

Garenoxacin の *in vitro* 抗菌活性

高畑 正裕・福田 淑子・二口 直子・杉浦 陽子・久田 晴美
水永 真吾・大懸 直子・伊東 優子・新村 裕子・中谷 雅年
田中 知暁・米納 孝・神山 朋子・満山 順一・藤堂 洋三

富山化学工業株式会社総合研究所*

(平成 19 年 4 月 27 日受付・平成 19 年 7 月 18 日受理)

新規 des-F(6)-quinolone 系抗菌薬 garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) の *in vitro* 抗菌活性を検討し、以下の成績を得た。

- ①GRNX は好気性、通性嫌気性および偏性嫌気性のグラム陽性菌ならびにグラム陰性菌、さらには *Chlamydia* spp., *Mycoplasma pneumoniae* および *Legionella* spp. に対して幅広い抗菌スペクトルを示した。
- ②好気性および通性嫌気性グラム陽性菌の各種新鮮臨床分離株に対する GRNX の抗菌活性は強く、メチシリン感受性 *Staphylococcus aureus* (MSSA), ペニシリン耐性 *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) を含む *Streptococcus* 属に対する MIC₉₀ は 0.05~0.1 μg/mL で levofloxacin (LVFX), gatifloxacin (GFLX), moxifloxacin (MFLX), ciprofloxacin (CPFX) および tosufloxacin (TFLX) の 1/2~1/32 であった。
- ③好気性および通性嫌気性グラム陰性菌のうち、呼吸器および耳鼻咽喉科領域感染症の主要起炎菌である *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* および *Klebsiella pneumoniae* に対する GRNX の MIC₉₀ は 0.025~1.56 μg/mL であり、比較したフルオロキノロン系抗菌薬の 1/2~4 倍であった。
- ④GRNX の *Chlamydophila pneumoniae* に対する MIC は 0.002~0.008 μg/mL, *M. pneumoniae* に対する MIC₉₀ は 0.0313 μg/mL で、いずれも比較したキノロン系抗菌薬中、最も低かった。*Legionella pneumophila* に対する GRNX の MIC₉₀ は 0.0039 μg/mL で GFLX と同値、他のフルオロキノロン系抗菌薬の 1/4 であった。
- ⑤GRNX の抗菌活性は培地の種類、培地 pH, ヒト血清添加および接種菌量の影響をほとんど受けなかった。
- ⑥GRNX の抗菌作用は殺菌的であった。また、キノロン耐性菌を含む *S. aureus* および *S. pneumoniae* における mutant prevention concentration (MPC) は 1 μg/mL 以下で、LVFX および GFLX より低かった。
- ⑦GRNX は *S. aureus* および *S. pneumoniae* の DNA ジャイレースあるいはトポイソメラーゼ IV を LVFX および GFLX より強く阻害した。
- ⑧ヒト 400 mg 単回経口投与時に相当する血中濃度を再現した *in vitro* pharmacokinetic (PK) モデルにおいて、GRNX はキノロン耐性 *S. pneumoniae* に対し強い殺菌効果を示した。

Key words: garenoxacin, *in vitro*, antimicrobial activity

Garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) は、富山化学工業株式会社に創製された新規な des-F(6)-quinolone 系抗菌薬である。GRNX にはこれまで上市されたフルオロキノロン系抗菌薬に共通の置換基である 6 位フッ素がなく、新規な化学構造を有している。GRNX は広範な抗菌スペクトルを有しており、非定型菌を含む呼吸器感染症の多くの起炎菌に優れた抗菌活性を示すと同時に、グラム陽性菌に対して従来のフルオロキノロン系抗菌薬よりも強い活性を保有することが報告されている^{1,2)}。また、キノロン系抗菌薬は他系統抗菌薬と交叉耐

性を示さないことから、臨床的に問題となっているグラム陽性菌の β-ラクタム系抗菌薬およびマクロライド系抗菌薬耐性菌に対する GRNX の強い抗菌活性が期待されている。

今回、GRNX の *in vitro* 抗菌活性を明らかにするため、国内で分離された新鮮臨床分離株に対する MIC を測定し、フルオロキノロン系抗菌薬の levofloxacin (LVFX), gatifloxacin (GFLX), moxifloxacin (MFLX), ciprofloxacin (CPFX) および tosufloxacin (TFLX) と、また一部の菌種では clarithromycin (CAM), telithromycin (TEL) および他の抗菌薬とも

比較した。また、 β -ラクタム系抗菌薬耐性やマクロライド系抗菌薬耐性などの各種薬剤耐性菌に対する抗菌活性、抗菌活性に及ぼす諸因子の影響、殺菌作用、試験管内耐性獲得、mutant prevention concentration (MPC)、標的酵素に対する阻害活性および *in vitro* pharmacokinetic (PK) モデルにおける殺菌効果について検討したので報告する。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

富山化学工業株式会社総合研究所保存の各種好気性、通性嫌気性、偏性嫌気性のグラム陽性および陰性菌、*Chlamydia* spp., *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella* spp. の標準株、ならびに2000~2005年に国内で分離された新鮮臨床分離株を用いた。また、LVFX中等度耐性あるいは耐性のメチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant *S. aureus*: MRSA)³⁾、ペニシリン中等度耐性 *Streptococcus pneumoniae* (penicillin-intermediate *S. pneumoniae*: PISP)³⁾ あるいはペニシリン耐性 *S. pneumoniae* (penicillin-resistant *S. pneumoniae*: PRSP)³⁾、マクロライド耐性³⁾の PISP、同 PRSP、また、多剤耐性 PRSP (erythromycin (EM), cefuroxime (CXM), penicillin G (PCG) および tetracycline (TC) の4薬剤に耐性³⁾、LVFX耐性 *S. pneumoniae*、vancomycin (VCM)耐性 *Enterococcus faecalis*³⁾などの各種薬剤耐性菌を用いた。

2. 使用薬剤

GRNX (富山化学工業株式会社合成品)、LVFX (LKT Laboratories, Inc.), GFLX (杏林製薬株式会社、市販錠剤からの抽出品)、MFLX (塩野義製薬株式会社、市販錠剤からの抽出品)、CPFX (LKT Laboratories, Inc.), TFLX (富山化学工業株式会社合成品)、CAM (LKT Laboratories, Inc.), EM (大日本住友製薬株式会社)、azithromycin (AZM: LKT Laboratories, Inc.), TEL (アベンティスファーマ株式会社、市販錠剤からの抽出品)、CXM (Sigma), teicoplanin (TEIC: アベンティスファーマ株式会社)、TC (Sigma)、および rifampicin (RFP: Sigma)を用いた。また、各種薬剤耐性菌の分離、確認に PCG (万有製薬株式会社)、oxacillin (MIPC: Sigma)、VCM (日本イーライリリー株式会社)、ampicillin (ABPC: Sigma)、imipenem/cilastatin (IPM/CS: 万有製薬株式会社)を用いた。いずれの薬剤も純度あるいは含量が明らかなものを使用し、濃度は活性本体の値として表示した。

3. 最小発育阻止濃度の測定

各種好気性、通性嫌気性および偏性嫌気性のグラム陽性、陰性菌に対する GRNX および対照薬の最小発育阻止濃度 (MIC) は日本化学療法学会標準法の寒天平板希釈法^{4,5)}に準じて測定した。各種好気性および通性嫌気性菌では前培養培地に Mueller-Hinton broth (MHB: Difco) を、測定培地には Mueller-Hinton agar (MHA: Difco) を、偏性嫌気性菌では前培養培地に GAM broth,

Modified "Nissui" (変法 GAMB: 日水製薬)、測定培地には GAM agar, Modified "Nissui" (変法 GAMA: 日水製薬) を用いた。

なお、*S. pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* および *Moraxella catarrhalis* の場合は、前培養培地に5% 綿羊脱繊維血液 (日本バイオテスト研究所)加 MHB を、測定培地に5% 綿羊脱繊維血液加 MHA を用いた。*Haemophilus influenzae* では前培養培地に5% 馬溶血液 (日本バイオテスト研究所)加 Brain Heart Infusion broth (BHIB: 栄研化学)、測定培地に5% 馬脱繊維血液 (日本バイオテスト研究所)加 BHIA を用いた。なお、*S. pneumoniae* および *H. influenzae* の一部の試験では National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS: 現 Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) の微量液体希釈法⁶⁾に準じて GRNX および対照薬の抗菌活性を測定した。

Chlamydia spp.に対する抗菌活性は HEp-2 cell および HeLa229 cell を用い、日本化学療法学会標準法のクラミジア MIC 測定法⁷⁾に準じて測定した。*M. pneumoniae* に対する抗菌活性は30% Mycoplasma Supplements S (Difco)、0.5% ブドウ糖 (和光純薬) および0.002% フェノールレッド (東京化成)加 PPLO 液体培地 (Difco) を用い、微量液体希釈法 (フェノールレッド法)⁸⁾で測定した。*Legionella* spp.に対する抗菌活性は BSYE 液体培地 [1% Yeast extract (Difco), 1% ACES (同仁化学), 0.25% KOH, 0.5% L-グルタミン酸ナトリウム (和光純薬), 1.5% 可溶性スターチ (ナカライテスク)をオートクレーブ滅菌後、レジオネラアガーエンリッチメント (Difco) を加え、1 mol/L KOH で pH6.90 \pm 0.10 に調整]を用い、微量液体希釈法^{9,10)}で測定した。

4. 抗菌活性に及ぼす諸因子の影響

S. aureus IFO 12732, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 および *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 を用い、GRNX および LVFX の MIC を日本化学療法学会標準法の微量液体希釈法¹⁰⁾に準じて測定した。

1) 培地種類の影響

カチオン調整 MHB (CAMHB)、Heart infusion broth (HIB: 栄研化学) Nutrient broth (NB: Difco) および BHIB を用い測定した。ただし、*S. pneumoniae* ATCC 49619 の場合は各培地に5% 馬溶血液を加え用いた。

2) 培地 pH の影響

1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液もしくは1 mol/L 塩酸で pH を 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 および 8.0 に調整した CAMHB もしくは5% 馬溶血液加 CAMHB を用い測定した。

3) ヒト血清添加の影響

ヒト血清を終濃度が5% および10% となるように添加した CAMHB もしくは BHIB を用い測定した。

4) カルシウムイオン、マグネシウムイオン添加の影響

1, 2, 4, 8, 16 および 32 mmol/L の塩化カルシウム (カルシウムイオン) もしくは塩化マグネシウム (マグネシウムイオン) を含む MHB もしくは 5% 馬溶血液加 MHB を用い測定した。

5) 接種菌量の影響

MHA もしくは 5% 綿羊脱繊維血液加 MHA を用い、 10^4 , 10^6 , 10^8 CFU/mL 接種時の抗菌活性を測定した。

5. 殺菌作用

1) MIC-MBC (minimum bactericidal concentration)

S. aureus IFO 12732, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *K. pneumoniae* ATCC 10031 および *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する GRNX および対照薬の抗菌活性を日本化学療法学会標準法の微量液体希釈法¹⁰⁾に準じて測定した。MIC 判定後、マイクロプレートの各ウェルより $5 \mu\text{L}$ の菌液を採取し、これを MHA もしくは 5% 綿羊脱繊維血液加 MHA に塗布し、 37°C で 20 時間培養した。菌の生育がみられない最小濃度を MBC とした。

2) 生育曲線に及ぼす影響

S. aureus F-1479 (MRSA), *S. pneumoniae* D-1714 (PRSP) および *M. pneumoniae* FH に 1/4, 1/2, 1, 2 および 4 MIC の GRNX および対照薬を作用させ、経時的に生菌数を測定した。

