

NY-198の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について

西野武志・尾花芳樹・谷野輝雄

京都薬科大学微生物学教室

NY-198の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について、pipemidic acid (PPA), norfloxacin (NFLX) および ofloxacin (OFLX) を比較薬として検討を行ない、以下の成績を得た。

NY-198はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して幅広い抗菌スペクトルを示した。臨床分離株に対する感受性分布においても、NY-198は OFLX および NFLX より若干劣るが良好な抗菌力を有しており、PPA より明らかに優れていた。また NY-198に対して50 μ g/ml以上の耐性を示す菌は認められなかった。

抗菌力に及ぼす諸因子の影響では、他の薬物と同様、培地 pH, 接種菌量の影響を若干受けることが分った。

殺菌作用では、いずれの菌種においても短時間内で強い殺菌性が認められた。

マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果では、いずれの菌種に対しても NY-198は OFLX とほぼ同等か若干優れた効果を示し、NFLX および PPA より明らかに優れていた。

今回実験に供試した菌株ではマウス実験的呼吸器感染症において、NY-198の治療効果は OFLX より劣っていたが、実験的尿路感染症ではほぼ同等の効果であった。また両局所感染症において、NY-198は NFLX および PPA より明らかに優れていた。

NY-198は北陸製薬(株)研究所において合成された新しいキノロン系抗菌薬である。本物質は6位および8位にフッ素原子ならびに7位側鎖に3-メチルピペラジノ基を有する化合物であり、化学名は(±)-1-ethyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid hydrochlorideで、分子式 $C_{17}H_{19}F_2N_3O_3 \cdot HCl$, 分子量387.81の白色ないし帯黄白色の結晶性粉末であり、その構造式を Fig. 1 に示した。

本物質は *in vitro* および *in vivo* において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すと言われている¹⁾。

今回、pipemidic acid²⁾, norfloxacin^{3,4)} および ofloxacin^{5,6)} を比較薬として、NY-198の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について検討を行なったので報告する。

I 材料および方法

1. 使用菌株

教室保存のグラム陽性菌16株、グラム陰性菌30株および臨床材料より分離された *Staphylococcus aureus* 40株、methicillin耐性の *S. aureus* (MRSA) 26株、*Staphylococcus epidermidis* 43株、*Streptococcus pyogenes* 30株、*Escherichia coli* 44株、*Klebsiella pneumoniae* 42株、*Enterobacter aerogenes* 34株、*Enterobacter*

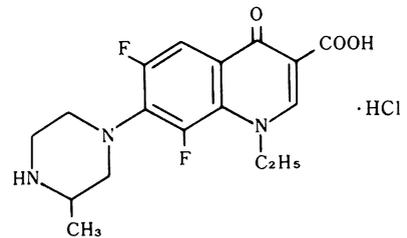


Fig. 1. Chemical structure of NY-198

cloacae 29株, *Serratia marcescens* 45株, *Proteus mirabilis* 29株, *Proteus vulgaris* 36株, *Morganella morganii* 28株, *Providencia rettgeri* 17株, *Haemophilus influenzae* 17株, *Pseudomonas aeruginosa* 42株および *Acinetobacter calcoaceticus* 44株を用いた。

2. 使用薬物

NY-198 (力価906 μ g/mg), pipemidic acid (PPA : 力価1000 μ g/mg, 大日本製薬), norfloxacin (NFLX : 力価1000 μ g/mg, 杏林薬品) および ofloxacin (OFLX : 力価1000 μ g/mg, 第一製薬) のいずれも標準品を用いた。

3. 感受性測定法

前培養に感受性ブイオン培地(栄研), 測定用に感受性

Table 1. Antibacterial spectrum of NY-198 against Gram-positive bacteria

10⁸ CFU/ml

Organism	MIC (μg/ml)			
	NY-198	NFLX	OFLX	PPA
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-PJC	1.56	0.78	0.78	50
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.39	0.39	0.39	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> Terashima	1.56	1.56	0.78	100
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.78	1.56	0.39	50
<i>Staphylococcus aureus</i> NO. 80	0.78	1.56	0.39	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	0.78	0.78	0.78	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> I	6.25	6.25	1.56	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> II	6.25	12.5	3.13	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> III	12.5	12.5	3.13	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	6.25	3.13	1.56	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	6.25	6.25	3.13	>100
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	6.25	25	3.13	>100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> Toronto	3.13	6.25	1.56	100
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	12.5	25	3.13	>100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.2	0.39	0.2	6.25
<i>Bacillus anthracis</i>	0.39	0.39	0.39	6.25

ディスク用培地 (栄研) を用い、日本化学療法学会感受性測定法⁷⁾に準じて最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。なお *Streptococcus* 属は 10% 馬脱纖維血液を、*H. influenzae* は 3% Bacto-Fildes enrichment (Difco) を含んだ感受性ディスク用培地を作製して使用した。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH, 馬血清添加および接種菌量の影響について、*S. aureus*, *E. coli* および *P. aeruginosa* を被験菌種として、感受性ディスク用培地を用いた寒天平板希釈法により検討した。

5. 殺菌作用

普通ブイオン (ニッスイ) で前培養した菌を同新鮮培地に接種し培養した。菌数が約 10⁶CFU/ml になった時に所定の濃度になるように薬物を添加し、37°C で培養後経時的に生菌数を測定した。

6. マウス実験的腹腔内感染症に対する効果

S. aureus Smith, *E. coli* 444, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55, *P. aeruginosa* E-2 および *A. calcoaceticus* Ac-54 を普通ブイオンで 37°C 18 時間培養後同培地で希釈し、6% hog gastric mucin (Orthana Kemisk Fabrik A/S) と等量混合した。この菌液を 1 群 10 匹の Std-ddY 系雄マウス (17~18g) の腹腔内に接種し、感染 2 時間後に 1 回薬物を経口投与した。その後 5 日間生死観察を行ない、プロビット法により ED₅₀ 値を算出した。なお薬物はすべて 0.5% carboxy-

methylcellulose に懸濁して用いた。

7. マウス実験的呼吸器感染症に対する効果

K. pneumoniae DT-S を普通寒天培地 (ニッスイ) で 37°C 18 時間培養後普通ブイオンに懸濁し、ネブライザーによる噴霧を行ない吸入感染させた⁹⁾。噴霧終了 15 時間後に薬物を 1 回経口投与し、以後肺を無菌的に摘出、ホモジナイズ後生菌数を測定した。また薬物投与後の生死についても併せて観察した。

8. マウス実験的尿路感染症に対する効果

E. coli 444 および *P. aeruginosa* E-2 を普通ブイオンで 37°C 18 時間培養後同培地で希釈し、既報⁹⁾のように経尿道的に膀胱内に接種し、急性腎盂腎炎を惹起させた。菌接種 4 時間後に各薬物を 1 回経口投与し、投与 20 時間後に腎臓を無菌的に摘出し、ホモジナイズ後生菌数を測定した。

II 結 果

1. 抗菌スペクトル

教室保存のグラム陽性菌群およびグラム陰性菌群に対する NY-198 の抗菌力を測定した結果を Table 1~4 に示した。接種菌量 10⁶CFU/ml では、グラム陽性菌群に対する NY-198 の抗菌力は staphylococci で 0.39~0.78 μg/ml の MIC を示し、OFLX より若干劣るが NFLX とほぼ同等であり、PPA より明らかに優れていた。Streptococci に対して NY-198 の MIC は 3.13~

Table 2. Antibacterial spectrum of NY-198 against Gram-positive bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	NY-198	NFLX	OFLX	PPA
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-PJC	0.78	0.39	0.39	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.39	0.39	0.39	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i> Terashima	0.78	0.78	0.39	25
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.78	0.78	0.39	25
<i>Staphylococcus aureus</i> NO. 80	0.78	1.56	0.39	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	0.78	0.78	0.39	12.5
<i>Streptococcus pneumoniae</i> I	3.13	1.56	0.78	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> II	6.25	1.56	1.56	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> III	6.25	6.25	1.56	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> C-203	6.25	3.13	1.56	>100
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23	6.25	3.13	1.56	>100
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	3.13	3.13	1.56	>100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> Toronto	3.13	1.56	0.78	100
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	12.5	12.5	3.13	>100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.2	0.39	0.1	6.25
<i>Bacillus anthracis</i>	0.2	0.39	0.2	6.25

6.25 $\mu\text{g/ml}$ であり、NFLX、OFLXより若干劣っていた。グラム陰性菌に対してNY-198のMICは腸内細菌群で0.025~0.78 $\mu\text{g/ml}$ 、ブドウ糖非発酵菌群で0.2~3.13 $\mu\text{g/ml}$ であり、良好な抗菌力を有していた。その抗菌力はNFLX、OFLXとほぼ同等であり、PPAより明らかに優れていた。このようにNY-198はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して強い抗菌活性を有することが分った。

2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床材料より分離された合計546株に対するNY-198の抗菌力について測定した結果をFig. 2~17に示した。

