

TE-031のヒト主要代謝物 M-5の抗菌作用について

長手尊俊・小野武夫・杉田和彦・明石 敏
 森川悦子・宮崎真奈美・竹市千恵・大村貞文
 大正製薬株式会社総合研究所

TE-031の代謝物として M-1～M-8の8化合物がヒトまたは動物の血中および尿中に確認されている。これらの中で M-5は *in vitro* 抗菌力が最も強く、ヒトの血中および尿中における主要代謝物であった。今回、M-5の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を TE-031, EM および JM と比較検討し、次の結果を得た。

M-5は、TE-031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*)および嫌気性菌に対して抗菌活性を示した。臨床分離株129株(*S. aureus* 25株, *S. epidermidis* 25株, *S. pneumoniae* 14株, *S. pyogenes* 20株, *E. faecalis* 15株, *B. catarrhalis* 17株, *H. influenzae* 13株)に対する M-5の抗菌力は TE-031と同等ないしやや弱く、EM と同等であった。

マウス実験の全身感染症(*S. aureus* BB, *S. pneumoniae* IID553)に対して、M-5は ED₅₀ がそれぞれ 0.232, 0.076 mg/mouse であり、TE-031, EM, JM よりも優れた防御効果を示した。マウス実験の呼吸器感染症(*S. pneumoniae* J-4)に対する M-5の治療効果は TE-031, EM よりも優れていた。M-5の優れた *in vivo* 抗菌力は M-5の血中および肺内濃度が高いことによると考えられた。

経口用マクロライド系薬剤として新しく開発された TE-031(6-O-Methylerythromycin A)の代謝物としては、Fig. 1 に示した、M-1～M-8の8化合物が確認されている(ただし、M-7の構造は未決定)^{1,2)}。ラット、イヌの血漿、尿中には M-1(N-Demethyl TE-031)および M-4(Decladinosyl TE-031)が主要代謝物として認められ、ヒトの血清、尿中には TE-031 とほぼ同量の M-5((14R)-14-Hydroxy TE-031)が主要代謝物として認められている。今回強い抗菌力を示した M-5の *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を TE-031 および他のマクロライド系薬剤と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代謝物は 大正製薬総合研究所で調製(M-1, M-2, M-3, M-4)およびヒト phase I 試験で得られた尿より抽出単離精製(M-5, M-6, M-7, M-8)したものを使用した。その他、対照薬剤として TE-031(大正製薬), Erythromycin(EM, SIGMA), Josamycin(JM, 山之内製薬), Clindamycin(CLDM, 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³⁾または同学会の嫌気性菌の MIC 測定法⁴⁾ 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、また嫌気培養にはターハー式アナエロボックス(N₂: 85%, CO₂: 5%, H₂: 10%)を使用した。

4. 殺菌作用の測定

菌を液体培地で 37℃ 18 時間培養後、同新鮮培地に接種し培養した。菌数が約 10⁵ ~ 10⁶ cfu/ml に増殖した時に所定の濃度になるように薬剤を添加し以後 37℃ 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* IID553 は 5% 馬血液加 STB で、*H. influenzae* IID981 は 5% Fildes enrichment 加 STB で培養した。

5. 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 10 匹を使用した。*S. aureus* BB は、Heart infusion agar で、37℃ 20 時間培養後、BSG(buffered saline with gelatin)³⁾ に懸濁し、10% gastric mucin と等量混合して腹腔内接種した。*S. pneumoniae* IID553 は 5% 馬血清加 STB で 37℃ 20 時間培養後、同培地で希釈し腹腔内接種した。菌接種 1 時間後に、5% アラビアゴムに懸濁した薬剤を経口投与した。観察は菌接種後 7 日間行い、マウスの生死から ED₅₀ を Prob-
 it 法⁵⁾ および VAN DER WAERDEN 法⁶⁾ により算出した。

