

주사제용 세파로스포린계 항생제 LB10522의 *in vitro* 및 *in vivo* 항균력

백경숙 · 오정인 · 김무용 · 김인철 · 곽진환*

LG화학 기술연구원 바이오텍연구소

(Received November 13, 1995)

In Vitro and *In Vivo* Antibacterial Activities of a New Parenteral Cephalosporin, LB10522

Kyoung-Sook Paek, Jeong-In Oh, Mu-Yong Kim, In-Chull Kim and Jin-Hwan Kwak*
Biotech Research Institute, LG Chem Research Park, LG Chemical Ltd., Tae-jon 305-380, Korea

Abstract—The *in vitro* antibacterial activities of LB10522, a new catechol-substituted cephalosporin, were compared with those of cefpirome, ceftazidime, ceftriaxone, and cefoperazone against clinical isolates and laboratory standard anaerobes. LB10522 had broad spectrum antibacterial activities against both gram-positive and gram-negative microorganisms. It was most active against gram-positive bacteria among the reference cephalosporins tested. Against gram-negative strains such as the family *Enterobacteriaceae*, LB10522 showed an activity comparable to that of cefpirome. But LB10522 was more potent than ceftazidime, ceftriaxone and cefoperazone. In particular, *Pseudomonas aeruginosa* was highly susceptible to LB10522, which was 32-fold and 64-fold more active than ceftazidime and cefpirome, respectively. Against anaerobic strains, the activity of LB10522 was similar to those of reference compounds. LB10522 exhibited potent therapeutic activities against experimental local infections in mice. The therapeutic effect of LB10522 against urinary tract infection (UTI) caused by *P. aeruginosa* 1912E in mice was superior to that of cefpirome. Against experimental respiratory tract infection (RTI) caused by *K. pneumoniae* DT-S in mice, LB10522 was as effective as cefpirome. The *in vivo* efficacy of LB10522 was correlated well with its *in vitro* activity.

Keywords □ Cephalosporin, Clinical isolates, Anaerobes, RTI (Respiratory Tract Infection), UTI (Urinary Tract Infection), LB10522.

세파로스포린계 항생제는 우수한 항균력과 생체내 안전성으로 인해 임상에서 가장 많이 쓰이고 있는 항생제이며, 따라서 이미 많은 주사제용 세파계 항생제들이 개발되어 중증의 감염질환 치료에 유용하게 쓰이고 있다.¹⁻²⁾ 그러나 이들 항생제에 대한 내성균의 증가와 1일 2~3회의 잦은 투여로 인한 의료비 상승 등의 원인으로 인해, 최근 세파계 항생제의 연구 개발 동향은 기존 세파계 항생제에 대한 내성의 주원인인 베타 락타메이즈 생성균에³⁻⁵⁾ 대해 높은 활성을 갖고, 또 녹농균에

까지 항균 스펙트럼이 확대되며, 1일 1회 주사로도 충분한 치료 효과를 갖는 새로운 항생제를 개발하는 것이 중요한 목표가 되고 있다.

LB10522는 최근 LG화학의 바이오텍 연구소에서 합성된 주사제용 세파로스포린계 항생제로서, 베타락탐 구조의 7번 위치에 catechol기를 가지고 있으며(Fig. 1), 그람양성균, 그람음성균 뿐만 아니라 녹농균에 대해서도 탁월한 항균력을 지니고 있고, 실험동물에서의 우수한 약물동력학적 특성으로 인해 임상에서 1일 1회 요법이 가능한 우수한 화합물로 기대된다.⁶⁻⁷⁾

본 연구에서는 국내 임상 분리 균주에 대한 LB 10522의 *in vitro* 항균력을 대조약제인 cefpirome, ce-

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-866-2105 (팩스) 042-862-0333

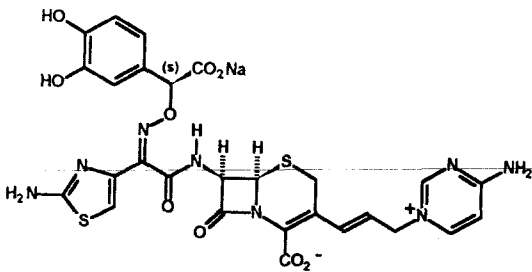


Fig. 1 — Chemical structure of LB10522.

ftazidime, ceftriaxone, cefoperazone과 비교 실험하였고, 또 실험동물에서의 호흡기감염과 요로감염에 대한 치료 효과를 대조약제인 cefpirome과 비교하였다.

