

## Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) の $\beta$ -Lactamase に 対する安定性とペニシリン結合蛋白質への親和性

村上和久・土肥正善・野村和秀・中本省三・吉田 正  
塩野義製薬株式会社研究所

Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) は, *Staphylococcus aureus* の penicillinase, 各種グラム陰性菌の penicillinase および, *Proteus vulgaris* の cephalosporinase に安定であったが, その他の cephalosporinase には, わずかに加水分解され, cephamycin 系抗生物質に特徴的な感受性パターンを示した。

6315-S は, *Escherichia coli* K12 のペニシリン結合蛋白質 (PBP) 1a と 3 に特に高い親和性を示したが, その他の PBP-1b, -4, -5, -6 にも結合した。これらの PBP に対する親和性は, Latamoxef (LMOX) と同程度であり, 最小発育阻止濃度 (MIC) も同様であった。

*S. aureus* ATCC 25923 の PBP については, 6315-S は, PBP-4 には Cefazolin (CEZ) より高い親和性を示したが, その他の PBP には CEZ と同程度の親和性であり, MIC も両者共 0.2  $\mu$ g/ml であった。一方, LMOX や Cefotaxime (CTX) と比較すると, 6315-S は, PBP-3 に対しては, 両薬剤より約 10 倍高い親和性を示し, PBP-2 に対しては, LMOX より約 3 倍高い親和性を示した。これに相関して, MIC も CTX または LMOX よりそれぞれ 1/4 または 1/16 低かった。

Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef : FMOX) は, グラム陰性腸内細菌群に対し強い抗菌活性を持っているが, 特徴的なことは, 従来の第三世代 cephalosporin 類が弱い抗菌力しか示さなかった黄色ブドウ球菌に対しても抗菌スペクトルが拡大された点である<sup>1)</sup>。本論文では, 種々のグラム陰性菌や *Staphylococcus aureus* が産生する  $\beta$ -lactamase に対する 6315-S の安定性を調べるとともに, *Escherichia coli* や *S. aureus* の PBP に対する親和性を検討したので報告する。

### I. 材料と方法

#### 1. 菌株

*Klebsiella pneumoniae* GN69 は, 千葉大学微生物薬品化学教室より, *Enterobacter cloacae* 214, *E. coli* W3110 (RTEM) は, M. H. RICHMOND (University of Manchester, 英国) より, *S. aureus* SR1587 は, 都立養育院付属病院内科より分与された。その他は, 塩野義製薬研究所で保存されている株を用いた。

#### 2. 薬剤

6315-S (FMOX, 塩野義製薬), Cefazolin (CEZ, 藤沢薬品), Cefotaxime (CTX, 中外製薬), Cephaloridine (CER, 塩野義製薬), Cefoxitin (CFX, 日本メルク葛有), Cefotiam (CTM, 武田薬品工業),

Ampicillin (ABPC, 明治製薬), Penicillin G (PCG, 明治製薬), [<sup>14</sup>C] Penicillin G ([<sup>14</sup>C] PCG, Amersham, 英国) を使用した。

#### 3. $\beta$ -Lactamase 標品の調製

1) *S. aureus* の  $\beta$ -lactamase : 5 ml の Mueller-Hinton broth (Difco) 中で 37°C で一夜静置培養した *S. aureus* SR 1587 の菌液を 100 ml の同じ培地に加え, 37°C で 2 時間振とう培養した後, CEZ を 12.5  $\mu$ g/ml になるように加え, さらに 2 時間振とう培養を続けて  $\beta$ -lactamase を誘導した。その後, 4°C, 3,000  $\times$  g で 15 分間遠心して集菌し, 菌体を 1 回洗浄した後, 3 ml の 0.1 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) に懸濁し,  $\beta$ -lactamase 標品として用いた。

2) グラム陰性菌の  $\beta$ -lactamase : グラム陰性菌は, 乾燥ブイオン(日水)で培養した。非誘導型  $\beta$ -lactamase 産生菌 (*Citrobacter freundii* SR19, *Pseudomonas aeruginosa* SR24-12, *E. coli* SR6, *E. cloacae* 214, *Klebsiella oxytoca* SR753, *K. pneumoniae* GN69, *E. coli* W3110 (RTEM)) は, 2L の培地中で 37°C で一夜静置培養した。誘導型  $\beta$ -lactamase 産生菌 (*Proteus vulgaris* SR31) は, 200 ml の培地で 37°C で一夜静置培養し, この菌液を 1.8L の新鮮な培地に加えて 37°C で 2 時間振とう培養し, PCG を 100  $\mu$ g/ml に