Fig. 1 Chemical structure of TE-031 and its metabolites

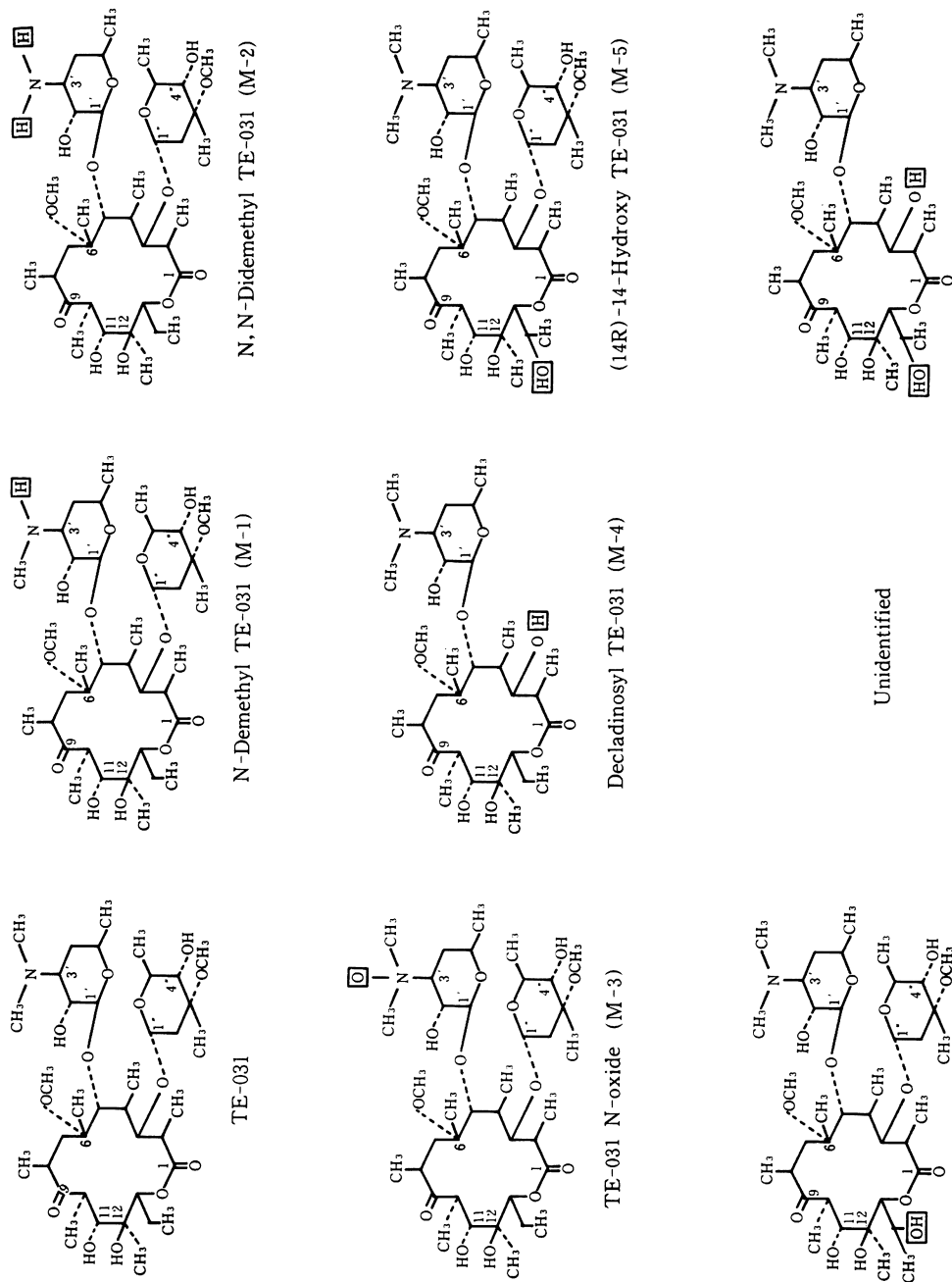


Table 1 Media used for preculture and MIC determination

Medium	Organism
Preculture	
STB*+1% horse serum	<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i>
STB+5% Fildes enrichment	<i>H. influenzae</i> , <i>N. gonorrhoeae</i>
GAM broth (Nissui)	Anaerobic bacteria
STB	Other bacteria
MIC determination	
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>
GAM agar (Nissui)	Anaerobic bacteria
STA	Other bacteria

* : Sensitivity test broth (Eiken)

** : Sensitivity test agar (Eiken)

Table 2 Antibacterial spectra of TE-031, M-1, M-2, M-3, M-4 and M-5 against standard strains

Inoculum size : 10⁶ cfu/ml

Strain	MIC (μ g/ml)					
	TE-031	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5
<i>S. aureus</i> 209P-JC	0.05	0.78	3.13	12.5	12.5	0.10
<i>S. aureus</i> BB	0.10	0.78	3.13	12.5	12.5	0.20
<i>S. aureus</i> SMITH 4	0.10	1.56	0.25	25	25	0.20
<i>S. aureus</i> J-109	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> B1	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>S. aureus</i> C1	1.56	12.5	> 100	> 100	> 100	3.13
<i>S. epidermidis</i> IID866	0.05	0.78	3.13	12.5	12.5	0.20
<i>S. pneumoniae</i> IID552*	\leq 0.012	0.05	1.56	0.10	0.78	0.025
<i>S. pneumoniae</i> IID553*	\leq 0.012	0.05	1.56	0.10	0.78	0.025
<i>S. pyogenes</i> IID689*	\leq 0.012	0.20	0.78	0.20	3.13	0.025
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.05	0.78	6.25	12.5	12.5	0.10
<i>M. luteus</i> NIHJ	0.025	0.10	0.39	3.13	3.13	0.05
<i>M. luteus</i> ATCC9341	0.025	0.10	0.39	1.56	3.13	0.025
<i>E. faecalis</i> ATCC8043	0.025	0.10	0.39	3.13	3.13	0.05
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	100	> 100	> 100	> 100	> 100	50
<i>K. pneumoniae</i> IFO3317	25	> 100	> 100	> 100	> 100	25
<i>S. enteritidis</i> KB-21	25	> 100	> 100	> 100	> 100	25
<i>B. catarrhalis</i> NNBr-1	0.05	0.78	12.5	12.5	0.25	0.05
<i>N. gonorrhoeae</i> TCC-2**	\leq 0.012	0.20	1.56	0.10	0.78	N.D.
<i>N. gonorrhoeae</i> TCC-4**	0.10	0.78	3.13	3.13	25	0.39
<i>H. influenzae</i> J-48**	3.13	100	> 100	> 100	> 100	3.13

Medium : Sensitivity test agar (Eiken)

* : Supplemented with 5% horse blood

** : Chocolate agar (5% horse blood)

6. マウス実験的呼吸器感染症に対する治療効果

ICR系マウス, 雄, 3週齢, 1群5匹を使用した。感染菌として *S. pneumoniae* J-4を用いた。1%馬血清加 Heart infusion broth (HIB) で37°C 12時間培養した本菌を集菌後 HIB で約 1.1×10^{10} cfu/ml の濃度に調整し, その菌液を噴霧感染装置内のマウスに60分間噴霧した⁷⁾。噴霧24時間後に5%アラビアゴムに懸濁した薬剤を経口投与した。治療効果は, 薬剤投与24時間後の肺内生菌数で表した。

7. マウス血漿中および肺内薬剤濃度の測定

ICR系マウス, 雄, 5週齢, 1群3匹を使用した。マウスに5%アラビアゴムに懸濁した薬剤を100mg/kg 経口投与し, 経時的に, 麻酔下に採血(ヘパリン加)し肺を摘出した。血漿中および肺内薬剤濃度の測定は, 検定菌として *M. luteus* ATCC9341を用いるペーパーディスク法にて行った⁸⁾。血液については遠心分離し血漿としたものを測定サンプルとした。また肺についてはメタノール:0.02Mリン酸塩緩衝液 pH7.4(4:1)にてホモジナイズした後, 遠心分離した上清を測定サンプルとした。

II. 実験成績

1. 抗菌スペクトル

M-5の好気性標準菌株に対する抗菌力(MIC)を他の

TE-031代謝物および TE-031, EM, JM と比較して, Table 2, 3に示した。好気性グラム陽性菌に対する M-5の抗菌力は強く0.025~0.20 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。ただし EM 耐性 *S. aureus* に対しては TE-031と同様, 無効であった。好気性グラム陰性菌に対する M-5の抗菌力は弱いが, *B. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae* に対しては抗菌力が強く0.05~3.13 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。M-5の MIC は TE-031と同等ないし1管高い値を示し, EM と同程度であった。他の TE-031代謝物の MIC を TE-031と比較すると, M-6は1~4管, M-1は2~5管, M-2, M-3, M-4, M-8は3~8管, M-7は7~11管高い値であり, TE-031代謝物の中では M-5が最も強い抗菌力を示した。

