

新ピリドンカルボン酸系抗菌剤 AT-2266の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用

五島瑛智子・辻 明良・十川正俊・金子康子

宮崎行一・武藤弓子・桑原章吾

東邦大学医学部微生物学教室

新ピリドンカルボン酸系抗菌剤 AT-2266 の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を同系の Norfloxacin, Pipemidic acid と比較検討し、次の結果を得た。

AT-2266 はグラム陽性菌、グラム陰性菌の各菌種に抗菌力を有し、とくに *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella* (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*), *Proteus* 属 (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. morganii*), *E. cloacae*, *S. epidermidis* に強い抗菌力を示し、Pipemidic acid より強く、Norfloxacin とほぼ同程度かやや弱い。*P. aeruginosa* や *S. marcescens* に対しても、Norfloxacin と同等の強い抗菌力を示した。*P. maltophilia*, *P. cepacia*, *A. faecalis*, *F. meningosepticum* などのブドウ糖非発酵菌に対しては Norfloxacin, Pipemidic acid より強い抗菌作用を示した。

E. coli に対する殺菌作用では AT-2266 が Norfloxacin, Pipemidic acid より強いことが認められた。

マウス実験感染における AT-2266 の感染防禦効果は *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *A. calcoaceticus* 感染で Norfloxacin, Pipemidic acid より優れていた。

AT-2266 は新しいピリドンカルボン酸系抗菌剤で、その化学名を 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-1, 8-naphthyridine-3-carboxylic acid sesquihydrate といい、その構造式を Fig. 1 に示した。

本剤は、グラム陽性菌、陰性菌に対し抗菌力を示し、しかも殺菌的に作用するという。また経口投与により吸収され、血中半減期は4～6時間で、生体内で代謝されることなく、24時間で約65%が尿中に回収されるといわれている。

本報告は AT-2266 の抗菌作用を *in vitro*, *in vivo* について Norfloxacin, Pipemidic acid と比較検討した成績である。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用菌株

教室保存株および臨床材料から分離したグラム陽性菌、グラム陰性菌の多数株を使用した。

2. 試験薬剤

AT-2266 (大日本製薬)

Norfloxacin (NFLX, 杏林製薬)

Pipemidic acid (PPA, 大日本製薬)

以上3薬剤を使用した。

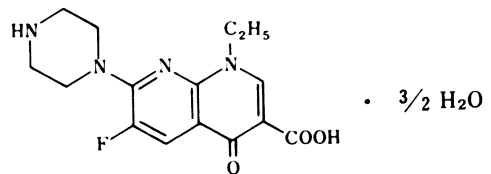
3. 感受性測定法

日本化学療法学会標準法、日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定委員会に従って行った。

4. 殺菌作用

Escherichia coli C-11株を用い、Mueller-Hinton broth (Difco) に接種し、菌数が約 10^6 cells/ml になったと

Fig. 1 Chemical structure of AT-2266



き、AT-2266 の 1/4 MIC, 1/2 MIC, MIC, 2MIC 量を添加し、37°C で振盪培養した。添加後、1, 2, 4, 6 および24時間目の生菌数を測定した。同時に NFLX, PPA についても実験を行い、比較した。

5. マウス実験感染における感染防禦効果

マウスは ICR 系、雄、体重 19 ± 1 g を用い、*E. coli* C-11, *Klebsiella pneumoniae* 3K-25, *Serratia marcescens* No. 2, *Proteus vulgaris* GN-76, *Pseudomonas aeruginosa* E-7, *P. aeruginosa* PI-67, および *Acinetobacter calcoaceticus* 402 を感染菌とした。普通寒天斜面培地で20時間増殖後、集菌の上、所定の菌量に生理食塩液で希釈し、腹腔内に接種した。感染1時間後に経口投与にて AT-2266, NFLX, PPA による治療を行った。観察は感染後5日間行い、マウスの生死により ED₅₀ 値を算出した。

6. マウス血清中濃度測定法

感染実験に用いた同条件のマウスを、1群8匹とし、

Table 1 Antibacterial spectrum

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	AT-2266		NFLX		PPA	
	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6	10^{8*}
<i>S. aureus</i> 209-P	0.39	0.78	0.39	0.78	12.5	25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	0.05	25	0.025	1.56	0.025	50
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.1	0.2	0.1	0.2	3.12	6.25
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	1.56	12.5	6.25	25	25	100<
<i>C. diphtheriae</i>	0.05	6.25	0.05	1.56	6.25	100
<i>E. coli</i> NIHJ JC 2	0.1	3.12	0.1	0.78	1.56	25
<i>K. pneumoniae</i> IFO 3512	0.05	0.78	0.025	0.1	0.78	6.25
<i>K. oxytoca</i> 1	0.2	1.56	0.1	1.56	0.78	50
<i>S. flexneri</i> MZ 3a	0.1	1.56	0.05	0.39	0.78	3.12
<i>S. typhi</i> S 60	0.2	0.78	0.1	0.39	3.12	25
<i>S. paratyphi</i> PB	0.1	1.56	0.05	0.1	1.56	6.25
<i>P. mirabilis</i> 1287	0.1	1.78	0.05	0.2	1.56	6.25
<i>P. vulgaris</i> IFO 3851	0.2	0.56	0.05	0.39	3.12	12.5
<i>P. morgani</i> IFO 3848	0.1	1.56	0.05	0.39	0.78	6.25
<i>P. rettgeri</i> IFO 13501	0.1	0.2	0.1	0.1	1.56	3.12
<i>P. inconstans</i> IFO 12930	0.39	3.12	0.1	0.39	1.56	6.25
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.2	0.39	0.1	0.2	1.56	3.12
<i>C. freundii</i> 2	3.12	6.25	0.39	6.25	25	25
<i>E. cloacae</i> 1	0.39	1.56	0.2	0.78	3.12	50
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	1.56	6.25	0.78	6.25	50	100
<i>P. fluorescens</i> IFO 3081	0.2	0.39	0.1	1.56	6.25	12.5
<i>P. putida</i> ATCC 17464	0.39	12.5	0.78	12.5	12.5	100
<i>P. maltophilia</i> IID 1167	3.12	6.25	3.12	12.5	25	50
<i>P. cepacia</i> ATCC 17759	12.5	50	25	100	100<	100<
<i>A. calcoaceticus</i> NCTC 7844	0.78	3.12	1.56	3.12	50	50
<i>A. faecalis</i> NCTC 655	6.25	50	25	100<	50	100<
<i>A. xylosoxidans</i> TMS 73	6.25	25	50	100<	100<	100<
<i>F. meningosepticum</i> TMS 466	0.78	3.12	12.5	25	50	50

* Inoculum size: cells/ml

AT-2266, NFLX, PPA を経口投与した。一定時間ごとに断頭採取した血液の一定量を一群ずつプールし、分離した血清中の濃度を AT-2266, PPA は *E. coli* Kp, NFLX は *Bacillus subtilis* ATCC 6051 を検定菌とする薄層ディスク法にて測定した。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトル

好気菌（通性嫌気菌も含む）では、教室保存のグラム陽性菌、腸内細菌科およびブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌、28菌種28菌株、また嫌気菌では18菌種28菌株の感受性を AT-2266, NFLX, PPA について比較した成績を

Table 1, 2 に示した。

AT-2266 は好気性のグラム陽性菌、グラム陰性菌に対し広域スペクトルを示し、接種菌量 10^8 cells/ml での抗菌力は、PPA より強く、NFLX と同等かやや弱い。嫌気菌に対しては、NFLX と比べ同等かやや強い抗菌力を示し、PPA より強い。