なるように加え、さらに2時間培養して $\beta$ -lactamaseを誘導した。培養した菌液は、4°C、3,000×g 15分間の遠心で集菌し、一度洗浄した後、*E. coli* W3110 (RTEM) は、0.01M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 8.0) に、その他の菌は、pH 6.6 の同じ緩衝液に懸濁した。菌体を氷冷下で超音波破碎し、4°C、30,000×g で30分間遠心した後上清を集めた。別報に記載した通り<sup>2)</sup>、*E. coli* W3110 (RTEM) の $\beta$ -lactamase は、DEAE-Sephadex A-25 カラムを用い、その他の $\beta$ -lactamase は、CM-Sephadex C-50 カラムを用いて上清から部分精製した。活性画分を0.1M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) に対して透析した後、使用するまで-78°Cに分注保存した。

#### 4. $\beta$ -Lactamase 活性の測定

測定には、0.1M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) を用いた。

1) UV 法： $\beta$ -lactam 環の開裂に伴う紫外吸収の減少を利用して加水分解速度を測定した<sup>3, 4)</sup>。2 ml の基質溶液に0.2 ml の酵素溶液を加えて反応を開始し、30°Cの水を循環させた日立ダブルビーム分光光度計 200-20 と付属の日立 200 形卓上記録計で吸光度の減少を記録し、加水分解速度を算出した。阻害定数  $K_i$  を測定する場合は、阻害剤と基質の混合液 2 ml に酵素溶液 0.2 ml を加えて反応を開始した。*Lineweaver-Burk* プロット<sup>5)</sup> から最大加水分解速度  $V_{max}$ 、ミカエリス定数  $K_m$  および  $K_i$  を求めた。

2) Bioassay 法：Microtiter 用Vプレート (Greiner, 西独) 上で、*S. aureus* の酵素標品 (菌液) を 50  $\mu$ l の緩衝液で11管まで2倍系列希釈し、これに同量の基質溶液 (最終濃度 250  $\mu$ g/ml) を加え、37°Cで4時間インキュベートした。インキュベート中、20分ごとに反応溶液をかくはんした。200×gで10分間Vプレートを遠心して菌体を沈殿させ、上清中の薬剤濃度を *E. coli* B を検定菌にして agar well assay 法で測定した。グラフで50%の基質を不活化する酵素の希釈率を求め、その逆数の比によって ABPC の加水分解速度を100とした時の相対加水分解速度を算出した。

#### 5. *E. coli* および *S. aureus* の PBP に対する薬剤の親和性の測定

1) 膜画分の調製：*E. coli* K12の場合、Antibiotic medium 3 (Difco) 中で37°Cで振とう培養し、対数増殖期にある菌を4°C、4,000×gで10分間遠心して集菌した。1回洗浄後、0.01M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) に懸濁して氷冷下5分間超音波破碎した。4°C、4,000×gで10分間遠心して生菌を除いた上清を4

°C、100,000×gで30分間遠心して膜画分を集めた。懸濁-遠心を繰り返して膜画分を同じ緩衝液で3回洗浄した後、0.05M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) に蛋白質濃度が20 mg/ml になるように懸濁して使用するまで-78°Cに保存した。

*S. aureus* ATCC 25923 の場合は、brain heart infusion broth (Difco) 中で37°Cで振とう培養し、対数増殖期の菌を4°C、4,000×gで10分間遠心して集菌し、1回洗浄した。菌体を、lysostaphin (Sigma) を50  $\mu$ g/ml、lysozyme (Sigma) を100  $\mu$ g/ml、NaCl を4 M 含む0.05M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.5) に懸濁し、37°Cで30分間インキュベートして溶菌させた。Deoxyribonuclease I (Sigma) と ribonuclease A (Sigma) をそれぞれ10  $\mu$ g/ml になるように加え、0.002M  $\text{MgCl}_2$  を含む0.01M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.5) に対して4°Cで一晩透析した。あとは、*E. coli* K12 の場合と同様にして膜画分を集め、0.01M の  $\text{MgCl}_2$  を含む0.05M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.0) に蛋白質濃度が20 mg/ml になるように懸濁して、使用するまで-78°Cに保存した。

