

【原著・基礎】

Garenoxacin の *in vivo* 抗菌活性

福田 淑子・高畑 正裕・杉浦 陽子・中谷 雅年・新村 裕子
久田 晴美・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 6 日受理)

新規 des-F(6)-quinolone 系抗菌薬 garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) の各種動物感染モデルにおける *in vivo* 抗菌活性について検討し、以下の成績を得た。

- ①メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) によるマウス全身感染モデルにおける GRNX の 50% 有効用量 (ED₅₀ 値) は 0.00593 mg/mouse で、levofloxacin (LVFX) および gatifloxacin (GFLX) より低く、ペニシリン耐性 *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) に対しては 0.555 mg/mouse で、GFLX と同程度で、LVFX より低かった。*Escherichia coli* および *Pseudomonas aeruginosa* に対しては、LVFX および GFLX と同程度の治療効果を示した。
- ② PRSP によるマウス肺炎モデルにおける GRNX 投与群の肺内生菌数は < 2.68 Log of CFU/g であり、LVFX および GFLX より低かった。
- ③ *Mycoplasma pneumoniae* によるハムスター肺炎モデルにおいて、GRNX の 20 および 40 mg/kg 投与群の気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中生菌数は LVFX 投与群に比べ低かった。
- ④ *Chlamydomphila pneumoniae* によるマウス肺炎モデルにおける GRNX の ED₅₀ 値は 0.0286 mg/mouse で、LVFX および azithromycin (AZM) に比べ低かった。
- ⑤ *Legionella pneumophila* によるモルモット肺炎モデルにおいて、GRNX 投与群の肺内生菌数は 2.84 Log of CFU/Lung であり、ciprofloxacin (CPF) および clarithromycin (CAM) 投与群より少なく、rifampicin (RFP) と同程度であった。

Key words: garenoxacin, *in vivo*, antibacterial activity

Garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) は富山化学工業株式会社に創製され、これまでに上市されたフルオロキノロン系抗菌薬に共通の 6 位フッ素置換基を有さない新規 des-F(6)-quinolone 系抗菌薬である¹⁾。GRNX はグラム陽性菌をはじめグラム陰性菌、嫌気性菌および非定型菌に対して幅広い抗菌スペクトルを有し、特に、グラム陽性菌に対しては従来のフルオロキノロン系抗菌薬よりも強い抗菌力を示す¹⁻⁵⁾。また、本薬剤はヒトならびに各種動物において優れた経口吸収性、組織移行性を示す⁶⁾。

今回われわれは、各種実験の感染モデルを用いた GRNX の *in vivo* 抗菌活性を levofloxacin (LVFX), gatifloxacin (GFLX), ciprofloxacin (CPF), azithromycin (AZM), clarithromycin (CAM) および rifampicin (RFP) と比較したので、その成績を報告する。

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メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) F-1479, ペニシリン耐

性 *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) D-979, *Escherichia coli* TK-16, *Pseudomonas aeruginosa* S-1295, *Mycoplasma pneumoniae* FH, *Chlamydomphila pneumoniae* TW-183 および *Legionella pneumophila* ATCC 33152 を用いた。

2. 使用薬剤

GRNX (富山化学工業株式会社合成品), LVFX [クラビット錠 (第一三共株式会社) からの抽出品もしくは LKT Laboratories, Inc からの購入品], GFLX [ガチフロ錠 (杏林製薬株式会社) からの抽出品], CPF [シプロキサ錠 (バイエル薬品株式会社) からの抽出品], CAM [クラリシッド錠 (アボットジャパン株式会社) からの抽出品もしくは粉砕品], AZM [ジスロマック錠 (ファイザー株式会社) からの抽出品] および RFP (Sigma) を用いた。いずれの薬剤も純度あるいは含量が明らかなのを使用し、濃度は活性本体の値として表示した。

薬剤は 0.5% メチルセルロース (MC: 信越化学工業株式会社または和光純薬工業株式会社) 溶液に懸濁して投与した。

*富山県富山市下奥井 2-4-1

白血球減少マウスの作製には cyclophosphamide (CY: 注射用エンドキサン, 塩野義製薬株式会社) を、動物の麻酔には、ケタラル筋注用 500 mg (5% ケタミン液, 第一三共プロファーマ株式会社), セラクター 2% 注射液 (2% キシラジン液, バイエル薬品株式会社) と滅菌生理食塩液の混液もしくはペントバルビタールナトリウム注射液 (5% ネンプター液, 大日本住友製薬株式会社) を用いた。

