

新ピリドンカルボン酸系抗菌剤 T-3262 の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用

五島 瑳智子・武藤 弓子・小川 正俊・金子 康子・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 T-3262 の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用を ofloxacin (OFLX), norfloxacin (NFLX), ciprofloxacin (CPFX), enoxacin (ENX) と比較し、次の結果を得た。

T-3262 は広範囲な抗菌スペクトラムを有し、*Staphylococcus aureus* および Methicillin 耐性 *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus*, *Enterococcus* などのグラム陽性菌、ブドウ糖非発酵菌、嫌気性菌に対して強い抗菌力を示した。

T-3262 の *Klebsiella pneumoniae* に対する殺菌作用は OFLX, NFLX と同程度の効果を示した。

マウス実験感染において T-3262 は、*in vitro* に相関した *in vivo* 効果を示し、優れた治療効果が認められた。

Key words : ピリドンカルボン酸, T-3262, *in vitro* 抗菌活性, *in vivo* 抗菌活性, マウス血中濃度

T-3262 は新ピリドンカルボン酸系抗菌剤で、1,8-ナフチリジン環の 1,7 位にそれぞれ 2,4-ジフルオロフェニル基及び 3-アミノピロリジニル基を有する化合物で Fig. 1 に構造式を示した。

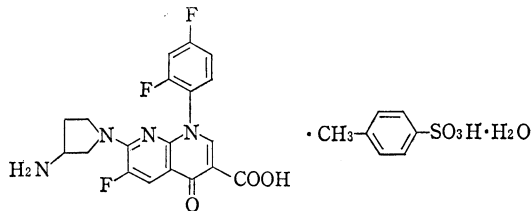
T-3262 はグラム陽性菌をはじめグラム陰性菌、嫌気性菌に対し強い抗菌力を示し、経口投与により速やかに血中および各組織へ移行し、しかも尿中に未変化のまま高濃度に排泄されるといわれている¹⁾。

本報告では T-3262 の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用について ofloxacin²⁾, norfloxacin³⁾, ciprofloxacin⁴⁾, enoxacin⁵⁾ と比較した成績について記述した。

I. 実験材料

1. 使用菌株

教室保存株および昭和 55~60 年の間に臨床材料から分離されたグラム陽性菌およびグラム陰性菌を使用した。



(±)-7-(3-amino-1-pyrrolidinyl)-6-fluoro-1-(2,4-difluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid *p*-toluenesulfonate hydrate

Fig. 1. Chemical structure of T-3262.

2. 使用薬剤

T-3262 (1,000 µg/mg, 富山化学), ofloxacin (OFLX, 1,000 µg/mg, 第一製薬), norfloxacin (NFLX, 1,000 µg/mg, 杏林製薬), ciprofloxacin (CPFX, 1,000 µg/mg, バイエル薬品) および enoxacin (ENX, 922 µg/mg, 大日本製薬) を、それぞれの製薬会社より分与を受け、使用した。

3. 感受性測定

前培養に Mueller Hinton broth (MHB, Difco), 感受性測定に Mueller Hinton medium (MHM, Difco) を用いて、日本化学療法学会最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法に準じて行なった⁶⁾。なお *Streptococcus pneumoniae* および *Streptococcus pyogenes* に対しては、Brain Heart infusion agar (BHIA, Difco) を用い、*Haemophilus influenzae* には、Fildes 消化血液 (Difco) を 5% 添加した MHM を使用した。

Bordetella pertussis の場合には、10% 馬血液含有 Bordet-Gengou agar base (BGAB, Difco) にて 48 時間培養した菌を 1% casamino acid 含有 0.35% NaCl 液に懸濁し、接種菌液として用いた。測定用培地としては 10% 馬血液含有 BGAB を使用し、48 時間培養後判定した。

嫌気性菌の場合は、前培養には GAM ブイヨン (日水), 測定用培地は GAM 寒天培地 (日水) を使用した。

4. 殺菌作用

Table 1. Antibacterial spectrum of T-3262, ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin and enoxacin
Inoculum size 10⁶ cells/ml

Organism	Agent	MIC (μg/ml)				
		T-3262	Ofloxacin	Norfloxacin	Ciprofloxacin	Enoxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P		0.013	0.78	0.1	0.025	0.1
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341		0.78	1.56	6.25	1.56	6.25
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		0.013	0.1	0.2	0.025	0.2
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2		0.013	0.05	0.1	0.013	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IFO 3512		0.2	1.56	0.78	0.2	0.78
<i>Klebsiella oxytoca</i> 1		0.05	0.78	0.39	0.1	0.39
<i>Shigella flexneri</i> 2a2		0.39	1.56	0.78	0.2	1.56
<i>Salmonella typhi</i> S 60		0.05	0.1	0.39	≤0.006	0.78
<i>Proteus mirabilis</i> 1287		0.05	0.025	0.025	≤0.006	0.1
<i>Proteus vulgaris</i> IFO 3851		0.1	0.78	0.78	0.025	0.78
<i>Morganella morganii</i> IFO 3848		0.1	0.05	0.025	≤0.006	0.1
<i>Providencia rettgeri</i> IFO 13501		0.013	0.2	0.1	0.025	0.2
<i>Providencia inconstans</i> IFO 12930		0.39	0.78	0.1	0.05	0.39
<i>Serratia marcescens</i> IFO 12648		0.1	0.2	0.1	0.05	0.2
<i>Citrobacter freundii</i> 2		0.013	0.05	0.05	0.013	0.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445		0.39	1.56	1.56	0.78	3.13
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> NCTC 7844		0.013	0.05	0.39	0.05	0.39
<i>Alcaligenes faecalis</i> NCTC 655		3.13	3.13	12.5	3.13	6.25
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i> TMS 73		12.5	12.5	50	12.5	25

Klebsiella pneumoniae 3 K 25 株を MHB に接種し、菌数が約 10⁶ cells/ml になったとき、T-3262 を最終濃度がそれぞれ 1/2 MIC, 1 MIC, 2 MIC になる様に添加し、37℃ にて振盪培養した。薬剤添加後 1, 3, 6, 24 時間後の生菌数を測定した。OFLX, NFLX, CPFX および ENX についても同様の実験を行ない比較した。

5. マウス実験感染における感染防御効果

マウスは ICR 系, 雄, 4 週齢, 体重 19±1g を用い、*Staphylococcus aureus* Smith, Methicillin 耐性 *S. aureus* TMS 288, *Escherichia coli* C 11, *Proteus vulgaris* GN 76, *K. pneumoniae* 3 K 25, *Serratia marcescens* No. 2, *Pseudomonas aeruginosa* E 7, *P. aeruginosa* PI 67 および *Acinetobacter calcoaceticus* TMS 402 を感染菌とした。

普通寒天斜面で 20 時間培養した菌を、所定の菌量になるように生理食塩水に懸濁したのち、マウス腹腔内に接種した。感染 1 時間後に T-3262, OFLX, NFLX, CPFX および ENX をそれぞれ経口投与した。治療効果の判定は感染後 5 日間マウスの生死を観察し VAN DER WAERDEN method により、ED₅₀ 値を算出した。

6. 実験的上行性尿路感染マウスにおける感染防御効果

感染前 20 時間給水をとめた ICR 系雌マウス (4 週齢, 体重 19±1g, 1 群 6 匹) をエーテル麻酔し、腹部を強く圧迫し排尿させたのち、下腹部をエタノール消毒し、調整菌液 0.02 ml をポリエチレンカテーテルを用いて経尿道的に膀胱内に接種した。感染後直ちに外尿道口を小型クリップで閉塞し、1 時間後に解除した。マウスへの給水は 2 時間後から行なった。薬剤は感染後 24 時間目より 1 日 2 回, 3 日間経口投与した。治療効果の判定は無治療群と治療群との腎内生菌数の減少率で判定した。生菌数の測定は薬剤の最終投与 24 時間後に両側腎を摘出し、両腎ともに生理食塩水 2 ml を加え、ホモジナイズし、これを原液として 10 倍希釈し、それぞれの 0.1 ml を BTB 培地 (栄研) にコンラージ棒で塗抹し、37℃, 18 時間培養後、コロニー数を測定した。

7. マウス肺感染における感染防御効果

ICR 系雄マウス (4 週齢, 体重 19±1g, 1 群 6 匹) をエーテル麻酔し、調整菌液 0.05 ml を経鼻感染させた。薬剤は感染後 6 時間目に 1 回経口投与した。治療効果の判定はマウスの生死を 7 日間観察し、ED₅₀ 値を VAN DER WAERDEN method により算出した。

8. 白血球減少症マウスを用いた実験感染における感染防御効果

Table 2. Antibacterial spectrum of T-3262, ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin and enoxacin
Inoculum size 10^8 cells/ml

Organism	Agent	MIC (μ g/ml)				
		T-3262	Ofloxacin	Norfloxacin	Ciprofloxacin	Enoxacin
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P		0.013	0.39	0.78	0.2	1.56
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341		1.56	3.13	12.5	3.13	25
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		0.2	0.78	0.39	0.1	0.2
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2		0.1	0.78	0.39	0.1	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IFO 3512		0.39	1.56	0.78	0.2	1.56
<i>Klebsiella oxytoca</i> 1		0.39	1.56	0.78	0.2	1.56
<i>Shigella flexneri</i> 2a2		0.78	3.13	1.56	0.39	3.13
<i>Salmonella typhi</i> S 60		0.39	3.13	1.56	0.39	3.13
<i>Proteus mirabilis</i> 1287		0.1	0.1	0.1	0.013	0.2
<i>Proteus vulgaris</i> IFO 3851		0.39	1.56	0.78	0.39	1.56
<i>Morganella morganii</i> IFO 3848		0.1	0.78	0.39	0.1	0.78
<i>Providencia rettgeri</i> IFO 13501		0.025	0.2	0.39	0.05	0.39
<i>Providencia inconstans</i> IFO 12930		0.78	0.78	0.78	0.39	0.78
<i>Serratia marcescens</i> IFO 12648		0.39	0.2	0.39	0.05	0.39
<i>Citrobacter freundii</i> 2		0.025	0.2	0.1	0.013	0.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445		1.56	12.5	6.25	1.56	6.25
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> NCTC 7844		0.013	0.05	0.78	0.05	0.78
<i>Alcaligenes faecalis</i> NCTC 655		6.25	3.13	25	3.13	6.25
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i> TMS 73		25	25	100	25	25

感染前4日目に ICR 系雄マウス（4週齢，体重 19 ± 1 g，1群6匹）に cyclophosphamide 250 mg/kg を投与し，感染菌としては，*E. coli* C 11，*K. pneumoniae* 3 K 25，*P. aeruginosa* E 7 を用いた。マウスの生死を7日間判定し，ED₅₀ 値を VAN DER WAERDEN method により算出した。

9. マウス血清中濃度

感染実験に用いた同条件のマウスを，1群10匹とし T-3262，OFLX，NFLX，CPFX，ENX をそれぞれ経口投与した。5分，15分，30分，1時間，2時間，3時間後に断頭採出した血液の一定量を1群ずつプールし，遠心分離したのち，血清中の薬剤濃度を T-3262，NFLX は *E. coli* NIHJ JC-2，OFLX，CPFX，ENX は *E. coli* Kp を検定菌とする薄層ディスク法にて測定した。

10. マウス腎および肺内濃度

感染実験に用いた同条件のマウスを1群5匹とし，T-3262，OFLX，NFLX，CPFX，ENX をそれぞれ経口投与した。一定時間毎に摘出した腎および肺をホモジナイズし，遠心分離したのち，上清中の薬剤濃度を測定した。薬剤濃度測定法はマウス血清中濃度に準じて行なった。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトラム

教室保存のグラム陽性菌，腸内細菌科，ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌および嫌気性菌36菌種，41菌株の感受性を T-3262，OFLX，NFLX，CPFX，ENX について比較した成績を Table 1，2，3，4 に示した。

T-3262 はグラム陽性菌，グラム陰性菌，嫌気性菌に対し，広域スペクトラムを有し，接種菌量 10^8 ， 10^9 cells/ml での抗菌力は，特にグラム陽性菌，ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌，嫌気性菌に対し，OFLX，NFLX，CPFX，ENX よりも優れていた。

2. 臨床分離株の感受性分布

グラム陽性菌に対する T-3262 の抗菌力は *S. aureus* 65株，Methicillin 耐性 *S. aureus* 78株，*S. epidermidis* 27株，*S. pyogenes* 18株，*S. pneumoniae* 24株，*Enterococcus faecalis* 33株，*E. faecium* 22株および *E. avium* 22株のいずれの菌種に対しても，OFLX，NFLX，CPFX，ENX より優れていた (Fig. 2～9)。