2) 親和性の測定：SPRATT の方法に準じて行なった<sup>6)</sup>。すなわち、200  $\mu$ l の膜画分と20  $\mu$ l の被検薬を混ぜ、30°Cで10分間インキュベートした後20  $\mu$ l の [<sup>14</sup>C] PCG (50  $\mu$ Ci/ml) を加えて、さらに10分間インキュベートした。15  $\mu$ l の sarkosyl (20%) と5  $\mu$ l の PCG (120 mg/ml) を加え、溶かした PBP を SDS ポリアクリルアミドスラブゲル電気泳動にかけ、フルオログラフィーで検出した。

## II. 結 果

### 1. $\beta$ -lactamase に対する安定性

Table 1 に各種グラム陰性菌の $\beta$ -lactamase に対する $\beta$ -lactam 剤の安定性と親和性を示した。6315-S は、cephalosporinase に対しては、CER, CEZ, CTM と比較すると  $V_{max}$  は小さかったが、LMOX よりは不安定で、加水分解された。CFX も6315-S に比べれば  $V_{max}$  は小さいが、同様に加水分解された。一方、*P. vulgaris* の cephalosporinase や R プラスミド由来の $\beta$ -lactamase を含む penicillinase に対しては、7  $\alpha$ -methoxy 基のために非常に安定であった。これは、7  $\alpha$ -methoxy 基を持たない薬剤と対照的であった。

*S. aureus* の penicillinase に対しては、6315-S の加水分解は、観察されなかった (Table 2)。一方、CER や CEZ は、速度は小さいが、加水分解された。

### 2. PBP に対する親和性

Table 1 Stability and affinity of  $\beta$ -lactam antibiotics to  $\beta$ -lactamases

Source of $\beta$ -lactamase <sup>a)</sup>	Specificity <sup>b)</sup>	6315-S		Cephaloridine		Cefotiam		Cefazolin		Latamoxef		Cefoxitin		Ampicillin	
		Vmax <sup>c)</sup> Km/Ki ( $\mu$ M)	Vmax Km ( $\mu$ M)												
<i>Citrobacter freundii</i> SR19	C	0.21 2.5/	100 1200	1.6 32	350 5000	<0.01 0.043	0.02 1.3	0.03 1.7							
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SR24-12	C	0.65 8.2/	100 690	6.2 90	1000 6500	<0.01 0.18	0.07 2.9	1.2 18							
<i>Escherichia coli</i> SR6	C	5.2 51/	100 750	58 410	130 1400	<0.04 0.36	0.21 2.6	1.7 8.2							
<i>Enterobacter cloacae</i> 214	C	0.37 3.0/	100 670	8.9 110	170 2100	<0.01 0.062	0.02 0.38	<0.1							
<i>Proteus vulgaris</i> SR31	C	<0.02 /14	100 170	200 610	440 240	<0.02 39	<0.05 -	11 7.1							
<i>Klebsiella pneumoniae</i> GN69	P	<0.05 /430	100 190	9.8 410	9.4 69	<0.05 >1000	- <sup>d)</sup> -	-							
<i>Klebsiella oxytoca</i> SR753	P	<0.02 /38	100 190	0.66 22	12 9.8	<0.02 150	<0.04 -	94 48							
<i>Escherichia coli</i> W3110 (RTEM)	P	<0.05 /270	100 790	20 2100	14 500	<0.05 810	<0.05 -	160 72							

a) Enzymes used were partially purified.  
 b) C and P indicate cephalosporinase and penicillinase, respectively.  
 c) Hydrolysis rates were determined by UV assay at 30°C. Vmax are relative to an arbitrary value of 100 for cephaloridine.  
 d) Not determined.

Table 2 Stability of  $\beta$ -lactam antibiotics to penicillinase of *Staphylococcus aureus* SR1587

$\beta$ -Lactam antibiotic	Relative hydrolysis rate
6315-S	< 0.01
Cefazolin	0.15
Latamoxef	< 0.01
Cefotiam	< 0.01
Cefotaxime	< 0.01
Cephaloridine	0.10
Ampicillin	100

Hydrolysis rates were determined by bioassay.

