

新経口セフェム剤 ME 1207 の *in vitro* 及び *in vivo* 抗菌力

河原條勝己・宮田 愛子・柿沼 和代・原 哲郎

井田 孝志・高山 吉弘・遠山 博美・齊藤早紀子

田村 淳・荒明美奈子・折笠 義則

明治製菓株式会社薬品総合研究所*

澤井哲夫・山口明人

千葉大学薬学部微生物薬品化学教室

ME 1207 の抗菌活性体 ME 1206 はグラム陽性菌に対して, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus* 属を除き強い抗菌力を示した。特に *Staphylococcus aureus* 及び *Staphylococcus epidermidis* に対し cefaclor (CCL) より優れた抗菌力を示し, *Streptococcus* 属に対し ceftamandole (CFTM) と同等, cefixime (CFIX), CCL より優れた抗菌力を示した。ME 1206 はグラム陰性菌に対して, *Pseudomonas aeruginosa* を除き強い抗菌力を示し, その抗菌力は CFTM 及び CFIX とほぼ同等であった。しかし *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* 及び *Serratia marcescens* では CFTM 及び CFIX と同様に一部に MIC の高い菌が存在した。*S. aureus* 及び *Escherichia coli* の増殖曲線に及ぼす影響を検討したが, ME 1206 は CFTM 及び CCL とほぼ同等の殺菌力を示した。ME 1206 のペニシリン結合蛋白質に対する結合親和性は, *S. aureus* においては PBP 1, 2, 3 に高く, *E. coli* においては PBP 3, 1A, 1B に高い結合親和性を示した。ME 1206 の *E. coli* 由来 Omp F porin 透過性を検討したところ, CFTM とほぼ同等で cefazolin の約 1/3 であった。ME 1206 のヒト血清との協力的殺菌作用は *E. coli* に対し CFTM 及び CCL と同様に認められた。ME 1207 は *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli* 及び *Klebsiella pneumoniae* のマウス全身感染モデルにおいて優れた治療効果を示した。

Key words : ME 1207, ME 1206, *in vitro* 抗菌力, *in vivo* 抗菌力

新規経口セファロsporin 剤 ME 1207 は経口投与後腸管から吸収される際に腸管壁エステラーゼにより脱エステル化され, 生体内では ME 1206 として抗菌活性を示す。ME 1206 はグラム陽性菌からグラム陰性菌まで広範囲な抗菌スペクトラムを有し優れた抗菌力を示す¹⁾。

本報では ME 1206 の感受性分布, 殺菌力, ペニシリン結合蛋白 (PBP) に対する結合親和性, 外膜透過性及び血清との協力的殺菌作用, 更に ME 1207 のマウス全身感染における治療効果の実験結果を報告する。

I. 実験材料と方法

1. 使用菌株

明治製菓㈱研究所保存の標準菌株及び臨床分離株を用いた。

2. 使用薬剤

ME 1207, ME 1206 及び ceftamandole (CFTM) は明治

製菓㈱研究所合成品を用いた。他の薬剤は以下の各社製品を用いた。ceftamandole pivoxil (CFTM-PI : 富山化学), cefixime (CFIX : 藤沢薬品), cefazolin (CEZ : 藤沢薬品), cefaclor (CCL : 塩野義製薬), cephaloridine (CER : 塩野義製薬), cephalothin (CET : 塩野義製薬) 及び cefamandole (CMD : 塩野義製薬)。

3. 感受性測定

日本化学療法学会標準法に準じ寒天平板希釈法で最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した²⁾。以下に述べる菌種を除き, 前培養には Sensitivity test broth (STB : 日水製薬), 測定用には Sensitivity disk agar (SDA : 日水製薬) を用いた。*Streptococcus pyogenes* 及び *Streptococcus pneumoniae* では前培養に Brain heart infusion broth (BHIB : Difco) を用い, 測定用には SDA に 5% 馬脱繊維血を加えた血液寒天を用いた。*Streptococcus agalactiae* は前培養に Todd Hewitt