2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離した *Staphylococcus aureus* 34株、*S. epidermidis* 17株、*Streptococcus pyogenes* 50株、*S. pneumoniae* 33株、*E. coli* 37株、*K. pneumoniae* 48株、*K. oxytoca* 20株、*Shigella* sp. 45株、*Sal-*

Table 2 Antibacterial spectrum

Organisms	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	AT-2266		NFLX		PPA	
	10^8	10^6	10^8	10^6	10^6	10^{10}
<i>B. fragilis</i> GM 7004	50	50	50	100	>100	>100
<i>B. fragilis</i> TMS 26	50	100	50	50	>100	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> WAL 3304	25	50	3.13	12.5	100	>100
<i>B. thetaiotaomicron</i> TMS 126	25	50	>100	>100	>100	>100
<i>B. distasonis</i> TMS 58	6.25	25	100	>100	>100	>100
<i>B. distasonis</i> TMS 128	25	50	>100	>100	>100	>100
<i>B. vulgatus</i> ATCC 29327	100	100	3.13	12.5	100	>100
<i>B. vulgatus</i> TMS 129	25	50	>100	>100	>100	>100
<i>F. necrophorum</i> TMS 82	25	50	100	>100	>100	>100
<i>F. varium</i> TMS 112	50	100	3.13	12.5	100	>100
<i>F. nucleatum</i> TMS 110	3.13	6.25	6.25	12.5	>100	>100
<i>P. prevotii</i> GM 1001	6.25	12.5	3.13	6.25	100	>100
<i>P. variabilis</i> GM 1002	6.25	50	6.25	12.5	>100	>100
<i>P. asaccharolyticus</i> GM 1003	6.25	12.5	6.25	12.5	>100	>100
<i>P. asaccharolyticus</i> TMS 83	6.25	12.5	6.25	6.25	100	>100
<i>P. magnus</i> ATCC 14956	12.5	50	6.25	12.5	>100	>100
<i>E. limosum</i> GM 1005	12.5	50	6.25	12.5	>100	>100
<i>E. aerofaciens</i> TMS 121	12.5	12.5	6.25	12.5	100	>100
<i>C. sporogenes</i> TMS 118	0.78	0.78	6.25	12.5	>100	>100
<i>C. botulinum</i> type A	0.78	1.56	≤ 0.2	0.39	12.5	100
<i>C. botulinum</i> type B	0.78	0.78	≤ 0.2	0.39	12.5	12.5
<i>C. botulinum</i> type E	25	50	≤ 0.2	≤ 0.2	6.25	6.25
<i>C. botulinum</i> type F	≤ 0.2	0.78	≤ 0.2	6.25	12.5	>100
<i>C. perfringens</i> ATCC 13123	3.13	25	6.25	12.5	100	>100
<i>C. perfringens</i> GM 1006	3.13	6.25	1.56	3.13	50	>100
<i>C. difficile</i> NO. 11011	100	>100	100	>100	>100	>100
<i>C. difficile</i> TMS 29	100	>100	100	100	>100	>100
<i>C. tetani</i> TMS 89	50	100	6.25	25	>100	>100

* Inoculum size: cells/ml

monella sp. 50株, *P. mirabilis* 50株, *P. vulgaris* 40株, *P. morgani* 40株, *P. rettgeri* 40株, *P. inconstans* 50株, *S. marcescens* 34株, *Citrobacter freundii* 8株, *Enterobacter cloacae* 50株, *E. aerogenes* 10株, *P. aeruginosa* 50株, *P. fluorescens* 12株, *P. putida* 8株, *P. maltophilia* 25株, *P. cepacia* 16株, *Alcaligenes faecalis* 8株, *Achromobacter xylosoxydans* 15株, *A. odrans* 14株, *Flavobacterium meningosepticum* 7株, および *Bacteroides fragilis* 27株の28菌種838株の感受性分布を AT-2266, NFLX, PPA について比較した成績を Fig. 2~29 に示した。

1) 各菌種の感受性分布

S. aureus, *S. epidermidis* に対する AT-2266 の抗菌力は、ほぼ NFLX と同程度で、MIC のピークは 1.56 $\mu\text{g/ml}$, 0.78 $\mu\text{g/ml}$ を示し、PPA と比べ、小さい値である。

Streptococcus 属の *S. pneumoniae* に対しては AT-2266 の抗菌力は NFLX と同程度で PPA に比べ強く、そのピークは 12.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。*S. pyogenes* に対しては PPA より強いが、NFLX より弱く、その MIC のピークは 25 $\mu\text{g/ml}$ であった。

E. coli, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Shigella* sp

Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. coli* 37 strains

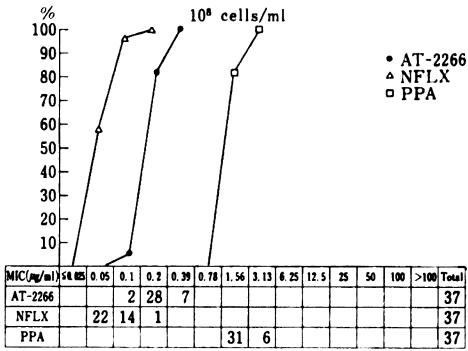
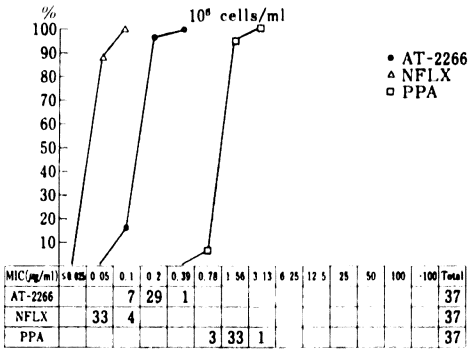


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *K. pneumoniae* 48 strains

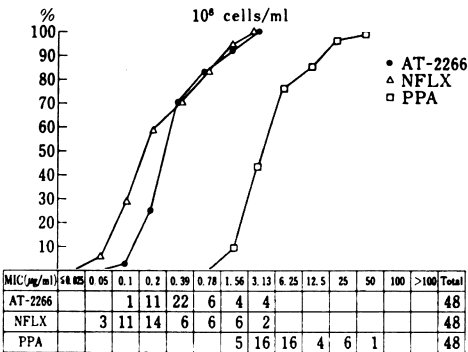
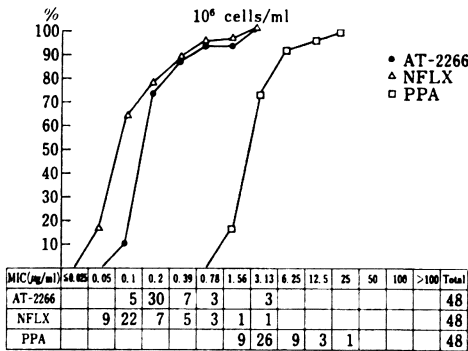


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *K. oxytoca* 20 strains

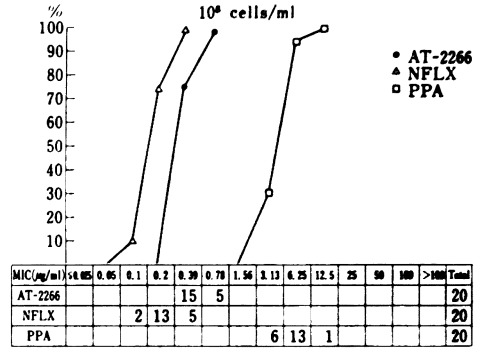
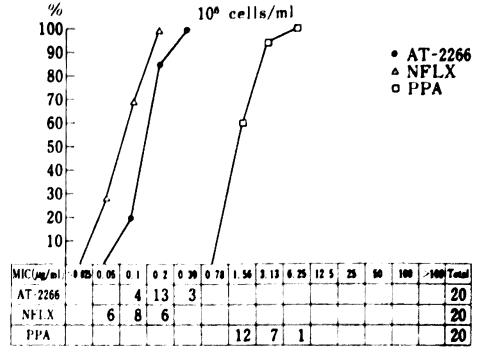


