

## 新しい Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) に 関する細菌学的評価

西野武志・大槻雅子・東山伊佐夫・山下由佳・谷野輝雄  
京都薬科大学 微生物学教室

新しく合成された oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) に関する細菌学的評価を Cefotiam (CTM), Cefmenoxime (CMX), Latamoxef (LMOX) を比較薬として検討し、以下の結果を得た。

6315-S はグラム陽性および陰性菌群に対して幅広い抗菌スペクトルを有していた。その抗菌力は *Staphylococcus aureus* に対して、CTM, CMX, LMOX より優れており、 $\beta$ -lactam 抗生物質に耐性の *S. aureus* に対しても強い抗菌力を示した。一方、グラム陰性菌に対しては CTM より優れていたが、CMX, LMOX とはほぼ同等か劣る抗菌力を示した。

抗菌力におよぼす諸因子の影響では、培地 pH, 馬血清添加, 接種菌量により抗菌力の変動はほとんど認められなかった。

抗菌作用型式では、6315-S はいずれの使用菌種に対しても dose response のある殺菌作用を示した。

ペニシリン結合蛋白質 (PBP) に対する親和性では、6315-S は *S. aureus* で PBP 2, 4, 3 の順に、また *Escherichia coli* では PBP 3, 1A, 1Bs の順に強い親和性を示した。位相差顕微鏡による形態観察では、*E. coli* で 6315-S の作用により filament 形成や spheroplast 様構造して溶菌像が観察された。

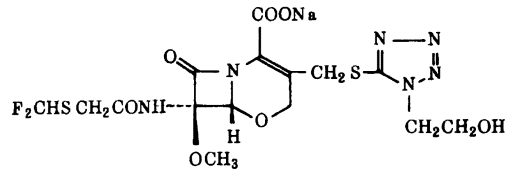
マウス実験的腹腔内感染症に対する治療効果では、 $\beta$ -lactam に耐性あるいは感受性の *S. aureus* に対して 6315-S は最も優れた治療効果を示した。一方 *Streptococcus pyogenes*, *E. coli* に対しては CTM とほぼ同等、*Klebsiella pneumoniae* に対しては LMOX とほぼ同等の治療効果を示し、*Serratia marcescens*, *Morganella morganii* に対しては LMOX には劣るが CTM より優れていた。また  $\beta$ -lactam 耐性の *S. aureus* によるマウス実験的皮下膿瘍感染症に対する治療効果では、CTM, CMX, LMOX に比べ 6315-S が非常に優れていた。

6315-S (Flomoxef : FMOX) は塩野義製薬株式会社において合成された新しい注射用 oxacephem 系抗生物質である。化学名を (6R,7R)-7-[2-(difluoromethylthio)acetamido]-7-methoxy-3-[(1-hydroxyethyl-1H-tetrazol-5-yl)-thiomethyl]-8-oxo-5-oxa-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid sodium salt といい、分子式は  $C_{15}H_{17}F_2N_6NaO_7S_2$  で、分子量が 518.44 の白色ないし黄白色の粉末である。その化学構造式を Fig. 1 に示した。

本剤はグラム陽性菌、陰性菌群に対して幅広い抗菌スペクトルを有し、特に  $\beta$ -lactam 抗生物質に耐性の *S. aureus* に対しても優れた抗菌力を示し、 $\beta$ -lactamase にも安定であると報告されている<sup>1, 2)</sup>。

今回、私どもは主として Cefotiam<sup>3)</sup>, Cefmenoxime<sup>4)</sup>, Latamoxef<sup>5)</sup> を比較薬として用いて 6315-S

Fig.1 Chemical structure of 6315-S



に関する細菌学的評価を行なったので報告する。

### I. 実験材料および実験方法

#### 1. 使用菌株

教室保存のグラム陽性菌 20 株, グラム陰性菌 36 株, 嫌気性菌 11 株および臨床材料から分離された *Staphylococcus aureus* 40 株, *Streptococcus pyogenes* 37 株, *Escherichia coli* 40 株, *Klebsiella pneumoniae*

40株, *Enterobacter aerogenes* 34株, *Enterobacter cloacae* 29株, *Serratia marcescens* 40株, *Proteus vulgaris* 40株, *Proteus mirabilis* 29株, *Morganella morganii* 28株, *Providencia rettgeri* 17株, *Haemophilus influenzae* 40株, *Acinetobacter calcoaceticus* 40株および $\beta$ -lactam 抗生物質に耐性の *S. aureus* 40株を使用した。

## 2. 使用薬

Benzylpenicillin (PCG), Cefazolin (CEZ), Cefotiam (CTM), Cefmenoxime (CMX), Latamoxef (LMOX), 6315-S のいずれも力価の明らかなものを使用した。

## 3. 感受性測定法

前培養に感受性ブイオン培地(栄研), 測定用に感受性ディスク用培地(栄研)を用いて日本化学療法学会感受性測定法<sup>6)</sup>に準じて行なった。なお, *Streptococcus* 属は10%馬脱繊維血液を, *H. influenzae* は5% bacto-fildes enrichment (Difco)を上記培地にそれぞれ添加して用いた。また, 嫌気性菌は前培養に GAM ブイオン(ニッスイ), 測定用に GAM 寒天培地(ニッスイ)を用いて日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定法<sup>7)</sup>に準じて行なった。そして *Neisseria* 属は1%の割合に supplement (栄研)を加えた *Gonococcus medium* (栄研)を用いて, ローソク培養を行なった。

## 4. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

抗菌力におよぼす培地 pH, 馬血清添加, 接種菌量の影響を *S. aureus* 209-PJC, *E. coli* K-12, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55, *P. mirabilis* 1287 を用いて最小発育阻止濃度 (MIC) の変動を寒天平板希釈法で測定した。

## 5. 増殖曲線におよぼす影響

Tryptosoya broth (ニッスイ) で 37°C, 18 時間前培養した *S. aureus* 209-PJC, Na10, Na37, *E. coli* K-12, *K. pneumoniae* KC-1, *S. marcescens* T-55 の各菌液を Heart infusion broth (ニッスイ) で希釈し, 振とう培養を行なった。約 2~3 時間後の対数期途上に各濃度の薬剤を作用させ, 薬剤作用 1, 2, 4 時間後に生菌数の測定を行なった。

6. 形態変化の観察およびペニシリン結合蛋白質に対する親和性

位相差顕微鏡による形態観察では, スライドガラス上で薬剤を含有させた薄層の寒天を作製し, これに対数期途上の菌液を塗抹後, カバーガラスを載せ, パラフィンで封じ, これをニコン倒立位相差顕微鏡で観察した。

またペニシリン結合蛋白質 (PBP) に対する 6315-S

の親和性の検討は, B. G. SPRATT の方法<sup>8)</sup>により *S. aureus* 209-P JC, *E. coli* K-12 の膜成分を調整し, [<sup>14</sup>C] PCG との competition により行なった。X 線フィルム上の [<sup>14</sup>C] PCG による感光度は DUAL-WAVELENGTH TLC SCANNERS-90 (Shimadzu) で測定し, この値から 50% 阻害濃度を求めた。

## 7. マウス実験的感染症に対する治療効果

### 1) 腹腔内感染症

*S. aureus* 10, 37 の場合, Nutrient broth (ニッスイ) で 37°C, 18 時間培養後, 同培地にて希釈し, 18% Gastric mucin (Orthano Kemisk Fabrik A/S) と等量混合した。また, *S. pyogenes* C-203 は 5% 馬血清添加 Heart infusion broth で 37°C で 18 時間培養後, 0.9% 生理食塩水で希釈した。その他の被検菌の場合は Nutrient broth で 37°C で 18 時間培養後, 同培地で希釈し, 6% Gastric mucin と等量混合した。これらの菌液を 1 群 10 匹の Std-ddY 系雄性マウス (体重 18~20 g) の腹腔内に *S. aureus* 10, 37 の場合は 1 ml, 他の被検菌の場合は 0.5 ml 接種し, 感染 2 時間後に 1 回, 薬剤を皮下投与し, 治療を行なった。その後 7 日間の生死の観察を行ない, LITCHFIELD-WILCOXON 法<sup>9)</sup>により ED<sub>50</sub> 値を算出した。

### 2) 皮下感染症

$\beta$ -lactam 抗生物質に耐性の *S. aureus* 37 を Nutrient agar (ニッスイ) で 37°C, 18 時間培養後 0.9% 生理食塩水に懸濁した。この菌液 (約 10<sup>9</sup> cells/ml) を 1 群 10 匹の Std-ddY 系雄性マウス (体重 20~22 g) の背部皮下に 0.1 ml 接種し, 感染 2 時間後に 1 回, 薬剤を腹部皮下に投与した。48 時間後にマウス背部皮膚を切開し, 膿瘍面積を測定した。膿瘍形成抑制率は薬剤無投与群の平均値を 100% として算出し, その膿瘍形成抑制率より LITCHFIELD-WILCOXON 法により ED<sub>50</sub> 値を算出した。同時に膿瘍形成率および組織の病変の程度を肉眼的に観察し, 田所法<sup>10)</sup>に従って評点をつけた。

## II. 実験結果

### 1. 抗菌スペクトル

教室保存のグラム陽性菌, 陰性菌群および嫌気性菌に対する 6315-S の抗菌力を CTM, CMX および LMOX と比較検討した結果を Table 1~6 に示した。