*S. aureus*に対するNY-198のMICは0.39~3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、0.78 $\mu\text{g/ml}$ に一峰性のピークを示した。本物質の抗菌力はOFLXより劣るがNFLXより約2倍、またPPAより明らかに優れていた(Fig. 2)。Methicillin(DMPPC)耐性の*S. aureus*に対してもNY-198は良好な抗菌力を示し、そのMICは0.78~3.13 $\mu\text{g/ml}$ であり、OFLXより若干劣るがNFLXより若干優れ、PPAおよびcefazolin (CEZ)より明らかに優れていた(Fig. 3)。*S. epidermidis*ではNY-198のMICは0.39~1.56 $\mu\text{g/ml}$ に分布しており、NFLXとほぼ同等であった。しかしながらOFLXより約2倍劣っており、またPPAよりは優れていた(Fig. 4)。*S. pyogenes*ではNY-198のMICは3.13~12.5 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、NFLX、OFLXより劣るがPPAより明らかに優れていた(Fig. 5)。

*E. coli*に対してNY-198のMICは ≤ 0.025 ~0.39 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、0.2 $\mu\text{g/ml}$ に一峰性のピークを示した。またその抗菌力はNFLX、OFLXより若干劣るがPPAより優れていた(Fig. 6)。*K. pneumoniae*ではNY-198は0.1~0.39 $\mu\text{g/ml}$ の優れた抗菌力を示し、NFLX、OFLXとほぼ同等であった(Fig. 7)。*E. aerogenes*ではNY-198は0.2~0.78 $\mu\text{g/ml}$ の良好な抗菌力を示したが、NFLX、OFLXより約2倍劣っていた。しかしPPAよりは優れていた(Fig. 8)。*E. cloacae*においてもNY-198は0.2~1.56 $\mu\text{g/ml}$ にそのMICが分布し、NFLX、OFLXより約2倍劣っていた(Fig. 9)。*S. marcescens*ではNY-198のMICは0.39~25 $\mu\text{g/ml}$ と幅広く分布していた。また他の薬物のMICも幅広く分布し、本物質の抗菌力はNFLX、OFLXとほぼ同等であり、PPAより優れていた(Fig. 10)。*P. mirabilis*ではNY-198のMICは0.2~0.78 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、その抗菌力はNFLX、OFLXより劣り、PPAより優れていた(Fig. 11)。*P. vulgaris*ではNY-198は0.39~0.78 $\mu\text{g/ml}$ にMICが分布し、NFLX、OFLXより約4倍劣り、PPAより約4倍優れていた(Fig. 12)。*M. morgani*に対して、NY-198のMICは0.1~3.13 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、NFLX、OFLXより劣るがPPAより優れていた(Fig. 13)。*P. rettgeri*に対して、NY-198のMICは0.2~6.25 $\mu\text{g/ml}$ に若干幅広く分布し、NFLX、OFLXより約2~4倍劣っていたが、PPAより約8倍優れていた(Fig. 14)。*H.*

Table 3. Antibacterial spectrum of NY-198 against Gram-negative bacteria

10⁸ CFU/ml

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	NY-198	NFLX	OFLX	PPA
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.39	0.39	0.39	3.13
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.2	0.1	0.1	1.56
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.1	0.1	0.1	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.2	0.39	0.78	3.13
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.1	0.1	0.1	3.13
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.025	0.05	0.05	1.56
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.1	0.1	0.1	1.56
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.1	0.1	0.1	3.13
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.2	0.2	0.2	3.13
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.2	0.2	0.2	3.13
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.2	0.2	0.2	1.56
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.1	0.1	0.1	1.56
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.1	0.1	0.1	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.2	0.2	0.2	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.78	0.78	0.78	12.5
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.39	1.56	0.78	6.25
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.2	0.2	0.2	3.13
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	1.56	0.78	1.56	6.25
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.1	0.2	0.1	3.13
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.1	0.2	0.1	6.25
<i>Providencia inconstans</i> NIH 118	0.39	0.1	0.2	3.13
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.1	0.1	0.1	3.13
<i>Morganella morganii</i> Kono	0.78	0.78	0.39	6.25
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	0.39	0.1	0.05	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	6.25	6.25	6.25	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445	3.13	3.13	1.56	12.5
<i>Pseudomonas cepacia</i> NCTC 10743	0.39	0.2	0.78	6.25
<i>Xanthomonas maltophilia</i> ATCC 13637	0.78	3.13	0.78	12.5
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac54	1.56	6.25	0.78	>100
<i>Alcaligenes faecalis</i> IFO 1311	3.13	6.25	1.56	25

influenzae では NY-198 は $\leq 0.025 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$ の優れた MIC を有していたが NFLX, OFLX より劣っていた (Fig.15)。 *P. aeruginosa* では、NY-198 の MIC は $0.78 \sim 12.5 \mu\text{g/ml}$ に分布し、他の菌種に比べ若干抗菌力が低下するが、OFLX とほぼ同等であった。しかしながら NFLX より劣っていた (Fig.16)。 *A. calcoaceticus* に対して、NY-198 の MIC は $0.1 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$ に分布し、OFLX より約 2 倍劣るが、NFLX, PPA より明らかに優れていた (Fig.17)。以上のように NY-198 はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して良好な抗菌力を有することが分った。また今回測定した菌株中、NY-198 に対して $50 \mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示す菌株は認められな

った。

3. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

NY-198 の抗菌力に及ぼす馬血清添加、培地 pH および接種菌量の影響について、*S. aureus*, *E. coli* および *P. aeruginosa* を被験菌として検討した結果を Fig.18~26 に示した。

抗菌力に及ぼす馬血清添加の影響では、血清濃度が 10 および 25% で検討したが、いずれの菌種においても NY-198 の抗菌力はほとんど影響されることが分った。またこのような傾向は他の薬物でも同様であった (Fig.18~20)。培地 pH の影響では NY-198 の抗菌力は他の薬物と同様、培地 pH が酸性側においてその抗菌力が低下

Table 4. Antibacterial spectrum of NY-198 against Gram-negative bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	NY-198	NFLX	OFLX	PPA
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	0.1	3.13
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.05	0.1	0.1	1.56
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.1	0.1	0.1	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.2	0.2	0.39	3.13
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.1	0.1	0.05	1.56
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.025	0.05	0.025	1.56
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.1	0.05	0.1	0.78
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.1	0.1	0.1	1.56
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.1	0.1	0.1	1.56
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.2	0.2	0.1	1.56
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.2	0.2	0.2	1.56
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.1	0.1	0.1	1.56
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.1	0.1	0.1	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.1	0.1	0.39	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	0.2	0.39	0.2	3.13
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	0.2	0.39	0.2	3.13
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.1	0.05	0.1	1.56
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.78	0.39	0.78	3.13
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.1	0.2	0.1	3.13
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.1	0.05	0.1	3.13
<i>Providencia inconstans</i> NIH 118	0.2	0.1	0.2	3.13
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.05	0.05	0.05	1.56
<i>Morganella morganii</i> Kono	0.39	0.2	0.2	3.13
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	0.2	0.1	0.05	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	3.13	1.56	1.56	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445	1.56	0.78	1.56	12.5
<i>Pseudomonas cepacia</i> NCTC 10743	0.39	0.2	0.78	6.25
<i>Xanthomonas maltophilia</i> ATCC 13637	0.2	1.56	0.2	12.5
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac54	0.78	3.13	0.39	100
<i>Alcaligenes faecalis</i> IFO 1311	1.56	6.25	0.78	25

し、特に被験菌種が *E. coli* および *P. aeruginosa* の時に、より顕著であった (Fig.21~23)。接種菌量の影響では、いずれの薬物も高菌量接種において抗菌力が低下することが分り、特に *E. coli* および *P. aeruginosa* では顕著であった (Fig.24~26)。

4. 殺菌作用

S. aureus Smith, *E. coli* 444 および *P. aeruginosa* E-2 を被験菌株として、接種菌量 10^6 CFU/ml における NY-198 の殺菌作用について検討しその結果を Fig.27~29 に示した。

S. aureus では NY-198 は $1.56 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度において、作用 1 時間以後殺菌作用が認められた。NFLX,

OFLX では $0.39 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で殺菌作用が認められたが、PPA の $6.25 \mu\text{g/ml}$ ではほぼ静菌的な作用であった (Fig.27)。*E. coli* では NY-198, NFLX および OFLX の $0.025 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度において、作用 1 時間後で約 99.9% 以上が殺菌された。PPA では $0.39 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で殺菌作用が認められたが、その作用はあまり強くはなかった (Fig.28)。*P. aeruginosa* では NY-198, NFLX および OFLX の $3.13 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で作用濃度に対応した殺菌作用が認められた。一方 PPA では $12.5 \mu\text{g/ml}$ の作用でわずかな殺菌作用が認められただけであった (Fig.29)。

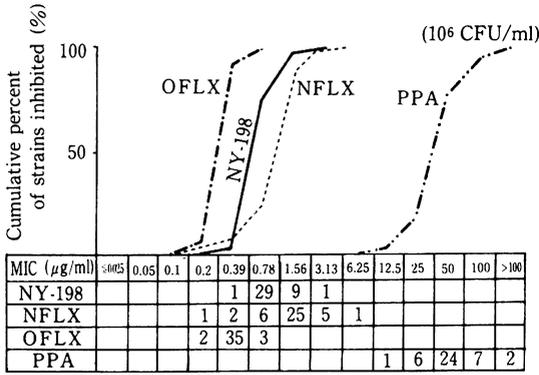


Fig. 2. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (40 strains)

