

## 新マクロライド系抗生物質 TE-031の抗菌作用について

長手尊俊・杉田和彦・沼田和生・小野武夫

宮地純子・森川悦子・大村貞文

大正製薬株式会社総合研究所

TE-031の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を Erythromycin(EM), Josamycin(JM)および他の抗生剤と比較検討し、次の結果を得た。

1. TE-031は、EMと同様の抗菌スペクトルを有し、好気性グラム陽性菌、好気性グラム陰性菌の一部(*B. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*)、嫌気性菌、L型菌およびマイコプラズマに対して優れた抗菌活性を示した。
2. TE-031は臨床分離株388株に対して、EMと同等ないしやや強く、JMより強い抗菌力を示した。
3. TE-031はEMと同様 *H. influenzae* に対して殺菌的に作用した。
4. TE-031はマウス実験的全身感染症、皮下感染症および呼吸器感染症に対してEM, JMよりも優れた *in vivo* 抗菌力を示した。

TE-031は大正製薬株式会社総合研究所で Erythromycin(EM)から合成された新規のマクロライド系抗生物質であり、Fig. 1に示すようにEMの6位水酸基を化学的にメチル化して得られた誘導体である<sup>1)</sup>。従来のEM系抗生物質が酸(胃酸)に対して不安定であるのに対し、本剤は酸に極めて安定であり経口投与により高い血中濃度と良好な尿中排泄率を示すこと、また組織移行性(特に肺への移行性)が優れていること<sup>2)</sup> などから臨床での有用性が期待されている。今回、TE-031の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力をEMおよびJosamycin(JM)を主要対照薬剤として比較検討したので報告する。

### I. 材料と方法

#### 1. 使用薬剤

TE-031は大正製薬株式会社で合成されたものを使用した。その他、対照薬剤として Erythromycin(EM,

Abbott), Oleandomycin(OL, SIGMA), Josamycin(JM, 山之内製薬), Midecamycin(MDM, 明治製薬), Ampicillin(ABPC, 東洋醸造), Cephalexin(CEX, SIGMA)および Cefaclor(CCL, 塩野義製薬)を使用した。

#### 2. 使用菌株

当研究所保存株および近年、臨床材料から分離された菌株を使用した。

#### 3. 最小発育阻止濃度(MIC)の測定

日本化学療法学会標準法<sup>3)</sup>または同学会の嫌気性菌のMIC測定法<sup>4)</sup>に準じて寒天平板希釈法でMICを測定した。Table 1に使用培地を示した。菌の接種には、マイクロプランター(佐久間製作所)を使用し、また嫌気培養にはテーハー式アナエロボックス(N<sub>2</sub>:85%, CO<sub>2</sub>:5%, H<sub>2</sub>:10%)を使用した。

マイコプラズマに対するMICの測定は泉川らの方法<sup>5)</sup>に準じて行った。すなわち、10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup> cfu/mlのマイコプラズマ液体培養希釈液(-80℃凍結保存)0.1mlを薬剤含有寒天平板に均一に接種した。その後、37℃、7日間培養し、光学顕微鏡にてコロニーの有無を調べ、完全に発育が阻止された最小薬剤濃度をMICとした。なお、*M. hominis*, *M. salivatum* および *M. primatum* の培養は炭酸ガスインキュベーター(CO<sub>2</sub>:5%)で行った。

#### 4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

培地の種類によるMICへの影響の検討には増菌用培地として Mueller Hinton broth(MHB, Difco)を、感受性測定用培地として7種類の寒天培地を用いた。培地pH、血清、接種菌量によるMICへの影響の検討には増菌用培地としてMHB、感受性測定用培地として Sensitivity test agar(STA, Eiken)を用いた。

Fig. 1 Chemical structure of TE-031

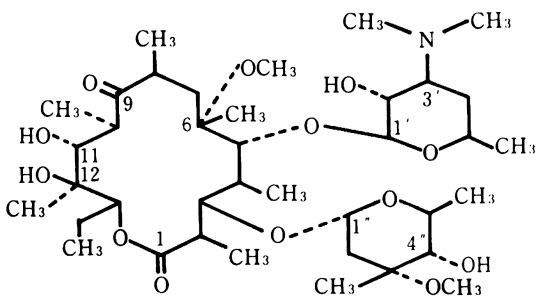


Table 1 Media used for MIC determination

Medium	Organism
STA*+5% horse blood	<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i>
Chocolate agar (STA+5% horse blood)	<i>H. influenzae</i> , <i>N. gonorrhoeae</i>
BHIB**+10% horse serum, 4% NaCl, 0.5% yeast extract, 1% agar	L-form bacteria
GAM agar (Nissui)	Anaerobic bacteria
STA	Other bacteria

\* : Sensitivity test agar (Eiken)

\*\* : Brain heart infusion broth (Eiken)

Table 2 Antibacterial spectra of TE-031, EM, OL, JM, MDM, ABPC and CEX against Gram-positive bacteria  
Inoculum size 10<sup>6</sup> cfu/ml

Strain	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
	TE-031	EM	OL	JM	MDM	ABPC	CEX
<i>S. aureus</i> 209P-JC	0.10	0.10	0.39	0.20	0.20	0.025	0.78
<i>S. aureus</i> TERAJIMA	0.10	0.10	0.39	0.78	0.78	0.10	6.25
<i>S. aureus</i> SMITH 4	0.10	0.20	0.39	0.78	0.78	0.05	1.56
<i>S. aureus</i> BB	0.10	0.10	0.39	0.39	0.39	0.10	3.13
<i>S. aureus</i> J-74	> 100	> 100	3.13	1.56	1.56	1.56	3.13
<i>S. aureus</i> J-70	> 100	> 100	0.78	0.78	0.78	3.13	100
<i>S. aureus</i> J-109	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	3.13	3.13
<i>S. aureus</i> T-98	0.10	0.39	0.78	6.25	25	6.25	50
<i>S. epidermidis</i> IID866	0.10	0.20	0.39	0.39	0.39	0.39	3.13
<i>S. epidermidis</i> sp-al-1	0.10	0.20	0.78	1.56	3.13	0.10	1.56
<i>S. pyogenes</i> IID689*	$\leq$ 0.012	0.025	0.20	0.10	0.20	$\leq$ 0.012	0.78
<i>S. pyogenes</i> J-1*	0.05	0.05	0.39	0.20	0.39	0.025	0.78
<i>S. pneumoniae</i> IID552*	0.025	0.025	0.20	0.10	0.20	0.025	3.13
<i>S. pneumoniae</i> IID553*	0.025	0.05	0.20	0.10	0.20	0.025	3.13
<i>S. pneumoniae</i> IID554*	0.025	0.025	0.20	0.10	0.20	0.05	1.56
<i>S. pneumoniae</i> J-4*	$\leq$ 0.012	$\leq$ 0.012	0.10	0.10	0.20	0.025	1.56
<i>E. faecalis</i> ATCC8043	0.05	0.05	0.39	0.39	0.39	0.20	50
<i>Streptococcus</i> B group 1*	0.025	0.025	0.20	0.10	0.39	0.10	3.13
<i>Streptococcus</i> C group 1*	0.05	0.05	0.78	0.39	0.39	0.025	0.78
<i>Streptococcus</i> G group 1*	0.025	0.05	0.39	0.20	0.39	0.025	0.78
<i>M. luteus</i> NIHJ	0.025	0.025	0.10	0.10	0.05	$\leq$ 0.012	0.05
<i>C. xerosis</i> IID551	0.025	0.05	0.39	0.39	0.39	0.20	25
<i>C. diptheriae</i> IID526	$\leq$ 0.012	$\leq$ 0.012	0.05	$\leq$ 0.012	0.05	0.39	0.78
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.10	0.20	0.78	0.39	0.39	$\leq$ 0.012	0.78
<i>B. cereus</i> ATCC9634	0.05	0.05	0.10	0.78	0.78	12.5	3.13
<i>B. anthracis</i> IID502	0.10	0.39	0.78	0.39	0.78	0.025	1.56

Medium Sensitivity test agar (Eiken)

\* Supplemented with 5% horse blood

## 5. 殺菌作用の測定

菌を液体培地で37°C18時間培養後、同新鮮培地に接種し振盪培養した。2時間後、菌数が約 $10^5$ ~ $10^8$  cfu/mlになった時、所定の濃度になるよう薬剤を添加し、以後37°Cで振盪培養を続け経時的に生菌数を測定した。*S. aureus* SMITH 4 は Sensitivity test broth (STB) で、*S. pneumoniae* IID552, *S. pyogenes* IID689 は 5% 馬血液加 Brain Heart infusion broth (BHIB) で、*H. influenzae* IID981 は 5% Fildes enrichment 加 STB で培養した。

## 6. 試験管内耐性獲得実験

菌増殖用および継代用液体培地として STB を用いた。ただし、*S. pyogenes* IID689 には BHIB を用いた。接種菌量は全継代培養を通じて $10^4$  cfu/ml とし、37°C48時間培

養(ただし1代目のみ24時間培養)を1代とした増量的継代法により行った。菌の発育が明らかに認められる最大発育許容濃度(maximal growing concentration: MGC)をもって耐性度の指標とした。また継代用接種菌は常に各継代における MGC の培養液を使用し8~16代まで継代して薬剤耐性上昇を検討した。

## 7. マウス実験の全身感染症に対する防御効果

ICR系マウス、雄、4週齢、1群12~20匹を使用した。*S. aureus* は Heart infusion agar (HIA) で37°C18時間培養後、BSG (buffered saline with gelatin)<sup>3)</sup> に懸濁し5% gastric mucin 含有生理食塩水で希釈して腹腔内接種した。*S. pneumoniae* は10%馬血液加 BHIB で37°C16時間培養後、BHIB で希釈し腹腔内接種した。ただし *S. pneum-*

Table 3 Antibacterial spectra of TE-031, EM, OL, JM, MDM, ABPC and CEX against Gram-positive bacteria

Strain	MIC ( $\mu$ g/ml)						
	TE-031	EM	OL	JM	MDM	ABPC	CEX
<i>S. aureus</i> 209P-JC	0.20	0.20	0.78	0.39	0.39	0.05	1.56
<i>S. aureus</i> TERAJIMA	0.20	0.20	0.78	0.78	1.56	0.20	6.25
<i>S. aureus</i> SMITH 4	0.20	0.20	0.78	1.56	1.56	0.10	3.13
<i>S. aureus</i> BB	0.20	0.20	0.78	0.78	0.78	0.20	3.13
<i>S. aureus</i> J-74	> 100	> 100	6.25	6.25	3.13	> 100	12.5
<i>S. aureus</i> J-70	> 100	> 100	3.13	3.13	1.56	12.5	> 100
<i>S. aureus</i> J-109	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	12.5
<i>S. aureus</i> T-98	0.39	0.78	3.13	> 100	> 100	> 100	100
<i>S. epidermidis</i> IID866	0.20	0.20	0.39	0.78	0.78	50	3.13
<i>S. epidermidis</i> sp-al-1	0.10	0.20	0.78	3.13	3.13	0.20	3.13
<i>S. pyogenes</i> IID689*	0.025	0.025	0.39	0.10	0.20	0.025	1.56
<i>S. pyogenes</i> J-1*	0.05	0.10	0.39	0.20	0.39	0.025	1.56
<i>S. pneumoniae</i> IID552*	0.025	0.025	0.20	0.10	0.20	0.025	3.13
<i>S. pneumoniae</i> IID553*	0.025	0.05	0.20	0.20	0.20	0.05	3.13
<i>S. pneumoniae</i> IID554*	0.025	0.025	0.20	0.10	0.20	0.05	3.13
<i>S. pneumoniae</i> J-4*	$\leq$ 0.012	0.025	0.20	0.10	0.20	0.025	1.56
<i>E. faecalis</i> ATCC8043	0.05	0.05	0.39	0.39	0.78	0.39	> 100
<i>Streptococcus</i> B group 1*	0.025	0.025	0.20	0.20	0.39	0.10	3.13
<i>Streptococcus</i> C group 1*	0.05	0.05	1.56	0.39	0.39	0.025	3.13
<i>Streptococcus</i> G group 1*	0.025	0.05	0.39	0.20	0.39	0.025	1.56
<i>M. luteus</i> NIHJ	0.025	0.05	0.20	0.10	0.10	$\leq$ 0.012	0.10
<i>C. xerosis</i> IID551	0.025	0.05	0.39	0.39	0.39	0.39	50
<i>C. diphtheriae</i> IID526	$\leq$ 0.012	$\leq$ 0.012	0.10	0.10	0.20	0.39	0.78
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.10	0.20	0.78	0.39	0.78	3.13	0.78
<i>B. cereus</i> ATCC9634	0.20	0.39	0.20	1.56	1.56	100	6.25
<i>B. anthracis</i> IID502	0.20	0.39	0.78	0.39	0.78	0.20	1.56

Medium . Sensitivity test agar (Eiken)

\* : Supplemented with 5% horse blood

*oniae* IID554は5% gastric mucin 含有 BHIB で希釈して腹腔内接種した。*S. pyogenes* は10% 馬血液加 STB で37℃18時間培養後、5% gastric mucin 含有 STB で希釈し腹腔内接種した。なお菌接種量は1 MLD (minimal lethal dose) またはそれ以上とした。薬剤は菌接種1時間後に(*S. pneumoniae* J-4 に対してのみ1, 4時間後の2回)5%アラビアゴムに懸濁して経口投与した。観察は菌接種後5~8日間行いマウスの生死から ED<sub>50</sub> を Probit 法<sup>6)</sup> および VAN DER WAERDEN 法<sup>7)</sup> により算出した。

