新しい合成化学療法剤Fleroxacinの in vitroおよびin vivo抗菌力について

西野武志・保坂雅喜・笠波衣代・田中茂博 京都薬科大学微生物学教室*

合成化学療法剤fleroxacinのin vitroおよびin vivo抗菌力を, ciprofloxacin(CPFX), enoxacin(ENX), ofloxacin(OFLX), norfloxacin(NFLX)およびpipemidic acid(PPA)を比較薬として検討し以下の結果を得た。

- 1. Fleroxacinは、グラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対し広範囲の抗菌スペクトラムを有し、その抗菌力はグラム陽性菌に対してENX、NFLXとほぼ同等で、グラム陰性菌に対してENX、OFLXおよびNFLXとほぼ同等であった。嫌気性菌に対しては、CPFX、OFLXとほぼ同等であった。なお、fleroxacinはすべての菌種においてPPAより優れていた。
- 2. Fleroxacinの抗菌力は、培地、培地pH、接種菌量による影響を受けなかったが、一部の菌種において、馬血清添加によりMIC値がわずかに上昇した。
- 3. 増殖曲線に及ぼすfleroxacinの影響を検討した結果,用量依存性のある作用がみられ,MIC付近以上の濃度で殺菌的に作用した。
- 4. 位相差顕微鏡を用いてfleroxacin作用時の菌の形態変化を観察したところ, Escherichia coliでは菌体は伸長化したが, Pseudomonas aeruginosaでは菌体の伸長化はほとんどみとめられず, スフェロプラスト様構造及び溶菌像が観察された。また, Acinetobacter calcoaceticusでは, 膨化をともなった伸長化像が観察された。
- 5. マウス実験的感染症に対するfleroxacinの治療効果を検討したところ,すべての感染系においてfleroxacinは他の薬剤と同等か,より優れた効果を示した。

Key words: 合成化学療法剤, Fleroxacin, in vitro抗菌力, in vivo抗菌力

Fleroxacinは、杏林製薬株式会社で合成された新しい キノロンカルボン酸系化学療法剤である。

本物質は、化学名を6,8-difluoro-1-(2-fluoroethyl)-1,4-dihydro-7-(4-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acidといい、分子式C17H18F3N3O3、分子量369.34で、水に難溶の白色ないし微黄色の結晶性の粉末である。

今回, 我々は, 本剤と類縁の化学療法剤であるcipro-floxacin¹⁾, enoxacin²⁾, ofloxacin³⁾, norfloxacin⁴⁾および pipemidic acid^{5,6)}を比較薬として, fleroxacinに関する種々のin vitroおよびin vivo抗菌力について検討を行い, 2、3の知見を得たので報告する。

1. 材料と方法

1. 使用薬剤

試験薬としては、fleroxacin(杏林製薬)、ciprofloxacin (CPFX、バイエル薬品)、enoxacin(ENX、大日本製薬)、ofloxacin(OFLX、第一製薬)、norfloxacin(NFLX、杏林製薬)およびpipemidic acid(PPA、大日本製薬)のいずれも力価の明らかなものを用いた。

* 〒607 京都市山科区御陵中内町5

2. 抗菌スペクトラム

京都薬科大学微生物学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試験管内抗菌力を、前培養にTryptosoya 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)測定法でに準じて求めた。なお、Streptococcus属、Enterococcus属およびCorynebacterium diphtheriaeについては、10%馬脱繊維血液加HIAを用いて37℃、24時間培養後に、またNeisseria属についてはチョコレート寒天培地を用いて、37℃、48時間ローソク培養後にMICを求めた。嫌気性菌については、前培養にGAM broth(ニッスイ)、感受性測定にはGAM agar(ニッスイ)を用い、嫌気性菌培養装置で37℃、24時間培養後のMICを求めた。。

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Methicillin(DMPPC)感受性 Staphylococcus aureus 89株, DMPPC耐性S. aureus 31株, Staphylococcus epidermidis 37株, Streptococcus pyogenes 23株, Enterococcus faecalis 29株, Enterococcus faecium 30株、Enterococcus avium 14株、Escherichia coli 88株、Klebsiella pneumoniae 60株、Enterobacter cloacae 29株、Enterobacter aerogenes 34株、Serratia marcescens 89株、Proteus vulgaris 41株、Proteus mirabilis 29株、Morganella morganii 27株、Providencia rettgeri 17株、Pseudomonas aeruginosa 65株、Acinetobacter calcoaceticus 72株、Haemophilus influenzae 22株、Branhamella catarhalis 19株について、前記の方法と同様に抗菌力を測定した。なお、Streptococcus属およびEnterococcus属については10%馬脱繊維血液加HIAを、H. influenzaeについては前培養、感受性測定にそれぞれ5% Fildes enrichmentを加えたTSB、HIAを、また、B. catarrhalisにはチョコレート寒天培地を用いた。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地, 培地pH, 馬血清添加ならびに接種菌量の影響は, S. aureus 209-P JC, E. coli NIH JC-2, K. pneumoniae KC-1およびP. aeruginosa E-2を試験菌として, HIAを用いた寒天平板希釈法(37℃, 18~20時間培養)により検討した。なお, 培地の影響については, HIA, Nutrient agar(NA, ニッスイ), Mueller Hinton medium (MHM, Difco), Brain heart infusion agar(BHIA, Difco), Tryptosoya agar(TSA, ニッスイ)を用いて検討した。

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, P. aeruginosa E-2, A. calcoaceticus Ac-54をHeart infusion broth (HIB, ニッスイ)に接種し、対数増殖期中期(約10⁷cells/ml)まで振とう培養した後、所定の濃度の薬剤を添加し、以後、4時間後までの生菌数を経時的に測定した。

6. 位相差顕微鏡による形態観察

E. coli K-12, P. aeruginosa PAO1およびA. calcoaceticus Ac-54の対数増殖期の菌液をカバーグラスにのせ、これをスライドグラス上のfleroxacinを含んだフィルム寒天上にかぶせパラフィンで封入した。これを37℃で培養し、位相差顕微鏡(日本光学)を用いて、菌の形態変化を観察した。

7. マウス実験的全身感染症に対する治療効果

S. aureus Smith, E. coli KC-14, K. pneumoniae KC-1, S. marcescens T-55, P. aeruginosa E-2およびA. calcoaceticus Ac-54の各菌株をHIAに37℃, 1夜培養後, 菌体をかきとり滅菌生理食塩水に懸濁し、3% gastric mucin(半井)で希釈した。この菌液0.5mlを1群10匹のddY系雄マウス(20±2g)の腹腔内に接種した。菌接種2時間後に、0.5% Carboxymethylcelluloseに懸濁した薬物を1回経口投与し、その後7日間生死の観察を行い、生存数から

Probit法⁹⁾によりED50値を算出した。

Ⅱ. 成

1. 抗菌スペクトラム

教室保存の各種グラム陽性菌、グラム陰性菌および嫌気性菌に対する試験管内抗菌力について検討した結果をTable 1~6に示した。Fleroxacinは実験に用いたグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し、幅広い抗菌スペクトラムを示した。グラム陽性菌に対する抗菌力はPPAより優れており、ENX、NFLXとほぼ同等であったが、CPFX、OFLXと比較するとやや劣っていた。また、グラム陰性菌に対する抗菌力はPPAより優れ、ENX、OFLX、NFLXとほぼ同等であったが、CPFXと比較すると劣っていた。嫌気性菌に対しては、fleroxacinの抗菌力はENX、NFLX、PPAより優れ、CPFX、OFLXとほぼ同等であった。

