

## T-2588 に関する細菌学的評価

岡本世紀・浜名洋子・三橋 進

エビゾーム研究所

井上松久

群馬大学医学部薬剤耐性菌実験施設

新規経口用セフェム系抗生剤 T-2588 の細菌学的評価を行なったので報告する。本剤はエステル型であるため *in vitro* 抗菌力は T-2588 の親化合物である T-2525 を用いて測定した。

1) T-2525 は幅広い抗菌スペクトラムを有し, cefaclor (CCL), cephalixin (CEX), amoxicillin (AMPC) などの経口用抗生剤よりも強い抗菌力を示し, とくに対照薬剤が無効な *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, Indole-positive *Proteus* sp. に対しても強い抗菌力を示した。また *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* に対しては対照薬剤にくらべはるかに強い抗菌力を示した。

2) T-2525 の各菌株に対する MIC, MBC はほぼ一致し, 殺菌的であった。また *Escherichia coli* の増殖曲線に及ぼす影響では, CCL, CEX より低い濃度で殺菌的に作用した。

3) T-2525 は各種  $\beta$ -lactamase 産生菌に対しても優れた抗菌力を示した。またそれらの菌の産生する  $\beta$ -lactamase に対しても安定であった。

4) T-2525 の *E. coli* JE 1011, *Staphylococcus aureus* FDA 209 P JC-1, *Bacteroides fragilis* NCTC 9343 の penicillin binding proteins (PBPs) に対する親和性を検討した。*E. coli* では PBP 3, 1 Bs, *S. aureus* では PBP 1, 2, 3, 4 に同等に, *B. fragilis* では PBP 2 に強い親和性を示した。

5) T-2588 の各種グラム陰性菌を用いたマウス実験的感染症に対する治療効果は CCL, CEX より優れ, 特に  $\beta$ -lactamase 産生菌を用いた場合において優れていた。

T-2588 は富山化学工業 (株) 総合研究所にて新しく合成された経口用セフェム系抗生剤で, T-2525 のピバロイルオキシメチルエステル剤である<sup>1)</sup>。

今回われわれは, cefaclor (CCL), cephalixin (CEX), amoxicillin (AMPC) などを対照薬剤として, *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について検討した。

## I. 実験材料および方法

## 1) 使用菌株

標準菌株および臨床分離株は当研究所保存株を用いた。

## 2) 使用薬剤

T-2588, T-2525, CEX, ampicillin (ABPC) (富山化学工業株式会社), CCL (塩野義製薬株式会社), AMPC (ピーチャム薬品株式会社), cephaloridine (CER) (鳥居薬品株式会社), benzylpenicillin (PCG) (明治製菓株式会社) を使用した。

## 3) 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定

日本化学療法学会の感受性測定法<sup>2)</sup> および同学会の嫌気性菌感受性測定法<sup>3)</sup> に準じて測定した。ただし *Haemophilus influenzae* と *Neisseria gonorrhoeae* の前培養お

よび感受性測定は 37°C, 18 時間ローソク培養を行なった。Table 1 に使用培地を示した。

## 4) 殺菌効果

増殖曲線に及ぼす各薬剤の影響を検討するため, 被検菌 *E. coli* NIHJ JC-2 を Sensitivity test broth (STB) で 37°C, 18 時間培養後, 各薬剤を含んだ新鮮培地に約  $10^4$  cells/ml になるように接種して振とう培養を行ない, 培養開始から 24 時間目まで経時的に生菌数を測定した。

最小殺菌濃度 (MBC) の測定は以下のように行なった。被検菌を STB に植菌し 1 夜培養後, 最終濃度  $10^4$  cells/ml になるように各濃度の薬剤を含む STB に接種し, 37°C, 18 時間培養後肉眼的に発育の認められなかった濃度を MIC とした。さらにこれより Sensitivity test agar (STA) に一白金耳移植し 37°C, 18 時間培養してコロニーの全く認められなかった薬剤濃度をもって MBC とした。

5)  $\beta$ -lactamase に対する安定性

$\beta$ -lactamase は当研究所で精製され, -80°C に保存されている酵素液を用いた<sup>4)</sup>。 $\beta$ -lactamase 活性は spec-

Table 1 Media used for preculture and MIC determination

Media	Organism
For preculture	
BHIB	<i>S. pyogenes</i>
BHIB+5% horse serum	<i>S. pneumoniae</i>
BHIB+1% Hemin+0.2% $\beta$ -NAD	<i>H. influenzae</i>
Proteose No.3 agar+1% Hemoglobin+1% IsoVitaleX	<i>N. gonorrhoeae</i>
GAMB	Obligate anaerobes
STB	Other organisms
For MIC determination	
BHIA	<i>S. pyogenes</i>
BHIA+5% horse blood	<i>S. pneumoniae</i>
BHIA+1% Hemin+0.2% $\beta$ -NAD	<i>H. influenzae</i>
Proteose No.3 agar+1% Hemoglobin+1% IsoVitaleX	<i>N. gonorrhoeae</i>
GAMA	Obligate anaerobes
STA	Other organisms

BHIB, Brain heart infusion broth (Difco); Hemin (Sigma);  $\beta$ -NAD,  $\beta$ -nicotinamido-adenine-dinucleotide (Sigma); Proteose No.3 agar (Difco); Hemoglobin (Difco); IsoVitaleX (Becton Dickinson and Co.); GAMB, GAM broth (Nissui); STB, Sensitivity test broth (Nissui); BHIA, Brain heart infusion agar (Difco); GAMA, GAM agar (Nissui); STA, Sensitivity test agar (Nissui).

