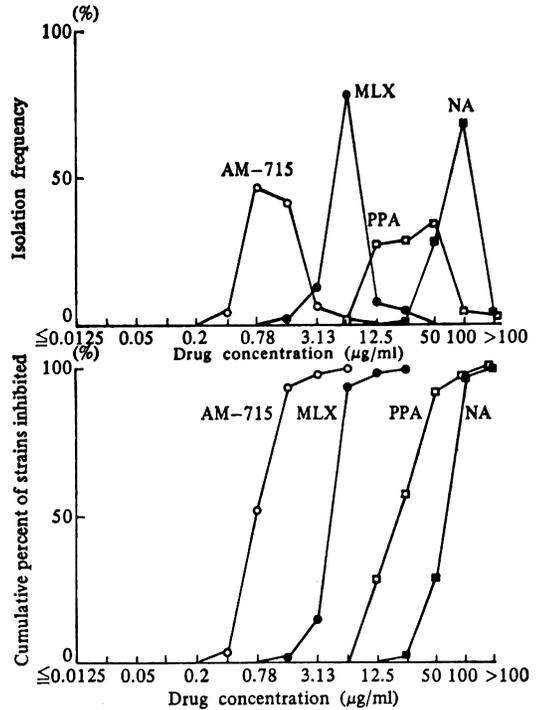


Fig. 9 Antibacterial activity of AM-715 against 50 NA-resistant strains

(18 *E. coli*, 12 *K. pneumoniae*, 12 *E. cloacae* and 8 indole-positive *Proteus* spp.)

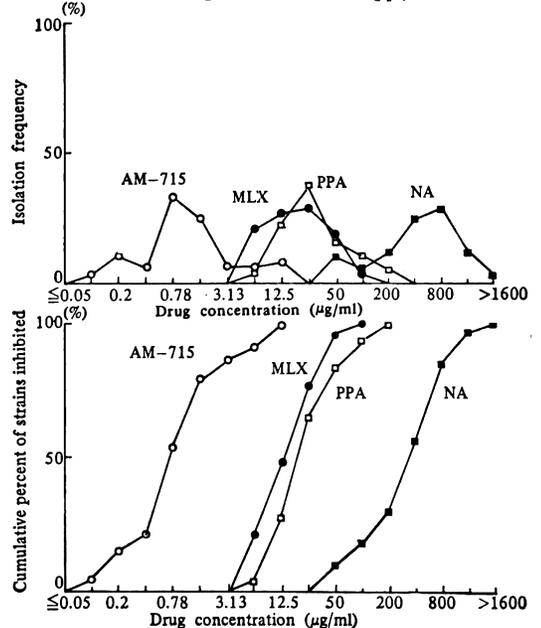


Table 2 Antibacterial activity of AM-715 against various species of clinical isolates

Species	No. of strains	MIC ₅₀ (μg/ml)*				MIC ₇₅ (μg/ml)*			
		AM-715	MLX	PPA	NA	AM-715	MLX	PPA	NA
<i>E. coli</i>	219	0.02	0.28	1.32	2.79	0.04	0.36	2.05	4.40
<i>K. pneumoniae</i>	248	0.08	1.56	2.24	4.68	0.10	2.35	2.85	5.80
<i>Proteus mirabilis</i>	50	0.04	0.48	2.25	4.00	0.05	0.63	2.80	5.70
Indole positive <i>Proteus</i> spp.	152	0.03	0.34	1.57	4.10	0.09	0.52	3.00	5.80
<i>Enterobacter</i> spp.	130	0.04	1.05	1.59	3.65	0.08	1.90	6.25	5.80
<i>C. freundii</i>	64	0.05	NT**	2.25	7.00	0.14	NT	7.60	20.0
<i>S. marcescens</i>	160	0.16	0.58	2.55	2.65	0.88	2.20	54.0	23.0
<i>P. aeruginosa</i>	232	0.29	13.2	10.4	>100	0.38	23.5	17.0	>100
<i>Salmonella</i> spp.	199	0.04	NT	NT	2.55	0.05	NT	NT	4.00
<i>Shigella</i> spp.	150	0.02	NT	NT	1.15	0.02	NT	NT	1.50
<i>Haemophilus influenzae</i>	21	0.03	NT	NT	0.71	0.04	NT	NT	1.10
<i>S. aureus</i>	297	0.71	4.25	14.5	48.0	1.10	5.10	21.0	71.0
<i>S. epidermidis</i>	64	0.36	13.0	14.8	33.0	0.54	22.5	20.0	42.5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	80	0.99	55.0	61.0	>100	1.60	77.0	86.0	>100

