

新経口用 Cephem T-2588 : その抗菌力, β -lactamase に対する
安定性, 作用点 PBP への結合親和性, および血清補体と
マクロファージとの協力的殺菌作用

横田 健・鈴木映子・新井京子・加藤尚代

順天堂大学医学部細菌学教室

新経口 cephem の prodrug T-2588 の原体, T-2525 について抗菌力等を検討した。22~59 株の臨床分離 *S. aureus*, *S. epidermidis*, β -streptococci, *E. coli* (R⁺), *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morgani*, *P. rettgeri*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *A. calcoaceticus*, *H. influenzae* および *B. fragilis* に対する MIC₉₀ は, 6.25, 50, 0.025, 0.39, 0.39, 0.1, 0.78, 1.56, 6.25, 3.13, 50, 6.25, 50, 0.05 および 6.25 μ g/ml であった。

T-2525 は, PCase 型 β -lactamase のすべてで全く加水分解されなかったが, CEPase 型 β -lactamase の Ia 型には安定なもの, Ic 型酵素ではある程度水解された。

T-2525 は, *S. aureus* の PBP_s には cefaclor (CCL) と同程度, *E. coli*, *S. marcescens* および *A. calcoaceticus* の PBP_s には CCL より強い結合親和性を示した。

T-2525 は, 血清補体と協力的殺菌作用を示す上, その 1/2~1/8 MIC 存在下では培養マウスマクロファージ (M ϕ) は filament 化した菌細胞をよく食菌消化し, 生体内効果が良好なことをうかがわせた。

近年, 注射用 cephem 系抗生物質の進歩は著しく, 各種 β -lactamase に安定で作用点への作用が強く, しかもグラム陰性菌外膜をよく通過する, いわゆる第3世代 cephem が多数実用化されている。これに対し経口用 cephem では, グラム陽性菌や R-plasmid を持たない強毒グラム陰性菌には抗菌力を示すものの, R-plasmid 保有菌や弱毒グラム陰性桿菌への力の弱い, いわゆる第1世代の性能を持つものがあるにすぎない。

T-2588 は注射用第3世代 cephem なみの特性を持つ T-2525 の経口用 prodrug である。T-2588 の4位カルボン酸がエステル化されており, 腸管粘膜上皮細胞を通過して吸収される時, エステラーゼで脱エステル化され T-2525 に変わる。本報告は吸収後の活性体である T-2525 について, その抗菌力, 各種 β -lactamase に対する安定性, 作用点であるペニシリン結合蛋白 (PBP) に対する結合親和性を調べるとともに, T-2525 と血清補体およびマウス培養マクロファージ (M ϕ) との協力的殺菌作用を調べたものである。

I. 実験材料と実験方法

1. T-2525 の各種細菌臨床分離株に対する抗菌力
各種細菌臨床分離株 22~59 株に対する T-2525 の最小発育阻止濃度 (MIC) は, 日本化学療法学会法¹⁾に従って平板希釈法で調べた。すなわち被検菌を 1 ml の L-broth²⁾ に 1 夜振盪培養し, グラム陰性菌は生理食塩

水で 1,000 倍に希釈し, またグラム陽性菌は 100 倍に希釈した液をマイクロプランターを用い, 種々の濃度の β -lactam 系抗生物質を含む Mueller-Hinton (Difco) 寒天平板にスポットし, 37°C 20 時間培養し増殖の有無から結果を判定した。つまり 10⁶ cfu/ml 液のスポット法である。対照薬剤として ampicillin (ABPC), cephalixin (CEX), および cefaclor (CCL) を用いた。

2. T-2525 の各種 β -lactamase に対する安定性
Cephalosporinase (CEPase) 型 β -lactamase Ia および Ic は, *E. cloacae* NEK 39 および *P. vulgaris* 33 から, Penicillinase (PCase) 型 β -lactamase IIb, III=TEM, IV, および V 型酵素は *P. mirabilis* JY 10, *E. coli* CS 2/RK 1, *K. pneumoniae* 42, および *E. coli* CS 2/RE 45 からそれぞれ調製した。これら標準菌株を 5 ml の L-broth 中で 37°C 1 夜振盪培養し, その全培養液を 200 ml の新鮮 L-broth に接種した。37°C 振盪培養を続け, 濁度 150 KLETT 単位 (KLETT-SUMMERSON: Filter #66) に達したところで, 冷却遠心機で集菌し, 0.01 M Phosphate buffer pH 7.0 で洗浄後, 3 ml の同 buffer に再浮遊した³⁾。菌浮遊液を氷冷下で, BRANSON SONIFIER を用い, 10 Kc 30 秒 4 回超音波破砕した。4°C, 30,000 \times g 遠心で菌体を除き, その上清を 105,000 \times g 30 分超遠心して β -lactamase 粗酵素液を調製した。対照薬剤として ABPC, cephaloridine (CER),

cefazolin (CEZ), cefmetazole (CMZ), cefoperazone (CPZ), cefotaxime (CTX), ceftizoxime (CZX), cefmenoxime (CMX), および latamoxef (LMOX) を使用しマクロヨードメトリー⁴⁾で求めた V_{max} を他薬剤との比較値で検討した。