Table 2 Antibacterial spectrum of T-2525

Organism	MIC ( $\mu$ g/ml)			
	T-2525	CCL	CEX	AMPC
<i>S. aureus</i> FDA 209P JC-1	3.13	1.56	3.13	0.2
<i>S. aureus</i> Terajima	0.39	0.1	0.1	0.05
<i>S. aureus</i> MS 353	1.56	0.78	1.56	0.2
<i>S. pyogenes</i> Cook	$\leq 0.00625$	0.78	0.78	0.025
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.78	0.2	0.78	0.05
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	0.025	0.0125	0.05	$\leq 0.00625$
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.39	0.78	6.25	3.13
<i>E. coli</i> K-12 C600	0.2	0.78	6.25	3.13
<i>K. pneumoniae</i> PCI-602	$\leq 0.00625$	0.2	1.56	6.25
<i>S. typhimurium</i> IID 971	0.2	0.78	6.25	0.78
<i>S. typhi</i> 901	0.2	0.2	1.56	0.39
<i>S. paratyphi</i> 1015	0.025	0.78	6.25	0.78
<i>S. schottmuelleri</i> 8006	0.1	0.39	3.13	0.39
<i>S. enteritidis</i> G14	0.025	0.39	6.25	0.78
<i>S. marcescens</i> IAM 1184	0.39	>200	>200	50
<i>P. aeruginosa</i> IFO 3445	50	>200	>200	100
<i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	12.5	>200	>200	12.5
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	>200	>200	>200	>200
<i>M. morgani</i> IFO 3848	$\leq 0.00625$	25	50	6.25
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	0.1	3.13	25	1.56
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.0125	12.5	12.5	25
<i>P. vulgaris</i> HX-19	0.0125	3.13	12.5	25
<i>P. rettgeri</i> IFO 3850	0.0125	0.39	1.56	0.39
<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	0.2	>200	>200	>200
<i>E. cloacae</i> 963	0.2	>200	>200	>200

Inoculum size : 1 loopful of bacterial suspension ( $10^6$  cells/ml)

Table 3-1 Antibacterial activity of T-2525 against clinical isolates

Organism (No. of isolates)	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (99)	T-2525	0.78-25	1.50	3.00
	CCL	0.78-25	1.10	2.10
	CEX	0.78-25	1.85	3.00
	AMPC	0.1-25	0.52	1.30
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (108)	T-2525	0.1->200	2.50	33.5
	CCL	0.025-100	1.70	25.0
	CEX	0.025->200	5.10	42.0
	AMPC	0.00625-50	0.66	8.40
<i>Streptococcus pyogenes</i> (91)	T-2525	0.00313-0.0125	0.0045	0.0060
	CCL	0.05-1.56	0.092	0.30
	CEX	0.1-0.78	0.27	0.42
	AMPC	0.00625-0.025	0.0094	0.0125
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (24)	T-2525	0.00625-0.025	0.0080	0.018
	CCL	0.39-0.78	0.34	0.66
	CEX	1.56-3.13	1.80	2.85
	AMPC	0.0125-0.05	0.0145	0.0235
<i>Streptococcus faecalis</i> (58)	T-2525	25->200	>200	>200
	CCL	3.13->200	130	>200
	CEX	12.5->200	>200	>200
	AMPC	0.2-1.56	0.37	0.70
<i>Clostridium perfringens</i> (15)	T-2525	0.05-0.2	0.057	0.098
	CCL	0.1-0.78	0.080	0.28
	CEX	0.2-1.56	0.27	0.66
	AMPC	0.00625-0.025	0.0067	0.015
<i>Clostridium difficile</i> (17)	T-2525	1.56-100	23.5	47.0
	CCL	6.25->200	52.0	>200
	CEX	6.25->200	38.0	68.0
	AMPC	0.1-0.78	0.25	0.62
<i>Peptococcus</i> sp. (19)	T-2525	0.025-12.5	2.20	8.0
	CCL	0.78-50	13.0	36.0
	CEX	0.025-50	10.5	36.0
	AMPC	0.00625-0.78	0.18	0.36
<i>Corynebacterium</i> sp. (54)	T-2525	0.1->200	0.94	1.50
	CCL	0.1->200	7.60	12.5
	CEX	0.39->200	3.70	6.00
	AMPC	0.1->200	0.27	>200
<i>Haemophilus influenzae</i> (59)	T-2525	0.0125-0.05	0.0135	0.0380
	CCL	0.78-6.25	1.30	2.90
	CEX	3.13-25	8.20	12.0
	AMPC	0.39-200	6.40	64.0
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (24)	T-2525	0.00156-0.39	0.040	0.090
	CCL	0.2-50	2.25	10.0
	CEX	0.05-50	2.50	15.0
	AMPC	0.0125->200	0.46	>200

Inoculum size : 1 loopful of bacterial suspension ( $10^6$  cells/ml)