腸内細菌科の菌種については，*K. pneumoniae* 30株，*Providencia stuartii* 23株に対する T-3262 の抗菌力は OFLX，NFLX，ENX より優れており，CPFX とは

Table 3. Antibacterial spectrum of T-3262, ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin and enoxacin
Inoculum size 10⁶ cells/ml

Organism	Agent	MIC (μg/ml)				
		T-3262	Ofloxacin	Norfloxacin	Ciprofloxacin	Enoxacin
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7004		0.78	6.25	50	12.5	25
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>		3.13	12.5	50	12.5	25
<i>Bacteroides distasonis</i> TMS 58		3.13	12.5	50	12.5	25
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 29327		0.39	1.56	6.25	1.56	25
<i>Fusobacterium necrophorum</i> TMS 82		≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025
<i>Fusobacterium varium</i> TMS 112		≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025
<i>Fusobacterium nucleatum</i> TMS 110		≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025
<i>Peptostreptococcus prevotii</i> GM 1001		0.78	6.25	50	6.25	12.5
<i>Peptostreptococcus variabilis</i> GM 1002		≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> TMS 83		0.1	1.56	6.25	0.39	6.25
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14956		≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025
<i>Clostridium sporogenes</i> TMS 118		≤0.025	0.39	0.2	0.2	≤0.025
<i>Clostridium botulinum</i> type A		0.78	0.2	0.2	0.2	0.05
<i>Clostridium botulinum</i> type B		0.39	1.56	6.25	1.56	12.5
<i>Clostridium botulinum</i> type C		0.39	0.39	0.2	0.2	≤0.025
<i>Clostridium botulinum</i> type D		≤0.025	0.2	0.1	0.2	0.05
<i>Clostridium botulinum</i> type E		0.05	0.39	0.2	0.2	≤0.025
<i>Clostridium botulinum</i> type F		≤0.025	0.2	0.1	0.2	0.05
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13123		0.2	1.56	1.56	0.78	3.13
<i>Clostridium difficile</i> No. 11011		3.13	12.5	25	12.5	25
<i>Clostridium difficile</i> TMS 29		3.13	3.13	0.78	6.25	12.5
<i>Clostridium tetanii</i> TMS 89		≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025	≤0.025

ば同程度であった (Fig. 11, 16)。 *E. coli* 30 株, *Enterobacter cloacae* 27 株, *S. marcescens* 28 株に対する T-3262 の抗菌力は OFLX, NFLX, ENX より優れており, CPFX より劣っていた (Fig. 10, 17, 18)。 *P. mirabilis* 25 株, *P. vulgaris* 25 株, *Morganella morganii* に対しては, ENX より強く, NFLX, OFLX とほぼ同程度, CPFX より劣っていた (Fig. 12~14)。 *P. rettgeri* 24 株に対しては, ENX, OFLX より優れており, NFLX と同程度, CPFX より劣っていた (Fig. 15)。

ブドウ糖非発酵菌に対する T-3262 の抗菌力は, *P. aeruginosa* 30 株に対しては OFLX, NFLX, ENX より優れており, CPFX より若干劣っていたが, *Xanthomonas maltophilia* 30 株, *A. calcoaceticus* 29 株に対しては, OFLX, NFLX, CPFX, ENX より優れていた (Fig. 19~21)。

H. influenzae 18 株および *Bacteroides fragilis* 19 株に対する T-3262 の抗菌力は OFLX, NFLX, CPFX, ENX より優れていた (Fig. 22, 24)。

B. pertussis 21 株に対する T-3262 の抗菌力は NFLX, ENX より優れており, OFLX, CPFX と同程度であった (Fig. 23)。

3. 殺菌作用

K. pneumoniae 3 K 25 に対する T-3262 の殺菌作用を OFLX, NFLX, CPFX, ENX と比較した成績を Fig. 25 に示した。

T-3262 の MIC 値は 0.025 μg/ml であり, 2 MIC の薬剤を添加した場合には, 24 時間後においても再増殖は認められず, OFLX, NFLX の 2 MIC 添加時の場合と同程度の効果が認められた。

一方, CPFX, ENX の場合には 2 MIC 添加時においても, 24 時間後に再増殖が認められた。

4. マウス実験感染における治療効果

S. aureus Smith, Methicillin 耐性 *S. aureus* TMS 288, *E. coli* C 11, *K. pneumoniae* 3 K 25, *S. marcescens* No. 2, *P. vulgaris* GN 76, *P. aeruginosa* E 7, *P. aeruginosa* PI-67, および *A. calcoaceticus* TMS

Table 4. Antibacterial spectrum of T-3262, ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin and enoxacin
Inoculum size 10^8 cells/ml

Organism	Agent	MIC (μ g/ml)				
		T-3262	Ofloxacin	Norfloxacin	Ciprofloxacin	Enoxacin
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7004		3.13	6.25	100	25	25
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>		6.25	25	100	25	50
<i>Bacteroides distasonis</i> TMS 58		6.25	25	100	25	50
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 29327		6.25	12.5	50	25	50
<i>Fusobacterium necrophorum</i> TMS 82		6.25	12.5	50	25	50
<i>Fusobacterium varium</i> TMS 112		1.56	12.5	50	25	50
<i>Fusobacterium nucleatum</i> TMS 110		1.56	12.5	50	25	50
<i>Peptostreptococcus prevotii</i> GM 1001		1.56	12.5	50	25	50
<i>Peptostreptococcus variabilis</i> GM 1002		6.25	6.25	12.5	25	50
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> TMS 83		6.25	12.5	50	25	50
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC 14956		3.13	0.05	3.13	3.13	0.1
<i>Clostridium sporogenes</i> TMS 118		0.78	0.78	3.13	6.25	3.13
<i>Clostridium botulinum</i> type A		6.25	0.78	3.13	3.13	0.78
<i>Clostridium botulinum</i> type B		25	25	50	25	50
<i>Clostridium botulinum</i> type C		0.78	0.39	0.39	0.39	≤ 0.025
<i>Clostridium botulinum</i> type D		0.78	0.2	3.13	12.5	0.78
<i>Clostridium botulinum</i> type E		0.78	1.56	3.13	12.5	25
<i>Clostridium botulinum</i> type F		0.78	0.39	3.13	6.25	25
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13123		25	12.5	50	25	50
<i>Clostridium difficile</i> No. 11011		1.56	25	50	25	50
<i>Clostridium difficile</i> TMS 29		6.25	25	50	25	50
<i>Clostridium tetanii</i> TMS 89		0.78	0.39	3.13	6.25	0.1

402 の計 9 株の *in vivo* 感染に対する治療効果を Table 5 に示した。

S. aureus Smith, methicillin 耐性 *S. aureus* TMS 288, *E. coli* C 11 および *K. pneumoniae* 3 K 25 のいずれの株に対し, T-3262 は他の 4 剤より優れた治療効果を示した。

一方 *S. marcescens* No. 2 の場合には, 他の 4 剤より大きい ED_{50} 値を示し, 治療効果は劣っていた。*P. vulgaris* GN 76 に対する T-3262 の ED_{50} 値は NFLX, CPFX, ENX より小さく OFLX より大きかった。

P. aeruginosa E 7 および *A. calcoaceticus* TMS 402 に対する T-3262 の治療効果は他の 4 剤より優れていたが, *P. aeruginosa* PI-67 の場合には, OFLX, NFLX, ENX より優れた治療効果が認められたが, CPFX より劣っていた。

5. 実験的尿路感染

P. aeruginosa KU 1 を感染菌として, 実験的尿路感染マウスにおける T-3262 および対照薬剤の治療効果の成績を腎内菌数で示した (Fig. 26)。OFLX 6.4 mg/

mouse, 1.6 mg/mouse および ENX 6.4 mg/mouse 投与で腎内菌数の明らかな消失が認められた。T-3262 は 6.4 mg/mouse 投与でも完全な菌の消失は認められなかったが, 腎内生菌数の減少傾向は, NFLX より優れていたが, OFLX, ENX, CPFX より劣っていた。

6. マウス肺感染モデルにおける治療効果

K. pneumoniae 3 K 25 を経鼻感染させると Fig. 27 に示したように, 呼吸器感染と同時に敗血症を生じることが認められ, 感染 30 時間後に死亡率 17%, 45 時間後には 83% で, 最終的には 100% のマウスが死亡した。この感染系において, T-3262 は NFLX より優れた治療効果を示したが, OFLX, ENX, CPFX より劣っていた (Table 6)。

7. 白血球減少症マウスを用いた実験感染における治療効果

白血球減少症マウスに *E. coli* C 11, *K. pneumoniae* 3 K 25, *P. aeruginosa* E 7 を感染菌とした場合の T-3262 の治療効果を Table 7 に示した。いずれの感染においても T-3262 は他剤とほぼ同程度の優れた治療効果

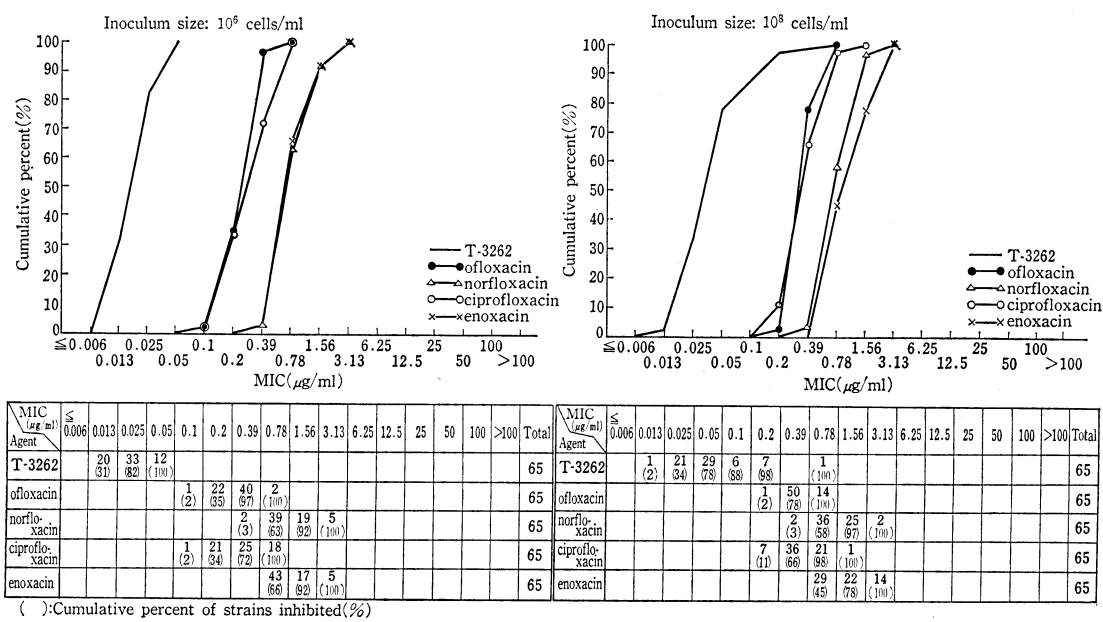


Fig. 2. Susceptibility of clinical isolates *Staphylococcus aureus* (65 strains).