M-5の嫌気性標準菌株に対する抗菌力(MIC)を TE-031, EM, M-1と比較して Table 4に示した。嫌気性菌に対する M-5の抗菌力は強く, 多くの菌種で0.012~0.78 $\mu\text{g/ml}$ の MIC を示した。ただし *Peptostreptococcus* sp. および, *Bacteroides* sp. の一部には MIC が1.56~6.25 $\mu\text{g/ml}$ とやや弱く, *F. mortiferum* に対しては MIC が50~>100 $\mu\text{g/ml}$ とさらに弱かった。M-5の MIC を他の薬剤と比較すると, TE-031の1/2~4倍, EM の1~1/2, M-1の1/8~1/32の値で, TE-031よりもやや弱い, EM よりはやや強い抗菌力を示した。

Table 3 Antibacterial spectra of TE-031, EM, JM, M-1, M-5, M-6, M-7 and M-8 against standard strains
Inoculum size : 10^6 cfu/ml

Strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)							
	TE-031	EM	JM	M-1	M-5	M-6	M-7	M-8
<i>S. aureus</i> 209P-JC	0.10	0.10	0.39	0.78	0.10	0.78	25	12.5
<i>S. aureus</i> BB	0.10	0.20	0.39	1.56	0.20	0.78	100	12.5
<i>S. aureus</i> SMITH 4	0.10	0.20	0.78	1.56	0.20	0.78	100	12.5
<i>S. aureus</i> J-109	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>S. aureus</i> B 1	>100	>100	6.25	>100	>100	>100	>100	>100
<i>S. aureus</i> C 1	0.78	1.56	0.39	25	1.56	12.5	>100	>100
<i>S. epidermidis</i> sp-al-1	0.10	0.20	1.56	1.56	0.20	1.56	>100	25
<i>E. faecalis</i> ATCC 8043	0.025	0.05	0.39	0.20	0.05	0.20	12.5	3.13
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	0.05	0.10	0.39	0.78	0.10	0.39	100	6.25
<i>M. luteus</i> NIHJ	0.025	0.025	0.10	0.10	0.05	0.10	6.25	1.56
<i>M. luteus</i> ATCC9341	0.012	0.012	0.05	0.05	0.025	0.05	3.13	0.78
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	100	100	>100	>100	50	>100	>100	>100
<i>E. coli</i> K-12	12.5	12.5	50	>100	12.5	25	>100	>100
<i>K. pneumoniae</i> IFO3317	50	100	>100	>100	25	100	>100	>100
<i>B. catarrhalis</i> NNBr-1	0.10	0.20	0.78	1.56	0.10	0.39	12.5	12.5

Medium : Sensitivity test agar (Eiken)

2. 臨床分離株に対する抗菌力

臨床由来の分離株129株の MIC 測定を行いその結果を、Table 5 および Fig. 2~8に示した。試験菌はグラム陽性菌 5 種99株、グラム陰性菌 2 種30株を使用した。

- 1) *S. aureus* 25株 (Fig. 2), *S. epidermidis* 25株 (Fig. 3)

両菌種に対して M-5 の MIC₅₀ は 0.20 $\mu\text{g/ml}$ であり、CLDM よりもやや弱い抗菌力であったが、TE-031, EM と同程度で、JM, CCL よりは明らかに強い抗菌力を示した。

- 2) *S. pneumoniae* 14 株 (Fig. 4), *S. pyogenes* 20 株

(Fig. 5)

両菌種に対して M-5 の MIC は $\leq 0.006 \sim 0.05 \mu\text{g/ml}$ に分布しており、TE-031, EM, CLDM と同程度であり、JM, CCL よりは明らかに強い抗菌力を示した。

- 3) *E. faecalis* 15株 (Fig. 6)

M-5 の MIC₅₀ は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ で TE-031, EM と同等、JM, CLDM, CCL よりは明らかに強い抗菌力を示した。

- 4) *B. catarrhalis* 17株 (Fig. 7)

M-5 の MIC は 0.05~0.10 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、TE-031 と同程度、EM, JM, CLDM, CCL よりも強い抗菌力を示した。

Table 4 Antibacterial spectra of M-5, M-1, TE-031 and EM against anaerobic bacteria

Inoculum size : 10^6 cfu/ml

Strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	M-5	M-1	TE-031	EM
Gram-positive				
<i>P. asaccharolyticus</i> 10-2	3.13	100	1.56	3.13
<i>P. prevotii</i> ATCC9321	3.13	>100	1.56	3.13
<i>P. magnus</i> ATCC14955	6.25	>100	1.56	6.25
<i>P. micros</i> 1194	6.25	>100	1.56	6.25
<i>P. acnes</i> ATCC11828	0.012	0.10	0.012	0.025
<i>P. granulosum</i> ATCC25564	0.012	0.20	0.025	0.05
<i>B. adolescentis</i> ATCC15703	0.05	0.78	0.025	0.05
<i>E. limosum</i> ATCC8486	0.10	3.13	0.10	0.20
<i>E. aerofaciens</i> ATCC25986	0.025	0.05	0.025	0.05
<i>C. perfringens</i> 8329	0.78	50	0.39	1.56
<i>C. botulinum</i> type B	0.05	3.13	0.10	0.39
<i>C. bifermentans</i>	0.20	1.56	0.10	0.20
<i>C. difficile</i> No.20	0.20	1.56	0.20	0.20
<i>C. difficile</i> No.27	0.39	3.13	0.39	0.78
<i>C. sordellii</i> 6559	0.39	12.5	0.20	0.78
<i>C. tetani</i>	0.20	3.13	0.20	0.39
Gram-negative				
<i>B. fragilis</i> FA-32	0.78	12.5	0.20	1.56
<i>B. ovatus</i> 4999	3.13	25	1.56	6.25
<i>B. thetaiotaomicron</i> 46	3.13	100	6.25	6.25
<i>B. distasonis</i> HR-122	0.20	0.78	0.10	0.20
<i>B. distasonis</i> 7007	1.56	50	0.78	3.13
<i>B. praeacutus</i> ATCC25539	0.39	100	0.39	0.78
<i>F. mortiferum</i> ATCC9817	50	>100	>100	>100
<i>F. mortiferum</i> WA-1-4	>100	>100	>100	>100
<i>F. nucleatum</i> FA-41	0.20	6.25	0.20	0.39