Table 3-2 Antibacterial activity of T-2525 against clinical isolates

Organism (No. of isolates)	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Branhamella catarrhalis</i> (32)	T-2525	0.0125-1.56	0.20	0.99
	CCL	0.1-3.13	0.50	1.42
	CEX	0.39-12.5	1.68	2.95
<i>Escherichia coli</i> (95)	T-2525	0.00625-1.56	0.19	0.38
	CCL	0.39-6.25	1.15	3.00
	CEX	3.13-25	5.00	11.5
	AMPC	0.78->200	4.50	>200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (104)	T-2525	0.0125-3.13	0.15	0.29
	CCL	0.025-25	0.47	0.78
	CEX	0.39-50	3.05	5.80
	AMPC	0.78->200	29.0	>200
<i>Klebsiella oxytoca</i> (73)	T-2525	0.025-3.13	0.095	0.46
	CCL	0.2->200	0.52	6.25
	CEX	1.56-50	2.60	6.25
	AMPC	3.13->200	59.0	>200
<i>Citrobacter freundii</i> (76)	T-2525	0.1->200	0.49	44.0
	CCL	0.39->200	6.25	>200
	CEX	0.78->200	24.5	>200
	AMPC	0.78->200	150	>200
<i>Citrobacter amalonaticus</i> (7)	T-2525	0.1-0.39	0.14	0.31
	CCL	0.39-0.78	0.48	0.72
	CEX	3.13-6.25	3.40	5.60
	AMPC	50-200	66.0	120
<i>Citrobacter diversus</i> (14)	T-2525	0.1-25	0.18	0.37
	CCL	0.39-6.25	0.52	0.76
	CEX	3.13-200	3.50	6.00
	AMPC	6.25-100	27.5	48.0
<i>Salmonella</i> sp. (108)	T-2525	0.1-1.56	0.26	0.38
	CCL	0.39-1.56	0.56	0.77
	CEX	3.13-12.5	4.50	6.00
	AMPC	0.39-1.56	0.68	0.88
<i>Shigella</i> sp. (108)	T-2525	0.00625-1.56	0.15	0.20
	CCL	0.1->200	0.52	0.82
	CEX	0.78->200	2.55	5.00
	AMPC	0.78->200	200	>200
<i>Hafnia alvei</i> (15)	T-2525	0.1-3.13	0.56	1.25
	CCL	0.39->200	13.5	>200
	CEX	3.13-200	35.0	120
	AMPC	1.56-100	42.0	84.0
<i>Yersinia enterocolitica</i> (52)	T-2525	0.05-6.25	0.21	0.38
	CCL	1.56->200	4.20	150
	CEX	6.25->200	11.0	175
	AMPC	12.5->200	62.0	94.0

Inoculum size : 1 loopful of bacterial suspension ( $10^6$  cells/ml)

Table 3-3 Antibacterial activity of T-2525 against clinical isolates

Organism (No. of isolates)	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Proteus mirabilis</i> (99)	T-2525	0.025-0.2	0.046	0.088
	CCL	0.39-12.5	1.05	1.50
	CEX	6.25-50	11.5	22.0
	AMPC	0.1->200	0.60	1.25
<i>Proteus vulgaris</i> (84)	T-2525	0.0313-6.25	0.070	0.175
	CCL	0.39->200	>200	>200
	CEX	3.13->200	>200	>200
	AMPC	1.56->200	>200	>200
<i>Providencia rettgeri</i> (55)	T-2525	0.00039-12.5	0.028	0.39
	CCL	0.2->200	10.0	>200
	CEX	0.78->200	70.0	>200
	AMPC	0.2->200	50.0	>200
<i>Providencia stuartii</i> (99)	T-2525	0.00625-12.5	0.12	0.60
	CCL	0.1->200	12.8	>200
	CEX	0.2->200	21.0	200
	AMPC	0.2->200	50.0	120
<i>Morganella morganii</i> (95)	T-2525	0.0125-50	0.087	1.10
	CCL	1.56->200	>200	>200
	CEX	12.5->200	>200	>200
	AMPC	25->200	170	>200
<i>Enterobacter cloacae</i> (100)	T-2525	0.05->200	2.10	85.0
	CCL	0.78->200	>200	>200
	CEX	6.25->200	>200	>200
	AMPC	3.13->200	>200	>200
<i>Enterobacter aerogenes</i> (10)	T-2525	0.2-12.5	0.20	6.25
	CCL	3.13->200	8.90	>200
	CEX	12.5->200	25.0	>200
	AMPC	>200	>200	>200
<i>Enterobacter agglomerans</i> (7)	T-2525	0.00625-3.13	0.44	1.90
	CCL	0.2-25	0.55	15.0
	CEX	3.13-100	5.50	60.0
	AMPC	1.56-200	9.00	120
<i>Serratia marcescens</i> (108)	T-2525	0.78->200	2.20	72.0
	CCL	12.5->200	>200	>200
	CEX	25->200	>200	>200
	AMPC	0.39->200	>200	>200
<i>Serratia liquefaciens</i> (13)	T-2525	0.39-3.13	0.84	2.00
	CCL	0.78->200	19.0	>200
	CEX	12.5->200	39.0	>200
	AMPC	1.56-50	7.00	23.0
<i>Bacteroides fragilis</i> (33)	T-2525	1.56->200	8.70	>200
	CCL	25->200	>200	>200
	CEX	1.56->200	22.0	>200
	AMPC	3.13->200	7.50	>200