6. 耐性化に関する検討

1) 試験管内耐性獲得

S. aureus IFO 12732, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *K. pneumoniae* ATCC 10031 および *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する GRNX, GFLX および LVFX の MIC を微量液体希釈法で測定した。肉眼的に薬物を含まないウェルと同程度の生育を示した最高薬物濃度の培養液を、滅菌生理食塩液で約 10^7 CFU/mL に適宜希釈して接種菌液とし、MIC を測定した。同様の操作を 7 回繰り返し、7 代継代までの菌の MIC を測定して、各薬物の MIC 上昇の程度を調べた。

2) MPC

DNA ジャイレースもしくはトポイソメラーゼ IV のキノロン耐性決定領域 (quinolone-resistance determining region: QRDR) に変異を有する *S. aureus* および *S. pneumoniae* のキノロン低感受性株および変異のないそれぞれの感受性株を用い、GRNX, LVFX および GFLX の MPC を測定した。すなわち、薬物を含む感受性測定寒天平板に 10^{11} CFU/mL 相当に調製した菌液の 0.1 mL を接種し、 37°C で 72 時間培養後、コロニーが出現しない最小濃度を MPC とした。

7. 作用機序

S. aureus ATCC 25923 および *S. pneumoniae* R6 由来の DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV に対する GRNX の阻害の程度を LVFX, GFLX および CPFX

とともに調べた。両酵素は *gyrA*, *gyrB*, *grlA/parC* および *grlB/parE* をクローニングした *Escherichia coli* DH5 α 形質転換株のプラスミド由来組換え蛋白質を Ince らの方法¹¹⁾を一部改変し精製することで得た。DNA ジャイレースの場合には弛緩型 pBR322 DNA (TopoGEN) を基質として用い、スーパーコイル活性に対する 50% 阻害濃度 (IC₅₀) を測定した。DNA トポイソメラーゼ IV の場合にはキネトプラスチ DNA (TopoGEN, ニッポンジーン) を基質として用い、デカテネーション活性に対する IC₅₀ を測定した。

8. *In vitro* PK モデルにおけるキノロン耐性 *S. pneumoniae* に対する殺菌効果

臨床第 I 相試験より算出された GRNX 400 mg 単回経口投与時の各薬動学的パラメータに基づき、オートシミュレーションシステム PASS-400 (大日本精機) で血清中 total 濃度推移および free 体濃度推移を再現した。本 *in vitro* PK モデルにおけるキノロン耐性 *S. pneumoniae* D-1687 (GyrA: ⁸¹Ser→Phe, ParC: ⁸³Asp→Tyr, ¹³⁷Lys→Asn, GRNX MIC: 0.628 $\mu\text{g}/\text{mL}$) に対する GRNX の殺菌効果を検討した。なお、本菌に対する GRNX の MIC は薬剤を 1.2 倍希釈する方法で決定した。

II. 結 果

1. 抗菌スペクトル

各菌種に対する抗菌スペクトルを Tables 1~5 に示す。好気性および通性嫌気性グラム陽性菌 10 菌種 11 株に対する GRNX の MIC は 0.025~0.78 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 同グラム陰性菌 20 菌種 21 株に対する GRNX の MIC は 0.00313~12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 偏性嫌気性グラム陽性菌 12 菌種 13 株に対する GRNX の MIC は 0.1~3.13 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 偏性嫌気性グラム陰性菌 7 菌種 7 株に対する GRNX の MIC は 0.05~0.78 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。GRNX は比較したキノロン系抗菌薬および TC と同様に幅広い抗菌スペクトルを示した。また、*Chlamydomydia pneumoniae*, *Chlamydomydia psittaci*, *Chlamydia trachomatis*, *M. pneumoniae* および *Legionella* spp. に対する GRNX の MIC はそれぞれ 0.008, 0.002, 0.016, 0.0313 および 0.0039~0.0313 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、他のキノロン系抗菌薬に比べ、*Legionella* spp. では同程度、他の菌種では強い抗菌活性を示した。

2. 新鮮臨床分離株に対する抗菌活性

各種新鮮臨床分離株に対する GRNX および対照薬の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ を Table 6 に示す。

1) メチシリン感受性 *S. aureus* (Methicillin-susceptible *S. aureus*: MSSA)

MSSA 90 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は、0.0125~1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、MIC₉₀ は対照薬の 1/2~<1/2,048 で、すべての対照薬に比べ最も低かった。

Table 1. Antibacterial spectrum of GRNX against Gram-positive and Gram-negative aerobic bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/mL}$)								
	GRNX	LVFX	GFLX	MFLX	CPFX	TFLX	CAM	TEL	TC
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	0.025	0.2	0.1	0.05	0.39	0.025	0.39	0.1	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732	0.05	0.2	0.1	0.05	0.2	0.05	0.2	0.025	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i> JCM 2414	0.1	0.78	0.2	0.1	0.78	0.2	0.2	0.05	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	0.05	0.78	0.2	0.1	0.39	0.1	0.05	0.0125	0.2
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 12344	0.05	0.39	0.2	0.1	0.2	0.1	0.0125	0.0125	0.2
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0.2	0.78	0.78	0.2	1.56	0.78	0.78	0.05	25
<i>Enterococcus faecium</i> NBRC 13712	0.05	0.39	0.2	0.1	0.39	0.1	0.39	0.05	0.78
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.05	0.05	0.025	0.025	0.05	0.0125	0.1	0.05	0.78
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ATCC 27010	0.025	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05	0.0125	0.00625	0.39
<i>Corynebacterium xerosis</i> ATCC 373	0.05	0.39	0.39	0.2	0.39	0.2	0.00313	≤ 0.00078	0.2
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.78	1.56	0.39	0.39	1.56	1.56	0.0125	0.00625	0.78
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247	0.00625	0.0125	0.00625	0.0125	0.00625	0.00625	6.25	1.56	12.5
<i>Moraxella catarrhalis</i> ATCC 25238	0.025	0.05	0.05	0.05	0.05	0.025	0.1	0.05	0.78
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.025	0.025	0.025	0.025	0.0125	0.0125	50	25	1.56
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i> JCM 1652	0.05	0.025	0.025	0.05	0.0125	0.0125	25	1.56	1.56
<i>Salmonella paratyphi</i> IID 605	0.05	0.05	0.025	0.05	0.025	0.0125	100	25	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> NBRC 12681	0.05	0.025	0.025	0.05	0.00625	0.0125	100	12.5	3.13
<i>Enterobacter cloacae</i> IID 977	0.2	0.05	0.05	0.1	0.025	0.05	> 100	25	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	0.00313	0.00625	0.00625	0.00625	0.00625	0.00313	3.13	1.56	0.78
<i>Serratia marcescens</i> IID 5218	0.39	0.1	0.2	0.2	0.05	0.1	100	> 100	25
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 21100	0.2	0.05	0.05	0.2	0.025	0.05	> 100	> 100	50
<i>Proteus vulgaris</i> IID 874	0.2	0.025	0.1	0.1	0.0125	0.05	100	50	3.13
<i>Providencia rettgeri</i> NBRC 13501	0.1	0.0125	0.0125	0.025	0.00625	0.025	100	50	25
<i>Morganella morganii</i> IID 602	0.39	0.05	0.1	0.1	0.025	0.05	> 100	50	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1.56	1.56	1.56	3.13	0.39	0.39	> 100	> 100	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 13275	0.78	0.78	0.78	0.78	0.1	0.2	> 100	12.5	50
<i>Burkholderia cepacia</i> NBRC 14074	6.25	3.13	3.13	1.56	1.56	0.78	100	12.5	100
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> NBRC 13692	3.13	1.56	0.78	0.39	3.13	0.39	> 100	50	100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> NBRC 12552	0.2	0.39	0.1	0.1	0.39	0.05	12.5	12.5	3.13
<i>Alcaligenes faecalis</i> NBRC 13111	12.5	0.78	1.56	1.56	1.56	1.56	12.5	1.56	6.25
<i>Gardnerella vaginalis</i> ATCC 14018	0.39	0.78	0.39	0.39	1.56	0.78	0.0125	0.00625	0.78
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 19424	0.00313	0.00625	0.00313	0.00625	0.00625	0.00313	0.1	0.05	0.2

Inoculum size: 10^6 CFU/mL

Abbreviations: GRNX: garenoxacin, LVFX: levofloxacin, GFLX: gatifloxacin, MFLX: moxifloxacin, CPFX: ciprofloxacin, TFLX: tosufloxacin, CAM: clarithromycin, TEL: telithromycin, TC: tetracycline

2) LVFX 感受性および中等度耐性, メチシリン耐性 *S. aureus* (LVFX 感受性および中等度耐性 MRSA)

LVFX 感受性および中等度耐性 MRSA 45 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.0125~1.56 $\mu\text{g/mL}$, 0.39 $\mu\text{g/mL}$ および 1.56 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は MFLX と同値で他の対照薬の 1/2~<1/64 であった。

3) LVFX 中等度耐性 MRSA (GyrA/GrlA 変異株)

GyrA および GrlA に変異が認められた LVFX 中等度耐性 MRSA (LVFX MIC: 6.25 $\mu\text{g/mL}$) 15 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.39~1.56 $\mu\text{g/mL}$, 0.78 $\mu\text{g/mL}$ および 1.56 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は他の対照薬の 1/2~1/4 であった。

4) LVFX 耐性, メチシリン耐性 *S. aureus* (LVFX 耐性 MRSA)

LVFX 耐性 MRSA 41 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.39~100 $\mu\text{g/mL}$, 6.25

$\mu\text{g/mL}$ および 50 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は GFLX, MFLX と同値であった。TFLX の MIC₉₀ は >25 $\mu\text{g/mL}$ で, LVFX, CPFX, CAM および TEL は >100 $\mu\text{g/mL}$ であった。

5) メチシリン感受性 *Staphylococcus epidermidis* (Methicillin-susceptible *S. epidermidis*: MSSE)

MSSE 15 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.025~0.1 $\mu\text{g/mL}$, 0.05 $\mu\text{g/mL}$ および 0.1 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は LVFX, CPFX および CAM の 1/2, GFLX, MFLX および TEL と同値, TFLX の 2 倍であった。

6) メチシリン耐性 *S. epidermidis* (Methicillin-resistant *S. epidermidis*: MRSE)

MRSE 15 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.05~1.56 $\mu\text{g/mL}$, 0.39 $\mu\text{g/mL}$ および 1.56 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は LVFX, CPFX および TFLX

Table 2. Antibacterial spectrum of GRNX against Gram-positive and Gram-negative anaerobic bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/mL}$)								
	GRNX	LVFX	GFLX	MFLX	CPFX	TFLX	CAM	TEL	TC
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i> ATCC 14963	0.1	3.13	0.39	0.39	1.56	0.1	0.2	0.0125	0.1
<i>Finegoldia magna</i> ATCC 15794	0.39	0.78	0.2	0.2	0.78	0.2	1.56	0.025	1.56
<i>Propionibacterium acnes</i> JCM 6425	0.39	0.39	0.2	0.39	0.78	0.78	0.05	0.0125	0.39
<i>Propionibacterium acnes</i> JCM 6473	0.1	0.78	0.39	0.05	1.56	0.1	0.0125	0.00625	0.39
<i>Propionibacterium lymphophilum</i> JCM 5829	0.39	0.39	0.39	0.2	0.78	0.39	0.00625	0.00625	0.39
<i>Propionibacterium propionicum</i> JCM 5830	0.39	0.39	0.39	0.2	0.78	0.39	0.00625	0.00625	0.39
<i>Propionibacterium thoenii</i> JCM 6437	0.78	0.78	0.39	0.39	1.56	0.39	0.00625	0.00625	0.39
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15703	0.78	1.56	0.78	0.78	1.56	0.78	0.0125	0.00313	3.13
<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC 15700	3.13	6.25	1.56	0.78	12.5	3.13	0.0125	0.00625	3.13
<i>Bifidobacterium infantis</i> ATCC 15697	3.13	3.13	1.56	0.78	3.13	3.13	0.0125	0.00625	6.25
<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC 15707	3.13	3.13	1.56	0.78	6.25	3.13	0.0125	0.00625	1.56
<i>Clostridium sporogenes</i> IFO 14293	0.78	6.25	0.78	0.78	6.25	0.78	0.2	0.025	3.13
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	0.39	0.2	0.39	0.78	0.78	0.2	0.78	0.1	0.2
<i>Porphyromonas gingivalis</i> JCM 8525	0.05	0.025	0.025	0.05	0.025	0.025	6.25	6.25	0.78
<i>Prevotella intermedia</i> JCM 7365	0.39	0.39	0.39	0.39	0.78	0.39	0.1	0.2	1.56
<i>Prevotella melaninogenica</i> JCM 6325	0.2	0.78	0.39	0.39	1.56	0.39	0.1	0.1	0.78
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	0.2	0.78	0.2	0.1	1.56	0.2	0.39	1.56	0.39
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29148	0.39	3.13	0.78	0.78	12.5	0.39	1.56	1.56	0.39
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 8482	0.78	3.13	0.78	0.78	12.5	0.78	0.2	0.39	0.39
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i> JCM 8532	0.78	0.78	0.39	0.2	6.25	0.39	12.5	6.25	0.1

Inoculum size: 10^8 CFU/mL

Abbreviations: see footnote of Table 1.