3. 使用動物

全身感染モデルには 4 週齢の ICR 系雄性マウス (n=10) を、肺炎モデルには 4 または 4.5 週齢の ICR 系雄性マウス (n=10), 5 週齢の Syrian 系雄性ハムスター (n=5~8) および 3.5 週齢の Hartley 系雄性モルモット (n=4~5) を用いた。いずれの動物も日本エスエルシー株式会社より購入した。C. pneumoniae による肺炎モデルでは、感染 4 日前のマウスに CY を 250 mg/kg 腹腔内に投与することにより白血球減少状態とした。

なお、動物を用いた検討は実験動物倫理規定に従って実施した。

4. 感受性測定

最小発育阻止濃度 (MIC) は、日本化学療法学会標準法⁷⁾に準じ、S. aureus, E. coli および P. aeruginosa では Mueller-Hinton agar (MHA: Difco) を、また S. pneumoniae では 5% 綿羊脱繊維血液 (日本バイオテスト研究所) 加 MHA を用いた寒天平板希釈法により測定した。

M. pneumoniae では、30% Mycoplasma Supplements S (Difco), 0.5% ブドウ糖 (和光純薬工業株式会社) および 0.002% フェノールレッド (東京化成株式会社) 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⁾にて MIC を測定した。C. pneumoniae に対する MIC は HEp-2 細胞を用い、日本化学療法学会標準法のクラミジア MIC 測定法⁹⁾に準じて測定した。L. pneumophila の場合は、BSYE 液体培地 [1% yeast extract (Difco), 1% ACES (同仁化学研究所), 0.25% KOH, 0.5% L-グルタミン酸ナトリウム (和光純薬工業株式会社), 1.5% 可溶性スターチ (ナカライテスク) および レジオネラアガーエンリッチメント (Difco) を混合し、1 mol/L KOH で pH 6.90±0.10 に調整] を用い、微量液体希釈法^{10,11)}にて MIC を測定した。

5. マウス全身感染モデル

MRSA F-1479 および P. aeruginosa S-1295 では、37°C で一夜培養した Heart Infusion agar (HIA: 栄研化学株式会社) 平板上の、また E. coli TK-16 では 37°C で一夜培養した MHA 平板上の菌体を滅菌生理食塩液に懸濁し、この菌液を 5.6% ムチン (Difco) 加 1/15 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0, 和光純薬工業株式会社) で 10 倍に希釈して接種用菌液とした。PRSP D-979 では、37°C で一夜培養した 5% 綿羊脱繊維血液加 MHA 平板上の菌体を滅菌生理食塩液に懸濁し、この菌液を Brain Heart Infusion

broth (BHIB: 栄研化学株式会社) 10 mL に 1% 接種、37°C で約 4 時間振とう培養後、BHIB で適宜希釈して接種用菌液とした。

いずれの菌液も 0.5 mL を腹腔内に接種することにより感染を惹起し、感染 1 時間後に 0.5% MC 溶液に懸濁した薬剤を経口投与した。感染 7 日後のマウス生存匹数から Probit 法により、50% 有効用量 (ED₅₀) および 95% 信頼限界値を算出した。ED₅₀ 値および 95% 信頼限界値の算出には、SAS release 8.2 (株式会社 SAS インスティテュートジャパン) を用いた。

6. 肺炎モデル

1) PRSP 肺炎モデル

37°C で一夜培養した 5% 綿羊脱繊維血液加 MHA 平板上の PRSP D-979 の菌体を滅菌生理食塩液に懸濁し、この菌液を BHIB 10 mL に 1% 接種、37°C で約 6 時間振とう培養して接種用菌液とした。ケタラル、セラクター および滅菌生理食塩液の混液を筋肉内投与し、麻酔したマウスに、菌液 20 μL を経鼻的に接種し感染を惹起した。感染 18 時間後より 0.5% MC 溶液に懸濁した薬剤 5 mg/kg を 4 時間間隔で 1 日 3 回、2 日間経口投与した。最終投与の 18 時間後に、各投与群におけるマウスの生死を観察し、死亡率を求めた。また、肺内生菌数 (Log₁₀ of Colony Forming Unit/gram of Lung: Log of CFU/g) は、安楽死後の動物より摘出した肺をホモジナイズ後適宜希釈し、5% 綿羊脱繊維血液加 MHA 平板に塗抹、一夜培養後に出現したコロニーを計数することにより求めた。