2. 臨床分離株の感受性分布

臨床材料から分離された19菌種845株の感受性分布を Table 7に示した。

DMPPC感受性S. aureus 89株はfleroxacinに対して 0.20~1.56 ug/mlに分布し、MIC50およびMIC90値とも 0.78 µg/mlであった。Fleroxacinの抗菌力は,CPFX, OFLXとほぼ同等であり、他の3剤より優れていた。-方、DMPPC耐性S. aureusに対するfleroxacinのMIC90値は 3.13 ug/mlでありDMPPC耐性S. aureusの中にはfleroxacin に対する感受性の低下した株がみられた。S. epidermidis 37株はいずれの薬剤に対してもDMPPC感受 性S. aureusと同様の感受性分布を示した。S. pyogenes 23 株は、fleroxacinに対して1.56~6.25 µg/mlに分布し、 MIC50 およびMIC90値とも6.25 µg/mlであった。Fleroxacinは、ENX、PPAより優れた抗菌力を示したが、 CPFX, OFLX, NFLXより劣っていた。E. faecalis 29株, E. avium 14株, E. faecium 30株の腸球菌属は, 多少の 差はみられたもののfleroxacinに対して同様の感受性分 布を示し、MIC50値は3.13または6.25 µg/ml、MIC90値は 6.25または12.5 μg/mlであった。Fleroxacinは、ENX、 OFLX, NFLXとほぼ同等の抗菌力を示した。

P. rettgeriおよびS. marcescens を除く腸内細菌科の7菌種308株はすべて $0.39~\mu g/m$ lのfleroxacinでその増殖が抑えられた。このfleroxacinの抗菌力は、ENX、OFLX、NFLXとほぼ同等であったが、CPFXと比べるとやや劣っていた。

P. rettgeri 17株およびS. marcescens 89株は、fleroxacin に対しそれぞれ $0.05\sim3.13$ 、 $0.05\sim25~\mu g/ml$ と広い範囲に分布していた。MIC50値が0.20および $0.39~\mu g/ml$ であったのに対し、MIC90値はそれぞれ3.13、 $6.25~\mu g/ml$ と大きな値を示し、両菌種にはキノロン耐性菌の存在が

Table 1. Antibacterial spectrum against Gram-positive bacteria

(108 cells/ml)

0 .		$MIC (\mu g/ml)$							
Organism	fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA			
Staphylococcus aureus 209-P JC	1.56	0.20	1.56	0.39	0.39	25			
Staphylococcus aureus Smith	0.78	0.20	0.78	0.39	0.39	25			
Staphylococcus aureus Terajima	1.56	0.39	1.56	0.78	0.78	50			
Staphylococcus aureus Neuman	0.78	0.39	1.56	0.39	0.78	50			
Staphylococcus aureus E-46	0.39	0.39	1.56	0.39	0.78	50			
Staphylococcus aureus No.80	0.78	0.78	3.13	0.39	3.13	100			
Staphylococcus epidermidis	3.13	1.56	3.13	1.56	6.25	>10			
Streptococcus pyogenes S-23*	3.13	0.78	6.25	0.78	1.56	>10			
Streptococcus pyogenes Cook*	3.13	0.39	3.13	0.78	1.56	>10			
Streptococcus pyogenes C-203*	3.13	0.39	6.25	1.56	1.56	>10			
Streptococcus pneumoniae type I*	1.56	0.39	3.13	0.78	0.78	>10			
Streptococcus pneumoniae type II*	6.25	0.78	12.5	1.56	3.13	>10			
Streptococcus pneumoniae type III*	3.13	0.78	6.25	1.56	3.13	>10			
Enterococcus faecalis*	3.13	0.78	6.25	1.56	1.56	>10			
Corynebacterium diphtheriae*	0.78	0.10	1.56	0.39	0.39	25			
Micrococcus luteus ATCC9341	12.5	1.56	25	3.13	12.5	>100			
Bacillus subtilis ATCC6633	0.20	0.05	0.20	0.10	0.20	3.13			
Bacillus anthracis	0.39	0.05	0.39	0.20	0.39	6.25			

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

Medium: heart infusion agar (Nissui). * Supplemented with 10% horse blood.

Table 2. Antibacterial spectrum against Gram-positive bacteria

 (10^6 cells/ml)

Organism	MIC (µg/ml)							
Organism	fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA		
Staphylococcus aureus 209-P JC	0.78	0.10	0.78	0.39	0.20	12.5		
Staphylococcus aureus Smith	0.39	0.20	0.78	0.20	0.39	25		
Staphylococcus aureus Terajima	0.78	0.20	0.78	0.39	0.39	25		
Staphylococcus aureus Neuman	0.39	0.20	0.78	0.20	0.78	25		
Staphylococcus aureus E-46	0.39	0.39	0.78	0.20	0.78	25		
Staphylococcus aureus No.80	0.39	0.39	1.56	0.39	1.56	50		
Staphylococcus epidermidis	3.13	0.78	1.56	0.78	3.13	100		
Streptococcus pyogenes S-23*	3.13	0.39	3.13	0.78	1.56	100		
Streptococcus pyogenes Cook*	1.56	0.20	1.56	0.78	0.78	>10		
Streptococcus pyogenes C-203*	3.13	0.39	6.25	1.56	1.56	>10		
Streptococcus pneumoniae type I*	1.56	0.39	1.56	0.78	0.78	>10		
Streptococcus pneumoniae type II*	6.25	0.78	6.25	1.56	3.13	>10		
Streptococcus pneumoniae type III*	3.13	0.39	3.13	0.78	1.56	>10		
Enterococcus faecalis*	3.13	0.78	6.25	1.56	1.56	>10		
Corynebacterium diphtheriae*	0.39	0.10	0.78	0.20	0.39	25		
Micrococcus luteus ATCC9341	12.5	1.56	12.5	1.56	12.5	100		
Bacillus subtilis ATCC6633	0.20	0.05	0.20	0.05	0.10	3.13		
Bacillus anthracis	0.20	0.05	0.39	0.10	0.20	6.25		

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

Medium: heart infusion agar (Nissui). * Supplemented with 10% horse blood.

みとめられたが、fleroxacinはキノロン剤の中ではこれら耐性菌に対しても比較的優れた抗菌力を示していた。

P. aeruginosa 65株はfleroxacinに対して $0.78\sim6.25$ μ g/mlに分布し、MIC50およびMIC90値は、それぞれ1.56、3.13 μ g/mlであった。Fleroxacinは、ENX、OFLXとほぼ同等の抗菌力を示したが、CPFX、NFLXより劣っていた。

 $A.\ calcoaceticus\ 72$ 株はfleroxacinに対して $0.05\sim0.78$ $\mu g/ml$ に分布し、MICsoおよびMICso値は、両者とも0.39 $\mu g/ml$ であった。Fleroxacinは、ENX、NFLX、PPAより優れ、CPFX、OFLXとほぼ同等の抗菌力を示していた。

H. influenzae 22株はfleroxacinに対して0.05~0.20

 μ g/mlに分布し、MIC50およびMIC90値は、それぞれ0.05、 $0.10~\mu$ g/mlであった。Fleroxacinは、OFLX、NFLXとほぼ同等の抗菌力を示した。

 $B.\ catarrhalis$ 19株はfleroxacinに対して $0.20\sim0.39$ $\mu g/ml$ に分布し、 MIC_{50} および MIC_{50} 値は、それぞれ0.20, 0.39 $\mu g/ml$ であった。Fleroxacinは、ENX、NFLXとほぼ同等の抗菌力を示したが、CPFX、OFLXよりやや劣っていた。

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 KC-1およびP. aeruginosa E-2を試験菌として, 抗菌力に 及ぼす培地の種類, 培地pH, 馬血清添加および接種菌

Table 3. Antibacterial spectrum against Gram-negative bacteria

(108 cells/ml)

