

新しい合成化学療法剤 DL-8280 に関する細菌学的評価

西野武志・田中真由美・河端繁勝・鍛 千晶・山中邦俊・谷野輝雄

京都薬科大学微生物学教室

合成化学療法剤 DL-8280 に関する細菌学的評価を、Pipemidic acid (PPA) および Norfloxacin (NFLX) を比較薬として検討し、以下の成績を得た。

- DL-8280 は、グラム陽性菌群、陰性菌群に対し広範囲な抗菌スペクトラムを有しており、その抗菌力は PPA より優れ、NFLX とほぼ同等であった。
- 臨床分離株に対する感受性分布では、*Proteus* 属と *Pseudomonas* 属においては NFLX よりやや劣っていたが、他のすべての菌種において DL-8280 が最も優れ、ついで NFLX, PPA の順であった。
- DL-8280 の抗菌力に及ぼす諸因子の影響では、*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* とともに、馬血清添加、接種菌量で影響はみられず、培地 pH がアルカリ性側の時に抗菌力が良好となった。
- E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* を用いて増殖曲線に及ぼす影響を検討した結果、dose response のある作用が見られ、すべて殺菌的に作用した。
- E. coli*, *P. aeruginosa* に DL-8280 を作用させた時の形態変化を観察したところ、*E. coli* では、菌体が伸長化し溶菌が認められたが、*P. aeruginosa* では、菌の伸長化はほとんど見られなかった。
- マウス実験的感染症に対する治療効果を *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus* を用いて検討したところ、DL-8280 は PPA および NFLX より優れた治療効果を示した。

はじめに

DL-8280 は、第一製薬株式会社で合成された新しい化学療法剤である。本物質は、化学名を (\pm)-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7H-pyrido[1,2,3-de][1,4]benzoxazine-6-carboxylic acid といい、分子式 $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ 、分子量 361.37、水に難溶の帶黃白色ないし淡黄色の結晶または結晶性の粉末である。その化学構造式は Fig. 1 に示すとおりである。本剤と近縁の化学療法剤には、Nalidixic acid, Piromidic acid, Pipemidic acid, Cinoxacin および Norfloxacin などがある。

今回、われわれは、DL-8280 の細菌学的評価について、Pipemidic acid^{1,2)} および Norfloxacin³⁾ を比較薬として種々の細菌学的検討を行い、二、三の知見を得たので報告する。

Fig. 1 Chemical structure of DL-8280



実験材料および実験方法

1. 使用薬

試験薬としては、DL-8280, Pipemidic acid (PPA), および Norfloxacin (NFLX) を使用した。

2. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌群および陰性菌群に対する試験管内抗菌力を、前培養に Tryptosoy broth (TSB: ニッスイ)、感受性測定に Heart infusion agar (HIA: ニッスイ) を用いて、日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁴⁾に準じて求めた。なお、*Streptococcus* 群、*C. diphtheriae* については 10% 馬血液加 HIA を、嫌気性菌群の *C. tetani*, *C. perfringens* には Thio-glycolate 培地 (TGC: ニッスイ) を、*N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* には GC 培地 (ニッスイ) を用いた。

3. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床材料から分離された *S. aureus* 75 株、*S. pyogenes* 19 株、*E. coli* 62 株、*K. pneumoniae* 63 株、*P. mirabilis* 29 株、*P. rettgeri* 17 株、*P. vulgaris* 40 株、*P. morganii* 28 株、*P. aeruginosa* 56 株、*S. marcescens* 65 株、*H.*

influenzae 16 株, *E. aerogenes* 25 株, *E. cloacae* 29 株, および *Acinetobacter* sp. 58 株について、前培養に感受性測定用ブイヨン (STB: 栄研), 感受性測定に感受性ディスク用培地 (STA: 栄研) を用いて、日本化学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法⁵⁾に準じて感受性測定を行った。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH, 馬血清添加, 接種菌量の影響について, *S. aureus* 209-P JC, *E. coli* NIH JC-2, *K. pneumoniae* KC-1, *P. aeruginosa* E-2 を試験菌として, HIA を用いた平板希釈法 (37°C, 18~20 時間培養) により検討を行った。

5. 増殖曲線に及ぼす影響

TSB で前培養した *S. aureus* SMITH, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *P. aeruginosa* E-2 を Heart infusion broth (HIB: ニッスイ) に移し, 対数期中期まで振盪培養し, 所定の濃度になるように薬剤を添加し, 以後経時的に生菌数を測定した。

6. 形態変化の観察

E. coli KC-14 および *P. aeruginosa* E-2 に薬剤を作用させた時の形態変化について検討を行った。すなわち, スライドグラス上で, 薬を含ませたフィルム寒天を作製し, 約 3 時間振盪培養を行った対数期途上の菌液をカバーグラスに塗沫し, これを寒天上にかぶせパラフィンで封入した。これを 37°C 恒温装置つきの位相差顕微鏡 (日本光学) により観察した。

7. マウス実験的感染症に対する治療効果

(a) 全身感染

S. aureus SMITH, *E. coli* KC-14, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55, *P. aeruginosa* E-2, *A. calco-aceticus* AC-54 の臨床分離の各菌株を Nutrient broth (NB: ニッスイ) で 37°C 18 時間培養後, 同培地で希釈し, 6% Gastric mucin (Nutritional Biochemicals Corporation) と等量混合した。この菌液を 1 群 10 匹の ddY 系雄マウス (17 ± 1 g) の腹腔内に接種し, 感染 2 時間後 1 回, 0.5% CMC に懸濁させた薬剤を経口投与した。その後 7 日間生死の観察を行い生存率を求め, LITCHFIELD-WILCOXON 法⁶⁾によって ED₅₀ 値を算出した。

(b) 呼吸器感染

K. pneumoniae DT-S を Nutrient agar (NA: ニッスイ) slant で 37°C 18 時間培養後, NB に懸濁した菌液を, 噴霧感染装置で噴霧感染を行った。感染 15 時間後 1 回, 0.5% CMC に懸濁させた薬剤を経口投与し, その後 10 日間生死の観察を行い, LITCHFIELD-WILCOXON 法⁶⁾によって ED₅₀ 値を算出した。

また, 感染 15 時間後に上記と同様に薬剤を投与し, 経時的にマウスを屠殺し, 肺内生菌数 (cells/lung) を測定した。

(c) 尿路感染

E. coli KC-14 を NA slant に 37°C 18 時間培養後, NB に懸濁した菌液を経尿道的に感染させた。感染 4 時間後 1 回, 0.5% CMC に懸濁させた薬剤を経口投与し, その 48 時間後にマウスを屠殺して, 腎内生菌数 (cells/kidney) を測定した。

実験結果

1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌群および陰性菌群に対する試験管内抗菌力について検討した結果を, Table 1~Table 4 に示した。DL-8280 は実験したすべてのグラム陽性菌に対して感受性を示し, その抗菌力は PPA に比べて優れており, NFLX とほぼ同等の抗菌力を有した。また, グラム陰性菌群に対しても, DL-8280 は NFLX と同様の抗菌力を示した。

2. 臨床分離株に対する感受性分布および感受性相関

臨床的に分離された *S. aureus* 75 株, *S. pyogenes* 19 株, *E. coli* 62 株, *K. pneumoniae* 63 株, *P. mirabilis* 29 株, *P. rettgeri* 17 株, *P. vulgaris* 40 株, *P. morganii* 28 株, *P. aeruginosa* 56 株, *S. marcescens* 65 株, *H. influenzae* 16 株, *E. aerogenes* 25 株, *E. cloacae* 29 株, *Acinetobacter* sp. 58 株の感受性分布, 累積分布を Fig. 2~Fig. 29 に示した。また, 感受性相関についても解析を行ったが, 図表には示さなかった。

(a) *S. aureus* の場合

接種菌量が 10^8 cells/ml の場合は, Fig. 2 に示すように DL-8280 は $0.39 \mu\text{g}/\text{ml}$ にピークがあり, すべての株が $0.20 \sim 0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。PPA では $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ にピークがあり, $6.25 \sim >100 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。NFLX ではピークが $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり, $0.20 \sim 6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ にすべての株が分布していた。 10^6 cells/ml の場合は, Fig. 3 に示すように 10^8 cells/ml に比較して感受性パターンにそれほど大きな変動は認められず, いずれの菌量においても DL-8280 > NFLX > PPA の順に優れていた。また, DL-8280 と NFLX との間に一部感受性相関が認められ, 一方, PPA との間には認められなかつた。

(b) *S. pyogenes* の場合

10^8 cells/ml の場合, Fig. 4 に示すように DL-8280 は $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ にピークがあり, $0.78 \sim 12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。PPA はすべて $>100 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり, NFLX は $0.78 \sim 25 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し, $1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ と $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ とにピークをもつ 2 峰性を示した。 10^6 cells/ml の場

Table 1 Antibacterial spectrum of gram-positive bacteria (10^8 cells/ml)

Organism	DL-8280	PPA	NFLX
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.39	25	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	0.39	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> TERAJIMA	0.39	50	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> NEUMANN	0.39	50	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.39	25	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	0.39	100	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.56	100	6.25
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	1.56	100	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> COOK*	0.78	100	1.56
<i>Streptococcus faecalis</i> *	1.56	100	1.56
<i>Streptococcus viridans</i> *	1.56	100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I *	1.56	100	3.13
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II *	1.56	100	3.13
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III *	1.56	100	3.13
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	0.39	100	1.56
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	3.13	100	25
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.20	6.25	0.39
<i>Bacillus anthracis</i>	0.39	12.5	0.78
<i>Clostridium tetani</i> **	0.39	12.5	0.78
<i>Clostridium perfringens</i> **	0.78	25	3.13

Medium : Heart infusion agar (Nissui) MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

* Supplemented with 10% horse blood, ** Thioglycolate medium (Nissui)

Method : Agar dilution (streak)

Table 2 Antibacterial spectrum of gram-positive bacteria (10^6 cells/ml)

Organism	DL-8280	PPA	NFLX
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.39	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	0.39	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> TERAJIMA	0.39	12.5	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> NEUMANN	0.20	25	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.39	25	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> No. 80	0.39	50	1.56
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.56	100	3.13
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.78	50	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> COOK*	0.39	100	0.78
<i>Streptococcus faecalis</i> *	1.56	100	1.56
<i>Streptococcus viridans</i> *	1.56	100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I *	0.78	100	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II *	1.56	100	3.13
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III *	0.78	100	1.56
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	0.20	50	0.39
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	1.56	100	12.5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.10	6.25	0.20
<i>Bacillus anthracis</i>	0.20	6.25	0.20
<i>Clostridium tetani</i> **	0.20	12.5	0.78
<i>Clostridium perfringens</i> **	0.78	25	0.78