各投与群間の肺内生菌数の有意差は、ノンパラメトリック Dunnett 検定により比較し、有意水準は両側 5% とした。GRNX 投与群で肺内生菌数が検出限界以下であった個体には、検出限界値である 2.30 Log of CFU/g を当てはめた。統計ソフトには SAS release 8.2 (株式会社 SAS インスティテュートジャパン) を用いた。

2) M. pneumoniae 肺炎モデル

ペントバルビタールナトリウム注射液の腹腔内投与で麻酔したハムスターに、37°C で 7 日間培養した M. pneumoniae FH の PPLO 液体培地での培養液 0.1 mL を経気道的に接種し感染を惹起した。感染 7 日後より、0.5% MC 溶液に懸濁した薬剤 10, 20 および 40 mg/kg を 1 日 1 回、2 日間もしくは 5 日間経口投与した。最終投与翌日となる感染 9 および 12 日後、安楽死後のハムスターの気管に Hanks 液 (日水製薬株式会社) 2 mL を注入し、気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取した。BALF 中生菌数は、BALF およびその希釈液を 2.5% イーストエキス (オリエンタル酵母株式会社), 20% ウマ血清 (JRH BI-OSCIENCE), 0.5% ブドウ糖, 0.05% アンピシリン (旭化成株式会社) 加 PPLO 寒天培地 (Difco) に塗抹、37°C で 7 日間培養後に出現したコロニー数を計数することにより求めた。

各投与群の感染 12 日後の BALF 中生菌数の有意差検

Table 1. Therapeutic effects of garenoxacin on experimental systemic infections in mice

Organism	Challenge dose (CFU/mouse)	Drug	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ED ₅₀ [95% confidence limit] (mg/mouse)	
<i>Staphylococcus aureus</i> F-1479 (MRSA)	9.2×10^7	GRNX	0.025	0.00593	[0.00297 - 0.0107]
		LVFX	0.39	0.117	[0.0716 - 0.194]
		GFLX	0.2	0.0208	[0.00158 - 0.125]
<i>Streptococcus pneumoniae</i> D-979 (PRSP)	3.1×10^8	GRNX	0.05	0.555	[0.473 - 0.633]
		LVFX	0.78	1.91	[0.202 - 2.60]
		GFLX	0.2	0.557	[0.456 - 0.654]
<i>Escherichia coli</i> TK-16	5.7×10^8	GRNX	0.00313	0.0111	[0.00908 - 0.0130]
		LVFX	0.00625	0.0121	[0.00989 - 0.0145]
		GFLX	0.00313	0.0112	[0.00918 - 0.0131]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> S-1295	2.2×10^7	GRNX	0.39	0.913	[0.531 - 1.85]
		LVFX	0.39	0.917	[0.701 - 1.35]
		GFLX	0.39	0.945	[0.677 - 2.48]

Animal: 4-week-old male ICR strain mice, 10 mice/group
 Infection: Intraperitoneal infection
 Administration: Oral administration at 1 hr after infection
 MICs were determined by agar dilution.
 ED₅₀s were calculated by Probit.

定は、Tukey 検定により比較した。ただし、10 mg/kg の投与量群では群間における例数が等しくなかったため、パラメトリック Tukey-Kramer 検定により比較した。また、20 および 40 mg/kg の投与量群では、GRNX 投与群の BALF 中生菌数が検出限界以下であったので、検出限界値 (2.30 Log of CFU/mL) をあてはめ、ノンパラメトリック Tukey 検定により比較した。有意水準は両側 5% とした。統計ソフトには SAS release 8.2 (株式会社 SAS インスティテュートジャパン) を用いた。

3) *C. pneumoniae* 肺炎モデル

ケタラル、セラクターおよび滅菌生理食塩液の混液の筋肉内投与で麻酔したマウスに、*C. pneumoniae* TW-183 の菌液 0.05 mL を経気道的に接種することにより感染を惹起した。感染翌日から 0.5% MC 溶液に懸濁させた薬剤を 8 時間間隔で 1 日 2 回、3 日間経口投与した。最終投与 14 日後の生存匹数より、Probit 法を用い、1 回あたりの投与量として ED₅₀ 値および 95% 信頼限界値を算出した。ED₅₀ 値および 95% 信頼限界値の算出および、GRNX および各対照薬剤投与群の 2 群間の有意差検定には Yukms II Ver.5 (ユクムス株式会社) を用いた。