3. 作用点 PBP に対する T-2525 の結合親和性の検討

S. aureus 209 P, *E. coli* NIHJ JC-2, *S. marcescens* 13, および *A. calcoaceticus* 5 を被検菌とし, これらの菌の PBP に対する結合親和性を SPRATT⁵⁾ による競合結合実験から求めた。すなわち対数増殖期の菌体を 200 ml の L-broth, 37°C 4 時間振盪培養液から冷却遠心機で集菌し, 0.01 M Phosphate buffer pH 7.0 で洗浄後, 8 ml の同 buffer に再浮遊した。BRANSON SONIFIER を用い氷冷下, 効率 20% で 6~20 分間音波破碎した。4°C 3,000×g, 10 分間遠心で菌体を除き, その上清を 105,000×g 30 分間遠心して膜画分を得た。沈査を 200 μ l の 10 mM MgCl₂ 加 0.05 M Phosphate buffer に再浮遊し, 同 buffer で 1 回洗浄後, 10~15 mg protein/ml になるよう上記 buffer に浮遊した。調製した膜画分に 0.1~12.5 μ g/ml の非放射性的 T-2525 を加え, 30°C 10 分間処理した後, さらに 0.1 M ¹⁴C-PCG (AMERSHAM : 50 μ Ci/ μ moles) を加え, 30°C 10 分間保温した。表面活性剤で細胞質膜を溶かし, 外膜成分を遠心で除いた後, 10% acrylamido-0.06% bis-acrylamido gel 平板電気泳動にかけ, 増感剤をしみこませて gel を乾燥し, Kodak X-Omat レントゲンフィルムに密着して -80°C 20 日間感光させた。

4. T-2525 と血清補体の協力的殺菌作用

E. coli NIHJ JC-2 を被検菌とし, L-broth, 20% ヒト非働化血清および 0.75 units/ml モルモット補体加 L-broth, T-2525 加 L-broth および血清+補体+T-2525 加 L-broth に被検菌を 3×10^4 cfu/ml になるように接種し, 37°C 振盪培養を続けながら培養開始後 1, 3, 5, および 24 時間目にその一部を取り出し, 薬剤無含有マッコニー平板を使用して生残菌数を測定した。

5. T-2525 存在下でのマウス M ϕ の食菌殺菌作用

M ϕ は, ICR 8 週齢のマウス腹腔を 10% fetal calf serum 加 F12 培地 (日水製薬) で洗って採取し, 遠心後同培地 5 ml に再浮遊した。この 0.1 ml (10^4 cells) をカバースリップを沈めた FALCON multi dish の各 well に接種し, 37°C 5% CO₂ 存在下で 30 分静置後同培地 1 ml を加え, 1 夜 CO₂ 培養を行なった。翌日浮遊細胞を除き, 20% L-CM (conditioned medium of L-929)⁶⁾ 加 F12 培地 1 ml 中で 37°C 2 時間 CO₂ 培養をして, M ϕ を活性化させた後, 1 夜振盪培養した *E.*

coli を M ϕ の 50 倍量 (5×10^5 cfu/well) 接種した。同時に一部の well には 1/2~1/8 MIC の T-2525 を加えて培養した。薬剤添加後 37°C, CO₂ 培養 4 時間後にカバースリップを取り出し, Saline G で洗浄した後メタノール固定した。次にギムザ染色を行ない光学顕微鏡で観察した。

II. 成績

1. T-2525 の各種細菌臨床分離株に対する抗菌力

T-2525 は *S. aureus* に対し, Fig. 1 のとおり強い抗菌力を示した。しかし MRSA には抗菌力は弱く, Fig. 2 のとおりその 80% 以上は 12.5 μ g/ml 以上の耐性を示した。*S. epidermidis* に対する T-2525 の感受性累積百分率は, CCL にやや劣り CEX と同程度である (Fig. 3)。 β -streptococci には, Fig. 4 のとおり対照 β -lactam 中最も優れた抗菌力を示し, 全株 0.2 μ g/ml 以下で増殖が阻止された。*S. pneumoniae* に対しても Fig. 5 のとおり, ABPC と同程度の強い抗菌力を持つことがわかった。

Fig. 1 Cumulative sensitivity of 48 strains of *S. aureus* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

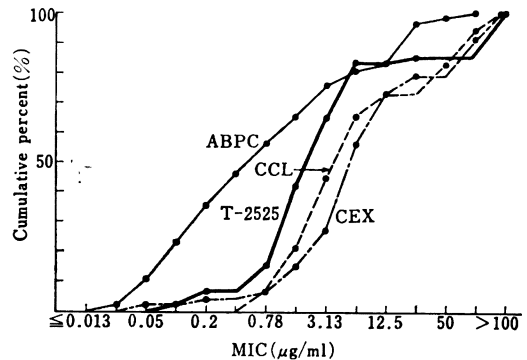


Fig. 2 Cumulative sensitivity of 59 strains of *S. aureus* (MRSA) to T-2525, ABPC and CCL

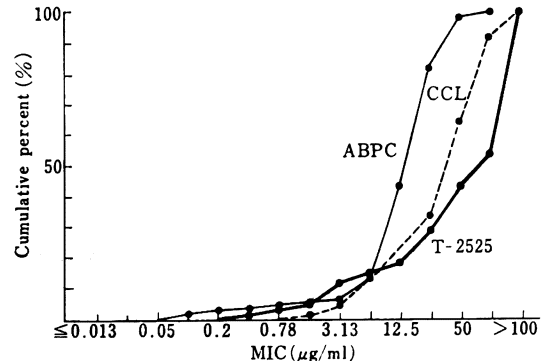


Fig. 3 Cumulative sensitivity of 29 strains of *S. epidermidis* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

