

## 新キノロン系抗菌剤Fleroxacinの尿中代謝物の*in vitro*及び*in vivo*抗菌力

庭田 寧・青山 博・平井敬二・鈴江清吾  
杏林製薬株式会社 中央研究所\*

Fleroxacinのヒト尿中主代謝物であるデメチル体とN-オキシド体の*in vitro*および*in vivo*抗菌力を検討した。デメチル体はfleroxacinとほぼ同等の抗菌力を示したが、グラム陽性菌に対しては劣っていた。N-オキシド体はほとんど抗菌力を示さなかった。皮下投与によるデメチル体の大腸菌および緑膿菌マウス全身感染症に対する効果は、fleroxacinとほぼ同等であった。

**Key words:** Fleroxacin, 代謝物, *in vitro*抗菌力, *in vivo*抗菌力

新キノロン系抗菌剤fleroxacinの主たるヒト尿中代謝物としては、demethyl fleroxacin(デメチル体)及びfleroxacin N-oxide(N-オキシド体)が知られている<sup>1)</sup>。今回、我々は、これらの代謝物の抗菌スペクトル及び各種臨床分離株に対する*in vitro*抗菌力とマウス全身感染に対する治療効果を検討し、未変化体であるfleroxacinと比較した(Fig. 1)。

Fleroxacin, デメチル体及びN-オキシド体は杏林製薬株式会社で合成されたものを用いた。

*In vitro*抗菌力の測定は日本化学療法学会のMIC測定法<sup>2)</sup>及び同学会の嫌気性菌のMIC測定法<sup>3)</sup>に準じて行った。なお、測定には、杏林製薬株式会社中央研究所保存の標準菌株及び臨床分離株を用いた。

マウス全身感染治療効果は、*Staphylococcus aureus* Smith, *Escherichia coli* ML4707, *Pseudomonas aeruginosa* HD1210による感染モデル<sup>4)</sup>を用いて検討した。すなわち、ICR系雄マウスに各菌の所定量を腹腔内接種し、その1時間後に薬物を経口あるいは皮下投与した。効果は、7日後のマウス生存率からProbit法によりED<sub>50</sub>(mg/kg)値を算出して判定した。

尿中代謝物であるデメチル体とN-オキシド体の抗菌スペクトルをTable 1に示した。デメチル体は、グラム陽性菌及びグラム陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトルを示し、ブドウ球菌に対する抗菌力はfleroxacinに比べて多少劣るものの、グラム陰性菌にはfleroxacinとほぼ同等の抗菌力を示した。一方、N-オキシド体はほとんど抗菌活性を示さなかった。この結果、デメチル体が活性代謝物であることが判明したので臨床分離株に対する抗菌力及びマウス全身感染治療効果の検討は、デメチル体について行った。

臨床分離株に対するデメチル体及びfleroxacinの抗菌力をTable 2に示した。デメチル体はブドウ球菌に対し、1.56~6.25 µg/mlのMICを示し、その抗菌力はfleroxacin

に比べ劣っていた。Enterococci及びレンサ球菌に対する活性は、ブドウ球菌に対するそれに比べ弱く、MICは3.13~50 µg/mlであった。*E. coli*をはじめとする腸内細菌に対して、デメチル体はfleroxacinとほぼ同等の抗菌力を示し、*Klebsiella pneumoniae*と*Serratia* spp.を除くすべての菌株の発育を1 µg/ml以下の濃度で抑制した。*P. aeruginosa*に対するデメチル体の抗菌力は、fleroxacinに比べ2倍強くMIC<sub>90</sub>値は1.56 µg/mlであった。ブドウ糖非

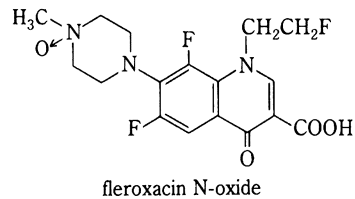
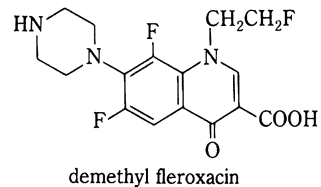
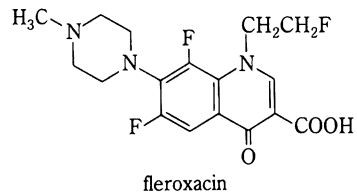


Fig. 1. Chemical structures of fleroxacin and its metabolites.