*〒222 横浜市港北区師岡町 760

broth (THB; Difco) を用い、測定用には SDA に 5% 馬脱繊維血を加えた血液寒天を用いた。*Listeria monocytogenes* は測定用には SDA に 5% 馬脱繊維血を加えた血液寒天を用いた。*Neisseria gonorrhoeae* 及び *Neisseria meningitidis* は Heart infusion agar (HIA; Difco) に 5% 馬脱繊維血を加えたチョコレート寒天を用い、GasPak CO₂ system (BBL) で培養した。*Bordetella pertussis* は Bordet-Gengou (Difco) に 15% 馬脱繊維血を加えた血液寒天を用い、37°C 48 時間培養した。なお、*L. monocytogenes*, *N. gonorrhoeae* 及び *N. meningitidis* の接種菌液の調整は、測定用と同培地に菌を増殖させ同じ組成の broth に菌を懸濁し約 10⁶CFU/ml とした。*Haemophilus influenzae* は前培養には 5% Fildes enrichment (Difco) を加えた培地を用い、測定用には SDA に 5% Fildes enrichment を加えた寒天培地を用いた。*Bacteroides fragilis* は前培養に GAM broth (日水製薬)、測定用に GAM agar (日水製薬) を用い、GasPak anaerobic system (BBL) を用いて培養した。以上全ての菌種で約 10⁶CFU/ml の菌液の 5 μ l を接種した。

4. 増殖曲線に及ぼす影響

STB に前培養した *S. aureus* 209 P JC-1 及び *E. coli* NIHJ JC-2 を同新鮮培地に接種し、37°C で振盪を続けた。菌数が 10⁵CFU/ml 以上に達した時、1/4, 1/2, 1, 2, 4 MIC 濃度となるように薬剤を添加し、添加後 2, 4, 6, 24 時間後に SDA を用いて 37°C 一夜培養後発育したコロニーを生菌数とした。

5. ペニシリン結合蛋白質 (PBPs) に対する結合親和性

横田らの方法に従った³⁾。膜標品は *S. aureus* 209 P JC-1 及び *E. coli* NIHJ JC-2 より調製した。¹⁴C-PCG (AMERSHAM: 2.16 GBq/mmol) は最終濃度 27 μ g/ml となるように反応液に加えた。

6. Omp F channel 透過性

Proteoliposome swelling assay 法を用いて *E. coli* の Omp F porin channel 透過性を測定した⁴⁾。Proteoliposome の調製は、egg phosphatidylcholine 4 mg と bovine heart cardiolipin 0.4 mg のクロロホルム溶液を混合、窒素気流下で乾固後、*E. coli* KY 2209 (ompF⁺, ompC⁻) より精製した Omp F porin 26 μ g を含む精製水に water bath sonicator を用いて分散させた。これを凍結乾燥した後、0.5 ml の stachyose - NAD buffer (12 mM stachyose - 4 mM sodium NAD - 1 mM imidazole NAD, pH 6.0) に分散させることにより stachyose 封入 Omp F-liposome を得た。Swelling assay は NIKAIDO らの方法に基づ

いて行った^{4,5)}。12 mM の測定薬剤を NAD buffer (1 mM sodium NAD, 1 mM imidazole NAD, pH 6.0) に溶解した溶液 1.5 ml に対し、proteoliposome suspension 30 μ l を加えて攪拌後、20 秒間の OD 450 nm の変化を追跡し、NAKAE の計算方法に基づいて透過係数 P_A を算出した⁶⁾。同時に Omp F を含まない liposome で同様の実験を行い、swelling が生じないことを確認した。

7. 血清との協力的殺菌作用

E. coli No. 29 株を STB で、37°C 一夜培養した。これを新鮮な同培地に最終菌量が約 10⁵CFU/ml となるように調整し、37°C 2 時間振盪培養後、これを使用菌液とした。L チューブにヒト血清 (Flow 社) 及び所定濃度の薬剤及び菌液を入れ混合し、37°C で振盪培養した。混合 2, 4, 6 時間後に SDA を用いて 37°C 一夜培養後発育したコロニーを生菌数としてカウントした。

8. マウス実験の腹腔内感染症に対する治療効果

接種菌液は Heart infusion agar (日水製薬) で 37°C 一夜培養した被験菌を生理食塩水に懸濁し、これに等容量の 5% gastric mucin (Difco) 溶液を加え混合し作製した。*S. pneumoniae* については、Todd Hewitt agar に 37°C 一夜培養後、発育した菌を 10% 馬血清添加 Brain heart infusion broth に植菌、37°C 18 時間培養した。この培養液の生理食塩水希釈液に等量の 5% gastric mucin 溶液を加え混合した。接種菌液をマウス腹腔内に 0.5 ml 接種し、その 1 時間後に各薬剤液 (0.2% carboxymethylcellulose に懸濁) の 0.5 ml を経口投与した。投与翌日より 6 日間マウスの生死を観察し、ED₅₀ 値を Probit 法により算出した⁷⁾。