실험방법

시험균주 - *In vitro* 항균력 측정을 위한 임상분리균주는 1992년~1994년 동안 국내의 종합병원에서 환자로 부터 직접 분리 동정한 균을 사용하였으며, 혐기성 균주는 American Type Culture Collection (ATCC)에서 구입하였다. 실험동물 감염균주로 사용한 균주는 영국 Glaxo사로 부터 입수하였다.

시약 및 기기 - Mueller-Hinton agar 과 broth, Tryptic soy agar, Wilkins-Chalgren medium 등은 Difco사에서 구입하여 사용하였다. MIC 측정용 자동기기는 Dynatech사의 MIC-2000 plus를 사용하였고, 분무감염장치는 Ikemoto Rika사의 것을 사용하였으며, 진탕배양기는 Lab-line사, 배양기는 Napco사, clean bench는 Baker사, anaerobic chamber는 Sheldon 사의 것을 사용하였다.

균주배양 - 시험 균주의 배양은 대부분 Mueller-Hinton 배지를 이용하였으나, *Streptococcus pneumoniae*의 배양시에는 5%의 defibrinated horse blood를 첨가한 Mueller-Hinton 배지를 사용하였으며, 혐기성 균주들은 Wilkins-Chalgren 배지를 이용하여 배양하였다.

항균력시험 - 항생물질의 최소발육저지농도(Minimal Inhibitory Concentration, MIC)는 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 방법에⁸⁾ 준하여 한천희석법으로 실시하였다. 최고농도 128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 부터 최저농도 0.008 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 2배 계단 희석된 항생물질이 함유된 배지에 MIC-

2000 plus multipin inoculator를 이용하여 10^4 CFU의 균을 접종하였고, 35°C에서 18시간 배양한 후, 균의 성장을 관찰할 수 없는 최소농도를 MIC로 결정하였다. MIC₅₀과 MIC₉₀은 시험균주 중 각각 50%와 90%에 해당하는 균주의 성장을 억제하는 약물농도로 결정하였다. 혐기성균의 경우에도 상기의 방법으로 실험을 진행하여 5%의 H₂와 CO₂, 90%의 N₂가 들어 있는 anaerobic chamber에서 48시간 배양한 후 MIC를 결정하였다.⁹⁾

호흡기 감염¹⁰⁾ - 체중 19~21 g의 수컷 ICR 생쥐를 분무감염장치(Ikemoto Rika, Tokyo, Japan) 안에 넣고 1 kg/cm²의 압력하에 30분 동안 10 ml의 *K. pneumoniae* DT-S 균액을 (2×10^9 CFU/ml) aerosol로 분무하여 감염시켰다. 18시간 후에 LB10522 또는 cefpirome 약액을 0.2 ml씩 (40 mg/ml) 피하주사 하였다. 약액 투여 직전과 약액을 투여하고 4, 8, 24시간 후에 각각 5마리의 생쥐로부터 폐를 적출하여 조직을 분쇄하고 생리식염수로 희석한 다음 MHA배지에 도말하였다. 35°C에서 18시간 배양한 후 전체 세균수를 세어 이로부터 폐당 생균수(viable cells/lung)를 산출하였다.

요로감염¹¹⁾ - 체중 19~21 g의 암컷 ICR 생쥐를 실험 전에 24시간 절수시켜 사용하였다. Tryptic soy agar 배지에서 18시간 배양한 *P. aeruginosa* 1912E를 생리식염수에 현탁시켜 2×10^8 CFU/ml로 희석한 다음, 바늘 끝을 무디게 만든 26 게이지 주사 바늘을 이용하여 0.05 ml의 균액을 생쥐의 요로로 주입한 후 균액이 흘러 나오지 않도록 수술실로 묶었다. 감염시킨 다음 4시간 후에 각 그룹당 6마리의 생쥐에 여러 농도의 약액을 피하로 주사하고, 약액 투여 후 24시간이 지난 다음 신장을 적출하여 조직을 분쇄하였다. 분쇄액을 생리식염수로 희석한 다음, MHA배지에 도말하여 35°C에서 18시간 배양한 후 전체 세균수를 세어 이로부터 신장조직당 생균수(viable cells/kidney)를 산출하였다.