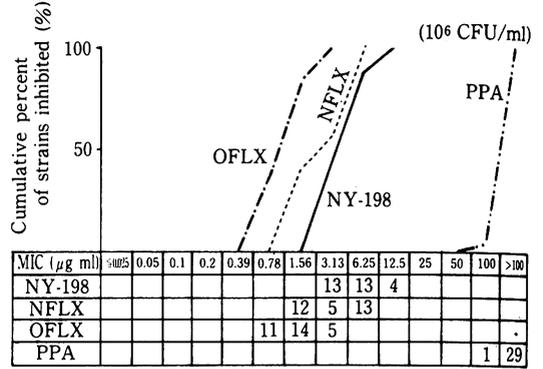


Fig. 5. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* (30 strains)

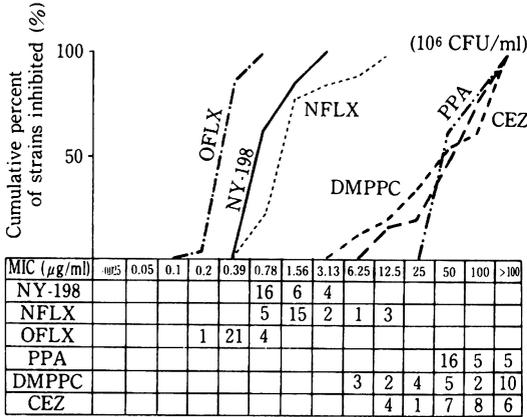


Fig. 3. Sensitivity distribution of clinical isolates of DMPPC-*Staphylococcus aureus* (26 strains)

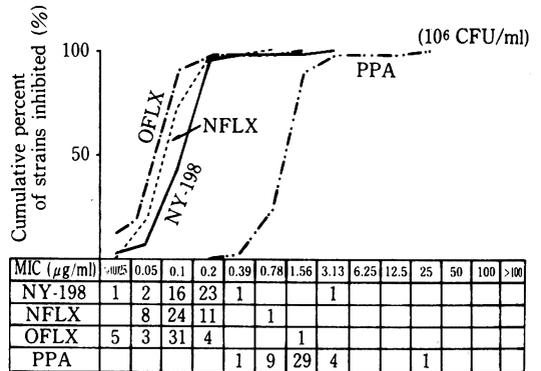


Fig. 6. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Escherichia coli* (44 strains)

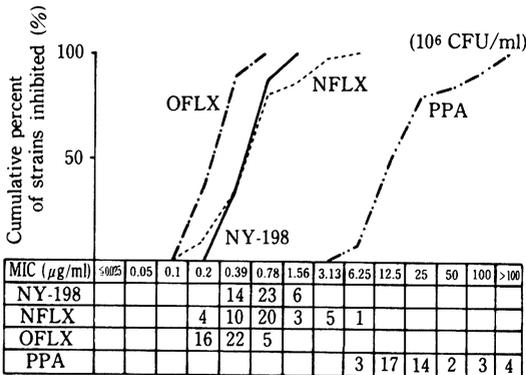


Fig. 4. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* (43 strains)

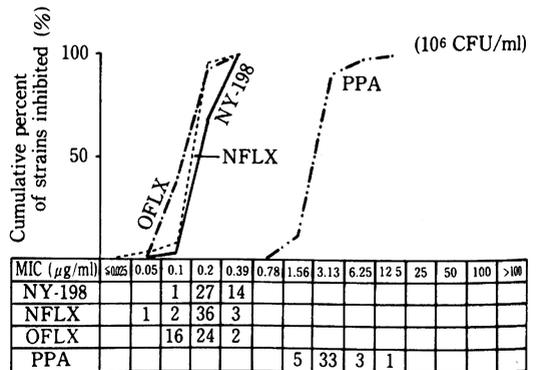


Fig. 7. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* (42 strains)

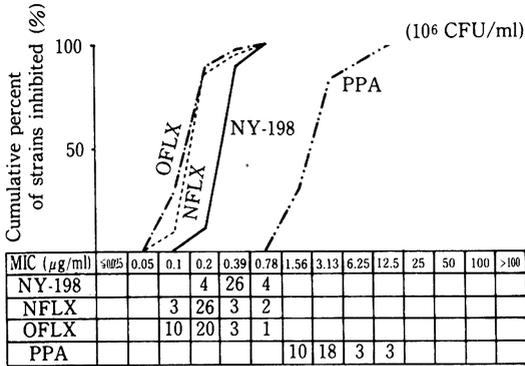


Fig. 8. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterobacter aerogenes* (34 strains)

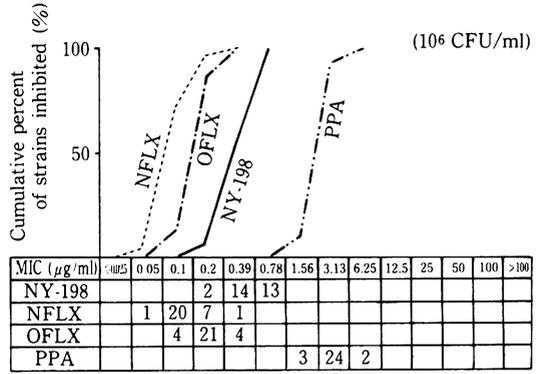


Fig. 11. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Proteus mirabilis* (29 strains)

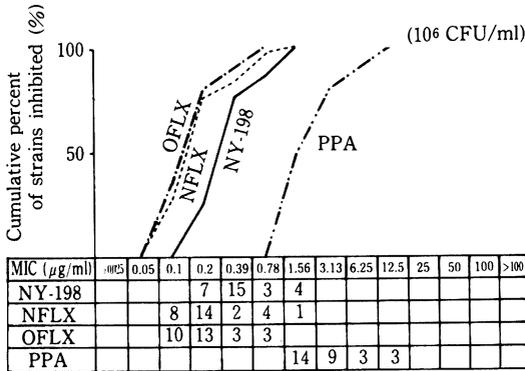


Fig. 9. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterobacter cloacae* (29 strains)

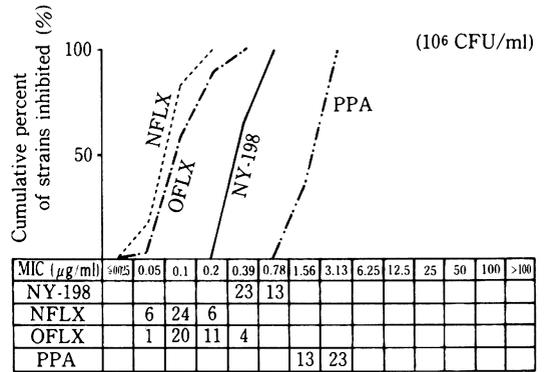


Fig. 12. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Proteus vulgaris* (36 strains)

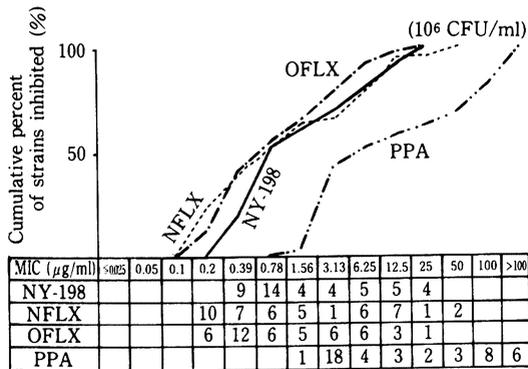


Fig. 10. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Serratia marcescens* (45 strains)

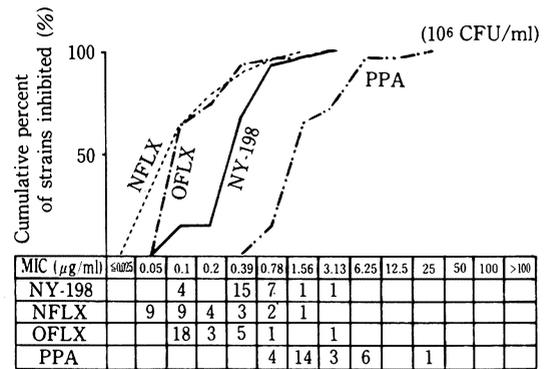


Fig. 13. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Morganella morgani* (28 strains)

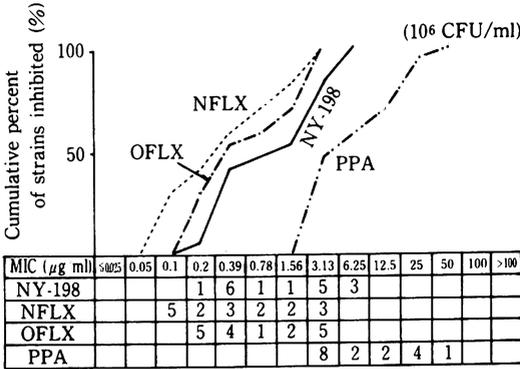


Fig. 14. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Providencia rettgeri* (17 strains)

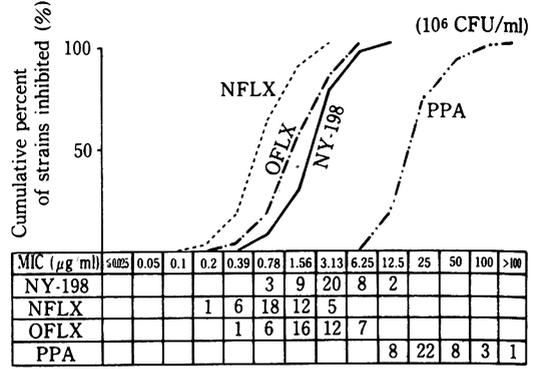


Fig. 16. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* (42 strains)