II. 実験結果

1. 感受性分布

臨床分離株 28 菌種に対する ME 1206 の MIC 分布、MIC₅₀ 及び MIC₈₀ 値を CFTM, CFIX 及び CCL を対照薬として、Table 1 に示した。

MSSA (methicillin の MIC 値が 3.13 μ g/ml 以下) に対して、ME 1206 は MIC₈₀ で 0.78 μ g/ml と CFTM, CCL に比べ優れた抗菌力を示した。MRSA (methicillin の MIC 値が 6.25 μ g/ml 以上) に対し、ME 1206 は対照薬より優るものの、MIC₅₀ で 12.5 μ g/ml とその抗菌力は弱かった。*S. epidermidis* に対し、ME 1206 は MIC₅₀ で 0.78 μ g/ml であり対照薬より優れた抗菌力を示したが、MIC₈₀ は 12.5 μ g/ml とやや高い MIC 値を示した。*S. pyogenes*, *S. pneumoniae* 及び *S. agalactiae* に対し、ME 1206 は CFTM と同等で極めて強く、CFIX, CCL より優れた抗菌力を示した。*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* 及び

Table 1. Antibacterial activity of ME1206 against clinical isolates 10⁶CFU/ml

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC (μg/ml)			
		range		MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) (23)	ME1206	0.39 ~	1.56	0.78	0.78
	cefteram	1.56 ~	6.25	3.13	3.13
	cefixime	12.5 ~	50	12.5	25
	cefaclor	0.78 ~	6.25	3.13	3.13
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (27)	ME1206	1.56 ~	100	12.5	50
	cefteram	6.25 ~	> 100	100	> 100
	cefixime	50 ~	> 100	> 100	> 100
	cefaclor	25 ~	> 100	> 100	> 100
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (25)	ME1206	0.10 ~	200	0.78	12.5
	cefteram	0.78 ~	> 200	6.25	50
	cefixime	3.13 ~	> 200	12.5	> 200
	cefaclor	0.78 ~	200	3.13	25
<i>Streptococcus pyogenes</i> (24)	ME1206	≤ 0.006 ~	6.25	0.013	0.013
	cefteram	≤ 0.006 ~	12.5	≤ 0.006	0.013
	cefixime	0.05 ~	3.13	0.10	0.20
	cefaclor	0.20 ~	12.5	0.39	0.39
<i>Streptococcus agalactiae</i> (30)	ME1206	0.025 ~	0.05	0.05	0.05
	cefteram	0.025 ~	0.05	0.05	0.05
	cefixime	0.20 ~	0.39	0.20	0.39
	cefaclor	0.78 ~	1.56	0.78	0.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (94)	ME1206	≤ 0.006 ~	0.78	0.013	0.025
	cefteram	≤ 0.006 ~	1.56	0.013	0.05
	cefixime	0.10 ~	25	0.20	0.39
	cefaclor	0.20 ~	> 50	0.39	0.78
<i>Enterococcus faecalis</i> (15)	ME1206	1.56 ~	> 400	50	100
	cefteram	3.13 ~	400	100	100
	cefixime	25 ~	> 400	> 400	> 400
	cefaclor	6.25 ~	100	50	100
<i>Enterococcus faecium</i> (9)	ME1206	100 ~	> 400	400	> 400
	cefteram	200 ~	> 400	200	> 400
	cefixime	> 400 ~	> 400	> 400	> 400
	cefaclor	25 ~	> 400	200	> 400
<i>Listeria monocytogenes</i> (30)	ME1206	0.39 ~	100	50	50
	cefteram	0.78 ~	> 100	100	100
	cefixime	12.5 ~	> 100	> 100	> 100
	cefaclor	3.13 ~	50	12.5	12.5
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (18)	ME1206	≤ 0.025 ~	0.20	0.05	0.10
	cefteram	≤ 0.025 ~	0.20	≤ 0.025	0.10
	cefixime	≤ 0.025 ~	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	cefaclor	0.20 ~	1.56	0.78	0.78
<i>Neisseria meningitidis</i> (24)	ME1206	≤ 0.025 ~	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	cefteram	≤ 0.025 ~	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	cefixime	≤ 0.025 ~	≤ 0.025	≤ 0.025	≤ 0.025
	cefaclor	0.10 ~	1.56	0.20	0.20
<i>Branhamella catarrhalis</i> (111)	ME1206	0.013 ~	0.78	0.20	0.39
	cefteram	0.10 ~	3.13	0.78	1.56
	cefixime	0.05 ~	0.78	0.39	0.39
	cefaclor	0.20 ~	12.5	1.56	3.13
<i>Escherichia coli</i> (23)	ME1206	0.20 ~	0.39	0.39	0.39
	cefteram	0.10 ~	0.39	0.20	0.39
	cefixime	0.05 ~	0.39	0.20	0.39
	cefaclor	0.78 ~	3.13	1.56	1.56
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (32)	ME1206	0.20 ~	3.13	0.39	0.39
	cefteram	0.20 ~	3.13	0.20	0.39
	cefixime	≤ 0.013 ~	0.78	0.05	0.10
	cefaclor	0.39 ~	3.13	0.78	0.78

