

Latamoxef(6059-S) のグラム陰性桿菌に対する抗菌機序

高田 直樹・小川 道雄・神前 五郎

大阪大学医学部第二外科学教室

三宅 洋一郎・杉 中 秀 寿

広島大学歯学部口腔細菌学教室

(昭和 56 年 10 月 16 日受付)

Oxacephem 系抗生剤である Latamoxef (LMOX, 6059-S) はグラム陰性菌に対して、市販の β -lactam 抗生剤よりも優れた抗菌力を示す。この抗生剤の抗菌機序を *Pseudomonas aeruginosa* KM 338, *Serratia marcescens* IFO 12648 および *Escherichia coli* K 12 を用い、Cefazolin (CEZ) および Benzylpenicillin (PCG) のそれと対比して検討した。

上記菌株に対する LMOX の最小発育阻止濃度 (MIC) は 12.5, 0.2 および 0.39 $\mu\text{g/ml}$ で、いずれの菌株に対しても CEZ や PCG より優れた抗菌力を示した。グラム陰性菌外膜に障害を与える ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (1/2 MIC) 添加によって、*P. aeruginosa* および *S. marcescens* の LMOX に対する感受性は全く変らなかったが、*E. coli* に対する抗菌力は 4 倍高まった。LMOX は被検 3 菌株のもつ β -lactamase に対してきわめて安定であった。被検菌株のエーテル処理菌体による peptidoglycan 架橋形成は CEZ や PCG に比べて低濃度の LMOX で阻害された。

以上の結果から、CEZ や PCG に対して感受性を示さない *P. aeruginosa* や *S. marcescens* に LMOX が優れた抗菌力を発揮するのは、この抗生剤が両菌株の外膜透過性に優れ、 β -lactamase に安定で、しかも細胞壁 peptidoglycan の架橋形成にあずかる標的酵素 (transpeptidase) に優れた感受性を示すためであろうと考えられる。

Latamoxef (LMOX, 6059-S) は cephem 骨格の 1 位の s が o に置換された基本骨格、oxacephem 環をもち、しかも cephamycin 系抗生剤の特徴である 7 α 位に methoxy 基を有する β -lactam 抗生剤である¹⁾。

この抗生剤は多くのグラム陰性桿菌に対して従来市販の β -lactam 抗生剤よりも優れた抗菌力をもち、特に種々の抗生剤に耐性の *Haemophilus influenzae*, インドール陽性の *Proteus* 属, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Bacteroides* などに対しても優れた抗菌力を発揮することが報告されている²⁾。

そこで、LMOX が市販の β -lactam 抗生剤よりも優れた抗菌力を示す機構について、*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* を用い、Cefazolin および Benzylpenicillin のそれと比較検討した。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

Pseudomonas aeruginosa KM 338, *Serratia mar-*

cescens IFO 12648 および *Escherichia coli* K 12 を用い、対照菌株として *Staphylococcus aureus* FDA 209 P も使用した。

2. 抗生剤

Latamoxef (LMOX, 6059-S) は 7 β -[2-carboxy-2-(*p*-hydroxyphenyl) acetamido]-7 α -methoxy-3-[(1-methyl-1 H-tetrazol-5 yl) thio]-methyl]-1-oxa-1-de-thia-3-cephem-4-carboxylic acid disodium salt¹⁾ で塩野義製薬株式会社 (大阪) より得た。対照薬剤として用いた Cefazolin (CEZ) および Benzylpenicillin (PCG) は市販のものを使用した。

3. 最小発育阻止濃度の測定³⁾

最小発育阻止濃度 (MIC) の測定は被検抗生剤の 2 倍数系列希釈液を含む Trypticase soy broth (BBL 社, USA) に終末濃度が約 10^8 cells/ml になるように一夜培養菌を接種し、18 時間、37°C で静置培養後、菌の発育の有無を肉眼的に観察して、それぞれの MIC を決定した。また、ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 存在下での各抗生剤の MIC の測定は、上記の系に 1/2