#### 8. マウス実験の皮下感染症に対する防御効果

ddY 系マウス, 雄, 4 週齢, 1 群 5 匹を使用した。感染菌として *S. aureus* BB を用いた。本菌を HIA にて 37℃18時間培養後, BSG で懸濁し  $5 \times 10^7$  cfu/ml に調整しマウス背部皮下に 0.2ml 接種した<sup>8)</sup>。薬剤は菌接種1時間後に, 5%アラビアゴムに懸濁して経口投与した。菌接種48時間後に背部皮膚をはく離し, 皮膚表面に観察される膿瘍の長径および短径を測定し, その和の1/2を膿

瘍径とした。

#### 9. マウス実験の呼吸器感染症に対する治療効果

ICR 系マウス, 雄, 3~4 週齢, 1 群 5~8 匹を使用した。感染菌として *S. pneumoniae* J-4, *H. influenzae* J-48 を用いた。*S. pneumoniae* J-4 は 1% 馬血清加 BHIB で 37℃12 時間培養した後遠心し, *H. influenzae* J-48 は 5% 熱処理馬血液加 HIA で 37℃18 時間培養した後, 菌体をかきとり, それぞれ, BHIB または Heart infusion broth にて菌懸濁液を調整し噴霧感染装置内のマウスに 30 分間噴霧した<sup>9)</sup>。薬剤は噴霧 24 時間後に 5% アラビアゴムに懸濁して経口投与した。治療効果は, 薬剤投与 24 時間後の肺内生菌数または噴霧 2 週間後の生死により判定した。

## II. 実験成績

### 1. 抗菌スペクトル

TE-031 の好気性標準菌株に対する抗菌力 (MIC) を他の薬剤と比較した結果を Table 2~5 に示した。好気性

Table 4 Antibacterial spectra of TE-031, EM, OL, JM, MDM, ABPC and CEX against Gram-negative bacteria  
Inoculum size  $10^6$  cfu/ml

Strain	MIC ( $\mu$ g/ml)						
	TE-031	EM	OL	JM	MDM	ABPC	CEX
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	100	100	> 100	> 100	> 100	6.25	6.25
<i>E. coli</i> K-12	25	25	> 100	> 100	> 100	3.13	6.25
<i>S. typhi</i> IID610	3.13	3.13	3.13	3.13	6.25	0.10	3.13
<i>S. paratyphi</i> B	25	25	> 100	> 100	> 100	0.39	6.25
<i>S. enteritidis</i> KB-21	25	50	> 100	100	> 100	0.39	6.25
<i>S. flexneri</i> 2a	12.5	12.5	50	100	> 100	3.13	12.5
<i>S. sonnei</i> EW-33	12.5	25	> 100	100	> 100	6.25	12.5
<i>K. pneumoniae</i> IFO3317	50	50	> 100	> 100	> 100	12.5	6.25
<i>K. pneumoniae</i> 3K-2	25	25	> 100	> 100	> 100	25	6.25
<i>S. marcescens</i> IID618	100	50	> 100	> 100	> 100	25	> 100
<i>S. liquefaciens</i> MCNH-3	100	100	> 100	> 100	> 100	100	> 100
<i>E. aerogenes</i> IFO12010	50	50	> 100	> 100	> 100	6.25	12.5
<i>P. vulgaris</i> IID874	100	100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>P. mirabilis</i> IFO3849	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	3.13	12.5
<i>P. rettgeri</i> TCP3232	100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>M. morganii</i> IID602	100	100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>P. aeruginosa</i> GNB 1-1-1	50	100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>P. aeruginosa</i> P-32	12.5	25	> 100	100	> 100	> 100	> 100
<i>N. gonorrhoeae</i> J-1*	0.10	0.20	0.78	0.78	0.78	0.39	3.13
<i>N. gonorrhoeae</i> J-4*	0.10	0.20	0.39	0.78	0.78	0.10	3.13
<i>H. influenzae</i> IID981*	6.25	3.13	50	25	25	0.20	6.25
<i>H. influenzae</i> J-13*	6.25	3.13	50	25	12.5	0.20	6.25

Medium . Sensitivity test agar (Eiken)

\* : Chocolate agar

グラム陽性菌に対する TE-031の抗菌力は強く $\leq 0.012 \sim 0.10 \mu\text{g/ml}$ のMIC(接種菌量 $10^6 \text{cfu/ml}$ )を示した。ただしEM耐性 *S. aureus* に対しては無効であった。好気性グラム陰性菌に対する TE-031の抗菌力は弱い、*S. typhi* IID610, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae* に対しては抗菌力が強く $0.10 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$ のMICを示した。TE-031のMICを他の薬剤と比較すると、EMの $1 \sim 1/2$ , OL, JM, MDMの $1/2 \sim 1/16$ の値を示し、TE-031は比較検討したマクロライド剤のなかで最も強い抗菌力を示した。 $\beta$ -ラクタム剤のABPC, CEXと比較すると、TE-031はEM感受性菌に対して同等または強い抗菌力を示した。

TE-031の嫌気性標準菌株に対する抗菌力(MIC)を他の薬剤と比較した結果をTable 6, 7に示した。嫌気性菌に対するTE-031の抗菌力は強く、*B. thetaiotaomicron* 46, *F. mortiferum* WA-1-4の2株を除き $\leq 0.012 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$ のMIC(接種菌量 $10^6 \text{cfu/ml}$ )を示した。TE-031のMICを他の薬剤と比較すると、EMの $1/2 \sim 1/4$ , OLの

$1/4 \sim 1/32$ , CCLの $1 \sim 1/256$ の値であり強い抗菌力を示した。JM, CLDM, ABPCとの比較では、菌種により高い値を示すもの、また低い値を示すものがあった。

マイコプラズマ4菌種4株に対するTE-031の抗菌力(MIC)をTable 8に示した。TE-031は*M. pneumoniae*に対してMIC  $0.0078 \mu\text{g/ml}$ であり、EMと同等の強い抗菌力を示した。*M. hominis*, *M. salivatum* および *M. primatum* に対してはEMと同様、弱い抗菌力であった。

L型菌3株に対する抗菌力(MIC)をTable 9に示した。 $\beta$ -ラクタム剤であるABPC, CEXはMIC  $> 100 \mu\text{g/ml}$ で無効であったが、TE-031はMIC  $0.05 \sim 0.10 \mu\text{g/ml}$ であり、他の薬剤よりも強い抗菌力を示した。

## 2. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす諸因子として、培地の種類、接種菌量、培地pHおよび血清添加の影響について検討した結果をTable 10~14に示した。TE-031のMICは、培地の種類および接種菌量の影響を受けにくく、1~2管程度MIC

Table 5 Antibacterial spectra of TE-031, EM, OL, JM, MDM, ABPC and CEX against Gram-negative bacteria  
Inoculum size :  $10^8 \text{cfu/ml}$

Strain	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )						
	TE-031	EM	OL	JM	MDM	ABPC	CEX
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	100	100	> 100	> 100	> 100	6.25	12.5
<i>E. coli</i> K-12	50	50	> 100	> 100	> 100	6.25	12.5
<i>S. typhi</i> IID610	6.25	6.25	6.25	12.5	25	0.20	3.13
<i>S. paratyphi</i> B	50	100	> 100	> 100	> 100	0.78	6.25
<i>S. enteritidis</i> KB-21	50	50	> 100	> 100	> 100	0.39	6.25
<i>S. flexneri</i> 2a	12.5	25	> 100	> 100	> 100	6.25	25
<i>S. sonnei</i> EW-33	25	50	> 100	100	> 100	6.25	25
<i>K. pneumoniae</i> IFO3317	100	100	> 100	> 100	> 100	100	6.25
<i>K. pneumoniae</i> 3K-2	25	25	> 100	> 100	> 100	100	6.25
<i>S. marcescens</i> IID618	100	100	> 100	> 100	> 100	50	> 100
<i>S. liquefaciens</i> MCNH-3	100	100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>E. aerogenes</i> IFO12010	100	100	> 100	> 100	> 100	25	100
<i>P. vulgaris</i> IID874	100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>P. mirabilis</i> IFO3849	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	3.13	12.5
<i>P. rettgeri</i> TCP3232	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>M. morgani</i> IID602	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>P. aeruginosa</i> GNB 1-1-1	> 100	100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>P. aeruginosa</i> P-32	100	100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>N. gonorrhoeae</i> J-1*	0.20	0.20	0.78	0.78	1.56	50	3.13
<i>N. gonorrhoeae</i> J-4*	0.20	0.20	0.78	1.56	1.56	0.10	3.13
<i>H. influenzae</i> IID981*	6.25	3.13	50	25	25	0.20	12.5
<i>H. influenzae</i> J-13*	6.25	3.13	50	25	12.5	0.39	12.5

Medium . Sensitivity test agar (Eiken)

\* : Chocolate agar

が変動しただけであった。一方、TE-031のMICは培地pHの影響を受けやすく、酸性側では抗菌力が低下しアルカリ性側では抗菌力が上昇した。またウマおよびヒトの血清の添加によりTE-031の抗菌力は上昇し、無添加の1/2~1/32のMICを示した。

### 3. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床由来の分離株388株のMIC測定を行い、その結果をTable 15, 16およびFig. 2~12に示した。試験菌はグラム陽性菌5種265株、グラム陰性菌5種108株および*M. pneumoniae* 15株を使用した。

1) *S. aureus* 75株(Fig. 2), *S. epidermidis* 75株(Fig. 3)

両菌種に対してTE-031のMIC<sub>50</sub>は0.20 μg/mlであり、EMと同等で、JM, MDM, ABPC, CEXより2~6管優れた抗菌力を示した。またMICが>100 μg/mlの耐性菌がそれぞれ40%, 28%存在した。

2) *S. pneumoniae* 24株(Fig. 4), *S. pyogenes* 31株

(Fig. 5)

両菌種に対してTE-031のMICは≤0.012~0.05 μg/mlに分布し、MIC<sub>50</sub>はそれぞれ≤0.012, 0.025 μg/mlであり、EM, ABPCと同程度で、JM, MDM, CEXより2~7管優れた抗菌力を示した。

3) *E. faecalis* 60株(Fig. 6)

TE-031のMIC<sub>50</sub>は0.78 μg/mlであり、ABPCと同等で、EM, JM, MDMより1~2管優れた抗菌力を示した。またMICが>100 μg/mlの耐性菌が43%存在した。

4) *E. coli* 25株(Fig. 7), *K. pneumoniae* 24株(Fig. 8)

TE-031の両菌種に対する抗菌力は弱く1株を除いてMICは25~>100 μg/mlに分布した。TE-031のMIC<sub>50</sub>はそれぞれ50, 100 μg/mlであり、他のマクロライド剤よりは強い抗菌力を示した。

5) *B. catarrhalis* 17株(Fig. 9)

TE-031のMICは0.05~0.10 μg/mlに分布しMIC<sub>50</sub>は0.10 μg/mlであり、他の薬剤より1~6管優れた抗菌力

Table 6 Antibacterial spectra of TE-031, EM, OL, JM, CLDM, ABPC and CCL against anaerobic bacteria

Inoculum size : 10<sup>6</sup> cfu/ml

Strain	MIC (μg/ml)						
	TE-031	EM	OL	JM	CLDM	ABPC	CCL
Gram-positive							
<i>P. asaccharolyticus</i> 10-2	0.39	1.56	6.25	0.39	0.05	≤ 0.012	0.20
<i>P. prevotii</i> ATCC9321	0.78	1.56	25	0.39	0.05	0.05	1.56
<i>P. magnus</i> ATCC14955	0.78	1.56	12.5	0.78	0.39	0.20	3.13
<i>P. micros</i> 1194	0.78	1.56	12.5	0.39	0.10	0.10	1.56
<i>P. acnes</i> ATCC11828	≤ 0.012	0.025	0.10	0.10	0.025	0.10	0.78
<i>P. granulosum</i> ATCC25564	≤ 0.012	0.025	0.20	0.10	≤ 0.012	0.05	0.78
<i>B. adolescentis</i> ATCC15703	0.025	0.05	0.10	0.05	≤ 0.012	0.20	3.13
<i>E. limosum</i> ATCC8486	0.05	0.10	0.78	0.20	0.20	0.10	6.25
<i>E. aerofaciens</i> ATCC25986	0.05	0.10	0.78	0.20	0.10	0.20	6.25
<i>C. perfringens</i> 8329	0.39	0.78	3.13	0.78	0.05	0.025	0.39
<i>C. botulinum</i> type B	0.05	0.20	0.39	0.39	0.10	0.10	1.56
<i>C. bifementans</i>	0.10	0.20	0.39	0.20	0.20	0.20	6.25
<i>C. sordellii</i> 6559	0.10	0.39	1.56	0.39	12.5	0.10	6.25
<i>C. tetani</i>	0.05	0.20	0.39	0.10	≤ 0.012	0.025	0.78
Gram-negative							
<i>B. fragilis</i> FA-32	0.05	0.78	1.56	0.20	≤ 0.012	0.78	12.5
<i>B. thetaiotaomicron</i> 46	3.13	6.25	12.5	0.78	0.39	12.5	> 100
<i>B. distasonis</i> HR-122	0.10	0.20	0.39	0.39	0.20	0.20	25
<i>B. distasonis</i> 7007	0.39	0.78	3.13	0.39	0.39	12.5	100
<i>B. praeacutus</i> ATCC25539	0.39	0.39	3.13	0.39	0.20	0.025	0.39
<i>F. mortiferum</i> WA-1-4	> 100	> 100	> 100	100	0.10	12.5	> 100
<i>F. nucleatum</i> FA-41	0.10	0.39	1.56	0.39	12.5	0.10	6.25