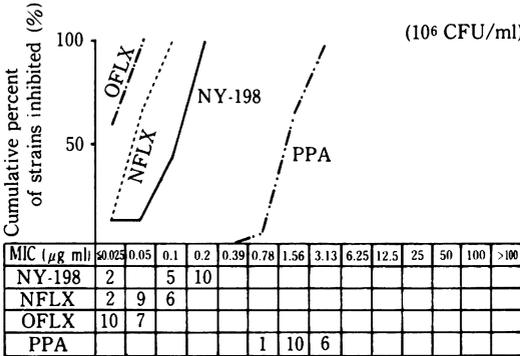


Fig. 15. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Haemophilus influenzae* (17 strains)

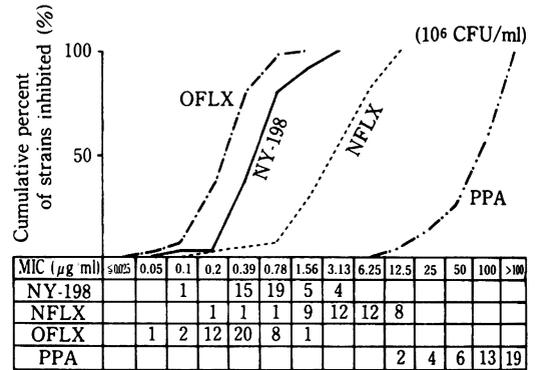


Fig. 17. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Acinetobacter calcoaceticus* (44 strains)

5. マウス実験的腹腔内感染症に対する効果

6 菌種 6 菌株を用いた腹腔内感染症に対する NY-198 の治療効果について検討した結果を Table 5 に示した。

S. aureus 感染症に対して、NY-198 の治療効果 (ED₅₀ 値) は 4.424mg/kg であり、OFLX とほぼ同等で、NFLX、PPA より明らかに優れていた。*E. coli* 感染症では、NY-198 の ED₅₀ 値は 0.641mg/kg で良好な治療効果を示し、OFLX とほぼ同等で NFLX、PPA より優れていた。*K. pneumoniae* に対して、NY-198 は OFLX とほぼ同等の ED₅₀ 値を示し、NFLX、PPA より優れていた。*S. marcescens* では、NY-198 は OFLX とほぼ同等であり、NFLX、PPA より優れていた。*P. aeruginosa* 感染症において、NY-198 の ED₅₀ 値は 20.148mg/kg であり、他の菌種の感染症に比べて高投与量を必要とした。しかしながら OFLX、NFLX および PPA より優れていた。*A. calcoaceticus* では、NY-198 の ED₅₀ 値は 4.043mg/kg であり、他の薬物より優れていた。以上のように今回検討した菌株による腹腔内感染症に対して、NY-198 の治療

効果は OFLX とほぼ同等か若干優れ、NFLX、PPA より明らかに優れていることが分かった。

6. マウス実験的呼吸器感染症に対する効果

K. pneumoniae DT-S による呼吸器感染症に対する NY-198 の治療効果の検討結果を Fig.30 および 31 に示した。Fig.30 は投薬後の肺内菌数を測定したものであるが、NY-198 投与では 7.5~75mg/kg 投与において投薬 24 時間後まで肺内菌数の減少が認められたが、それ以後は再増殖することが分かった。OFLX では投薬 48 時間後まで肺内菌数は 10³CFU/lung 以下であり再増殖もほとんど認められなかった。また NFLX、PPA では 75mg/kg 以下の投与量ではほとんど効果が認められなかった。

Fig.31 は延命効果について投薬後 9 日間生死を観察したものであるが、先の肺内菌数の結果を良く反映した結果が得られ、その治療効果の良否は OFLX > NY-198 > NFLX > PPA の順であった。

7. マウス実験的尿路感染症に対する効果

E. coli 444 および *P. aeruginosa* E-2 による上行性尿路感染症に対する治療効果の結果を Fig.32 および 33 に

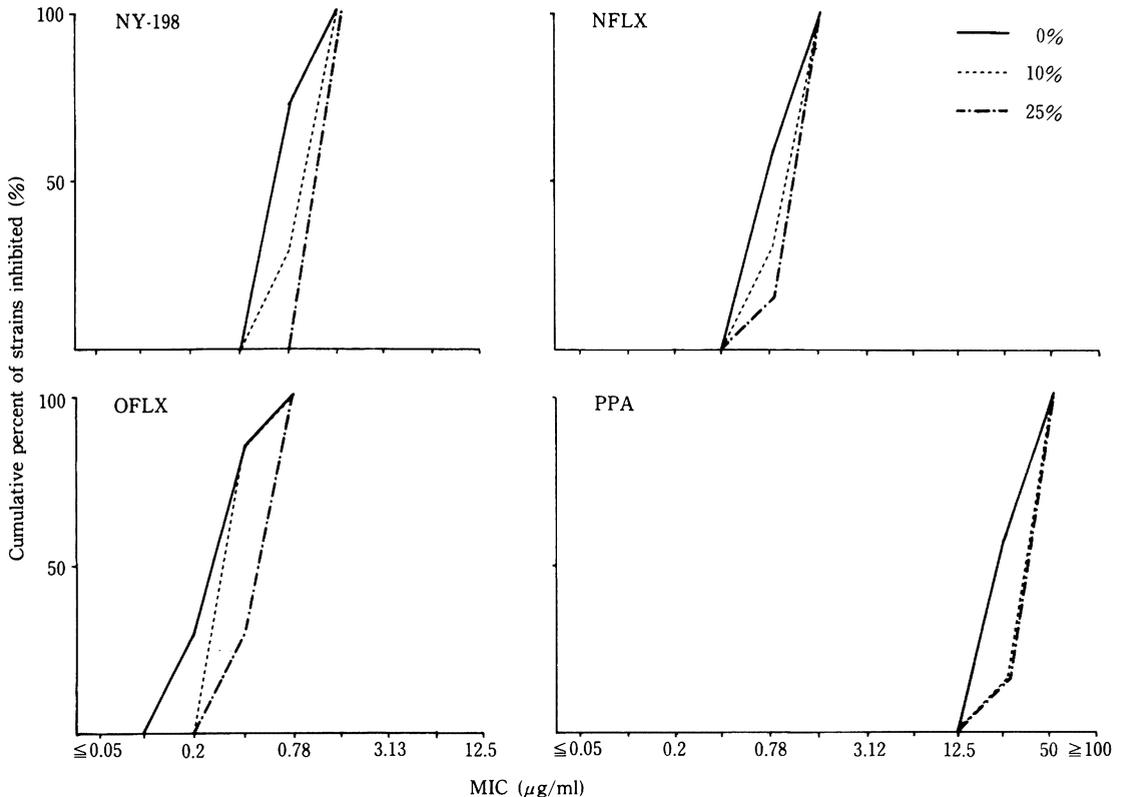


Fig. 18. Effect of the concentration of horse serum on antibacterial activity of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against *S. aureus* (7 strains)

示した。

E. coli では、NY-198, OFLX は 4~100mg/kg の投与量においてはほぼ同等の良好な治療効果が認められ、その効果は NFLX, PPA より優れていた。また NY-198, NFLX, OFLX の効果はこの条件下ではあまり濃度に対応したものではなかった (Fig.32)。 *P. aeruginosa* では 10~250mg/kg の投与量において、いずれも濃度に対応した除菌効果が認められた。NY-198 は OFLX とほぼ同等の効果を示し、NFLX, PPA より優れていた。このように局所感染症においても NY-198 の治療効果が良好なことが分った (Fig.33)。

III 考 察

新しいキノロンカルボン酸系合成抗菌薬 NY-198 に関する *in vitro* および *in vivo* 抗菌力について、既知物質の PPA, NFLX および OFLX を比較薬として検討を行なった。

NY-198 はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して幅広い良好な抗菌力を示したが、他のキノロン剤と同様、streptococci に対しては若干抗菌活性が低いことが分

った。

臨床分離株 (合計 546 株) に対する抗菌力を検討したところ、MRSA を含むグラム陽性菌に対しては NY-198 はいずれの菌種に対しても良好な抗菌力を有しており、その抗菌活性は OFLX より劣るが、NFLX とほぼ同等か若干優れており、PPA よりは明らかに優れていた。

またグラム陰性菌に対して本物質は OFLX および NFLX より若干劣るが良好な抗菌力を有し、いずれの菌種においても 50 μ g/ml 以上の MIC を示す菌は存在しなかった。フッ素置換キノロン系抗菌剤は耐性が生じにくい性質を有すると報告されており¹⁰⁾、このことが NY-198 の抗菌力にも反映されているものと思われる。NY-198 の抗菌力に及ぼす諸因子の影響について検討したところ、培地 pH, 接種菌量の影響において、*E. coli*, *P. aeruginosa* が供試菌の場合に若干影響が認められた。しかしこのような現象は他の薬物でも同様に認められ、本物質に特有のものではなかった。また殺菌作用について検討したところ、いずれの菌種においても作用後短時間内に強い殺菌作用が認められた。