MIC 濃度の EDTA を添加して同様の方法で調べた。なお EDTA 単独での被検菌, *P. aeruginosa* KM 338³⁾, *S. marcescens* IFO 12648⁴⁾, *E. coli* K 12⁵⁾ および, *S. aureus* FDA 209 P³⁾ に対する MIC はそれぞれ 3.8, 7.6, 3.8 および 1.9 $\mu\text{g/ml}$ であった。

4. β -lactamase 活性の測定

被検菌株 *P. aeruginosa* KM 338, *S. marcescens* IFO 12648 および *E. coli* K 12 を Trypticase soy broth (BBL 社) で振盪培養, 対数増殖初期に, それぞれ 1,600, 400 および 10 $\mu\text{g/ml}$ 濃度になるように, FCG を添加し, さらに振盪培養を続け, β -lactamase 産生を誘導した^{4,5)}。次いで対数増殖後期に集菌し, 得られた菌体を洗浄後, supersonic vibrator (UR-150, 富永製作所, 東京) で破碎し, 未破碎の菌体を除いたのち, それぞれの遠心上清を β -lactamase の酵素標品とした^{4,6)}。酵素活性の測定は PERRET の方法⁶⁾ に準じ, ミクロヨード法で行なった。反応は 8mM の基質を含む 0.1M 磷酸緩衝液 (pH 6.8) 下で上記酵素標品を用い, 30°C で行なった。

5. peptidoglycan の架橋形成の測定

架橋 peptidoglycan の合成はその peptidoglycan の前駆体である uridine 5'-diphosphate-N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-glutamyl-meso-diaminopimelyl-D-alanyl-D-alanine (UDP-MurNAc-L-Ala-D-Glu-meso-Dap-D-Ala-D-Ala) と uridine 5'-diphosphate-N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) を基質として全菌レベルで調べた^{4,8,9)}。前者の基質は Vancomycin 処理した *Bacillus megaterium* KM の菌体より抽出, 精製して得た⁴⁾。後者のそれは UDP-[¹⁴C] GlcNAc (290 mCi/nmol) で, New England Nuclear 社 (Boston, Mass USA) より購入した。酵素源として用いた全菌体は, Trypticase soy broth で培養した対数増殖期の菌体を, ethyleneglycoltetraacetic acid (EGTA) 存在下で 1 分間, 0°C で ether 処理し, 外膜の一部に障害が与えられたものである¹⁰⁾。このようにして得た ether 処理菌体

と上記 2 種類の基質とを tris (hydroxymethyl) amino-methane-hydrochloride 緩衝液 (pH 7.5) 下で 1 時間, 37°C で反応させた。生成された架橋 peptidoglycan は sodium dodecylsulfate (SDS) 溶液に不溶性であるため, 反応後, SDS を加えてから, SDS-不溶性画分にとり込まれた [¹⁴C]GlcNAc 類をその放射能から算出し, 架橋 peptidoglycan 量とした。なお β -lactam 抗生剤で peptidoglycan の架橋形成が阻害されると SDS-可溶性の未架橋 peptidoglycan が合成され, SDS-不溶性画分への放射能のとり込みが減少する。

II. 実験結果

1. 感受性

Table 1 の None の項に被検菌株, *P. aeruginosa* KM 338, *S. marcescens* IFO 12648, *E. coli* K 12 および *S. aureus* FDA 209 P に対する LMOX, CEZ および PCG の MIC を示した。種々の抗生剤に高度耐性の *P. aeruginosa* に対して, LMOX, CEZ および PCG の MIC は 12.5, 51,200 および 12,800 $\mu\text{g/ml}$ で, *P. aeruginosa* は LMOX に対しても感受性を示した。また *P. aeruginosa* と同様, 多くの抗生剤に耐性を示す *S. marcescens* に対するそれぞれの MIC は 0.2, 6,400 および 1,600 $\mu\text{g/ml}$ で, LMOX は *S. marcescens* に対して著明な抗菌作用を示した。なお *E. coli* に対しては, それぞれの薬剤の MIC は 0.39, 1.56 および 25 $\mu\text{g/ml}$ で, LMOX にもっとも優れた感受性を示すが, *S. aureus* に対しては, それぞれ 3.13, 0.39 および 0.0125 $\mu\text{g/ml}$ で, LMOX は CEZ や PCG よりも抗菌力が劣っていた。