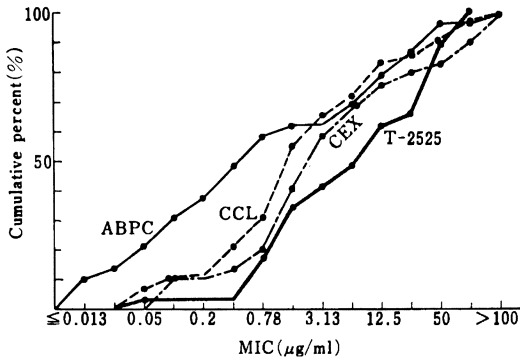


Fig. 4 Cumulative sensitivity of 24 strains of β -streptococci to T-2525, ABPC, CEX and CCL

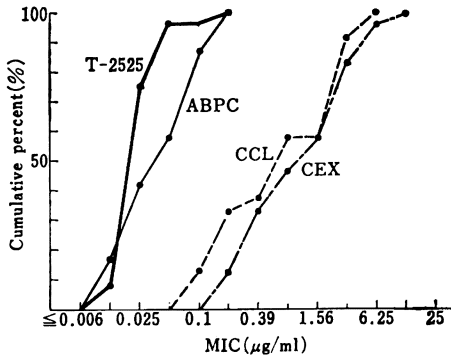
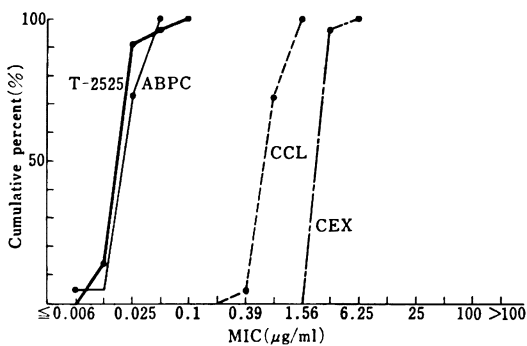


Fig. 5 Cumulative sensitivity of 22 strains of *S. pneumoniae* to T-2525, ABPC, CEX and CCL



E. coli CS-2 R-plasmid 保有 51 株に対する T-2525 の抗菌力も優れており、その 90% は Fig. 6 のとおり 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 以下で増殖が阻止された。*K. pneumoniae* の臨床分離株の 95% は、0.78 $\mu\text{g/ml}$ の T-2525 で増殖

Fig. 6 Cumulative sensitivity of 51 subclones of *E. coli* carrying various R(*bla*) plasmids to T-2525, ABPC, CEX and CCL

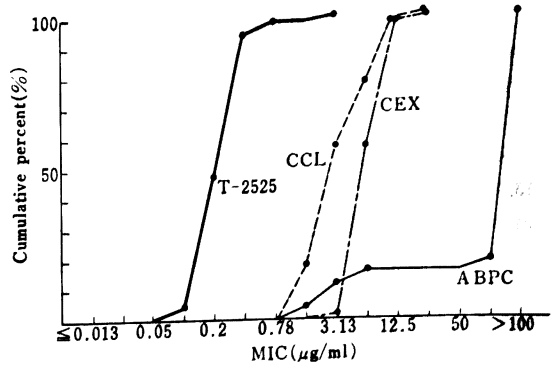


Fig. 7 Cumulative sensitivity of 47 strains of *K. pneumoniae* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

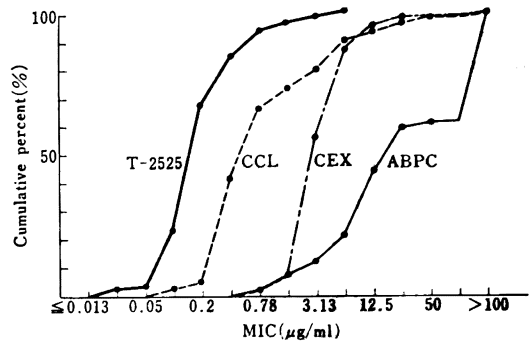
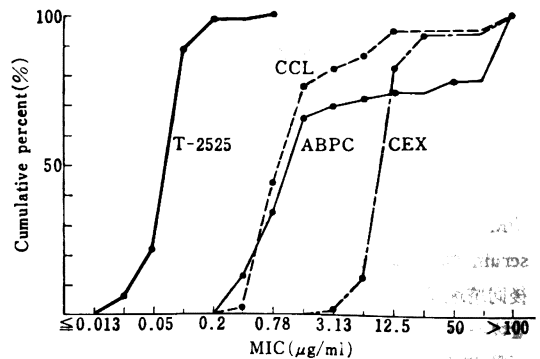


Fig. 8 Cumulative sensitivity of 50 strains of *P. mirabilis* to T-2525, ABPC, CEX and CCL



が抑えられ、対照 β -lactam 中最も優れた成績を示した (Fig. 7)。*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morganii* および *P. rettgeri* 等のいわゆるプロテウスグループに対しても、T-2525 は Fig. 8, 9, 10, 11 のごとく市販の内服用