Table 3. Antibacterial spectrum of GRNX against *Chlamydia* spp.

Organism	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					
	GRNX	LVFX	GFLX	MFLX	CAM	MINO
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> TW-183	0.008	0.5	0.125	0.063	—	0.063
<i>Chlamydomphila psittaci</i> Budgerigar-1	0.002	0.063	0.016	—	0.004	0.008
<i>Chlamydia trachomatis</i> D/UW-3/Cx	0.016	0.5	0.125	0.063	—	0.063

Host cell: *C. pneumoniae*; HEp-2 1.5×10^5 cells/mL/well, *C. psittaci*; HeLa229 2.5×10^4 cells/mL/well,

C. trachomatis; HeLa229 2×10^5 cells/mL/well

Inoculum size: 10^4 inclusion forming unit (IFU)/well

Abbreviations: see footnote of Table 1. and MINO: minocycline

の1/2, GFLXと同値, MFLXの2倍であった。CAMおよびTELのMIC₉₀は $>100 \mu\text{g/mL}$ であった。

7) コアグララーゼ陰性 staphylococci (Coagulase negative staphylococci: CNS)

CNS 17株に対するGRNXのMIC range, MIC₅₀およびMIC₉₀は, $0.025 \sim 3.13 \mu\text{g/mL}$, $0.1 \mu\text{g/mL}$ および $1.56 \mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀はLVFX, CPFXおよびTFLXの1/2, CAMの1/16で, GFLXと同値, MFLXの2倍, TELの8倍であった。

8) ペニシリン感受性 *S. pneumoniae* (PSSP)

PSSP 76株に対するGRNXのMIC range, MIC₅₀およびMIC₉₀は, $0.025 \sim 0.78 \mu\text{g/mL}$, $0.1 \mu\text{g/mL}$ および $0.1 \mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀はTELの2倍, MFLXの1/2で, 他の対照薬の1/4 \sim <1/1,024であった。

9) ペニシリン中等度耐性 *S. pneumoniae* (PISP)

PISP 25株に対するGRNXのMIC range, MIC₅₀および

MIC₉₀は, $0.0125 \sim 0.39 \mu\text{g/mL}$, $0.05 \mu\text{g/mL}$ および $0.1 \mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀はTELの2倍, MFLX, TFLXの1/2で, 他の対照薬の1/4 \sim <1/1,024であった。

10) ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* (PRSP)

PRSP 35株に対するGRNXのMIC range, MIC₅₀およびMIC₉₀は, $0.05 \sim 0.1 \mu\text{g/mL}$, $0.1 \mu\text{g/mL}$ および $0.1 \mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀はTELと同値, MFLX, TFLXの1/2で, 他の対照薬の1/4 \sim <1/1,024であった。

11) マクロライド耐性 PISP, PRSP

マクロライド耐性 PISP および PRSP 33株に対するGRNXのMIC range, MIC₅₀ならびにMIC₉₀は, $0.0313 \sim 0.0625 \mu\text{g/mL}$, $0.0313 \mu\text{g/mL}$ および $0.0625 \mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀はMFLX, GFLXの1/4であった。

12) EM, CXM, TC耐性 PRSP

EM, CXM, TC耐性 PRSP 25株に対するGRNXのMIC range, MIC₅₀およびMIC₉₀は, $0.0156 \sim 0.0625 \mu\text{g/}$

Table 4. Antibacterial spectrum of GRNX against *Mycoplasma pneumoniae*

Organism	MIC ($\mu\text{g/mL}$)						
	GRNX	LVFX	GFLX	MFLX	CPFV	TFLX	CAM
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> IID 813	0.0313	0.5	0.125	0.0625	1	0.25	0.0078
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> IID 814	0.0313	0.5	0.125	0.125	1	0.5	0.0156
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> IID 815	0.0313	0.5	0.125	0.125	1	0.5	0.0156
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> IID 817	0.0313	0.5	0.125	0.0625	1	0.25	0.0078
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> IID 995	0.0313	0.5	0.125	0.125	1	0.5	0.0078

Medium: PPLO broth supplemented with 30% Mycoplasma Supplement S, 0.5% glucose and 0.002% phenol red

Abbreviations: see footnote of Table 1.

Table 5. Antibacterial spectrum of GRNX against *Legionella* spp.

Organism	MIC ($\mu\text{g/mL}$)								
	GRNX	LVFX	GFLX	MFLX	CPFV	TFLX	EM	CAM	RFP
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152	0.0078	0.0156	0.0078	0.0156	0.0313	0.0078	0.0625	0.0078	0.000125
<i>Legionella bozemanii</i> ATCC 33217	0.0039	0.0078	0.0078	0.0078	0.0078	0.0039	0.0078	0.0039	0.0000625
<i>Legionella micdadei</i> ATCC 33218	0.0039	0.0078	0.0078	0.0156	0.0156	0.0039	0.0625	0.0078	0.000125
<i>Legionella dumoffii</i> ATCC 33279	0.0313	0.0313	0.0313	0.0313	0.0313	0.0156	0.0313	0.0039	0.000125
<i>Legionella longbeachae</i> ATCC 33462	0.0078	0.0156	0.0156	0.0156	0.0156	0.0078	0.125	0.0313	0.000125
<i>Legionella jordanis</i> ATCC 33623	0.0078	0.0156	0.0156	0.0313	0.0156	0.0156	0.0625	0.0078	0.000125

Medium: BSYE broth

Abbreviations: see footnote of Table 1. and EM: erythromycin, RFP: rifampicin

mL, 0.0313 $\mu\text{g/mL}$ および 0.0625 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は MFLX, GFLX の 1/4, 1/8 であった。

13) LVFX 耐性 *S. pneumoniae* (GyrA/ParC 変異株)

GyrA および ParC に変異が認められた LVFX 耐性 *S. pneumoniae* 5 株に対する GRNX の MIC range は 0.2~0.78 $\mu\text{g/mL}$ であり, LVFX, GFLX および MFLX より低かった。

14) *S. pyogenes*

S. pyogenes 64 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.025~0.2 $\mu\text{g/mL}$, 0.05 $\mu\text{g/mL}$ および 0.1 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は TEL の 4 倍, 他の対照薬の 1/4~1/16 であった。

15) *S. agalactiae*

S. agalactiae 18 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.05~0.39 $\mu\text{g/mL}$, 0.05 $\mu\text{g/mL}$ および 0.1 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は CAM, TEL より 4 倍高く, 他の対照薬の 1/2~1/8 であった。

16) *E. faecalis*

E. faecalis 103 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.025~25 $\mu\text{g/mL}$, 0.39 $\mu\text{g/mL}$ および 6.25 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ はすべての対照薬中, 最も低く, 他の対照薬の 1/2~1/8 であった。

17) VCM 耐性 *E. faecalis*

VCM 耐性 *E. faecalis* 18 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.39~6.25 $\mu\text{g/mL}$, 3.13 $\mu\text{g/mL}$ および 6.25 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ はすべての対照薬に比べて最も低く, 比較したキノロン系抗菌薬の 1/2~

1/8 であった。

18) *Enterococcus faecium*

E. faecium 70 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.1~100 $\mu\text{g/mL}$, 12.5 $\mu\text{g/mL}$ および 50 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は GFLX, MFLX と同値であり, LVFX の 1/2 であった。CPFV および TFLX の MIC₉₀ はそれぞれ >100 $\mu\text{g/mL}$ および >25 $\mu\text{g/mL}$ であった。

19) *H. influenzae*

H. influenzae 115 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.00313~0.39 $\mu\text{g/mL}$, 0.0125 $\mu\text{g/mL}$ および 0.05 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は CAM, TEL のそれぞれ 1/256, 1/64 であり, MFLX と同値, 他のキノロン系対照薬の 2 倍であった。

20) β -ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性 *H. influenzae* (β -lactamase negative ampicillin-resistant *H. influenzae*; BLNAR)

BLNAR 69 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, ≤ 0.002 ~0.0625 $\mu\text{g/mL}$, 0.0078 $\mu\text{g/mL}$ および 0.0313 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は GFLX, CPFV および TFLX の 2 倍, LVFX と同値, MFLX の 1/2 であった。

21) *M. catarrhalis*

M. catarrhalis 90 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.00156~0.05 $\mu\text{g/mL}$, 0.025 $\mu\text{g/mL}$ および 0.025 $\mu\text{g/mL}$ で, MIC₉₀ は TFLX と同値であり, 他のキノロン系対照薬の 1/2, CAM および TEL の 1/8 であった。