4) *L. pneumophila* 肺炎モデル

35°C で一夜培養した 1% レジオネラアガーエンリッチメント加レジオネラ寒天 (Difco) 平板上の *L. pneumophila* ATCC 33152 の菌体を滅菌生理食塩液に懸濁、これを滅菌生理食塩液で希釈し、接種用菌液とした。

ケタラル、セラクターおよび滅菌生理食塩液の混液の腹腔内投与により麻酔したモルモットに、菌液 0.3 mL を経気道的に接種し感染を惹起した。感染 24 時間後より、0.5% MC 溶液に懸濁した薬剤 5 mg/kg を 1 日 1

回 2 日間あるいは 7 日間投与した。感染 3 および 8 日後に動物を安楽死させ、摘出した肺をホモジナイズし、適宜希釈後、1% レジオネラアガーエンリッチメント加レジオネラ寒天平板に塗抹、35°C で 3 日間培養後に出現したコロニー数を計数することにより、肺内生菌数 (Log of CFU/Lung) を求めた。

各投与群の肺内生菌数の有意差検定は、Tukey 検定にて行い、有意水準を両側 5% とした。CAM 投与群の途中死亡例については無治療群の感染 3 日後の肺内生菌数 (10.3 Log of CFU/Lung) を、また LVFX および RFP 投与群で検出限界以下であった個体には、検出限界値である 2.60 Log of CFU/Lung をあてはめた。2 日間投与群間の検定にはパラメトリックを、7 日間投与群間の検定にはノンパラメトリック法を用いた。統計ソフトには SAS release 6.12 (株式会社 SAS インスティテュートジャパン) を用いた。

II. 結 果

1. マウス全身感染モデルに対する治療効果

被験菌株に対する GRNX および対照薬の MIC ならびに ED₅₀ 値を Table 1 に示す。

MRSA F-1479 に対する GRNX, LVFX および GFLX の MIC はそれぞれ、0.025, 0.39 および 0.2 $\mu\text{g/mL}$ であった。GRNX の ED₅₀ 値は 0.00593 mg/mouse であり、LVFX (0.117 mg/mouse) および GFLX (0.0208 mg/mouse) より低かった。

PRSP D-979 に対する GRNX, LVFX および GFLX の MIC はそれぞれ、0.05, 0.78 および 0.2 $\mu\text{g/mL}$ であった。GRNX の ED₅₀ 値は 0.555 mg/mouse であり、GFLX (0.557 mg/mouse) と同程度で、LVFX (1.91 mg/mouse)

Table 2. Therapeutic effect of garenoxacin on experimental pneumonia caused by penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* D-979 in mice

Organism	Drug	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Mortality (%)	Viable cell counts in lung (Log of CFU/g)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> D-979 (PRSP)	Control	—	70	5.11 \pm 0.95 *
	GRNX	0.05	0	< 2.68 \pm 0.83
	LVFX	0.78	0	5.30 \pm 0.88 ***
	GFLX	0.2	0	4.15 \pm 0.74 *

Animal: 4.5-week-old male ICR strain mice, 10 mice/group

Infection: *S. pneumoniae* D-979 (6.0×10^6 CFU/mouse), transnasal infection

Administration: Oral administration (5 mg/kg) from 18 hr after infection, three times a day for 2 days

MICs were determined by agar dilution.

*: $P < 0.05$, ***: $P < 0.001$ vs. GRNX by Dunnett test

より低かった。

E. coli TK-16 に対する GRNX, LVFX および GFLX の MIC はそれぞれ, 0.00313, 0.00625 および 0.00313 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。GRNX の ED₅₀ 値は 0.0111 mg/mouse であり, LVFX (0.0121 mg/mouse) および GFLX (0.0112 mg/mouse) と同程度であった。

P. aeruginosa S-1295 に対する GRNX, LVFX および GFLX の MIC はそれぞれ, 0.39, 0.39 および 0.39 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。GRNX の ED₅₀ 値は 0.913 mg/mouse で, LVFX (0.917 mg/mouse) および GFLX (0.945 mg/mouse) と同程度であった。

2. 肺炎モデルに対する治療効果

1) PRSP 肺炎モデル

PRSP D-979 によるマウス肺炎モデルに対する GRNX および対照薬投与群の肺内生菌数を Table 2 に示す。

Control (無治療) 群では 70% が死亡したが, GRNX, LVFX および GFLX 投与群では全例が生存した。GRNX 投与群の肺内生菌数は < 2.68 Log of CFU/g で LVFX 投与群 (5.30 Log of CFU/g), GFLX 投与群 (4.15 Log of CFU/g) および control 群 (5.11 Log of CFU/g) より有意 (それぞれ $P < 0.001$, $P < 0.05$ および $P < 0.05$) に少なかった。

