

新しいエステル型経口用セフェム剤 T-2588 の抗菌作用について

才川 勇・保田 隆・渡辺泰雄・福岡義和・四辻 彰

南新三郎・山城芳子・荒木春美・大懸直子

富山化学工業株式会社総合研究所

新しく開発されたエステル型経口用セフェム剤 T-2588 およびその parent drug T-2525 の抗菌作用について検討した結果、以下の成績が得られた。

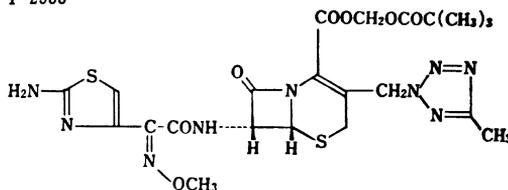
- 1) T-2525 はセフェム系経口剤に耐性な菌を含むグラム陽性および陰性菌に幅広い抗菌スペクトルを有していた。特に *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Indole (+) Proteus*, *Serratia marcescens* および *Haemophilus influenzae* に対し優れた抗菌力を有し、また嫌気性菌である *Bacteroides fragilis* に対しても優れた抗菌力を有していた。
- 2) T-2525 の抗菌力は培地の種類、培地 pH、ヒト血清添加の影響はほとんど認められなかった。接種菌量の増加に伴い抗菌力がやや低下する傾向がみられた。
- 3) T-2525 は MIC 付近で殺菌的に作用した。
- 4) T-2525 は penicillinase および cephalosporinase に対して非常に安定であった。
- 5) T-2525 の *E. coli* の penicillin binding proteins (PBPs) に対する親和性は PBP-3 に対する親和性が最も強く次いで PBP-1 Bs, PBP-1 A であった。
- 6) マウス実験的感染症に対しては、T-2588 の治療効果は *Staphylococcus aureus* に対しては対照薬剤より劣るもののグラム陰性菌に対しては対照薬剤よりもはるかに優れていた。

近年セフェム系抗生剤の開発はめざましく強い抗菌力と広い抗菌スペクトルを有する多くの有用な薬物が開発され臨床に使用されている。しかしながら、多くは注射剤用として開発されたもので、経口剤として開発されたものはわずかに cefaclor (CCL), cefroxadine (CXD) などが開発されているものの、その抗菌力、抗菌スペクトルとも従来の cephalexin (CEX) とほとんど同じで注射用抗生剤ほど満足すべきものでなく、臨床面でさらに強い抗菌力と広い抗菌スペクトルを有し、しかも β -lactamase に安定な経口用セフェム剤の開発が望まれていた。

T-2588 は富山化学工業(株)総合研究所において開発された新しいエステル型の経口用セフェム剤である¹⁾。その化学名は pivaloyloxymethyl (+)-(6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[(5-methyl-2H-tetrazol-2-yl) methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate で構造式は Fig. 1 に示すとおりである。T-2588 は腸管から吸収され、酵素的に加水分解を受け抗菌活性を有する T-2525 (Fig. 1) となる。T-2525 はグラム陽性菌、グラム陰性菌に対し広範囲な抗菌スペクトルを有し、特にグラム陰性菌のうち従来の経口用セフェム剤に対し感受性が低い *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Indole (+) Proteus*, *Serratia* などに優れた抗菌力を有している¹⁾。

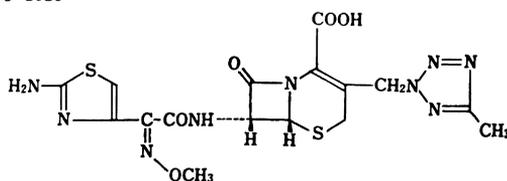
今回著者らは、T-2588 および T-2525 に関する *in vitro*, *in vivo* での細菌学的評価を既知の経口用 β -actam 系抗生剤と比較検討したので報告する。

Fig. 1 Chemical structure of T-2588 and T-2525
T-2588



pivaloyloxymethyl (+)-(6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[(5-methyl-2H-tetrazol-2-yl) methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate

T-2525



(+)-(6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[(5-methyl-2H-tetrazol-2-yl) methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid

I. 実験材料および実験方法

1) 使用薬剤

T-2588 および T-2525 は当社研究所で合成されたものを使用した。その他 cephalexin (CEX: 富山化学), cefaclor (CCL: 塩野義製薬), cefroxadine (CXD: 日本チバガイギー), cefatrizine (CFT: 萬有製薬), cephaloridine (CER: 鳥居薬品), cefmetazole (CMZ: 三共), ampicillin (ABPC: 富山化学) および benzylpenicillin (PCG: 明治製薬) を用いた。

2) 使用菌株

標準菌株および臨床分離株は当社研究所保存株を使用した。

3) 抗菌力測定

日本化学療法学会標準法²⁾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。すなわち, Mueller-Hinton broth (MHB: Difco) 中で 37°C, 18 時間培養した菌液 (約 10⁸ cells/ml) およびその 100 倍希釈液 (約 10⁶ cells/ml) の 1 白金耳を, 薬剤の倍数希釈濃度を含む Mueller-Hinton agar (MHA: 栄研) 平板上に接種し 37°C, 18 時間培養後, 菌の増殖が認められなかった最小濃度を MIC とした。ただし前培養液に *Pseudomonas aeruginosa* の場合は 0.4% KNO₃ 加 MHB, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* では Brain heart infusion broth (BHIB: 栄研), *Staphylococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* では 10% 羊血液加 BHIB を用い, MIC 測定平板には *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* では 10% 羊血液加 MHA を用いた。 *Campylobacter jejuni* では BHIB にウマ血液を 10% 加え 10% CO₂ インキュベーターで 37°C, 48 時間前培養し, MIC 測定平板には 10% ウマ血液加 Brain heart infusion agar (BHIA: 栄研) を用い菌接種後 10% CO₂ インキュベーターで 37°C, 48 時間培養後 MIC を判定した。 *Haemophilus influenzae* では前培養にヘミン (Sigma) を 10 μg/ml, β-NAD (Sigma) を 2 μg/ml 加えた BHIB を用い, MIC 測定平板には FILDs のペプシン消化血液を 5% 添加した。

また嫌気性菌の場合は前培養液に GAM ブイヨン (日本), MIC 測定平板には GAM 寒天 (日本) を使用し嫌気条件下で培養した。

4) 殺菌力の測定法

(1) 最小殺菌濃度 (MBC)

Nutrient broth (NB: 栄研) で 37°C, 1 夜培養した菌液を適宜希釈し, 最終菌量が約 10⁶ および 10⁴ cells/ml となるように薬剤の倍数希釈濃度を含む NB に接種し, 37°C, 18 時間培養後肉眼的に菌の増殖が認められなかった最小濃度を MIC とした。MIC 測定後各培養液の

1 白金耳を薬剤を含まない Heart infusion agar (HIA: 栄研) に移植し 37°C, 20 時間培養後コロニー数が 10 個以下となる最小濃度を MBC とした。

(2) 増殖曲線に及ぼす影響

NB で 37°C, 1 夜培養した菌液を NB に接種し 37°C で振とう培養した。生菌数が約 10⁸ cells/ml になった時点で薬剤を添加し経時的に生菌数を測定した。

5) 抗菌力におよぼす諸因子の影響

(1) 培地の影響

HIA, BHIA, Nutrient agar (NA: 栄研), Tryptosoy agar (TSA: 栄研) および MHA を用い接種菌量は 10⁶ cells/ml として MIC を測定した。

(2) 培地 pH の影響

1 N HCl または 1 N NaOH で pH を調整した MHA を用い接種菌量は約 10⁶ cells/ml として MIC を測定した。

(3) 血清添加の影響

輸血用ヒト A 型血液を遠心分離して得た血清を MHB に 10, 25, 50% となるように添加し, 接種菌量は約 10⁴ cells/ml として液体希釈法で MIC を測定した。

(4) 接種菌量の影響

前培養液に MHB を用い 37°C で 18 時間培養した菌液とその 100 倍, 1,000 倍希釈液を接種して MIC を測定した。ただし, *S. aureus* の前培養液には BHIB を用いた。

6) β-lactamase に対する安定性

(1) 酵素の調製

各菌株を BHIB に 1 夜培養した菌液 200 ml を新鮮な BHIB 2 L に加え 37°C, 4 時間振とう培養した。ただし *Enterobacter cloacae* H-27, *Citrobacter freundii* N-4, *Serratia marcescens* W-24, *Morganella morganii* T-211, *Providencia rettgeri* GN 4430, *Proteus vulgaris* T-178 の場合には培養開始 2 時間後に inducer として CMZ を 2.5~10 μg/ml になるように加えた。 *Bacteroides fragilis* B-16 の培養は GAM ブイヨンで行ない, 嫌気ジャー内で 37°C, 6 時間培養した。集菌 (1,000×g, 30 分遠心) 後 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) で洗浄し, 同 buffer に懸濁した。Sonicater (Tomy Seiko 製) で超音波破碎した後 10,000×g, 30 分間遠心し上清を粗酵素液として得た。粗酵素液はさらに以下の手順で精製し実験に供した。

すなわち粗酵素液に最終濃度 2% になるように硫酸ストレプトマイシン (萬有製薬) を氷冷下に加えた後 30 分間氷冷下放置した。生じた沈殿を 10,000×g, 30 分間遠心により除き 1 昼夜水に対して透析した。透析後生じた沈殿を 10,000×g, 30 分遠心して除き, CM-sepha-