2. 外膜透過性

一般に β -lactam 抗生剤が抗菌力を発揮するためには, グラム陰性菌の場合, まず薬剤が細菌細胞の最外層をおおう外膜を通過しなければならない。2 価陽イオンのキレーターである EDTA は薬剤の透過障害の担い手である外膜に障害を与えることが知られている¹¹⁾。そのために増殖に影響を及ぼさない濃度の EDTA 存在下

Table 1 Minimum inhibitory concentrations (MICs) and effects of EDTA on the MICs of latamoxef, cefazolin and benzylpenicillin for *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *E. coli* and *S. aureus*

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)					
	Latamoxef		Cefazolin		Benzylpenicillin	
	None	EDTA	None	EDTA	None	EDTA
<i>P. aeruginosa</i> KM 338	12.5	12.5	51,200	3,200	12,800	400
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.2	0.2	6,400	100	1,600	50
<i>E. coli</i> K 12	0.39	0.1	1.56	0.78	25	6.25
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	3.13	3.13	0.39	0.39	0.0125	0.0125

Table 2 Relative activities of β -lactamase from *P. aeruginosa* KM 338, *S. marcescens* IFO 12648 and *E. coli* K 12 against latamoxef, cefazolin and benzylpenicillin

Organism	Relative activity		
	Latamoxef	Cefazolin	Benzylpenicillin
<i>P. aeruginosa</i> KM 338	2.1	100	9.1
<i>S. marcescens</i> IFO 12648	0.86	100	1.0
<i>E. coli</i> K 12	1.6	100	19.7

で、薬剤の感受性を調べると、外膜で透過障害を受けていた薬剤の感受性が高まること報告されている^{12,13)}。そこで 1/2 MIC 濃度の EDTA 存在下で被検薬剤の MIC を EDTA 未添加のそれと比較し、それぞれの外膜透過障害の程度を検討した (Table 1)。

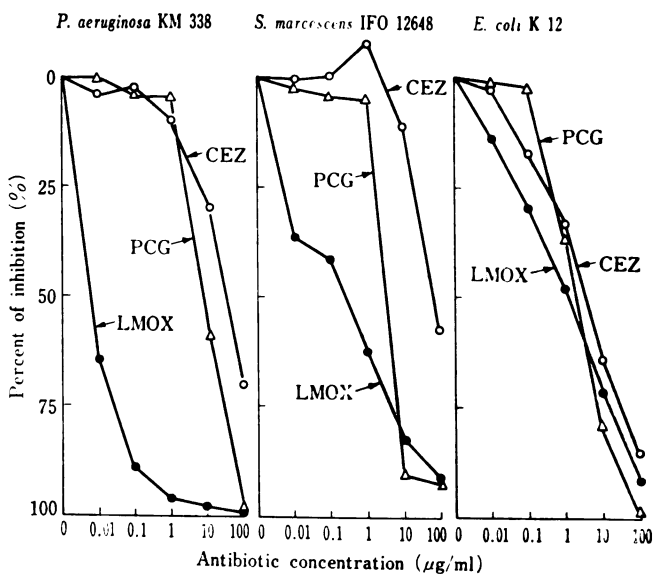
P. aeruginosa および *S. marcescens* の LMOX 感受性は、EDTA 添加によって全く変わらず、一方、対照薬剤として用いた CEZ や PCG に対する感受性は著明に高まった。この結果から LMOX は CEZ や PCG に比べて、これら 2 菌株の外膜透過性が優れていることが示唆された。一方、*E. coli* の LMOX 感受性は EDTA 添加によって 4 倍高まった。この事実は *E. coli* の外膜は *P. aeruginosa* や *S. marcescens* のそれと比べて、LMOX の透過性が悪いことを示している。なお対照として用いた外膜をもたないグラム陽性の *S. aureus* の場合、EDTA 添加によって、いずれの薬剤の MIC も全く変わらなかった。