*MIC₅₀ and MIC₇₅ represent the concentrations required to inhibit to the growth of 50% and 75%, respectively, of the total number of strains used.

**NT: not tested

られ、我々の実験でも、*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus* sp., *S. marcescens* の中に 10~20% の NA 耐性菌が認められた。AM-715 のこれらの NA 耐性菌 (*E. coli* 18 株, *K. pneumoniae* 12 株, *E. cloacae* 12 株, indole-positive *Proteus* 8 株) に対する抗菌力は、Fig. 9 に示すように、AM-715 は 0.78 μg/ml にピークが見られ、その時、MLX, PPA はそれぞれ 25 μg/ml にピークを示し、NA は 50 μg/ml, 800 μg/ml に二峰性のピークを示した。このように、AM-715 は NA 耐性菌にも、ほとんど交叉耐性を示さず、強い抗菌力を示した。

一方、*P. aeruginosa* の中で gentamicin に耐性を示す 80 株について、AM-715 の抗菌力を見た結果は、Fig. 10 に示す通り、当然のことながら gentamicin と交叉は見られなかった。

4. 殺菌効果

代表的な菌種について、25 株ずつ MIC と MBC を比較検討した。*E. coli* 25 株については Fig. 11 に示したが、MBC は MIC とほぼ同濃度もしくは、1 段階の差であり、AM-715 は殺菌的に作用した。成績は示していないが他の菌種 (*K. pneumoniae*, *Proteus* sp., *S. marcescens*, *E. cloacae*, *S. aureus*) でもほぼ同様の結果であった。一方、*P. aeruginosa* 25 株では、他菌種とは異なり、MBC

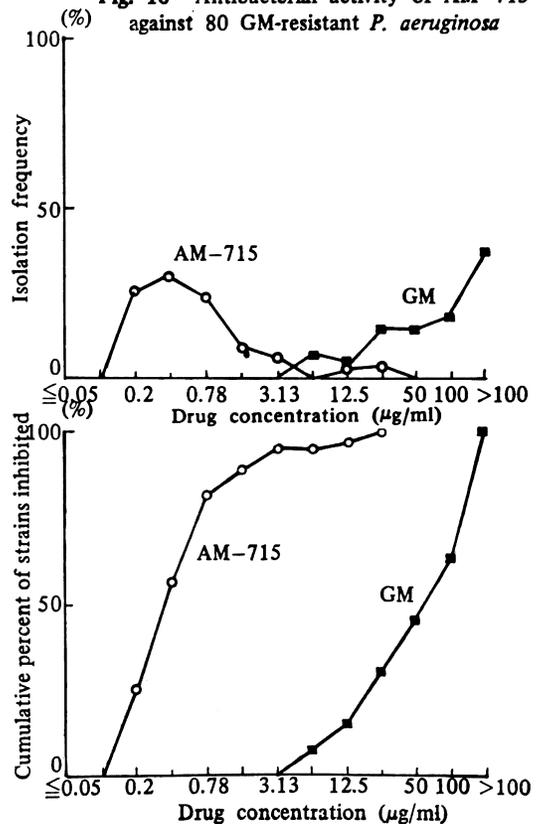
Fig. 10 Antibacterial activity of AM-715 against 80 GM-resistant *P. aeruginosa*