Table 1 Antibacterial spectrum of T-2525 against aerobic gram-positive bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
	T-2525		CEX		CCL		CXD		CFT		ABPC	
	10^6 (cells/ml)	10^8 (cells/ml)	10^6 (cells/ml)	10^8 (cells/ml)	10^6 (cells/ml)	10^8 (cells/ml)	10^6 (cells/ml)	10^8 (cells/ml)	10^6 (cells/ml)	10^8 (cells/ml)	10^6 (cells/ml)	10^8 (cells/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA209P	3.13	6.25	3.13	6.25	1.56	3.13	1.56	3.13	0.78	1.56	≤ 0.1	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> Terashima	3.13	3.13	1.56	1.56	1.56	3.13	0.78	1.56	0.78	0.78	≤ 0.1	≤ 0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	3.13	6.25	3.13	6.25	3.13	12.5	3.13	6.25	1.56	1.56	≤ 0.1	0.2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IID866	3.13	6.25	3.13	6.25	3.13	12.5	3.13	12.5	0.78	1.56	0.78	> 200
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-8*	≤ 0.1	≤ 0.1	1.56	3.13	0.78	0.78	0.39	0.39	≤ 0.1	0.2	≤ 0.1	≤ 0.1
<i>Streptococcus pyogenes</i> Cook*	≤ 0.1	≤ 0.1	0.78	0.78	0.78	0.78	0.2	0.39	0.2	0.2	≤ 0.1	≤ 0.1
<i>Enterococcus faecalis</i> IID682	> 200	> 200	> 200	> 200	200	> 200	> 200	> 200	50	100	3.13	6.25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> IID552*	≤ 0.1	≤ 0.1	1.56	3.13	1.56	3.13	0.78	0.78	0.2	0.39	≤ 0.1	≤ 0.1
<i>Streptococcus pneumoniae</i> IID553*	≤ 0.1	≤ 0.1	1.56	3.13	0.78	3.13	0.78	1.56	0.39	0.39	≤ 0.1	≤ 0.1
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	1.56	1.56	0.78	1.56	0.2	0.78	0.39	0.39	0.39	0.78	≤ 0.1	12.5

Inoculum size : 1 loopful of bacterial suspension (10^6 and 10^8 cells/ml)

Medium : Mueller-Hinton agar (MHA : Eiken)

(*MHA supplemented with 10 % sheep blood)

Table 2 Antibacterial spectrum of T-2525 against aerobic gram-negative bacteria

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)											
	T-2525 (cells/ml)		CEX (cells/ml)		CCL (cells/ml)		CXD (cells/ml)		CFT (cells/ml)		ABPC (cells/ml)	
	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8	10^6	10^8
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	≤ 0.1	≤ 0.1	3.13	6.25	1.56	3.13	3.13	3.13	0.78	1.56	0.39	0.78
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.2	0.2	6.25	25	6.25	50	6.25	12.5	6.25	12.5	3.13	6.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IID875	0.2	0.39	3.13	6.25	3.13	3.13	3.13	12.5	1.56	1.56	6.25	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC10031	≤ 0.1	≤ 0.1	3.13	3.13	1.56	3.13	6.25	6.25	0.78	1.56	100	200
<i>Salmonella paratyphi</i> IID605	0.39	0.39	6.25	6.25	3.13	12.5	6.25	6.25	0.78	1.56	1.56	3.13
<i>Salmonella scholtmulleri</i> IID607	≤ 0.1	≤ 0.1	3.13	3.13	1.56	3.13	3.13	3.13	0.78	1.56	0.39	0.39
<i>Shigella sonnei</i> EW33	0.2	0.2	6.25	12.5	3.13	25	6.25	6.25	1.56	3.13	1.56	1.56
<i>Shigella boydii</i> EW28	0.2	0.2	12.5	12.5	3.13	6.25	6.25	6.25	1.56	3.13	3.13	3.13
<i>Shigella flexneri</i> IID642	≤ 0.1	0.2	3.13	12.5	3.13	25	6.25	12.5	0.78	3.13	1.56	3.13
<i>Serratia marcescens</i> IID620	0.2	0.39	> 200	> 200	> 200	> 200	200	> 200	> 200	> 200	12.5	50
<i>Serratia marcescens</i> IID3736	3.13	6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	50	100
<i>Proteus mirabilis</i> IFO3849	≤ 0.1	≤ 0.1	25	25	6.25	12.5	12.5	12.5	6.25	12.5	1.56	1.56
<i>Morganella morganii</i> IID602	0.2	0.39	> 200	> 200	200	> 200	> 200	> 200	100	> 200	200	200
<i>Providencia rettgeri</i> IFO13501	≤ 0.1	≤ 0.1	6.25	25	12.5	> 200	6.25	12.5	0.78	100	0.2	12.5
<i>Proteus vulgaris</i> IID874	3.13	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
<i>Proteus vulgaris</i> IFO3851	≤ 0.1	≤ 0.1	12.5	25	12.5	50	12.5	25	1.56	12.5	6.25	25
<i>Citrobacter freundii</i> IFO12681	1.56	6.25	200	> 200	200	> 200	50	200	50	> 200	50	50
<i>Enterobacter aerogenes</i> IID972	0.39	0.39	> 200	> 200	200	> 200	100	200	50	> 200	12.5	12.5
<i>Enterobacter cloacae</i> IID977	3.13	25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
<i>Enterobacter cloacae</i> IID3320	≤ 0.1	0.2	> 200	> 200	200	> 200	100	> 200	12.5	> 200	6.25	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC10490	1.56	6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	100	200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO3445	50	100	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200	> 200

Inoculum size: 1 loopful of bacterial suspension (10^8 and 10^6 cells/ml)

Medium: Mueller-Hinton agar (Eiken)

dex (生化学工業) または DEAE-cellulose (生化学工業) に吸着させ phosphate buffer (pH 7.0) 濃度を段階的に上昇させ酵素を溶出させた。活性分画を集め部分精製酵素として用いた。

(2) β -lactamase 活性の測定

CCL および CFT は Novick の方法³⁾を改良した小此木等の方法⁴⁾に準じて測定した。

その他の β -lactamase 活性の測定には WALEY 等⁵⁾の direct spectrophotometric method を用いた。

Penicillinase (PCase) では PCG を 100 とし, cephalosporinase (CSase) では CER を 100 とした相対加水分解速度で表示した。

7) 位相差顕微鏡による形態変化の観察

HIB で 37°C, 1 夜培養した菌液を HIB で 100 倍に希釈して 37°C で約 2 時間振とう培養を行ない, 対数増殖期となった菌液を 1 白耳耳, スライドガラス上に作製した薬剤の倍数希釈濃度を含むフィルム寒天 (HIA) 上に塗抹した。カバーガラスを置き, パラフィンで封じた後, 37°C 恒温装置付の位相差顕微鏡 (日本光学) によって形態観察を行なった。

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

PBPs に対する T-2525 の親和性は SPRATT の方法⁶⁾に従って調べた。*E. coli* JE 1011 の膜分画に 84 m mol の ¹⁴C-PCG (The Radio Chemical Center : 51 mCi/m mol) とモル比で 0.2, 1, 5, 25 倍の T-2525 を拮抗的に結合させ, SDS-ポリアクリルアミドスラブゲル電気泳動で PBPs を分離した。フルオログラフィーによって X 線フィルムに 14 日間乾燥ゲルを密着させ PBPs に結合した ¹⁴C-PCG を検出した。T-2525 の添加で ¹⁴C-PCG と PBPs との結合が阻害される程度から T-2525 の各 PBPs に対する親和性を比較した。

9) マウス実験的感染症に対する治療効果

マウスは SLC/ICR 系, 雄, 4 週齢, 体重 20 ± 1 g, 1 群 5 匹を用いた。感染菌は HIA 上で 37°C, 1 夜培養した後菌をかきとり生理食塩液に懸濁し必要な菌量に調整した後, *E. coli* TK-16 以外は 5% gastric mucin (半井化学) に懸濁し, 腹腔内に 0.5 ml 接種した。

薬剤は感染 1 時間後に 0.5% carboxymethyl cellulose にて懸濁し 1 回経口投与した。治療効果は 7 日後のマウス生存匹数から VANDER WAERDEN 法により算出した ED₅₀ (mg/mouse) で示した。ただし T-2588 の ED₅₀ 値は T-2525 とし算出した。

II. 実験結果および考察

1) 抗菌スペクトル

T-2525 の抗菌スペクトルを既知経口用セフェム剤の

Table 3 Antibacterial spectrum of T-2525 against anaerobic bacteria

Organism	MIC (μ g/ml)				
	T-2525 10 ⁶ (cells/ml)	CEX 10 ⁶ (cells/ml)	CCL 10 ⁶ (cells/ml)	CXD 10 ⁶ (cells/ml)	CFT 10 ⁶ (cells/ml)
<i>Peptococcus variabilis</i> WAL3502	50	25	>200	50	50
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i> WAL3218	0.39	6.25	3.13	1.56	6.25
<i>Peptococcus magnus</i> WAL2508	0.2	1.56	0.78	0.39	0.39
<i>Clostridium perfringens</i> WAL3503	≤ 0.1	1.56	0.2	≤0.1	≤0.1
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC25285	6.25	25	>200	50	25
<i>Bacteroides vulgatus</i> WAL1187	0.39	0.78	12.5	1.56	3.13
<i>Bacteroides thetaioamicron</i> WAL3304	50	25	>200	50	100
<i>Bacteroides thetaioamicron</i> WAL2926	50	25	>200	50	100