Table 6. Antibacterial activity of GRNX against clinical isolates

Organism	No. of strains	Antibacterial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Methicillin-susceptible ^{a)} <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	90	GRNX	0.0125 - 1.56	0.05	0.05
		LVFX	0.05 - 12.5	0.2	0.78
		GFLX	0.05 - 6.25	0.1	0.2
		MFLX	0.0125 - 1.56	0.05	0.1
		CPFX	0.1 - 50	0.39	1.56
		TFLX	0.0125 - 6.25	0.05	0.1
		CAM	0.1 - > 100	0.2	> 100
Levofloxacin-susceptible and intermediate ^{b)} , methicillin-resistant ^{c)} <i>Staphylococcus aureus</i> (LVFX-susceptible and intermediate MRSA)	45	GRNX	0.0125 - 1.56	0.39	1.56
		LVFX	0.1 - 6.25	3.13	6.25
		GFLX	0.05 - 3.13	1.56	3.13
		MFLX	0.05 - 1.56	1.56	1.56
		CPFX	0.2 - 50	12.5	25
		TFLX	0.025 - 6.25	1.56	6.25
		CAM	0.39 - > 100	> 100	> 100
LVFX-intermediate ^{d)} MRSA (GyrA/GrlA mutant)	15	GRNX	0.39 - 1.56	0.78	1.56
		LVFX	6.25	6.25	6.25
		GFLX	1.56 - 3.13	3.13	3.13
		MFLX	0.78 - 3.13	1.56	3.13
LVFX-resistant ^{e)} MRSA	41	GRNX	0.39 - 100	6.25	50
		LVFX	12.5 - > 100	50	> 100
		GFLX	3.13 - > 100	12.5	50
		MFLX	1.56 - 100	6.25	50
		CPFX	25 - > 100	> 100	> 100
		TFLX	6.25 - > 25	> 25	> 25
		CAM	1.56 - > 100	> 100	> 100
Methicillin-susceptible ^{f)} <i>Staphylococcus epidermidis</i> (MSSE)	15	GRNX	0.025 - 0.1	0.05	0.1
		LVFX	0.1 - 0.39	0.2	0.2
		GFLX	0.05 - 0.2	0.1	0.1
		MFLX	0.05 - 0.1	0.05	0.1
		CPFX	0.1 - 0.39	0.2	0.2
		TFLX	0.05 - 0.1	0.05	0.05
		CAM	0.1 - 0.2	0.2	0.2
Methicillin-resistant ^{g)} <i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	15	GRNX	0.05 - 1.56	0.39	1.56
		LVFX	0.2 - 3.13	1.56	3.13
		GFLX	0.1 - 1.56	0.78	1.56
		MFLX	0.05 - 0.78	0.39	0.78
		CPFX	0.1 - 3.13	1.56	3.13
		TFLX	0.05 - 3.13	1.56	3.13
		CAM	0.1 - > 100	25	> 100
Coagulase negative staphylococci (CNS)	17	GRNX	0.025 - 3.13	0.1	1.56
		LVFX	0.1 - 12.5	0.2	3.13
		GFLX	0.05 - 3.13	0.1	1.56
		MFLX	0.025 - 3.13	0.1	0.78
		CPFX	0.05 - 50	0.2	3.13
		TFLX	0.025 - 12.5	0.05	3.13
		CAM	0.05 - 25	0.2	25
TEL	0.025 - 0.2	0.1	0.2		

(Continued)

Table 6. (Continued)

Organism	No. of strains	Antibacterial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Penicillin-susceptible ^{h)} <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PSSP)	76	GRNX	0.025 – 0.78	0.1	0.1
		LVFX	0.39 – 25	0.78	1.56
		GFLX	0.2 – 6.25	0.39	0.39
		MFLX	0.05 – 3.13	0.2	0.2
		CPEX	0.39 – 50	1.56	1.56
		TFLX	0.1 – 6.25	0.2	0.39
		CAM	0.00625 – > 100	0.78	> 100
TEL	0.00625 – 0.39	0.025	0.05		
Penicillin-intermediate ⁱ⁾ <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)	25	GRNX	0.0125 – 0.39	0.05	0.1
		LVFX	0.2 – 12.5	0.78	1.56
		GFLX	0.2 – 3.13	0.39	0.39
		MFLX	0.05 – 3.13	0.2	0.2
		CPFX	0.39 – 12.5	0.78	1.56
		TFLX	0.05 – 3.13	0.2	0.2
		CAM	0.025 – > 100	0.39	> 100
TEL	0.00625 – 0.2	0.025	0.05		
Penicillin-resistant ^{j)} <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)	35	GRNX	0.05 – 0.1	0.1	0.1
		LVFX	0.39 – 1.56	0.78	1.56
		GFLX	0.2 – 0.39	0.39	0.39
		MFLX	0.1 – 0.2	0.2	0.2
		CPEX	0.78 – 3.13	0.78	1.56
		TFLX	0.1 – 0.2	0.2	0.2
		CAM	0.025 – > 100	0.78	> 100
TEL	0.0125 – 0.39	0.05	0.1		
Macrolide-resistant ^{k)} PISP and PRSP	33	GRNX	0.0313 – 0.0625	0.0313	0.0625
		LVFX	0.5 – 2	1	1
		GFLX	0.25 – 0.5	0.25	0.25
		MFLX	0.125 – 0.25	0.125	0.25
		CPEX	0.5 – 2	1	1
		TFLX	0.125 – 0.25	0.125	0.25
		CAM	1 – > 128	4	> 128
		AZM	2 – > 128	8	> 128
		EM	1 – > 128	8	> 128
TEL	0.0078 – 1	0.0625	0.5		
EM-, CXM- and TC-resistant ^{l)} PRSP	25	GRNX	0.0156 – 0.0625	0.0313	0.0625
		LVFX	0.5 – 1	1	1
		GFLX	0.125 – 0.5	0.25	0.5
		MFLX	0.0625 – 0.25	0.125	0.25
		AZM	1 – > 128	> 128	> 128
		EM	1 – > 128	> 128	> 128
		TEL	0.0156 – 1	0.0625	0.5
		CXM	4 – 32	4	8
TC	32 – 128	64	64		
LVFX-resistant ^{m)} <i>Streptococcus pneumoniae</i> (GyrA/ParC mutant)	5	GRNX	0.2 – 0.78	—	—
		LVFX	12.5 – 25	—	—
		GFLX	3.13 – 12.5	—	—
		MFLX	1.56 – 6.25	—	—
<i>Streptococcus pyogenes</i>	64	GRNX	0.025 – 0.2	0.05	0.1
		LVFX	0.1 – 1.56	0.39	1.56
		GFLX	0.1 – 0.39	0.2	0.39
		MFLX	0.05 – 0.39	0.1	0.39
		CPEX	0.1 – 1.56	0.2	0.78
		TFLX	0.025 – 0.39	0.1	0.39
		CAM	0.0125 – > 100	0.025	0.78
TEL	0.00625 – 12.5	0.0125	0.025		

(Continued)

Table 6. (Continued)

Organism	No. of strains	Antibacterial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Streptococcus agalactiae</i>	18	GRNX	0.05 – 0.39	0.05	0.1
		LVFX	0.39 – 25	0.39	0.78
		GFLX	0.2 – 3.13	0.2	0.39
		MFLX	0.1 – 1.56	0.1	0.2
		CPFX	0.2 – 25	0.2	0.39
		TFLX	0.1 – 25	0.2	0.39
		CAM	0.025 – 0.05	0.025	0.025
		TEL	0.00625 – 0.025	0.0125	0.025
<i>Enterococcus faecalis</i>	103	GRNX	0.025 – 25	0.39	6.25
		LVFX	0.1 – 100	1.56	50
		GFLX	0.05 – 25	0.78	25
		MFLX	0.05 – 25	0.39	12.5
		CPFX	0.39 – 100	1.56	50
		TFLX	0.05 – > 25	0.39	> 25
VCM-resistant ⁿ⁾ <i>Enterococcus faecalis</i>	18	GRNX	0.39 – 6.25	3.13	6.25
		LVFX	0.78 – 50	25	50
		GFLX	0.39 – 12.5	12.5	12.5
		CPFX	0.39 – 100	25	50
		TFLX	0.2 – > 25	> 25	> 25
		VCM	> 100	> 100	> 100
		TEIC	0.2 – > 100	> 100	> 100
<i>Enterococcus faecium</i>	70	GRNX	0.1 – 100	12.5	50
		LVFX	0.78 – > 100	25	100
		GFLX	0.2 – 100	12.5	50
		MFLX	0.1 – 100	12.5	50
		CPFX	0.39 – > 100	50	> 100
		TFLX	0.2 – > 25	25	> 25
<i>Haemophilus influenzae</i>	115	GRNX	0.00313 – 0.39	0.0125	0.05
		LVFX	0.00313 – 0.39	0.025	0.025
		GFLX	0.00313 – 0.39	0.0125	0.025
		MFLX	0.00625 – 0.78	0.025	0.05
		CPFX	0.00625 – 0.78	0.0125	0.025
		TFLX	0.00313 – 0.78	0.0125	0.025
		CAM	0.78 – 25	6.25	12.5
		TEL	0.39 – 6.25	1.56	3.13
β -lactamase negative ampicillin-resistant <i>Haemophilus influenzae</i> (BLNAR) ^{o)}	69	GRNX	\leq 0.002 – 0.0625	0.0078	0.0313
		LVFX	0.0078 – 0.25	0.0156	0.0313
		GFLX	0.0039 – 0.125	0.0078	0.0156
		MFLX	0.0078 – 0.125	0.0156	0.0625
		CPFX	0.0039 – 0.25	0.0078	0.0156
		TFLX	0.0039 – 0.0625	0.0078	0.0156
<i>Moraxella catarrhalis</i>	90	GRNX	0.00156 – 0.05	0.025	0.025
		LVFX	0.025 – 0.05	0.05	0.05
		GFLX	0.0125 – 0.05	0.025	0.05
		MFLX	0.025 – 0.1	0.05	0.05
		CPFX	0.0125 – 0.05	0.025	0.05
		TFLX	0.00625 – 0.025	0.0125	0.025
		CAM	0.025 – 0.39	0.05	0.2
		TEL	0.00625 – 0.2	0.05	0.2
<i>Escherichia coli</i>	112	GRNX	0.00625 – 100	0.05	12.5
		LVFX	0.0125 – 100	0.05	12.5
		GFLX	0.00313 – 50	0.05	6.25
		MFLX	0.0125 – 100	0.05	12.5
		CPFX	0.00313 – 100	0.0125	12.5
		TFLX	0.00313 – > 25	0.025	12.5

(Continued)

Table 6. (Continued)

Organism	No. of strains	Antibacterial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Salmonella</i> spp.	17	GRNX	0.05 – 0.78	0.05	0.2
		LVFX	0.025 – 0.78	0.025	0.1
		GFLX	0.025 – 0.78	0.05	0.1
		MFLX	0.05 – 1.56	0.1	0.2
		CPEX	0.0125 – 0.39	0.025	0.1
		TFLX	0.0125 – 0.78	0.025	0.1
<i>Citrobacter freundii</i>	35	GRNX	0.05 – 3.13	0.05	1.56
		LVFX	0.025 – 1.56	0.05	0.39
		GFLX	0.0125 – 0.78	0.025	0.39
		MFLX	0.025 – 1.56	0.05	0.78
		CPEX	0.00625 – 0.2	0.0125	0.1
		TFLX	0.0125 – 0.39	0.025	0.39
<i>Enterobacter cloacae</i>	31	GRNX	0.025 – 25	0.05	0.1
		LVFX	0.025 – 50	0.025	0.05
		GFLX	0.0125 – 25	0.025	0.05
		MFLX	0.025 – 50	0.05	0.1
		CPEX	0.00313 – 100	0.0125	0.025
		TFLX	0.0125 – > 25	0.025	0.05
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	35	GRNX	0.0125 – 6.25	0.2	1.56
		LVFX	0.025 – 3.13	0.1	0.39
		GFLX	0.0125 – 3.13	0.1	0.78
		MFLX	0.025 – 3.13	0.1	0.78
		CPEX	0.00625 – 3.13	0.05	0.39
		TFLX	0.00625 – 1.56	0.05	0.78
Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing <i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	GRNX	0.1 – 6.25	0.2	0.78
		LVFX	0.05 – 1.56	0.05	0.39
		GFLX	0.05 – 1.56	0.05	0.39
		MFLX	0.05 – 3.13	0.1	0.39
		CPEX	0.025 – 1.56	0.025	0.39
		TFLX	0.025 – 3.13	0.025	0.39
<i>Serratia marcescens</i>	30	GRNX	0.39 – 6.25	1.56	6.25
		LVFX	0.05 – 3.13	0.2	1.56
		GFLX	0.1 – 3.13	0.39	1.56
		MFLX	0.1 – 3.13	0.39	3.13
		CPEX	0.025 – 1.56	0.1	1.56
		TFLX	0.05 – 1.56	0.2	1.56
<i>Proteus mirabilis</i>	76	GRNX	0.1 – 50	0.39	12.5
		LVFX	0.05 – 6.25	0.05	1.56
		GFLX	0.025 – 12.5	0.1	3.13
		MFLX	0.025 – 25	0.2	6.25
		CPEX	0.00625 – 12.5	0.025	1.56
		TFLX	0.05 – > 25	0.1	3.13
<i>Proteus vulgaris</i>	6	GRNX	0.2 – 1.56	—	—
		LVFX	0.025 – 0.05	—	—
		GFLX	0.1 – 0.2	—	—
		MFLX	0.2 – 0.39	—	—
		CPEX	0.025 – 0.05	—	—
		TFLX	0.05 – 0.2	—	—
<i>Providencia</i> spp.	17	GRNX	0.1 – > 100	0.39	50
		LVFX	0.05 – 100	0.1	6.25
		GFLX	0.05 – 100	0.2	12.5
		MFLX	0.2 – > 100	0.39	25
		CPEX	0.025 – 100	0.05	12.5
		TFLX	0.05 – > 25	0.1	12.5