2) *M. pneumoniae* 肺炎モデル

M. pneumoniae FH に対する GRNX および対照薬の MIC ならびに投与開始日 (感染 7 日後) と最終投与翌日 (感染 9 および 12 日後) における BALF 中生菌数推移を Fig. 1 に示す。

M. pneumoniae FH に対する GRNX, LVFX および CAM の MIC はそれぞれ 0.0313, 0.5 および 0.002 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

GRNX 10 mg/kg 投与群における感染 12 日後の BALF 中生菌数は, 4.95 \pm 0.40 Log of CFU/mL であり, control (無治療) 群に比べて有意に少なかった ($P < 0.01$)。GRNX 20, 40 mg/kg 投与群における感染 12 日後の BALF 中生菌数はそれぞれ < 2.90 \pm 0.71, < 2.30 Log of CFU/mL であり, control 群 ($P < 0.05$, $P < 0.001$) および

LVFX 投与群 ($P < 0.01$, $P < 0.05$) に比べて有意に少なかった。CAM 投与群ではいずれの投与量においても, control 群に比べ有意な生菌数の減少は認められなかった。

3) *C. pneumoniae* 肺炎モデル

C. pneumoniae TW-183 に対する GRNX および対照薬の MIC ならびに ED₅₀ 値を Table 3 に示す。

C. pneumoniae TW-183 に対する GRNX, LVFX および AZM の MIC はそれぞれ, 0.008, 0.25 および 0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

GRNX の ED₅₀ 値は 0.0286 mg/mouse であり, LVFX (0.435 mg/mouse) および AZM (0.114 mg/mouse) より有意に低かった ($P < 0.05$)。

4) *L. pneumophila* 肺炎モデル

L. pneumophila ATCC 33152 に対する GRNX および対照薬の MIC ならびに肺内生菌数を Fig. 2 に示す。

L. pneumophila ATCC 33152 に対する GRNX, LVFX, CPF, CAM および RFP の MIC はそれぞれ, 0.0078, 0.0156, 0.0313, 0.0078 および 0.000125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

感染 3 日後における GRNX 投与群の肺内生菌数は 8.03 \pm 0.930 Log of CFU/Lung であり, control (無治療) 群に比べて有意 ($P < 0.05$) に少なく, CAM 投与群 (8.03 \pm 1.03 Log of CFU/Lung) と同程度であった。感染 8 日後における GRNX 投与群の肺内生菌数は 2.84 \pm 0.135 Log of CFU/Lung であり, control 群に比べて有意に少なく ($P < 0.05$), CPF (5.53 \pm 0.969 Log of CFU/Lung) および CAM 投与群 (7.56 \pm 3.79 Log of CFU/Lung) より少なく, RFP (3.60 \pm 0.991 Log of CFU/Lung) と同程度であった。