Medium : GAM agar (Nissui)

Table 7 Antibacterial spectra of TE-031, EM, OL, JM, CLDM, ABPC and CCL against anaerobic bacteria  
Inoculum size :  $10^8$  cfu/ml

Strain	MIC ( $\mu$ g/ml)						
	TE-031	EM	OL	JM	CLDM	ABPC	CCL
Gram-positive							
<i>P. asaccharolyticus</i> 10-2	1.56	6.25	12.5	0.78	0.39	0.10	0.39
<i>P. prevotii</i> ATCC9321	3.13	6.25	25	0.39	0.78	0.20	> 100
<i>P. magnus</i> ATCC14955	1.56	6.25	25	1.56	0.78	0.20	12.5
<i>P. micros</i> 1194	1.56	6.25	50	1.56	0.20	0.39	12.5
<i>P. acnes</i> ATCC11828	0.20	0.78	3.13	0.78	0.78	0.78	> 100
<i>P. granulosum</i> ATCC25564	0.05	0.20	0.78	0.10	0.05	0.10	3.13
<i>B. adolenscentis</i> ATCC15703	0.05	0.20	0.39	0.39	0.20	0.20	12.5
<i>E. limosum</i> ATCC8486	0.20	0.39	6.25	0.39	0.20	0.20	12.5
<i>E. aerofaciens</i> ATCC25986	0.05	0.10	0.78	0.20	0.20	0.20	6.25
<i>C. perfringens</i> 8329	0.78	3.13	6.25	0.78	0.20	0.20	12.5
<i>C. botulinum</i> type B	0.39	0.39	1.56	0.39	0.20	0.20	6.25
<i>C. bifermentans</i>	0.20	0.20	0.78	0.39	0.20	0.20	50
<i>C. sordellii</i> 6559	0.20	0.39	6.25	0.39	12.5	1.56	6.25
<i>C. tetani</i>	0.78	1.56	0.78	0.39	0.39	0.20	1.56
Gram-negative							
<i>B. fragilis</i> FA-32	0.39	3.13	12.5	0.20	0.05	6.25	100
<i>B. thetaiotaomicron</i> 46	3.13	6.25	25	1.56	0.78	25	> 100
<i>B. distasonis</i> HR-122	0.10	0.20	0.78	0.39	0.20	0.20	50
<i>B. distasonis</i> 7007	0.78	3.13	6.25	0.78	0.78	25	> 100
<i>B. praeacutus</i> ATCC25539	0.78	1.56	12.5	0.39	1.56	0.05	12.5
<i>F. mortiferum</i> WA-1-4	> 100	> 100	> 100	> 100	0.10	12.5	> 100
<i>F. nucleatum</i> FA-41	0.10	0.39	3.13	0.39	25	0.78	6.25

Medium : GAM agar (Nissui)

Table 8 Antibacterial activity of TE-031 against *Mycoplasma*

Inoculum size :  $10^5$  cfu/plate

Strain	MIC ( $\mu$ g/ml)		
	TE-031	EM	JM
<i>M. pneumoniae</i> IID KAWANISHI	0.0078	0.0078	0.0313
<i>M. hominis</i> IID819*	100	>100	1.0
<i>M. salivatum</i> IID878**	25	100	0.25
<i>M. primatum</i> IID997**	50	100	1.0

Medium : PPLO broth (Eiken) supplemented with 1% agar, 0.2% malt extract, 20% horse serum, 0.002% phenol red and 1000 U/ml Penicillin G

\* : PPLO broth with CV (Difco) supplemented with 1% agar, 2.5% yeast extract, 20% horse serum and 0.5% glucose

\*\* : PPLO broth supplemented with 1% agar, 0.2% malt extract, 20% horse serum and 1000 U/ml Penicillin G

Table 9 Antibacterial activity of TE-031 against L-forms and standard strains

Inoculum size :  $10^6$  cfu/ml

Strain	MIC ( $\mu$ g/ml)					
	TE-031	EM	JM	MDM	ABPC	CEX
L-form						
<i>S. aureus</i> 209PL	0.10	0.20	0.39	0.39	> 100	> 100
<i>S. pyogenes</i> 124L	0.05	0.10	0.39	0.39	> 100	> 100
<i>E. coli</i> EcL-N5	0.05	0.20	0.39	0.78	> 100	> 100
Standard strain						
<i>S. aureus</i> 209P-JC	0.10	0.10	0.20	0.20	0.025	0.78
<i>S. pyogenes</i> IID 689*	$\leq 0.012$	0.025	0.10	0.20	$\leq 0.012$	0.78
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	100	100	> 100	> 100	6.25	6.25

Medium : L-form ; Brain heart infusion broth (Eiken)+1% agar+10% horse serum+4% NaCl  
+0.5% yeast extract

Standard strain ; Sensitivity test agar (Eiken)

\* : Supplemented with 5% horse blood

Table 10 Influence of medium on the antibacterial activity of TE-031

Inoculum size :  $10^6$  cfu/ml

Strain	MIC ( $\mu$ g/ml)						
	STA	SDA	MHA	HIA	BHIA	NA	TSA
<i>S. aureus</i> 209P-JC	0.10	0.20	0.05	0.10	0.10	0.20	0.20
<i>S. aureus</i> SMITH 4	0.10	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.20
<i>S. epidermidis</i> IID 866	0.10	0.10	0.10	0.10	0.20	0.20	0.10
<i>S. pyogenes</i> IID 689*	$\leq 0.012$	0.025	NT	NT	NT	NT	NT
<i>S. pneumoniae</i> IID 553*	$\leq 0.012$	0.025	NT	NT	NT	NT	NT
<i>E. faecalis</i> ATCC8043	0.025	0.05	0.025	0.025	0.05	0.05	0.05
<i>M. luteus</i> NIHJ	$\leq 0.012$	0.025	$\leq 0.012$	$\leq 0.012$	$\leq 0.012$	0.025	0.025
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.10	0.10	0.05	0.05	0.10	0.10	0.20
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	100	100	50	50	100	100	100

Medium : STA ; Sensitivity test agar (Eiken)

SDA ; Sensitivity disc agar (Nissui)

MHA ; Mueller Hinton agar (Eiken)

HIA ; Heart infusion agar (Eiken)

BHIA ; Brain heart infusion agar (Eiken)

NA ; Nutrient agar (Eiken)

TSA ; Trypto-soy agar (Eiken)

\* : Supplemented with 5% horse blood

NT : Not tested



Table 11 Influence of inoculum size on the antibacterial activity of TE-031

Strain	Inoculum size (cfu/ml)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	
		TE-031	EM
<i>S. aureus</i> 209P-JC	10 <sup>5</sup>	0.10	0.10
	10 <sup>6</sup>	0.10	0.10
	10 <sup>7</sup>	0.10	0.20
	10 <sup>8</sup>	0.20	0.39
	10 <sup>9</sup>	0.39	0.39
<i>S. aureus</i> SMITH 4	10 <sup>5</sup>	0.10	0.20
	10 <sup>6</sup>	0.10	0.20
	10 <sup>7</sup>	0.10	0.20
	10 <sup>8</sup>	0.20	0.39
	10 <sup>9</sup>	0.39	0.39
<i>S. epidermidis</i> IID 866	10 <sup>5</sup>	0.10	0.10
	10 <sup>6</sup>	0.10	0.20
	10 <sup>7</sup>	0.10	0.20
	10 <sup>8</sup>	0.20	0.39
	10 <sup>9</sup>	0.39	0.39
<i>S. pyogenes</i> IID 689*	10 <sup>5</sup>	$\leq 0.012$	$\leq 0.012$
	10 <sup>6</sup>	$\leq 0.012$	0.025
	10 <sup>7</sup>	$\leq 0.012$	0.025
	10 <sup>8</sup>	0.025	0.025
<i>S. pneumoniae</i> IID 553*	10 <sup>5</sup>	$\leq 0.012$	0.025
	10 <sup>6</sup>	$\leq 0.012$	0.025
	10 <sup>7</sup>	0.025	0.05
	10 <sup>8</sup>	0.025	0.05
<i>E. faecalis</i> ATCC 8043	10 <sup>5</sup>	0.05	0.05
	10 <sup>6</sup>	0.05	0.05
	10 <sup>7</sup>	0.05	0.05
	10 <sup>8</sup>	0.05	0.05
	10 <sup>9</sup>	0.05	0.10
<i>M. luteus</i> NIHJ	10 <sup>5</sup>	0.025	0.025
	10 <sup>6</sup>	0.025	0.025
	10 <sup>7</sup>	0.025	0.05
	10 <sup>8</sup>	0.025	0.05
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	10 <sup>5</sup>	0.05	0.10
	10 <sup>6</sup>	0.10	0.20
	10 <sup>7</sup>	0.10	0.20
	10 <sup>8</sup>	0.10	0.20
	10 <sup>9</sup>	0.20	0.20
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	10 <sup>5</sup>	100	100
	10 <sup>6</sup>	100	100
	10 <sup>7</sup>	100	100
	10 <sup>8</sup>	100	100
	10 <sup>9</sup>	>100	>100

Medium : Sensitivity test agar (Eiken)

\* : Supplemented with 5% horse blood

Table 12 Influence of medium pH on the antibacterial activity of TE-031

Inoculum size : 10<sup>6</sup> cuf/ml

Strain	pH	MIC ( $\mu$ g/ml)	
		TE-031	EM
<i>S. aureus</i> 209P-JC	5	3.13	25
	6	0.78	1.56
	7	0.10	0.10
	8	$\leq 0.012$	$\leq 0.012$
<i>S. aureus</i> SMITH 4	5	3.13	12.5
	6	0.78	1.56
	7	0.10	0.20
	8	0.025	0.025
<i>S. epidermidis</i> IID 866	5	3.13	50
	6	0.78	0.78
	7	0.10	0.20
	8	$\leq 0.012$	0.025
<i>S. pyogenes</i> IID 689*	6	0.10	0.20
	7	$\leq 0.012$	0.025
	8	$\leq 0.012$	$\leq 0.012$
<i>S. pneumoniae</i> IID 553*	6	0.10	0.20
	7	0.025	0.05
	8	$\leq 0.012$	$\leq 0.012$
<i>E. faecalis</i> ATCC8043	5	0.78	6.25
	6	0.20	0.20
	7	0.05	0.05
	8	$\leq 0.012$	$\leq 0.012$
<i>M. luteus</i> NIHJ	6	0.05	0.10
	7	0.025	0.025
	8	$\leq 0.012$	$\leq 0.012$
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	5	1.56	25
	6	0.78	0.78
	7	0.05	0.10
	8	$\leq 0.012$	0.025
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	5	>100	>100
	6	>100	>100
	7	50	100
	8	6.25	12.5

Medium : Sensitivity test agar (Eiken)

\* Supplemented with 5% horse blood

を示した。

6) *N. gonorrhoeae* 10株(Fig.10)

TE-031のMIC<sub>50</sub>は0.10 μg/mlであり、ABPCと同程度で、EM, JM, MDM, CEXより1~5管優れた抗菌力を示した。

7) *H. influenzae* 32株(Fig.11)

TE-031のMICは1.56~12.5 μg/mlに分布し、MIC<sub>50</sub>は3.13 μg/mlであり、ABPCより弱く、EMと同等で、JM, MDM, CEXより1~3管優れた抗菌力を示した。

8) *M. pneumoniae* 15株(Fig.12)

TE-031のMICは0.0020~0.0156 μg/mlに分布し、MIC<sub>50</sub>は0.0078 μg/mlであり、EM, JMより1~2管優れた抗菌力を示した。

4. 殺菌作用

TE-031の増殖曲線に及ぼす影響について検討した結果を、Fig.13, 14に示した。*S. aureus* SMITH 4, *S. pneumoniae* IID552, *S. pyogenes* IID689に対してTE-031は1 MICでは殺菌作用は弱く静菌的であった。2 MICでは

Table 13 Influence of horse serum on the antibacterial activity of TE-031

Inoculum size : 10<sup>6</sup> cfu/ml

Strain	MIC (μg/ml)			
	0% serum	10% serum	20% serum	50% serum
<i>S. aureus</i> 209P-JC	0.10	0.05	0.05	0.05
<i>S. aureus</i> SMITH 4	0.10	0.05	0.05	0.05
<i>S. epidermidis</i> IID 866	0.10	0.025	0.025	≤0.012
<i>S. pyogenes</i> IID 689	0.025	≤0.012	≤0.012	≤0.012
<i>S. pneumoniae</i> IID 553	0.025	≤0.012	≤0.012	≤0.012
<i>E. faecalis</i> ATCC8043	0.025	≤0.012	≤0.012	≤0.012
<i>M. luteus</i> NIHJ	0.025	≤0.012	≤0.012	≤0.012
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.10	0.05	0.025	≤0.012
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	100	12.5	6.25	3.13

Medium Sensitivity test agar (Eiken)