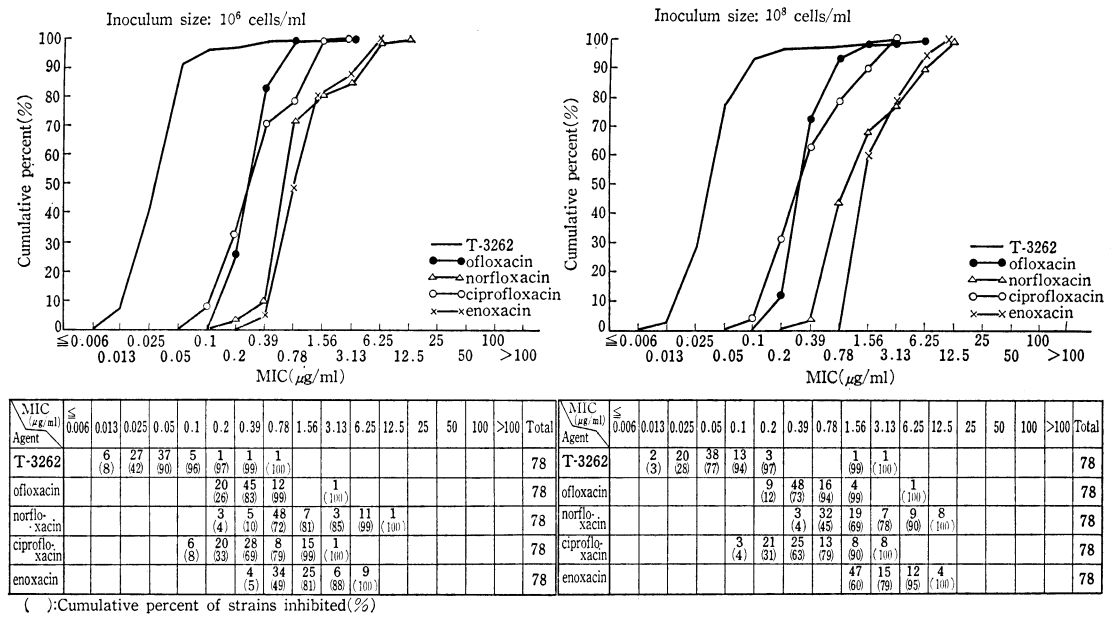


Fig. 3. Susceptibility of clinical isolates methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 78 (strains).

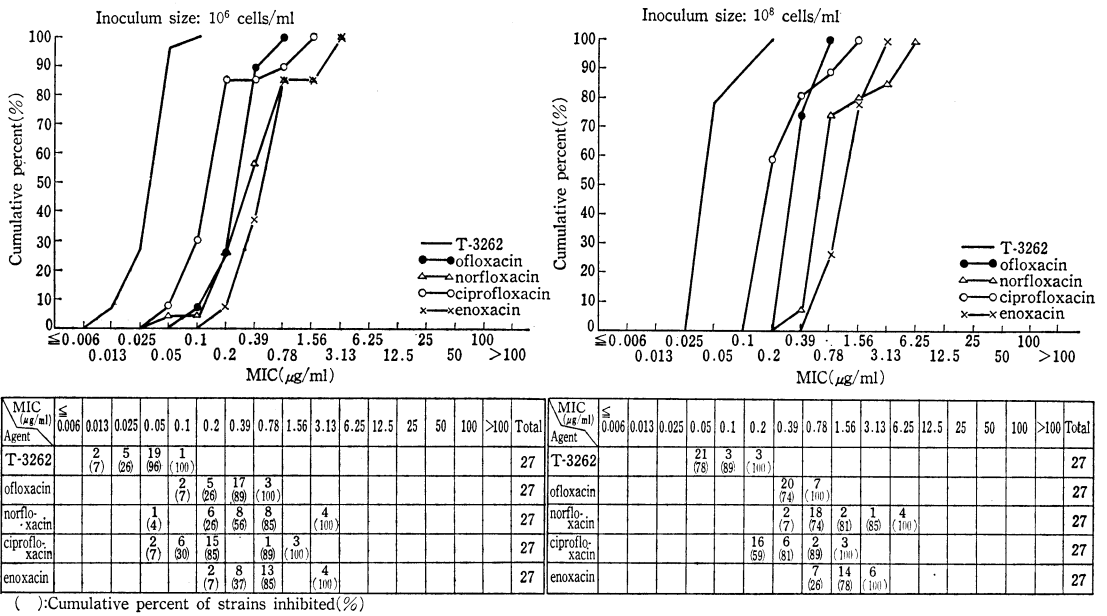


Fig. 4. Susceptibility of clinical isolates *Staphylococcus epidermidis* (27 strains).

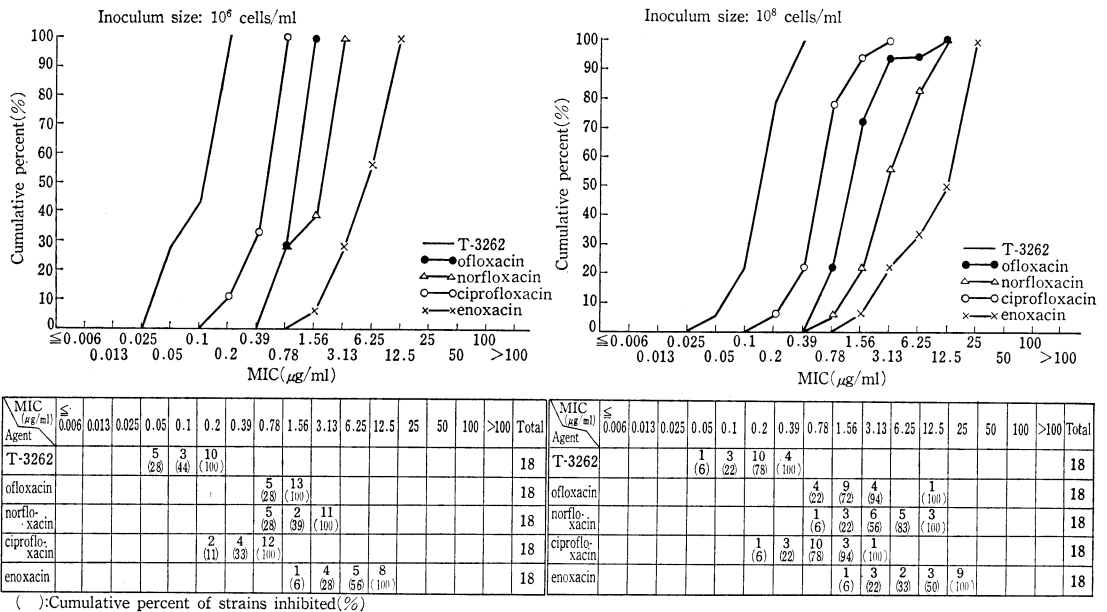


Fig. 5. Susceptibility of clinical isolates *Streptococcus pyogenes* (18 strains).

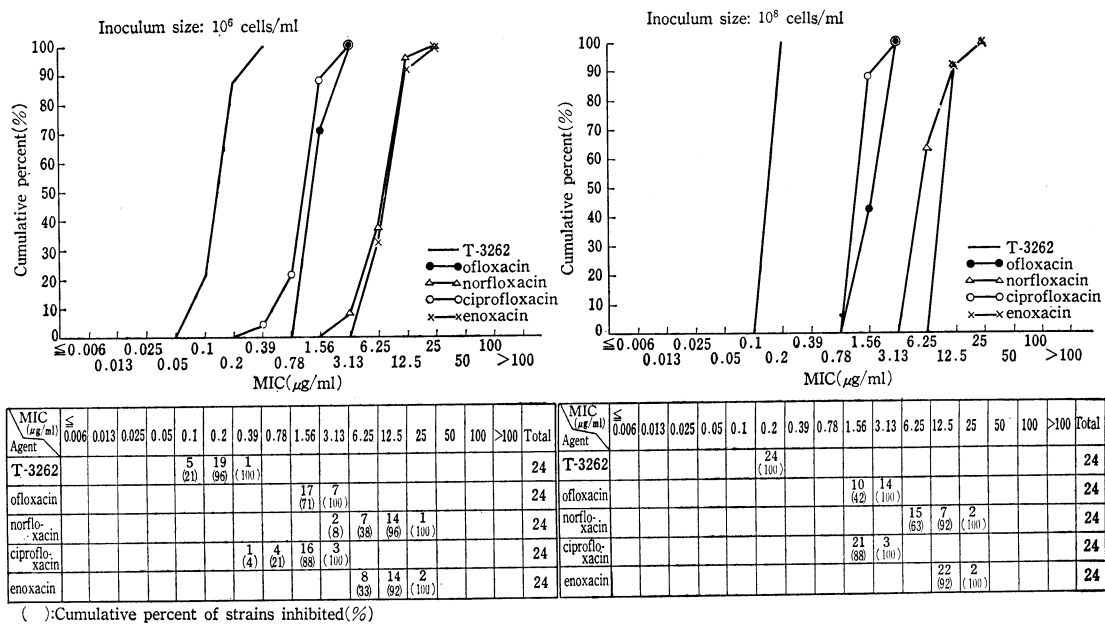


Fig. 6. Susceptibility of clinical isolates *Streptococcus pneumoniae* (24 strains).

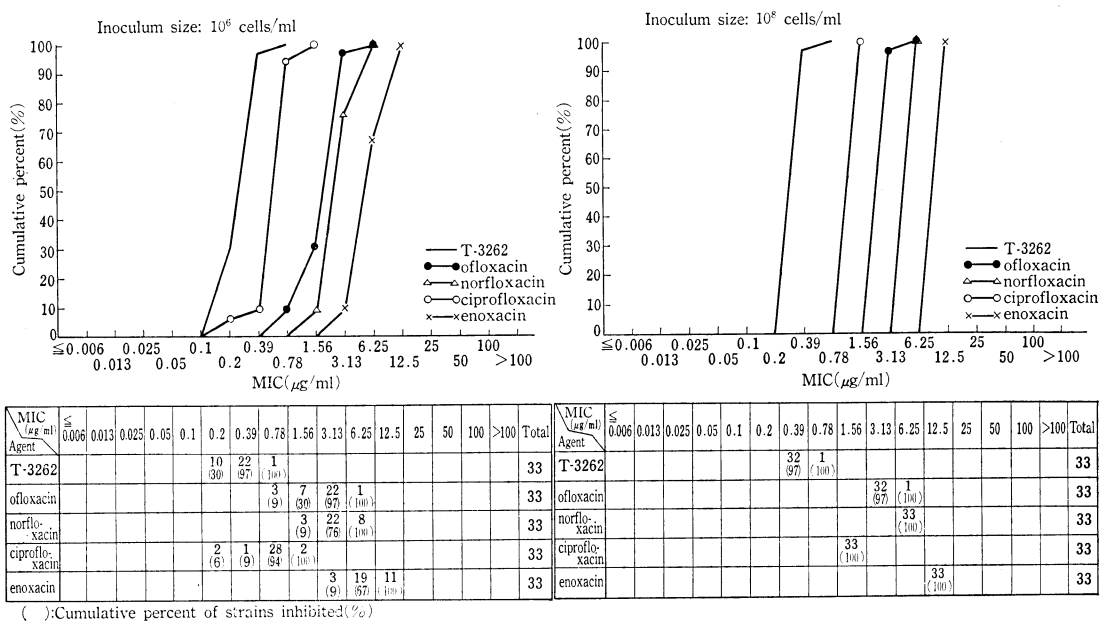


Fig. 7. Susceptibility of clinical isolates *Enterococcus faecalis* (33 strains).

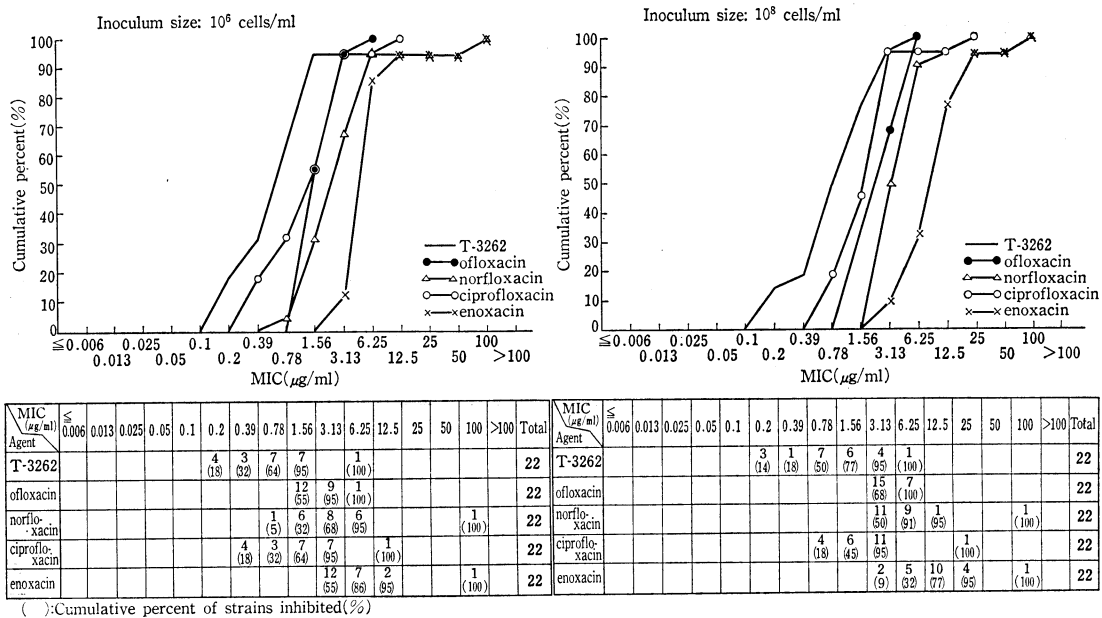


Fig. 8. Susceptibility of clinical isolates *Enterococcus faecium* (22 strains).