6315-S はグラム陽性菌, 陰性菌および嫌気性菌に幅広い抗菌力を有していた。

その抗菌力を比較すると, Table 1, 2 に示すようにグラム陽性菌では *S. pyogenes*, *Streptococcus pneu-*

Table 1 Antibacterial spectrum of gram-positive bacteria ( $10^6$ cells/ml)

Organism	6315-S	LMOX	CMX	CTM
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.39	6.25	1.56	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	0.39	6.25	1.56	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> TERAJIMA	0.39	6.25	1.56	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> NEUMANN	0.39	6.25	1.56	1.56
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.39	6.25	1.56	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> No.80	0.39	6.25	1.56	0.78
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.78	12.5	6.25	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.2	1.56	0.02	0.05
<i>Streptococcus pyogenes</i> COOK*	0.2	1.56	0.05	0.1
<i>Enterococcus faecalis</i> *	12.5	>100	>100	>100
<i>Viridans group Streptococcus</i>	12.5	>100	>100	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	0.2	1.56	0.02	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II*	0.2	1.56	0.01	0.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III*	0.2	1.56	0.01	0.2
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	0.78	12.5	0.78	1.56
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.05	0.78	0.02	0.2
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.2	6.25	0.78	0.2
<i>Bacillus anthracis</i>	0.2	1.56	12.5	1.56

Medium : Sensitivity test agar (Eiken)

MIC ( $\mu$ g/ml)

\* Supplemented with 10% horse blood

Method : Agar dilution (streak)

Table 2 Antibacterial spectrum of gram-positive bacteria ( $10^6$ cells/ml)

Organism	6315-S	LMOX	CMX	CTM
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P JC	0.2	3.13	0.78	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	0.2	3.13	0.78	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> TERAJIMA	0.2	3.13	0.78	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> NEUMANN	0.39	6.25	1.56	0.78
<i>Staphylococcus aureus</i> E-46	0.2	3.13	0.78	0.39
<i>Staphylococcus aureus</i> No.80	0.2	3.13	0.78	0.39
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.78	12.5	6.25	1.56
<i>Streptococcus pyogenes</i> S-23*	0.2	0.78	0.01	0.05
<i>Streptococcus pyogenes</i> COOK*	0.2	0.78	0.01	0.05
<i>Enterococcus faecalis</i> *	6.25	100	25	>100
<i>Viridans group Streptococcus</i>	12.5	100	25	>100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type I*	0.2	1.56	0.02	0.1
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type II*	0.2	0.78	0.01	0.1
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type III*	0.1	0.78	0.01	0.1
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	0.39	6.25	0.78	0.78
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.05	0.39	0.01	0.2
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.1	1.56	0.2	0.2
<i>Bacillus anthracis</i>	0.2	1.56	12.5	0.78

Medium : Sensitivity test agar (Eiken)

MIC ( $\mu$ g/ml)

\* Supplemented with 10% horse blood

Method : Agar dilution (streak)

Table 3 Antibacterial spectrum of gram-negative bacteria ( $10^6$  cells/ml)

Organism	6315-S	LMOX	CMX	CTM
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	0.1	0.05	0.01	0.05
<i>Neisseria meningitidis</i> *	0.05	0.01	0.01	0.05
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.1	0.2	0.1	0.2
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.1	0.2	0.05	0.2
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.1	0.2	0.05	0.2
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.1	0.2	0.1	0.2
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	25	3.13	6.25	50
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.02	0.05	0.02	0.05
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.05	0.1	0.02	0.1
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.05	0.05	0.02	0.1
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.05	0.1	0.05	0.1
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.1	0.2	0.1	0.2
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.1	0.2	0.05	0.1
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.1	0.39	0.05	0.1
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.1	0.2	0.02	0.1
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.05	0.1	0.05	0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.1	0.2	0.05	0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.1	0.1	0.1	0.39
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	>100	0.39	0.39	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	>100	0.39	0.39	>100
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	12.5	0.39	0.78	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	1.56	0.39	0.39	>100
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0.78	0.39	0.78	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.39	0.39	0.02	>100
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.2	0.2	0.01	0.39
<i>Morganella morganii</i> KONO	12.5	0.2	1.56	>100
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.05	0.1	≤0.006	>100
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	0.1	0.2	0.02	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	>100	6.25	3.13	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	>100	25	12.5	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No.12	>100	25	25	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	>100	50	50	>100
<i>Pseudomonas cepacia</i> ATCC 25416	100	25	50	>100
<i>Pseudomonas maltophilia</i> ATCC 13637	6.25	0.39	>100	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IFO 13006	25	50	12.5	50
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211**	0.39	0.05	≤0.006	0.78

Medium : Sensitivity test agar (Eiken)

MIC ( $\mu$ g/ml)

\* GC medium (Eiken).

\*\* Supplemented with 3% enrichment (Difco)

Method : Agar dilution (streak)

*moniae* 以外の菌種に対して、6315-S は CTM, CMX, LMOX より優れた抗菌力を示し、特に *S. aureus* に対しては CTM, CMX, LMOX より 2~16 倍優れていた。また *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* に対する 6315-S の MIC は 0.1~0.2  $\mu$ g/ml であった。

一方、グラム陰性菌に対する 6315-S の抗菌力は、Table 3, 4 に示すように CTM より優れていたが、CMX, LMOX とほぼ同等か劣っていた。また、*Pseudomonas aeruginosa*, *E. cloacae* および *E. aerogenes* に対し

ては、6315-S は CTM と同様良好な抗菌力を示さなかった。

嫌気性菌に対しては Table 5, 6 に示すように 6315-S の抗菌力は LMOX とほぼ同等か優れ、さらに CMX, CTM より優れていた。 $10^6$  cells/ml 接種時の *Bacteroides fragilis* に対する 6315-S の MIC は 0.39~6.25  $\mu$ g/ml であった。

## 2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床材料より分離された被検菌に対する 6315-S,

Table 4 Antibacterial spectrum of gram-negative bacteria ( $10^6$  cells/ml)

Organism	6315-S	LMOX	CMX	CTM
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	0.1	0.02	0.01	0.05
<i>Neisseria meningitidis</i> *	0.05	≤ 0.006	0.01	0.05
<i>Escherichia coli</i> NIH JC-2	0.05	0.1	0.05	0.1
<i>Escherichia coli</i> NIH	0.05	0.1	0.01	0.1
<i>Escherichia coli</i> K-12	0.05	0.1	0.02	0.1
<i>Escherichia coli</i> KC-14	0.05	0.1	0.05	0.1
<i>Citrobacter freundii</i> NIH 10018-68	0.39	0.2	0.05	0.2
<i>Salmonella typhi</i> T-287	0.01	0.02	0.01	0.02
<i>Salmonella typhi</i> O-901	0.05	0.05	0.01	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.05	0.05	0.01	0.05
<i>Salmonella paratyphi</i> B	0.02	0.05	0.01	0.05
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.05	0.05	0.05	0.1
<i>Shigella dysenteriae</i> EW-7	0.05	0.1	0.05	0.1
<i>Shigella flexneri</i> 2a EW-10	0.1	0.2	0.05	0.1
<i>Shigella boydii</i> EW-28	0.05	0.1	0.01	0.05
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.05	0.05	0.02	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KC-1	0.05	0.1	0.02	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9632	0.1	0.1	0.05	0.2
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	12.5	0.2	0.2	1.56
<i>Enterobacter aerogenes</i> NCTC 10006	12.5	0.2	0.2	3.13
<i>Hafnia alvei</i> NCTC 9540	0.2	0.1	0.2	3.13
<i>Serratia marcescens</i> IFO 3736	0.39	0.2	0.2	6.25
<i>Serratia marcescens</i> T-55	0.39	0.2	0.2	3.13
<i>Proteus vulgaris</i> OX-19	0.2	0.2	Ⅷ 0.006	3.13
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.1	0.1	Ⅷ 0.006	0.1
<i>Morganella morganii</i> KONO	0.78	0.1	Ⅷ 0.02	1.56
<i>Providencia rettgeri</i> NIH 96	0.02	0.02	Ⅷ 0.006	0.02
<i>Proteus inconstans</i> NIH 118	0.1	0.1	Ⅷ 0.01	0.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10490	>100	3.13	0.78	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IAM 1095	>100	6.25	6.25	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> No.12	>100	12.5	12.5	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NC-5	>100	25	25	>100
<i>Pseudomonas cepacia</i> ATCC 25416	25	12.5	6.25	>100
<i>Pseudomonas maltophilia</i> ATCC 13637	3.13	0.39	50	>100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IFO 13006	12.5	50	12.5	12.5
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211**	0.2	0.02	Ⅷ 0.006	0.39

Medium : Sensitivity test agar (Eiken)

MIC ( $\mu$ g/ml)

\* GC medium (Eiken).