Fig. 11 Bactericidal activity of AM-715 and NA against 25 strains of *E. coli*

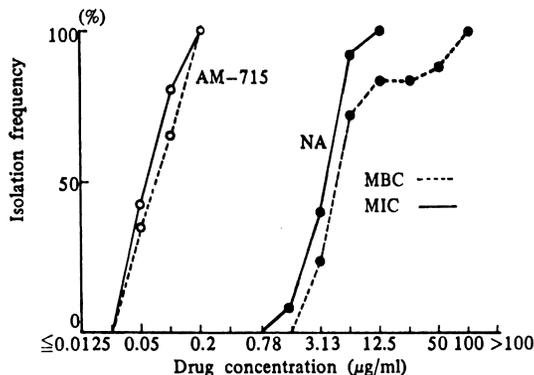


Fig. 12 Bactericidal activity of AM-715 and NA against 25 strains of *P. aeruginosa*

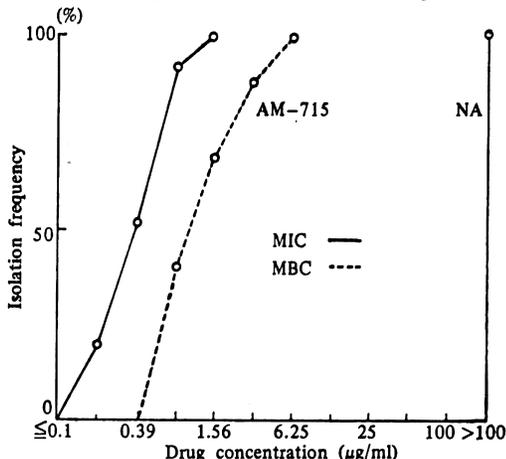
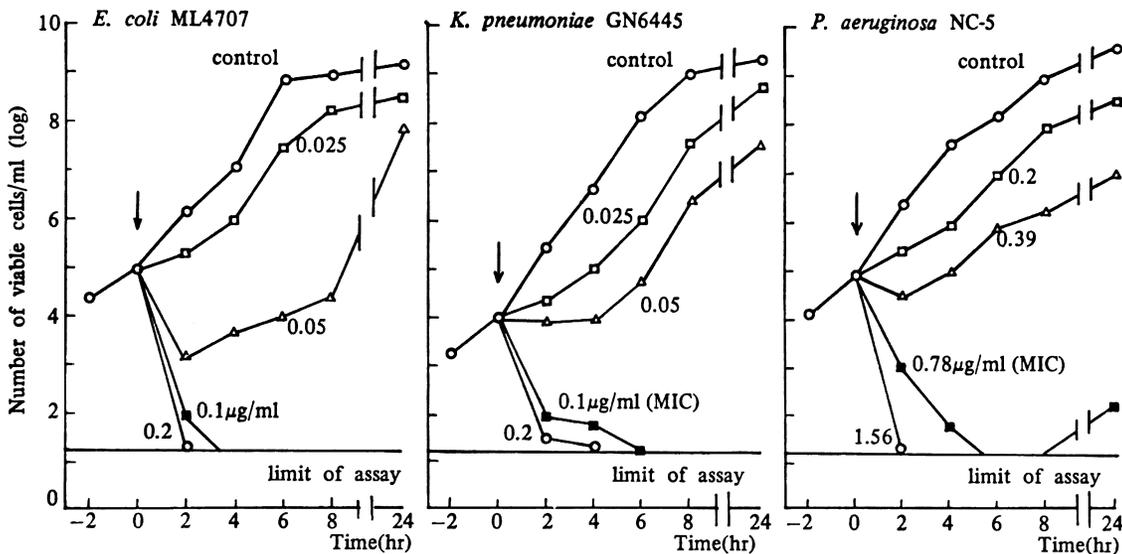


Fig. 13 Bactericidal activity of AM-715 against *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*



と MIC とに若干差が認められた (Fig. 12)。

細菌の増殖曲線に及ぼす AM-715, PPA, NA の影響を生菌数の推移より検討した。Fig. 13 に AM-715 の *E. coli* ML4707, *K. pneumoniae* GN6445, *P. aeruginosa* NC-5 を試験菌とした場合の生菌数の推移の様相を示した。

E. coli ML4707, *K. pneumoniae* GN6445 では MIC 濃度で菌の増殖を完全に抑えたが *P. aeruginosa* NC-5 では 10^3 cells/ml の低菌数ではあるが、24 時間後に再増殖が見られた。対照に用いた PPA, NA 共にほぼ同じ殺