Table 1-2. Antibacterial activity of ME1206 against clinical isolates 10⁶CFU/ml

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC (μg/ml)		
		range	MIC ₅₀	MIC ₈₀
<i>Klebsiella oxytoca</i> (13)	ME1206	0.05 ~ 0.20	0.10	0.20
	cefteram	0.10 ~ 0.20	0.20	0.20
	cefixime	≤ 0.013 ~ 0.05	≤ 0.013	0.025
	cefaclor	0.39 ~ 1.56	0.78	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> (31)	ME1206	0.39 ~ > 200	1.56	100
	cefteram	0.39 ~ > 200	1.56	100
	cefixime	0.20 ~ > 200	3.13	> 200
	cefaclor	12.5 ~ > 200	> 200	> 200
<i>Enterobacter aerogenes</i> (15)	ME1206	0.20 ~ 50	0.78	0.78
	cefteram	0.20 ~ 100	0.39	0.78
	cefixime	0.20 ~ > 100	0.78	0.78
	cefaclor	12.5 ~ > 100	50	100
<i>Citrobacter freundii</i> (34)	ME1206	0.39 ~ > 200	1.56	100
	cefteram	0.39 ~ > 200	1.56	100
	cefixime	0.39 ~ > 200	3.13	200
	cefaclor	6.25 ~ > 200	50	> 200
<i>Serratia marcescens</i> (48)	ME1206	0.39 ~ 200	1.56	50
	cefteram	0.39 ~ > 200	1.56	100
	cefixime	0.05 ~ > 200	0.39	100
	cefaclor	25 ~ > 200	> 200	> 200
<i>Proteus mirabilis</i> (24)	ME1206	0.10 ~ 0.39	0.20	0.20
	cefteram	0.05 ~ 0.20	0.05	0.10
	cefixime	≤ 0.013 ~ ≤ 0.013	≤ 0.013	≤ 0.013
	cefaclor	0.78 ~ 1.56	1.56	1.56
<i>Proteus vulgaris</i> (24)	ME1206	0.05 ~ > 200	0.20	6.25
	cefteram	0.05 ~ > 200	0.20	6.25
	cefixime	≤ 0.025 ~ > 200	≤ 0.025	3.13
	cefaclor	100 ~ > 200	> 200	> 200
<i>Morganella morganii</i> (24)	ME1206	0.10 ~ 100	0.20	0.78
	cefteram	0.05 ~ > 100	0.10	0.78
	cefixime	0.025 ~ 100	0.20	3.13
	cefaclor	25 ~ > 100	> 100	> 100
<i>Providencia rettgeri</i> (25)	ME1206	0.05 ~ > 200	0.20	0.78
	cefteram	≤ 0.025 ~ > 200	0.20	0.78
	cefixime	≤ 0.025 ~ > 200	≤ 0.025	0.05
	cefaclor	0.20 ~ > 200	200	> 200
<i>Providencia stuartii</i> (27)	ME1206	0.10 ~ 25	1.56	12.5
	cefteram	0.05 ~ 50	0.78	6.25
	cefixime	≤ 0.013 ~ 12.5	0.05	0.39
	cefaclor	6.25 ~ > 100	> 100	> 100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (46)	ME1206	3.13 ~ > 100	25	100
	cefteram	12.5 ~ > 100	> 100	> 100
	cefixime	12.5 ~ > 100	100	> 100
	cefaclor	> 100 ~ > 100	> 100	> 100
<i>Haemophilus influenzae</i> (117)	ME1206	≤ 0.006 ~ 0.20	0.013	0.025
	cefteram	≤ 0.006 ~ 0.39	0.013	0.025
	cefixime	≤ 0.006 ~ 0.10	0.05	0.05
	cefaclor	0.39 ~ 12.5	1.56	1.56
<i>Bordetella pertussis</i> (19)	ME1206	0.10 ~ 1.56	0.20	0.39
	cefteram	0.78 ~ 1.56	1.56	1.56
	cefixime	0.78 ~ 3.13	1.56	1.56
	cefaclor	3.13 ~ 25	12.5	25
<i>Bacteroides fragilis</i> (47)	ME1206	0.78 ~ 50	1.56	1.56
	cefteram	3.13 ~ 400	6.25	12.5
	cefixime	3.13 ~ 400	12.5	12.5
	cefaclor	50 ~ > 400	200	200