\*\* Supplemented with 3% Fildes enrichment (Difco)

Method : Agar dilution (streak)

Table 5 Antibacterial spectrum of anaerobic bacteria ( $10^6$  cells/ml)

Organism	6315-S	LMOX	CMX	CTM
<i>Clostridium tetani</i>	0.1	1.56	0.78	0.78
<i>Clostridium perfringens</i>	1.56	1.56	6.25	12.5
<i>Clostridium sporogenes</i>	0.39	1.56	6.25	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	1.56	1.56	50	50
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25282	1.56	1.56	50	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-240-2	12.5	25	>100	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-283	3.13	6.25	>100	>100
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 5600	50	100	>100	>100
<i>Bacteroides distasonis</i> Clin-99-3	25	50	100	>100
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	1.56	3.13	25	50
<i>Bacteroides ovatus</i> JU-6-1	50	50	100	>100

Medium : GAM agar (Nissui)

MIC ( $\mu$ g/ml)

Method : Agar dilution (streak)

Table 6 Antibacterial spectrum of anaerobic bacteria ( $10^6$  cells/ml)

Organism	6315-S	LMOX	CMX	CTM
<i>Clostridium tetani</i>	0.05	0.39	0.39	0.78
<i>Clostridium perfringens</i>	0.78	0.78	1.56	3.13
<i>Clostridium sporogenes</i>	0.2	0.78	1.56	1.56
<i>Bacteroides fragilis</i> GM 7000	0.39	0.39	3.13	12.5
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25282	0.39	0.78	6.25	50
<i>Bacteroides fragilis</i> V-240-2	6.25	12.5	>100	>100
<i>Bacteroides fragilis</i> V-283	3.13	6.25	100	>100
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> 5600	6.25	12.5	>100	>100
<i>Bacteroides distasonis</i> Clin-99-3	3.13	3.13	25	100
<i>Bacteroides vulgatus</i> ES-14	1.56	1.56	12.5	25
<i>Bacteroides ovatus</i> JU-6-1	12.5	50	50	100

Medium : GAM agar (Nissui)

MIC ( $\mu$ g/ml)

Method : Agar dilution (streak)

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheids  
*Staphylococcus aureus*  
40 strains ( $10^8$  cells/ml)

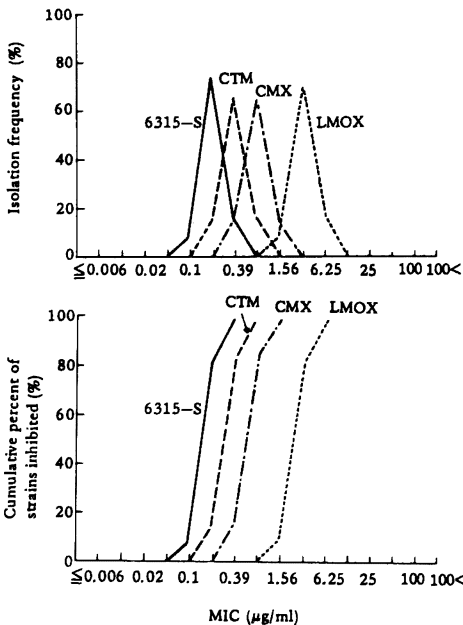
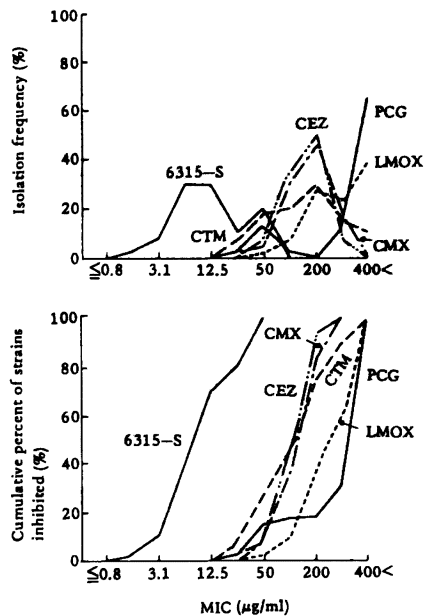


Fig. 3 Sensitivity distribution of cephem-resistant *Staphylococcus aureus* 40 strains to 6315-S and five other  $\beta$ -lactams (Inoculum size :  $10^8$  cells/ml)



CTM, CMX, LMOX の感受性分布および累積百分率を Fig. 2~16 に示した。

#### 1) $\beta$ -lactam 感受性 *S. aureus* の場合

Fig. 2 に示すように 6315-S の *S. aureus* に対する MIC は 0.1~0.39  $\mu$ g/ml に、CTM は 0.2~0.78  $\mu$ g/ml に、CMX は 0.39~1.56  $\mu$ g/ml に、LMOX は 1.56~6.25  $\mu$ g/ml に分布し、それぞれ 0.2, 0.39, 0.78, 3.13  $\mu$ g/ml にピークを有する 1 峰性の分布が認められ、

6315-S は CTM より約 2 倍、CMX より約 4 倍、LMOX より約 16 倍優れた抗菌力を有していた。

#### 2) $\beta$ -lactam 耐性 *S. aureus* の場合

Fig. 3 に  $10^8$  cells/ml, Fig. 4 に  $10^6$  cells/ml 接種時の MIC を示した。6315-S の MIC はそれぞれ 1.56~50,  $\leq 0.78$ ~12.5  $\mu$ g/ml, PCG は 25~>400, 12.5~100  $\mu$ g/ml, CEZ は 50~400, 3.13~200  $\mu$ g/ml, CTM は 25~>400, 1.56~200  $\mu$ g/ml, CMX は 25~400,

Fig. 4 Sensitivity distribution of cephem-resistant *Staphylococcus aureus* 40 strains to 6315-S and five other  $\beta$ -lactams (Inoculum size:  $10^6$  cells/ml)

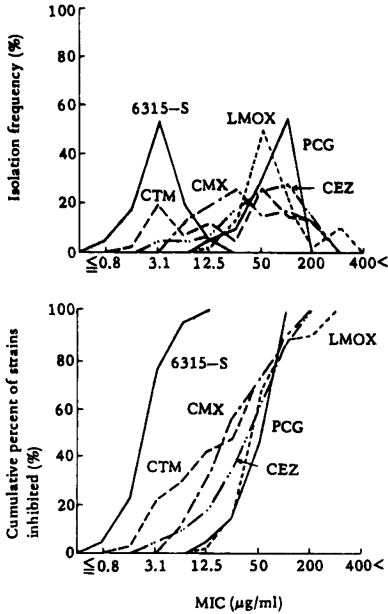


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepems *Streptococcus pyogenes* 37 strains ( $10^6$  cells/ml)

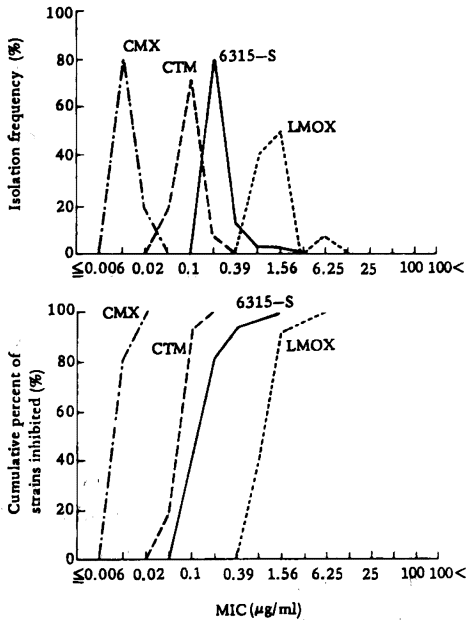
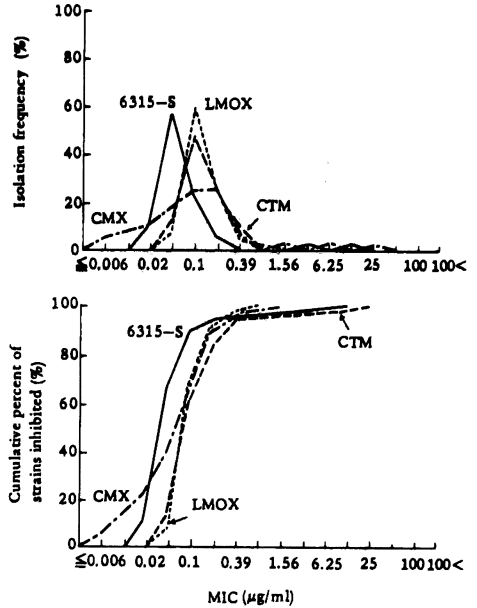


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepems *Escherichia coli* 40 strains ( $10^6$  cells/ml)



6.25~200  $\mu\text{g/ml}$ , LMOX は 50~>400, 12.5~400  $\mu\text{g/ml}$  に分布し, 6315-S はいずれの菌量においても比較薬に比べ非常に優れた抗菌力を示した。

### 3) *S. pyogenes* の場合

6315-S の *S. pyogenes* に対する MIC は Fig. 5 に示すように 0.2~1.56  $\mu\text{g/ml}$  に, CTM は 0.05~0.2  $\mu\text{g/ml}$  に, CMX は 0.01~0.02  $\mu\text{g/ml}$  に, LMOX は 0.78~6.25  $\mu\text{g/ml}$  に分布し, 6315-S のピークは 0.2  $\mu\text{g/ml}$ , CTM は 0.1  $\mu\text{g/ml}$ , CMX は 0.01  $\mu\text{g/ml}$ , LMOX は 1.56  $\mu\text{g/ml}$  であり, 6315-S は LMOX より約 8 倍優れていたが, CTM や CMX より劣っていた。

### 4) *E. coli* の場合

Fig. 6 に示すように *E. coli* に対する 6315-S の MIC は 0.02~12.5  $\mu\text{g/ml}$  に, CMX は  $\leq 0.006$ ~1.56  $\mu\text{g/ml}$  に, LMOX は 0.05~0.78  $\mu\text{g/ml}$  に, CTM は 0.05~25  $\mu\text{g/ml}$  に分布し, そのピーク値はそれぞれ 0.05, 0.1~0.2, 0.1, 0.1  $\mu\text{g/ml}$  であり, 6315-S は LMOX, CTM, CMX より優れていた。