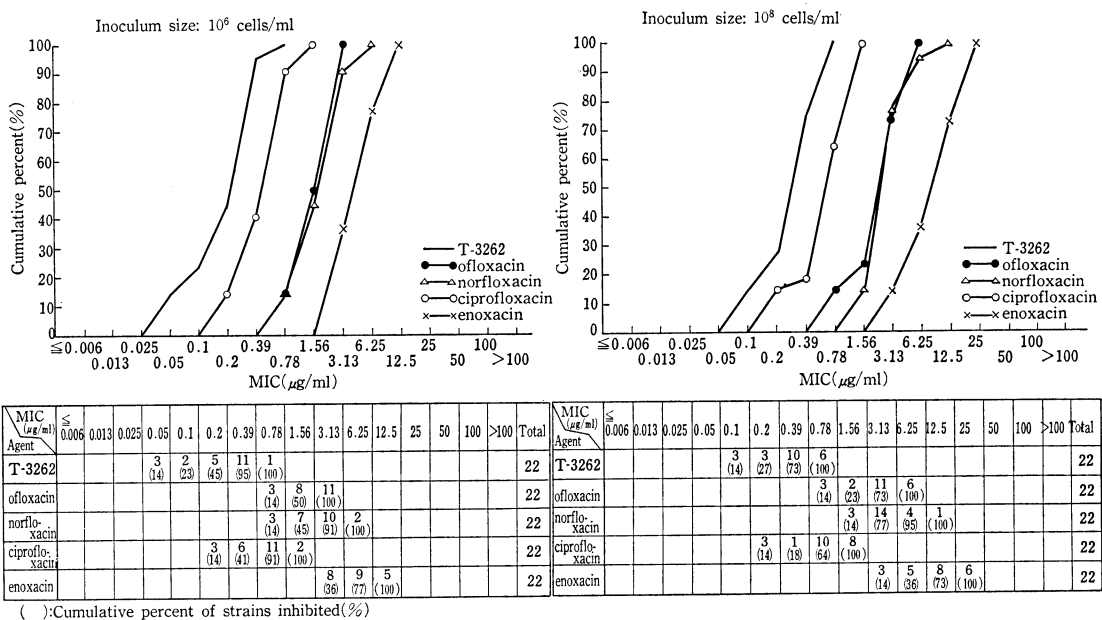


Fig. 9. Susceptibility of clinical isolates *Enterococcus avium* (22 strains).

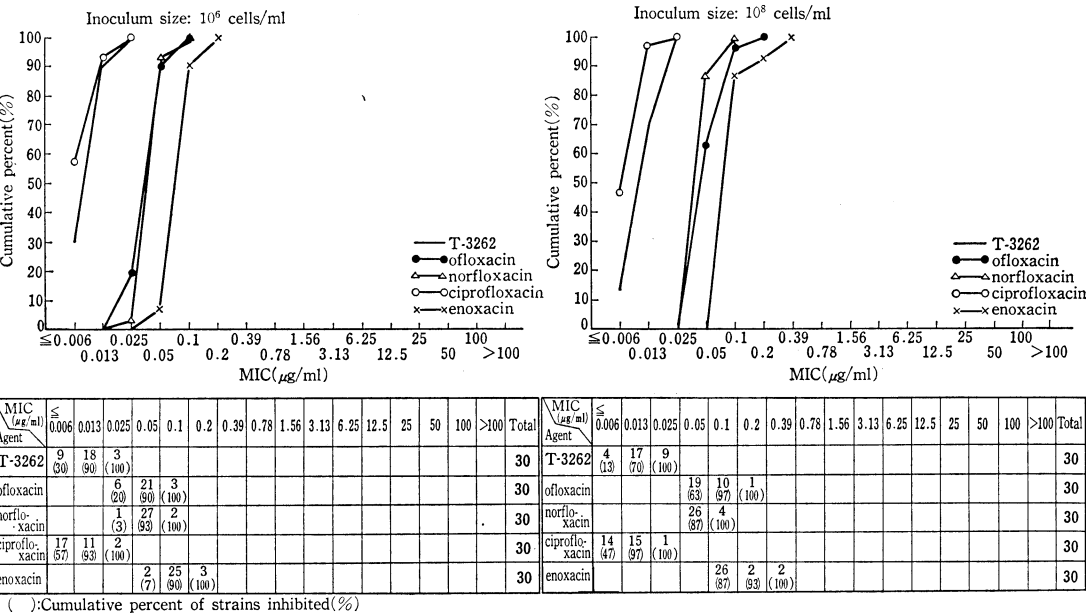


Fig. 10. Susceptibility of clinical isolates *Escherichia coli* (30 strains).

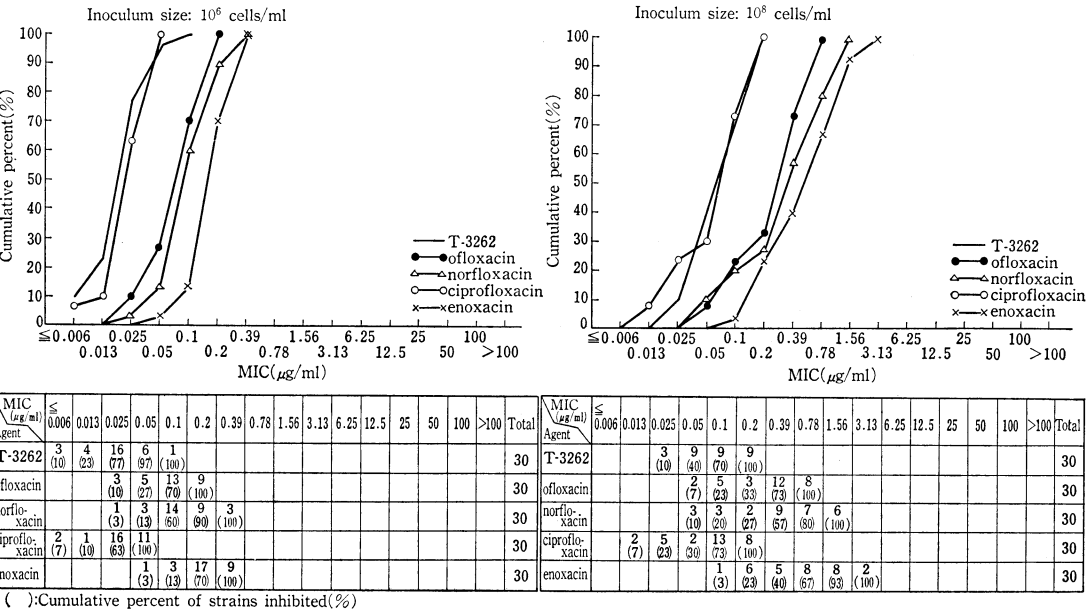


Fig. 11. Susceptibility of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* (30 strains).

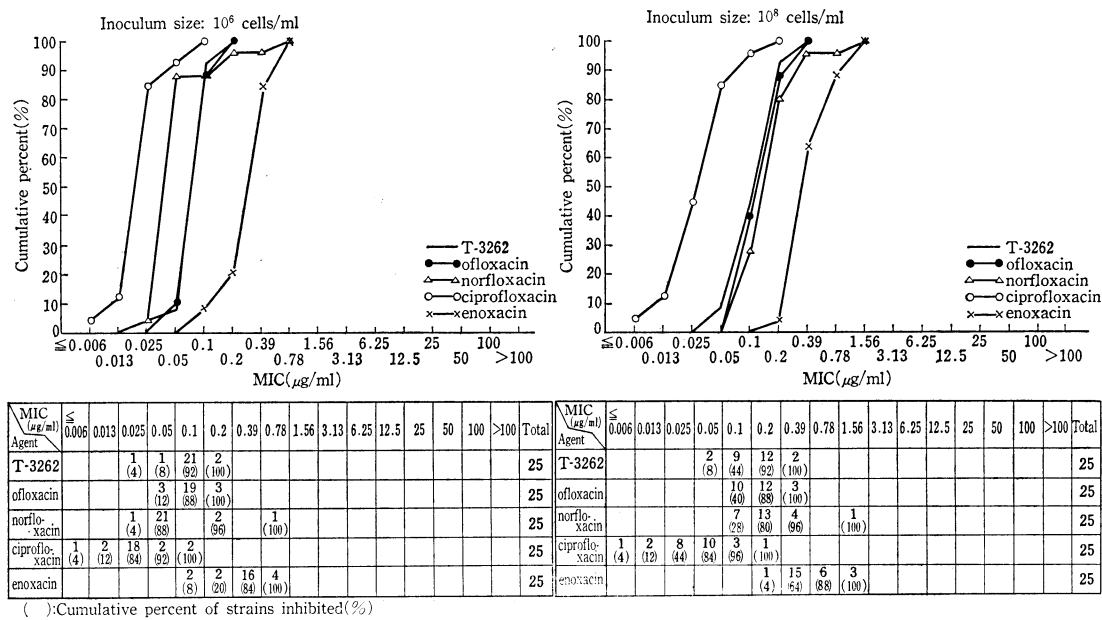


Fig. 12. Susceptibility of clinical isolates *Proteus mirabilis* (25 strains).

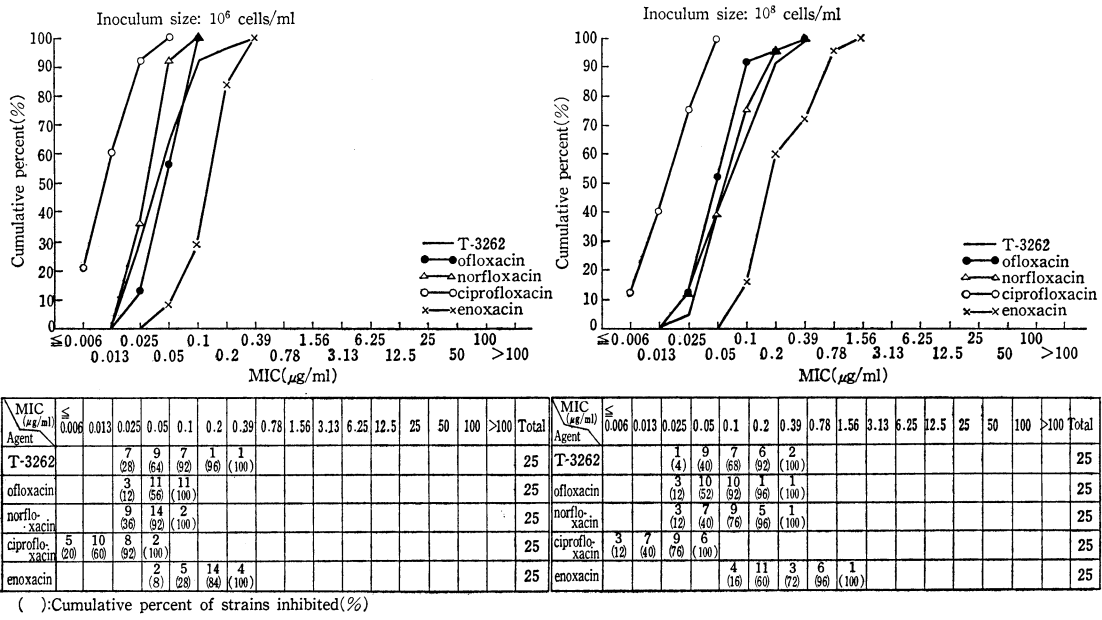


Fig. 13. Susceptibility of clinical isolates *Proteus vulgaris* (25 strains).