Inoculum size : 1 loopful of bacterial suspension ( $10^6$  cells/ml)

Table 3-4 Antibacterial activity of T-2525 against clinical isolates

Organism (No. of isolates)	Antibiotic	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Pseudomonas putida</i> (8)	T-2525	6.25-50	6.25	38.0
	CCL	50->200	50.0	>200
	CEX	25->200	50.0	>200
	AMPC	50->200	70.0	>200
<i>Pseudomonas stutzeri</i> (11)	T-2525	0.1->200	5.90	95.0
	CCL	6.25->200	36.0	>200
	CEX	12.5->200	23.5	>200
	AMPC	3.13->200	66.0	>200
<i>Pseudomonas cepacia</i> (41)	T-2525	6.25->200	9.50	25.0
	CCL	25->200	90.0	>200
	CEX	25->200	115	195
	AMPC	50->200	70.0	>200
<i>Pseudomonas maltophilia</i> (50)	T-2525	12.5->200	70.0	>200
	CCL	200->200	>200	>200
	CEX	>200	>200	>200
	AMPC	12.5->200	60.0	>200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (100)	T-2525	12.5->200	>200	>200
	CCL	>200	>200	>200
	CEX	>200	>200	>200
	AMPC	25->200	>200	>200
<i>Alcaligenes faecalis</i> (24)	T-2525	0.78-200	12.5	60.0
	CCL	1.56->200	5.40	>200
	CEX	12.5->200	20.0	>200
	AMPC	12.5-200	60.0	145
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (25)	T-2525	3.13-100	24.0	48.0
	CCL	6.25-100	19.0	44.0
	CEX	25->200	>200	>200
	AMPC	0.39-12.5	5.60	8.80
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> (19)	T-2525	12.5->200	>200	>200
	CCL	50->200	>200	>200
	CEX	100->200	>200	>200
	AMPC	1.56->200	70.0	>200
<i>Flavobacterium odoratum</i> (10)	T-2525	25->200	>200	>200
	CCL	50->200	>200	>200
	CEX	25->200	100	>200
	AMPC	12.5->200	100	>200
<i>Flavobacterium meningosepticum</i> (9)	T-2525	6.25-100	16.0	74.0
	CCL	50->200	185	>200
	CEX	100->200	>200	>200
	AMPC	50->200	74.0	>200
<i>Flavobacterium</i> sp. (21)	T-2525	6.25->200	17.5	>200
	CCL	25->200	175	>200
	CEX	25->200	>200	>200
	AMPC	12.5->200	130	>200

Inoculum size : 1 loopful of bacterial suspension ( $10^6$  cells/ml)

Table 4 Correlation between MICs and MBCs

Organism	MIC/MBC ( $\mu\text{g/ml}$ / $\mu\text{g/ml}$ )			
	T-2525	CCL	CEX	AMPC
<i>S. aureus</i> FDA 209P JC 1	3.13/3.13	0.78/0.78	1.56/3.13	0.1/0.2
<i>E. coli</i> NIHJ JC 2	0.78/0.78	6.25/6.25	12.5/25	6.25/6.25
<i>K. pneumoniae</i> PCI 602	0.0125/0.0125	0.78/0.78	6.25/6.25	25/50
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.0125/0.0125	6.25/12.5	25/25	3.13/6.25
<i>S. marcescens</i> IID 620	0.78/0.78	>100/>100	>100/>100	6.25/25

Inoculum size :  $10^4$  cells/ml

trophometric method<sup>5)</sup> によって測定した。各薬剤の基質濃度は 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を用いて 100  $\mu\text{M}$  とし、反応温度は 30°C で測定を行なった。各酵素に対する安定性は CER を 100 とした相対加水分解値で表わした。

6) Penicillin binding proteins (PBPs) に対する親和性

*E. coli* JE 1011, *Staphylococcus aureus* FDA 209 P JC-1, *Bacteroides fragilis* NCTC 9343 より精製した膜標品を用いた<sup>6)</sup>。PBPs に対する親和性は、T-2525 と <sup>14</sup>C-PCG との競合実験により調べた<sup>7)</sup>。特に *E. coli* の場合は、通常分子比 (0.2~125) では親和性が明確ではないので、通常分子比の 1/100 の分子比でも実験を行なった。

7) マウス感染治療実験

ICR 系雄マウス (体重 20 $\pm$ 1 g) を 1 群 10 匹使用した。被験菌には *S. aureus* Smith, *E. coli* ML 4707, *Klebsiella pneumoniae* GN 6445, *Proteus mirabilis* GN 4754,  $\beta$ -lactamase 産生菌として *E. coli* ML 5005, No. 96 を用いた。各菌は STA にて 18 時間培養した後、菌体を生理食塩水に懸濁させて用いた。ただし *E. coli* ML 4707, *K. pneumoniae* GN 6445 以外は 4% mucin (Difco) に懸濁して用いた。マウス腹腔内に菌液接種 1 時間後に薬剤を 0.5% carboxymethyl cellulose に懸濁し、経口投与した。なお T-2588 は T-2525 に換算して用いた。感染 7 日後の生存率から Probit 法<sup>8,9)</sup> に基づき ED<sub>50</sub> 値および 95% 信頼限界を求めた。