Medium : GAM agar (Nissui)

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. aureus* (25 strains)

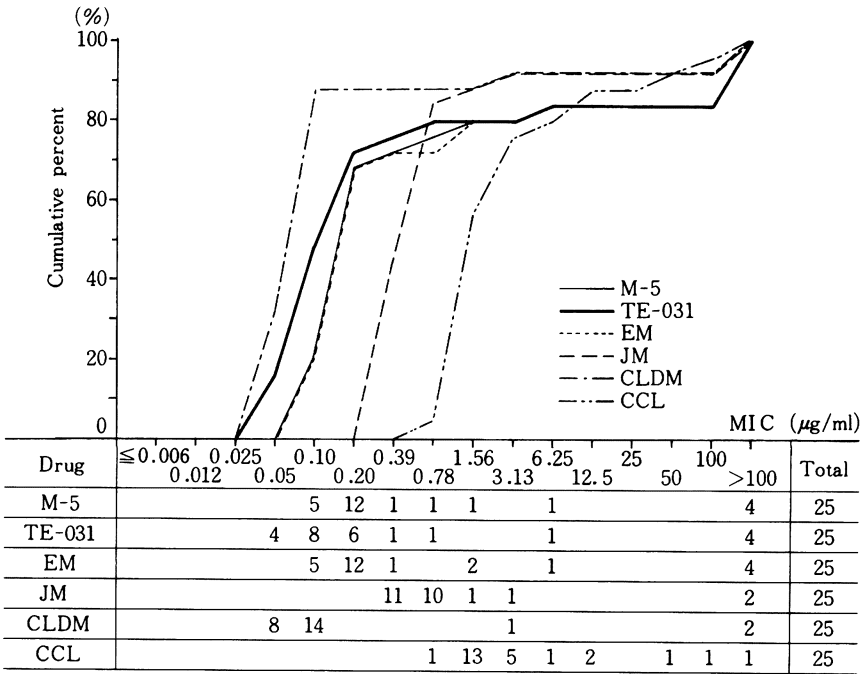


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates of *S. epidermidis* (25 strains)

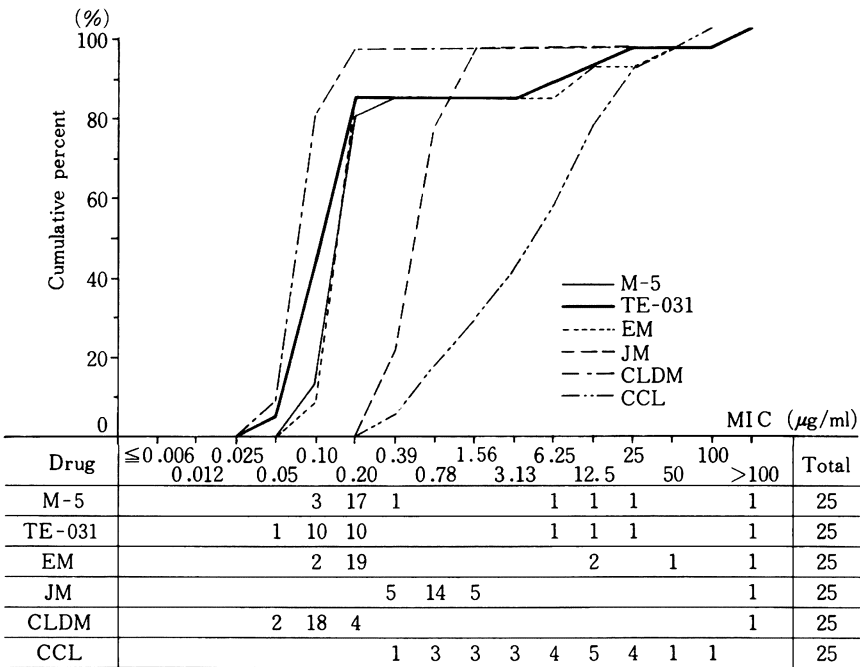


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates of *E. faecalis* (15 strains)

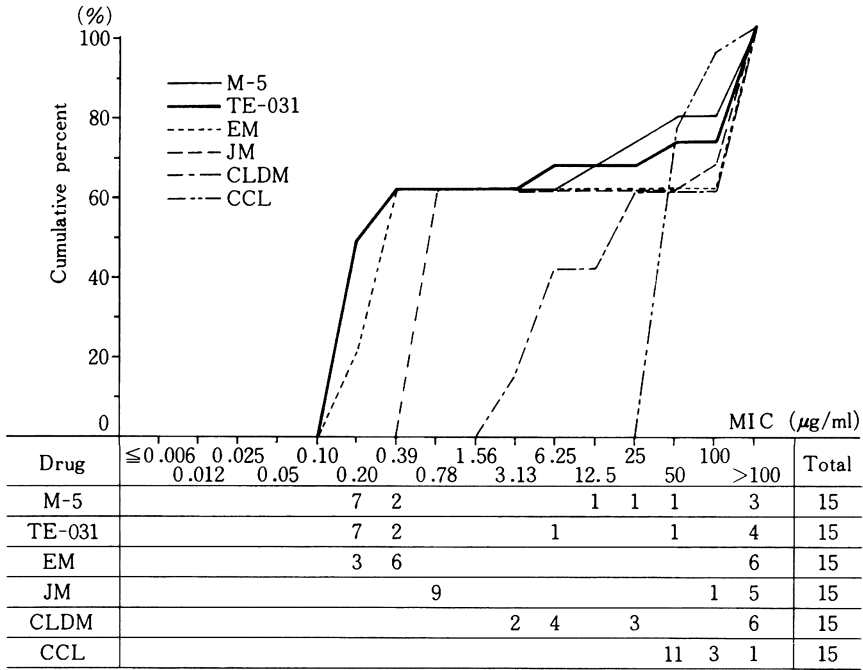
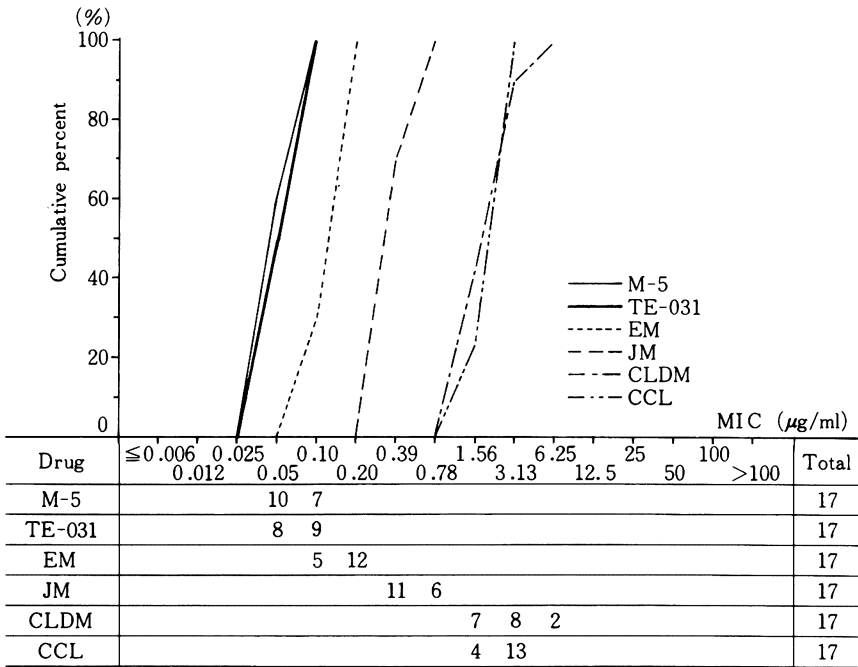