Medium : Heart infusion agar (Nissui) MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

* Supplemented with 10% horse blood, ** Thioglycolate medium (Nissui)

Method : Agar dilution (streak)

Table 3 Antibacterial spectrum of gram-negative bacteria (10^8 cells/ml)

Organism	DL-8280	PPA	NFLX
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	0.012	1.56	0.05
<i>Neisseria meningitidis</i> *	0.012	0.78	0.05
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.20	3.13	0.20
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.05	1.56	0.10
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.05	1.56	0.05
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.05	1.56	0.10
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.78	12.5	0.78
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.05	3.13	0.05
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.025	1.56	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.05	0.78	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.10	1.56	0.10
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.20	6.25	0.20
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.10	1.56	0.20
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.10	1.56	0.10
<i>Shigella flexneri</i> KOMAGOME	0.10	1.56	0.10
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.10	1.56	0.05
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.05	1.56	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.10	3.13	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.10	3.13	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.20	1.56	0.20
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.10	3.13	0.10
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.39	1.56	0.20
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.20	3.13	0.05
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.78	3.13	0.39
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0.78	6.25	0.20
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.05	3.13	0.20
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.10	6.25	0.10
<i>Proteus morganii</i> KONO	0.39	3.13	0.39
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	0.05	3.13	0.05
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	0.39	3.13	0.20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	3.13	50	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Nc-5	1.56	12.5	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	6.25	50	1.56
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	0.78	100	12.5

MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Medium : Heart infusion agar (Nissui)

* GC medium (Nissui)

Method : Agar dilution (streak)

合は、Fig. 5 に示すように DL-8280 は $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ にピークをもち、 $0.39 \sim 1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。PPA では $\geq 100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、NFLX は $0.78 \sim 1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。いずれの場合も DL-8280 > NFLX > PPA の順に優れていた。また、DL-8280 と NFLX の間に一部感受性相関が認められた。

(c) *E. coli* の場合

10^8 cells/ml の場合は、Fig. 6 に示すように DL-8280 は $0.20 \mu\text{g}/\text{ml}$ にピークがあり、すべての株が $0.025 \sim 0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。PPA ではピークが $3.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ あり、 $0.78 \sim 50 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。NFLX では $0.20 \mu\text{g}/\text{ml}$ がピークで、 $0.05 \sim 1.56 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。 10^6 cells/ml の場合は、Fig. 7 に示すように、

10^8 cells/ml の場合と同様 DL-8280 > NFLX > PPA の順に抗菌力が優れていた。また、DL-8280 と NFLX の間に感受性相関が認められた。

(d) *K. pneumoniae* の場合

10^8 cells/ml の場合は、Fig. 8 に示すように DL-8280 のピークは $0.39 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり、すべての株が $0.10 \sim 3.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。PPA では $1.56 \sim 50 \mu\text{g}/\text{ml}$ に、NFLX では $0.20 \sim 3.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し、ピークは各々 $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ と $0.39 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。 10^6 cells/ml の場合は、Fig. 9 に示すように DL-8280 が $0.10 \sim 0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ に、PPA が $1.56 \sim 25 \mu\text{g}/\text{ml}$ に、NFLX が $0.10 \sim 0.39 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し、いずれの菌量においても DL-8280 = NFLX > PPA の順であった。感受性相関は

Table 4 Antibacterial spectrum of gram-negative bacteria (10^6 cells/ml)

Organism	DL-8280	PPA	NFLX
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	0.012	0.78	0.05
<i>Neisseria meningitidis</i> *	0.012	0.78	0.025
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.10	1.56	0.20
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.05	1.56	0.05
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.05	1.56	0.025
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.05	0.78	0.10
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.39	3.13	0.20
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.05	3.13	0.05
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.025	1.56	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.05	0.78	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.05	1.56	0.10
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.10	1.56	0.10
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.10	1.56	0.10
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.05	1.56	0.10
<i>Shigella flexneri</i> KOMAGOME	0.10	1.56	0.10
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.10	0.78	0.05
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.05	1.56	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.10	1.56	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.10	1.56	0.10
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.20	3.13	0.20
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.10	0.78	0.05
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.20	3.13	0.20
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.05	0.78	0.05
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.39	3.13	0.20
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0.20	1.56	0.20
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.05	3.13	0.10
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.10	3.13	0.05
<i>Proteus morganii</i> KONO	0.20	3.13	0.10
<i>Proteus rettgeri</i> NIH 96	0.05	1.56	0.05
<i>Proteus constans</i> NIH 118	0.20	3.13	0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No. 12	1.56	12.5	0.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Nc-5	0.20	3.13	0.20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	3.13	25	1.56
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	0.39	50	3.13

Medium : Heart infusion agar (Nissui)

MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

* GC medium (Nissui)

Method : Agar dilution (streak)

DL-8280 と NFLX の間に認められた。

(e) *P. mirabilis* の場合

10^8 cells/ml の場合は、Fig. 10 に示すように DL-8280 は 0.10~0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し、ピークは 0.20~0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。PPA は 3.13~12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し、NFLX は 0.10~0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。 10^6 cells/ml の場合は、Fig. 11 に示すように DL-8280 のピークは 0.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、NFLX は 0.10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と、NFLX の方がやや優れていた。また、DL-8280 と NFLX の間に感受性相關が認められた。

(f) *P. rettgeri* の場合

10^8 cells/ml の場合は、Fig. 12 に示すように DL-8280 は 0.20~12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に、PPA は 3.13~>100

$\mu\text{g}/\text{ml}$ に、NFLX は 0.10~6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。 10^6 cells/ml の場合は、Fig. 13 に示すように 10^6 cells/ml とほぼ同様の結果であり、いずれの菌量においても NFLX>DL-8280>PPA の順に優れていた。また、DL-8280 と NFLX, PPA との間に感受性相關はほとんど認められなかった。

(g) *P. vulgaris* の場合

10^8 cells/ml では、Fig. 14 に示すように DL-8280, NFLX ともに 0.05~0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し、ピークは 0.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。PPA は 1.56~6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し、3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ がピークであった。 10^6 cells/ml の場合は、Fig. 15 に示すように 10^6 cells/ml とほぼ同様であった。感受性相關は DL-8280 と NFLX の間に認め

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates: *Staphylococcus aureus* 75 strains (10^8 cell/ml)

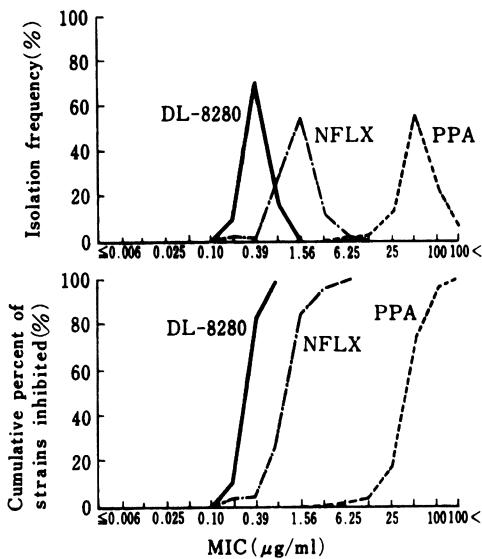
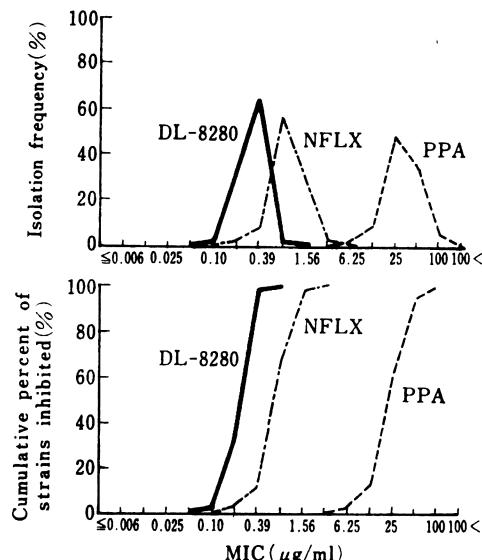


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates: *Staphylococcus aureus* 75 strains (10^6 cell/ml)



られた。

(h) *P. morganii* の場合

10^8 cells/ml では、Fig. 16 に示すように DL-8280 は 0.10~12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に、NFLX は 0.10~6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に、PPA は 1.56~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。 10^6 cells/ml でも 10^8 cells/ml の場合と同様であった (Fig. 17)。ま

Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates: *Streptococcus pyogenes* 19 strains (10^8 cells/ml)

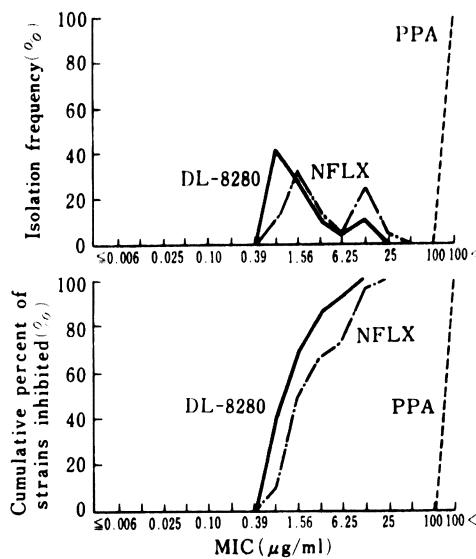
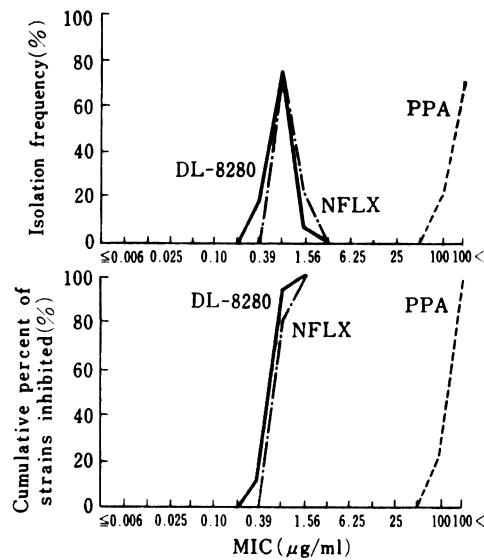