III. 考 察

今回, われわれは, GRNX の *in vivo* における抗菌活性を明らかにするために, 各種実験的感染モデルに対する効果について検討を行った。

GRNX はマウス全身感染モデルにおいて, 感染菌に対する強い *in vitro* 抗菌活性¹⁻⁵⁾ および良好な体内動態⁶⁾ を

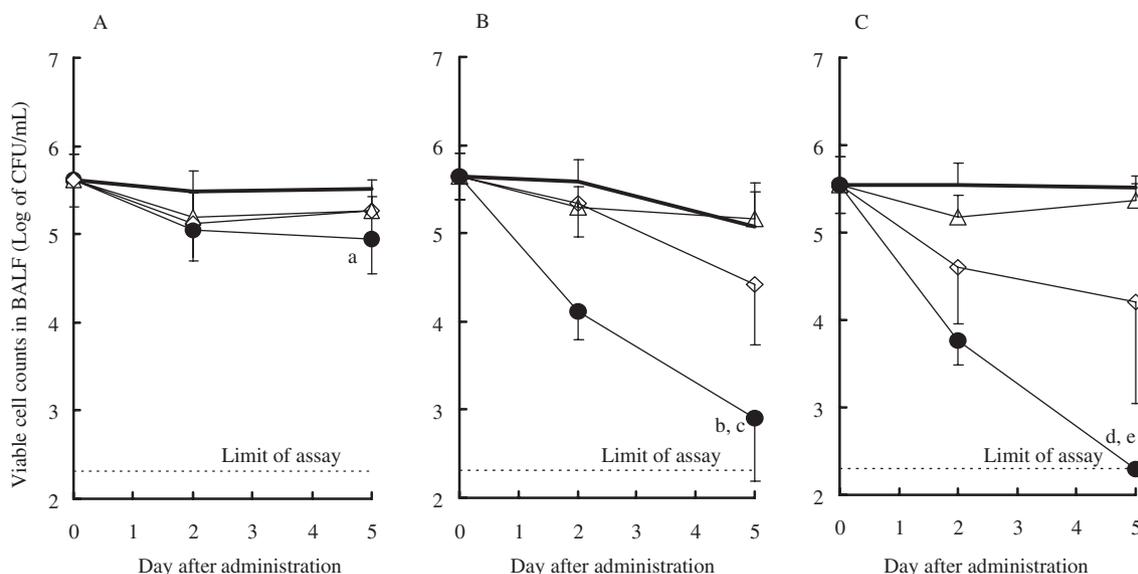


Fig. 1. Therapeutic effects of garenoxacin and other antibacterial agents on experimental pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae* FH in hamsters.

A: 10 mg/kg, B: 20 mg/kg, C: 40 mg/kg.

closed circle; GRNX, open triangle; LVFX, open diamond; CAM, bold line; Control.

Animal: 5-week-old male Syrian hamster, n = 5-8.

Infection: *M. pneumoniae* FH (1.76×10^7 CFU/hamster), intratracheal infection.

Administration: Oral administration from 7 days after infection, once a day for 2 or 5 days.

a: $P < 0.01$ (vs. Control) by Tukey-Kramer test, b: $P < 0.01$ (vs. LVFX) by Tukey test, c: $P < 0.05$ (vs. Control) by Tukey test, d: $P < 0.001$ (vs. Control) by Tukey test, e: $P < 0.05$ (vs. LVFX) by Tukey test.

MIC ($\mu\text{g/mL}$): GRNX 0.0313, LVFX 0.5, CAM 0.002.

Table 3. Therapeutic effect of garenoxacin on experimental pneumonia caused by *Chlamydomphila pneumoniae* TW-183 in mice

Organism	Drug	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ED ₅₀ [95% confidence limit] (mg/mouse/injection)
<i>C. pneumoniae</i> TW-183	GRNX	0.008	0.0286 [0.00206 - 0.0497]
	LVFX	0.25	0.435 * [0.327 - 0.555]
	AZM	0.125	0.114 * [0.00449 - 0.248]

Animal: 4-week-old male ICR strain mice, 10 mice/group

Immunosuppression: Intraperitoneal injection of cyclophosphamide at dose of 250 mg/kg before 4 days of infection

Infection: *C. pneumoniae* TW-183 (1.94×10^7 IFU/mouse), intratracheal infection

Administration: Oral administration from 1 day after infection, twice a day for 3 days

MICs were determined according to the approved guidelines of the Japanese Society of Chemotherapy.

ED₅₀s were calculated by Probit.

*: $P < 0.05$ vs. GRNX

反映し、優れた治療効果を示した。特にグラム陽性菌である MRSA による感染モデルにおいては GRNX が最も優れ、PRSP による感染モデルにおいては GFLX と同程度で、LVFX より強い治療効果を示した。また、グラム陰性菌 2 菌種による感染においても、GRNX は LVFX および GFLX と同程度の治療効果を示した。

各種動物における肺炎モデルにおいても、GRNX は優れた治療効果を示した。すなわち、PRSP によるマウス肺

炎モデルにおいては LVFX および GFLX より、また *M. pneumoniae* によるハムスター肺炎モデルにおいては LVFX および CAM より優れた治療効果を示した。

本邦における PRSP の分離頻度は諸外国に比べて高く¹²⁾、肺炎や中耳炎において治療に難渋する例が報告されている¹³⁾。またマイコプラズマでは頻度は少ないものの、マクロライド高度耐性菌が分離されたとの報告もあり¹⁴⁾、マクロライド耐性菌による感染では治療期間が延