このような *in vitro* の検討より NY-198 は OFLX や

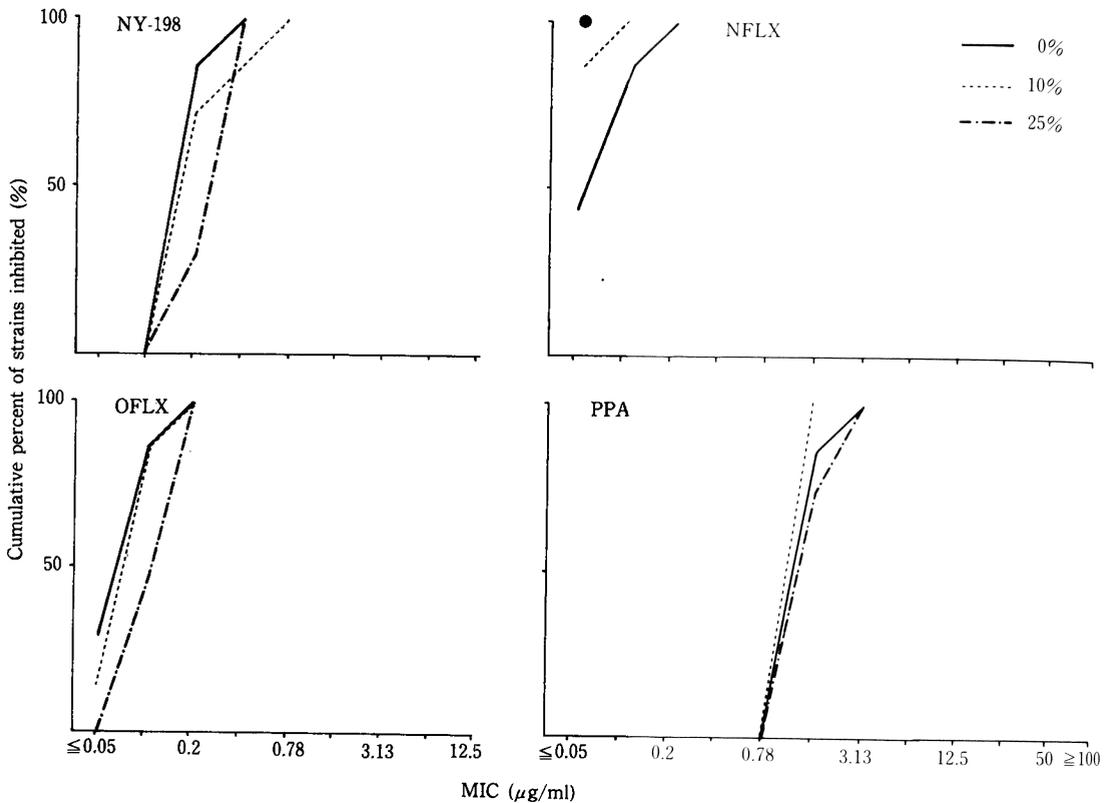


Fig. 19. Effect of the concentration of horse serum on antibacterial activity of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against *E. coli* (7 strains)

NFLX とほぼ同等の良好な抗菌活性を有することが分かった。キノロン系抗菌剤の抗菌作用機作は細菌の DNA gyrase 阻害であると言われているが^{11,12)}、本物質についてもその作用メカニズムについて検討していかなければならない。

次にマウス実験的感染症について検討したところ、各菌種による腹腔内感染症に対して、NY-198は良好な治療効果を示し、その効果は OFLX とほぼ同等か若干優れており、NFLX および PPA より明らかに優れてい

た。このような傾向は実験的尿路感染症に対する治療効果でも認められた。また実験的呼吸器感染症では NY-198は良好な治療効果を示すが、OFLX より若干劣っていた。しかしながら NFLX および PPA より明らかに優れていた。このように NY-198は *in vivo* 効果においても良好な抗菌活性が認められ、これは本物質が経口投与後非常に速やかに血中および各組織内へ移行することや、*in vitro* 抗菌力に優れている結果であると推察される。

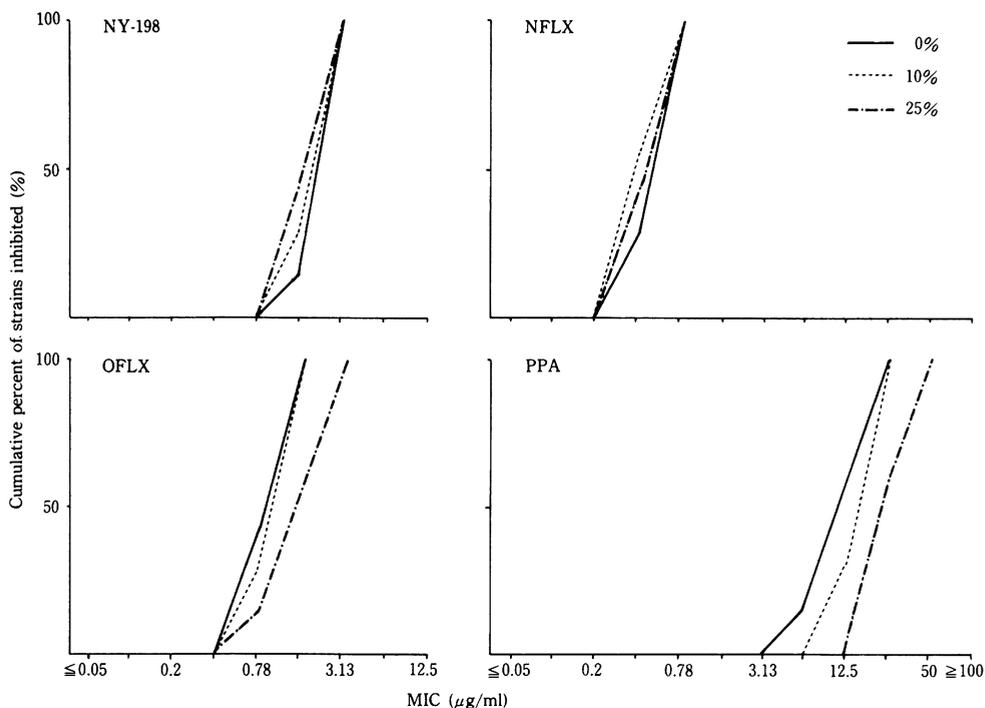


Fig. 20. Effect of the concentration of horse serum on antibacterial activity of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against *P. aeruginosa* (7 strains)

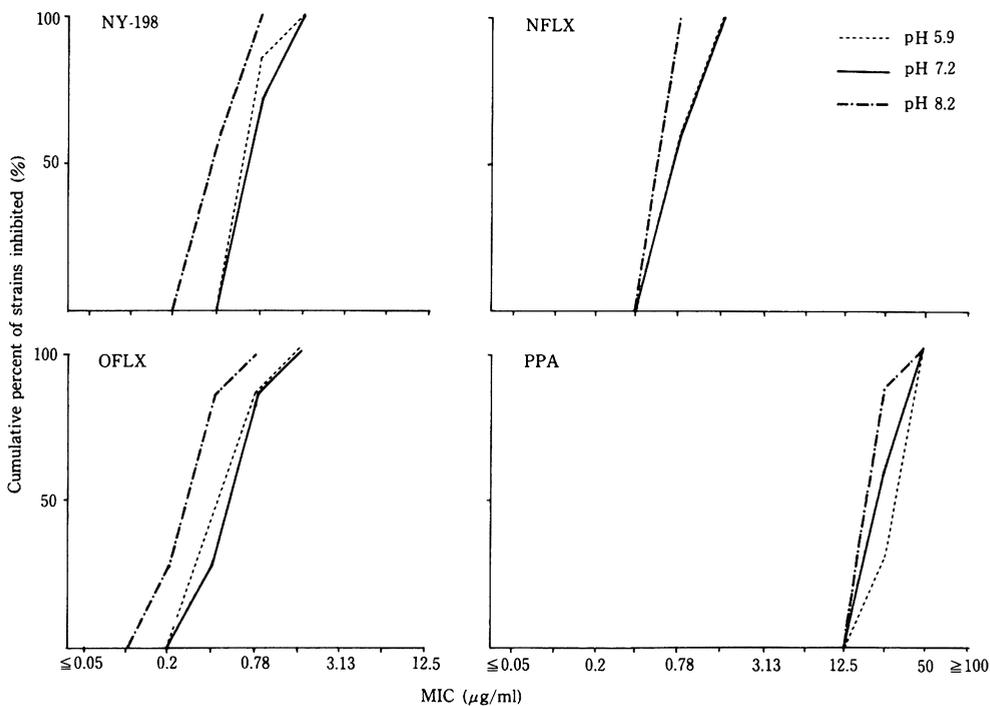


Fig. 21. Effect of medium pH on antibacterial activity of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against *S. aureus* (7 strains)