(Continued)

Table 6. (Continued)

Organism	No. of strains	Antibacterial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
			Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Morganella morganii</i>	70	GRNX	0.2 – 50	0.39	6.25
		LVFX	0.025 – 25	0.05	0.78
		GFLX	0.025 – 50	0.1	1.56
		MFLX	0.05 – 50	0.2	3.13
		CPFX	0.00625 – 50	0.0125	0.78
		TFLX	0.025 – > 25	0.1	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54	GRNX	0.025 – 12.5	0.78	6.25
		LVFX	0.1 – 6.25	0.78	6.25
		GFLX	0.05 – 12.5	0.78	3.13
		MFLX	0.1 – 25	1.56	12.5
		CPFX	0.025 – 6.25	0.2	1.56
		TFLX	0.025 – 6.25	0.2	3.13
Imipenem-resistant ^{b)} <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	GRNX	0.05 – 25	1.56	12.5
		LVFX	0.025 – 6.25	0.78	6.25
		GFLX	0.05 – 6.25	0.78	6.25
		MFLX	0.05 – 12.5	1.56	6.25
		CPFX	0.0125 – 3.13	0.2	1.56
		TFLX	0.025 – 6.25	0.2	3.13
<i>Acinetobacter</i> spp.	61	GRNX	0.0125 – 6.25	0.05	0.39
		LVFX	0.05 – 6.25	0.1	0.78
		GFLX	0.025 – 3.13	0.05	0.39
		MFLX	0.025 – 6.25	0.05	0.39
		CPFX	0.05 – 25	0.1	0.39
		TFLX	0.0125 – 12.5	0.025	0.2
<i>Bacteroides fragilis</i>	40	GRNX	0.1 – 25	0.39	3.13
		LVFX	0.78 – 50	1.56	25
		GFLX	0.2 – 50	0.39	12.5
		MFLX	0.2 – 25	0.39	6.25
		CPFX	1.56 – > 100	6.25	50
		TFLX	0.2 – 25	0.78	6.25
<i>Prevotella</i> spp.	38	GRNX	0.0125 – 1.56	0.39	1.56
		LVFX	0.1 – 25	1.56	25
		GFLX	0.05 – 12.5	0.78	12.5
		MFLX	0.05 – 25	0.78	12.5
		CPFX	0.39 – 50	3.13	12.5
		TFLX	0.05 – 12.5	1.56	3.13
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	8	GRNX	0.002 – 0.008	—	—
		LVFX	0.125 – 0.5	—	—
		GFLX	0.031 – 0.125	—	—
		CAM	0.008 – 0.016	—	—
		MINO	0.031 – 0.063	—	—
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	50	GRNX	0.0156 – 0.0625	0.0313	0.0313
		LVFX	0.25 – 1	0.5	0.5
		GFLX	0.0625 – 0.25	0.125	0.125
		MFLX	0.0625 – 0.125	0.125	0.125
		CPFX	0.5 – 2	1	1
		TFLX	0.25 – 0.5	0.5	0.5
		CAM	0.002 – 0.0156	0.0078	0.0078
<i>Legionella pneumophila</i>	21	GRNX	0.002 – 0.0078	0.0039	0.0039
		LVFX	0.0078 – 0.0156	0.0156	0.0156
		GFLX	0.002 – 0.0078	0.0039	0.0039
		MFLX	0.0039 – 0.0156	0.0156	0.0156
		CPFX	0.0078 – 0.0156	0.0156	0.0156
		EM	0.0156 – 0.5	0.125	0.25
		CAM	0.001 – 0.0039	0.0039	0.0039
		RFP	≤ 0.0000313 – 0.001	0.0000625	0.00025

^{a)} Oxacillin MIC: $\leq 3.13 \mu\text{g/mL}$, ^{b)} LVFX MIC: $\leq 6.25 \mu\text{g/mL}$, ^{c)} Oxacillin MIC: $\geq 6.25 \mu\text{g/mL}$, ^{d)} LVFX MIC: $6.25 \mu\text{g/mL}$,

^{e)} LVFX MIC: $\geq 12.5 \mu\text{g/mL}$, ^{f)} Oxacillin MIC: $\leq 0.39 \mu\text{g/mL}$, ^{g)} Oxacillin MIC: $\geq 0.78 \mu\text{g/mL}$, ^{h)} PCG MIC: $\leq 0.05 \mu\text{g/mL}$,

ⁱ⁾ PCG MIC: $0.1 - 1.56 \mu\text{g/mL}$, ^{j)} PCG MIC: $\geq 3.13 \mu\text{g/mL}$, ^{k)} EM: $\geq 1 \mu\text{g/mL}$, CAM: $\geq 1 \mu\text{g/mL}$, AZM: $\geq 2 \mu\text{g/mL}$, ^{l)} EM: \geq

$1 \mu\text{g/mL}$, CXM: $\geq 2 \mu\text{g/mL}$, TC: $\geq 8 \mu\text{g/mL}$, PCG: $\geq 2 \mu\text{g/mL}$, ^{m)} LVFX MIC: $\geq 12.5 \mu\text{g/mL}$, ⁿ⁾ VCM MIC: $\geq 50 \mu\text{g/mL}$,

^{o)} ABPC MIC: $\geq 2 \mu\text{g/mL}$, ^{p)} IPM MIC: $\geq 12.5 \mu\text{g/mL}$

Abbreviations: see footnote of Table 1.

22) *E. coli*

E. coli 112 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.00625~100 μg/mL, 0.05 μg/mL および 12.5 μg/mL で, MIC₉₀ は GFLX の 2 倍で, その他の対照薬と同値であった。

23) *Salmonella* spp.

Salmonella spp. 17 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.05~0.78 μg/mL, 0.05 μg/mL および 0.2 μg/mL で, MIC₉₀ は MFLX と同値で, その他の対照薬の 2 倍であった。

24) *Citrobacter freundii*

C. freundii 35 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.05~3.13 μg/mL, 0.05 μg/mL および 1.56 μg/mL で, MIC₉₀ は対照薬の 2~16 倍であった。

25) *Enterobacter cloacae*

E. cloacae 31 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.025~25 μg/mL, 0.05 μg/mL および 0.1 μg/mL で, MIC₉₀ は MFLX と同値で, 他の対照薬の 2~4 倍であった。

26) *K. pneumoniae*

K. pneumoniae 35 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.0125~6.25 μg/mL, 0.2 μg/mL および 1.56 μg/mL で, MIC₉₀ は対照薬の 2~4 倍であった。

27) Extended-spectrum β-lactamase (ESBL) 産生 *K. pneumoniae*

ESBL 産生 *K. pneumoniae* 13 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.1~6.25 μg/mL, 0.2 μg/mL および 0.78 μg/mL で, MIC₉₀ は対照薬の 2 倍であった。

28) *Serratia marcescens*

S. marcescens 30 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.39~6.25 μg/mL, 1.56 μg/mL および 6.25 μg/mL で, MIC₉₀ は対照薬の 2~4 倍であった。

29) *Proteus mirabilis*

P. mirabilis 76 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.1~50 μg/mL, 0.39 μg/mL および 12.5 μg/mL で, MIC₉₀ は対照薬の 2~8 倍であった。

30) *Proteus vulgaris*

P. vulgaris 6 株に対する GRNX の MIC range は, 0.2~1.56 μg/mL で, 対照薬より広く, 高かった。

31) *Providencia* spp.

Providencia spp. 17 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.1~>100 μg/mL, 0.39 μg/mL および 50 μg/mL で, MIC₉₀ は対照薬の 2~8 倍であった。

32) *Morganella morganii*

M. morganii 70 株に対する GRNX の MIC range,

MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.2~50 μg/mL, 0.39 μg/mL および 6.25 μg/mL で, MIC₉₀ は対照薬の 2~8 倍であった。

33) *P. aeruginosa*

P. aeruginosa 54 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.025~12.5 μg/mL, 0.78 μg/mL および 6.25 μg/mL で, MIC₉₀ は MFLX の 1/2 で, LVFX と同値, その他の対照薬の 2~4 倍であった。

34) イミペネム耐性 *P. aeruginosa*

イミペネム耐性 *P. aeruginosa* 16 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.05~25 μg/mL, 1.56 μg/mL および 12.5 μg/mL で, MIC₉₀ は他の対照薬の 2~8 倍であった。

35) *Acinetobacter* spp.

Acinetobacter spp. 61 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.0125~6.25 μg/mL, 0.05 μg/mL および 0.39 μg/mL で, MIC₉₀ は LVFX の 1/2 で, GFLX, MFLX, CPFX と同値, TFLX の 2 倍であった。

36) *Bacteroides fragilis*

B. fragilis 40 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.1~25 μg/mL, 0.39 μg/mL および 3.13 μg/mL で, MIC₉₀ はすべての対照薬に比べて最も低く, 対照薬の 1/2~1/16 であった。

37) *Prevotella* spp.

Prevotella spp. 38 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.0125~1.56 μg/mL, 0.39 μg/mL および 1.56 μg/mL で, MIC₉₀ はすべての対照薬に比べて最も低く, 他の 1/2~1/16 であった。

38) *C. pneumoniae*

C. pneumoniae 8 株に対する GRNX の MIC range は, 0.002~0.008 μg/mL で, すべての対照薬に比べて低かった。

39) *M. pneumoniae*

M. pneumoniae 50 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.0156~0.0625 μg/mL, 0.0313 μg/mL および 0.0313 μg/mL で, MIC₉₀ は CAM の 4 倍, 他の対照薬の 1/4~1/32 であった。

40) *Legionella pneumophila*

L. pneumophila 21 株に対する GRNX の MIC range, MIC₅₀ および MIC₉₀ は, 0.002~0.0078 μg/mL, 0.0039 μg/mL および 0.0039 μg/mL で, MIC₉₀ は RFP の 16 倍, GFLX および CAM と同値, 他の対照薬の 1/4 もしくは 1/64 であった。

3. 抗菌活性に及ぼす諸因子の影響

抗菌活性に及ぼす諸因子の影響を Tables 7, 8 に示す。

1) 培地種類の影響

S. aureus IFO 12732, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *K. pneumoniae* ATCC 10031 および *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する GRNX の MIC はそれぞれ, 0.0313, 0.0313,