Inoculum size : 1 loopful bacterial suspension (10⁶ and 10⁸ cells/ml)

Medium : GAM agar (Nissui)

CEX, CCL, CXD, CFT およびペニシリン系抗生剤の ABPC を対照薬として比較検討し、その結果を Table 1, 2, 3 に示した。グラム陽性菌に対する T-2525 は *Staphylococcus* では CEX と同等の抗菌力を示したが他の対照薬よりも劣っていた。

しかし *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* に対しては既知セフェム剤より優れた ABPC と同程度であった。*E. faecalis* に対しては他のセフェム剤と同様無効であった。

グラム陰性菌に対しては T-2525 は広範囲な抗菌スペクトルと強い抗菌力を有し特に従来の経口用セフェム剤に対し感受性が低い *Citrobacter*, *Enterobacter*, Indole (+) *Proteus*, *S. marcescens* に対しても強い抗菌力を示した。ただし *P. aeruginosa* には無効であった。

嫌気性菌では T-2525 は *Peptococcus*, *Clostridium*, *B. fragilis* に対して強い抗菌力を示した。

2) 臨床分離株に対する感受性分布

臨床的に分離された *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *P. mirabilis*, Indole(+) *Proteus*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *H. influenzae*, *C. jejuni* および *B. fragilis* に対する T-2525 の抗

菌力を接種菌量 10^8 cells/ml と 10^6 cells/ml で検討した。対照薬剤として CEX, CCL, CXD, CFT および ABPC を用いた。その結果を Fig. 2~17 に示した。

(1) *Staphylococcus*

S. aureus (50 株), *S. epidermidis* (50 株) に対する抗菌力は Fig. 2, 3 に示すように、T-2525 は ABPC, CFT より劣るが CEX, CCL, CXD と同程度であった。T-2525 および対照のセフェム剤は接種菌量の影響をあまりうけなかったが ABPC は接種菌量の影響をうけた。

(2) *Streptococcus*

S. pyogenes (53 株), *S. pneumoniae* (39 株) に対する抗菌力を Fig. 4, 5 に示した。

10^8 cells/ml および 10^6 cells/ml のいずれにおいても T-2525 はいずれの対照薬剤よりも優れた抗菌力を示し、 10^8 cells/ml では *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* を各々 $0.0125 \mu\text{g/ml}$, $0.1 \mu\text{g/ml}$ の低濃度で 100% 発育阻止した。

(3) *E. coli*

E. coli (50 株) に対する抗菌力を Fig. 6 に示した。T-2525 は対照薬剤と比較してはるかに優れた抗菌力を

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. aureus* (50 strains)

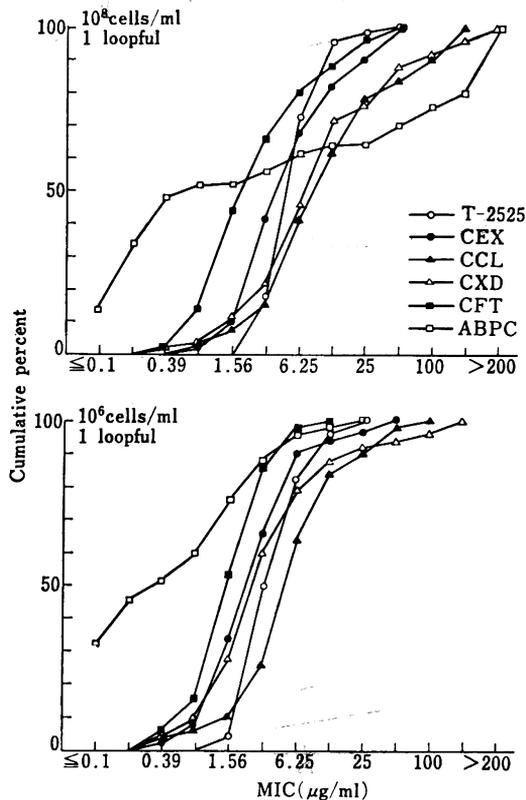


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. epidermidis* (50 strains)

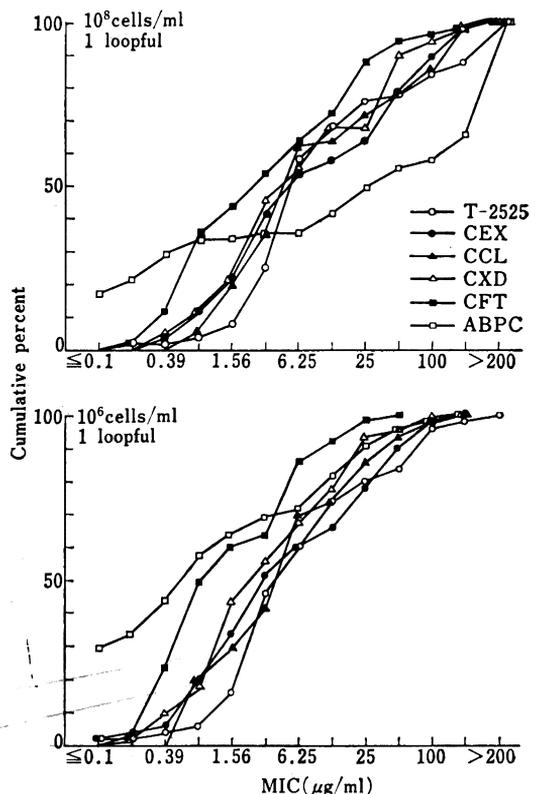


Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. pyogenes* (53 strains)

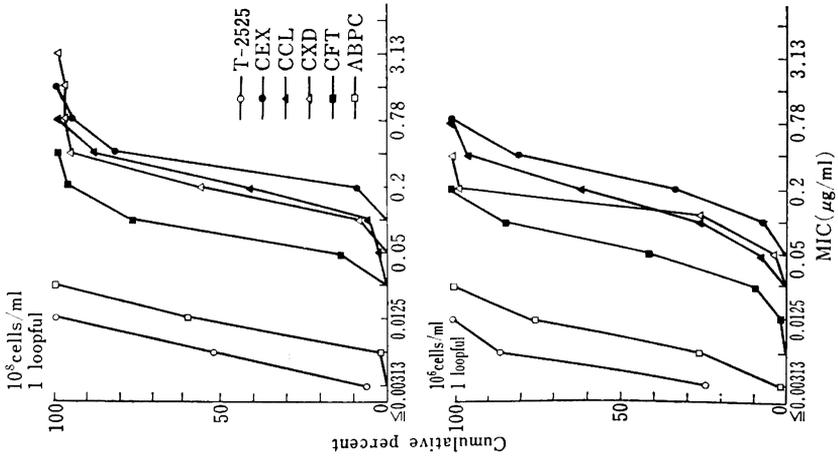


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. pneumoniae* (39 strains)

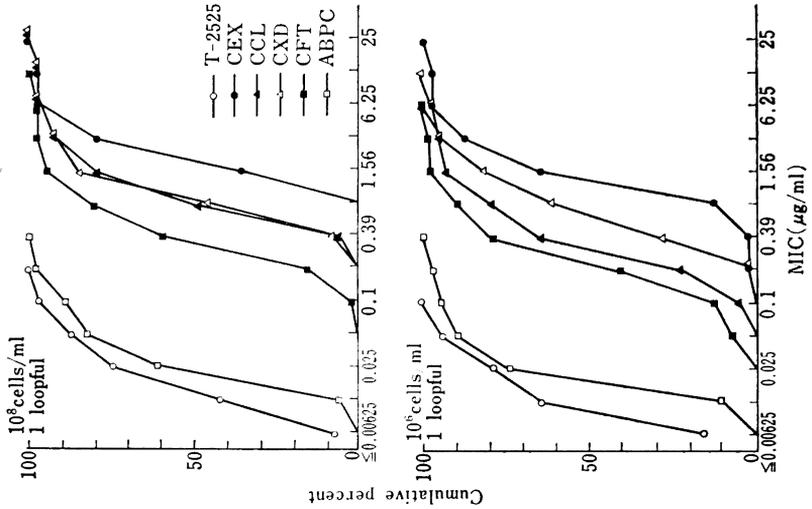


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. coli* (50 strains)

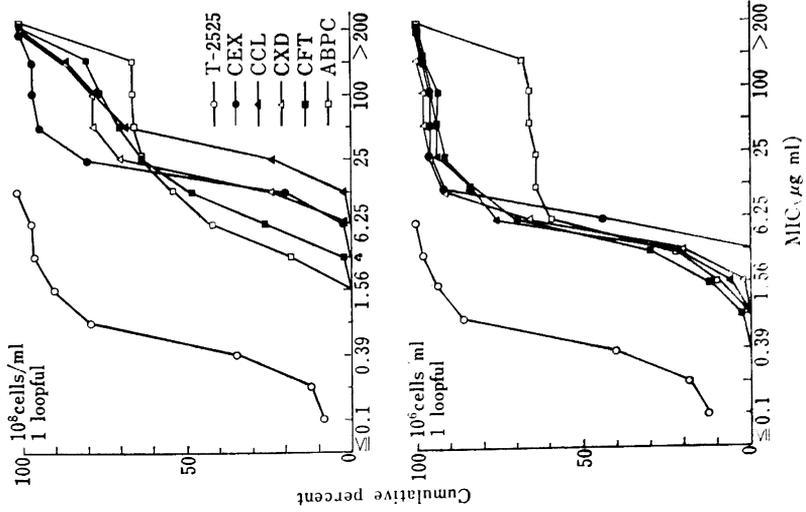


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. mirabilis* (50 strains)