## II. 実験結果

1) 抗菌スペクトラム

T-2525 の標準菌株に対する抗菌力を CCL, CEX, AMPC を対照薬剤として比較検討し、Table 2 に示した。グラム陽性菌の *S. aureus* に対し T-2525 は AMPC より劣るものの CCL, CEX とほぼ同等の抗菌力を示したが、*Streptococcus pyogenes* に対しては対照薬剤よりも優れていた。グラム陰性菌では種々の *Enterobacteriaceae* に対し、T-2525 は強い抗菌力を示し、特

に対照薬剤が無効な *Enterobacter* sp., Indole-positive *Proteus* sp., *Serratia marcescens* に対して強い抗菌活性を示した。しかし、*Pseudomonas aeruginosa* に対しては対照薬剤同様、低い活性を示した。

2) 臨床分離株に対する抗菌力

新鮮な臨床分離株を用い T-2525 の抗菌力を CCL, CEX, AMPC を対照薬剤として測定し MIC Range, MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> を Table 3 に示した。

*S. aureus*, *S. epidermidis* に対して、T-2525 は AMPC より劣るものの CCL, CEX とほぼ同等の抗菌力を示した。

*S. pyogenes*, *S. pneumoniae* に対して、T-2525 は CCL および CEX よりはるかに優れた抗菌力を示したが、*S. faecalis* に対しては無効であった。

*Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Peptococcus* sp. に対して、T-2525 は AMPC より劣るものの CCL, CEX より強い抗菌力を示した。

*Corynebacterium* sp. に対して、T-2525 は対照薬剤よりも強い抗菌力を示した。

*H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* に対して、T-2525 は対照薬剤よりもはるかに優れた抗菌力を示し、*H. influenzae* の MIC<sub>90</sub> は 0.038  $\mu\text{g/ml}$ , *N. gonorrhoeae* の MIC<sub>90</sub> は 0.090  $\mu\text{g/ml}$  であった。

*Branhamella catarrhalis* に対して、T-2525 は対照薬剤よりも優れた抗菌力を示した。

*Enterobacteriaceae* に対して、T-2525 は対照薬剤よりも優れた抗菌力を示した。特に対照薬剤が無効な、*Enterobacter* sp., Indole-positive *Proteus* sp., *Serratia* sp. に対して優れた抗菌力を示した。

*Bacteroides fragilis* に対して、T-2525 は AMPC と同等で CCL, CEX よりも優れた抗菌力を示した。

*Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas cepacia*, *Alcaligenes faecalis*, *Flavobacterium meningosepticum* に対して、T-2525 は対照薬剤よりも優れた抗菌力を示したが、*Pseudomonas maltophilia*

*P. aeruginosa* に対しては対照薬剤同様無効であった。

*Acinetobacter calcoaceticus* に対して、T-2525 は AMPC より劣るものの CCL と同等で、CEX より強い抗菌力を示したが、*Achromobacter xylosoxidans*, *Flavobacterium odoratum* に対しては対照薬剤同様無効であった。

### 3) 殺菌効果

T-2525 の MIC と MBC を 5 菌種を用い、対照薬剤に CCL, CEX, AMPC を用いて比較検討し、Table 4 に示した。T-2525 はいずれの菌株においても MIC と MBC が一致し、殺菌的に作用した。また *E. coli* NIHJ JC-2 を用いた増殖曲線に対する影響を調べた結果を

Fig. 1 に示したが、T-2525 は CCL, CEX が 2, 4 MIC でも再増殖しているのに比べ 1 MIC 濃度において再増殖を阻止した。

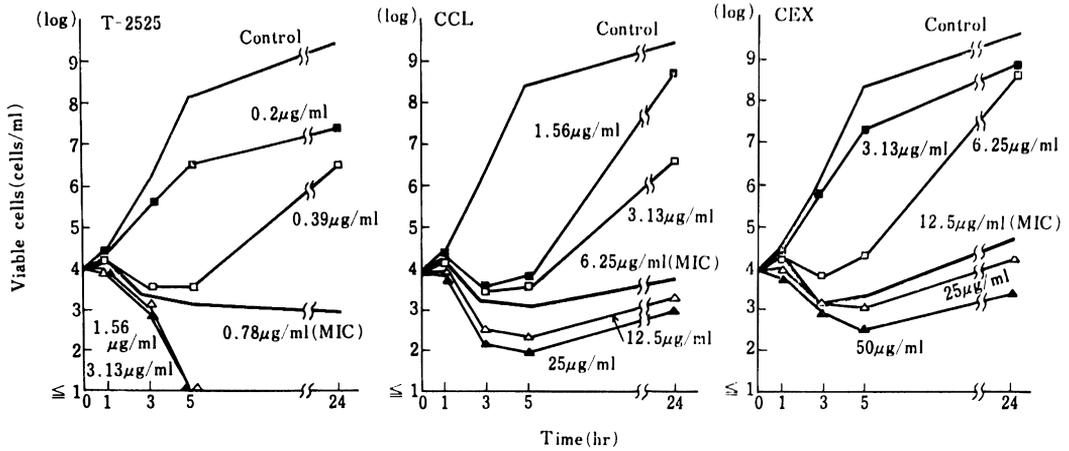
### 4) $\beta$ -lactamase 産生株に対する抗菌力

$\beta$ -lactamase 産生株に対する抗菌力を CCL, CEX, AMPC を対照薬剤として比較検討し、Table 5 に示した。T-2525 は *P. aeruginosa*, *P. maltophilia* を除く、ほとんどの  $\beta$ -lactamase 産生株に対し強い抗菌力を示し、特に CCL, CEX が無効な Cephalosporinase (CSase) 産生株に対して優れた抗菌力を示した。また  $\beta$ -lactamase 産生株に対しても T-2525 の MIC と MBC はほとんど一致した (Table 6)。