### 5) *K. pneumoniae* の場合

Fig. 7 に示すように *K. pneumoniae* に対する 6315-S の MIC は 0.05~0.2  $\mu\text{g/ml}$  に, CMX は 0.05~0.78  $\mu\text{g/ml}$  に, LMOX は 0.1~0.39  $\mu\text{g/ml}$  に,

Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheids  
*Klebsiella pneumoniae*  
40 strains ( $10^6$ cells/ml)

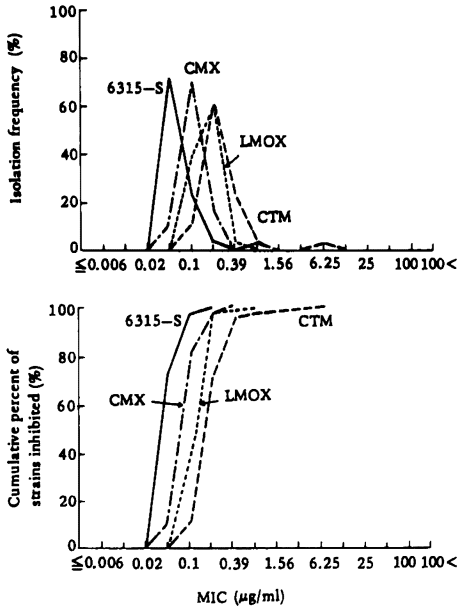


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheids  
*Serratia marcescens*  
40 strains ( $10^6$ cells/ml)

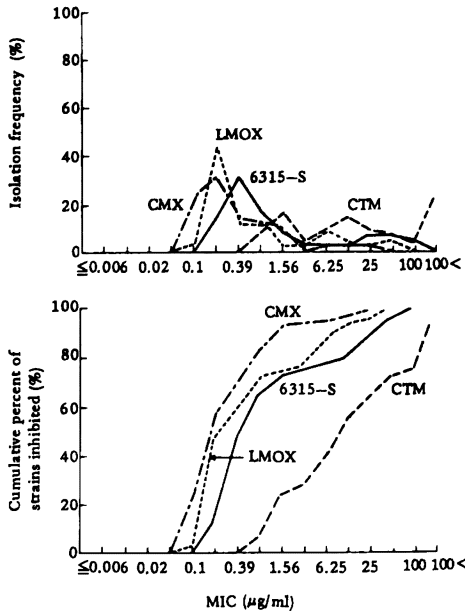
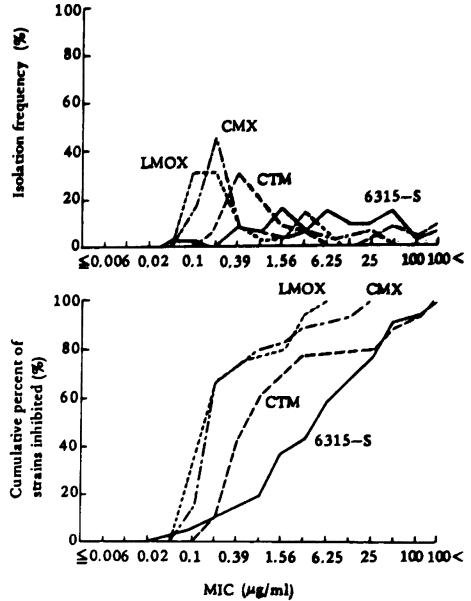


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheids  
*Enterobacter aerogenes*  
34 strains ( $10^6$ cells/ml)



CTMは0.1~6.25 μg/mlに分布し、そのピーク値はそれぞれ0.05, 0.1, 0.2, 0.2 μg/mlであり、6315-SはCMX, LMOX, CTMより優れていた。

6) *S. marcescens* の場合

Fig. 8に示すように*S. marcescens*に対する6315-SのMICは0.2~100 μg/mlに、CMXは0.1~25 μg/mlに、LMOXは0.1~50 μg/mlに、CTMは0.78~>100 μg/mlに分布し、6315-SはCTMより優れていたが、CMX, LMOXより劣っていた。

7) *E. aerogenes* の場合

Fig. 9に示すように*E. aerogenes*に対する6315-SのMICは0.05~>100 μg/mlに、LMOXは0.1~6.25 μg/mlに、CMXは0.1~25 μg/mlに、CTMは0.2~>100 μg/mlに分布し、6315-SはLMOX, CMX, CTMより劣っていた。

8) *E. cloacae* の場合

Fig. 10に示すように*E. cloacae*に対する6315-SのMICは0.05~>100 μg/mlに、LMOXは0.05~0.78 μg/mlに、CMXは0.02~1.56 μg/mlに、CTMは0.2~50 μg/mlに分布し、6315-Sの抗菌力はLMOX, CMX, CTMより劣っていた。

9) *P. mirabilis* の場合



Fig.10 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheids  
*Enterobacter cloacae*  
29 strains ( $10^6$ cells/ml)

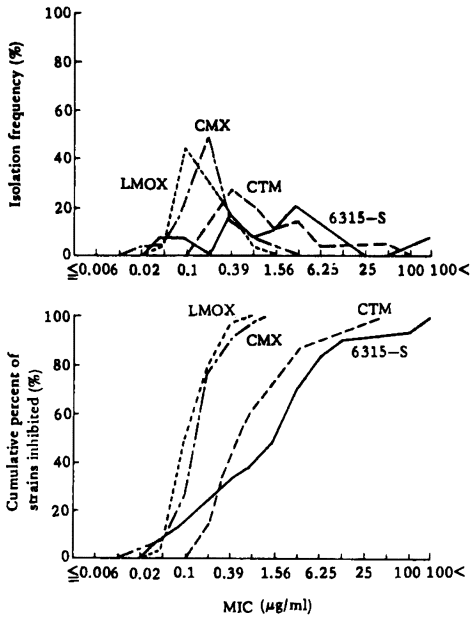


Fig.11 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheids  
*Proteus mirabilis*  
29 strains ( $10^6$ cells/ml)

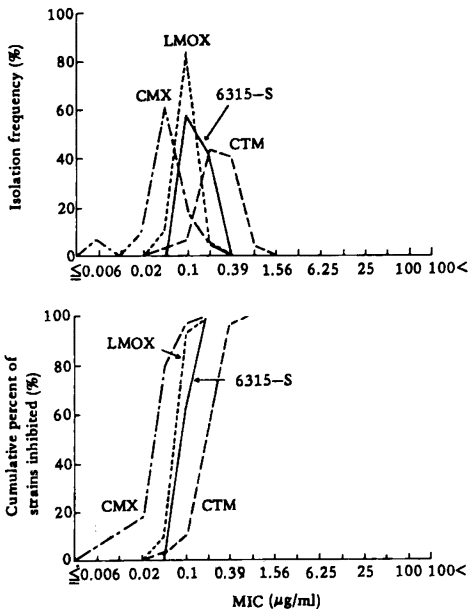


Fig.12 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheids  
*Proteus vulgaris*  
40 strains ( $10^6$ cells/ml)

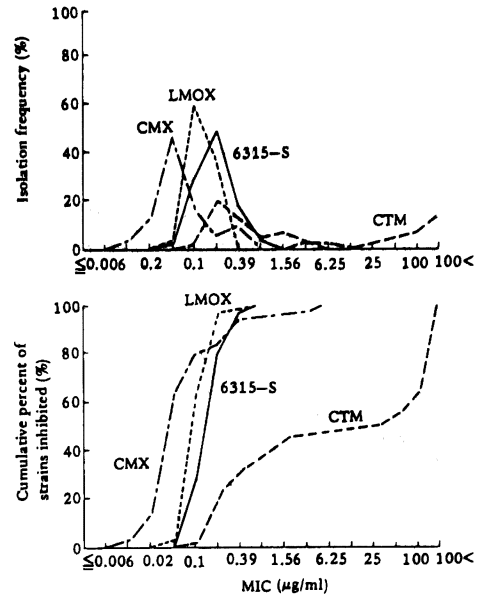


Fig. 11 に示すように *P. mirabilis* に対する 6315-S の MIC は  $0.1 \sim 0.2 \mu\text{g/ml}$  に、CMX は  $\leq 0.006 \sim 0.19 \mu\text{g/ml}$  に、LMOX は  $0.05 \sim 0.19 \mu\text{g/ml}$  に、CTM は  $0.05 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$  に分布し、6315-S は CTM より優れていたが、LMOX とほぼ同等であり、CMX より劣っていた。

#### 10) *P. vulgaris* の場合

Fig.12 に示すように *P. vulgaris* に対する 6315-S の MIC は  $0.1 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$  に、LMOX は  $0.05 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$  に、CMX は  $0.01 \sim 6.25 \mu\text{g/ml}$  に、CTM は  $0.1 \sim >100 \mu\text{g/ml}$  に分布し、6315-S は CTM より優れていたが、LMOX、CMX より劣っていた。

#### 11) *M.morganii* の場合

Fig.13 に示すように *M.morganii* に対する 6315-S の MIC は  $0.39 \sim >100 \mu\text{g/ml}$  に、CMX は  $0.01 \sim 3.13 \mu\text{g/ml}$  に、LMOX は  $0.1 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$  に、CTM は  $0.2 \sim >100 \mu\text{g/ml}$  に分布し、6315-S は CTM とほぼ同等で、CMX、LMOX より劣っていた。