3. β -lactamase に対する安定性

この実験に用いた、*P. aeruginosa* KM 338, *S. marcescens* IFO 12648 および *E. coli* K 12 は、いずれも構成的にはほとんど β -lactamase を産生しない。しかし対数増殖期に PCG を添加して培養すると、*P. aeruginosa* および *S. marcescens* では β -lactamase 活性が、300 および 10 倍程度誘導されるが、*E. coli* ではほとんど誘導されないことを以前に報告している^{4,5)}。

Table 2 は PCG によって誘導されたそれぞれの菌株のもつ β -lactamase による LMOX の分解の程度を CEZ および PCG のそれぞれと対比して示したものである。いずれの菌株が産生する β -lactamase も、PCG よりも CEZ の方をすみやかに分解する cephalosporinase 型の酵素であることが明らかとなった。*P. aeruginosa*, *S. marcescens* および *E. coli* のもつ β -lactamase による LMOX の分解の程度は、CEZ の分解を 100 とした場合、それぞれ 2.1, 0.86 および 1.6 で、LMOX はいずれの菌株の酵素に対してもきわめて安定であった。この事実は LMOX が被検菌株に対して優

Fig. 1 Effects of latamoxef, cefazolin and benzylpenicillin on cross-linking reaction of peptidoglycan synthesis in *P. aeruginosa* KM 338, *S. marcescens* IFO 12648 and *E. coli* K 12



た抗菌力を示す一つの要因であると考えられる。

4. peptidoglycan 架橋形成に及ぼす影響

被検菌株の ether 処理菌体と peptidoglycan の前駆体である UDP-MurNAc-L-Ala-D-Glu-meso-Dap-D-Ala-D-Ala および UDP-GlcNAc とを反応させると、いずれの菌株でも GlcNAc が SDS-不溶性画分 (架橋 peptidoglycan) にとり込まれ、少なくとも 1 時間までの反応では、その合成は経時的に増加した^{4,9)}。

Fig. 1 はこの反応系に種々の濃度の LMOX, CEZ および PCG を添加して、各濃度での生成架橋 peptidoglycan 量を未添加の場合と比較し、それぞれの阻害度を示したものである。*P. aeruginosa* KM 338, *S. marcescens* IFO 12648 および *E. coli* K 12 の ether 処理菌体による peptidoglycan の 50% 架橋形成阻害濃度は、LMOX では 0.0058, 0.22 および 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、いずれも CEZ の 50% 阻害濃度 (32, 82 および 3.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$) や PCG のそれぞれの濃度 (6.8, 3.3 および 2.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$) に比べてきわめて低濃度であった。特に *P. aeruginosa* では LMOX の架橋形成阻害濃度は著しく低かった。このことは LMOX がいずれの被験菌株の peptidoglycan 架橋形成にあずかる標的酵素 (transpeptidase) にもきわめて感受性が強いことを示唆している。

III. 考 察

LMOX は cephem 骨格の 1 位の s が o に置換された oxacephem 系抗生剤で、しかも 7 α 位に methoxy 基が導入された cephamycin 系抗生剤でもある¹⁾。この抗生剤は現在市販の β -lactam 系抗生剤に比べて、グラム陰性桿菌に対し優れた抗菌力を発揮することが明らかにされている²⁾。

この論文に用いた種々の抗生剤に高度耐性の *P. aeruginosa* KM 338 および *S. marcescens* IFO 12648 に対しても、LMOX は優れた感受性を示した (MIC: 12.5 および 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。

一般にグラム陰性菌に対する β -lactam 抗生剤の抗菌力の強さは、細菌細胞表層をおおう外膜に対する薬剤の透過性、外膜と細胞質膜 (内膜) の間のペリプラズムに局在する β -lactamase に対する薬剤の安定性、および細胞質膜上に存在する β -lactam 抗生剤の標的酵素、transpeptidase および D-alanine carboxypeptidase, に対する感受性 (親和性) によって決定される。そこで、この 3 つの要因について、CEZ および PCG 高度耐性の *P. aeruginosa* および *S. marcescens* を用いて検討した。