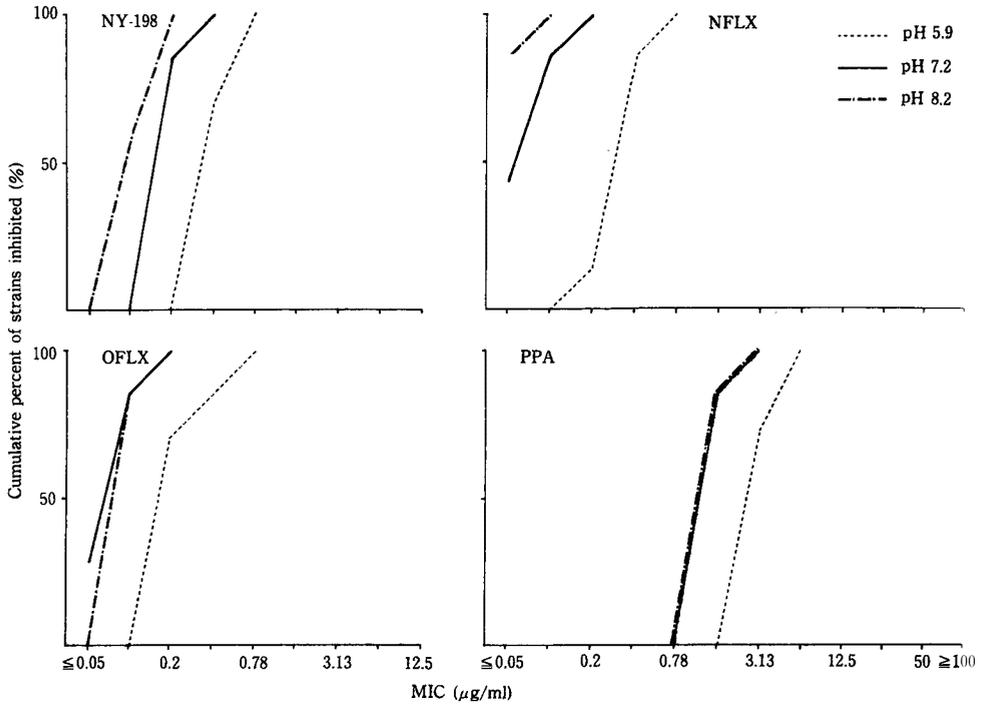


Fig. 22. Effect of medium pH on antibacterial activity of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against *E. coli* (7 strains)

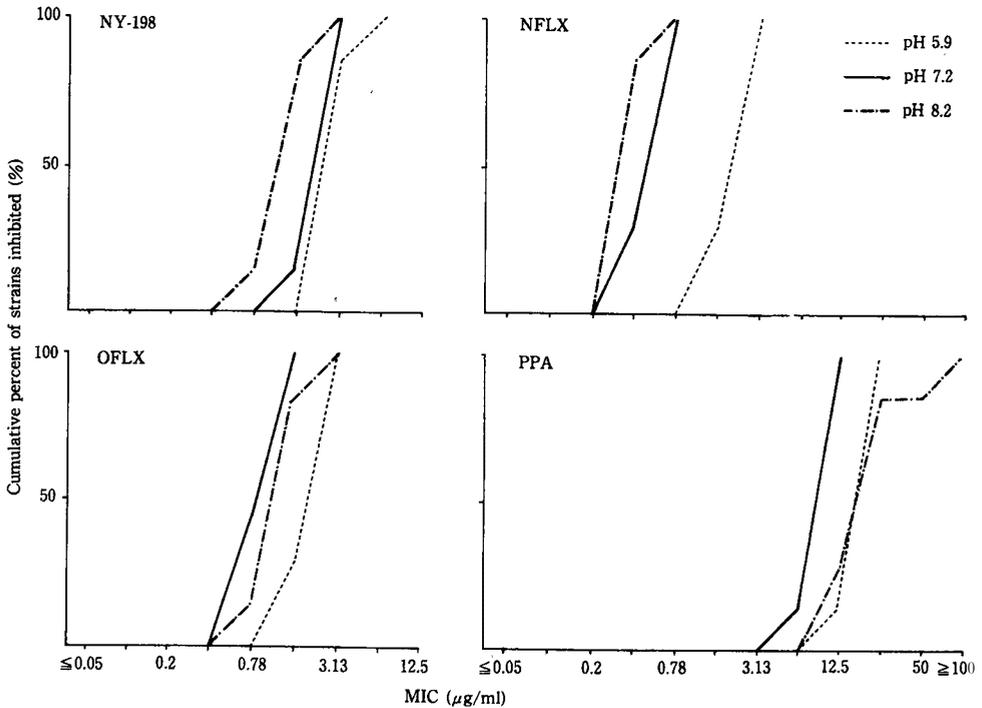


Fig. 23. Effect of medium pH on antibacterial activity of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against *P. aeruginosa* (7 strains)

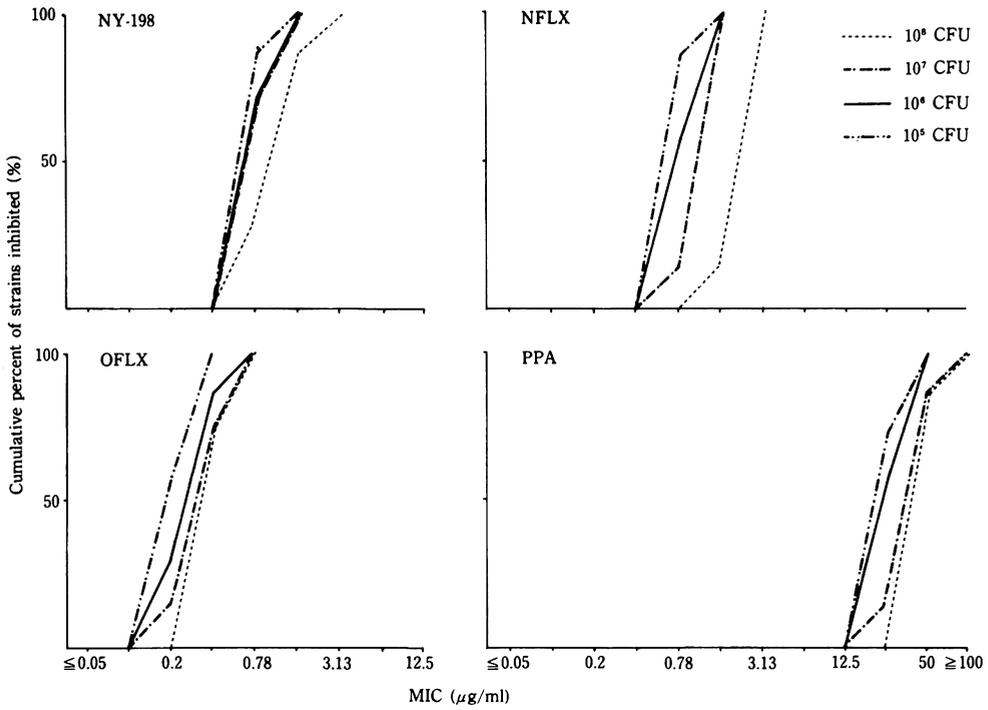


Fig. 24. Effect of inoculum size on antibacterial activity of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against *S. aureus* (7 strains)

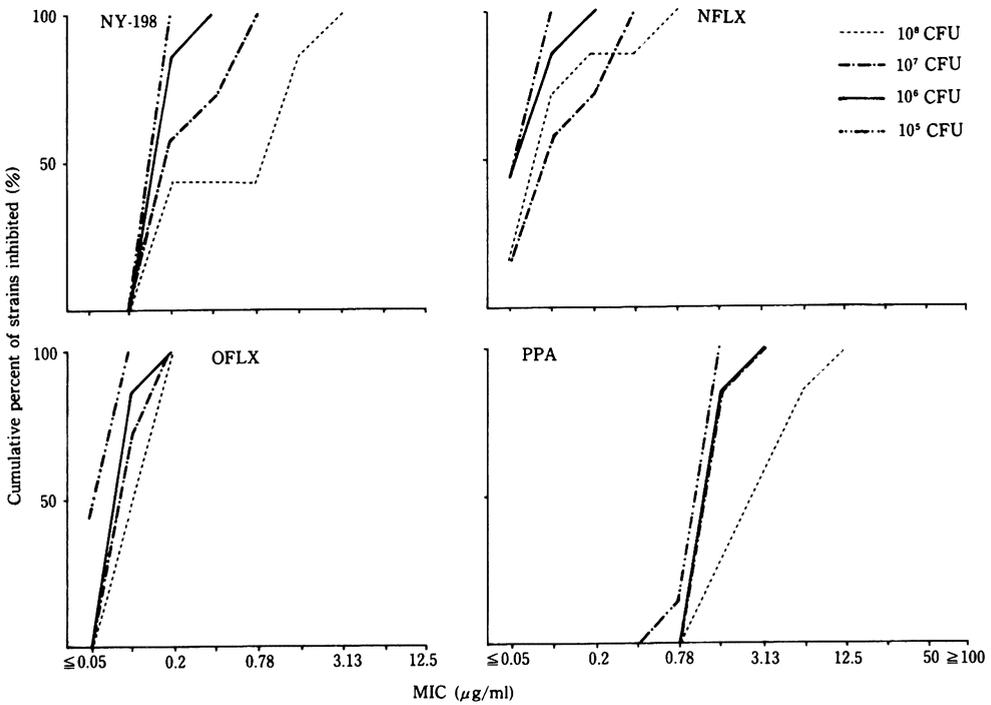


Fig. 25. Effect of inoculum size on antibacterial activity of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against *E. coli* (7 strains)