#### 12) *P. rettgeri* の場合

Fig.14 に示すように *P. rettgeri* に対する 6315-S の MIC は  $0.02 \sim 1.56 \mu\text{g/ml}$  に、CMX は  $\leq 0.006 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$  に、LMOX は  $0.02 \sim 0.1 \mu\text{g/ml}$  に、CTM

Fig.13 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheps  
*Morganella morganii*  
28 strains ( $10^6$ cells/ml)

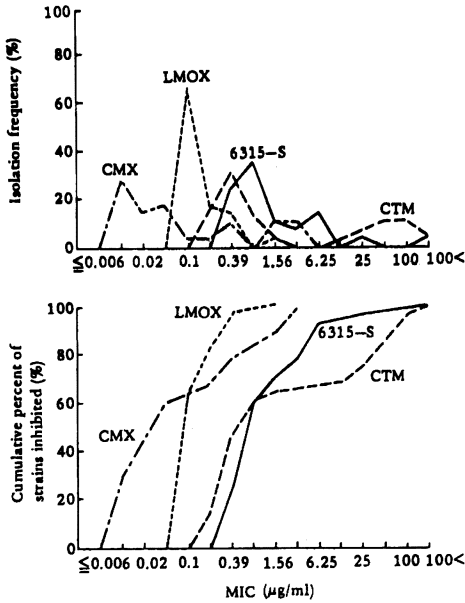


Fig.14 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheps  
*Providencia rettgeri*  
17 strains ( $10^6$ cells/ml)

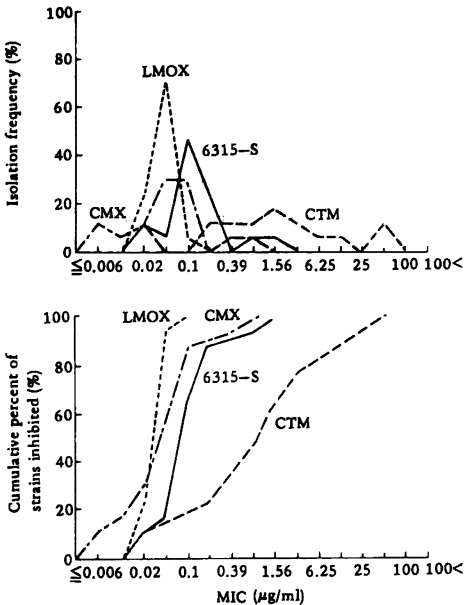
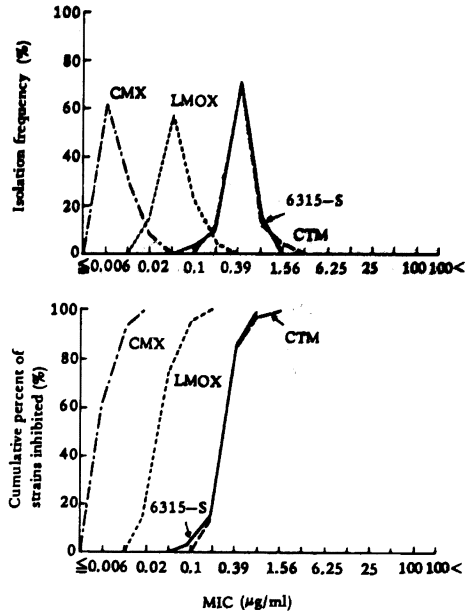


Fig.15 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheps  
*Haemophilus influenzae*  
40 strains ( $10^6$ cells/ml)



は 0.02~50 μg/ml に分布し、6315-S は CTM より優れていたが、LMOX、CMX より劣っていた。

#### 13) *H. influenzae* の場合

Fig.15 に示すように *H. influenzae* に対する 6315-S の MIC は 0.1~0.78 μg/ml に、CMX は ≤0.006~0.02 μg/ml に、LMOX は 0.02~0.2 μg/ml に、CTM は 0.2~1.56 μg/ml に分布し、6315-S は CTM とほぼ同等の抗菌力を示したが、CMX や LMOX より劣っていた。

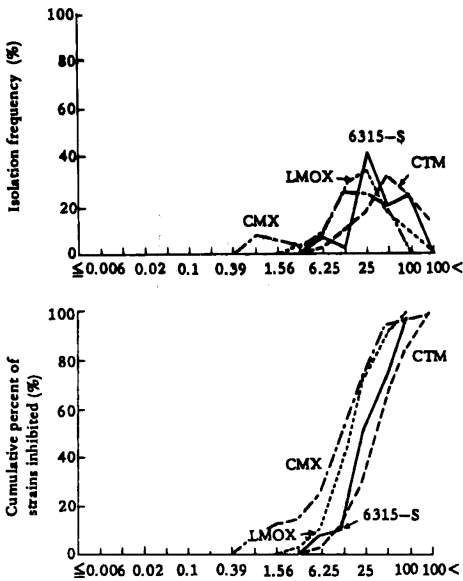
#### 14) *A. calcoaceticus* の場合

Fig.16 に示すように *A. calcoaceticus* に対する 6315-S の MIC は 6.25~>100 μg/ml に、CMX は 0.78~>100 μg/ml に、LMOX は 3.13~100 μg/ml に、CTM は 6.25~>100 μg/ml に分布し、いずれの薬剤においても感受性が低かった。

#### 3. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

抗菌力におよぼす培地 pH および馬血清添加による影響について検討した結果を Table 7, 8 に示した。培地 pH の影響では *S. aureus* で酸性側で抗菌力が良好となる傾向が見られたが、6315-S、LMOX、CMX、CTM のいずれの薬剤も *E. coli*、*K. pneumoniae* などのグラム陰性桿菌に対してほとんど影響が見られなかつ

Fig.16 Sensitivity distribution of clinical isolates to 6315-S and three other cepheims  
*Acinetobacter calcoaceticus*  
40 strains (10<sup>6</sup>cells/ml)



た。また馬血清添加の影響もほとんど受けなかった。

接種菌量の結果を Table 9 に示したが, CTM における *S. marcescens* T-55 の 10<sup>8</sup>cells/ml の接種時で顕著な抗菌力の低下が現われたことを除き, 接種菌量による抗菌力の変動はほとんど認められなかった。

4. 増殖曲線におよぼす影響

Fig.17 は *S. aureus* 209-P JC の増殖曲線におよぼす影響について検討を行なった結果で, いずれの薬剤も dose response のある殺菌作用を示し, 6315-S は CTM とほぼ同様な殺菌作用のパターンを示した。Fig. 18,19 は CEZ および PCG に耐性の *S. aureus* 10, 37 に対する殺菌作用の結果を示しており, PCG では 100 μg/ml の作用でも control と同様な増殖が見られたが, 6315-S は両菌株に対して著明な殺菌作用を示し, CEZ よりも優れていた。

また, Fig.20 に *E. coli* K-12, Fig.21 に *K. pneumoniae* KC-1, Fig.22 に *S. marcescens* T-55 に対する 6315-S, LMOX, CMX, CTM の殺菌作用の結果を示した。いずれの薬剤も作用濃度に応じた殺菌作用が得られ, 類似の殺菌パターンを示した。*S. marcescens* T-55 に対してはいずれの薬剤も殺菌効果が他の被検菌に比して弱かった。

Table 7 Influence of pH on the antibacterial activity

Organism	pH	6315-S	LMOX	CMX	CTM
<i>S. aureus</i> 209-P JC	8.0	0.2	6.25	0.78	0.2
	7.0	0.2	3.13	0.39	0.2
	6.0	0.1	1.56	0.39	0.1
<i>E. coli</i> K-12	8.0	0.1	0.1	0.02	0.1
	7.0	0.05	0.1	0.02	0.05
	6.0	0.05	0.1	0.05	0.2
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	8.0	0.05	0.1	0.02	0.1
	7.0	0.05	0.1	0.05	0.1
	6.0	0.05	0.2	0.05	0.2
<i>S. marcescens</i> T-55	8.0	0.39	0.2	0.1	3.13
	7.0	0.2	0.2	0.1	1.56
	6.0	0.2	0.2	0.1	0.78
<i>P. mirabilis</i> 1287	8.0	0.2	0.2	≦0.006	0.1
	7.0	0.1	0.1	≦0.006	0.1
	6.0	0.1	0.1	≦0.006	0.2

Medium : Sensitivity test agar MIC (μg/ml)  
Inoculum size : 10<sup>6</sup> cells/ml

Table 8 Influence of horse serum on the antibacterial activity

Organism	Serum conc (%)	6315-S	LMOX	CMX	CTM
<i>S. aureus</i> 209-P JC	0	0.2	3.13	1.56	0.2
	10	0.2	6.25	0.78	0.2
	25	0.2	6.25	1.56	0.39
	50	0.2	6.25	1.56	0.2
<i>E. coli</i> K-12	0	0.05	0.1	0.05	0.05
	10	0.05	0.1	0.05	0.05
	25	0.05	0.1	0.05	0.1
	50	0.05	0.1	0.05	0.1
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	0	0.05	0.1	0.05	0.1
	10	0.05	0.1	0.02	0.1
	25	0.05	0.1	0.02	0.1
	50	0.05	0.1	0.05	0.2
<i>S. marcescens</i> T-55	0	0.2	0.2	0.2	1.56
	10	0.2	0.2	0.1	3.13
	25	0.2	0.2	0.1	1.56
	50	0.39	0.2	0.1	3.13
<i>P. mirabilis</i> 1287	0	0.1	0.2	0.006	0.1
	10	0.1	0.1	0.006	0.1
	25	0.2	0.1	0.006	0.1
	50	0.39	0.2	0.006	0.2