Agar dilution method

L. monocytogenes に対し ME 1206 は無効であった。
N. gonorrhoeae 及び *N. meningitidis* に対し、ME 1206 は CFTM、CFIX と同等の強い抗菌力を示した。*Branhamella catarrhalis* に対し、ME 1206 は CFIX とほぼ同等、CFTM 及び CCL より優れた抗菌力を示した。
Enterobacteriaceae に対し、ME 1206 は CFTM 及び CFIX と同等の優れた抗菌力を示した。ただし、*Enterobacter cloacae*、*Citrobacter freundii* 及び *Serratia marcescens* に対し、MIC₈₀ はそれぞれ 100, 100, 50 µg/ml と高かった。*Pseudomonas aeruginosa* に対する ME 1206 の抗菌力は弱かった。*H. influenzae* に対し、ME 1206 は CFTM、CFIX と同様に強い抗菌力を示した。*Bordetella pertussis* に対し、ME 1206 は対照薬より優れた抗菌力を示した。*B. fragilis* に対し、ME 1206 は MIC₈₀ が 1.56 µg/ml と対照薬に比べ

優れた抗菌力を示した。
2. 増殖曲線に及ぼす影響
ME 1206、CFTM 及び CCL の *S. aureus* 209 P JC-1 株に対する殺菌作用を Fig. 1 に示した。ME 1206 は 1/2 MIC で良好な殺菌力を示し、2 MIC で 24 時間後の再増殖が認められなかった。CFTM、CCL もほぼ同様の傾向であった。
E. coli NIHJ JC-2 株に対する殺菌作用を Fig. 2 に示した。ME 1206 は MIC で良好な殺菌力を示し、再増殖の程度も小さかったが、CFTM 及び CCL では著しい再増殖が認められた。
3. ペニシリン結合蛋白質 (PBPs) に対する結合親和性
S. aureus 209 P JC-1 株の PBPs に対する ME 1206 及び CFTM の結合親和性の結果を Fig. 3 に示した。ME 1206 は PBP 1>2>3>4 の順に高い結合親和性

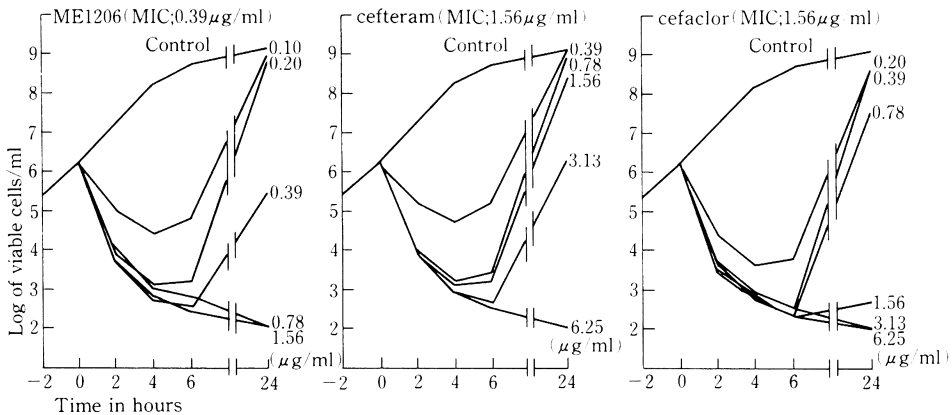


Fig. 1. Bactericidal activity of ME1206 against *Staphylococcus aureus* 209P JC-1.