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates of *B. catarrhalis* (17 strains)



5) *H. influenzae* 13株(Fig. 8)

M-5のMICは1.56~6.25 $\mu\text{g/ml}$ に分布し, CCL, TE-031, EMと同程度であり, JM, CLDMよりも強い抗菌力を示した。

3. 殺菌作用

M-5の増殖曲線に及ぼす影響について検討し, その結果を Fig. 9~11に示した。 *S. aureus* SMITH 4, *S. pneumoniae* IID553に対してM-5は1MICでは殺菌作用は弱く静菌的であった。2MICでは8時間で, それぞれ初菌数の約1/200, 1/30に生菌数を減少させ, *S. aureus* SMITH 4に対しては殺菌的に作用した。TE-031, EMも同様の弱い殺菌作用を示した。*H. influenzae* IID981に対してM-5は1MICで強い殺菌作用を示し, 8時間で初菌数の1/10,000以下に生菌数を減少させた。2MIC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。TE-031, EMも同様の強い殺菌作用を示した。

4. 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 6に示した。*S. aureus* BB, *S. pneumoniae* IID553に対するM-5のED₅₀はそれぞれ0.232,

0.076 mg/mouse で TE-031の1/1.6, 1/2.9, EMの1/9.8, 1/19, JMの1/28, 1/25の値であり, TE-031よりもやや優れ, EM, JMよりは明らかに優れた防御効果を示した。

5. マウス実験の呼吸器感染症に対する治療効果

マウス実験の呼吸器感染症に対する治療効果について検討し, 薬剤投与24時間後の肺内生菌数を Fig.12に示した。M-5は優れた治療効果を示し, 投与量0.313~5.0 mg/mouseではTE-031と同程度の肺内生菌数であったが, 投与量0.078 mg/mouseではTE-031よりも有意に肺内生菌数を減少させた。EMと比較すると, M-5は, 投与量0.078~5.0 mg/mouseで有意に肺内生菌数を減少させた。

6. マウスの血漿中および肺内薬剤濃度

マウスの血漿中および肺内薬剤濃度について検討し, その結果を Fig.13,14に示した。M-5は経口投与1時間後にその血中濃度がピークに達し, 21.2 $\mu\text{g/ml}$ を示した。その後急速に低下したが4時間後でも3.4 $\mu\text{g/ml}$ と高濃度を維持した。濃度曲線下面積(AUC)はM-5が42.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$, TE-031が26.6 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$, EMが4.1 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$, JMが6.5 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ であり, M-5はTE-031, EM, JMよりも大きいAUCを示した。またM-5は経口

Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates of *H. influenzae* (13 strains)