Table 7. Influence of various factor on antibacterial activity

Factor	Antibacterial agent	Variation	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			
			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
			IFO 12732	ATCC 49619	ATCC 10031	ATCC 27853
Medium ^{a)}	GRNX	MHB	0.0313	0.0313	0.0078	1
		HIB	0.0313	0.0313	0.0078	1
		NB	0.0313	0.0313	0.0078	1
		BHIB	0.0313	0.0313	0.0078	1
	LVFX	MHB	0.25	0.5	0.0156	1
		HIB	0.25	0.5	0.0156	1
		NB	0.25	0.5	0.0156	1
		BHIB	0.25	0.5	0.0156	1
pH ^{b)}	GRNX	6.0	0.0625	0.0313	0.0078	2
		6.5	0.0625	0.0313	0.0078	2
		7.0	0.0313	0.0313	0.0078	1
		7.5	0.0313	0.0313	0.0078	1
		8.0	0.0313	0.0313	0.0078	1
	LVFX	6.0	0.5	1	0.0313	2
		6.5	0.25	1	0.0156	2
		7.0	0.25	0.5	0.0156	1
		7.5	0.25	0.5	0.0156	1
		8.0	0.25	0.5	0.0156	1
Human serum (%) ^{c)}	GRNX	0	0.0313	0.0625	0.0078	1
		5	0.0313	0.0625	0.0078	1
		10	0.0313	0.0625	0.0078	1
	LVFX	0	0.25	0.5	0.0156	1
		5	0.25	0.5	0.0156	1
		10	0.25	0.5	0.0156	1
Ca ²⁺ ^{d)} (mM)	GRNX	0	0.0313	0.0313	0.0078	1
		1	0.0313	0.0313	0.0078	1
		2	0.0313	0.0313	0.0078	2
		4	0.0313	0.0313	0.0078	2
		8	0.0313	0.0313	0.0078	2
		16	0.0625	0.0625	0.0078	4
		32	0.0625	0.125	0.0156	4
	LVFX	0	0.25	0.5	0.0156	1
		1	0.25	0.5	0.0156	1
		2	0.25	0.5	0.0156	2
		4	0.25	0.5	0.0156	2
		8	0.25	1	0.0156	2
		16	0.5	1	0.0313	4
		32	0.5	2	0.0313	4
Mg ²⁺ ^{d)} (mM)	GRNX	0	0.0313	0.0313	0.0078	1
		1	0.0313	0.0313	0.0078	1
		2	0.0313	0.0313	0.0078	1
		4	0.0625	0.0625	0.0078	2
		8	0.0625	0.125	0.0156	4
		16	0.125	0.125	0.0313	8
		32	0.25	0.25	0.0625	16
	LVFX	0	0.25	0.5	0.0156	1
		1	0.25	0.5	0.0156	1
		2	0.25	1	0.0156	1
		4	0.5	1	0.0313	2
		8	1	2	0.0625	8
		16	1	4	0.125	8
		32	2	8	0.25	16

Inoculum size: ^{a)} $2.07 - 4.82 \times 10^7$ CFU/mL, ^{b)} $2.0 - 4.7 \times 10^7$ CFU/mL, ^{c)} $2.07 - 4.82 \times 10^7$ CFU/mL, ^{d)} $1.1 - 6.8 \times 10^7$ CFU/mL

Abbreviations: see footnote of Table 1.

Table 8. Influence of inoculum size on antibacterial activity

Organism	Inoculum size (CFU/mL)	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	
		GRNX	LVFX
<i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732	3.2×10^4	0.025	0.1
	3.2×10^6	0.025	0.1
	3.2×10^8	0.05	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	4.2×10^4	0.05	0.39
	4.2×10^6	0.05	0.78
	4.2×10^8	0.1	0.78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	4.8×10^4	0.00313	0.00625
	4.8×10^6	0.00313	0.00625
	4.8×10^8	0.00625	0.0125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	3.4×10^4	0.78	0.78
	3.4×10^6	0.78	0.78
	3.4×10^8	1.56	1.56

Abbreviations: see footnote of Table 1.

Table 9. MIC and MBC of GRNX

Antibacterial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)/MBC ($\mu\text{g/mL}$)			
	<i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732 ^{a)}	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 ^{b)}	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 ^{c)}	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 ^{d)}
GRNX	0.0313/0.0313	0.0313/0.0313	0.0078/0.0078	1/1
LVFX	0.25/0.25	0.5/0.5	0.0156/0.0156	1/1
GFLX	0.125/0.125	0.125/0.125	0.0078/0.0078	1/1
MFLX	0.0625/0.0625	0.0625/0.125	0.0078/0.0156	2/2

Inoculum size: ^{a)} 1.04×10^7 CFU/mL, ^{b)} 7.8×10^6 CFU/mL, ^{c)} 9.8×10^6 CFU/mL, ^{d)} 1.1×10^7 CFU/mL

Abbreviations: see footnote of Table 1.

0.0078 および $1 \mu\text{g/mL}$ であり, LVFX と同様に, 培地の種類による影響を受けなかった (Table 7)。

2) 培地 pH の影響

S. pneumoniae ATCC 49619 および *K. pneumoniae* ATCC 10031 に対する GRNX の MIC はいずれの pH においてもそれぞれ 0.0313 および 0.0078 $\mu\text{g/mL}$ であり, 変動は認められなかった。*S. aureus* IFO 12732 および *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する GRNX の MIC は pH 7.0 でそれぞれ 0.0313 および $1 \mu\text{g/mL}$ であり, pH6.0 および pH6.5 で 2 倍上昇した。各菌株に対する GRNX の抗菌活性は LVFX と同様に, 培地の pH による影響をほとんど受けなかった (Table 7)。

3) ヒト血清添加の影響

各菌株に対する GRNX の抗菌活性は LVFX と同様に, ヒト血清添加による影響を受けなかった (Table 7)。

4) カルシウムイオン, マグネシウムイオン添加の影響

GRNX の MIC はカルシウムイオンの添加量の増加に伴い, 2~4 倍上昇し, マグネシウムイオンの添加量の増加に伴い, 2~16 倍上昇した。GRNX の抗菌活性に及ぼすカルシウムイオン, マグネシウムイオンの影響は LVFX とほぼ同程度であった (Table 7)。

5) 接種菌量の影響

いずれの菌株においても, 接種菌量による GRNX の MIC の変動は 2 倍以内であり, LVFX と同程度であった (Table 8)。

4. 殺菌作用

1) MIC-MBC

S. aureus IFO 12732, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *K. pneumoniae* ATCC 10031 および *P. aeruginosa* ATCC 27853 に対する GRNX の MBC はそれぞれ, 0.0313, 0.0313, 0.0078 および $1 \mu\text{g/mL}$ であり, MIC と同値であった。いずれの菌種においても GRNX の MIC と MBC は LVFX および GFLX と同様に一致した (Table 9)。

2) 生育曲線に及ぼす影響

GRNX は MRSA F-1479 に対し, 1~4 MIC の作用で強い殺菌性を示し, その作用は VCM より強かった (Fig. 1A)。また, GRNX は PRSP D-1714 に対し, 1~4 MIC の作用で殺菌性を示し, LVFX および CAM と同様に, 濃度に応じた作用を示した (Fig. 1B)。さらに, GRNX は *M. pneumoniae* FH に対し, 1~4 MIC の作用で殺菌性を示し, その作用は LVFX および CAM より強かった (Fig. 1C)。

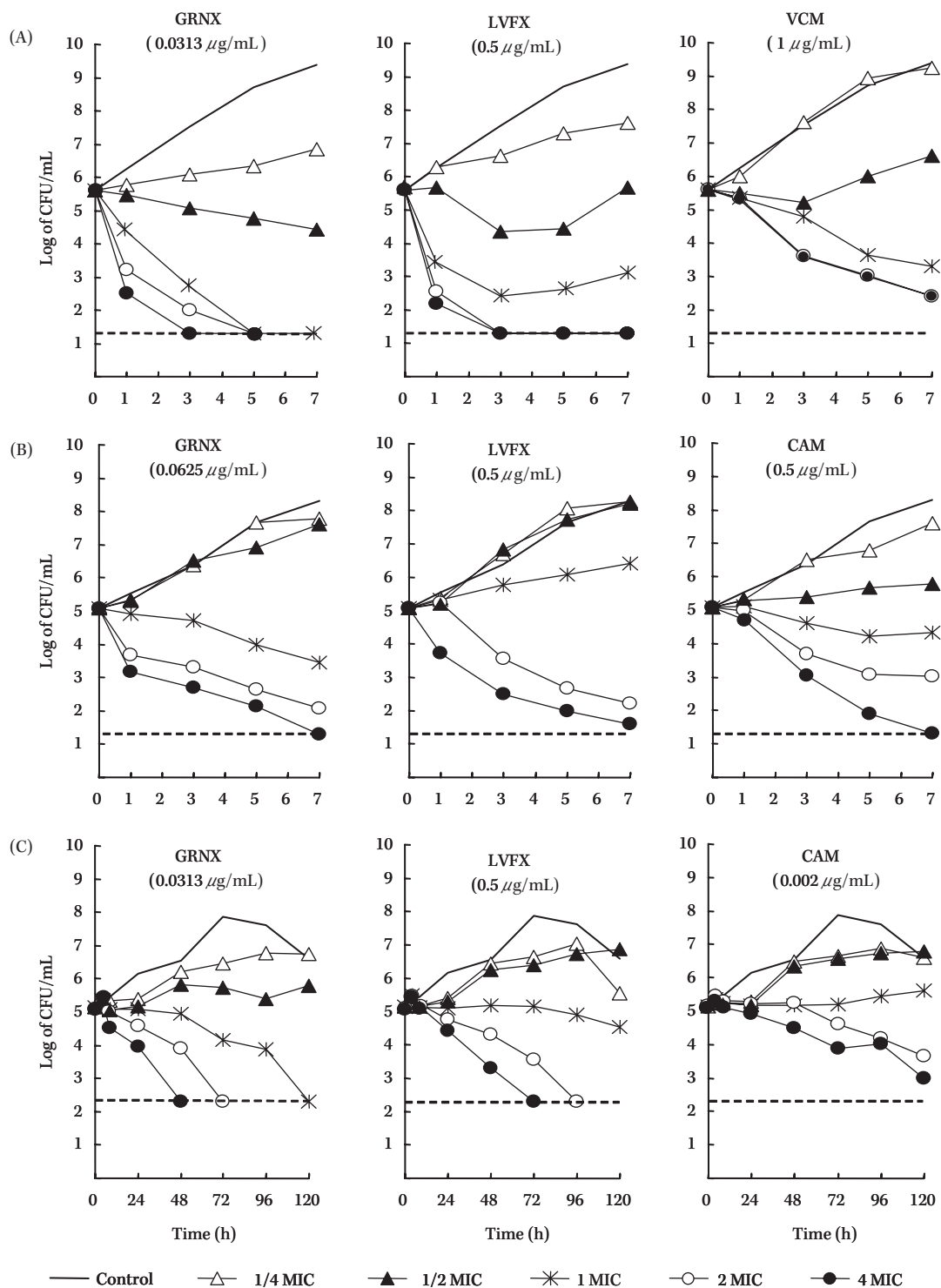


Fig. 1. Effect of GRNX on the growth curve of (A) methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* F-1479, (B) penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* D-1714, and (C) *Mycoplasma pneumoniae* FH. Abbreviations: see footnote of Table 1.