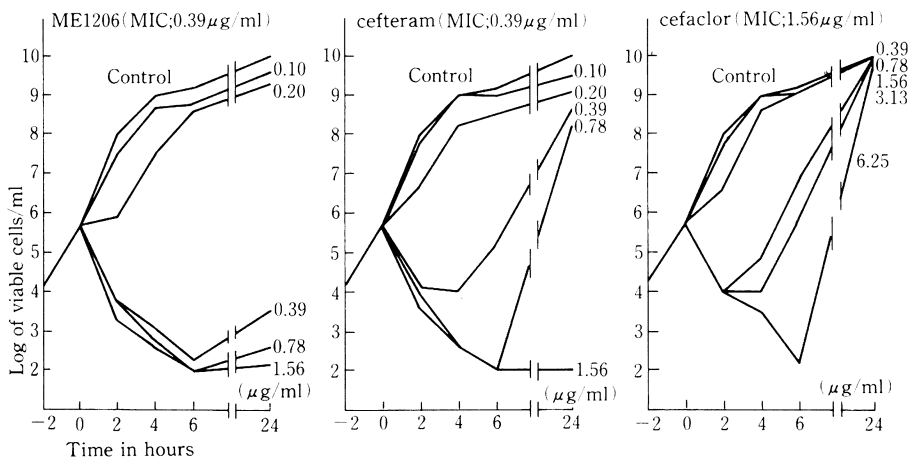


Fig. 2. Bactericidal activity of ME1206 against *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

を示し、いずれのPBPに対する結合親和性もCFTMより高かった。

E. coli NIHJ JC-2株のPBPsに対するME1206及びCFTMの結合親和性をFig. 4に示した。ME1206はPBP3>1A>1B>2の順に高い結合親和性を示し、特にPBP1A、1Bに対してはCFTMより高い結合親和性を示した。

4. Omp F porin channel 透過性

各薬剤の*E. coli*より得られたOmp F porin chan-

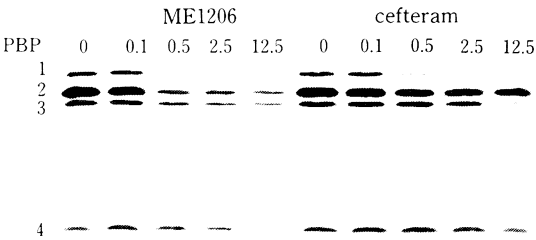


Fig. 3. Competition of ME1206 and cefteteram for penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* 209P JC-1.

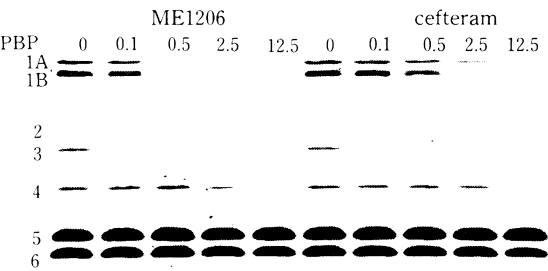


Fig. 4. Competition of ME1206 and cefteteram for penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* NIHJ JC-2.

nelの透過係数をTable 2に示した。Cefazolinからcefamandoleまでの既存4薬剤の相対透過効率⁵⁾はYoshimura & Nikaidoの結果と良く一致していた⁵⁾。ME1206の透過効率はこれらの既存薬剤と比較すると低いが、対照のモノカルボン酸であるCFTMとはほぼ同程度の透過効率を示し、ジカルボン酸であるCFIXよりは高い透過効率を示した。

5. 血清との協力的殺菌作用

各薬剤のMIC濃度及びMIC濃度に50%ヒト血清を添加したときの*E. coli* No.29株の増殖曲線に及ぼす影響をFig. 5に示した。ME1206、CFTM及びCCLはそれぞれのMIC濃度で中程度の殺菌力⁶⁾を示したが、それに50%ヒト血清を加えると各薬剤ともに4時間後に生菌数が検出限界以下(10²CFU/ml以下)になり、ヒト血清との協力作用が認められた。

6. マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果

感染治療効果の結果をTable 3に示した。*S. aureus* Smith(I)株に対し、ME1207はCFTMより優れた治療効果を示したが、CCLより劣っていた。ペニシリンーゼ産生の*S. aureus* MS16040及びMS15029株に対し、CFTM、CCLは無効であったが、ME1207は治療効果を示した。*S. pneumoniae* DP-1 type 1株に対し、ME1207はCFTMに劣るもののCFIX、CCLより優れた治療効果を示した。*E. coli* No.29株に対する治療効果は、ME1207、CFTM、CFIX、CCLではほぼ同等であった。*K. pneumoniae* PCI602株に対して、ME1207はCFIXに劣るもののCFTM、CCLより優れた治療効果を示した。

III. 考 察

ME1207の活性本体であるME1206は、グラム陽性菌、グラム陰性菌に対し広範囲の抗菌スペクトラムを有し、特に*S. aureus*、*S. epidermidis*並びに呼吸器感染症主要起因菌である*H. influenzae*、*B. catarrhalis*、*S. pneumoniae*に対して従来の経口セフェム剤に比し優れた抗菌力⁷⁾を示した。

Table 2. Permeation rate of ME1206 and other cephalosporins through the Omp F porin channel of *Escherichia coli*