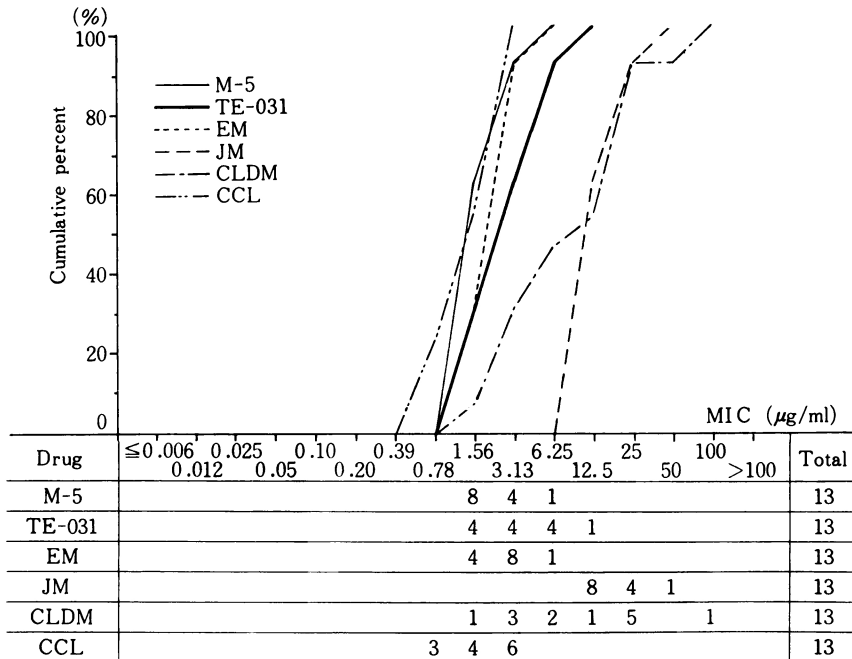


Table 5 Antibacterial activity of M-5 against clinical isolates

Organism (No. of strains)	Drug	MIC range (μ g/ml)	MIC ₅₀ (μ g/ml)	MIC ₈₀ (μ g/ml)
<i>S. aureus</i> (25)	M-5	0.10 ~ >100	0.20	1.56
	TE-031	0.05 ~ >100	0.20	0.78
	EM	0.10 ~ >100	0.20	1.56
	JM	0.39 ~ >100	0.78	0.78
	CLDM	0.05 ~ >100	0.10	0.10
	CCL	0.78 ~ >100	1.56	6.25
<i>S. epidermidis</i> (25)	M-5	0.10 ~ >100	0.20	0.20
	TE-031	0.05 ~ >100	0.20	0.20
	EM	0.10 ~ >100	0.20	0.20
	JM	0.39 ~ >100	0.78	1.56
	CLDM	0.05 ~ >100	0.10	0.10
	CCL	0.39 ~ 100	6.25	25
<i>S. pneumoniae</i> (14)	M-5	\leq 0.006 ~ 0.05	0.025	0.05
	TE-031	\leq 0.006 ~ 0.025	0.012	0.025
	EM	\leq 0.006 ~ 0.025	0.012	0.025
	JM	0.025 ~ 0.10	0.05	0.05
	CLDM	\leq 0.006 ~ 0.05	0.012	0.05
	CCL	0.10 ~ 0.78	0.39	0.39
<i>S. pyogenes</i> (20)	M-5	\leq 0.006 ~ 0.05	0.025	0.05
	TE-031	\leq 0.006 ~ 0.05	0.025	0.05
	EM	\leq 0.006 ~ 0.05	0.025	0.05
	JM	0.05 ~ 0.20	0.05	0.10
	CLDM	\leq 0.006 ~ 0.05	0.025	0.05
	CCL	0.10 ~ 0.78	0.39	0.78
<i>E. faecalis</i> (15)	M-5	0.20 ~ >100	0.39	50
	TE-031	0.20 ~ >100	0.39	>100
	EM	0.20 ~ >100	0.39	>100
	JM	0.78 ~ >100	0.78	>100
	CLDM	3.13 ~ >100	25	>100
	CCL	50 ~ >100	50	100
<i>B. catarrhalis</i> (17)	M-5	0.05 ~ 0.10	0.05	0.10
	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
	CLDM	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13
	CCL	1.56 ~ 3.13	3.13	3.13
<i>H. influenzae</i> (13)	M-5	1.56 ~ 6.25	1.56	3.13
	TE-031	1.56 ~ 12.5	3.13	6.25
	EM	1.56 ~ 6.25	3.13	3.13
	JM	12.5 ~ 50	12.5	25
	CLDM	1.56 ~ 100	12.5	25
	CCL	0.78 ~ 3.13	1.56	3.13

Fig. 9 Bactericidal activity of M-5, TE-031 and EM against *S. aureus* SMITH 4

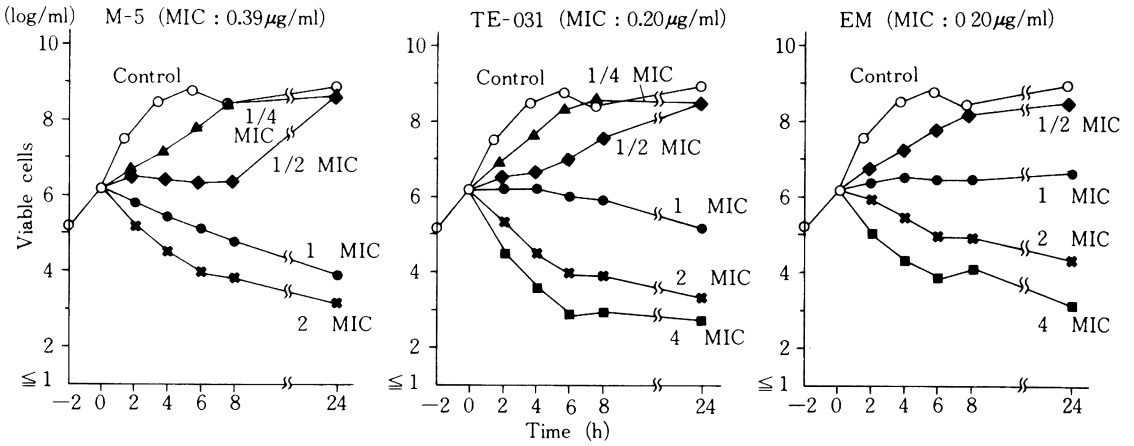


Fig. 10 Bactericidal activity of M-5, TE-031 and EM against *S. pneumoniae* IID553

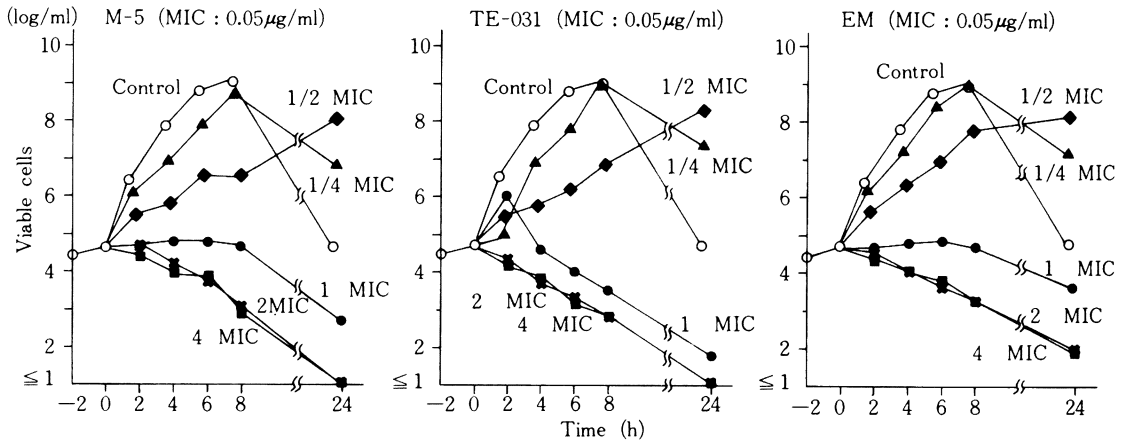
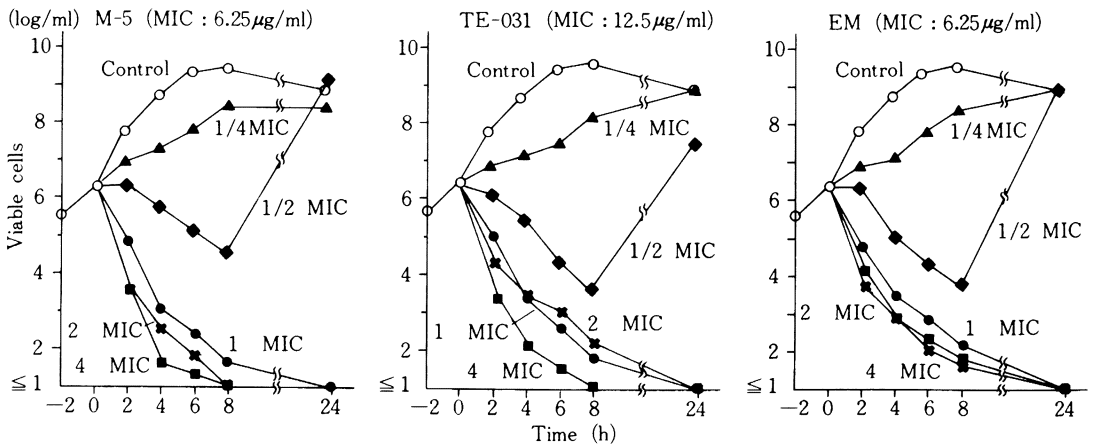