0	MIC (μg/ml)							
Organism	fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA		
Escherichia coli NIH JC-2	0.10	0.0125	0.10	0.10	0.05	1.56		
Escherichia coli NIH	0.05	≦0.0063	0.10	0.05	0.05	1.56		
Escherichia coli K-12	0.05	≦0.0063	0.10	0.025	0.05	1.56		
Escherichia coli KC-14	0.10	≦0.0063	0.10	0.05	0.05	1.56		
Citrobacter freundii NIH10018-68	0.39	0.05	0.20	0.39	0.10	3.13		
Salmonella typhi T-287	0.05	0.0125	0.10	0.05	0.05	3.13		
Salmonella typhi O-901	0.05	≦0.0063	0.05	0.0125	0.025	1.56		
Salmonella paratyphi A	0.10	≦0.0063	0.10	0.05	0.05	0.78		
Salmonella paratyphi B	0.10	0.0125	0.10	0.05	0.05	1.56		
Salmonella enteritidis	0.10	≦0.0063	0.10	0.05	0.025	1.56		
Shigella dysenteriae EW-7	0.10	0.025	0.10	0.10	0.05	1.56		
Shigella flexneri 2a EW-10	0.05	0.025	0.10	0.05	0.05	1.56		
Shigella flexneri Komagoma	0.10	0.025	0.10	0.05	0.05	1.56		
Shigella boydii EW-28	0.10	0.0125	0.10	0.05	0.05	1.56		
Shigella sonnei EW-33	0.10	0.025	0.10	0.05	0.05	1.56		
Klebsiella pneumoniae KC-1	0.10	0.0125	0.20	0.05	0.05	3.13		
Klebsiella pneumoniae NCTC9632	0.10	0.025	0.20	0.10	0.05	3.13		
Enterobacter cloacae NCTC9394	0.20	0.05	0.20	0.20	0.10	3.13		
Enterobacter aerogenes	0.20	0.05	0.20	0.20	0.10	1.56		
Enterobacter aerogenes NCTC10006	0.20	0.05	0.20	0.39	0.10	3.13		
Hafnia alvei NCTC9540	0.10	0.0125	0.10	0.05	0.05	1.56		
Serratia marcescens IFO3736	0.39	0.10	0.39	0.78	0.20	3.13		
Serratia marcescens T-55	0.39	0.10	0.39	0.39	0.20	3.13		
Proteus mirabilis 1287	0.10	0.05	0.20	0.20	0.10	3.13		
Proteus vulgaris OX-19	0.10	0.025	0.20	0.05	0.05	6.25		
Proteus inconstans NIH118	0.20	0.05	0.20	0.20	0.10	3.13		
Morganella morganii Kono	0.20	0.05	0.39	0.39	0.20	6.25		
Providencia rettgeri NIH96	0.05	0.0125	0.05	0.05	0.025	1.56		
Pseudomonas aeruginosa No.12	1.56	0.39	1.56	1.56	0.78	25		
Pseudomonas aeruginosa Nc-5	0.20	0.10	0.39	0.20	0.20	6.25		
Pseudomonas aeruginosa E-2	1.56	0.39	1.56	3.13	1.56	25		
Acinetobacter calcoaceticus Ac-54	1.56	1.56	6.25	0.78	12.5	>100		
Neisseria gonorrhoeae*	0.05	≦0.0063	0.05	0.025	0.05	1.56		
Neisseria meningitidis*	0.05	≦0.0063	0.10	0.025	0.05	0.78		

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid. Medium: heart infusion agar (Nissui). * Chocolate agar.

量の影響について検討した結果をTable 8~11に示した。 試験培地としてHIA, NA, MHM, BHIA, TSAを用い て抗菌力を測定した結果, fleroxacinの抗菌力はすべて の菌株において培地による変動が見られなかった。また, 他の薬剤についても同様の結果が得られた。

培地pHを6.0, 7.0および8.0に調整したときの抗菌力を測定した結果, fleroxacinはすべての菌株において培地pHの影響を受けなかった。一方, CPFX, ENXおよびNFLXは, アルカリ側でグラム陰性菌に対し抗菌力の上昇がみられた。

馬血清を10, 25および50%添加したときの抗菌力を 測定した結果, fleroxacinはK. pneumoniae, P. aeruginosa の2株に対し、添加量に応じて若干MIC値の上昇がみとめられた。一方、他の薬剤については、殆ど馬血清添加による影響はみられなかった。

 $10^4 \sim 10^8$ cells/mlの菌液を1白金耳 $(10^2 \sim 10^6$ cells/loopful)接種したときの抗菌力を測定した結果, flero-xacinはこの範囲において接種菌量の影響をうけなかった。また,他の薬剤についても同様な結果が得られた。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

S. aureus Smith, E. coli KC-14, P. aeruginosa E-2およびA. calcoaceticus Ac-54を試験菌として、キノロン剤の増殖曲線に及ぼす影響を検討し、その結果をFig. 1~4に示した。

Table 4. Antibacterial spectrum against Gram-negative bacteria

(10⁶ cells/ml)

Organism	MIC (μg/ml)							
Oi gaillsiii	fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA		
Escherichia coli NIH JC-2	0.10	0.0125	0.10	0.10	0.05	1.56		
Escherichia coli NIH	0.05	≦0.0063	0.05	0.025	0.025	0.78		
Escherichia coli K-12	0.05	≦0.0063	0.05	0.025	0.025	1.56		
Escherichia coli KC-14	0.05	≦0.0063	0.10	0.05	0.05	1.56		
Citrobacter freundii NIH10018-68	0.20	0.05	0.20	0.20	0.10	1.56		
Salmonella typhi T-287	0.05	0.0125	0.10	0.05	0.05	3.13		
Salmonella typhi O-901	0.05	≦0.0063	0.05	0.0125	0.0125	1.56		
Salmonella paratyphi A	0.05	≦0.0063	0.05	0.05	0.025	0.78		
Salmonella paratyphi B	0.05	0.0125	0.10	0.05	0.05	1.56		
Salmonella enteritidis	0.05	≦0.0063	0.05	0.025	0.025	1.56		
Shigella dysenteriae EW-7	0.10	0.025	0.10	0.05	0.05	1.56		
Shigella flexneri 2a EW-10	0.05	0.0125	0.10	0.05	0.05	1.56		
Shigella flexneri Komagome	0.05	0.025	0.10	0.05	0.05	1.56		
Shigella boydii EW-28	0.05	0.0125	0.10	0.05	0.05	1.56		
Shigella sonnei EW-33	0.05	0.0125	0.10	0.05	0.05	0.78		
Klebsiella pneumoniae KC-1	0.05	0.0125	0.10	0.05	0.05	1.56		
Klebsiella pneumoniae NCTC9632	0.05	0.025	0.10	0.05	0.05	1.56		
Enterobacter cloacae NCTC9394	0.20	0.05	0.20	0.10	0.10	3.13		
Enterobacter aerogenes	0.10	0.0125	0.10	0.05	0.05	0.78		
Enterobacter aerogenes NCTC10006	0.10	0.025	0.20	0.10	0.10	3.13		
Hafnia alvei NCTC9540	0.05	0.0125	0.05	0.05	0.025	0.78		
Serratia marcescens IFO3736	0.39	0.10	0.39	0.39	0.20	3.13		
Serratia marcescens T-55	0.39	0.10	0.39	0.39	0.20	3.13		
Proteus mirabilis 1287	0.10	0.025	0.20	0.05	0.05	3.13		
Proteus vulgaris OX-19	0.05	0.025	0.20	0.05	0.05	3.13		
Proteus inconstans NIH118	0.10	0.025	0.20	0.20	0.05	1.56		
Morganella morganii Kono	0.20	0.025	0.39	0.20	0.05	1.56		
Providencia rettgeri NIH96	0.05	≦ 0.0063	0.05	0.05	0.025	1.56		
Pseudomonas aeruginosa No.12	1.56	0.20	0.78	1.56	0.39	12.5		
Pseudomonas aeruginosa Nc-5	0.20	0.05	0.20	0.20	0.10	3.13		
Pseudomonas aeruginosa E-2	1.56	0.20	0.78	1.56	0.78	12.5		
Acinetobacter calcoaceticus Ac-54	0.78	0.39	1.56	0.39	3.13	50		
Neisseria gonorrhoeae*	0.05	≦0.0063	0.05	0.0125	0.025	1.56		
Neisseria meningitidis*	0.05	≦0.0063	0.05	0.025	0.025	0.78		

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

Medium: heart infusion agar (Nissui). * Chocolate agar.