外界に与えられた薬剤が抗菌力を発揮するためには、まず、その外膜を薬剤が通過しなければならない。外膜

は高分子物質やある種の薬剤の barrier としての働きをもち¹¹⁾、薬剤の外膜透過の程度は、菌種によって、また薬剤の種類によってもさまざまである。外膜はリポ多糖、リン脂質、一部が peptidoglycan に結合しているリポ蛋白質、低分子物質の透過孔を形成している porin 蛋白質などからなり、それぞれの間を 2 個陽イオンで結びつけられている^{11,14)}。ここに 2 個陽イオンのキレートである EDTA を作用させると、外膜からリポ多糖-蛋白質複合体が遊離され、外膜に障害を与えられて、透過障害を受けていた物質がペリプラズム内に入ることが知られている¹⁵⁾。そこで、この現象を利用して、増殖に影響を与えない濃度 (1/2 MIC) の EDTA 存在下と存在しない場合での抗生剤の感受性を比べるとその抗生剤の外膜での透過障害の程度がわかる。すなわち両者での薬剤感受性の差が大きいほど、外膜での透過障害が大きいことを意味している。LMOX の場合、*P. aeruginosa* および *S. marcescens* に対する感受性は EDTA 添加によって全く変らなかつた。一方、CEZ や PCG の感受性は EDTA 添加によって著明に高まった。この事実は LMOX が CEZ や PCG に比べて両菌株の外膜透過性に優れていることを示唆している。また抗緑膿菌抗生剤として知られている Carbenicillin や Sulbenicillin および Cefsulodin³⁾、ならびに第 3 世代の β -lactam 抗生剤である Cefotaxime⁶⁾ や Ceftizoxime¹⁶⁾ でも、*P. aeruginosa* KM 338 に対して、EDTA 添加によってそれぞれ試験菌の感受性がいくぶん高まる傾向を示した。このことは LMOX が上記薬剤よりもさらに外膜透過性に優れていることを示唆している。一方、*S. marcescens* IFO 12648 に対しては第 3 世代の β -lactam 剤と同様、LMOX も優れた外膜透過性を有していた。なお、*E. coli* K 12 は、EDTA 添加によって LMOX 感受性が 4 倍高まった。このことは、*E. coli* に対しては LMOX が上記 2 菌株よりも外膜透過性が劣っていることを示している。しかし、その MIC は市販の β -lactam 抗生剤よりも小さいのでおそらく外膜透過性以外の要因が抗菌力に反映しているものと考えられる。

第二の要因である β -lactamase は耐性の大きな担い手であることが古くから知られている。グラム陰性菌の β -lactamase は外膜と細胞質膜 (内膜) との間隙、ペリプラズムに局在する。たとえ β -lactam 抗生剤が外膜を通過したとしても、この β -lactamase によって分解を受ければ抗菌力を発揮することができない。被験菌株の β -lactamase はいずれも構成的にはほとんど産生されないが、*P. aeruginosa* KM338 および *S. marcescens* では PCG のような β -lactam 抗生剤を対数増殖期に添加することにより、その活性が著明に誘導された。いず

れの菌株のもつ β -lactamase も PCG よりも CEZ をよく分解する cephalosporinase 型の酵素であった。しかし他の cephamycin 系抗生剤と同様、LMOX はきわめてこの β -lactamase に安定であった。

β -lactam 抗生剤が上記2つの barrier (外膜および β -lactamase) を通過して細胞膜(内膜)上に達しても、そこに存在する標的酵素、transpeptidase および D-alanine carboxypeptidase に対する感受性に差があれば、抗菌力にも影響があるものと考えられる。この標的酵素に対する感受性は薬剤の種類によって異なり、最近開発された β -lactam 抗生剤は一般に、その感受性が高い傾向を示す^{4,9,17)}。LMOX はいずれの被検菌株の標的酵素に対しても CEZ や PCG よりも感受性が優れていた。このことが LMOX の優れた抗菌力を示す一つの要因であると考えられる。また LMOX は特に *P. aeruginosa* の標的酵素に対して *S. marcescens* や *E. coli* のそれに対してよりもさらに優れた感受性を示した。この結果は *P. aeruginosa* KM 338 以外の菌株で調べられた成績¹⁸⁾とも一致している。しかし *P. aeruginosa* KM 338 に対する LMOX の抗菌力は *S. marcescens* IFO 12648 や *E. coli* K 12 に対してよりも劣っていた。このことは peptidoglycan 架橋形成にあずかる標的酵素に対する感受性以外の要因があることを示唆している。