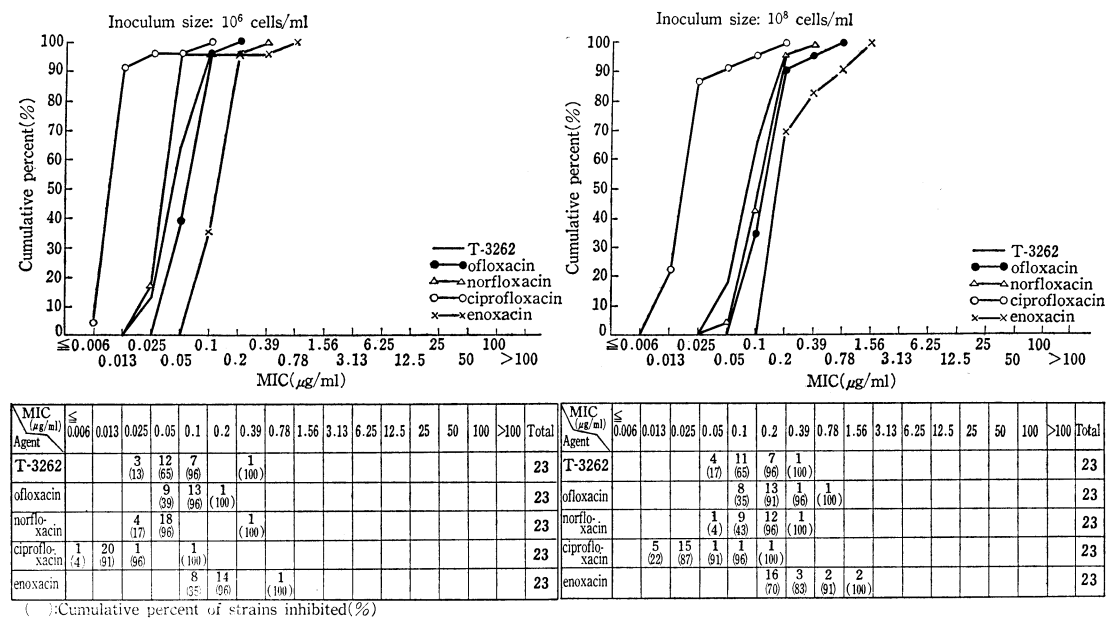


Fig. 14. Susceptibility of clinical isolates *Morganella morganii* (23 strains).

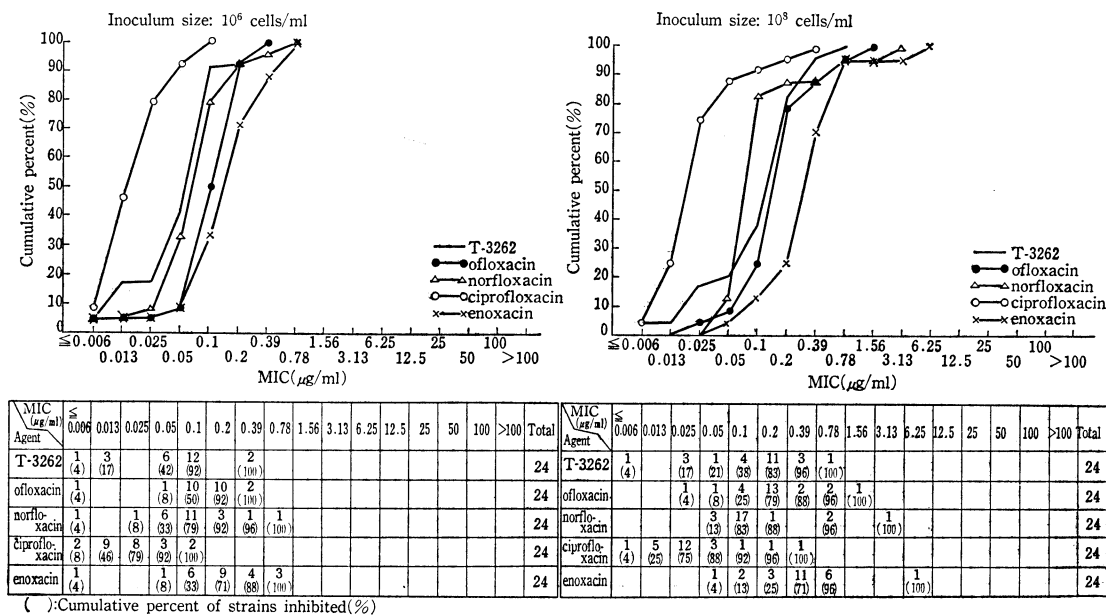
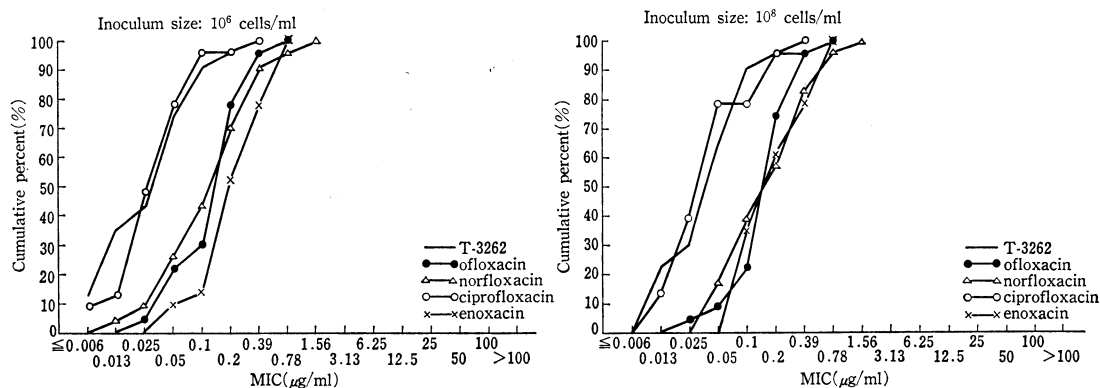
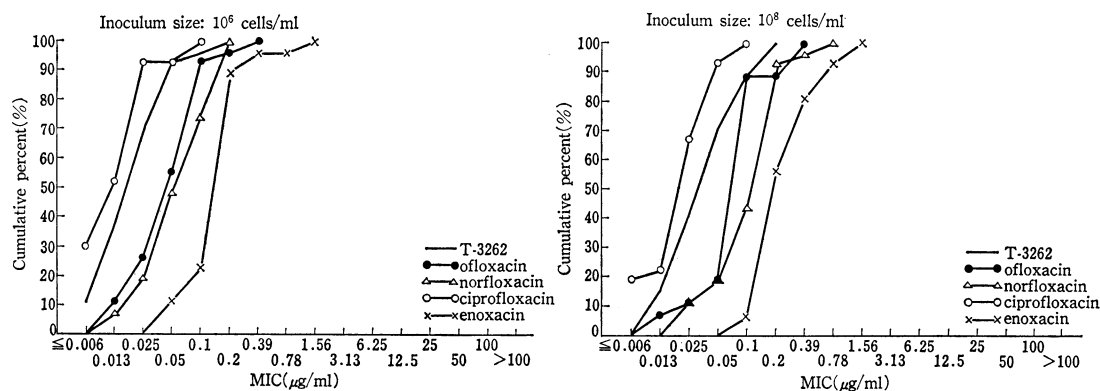


Fig. 15. Susceptibility of clinical isolates *Providencia rettgeri* (24 strains).



(): Cumulative percent of strains inhibited (%)

Fig. 16. Susceptibility of clinical isolates *Providencia stuartii* (23 strains).



MIC ($\mu\text{g/ml}$)	≤ 0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	Total
T-3262	3 (11)	7 (26)	9 (33)	6 (22)	1 (4)	1 (4)											27
ofloxacin		3 (11)	4 (15)	6 (22)	10 (37)	1 (4)	1 (4)										27
norfloxacin		2 (7)	3 (11)	8 (30)	7 (26)	7 (26)	1 (4)										27
ciprofloxacin	8 (30)	6 (22)	11 (41)	3 (11)													27
enoxacin				3 (11)	3 (11)	18 (67)	2 (7)	1 (4)									27

(): Cumulative percent of strains inhibited (%)

Fig. 17. Susceptibility of clinical isolates *Enterobacter cloacae* (27 strains).

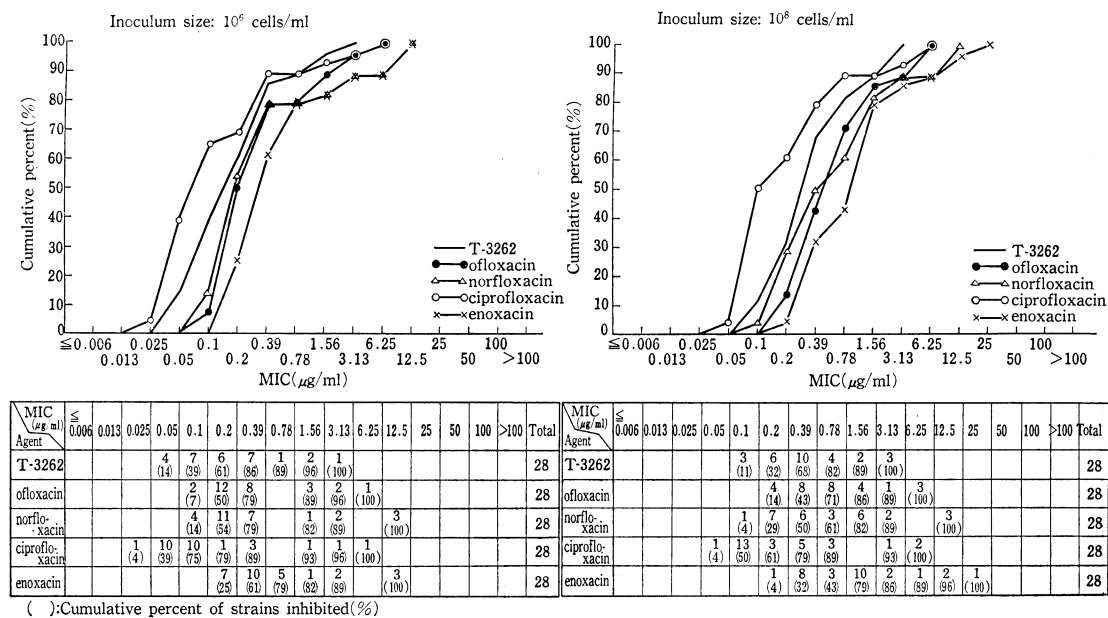


Fig. 18. Susceptibility of clinical isolates *Serratia marcescens* (28 strains).

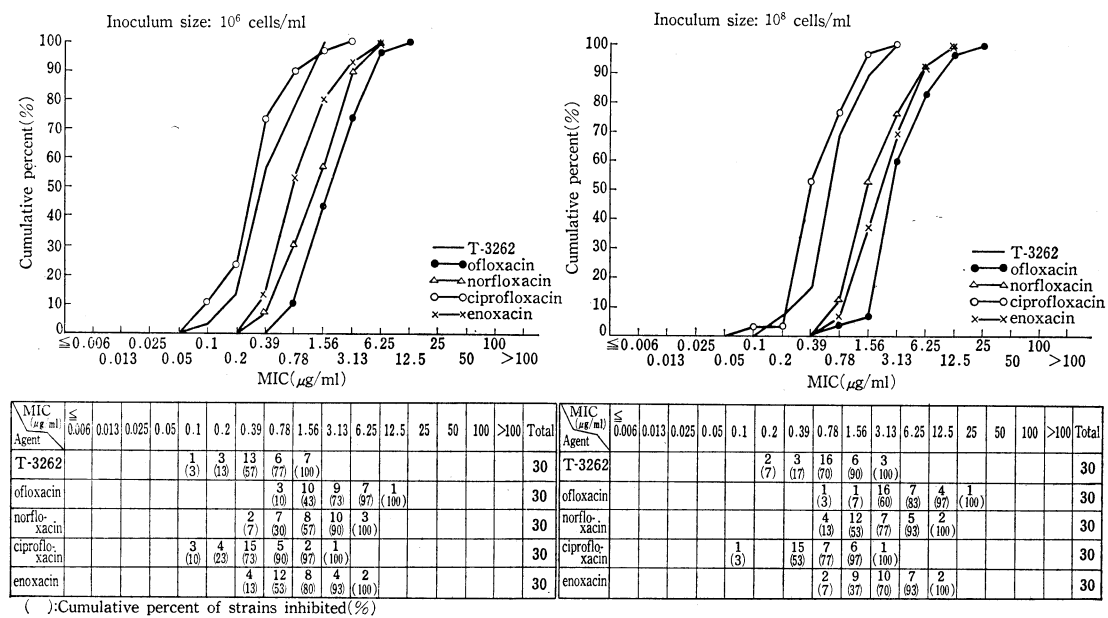


Fig. 19. Susceptibility of clinical isolates *Pseudomonas aeruginosa* (30 strains).