Medium : Sensitivity test agar MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )  
 Inoculum size :  $10^6$  cells/ml

Table 9 Influence of inoculum size on the antibacterial activity

Organism	Inoculum size (cells/ml)	6315-S	LMOX	CMX	CTM
<i>S. aureus</i> 209-P JC	$3.1 \times 10^8$	0.2	6.25	0.78	0.39
	$3.1 \times 10^7$	0.2	3.13	0.78	0.2
	$3.1 \times 10^6$	0.2	3.13	0.39	0.2
	$3.1 \times 10^5$	0.2	3.13	0.39	0.2
<i>E. coli</i> K-12	$4.0 \times 10^8$	0.1	0.2	0.1	0.1
	$4.0 \times 10^7$	0.05	0.1	0.05	0.1
	$4.0 \times 10^6$	0.05	0.1	0.02	0.05
	$4.0 \times 10^5$	0.05	0.1	0.02	0.05
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	$4.1 \times 10^8$	0.1	0.2	0.1	0.2
	$4.1 \times 10^7$	0.05	0.1	0.1	0.2
	$4.1 \times 10^6$	0.05	0.1	0.05	0.1
	$4.1 \times 10^5$	0.05	0.05	0.02	0.1
<i>S. marcescens</i> T-55	$4.1 \times 10^8$	0.39	0.39	0.39	100
	$4.1 \times 10^7$	0.39	0.2	0.2	3.13
	$4.1 \times 10^6$	0.2	0.2	0.1	1.56
	$4.1 \times 10^5$	0.2	0.2	0.1	0.78
<i>P. mirabilis</i> 1287	$3.4 \times 10^8$	0.2	0.2	0.006	0.2
	$3.4 \times 10^7$	0.2	0.1	0.006	0.1
	$3.4 \times 10^6$	0.1	0.1	0.006	0.1
	$3.4 \times 10^5$	0.1	0.1	0.006	0.1

Medium : Sensitivity test agar MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )

Fig.17 Bactericidal activity of 6315-S, LMOX, CMX and CTM against *S. aureus* 209-P JC tested in Tryptosoya broth

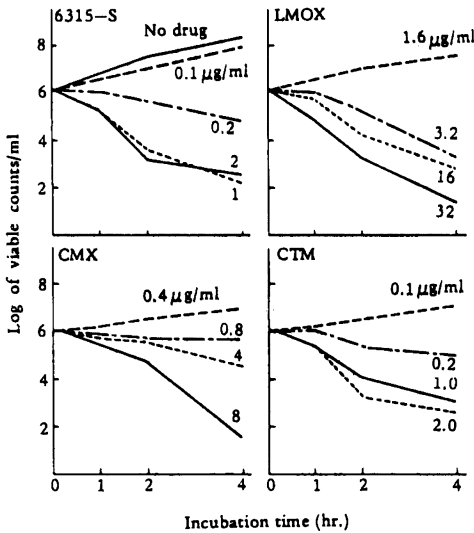


Fig.18 Bactericidal activity of 6315-S, CEZ and PCG against *S. aureus* 10 tested in Tryptosoya both

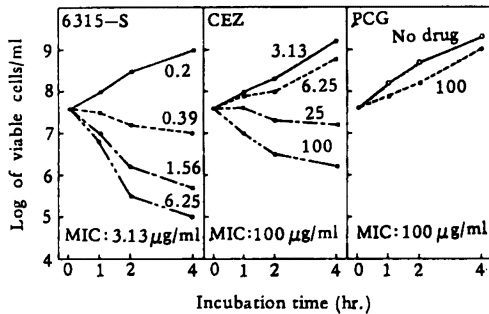


Fig.19 Bactericidal activity of 6315-S, CEZ and PCG against *S. aureus* 37 tested in Tryptosoya broth

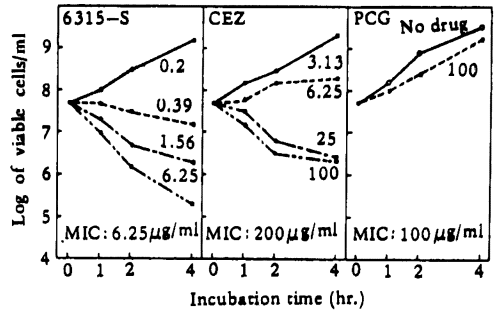
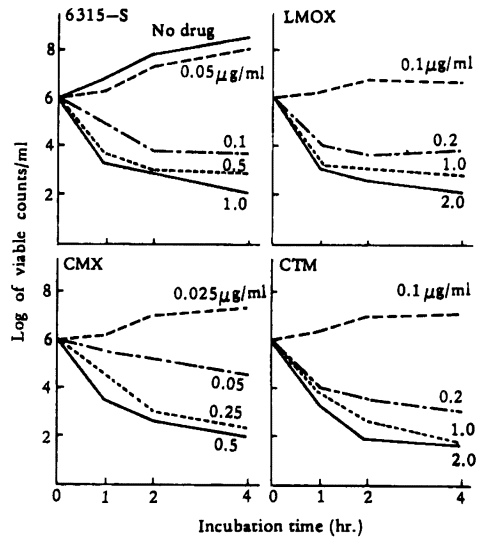


Fig.20 Bactericidal activity of 6315-S, LMOX, CMX and CTM against *E. coli* K-12 tested in Tryptosoya broth



5. 形態変化の観察および PBP に対する親和性

*E. coli* K-12 に 6315-S を作用させた 3 時間後の形態変化の位相差顕微鏡による観察結果を Fig.23 に、また位相差顕微鏡による観察結果のまとめを Table 10 に示した。6315-S の 0.05, 0.1, 0.39, 0.78 μg/ml の作用で菌体は著明に伸長化し、spheroplast 様構造や溶菌像も観察された。また高濃度の 1.56, 3.13 μg/ml 作用では菌体はほとんど伸長化せずに溶菌していく過程を観察することができた。

6315-S の *S. aureus* 209-P JC および *E. coli* K-12 の PBP に対する親和性の検討結果を Fig.24 および

25 に、またこれらの結果より 50% 阻害濃度を求めた成績を Table 11 に示した。6315-S は *S. aureus* 209-P JC の場合 PBP 2, 4, 3 の順に強い親和性を示し、*E. coli* K-12 の場合 PBP 3, 1A, 1B<sub>s</sub> の順に親和性を示し、形態変化との関連性が認められた。

6. マウス実験的感染症に対する治療効果

1) 腹腔内感染症

グラム陽性菌 4 株およびグラム陰性菌 4 株によるマウス実験的腹腔内感染症に対する 6315-S, LMOX, CMX, CTM の治療効果の結果を Table 12, 13 に示した。

Fig.21 Bactericidal activity of 6315-S, LMOX, CMX and CTM against *K. pneumoniae* KC-1 tested in Tryptosoya broth

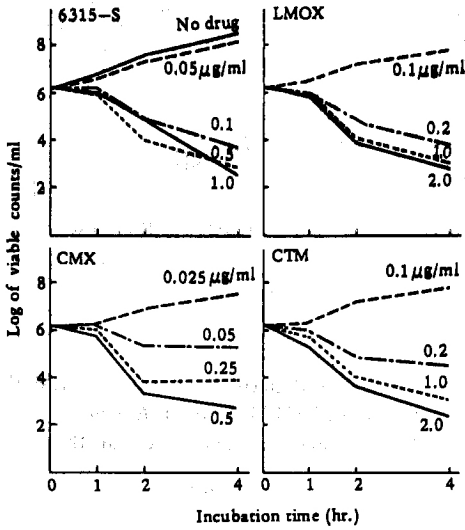


Fig.22 Bactericidal activity of 6315-S, LMOX, CMX and CTM against *S. marcescens* T-55 tested in Tryptosoya broth

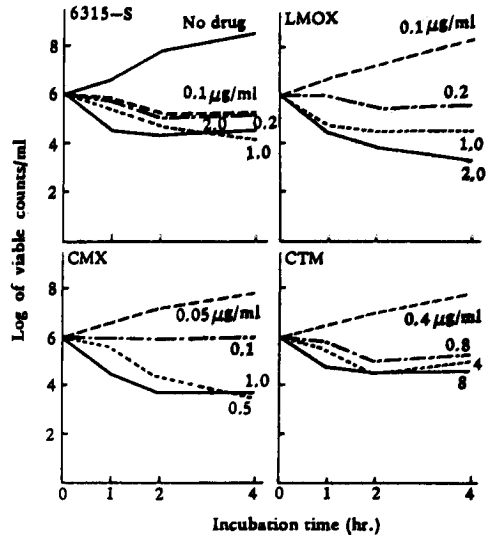


Fig.23 Phase-contrast micrographs of *E. coli* K-12 exposed to 6315-S for 3 hours