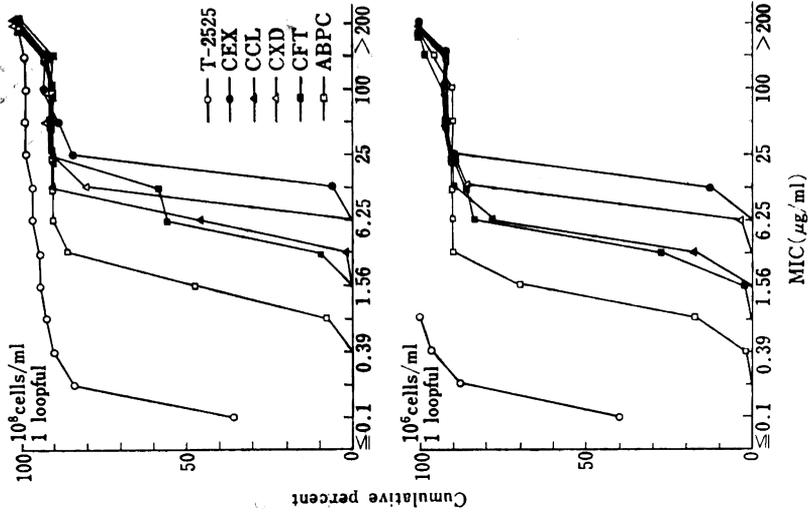


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates *S. marcescens* (50 strains)

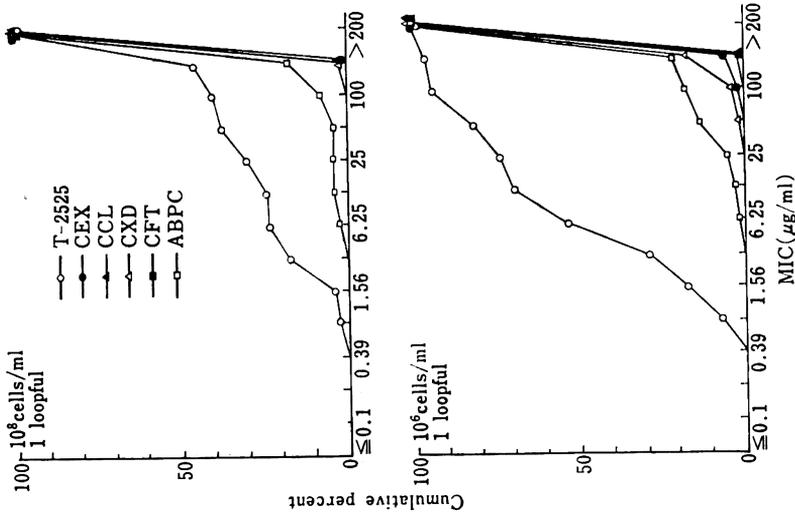


Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates *K. pneumoniae* (50 strains)

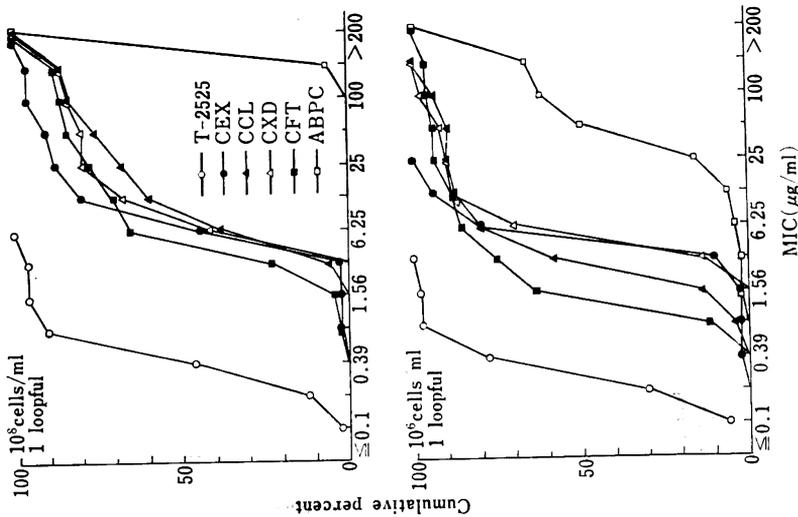


Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. vulgaris* (25 strains)

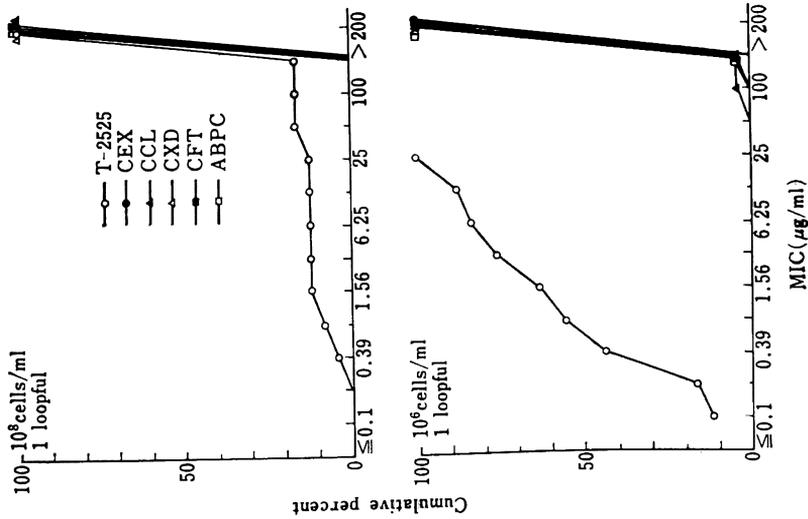


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates *P. rettgeri* (25 strains)

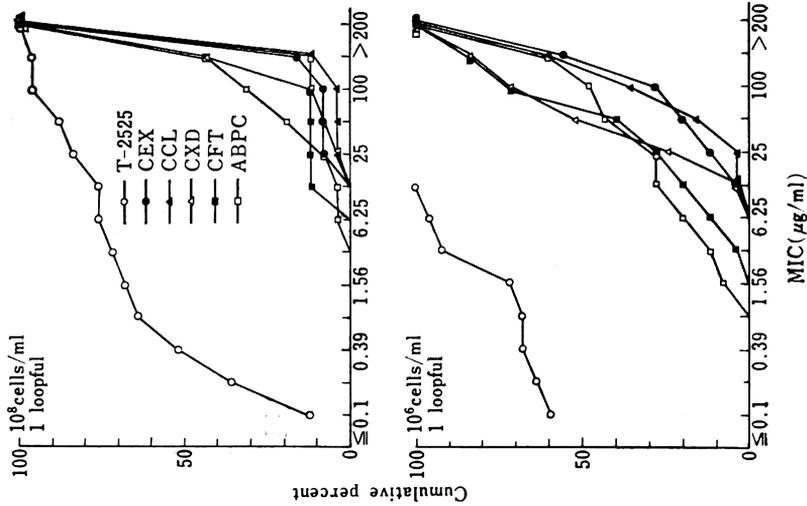


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates *M. morganii* (50 strains)

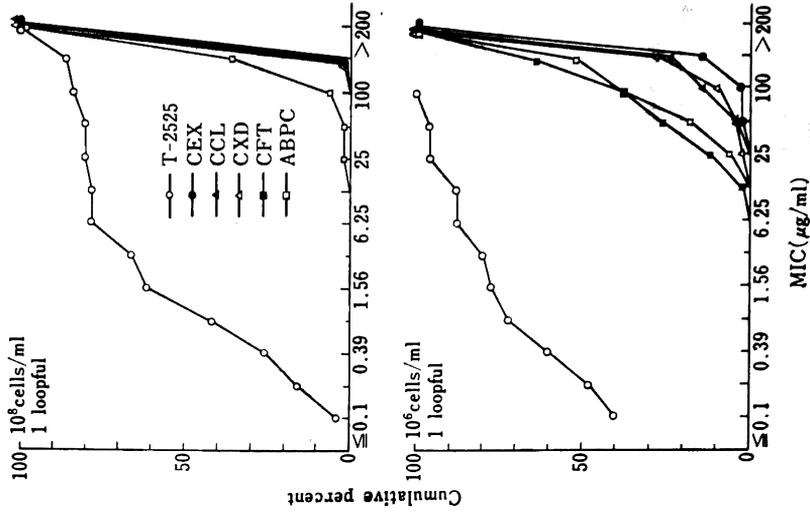


Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates *C. freundii* (40 strains)