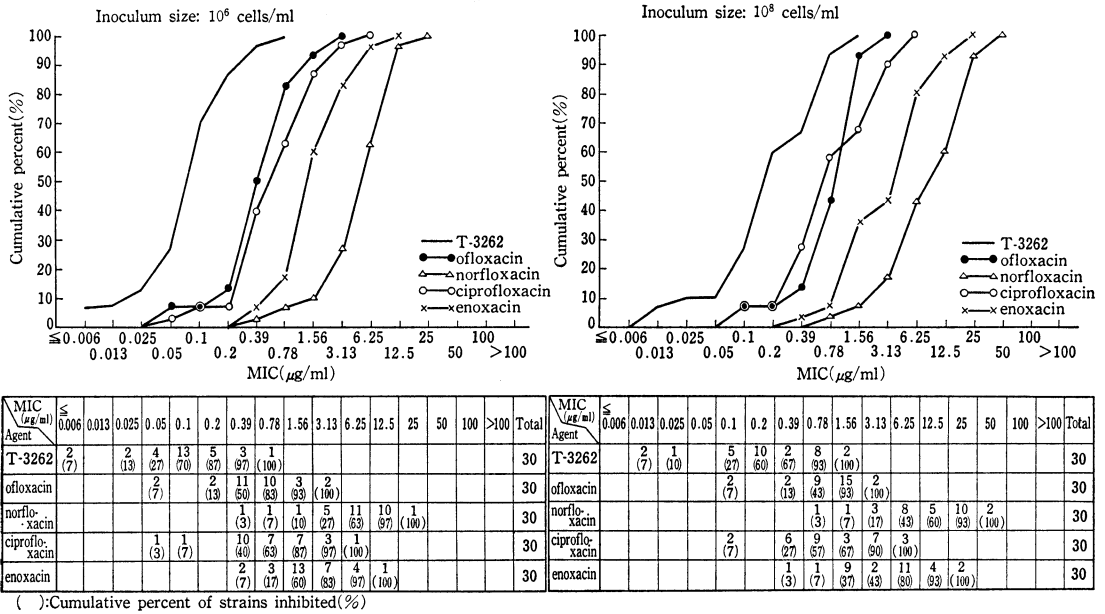


Fig. 20. Susceptibility of clinical isolates *Xantomonas maltophilia* (30 strains).

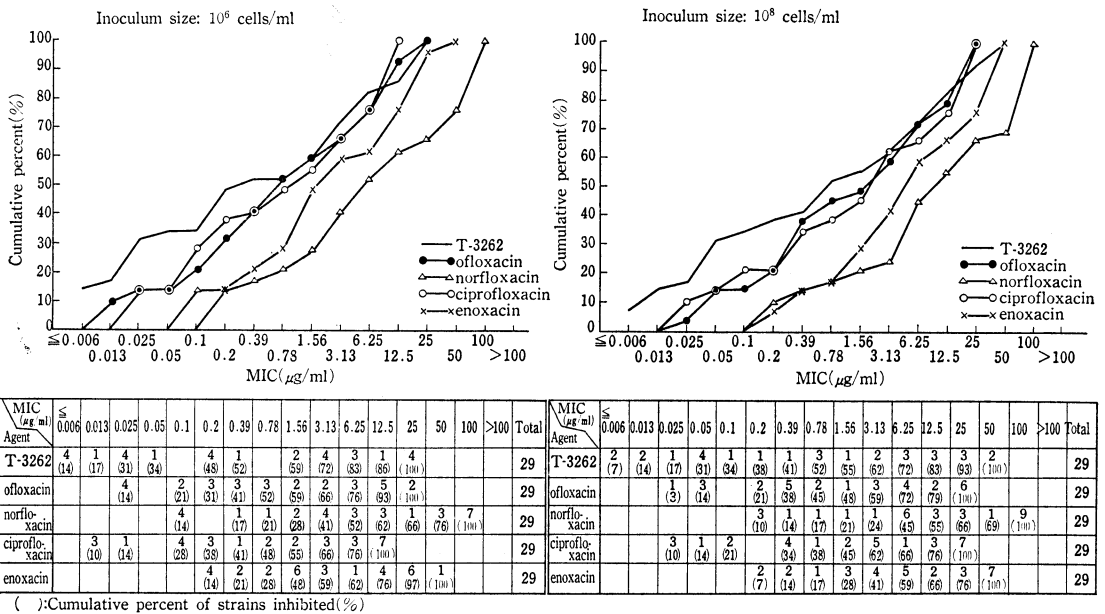


Fig. 21. Susceptibility of clinical isolates *Acinetobacter calcoaceticus* (29 strains).

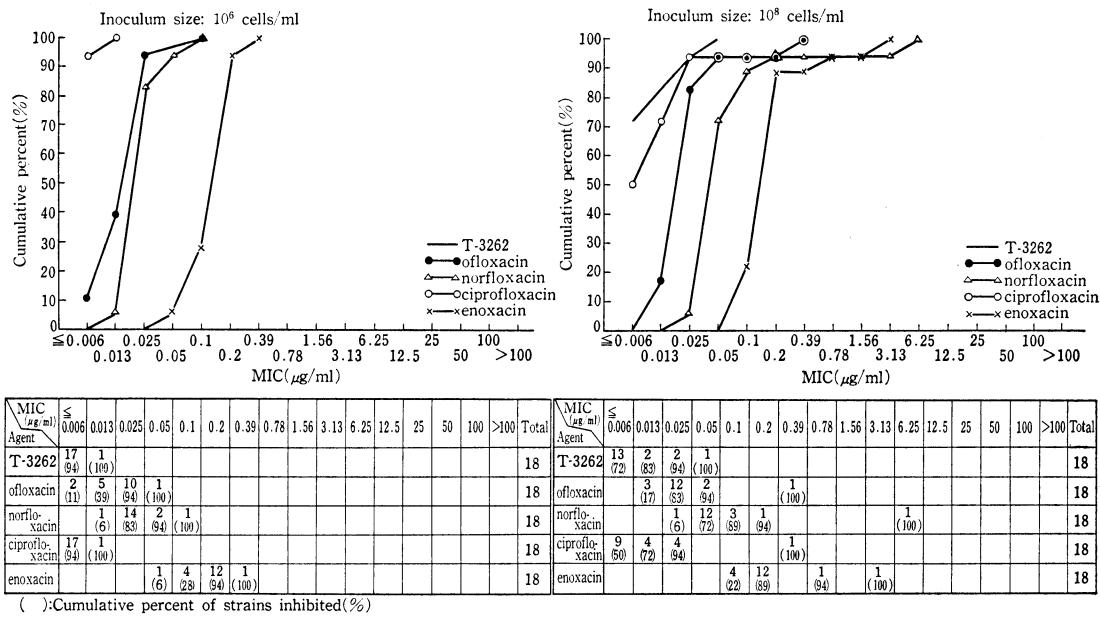


Fig. 22. Susceptibility of clinical isolates *Haemophilus influenzae* (18 strains).

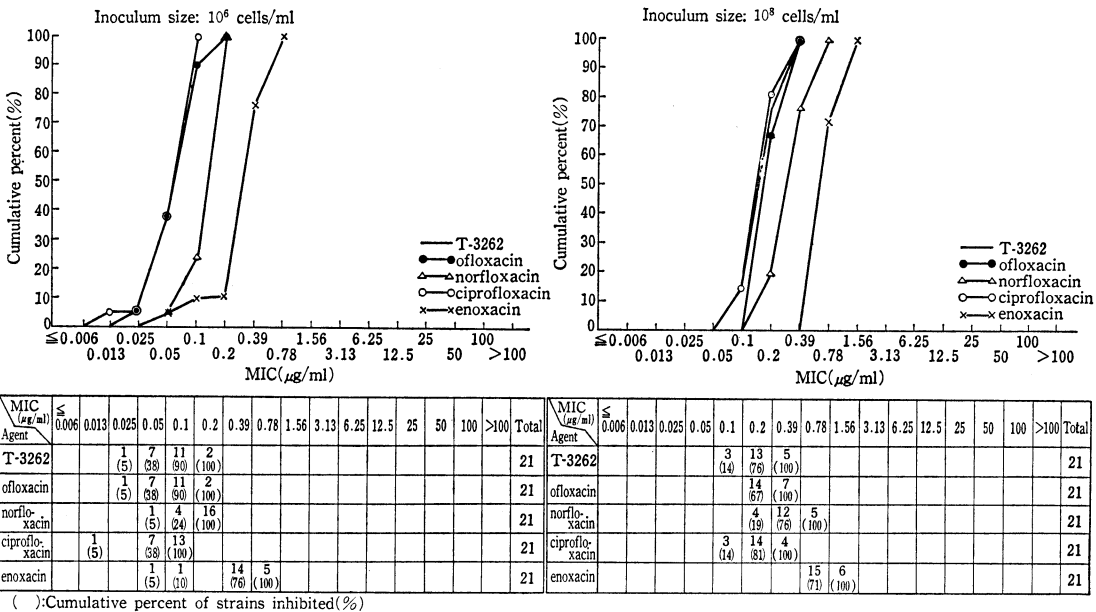


Fig. 23. Susceptibility of clinical isolates *Bordetella pertussis* (21 strains).

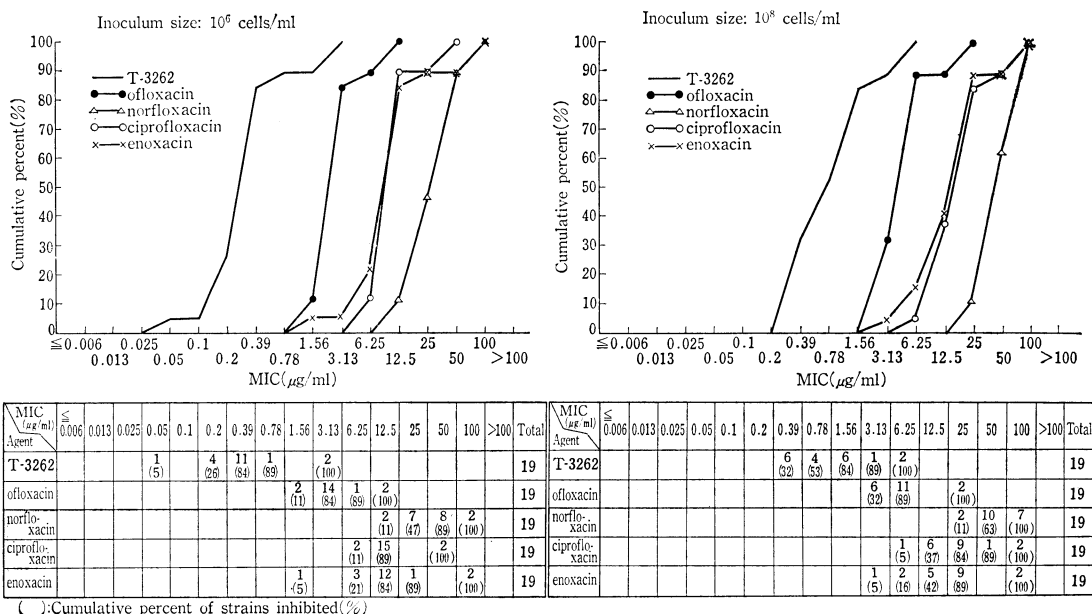


Fig. 24. Susceptibility of clinical isolates *Bacteroides fragilis* (19 strains).