*E. coli* K12 の PBP に対する 6315-S の親和性を LMOX のそれと比較した (Fig. 1)。6315-S は、各種の PBP に対し、LMOX と類似した親和性を示した。PBP-1a と -3 に親和性が高かったが、特に PBP-3 に対して高く、0.2  $\mu$ g/ml の濃度で 50% 以上の PBP-3 と結合した。6315-S は、PBP-1b、-4、-5、-6 にも低い親和性を示したが、PBP-2 には、13  $\mu$ g/ml まで親和性を示さなかった。この株に対する 6315-S と LMOX の MIC はそれぞれ 0.05 と 0.1  $\mu$ g/ml であった。  
 感受性 *S. aureus* ATCC 25923 の PBP に対する親和性を 6315-S と他剤とで比較した (Fig. 2)。6315-S は、PBP-2、-3、に対しては CEZ と同程度の親和性を示し、0.58  $\mu$ g/ml で 50% 以上の PBP と結合した。

Fig. 1 Binding of  $\beta$ -lactam antibiotics to penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K12.

$\beta$ -Lactams at the concentrations indicated in the figures were incubated with the bacterial membrane at 30°C for 10 min prior to the addition of [<sup>14</sup>C] penicillin G. MICs of 6315-S and latamoxef were 0.05 and 0.1  $\mu$ g/ml, respectively.

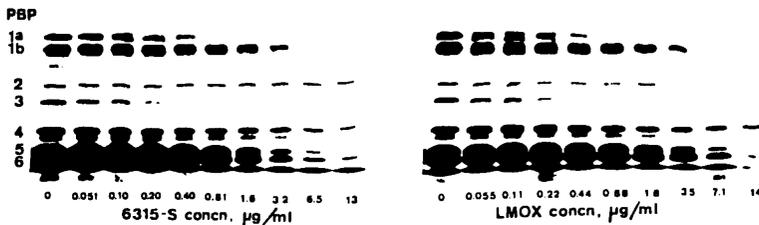
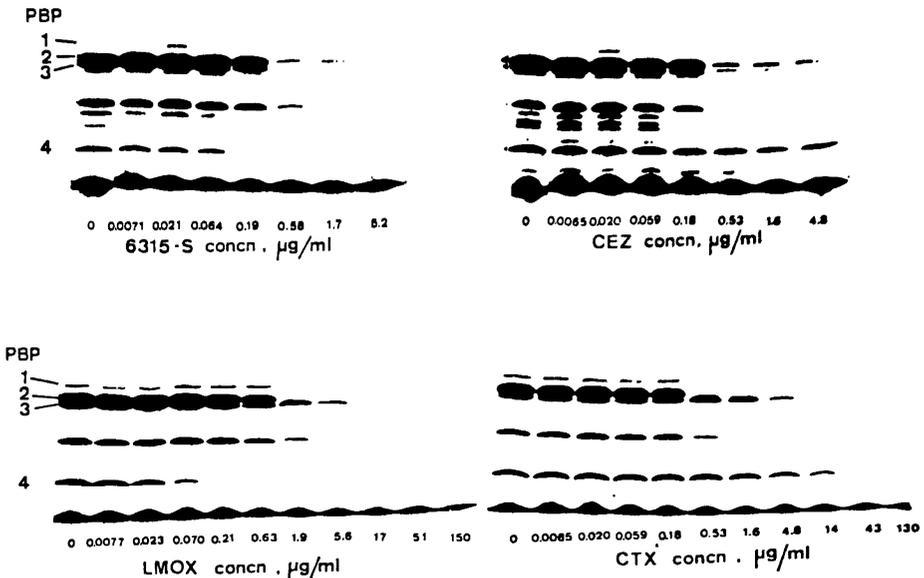


Fig. 2 Binding of  $\beta$ -lactam antibiotics to penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Details are described in legend of Fig. 1 MICs of 6315-S, cefazolin, latamoxef, and cefotaxime were 0.2, 0.2, 3.1, and 0.8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively.



PBP-4 に対しては、6315-S の方が親和性が高かった。一方、LMOX や CTX と比較すると、6315-S の親和性は PBP-2 に対しては LMOX より約 3 倍高く、CTX とは同程度であった。また、PBP-3 に対しては、6315-S の方が両薬剤より約 10 倍親和性が高かった。PBP-4 に対する 6315-S の親和性は CTX よりは高かったが LMOX とは同程度か若干低かった。6315-S、CEZ、LMOX、CTX のこの株に対する MIC は、それぞれ 0.2, 0.2, 3.1, 0.8  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった。