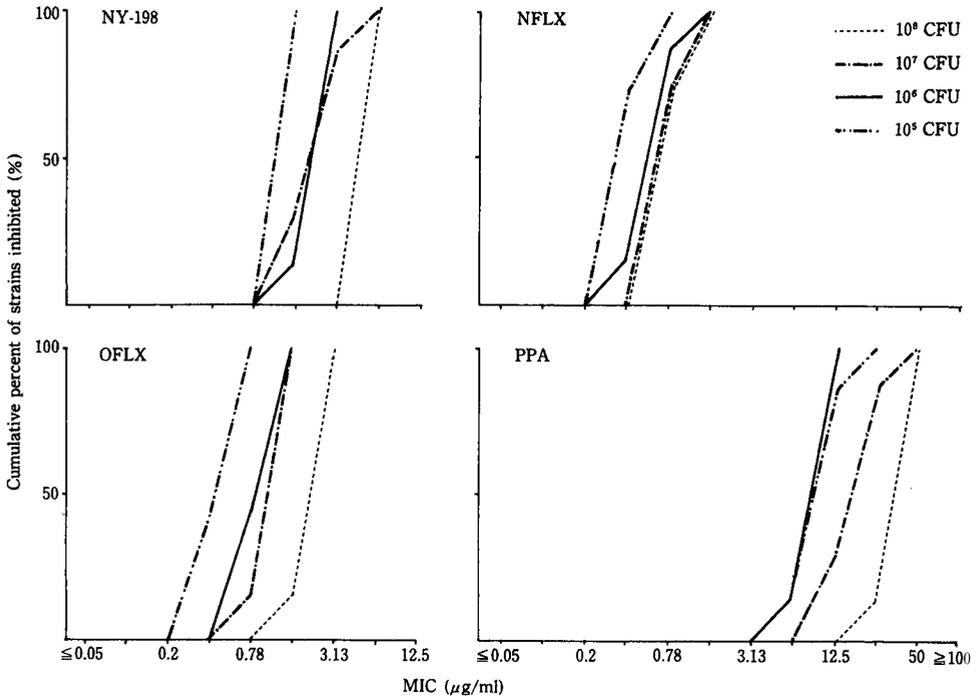


Fig. 26. Effect of inoculum size on antibacterial activity of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against *P. aeruginosa* (7 strains)

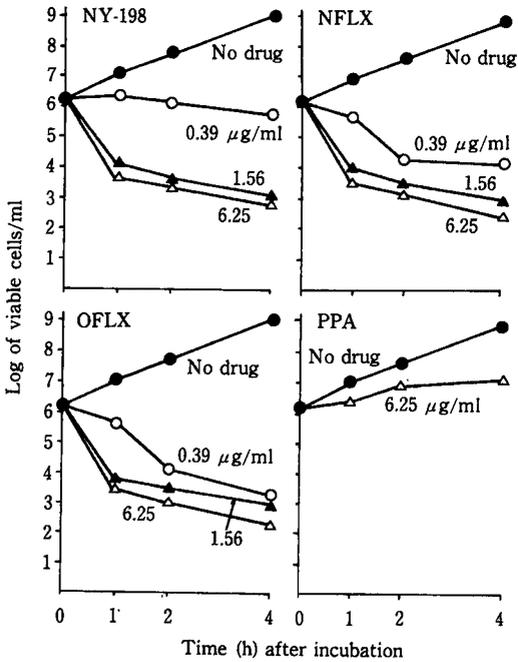


Fig. 27. Effect of NY-198, NFLX, OFLX and PPA on viability of *S. aureus* Smith

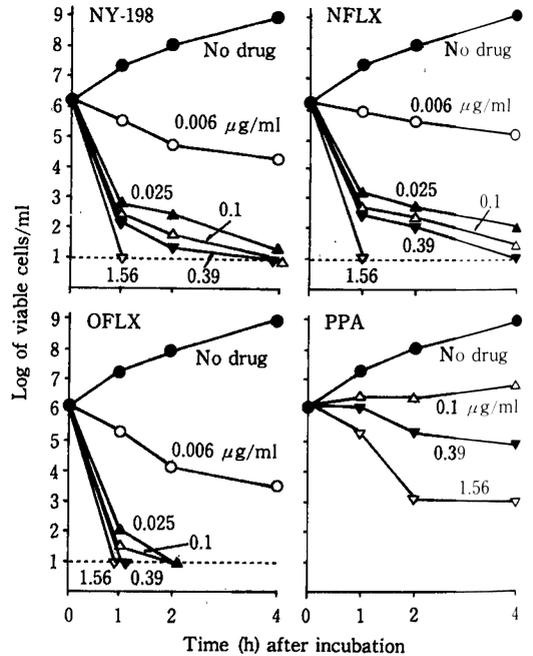


Fig. 28. Effect of NY-198, NFLX, OFLX and PPA on viability of *E. coli* 444

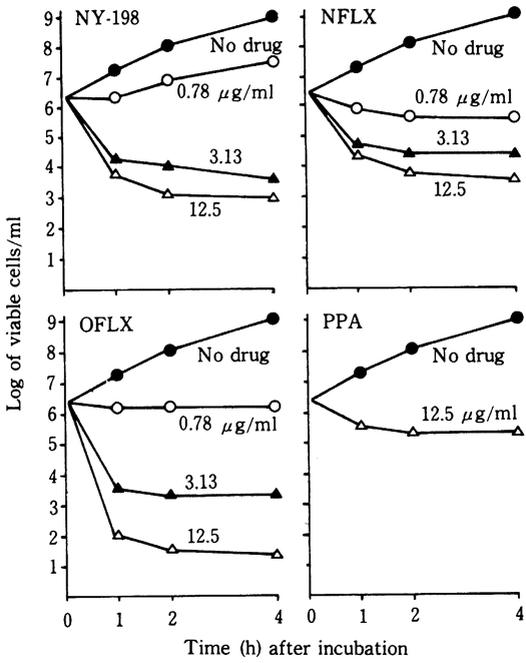


Fig. 29. Effect of NY-198, NFLX, OFLX and PPA on viability of *P. aeruginosa* E-2

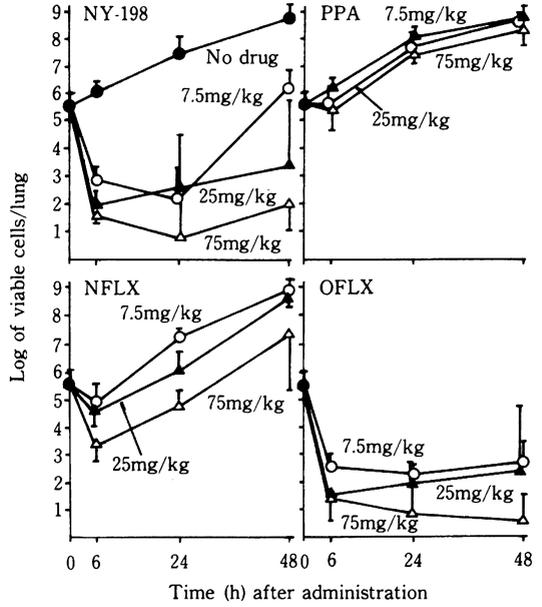


Fig. 30. Therapeutic efficacy of NY-198, PPA, NFLX and OFLX on number of bacteria in the lung of mice infected with *K. pneumoniae* DT-S

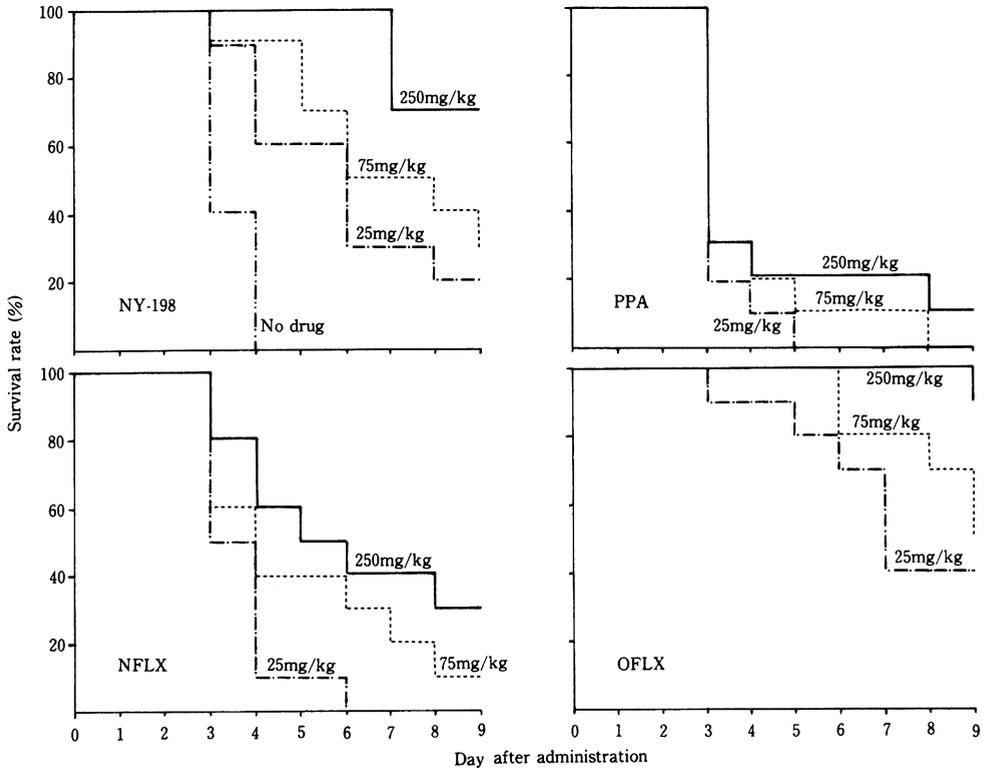


Fig. 31. Protective efficacy of NY-198, PPA, NFLX and OFLX against experimental respiratory tract infection with *K. pneumoniae* DT-S in mice