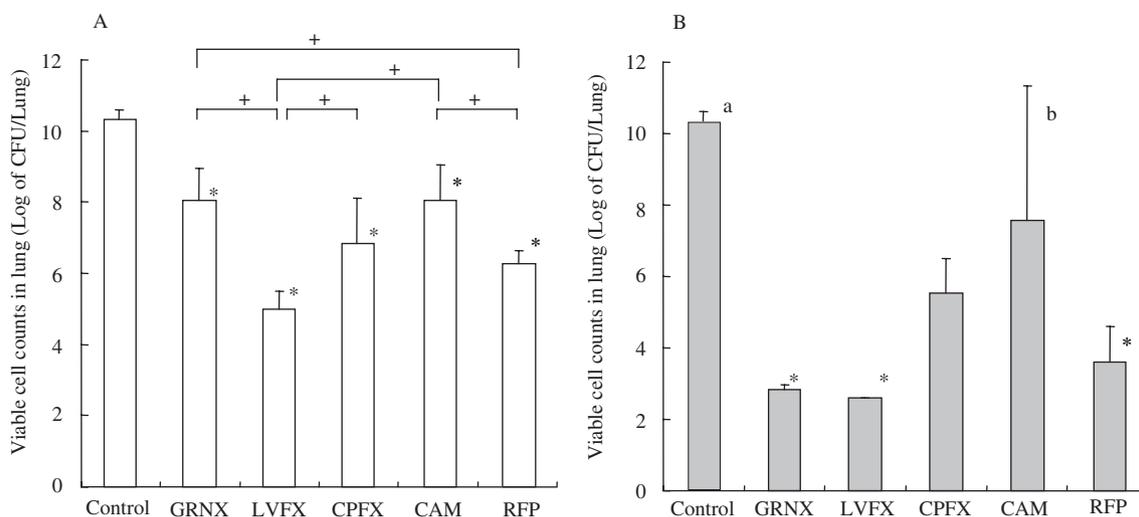


Fig. 2. Therapeutic effects of garenoxacin and other antibacterial agents on experimental pneumonia caused by *Legionella pneumophila* ATCC 33152 in guinea pigs.

A: Day 3 (2 times administration), B: Day 8 (7 times administration).

Animal: 3.5-week-old male Hartley guinea pigs (n = 4-5).

Infection: *L. pneumophila* ATCC 33152 (9.60×10^6 CFU/guinea pig), intratracheal infection.

Administration: Oral administration (5 mg/kg) from 24 hr after infection, once a day for 2 or 7 days.

*: $P < 0.05$ (vs. Control), +: $P < 0.05$ by Tukey or Tukey-Kramer test.

a: Viable cell counts of the control group at day 3 were applied to those at day 8, as all guinea pigs of the control group died.

b: Viable cell counts of the control group at day 3 were applied to those of three guinea pigs dead in the CAM-treated group at day 8.

MIC ($\mu\text{g/mL}$): GRNX 0.0078, LVFX 0.0156, CPFX 0.0313, CAM 0.0078, RFP 0.000125.

長することが報告されている¹⁵⁾。GRNXは他系統の薬剤耐性菌に対して交叉耐性を示さないことに加え、*in vivo*においても対照薬剤に比べて良好な治療効果を示したことから、 β -ラクタムやマクロライド耐性菌を含む各種感染症起因菌に対し、高い有用性が期待された。

細胞内感染菌による肺炎モデルでは、GRNXは*C. pneumoniae*によるマウス肺炎モデルにおいてLVFXおよびAZMより、また*L. pneumophila*によるモルモット肺炎モデルにおいてCPFAXおよびCAMより優れ、RFPと同程度の治療効果を示した。これらの菌種に対しては、GRNXの強い*in vitro*抗菌活性¹⁻⁵⁾と良好な体内動態⁶⁾に加え、細胞内への高い移行性が治療効果に反映したと考えられた。

GRNXは、ヒトにおいても経口投与後速やかに吸収され、高い血漿中濃度(C_{\max} , AUC)を有し、良好な体内動態を示す。さらに、気管支粘膜および肺胞マクロファージでは、血漿中濃度と同等、もしくはそれ以上の濃度を示し¹⁶⁾、副鼻腔粘膜および中耳粘膜等の耳鼻科領域組織への移行性も良好である。今回、GRNXが強い*in vitro*抗菌活性および良好な体内動態を反映し、マウス全身感染モデルおよび各種動物呼吸器感染モデルにおいて優れた治療効果を示したことは、GRNXのヒトでの有用性を