\* 〒329-01 栃木県下都賀郡野木町御手洗2399-1

発酵菌である *Acinetobacter* spp. 及び *Alcaligenes* spp. に対してはデメチル体はあまり強い活性を示さず、その抗菌力は fleroxacin に比べ明らかに劣っていた。 *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* 及び *Branhamella catarrhalis* に対するデメチル体の MIC<sub>90</sub> 値はそれぞれ 0.20, 0.05, 0.78 µg/ml であり、 fleroxacin とほぼ同等か、やや劣っていた。 *Campylobacter jejuni* に対するデメチル体の抗菌力は fleroxacin とほぼ同等であったが、 *Bacteroides* spp. に対しては、 MIC<sub>90</sub> 値が 50 µg/ml であり、その抗菌力は fleroxacin より劣っていた。また、 NA-resistant enterobacteriaceae に対して、デメチル体は、 fleroxacin とほぼ同等の抗菌力を示した。

デメチル体のマウス全身感染に対する治療効果を経口及び皮下投与により検討し、その結果を Table 3 に示した。 *S. aureus* Smith 感染に対してデメチル体は、経口投与では効果を示さなかったが、皮下投与により 13mg/kg の ED<sub>50</sub> 値を示した。この値は、 fleroxacin の ED<sub>50</sub> 値 2.4mg/kg に比べ約 5 倍高く、 *in vitro* 抗菌力とほぼ相関していた。 *E. coli* ML4707 による感染に対しデメチル体は

経口投与で 4.8mg/kg、皮下投与で 0.42mg/kg の ED<sub>50</sub> 値を示した。一方、 fleroxacin は、経口投与で 0.57mg/kg とデメチル体に比べ優れた効果を示したが、皮下投与ではデメチル体とほぼ同等の効果であった。また、 *P. aeruginosa* 感染に対しても、デメチル体の効果は、経口投与で 47mg/kg、皮下投与で 8.8mg/kg であったのに対し、 fleroxacin のそれは経口投与で 9.3mg/kg、皮下投与で 10mg/kg と、 *E. coli* 感染の場合と同様な傾向を示した。デメチル体は、経口での吸収性は悪いが、皮下投与のように直接体内に投与すればその *in vitro* 抗菌力をよく反映した治療効果を示すと考えられた。

Fleroxacin 200mg をヒトに経口投与したときの尿中へのデメチル体の排泄率は、72 時間後までに約 6% であり、一方、未変化体は約 77% であることが報告されている<sup>5)</sup>。したがって、デメチル体の治療効果への寄与はそれほど高くはないと考えられるが、今回の *in vitro* 及び *in vivo* の実験結果から、生体内で変換されたデメチル体は fleroxacin の治療効果に何らかの形でよい影響を与えていると考えられた。