5. 耐性化に関する検討

1) 試験管内耐性獲得

各試験菌株の7回継代によるGRNXのMIC上昇の程度は、*S. aureus* IFO 12732, *S. pneumoniae* ATCC 49619 および *K. pneumoniae* ATCC 10031 では2倍, *P. aerugi-*

nosa ATCC 27853 では4倍で, LVFX および GFLX と同程度であった (Fig. 2)。

2) MPC

キノロン低感受性およびキノロン感受性の *S. aureus* および *S. pneumoniae* に対するGRNXのMPCは0.08~1

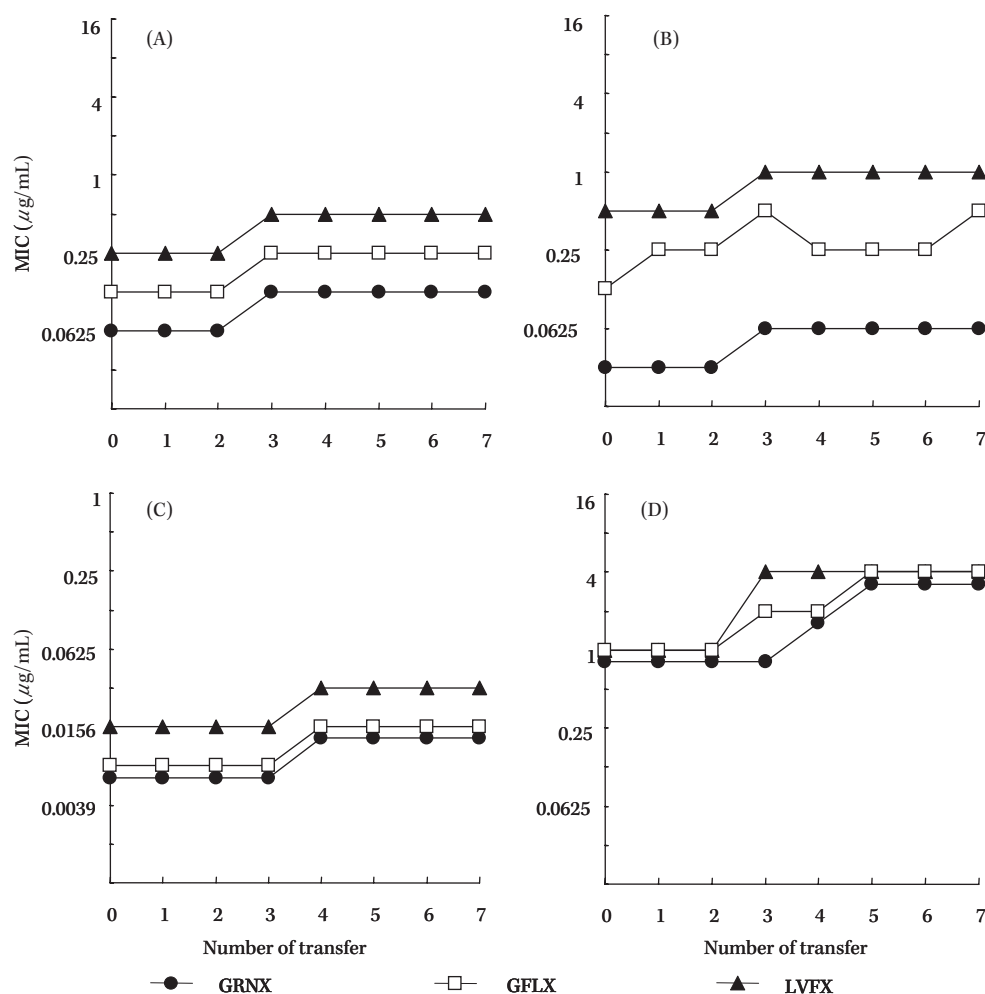


Fig. 2. Development of resistance in (A) *Staphylococcus aureus* IFO 12732, (B) *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, (C) *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, and (D) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 against GRNX by serial passage.

Abbreviations: see footnote of Table 1.

Table 10. MIC and MPC of GRNX against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*

Organism	Amino acid substitution		MIC ($\mu\text{g/mL}$)/MPC ($\mu\text{g/mL}$)		
	GyrA mutation	GrlA/ParC mutation	GRNX	LVFX	GFLX
<i>Staphylococcus aureus</i> CR-3	None	⁸⁰ Ser \rightarrow Phe	0.02/1	0.3/4	0.2/3
<i>Staphylococcus aureus</i> F-1659	⁸⁸ Glu \rightarrow Gly	⁸⁰ Ser \rightarrow Tyr	0.2/1	2/8	0.5/3
<i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732	None	None	0.03/0.2	0.2/0.7	0.06/0.3
<i>Staphylococcus aureus</i> SA113	None	None	0.01/0.1	0.1/0.7	0.03/0.3
<i>Streptococcus pneumoniae</i> CR-1	None	⁷⁹ Ser \rightarrow Tyr	0.1/1	2/30	0.4/5
<i>Streptococcus pneumoniae</i> D-3197	None	⁷⁹ Ser \rightarrow Phe	0.2/1	2/30	0.6/7
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	None	None	0.04/0.08	0.5/0.5	0.2/0.4

Inoculum size: MIC; *S. aureus* $3.2 - 4.6 \times 10^6$ CFU/mL, *S. pneumoniae* $1.0 - 1.8 \times 10^6$ CFU/mL

MPC; *S. aureus* $1.38 - 2.63 \times 10^{10}$ CFU/plate, *S. pneumoniae* $1.07 - 1.95 \times 10^{10}$ CFU/plate

Abbreviations: see footnote of Table 1.

$\mu\text{g/mL}$ で、LVFX (0.5~30 $\mu\text{g/mL}$) および GFLX (0.3~7 $\mu\text{g/mL}$) より低かった (Table 10)。

6. 作用機序

S. aureus 由来 DNA ジャイレースおよびトポイソメ

ラーゼ IV に対する GRNX の IC_{50} はそれぞれ 14.3 および 1.48 $\mu\text{g/mL}$ で、その阻害濃度は LVFX および GFLX より低かった。*S. pneumoniae* 由来 DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV に対する GRNX の IC_{50} はそれ

Table 11. Inhibitory concentration of GRNX against DNA gyrase and topoisomerase IV from *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Streptococcus pneumoniae* R6

Origin	Antibacterial agent	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$, 95% confidence limit)	
			DNA gyrase	Topoisomerase IV
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	GRNX	0.025	14.3 (11.0–19.1)	1.48 (1.12–1.95)
	LVFX	0.1	168 (122–256)	3.76 (3.04–4.52)
	GFLX	0.1	26.2 (19.7–34.9)	2.60 (2.15–3.14)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> R6	GRNX	0.0625	10.6 (9.52–11.7)	0.815 (0.734–0.905)
	LVFX	1	84.4 (72.4–98.6)	4.30 (3.97–4.67)
	GFLX	0.25	28.1 (23.7–33.2)	1.81 (1.65–2.00)
	CPFX	1	136 (111–169)	2.26 (1.98–2.58)

Abbreviations: see footnote of Table 1.

Table 12. PK/PD parameter of GRNX against quinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* D-1687

Parameter	GRNX 400 mg	
	total	free
Protein binding (%)	79.8%	
MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.628	
C _{max} ^{a)} /MIC	11.8	2.39
AUC _{0-24 h} ^{b)} /MIC	130.1	26.3
MKD ^{c)} ($\Delta \text{Log}_{10} \text{CFU}/\text{mL}$)	-5.12	-5.65
AAKC _{0-24 h} ^{d)} ($\Delta \text{Log}_{10} \text{CFU} \cdot \text{hr}/\text{mL}$)	> 110	> 90.1
99.9% KT ^{e)} (hr)	2.90	4.75
-3 Log KT ^{f)} (hr)	> 21.1	> 19.4

^{a, b)}: GRNX phase I study, ^{c)}: MKD: Maximum killing down, ^{d)}: AAKC_{0-24 h}: Area above the killing curve over 24 hours, ^{e)}: Time to 99.9% killing, ^{f)}: Keeping time for -3 Log killing

それぞれ 10.6 および 0.815 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、その阻害濃度は LVFX, GFLX および CPFX より低かった (Table 11)。

7. *in vitro* PK モデルにおけるキノロン耐性 *S. pneumoniae* に対する殺菌効果

GRNX は free (*f*) AUC_{0-24h}/MIC が 26.3 (400 mg 単回経口投与時血清中フリー体濃度の AUC_{0-24h}/MIC) の場合でも、用いたキノロン耐性 *S. pneumoniae* D-1687 に対する殺菌曲線上面積 (AAKC_{0-24h}) は、 $>90.1 \Delta \text{Log}_{10} \text{CFU} \cdot \text{hr}/\text{mL}$ 、99.9% 殺菌時間 (99.9%KT) は 4.75 時間、-3Log 殺菌維持時間 (-3LogKT) は >19.4 時間であり、強い殺菌効果が認められた (Table 12, Fig. 3)。

III. 考 察

新規 des-F (6)-quinolone 系抗菌薬 GRNX の *in vitro* 抗菌活性を既存のフルオロキノロン系および他系統の抗菌薬と比較した。その結果、GRNX はグラム陽性菌、グラム陰性菌、嫌気性菌、*Chlamydia* spp., *M. pneumoniae* および *Legionella* spp. に幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌活性を示した。

呼吸器感染症および耳鼻咽喉科領域感染症の主たる起 菌 は *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *K. pneumoniae*, *M. pneumoniae* および *C. pneumoniae* である¹²⁻¹⁴⁾。このうち、*S. pneumoniae* ではペニシ

リン耐性菌が臨床的に大きな問題となっており、さらに本耐性菌はマクロライド系抗菌薬に対しても高率に耐性を示すことが報告されている^{15,16)}。GRNX はこれらのペニシリン耐性やマクロライド耐性 *S. pneumoniae* に対し、既存のフルオロキノロン系抗菌薬より強い抗菌活性を示した。また、 β -ラクタム系抗菌薬、マクロライド系抗菌薬およびテトラサイクリン系抗菌薬に同時耐性を示す多剤耐性 *S. pneumoniae* に対しても GRNX は LVFX, GFLX および MFLX より強い抗菌活性を示した。*S. aureus* では MRSA が問題となっており、さらにこれらにはキノロン耐性が付与している場合が多い¹²⁾。GRNX は GyrA および GrlA に変異を保有する LVFX 中等度耐性 MRSA に対して、1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下で全株を発育阻止し、比較した LVFX, GFLX および MFLX より強い抗菌活性を示した。また、GRNX はキノロン耐性 *S. pneumoniae* に対しても、比較した LVFX, GFLX および MFLX より強い抗菌活性を示した。

グラム陰性菌の主要な呼吸器感染症起 菌 である *H. influenzae* では β -ラクタマーゼ産生菌あるいは BLNAR が、*M. catarrhalis* では β -ラクタマーゼ産生菌が高い比率で存在し、 β -ラクタム系抗菌薬耐性菌が大きな問題となっている¹⁷⁻²⁰⁾。GRNX は β -ラクタマーゼや PBP の変

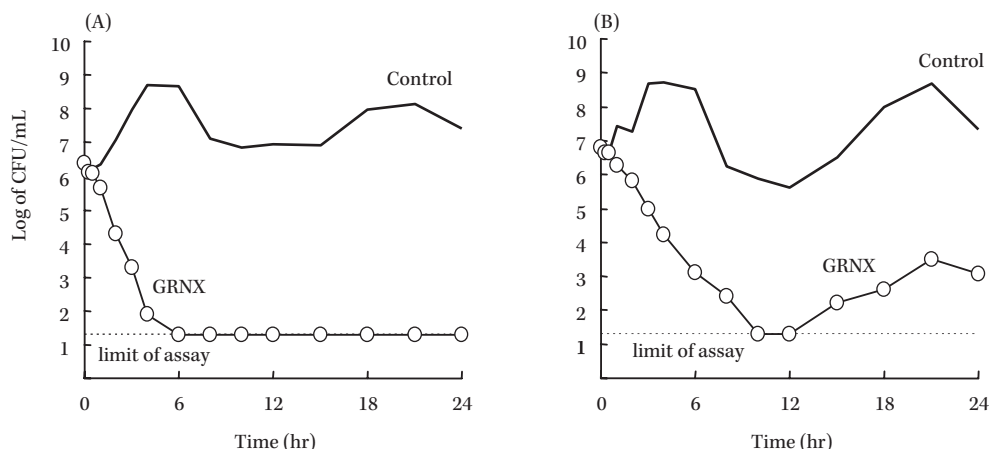


Fig. 3. Bactericidal activity of GRNX against quinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* D-1687 in an *in vitro* pharmacokinetic model. (A) 400 mg, total ($AUC_{0-24h}/MIC = 130.1$), (B) 400 mg, free ($AUC_{0-24h}/MIC = 26.3$).