Cephalosporin	P _A *	Relative permeation rate to cefazolin
ME1206	0.039	0.36
Cefteteram	0.034	0.31
Cefixime	0.012	0.11
Cefazolin	0.108	1.00
Cephaloridine	0.153	1.42
Cephalothin	0.058	0.54
Cefamandole	0.059	0.55

*Permeation coefficient

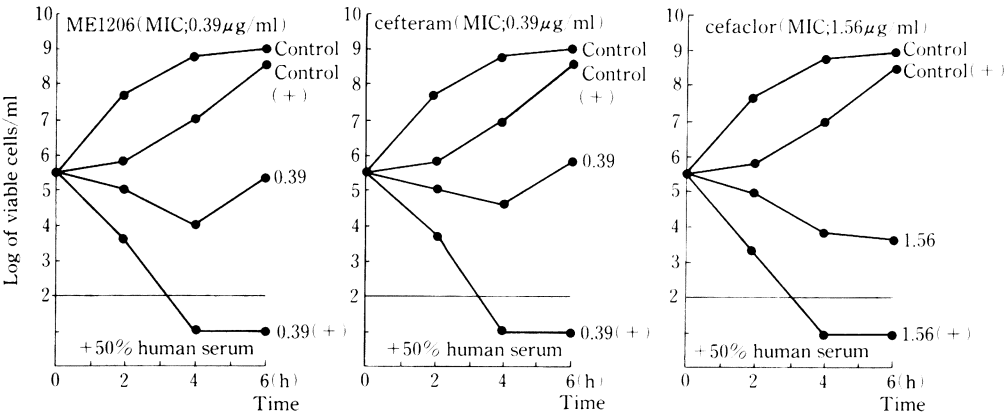


Fig. 5. Synergy of bactericidal activity of ME1206 against *Escherichia coli* No.29 with 50% human serum.

Table 3. Protective effect of ME1207 in mice systemically infected with bacteria

Organism	Challenge dose (cells/mouse)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	ED ₅₀ (95% confidence limit) (mg/mouse)
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith (I)	6.6 × 10 ⁶ (21LD ₅₀)	ME1207	0.39 ^a	0.18 (0.13–0.25)
		cefteram pivoxil	3.13 ^b	0.55 (0.37–0.81)
		cefaclor	0.78	0.0014 (0.00087–0.0021)
<i>Staphylococcus aureus</i> MS16040	4.3 × 10 ⁸ (48LD ₅₀)	ME1207	0.78 ^a	0.33 (0.0045–0.95)
		cefteram pivoxil	3.13 ^b	> 2.0
		cefaclor	3.13	> 2.0
<i>Staphylococcus aureus</i> MS15029	3.1 × 10 ⁸ (160LD ₅₀)	ME1207	0.78 ^a	0.40 (0.14–0.92)
		cefteram pivoxil	3.13 ^b	> 2.0
		cefaclor	1.56	> 2.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i> DP-1 type 1	5.2 × 10 ³ (1860LD ₅₀)	ME1207	0.013 ^a	0.016 (0.0079–0.033)
		cefteram pivoxil	0.013 ^b	0.0081 (0.0027–0.020)
		cefixime	0.39	0.42 (0.22–0.82)
		cefaclor	0.78	0.092 (0.032–0.21)
<i>Escherichia coli</i> No.29	3.0 × 10 ⁷ (37LD ₅₀)	ME1207	0.39 ^a	0.027 (0.014–0.052)
		cefteram pivoxil	0.39 ^b	0.032 (0.014–0.073)
		cefixime	0.20	0.032 (0.017–0.059)
		cefaclor	1.56	0.040 (0.010–0.062)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	9.0 × 10 ⁴ (8200LD ₅₀)	ME1207	0.20 ^a	0.23 (0.13–0.40)
		cefteram pivoxil	0.20 ^b	0.61 (0.34–1.1)
		cefixime	0.10	0.060 (0.033–0.10)
		cefaclor	0.78	0.89 (0.52–1.6)

MIC : 10⁶ CFU/ml, ^a : MIC of ME1206, ^b : MIC of cefteram
Mouse : ICR, 4W, 8 mice/group. Mucin was added at a final concentration of 2.5%.