このように β -lactam 抗生剤に感受性を示す標的酵素はその薬剤に親和性をもつ¹⁹⁾。この親和性をもつ蛋白質を penicillin binding protein (PBP) と呼び²⁰⁾、細胞質膜(内膜)上に数種類存在することが知られている^{18,19)}。そして、それぞれの PBP の機能も、また、 β -lactam 抗生剤の親和性も異なっている²⁰⁾。LMOX は *E. coli* の PBP の中で 1A, 1B, 3 および 5/6 に優れた親和性を示すことが報告されている²¹⁾。

以上の実験結果から LMOX が CEZ や PCG よりも被検菌株に優れた抗菌力を示すのは、この薬剤の外膜透過性が優れ、ペリプラズムに局在する β -lactamase に安定で、しかも peptidoglycan の架橋形成にあずかる標的酵素に対して感受性(親和性)が優れているためであろうと考えられる。

文 献

- 1) NARISADA, M.; T. YOSHIDA, H. ONOUE, M. OHTANI, T. OKADA, T. TSUJI, I. KIKKAWA, H. HAGA, H. SATOH, H. ITANI & W. NAGATA: Synthetic studies on β -lactam antibiotics. 10. Synthesis of 7 β -[2-carboxy-2-(4-hydroxyphenyl)-acetamido]-7 α -methoxy-3-[[1-methyl-1H-tetrazol-5-yl]-thio]-methyl-1-oxa-1-dethia-3-cephem-4-carboxylic

- acid disodium salt (6059 S) and its related 1-oxacephem. J. Med. Chem., 22: 757~759, 1979
- 2) YOSHIDA, T.; S. MATSUURA, M. MAYAMA, Y. KANEDA & S. KUWAHARA: Moxalactam (6059-S), a novel 1-oxa- β -lactam with an expanded antibacterial spectrum: laboratory evaluation. Antimicrob. Ag. Chemother., 17: 302~312, 1980
- 3) SUGINAKA, H.; M. SHIMATANI, S. KOTANI, M. OGAWA, M. HAMA & G. KOSAKI: Antibacterial mechanisms of cefsulodin against *Pseudomonas aeruginosa* KM 338 and *Escherichia coli* K 12. FEMS Microbiol. Lett. 8: 79~82, 1980
- 4) TAKATA, N.; H. SUGINAKA, S. KOTANI, M. OGAWA & G. KOSAKI: β -Lactam resistance in *Serratia marcescens*: Comparison of action of benzylpenicillin, ampicillin, cefazolin and ceftizoxime. Antimicrob. Ag. Chemother., 19: 397~401, 1981
- 5) 杉中秀彦, 高田直樹, 浜 正純, 小川道雄: Cefmenoxime (SCE-1365) の大腸菌, 緑膿菌およびセラチアに対する抗菌機作. Chemotherapy 29: 89~95, 1981
- 6) MIZOGUCHI, J.; T. MOROHOSHI & H. SUGINAKA: Effect of a combination of benzylpenicillin or ampicillin and dicloxacillin on peptidoglycan synthesis in a cell-free system from a β -lactamase producing strain of *Citrobacter freundii*. J. Antibiot., 33: 731~736, 1980
- 7) PERRET, C. T.: Indometric assay of penicillinase. Nature (London), 174: 1012~1013, 1954
- 8) TAKATA, N.; M. OGAWA, G. KOSAKI, H. SUGINAKA: Effect of 6059-S, a novel oxacephem, on cross-linking reaction of peptidoglycan biosynthesis in *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens*. Arch. Microbiology 130: 90~91, 1981
- 9) SUGINAKA, H.; S. KOTANI, N. TAKATA & M. OGAWA: Effect of cefotaxime (HR-756) on biosynthesis of cell wall peptidoglycan in *Pseudomonas aeruginosa* KM 338 and *Escherichia coli* K 12. FEMS Microbiol. Lett. 8: 79~82, 1980
- 10) VOSRBERG, H. P. & H. HOFFMAN-BERLING: DNA synthesis in nucleotide permeable *Escherichia coli*. J. Mol. Biol., 58: 739~753, 1971
- 11) LEIVE, L.: The barrier function of the gram-negative envelope. Ann. N. Y. Acad. Sci., 235: 109~129, 1974
- 12) HAMILTON-MILLER, J. M. T.: Effect of EDTA upon bacterial permeability to benzylpenicillin. Biochem. Res. Commun. 20: 668~691,