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates: *Streptococcus pyogenes* 19 strains (10^6 cells/ml)



た、DL-8280 と NFLX の間に、やや感受性相関が認められた。

(i) *P. aeruginosa* の場合

10^8 cells/ml の場合は、Fig. 18 に示すように DL-8280, NFLX ともに 0.78~12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。PPA は 約 95% が 12.5~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布してい

Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Escherichia coli* 62 strains (10^8 cells/ml)

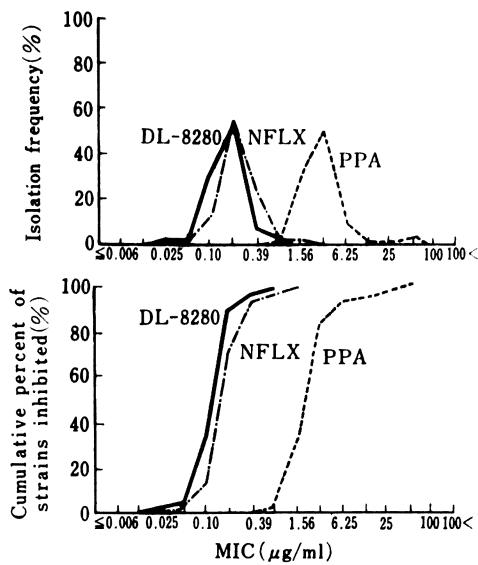
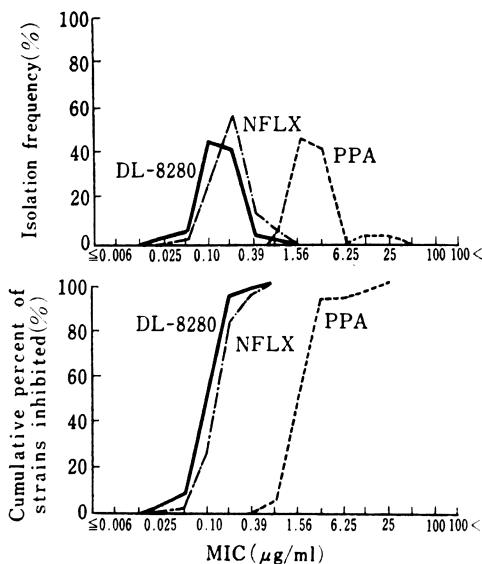


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Escherichia coli* 62 strains (10^6 cells/ml)



た。 10^6 cells/ml の場合は、Fig. 19 に示すように DL-8280 が $0.78\sim12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、NFLX は $0.20\sim6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ に、PPA は $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上に分布していた。また、DL-8280 と NFLX の間に一部感受性相関が認められた。

Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Klebsiella pneumoniae* 63 strains (10^8 cells/ml)

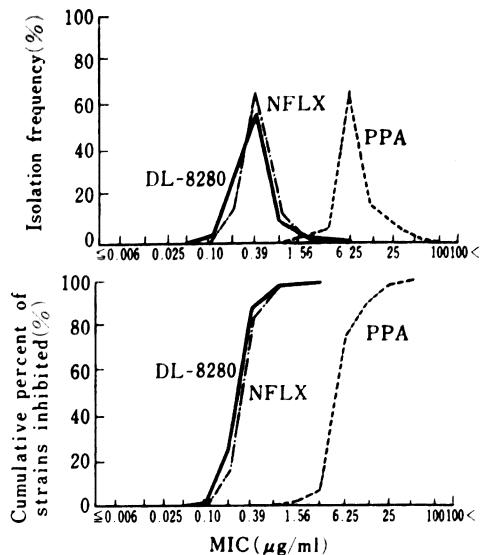
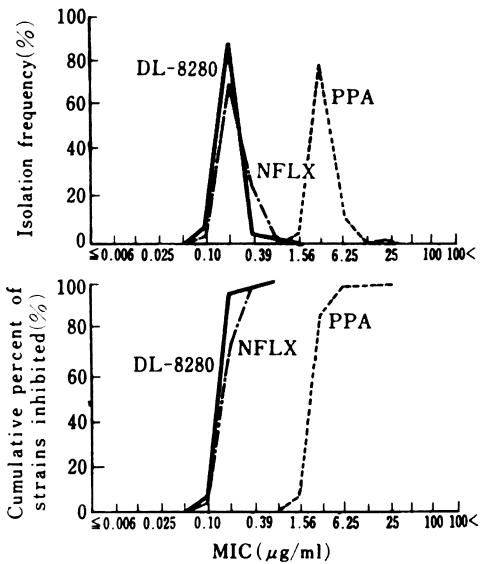


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Klebsiella pneumoniae* 63 strains (10^6 cells/ml)



(j) *S. marcescens* の場合

10^8 cells/ml の場合は、Fig. 20 に示すように DL-8280 は $0.39\sim50 \mu\text{g}/\text{ml}$ に、NFLX は $0.20\sim100 \mu\text{g}/\text{ml}$ に、PPA は $3.13\sim100 \mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。 10^6 cells/ml でも、Fig. 21 に示すように 10^8 cells/ml と同様であり、DL-8280=NFLX>PPA の順で優れていた。

Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates: *Proteus mirabilis* 29 strains (10^8 cells/ml)

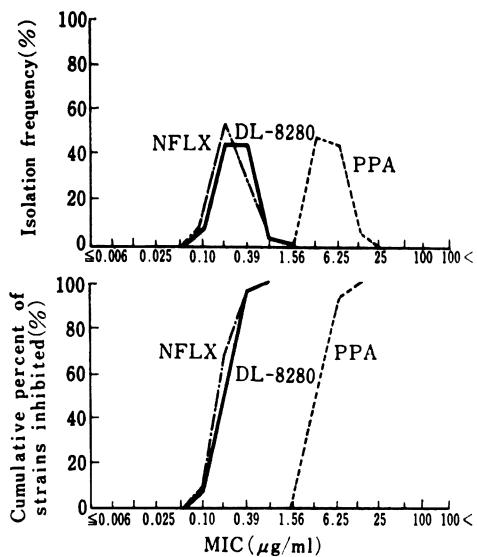
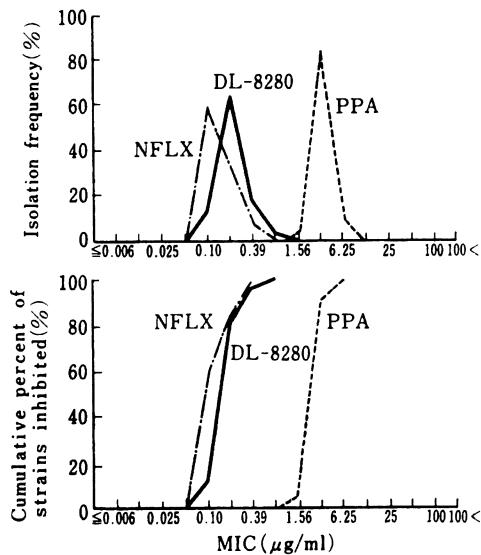


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates: *Proteus mirabilis* 29 strains (10^6 cells/ml)



感受性相関は DL-8280 と NFLX との間にやや認められた。

(k) *H. influenzae* の場合

10^8 cells/ml では、Fig. 22 に示すように DL-8280 は 0.025~0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に、NFLX は 0.05~0.10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に、PPA は 1.56~6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に約 95% の株が分布して

Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates: *Proteus rettgeri* 17 strains (10^8 cells/ml)

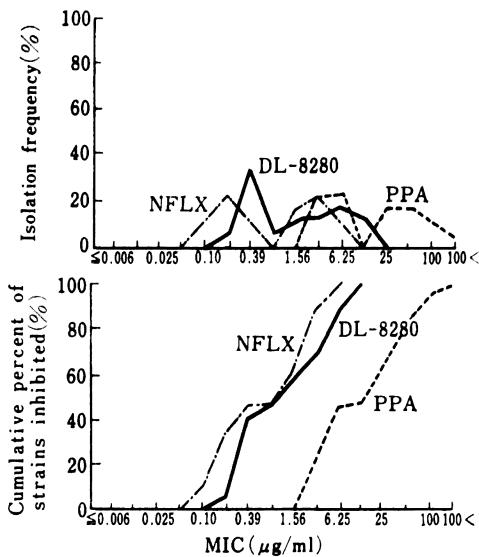
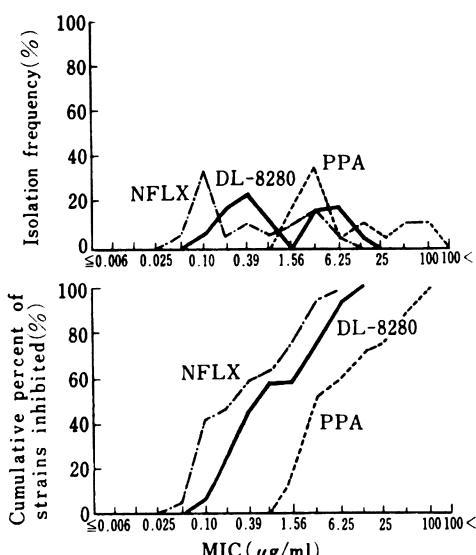


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates: *Proteus rettgeri* 17 strains (10^6 cells/ml)



いた。 10^6 cells/ml の場合も、Fig. 23 に示すように 10^8 cells/ml と同様であり、DL-8280 > NFLX > PPA の順に優れていた。また、DL-8280 と NFLX の間に一部感受性相関がみられた。

(l) *E. aerogenes* の場合

10^8 cells/ml では、Fig. 24 に示すように DL-8280 は

Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Proteus vulgaris* 40 strains (10^8 cells/ml)