が認められた (Table 7)。

8. マウス血清中濃度

T-3262, OFLX, CPFX, ENX をそれぞれ 2 mg/mouse, 1 mg/mouse または NFLX を 2 mg/mouse 経口投与した時のマウス血清中濃度の成績を Fig. 28 に示した。

T-3262, CPFX, ENX は投与 15 分後が最も高く, 2 mg/mouse 投与 15 分で, T-3262 は 1.8 μ g/ml, CPFX は 14 μ g/ml, ENX は 8.4 μ g/ml であった。一方 OFLX は投与 5 分後が最も高く, 2 mg/mouse 投与 5 分で 25 μ g/ml であったのに対し, NFLX は投与 1 時間後が最も高く, 2 mg/mouse 投与 1 時間で 0.65 μ g/ml であった。持続性については, OFLX, CPFX, ENX よりは劣るが NFLX よりは優れていた。

9. マウス腎および肺内濃度

マウスに T-3262, OFLX, ENX, CPFX を 1 mg/mouse, NFLX では 2 mg/mouse を経口投与した場合の腎および肺内濃度を Fig. 29, 30 に示した。

T-3262 の腎内濃度の最大値は ENX, CPFX, OFLX より低かったが, NFLX より高かった。持続性については CPFX, OFLX とほぼ同程度の傾向であった。

肺内濃度の最大値は, 他の 4 剤より低かったが, 持続性は OFLX, NFLX より高く, CPFX, ENX と同程度であった。

III. 考 察

ピリドンカルボン酸系抗菌薬は, 好気性, 嫌気性をと

わずグラム陰性菌およびグラム陽性菌に対して比較的強い抗菌力を示す特徴がある。最近, 臨床において Methicillin 耐性 *S. aureus*, ブドウ糖非発酵菌および *E. faecalis* を含む *Enterococcus* 属などによる感染症が問題となっているが, T-3262 はこのような菌種に対しても *in vitro* で既存のキノロン系抗菌薬より明らかに優れた抗菌力を示した。

ピリドンカルボン酸系抗菌薬の抗菌作用は, 菌における作用点である DNA gyrase に対する阻害活性ならびに膜透過性に支配されている。DNA gyrase に対する阻害活性は CPFX が最も強く, 最も弱いのが ENX で, NFLX と OFLX の阻害力はほぼ同等であり, 各薬剤の DNA gyrase 阻害力は抗菌作用とよく相関するという事実⁷⁾ から考えて, T-3262 が強い抗菌作用を有する主要因は作用点の阻害活性の強さに起因するのではないかと考えられる。

in vitro のみならず *in vivo* における実験的マウス全身感染, 局所感染さらに白血球減少症マウスにおいても, T-3262 は対照に用いたキノロン系抗菌薬とはほぼ同等の治療効果が認められた。とくに Methicillin 耐性 *S. aureus* を含む *S. aureus* 感染群では他剤より優れた治療効果を示したことは特記に値する。T-3262 のマウス血清中濃度ピーク値は OFLX, ENX, CPFX より低い, 半減期が長く持続性が優れており, このことが抗菌力の強さと共に *in vivo* 効果に反映していると考えられる。

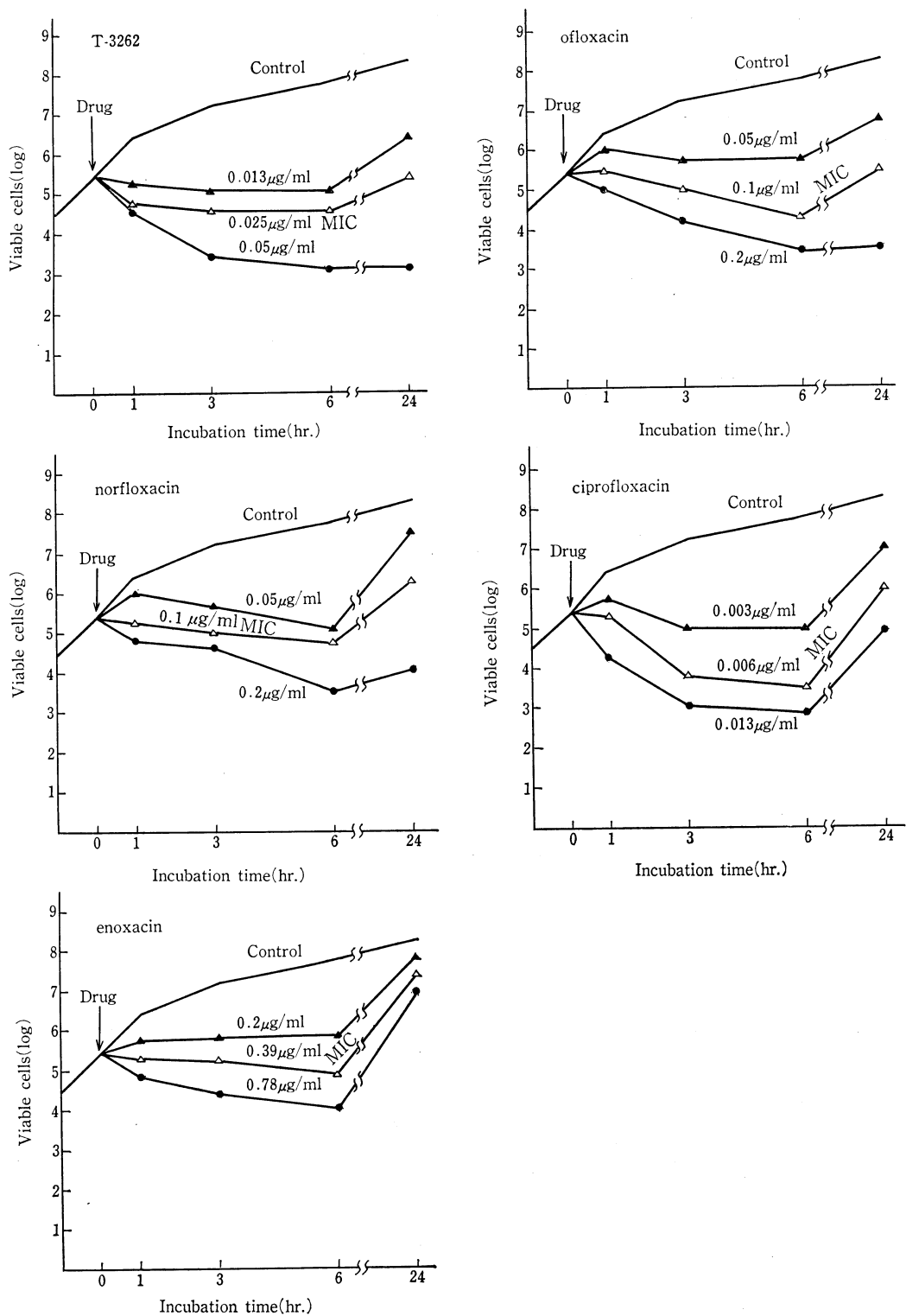


Fig. 25. Bactericidal activity of T-3262, ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin and enoxacin against *Klebsiella pneumoniae* 3 K 25.

Table 5. Protective effect of T-3262 and other agents against experimental infection in mice

Strain	Agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		*ED ₅₀ (95% confidence limit) (mg/mouse)
		10 ⁶	10 ⁸	
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith 1.51×10 ⁸ cfu/mouse (23.2×MLD) 5% Mucin (+)	T-3262	0.025	0.1	0.156 (0.113-0.217)
	ofloxacin	0.2	0.39	0.625
	norfloxacin	0.05	0.1	0.787 (0.543-1.143)
	ciprofloxacin	0.2	0.39	0.496 (0.332-0.740)
	enoxacin	0.39	0.78	0.496 (0.394-0.625)
<i>Staphylococcus aureus</i> TMS288 (MRSA) 6×10 ⁸ cfu/mouse (1.2×MLD) 5% Mucin (+)	T-3262	0.1	0.2	0.031 (0.018-0.051)
	ofloxacin	1.56	6.25	0.248 (0.146-0.420)
	norfloxacin	6.25	12.5	0.787 (0.490-1.264)
	ciprofloxacin	1.56	3.13	0.625 (0.377-1.037)
	enoxacin	3.13	12.5	0.992 (0.656-1.499)
<i>Escherichia coli</i> C11 2×10 ⁸ cfu/mouse (22.7×MLD) 5% Mucin (+)	T-3262	0.0125	0.05	0.0038 (0.003-0.0052)
	ofloxacin	0.05	0.05	0.024 (0.018-0.032)
	norfloxacin	0.1	0.39	0.098 (0.071-0.136)
	ciprofloxacin	0.05	0.2	0.015 (0.012-0.020)
	enoxacin	0.1	0.39	0.124 (0.098-0.156)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3K25 6.5×10 ⁸ cfu/mouse (6.5×MLD) 5% Mucin (+)	T-3262	0.025	0.1	0.039
	ofloxacin	0.1	0.39	0.156
	norfloxacin	0.1	0.39	0.787 (0.625-0.992)
	ciprofloxacin	≤0.006	0.1	0.124 (0.098-0.156)
	enoxacin	0.2	0.39	0.248 (0.185-0.332)
<i>Serratia marcescens</i> No.2 1.27×10 ⁶ cfu/mouse (12.7×MLD) 5% Mucin (+)	T-3262	0.39	1.56	0.625 (0.385-1.014)
	ofloxacin	0.39	1.56	0.039 (0.028-0.054)
	norfloxacin	0.1	0.78	0.124 (0.098-0.156)
	ciprofloxacin	0.025	0.39	0.049 (0.039-0.062)
	enoxacin	0.2	1.56	0.156 (0.113-0.217)
<i>Proteus vulgaris</i> GN76 1.09×10 ⁹ cfu/mouse (27.3×MLD) 5% Mucin (+)	T-3262	0.1	0.2	0.625 (0.377-1.037)
	ofloxacin	0.1	0.1	0.313 (0.195-0.502)
	norfloxacin	≤0.0125	0.05	1.57 (1.176-2.109)
	ciprofloxacin	≤0.0125	≤0.0125	0.992 (0.741-1.329)
	enoxacin	0.2	0.39	0.787 (0.514-1.206)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E7 7.55×10 ⁸ cfu/mouse (14×MLD) 5% Mucin (+)	T-3262	0.39	0.39	0.196 (0.156-0.248)
	ofloxacin	1.56	3.13	0.496 (0.309-0.796)
	norfloxacin	0.78	1.56	0.992 (0.656-1.499)
	ciprofloxacin	0.1	0.39	0.394 (0.254-0.610)
	enoxacin	0.78	1.56	0.394 (0.294-0.527)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PI-67 1.33×10 ⁶ cfu/mouse (14.8×MLD) 5% Mucin (+)	T-3262	0.1	0.39	0.062 (0.046-0.083)
	ofloxacin	0.39	3.13	0.078 (0.057-0.107)
	norfloxacin	0.2	3.13	0.248 (0.185-0.332)
	ciprofloxacin	≤0.0125	0.78	0.025 (0.018-0.033)
	enoxacin	0.2	1.56	0.098 (0.071-0.136)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> TMS402 4.56×10 ⁷ cfu/mouse (8.3×MLD) 5% Mucin (+)	T-3262	0.05	0.1	0.156 (0.103-0.236)
	ofloxacin	0.39	0.78	0.197 (0.156-0.248)
	norfloxacin	0.1	12.5	5.0
	ciprofloxacin	0.1	0.78	0.496 (0.342-0.720)
	enoxacin	1.56	3.13	1.25 (0.917-1.700)

*VAN DER WAERDEN method

Administration : p.o. 1 hr after infection (0.2 ml/mouse)

Mice : ICR strain, 4 weeks, male, 19±1g 6 mice/group

Challenge : i.p. 0.5 ml/mouse

MLD : Minimum lethal dose

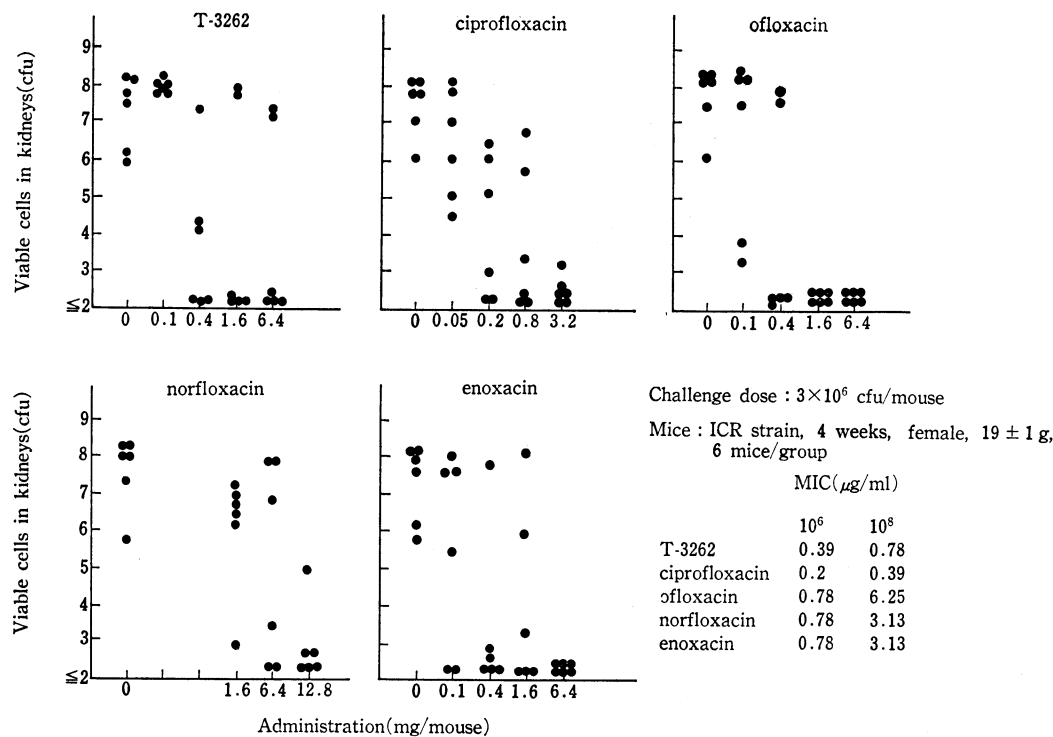


Fig. 26. Therapeutic effect of T-3262 and other agents against experimental urinary tract infection in mice infected with *Pseudomonas aeruginosa* KU 1.