- 1965
- 13) WEISER, R.; A. W. ASSCHER & J. WIMPENNY: *In vitro* reversal of antibiotic resistance by ethylenediaminetetraacetic acid. *Nature* (London), 219: 1365~1366, 1968
- 14) ASBELL, M. A. & R. G. EAGON: Role of multivalent cations in the organization, structure, and assembly of the cell wall of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, 92: 380~387, 1966
- 15) ROGERS, S. W.; H. E. GILLELAND, JR. & R. G. EAGON: Characterization of a protein-lipopolysaccharide complex released from cell walls of *Pseudomonas aeruginosa* by ethylenediaminetetraacetic acid. *Can. J. Microbiol.*, 15: 743~748, 1969
- 16) OGAWA, M.; M. HAMA, N. TAKATA, G. KOSAKI & H. SUGINAKA: Ceftizoxime (FK 749), a new cephalosporin with a potent *in vitro* activity against gram-negative bacilli. *J. Antimicro. Chemother.*, 7: 673~676, 1981
- 17) SUGINAKA, M.; M. SHIMATANI, M. OGAWA & S. KOTANI: Effect of piperacillin on D-alanine carboxypeptidase activities from *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Gen. Microbiol.* 112: 181~183, 1979
- 18) MIRELMAN, D.; Y. NUCHAMOWITZ & E. RUBINSTEIN: Insensitivity of peptidoglycan biosynthetic reaction to β lactam antibiotics in a clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 19: 687~695, 1981
- 19) SUGINAKA, H.; P. M. BLUMBERG & J. L. STROMINGER: Multiple penicillin-binding components in *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 247: 5279~5288, 1972
- 20) SPRATT, B. G.: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K 12. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 72: 2999~3003, 1975
- 21) KOMATSU, Y. & T. NISHIKAWA: Moxalactam (6059-S), a new 1-oxa- β -lactam: Binding affinity for penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K-12. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 17: 316~321, 1980

MODE OF ANTIBACTERIAL ACTION OF LATAMOXEF(6059-S) ON GRAM-NEGATIVE ORGANISMS

NAOKI TAKATA, MICHIO OGAWA and GORO KOSAKI

Second Department of Surgery, Osaka University Medical School.

YOICHIRO MIYAKE and HIDEKAZU SUGINAKA

Department of Microbiology and Oral Bacteriology, Hiroshima
University School of Dentistry.

Latamoxef (6059-S), a novel oxacephem, has a stronger antibacterial activity against various gram-negative organisms than commercially available β -lactam antibiotics. The antibacterial action was investigated against *Pseudomonas aeruginosa* KM 338, *Serratia marcescens* IFO 12648, and *Escherichia coli*, and was compared with that of cefazolin and benzylpenicillin.

The minimum inhibitory concentrations (MICs) for these organisms were 12.5, 0.2 and 0.39 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The addition of subinhibitory concentration (1/2 MIC) of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), which damages permeability barrier of the outer membrane, caused no change in the MICs of latamoxef for *P. aeruginosa* and *S. marcescens*, whereas marked reduction in the MICs of cefazolin and benzylpenicillin was observed in the presence of EDTA. Latamoxef was stable to β -lactamase activities from these organisms whereas cefazolin was hydrolyzed rapidly by the enzymes. The cross-linking reaction of peptidoglycan synthesis catalyzed by the ether-treated cells from these organisms was inhibited by markedly lower concentration of latamoxef than that of cefazolin and benzylpenicillin.

These results suggest that the potent activity of latamoxef against *P. aeruginosa* and *S. marcescens* is attributed to its high permeability of the outer membrane, the stability to hydrolysis by β -lactamase, and the high sensitivity to the target enzymes (transpeptidase).