Table 14 Influence of human serum on the antibacterial activity of TE-031

Inoculum size : 10<sup>6</sup> cfu/ml

Strain	MIC (μg/ml)			
	0% serum	5% serum	10% serum	20% serum
<i>S. aureus</i> 209P-JC	0.10	0.10	0.05	0.05
<i>S. aureus</i> SMITH 4	0.20	0.10	0.05	0.05
<i>S. aureus</i> C-1	1.56	1.56	0.39	0.39
<i>S. epidermidis</i> IID 866	0.10	0.05	0.05	0.05
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.10	0.05	0.05	0.025
<i>M. luteus</i> ATCC9341	0.025	0.006	0.006	0.006
<i>S. pyogenes</i> IID 689	0.025	0.025	0.012	0.012
<i>S. pneumoniae</i> IID 553	ND	0.012	0.012	0.012
<i>E. faecalis</i> ATCC8043	0.05	0.025	0.012	0.012
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	100	50	25	12.5
<i>K. pneumoniae</i> IFO3317	50	12.5	6.25	6.25
<i>S. enteritidis</i> KB-21	25	12.5	12.5	12.5
<i>B. catarrhalis</i> NNBBr-1	0.10	0.10	0.10	0.05

Medium Sensitivity test agar (Eiken)

Table 15 Antibacterial activity of TE-031 against clinical isolates (Gram-positive bacteria)

Inoculum size :  $10^6$  cfu/ml

Organism (No. of strains)	Drug	MIC range ( $\mu$ g/ml)	MIC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)	MIC <sub>80</sub> ( $\mu$ g/ml)
<i>S. aureus</i> ( 75 )	TE-031	0.05 ~ > 100	0.20	> 100
	EM	0.10 ~ > 100	0.20	> 100
	JM	0.39 ~ > 100	0.78	3.13
	MDM	0.39 ~ > 100	1.56	6.25
	ABPC	0.025 ~ > 100	3.13	50
	CEX	0.78 ~ > 100	6.25	100
<i>S. epidermidis</i> ( 75 )	TE-031	0.05 ~ > 100	0.20	> 100
	EM	0.10 ~ > 100	0.20	> 100
	JM	0.39 ~ > 100	0.78	> 100
	MDM	0.39 ~ > 100	1.56	> 100
	ABPC	0.05 ~ > 100	3.13	6.25
	CEX	0.39 ~ > 100	12.5	25
<i>S. pneumoniae</i> ( 24 )	TE-031	$\leq$ 0.012 ~ 0.05	$\leq$ 0.012	0.025
	EM	$\leq$ 0.012 ~ 0.05	0.025	0.025
	JM	0.025 ~ 0.39	0.05	0.20
	MDM	0.025 ~ 0.39	0.10	0.39
	ABPC	$\leq$ 0.012 ~ 0.10	$\leq$ 0.012	0.025
	CEX	0.39 ~ 6.25	1.56	1.56
<i>S. pyogenes</i> ( 31 )	TE-031	$\leq$ 0.012 ~ 0.05	0.025	0.05
	EM	$\leq$ 0.012 ~ 0.05	0.025	0.05
	JM	$\leq$ 0.012 ~ 0.39	0.10	0.20
	MDM	0.05 ~ 0.78	0.20	0.20
	ABPC	$\leq$ 0.012 ~ 0.025	$\leq$ 0.012	0.025
	CEX	0.05 ~ 3.13	0.39	0.78
<i>E. faecalis</i> ( 60 )	TE-031	0.10 ~ > 100	0.78	> 100
	EM	0.10 ~ > 100	1.56	> 100
	JM	0.78 ~ > 100	3.13	> 100
	MDM	0.78 ~ > 100	3.13	> 100
	ABPC	0.39 ~ 25	0.78	0.78
	CEX	50 ~ > 100	100	> 100

Table 16 Antibacterial activity of TE-031 against clinical isolates (Gram-negative bacteria and *M. pneumoniae*)  
 Inoculum size :  $10^6$  cfu/ml

Organism (No. of strains)	Drug	MIC range ( $\mu$ g/ml)	MIC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)	MIC <sub>80</sub> ( $\mu$ g/ml)
<i>E. coli</i> ( 25 )	TE-031	3.13 ~ 100	50	100
	EM	3.13 ~ > 100	50	100
	JM	12.5 ~ > 100	>100	> 100
	MDM	12.5 ~ > 100	>100	> 100
	ABPC	3.13 ~ > 100	>100	> 100
	CEX	6.25 ~ > 100	6.25	12.5
<i>K. pneumoniae</i> ( 75 )	TE-031	50 ~ > 100	100	100
	EM	50 ~ > 100	100	100
	JM	> 100 ~ > 100	>100	> 100
	MDM	> 100 ~ > 100	>100	> 100
	ABPC	12.5 ~ > 100	>100	> 100
	CEX	3.13 ~ 50	6.25	12.5
<i>B. catarrhalis</i> ( 17 )	TE-031	0.05 ~ 0.10	0.10	0.10
	EM	0.10 ~ 0.20	0.20	0.20
	JM	0.39 ~ 0.78	0.39	0.78
	MDM	0.78 ~ 1.56	1.56	1.56
	ABPC	1.56 ~ 12.5	6.25	6.25
	CEX	3.13 ~ 25	3.13	6.25
<i>N. gonorrhoeae</i> ( 10 )	TE-031	$\leq$ 0.012 ~ 0.10	0.10	0.10
	EM	0.05 ~ 0.20	0.20	0.20
	JM	0.39 ~ 0.78	0.78	0.78
	MDM	0.39 ~ 0.78	0.78	0.78
	ABPC	0.05 ~ 0.39	0.05	0.20
	CEX	3.13 ~ 25	3.13	3.13
<i>H. influenzae</i> ( 32 )	TE-031	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
	EM	0.78 ~ 6.25	3.13	3.13
	JM	6.25 ~ 50	25	25
	MDM	12.5 ~ 100	25	25
	ABPC	0.10 ~ 6.25	0.20	3.13
	CEX	3.13 ~ 50	6.25	6.25
<i>M. pneumoniae</i> * ( 15 )	TE-031	0.0020 ~ 0.0156	0.0078	0.0078
	EM	0.0039 ~ 0.0313	0.0156	0.0156
	JM	0.0313 ~ 0.125	0.0625	0.125

\* : Inoculum size  $10^4 \sim 10^5$  cfu/plate

8時間で、それぞれの初菌数の約1/250, 1/150, 1/10に生菌数を減少させ、*S. aureus* SMITH 4 および *S. pneumoniae* IID552 に対しては殺菌的に作用した。EM も同様の弱い殺菌作用を示した。*H. influenzae* IID981 に対して TE-031 は 1 MIC で強い殺菌作用を示し、8時間で初菌数の1/1,000以下に生菌数を減少させた。2 MIC では8時間で初菌数の1/100,000 以下に生菌数を減少させ、さらに、強い殺菌作用を示した。EM にも同様の強い殺菌作用がみられた。

5. 試験管内耐性獲得

増量的継代法により TE-031 に対する試験管内耐性獲得を検討した結果を Fig.15~17 に示した。*S. aureus* 209P-JC および *S. epidermidis* IID866 は TE-031 に対し、継代と共に耐性を段階的に獲得したが、継代12または13代目以降耐性上昇は認められなかった。EM, JM と比較すると TE-031 に対しては継代初期においてゆるやかに耐性が上昇し、耐性獲得がやや起こり難い傾向を示した。一方、*S. pyogenes* IID689 は TE-031, EM, JM のいずれに対しても耐性の上昇がほとんど認められなかった。

6. マウス実験の全身感染症に対する防御効果

マウス実験の全身感染症に対する防御効果について検討し、その結果を Table 17 に示した。グラム陽性菌 3

菌種 7 株の全身感染症に対して TE-031 の ED<sub>50</sub> は 0.055~0.461mg/mouse であった。この値は EM の 1/6~1/15, JM の 1/14~1/35, MDM の 1/24~1/84 であり、比較検討したマクロライド剤のなかでは最も優れた防御効果を示した。CEX と比較すると *S. aureus* SMITH 4, *S. pyogenes* J-1 を除いては 1/2~1/20 の ED<sub>50</sub> を示し優れていた。ABPC と比較すると 2~30 倍の ED<sub>50</sub> を示し劣っていた。

7. マウス実験の皮下感染症に対する防御効果

マウス皮下膿瘍形成に対する TE-031 の防御効果を膿瘍径で表し、Fig.18 に示した。EM, JM はそれぞれ投与量 1.25, 2.5 mg/mouse 以上で膿瘍形成を阻害したが、TE-031 はさらに低投与量の 0.078mg/mouse 以上で膿瘍形成を阻害し優れた防御効果を示した。

8. マウス実験の呼吸器感染症に対する治療効果

*S. pneumoniae* J-4 によるマウス実験の呼吸器感染症に対する TE-031 の治療効果を肺内生菌数測定および生死判定により検討しその結果を Fig.19 および Table 18 に示した。TE-031 は EM, JM よりも低投与量で肺内生菌数を減少させた。また生死判定による TE-031 の ED<sub>50</sub> は 0.108 mg/mouse で EM の 1/11, JM の 1/20 の値であり極めて優れた治療効果を示した。*H. influenzae* J-48 によるマウス実験的呼吸器感染症に対する TE-031 の治療効果

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. aureus* (75 strains)

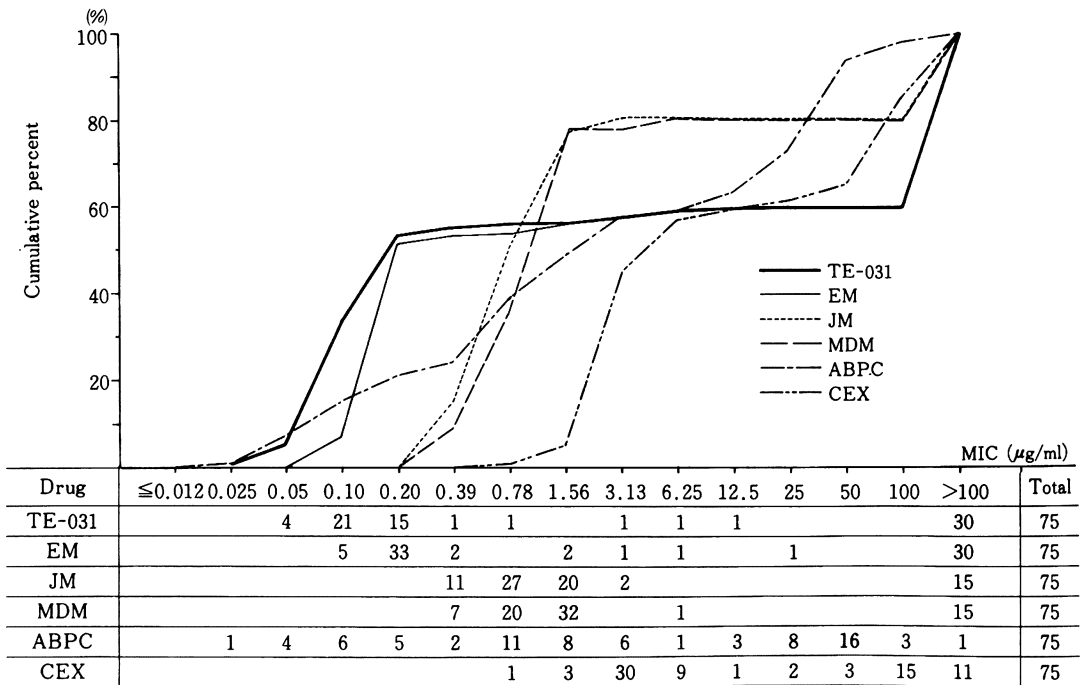


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. epidermidis* (75 strains)

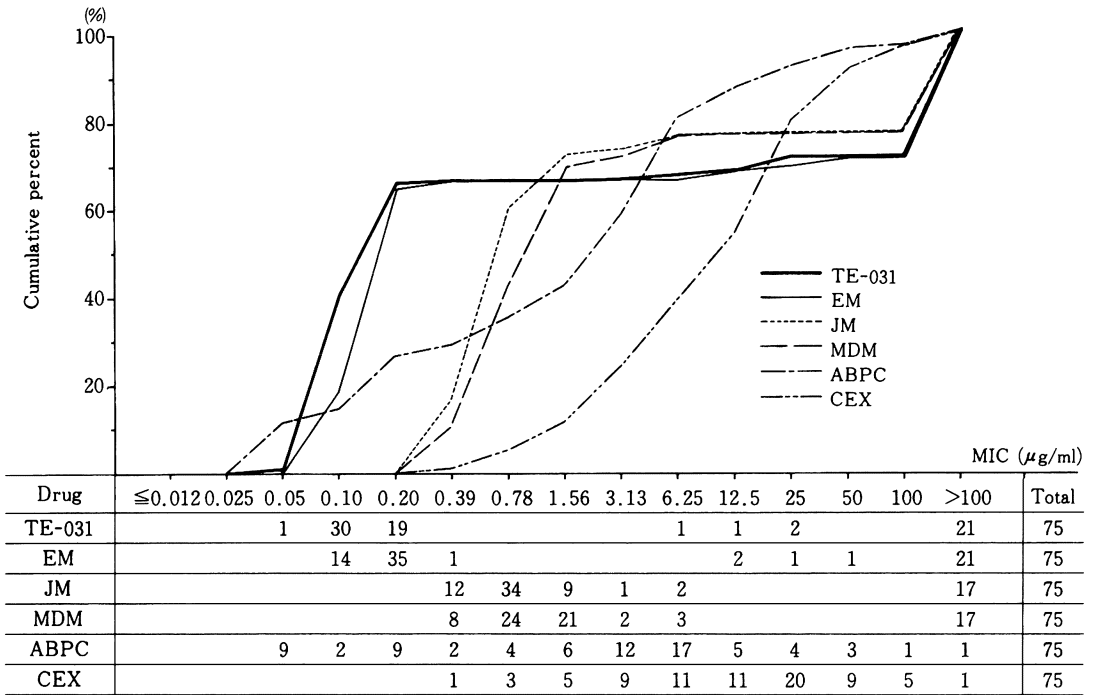


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. pneumoniae* (24 strains)