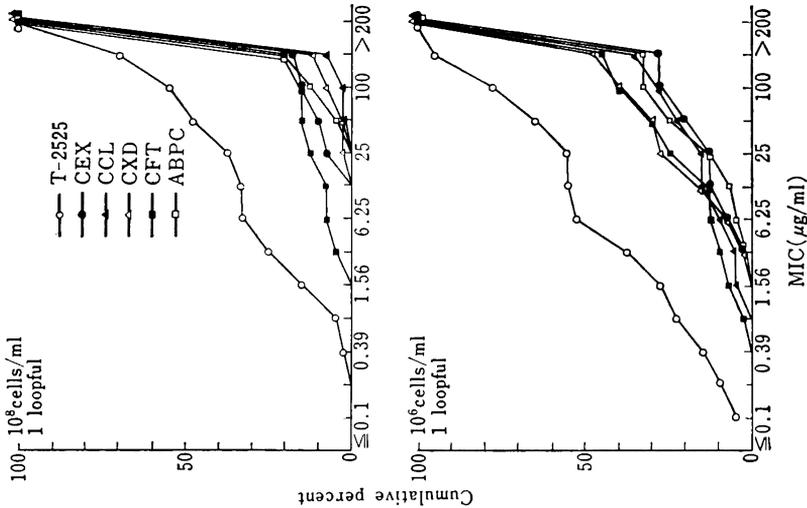


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates *E. cloacae* (40 strains)

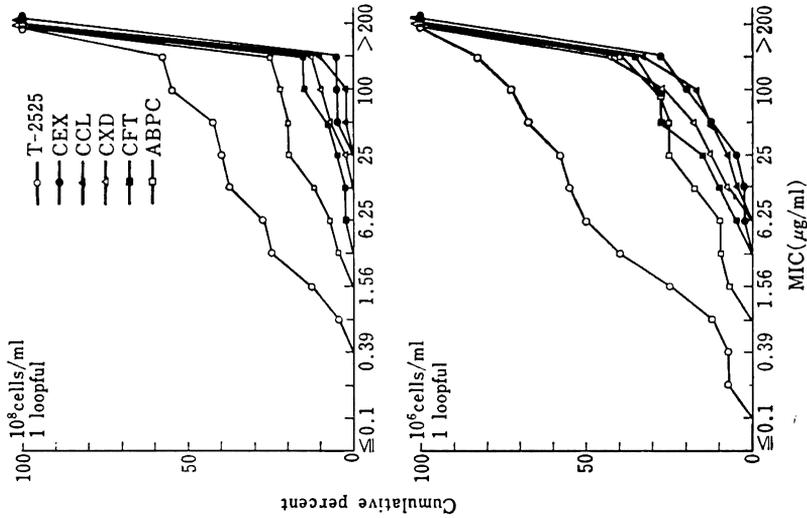


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates *C. jejuni* (26 strains)

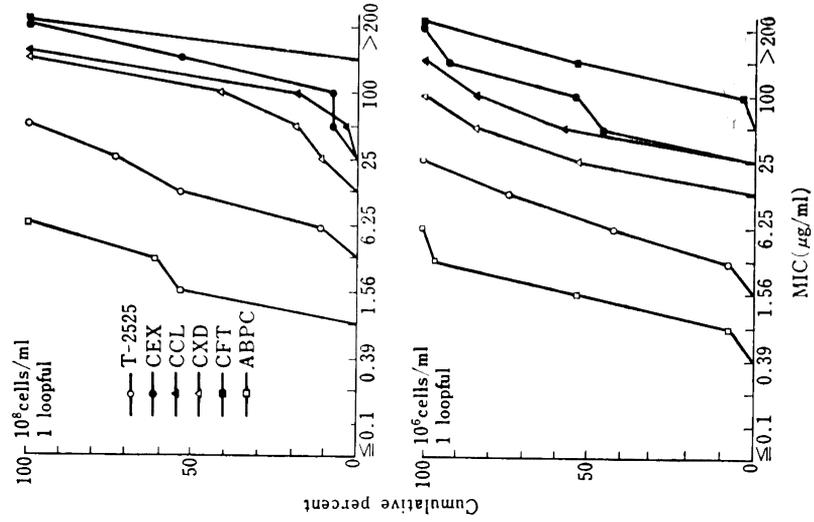


Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates *H. influenzae* (26 strains)

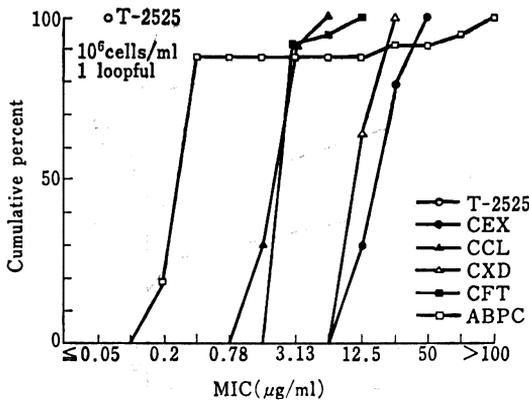
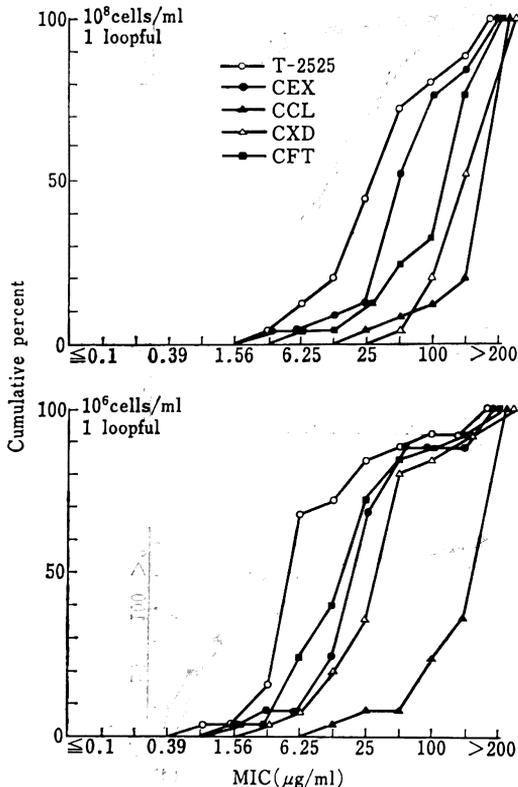


Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates *B. fragilis* (25 strains)



示し、 10^6 cells/ml では $6.25 \mu\text{g/ml}$ で 100% 発育阻止した。また ABPC の耐性菌に対しても優れた抗菌力を示した。

(4) *K. pneumoniae*

K. pneumoniae (50 株) に対する抗菌力を Fig. 7 に示した。T-2525 は対照のセフェム剤と比較して 2~4

管優れ、 10^8 cells/ml、 10^6 cells/ml とも $6.25 \mu\text{g/ml}$ 、 $3.13 \mu\text{g/ml}$ で 100% 発育阻止した。一方 ABPC に対しては大部分の株が耐性を示した。

(5) *S. marcescens*

S. marcescens (50 株) に対する抗菌力を Fig. 8 に示した。T-2525 は 10^8 cells/ml および 10^6 cells/ml で接種菌量の影響を受けたが、対照のセフェム剤および ABPC がほとんど抗菌力を示さないのに対し、 10^6 cells/ml では 50% 以上の株が $6.25 \mu\text{g/ml}$ で発育阻止された。

(6) *P. mirabilis*

P. mirabilis (50 株) に対する抗菌力を Fig. 9 に示した。T-2525 は 10^8 cells/ml、 10^6 cells/ml とも対照のセフェム剤および ABPC よりもはるかに優れた抗菌力を示し、 10^6 cells/ml においては $0.78 \mu\text{g/ml}$ で 100% 発育阻止した。

(7) Indole positive *Proteus*

P. vulgaris (25 株)、*P. rettgeri* (25 株)、*M. morganii* (50 株) の Indole(+) *Proteus* 100 株に対する抗菌力を Fig. 10~12 に示した。T-2525 はいずれの菌種に対しても 10^8 cells/ml と 10^6 cells/ml で接種菌量の影響を受けたが、対照のセフェム剤および ABPC がほとんど抗菌力を有しないのに対して優れた抗菌力を示した。 10^6 cells/ml における 50% 発育阻止濃度は *P. vulgaris* で $0.78 \mu\text{g/ml}$ 、*P. rettgeri* で $\leq 0.1 \mu\text{g/ml}$ 、*M. morganii* で $0.2 \mu\text{g/ml}$ を示した。

(8) *C. freundii*

C. freundii (40 株) に対する抗菌力を Fig. 13 に示した。T-2525 は、 10^8 cells/ml と 10^6 cells/ml の両接種菌量において MIC は $\leq 0.1 \sim >200 \mu\text{g/ml}$ と広く分布したが対照のセフェム剤および ABPC がほとんど抗菌力を示さないのに対し、優れた抗菌力を示した。T-2525 の 50% 発育阻止濃度は 10^6 cells/ml で $6.25 \mu\text{g/ml}$ を示した。

(9) *E. cloacae*

E. cloacae (40 株) に対する抗菌力を Fig. 14 に示した。T-2525 の MIC は *C. freundii* と同様 $\leq 0.1 \sim >200 \mu\text{g/ml}$ と広く分布した。しかし対照のセフェム剤および ABPC がほとんど抗菌力を示さないのに対し、T-2525 の 50% 発育阻止濃度は 10^6 cells/ml で $6.25 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。

(10) *C. jejuni*

C. jejuni (26 株) に対する抗菌力を Fig. 15 に示した。T-2525 は 10^8 cells/ml および 10^6 cells/ml のいずれにおいても対照のセフェム剤より優れた抗菌力を示したが ABPC より劣っていた。