Fig. 11 Bactericidal activity of M-5, TE-031 and EM against *H. influenzae* IID981



投与1時間後にその肺内濃度がピークに達し、72.3 $\mu\text{g/g}$ を示した。その後、急速に低下したが4時間後でも6.8 $\mu\text{g/g}$ と高濃度を維持した。AUCはM-5が133.9 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/g}$ 、TE-031が343.1 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/g}$ 、EMが17.5 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/g}$ 、JMが18.7 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/g}$ であり、M-5はTE-031よりも小さいがEM、JMよりは明らかに大きいAUCを示した。

Ⅲ. 考 察

TE-031の代謝物としてM-1~M-8の8化合物が確認されているが、そのなかでもM-5は他の代謝物よりも明らかに強く、TE-031と同等ないしやや劣るがEMと同程度の *in vitro* 抗菌力を示した。M-5は *in vivo* においても強い抗菌力を示し、マウス感染実験における効果は、

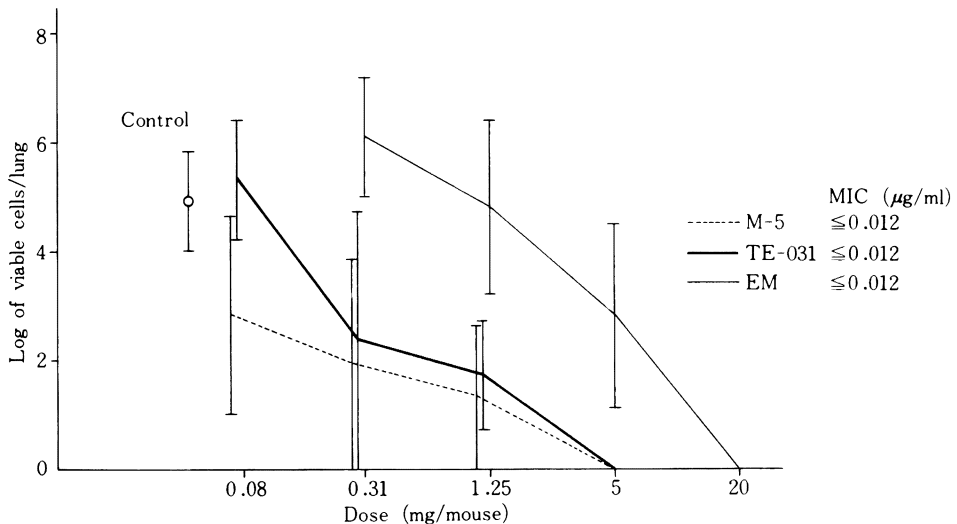
Table 6 Protective effect of M-5, TE-031, EM and JM on systemic infections in mice

Strain	Challenge dose (cfu/mouse)	Drug	Inoculum size : 10^6 cfu/ml	
			ED ₅₀ (mg/mouse) (95% confidence limits)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
<i>S. aureus</i> BB	5.0×10^7 (5% Mucin)	M-5	0.232 (0.161~0.314)	0.20
		TE-031	0.370 (0.271~0.506)	0.10
		EM	2.27 (1.85 ~2.80)	0.20
		JM	6.56 (4.81 ~8.93)	0.39
<i>S. pneumoniae</i> IID553	3.3×10^6	M-5	0.076 (0.001~0.161)	0.025
		TE-031	0.222 (0.012~0.508)	≤ 0.012
		EM	1.41 (0.401~2.46)	≤ 0.012
		JM	1.89 (0.894~2.60)	0.05

Mouse : ICR

1 group : 10 mice

Fig. 12 Efficacy of M-5, TE-031 and EM on experimental respiratory infection with *S. pneumoniae* J-4 in mice



Challenge : *S. pneumoniae* J-4, 2.0×10^4 cfu/lung

Administration : p.o., 24 hours after infection

Mouse : ICR, 3 weeks (n = 5)

Fig. 13 Plasma levels of M-5, TE-031, EM and JM after oral administration of 100 mg/kg in mice (n=3)