菌曲線パターンを示した (Fig. 13)。

5. MIC, MBC に及ぼす接種菌量の影響

接種菌量による MIC, MBC の変動を, *E. coli* ML4707, *S. marcescens* GN6486, *P. aeruginosa* NC-5 の 3 菌株を用いて検討した。いずれの株でも, MIC, MBC への接種菌量の影響は比較的小さく, 特に AM-715 は他の 3 剤に比較し変動が小さかった (Table 3, 4, 5)。

6. 50% 菌発育阻止濃度 (ID₅₀)

従来の抗菌性物質の抗菌力測定と異なり, より正確に薬剤の抗菌作用を測定する目的で 50% 発育阻止濃度測

Table 3 Effect of inoculum size on MIC and MBC of AM-715, MLX, PPA and NA
E. coli ML4707

Inoculum size (cells/ml)	AM-715		MLX		PPA		NA	
	MIC*	MBC*	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
2×10 ⁸	0.1	0.2	3.13	12.5	3.13	25	12.5	50
2×10 ⁷	0.1	0.1	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	6.25
2×10 ⁶	0.1	0.1	0.39	0.78	1.56	1.56	3.13	3.13
2×10 ⁵	0.05	0.05	0.39	0.39	1.56	1.56	1.56	1.56
2×10 ⁴	0.05	0.05	0.39	0.39	1.56	1.56	1.56	1.56
2×10 ³	0.05	0.05	0.39	0.39	1.56	1.56	1.56	1.56
2×10 ²	0.05	0.05	0.39	0.39	1.56	1.56	1.56	1.56

Medium: ABM 3 (Difco) *: µg/ml

Table 4 Effect of inoculum size on MIC and MBC of AM-715, MLX, PPA and NA
S. marcescens. GN6486

Inoculum size (cells/ml)	AM-715		MLX		PPA		NA	
	MIC*	MBC*	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
1×10 ⁷	0.78	1.56	1.56	12.5	12.5	100	6.25	100
1×10 ⁶	0.39	0.39	0.78	6.25	6.25	25	6.25	50
1×10 ⁵	0.39	0.39	0.39	0.78	6.25	25	3.13	6.25
1×10 ⁴	0.2	0.39	0.39	0.39	6.25	12.5	3.13	6.25
1×10 ³	0.2	0.39	0.39	0.39	3.13	12.5	3.13	3.13
1×10 ²	0.2	0.2	0.39	0.39	3.13	3.13	3.13	3.13

Medium: ABM 3 (Difco) *: µg/ml

Table 5 Effect of inoculum size on MIC and MBC of AM-715, MLX, PPA and NA
P. aeruginosa NC-5

Inoculum size (cells/ml)	AM-715		MLX		PPA		NA	
	MIC*	MBC*	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
1×10 ⁷	0.78	3.13	50	>200	50	200	>200	>200
1×10 ⁶	0.78	3.13	25	50	25	25	>200	>200
1×10 ⁵	0.39	0.78	25	25	12.5	12.5	200	>200
1×10 ⁴	0.39	0.78	12.5	25	12.5	12.5	200	>200
1×10 ³	0.39	0.78	12.5	25	12.5	12.5	200	200
1×10 ²	0.39	0.78	12.5	12.5	12.5	12.5	100	100

Medium: ABM 3 (Difco) *: µg/ml

定法が KATO⁵⁾ により開発された。すなわち、従来の MIC 測定は 2 倍希釈系列で測定しており、抗菌剤の抗菌力を定量的に比較することが困難であった。この方法を用いて、試験菌として *E. coli* ML4707, *P. aeruginosa* NC-5 を使用し、AM-715 の ID₅₀ 値を求めた。結果を Fig. 14 に示したが、AM-715 は *E. coli* ML 4707 で 0.014 µg/ml と非常に小さな ID₅₀ 値を示し、他剤に比較し 36~70 倍強い抗菌力を示した。*P. aeruginosa* NC-5 においても AM-715 の ID₅₀ 値は 0.21 µg/ml と MLX, PPA に比較し数 10 倍、NA に対しては約 1000 倍も強い