(11) *H. influenzae*

Table 4 Effect of various media on antibacterial activity of T-2525

Drug	Medium	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		<i>S. aureus</i> FDA 209 P	<i>E. coli</i> NIHJ	<i>K. pneumoniae</i> Y-41	<i>S. marcescens</i> IID 620
T-2525	HIA	3.13	≤ 0.1	0.2	0.2
	BHIA	3.13	≤ 0.1	0.39	0.39
	NA	3.13	≤ 0.1	0.2	0.2
	TSA	1.56	≤ 0.1	0.39	0.39
	MHA	3.13	≤ 0.1	0.2	0.2
CEX	HIA	3.13	6.25	6.25	>200
	BHIA	3.13	6.25	6.25	>200
	NA	1.56	6.25	6.25	>200
	TSA	1.56	6.25	12.5	>200
	MHA	3.13	3.13	6.25	>200
CCL	HIA	1.56	0.78	1.56	>200
	BHIA	1.56	1.56	1.56	>200
	NA	0.78	0.78	1.56	>200
	TSA	1.56	1.56	1.56	>200
	MHA	1.56	1.56	1.56	>200

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

Medium : HIA : Heart infusion agar (Eiken)

BHIA : Brain heart infusion agar (Eiken)

NA : Nutrient agar (Eiken)

TSA : Trypto-soy agar (Eiken)

MHA : Mueller-Hinton agar (Eiken)

Table 5 Effect of medium pH on antibacterial activity of T-2525

Drug	Medium pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
		<i>S. aureus</i> FDA 209 P	<i>E. coli</i> NIHJ	<i>K. pneumoniae</i> Y-41	<i>S. marcescens</i> IID 620
T-2525	5.5	1.56	≤ 0.1	0.39	0.2
	6.0	3.13	≤ 0.1	0.39	0.2
	6.5	3.13	≤ 0.1	0.2	0.2
	7.0	3.13	≤ 0.1	0.2	0.2
	7.5	6.25	≤ 0.1	0.2	0.2
	8.0	6.25	≤ 0.1	0.2	0.2
CEX	5.5	0.78	6.25	12.5	>200
	6.0	1.56	3.13	6.25	>200
	6.5	1.56	3.13	6.25	>200
	7.0	3.13	3.13	6.25	>200
	7.5	3.13	3.13	6.25	>200
	8.0	3.13	3.13	6.25	>200
CCL	5.5	0.78	1.56	3.13	>200
	6.0	0.78	1.56	1.56	>200
	6.5	1.56	0.78	1.56	>200
	7.0	1.56	1.56	1.56	>200
	7.5	1.56	3.13	3.13	>200
	8.0	3.13	3.13	6.25	>200

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

Medium : Mueller-Hinton agar (Eiken)

Table 6 Effect of human serum on antibacterial activity of T-2525

Organism	Inoculum size (cells/ml)	Human serum (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			T-2525	CEX	CCL
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	3.72×10^4	0	3.13	1.56	0.39
		10	3.13	1.56	0.39
		25	3.13	1.56	0.39
		50	3.13	1.56	0.39
<i>E. coli</i> NIHJ	1.62×10^4	0	≤ 0.1	6.25	0.78
		10	≤ 0.1	6.25	0.78
		25	≤ 0.1	6.25	1.56
		50	≤ 0.1	6.25	1.56
<i>S. marcescens</i> IID 620	1.82×10^4	0	0.78	>100	>100
		10	0.39	>100	>100
		25	0.39	>100	>100
		50	0.2	>100	>100

Inoculum size : 1 loopful of bacterial suspension

Medium : Mueller-Hinton broth (Difco)

Table 7 Effect of inoculum size on antibacterial activity of T-2525

Organism	Initial size (cells/ml)	Dilution	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
			T-2525	CEX	CCL
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	5.4×10^8	$\times 10^0$	6.25	6.25	3.13
		$\times 10^2$	3.13	3.13	1.56
		$\times 10^4$	0.39	0.78	0.78
<i>E. coli</i> NIHJ	1.3×10^9	$\times 10^0$	≤ 0.1	6.25	3.13
		$\times 10^2$	≤ 0.1	3.13	1.56
		$\times 10^4$	≤ 0.1	1.56	0.78
<i>E. coli</i> TK-16	7.2×10^8	$\times 10^0$	0.2	12.5	25
		$\times 10^2$	0.2	6.25	1.56
		$\times 10^4$	0.2	6.25	0.78
<i>K. pneumoniae</i> Y-41	9.2×10^8	$\times 10^0$	0.39	6.25	12.5
		$\times 10^2$	0.2	6.25	1.56
		$\times 10^4$	0.2	6.25	0.78
<i>S. marcescens</i> IID 620	1.3×10^9	$\times 10^0$	0.39	>200	>200
		$\times 10^2$	0.2	>200	>200
		$\times 10^4$	≤ 0.1	200	200
<i>P. vulgaris</i> T-181	1.3×10^9	$\times 10^0$	0.2	>200	>200
		$\times 10^2$	≤ 0.1	100	200
		$\times 10^4$	≤ 0.1	50	50

Inoculum size : 1 loopful of bacterial suspension

Medium : Mueller-Hinton agar (Eiken)

H. influenzae (26 株) に対する抗菌力を Fig. 16 に示した。累積百分率は 10^6 cells/ml のみ示したが、T-2525 が最も優れた抗菌力を示し $\leq 0.05 \mu\text{g/ml}$ の低濃度で 100% の株を発育阻止した。一方 CEX, CCL, CFT および ABPC の 50% 発育阻止濃度はそれぞれ $12.5 \mu\text{g/ml}$, $1.56 \mu\text{g/ml}$, $1.56 \mu\text{g/ml}$ および $0.4 \mu\text{g/ml}$ を示し

た。また ABPC には約 10% の高度耐性菌が存在した。

(12) *B. fragilis*

B. fragilis (25 株) に対する抗菌力を Fig. 17 に示した。T-2525 は CEX, CCL, CXD および CFT よりも優れ 10^6 cells/ml で $6.25 \mu\text{g/ml}$ で 50% 以上の株が発育阻止された。

3) T-2525 の抗菌力におよぼす諸因子の影響

S. aureus FDA 209 P, *E. coli* NIHJ, *E. coli* TK-16, *K. pneumoniae* Y-41, *S. marcescens* IID 620, *P. vulgaris* T-181 を用いて, 培地の種類, 培地 pH, ヒト血清添加および接種菌量における抗菌力の影響を CEX, CCL と比較検討した。その結果を Table 4, 5, 6, 7 に示した。各種培地による抗菌力の変動は T-2525, CEX および CCL とともに認められなかった。培地 pH の影響については T-2525 および CEX, CCL とともに, *S. aureus* FDA 209 P で酸性側への移行とともに抗菌力が強くな

ったが他の菌株では抗菌力の変動はほとんど認められなかった。ヒト血清添加については T-2525 は *S. marcescens* IID 620 で血清添加量の増加とともに抗菌力が強くなる傾向が認められたが CEX, CCL では抗菌力が 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上のため判定できなかった。他の菌株ではいずれの抗生剤も変動はほとんど認められなかった。

接種菌量の影響については T-2525 は *S. aureus* FDA 209 P, *S. marcescens* IID 620, *P. vulgaris* T-181 において接種菌量の増加に伴い抗菌力はやや低下する傾向が認められた。

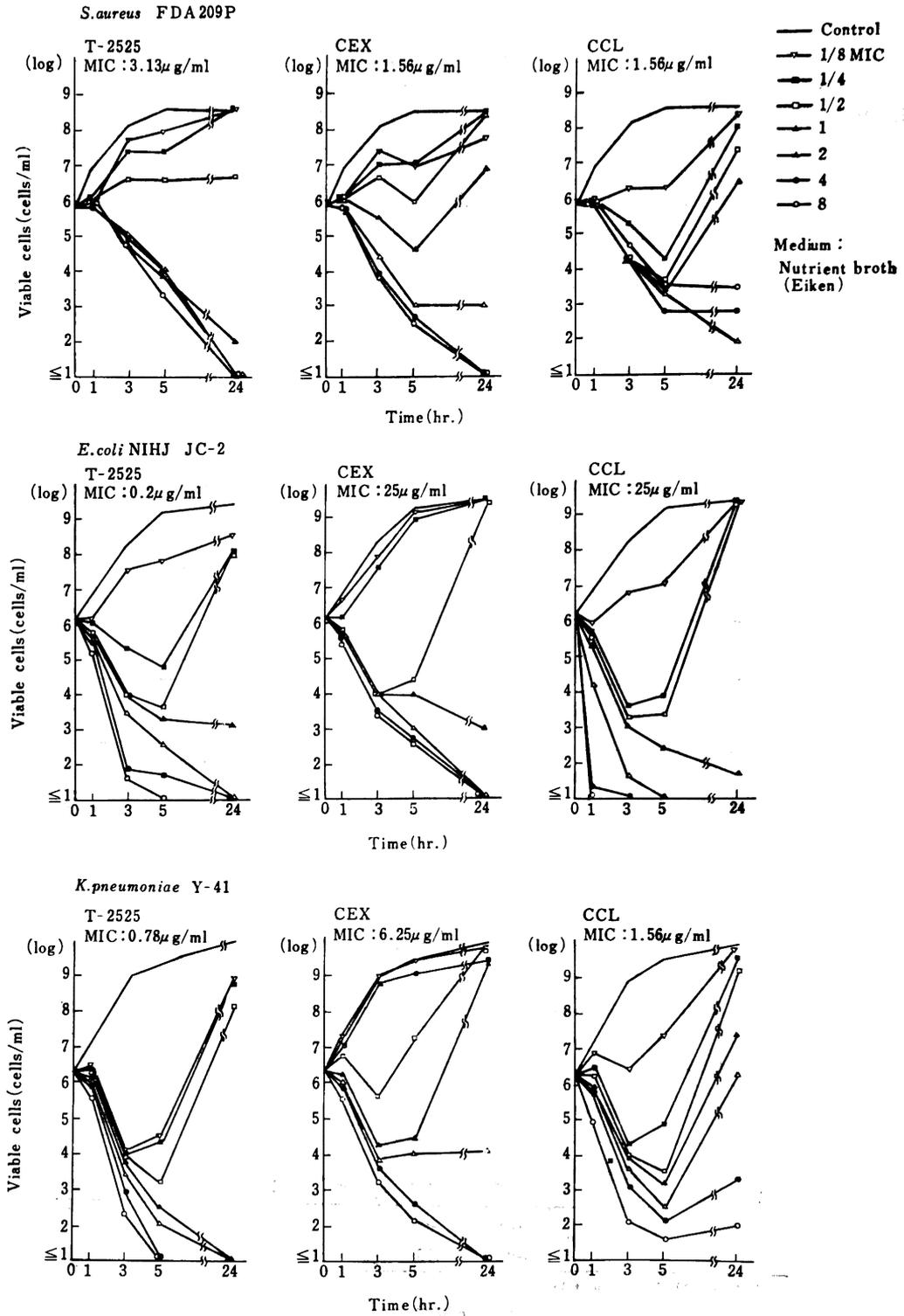
Table 8 Correlation between MICs and MBCs