Table 1. Antibacterial activity of fleroxacin and its metabolites

Organism	MIC (µg/ml)		
	fleroxacin	demethyl fleroxacin	fleroxacin N-oxide
<i>Bacillus subtilis</i> PCI219	0.10	0.39	100
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	0.10	1.56	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> IID670	0.39	1.56	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IID866	0.78	1.56	>100
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.05	0.025	12.5
<i>Escherichia coli</i> ATCC10536	0.05	0.05	50
<i>Proteus vulgaris</i> IFO3167	0.05	0.05	25
<i>Proteus mirabilis</i> IID994	0.05	0.05	25
<i>Morganella morganii</i> IID602	0.05	0.10	100
<i>Enterobacter cloacae</i> IID977	0.10	0.10	>100
<i>Citrobacter freundii</i> IID976	0.05	0.05	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> GN6445	0.05	0.05	100
<i>Salmonella enteritidis</i> IID604	0.10	0.10	100
<i>Shigella sonnei</i> IID969	0.05	0.05	50
<i>Yersinia enterocolitica</i> IID981	0.10	0.10	100
<i>Serratia marcescens</i> IID618	0.10	0.10	50
<i>Serratia marcescens</i> GN7577	3.13	3.13	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> V-1	0.39	0.39	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO12689	1.56	1.56	>100
<i>Acinetobacter anitratus</i> IID876	0.05	0.20	>100
<i>Alcaligenes faecalis</i> 0114002	0.39	3.13	>100

Table 2. Comparison of antibacterial activity of demethyl fleroxacin and fleroxacin against clinical isolates

Organism (no. of isolates)	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
<i>Staphylococcus aureus</i> (20)	demethyl fleroxacin	1.56 ~ 6.25	3.13	6.25
	floxacin	0.39 ~ 0.78	0.78	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (11)	demethyl fleroxacin	1.56 ~ 3.13	1.56	3.13
	floxacin	0.20 ~ 0.78	0.78	0.78
<i>Enterococcus faecalis</i> (5)	demethyl fleroxacin	12.5		
	floxacin	3.13 ~ 6.25		
<i>Streptococcus pyogenes</i> (6)	demethyl fleroxacin	3.13		
	floxacin	3.13 ~ 6.25		
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (6)	demethyl fleroxacin	25 ~ 50		
	floxacin	12.5		
<i>Streptococcus agalactiae</i> (6)	demethyl fleroxacin	3.13 ~ 12.5		
	floxacin	6.25 ~ 12.5		
<i>Escherichia coli</i> (26)	demethyl fleroxacin	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
	floxacin	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (25)	demethyl fleroxacin	0.10 ~ 1.56	0.10	0.78
	floxacin	0.10 ~ 1.56	0.20	1.56
<i>Proteus mirabilis</i> (9)	demethyl fleroxacin	0.10 ~ 0.20		
	floxacin	0.10 ~ 0.20		
<i>Proteus vulgaris</i> (6)	demethyl fleroxacin	0.05 ~ 0.10		
	floxacin	0.05 ~ 0.10		
<i>Morganella morganii</i> (8)	demethyl fleroxacin	0.05 ~ 0.10		
	floxacin	0.05 ~ 0.10		
<i>Enterobacter</i> spp. (15)	demethyl fleroxacin	0.05 ~ 0.78	0.05	0.78
	floxacin	0.05 ~ 0.78	0.10	0.39
<i>Citrobacter freundii</i> (9)	demethyl fleroxacin	0.05 ~ 0.39		
	floxacin	0.05 ~ 0.39		
<i>Serratia</i> spp. (26)	demethyl fleroxacin	0.10 ~ 50	3.13	25
	floxacin	0.20 ~ 25	3.13	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (31)	demethyl fleroxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	floxacin	0.78 ~ 6.25	1.56	3.13
<i>Acinetobacter</i> spp. (13)	demethyl fleroxacin	0.78 ~ 25	6.25	25
	floxacin	0.20 ~ 1.56	0.39	1.56
<i>Alcaligenes</i> spp. (10)	demethyl fleroxacin	0.78 ~ 100	25	100
	floxacin	0.78 ~ 6.25	3.13	6.25
<i>Haemophilus influenzae</i> (25)	demethyl fleroxacin	0.05 ~ 0.39	0.10	0.20
	floxacin	0.025 ~ 0.20	0.10	0.10
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (13)	demethyl fleroxacin	0.0125 ~ 0.05	0.025	0.05
	floxacin	0.0125 ~ 0.10	0.025	0.05
<i>Branhamella catarrhalis</i> (21)	demethyl fleroxacin	0.39 ~ 0.78	0.78	0.78
	floxacin	0.10 ~ 0.20	0.20	0.20
<i>Campylobacter jejuni</i> (21)	demethyl fleroxacin	0.39 ~ 3.13	0.78	1.56
	floxacin	0.20 ~ 0.78	0.39	0.78
<i>Bacteroides</i> spp. (17)	demethyl fleroxacin	50	50	50
	floxacin	6.25 ~ 12.5	6.25	6.25
Nalidixic acid-resistant enterobacteriaceae (19)	demethyl fleroxacin	0.39 ~ 100	3.13	25
	floxacin	0.39 ~ 50	1.56	25
	nalidixic acid	50 ~ > 1600	1600	> 1600