異などによる β -ラクタム系抗菌薬耐性とは交叉せず、これらの薬剤耐性菌に強い抗菌活性を示した。また、GRNX は非定型肺炎の起因菌である *C. pneumoniae* および *M. pneumoniae* に対して、既存のフルオロキノロン系抗菌薬より強い抗菌活性を示した。*C. pneumoniae* では DNA ジャイレースに対する強い阻害作用²¹⁾を反映し、マクロライド系抗菌薬と同程度の抗菌活性が認められた。*Legionella* spp. に対し、GRNX は他のキノロン系抗菌薬やマクロライド系抗菌薬と同程度の強い抗菌活性を保有していた。以上の成績は、これまでの報告^{2, 22~25)}と一致するものであり、GRNX は既存のキノロン系抗菌薬や他系統抗菌薬の活性が不十分な多剤耐性 *S. pneumoniae*、キノロン耐性菌および BLNAR 等の各種薬剤耐性菌、ならびに *C. pneumoniae*、*M. pneumoniae*、*L. pneumophila* 等の非定型肺炎の起因菌に強い抗菌活性を示した。

GRNX の抗菌作用は同系類薬と同様に殺菌的で、*M. pneumoniae* ではマクロライド系抗菌薬より殺菌的に作用した。GRNX は *S. aureus* および *S. pneumoniae* の DNA ジャイレースおよびトポイソメラーゼ IV に対し、既存のキノロン系抗菌薬より強い阻害作用を示した。

また、キノロン耐性菌を含む *S. aureus* および *S. pneumoniae* における GRNX の MPC は $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以下で、比較した LVFX および GFLX より低く、その値はヒトでの 400 mg 反復経口投与時における 7 日後のトラフ値 ($1.92 \mu\text{g}/\text{mL}$: GRNX 臨床第 I 相試験) より低かった。これらの成績はこれまでの報告^{26~28)}と一致しており、耐性菌出現の低いことが示唆された。

キノロン系抗菌薬の治療効果の predictor は AUC/MIC と考えられている²⁹⁾。Lister³⁰⁾ は *S. pneumoniae* を用いた *In vitro* PK モデルで GRNX の $fAUC_{0-24h}/MIC$ が 32 以上で生菌数の減少が認められたことを報告している。また、Ambrose ら³¹⁾ は *S. pneumoniae* による community-

acquired pneumonia (CAP) の臨床試験で、LVFX および GFLX の $fAUC_{0-24h}/MIC$ が 34 以上の場合、細菌学的効果は 100% であったことを報告している。GRNX は優れた吸収率と高い血漿中濃度 (C_{max} , AUC) を有する。今回、キノロン耐性 *S. pneumoniae* を用いた *In vitro* PK モデルにおいて、GRNX は $fAUC_{0-24h}/MIC$ が 26.3 の場合 (400 mg 単回経口投与時に相当)、作用 24 時間後における菌の再増殖がほとんど認められず、上述の報告とほぼ一致した成績が得られ、本薬の臨床用量の妥当性および有用性を示唆するものと考えられた。

以上、GRNX は呼吸器ならびに耳鼻咽喉科領域感染症の主要なグラム陽性および陰性の起因菌種に対し強い抗菌活性を示した。特に β -ラクタム系抗菌薬、マクロライド系抗菌薬およびキノロン系抗菌薬の耐性菌を含むグラム陽性菌、また、*Chlamydia* spp., *M. pneumoniae* などに対して、既存のキノロン系抗菌薬にはみられない強い抗菌活性を示し、臨床における高い有用性が期待された。

文 献

- 1) Takahata M, Mitsuyama J, Yamashiro Y, Yonezawa M, Araki H, Todo Y, et al: *In vitro* and *In vivo* antimicrobial activities of T-3811 ME, a novel des-F(6)-quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1077-84
- 2) Fung-Tomc J C, Minassian B, Kolek B, Huczko E, Aleksunes L, Stickle T, et al: Antibacterial spectrum of a novel des-fluoro (6) quinolone, BMS-284756. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3351-6
- 3) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement M100-S14. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2004; 104-22
- 4) 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* 1981; 29: 76-9
- 5) 日本化学療法学会: 嫌気性菌の最小発育阻止濃度

- (MIC) 測定法。Chemotherapy 1979; 27: 559-61
- 6) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard-Sixth Edition, M7-A 6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2003
 - 7) 日本化学療法学会：クラミジア MIC 測定法—日本化学療法学会標準法—(1991 年改訂版)。Chemotherapy 1992; 40: 303-14
 - 8) 尾形 学 監, マイコプラズマとその実験法。近代出版, 東京, 1988; 441-8
 - 9) 猿渡克比孔：レジオネラの薬剤感受性測定法。臨床と微生物 1998; 25: 25-8
 - 10) 日本化学療法学会：抗菌薬感受性測定法検討委員会報告 (1992 年) 微量液体希釈法による MIC 測定法 (日本化学療法学会標準法) の一部修正。Chemotherapy 1993; 41: 183-9
 - 11) Ince D, Zhang X, Silver L C, Hooper D C: Dual targeting of DNA gyrase and topoisomerase IV: target interactions of garenoxacin (BMS-284756, T-3811-ME), a new desfluoroquinolone. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 3370-80
 - 12) 平湯 洋：耐性菌問題。成人病と生活習慣病 2004; 34: 1304-10
 - 13) 羽柴基之：鼻副鼻腔炎に対する薬物療法—マクロライドは有効か。化学療法の領域 2005; 21: 39-45
 - 14) 小林一女：急性中耳炎。耳喉頭頸 2005; 77: 243-8
 - 15) 宮下修行, 深野浩史, 松島敏春：市中肺炎の診断。薬局 2004; 55: 11-9
 - 16) 朝野和典：耐性菌抑制のためのキノロン薬, テリスロマイシンの投与適応。治療 2005; 87(Suppl): 1283-6
 - 17) 朝野和典：市中肺炎の薬物治療。薬局 2004; 55: 21-8
 - 18) 古西 満, 善本英一郎, 三笠桂一：日本呼吸器学会成人気道感染症診療の基本的考え方。日本胸部臨床 2004; 63: S16-21
 - 19) 武田英紀, 青島正人, 後藤 元：インフルエンザ菌。日本胸部臨床 2004; 63: S127-130
 - 20) 岸本寿男：肺炎の治療—市中肺炎。臨床と研究 2001; 78: 1025-30
 - 21) Ameyama S, Shinmura Y, Takahata M: Inhibitory activities of quinolones against DNA gyrase of *Chlamydia pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 2327-9
 - 22) Schmitz F J, Boos M, Mayer S, Jagusch H, Fluit A C: Increased *in vitro* activity of the novel des-fluoro (6) quinolone BMS-284756 against genetically defined clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 2002; 49: 283-7
 - 23) Korzheva N, Davies T A, Goldschmidt R: Novel Ser-79Leu and Ser81Ile substitutions in the quinolone resistance-determining regions of ParC topoisomerase IV and GyrA DNA gyrase subunits from recent fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 2479-86
 - 24) Waites K B, Crabb D M, Bing X, Duffy L B: *In vitro* susceptibilities to and bactericidal activities of garenoxacin (BMS-284756) and other antimicrobial agents against human mycoplasmas and ureaplasmas. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 161-5
 - 25) Malay S, Roblin P M, Reznik T, Kutlin A, Hammerschlag M R: *In vitro* activities of BMS-284756 against *Chlamydia trachomatis* and recent clinical isolates of *Chlamydia pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 517-8
 - 26) Blondeau J, Metzler K, Hansen G, Hedlin P, Borsos S: Determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) and mutation prevention concentration (MPC) for garenoxacin against clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2003 May 10-3; Glasgow, UK
 - 27) Zhao X, Eisner W, Perl-Rosenthal N, Kreiswirth B, Drlica K: Mutant prevention concentration of garenoxacin (BMS-284756) for ciprofloxacin-susceptible or -resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 1023-7
 - 28) Li X, Mariano N, Rahal J J, Urban C M, Drlica K: Quinolone-resistant *Haemophilus influenzae*: determination of mutant selection window for ciprofloxacin, garenoxacin, levofloxacin, and moxifloxacin. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 4460-2
 - 29) Andes D, Craig W A: Pharmacodynamics of the new des-F (6)-quinolone garenoxacin in a murine thigh infection model. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 3935-41
 - 30) Lister P D: Impact of AUC/MIC ratios on the pharmacodynamics of the des-F (6) quinolone garenoxacin (BMS-284756) is similar to other fluoroquinolones. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 199-202
 - 31) Ambrose P G, Grasela D M, Grasela T H, Passarell J, Mayer H B, Pierce P F: Pharmacodynamics of fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae* in patients with community-acquired respiratory tract infections. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 2793-7

In vitro antibacterial activity of garenoxacin

Masahiro Takahata, Yoshiko Fukuda, Naoko Futakuchi, Yoko Sugiura,
Harumi Hisada, Shingo Mizunaga, Naoko Oogake, Yuko Ito,
Yuko Shinmura, Masatoshi Nakatani, Tomoaki Tanaka, Takashi Komeno,
Tomoko Kamiyama, Junichi Mitsuyama and Yozo Todo

Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd., 2-4-1 Shimookui, Toyama, Japan

We evaluated the *in vitro* antibacterial activity of garenoxacin mesilate hydrate (GRNX). Results are summarized as follows:

1. GRNX showed a broad spectrum of potent activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria in both aerobic and anaerobic bacteria, *Chlamydia* spp., *Mycoplasma pneumoniae* and *Legionella* spp.

2. GRNX showed potent antibacterial activity against clinical isolates of Gram-positive bacteria. The MIC₉₀s of GRNX against methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) and *Streptococcus* spp., including penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) were 0.05 μg/mL to 0.1 μg/mL and were 1/2 to 1/32 than that of levofloxacin (LVFX), gatifloxacin (GFLX), moxifloxacin (MFLX) ciprofloxacin (CPFX) and tosufloxacin (TFLX).

3. In Gram-negative bacteria, the MIC₉₀ of GRNX against *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* and *Klebsiella pneumoniae*, major pathogens of respiratory tract infection, were 0.025 to 1.56 μg/mL, and were the same as that of other quinolones tested.

4. The MIC of GRNX against *Chlamydophila pneumoniae* and MIC₉₀ of GRNX against *M. pneumoniae* were 0.002 μg/mL to 0.008 μg/mL and 0.0313 μg/mL, respectively, and were lowest among quinolones tested. The MIC₉₀ of GRNX against *Legionella pneumophila* was the same as that of GFLX and more potent than that of other quinolones tested.

5. The *in vitro* antibacterial activity of GRNX was not influenced by the type of medium, medium pH, addition of human serum, or inoculum size.

6. The action of GRNX was bactericidal. The mutant prevention concentrations (MPCs) of GRNX against *S. aureus* and *S. pneumoniae* including quinolone-resistant strains were less than 1 μg/mL, and were lower than those of LVFX and GFLX.

7. The inhibitory effect of GRNX against DNA gyrase and topoisomerase IV of *S. aureus* and *S. pneumoniae* was more potent than that of LVFX and GFLX.

8. In an *in vitro* pharmacokinetic model simulating serum concentration of GRNX following 400 mg single oral administration, GRNX showed a potent bactericidal activity against quinolone-resistant *S. pneumoniae*.