Organism	Inoculum size (cells/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)/MBC ($\mu\text{g/ml}$)		
		T-2525	CEX	CCL
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	1.31×10^6	3.13 / 50	1.56 / >100	1.56 / >100
	1.31×10^4	3.13 / 6.25	1.56 / 1.56	0.39 / 0.78
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	2.66×10^6	0.2 / 3.13	25 / >100	25 / 50
	2.66×10^4	0.2 / 0.2	6.25 / 6.25	1.56 / 3.13
<i>E. coli</i> TK-16	3.24×10^6	0.05 / 1.56	12.5 / >100	12.5 / >100
	3.24×10^4	0.05 / 0.05	6.25 / 6.25	1.56 / 1.56
<i>K. pneumoniae</i> Y-4	1.2×10^6	0.39 / 0.78	12.5 / 25	6.25 / 25
	1.2×10^4	0.39 / 0.39	12.5 / 12.5	1.56 / 3.13
<i>K. pneumoniae</i> Y-41	2.05×10^6	0.78 / 0.78	6.25 / 12.5	1.56 / 6.25
	2.05×10^4	0.39 / 0.39	6.25 / 12.5	1.56 / 1.56
<i>P. vulgaris</i> GN 3027	2.67×10^6	50 / >100	>100 / >100	>100 / >100
	2.67×10^4	0.00313 / 0.00313	25 / 100	25 / 50
<i>S. marcescens</i> IID 620	1.82×10^6	0.78 / >100	>100 / >100	>100 / >100
	1.82×10^4	0.78 / 0.78	>100 / >100	>100 / >100

Medium : MIC ; Nutrient broth (Eiken)

MBC ; Heart infusion agar (Eiken)

Fig. 18 Bactericidal effects of T-2525



4) 殺菌作用

T-2525 の殺菌作用について MIC と MBC の関係および菌の増殖に及ぼす影響について検討した。

(1) MIC と MBC の関係

標準株として *S. aureus* FDA 209 P, *E. coli* NIHJ JC-2 *S. marcescens* IID 620 の 3 株と臨床分離株として *E. coli* TK-16, *K. pneumoniae* Y-4, *K. pneumoniae* Y-41 および *P. vulgaris* GN 3027 の 4 株を用い接種菌量 10^6 cells/ml および 10^4 cells/ml で MIC および MBC を比較しその結果を Table 8 に示した。

T-2525 は 10^4 cells/ml 接種ではいずれの菌株に対しても MIC と MBC がよく一致し、殺菌的に作用したが、対照の CEX, CCL は *P. vulgaris* GN 3027 および *S. marcescens* IID 620 に対し MBC が $50 \mu\text{g/ml}$ 以上の高値を示した。

10^6 cells/ml 接種では T-2525 は他剤同様 MIC と MBC の値に大きな差が認められ接種菌量の影響をうけた。

(2) 増殖曲線に及ぼす影響

S. aureus FDA 209 P, *E. coli* NIHJ JC-2 および *K. pneumoniae* Y-41 の対数増殖期の菌に薬剤を作用させその後の生菌数の変化を 24 時間まで観察しその結果を Fig. 18 に示した。*S. aureus* FDA 209 P に対して T-2525 は 1 MIC ($3.13 \mu\text{g/ml}$) で殺菌的に作用したが対照の CEX, CCL は 1 MIC で菌の再増殖が認められた。*E. coli* NIHJ JC-2 ではいずれの薬剤も 1 MIC で殺菌的に

に作用したが、T-2525 は $0.2 \mu\text{g/ml}$ の低濃度で菌の増殖を阻止したのに対し CEX および CCL は $25 \mu\text{g/ml}$ で阻止した。*K. pneumoniae* Y-41 に対しては T-2525 は 1 MIC ($0.78 \mu\text{g/ml}$) で殺菌的に作用したが CEX および CCL は *S. aureus* と同様 1 MIC で菌の再増殖が認められた。

5) β -lactamase に対する安定性

臨床分離菌 11 株の菌体から得られた CSase および PCase に対する T-2525 の安定性を Table 9 に示した。T-2525 は CSase に対して CEX, CCL, CXD および CFT と比較して非常に安定であったが、従来から報告^{7,8)}されている 7 位にアミノチアゾール側鎖をもつセフェム剤をよく加水分解する *P. vulgaris* T-178 および *B. fragilis* B-16 の産生酵素には比較的不安定であった。PCase に対しては T-2525 は他の経口用セフェム剤同様安定であった。

6) 位相差顕微鏡による形態変化および PBP_s に対する親和性

E. coli NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* Y-41 および *P. vulgaris* T-181 に各濃度の薬剤を作用させ培養 5 時間後の菌の形態変化を観察した結果を Fig. 19 に示した。また T-2525 の *E. coli* JE 1011 の PBP_s に対する親和性の検討結果を Fig. 20 に示した。T-2525 は CEX, CCL と同様広い濃度範囲で filament を形成させた後溶菌させた。

PBP_s に対する T-2525 の親和性については PBP-3

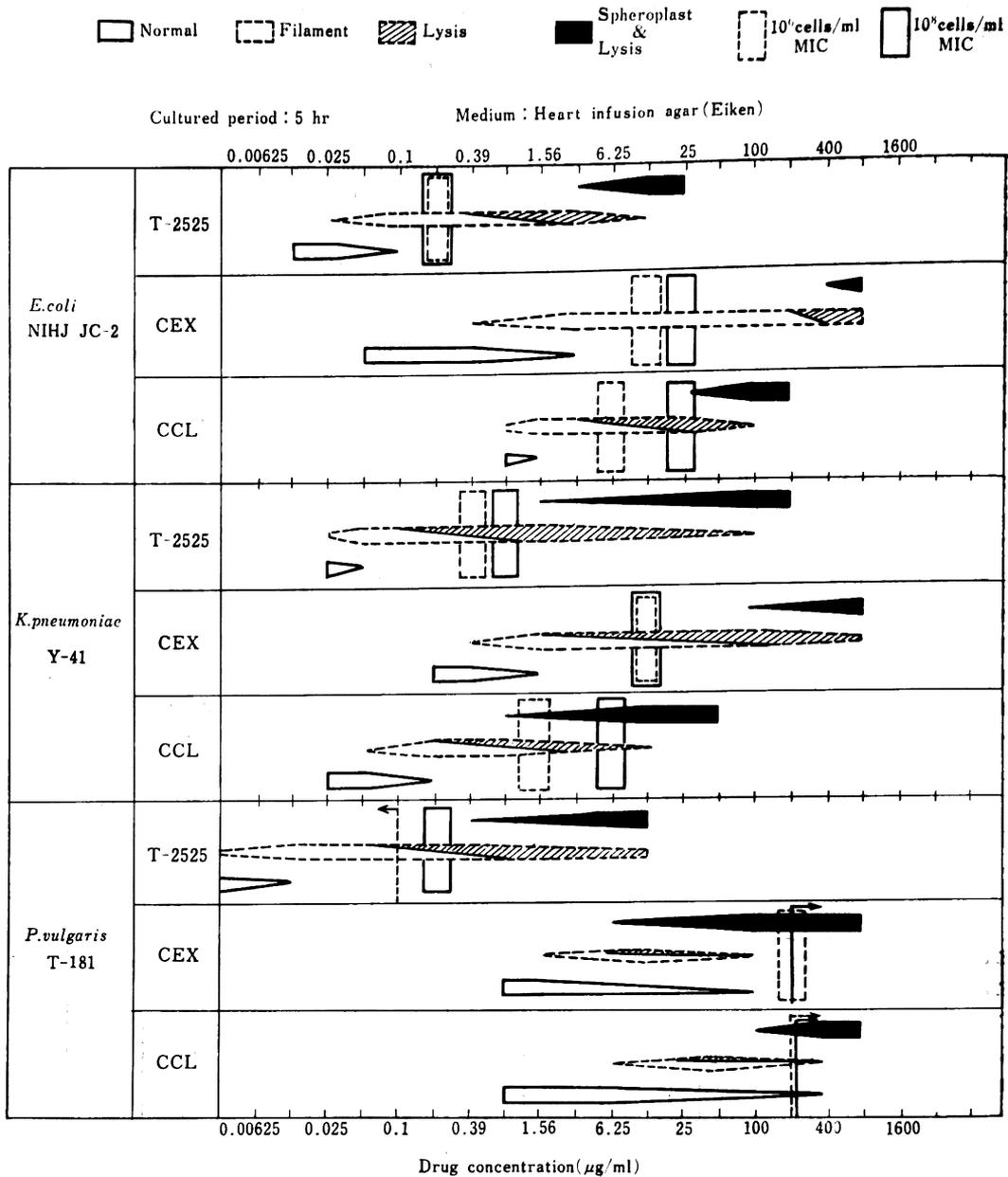
Table 9 Stability of T-2525 to β -lactamase