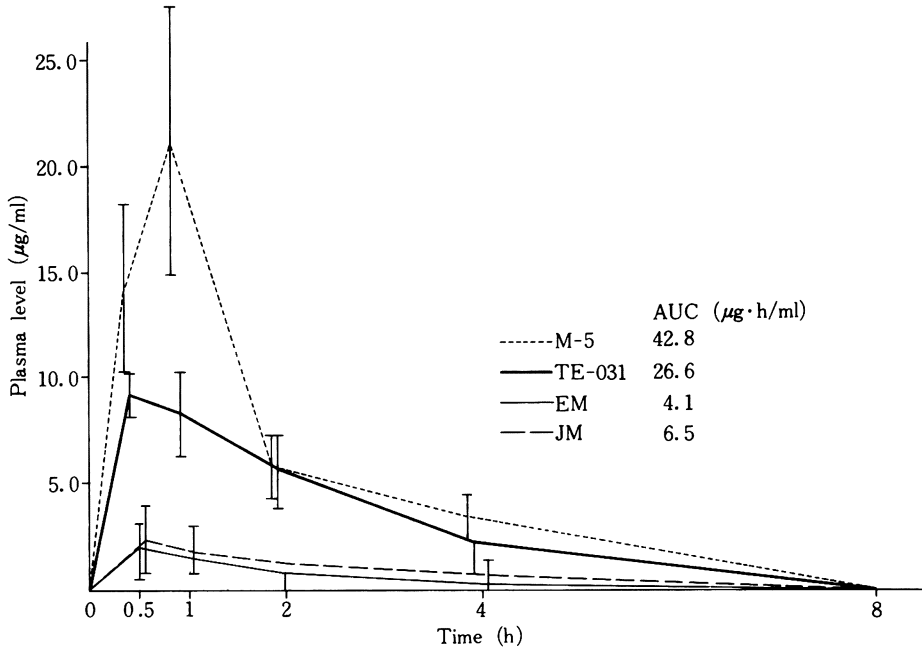
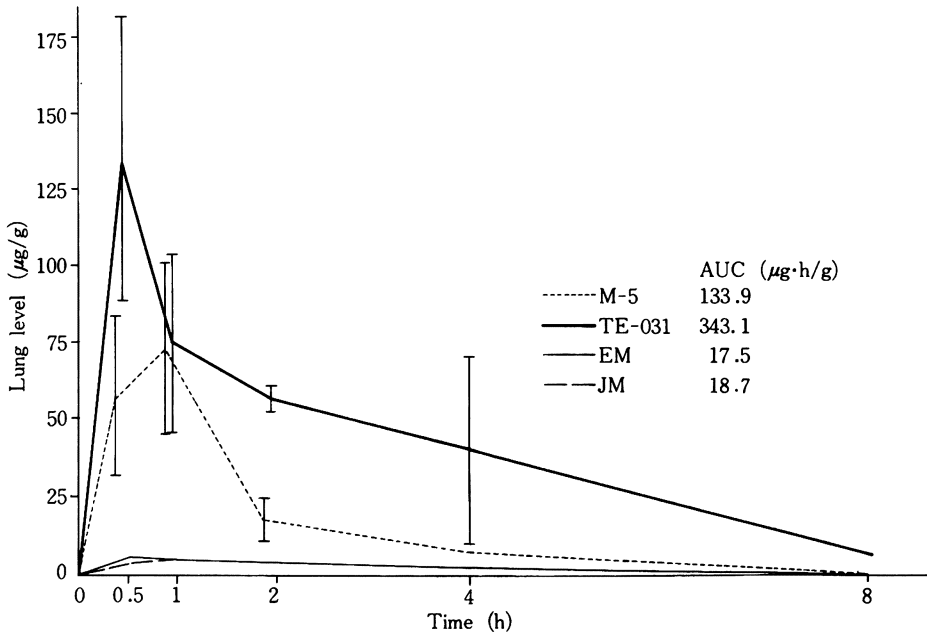


Fig. 14 Lung levels of M-5, TE-031, EM and JM after oral administration of 100 mg/kg in mice (n=3)



TE-031よりもやや優れていた。M-5はマウスに経口投与後、高い血中濃度と肺内濃度を示した。このことはM-5の *in vivo* 抗菌力が他薬剤と比べ優れていることの1つの要因と考えられる。

M-5はヒトの血清および尿中にTE-031とほぼ同量存在し、しかも強い *in vitro* および *in vivo* 抗菌力を示したことから、TE-031の臨床における有用性にM-5が大きく寄与していると考えられる。

文 献

- 1) NAGATE T., T. ADACHI, T. OTAKE, H. YOSHIDA, J. MIYAJI, E. SEKIGUCHI, S. MORIMOTO & S. OMURA A new macrolide antibiotic, TE-031. Structures and activity of metabolites. Abstracts of papers of 26th Intersci. conf. on Antimicrob. Agents Chemother. No. 410, New Orleans, La., 1986
- 2) 吉田英生, 吉富幸代, 亀井慶子, 諏訪俊男: 新規マクロライド系抗生物質 TE-031の体内動態(2) TE-031の代謝。日本薬学会 107年会 京都, 1987
- 3) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度(MIC)の測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981
- 4) 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
- 5) D. J. FINNEY Probit Analysis, 2nd Ed., : Cambridge University Press, pp. 48~64, 1952
- 6) VAN DER WAERDEN, B. L. : Wirksamkeits und Konzentrationsbestimmung durch tierversuche. Arch. Exp. Path. Pharmacol. 195: 389~412, 1940
- 7) 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
- 8) 長手尊俊, 杉田和彦, 宮地純子, 宮崎真奈美, 竹市千恵, 小野武夫, 大竹盾夫, 大村貞文: TE-031の体液内濃度測定法に関する研究(第1報) bioassay 法による体液内濃度測定。Chemotherapy 投稿中

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF M-5, THE MOST ACTIVE METABOLITE OF TE-031 (A-56268) IN MAN

TAKATOSHI NAGATE, TAKEO ONO, KAZUHIKO SUGITA, TOSHI AKASHI, ETSUKO MORIKAWA,
MANAMI MIYAZAKI, CHIE TAKEICHI and SADAFUMI OMURA
Research Center, Taisho Pharmaceutical Co. Ltd., Saitama

Metabolites of TE-031 (A-56268) designated M-1, M-2, M-3, M-4, M-5, M-6, M-7 and M-8 were found in blood and urine of animals and man. The major metabolite in man was M-5((14R)-14-hydroxy-TE-031), the most active metabolite *in vitro*. The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of M-5 was compared with those of TE-031, EM and JM. The following results were obtained.

M-5 had the same antibacterial spectrum as TE-031, being active against aerobic Gram-positive and -negative bacteria (*B. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*) and anaerobic bacteria. The *in vitro* antibacterial activity of M-5 against 129 strains of clinical isolates (*S. aureus* 25, *S. epidermidis* 25, *S. pneumoniae* 14, *S. pyogenes* 20, *E. faecalis* 15, *B. catarrhalis* 17, *H. influenzae* 13) was compared with those of TE-031 and other antibiotics. M-5 was equally or slightly less active than TE-031 and approximately equal to EM.

The *in vivo* antibacterial activity of M-5 after oral administration was examined in systemic infections with *S. aureus* BB and *S. pneumoniae* IID553 in mice.

The ED₅₀ values of M-5 were 0.232 and 0.076 mg/mouse, respectively, indicating that M-5 was more effective than TE-031, EM and JM. The therapeutic effect of M-5 against respiratory tract infection due to *S. pneumoniae* J-4 in mice was greater than those of TE-031 and EM. The higher *in vivo* activity provided by M-5 can be explained by higher blood and lung levels of M-5 in mice.