### Ⅲ. 考 察

7  $\alpha$ -methoxy 基は、 $\beta$ -lactamase に対し薬剤を安定化させる効果があるが<sup>7, 8)</sup>、この効果は、主に penicillinase と例外的に *P. vulgaris* の cephalosporinase に強く働き、その他の cephalosporinase に対しては安定化の効果はあるものの penicillinase の場合に比べれば比較的弱いことが報告された<sup>2, 9)</sup>。したがって、cephamycin 系の薬剤は、cephalosporinase に対しては、penicillinase や *P. vulgaris* の酵素の場合程安定ではない。Table 1 に示した 6315-S の  $\beta$ -lactamase 感受性パターンは、CFX のそれと同様典型

的な cephamycin 型であった。LMOX の場合は、7 位側鎖に carboxyl 基があるために cephalosporinase にも安定であったが<sup>9)</sup>、6315-S の場合は、対応する位置に同様の置換基がないため、cephalosporinase には加水分解されたと考えられる。Penicillinase 産生菌の多い *E. coli* や *Klebsiella* sp. などに対しては 6315-S は、LMOX と同程度の抗菌活性を示したが、一方、cephalosporinase 産生菌の多い *Enterobacter* sp. や *C. freundii* などでは LMOX に比べて耐性菌が多いことが明らかにされた<sup>1)</sup>。これは、6315-S の  $\beta$ -lactamase 感受性パターンを反映したものである。

ABPC や CEX など *E. coli* の PBP-3 に親和性の高い薬剤は、隔壁合成を阻害して菌を伸長させることが知られている<sup>10)</sup>。6315-S は、この部類に入る薬剤で、PBP-3 に特に親和性が高く (Fig. 1)、そして、低濃度で *E. coli* を伸長させることが明らかにされた<sup>1)</sup>。LMOX も、既に報告されている結果とよく一致して<sup>11, 12)</sup>、PBP-3 に親和性が高く (Fig. 1)、菌を伸長させることも報告されている<sup>13)</sup>。以上のことから、6315-S は、*E. coli* に対する抗菌作用では、LMOX と非常に類似した薬剤であった。

第一世代の cephalosporin 類には、CEZ のように感受性 *S. aureus* に高い抗菌活性を示す薬剤が多いが、6315-S も感受性 *S. aureus* ATCC 25923 に活性が高く、CEZ と同じ MIC を示した。PBP に対する親和性においても、6315-S は、PBP-2、-3 に対して CEZ とほぼ同じ親和性を示しており、このことは、6315-S の抗菌活性が CEZ に匹敵するという事実をよく裏づけている。また、PBP-4 に対しては、6315-S の方が親和性が高かった。これは LMOX でも同様であり、7 $\alpha$ -methoxy 基の作用と思われる。Methicillin-Cefazolin 耐性 *S. aureus* においては、種々の cephalosporin と組み合わせた時、LMOX が相乗作用を示すことから<sup>14)</sup>、PBP-4 に対する親和性が抗菌活性に影響することが示唆されているが、感受性菌では、これは、影響を与えなかった。第一世代の cephalosporin 類とは対照的に第三世代の薬剤は、グラム陰性菌には強い抗菌活性を示す一方で、*S. aureus* など一部のグラム陽性菌には活性が弱いという弱点を持っている。*S. aureus* の PBP に対する親和性を第三世代の代表的薬剤である LMOX や CTX と比較すると、6315-S の親和性は PBP-3 に対しては約 10 倍高く、PBP-2 に対しては LMOX より約 3 倍高く、CTX とは同程度であった。したがって、抗菌活性は、6315-S が最も高く、ついで CTX、LMOX の順であることを考え合わせると 6315-S と CTX または LMOX の抗菌活性の差は、それぞれ PBP-3 または PBP-2 とに対する親和性の差によるものと考えられる。

以上、6315-S の *E. coli* と *S. aureus* に対する抗菌作用について検討した。*E. coli* では、PBP 親和性や抗菌活性について 6315-S は LMOX と大きな差がなかった。一方、*S. aureus* においては、PBP-2 と PBP-3 に対する親和性が LMOX より強いことが明らかとなり、結果としてすぐれた抗菌活性に反映した。これが、6315-S の抗菌作用の大きな特徴であった。

(実験期間：1982年9月～1984年4月)