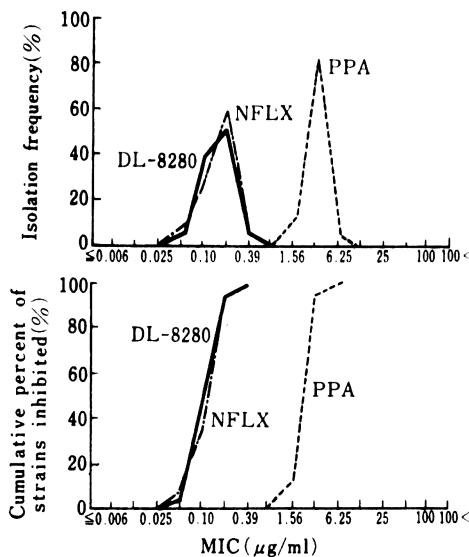
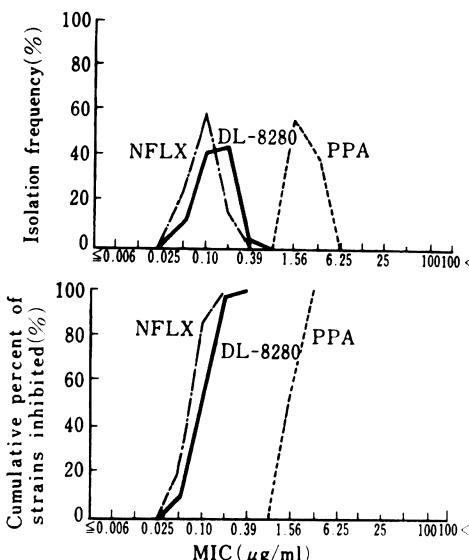


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Proteus vulgaris* 40 strains 10^6 cells/ml)



0.20~0.78 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に、NFLX は 0.39~1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に、PPA は 3.13~25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ にすべての株が分布し、DL-8280=NFLX>PPA の順に優れていた。 10^6 cells/ml でも、 10^8 cells/ml とほぼ同様であった (Fig. 25)。DL-8280 と NFLX の間に感受性相関が認められた。

Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Proteus morganii* 28 strains (10^8 cells/ml)

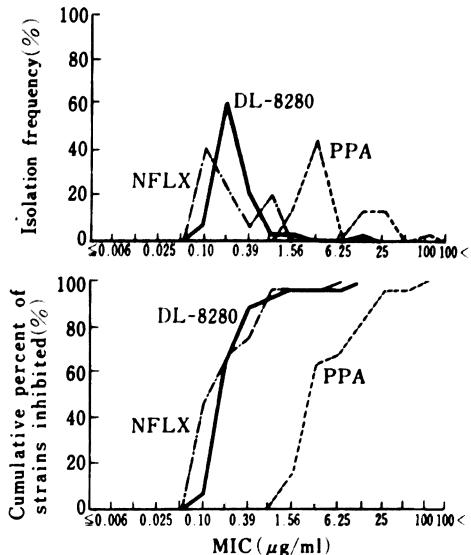
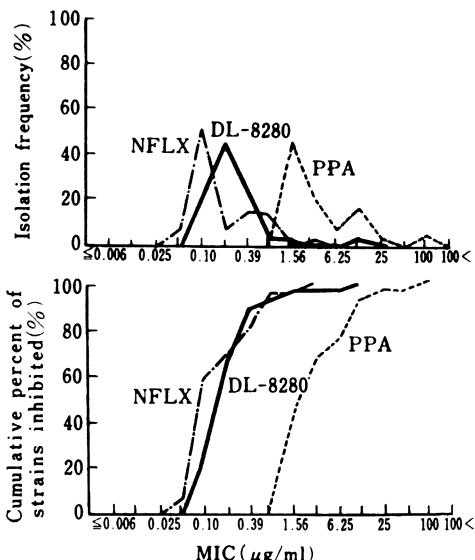


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Proteus morganii* 28 strains (10^6 cells/ml)



(m) *E. cloacae* の場合

10^8 cells/ml の場合は、Fig. 26 に示すように DL-8280 は 0.10~1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に、PPA は 1.56~25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に、NFLX は 0.20~1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。 10^6 cells/ml でも、Fig. 27 に示すように 10^8 cells/ml の場合とはほぼ同様であった。また、DL-8280 と NFLX の間にやや

Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Pseudomonas aeruginosa* 56 strains (10^8 cells/ml)

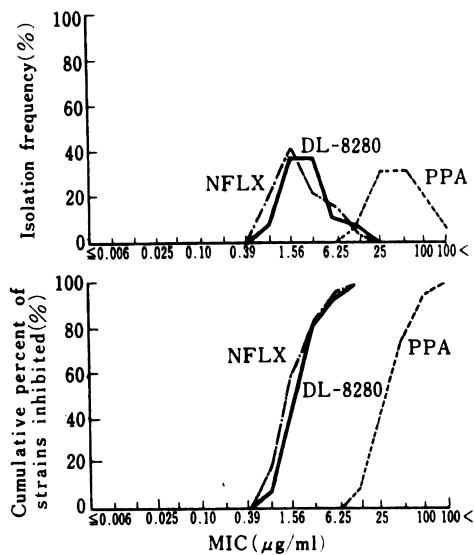
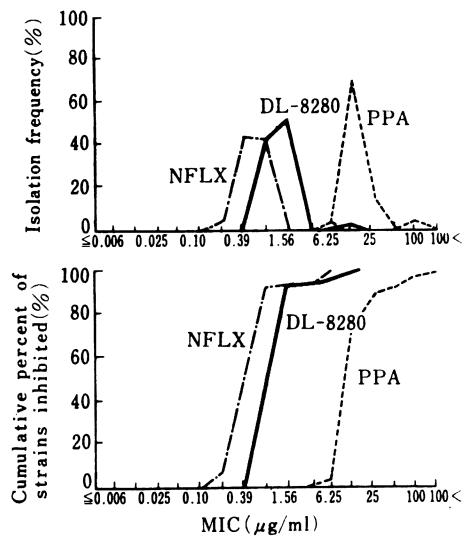


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Pseudomonas aeruginosa* 56 strains (10^6 cells/ml)



感受性相関が認められた。

(n) *Acinetobacter* sp. の場合

10^8 cells/ml の場合は、Fig. 28 に示すように DL-8280 は 0.10~1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し、そのピークは 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。一方、PPA では 40% の株が耐性を示し、NFLX は 0.20~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布していた。DL-8280 >

Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Serratia marcescens* 65 strains (10^8 cells/ml)

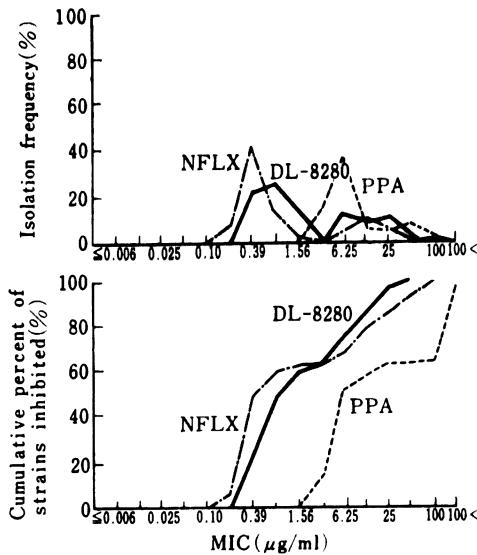
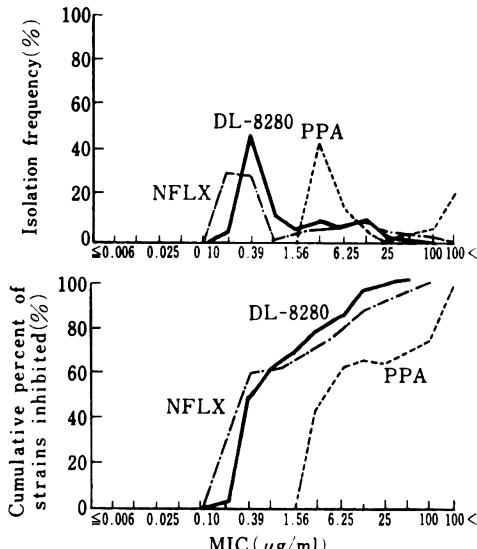


Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Serratia marcescens* 65 strains (10^6 cells/ml)



NFLX > PPA の順に抗菌力が優れていた。 10^6 cells/ml の場合も同様の傾向であった (Fig. 29)。また、DL-8280 と NFLX, PPA との間に感受性相関はほとんど認められなかった。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

S. aureus 209-P JC, *E. coli* NIH JC-2, *K. pneumoniae*

Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Haemophilus influenzae* 16 strains (10^8 cells/ml)

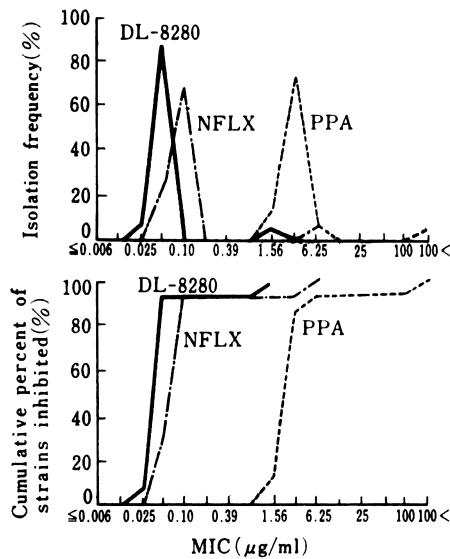
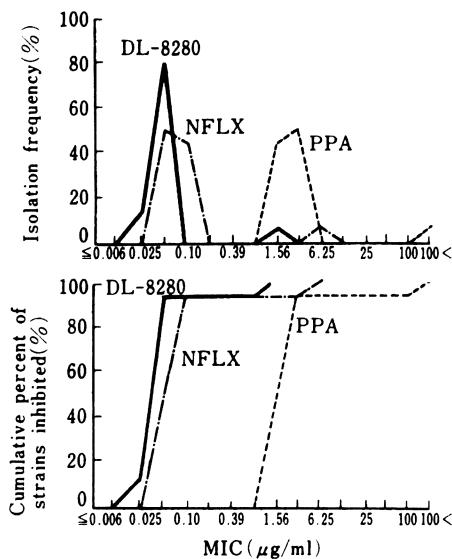


Fig. 23 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Haemophilus influenzae* 16 strains (10^6 cells/ml)



ae KC-1, *P. aeruginosa* E-2 を用いて、培地 pH、馬血清添加、接種菌量の抗菌力に及ぼす影響について検討した結果を、Table 5～Table 7 に示した。すなわち、培地 pH の影響では、3 剤ともにアルカリ性側で抗菌力が高まる傾向があった。馬血清添加の場合、3 剤ともあまり大きな影響を受けなかった。また、接種菌量では、菌量

Fig. 24 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Enterobacter aerogenes* 25 strains (10^8 cells/ml)