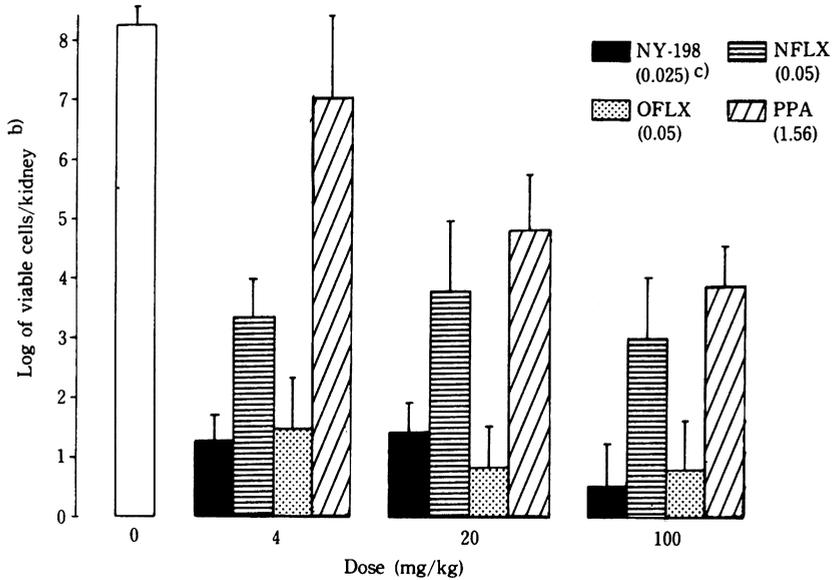


Fig. 32. Therapeutic efficacy of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against experimental urinary tract infection with *Escherichia coli* 444 ^{a)} in mice

^{a)} Inoculum size was 3.8×10^5 CFU per mouse.

^{b)} Number of bacteria in the kidneys was measured 48 h after inoculation.

^{c)} MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$) using an inoculum of 10^6 CFU.

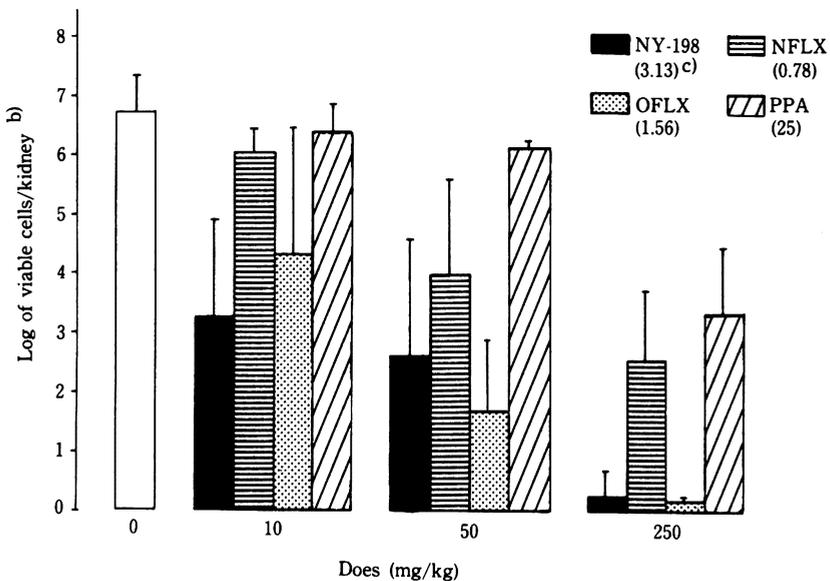


Fig. 33. Therapeutic efficacy of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against experimental urinary tract infection with *Pseudomonas aeruginosa* E-2 ^{a)} in mice

^{a)} Inoculum size was 2.0×10^4 CFU per mouse.

^{b)} Number of bacteria in the kidneys was measured 24 h after inoculation.

^{c)} MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$) using an inoculum of 10^6 CFU.

Table 5. Therapeutic efficacy of NY-198, NFLX, OFLX and PPA against intraperitoneal infections in mice

Organism	Challenge (CFU/mouse)	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$) $10^8/10^8$	ED ₅₀ (mg/kg)
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	6.0×10 ⁵ (8LD ₅₀)	NY-198	0.78 /6.25	4.424 (3.241-6.039) ^{a)}
		NFLX	0.78 /3.13	27.709 (19.419-39.306)
		OFLX	0.39 /1.56	3.935 (2.717-5.709)
		PPA	12.5 /50	308.397 (220.435-432.014)
<i>Escherichia coli</i> 444	1.3×10 ⁶ (2000LD ₅₀)	NY-198	0.025/0.025	0.641 (0.437-0.939)
		NFLX	0.05 /0.05	7.703 (5.506-10.791)
		OFLX	0.025/0.025	0.835 (0.592-1.180)
		PPA	1.56 /1.56	32.630 (22.628-46.892)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	1.1×10 ⁶ (40LD ₅₀)	NY-198	0.2 /6.25	1.103 (0.861-1.413)
		NFLX	0.2 /1.56	4.124 (3.154-5.408)
		OFLX	0.2 /0.78	1.028 (0.786-1.349)
		PPA	3.13 /50	45.995 (34.358-61.775)
<i>Serratia marcescens</i> T-55	6.5×10 ⁵ (9LD ₅₀)	NY-198	0.39 /0.78	1.152 (0.650-1.919)
		NFLX	0.39 /0.78	4.138 (2.621-6.496)
		OFLX	0.39 /0.78	1.872 (1.323-2.641)
		PPA	6.25 /6.25	11.589 (7.950-16.876)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E-2	7.0×10 ⁵ (500LD ₅₀)	NY-198	3.13 /6.25	20.148 (14.860-27.404)
		NFLX	0.78 /1.56	57.976 (43.406-77.281)
		OFLX	1.56 /3.13	26.051 (19.370-35.338)
		PPA	25 /50	303.875 (231.635-397.252)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	5.0×10 ⁶ (8LD ₅₀)	NY-198	0.78 /1.56	4.043 (2.925-5.604)
		NFLX	3.13 /6.25	322.396 (237.782-438.508)
		OFLX	0.39 /0.78	8.242 (6.306-10.812)
		PPA	100 />100	>500

a) : 95% confidence limits

文 献

- 1) 第35回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム (3), NY-198. 盛岡, 1987
- 2) 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
- 3) ITO, A.; K.HIRAI, M.INOUE, H.KOGA, S. SUZUE, T.IRIKURA & S.MITSUHASHI : *In vitro* activity of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Antimicrob. Agents Chemother.* 17 : 103~108, 1980
- 4) 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
- 5) SATO, K.; Y.MATSUURA, M.INOUE, T.UNE, Y. OSADA, H. OGAWA & S.MITSUHASHI : *In vitro* and *in vivo* activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob. Agents Chemother.* 22 : 548~553, 1982
- 6) 西野武志, 田中真由美, 河端繁勝, 藪千晶, 山中邦俊, 谷野輝雄: 新しい合成化学療法剤 DL-8280に関する細菌学的評価. *Chemotherapy* 32 (S-1) : 62~83, 1984
- 7) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について. *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 8) OBANA, Y ; T. NISHINO & T. TANINO : Therapeutic efficacy of β -lactam and aminoglycoside antibiotics on experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* B-54 in diabetic mice. *J. Antibiotics* 38 : 941~947, 1985
- 9) OBANA, Y ; T. NISHINO & T. TANINO : *In-vitro* and *in-vivo* activities of antimicrobial agents

- against *Acinetobacter calcoaceticus*. J. Antimicrob. Chemother. 15 : 441~448, 1985
- 10) 平井敬二 : キノロン (ピリドン) カルボン酸系薬剤耐性。臨床と微生物 14 : 135~142, 1987
- 11) SUGINO, A. ; C.L.PEEBLES, K.N.KREUZER & N.R. COZZARELLI : Mechanism of action of nalidixic acid : Purification of *Escherichia coli* nal A gene products and its-relationship to DNA gyrase and a novel nicking-closing enzyme. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 74 : 4767~4771, 1977
- 12) GELLERT, M. ; K.MIZUUCHI, M.H.O'DEA, T. ITOH & J.TOMIZAWA : Nalidixic acid resistance : A second genetic character involved in DNA gyrase activity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 74 : 4772~4776, 1977

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF NY-198, A NEW FLUOROQUINOLONE

TAKESHI NISHINO, YOSHIKI OBANA and TERUO TANINO

Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University, Kyoto

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of NY-198 were compared with those of pipemidic acid (PPA), norfloxacin (NFLX) and ofloxacin (OFLX). The following results were obtained.

NY-198 had a broad antibacterial spectrum against Gram-positive and -negative organisms. The antibacterial activity of NY-198 against clinically isolated organisms was slightly inferior to those of OFLX and NFLX, but superior to that of PPA. All strains tested were susceptible to NY-198. The antibacterial activities of NY-198 and reference compounds were only slightly affected by the pH of the medium and inoculum size.

Strong bactericidal activity of NY-198 against all strains tested was seen shortly after drug addition.

Therapeutic efficacy of NY-198 against experimental intraperitoneal infections in mice was either comparable or slightly superior to that of OFLX and superior to those of NFLX and PPA. In experimental respiratory infections in mice, NY-198 demonstrated therapeutic efficacy inferior to that of OFLX but superior to those of NFLX and PPA. Therapeutic efficacy of NY-198 against experimental urinary tract infections in mice was comparable to that of OFLX and superior to those of NFLX and PPA.