ME 1206 の *S. aureus* に対する強い抗菌力の最も大きな要因は、その高い PBP 結合親和性によるものと考えられた。*E. coli* に対する ME 1206 の抗菌力は、CFTM と同等であるが (MIC : 0.39 $\mu\text{g/ml}$)、外膜 Omp F porin の透過性は cefazolin に比べ悪く、CFTM と同等であった。ME 1206 は *E. coli* の PBP 3 に最も高い結合親和性を示した。その形態変化でも低

濃度側でフィラメント化が認められている⁸⁾。従って ME 1206 の *E. coli* に対する MIC 値は、やや悪い外膜透過性と PBP 3 に対する高い結合親和性によって決定されていると考えられた。また ME 1206 は *E. coli* の PBP 1 A, 1 B に CFTM より明らかに高い結合親和性を示したが、CFTM との殺菌力の明瞭な差は認められなかった。ME 1207 は、マウス感染治療実験にお

いて *in vitro* の成績を概ね反映した良好な治療効果を示した。

以上、ME 1207 はグラム陽性菌に対して、既存の類薬より抗菌力が強く、グラム陰性菌に対しても優れた有効性を示していることから、臨床での効果が期待される薬剤であると考えられる。

文 献

- 1) Tamura A, Okamoto R, Yoshida T, Yamamoto H, Kondo S, Inoue M, Mitsuhashi S : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of ME1207, a new oral cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother* 32 : 1421~1426, 1988
- 2) MIC 測定法改訂委員会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。 *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 3) 横田 健, 鈴木映子, 新井京子 : Cefetamet (cefetamet pivoxil の活性原体) の試験管内抗菌力, PBP_s に対する結合親和性及び補体・M ϕ との協力的殺菌作用。 *Chemotherapy* 38(S-1) : 12~20, 1990
- 4) Nikaido H, Rosenberg E Y : Porin channels in *Escherichia coli* : Studies with liposomes reconstituted from purified proteins. *J Bacteriol* 153 : 241~252, 1983
- 5) Yoshimura F, Nikaido H : Diffusion of β -lactam antibiotics through the porin channels of *Escherichia coli* K-12. *Antimicrob Agents Chemother* 27 : 84~92, 1985
- 6) Nakae T : Outer-membrane permeability in bacteria. *Crit Rev Microbiol* 13 : 1~62, 1986
- 7) Miller L C, Tainter M L : Estimation of the ED₅₀ and its error by means of logarithmic-probit graph paper. *Proc Soc Exp Biol Med* 57 : 261~264, 1944
- 8) 西野武志, 高田利彦, 大槻雅子, 辻 雅克, 萬ヶ谷真紀 : ME 1207 の *in vitro* 及び *in vivo* 抗菌作用。 *Chemotherapy* 40(S-2) : 37~50, 1992

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ME1207, A NEW ORAL CEPHALOSPORIN

Katsumi Kawaharajo¹⁾, Aiko Miyata¹⁾, Kazuyo Kakinuma¹⁾, Tetsuro Hara¹⁾,
Takashi Ida¹⁾, Yoshihiro Takayama¹⁾, Hiroyoshi Toyama¹⁾, Sakiko Saito¹⁾,
Atsushi Tamura¹⁾, Minako Araake¹⁾, Yoshinori Orikasa¹⁾,
Tetsuo Sawai²⁾, Akihito Yamaguchi²⁾

¹⁾ Pharmaceutical Research Center, Meiji Seika Kaisha, Ltd.
760 Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama 222, Japan

²⁾ Division of Microbial Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chiba University

ME1206, the active form of ME1207, had a potent activity against Gram-positive bacteria except MRSA and *Enterococcus* spp. The antibacterial activity of ME 1206 was superior to that of cefaclor (CCL) against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Against *Streptococcus* spp., the antibacterial activity of ME1206 was equal to that of ceftamandole (CFTM) and superior to that of cefixime (CFIX) and CCL. ME1206 had a strong activity against Gram-negative bacteria except *Pseudomonas aeruginosa* and its activity was comparable to that of CFTM and CFIX. However, a part of *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens* strains was resistant to ME1206, CFTM and CFIX. The bactericidal activity of ME1206 against *S. aureus* and *Escherichia coli* was almost equal to that of CFTM and CCL. The affinity of ME1206 to penicillin-binding proteins (PBP_s) of *S. aureus* was high in case of PBP_s1, 2 and 3, and to those of *E. coli* its affinity to PBP_s3, 1A and 1B was also high. The permeation activity rate of ME1206 through the Omp F porin channel was almost equal to that of CFTM and one-third to that of cefazolin. A synergistic effect on the bactericidal activity of ME1206 was observed with human serum and against *E. coli*, its activity was as strong as that of CFTM and CCL. Against intraperitoneal infections with *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* in mice, the therapeutic efficacy of ME1207 was more than that of ceftamandole pivoxil, CFIX and CCL.