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *Shigella* sp. 45 strains

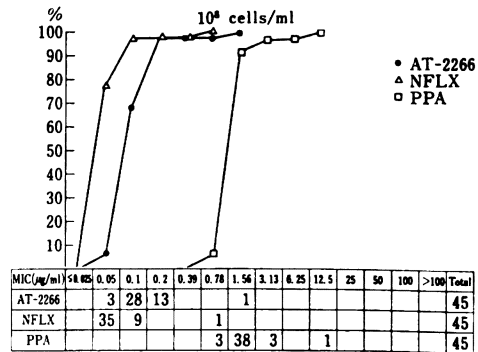
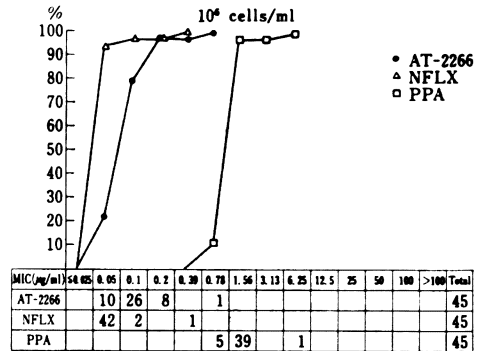


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *Salmonella* sp. 50 strains

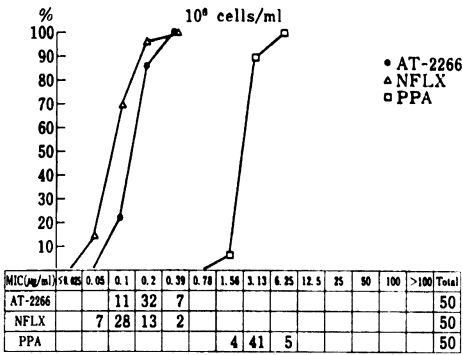


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. vulgaris* 40 strains

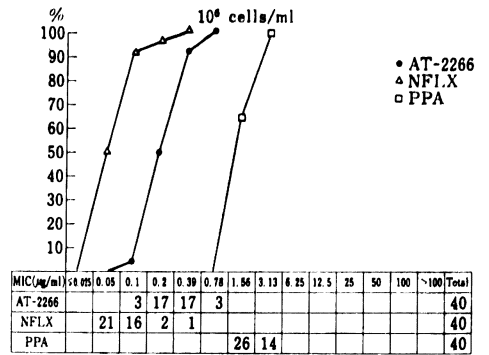


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. mirabilis* 50 strains

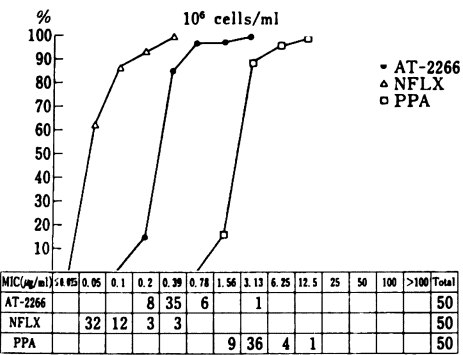


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *P.morganii* 40 strains

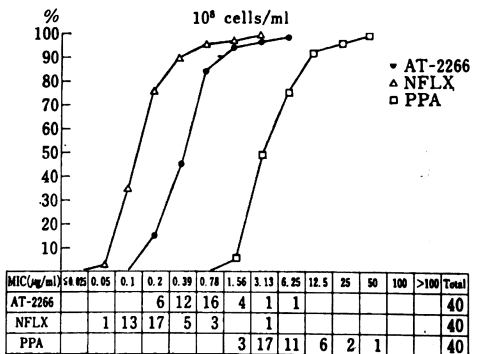
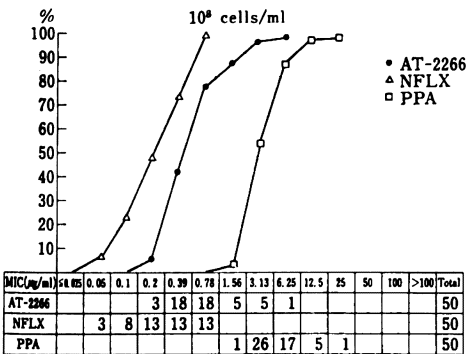
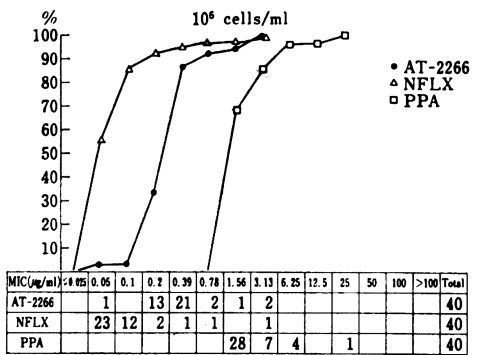