Fleroxacinは、いずれの菌種に対しても試験した薬剤 濃度範囲において用量依存的な作用を示し、1/2ないし 1 MIC以上の濃度で殺菌的に働いた。また、他の薬剤も 同様の傾向を示し、1 MIC付近以上の濃度で殺菌作用を 示した。

5. 位相差顕微鏡による形態観察

E. coli K-12, P. aeruginosa PAO1およびA. calcoaceticus Ac-54を試験菌として、fleroxacinを作用させたときの形態変化を位相差顕微鏡により観察した結果をFig. 5~7に示した。

1) E. coli K-12の場合(Fig. 5)

E. coli K-12にfleroxacinを作用させたところ,0.0125 $\mu g/ml$ の濃度まで形態変化はみられなかったが,0.025

 μ g/mlでわずかに伸長化する傾向がみられた。0.05 μ g/ml以上で菌体は伸長化し,3時間後には溶菌像が観察された。

2) P. aeruginosa PAO1の場合(Fig. 6)

P.~aeruginosa~PAO1にfleroxacinを作用させたところ, $0.20~\mu g/ml$ までは変化がみられなかったが, $0.39~\mu g/ml$ 以上の濃度で溶菌像が観察された。 $MIC(0.78~\mu g/ml)$ 付近でわずかに伸長化する細胞が見られたものの,ほとんどの細胞は伸長化せずに球状となり,やがて溶菌した。溶菌は, $0.78~\mu g/ml$ 以上の濃度で顕著におこった。

3) A. calcoaceticus Ac-54の場合(Fig. 7)

 $A.\ calcoaceticus\ Ac-54$ にfleroxacinを作用させたところ, $0.20\ \mu g/ml$ まで変化は見られなかったが, $0.39\ \mu g/ml$ 以

Table 5. Antibacterial spectrum against anaerobic bacteria

 (10^8 cells/ml)

•	MIC (µg/ml)							
Organism	fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA		
Clostridium tetani	0.78	0.39	1.56	0.78	0.78	25		
Clostridium perfringens	0.78	0.39	6.25	0.39	0.78	25		
Clostridium sporogenes GAI0005	25	25	50	12.5	>100	>100		
Bacteroides fragilis GM7000	6.25	6.25	50	3.13	50	>100		
Bacteroides fragilis ATCC25285	6.25	3.13	25	1.56	50	>100		
Bacteroides thetaiotaomicron 5600	25	50	50	12.5	>100	>100		
Bacteroides distasonis clin-99-3	25	12.5	50	12.5	>100	>100		
Bacteroides vulgatus ES-14	25	50	50	12.5	>100	>100		
Bacteroides ovatus Ju-6-1	50	>100	100	50	>100	>100		
Peptostreptococcus magnus ATCC14952	12.5	3.13	6.25	6.25	6.25	100		
Peptostreptococcus asaccharolyticus 14953	3.13	0.78	6.25	0.78	1.56	100		

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

Medium: GAM agar (Nissui).

Table 6. Antibacterial spectrum against anaerobic bacteria

(106 cells/ml)

						(IO CCIS/III)
Organism			MIC	(μg/ml)		
Organism	fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA
Clostridium tetani	0.39	0.20	1.56	0.39	0.78	25
Clostridium perfringens	0.78	0.39	3.13	0.39	0.78	25
Clostridium sporogenes GAI0005	25	25	25	6.25	>100	>100
Bacteroides fragilis GM7000	6.25	3.13	50	3.13	50	>100
Bacteroides fragilis ATCC25285	3.13	3.13	25	3.13	25	>100
Bacteroides thetaiotaomicron 5600	25	50	50	12.5	>100	>100
Bacteroides distasonis clin-99-3	25	12.5	50	12.5	>100	>100
Bacteroides vulgatus ES-14	25	50	50	12.5	>100	>100
Bacteroides ovatus Ju-6-1	50	>100	100	50	>100	>100
Peptostreptococcus magnus ATCC14952	12.5	1.56	6.25	6.25	6.25	50
Peptostreptococcus asaccharolyticus 14953	1.56	0.39	3.13	0.39	0.78	100

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

Medium: GAM agar (Nissui).

Table 7-1. Comparative activities of fleroxacin against clinical isolates

Organism (no. of isolates)	Drug	Range	MIC ₅₀	MIC_{90}
DMPPC-sensitive	fleroxacin	0.20 ~ 1.56	0.78	0.78
Staphylococcus aureus	ciprofloxacin	0.05 ~ 1.56	0.39	0.78
(89)	enoxacin	0.39 ~ 6.25	1.56	3.13
	ofloxacin	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
	norfloxacin	0.10 ~ 6.25	1.56	3.13
	pipemidic acid	6.25 ~>100	50	100
DMPPC-resistant	fleroxacin	0.39 ~ 3.13	0.39	3.13
Staphylococcus aureus	ciprofloxacin	0.39 ~ 6.25	0.78	3.13
(31)	enoxacin	0.78 ~ 25	3.13	12.5
	ofloxacin	0.39 ~ 1.56	0.39	1.56
	norfloxacin	0.78 25	3.13	25
	pipemidic acid	$12.5 \sim > 100$	50	>100
Staphylococcus epidermidis	fleroxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
(37)	ciprofloxacin	0.05 ~ 0.78	0.20	0.39
	enoxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	3.13
	ofloxacin	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
	norfloxacin pipemidic acid	$0.20 \sim 3.13$ $6.25 \sim > 100$	0.78 25	3.13 100
O				
Streptococcus pyogenes	fleroxacin	1.56 ~ 6.25	6.25	6.25
(23)	ciprofloxacin	0.20 ~ 0.78	0.78	0.78
	enoxacin	3.13 ~ 25	6.25	12.5
	ofloxacin norfloxacin	0.78 ~ 1.56	1.56	1.56
	pipemidic acid	0.78 ~ 3.13 >100	1.56 >100	3.13 >100
Enterococcus faecalis	fleroxacin	1.56 ~ 6.25	3.13	6.25
(29)	ciprofloxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	3.13
(20)	enoxacin	3.13 ~ 25	6.25	12.5
	ofloxacin	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13
	norfloxacin	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
	pipemidic acid	100 ~>100	>100	>100
Enterococcus avium	fleroxacin	6.25 ~ 12.5	6.25	6.25
(14)	ciprofloxacin	0.78 ~ 1.56	0.78	1.56
	enoxacin	6.25 12.5	12.5	12.5
	ofloxacin	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13
	norfloxacin	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13
	pipemidic acid	>100	>100	>100
Enterococcus faecium	fleroxacin	1.56 ~ 25	6.25	12.5
(30)	ciprofloxacin	0.39 ~ 12.5	1.56	3.13
	enoxacin ofloxacin	1.56 ~ 50	25	25
	norfloxacin	0.78 ~ 12.5 0.78 ~ 25	3.13	6.25
	pipemidic acid	>100	3.13 >100	6.25 > 100
Escherichia coli	fleroxacin	0.025~ 1.56		
(88)	ciprofloxacin	0.025 ~ 1.56 ≤0.006 ~ 0.39	0.05	0.20
(00)	enoxacin	0.05 ~ 0.59	0.025 0.10	0.05 0.39
	ofloxacin	≤0.006~ 0.78	0.10	0.39
	norfloxacin	0.013~ 1.56	0.05	0.20
	pipemidic acid	0.78 ~ 50	1.56	3.13
Klebsiella pneumoniae	fleroxacin	0.10 0.39	0.20	0.20
(60)	ciprofloxacin	0.013 ~ 0.20	0.05	0.05
	enoxacin	0.10 0.78	0.39	0.39
	ofloxacin	0.05 ~ 0.39	0.10	0.10
	norfloxacin	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
	pipemidic acid	1.56 ~ 12.5	3.13	3.13
Enterobacter cloacae	fleroxacin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.39
(29)	ciprofloxacin	0.013 ~ 0.10	0.025	0.10
	enoxacin	0.10 ~ 0.78	0.39	0.78
	ofloxacin	0.025 ~ 0.39	0.10	0.20
	norfloxacin	0.025~ 0.39	0.10	0.39
	pipemidic acid	1.56 ~ 6.25	1.56	6.25