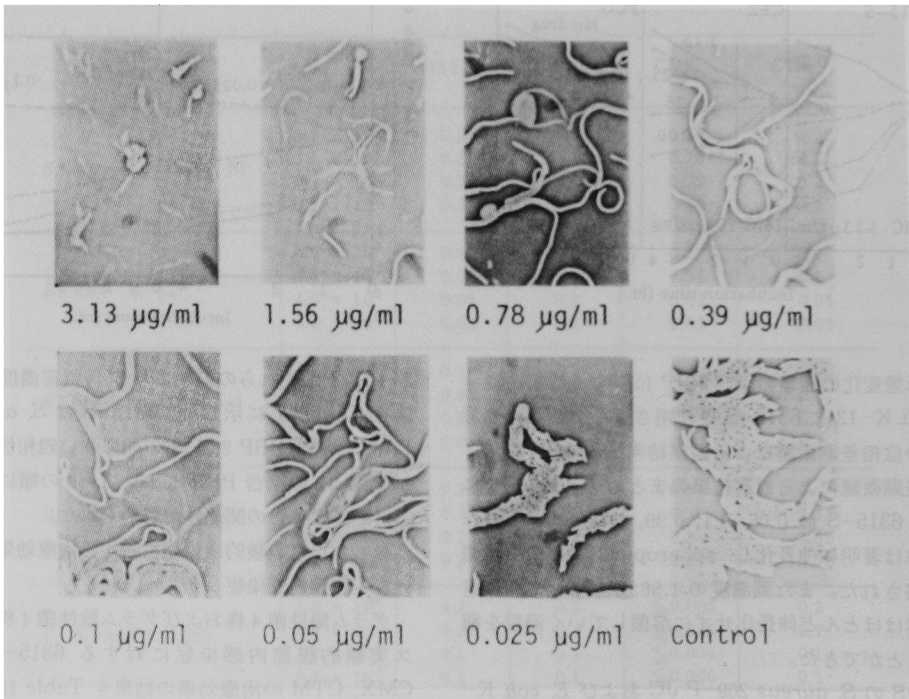


Table 10 Morphological effects of 6315-S on *E. coli* K-12 after 3 hours exposure

Antibiotics	Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25
6315-S	[Microscopic images showing cell morphology changes from intact to filamentous to lysis]									
	[Intact cell pattern]			[Filamentous cell pattern]				[Lysis pattern]		
	intact cell			filamentous cell				lysis		

Fig.24 Fluorography showing competition of 6315-S for  $^{14}\text{C}$ -labeled penicillin G binding in *S. aureus* 209-P JC

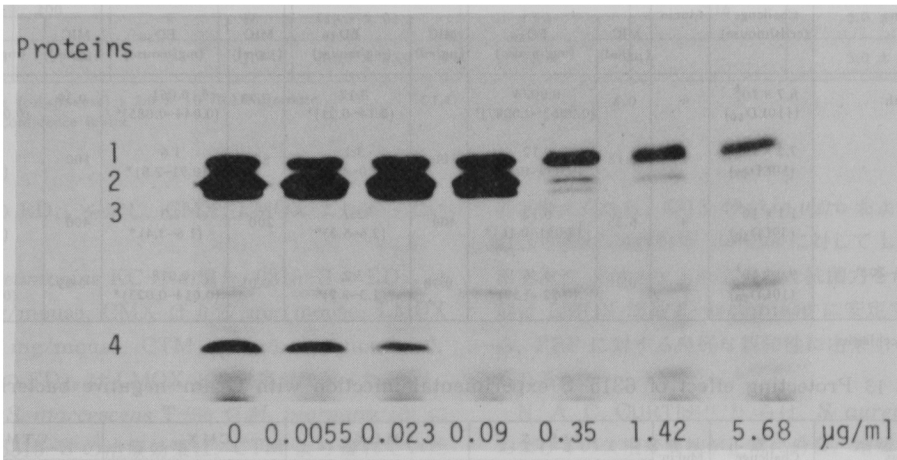


Fig.25 Fluorography showing competition of 6315-S for  $^{14}\text{C}$ -labeled penicillin G binding in *E. coli* K-12

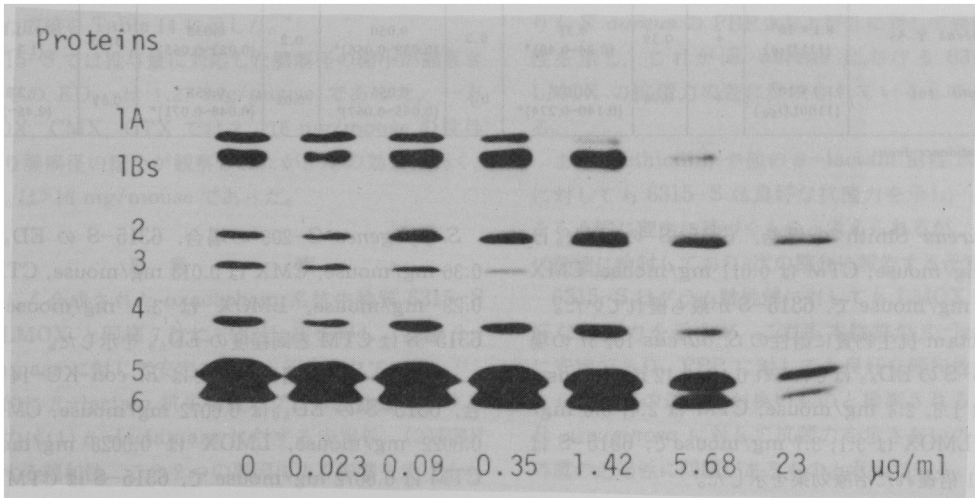


Table 11 Competition of 6315-S with <sup>14</sup>C-labeled penicillin G for binding to PBPs in cytoplasmic membrane of *E. coli* K-12 and *S. aureus* 209-PJC *in vitro*

Organisms	P B P s						
	1A or 1	1Bs	2	3	4	5	6
<i>E. coli</i> K-12	0.42	3.6	>23	0.23	6.4	4.4	3.8
<i>S. aureus</i> 209-P JC	>5.7		0.20	0.76	0.28		

(μg/ml)

Table 12 Protecting effect of 6315-S experimental infection with Gram-positive bacteria

Organisms	Challenge (cells/mouse)	Mucin	6315-S		LMOX		CMX		CTM	
			MIC (μg/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
<i>S. aureus</i> smith	6.7 × 10 <sup>6</sup> (110LD <sub>50</sub> )	+	0.2	0.0074 (0.0063-0.0087)*	3.13	0.17 (0.14-0.21)*	0.78	0.061 (0.044-0.085)*	0.39	0.011 (0.0093-0.013)*
<i>S. aureus</i> 10	7.2 × 10 <sup>8</sup> (50LD <sub>50</sub> )	+	3.13	0.12 (0.087-0.17)*	100	3.1 (2.0-4.8)*	50	1.6 (0.91-2.8)*	100	2.4 (1.4-4.4)*
<i>S. aureus</i> 37	1.1 × 10 <sup>6</sup> (30LD <sub>50</sub> )	+	6.25	0.12 (0.091-0.16)*	400	3.7 (2.6-5.3)*	200	2.3 (1.6-3.4)*	400	3.6 (2.1-6.3)*
<i>S. pyogenes</i> C-203	9.0 × 10 <sup>1</sup> (10LD <sub>50</sub> )	-	0.2	0.36 (0.22-0.59)*	0.78	3.2 (1.3-8.2)*	0.01	0.018 (0.014-0.023)*	0.05	0.23 (0.15-0.34)*

\* 95% confidence limits

Table 13 Protecting effect of 6315-S experimental infection with Gram-negative bacteria

Organisms	Challenge (cells/mouse)	Mucin	6315-S		LMOX		CMX		CTM	
			MIC (μg/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	MIC (μg/ml)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)
<i>E. coli</i> KC-14	8.8 × 10 <sup>4</sup> (11LD <sub>50</sub> )	+	0.05	0.0072 (0.0061-0.0085)*	0.1	0.0028 (0.0023-0.0033)*	0.05	0.0022 (0.0018-0.0027)*	0.1	0.0072 (0.0060-0.0086)*
<i>K. pneumoniae</i> KC-1	2.2 × 10 <sup>3</sup> (1300LD <sub>50</sub> )	+	0.05	0.52 (0.44-0.46)*	0.1	0.38 (0.32-0.46)*	0.02	0.27 (0.22-0.35)*	0.1	0.85 (0.69-1.0)*
<i>S. marcescens</i> T-55	8.1 × 10 <sup>6</sup> (11LD <sub>50</sub> )	+	0.39	0.31 (0.24-0.40)*	0.2	0.050 (0.038-0.066)*	0.2	0.038 (0.022-0.065)*	3.13	1.8 (1.3-2.5)*
<i>M. organii</i> 101	1.3 × 10 <sup>7</sup> (1100LD <sub>50</sub> )	+	0.78	0.177 (0.140-0.224)*	0.1	0.055 (0.045-0.067)*	0.01	0.058 (0.048-0.071)*	0.39	2.88 (2.45-3.38)*

\* 95% confidence limits

*S. aureus* Smith の場合、6315-S の ED<sub>50</sub> は 0.0074 mg/mouse, CTM は 0.011 mg/mouse, CMX は 0.061 mg/mouse で、6315-S が最も優れていた。

β-lactam 抗生物質に耐性の *S. aureus* 10, 37 の場合、6315-S の ED<sub>50</sub> はそれぞれ 0.12, 0.12 mg/mouse, CMX は 1.6, 2.4 mg/mouse, CTM は 2.4, 3.6 mg/mouse, LMOX は 3.1, 3.7 mg/mouse で、6315-S は約 13~31 倍優れた治療効果を示した。

*S. pyogenes* C-203 の場合、6315-S の ED<sub>50</sub> は 0.36 mg/mouse, CMX は 0.018 mg/mouse, CTM は 0.23 mg/mouse, LMOX は 3.2 mg/mouse で、6315-S は CTM と同程度の ED<sub>50</sub> を示した。