Table 5 Antibacterial activity of T 2525 against  $\beta$  lactamase producing strains

Organism	MIC ( $\mu$ g/ml)			
	T 2525	CCL	CEX	AMPC
<i>P. rettgeri</i> GN5284 (CSase)	0.1	100	>200	100
<i>P. rettgeri</i> GN4430 (CSase)	0.05	3.13	25	12.5
<i>P. rettgeri</i> GN4424 (CSase)	0.05	>200	>200	>200
<i>P. rettgeri</i> GN4429 (CSase)	0.05	12.5	200	100
<i>P. rettgeri</i> GN4762 (CSase)	0.78	>200	>200	100
<i>E. coli</i> GN5482 (CSase)	1.56	>200	>200	200
<i>E. coli</i> No.1058 (CSase)	0.39	3.13	12.5	>200
<i>E. coli</i> No.96 (CSase)	0.78	>200	>200	>200
<i>E. cloacae</i> GN7471 (CSase)	12.5	>200	>200	>200
<i>E. cloacae</i> GN7467 (CSase)	12.5	>200	>200	>200
<i>E. cloacae</i> GN5797 (CSase)	0.78	>200	>200	>200
<i>M. morgani</i> GN5407 (CSase)	0.2	200	200	200
<i>M. morgani</i> GN5307 (CSase)	0.1	100	200	200
<i>M. morgani</i> GN5375 (CSase)	0.1	100	200	200
<i>P. vulgaris</i> GN76 (CSase)	0.39	100	100	100
<i>P. vulgaris</i> GN7919 (CSase)	25	>200	>200	>200
<i>P. vulgaris</i> GN4413 (CSase)	1.56	>200	>200	>200
<i>P. aeruginosa</i> GN10362 (CSase)	>200	>200	>200	>200
<i>S. marcescens</i> L 48 (CSase)	12.5	>200	>200	>200
<i>S. marcescens</i> L 65 (CSase)	0.78	>200	>200	>200
<i>S. marcescens</i> L 82 (CSase)	3.13	>200	>200	>200
Rms149/ <i>E. coli</i> C (PCase)	0.2	1.56	6.25	>200
Rms212/ <i>E. coli</i> W3630 (PCase)	0.39	1.56	12.5	>200
Rms213/ <i>E. coli</i> W3630 (PCase)	0.2	1.56	6.25	>200
Rte16/ <i>E. coli</i> ML1410 (PCase)	0.2	1.56	6.25	>200
Rms139/ <i>P. aeruginosa</i> M-15 (PCase)	50	>200	>200	>200
<i>P. maltophilia</i> GN12873 (CSase)	>200	>200	>200	>200
<i>P. cepacia</i> GN11164 (CSase)	6.25	25	50	200
<i>K. oxytoca</i> GN10650 (CSase)	1.56	50	25	>200

Inoculum size : 1 loopful of bacterial suspension ( $10^6$  cells/ml)

Fig. 1 Bactericidal effect of T-2525, CCL and CEX against *E. coli* NIHJ JC-2Table 6 Correlation between MICs and MBCs ( $\beta$ -lactamase producing strains)

Organism	MIC/MBC ( $\mu\text{g/ml}$ / $\mu\text{g/ml}$ )			
	T-2525	CCL	CEX	AMPC
<i>P. rettgeri</i> GN4424	0.05/0.05	>100/>100	>100/>100	>100/>100
<i>E. coli</i> No.96	1.56/3.13	>100/>100	>100/>100	>100/>100
<i>P. vulgaris</i> GN76	0.39/0.39	>100/>100	>100/>100	>100/>100
<i>S. marcescens</i> L-65	0.78/1.56	>100/>100	>100/>100	>100/>100
Rms149/ <i>E. coli</i> C	0.2/0.2	3.13/6.25	6.25/6.25	>100/>100
Rms212/ <i>E. coli</i> W3630	0.78/0.78	12.5/12.5	25/25	>100/>100

Inoculum size :  $10^4$  cells/mlTable 7 Stability of T-2525 against  $\beta$ -lactamase

Enzyme source	Type of $\beta$ -lactamase	Relative rate of hydrolysis					
		T-2525	CCL	CEX	AMPC	CER	PCG
<i>K. oxytoca</i> GN10650	CSase	1.9	33	0.5	286	100	—
<i>P. vulgaris</i> GN7919	CSase	1.1	34	20	29	100	7.0
<i>P. cepacia</i> GN11164	CSase	2.1	292	45	165	100	73
<i>P. maltophilia</i> GN12873(L-2)	CSase	2.7	0.7	0.5	238	100	—
<i>B. thetaiotaomicron</i> GN11478	CSase	12	56	4.9	—	100	—