Table 7-2. Comparative activities of fleroxacin against clinical isolates

Organism (no. of isolates)	Drug	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Enterobacter aerogenes	fleroxacin	0.20 ~ 0.39	0.20	0.39
(34)	ciprofloxacin	0.013~ 0.05	0.05	0.05
	enoxacin	0.10 ~ 0.39	0.39	0.39
	ofloxacin	0.05 ~ 0.20	0.10	0.20
	norfloxacin	0.05 ~ 0.20	0.10	0.20
	pipemidic acid	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13
Proteus vulgaris	fleroxacin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.39
(41)	ciprofloxacin	0.013~ 0.10	0.05	0.10
(11)	enoxacin	0.10 ~ 0.78	0.39	0.78
	ofloxacin	0.05 ~ 0.39	0.20	0.39
	norfloxacin		0.10	0.20
	pipemidic acid	$0.05 \sim 0.39$ $1.56 \sim 6.25$	3.13	6.25
Duration and and the				
Proteus mirabilis	fleroxacin	0.10 0.78	0.20	0.39
(29)	ciprofloxacin	0.025~ 0.10	0.05	0.10
	enoxacin	0.20 0.78	0.39	0.78
	ofloxacin	0.10 ~ 0.39	0.20	0.39
	norfloxacin	0.05 ~ 0.20	0.10	0.20
	pipemidic acid	1.56 ~ 6.25	3.13	6.25
Morganella morganii	fleroxacin	0.10 3.13	0.10	0.39
(27)	ciprofloxacin	0.013~ 1.56	0.05	0.20
	enoxacin	0.10 ~ 3.13	0.39	0.78
	ofloxacin	0.10 ~ 6.25	0.20	0.78
	norfloxacin	0.05 ~ 3.13	0.10	1.56
	pipemidic acid	1.56 ~ 25	3.13	12.5
Providencia rettgeri	fleroxacin	0.05 ~ 3.13	0.20	3.13
(17)	ciprofloxacin	≦ 0.006 ~ 0.78	0.05	0.78
	enoxacin	0.10 ~ 6.25	0.39	6.25
	ofloxacin	0.025 ~ 6.25	0.39	6.25
	norfloxacin	0.05 ~ 6.25	0.20	3.13
	pipemidic acid	1.56 ~ 50	6.25	50
Serratia marcescens	fleroxacin	0.05 ~ 25	0.39	6.25
(89)	ciprofloxacin	0.025~ 12.5	0.20	6.25
·/	enoxacin	0.10 ~ 50	0.78	25
	ofloxacin	0.10 ~ 25	0.78	12.5
	norfloxacin	0.05 ~ 50	0.20	12.5
	pipemidic acid	1.56 ~>100	6.25	>100
Pseudomonas aeruginosa	fleroxacin	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
(65)	ciprofloxacin	0.05 ~ 0.78		
(03)	enoxacin		0.20	0.39
		0.39 ~ 6.25	0.78	1.56
	ofloxacin	0.39 ~ 6.25	0.78	1.56
	norfloxacin pipemidic acid	0.20 ~ 3.13 6.25 ~ 50	0.39	0.78
			12.5	25
Acinetobacter calcoaceticus	fleroxacin	0.05 ~ 0.78	0.39	0.39
(72)	ciprofloxacin	0.013~ 3.13	0.20	0.39
	enoxacin	0.20 ~ 12.5	0.78	3.13
	ofloxacin	0.025~ 0.78	0.20	0.39
	norfloxacin	0.10 ~ 25	1.56	6.25
	pipemidic acid	$3.13 \sim > 100$	25	100
Haemophilus influenzae	fleroxacin	0.05 ~ 0.20	0.05	0.10
(22)	ciprofloxacin	≦ 0.006∼ 0.025	0.013	0.01
	enoxacin	0.10 ~ 0.20	0.20	0.20
	ofloxacin	0.025~ 0.10	0.025	0.05
	norfloxacin	0.05 ~ 0.10	0.05	0.05
	pipemidic acid	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13
Branhamella catarrhalis	fleroxacin	0.20 ~ 0.39	0.20	0.39
(19)	ciprofloxacin	0.05	0.05	0.05
	enoxacin	0.39	0.39	0.39
	ofloxacin	0.05 0.10	0.10	0.10
	norfloxacin	0.20 ~ 0.39	0.20	0.39

Table 8. Influence of various media on antibacterial activity

MIC (μg/ml)

Organism	Medium	Fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA
	HIA	0.39	0.10	0.39	0.20	0.20	6.25
2	NA	0.39	0.10	0.78	0.39	0.39	12.5
S. aureus 209-P JC	MHM	0.39	0.10	0.39	0.39	0.20	12.5
209-F JC	BHIA	0.39	0.10	0.78	0.39	0.20	12.5
	TSA	0.78	0.20	0.78	0.39	0.39	25
	HIA	0.10	0.025	0.39	0.10	0.10	1.56
E. coli NIH JC-2	NA	0.20	0.05	0.39	0.10	0.20	3.13
	MHM	0.20	0.025	0.20	0.10	0.10	3.13
NIII JC-2	BHIA	0.20	0.025	0.20	0.20	0.10	3.13
	TSA	0.20	0.05	0.39	0.20	0.20	6.25
	HIA	0.10	0.025	0.39	0.05	0.10	3.13
V businessias	NA	0.20	0.05	0.39	0.10	0.20	3.13
K. pneumoniae KC-1	MHM	0.20	0.05	0.39	0.10	0.10	3.13
KC-1	BHIA	0.10	0.025	0.20	0.10	0.10	3.13
	TSA	0.20	0.05	0.39	0.10	0.20	6.25
	HIA	1.56	0.20	0.78	1.56	0.78	12.5
P. aeruginosa	NA	1.56	0.39	1.56	3.13	1.56	25
E-2	MHM	3.13	0.39	1.56	3.13	1.56	25
D-2	BHIA	1.56	0.39	1.56	1.56	0.78	25
	TSA	1.56	0.39	1.56	3.13	1.56	50

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

Table 9. Influence of medium pH on antibacterial activity

MIC (ug/ml)

							MIC (μg/mi)
Organism	Medium	Fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA
S. aureus 209-P JC	6 7 8	0.39 0.39 0.78	0.20 0.10 0.10	1.56 0.39 0.39	0.39 0.20 0.39	0.39 0.20 0.20	12.5 12.5 12.5
E. coli NIH JC-2	6 7 8	0.20 0.10 0.20	0.10 0.025 0.0125	0.78 0.20 0.10	0.20 0.05 0.10	0.39 0.10 0.05	6.25 1.56 1.56
K. pneumoniae KC-1	6 7 8	0.20 0.10 0.20	0.20 0.025 0.0125	1.56 0.20 0.10	0.20 0.05 0.05	0.39 0.05 0.05	12.5 3.13 3.13
P. aeruginosa E-2	6 7 8	1.56 1.56 3.13	0.78 0.20 0.20	3.13 0.78 0.78	3.13 1.56 1.56	3.13 0.78 0.39	25 12.5 25

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

Table 10. Influence of horse serum on antibacterial activity

MIC (μ g/ml)

Organism	Horse serum (%)	Fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA
S. aureus 209-P JC	0 10 25 50	0.39 0.39 0.39 0.78	0.10 0.10 0.20 0.20	0.39 0.39 0.39 0.39	0.20 0.20 0.20 0.39	0.39 0.39 0.39 0.39	12.5 12.5 12.5 12.5
E. coli NIH JC-2	0 10 25 50	0.05 0.05 0.10 0.10	≤0.0063 ≤0.0063 ≤0.0063 ≤0.0063	0.05 0.05 0.05 0.05	0.025 0.025 0.025 0.025	0.025 0.025 0.025 0.025	0.78 0.78 0.78 0.78
K. pneumoniae KC-1	0 10 25 50	0.10 0.20 0.20 0.39	0.0125 0.0125 0.0125 0.0125	0.20 0.10 0.20 0.10	0.05 0.05 0.05 0.10	0.05 0.05 0.05 0.05	1.56 1.56 1.56 3.13
P. aeruginosa E-2	0 10 25 50	1.56 1.56 3.13 6.25	0.20 0.20 0.20 0.20	0.78 0.78 0.78 0.78	1.56 1.56 1.56 3.13	0.39 0.39 0.39 0.39	12.5 12.5 25 25