실험결과

임상분리 균주에 대한 LB10522의 항균력 - 국내 임상분리균주에 대한 LB10522의 항균력을 cefpirome, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone 등을 대조약물로 하여 실험한 결과, LB10522는 그람양성균과 음성균 모두에 대하여 광범위한 항균력을 가진 것으로 관찰되었다(Table I). LB10522는 그람양성균에 대해서 시

Table I—Antibacterial activities of LB10522 and other cephalosporins against various clinical isolates

Strains (No. of strains)	Antimicrobial Agents	MIC($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50%	90%
MSSA (31)	LB10522	0.13~2	0.25	0.5
	Cefpirome	0.25~16	2	2
	Ceftazidme	4~128	4	8
	Ceftriaxone	1~32	4	8
	Cefoperazone	2~16	16	16
MRSA (40)	LB10522	0.25~>128	64	>128
	Cefpirome	1~>128	128	>128
	Ceftazidme	4~>128	>128	>128
	Ceftriaxone	2~>128	>128	>128
	Cefoperazone	4~>128	>128	>128
MSSE (27)	LB10522	0.063~1	0.5	0.5
	Cefpirome	0.13~4	2	2
	Ceftazidme	1~32	16	16
	Ceftriaxone	0.5~16	4	8
	Cefoperazone	1~32	8	8
MRSE (45)	LB10522	0.13~>128	4	128
	Cefpirome	0.5~>128	4	128
	Ceftazidme	8~>128	32	>128
	Ceftriaxone	4~>128	32	>128
	Cefoperazone	4~>128	16	>128
<i>Streptococcus pneumoniae</i> <26>	LB10522	≤ 0.008 ~128	0.016	2
	Cefpirome	≤ 0.008 ~>128	0.063	2
	Ceftazidme	0.031~>128	0.5	16
	Ceftriaxone	≤ 0.031 ~>128	0.063	1
	Cefoperazone	0.031~>128	0.5	32
<i>Streptococcus pyogenes</i> <13>	LB10522	0.25~8	1	8
	Cefpirome	0.13~16	0.5	16
	Ceftazidme	0.25~128	4	128
	Ceftriaxone	0.13~64	4	64
	Cefoperazone	2~128	32	128
<i>Enterococcus species</i> <78>	LB10522	0.13~>128	8	>128
	Cefpirome	0.13~>128	32	>128
	Ceftazidme	0.063~>128	>128	>128
	Ceftaxone	0.063~>128	>128	>128
	Cefoperazone	0.5~>128	64	>128
<i>Escherichia coli</i> <102>	LB10522	0.063~8	0.13	0.25
	Cefpirome	0.016~16	0.063	0.25
	Ceftazidme	0.016~32	0.25	0.5
	Ceftriaxone	≤ 0.008 ~128	0.063	0.13
	Cefoperazone	0.063~128	2	32
<i>Citrobacter freundii</i> <23>	LB10522	0.13~32	4	16
	Cefpirome	0.031~16	2	8
	Ceftazidme	0.063~>128	16	>128
	Ceftriaxone	0.016~>128	32	128
	Cefoperazone	0.25~>128	>128	>128
<i>Klebsiella pneumoniae</i> <43>	LB10522	0.13~16	0.5	4
	Cefpirome	0.031~128	0.25	32
	Ceftazidme	0.063~>128	1	32
	Ceftriaxone	0.016~>128	0.13	128
	Cefoperazone	0.25~>128	16	>128
<i>Enterobacter species</i> <66>	LB10522	0.13~16	0.5	8
	Cefpirome	0.031~8	0.13	4
	Ceftazidme	0.063~128	0.5	32
	Ceftriaxone	0.008~64	0.25	32
	Cefoperazone	0.25~>128	2	128

Table I — Continued

Strains (No. of strains)	Antimicrobial Agents	MIC($\mu\text{g/ml}$)		
		Range	50%	90%
<i>Proteus mirabilis</i> <7>	LB10522	0.063~0.25	0.13	0.13
	Cefpirome	0.063~0.25	0.13	0.13
	Ceftazidime	0.031~0.13	0.063	0.063
	Ceftriaxone	$\leq 0.008 \sim \leq 0.008$	≤ 0.008	≤ 0.008
	Cefoperazone	2~8	4	8
<i>Proteus vulgaris</i> <6>	LB10522	0.031~0.5	0.063	0.5
	Cefpirome	0.031~0.5	0.063	0.25
	Ceftazidime	0.016~0.13	0.031	0.13
	Ceftriaxone	$\leq 0.008 \sim 0.031$	≤ 0.008	0.031
	Cefoperazone	1~16	2	8
<i>Serratia marcescens</i> <55>	LB10522	0.25~4	1	2
	Cefpirome	0.063~8	0.13	1
	Ceftazidime	0.063~8	0.5	2
	Ceftriaxone	0.13~32	2	16
	Cefoperazone	1~>128	16	>128
<i>Morganella morganii</i> <11>	LB10522	0.25~0.5	0.25	0.5
	Cefpirome	0.031~0.25	0.063	0.13
	Ceftazidime	0.5~4	1	4
	Ceftriaxone	0.031~2	0.063	0.25
	Cefoperazone	4~>128	4	128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <42>	LB10522	0.13~16	0.25	1
	Cefpirome	2~64	32	64
	Ceftazidime	1~64	8	32
	Ceftriaxone	8~>128	>128	>128
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <20>	LB10522	0.5~64	2	8
	Cefpirome	1~64	4	16
	Ceftazidime	2~32	4	16
	Ceftriaxone	8~>128	16	64
	Cefoperazone	16~>128	128	>128