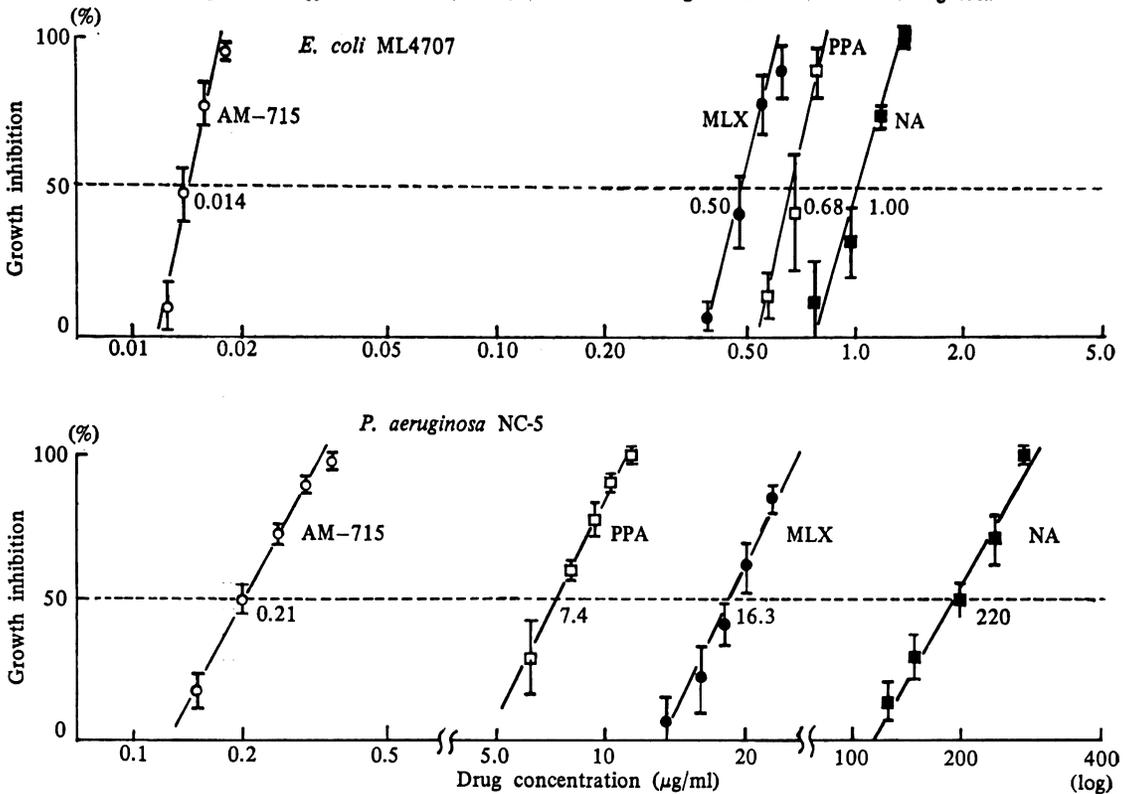
抗菌力を有していた。

7. マウス実験感染に対する治療効果

AM-715 と他の対照薬の *in vivo* 抗菌作用を、マウス実験感染に対する治療効果で比較検討した (Table 6)。

E. coli ML4707 では、AM-715 の ED₅₀ 値は 5.0 mg/kg で、MLX より約 4 倍、PPA, NA よりも約 7 倍すぐれた治療効果を示した。*K. pneumoniae* GN6445 感染の場合も、*E. coli* と同様他剤に比較し 3~6 倍優れた治療効果であった。

P. aeruginosa GN11187 では、AM-715 の ED₅₀ 値は

Fig. 14 ID₅₀ of AM-715, PPA, MLX and NA against *E. coli* and *P. aeruginosa*

27.1 mg/kg で、MLX の 4 倍、PPA の 9 倍、NA の 13 倍優れた効果であった。AM-715 は *in vitro* で NA 耐性菌に対しても強い抗菌力を示すことは前述したが、*in vivo* でもこのことが裏付けられた、すなわち、NA 耐性 *S. marcescens* GN7577 感染で AM-715 は MLX、PPA と比較しそれぞれ約 2 倍、約 10 倍優れた効果を示し、この時 NA は 800 mg/kg の投与量でも無効であった。