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

Table 11. Influence of inoculum size on antibacterial activity

 $MIC (\mu g/ml)$

							4,8,4,1
Organism	Inoculum size (cells/ml)	Fleroxacin	CPFX	ENX	OFLX	NFLX	PPA
	3.3×10^{8}	0.78	0.20	0.78	0.39	0.39	25
0	107	0.39	0.10	0.78	0.39	0.39	12.5
S. aureus	10^{6}	0.39	0.10	0.39	0.20	0.20	6.25
209-P JC	10 ⁵	0.39	0.10	0.39	0.20	0.20	6.25
	104	0.39	0.10	0.39	0.20	0.20	6.25
	7.0×10^{8}	0.20	0.05	0.39	0.10	0.10	3.13
E. coli	10 ⁷	0.20	0.05	0.39	0.10	0.10	3.13
	106	0.10	0.025	0.39	0.10	0.10	1.56
NIH JC-2	10 ⁵	0.10	0.025	0.39	0.10	0.10	1.56
	104	0.10	0.025	0.39	0.10	0.05	1.56
	2.0 × 10 ⁸	0.20	0.05	0.39	0.10	0.10	3.13
K. pneumoniae	107	0.10	0.05	0.39	0.05	0.10	3.13
KC-1	10 ⁶	0.10	0.025	0.39	0.05	0.10	3.13
	105	0.10	0.025	0.20	0.05	0.05	3.13
	104	0.10	0.025	0.20	0.05	0.05	1.56
	7.4×10^{8}	3.13	0.39	1.56	3.13	0.78	25
D assurings	107	1.56	0.20	0.78	1.56	0.78	12.5
P. aeruginosa E-2	106	1.56	0.20	0.78	1.56	0.78	12.5
Ľ-Z	105	1.56	0.20	0.78	1.56	0.39	12.5
	10 ⁴	1.56	0.20	0.78	1.56	0.39	12.5

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

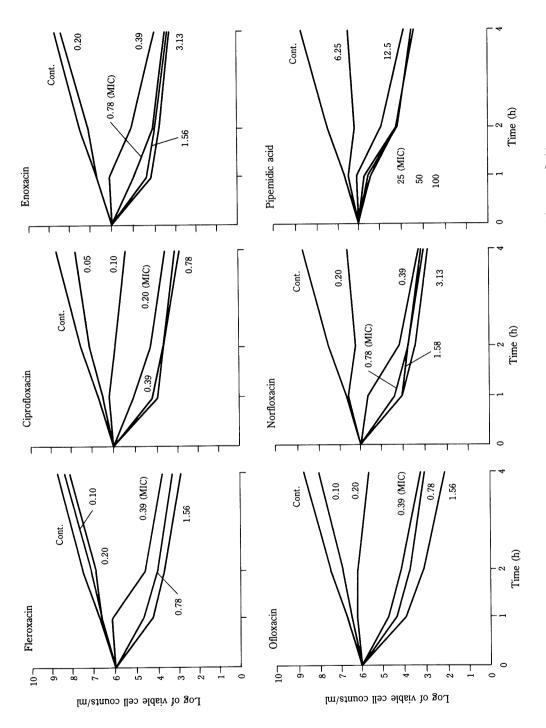


Fig. 1. Effect of fleroxacin, CPFX, ENX, OFLX, NFLX, and PPA on viability of S. aureus Smith.

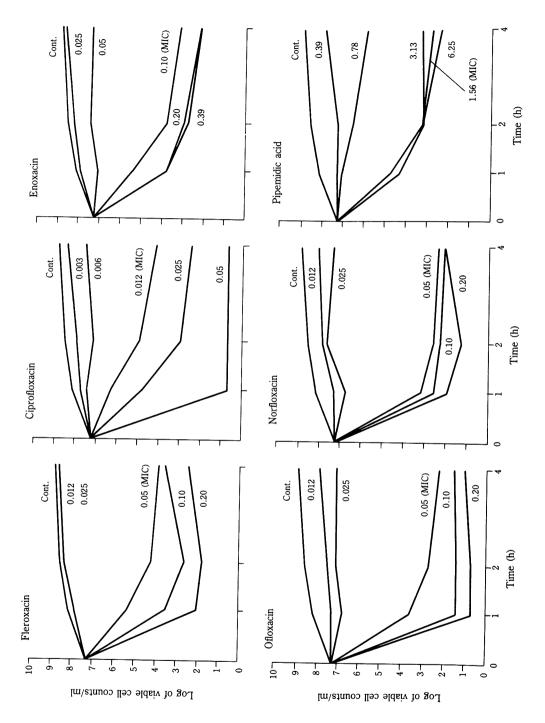


Fig. 2. Effect of fleroxacin, CPFX, ENX, OFLX, NFLX, and PPA on viability of Escherichia coli KC-14.

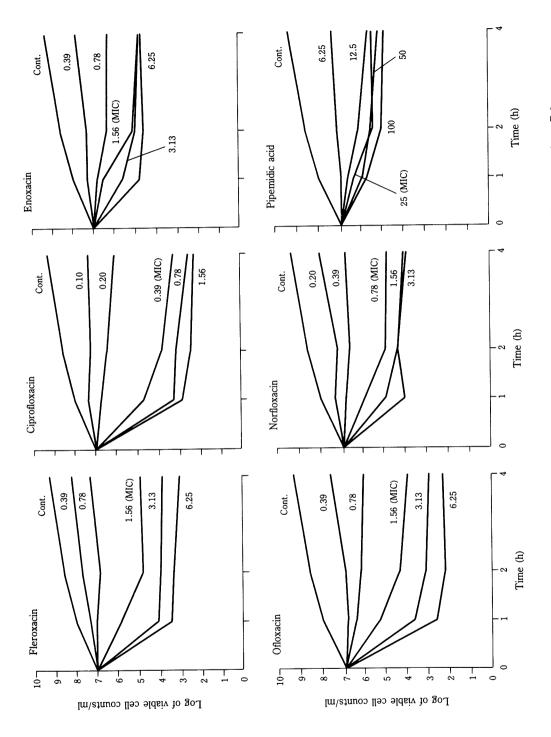


Fig. 3. Effect of fleroxacin, CPFX, ENX, OFLX, NFLX, and PPA on viability of Pseudomonas aeruginosa E-2.

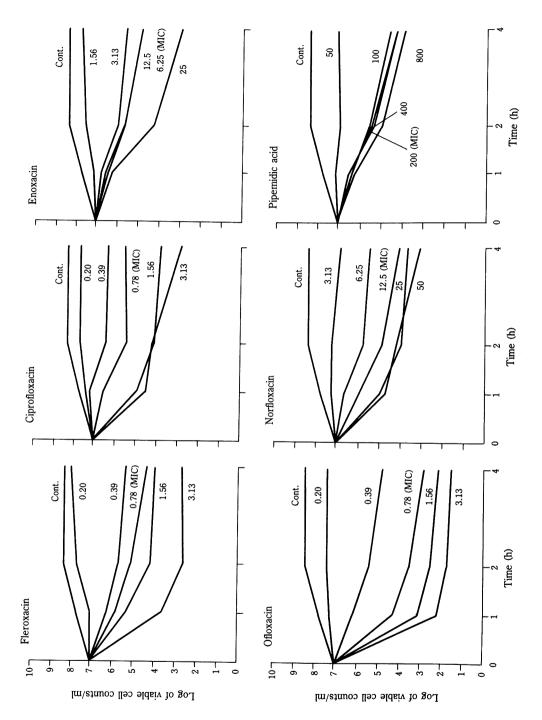


Fig. 4. Effect of fleroxacin, CPFX, ENX, OFLX, NFLX, and PPA on viability of Acinetobacter calcoaceticus Ac-54.