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. rettgeri* 40 strains

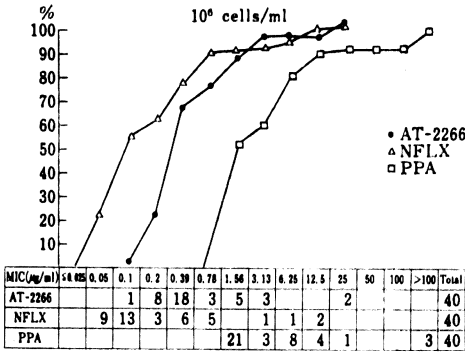


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. marcescens* 34 strains

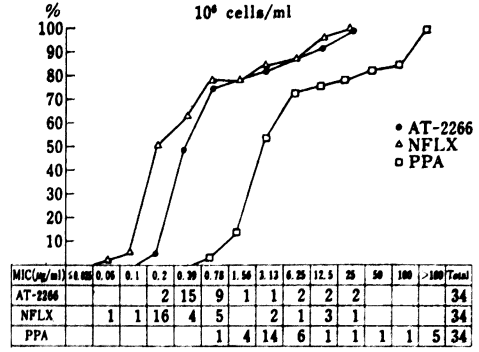


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. inconstans* 50 strains

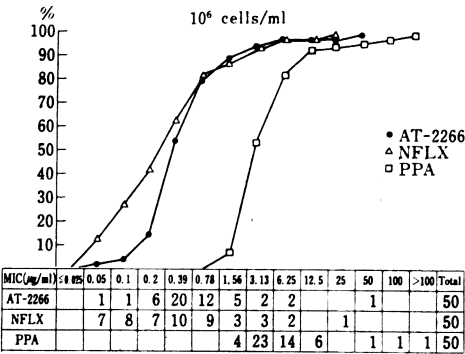


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *C. freundii* 8 strains

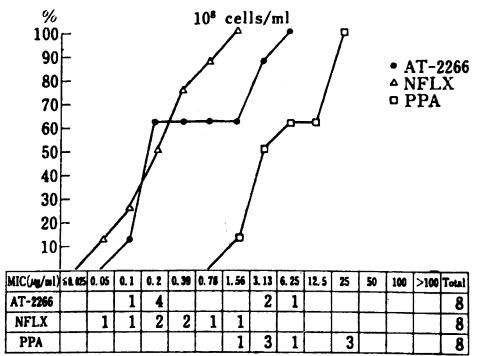
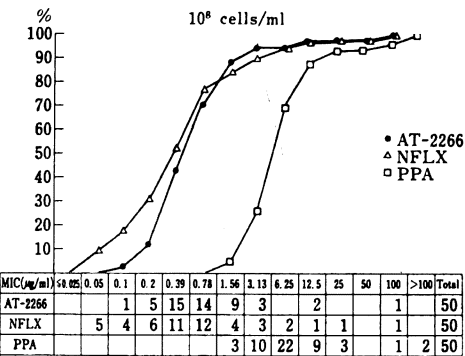
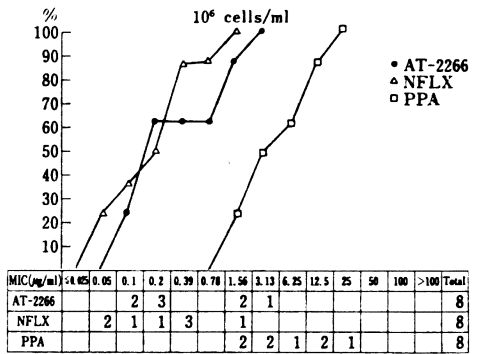


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. cloacae* 50 strains

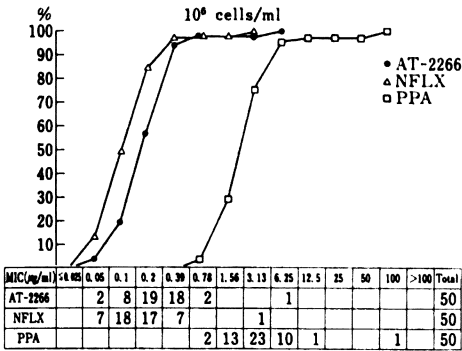


Fig. 20 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. aeruginosa* 50 strains

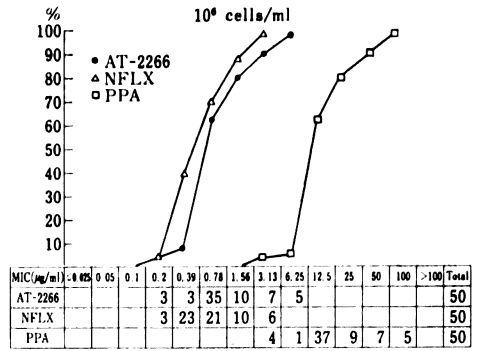


Fig. 19 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. aerogenes* 10 strains

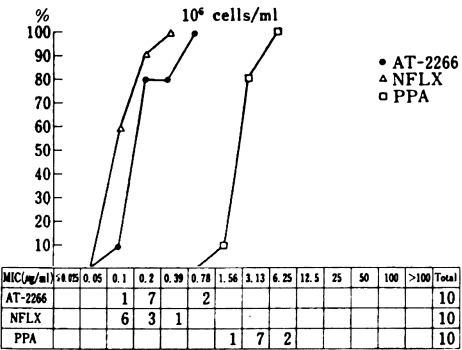


Fig. 21 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. fluorescens* 12 strains

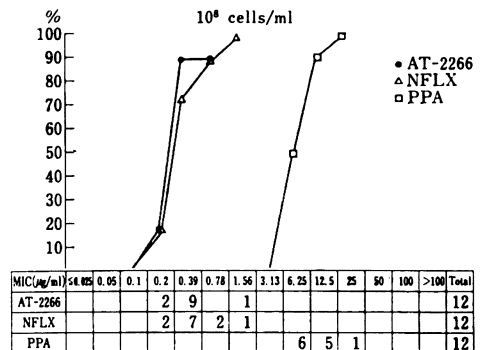
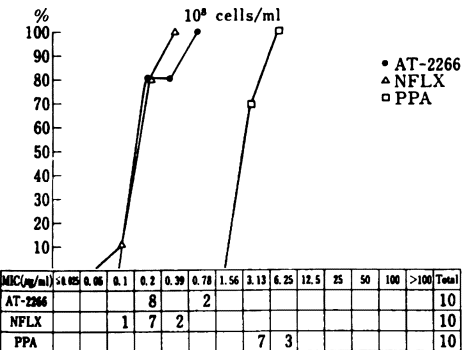
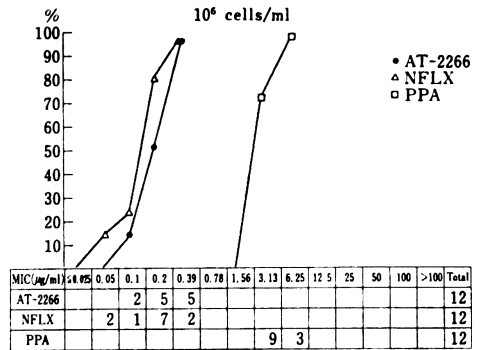


Fig. 22 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. putida* 8 strains

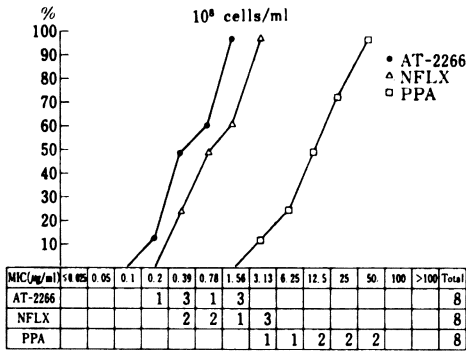
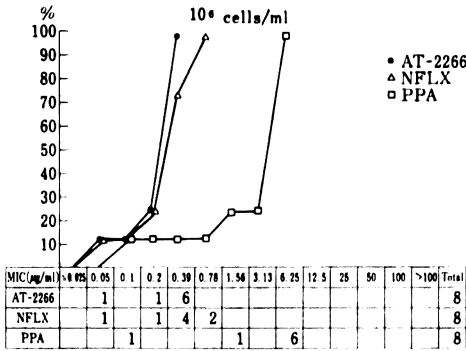


Fig. 23 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. maltophilia* 25 strains

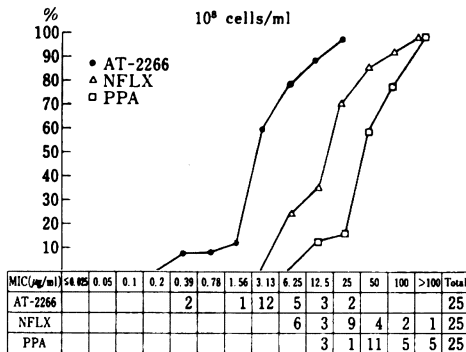
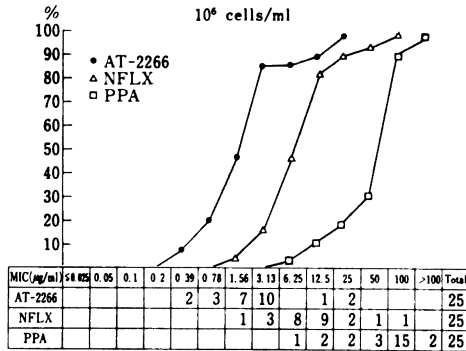


Fig. 24 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. cepacia* 16 strains