Fig. 9 Cumulative sensitivity of 42 strains of *P. vulgaris* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

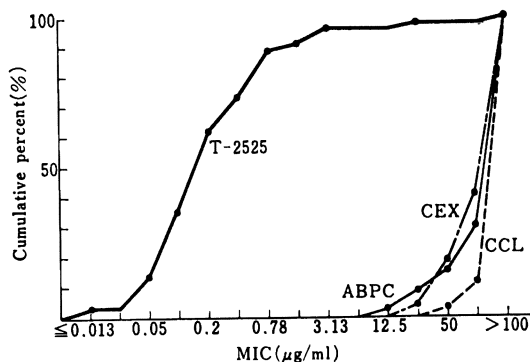


Fig. 10 Cumulative sensitivity of 54 strains of *M. morgani* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

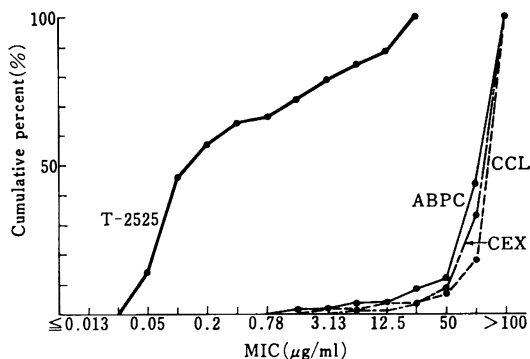


Fig. 11 Cumulative sensitivity of 29 strains of *P. rettgeri* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

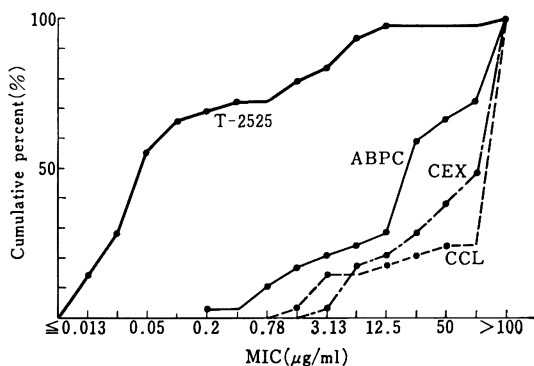


Fig. 12 Cumulative sensitivity of 48 strains of *S. marcescens* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

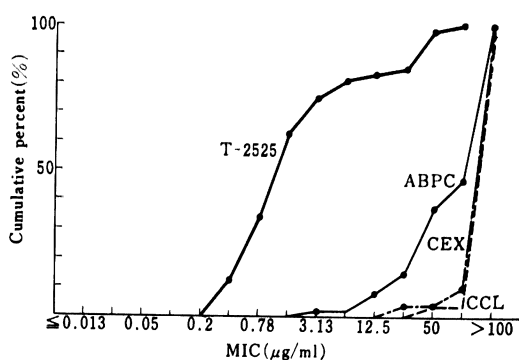


Fig. 13 Cumulative sensitivity of 48 strains of *C. freundii* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

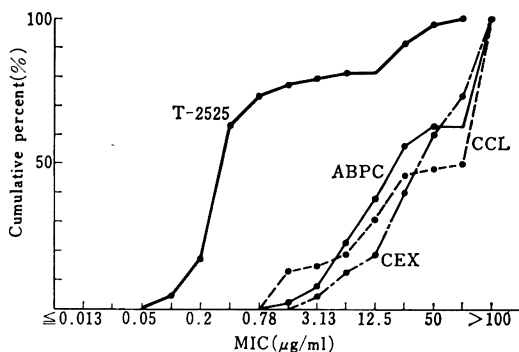
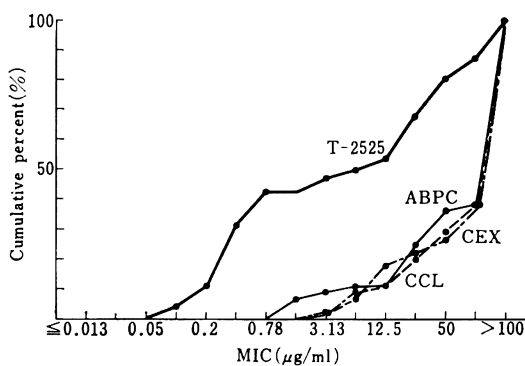


Fig. 14 Cumulative sensitivity of 45 strains of *E. cloacae* to T-2525, ABPC, CEX and CCL



β -lactam よりはるかに強い抗菌力を示した。 *S. marcescens*, *C. freundii*, および *E. cloacae* に対する抗菌力も、いわゆる第3世代 cephem に匹敵する抗菌力を示し (Fig. 12, 13, 14), *E. cloacae* に対してはその MIC₅₀ は

12.5 μ g/ml であった。 *H. influenzae* に対する T-2525 の抗菌力はきわめて強く、 Fig. 15 のとおりすべての臨床分離株が 0.05 μ g/ml 以下で増殖が阻止された。しかし、 *A. calcoaceticus* に対する T-2525 の抗菌力は、

Fig. 15 Cumulative sensitivity of 24 strains of ABPC resistant *H. influenzae* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