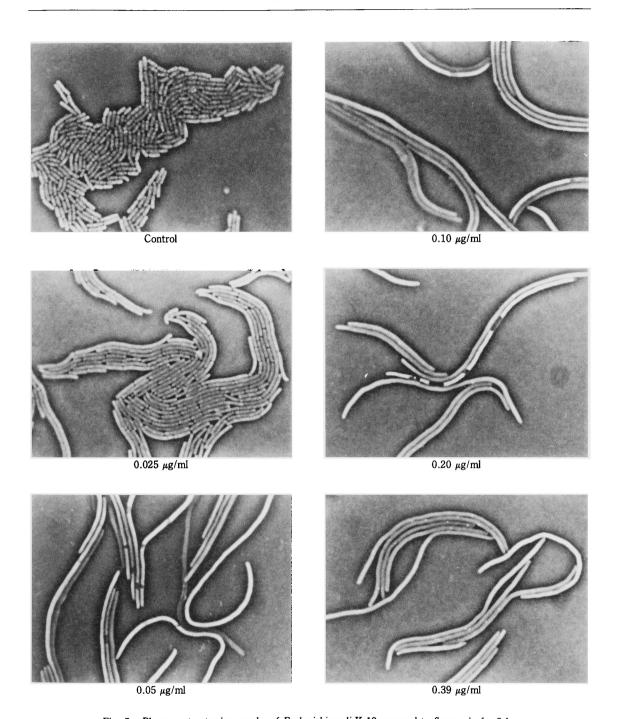


Fig. 5. Phase-contrast micrographs of Escherichia coli K-12 exposed to fleroxacin for 3 h.

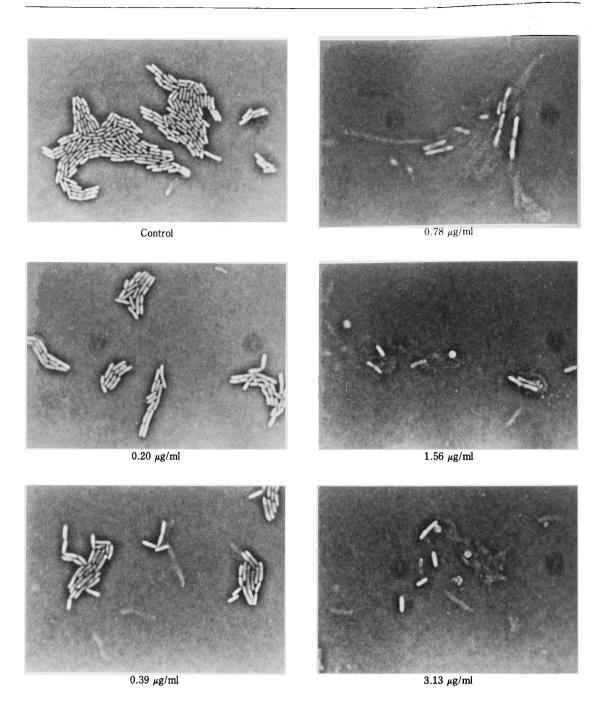


Fig. 6. Phase-contrast micrographs of Pseudomonus aeruginosa PA01 exposed to fleroxacin for 3 h.

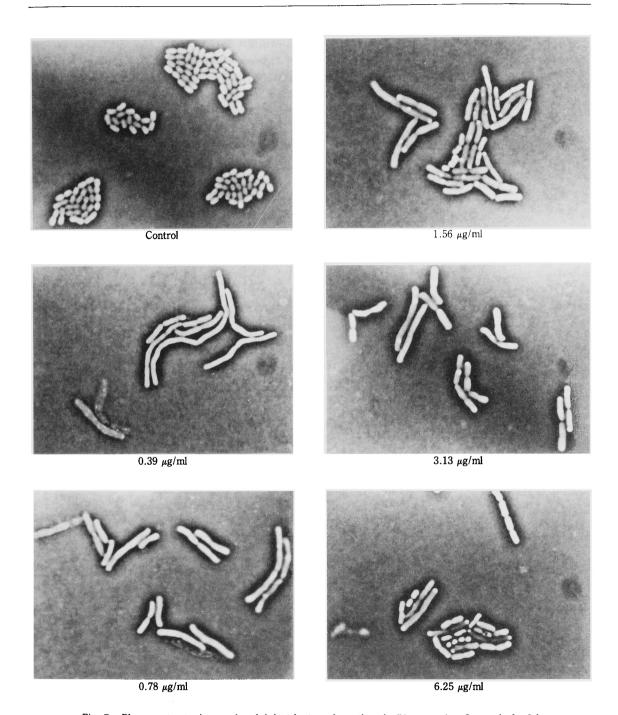


Fig. 7. Phase-contrast micrographs of Acinetobacter calcoaceticus Ac-54 exposed to fleroxacin for 3 h.

上の濃度で膨化をともなった伸長化像が観察された。また、細胞内には密度の高い顆粒が観察され、3時間後、溶菌像もみられた。

6. マウス実験的全身感染症に対する治療効果 グラム陽性菌1株とグラム陰性菌5株を用いたマウス 全身感染症に対する治療効果をTable 12に示した。

S. aureus 感染に対するfleroxacinのED50値は0.038mg/mouseであり、CPFXおよびOFLXの約2倍の効果を示した。また、ENX、NFLXと比べ4~5倍優れた効果を示した。

E. coli 感染に対するfleroxacinのED50値は0.0076mg/mouseであり、OFLXとほぼ同等の効果を示したが、

CPFXより約1.5倍強く, またENX, NFLXと比較すると 5~7倍優れていた。

K. pneumoniae 感染に対してfleroxacin は 0.015mg/mouseのEDso値を示し、その効果はCPFX、OFLXより 1.5~2倍強く、また、ENX、NFLXの6~10倍の効果を示していた。

S. marcescens 感染に対して、fleroxacin は 0.034mg/mouseのEDso値を示し、CPFX、OFLXの約2.5倍、ENX、NFLXの約5倍強い効果であった。

P. aeruginosa 感染に対する fleroxacin の EDso 値は 0.52mg/mouseで、CPFXのそれとほぼ同じであったが、ENX、OFLXと比較すると約1.5~2倍、NFLXより約3倍

Table 12. Protective effect of fleroxacin, CPFX, ENX, OFLX and NFLX against experimental infections in mice

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Drug	MIC (μg/ml)		ED ₅₀
			10 ⁸ cells/ml`	10 ⁶ cells/ml	(mg/mouse)
Staphylococcus aureus Smith	9.2 × 10 ⁶ (26LD ₅₀)	fleroxacin CPFX ENX OFLX NFLX	0.78 0.20 0.78 0.39 0.39	0.39 0.20 0.78 0.20 0.39	0.038 [0.022 ~ 0.067] 0.082 [0.057 ~ 0.115] 0.14 [0.08 ~ 0.23] 0.071 [0.053 ~ 0.094] 0.18 [0.11 ~ 0.26]
Escherichia coli KC-14	9×10^{5} (180LD ₅₀)	fleroxacin CPFX ENX OFLX NFLX	0.10 ≤0.0063 0.10 0.05 0.05	0.05 ≤0.0063 0.10 0.05 0.05	0.0076[0.0055 ~ 0.0106] 0.012 [0.010 ~ 0.014] 0.039 [0.028 ~ 0.058] 0.0069[0.0048 ~ 0.0098] 0.053 [0.036 ~ 0.077]
Klebsiella pneumoniae KC-1	8 × 10 ³ (210LD ₅₀)	fleroxacin CPFX ENX OFLX NFLX	0.10 0.0125 0.20 0.05 0.05	0.05 0.0125 0.10 0.05 0.05	0.015 [0.010~0.021] 0.023 [0.015~0.039] 0.092 [0.078~0.108] 0.030 [0.022~0.042] 0.15 [0.11~0.20]
Serratia marcescens T-55	1.8 × 10 ⁷ (18LD ₅₀)	fleroxacin CPFX ENX OFLX NFLX	0.39 0.10 0.39 0.39 0.20	0.39 0.10 0.39 0.39 0.20	0.034 [0.021 ~ 0.051] 0.086 [0.062 ~ 0.122] 0.160 [0.109 ~ 0.230] 0.087 [0.061 ~ 0.123] 0.180 [0.105 ~ 0.298]
Pseudomonas aeruginosa E-2	2.7 × 10 ⁷ (870LD ₅₀)	fleroxacin CPFX ENX OFLX NFLX	1.56 0.39 1.56 3.13 1.56	1.56 0.20 0.78 1.56 0.78	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
Acinetobacter calcoaceticus Ac-54	1.7 × 10 ⁷ (215LD ₅₀)	fleroxacin CPFX ENX OFLX NFLX	1.56 1.56 6.25 0.78 12.5	0.78 0.39 1.56 0.39 3.13	0.13 [0.09~0.18] 0.35 [0.25~0.49] 0.66 [0.50~0.86] 0.16 [0.03~0.33] >4

CPFX, ciprofloxacin; ENX, enoxacin; OFLX, ofloxacin; NFLX, norfloxacin; PPA, pipemidic acid.