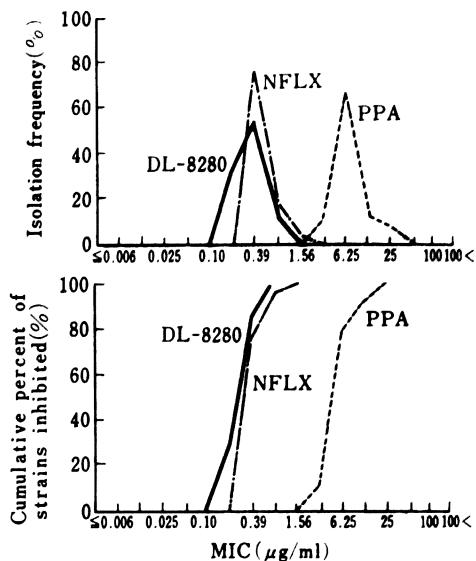
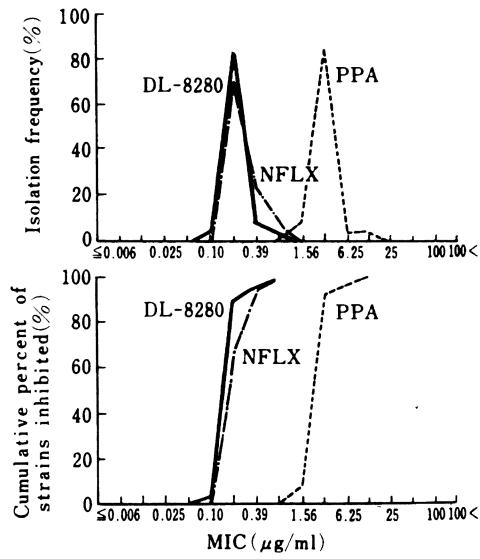


Fig. 25 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Enterobacter aerogenes* 25 strains (10^6 cells/ml)



が多くなっても 3 剤ともほとんど影響を受けなかった。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

(a) *S. aureus* SMITH について

Fig. 30 に示すように、3 薬剤とも MIC 濃度以上で殺菌性がみられたが、DL-8280 は MIC 濃度の 1/2 でも殺菌性がみられ、それ以下の濃度では静菌的な作用であ

Fig. 26 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Enterobacter cloacae* 29 strains (10^8 cells/ml)

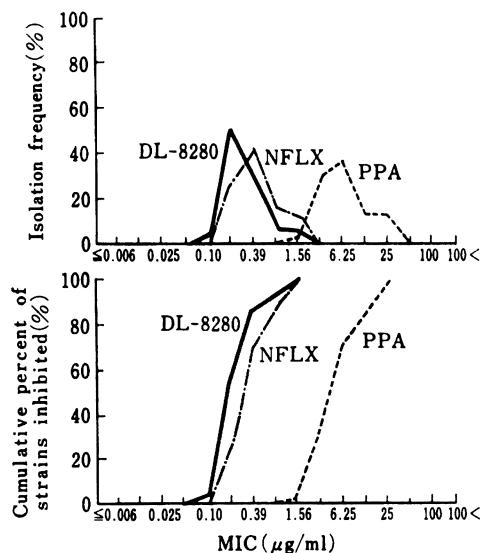
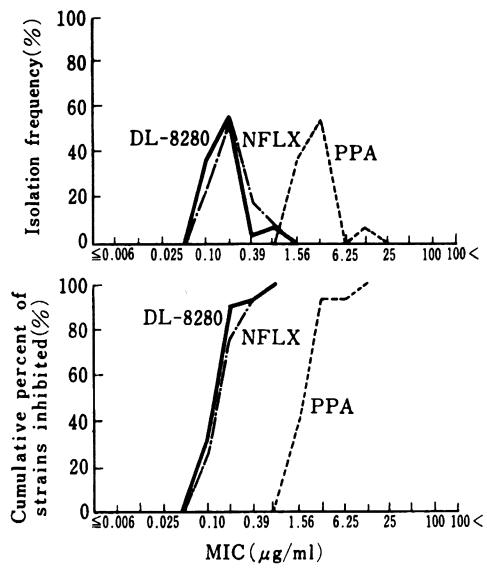


Fig. 27 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Enterobacter cloacae* 29 strains (10^6 cells/ml)



った。

(b) *E. coli* KC-14について

Fig. 31に示すように、DL-8280, NFLXではMIC濃度の1/4以上で殺菌的に作用した。一方、PPAではMIC濃度の2倍から殺菌作用が認められた。

Fig. 28 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Acinetobacter* sp. 58 strains (10^8 cells/ml)

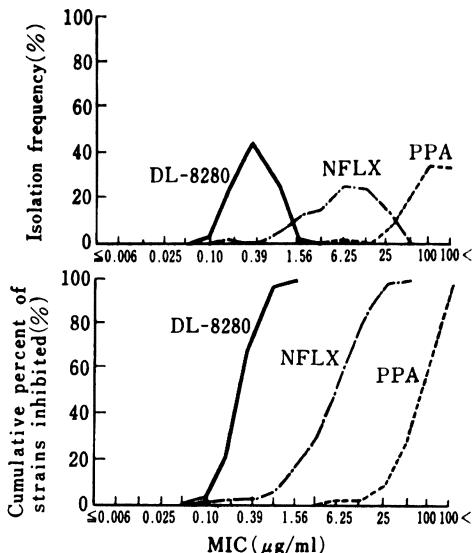
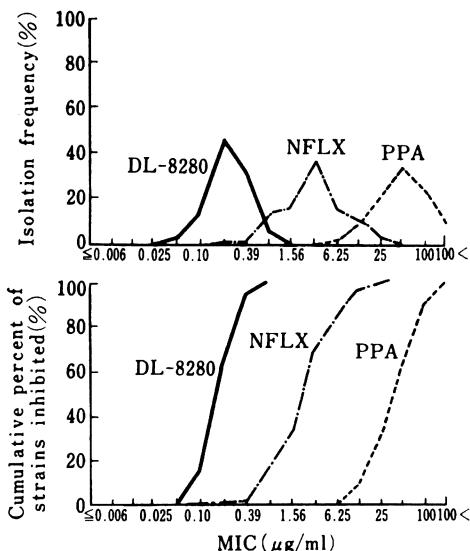


Fig. 29 Sensitivity distribution of clinical isolates : *Acinetobacter* sp. 58 strains (10^6 cells/ml)



(c) *K. pneumoniae* KC-1について

Fig. 32に示すように、DL-8280, NFLXではMIC濃度の1/4で静菌的に、1/2以上で殺菌的に作用した。一方、PPAではMIC濃度以上で殺菌性がみられた。

(d) *P. aeruginosa* E-2について

Fig. 33に示すように、DL-8280, NFLXではMIC濃

度の 1/4 で静菌作用を示し、1/2 以上で殺菌性が認められた。一方、PPA では MIC 濃度の 1/2 から弱い殺菌性がみられた。

5. 形態変化の観察

(a) *E. coli* KC-14

DL-8280 の 0.006, 0.012, 0.05 (MIC), 0.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を *E. coli* KC-14 に作用させた時の形態変化を位相差顕微鏡で観察したところ、Photo. 1～Photo. 4 に示すように菌体の伸長化がみられ、0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用で最も伸長化が顕著であった。また、0.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 作用では短時間から溶菌像が認められた。

(b) *P. aeruginosa* E-2

DL-8280 の 0.39, 0.78, 3.13 (MIC), 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を *P. aeruginosa* E-2 に作用させた時の形態変化を観察したところ、Photo. 5～Photo. 8 に示すように菌体は伸長化せずに溶菌した。

6. マウス実験的感染症に対する治療効果

(a) 全身感染症

(1) *S. aureus* 感染症に対する治療効果

S. aureus SMITH 感染症に対する治療効果は Table 8 に示すとおりであり、DL-8280 の ED₅₀ 値は 0.175 mg/mouse で、PPA の 4.0 mg/mouse 以上、NFLX の 0.600 mg/mouse より優れていた。

(2) *E. coli* 感染症に対する治療効果

E. coli KC-14 感染症に対する治療効果は Table 8 に示すように、その ED₅₀ 値は DL-8280 が 0.025 mg/mouse で、PPA の 0.340 mg/mouse, NFLX の 0.094 mg/mouse より優れていた。

(3) *K. pneumoniae* 感染症に対する治療効果

K. pneumoniae KC-1 感染症に対する治療効果は Table 8 に示すように、DL-8280 > NFLX > PPA の順で優れていた。

(4) *S. marcescens* 感染症に対する治療効果

S. marcescens T-55 感染症に対する治療効果は Table 9 に示すとおりであり、DL-8280 > NFLX > PPA の順で優れていた。

(5) *P. aeruginosa* 感染症に対する治療効果

P. aeruginosa E-2 感染症に対する治療効果は Table 9 に示すとおりであり、DL-8280 は MIC 値が NFLX に比べて 4 倍劣るにもかかわらず、ED₅₀ 値は逆に 2 倍優れており、また、PPA よりはるかに優れていた。

(6) *A. calcoaceticus* 感染症に対する治療効果

A. calcoaceticus AC-54 感染症に対する治療効果は Table 9 に示すとおりで、DL-8280 の ED₅₀ 値は 0.430 mg/mouse であったが、NFLX は 5.0 mg/mouse 以上、PPA は 15.0 mg/mouse 以上と治療効果が得られなかった。

(b) 呼吸器感染症

K. pneumoniae DT-S 噴霧感染による実験的呼吸器感染症モデルでの治療効果を Table 10 に示した。DL-8280, NFLX, PPA の ED₅₀ 値は、それぞれ 1.50, >10.0, >15.0 mg/mouse であった。

また、このモデルでの DL-8280, PPA, NFLX 投与後の肺内生菌数の推移を Fig. 34, Fig. 35 に示した。DL-8280 は 0.1 mg/mouse 投与で 菌数の減少がみられ、0.4 mg/mouse 投与群でも同様の減少がみられた。

Fig. 36, Fig. 37 には、同モデルでの、DL-8280 1.0 mg/

Table 5 Effect of medium pH on the antibacterial activity

Organism	Medium pH	DL-8280	PPA	NFLX
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	6.0	0.39	12.5	0.78
	7.0	0.39	12.5	0.39
	8.0	0.39	12.5	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	6.0	0.39	6.25	0.39
	7.0	0.10	1.56	0.20
	8.0	0.10	1.56	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	6.0	0.20	6.25	0.39
	7.0	0.10	3.13	0.10
	8.0	0.05	1.56	0.05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	6.0	3.13	25	1.56
	7.0	1.56	12.5	0.78
	8.0	1.56	12.5	0.39

MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Table 6 Effect of horse serum on the antibacterial activity

Organism	Horse serum (%)	DL-8280	PPA	NFLX
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0	0.39	12.5	0.39
	10	0.39	12.5	0.39
	50	0.78	25	0.39
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0	0.10	1.56	0.10
	10	0.20	1.56	0.10
	50	0.20	3.13	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0	0.05	3.13	0.10
	10	0.05	3.13	0.10
	50	0.10	3.13	0.10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	0	1.56	12.5	0.78
	10	1.56	12.5	0.78
	50	3.13	25	0.78

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Table 7 Effect of inoculum size on the antibacterial activity

Organism	Inoculum size (cells/ml)	DL-8280	PPA	NFLX
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	2.0×10^4	0.39	12.5	0.39
	2.0×10^5	0.39	12.5	0.39
	2.0×10^6	0.39	12.5	0.39
	2.0×10^7	0.39	25	0.78
	2.0×10^8	0.39	25	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	6.5×10^4	0.10	1.56	0.10
	6.5×10^5	0.10	1.56	0.20
	6.5×10^6	0.10	1.56	0.20
	6.5×10^7	0.10	3.13	0.20
	6.5×10^8	0.20	3.13	0.20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	1.2×10^4	0.10	1.56	0.10
	1.2×10^5	0.10	3.13	0.10
	1.2×10^6	0.10	3.13	0.20
	1.2×10^7	0.20	3.13	0.20
	1.2×10^8	0.20	3.13	0.20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	1.7×10^4	0.78	12.5	0.39
	1.7×10^5	1.56	12.5	0.39
	1.7×10^6	1.56	12.5	0.78
	1.7×10^7	1.56	12.5	0.78
	1.7×10^8	1.56	25	0.78

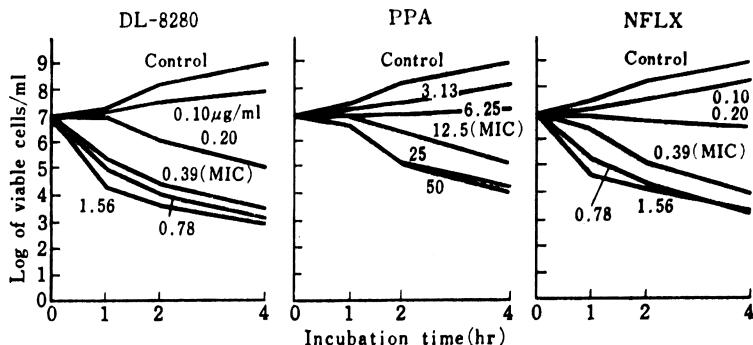
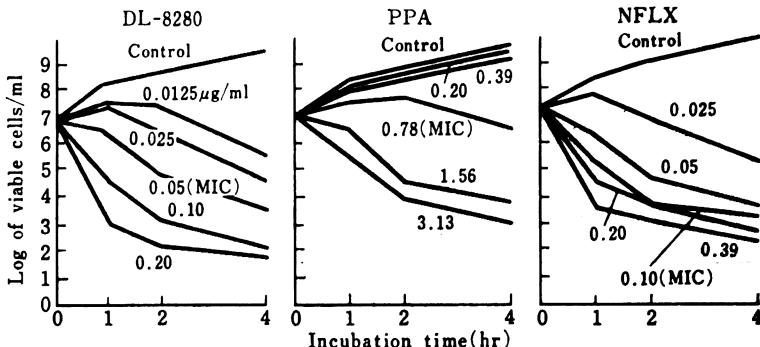
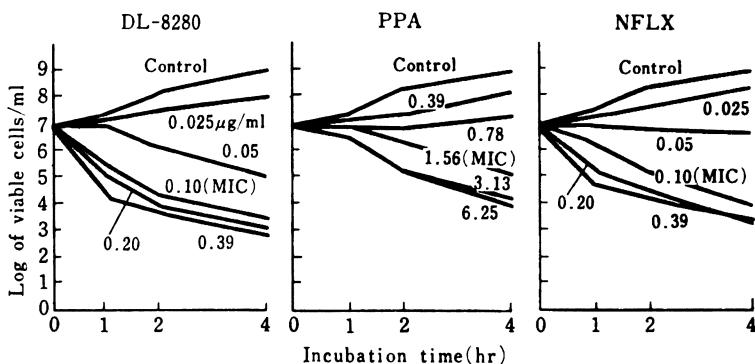
MIC ($\mu\text{g/ml}$)

mouse, PPA, NFLX 2.0 mg/mouse 投与時の血中、肺内濃度の推移を示した。DL-8280 の感染時の血中濃度は健常マウスの約 1/2 であったが、NFLX よりは高い値を示した。また、肺内濃度においては DL-8280 > NFLX >

PPA の順に高い値を示した。また、感染マウスと健常マウスの濃度差はあまり認められなかった。

(c) 尿路感染症

E. coli KC-14 尿路感染による実験的尿路感染症モデ

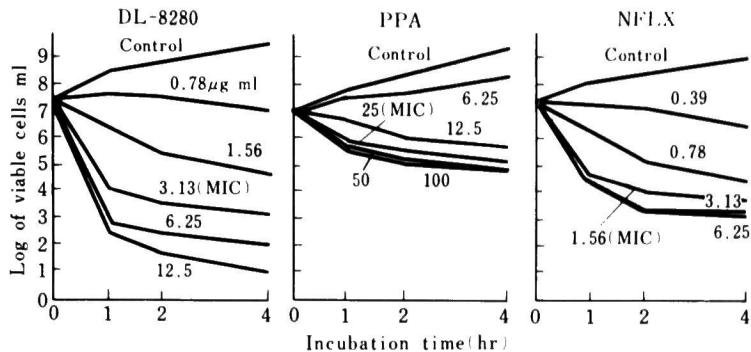
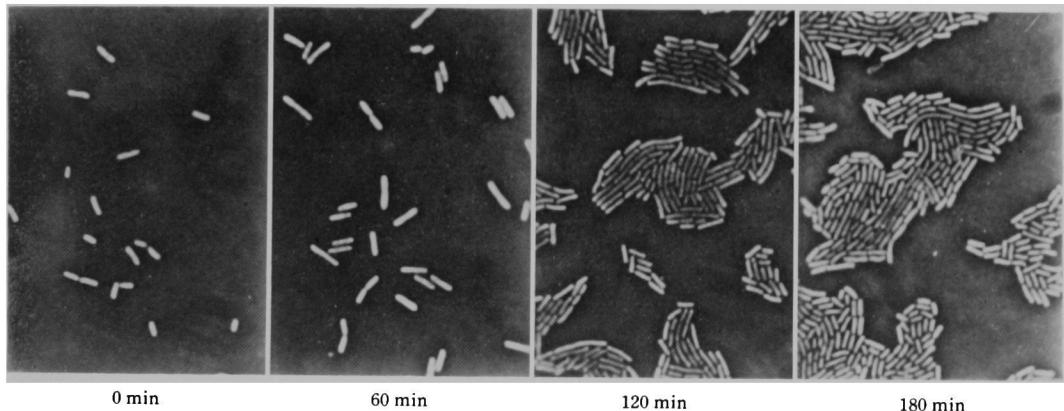
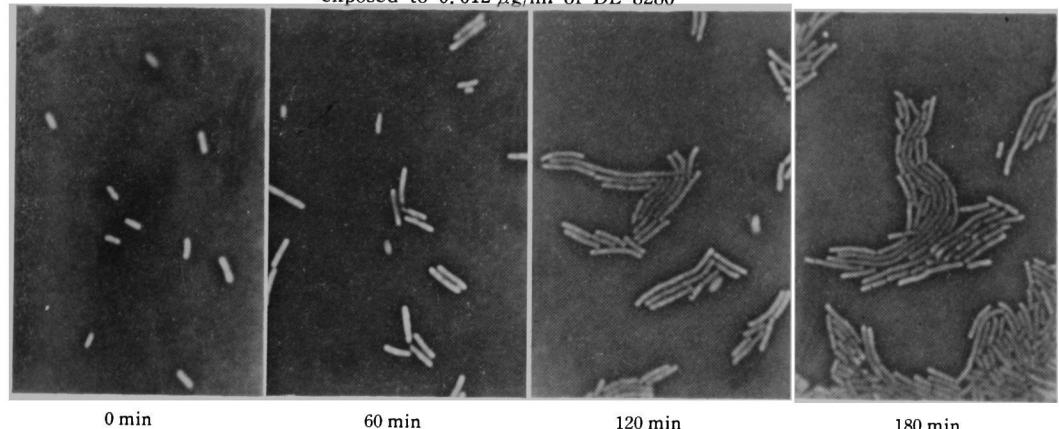
Fig. 30 Effect of DL-8280, PPA and NFLX on viability of *Staphylococcus aureus* SMITHFig. 31 Effect of DL-8280, PPA and NFLX on viability of *Escherichia coli* KC-14Fig. 32 Effect of DL-8280, PPA and NFLX on viability of *Klebsiella pneumoniae* KC-1

ルの治療効果を Fig. 38 に示した。DL-8280 は 0.054 mg/mouse, PPA は 0.54 mg/mouse, NFLX は 0.11 mg/mouse 投与群で、各々同程度の腎内生菌数を示した。すなわち、DL-8280>NFLX>PPA の順に優れた治療効果を示した。

総括および考察

新しい合成化学療法剤 DL-8280 に関する細菌学的評価を既知化学療法剤 PPA および NFLX を比較薬とし

て行った。その結果、本剤はすべての菌種において NFLX とほぼ同等の抗菌力を有していた。*Proteus* 属と *Pseudomonas* 属の臨床分離株の感受性分布は NFLX よりやや劣っていたが、他のすべての菌種において、NFLX とほぼ同等もしくはやや優れていた。また、NFLX との間に感受性の相関関係が認められたが、PPA とは認められなかった。抗菌力に及ぼす諸因子の影響では、*S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*

Fig. 33 Effect of DL-8280, PPA and NFLX on viability of *Pseudomonas aeruginosa* E-2Photo. 1 Phase-contrast micrographs of *Escherichia coli* KC-14 exposed to 0.006 µg/ml of DL-8280Photo. 2 Phase-contrast micrographs of *Escherichia coli* KC-14 exposed to 0.012 µg/ml of DL-8280