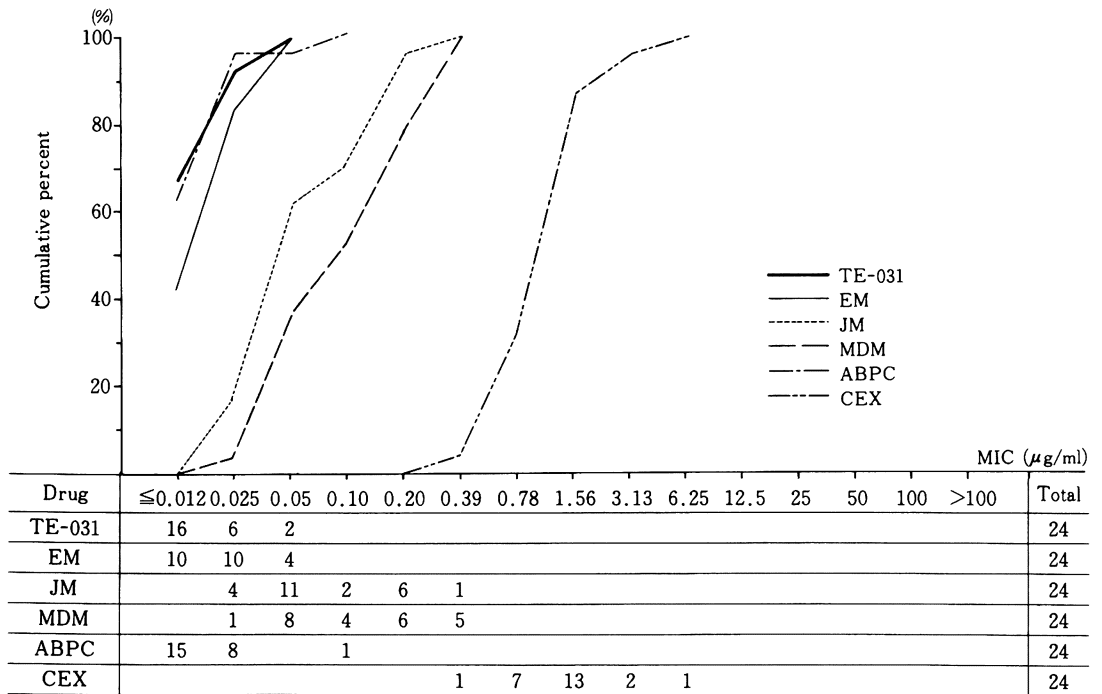


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. pyogenes* (31 strains)

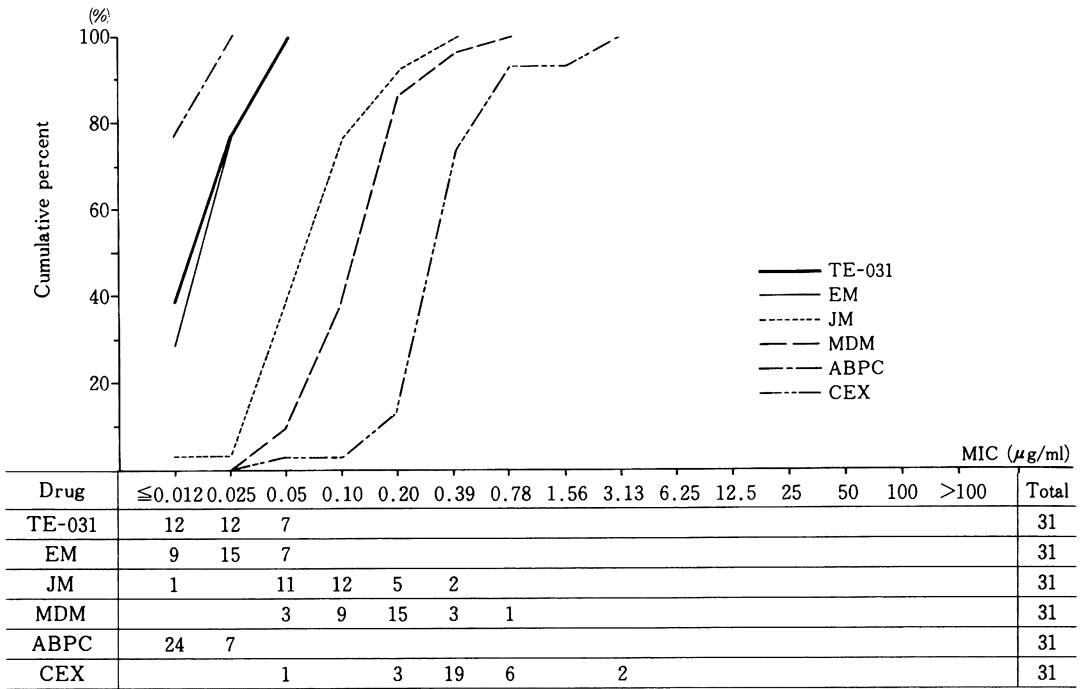


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates of *E. faecalis* (60 strains)

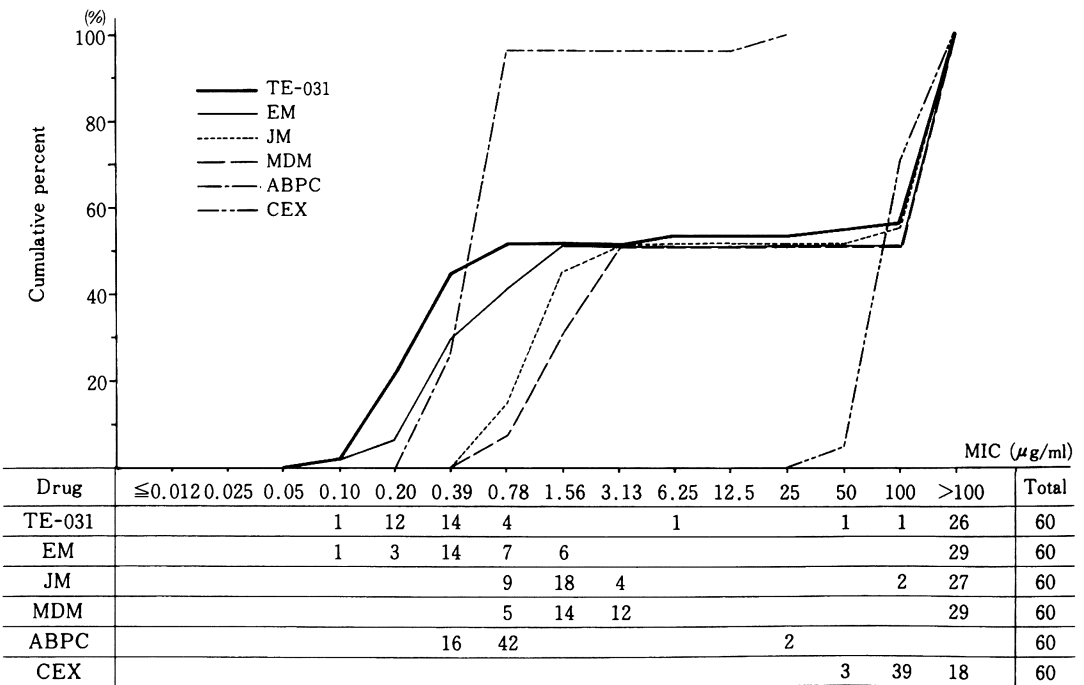




Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates of *E. coli* (25 strains)

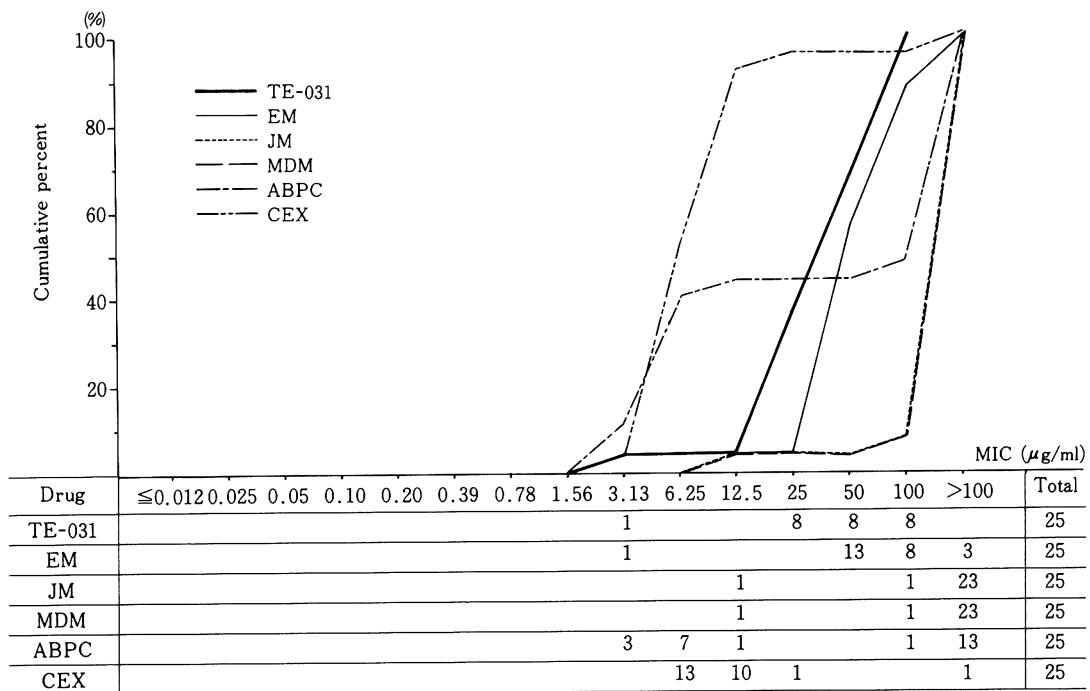


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates of *K. pneumoniae* (24 strains)

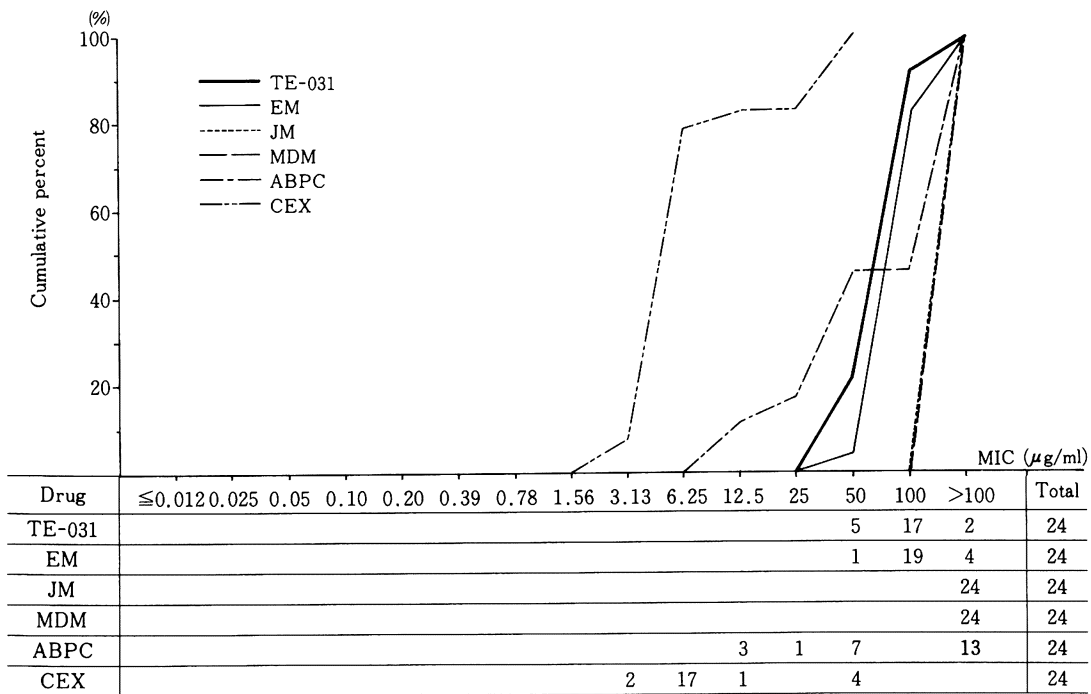


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates of *B. catarrhalis* (17 strains)