5)  $\beta$ -lactamase に対する安定性

T-2525 の  $\beta$ -lactamase に対する安定性を CCL, CEX, AMPC, CER, PCG を対照薬剤として比較検討し, Table 7 に示した。*B. thetaiotaomicron* が産生する CSase にやや不安定であったが, それ以外の CSase には安定であった。

## 6) T-2525 の PBP に対する親和性

T-2525 の *E. coli*, *S. aureus*, *B. fragilis* の PBP に対する親和性を Fig. 2, 3, 4, 5 に示した。T-2525 は *E.*

*coli* においては PBP 3 に強い親和性を示し, PBP 1B がそれに続き *S. aureus* においては, PBP 1, 2, 3, 4 に同等に強い親和性を示し, また *B. fragilis* においては PBP 2 に強い親和性を示した。

## 7) マウス実験的感染症に対する感染治療効果

T-2588 のマウス実験的感染症に対する感染治療効果を Table 8 に示した。T-2588 の治療効果は *S. aureus* Smith 感染に対しては, CCL, CEX より劣るものの *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* 感染に対しては CCL,

Fig. 2 Affinity of T-2525 to *E. coli* JE 1011 PBP<sub>s</sub> (1)

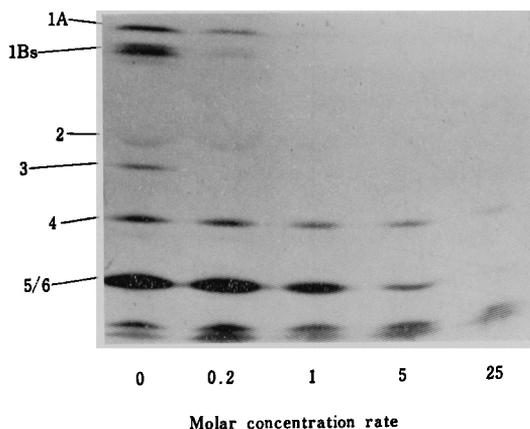


Fig. 3 Affinity of T-2525 to *E. coli* JE 1011 PBP<sub>s</sub> (2)

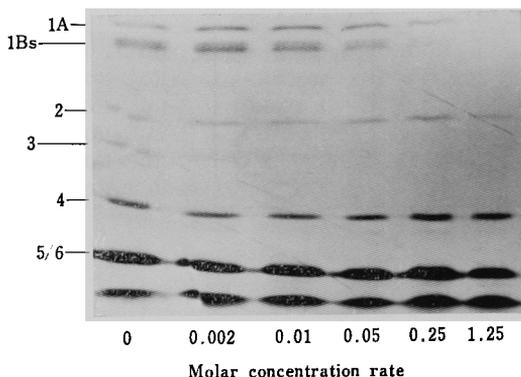


Fig. 4 Affinity of T-2525 to *S. aureus* FDA 209 P JC-1 PBP<sub>s</sub>

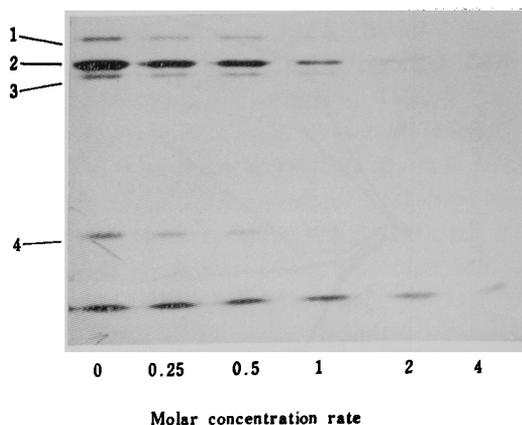
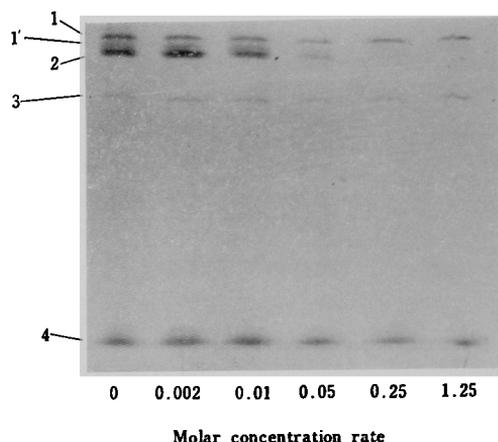


Fig. 5 Affinity of T-2525 to *B. fragilis* NCTC 9343 PBP<sub>s</sub>



CEX よりも優れていた。特に  $\beta$ -lactamase 産生株感染に対する治療効果は CCL, CEX に比べて優れていた。

### III. 考 察

T-2588 は T-2525 のピバロイルオキシメチルエステル型の新しい経口セフェム系薬剤である。T-2525 は、グラム陽性菌および、グラム陰性菌に対し幅広い抗菌スペクトラムを有しており、特に従来の経口セフェム系薬剤の効果が及ばなかった *S. marcescens*, *E. cloacae*, *C. freundii*, Indole-positive *Proteus* sp. に対しても優れた抗菌力を示した。また *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* および *N. gonorrhoeae* にも非常に強い抗菌力を示した。T-2525 は *B. thetaiotaomicron* の産生する CSase にはやや不安定であったがそれ以外の  $\beta$ -lactamase に対しては安定であった。また T-2525 の抗菌