示唆しているものと考えられた。

以上、GRNXは、各種グラム陽性菌や*C. pneumoniae*, *M. pneumoniae*および*L. pneumophila*などの呼吸器感染症および耳鼻咽喉科領域感染症における主要な起炎菌に対して強い*in vivo*抗菌活性を示したことから、優れた臨床効果を発揮することが期待される。

文 献

- 1) Hayashi K, Takahata M, Kawamura Y, Todo Y: Synthesis, antibacterial activity, and toxicity of 7-(isoindolin-5-yl)-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids. Discovery of the novel des-F (6)-quinolone antibacterial agent garenoxacin (T-3811 or BMS-284756). *Arzneimittelforschung* 2002; 52: 903-13
- 2) 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
- 3) 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; 43: 3351-6
- 4) Malay S, Roblin P M, Reznik T, Kutlin A, Hammerschlag M R: *In vitro* activities of BMS-284756 against *Chlamydia trachomatis* and recent clinical iso-

- lates of *Chlamydia pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 517-8
- 5) 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 Mycoplasma and Ureaplasmas. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 161-5
 - 6) Hayakawa H, Fukushima Y, Kato H, Fukumoto H, Kadota T, Yamamoto H, et al: Metabolism and disposition of novel des-fluoro quinolone garenoxacin in experimental animals and an interspecies scaling of pharmacokinetic parameters. Drug Metab Dispos 2003; 31: 1409-18
 - 7) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 1981; 29: 76-9
 - 8) 山本孝志：5章マイコプラズマ実験法。分離培地と分離培養法。尾形 学 監，興水 馨，清水高正，山本孝史 編，マイコプラズマとその実験法，近代出版，東京，1988; 333-6
 - 9) 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: 304-7
 - 10) 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
 - 11) 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 (微量液体希釈法) の一部修正。Chemotherapy 1993; 41: 183-9
 - 12) Felmingham D, Reinert R R, Hirakata Y, Rodloff A: Increasing prevalence of antimicrobial resistance among isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT surveillance study, and comparative *in vitro* activity of the ketolide, telithromycin. J Antimicrob Chemother 2002; 50(Suppl 1): 25-37
 - 13) 末武光子，入間田美保子：耐性肺炎球菌と急性中耳炎の重症化—現状と対策—。JOHNS 1997; 13: 1147-51
 - 14) Morozumi M, Hasegawa K, Kobayashi R, Inoue N, Iwata S, Kuroki H, et al: Emergence of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* with a 23S rRNA gene mutation. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 2302-6
 - 15) Suzuki S, Yamazaki T, Narita M, Okazaki N, Suzuki I, Andoh T, et al: Clinical evaluation of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 709-12
 - 16) Andrews J, Honeybourne D, Jevons G, Boyce M, Wise R, Bello A, et al: Concentrations of garenoxacin in plasma, bronchial mucosa, alveolar macrophages and epithelial lining fluid following a single oral 600 mg dose in healthy adult subjects. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 727-30

In vivo antibacterial activity of garenoxacin

Yoshiko Fukuda, Masahiro Takahata, Yoko Sugiura, Masatoshi Nakatani,
Yuko Shinmura, Harumi Hisada, Takashi Komeno, Tomoko Kamiyama,
Junichi Mitsuyama and Yozo Todo

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

In vivo antibacterial activity of garenoxacin(garenoxacin mesilate hydrate: GRNX) on various experimental infections was evaluated.

1. In systemic infection caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) in mice, the 50% effective dose(ED₅₀) of GRNX was 0.00593 mg/mouse, and was lower than that of levofloxacin(LVFX) and gatifloxacin(GFLX). Against penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*(PRSP), the ED₅₀ of GRNX was 0.555 mg/mouse, lower than that of LVFX and similar to that of GFLX. The efficacy of GRNX on both *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* infections was similar to that of LVFX and GFLX.
2. In pneumonia caused by PRSP in mice, the viable cell counts in lung after treatment with GRNX was <2.68 Log of CFU/lung, less than that with LVFX and GFLX.
3. In pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae* in hamsters, GRNX showed better efficacy than LVFX and clarithromycin(CAM).
4. In pneumonia caused by *Chlamydia pneumoniae* in mice, the ED₅₀ of GRNX was 0.0286 mg/mouse, lower than that of LVFX and azithromycin(AZM).
5. In pneumonia caused by *Legionella pneumophila* in guinea pigs, the viable cell counts after treatment of GRNX was 2.84 Log of CFU/lung, lower than that of ciprofloxacin(CPFX) and CAM, and similar to that of rifampicin.