#### 文 献

- 1) 亀田康雄, 永田 弘, 元川清司, 深尾 孝, 中本省三, 渡辺芳浩, 吉田 正: Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) の *in vitro* 抗菌作用. *Chemotherapy* 35 (S-1) : 76~107, 1987
- 2) 村上和久, 吉田 正: Oxacephem 系抗生物質 6059-S のグラム陰性菌由来  $\beta$ -lactamase に対する安定性とその抗菌活性に及ぼす影響. *Chemotherapy* 28 (S-7) : 132~138, 1980
- 3) JANSSON, J. A. T. : A direct spectrophotometric assay for penicillin  $\beta$ -lactamase (penicillinase). *Biochim. Biophys. Acta* 99 : 171~172, 1985
- 4) O'CALLAGHAN, C. H. ; P. W. MUGGLETON & G. W. ROSS : Effects of  $\beta$ -lactamase from gram-negative organisms on cephalosporins and penicillins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1968 : 57~63, 1969
- 5) LINEWEAVER, H. & D. BURK : The determination of enzyme dissociation constants. *J. Am. Chem. Soc.* 56 : 658~666, 1934
- 6) SPRATT, B. G. : Properties of penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K12. *Eur. J. Biochem.* 72 : 341~352, 1977
- 7) STAPLEY, E. O. ; M. JACKSON, S. HERNANDEZ, S. B. ZIMMERMAN, S. A. CURRIE, S. MOCHALES, J. M. MATA, H. B. WOODRUFF & D. HENDLIN : Cephamicins, a new family of  $\beta$ -lactam antibiotics. I. Production by *Actinomycetes*, including *Streptomyces lactamdurans* sp. n. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2 : 122~131, 1972
- 8) ONISHI, H. R. ; D. R. DAOUST, S. B. ZIMMERMAN, D. HENDLIN & E. O. STAPLEY : Cefoxitin, a semisynthetic cephamycin antibiotic : resistance to  $\beta$ -lactamase inactivation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 5 : 38~48, 1974
- 9) MURAKAMI, K. & T. YOSHIDA : Role of the 7 $\alpha$ -methoxy and side-chain carboxyl of moxalactam in  $\beta$ -lactamase stability and antibacterial activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* 19 : 1~7, 1981
- 10) SPRATT, B. G. : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K12. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 72 : 2999~3003, 1975
- 11) KOMATSU, Y. & T. NISHIKAWA : Moxalactam (6059-S), a new 1-oxa- $\beta$ -lactam : binding affinity for penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K12. *Antimicrob. Agents Chemother.* 17 : 316~321,

- 1980
- 12) 横田 健, 関口玲子, 東 映子: 6059-S の各種  $\beta$ -lactamase に対する安定性と penicillin 結合蛋白に対する親和性。Chemotherapy 28 (S-7) : 29~34, 1980
- 13) 吉田 正, 亀田康雄, 元川清司: Oxacephem 系抗生物質 6059-S の *in vitro* 抗菌作用。Chemotherapy 28 (S-7) : 86~131, 1980
- 15) YOSHIDA, T.; T. SONOYAMA, K. NISHIMURA, B. KAGEYAMA & M. ITO: Synergy of cephalothin combined with moxalactam against *Staphylococcus aureus*. 24th Inter-science Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy Abstr. No. 1051, 1984

6315-S (FLOMOXEF), A NEW OXACEPHEM ANTIBIOTIC :  
STABILITY AGAINST  $\beta$ -LACTAMASES AND AFFINITIES  
FOR PENICILLIN-BINDING PROTEINS OF *ESCHERICHIA COLI*  
AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

KAZUHISA MURAKAMI, MASAYOSHI DOI, KAZUHIDE NOMURA,  
SHOZO NAKAMOTO and TADASHI YOSHIDA  
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

A new oxacephem antibiotic, 6315-S (flomoxef), was stable against penicillinases of both *Staphylococcus aureus* and Gram-negative bacteria and cephalosporinase of *Proteus vulgaris*, while it was hydrolyzed by cephalosporinases of other Gram-negative bacteria, though the hydrolysis rates were low.

6315-S bound to the PBP's-1a, -1b, -3, -4, -5 and -6 of *E. coli* K12. It showed high affinity especially for PBP's-1a and -3. In this respect it was comparable to latamoxef (LMOX), and both antibiotics had similar antibacterial activity against *E. coli*.

6315-S and cefazolin (CEZ) showed similar affinity for PBP's-2 and -3 of *S. aureus* ATCC 25923 and both antibiotics had the same MIC. In addition, 6315-S showed high affinity for PBP-4 while CEZ did not. On the other hand, the affinity of 6315-S for PBP-3 was about ten times higher than that of LMOX and cefotaxime (CTX) and about three times higher for PBP-2 than that of LMOX. This might relate to the anti-staphylococcal activity of 6315-S which is four and sixteen times stronger than that of CTX and LMOX, respectively.