Table 3. Therapeutic effect of demethyl fleroxacin and fleroxacin against systemic infection in mice

Organism (inoculum size: CFU/mouse) <sup>a</sup>	Drug <sup>b</sup>	MIC <sup>c</sup> ( $\mu\text{g/ml}$ )	Route	ED <sub>50</sub> (mg/kg) (95% confidence limits)
<i>S. aureus</i> SMITH $9.8 \times 10^6$ (+ mucin)	demethyl fleroxacin	6.25	p.o. s.c.	>100 13 ( 9.3~19 )
	fleroxacin	0.39	p.o. s.c.	6.7 ( 4.8~10 ) 2.4 ( 1.7~3.6 )
<i>E. coli</i> ML4707 $9.8 \times 10^6$	demethyl fleroxacin	0.05	p.o. s.c.	4.8 ( 3.5~6.6 ) 0.42 (0.25~0.69)
	fleroxacin	0.05	p.o. s.c.	0.57 (0.37~0.95) 0.37 (0.26~0.55)
<i>P. aeruginosa</i> IID1210 $5.5 \times 10^9$ (+ mucin)	demethyl fleroxacin	1.56	p.o. s.c.	47 ( 31~76 ) 8.8 ( 5.1~26 )
	fleroxacin	1.56	p.o. s.c.	9.3 ( 5.3~17 ) 10 ( 7.5~16 )

a: Mice were infected intraperitoneally with the test organism.

b: Each drug was administered 1 h after infection.

c: Agar dilution method; inoculum size, 5  $\mu\text{l}$  of  $10^6$  CFU/ml.

### 文 献

- 川原富美男, 大家 毅, 永津芳雄, 内田 広: 新キノロン系抗菌剤Fleroxacinのヒト及び各種実験動物における代謝. *Chemotherapy* 38(S-2): 122~134, 1990
- 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改定について. *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 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
- HIRAI K, AOYAMA H, HOSAKA M, OOMORI Y, NIWATA Y, SUZUE S, IRIKURA T: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of AM-833, a new quinolone derivative. *Antimicrob Agents Chemother* 29: 1059~1066, 1986
- 中島光好, 植松俊彦, 滝口祥令, 水野淳宏, 板谷武彦, 金丸光隆, 川原富美男, 大家 毅, 斉藤静樹, 保坂雅喜, 内田 広, 増澤国泰: Fleroxacinの第1相臨床試験 I. *Chemotherapy* 38(S-2): 280~311, 1990

## IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF URINARY METABOLITES OF FLEROXACIN

YASUSHI NIWATA, HIROSHI AOYAMA, KEIJI HIRAI and SEIGO SUZUE

Central Research Laboratories, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.

2399-1 Mitarai, Nogi-machi, Shimotsuga-gun, Tochigi 329-01, Japan

We compared the antibacterial activity of human urinary metabolites of fleroxacin, demethyl fleroxacin and fleroxacin N-oxide, with that of fleroxacin.

Antibacterial activity of demethyl fleroxacin was comparable to that of fleroxacin against various bacteria except Gram-positive bacteria, but fleroxacin N-oxide was inactive.

The *in vivo* antibacterial activity of demethyl fleroxacin against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* systemic infections in mice was almost equal to fleroxacin when administered subcutaneously.