一方グラム陰性菌に対しては *E. coli* KC-14 の場合、6315-S の ED<sub>50</sub> は 0.0072 mg/mouse, CMX は 0.0022 mg/mouse, LMOX は 0.0028 mg/mouse, CTM は 0.0072 mg/mouse で、6315-S は CTM とほ



Table 14 Protective effect of 6315-S, LMOX, CMX and CTM on experimental subcutaneous infection with *Staphylococcus aureus* 37 in mice

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Dose (mg/mouse)	No. of mice	Size of abscess ( $\text{mm}^2 \pm \text{S.D.}$ )	Suppression rate (%)	ED <sub>50</sub> (mg/mouse)	Score of gross lesion (Method of Tadokoro)
6315-S	6.25	8	10	55.9 $\pm$ 14.6	88.4	1.27 (0.722~2.23)*	2.0 $\pm$ 0.0
		4	10	92.4 $\pm$ 23.6	80.8		2.8 $\pm$ 0.4
		2	10	179.4 $\pm$ 22.7	62.7		3.9 $\pm$ 0.3
		1	10	281.3 $\pm$ 48.8	41.5		4.4 $\pm$ 0.5
		0.5	10	341.3 $\pm$ 77.5	29.0		4.8 $\pm$ 0.4
LMOX	400	16	10	278.7 $\pm$ 54.8	42.0	>16	4.4 $\pm$ 0.5
		8	10	380.5 $\pm$ 57.9	20.9		5.0 $\pm$ 0.0
CMX	200	16	10	270.1 $\pm$ 59.2	43.8	>16	4.5 $\pm$ 0.5
		8	10	331.0 $\pm$ 47.8	31.2		4.9 $\pm$ 0.3
CTX	200	16	10	284.6 $\pm$ 67.4	40.8	>16	4.6 $\pm$ 0.5
		8	10	418.3 $\pm$ 91.2	13.0		5.0 $\pm$ 0.0
Control	-	0	10	480.7 $\pm$ 82.6	0		5.0 $\pm$ 0.0

Challenge (cells/mouse) :  $2.0 \times 10^8/0.1$  ml/mouse

\* 95% Confidence limits.

ば同等の ED<sub>50</sub> を示し, CMX, LMOX より劣っていた。

*K. pneumoniae* KC-1 の場合, 6315-S の ED<sub>50</sub> は 0.52 mg/mouse, CMX は 0.27 mg/mouse, LMOX は 0.38 mg/mouse, CTM は 0.85 mg/mouse で, 6315-S の ED<sub>50</sub> は LMOX と有意差がなかった。

また, *S. marcescens* T-55 や *M. morgani* 101 に対する 6315-S の治療効果は, CTM より優れていたが, CMX, LMOX より劣っていた。

## 2) 皮下感染症

$\beta$ -lactam 抗生物質に耐性の *S. aureus* 37 を用いて田所法<sup>10)</sup> に準じてマウス背部皮下に膿瘍を作成し, 6315-S, LMOX, CMX, CTM の治療効果について検討した成績を Table 14 に示した。

6315-S では投与量に対応した膿瘍径の縮小が観察され, その ED<sub>50</sub> は 1.27 mg/mouse であった。一方 LMOX, CMX, CTX では 8, 16 mg/mouse の投与により膿瘍径の縮小が観察されたが, その効果は弱く, ED<sub>50</sub> は >16 mg/mouse であった。

## III. 考 察

新しく合成された oxacephem 系抗生物質 6315-S は, LMOX と同様 7 位に -OCH<sub>3</sub> 基を有し, 各種  $\beta$ -lactamase に対して安定であると報告されている<sup>1, 2)</sup>。一般的に  $\beta$ -lactam 抗生物質のグラム陽性菌における抗菌力は (1)  $\beta$ -lactamase に対する安定性, (2) PBP に対する親和性, この 2 つの要因により影響を受けるも

のと考えられる。6315-S が *in vitro* および *in vivo* においてグラム陽性の *S. aureus* に対して LMOX や他の第三世代 cephem よりも優れた抗菌力を示すのは, 本剤は LMOX 同様  $\beta$ -lactamase に安定であることから, PBP に対する良好な親和性に由来するものと考えられる。

N. A. C. CURTIS<sup>11, 12)</sup> らは, *S. aureus* の PBP 1 および 4 の欠損変異株が正常に分裂, 増殖できることから, *S. aureus* において PBP の 1, 4 は  $\beta$ -lactam 抗生物質の標的部位として重要でないことを報告している。

本文中には LMOX の *S. aureus* における PBP の親和性の結果を示さなかったが, 6315-S は LMOX よりも *S. aureus* の PBP 2 および 3 に対して良好な親和性を示し, これが *S. aureus* における 6315-S と LMOX の抗菌力の差に反映されているものと思われる。

また Methicillin や他の  $\beta$ -lactam 耐性 *S. aureus* に対しても 6315-S は良好な抗菌力を示し, これもおそらく同じ理由に基づくものと考えられるが, 現在さらに詳細に検討しており, 次の機会に報告する予定である。

6315-S はグラム陰性菌に対しても LMOX 同様, 良好な抗菌力を示すが, これも本物質が  $\beta$ -lactamase に安定であり, PBP に対しても良好な親和性を示し, さらに外膜の透過性が良いものと推測される。しかし *P. aeruginosa* に対して抗菌力を示さないのは, その外膜の透過性に問題があるものと考えている。

## 文 献

- 1) YOSHIDA, T. ; T. TSUJI, S. MATSUURA, T. MATSUBARA, Y. HARADA & S. KUWAHARA : 6315-S, a novel oxacephem for parenteral use : antibacterial activity and pharmacology. 23rd ICAAC, Abstract 265, 1983 (Las Vegas)
- 2) TSUJI, T. ; H. SATOH, M. NARISADA, Y. HAMASHIMA & T. YOSHIDA : Synthesis and antibacterial activity of 6315-S, a new member of the oxacephem antibiotic. J. Antibiotics 38 : 466~476, 1985
- 3) 西野武志, 岩日朋幸 : 新合成セファロsporin Cefotiam (SCE-963) に関する細菌学的評価。Chemotherapy 27 (S-3) : 45~66, 1979
- 4) 西野武志, 大槻雅子, 宮川行正, 大藪有子, 田頭洋子, 西本佳夫, 谷野輝雄 : Cefmenoxime (SCE-1365) に関する細菌学的評価。Chemotherapy 29 (S-1) : 57-88, 1981
- 5) 西野武志, 堀賢司, 谷野輝雄 : Oxacephem系抗生物質 6059-S に関する細菌学的評価。Chemotherapy 28 (S-7) : 52~75, 1980
- 6) 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 : 76~79, 1981
- 7) 日本化学療法学会嫌気性菌 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
- 8) SPRATT, B. G. : Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation and shape of *Escherichia coli* K-12. Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A. 72 : 2999~3003, 1975
- 9) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON : A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96 : 99~113, 1949
- 10) 田所一郎 : ブドウ球菌のマウス皮下実験法。モダンメディア 13 : 110~118, 1967
- 11) CURTIS, N. A. C. ; M. V. HAYES, A. W. WYKE & J. B. WARD : A mutant of *Staphylococcus aureus* H lacking penicillin-binding protein 4 and transpeptidase activity *in vitro*. FEMS Microbiol. Lett. 9 : 263~266, 1980
- 12) CURTIS, N. A. C. & M. V. HAYES : A mutant of *Staphylococcus aureus* H deficient in penicillin-binding protein 1 is viable. FEMS Microbiol. Lett. 10 : 227~229, 1981

## BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF 6315-S (FLOMOXEF), A NEW OXACEPHEM ANTIBIOTIC

TAKESHI NISHINO, MASAKO OTSUKI, ISAO HIGASHIYAMA  
YUKA YAMASHITA and TERUO TANINO  
Department of Microbiology, Kyoto Pharmaceutical University

The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of 6315-S (flomoxef), a new semisynthetic oxacephem antibiotic, were compared with those of cefotiam (CTM), cefmenoxime (CMX) and latamoxef (LMOX). The following results were obtained.

6315-S had a broad antibacterial spectrum against Gram-positive and Gram-negative organisms. Its antibacterial activity was more potent than that of CTM, CMX and LMOX against *Staphylococcus aureus*, and excellent against  $\beta$ -lactam-resistant *Staphylococcus aureus*. On the other hand, against Gram-negative bacteria it was superior to that of CTM and equal or only a little inferior to that of CMX and LMOX.

Its antibacterial activity was not affected by the pH of the medium, the addition of horse serum and by inoculum size.

6315-S showed dose-related bactericidal activity against all the bacteria tested.

It also showed a high affinity for (in descending order) PBP 2, 4 and 3 of *S. aureus* and for PBP 3, 1A and 1Bs of *Escherichia coli*. In a morphological examination of *E. coli* by phase contrast microscope, exposure to 6315-S resulted in the formation of filamentous cells, spheroplast-like structures and lysis.

Against intraperitoneal infections with  $\beta$ -lactam-resistant or-sensitive *S. aureus* in mice, the therapeutic efficacy of 6315-S was superior to that of all other antibiotics tested. Moreover, against experimental systemic infections in mice it was almost equal to that of CTM against *Streptococcus pyogenes* and *E. coli*, similar to that of LMOX against *Klebsiella pneumoniae*, superior to that of CTM and only slightly inferior to that of LMOX against *Serratia marcescens* and *Morganella morganii*.

Against experimental subcutaneous infections (abscess) induced by  $\beta$ -lactam-resistant *S. aureus*, the therapeutic efficacy of 6315-S was superior to that of CTM, CMX and LMOX.