험한 화합물 중 가장 우수한 항균력을 보였으며, 특히 Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA)와 Methicillin-susceptible *Staphylococcus epidermidis* (MSSE)에 대한 LB10522의 MIC₉₀는 모두 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 로서 대조약물보다 4~32배 높은 항균력을 보였다. *Streptococcus pneumoniae*에 대해서는 cefpirome과 비슷한 효과를 보여 주었고, *Streptococcus pyogenes*에 대한 약효는 다른 대조약물보다 우수하였다. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)와 Methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) 및 *Enterococcus* spp.에 속하는 균들은 시험한 모든 약물에 대해 내성을 갖고 있었다. LB10522는 *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* 등의 *Enterobacteriaceae* 속 균주에 대해서도 높은 활성을 보였으며, 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 이들 균주 90%의 성장을 억제하였다. *Citrobacter freundii*에 대해 LB

10522는 cefpirome보다 2배정도 활성이 낮았지만, ceftazidime 등의 다른 화합물에 비해서는 8배 정도 우수한 효과를 갖고 있었으며, *K. pneumoniae*의 경우 LB10522의 MIC₉₀는 4 $\mu\text{g/ml}$ 로서 cefpirome 등의 대조약물보다 8~32배 높은 항균력을 보였다. LB10522는 특히 *P. aeruginosa*에 대해 매우 우수한 항균 효과를 갖는 특징을 보여주었으며, 이들 녹농균에 대한 MIC₉₀는 1 $\mu\text{g/ml}$ 로서 대조약제인 cefpirome과 ceftazidime에 비해 각각 64배, 32배 정도 우수한 항균력을 가진 것으로 나타났다. 또한 LB10522는 *Acinetobacter calcoaceticus*에 대해서도 다른 대조약제보다 우수한 항균력을 보여주었다.

혐기성 균주에 대한 LB10522의 항균력 - LB10522는 *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus productus*, *Propionibacterium acnes*에 대해서는 높은 항균력을 보였고, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides thetaio-*

Table II — *In vitro* activity of LB10522 against standard anaerobic strains

Strains	MIC (µg/ml)				
	LB10522	Cefpirome	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cefoperazone
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	8	32	16	8	128
<i>Bacteroides ovatus</i> ATCC 8483	128	>128	>128	64	128
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 28741	64	>128	>128	128	128
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 29327	16	32	32	16	16
<i>Clostridium difficile</i> ATCC 9689	32	32	>128	16	64
<i>Clostridium histolyticum</i> ATCC 19401	8	4	16	1	4
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	0.25	≤0.008	0.031	0.016	≤0.008
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	0.5	1	2	0.13	8
<i>Peptostreptococcus productus</i> ATCC 35244	0.25	0.016	0.5	0.13	8
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827	0.13	0.016	0.25	0.016	0.13

Table III — Therapeutic effect of LB10522 on respiratory tract infection by *K. pneumoniae* DT-S^a in mice

	Viable cells in lung after drug administration ^b (log ₁₀ CFU/lung)			
	0 hr	4 hr	7 hr	24 hr
Control	5.2±0.4	7.4±0.3	—	8.8±0.5
LB10522 ^c	5.2±0.5	3.4±0.2	3.5±0.2	0
Cefpirome ^c	5.2±0.6	3.7±0.1	3.3±0.4	0

^a *In vitro* MIC against *K. pneumoniae* DT-S : LB10522(0.25 µg/ml), Cefpirome (0.031 µg/ml)

^b Data was given as means ± standard deviations: —, Not determined.

^c Drug(8 mg/mouse) was administrated subcutaneously 18 hr after infection.

Table IV — Therapeutic effect of LB10522 on urinary tract infection by *P. aeruginosa* 1912E^a in mice

Dose (mg/kg) ^b	Viable cells in kidney after drug administrtion ^c (log ₁₀ CFU/kiney)			
	control	9	27	90(180 ^d)
LB10522	6.5±0.04	4.3±0.7	2.3±0.4	1.6±0.6
Cefpirome	6.5±0.04	5.5±0.5	5.2±0.7	2.4±0.5

^a *In vitro* MIC against *P. aeruginosa* 1912E : LB10522 (0.5 µg/ml), Cefpirome (2 µg/ml)

^b Drug was administrated subcutaneously 4 hr after infection.