作用は、MIC と MBC がほとんど一致し、増殖曲線に及ぼす影響においても MIC 濃度で再増殖が見られないことにより、殺菌的であった。T-2588 のマウス実験的感染症に対する治療効果は、*S. aureus* を除き、CCL, CEX より優れ、*in vivo* においても優れた抗菌力を発揮することが明らかになった。

従来の経口用セフェム系薬剤は抗菌スペクトラムがせまく、各種  $\beta$ -lactamase によって分解され易い欠点があった。そこで、抗菌スペクトラムが広く、 $\beta$ -lactamase に安定な経口用セフェム剤の開発が強く望まれていたが、T-2588 はこれらの欠点をおぎなうもので臨床での効果が期待される薬剤であると思われる。

### 文 献

- 1) 第 33 回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウ

Table 8 *In vivo* antibacterial activity of T-2588 against systemic infection in mice

Strain	Challenge dose (cells/mouse)	Mucin	Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) $10^6$ cells/ml	ED <sub>50</sub> (95% confidence limit) (mg/kg)
<i>S. aureus</i> Smith	$1.00 \times 10^7$	+	T-2588	1.56 (T-2525)	3.57 (1.26-9.27)
			CCL	0.78	0.42 (0.24-0.69)
			CEX	1.56	0.64 (0.38-1.02)
<i>E. coli</i> ML4707	$1.15 \times 10^7$	-	T-2588	0.1 (T-2525)	1.07 (0.69-1.67)
			CCL	0.78	2.66 (1.55-4.53)
			CEX	3.13	30.1 (17.7-56.7)
<i>K. pneumoniae</i> GN6445	$1.15 \times 10^7$	-	T-2588	0.2 (T-2525)	0.77 (0.38-0.59)
			CCL	0.39	1.76 (0.71-3.54)
			CEX	3.13	7.22 (2.84-19.9)
<i>P. mirabilis</i> GN4754	$1.16 \times 10^7$	+	T-2588	0.05 (T-2525)	0.064 (0.015-0.153)
			CCL	0.78	3.81 (1.99-6.02)
			CEX	6.25	37.1 (23.6-63.1)
$\beta$ -lactamase producing strain <i>E. coli</i> ML5005 (PCase)	$1.05 \times 10^7$	+	T-2588	0.2 (T-2525)	0.79 (0.28-2.31)
			CCL	3.13	24.0 (13.6-49.5)
			CEX	6.25	117 (81.4-158)
<i>E. coli</i> No.96 (CSase)	$1.10 \times 10^7$	+	T-2588	0.78 (T-2525)	25.0 (16.7-38.0)
			CCL	>200	>500
			CEX	>200	>500

△, T-2588 抄録集, 1985

- 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) 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
- 4) MITSUHASHI, S. & M. INOUE : Mechanism of resistance to beta-lactam antibiotics. In beta-lactam antibiotics ; S. MITSUHASHI (ed.) Japan Scientific Societies Press, Tokyo, pp.41~55, 1981
- 5) WALEY, S. G. : A spectrophotometric assay of beta-lactamase action on penicillins. Bio-

chem. J. 139 : 780~789, 1974

- 6) SPRATT, B. G. : Properties of penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K12. Eur. J. Biochem. 72 : 341~352, 1977
- 7) NOGUCHI, H. ; M. MATSUHASHI & S. MITSUHASHI : Comparative studies of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. Eur. J. Biochem. 100 : 41~49, 1979
- 8) BLISS, C. I. : Statistics of bioassay. Academic Press, Inc., New York, 1953
- 9) MILLER, L. C. & M. L. TAINTER : Estimation of the ED<sub>50</sub> and its error by means of logarithmic-probit graph paper. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 57 : 261~264, 1944

## BACTERIOLOGICAL STUDIES OF T-2588, A NEW ORAL CEPHALOSPORIN

SEIKI OKAMOTO, YOKO HAMANA, MATSUHISA INOUE\* and SUSUMU MITSUHASHI

Episome Institute and \*Laboratory of Drug Resistance in Bacteria,

School of Medicine, Gunma University

T-2588 is a new oral cephalosporin ester of T-2525. T-2525 has a broad antibacterial spectrum. The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of T-2588 (T-2525) against gram-positive and gram-negative bacteria were compared with those of cefaclor (CCL), cephalexin (CEX) and amoxicillin (AMPC). The results are summarized as follows.

1) T-2525 had broad antibacterial spectrum and was more active than CCL, CEX and AMPC against *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* and Indole-positive *Proteus* sp., which are insensitive to three reference drugs. Moreover, it was far more active than three reference drugs against *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Neisseria gonorrhoeae*.

2) T-2525 showed the high bactericidal activity at low concentrations, and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were much the same.

3) T-2525 was stable against  $\beta$ -lactamases.

4) T-2525 showed the high affinity to the penicillin binding protein (PBP) 3, 1Bs of *Escherichia coli* JE 1011, the PBP 1, 2, 3, 4 of *Staphylococcus aureus* FDA 209 P JC-1, and the PBP 2 of *Bacteroides fragilis* NCTC 9343.

5) The *in vivo* antibacterial activities of T-2588 against experimental infections in mice were more active than those of CCL and CEX. Especially, against  $\beta$ -lactamase producing strains, the activity of T-2588 was markedly potent.