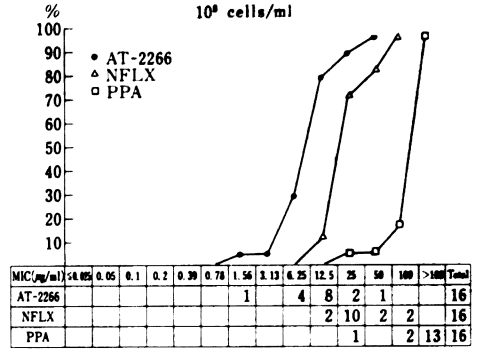
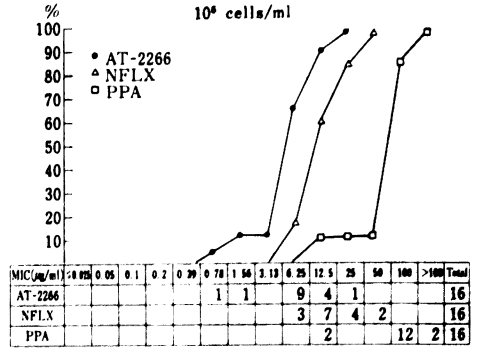


Fig. 25 Sensitivity distribution of clinical isolates *A. faecalis* 8 strains

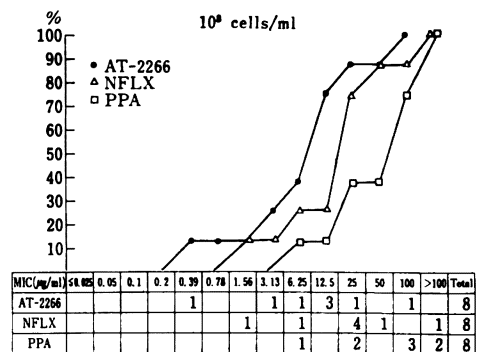
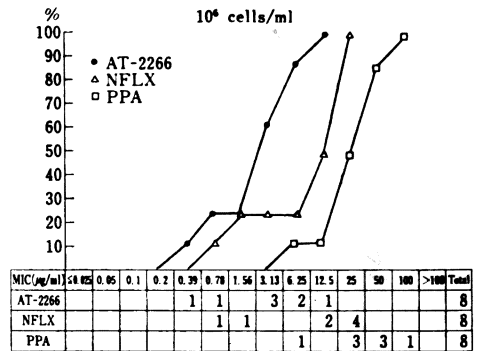


Fig. 26 Sensitivity distribution of clinical isolates *A. xylosoxidans* 15 strains

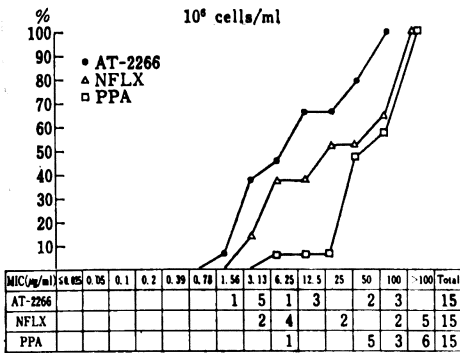


Fig. 28 Sensitivity distribution of clinical isolates *F. meningosepticum* 7 strains

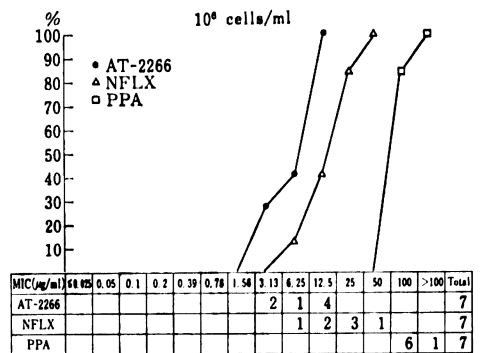


Fig. 27 Sensitivity distribution of clinical isolates *A. odrans* 14 strains

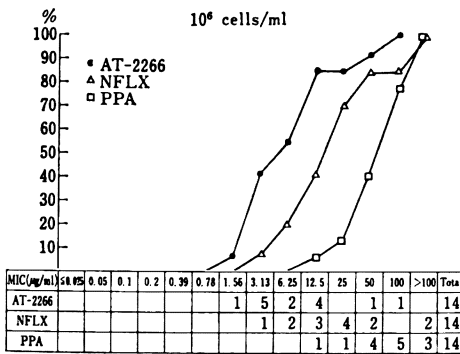


Fig. 29 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* 27 strains

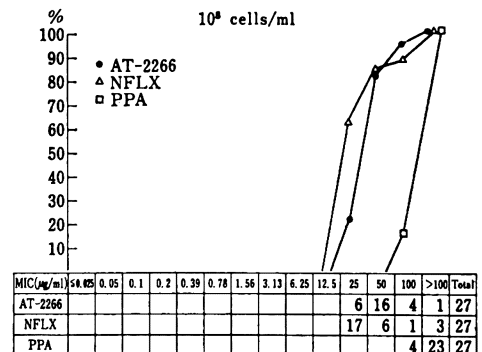
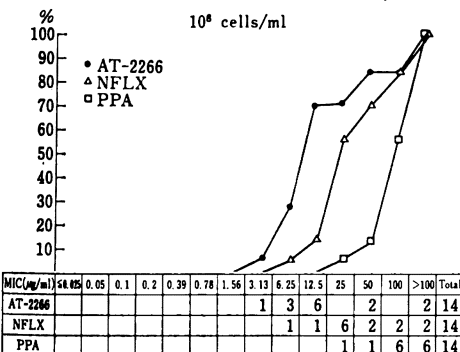
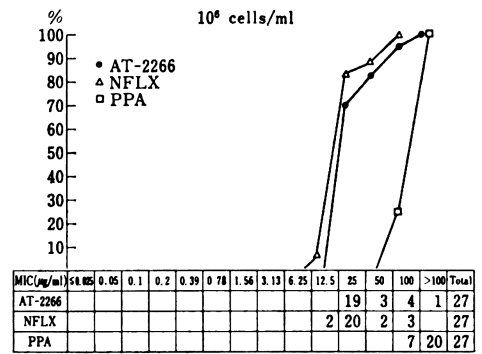
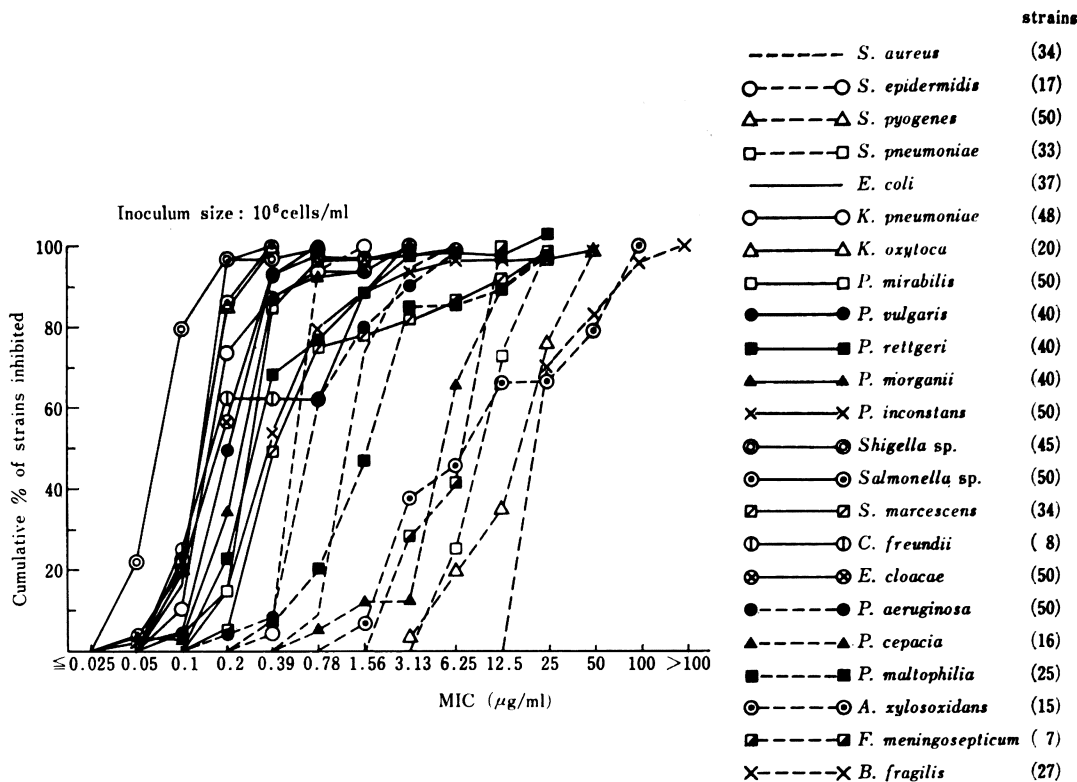