のいずれの菌株においてもさほど大きな影響は見られなかった。

抗菌作用形式では、DL-8280 は、*S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* で、MIC 濃度の 1/2 も

しくは 1/4 以上で殺菌性が認められた。マウス実験的感染症に対する治療効果では、DL-8280 が最も優れ、ついで NFLX, PPA の順であった。

このように、DL-8280 は、*in vitro* では NFLX とほぼ

Photo. 3 Phase-contrast micrographs of *Escherichia coli* KC-14 exposed to 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of DL-8280

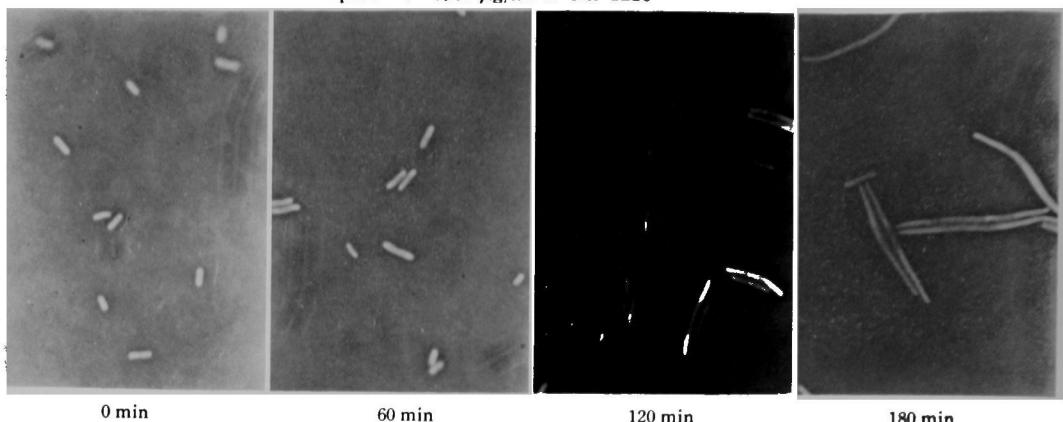


Photo. 4 Phase-contrast micrographs of *Escherichia coli* KC-14 exposed to 0.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of DL-8280

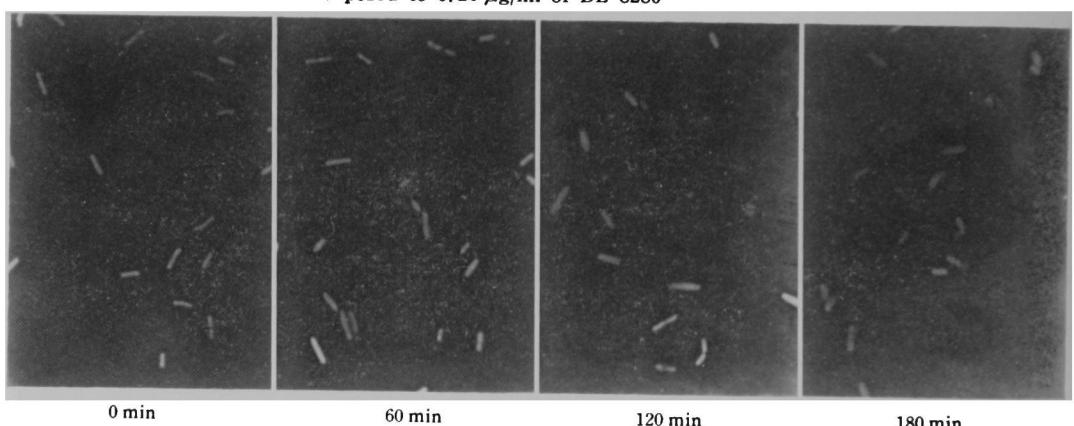


Photo. 5 Phase-contrast micrographs of *Pseudomonas aeruginosa* E-2 exposed to 0.39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of DL-8280

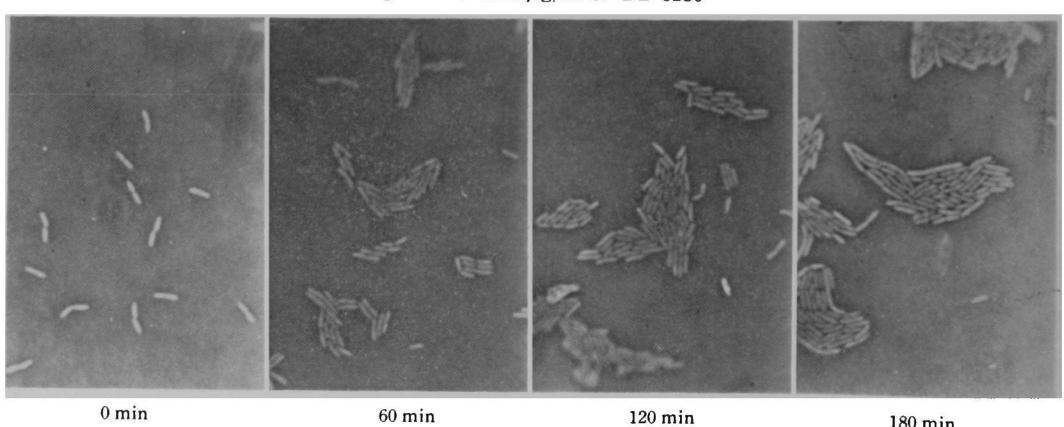
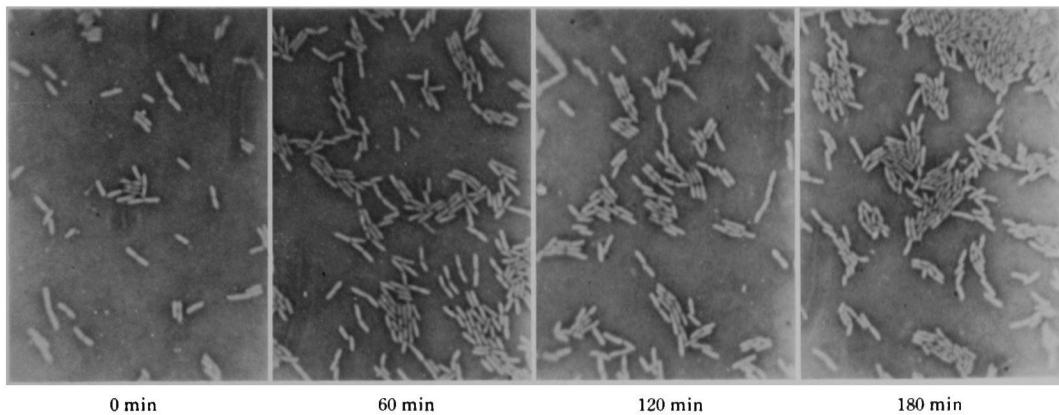
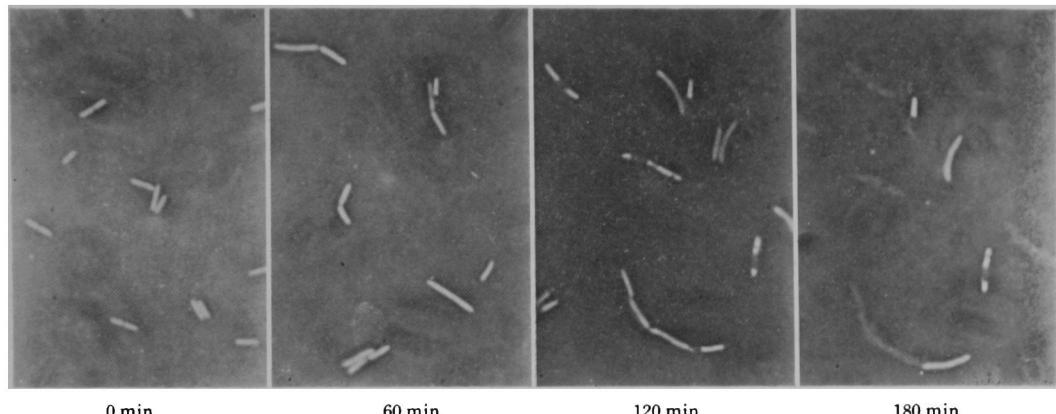


Photo. 6 Phase-contrast micrographs of *Pseudomonas aeruginosa* E-2 exposed to $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ of DL-8280



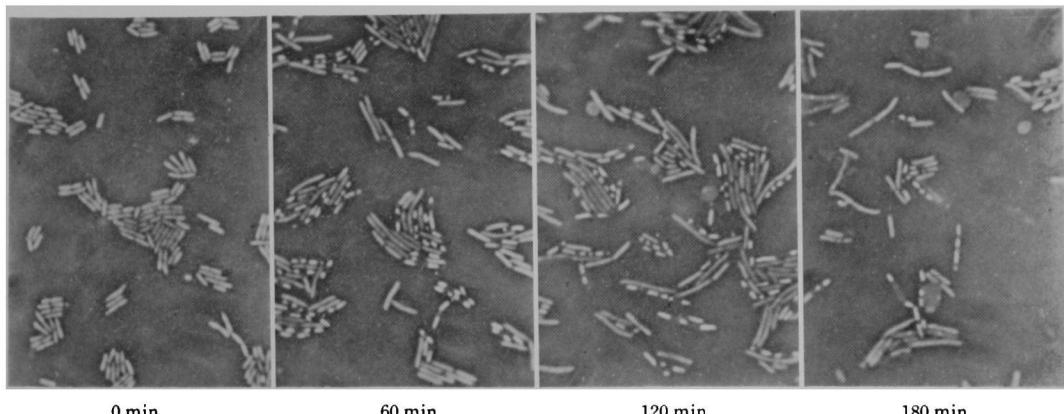
0 min 60 min 120 min 180 min

Photo. 7 Phase-contrast micrographs of *Pseudomonas aeruginosa* E-2 exposed to $3.13 \mu\text{g}/\text{ml}$ of DL-8280



0 min 60 min 120 min 180 min

Photo. 8 Phase-contrast micrographs of *Pseudomonas aeruginosa* E-2 exposed to $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ of DL-8280



0 min 60 min 120 min 180 min

Table 8 Protecting effect of DL-8280, PPA and NFLX against experimental infections in mice