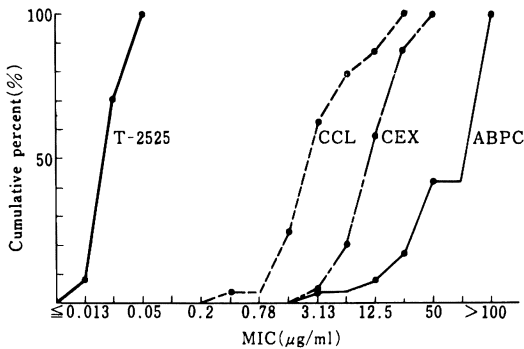


Fig. 18 Cumulative sensitivity of 29 strains of *X. maltophilia* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

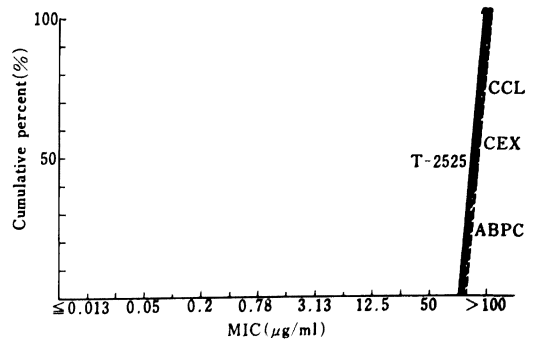


Fig. 16 Cumulative sensitivity of 49 strains of *A. calcoaceticus* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

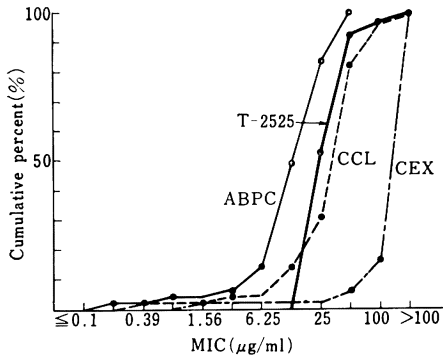


Fig. 19 Cumulative sensitivity of 47 strains of *B. fragilis* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

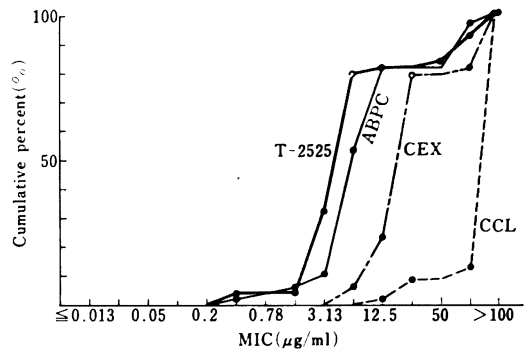


Fig. 17 Cumulative sensitivity of 49 strains of *P. aeruginosa* to T-2525, ABPC, CEX and CCL

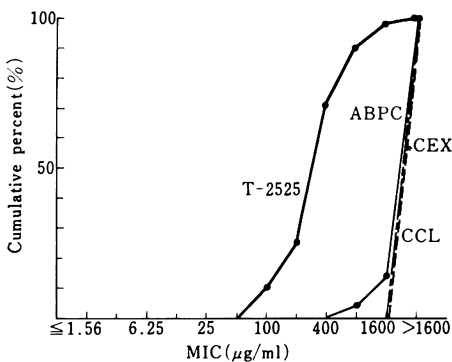


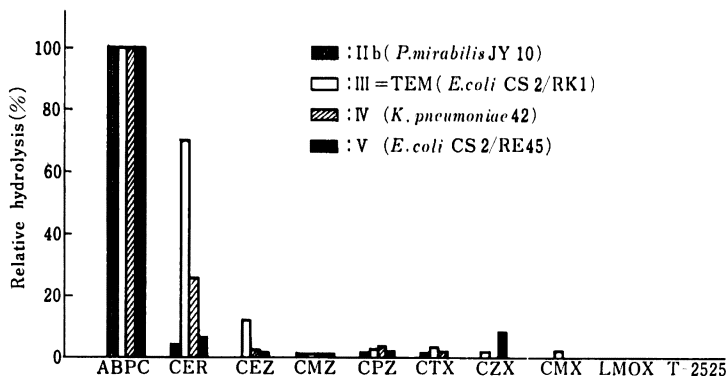
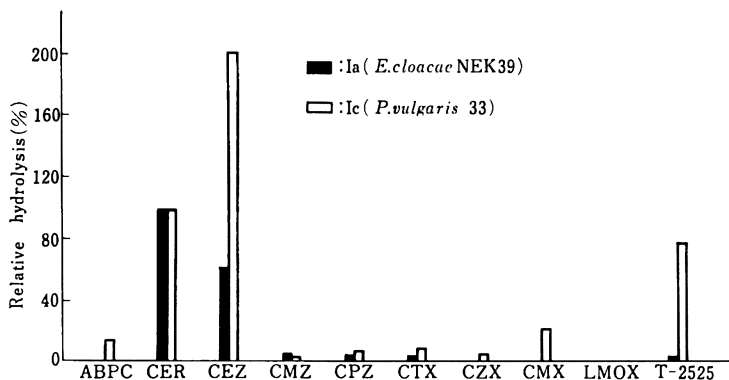
Fig. 16 のとおり中等度にとどまり、*P. aeruginosa* に対しては他の対照 β -lactam より抗菌力が強いもの、その MIC₅₀ は 200 μ g/ml をこえた (Fig. 17)。*X. maltophilia* にはほとんど抗菌力を示さない (Fig. 18)。