一方、*S. aureus* SMITH を用いた感染実験でも、AM-715 の ED₅₀ 値は 30.6 mg/kg と対照薬に比べ優れた治療効果を示した。

考 察

AM-715 はグラム陰性菌、グラム陽性菌に対し MLX、PPA、NA と比較し、10~100 倍強い抗菌力を有する broad spectrum な抗菌剤と考えられた。特に、*P. aeruginosa* に対し gentamicin の 4 倍以上強い抗菌力は注目に値すると思われる。一方、NA に対し感受性を示さなかったグラム陽性菌 (*S. aureus*, *S. pyogenes*) に対し、1.56 µg/ml 菌で 75~95% の株の発育を阻止する抗菌力を有することも、特色の一つと考えられた。

さらに、各種耐性菌に対する抗菌作用も優れており、最近増加しつつある NA 耐性菌に対しても、ほとんど交叉耐性を示さず、AM-715 1.56 µg/ml で試験した株の 90% 以上が発育を阻止された。

このような AM-715 の強い抗菌力および NA 耐性菌と交叉耐性を示さない理由については、今後さらに検討する必要がある。

AM-715 の抗菌作用は、グラム陰性菌、陽性菌 (*S. aureus*) 腹腔内感染マウスによる感染治療実験でも確認され、対照に用いた他の NA 系薬剤よりも優れた効果を示した。特に、*P. aeruginosa* 感染実験において、現在 *P. aeruginosa* 感染症に対し臨床的に有用な経口抗菌剤である PPA をはるかに上回る抗菌作用は、AM-715 の臨床での優れた治療効果が期待できることを示しているものと考えられる。

NA は尿路感染症に対し有用な抗菌剤であるが、耐性獲得および自然耐性出現頻度が高い為、治療中に同一起炎菌が耐性を獲得しやすく治療を困難にしているという報告がある^{7,8)}。また、BUCHBINDER ら⁹⁾ は、*in vitro* での耐性獲得実験の結果から、NA にみられるこの現象は

Table 6 In vivo antibacterial activity of AM-715 against systemic infections in mice

Organisms	Challenge dose (cells/body)	Drugs	MIC(μ g/ml)	ED* ₅₀ (mg/kg)	95% confidence limit (mg/kg)
<i>E. coli</i> ML4707	1.3×10^7	AM-715	0.05	5.0	4.5 - 5.6
		MLX	0.39	19.8	17.9 - 21.5
		PPA	1.56	35.4	32.5 - 38.3
		NA	3.13	34.8	32.1 - 37.5
<i>K. pneumoniae</i> GN6445	1.4×10^7	AM-715	0.05	4.6	3.5 - 5.5
		MLX	0.39	14.1	10.6 - 16.1
		PPA	1.56	29.1	25.2 - 34.5
		NA	3.13	28.4	25.0 - 32.1
<i>P. aeruginosa</i> GN11187	4.8×10^4 (+mucin)	AM-715	0.78	27.1	25.9 - 29.1
		MLX	25	107	76.1 - 146
		PPA	25	200	176 - 224
		NA	>100	364	307 - 546
<i>S. marcescens</i> GN7577	2.2×10^5 (+mucin)	AM-715	0.78	44.9	37.4 - 51.4
		MLX	6.25	78.6	64.4 - 88.7
		PPA	25	435.7	363.8 - 603
		NA	>100	>800	
<i>S. aureus</i> SMITH	3.0×10^5 (+mucin)	AM-715	0.78	30.6	23.9 - 41.9
		MLX	12.5	98.4	65.9 - 141.5
		PPA	12.5	183.4	110.6 - 286.9
		NA	25	503.6	208.1 - 1,000