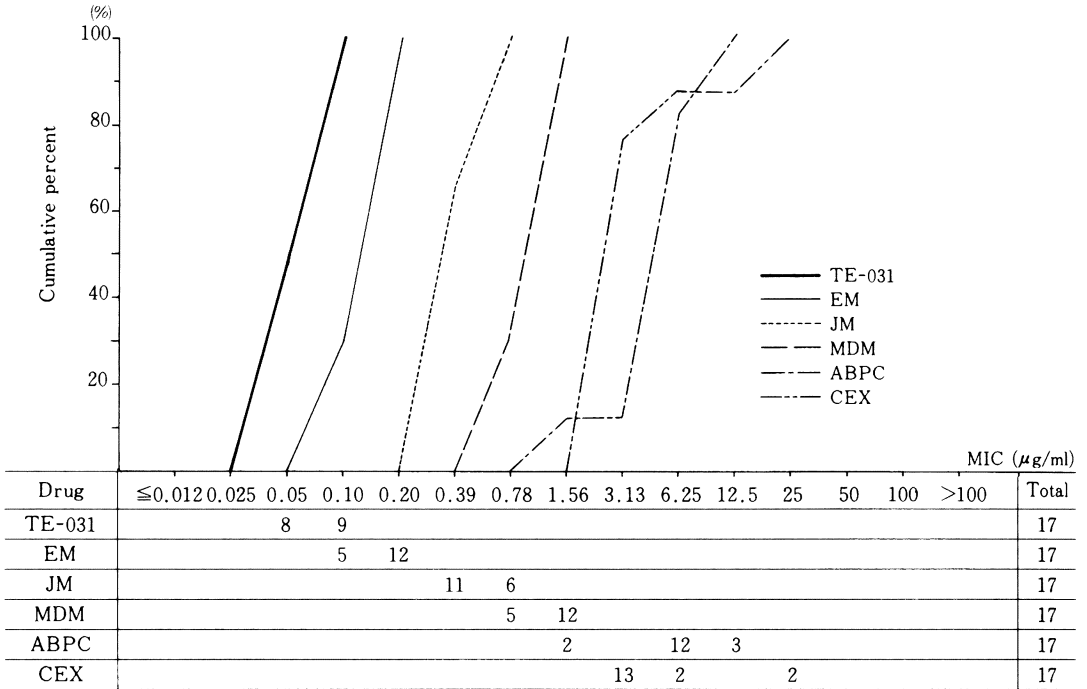


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates of *N. gonorrhoeae* (10 strains)

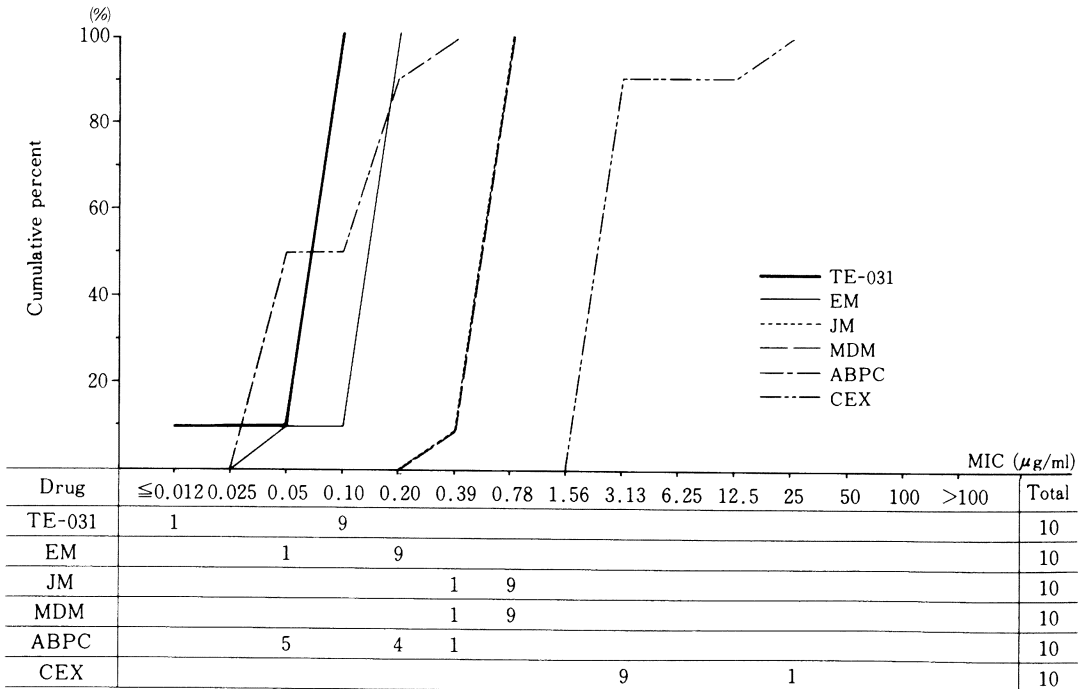


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates of *H. influenzae* (32 strains)

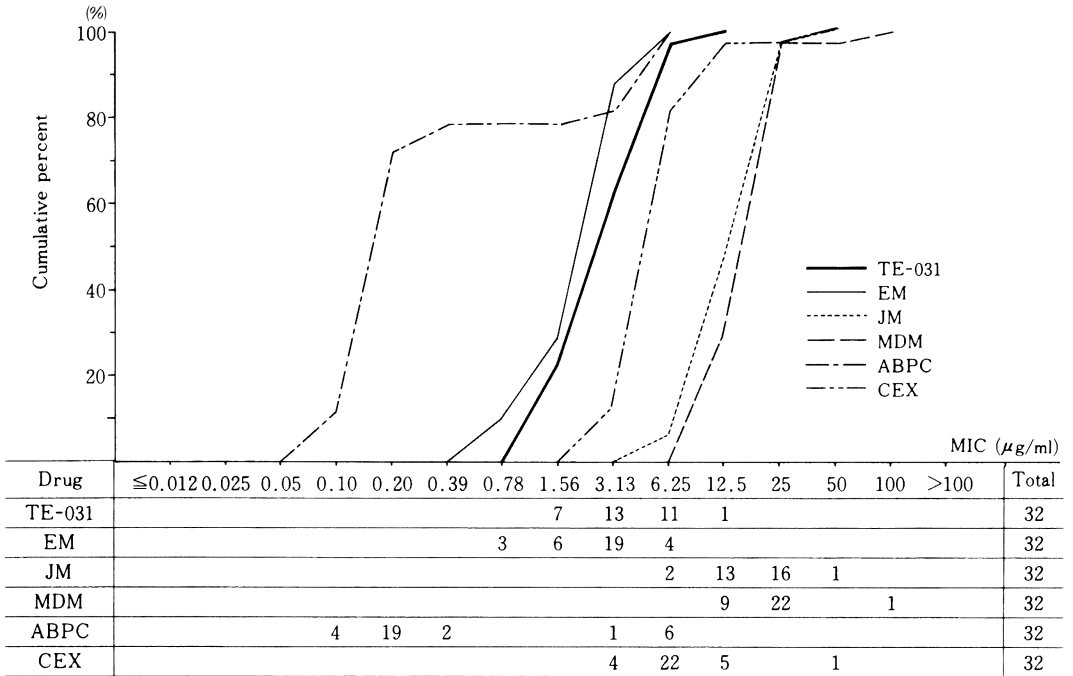


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates of *M. pneumoniae* (15 strains)

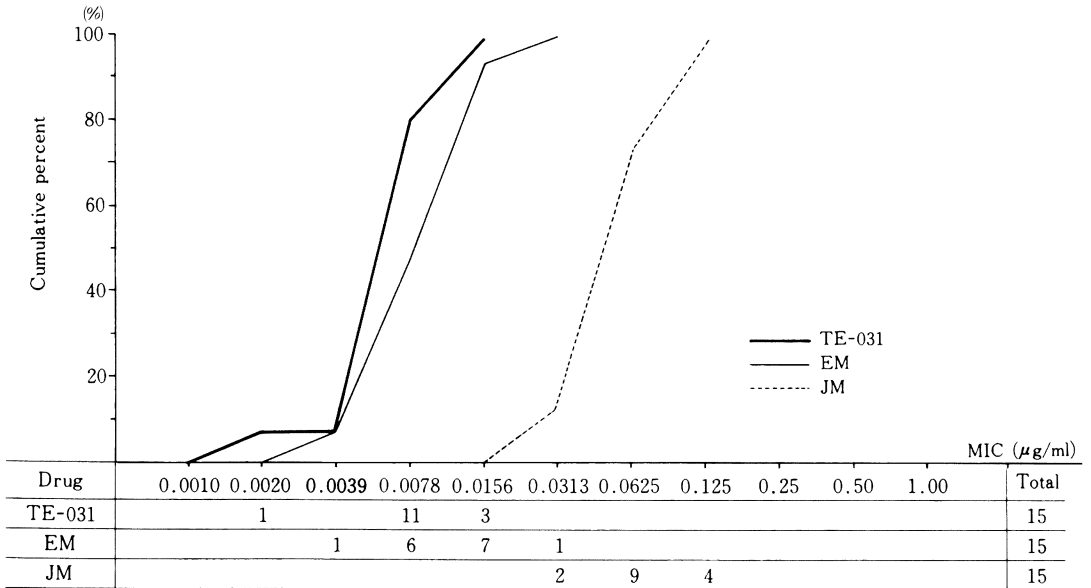


Fig. 13 Bactericidal activities of TE-031 and EM against *S. aureus* SMITH 4 and *S. pneumoniae* IID552

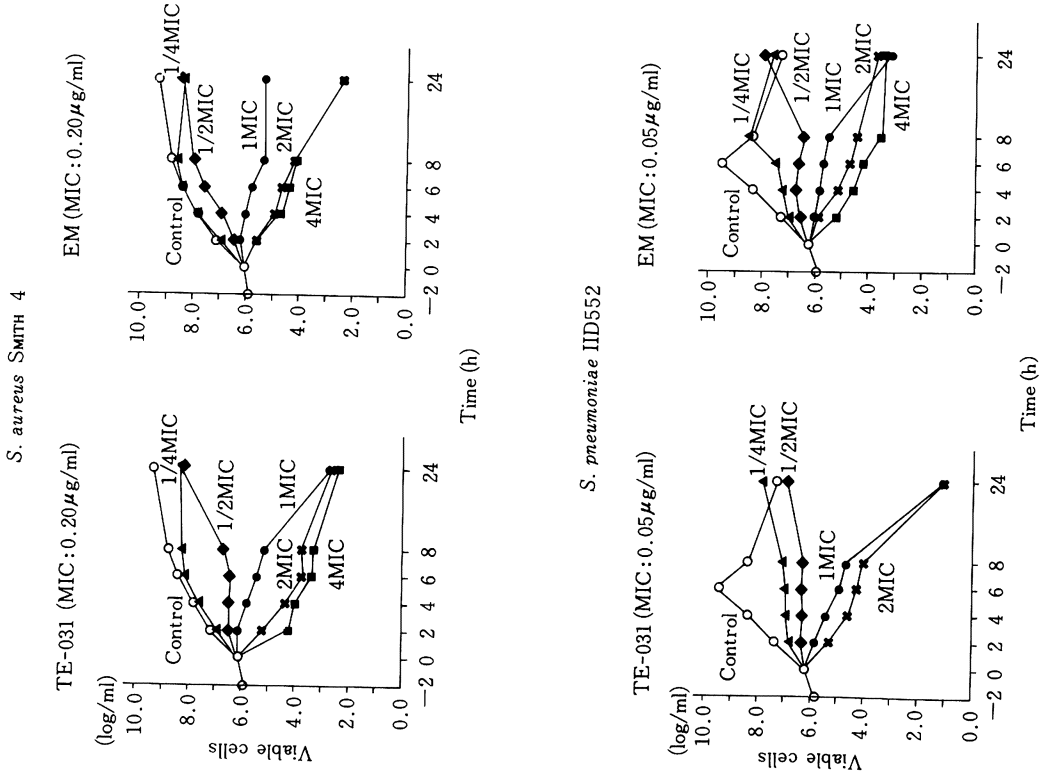
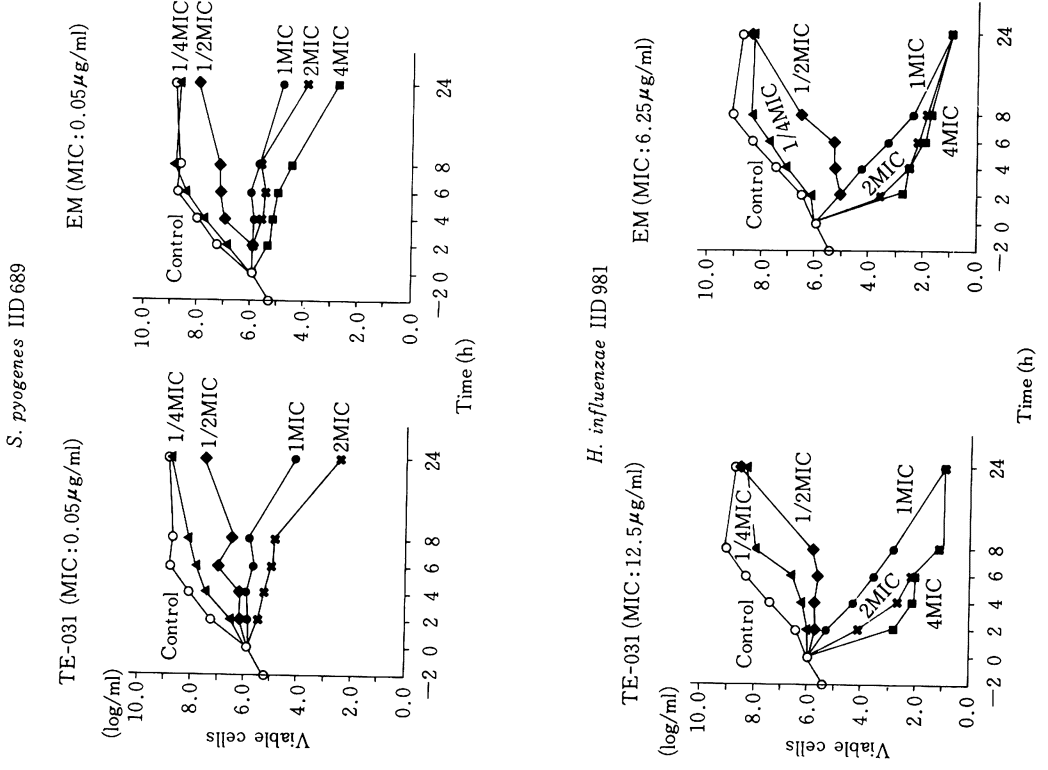