Fig. 30 *In vitro* activity of AT-2266 against clinical isolates

および *Salmonella* sp. に対する AT-2266 の抗菌力は NFLX より弱い、PPA に比べ強い。その MIC のピークは 0.1~0.2 $\mu\text{g/ml}$ であった。

Proteus 属 (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. morganii*, *P. rettgeri*, *P. inconstans*) に対する AT-2266 の抗菌力は NFLX より劣るが、PPA よりすぐれ、その MIC のピークは 0.39 $\mu\text{g/ml}$ に分布していた。

S. marcescens, *C. freundii*, *E. cloacae*, *E. aerogenes* に対し、ほぼ NFLX と同程度かわずかに劣る抗菌力を示したが、PPA よりすぐれ、MIC のピークは 0.2~0.39 $\mu\text{g/ml}$ であった。

P. aeruginosa, *P. fluorescens*, *P. putida* では NFLX と同程度の抗菌力を示し、PPA より強く、MIC ピークは 0.2~0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった。*P. maltophilia*, *P. cepacia* に対する AT-2266 の抗菌力は NFLX, PPA より強く、MIC のピークは 3.13~6.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。

A. faecalis, *A. xylosoxidans*, *A. odans*, *F. meningosepticum* では、NFLX, PPA より強い抗菌力を示し、MIC のピークは 3.13~6.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。

B. fragilis に対しては、一般に抗菌力は弱く、NFLX

と同程度で、PPA よりすぐれ、そのピークは 25 $\mu\text{g/ml}$ であった。

2) 臨床分離株に対する AT-2266 の抗菌力

23 菌種 786 菌株に対する AT-2266 の抗菌力の成績を Fig. 30 に示した。

AT-2266 は *Shigella*, *E. coli*, *Salmonella*, *K. oxytoca*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *P. morganii*, *E. cloacae*, *S. epidermidis* に対し、強い抗菌力を示し、大部分の菌株は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 以下に分布していた。*P. inconstans*, *P. rettgeri*, *C. freundii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. marcescens*, *P. maltophilia* では、菌株の 80% は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で阻止された。*P. cepacia*, *F. meningosepticum*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *A. xylosoxidans*, *B. fragilis* に対する抗菌力はやや弱く、6.25 $\mu\text{g/ml}$ ~50 $\mu\text{g/ml}$ に大部分の菌株が分布していた。

3) 臨床分離株に対する各薬剤の 80% 発育阻止濃度

検討した 28 菌種 838 菌株に対する各薬剤の抗菌力を、菌株の 80% を阻止する濃度で示したのが Fig. 31 である。

AT-2266 はグラム陽性球菌の *Staphylococcus* 属 (*S.*

aureus, *S. epidermidis*) では NFLX と同程度かやや強い抗菌力を示すが, *Streptococcus* 属 (*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*) では NFLX より弱い。腸内細菌科の各菌種に対し, 強い抗菌力を示し, *K. oxytoca*, *Shigella*, *Salmonella*, *P. inconstans*, *S. marcescens*, *E. aerogenes* では NFLX と同程度であるが, 他の菌種に対しては1管ないし2管程度劣る成績である。ブドウ糖非発酵菌の *P. aeruginosa* では NFLX と同程度であるが, その他の菌種では NFLX より強い。嫌気菌である *B. fragilis* に対しては 50 μ g/ml を示し NFLX に比べ劣っていた。PPA の抗菌力はすべての菌種において AT-2266, NFLX より弱い。

3. 殺菌作用

E. coli C-11株に対するAT-2266の殺菌作用をNFLX, PPAと比較した成績を Fig. 32に示した。

AT-2266 の MIC は 0.1 μ g/ml で, NFLX の 4 倍, PPA の 1/8 であるが, MIC 添加で 3 薬剤とも同程度の殺菌作用を示したが, NFLX, PPA では添加 4 時間後以降再増殖が認められ, AT-2266 では 6 時間以降で認められた。2 MIC 添加で AT-2266, NFLX は著明な殺菌作用が認められた。

4. マウス実験感染における防禦効果

1) *E. coli* 感染

E. coli C-11 を感染菌とし, 同一条件で AT-2266, NFLX, PPA によって治療した成績を Table 3 に示した。

AT-2266 の ED₅₀ は 0.049 mg/mouse を示し, NFLX と同程度であったが, PPA より小さい値を示した。

2) *K. pneumoniae* 感染

Fig. 31 The 80% inhibited concentrations (μ g/ml) of AT-2266, NFLX, and PPA against clinical isolates

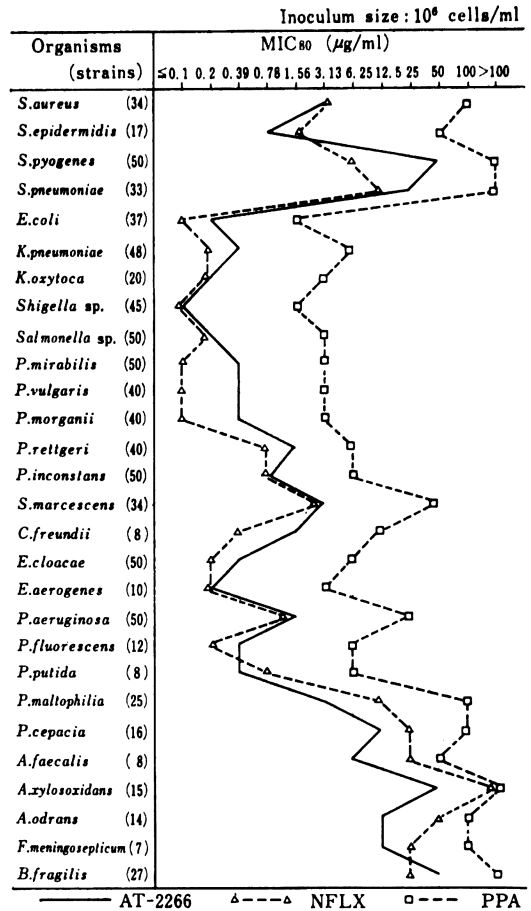
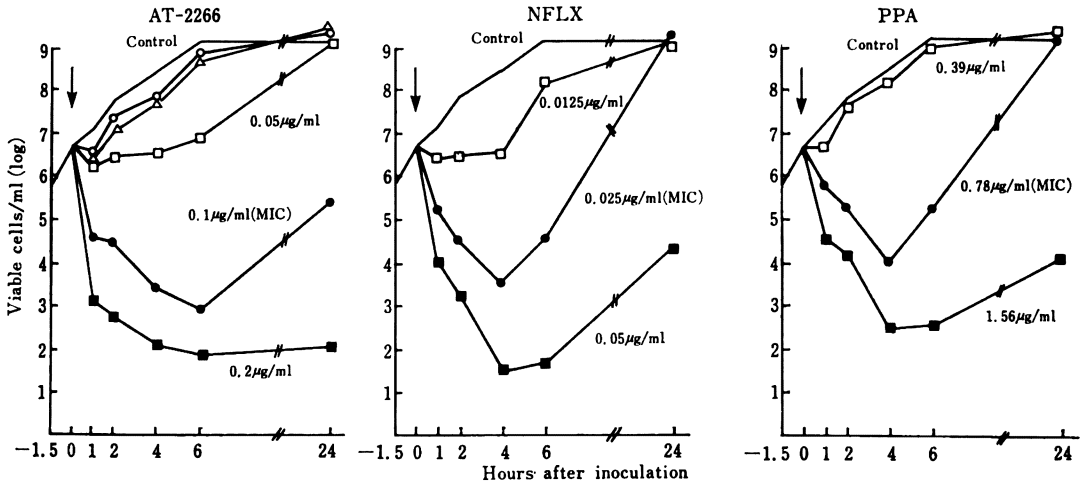