*50% effective dose

臨床上的の問題であると提起している。他の NA誘導体 (oxolinic acid¹⁰⁾, cinoxacin¹¹⁾) でも同様な現象が認められている。一方, AM-715 の場合, ここでは実験結果を示さなかったが, NA に比べ非常に耐性獲得が行なわれにくく, 自然耐性出現頻度は 4MIC で 10^{-8} ~ 10^{-9} 以下と非常に低く, この点からも他の NA 誘導体とは異なっていた。この現象は, AM-715 の特徴の一つと考えられた。

文 献

- 1) LESHER, G. Y.; E. J. FROELICH, M. D. Gruett, J. H. BAILER & R. P. BRUNDAGE: 1, 8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. J. Med. Pharm. Chem. 5: 1063~1065, 1962
- 2) SHIMIZU, M.; Y. TAKASE, S. NAKAMURA, H. TAKASE, A. MINAMI, K. NAKATA, S. INOUE & Y. KUBO: Pipemidic acid, a new antibacterial agent active against *Pseudomonas aeruginosa*: In vitro properties. Antimicrob. Agents & Chemoth. 8: 132~138, 1975
- 3) NAGATE, T.; T. KOMATSU, A. IZAWA, S. OHMURA, S. NAMIKI & S. MITSUHASHI: In vitro and in vivo antibacterial activity of AB206, a new naphthyridine derivative. Antimicrob. Agents & Chemoth. 17: 203~208, 1980
- 4) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 23: 1126~1128, 1974
- 5) KATO, T.; S. KURASHIGE, Y. A. CHAFBERT & S. MITSUHASHI: Determination of ID₅₀ values of antibacterial agents in agar. J. Antibiotics 31: 1299~1303, 1978
- 6) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. 96: 99~113, 1949
- 7) BARLOW, A. M.: Nalidixic acid in infections of urinary tract: laboratory and clinical investigations. Brit. Med. J. 2: 1308~1310, 1963
- 8) RONALD, A. R.; T. TRUCK & R. C. PETERODORF: A critical evaluation of nalidixic acid in urinary-tract infections. New. Eng. J. Med. 275: 1081~1089, 1966
- 9) BUCHBINDER, M.; J. C. WEBB, L. ANDERSON & W. R. McCABE: Laboratory studies and clinical pharmacology of nalidixic acid (Win 18,320). Antimicrob. Agents & Chemoth. 1962: 308~317, 1963
- 10) RINGEL, S. M.; F. J. TURNER, F. L. LINDON, S. ROMER, B. A. DIREGE & B. S. SCHWARTZ: Oxolinic acid, a new synthetic antimicrobial agents II. bactericidal rate and resistance development. Antimicrob. Agents & Chemoth. 1967: 480~485, 1968
- 11) GIAMARELLOU, H. & G. G. JACKSON: Antibacterial activity of cinoxacin in vivo. Antimicrob. Agents & Chemoth. 7: 688~692, 1975

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF AM-715

AKIRA ITO, KEIJI HIRAI, MATSUHISA INOUE and SUSUMU MITSUHASHI

Department of Microbiology and Laboratory of Drug Resistance in Bacteria,
School of Medicine, Gunma University, Maebashi

In vitro and *in vivo* antibacterial activity of AM-715, a new nalidixic acid (NA)-analog synthesized in the laboratory of Kyorin Pharmaceutical Co. Ltd., were examined using various species of clinical isolates.

The results are summarized as follows.

- 1) AM-715 showed a broad spectrum of antibacterial activity against gram-negative and gram-positive bacteria.
- 2) AM-715 was more active than NA, piperidic acid (PPA) and miloxacin (MLX) against gram-negative bacteria, and especially, this compound was 4 times more active than gentamicin against *Pseudomonas aeruginosa*.
- 3) Most NA-resistant strains of bacteria were susceptible to AM-715, and cross-resistance between AM-715 and NA was incomplete.
- 4) AM-715 displayed bactericidal action at its minimal inhibitory concentrations against various species of bacteria. Minimal bactericidal concentrations were found to be near the MICs.
- 5) The *in vivo* effectiveness of AM-715 by the oral route was greater than that of NA, PPA and MLX against systemic infections in mice with gram-negative and gram-positive bacteria.