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Drug	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			10 ⁸ cells/ml	10 ⁶ cells/ml	
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	3.0×10^5 [970 LD ₅₀]	DL-8280	0.39	0.39	0.175 [0.135~0.228]
		PPA	12.5	12.5	>4.0
		NFLX	0.39	0.39	0.600 [0.375~0.960]
<i>Escherichia coli</i> KC-14	8.5×10^3 [270 LD ₅₀]	DL-8280	0.05	0.05	0.025 [0.020~0.031]
		PPA	1.56	0.78	0.340 [0.288~0.401]
		NFLX	0.10	0.10	0.094 [0.069~0.128]
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	4.0×10^3 [100 LD ₅₀]	DL-8280	0.10	0.10	0.025 [0.021~0.030]
		PPA	3.13	1.56	0.820 [0.713~0.943]
		NFLX	0.10	0.10	0.125 [0.094~0.166]

〔 〕 95% confidence limits

Table 9 Protecting effect of DL-8280, PPA and NFLX against experimental infections in mice

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Drug	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
			10 ⁸ cells/ml	10 ⁶ cells/ml	
<i>Serratia marcescens</i> T-55	3.0×10^5 [650 LD ₅₀]	DL-8280	0.78	0.20	0.072 [0.057~0.091]
		PPA	6.25	1.56	0.86 [0.632~1.170]
		NFLX	0.20	1.20	0.305 [0.238~0.390]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	10×10^3 [100 LD ₅₀]	DL-8280	6.25	3.13	0.217 [0.150~0.315]
		PPA	50	25	2.70 [1.52~4.31]
		NFLX	1.56	1.56	0.490 [0.389~0.617]
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	7.5×10^5 [150 LD ₅₀]	DL-8280	0.78	0.39	0.430 [0.323~0.572]
		PPA	100	50	>15.0
		NFLX	12.5	3.13	>5.0

〔 〕 95% confidence limits

同等の抗菌力を示し, *in vivo* では NFLX よりかなり優れた治療効果を示した。このことは, DL-8280 の方が血中や肺内への移行が NFLX より優れており、その持続時間が PPA より優れていることに起因するのではないかと思われる。また、この薬剤の殺菌性も関与していると思われる。

DL-8280 は、NFLX と同様 グラム陰性菌のみならずグラム陽性菌に対しても優れた抗菌力を示し、何故本剤がグラム陽性菌に対しても優れた抗菌力を示すようになったのか、その抗菌作用機作に興味がもたれる。一般的に、この系統の合成化学療法剤の耐性機作には、薬剤の細胞内への透過性およびその標的部位とされている gyrase に対する親和性が関与すると考えられており、DL-8280 についても、これらの点は今後検討していくかならない問題だと考えられる。

また、マウスをもちいた実験的全身および局所感染症での治療効果において良好な成績が得られたことから、臨床試験での治療効果が期待される。

文 献

- SHIMIZU, M.; Y. TAKASE, S. NAKAMURA, H. KATAE, A. MINAMI, K. NAKATA & N. KUROBE : Pipemidic acid : Its activities against various experimental infections. Antimicrob. Agents & Chemother. 9 : 569~574, 1976
- 中澤昭三, 西野武志, 浜洲泰久, 石山正光 : 合成化学療法剤 Pipemidic acid に関する細菌学的研究。Chemotherapy 23 : 2647~2658, 1975
- 西野武志, 後藤直正, 石村富喜子, 永田昌宏, 松野和弘, 谷野輝雄 : 新しい合成化学療法剤 AM-715 に関する細菌学的評価。Chemotherapy 29 (S-4) : 27~44, 1981
- MIC 測定法改訂委員会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について。Chemotherapy 22 : 1126~1128, 1974
- MIC 測定法改訂委員会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測

Table 10 Therapeutic effect of DL-8280, PPA and NFLX in mice infected with *Klebsiella pneumoniae* DT-S by inhalation

Drug	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Dose (mg/mouse)	Survival/Tested	ED_{50} (mg/mouse)
DL-8280	0.012	5.0	5/6	
		1.57	4/6	
		0.56	1/6	
		0.19	0/6	
PPA	0.78	15.0	1/6	
		5.0	0/6	
		1.67	0/6	
		0.56	0/6	>15.0
NFLX	≤ 0.006	10.0	2/6	
		3.33	0/6	
		1.11	0/6	
		0.37	0/6	>10.0

Administration : 15hrs after inhalation

Observation : 10days

() 95% confidence limits

Fig. 34 Bacterial numbers of *Klebsiella pneumoniae* DT-S in lungs of mice after a single oral administration of DL-8280 at 15 hours after bacterial inhalation

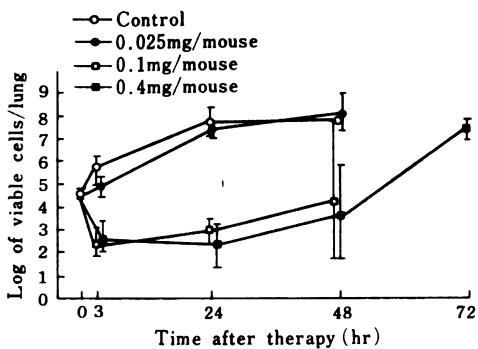
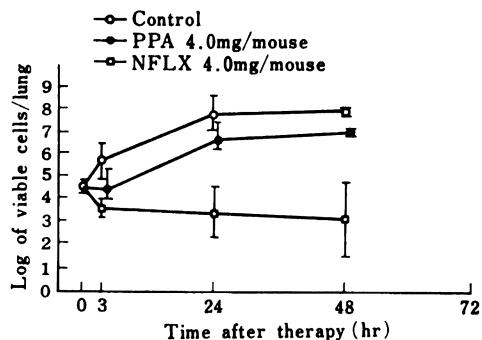


Fig. 35 Bacterial numbers of *Klebsiella pneumoniae* DT-S in lungs of mice after a single oral administration of PPA and NFLX at 15 hours after bacterial inhalation



定法再改訂について。Chemotherapy 29 : 76~79, 1981

- 6) LITCHFIELD, J.T. & F. WILCOXON : A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J Pharmacol. Exp. Ther. 96 : 99~113, 1949

Fig. 36 Plasma levels of DL-8280, PPA and NFLX after a single oral administration in mice

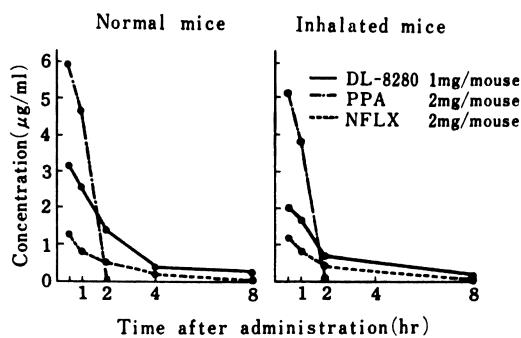


Fig. 37 Lung levels of DL-8280, PPA and NFLX after a single oral administration in mice

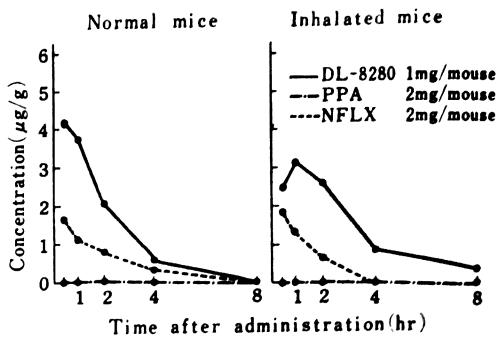
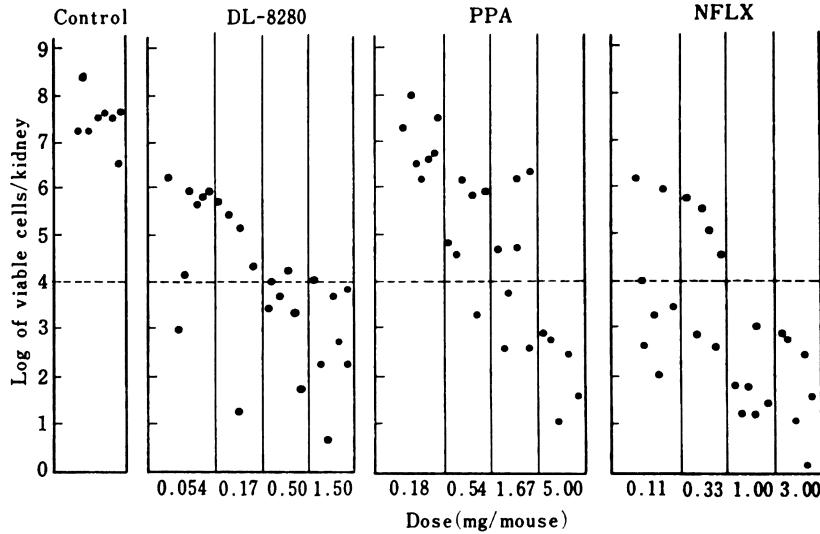


Fig. 38 Bacterial numbers of *Escherichia coli* KC-14 in kidneys of mice at 48 hours after a single oral administration of DL-8280, PPA and NFLX at 4 hours after infection



BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF DL-8280, A NEW SYNTHETIC ANTIMICROBIAL AGENT

TAKESHI NISHINO, MAYUMI TANAKA, SHIGEKATSU KAWABATA,
CHIAKI YABU, KUNITOSHI YAMANAKA and TERUO TANINO

Department of Microbiology, Kyoto College of Pharmacy

Bacteriological effect of DL-8280, a new synthetic antimicrobial agent for oral use, was investigated comparing with that of pipemidic acid (PPA) and norfloxacin (NFLX). The results were as follows :

1. DL-8280 had broad-spectrum antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria. The activity of DL-8280 was superior to that of PPA and almost the same as that of NFLX.

2. The sensitivity of clinical isolates of *Proteus* and *Pseudomonas* to DL-8280 was lower than that to NFLX, and that of other isolates to DL-8280 was the highest, followed in decreasing order by NFLX, and PPA.

3. The addition of equine serum to the medium and inoculum size did not affect the antimicrobial activity of DL-8280 against *Staphylococcus aures*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. The antimicrobial activity of DL-8280 against these bacteria enhanced in alkaline medium.

4. The bactericidal activity of DL-8280 against *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *S. aureus* was dose-dependent.

5. As for morphological alterations of bacteria treated with DL-8280, the elongation and lysis of *E. coli* were observed but the elongation of *P. aeruginosa* was hardly noted.

6. DL-8280 showed superior therapeutic effect than NFLX or PPA on experimental infection model in mice by *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa* and *Acinetobacter calcoaceticus*.