^[] 95% confidence limits

優れていた。

A. calcoaceticus 感染に対して、fleroxacinのED50値は 0.13mg/mouseでOFLXとほぼ同じ効果を示した。また、CPFXと比較すると約3倍、ENXの約5倍強い効果であった。

Ⅲ. 考察

近年,キノロンカルボン酸系合成抗菌剤の開発は目覚ましく,種々の特徴を持ったキノロンカルボン酸系抗菌剤が経口薬として臨床的に用いられている。

今回, 我々は, 新しい合成化学療法剤fleroxacinのin vitroおよびin vivo抗菌力について構造類似化合物である CPFX, ENX, OFLX, NFLXおよびPPAを比較薬として検討した。

Fleroxacinは、多くのグラム陽性菌、グラム陰性菌および一部の嫌気性菌に強い抗菌作用を示し、これまでに開発されたニューキノロン剤と同様、広い抗菌スペクトラムを有していた。臨床分離株の感受性分布を見ると、fleroxacinは全体的にCPFXには劣るものの、ENX、OFLX、NFLXとほぼ同等の抗菌力を示した。最近臨床で問題となっているブドウ糖非発酵菌のA. calcoaceticus 10.111 やグラム陽性菌のDMPPC耐性S. aureus 12.131 に対し、キノロンカルボン酸系抗菌剤の中でも比較的強い抗菌力を示したことは本剤の特徴であろう。また、嫌気性菌に対しても抗菌力を有しており、嫌気性菌感染症に対する治療薬としての可能性も期待される。

Fleroxacinの抗菌力は一部の菌種において馬血清添加によりわずかに低下したが、培地の種類、培地のpH、接種菌量による影響はみられなかった。

また、fleroxacinの抗菌作用は、他のキノロンカルボン酸系抗菌剤と同様、殺菌的であり、1/2ないし1MIC以上の濃度で、用量依存的な生菌数の減少がみとめられた。

位相差顕微鏡を用いてfleroxacin作用時の菌の形態を観察したところ、E. coliでは菌の伸長化がみられたが、一方、P. aeruginosaでは伸長化はせず、スフェロプラスト様構造の形成と顕著な溶菌が観察された。また、A. calcoaceticusでは膨化を伴った伸長化が観察され菌種により形態変化に多様性が見られた。キノロンカルボン酸系抗菌剤の作用機作はDNA gyraseの阻害であることが種々の菌を用いて研究されている14.15)が、これらの形態変化の多様性と薬剤の作用メカニズムの関連を考えていくことは興味深く、更に殺菌メカニズムとあわせて今後の検討課題であると思われる。

マウスを用いた全身感染治療実験では、fleroxacinはすべての感染モデルに対し優れた効果を示した。E. coli, A. calcoaceticus感染に対しOFLXと、またP. aeruginosa感

染に対しCPFXと同程度であった以外は、fleroxacinは他の薬剤より強い効果を示しており、各種の感染症に対する有効性が証明された。Fleroxacinのin vitro抗菌力は、ENX、OFLX、NFLXと同程度であり、更にCPFXには劣っているにもかかわらず、in vivo効果がこのように優れた成績を示したことから、経口投与後の薬剤の良好な吸収性と組織移行性が示唆された。

以上の結果より,本剤は各種のグラム陽性菌,グラム 陰性菌感染症に対し良好な成績を示し,臨床における治療効果が期待されるものと思われる。

文 献

- 1) 西野武志,田中真由美,監物英男,谷野輝雄:新しい合成化学療法剤BAYo9867 (Ciprofloxacin)に関する細菌学的評価。Chemotherapy 33(S-7): 39~63, 1985
- 2) 西野武志,柏本茂樹,中澤季美,谷野輝雄: AT-2266に関する細菌学的評価。Chemotherapy 32(S-3): 43~69, 1984
- 3) 西野武志,田中真由美,河端繁勝,薮 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
- 4) 西野武志,後藤直正,石村富喜子,永田昌宏, 松野和広,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) SHIMIZU M, TAKASE Y, NAKAMURA S, KATASE H, MINAMI A, NAKATA K, KUROBE N: Pipemidic acid. Its activities against various experimental infections. Antimicrob Agents Chemother 9: 569 ~ 574, 1976
- 6) 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に関する細菌学的評価。Chemotherapy 23: 2647~2658, 1975
- 7) MIC測定法改定委員会:最小発育阻止濃度 (MIC)測定法改定について。Chemotherapy 22: 1126~1128, 1974
- 8) 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
- 9) Finney D J: Probit analysis. 3rd Ed., Cambridge University Press, Cambridge 1971
- 10) 那須 勝: Acinetobacter calcoaceticus 分離同定 と呼吸器感染症における臨床的意義 - 。臨床病 理 25:189~195, 1977
- 11) 那須良次, 山田大介, 津川昌也, 岸 幹雄, 公

- 文裕巳, 大森弘之: 複雑性尿路感染症における ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の臨床的検討。 Chemotherapy 36:317~325, 1988
- 12) 島田 馨, 安達桂子, 田中喜久子, 上条仁子, 佐々木宗男, 畠山 勤, 稲松孝思, 浦山京子: セフェムを含む多剤耐性黄色ブドウ球菌の分離 状況と41抗菌剤に対する感受性。Chemotherapy 31:835~841, 1983
- 13) 横田 健:メチシリン・セフェム耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)。医学のあゆみ 131:951~956, 1984
- 14) Sato K, Inoue Y, Yamashita S, Inoue M, Mitsuhashi S: Inhibitory effects of ofloxacin and other new pyridonecarboxylic acid against DNA gyrase isolated from Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Bacteroides fragilis. Proceeding of workshop of 14th International Congress of Chemotherapy, 1986
- 15) AOYAMA H, SATO K, FUJII T, FUJIMAKI K, INOUE M,
 MITSUHASHI S: Purification of Citrobacter freundii

 DNA gyrase and inhibition by quinolones. Antimicrob Agents Chemother 32: 104~109, 1988

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF FLEROXACIN, A NEW SYNTHETIC ANTIMICROBIAL AGENT

Takeshi Nishino, Masaki Hosaka, Kinuyo Kasanami and Shigehiro Tanaka Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University. 5, Misasaginakauchi-cho, Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan

We investigated the *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of fleroxacin, a synthetic antimicrobial agent, by comparing it with those of ciprofloxacin (CPFX), enoxacin (ENX), ofloxacin (OFLX), norfloxacin (NFLX) and pipemidic acid (PPA). The results were as follows:

- 1. Fleroxacin showed a broad spectrum against Gram-positive and -negative bacteria, including anaerobes. The antibacterial activity of fleroxacin was almost equal to those of ENX and NFLX against Gram-positive bacteria, those of ENX, OFLX and NFLX against Gram-negative bacteria, and those of CPFX and OFLX against anaerobes. Fleroxacin showed higher activity than PPA against all species tested.
- 2. The antibacterial activity of fleroxacin was not affected by the kind of medium, the pH of the medium or inoculum size. The addition of horse serum enhanced the MIC values against some species.
 - 3. The bactericidal activity of fleroxacin was dose-dependent.
- 4. As for morphological alterations in bacteria treated with fleroxacin, elongation and lysis were observed in *Escherichia coli*. In *Pseudomonas aeruginosa*, however, scarcely any elongation was noted, though spheroplast-like structures and lysis were observed. Fleroxacin caused the formation of elongated swollen cells in *Acinetobacter calcoaceticus*.
- 5. The therapeutic efficacy of fleroxacin was equal or superior to those of CPFX, ENX, OFLX and NFLX against all the experimental systemic infections tested in mice.