Enzyme source	Type of β -lactamase	Relative rate of hydrolysis*							
		CER	PCG	T-2525	CEX	CCL	CXD	CFT	ABPC
<i>E. coli</i> GN5482	CSase	100	N.D.**	2.5	62	96	70	37	N.D.
<i>E. cloacae</i> H-27	CSase	100	4	0.2	35	106	56	27	0.6
<i>C. freundii</i> N-4	CSase	100	15	0.2	100	195	114	73	8.6
<i>S. marcescens</i> W-24	CSase	100	26	2.7	57	201	79	17	0.2
<i>M. morgani</i> T-211	CSase	100	43	1.2	25	156	70	34	4
<i>P. rettgeri</i> GN4430	CSase	100	7.5	8.1	31	30	50	95	0.3
<i>P. vulgaris</i> T-178	CSase	100	16	18.1	41	399	160	252	24
<i>B. fragilis</i> B-16	CSase	100	N.D.	21	1.6	40	5.5	17	N.D.
<i>E. coli</i> ML1410 RTK-3 ⁺	Type I PCase	17	100	0.1	0.2	1.9	1.7	3.6	N.D.
<i>P. aeruginosa</i> GN3379	Type IV PCase	58	100	0.1	0.03	<0.1	0.06	<0.1	95
<i>K. pneumoniae</i> Y-4	PCase	15	100	0.2	0.4	4.1	1.5	2.2	126

* Hydrolysis of each substrate by CSase and PCase is expressed as relative rate of hydrolysis, taking the CER and PCG hydrolysis as 100, respectively. Enzyme activity was determined by spectrophotometric method. In case of CCL and CFT, microiodometric assay was performed.

** not determined.

Fig. 19 Morphological changes at various concentrations of T-2525



に対する親和性が最も高く PBP-1 Bs および PBP-1 A がそれに続いたが PBP-2 およびその他の PBP に対する親和性は低かった。T-2525 が隔壁形成を阻害する PBP-3 に高い親和性を示すことは、位相差顕微鏡下で観察されたように T-2525 で処理された菌が filament を形成することを裏付けていた。

7) マウス実験的感染症に対する治療効果

グラム陽性菌 1 株、グラム陰性菌 5 株を用いたマウス実験的感染症に対する治療効果を CEX, CCL および CXD を対照として検討しその結果を Table 10 に示した。T-2588 は *S. aureus* F-31 に対して他の薬剤に比較して治療効果は劣っていたが、グラム陰性菌に対しては他の薬剤と比較してはるかに優れた治療効果を示した。また従来の経口用セフェム剤に対して無効である *S.*

Table 10 *In vivo* antibacterial activity of T-2588 against systemic infection

Strain	Challenge dose (cells/mouse)	Mucin	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		ED ₅₀ (mg/mouse)
				10 ⁸	10 ⁶	
<i>S. aureus</i> F-31	1.0×10 ⁸	+	T-2588*	3.13	1.56	0.44
			CEX	3.13	1.56	0.032
			CCL	3.13	1.56	0.0069
			CXD	6.25	3.13	0.0091
<i>E. coli</i> TK-16	1.3×10 ⁷	-	T-2588	0.2	0.2	0.021
			CEX	12.5	12.5	0.77
			CCL	25	3.13	0.15
			CXD	25	6.25	0.51
<i>K. pneumoniae</i> Y-50	1.2×10 ⁸	+	T-2588	0.05	0.05	0.19
			CEX	6.25	6.25	3.08
			CCL	6.25	1.56	0.22
			CXD	6.25	3.13	1.54
<i>S. marcescens</i> IID 620	1.2×10 ⁷	+	T-2588	0.39	0.2	0.028
			CEX	>200	>200	>10
			CCL	>200	>200	>10
			CXD	>200	>200	>10
<i>P. mirabilis</i> T-111	2.3×10 ⁷	+	T-2588	0.2	0.1	0.048
			CEX	25	25	1.16
			CCL	25	25	0.064
			CXD	25	12.5	0.38
<i>P. vulgaris</i> T-181	1.1×10 ⁷	+	T-2588	0.2	0.1	0.021
			CEX	>200	200	> 4.1
			CCL	>200	>200	1.8
			CXD	>200	200	> 5.4

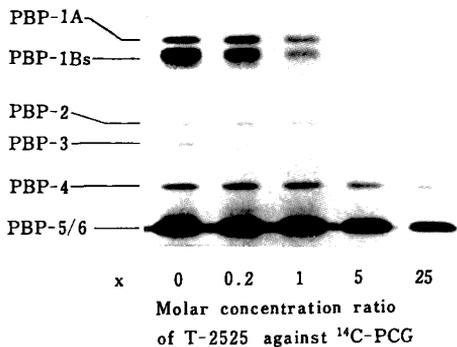
* MIC and ED₅₀ of T-2588 represent as T-2525.

Therapy: Oral administration at 1 hr after i.p. infection

Animal: SLC/ICR strain mice, 20±1g, ♂, 5mice/group

Calculation of ED₅₀: VAN DER WAERDEN method

Fig. 20 Affinity of T-2525 to *E. coli* JE 1011 PBPs



marcescens IID 620, *P. mirabilis* T-111 および *P. vulgaris* T-181 に対しても T-2588 は *in vitro* 効果に相関した優れた治療効果を示した。

文 献

- 1) 貞木 浩, 今泉弘之, 稲場太喜広, 平川龍夫, 室谷美晴, 渡辺泰雄, 南新三郎, 才川 勇: β -ラクタム系抗生物質の薬学的研究 (第18報) 7 β -[(Z)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-substituted Methyl-3-cephem-4-carboxylic Acid 誘導体の合成並びに構造活性相関。薬学雑誌 106: 129~146, 1986
- 2) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29 (1): 76~79, 1981
- 3) NOVICK, R. P.: Microiodometric assay for penicillinase. Biochem. J. 83: 236~240, 1962
- 4) 小此木研二, 木田院司, 米田雅彦: Mecillinam の大腸菌に対する抗菌力および β -lactamase に対する態度。Chemotherapy 25: 94~99, 1977
- 5) WALEY, S. G.: A spectrophotometric assay of β -lactamase action on penicillin. Biochem. J. 139: 789~790, 1974
- 6) SPRATT, B. G.: Properties of the penicillin-

- binding proteins of *Escherichia coli* K-12.
Eur. J. Biochem. 72 : 341~352, 1977
- 7) MATSUBARA, N.; A. YOTSUJI, K. KUMANO,
M. INOUE & S. MITSUHASHI: Purification and
some properties of a cephalosporinase from
Proteus vulgaris. Antimicrob. Agents &
Chemother. 19 : 185~187, 1981
- 8) SATO, K.; M. INOUE & S. MITSUHASHI: Activity
of β -lactamase produced by *Bacteroides fra-*
gilis against newly introduced cephalosporins.
Antimicrob. Agents Chemother. 17 : 736~
737, 1980

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF T-2588, A NEW ORAL CEPHEM ANTIBIOTIC

ISAMU SAIKAWA, TAKASHI YASUDA, YASUO WATANABE, YOSHIKAZU FUKUOKA,
AKIRA YOTSUJI, SHINZABURO MINAMI, YOSHIKO YAMASHIRO,
HARUMI ARAKI and NAOKO OOGAKE
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

T-2588 is a new orally absorbable prodrug of T-2525. *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of T-2588 and T-2525 was examined and the following results were obtained.

- 1) T-2525 had a broad antibacterial spectrum against gram-positive and gram-negative bacteria, including resistant ones to the other cephem antibiotics, and showed the potent antibacterial activity, especially against *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., Indole (+) *Proteus* sp., *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae* and *Bacteroides fragilis*.
- 2) The antibacterial activity of T-2525 was hardly changed by pH of medium and the kind of medium, and the addition of human serum into culture media. However, the antibacterial activity of T-2525 against several bacterial species and strains tended to decrease slightly with the increase of inoculum size.
- 3) The antibacterial activity of T-2525 was bactericidal at MIC.
- 4) T-2525 was very stable to penicillinase and cephalosporinase.
- 5) The affinity of T-2525 for penicillin binding proteins of *E. coli* was stronger in the following order, PBP 3>1Bs>1A.
- 6) The therapeutic effects of T-2588 in mice infected with gram-negative bacteria were superior to those of reference compounds, while they were inferior to those of reference compounds against infection with *Staphylococcus aureus*.