Fig. 32 Bactericidal activity of AT-2266, NFLX, and PPA against *E. coli* C-11



K. pneumoniae 3K-25 を感染菌としたときの成績を Table 4 に示した。

大量菌感染および小量菌感染とも AT-2266 の ED₅₀ 値は最も小さく, NFLX, PPA よりすぐれた感染防禦効果を示した。

3) *P. vulgaris* 感染

P. vulgaris GN-76 を感染菌としたときの成績を Table 5 に示した。

AT-2266 は NFLX に比べ, 接種菌量 10⁸ cells/ml での MIC が 8 倍高い値であるが, 感染防禦効果では 1/2 倍小さい ED₅₀ 値を示しすぐれていた。

4) *S. marcescens* 感染

Table 3 Protecting effect of AT-2266 against *E. coli* infection in mice

Organism	Drug	Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	5 % Mucin	MIC (μg/ml)		ED ₅₀ * mg/mouse
					10 ⁸	10 ⁶	
<i>E. coli</i> C-11	AT-2266	7.7 × 10 ⁸	1 × 10 ⁸	+	0.1	0.1	0.049 (0.035~0.069)
	NFLX				≤ 0.05	≤ 0.05	0.053 (0.040~0.068)
	PPA				1.56	1.56	0.282 (0.227~0.352)

Mouse : ICR, 4W, ♂ 20 ± 1 g 6 animals/group

Challenge : I. P.

Administration: P. O. 1 hr after infection

*ED₅₀ : Van Der Waerden method

Table 4 Protecting effect of AT-2266 against *K. pneumoniae* infection in mice

Organism	Drug	Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	5 % Mucin	MIC (μg/ml)		ED ₅₀ * mg/mouse
					10 ⁸	10 ⁶	
<i>K. pneumoniae</i> 3K-25	AT-2266	2.4 × 10 ⁷	5.0 × 10 ⁶	-	1.56	0.2	1.60 (1.102~2.322)
	NFLX				1.56	0.78	>12.8
	PPA				50	25	>12.8
	AT-2266	4.8 × 10 ⁸	1.0 × 10 ⁸	+	1.56	0.2	0.635 (0.409~0.984)
	NFLX				1.56	0.78	1.902 (1.412~2.563)
	PPA				50	25	11.403 (8.346~15.581)

Mouse : ICR, 4W, ♂ 20 ± 1 g 6 animals/group

Challenge : I. P.

Administration: P. O. 1 hr after infection

*ED₅₀ : Van Der Waerden method

Table 5 Protecting effect of AT-2266 against *P. vulgaris* infection in mice

Organism	Drug	Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	5 % Mucin	MIC (μg/ml)		ED ₅₀ * mg/mouse
					10 ⁸	10 ⁶	
<i>P. vulgaris</i> GN-76	AT-2266	4.5 × 10 ⁷	4.0 × 10 ⁷	+	0.39	0.39	1.269 (0.851~1.894)
	NFLX				0.1	0.05	3.020 (1.977~4.613)
	PPA				25	1.56	>12.8

Mouse : ICR, 4W, ♂ 20 ± 1 g 6 animals/group

Challenge : I. P.

Administration: P. O. 1 hr after infection

*ED₅₀ : Van Der Waerden method

Table 6 Protecting effect of AT-2266 against *S. marcescens* infection in mice

Organism	Drug	Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	5 % Mucin	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ * mg/mouse
					10 ⁸	10 ⁶	
<i>S. marcescens</i> No. 2	AT-2266	4.0 × 10 ⁸	1 × 10 ⁵	+	0.78	0.39	0.099 (0.063~0.156)
	NFLX				1.0	0.1	0.074 (0.035~0.159)
	PPA				1.56	1.56	0.317 (0.221~0.455)

Mouse : ICR, 4W, ♂ 20 ± 1 g 6 animals/group

Challenge : I. P.

Administration: P. O. 1 hr after infection

*ED₅₀ : Van Der Waerder method

Table 7 Protecting effect of AT-2266 against *P. aeruginosa* infection in mice

Organism	Drug	Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	5 % Mucin	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ * mg/mouse
					10 ⁸	10 ⁶	
<i>P. aeruginosa</i> E-7	AT-2266	7.3 × 10 ⁷	5.0 × 10 ⁶	-	1.56	1.56	0.252 (0.164~0.385)
	NFLX				1.56	0.78	0.282 (0.227~0.352)
	PPA				50	25	1.902 (1.412~2.563)
	AT-2266	7.3 × 10 ⁸	5.5 × 10 ²	+	1.56	1.56	0.158 (0.126~0.20)
	NFLX				1.56	0.78	0.567 (0.480~0.666)
	PPA				50	25	1.695 (1.288~2.230)
<i>P. aeruginosa</i> PI-67	AT-2266	2.9 × 10 ⁸	2.7 × 10 ⁷	-	3.12	1.56	3.20(2.2047~4.6446)
	NFLX				3.12	1.56	>12.8
	PPA				100	50	>12.8
	AT-2266	5.4 × 10 ⁵	2.7 × 10 ⁴	+	3.12	1.56	0.5040(0.3472~0.7315)
	NFLX				3.12	1.56	0.80 (0.5868~1.0907)
	PPA				100	50	>12.8

Mouse : ICR, 4W, ♂ 20 ± 1 g 6 animals/group

Challenge : I. P.