Fig. 14 Bactericidal activities of TE-031 and EM against *S. pyogenes* IID689 and *H. influenzae* IID981



を肺内生菌数測定により検討しその結果を, Fig. 20, 21 に示した。EM, JM, CCL は投与量20~40 mg/mouse で肺内生菌数を僅かに減少させただけであったが, TE-031は投与量20mg/mouse で肺内の菌を完全に消失させ, 極めて優れた治療効果を示した。

### Ⅲ. 考 察

新しく開発されたマクロライド系抗生物質 TE-031は EM と同様の抗菌スペクトルを有し, 好気性グラム陽性菌, 好気性グラム陰性菌の一部(*B. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*), 嫌気性菌, マイコプラズマおよびL型菌に対して強い抗菌力を示した。その *in vitro* 抗菌力は EM と同等ないしやや強かった。TE-031は呼吸器感染症の起炎菌として分離頻度の高い *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *B. catarrhalis*, またマイコプラズマ肺炎の起炎菌である *M. pneumoniae* に対し強い抗菌力を示し, 呼吸器感染症治療薬としての有用性が期待される。TE-031は STD (sexually transmitted disease) で症例の多い淋疾の起炎菌である *N. gonorrhoeae* に対し ABPC と同程度の強い抗菌力を示した。また TE-031は非淋菌性尿道炎の主要起炎菌として最近注目されている *C. trachomatis* に対しても強い抗菌力を示すことが報告されており<sup>10)</sup>, 従来のマクロライド剤と異なり高い尿中

排泄率を示すこととも考え併せると, STD の治療薬としての有用性が期待される。現在, 日本では感染症治療薬として  $\beta$ -ラクタム剤が主流を占めているが, TE-031は  $\beta$ -ラクタム剤が無効であるマイコプラズマ(*M. pneumoniae*), クラミジア(*C. trachomatis*), レジオネラ菌(*L. pneumophila*)<sup>11)</sup> およびL型菌に対して有効であることは注目に値する。

TE-031の抗菌作用様式は *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* に対して静菌的ないしやや殺菌的であったが, *H. influenzae* に対しては強い殺菌作用を示し, 一般的にマクロライド剤は静菌的に作用するといわれている<sup>12)</sup> が菌種によっては殺菌的に作用することが明らかとなった。

TE-031はマウス実験の全身感染症に対してその ED<sub>50</sub> が EM の1/6~1/15, JM, MDM の1/14~1/84の値であったが, 感染菌に対する MIC は EM の1~1/2, JM, MDM の1/4~1/16の値であり, TE-031は MIC から予想される以上の優れた *in vivo* 抗菌力を示した。また TE-031は *S. aureus* BB によるマウス実験の皮下感染症において, その *in vitro* 抗菌力が, EM と同等であるにもかかわらず膿瘍形成をより強く阻害し, EM に比べ明らかに良好な *in vivo* 抗菌力を示した。また TE-031はマウス実験的呼吸器感染症 (*S. pneumoniae* J-4, *H. influenzae*

Fig. 15 Patterns of resistance of *S. aureus* 209P-JC to TE-031, EM and JM

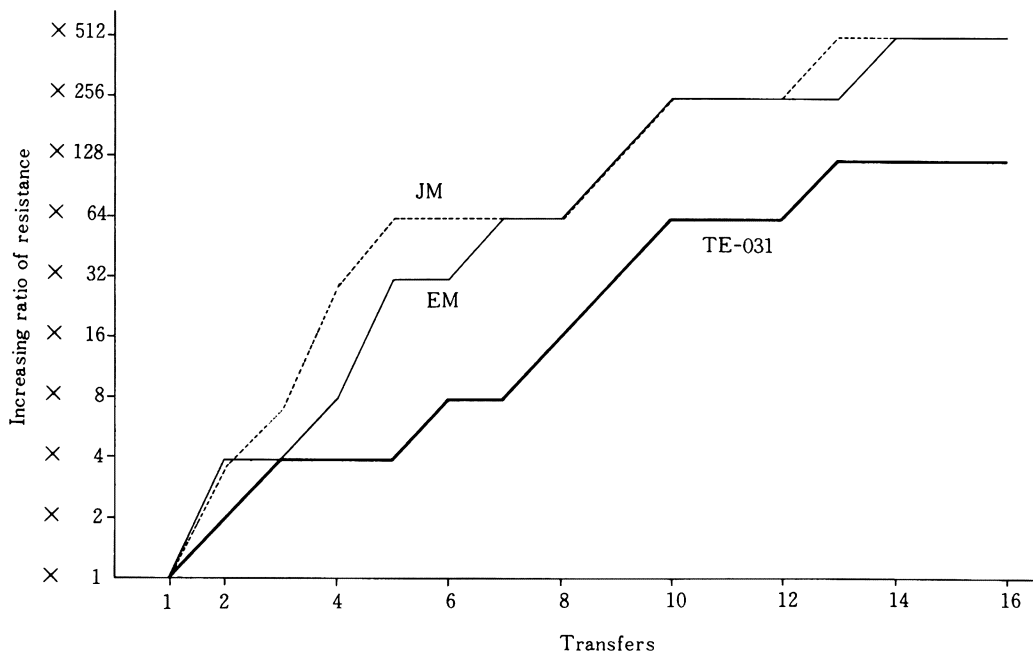


Fig. 16 Patterns of resistance of *S. epidermidis* IID866 to TE-031, EM and JM

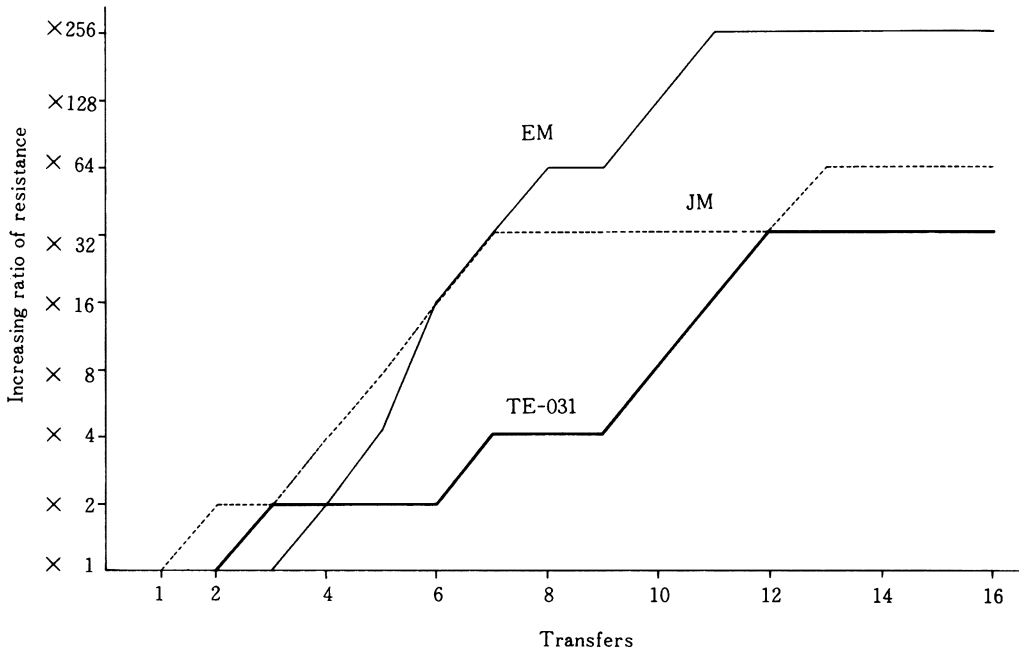


Fig. 17 Patterns of resistance of *S. pyogenes* IID689 to TE-031, EM and JM

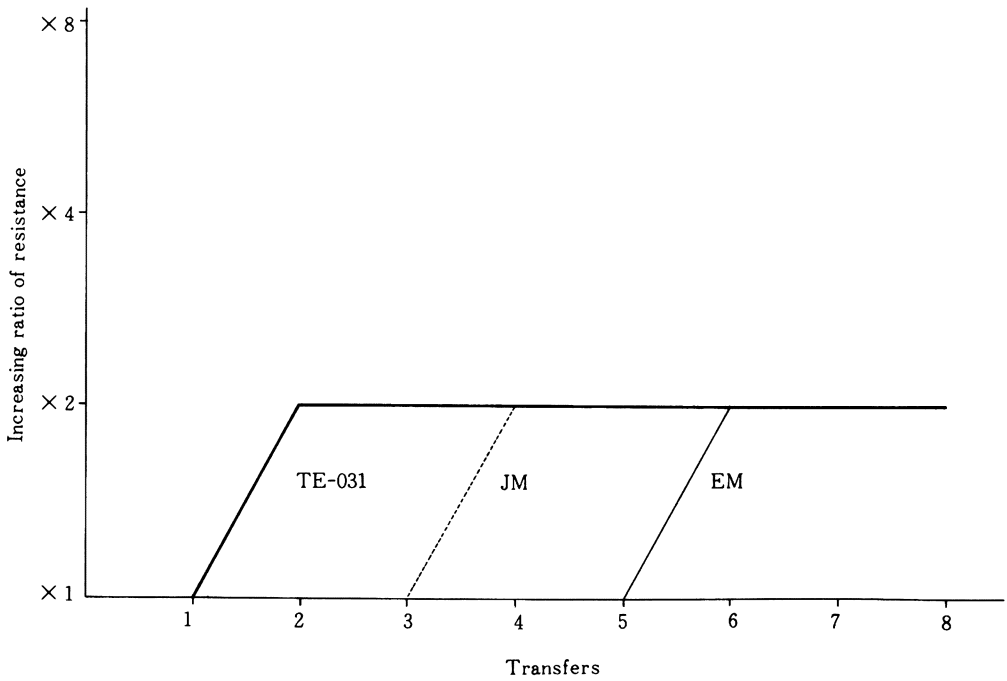


Table 17 Protective effect of TE-031 and reference compounds on systemic infections in mice

Strain	Challenge dose (cfu/mouse)	5% Mucin	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		ED <sub>50</sub> (mg/mouse) (95% confidence limits)
				10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	
<i>S. aureus</i> SMITH 4	2×10 <sup>7</sup>	+	TE-031	0.10	0.20	0.212 (0.168~0.279)
			EM	0.20	0.20	1.23 (0.979~1.54)
			JM	0.78	1.56	3.01 (2.27~3.87)
			MDM	0.78	1.56	7.73 (6.27~9.56)
			CEX	1.56	3.13	0.003 (0.003~0.004)
			ABPC	0.05	0.10	0.007 (0.006~0.009)
			<i>S. aureus</i> BB	2×10 <sup>7</sup>	+	TE-031
EM	0.10	0.20				3.32 (2.73~4.41)
JM	0.39	0.78				11.9 (10.1~14.0)
MDM	0.39	0.78				19.1 (16.1~22.7)
CEX	3.13	3.13				0.696 (0.604~0.803)
ABPC	0.10	0.20				0.062 (0.052~0.073)
<i>S. pyogenes</i> J-1	3.9×10 <sup>7</sup>	+				TE-031
			EM	0.05	0.10	0.837 (0.669~1.04)
			JM	0.20	0.20	1.92 (1.36~2.48)
			MDM	0.39	0.39	4.60 (3.82~5.54)
			CEX	0.78	1.56	0.054 (0.045~0.067)
			ABPC	0.025	0.025	0.011 (0.009~0.013)
			<i>S. pneumoniae</i> IID552	1.1×10 <sup>6</sup>	-	TE-031
EM	0.025	0.025				1.65 (0.239~3.15)
JM	0.10	0.10				1.92 (1.02~2.79)
MDM	0.20	0.20				2.72 (0.878~4.79)
CEX	3.13	3.13				1.72 (0.869~2.56)
ABPC	0.025	0.025				0.033 (0.016~0.124)
<i>S. pneumoniae</i> IID553	3.3×10 <sup>6</sup>	-				TE-031
			EM	0.05	0.05	3.31 (2.36~4.42)
			JM	0.10	0.20	3.74 (2.98~4.70)
			MDM	0.20	0.20	10.5 (8.26~13.4)
			CEX	3.13	3.13	2.32 (1.60~4.25)
			ABPC	0.025	0.05	0.054 (0.028~0.108)
			<i>S. pneumoniae</i> IID554	1.5×10 <sup>5</sup>	+	TE-031
EM	0.025	0.025				1.10 (0.593~1.65)
JM	0.10	0.10				4.03 (3.27~4.98)
MDM	0.20	0.20				5.70 (4.02~7.57)
CEX	1.56	3.13				2.49 (1.81~3.58)
ABPC	0.05	0.05				0.065 (0.051~0.091)
<i>S. pneumoniae</i> J-4*	40	-				TE-031
			EM	≤0.012	0.025	7.02 (5.04~8.86)
			JM	0.10	0.10	8.73 (7.07~10.6)
			MDM	0.20	0.20	20.9 (17.3~25.7)
			CEX	1.56	1.56	2.16 (1.52~3.68)
			ABPC	0.025	0.025	0.090 (0.069~0.120)