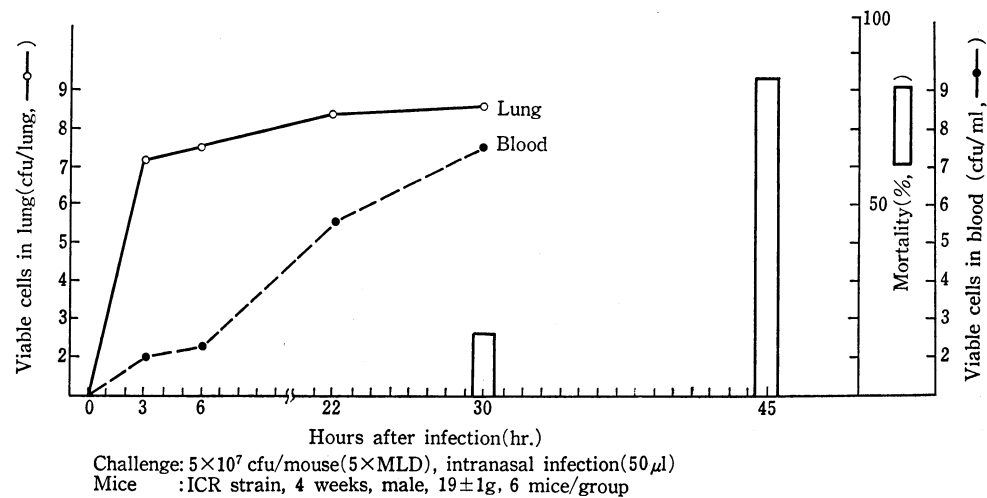


Fig. 27. Comparison of viable cells in lung and blood of mice intranasally infected with *Klebsiella pneumoniae* 3K 25.

Table 6. Protective effect of T-3262 and other agents against experimental infection in mice intranasally infected with *Klebsiella pneumoniae* 3K25

Organism	Agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		*ED ₅₀ (95% confidence limit) (mg/mouse)
		10 ⁶	10 ⁸	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3K25	T-3262	0.025	0.1	0.31 (0.18~0.54)
	ofloxacin	0.1	0.39	0.15 (0.10~0.23)
	norfloxacin	0.1	0.39	2.53 (2.01~3.20)
	ciprofloxacin	≤ 0.006	0.1	0.10 (0.07~0.13)
	enoxacin	0.2	0.39	0.15 (0.09~0.27)

* VAN DER WAERDEN method Administration : p.o. 6hrs after infection
Mice : ICR strain, 4 weeks, male, 19 $\pm$ 1g, 6mice/group
Challenge : 5 $\times$ 10⁷ cfu/mouse, intranasal infection (50 μ l)
(5 $\times$ MLD)

Table 7. Protective effect of T-3262 and other agents against experimental infections in immunosuppressed mice with cyclophosphamide

Organism (challenge dose) cfu/mouse $\times$ MLD	Agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		*ED ₅₀ mg/mouse (95% confidence limit) (mg/mouse)
		10 ⁶	10 ⁸	
<i>Escherichia coli</i> C11 (6 $\times$ 10 ³ CFU/mouse) 580 $\times$ MLD	T-3262	0.013	0.05	0.039 (0.026~0.059)
	ofloxacin	0.05	0.05	0.020 (0.013~0.028)
	norfloxacin	0.1	0.39	0.078 (0.050~0.123)
	ciprofloxacin	0.05	0.2	0.010
	enoxacin	0.1	0.39	0.031 (0.025~0.039)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3K25 (3 $\times$ 10 ³ CFU/mouse) 128 $\times$ MLD	T-3262	0.025	0.1	0.248 (0.153~0.403)
	ofloxacin	0.1	0.39	0.197 (0.136~0.286)
	norfloxacin	0.1	0.39	0.992 (0.640~1.538)
	ciprofloxacin	0.05	0.1	0.124 (0.081~0.190)
	enoxacin	0.2	0.39	0.625 (0.377~1.037)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E7 (5.5 $\times$ 10 ³ CFU/mouse) 109 $\times$ MLD	T-3262	1.56	1.56	0.625 (0.385~1.015)
	ofloxacin	1.56	3.13	0.625
	norfloxacin	0.78	1.56	1.574 (1.176~2.110)
	ciprofloxacin	0.2	0.39	0.313 (0.215~0.454)
	enoxacin	0.78	1.56	0.313 (0.199~0.490)

* VAN DER WAERDEN method
Cyclophosphamide treatment : 250 mg/kg, i.p. 4 days before infection
Administration : p.o. 1 hour after infection (0.2 ml/mouse)
Mice : ICR strain, 4 weeks, male 19 $\pm$ 1g, 6mice/group

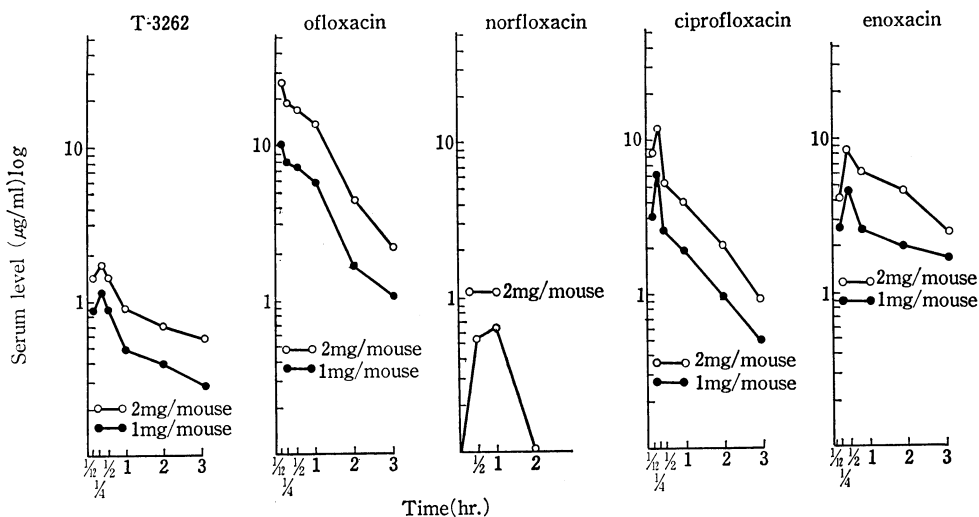
ピリドンカルボン酸系抗菌薬の副作用として、消化器症状、中枢神経症状、アレルギー症状などが知られている。これらのうち、重要な問題は中枢神経への副作用であり、この作用は本質的なもので、完全に除去するのは困難であると報告されている。本剤のように *in vitro* 抗菌力が強く、血清中濃度が比較的強く推移することが中枢神経系への副作用の軽減に役立つか否かは今後の課題であろう。

文 献

1) 第34回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬

シンポジウム, T-3262, 東京, 1987

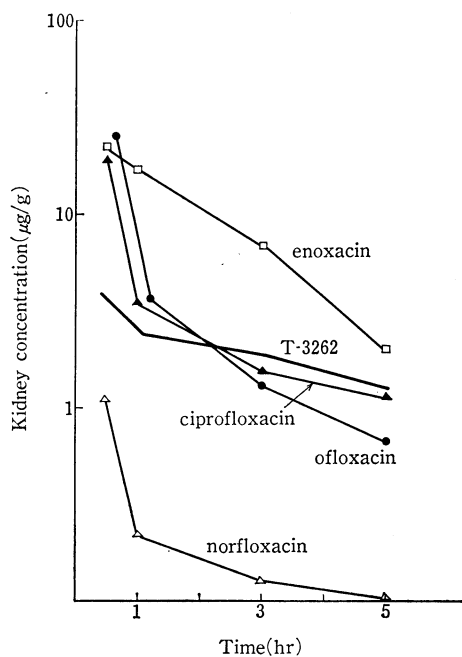
- 2) 五島瑳智子, 藤元輝男, 辻 明良, 小川正俊, 宮崎修一, 金子康子, 桑原章吾: 新ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 DL-8280 の *in vitro* および *in vivo* における細菌学的評価。Chemotherapy 32 (S-1): 22~46, 1984
- 3) 五島瑳智子, 小川正俊, 金子康子, 武藤弓子, 桑原章吾: 新キノリンカルボン酸系合成抗菌剤 AM 715 の *in vitro*, *in vivo* の抗菌作用とマウス血清中濃度について, Chemotherapy 29 (S-4): 12~26, 1981
- 4) 五島瑳智子, 小川正俊, 宮崎修一, 金子康子, 桑



Mice : ICR strain, 4 weeks, male, $19 \pm 1g$, 10 mice/group

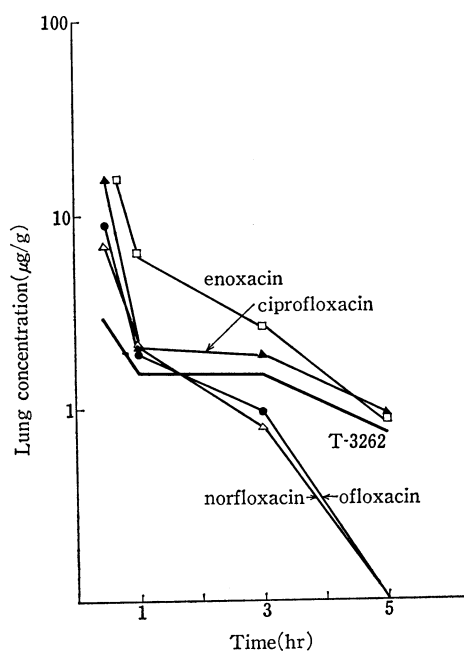
Administration : p.o.

Fig. 28. Serum levels of T-3262 and other agents in mice.



Administration : p.o., T-3262, ciprofloxacin, ofloxacin, enoxacin (1 mg/mouse) norfloxacin (2 mg/mouse)
Mice : ICR strain, 4 weeks, male, $19 \pm 1g$, 5 mice/group

Fig. 29. Kidney levels of T-3262 and other agents in mice.



Administration ; p.o., T-3262, ciprofloxacin, ofloxacin, enoxacin (1 mg/mouse) norfloxacin (2 mg/mouse)
Mice : ICR strain, 4 weeks, male, $19 \pm 1g$, 5 mice/group

Fig. 30. Lung levels of T-3262 and other agents in mice.

- 原章吾：新ピリドンカルボン酸系抗菌剤 BAY o 9867 (ciprofloxacin) の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用。Chemotherapy 33 (S-7) : 18~30, 1985
- 5) 五島瑛智子, 辻 明良, 小川正俊, 金子康子, 宮崎修一, 武藤弓子, 桑原章吾：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。Chemotherapy 32 (S-3) : 18~33, 1984
- 6) 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
- 7) 田中真由美, 采 孟：ピリドンカルボン酸系抗菌剤の作用機作。臨床と微生物 14(2) : 9~15, 1987

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF T-3262, A NEW PYRIDONE CARBOXYLIC ACID

SACHIKO GOTO, YUMIKO MUTO, MASATOSHI OGAWA

YASUKO KANEKO and SHOGO KUWAHARA

Department of Microbiology, School of Medicine, Toho University
5-21-16 Omori-nishi, Ota-ku, Tokyo 143, Japan

We compared the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of T-3262, a new pyridone carboxylic acid derivative, with those of ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin and enoxacin.

The compound, which has a broad antibacterial spectrum, exhibited potent antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant strains, *S. epidermidis*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, non-fermentive Gram-negative rods and anaerobic bacteria.

T-3262, like ofloxacin and norfloxacin, exerted a potent bactericidal activity against a test strain of *Klebsiella pneumoniae*.

T-3262 was highly effective against infections due to various pathogens in mice and these results were comparable to those in the *in vitro* studies.