Administration: P. O. 1 hr after infection

*ED₅₀ : Van Der Waerden method

Table 8 Protecting effect of AT-2266 against *A. calcoaceticus* infection in mice

Organism	Drug	Challenge dose (cells/mouse)	MLD (cells/mouse)	5 % Mucin	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ * mg/mouse
					10 ⁸	10 ⁶	
<i>A. calcoaceticus</i> 402	AT-2266	3.0 × 10 ⁸	1.2 × 10 ⁸	-	1.56	1.56	4.5255(3.0959~6.6152)
	NFLX				12.5	3.12	8.5261(5.4664~13.2985)
	PPA				100	50	>12.8
	AT-2266	2.6 × 10 ⁷	5.5 × 10 ⁸	+	1.56	1.56	1.60 (1.154~2.2183)
	NFLX				12.5	3.12	>12.8
	PPA				100	50	>12.8

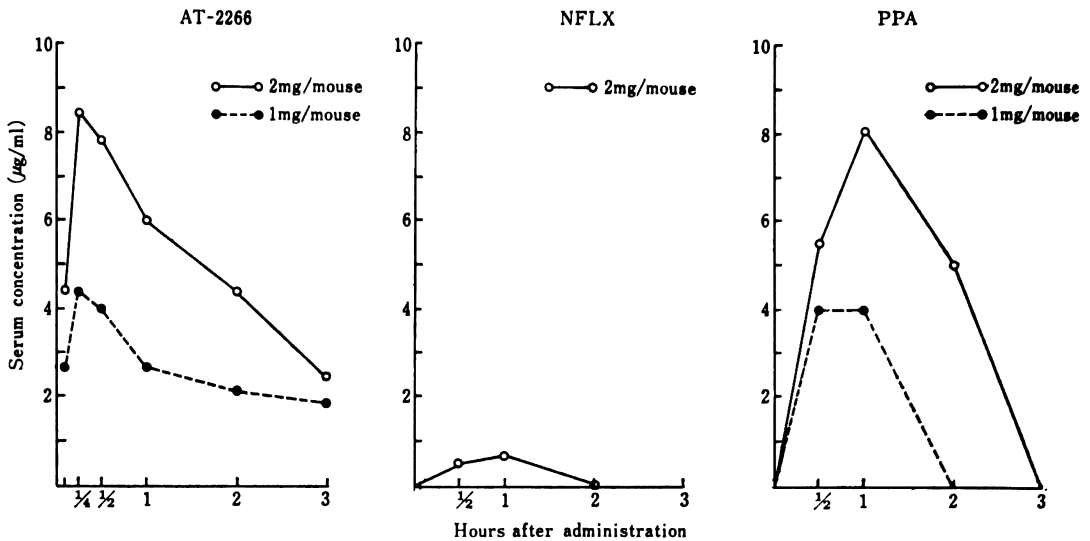
Mouse : ICR, 4W, ♂ 20 ± 1 g 6 animals/group

Challenge : I. P.

Administration: P. O. 1 hr after infection

*ED₅₀ : Van Der Waerden method

Fig. 33 Serum level
mouse: ICR, 4W, ♂, 19 ± 1 g



S. marcescens No. 2 を感染菌としたときの成績を Table 6 に示した。

AT-2266 の ED_{50} 値は 0.099 mg/mouse で、NFLX とほぼ同等で、PPA よりすぐれていた。

5) *P. aeruginosa* 感染

P. aeruginosa E-7, および *P. aeruginosa* PI-67 を感染菌としたときの成績を Table 7 に示した。

P. aeruginosa E-7 では、大量菌感染における AT-2266 の ED_{50} 値は NFLX とほぼ同等かわずかに小さい値 0.252 mg/mouse を示し、PPA よりすぐれていた。小量菌感染においても AT-2266 は NFLX, PPA より小さい ED_{50} 値であった。

P. aeruginosa PI-67 の場合、大量菌感染、小量菌感染とも AT-2266 の ED_{50} 値は最も小さく、NFLX, PPA よりすぐれた感染防禦効果を示した。

6) *A. calcoaceticus* 感染

A. calcoaceticus 402 を感染菌としたときの成績を Table 8 に示した。

大量菌感染、小量菌感染とも AT-2266 の ED_{50} 値は小さく、NFLX, PPA よりすぐれた防禦効果を示した。

5. マウス血清中濃度

AT-2266 および PPA をそれぞれ 2 mg/mouse, 1 mg/mouse また NFLX を 2 mg/mouse 経口投与したときのマウスの血中濃度の成績を Fig. 33 に示した。

AT-2266 のピークは投与後 15 分にあり 2 mg/mouse 投与で 8.4 µg/ml であった。NFLX, PPA のピークは

投与 1 時間で 2 mg/mouse 投与でそれぞれ 0.65 µg/ml, 8 µg/ml であった。AT-2266 の血中持続性は NFLX, PPA よりすぐれ、投与 3 時間後でも 2.5 µg/ml (2 mg 投与) を示した。

III. 考 察

ピリドンカルボン酸系抗菌剤 (Norfloxacin, Pipemidic acid) はグラム陰性桿菌用の経口剤として、主として尿路感染症に使用されており、緑膿菌に対しても抗菌作用を示すことが認められている。

新しく開発された AT-2266 について、*in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を、NFLX, PPA と比較検討した。

AT-2266 はグラム陰性菌中の腸内細菌科の菌種に強い抗菌力を示すが、NFLX と比べほぼ同等か菌種によりわずかに弱く、PPA よりすぐれた抗菌力を有することが確認された。グラム陽性菌に対して PPA は 50 µg/ml 以上の耐性を示すが、*Staphylococcus* 属では AT-2266 0.78~3.13 µg/ml で生育阻止される菌株が多く NFLX とほぼ同等の抗菌力を示し、*Streptococcus* 属では NFLX より弱い抗菌力であった。またブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌に対しては、*P. aeruginosa* では強い抗菌力を示し NFLX と同等の抗菌力を有していた。その他の菌種では NFLX, PPA よりすぐれた抗菌力が認められた。

E. coli に対する殺菌作用も AT-2266 は強く、各菌種での感染防禦効果実験でも NFLX, PPA と比べすぐれた効果が認められた。とくに *S. marcescens*, *P. aeru.*

ginosa を用いた実験では、MIC が NFLX より大きいにもかかわらず ED_{50} 値は小さい値を示した。この理由の一つとして、マウス血清中濃度移行がよく、かつ持続性が NFLX よりすぐれているためと考えられた。

(実施期間：昭和56年12月～昭和57年12月)

文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度(MIC)の測定法再改定について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 2) 日本化学療法学会嫌気性菌MIC測定法検討委員会：嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法。Chemotherapy

27: 559~560, 1979

- 3) 五島磋智子, 堂ヶ崎勲, 金子康子, 小川正俊, 滝田聖親, 辻 明良, 高橋邦子, 桑原章吾: Pipemidic acid の細菌学的評価, とくに *in vitro*, *in vivo* の抗緑膿菌作用について。Chemotherapy 23: 2640~2645, 1975
- 4) 五島磋智子, 小川正俊, 金子康子, 武藤弓子, 桑原章吾: 新キノリンカルボン酸系合成抗菌剤 AM-715 の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用とマウス血清中濃度について。Chemotherapy 29(S-4): 12~26, 1981

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF AT-2266, A NEW PYRIDONECARBOXYLIC ACID ANTIBACTERIAL AGENT

SACHIKO GOTO, AKIYOSHI TSUJI, MASATOSHI OGAWA, YASUKO KANEKO
SHUICHI MIYAZAKI, YUMIKO MUTO, and SHOGO KUWABARA
Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University

In vitro and *in vivo* antibacterial activities of AT-2266, a new pyridonecarboxylic acid antibacterial agent, were compared with those of the same class of antibacterial agents, norfloxacin and pipemidic acid, and the following results were obtained.

AT-2266 was active against gram-positive and gram-negative organisms, especially *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella* (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*), *Proteus* sp. (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P.morganii*), *E. cloacae* and *S. epidermidis*. It was more active than pipemidic acid and as active as or slightly less active than norfloxacin.

AT-2266 was as active as norfloxacin against *P. aeruginosa* and *S. marcescens*, and more active than norfloxacin or pipemidic acid against fermentative organisms, such as *P. maltophilia*, *P. cepacia*, *A. faecalis* and *F. meningosepticum*.

It was found that AT-2266 had a more potent bactericidal activity against *E. coli* than did norfloxacin and pipemidic acid.

AT-2266 was superior to norfloxacin and pipemidic acid in protecting infections with *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* and *A. calcoaceticus* in experimental infections in mice.