Administration of drug : p.o., 1 hour after infection (\* : 1,4 hour)

Mouse : ICR mouse, 4 weeks, ♂

Fig. 18 Protective effect of TE-031, EM and JM against experimental subcutaneous infection with *S. aureus* BB in mice

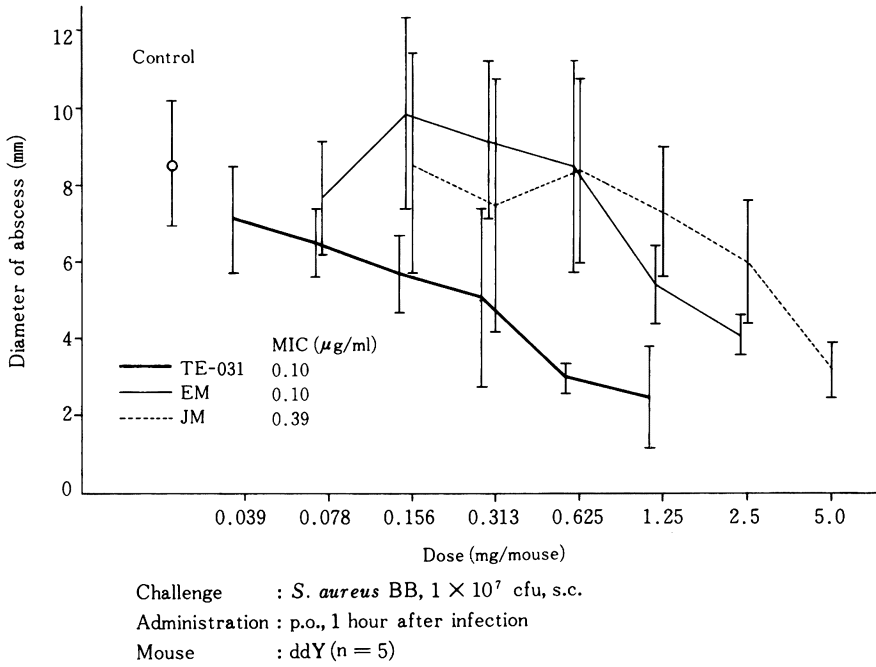
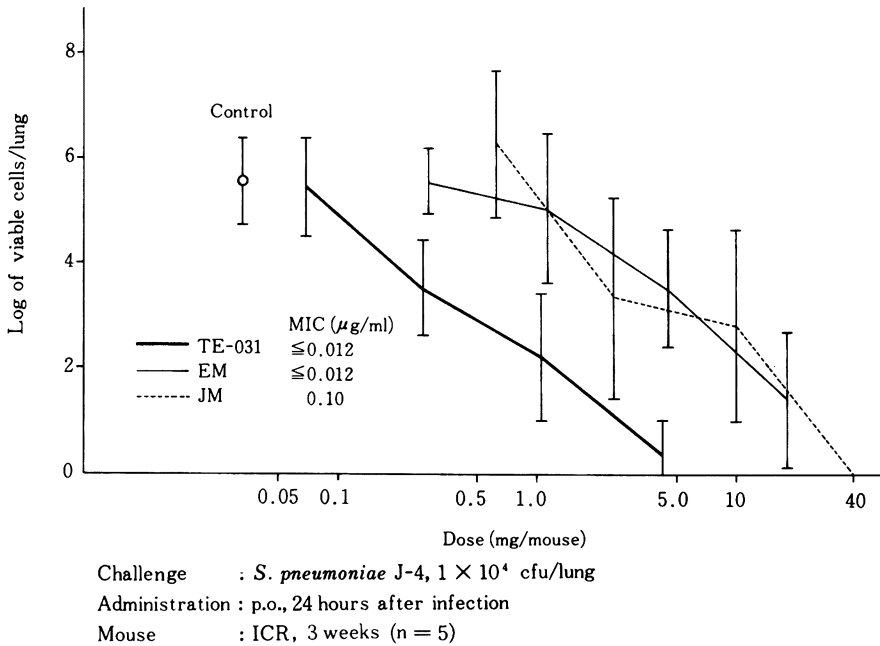


Fig. 19 Efficacy of TE-031, EM and JM on experimental respiratory infection with *S. pneumoniae* J-4 in mice





J-48)においてその *in vitro* 抗菌力が EM とほぼ同等であるのに肺内生菌数を有意に減少させ、明らかに優れた *in vivo* 抗菌力を示した。特に *H. influenzae* J-48による呼吸器感染症に対して TE-031は顕著な *in vivo* 殺菌作用を示したが、このことは強い *in vitro* 殺菌作用と TE-031の良好な肺移行性を反映したものと考えられる。このように TE-031には *in vitro* 抗菌力(MIC)から予想される以上の優れた *in vivo* 抗菌力が認められたが、これは TE-031の高い血中濃度および良好な組織移行性による

ものと考えられる<sup>2)</sup>。

以上のように TE-031の *in vitro* 抗菌力は EM と同等ないしやや強い程度であるが、*in vivo* 抗菌力を極めて優れ、呼吸器感染症、STD、皮膚感染症をはじめとする各種の感染症に対して有用な薬剤として期待される。

IV. 謝 辞

L型菌を分与していただいた帝京大学江田 享教授に感謝いたします。

Table 18 Efficacy of TE-031, EM and JM on experimental respiratory infection with *S. pneumoniae* J-4 in mice

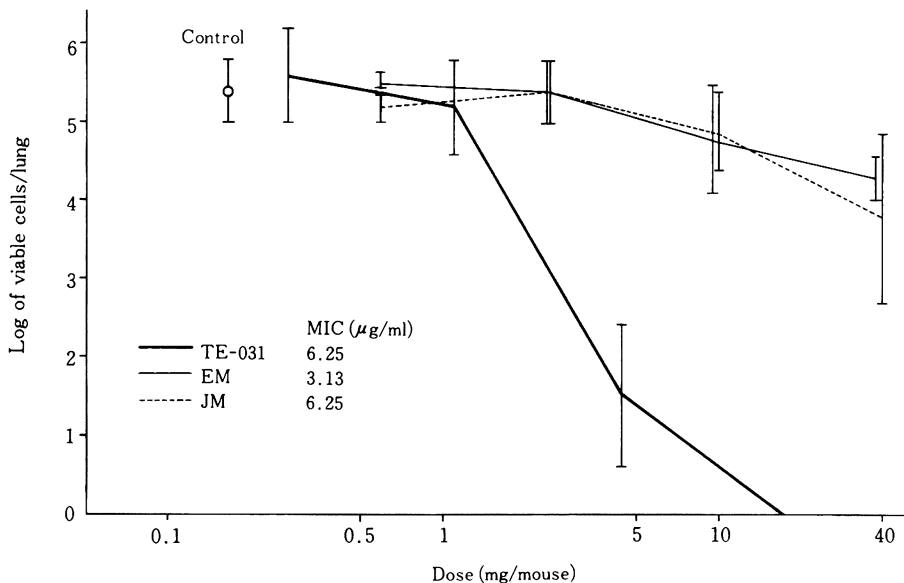
Drugs	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	95% confidence limits	MIC (μg/ml)
TE-031	0.108	0.011 ~ 0.292	≤0.012
EM	1.23	0.513 ~ 2.55	≤0.012
JM	2.12	1.08 ~ 4.14	0.10

Challenge : *S. pneumoniae* J-4, 1.6×10<sup>4</sup> cfu/lung

Administration : p.o., 24 hours after infection

Mouse : ICR, 3 weeks (n=8)

Fig. 20 Efficacy of TE-031, EM and JM on experimental respiratory infection with *H. influenzae* J-48 in mice

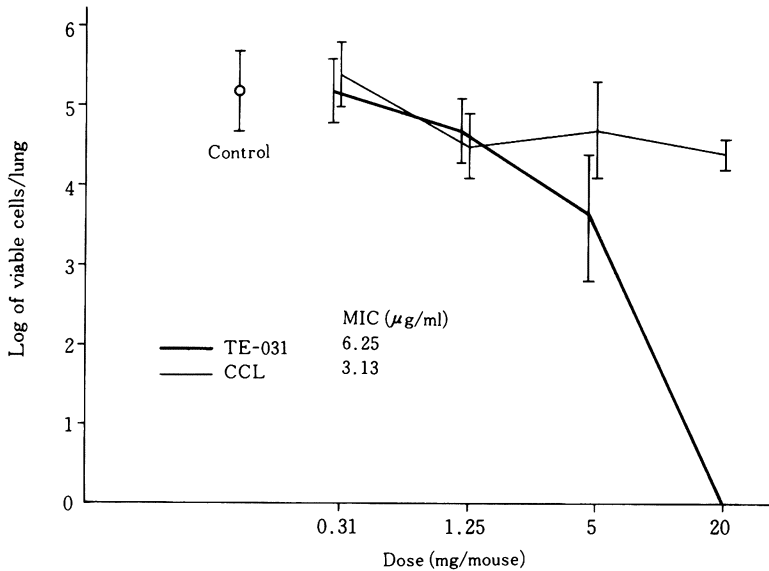


Challenge : *H. influenzae* J-48, 7.9×10<sup>4</sup> cfu/lung

Administration : p.o., 24 hours after infection

Mouse : ICR, 3 weeks (n = 5)

Fig. 21 Efficacy of TE-031 and CCL on experimental respiratory infection with *H. influenzae* J-48 in mice



Challenge : *H. influenzae* J-48,  $2.2 \times 10^5$  cfu/lung  
 Administration : p.o., 24 hours after infection  
 Mouse : ICR, 4 weeks (n = 5)

### 文 献

- MORIMOTO, S. ; Y. TAKAHASHI, Y. WATANABE & S. OMURA : Chemical modification of erythromycins I. Synthesis and antibacterial activity of 6-O-methylerythromycins A. J. Antibiot. 37 : 187~189, 1984
- 諏訪俊男, 吉田英生, 福島清実, 長手尊俊 : TE-031の体内動態(第1報)ラットおよびマウスにおけるTE-031とエリスロマイシンステアレートと比較。Chemotherapy 投稿中
- 日本化学療法学会 : 最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。Chemotherapy 29 : 76~79, 1981
- 日本化学療法学会嫌気性菌 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
- 泉川欣一, 小森宗敬, 富田弘志, 蔡 正夫, 須山尚史, 岩崎博圓, 福井 信, 原 耕平 : *Mycoplasma pneumoniae* に対する Josamycin の基礎的検討。Jpn. J. Antibiot. 34(9) : 1288~1291, 1981
- D. J. FINNEY : Probit Analysis, 2nd. Ed., Cambridge University Press, pp. 48~64, 1952
- VAN DER WAERDEN, B. L. : Wirksamkeits und konzentrationsbestimmung durch tierversuche. Arch. Exp. Path. Pharmak. 195 : 389~412, 1940
- 田所一郎 : ブドウ球菌のマウス皮下感染実験法。モダンメディア 13(4) : 110~118, 1967
- 松本慶蔵, 宇塚良夫, 永武 毅, 宍戸晴美, 鈴木寛, 野口行雄, 玉置公俊, 羅 士易, 井出正利 : 噴霧吸入感染によるグラム陰性桿菌性肺炎モデル。日胸疾会誌 16(8) : 581~588, 1978
- 吉沢花子, 橋爪 壮 : 組織培養法および動物系を用いた抗生物質の抗クラミジア活性の比較。第35回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム(TE-031)抄録, p. 75, 1987
- 藪内英子, 甲畑俊郎, 池戸正成 : Legionella 属菌に対する TE-031の抗菌作用。第35回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム(TE-031)抄録, p. 74, 1987
- MANDELL, G. ; R. G. DOULAS & J. E. BENNETT : Principles and practices of infectious diseases. 2nd Ed., John Wiley & Sons, Inc., Part I, 24. Erythromycin, lincomycin and clindamycin (Steigbigel, N.-H.). pp. 224~231, 1984

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF TE-031(A-56268), A NEW MACROLIDE ANTIBIOTIC

TAKATOSHI NAGATE, KAZUHIKO SUGITA, KAZUO NUMATA, TAKEO ONO,  
JUNKO MIYACHI, ETSUKO MORIKAWA and SADAFUMI OMURA  
Research Center, Taisho Pharmaceutical Co. Ltd. , Saitama

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of TE-031(A-56268) was compared with those of erythromycin(EM), josamycin(JM) and other antibiotics. The following results were obtained.

1. TE-031 had the same antibacterial spectrum as EM, being active against aerobic Gram-positive and -negative bacteria(*B. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*), anaerobic bacteria, L-form bacteria and *M. pneumoniae*.
2. TE-031 was equally or slightly more active than EM and more active than JM against 388 strains of clinical isolates.
3. TE-031 showed bactericidal activity against *H. influenzae*, as did EM.
4. TE-031 was more effective than EM and JM against systemic, subcutaneous and respiratory tract infections in mice.