嫌気性菌 *B. fragilis* には、Fig. 19 のとおり T-2525 は ABPC よりやや優る抗菌力であった。

2. T-2525 の β -lactamase に対する安定性

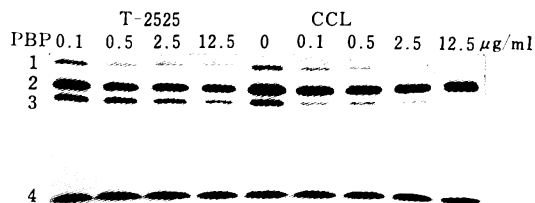
T-2525 は PCase 型 β -lactamase、すなわち Richmond 分類の IIb, III=TEM, IV, および V 型酵素によっては、Fig. 20 のとおり全く加水分解されない。その安定性は cephamycin の LMOX のそれに匹敵した。しかし Fig. 21 のとおり CEPase 型 β -lactamase のうち Richmond 分類 Ia 型には安定であるが、Ic 型酵素には相当程度加水分解され、CER を 100 とする Relative V_{max} で約 80% を示した。

T-2525 は多くの β -lactam 薬剤同様 *X. maltophilia* にはほとんど抗菌力を示さない。*X. maltophilia* 1 株から調製した粗酵素液による T-2525 の加水分解を、他の β -lactam のそれと比較すると、Table 1 のとおり加水分解率が高いので、本剤が *X. maltophilia* に作用し得ないのは、この菌の作る特殊な β -lactamase により強く水解されるためとわかった。

Fig. 20 Stability of β -lactams against various penicillinase-type β -lactamasesFig. 21 Stability of β -lactams against cephalosporinase-type β -lactamasesTable 1 Hydrolysis of various β -lactams by β -lactamase of *X. maltophilia*

β -lactams	amounts hydrolyzed (μ moles/hr/ml)
T-2525	291.5
monobactam	12.0
CTX	206.4
CEZ	450.9
CER	433.3
ABPC	1313.6

3. T-2525 の各種細菌 PBP に対する結合親和性 *S. aureus* 209 P の PBP に対する結合親和性を競合結合実験で調べると、Fig. 22 のとおり対照とした CCL より PBP 2 に対する親和性がやや高い傾向がある。PBP 3 に対しては CCL の方が親和性が明らかに高い。*S. aureus* の細胞壁合成に必須の PBP は PBP 2 と 3 であることが知られているが^{7,8)}、どちらがより重要であるかは不明である。実際の MIC からみると、CCL の方が

Fig. 22 Competition of T-2525 and CCL for penicillin binding proteins of *S. aureus* 209 P

T-2525 より若干抗菌力が強い。

E. coli NIHJ JC-2 の PBP に対する T-2525 の結合親和性は CCL よりはるかに強い (Fig. 23)。特に菌細胞伸長時に必要なムレイン架橋酵素である PBP 1 Bs を 0.5 μ g/ml の低濃度でほとんど飽和する事実は、本薬剤がこの菌に対し強い殺菌性を持つことを示唆している。

S. marcescens 13 の PBP についても T-2525 は Fig. 24 のとおり CCL より強い結合親和性を示した。特に PBP 2, 3, および 1 A に対する親和性が CCL より

Fig. 23 Competition of T-2525 and CCL for penicillin binding proteins of *E. coli* NIHJ JC-2

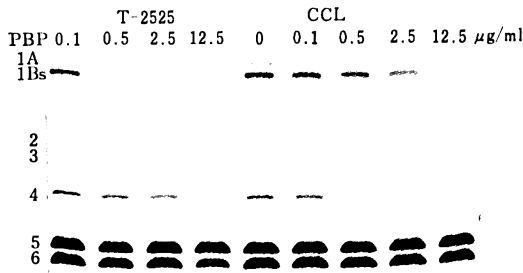


Fig. 24 Competition of T-2525 and CCL for penicillin binding proteins of *S. marcescens* 13

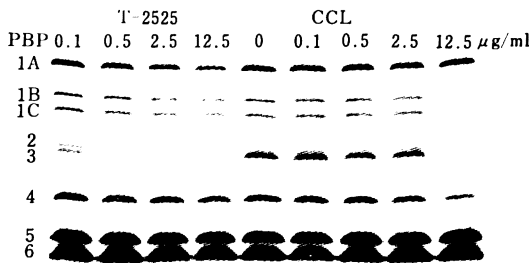
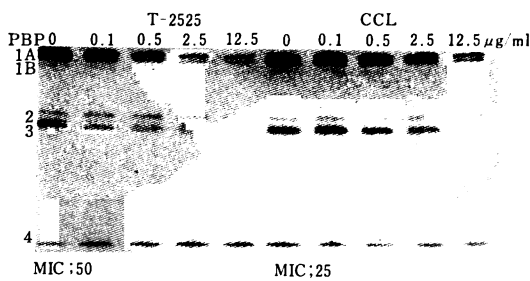


Fig. 25 Competition of T-2525 and CCL for penicillin binding proteins of *A. calcoaceticus* 5



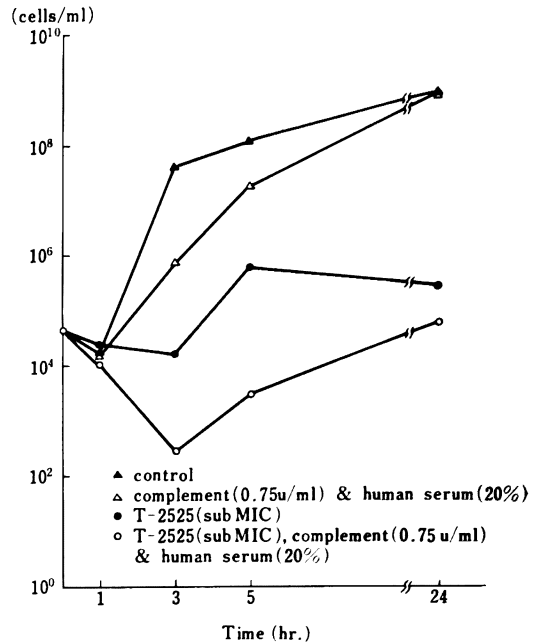
高かった。

A. calcoaceticus 5 の PBP に対しては、T-2525 はより強い親和性を Fig. 25 のとおり示したが、その程度は中等度で本剤がこの種の菌に中等度の抗菌力しか示さない理由を表している。

4. T-2525 の血清補体との協力的殺菌作用

単独ではわずかに *E. coli* NIHJ JC-2 の増殖を抑えるモルモット補体 (0.75 units/ml) と 20% ヒト血清、および 50% 増殖阻止量の T-2525 (0.219 µg/ml) を共存させると、Fig. 26 のとおり協力的殺菌作用を示す。すなわち培養開始後両者共存下では、生菌数が約 1/100 に

Fig. 26 Change of viable cell numbers of *E. coli* NIHJ JC-2 in the presence of ID₅₀ T-2525 (0.219 µg/ml) with or without 20% human serum and 0.75 units/ml guinea pig complement



低下した。しかし時間とともにゆるやかな再増殖が起こり、24 時間後にはその生菌数は薬剤単独存在下で培養された時より少ないものの、両者の差は培養 3~5 時間後より小さくなった。

5. T-2525 とマウス培養 Mφ との協力的食菌殺菌作用

マウス腹腔から正常 Mφ をとり conditioned medium 添加により活性化したものに、*E. coli* NIHJ JC-2 を感染させると、1~3 時間後にはよく食菌するが、培養後 4 時間以上たつと Fig. 27 のとおり、培養 Mφ は生体内ほどの力を持たないため菌は細胞内で増殖し Mφ を破壊して外に遊出する。この時 T-2525 を 1/2 MIC 共存させると、薬剤の影響で filament 化した細胞も培養後 4 時間たつと Fig. 28 のとおりよく食菌され、しかも Mφ 内で菌細胞が消化され、その像がうすくなり、Mφ は健全な状態で生存を続ける。1/4 MIC の T-2525 存在下でも Fig. 29 のとおり filament 化した菌細胞の食菌消化が進み、1/8 MIC 存在下でもまだ Mφ により菌細胞が食菌消化されてゆく状態が確かめられる (Fig. 30)。

III. おわりに

経口用新 cephem 系抗生物質、T-2588 の原体である

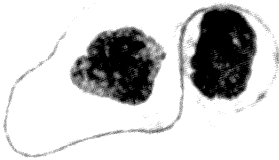
Fig. 27 Death of mouse macrophages phagocytizing normal cells of *E. coli* NIHJ JC-2 grown without drugs at 4 hrs after the incubation



Fig. 28 Digestion of long filamentous cells of *E. coli* NIHJ JC-2 grown with 1/2 MIC of T-2525 by cultured mouse macrophages at 4 hrs after the incubation



Fig. 29 Digestion of long filamentous cells of *E. coli* NIHJ JC-2 grown with 1/4 MIC of T-2525 by cultured mouse macrophages at 4 hrs after the incubation



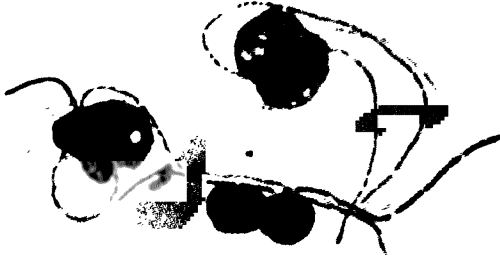


Fig. 30 Digestion of long filamentous cells of *E. coli* NIHJ JC-2 grown with 1/8 MIC of T-2525 by cultured mouse macrophages at 4 hrs after the incubation

T-2525 は、*P. aeruginosa* を除きグラム陽性菌からグラム陰性菌にわたる広い抗菌域と強い抗菌力を示した。既存の内服用 β -lactam 薬剤と比較すると、*S. aureus*, *S. epidermidis* では一部感受性株で ABPC に劣ったが、CCL よりやや優れているかあるいはほぼ同等であった。しかし溶血性レンサ球菌群や *S. pneumoniae* には ABPC に優るかあるいは同等の抗菌力を示し、CCL 等既存の内服用 cephem よりはるかに優れていた。

グラム陰性菌では R-plasmid 保有 *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morgani*, *P. rettgeri*, *S. marcescens*, *C. freundii*, *H. influenzae* 等の強毒および弱毒桿菌に平均した強い抗菌力を示し、その力は注射用のいわゆる第3世代 cephem のそれに匹敵した。また嫌気性菌 *B. fragilis* に対しても ABPC とほぼ同等の抗菌力を持つことがわかった。しかし T-2525 は *A. calcoaceticus* に対する抗菌力は中等度であり、*P. aeruginosa* に対しては弱く、*X. maltophilia* にはほとんど作用し得なかった。

T-2525 は PCase 型 β -lactamase のすべてに全く加水分解されなかったが、CEPase 型 β -lactamase のうち Ic 型酵素で中等度に水解された。また *X. maltophilia* の作る特殊な β -lactamase では他の oxime 型 cephem 同様、比較的容易に破壊された。

作用点である PBP に対する結合親和性からみると、グラム陰性菌の PBP に対し CCL より高い親和性を示すことがわかる。

以上を総合すると T-2525 のグラム陰性菌に対する優れた抗菌力は、 β -lactamase に対する高い安定性と作用点 PBP に対する良好な親和性によることが考えられる。

外膜通過性の良否については今回検討していないが、

T-2525 の7位側鎖に 2-aminothiazole が使われているので、他の注射用第3世代 cephem 同様、良好な外膜通過性を持っており、これも本剤の優れたグラム陰性菌に対する抗菌力に寄与しているであろう。

T-2525 は第1世代 cephem CCL や広域 PC の ABPC に匹敵する抗ブドウ球菌作用に加え、注射用第3世代 cephem にほぼ等しい広域で強い抗グラム陰性桿菌作用を持っているうえ、補体との協力的殺菌作用や白血球との協力的食菌殺菌作用も優れているので、T-2588 経口投与時に十分量の T-2525 が血中に吸収され、その持続時間も適当であれば、多くの感染症に優れた臨床効果を示すことが期待される。

文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法。Chemotherapy 23: 1~2, 1975
- 2) LENNOX, E. S.: Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage ϕ 1. Virology 1: 190~206, 1955
- 3) 横田 健: β -ラクタマーゼ測定法とその酵素活性と耐性。モダンメディア別冊 24(7): 360~377, 1978
- 4) ROSS, G. W. & C. H. O'CALLAGHAN: β -Lactamase assay. Methods Enzymol. 43: 69~85, 1975
- 5) SPRATT, R. G.: Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K12. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 72: 2999~3003, 1975
- 6) NOZAWA, R. T. & T. YOKOTA: Inhibition by glucocorticoids and cholera toxin of the conditional growth of poorly adherent mononuclear phagocytes of new-born hamster liver and lung (hormonal control of macrophage growth). Cell. Physiol. 100: 351~364, 1979

- 7) DE PEDRO, M. A.; U. SCHWARZ, Y. NISHIMURA & Y. HIROTA : On the biological role of penicillin-binding proteins 4 and 5. FEMS Microbiol. Lett. 9 : 219~221, 1980
- 8) NIGEL A. C. CURTIS & MICHAEL V. HAYES : A mutant of *Staphylococcus aureus* H deficient in penicillin-binding protein 1 is viable. FEMS Microbiol. Lett. 10 : 227~229, 1981

A NEW ORAL PRODRUG OF 3RD GENERATION CEPHEM,
T-2588 : ITS ANTIBACTERIAL ACTIVITY, AFFINITY TO
 β -LACTAMASES AND PBPS, AND SYNERGY WITH
THE COMPLEMENT AND MACROPHAGES

TAKESHI YOKOTA, EIKO SUZUKI, KYOKO ARAI and HISAYO KATO
Department of Bacteriology, School of Medicine, Juntendo University

T-2588 is a novel oral prodrug of T-2525 that is a cephem antibiotic with broad spectrum. T-2588 is converted into an active form, T-2525, after being absorbed from the intestine.

The antibacterial activity of T-2525 was compared with that of other oral β -lactam antibiotics, i. e. ampicillin, cephalexin, and cefaclor.

MIC₈₀(μ g/ml)s of T-2525 to 22 to 59 clinical isolates of *S. aureus*, *S. epidermidis*, β -streptococci, *E. coli*(R⁺), *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *M. morganii*, *P. rettgeri*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *A. calcoaceticus*, *H. influenzae*, and *B. fragilis* were 6.25, 50, 0.025, 0.39, 0.39, 0.1, 0.78, 1.56, 6.25, 3.13, 50, 6.25, 50, 0.05, and 6.25 μ g/ml, respectively.

T-2525 is stable against PCase type β -lactamases. Although the antibiotic is also stable to the type Ia β -lactamase, it is hydrolyzed by the type Ic β -lactamase in some extent.

T-2525 binds to PBPs of *S. aureus* at the same level as cefaclor. This antibiotic, however, manifests much stronger binding affinity to PBPs of *E. coli*, *S. marcescens* and *A. calcoaceticus* than cefaclor.

Addition of the complement and serum results in enhancement of bactericidal effect of T-2525. Filamentous cells of *E. coli* induced by sub MICs of T-2525 are phagocytized well and easily digested by mouse cultured macrophages.

T-2525 would be a useful antibiotic if its safety and pharmacokinetic are satisfactory.