^c Data was given as means ± standard deviations.

^d Dose of cefpirome.

taomicron, *Bacteroides vulgatus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium histolyticum* 등에 대하여서는 낮은 항균력을 보였으며, 이러한 결과는 대조약제의 항균력과 매우 유사하였다(Table II).

호흡기 감염에 대한 LB10522의 치료 효과 - *K. pneumoniae*는 병원내 감염의 주 원인균 중 하나이며, 특히 쇠약해진 환자에서 발병율이 높고 폐렴의 경우에는 치료가 매우 어렵다. 일반적으로 이 균에 대한 약물의 치료효과를 관찰하기 위해서 균액을 생쥐의 복강내로 주사하여 감염을 일으키는 전신감염모델이 사용되나, 이 균에 의해 유도된 호흡기 감염에 대한 약물의 효과를 좀 더 정확히 관찰하기 위하여 분무감염장치를 이용한 호흡기감염모델을 이용하였다. LB10522 또는 cefpirome을 생쥐 당 8 mg의 농도로 투여한 다음 4시간 후의 약물 투여군에서는 폐 조직 내의 균수가 약물을

처치하지 않은 대조군에 비해 10,000배 정도 감소하여 빠른 살균효과를 보여주었고, 24시간 후에는 약물 투여군에서는 폐 조직 내에서 균이 전혀 관찰되지 않아, LB10522와 cefpirome은 호흡기 감염에 대해 우수한 치료효과를 가지고 있음을 보여주었다(Table III). *K. pneumoniae* DT-S 균에 대한 LB10522의 *in vitro* MIC 값은 0.25 µg/ml로서 cefpirome의 0.031 µg/ml 보다 8배 정도 높았으나, 생쥐의 호흡기 감염에 대한 치료효과는 cefpirome과 비슷하거나 약간 우수하여, LB10522는 대조약제에 비해 *in vivo* 효과가 우수함을 알 수 있었다.

요로감염에 대한 LB10522의 치료 효과 - 요로와 신장은 *E. coli*, *P. aeruginosa* 등에 쉽게 감염되는 부위이며, 특히 *P. aeruginosa*에 의한 감염의 경우에는 환자가 면역능력이 저하된 상태이거나, 세균이 이미 여러 약물

에 대하여 내성을 가진 경우가 많아 치료에 많은 어려움을 겪게된다. *P. aeruginosa*에 의한 요로감염에 대해 LB10522의 치료효과를 측정하기 위하여, 이 균을 상행성 감염(ascending route) 방법으로 생쥐의 요로에 투여하여 신우신염을 유도하였다. 약물 투여한 다음 24시간 후에 생쥐의 신장내 생균수를 측정해 본 결과 (Table IV), LB10522을 9 mg/kg의 농도로 투여한 군에서는 신장내 생균수가 약물을 처치하지 않은 대조군균수의 1% 이하로 감소하였지만, cefpirome(9 mg/kg)을 투여한 군에서는 생균수가 대조군에 비해 10% 정도만 감소하였다. 또한 27 mg/kg의 약물을 투여한 군에서는 LB10522의 경우에는 생균수가 대조군에 비해 10,000배 이상이 감소하였지만, cefpirome을 투여한 군에서는 생균수가 9 mg/kg에서의 경우와 마찬가지로 대조군의 약 10% 정도만이 감소하였다. 또 LB10522를 90 mg/kg의 농도로 투여한 군에서는 생균수가 신장당 40개 (대조군에 비해 80,000배 감소) 정도만이 관찰된 반면, 180 mg/kg의 cefpirome을 투여한 군에서는 신장당 2.5×10^2 의 균이 관찰되었다(대조군에 비해 12,000배 감소). 이와 같이 *P. aeruginosa* 1912E에 의한 생쥐의 요로감염에 대해, LB10522는 cefpirome보다 월등히 우수한 치료 효과를 보여주었으며, 이는 이 균에 의한 전신감염 모델에서의 결과와도 잘 일치하였다.⁶⁾

고찰 및 결론

국내 임상분리균주에 대한 LB10522의 항균력을 cefpirome, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone을 대조약물로 하여 실험한 결과, LB10522는 그람양성균에 대해서는 시험약물 중 가장 우수한 항균력을 보여주었으며, 그람음성균에 대해서도 대조약물보다 비슷하거나 약간 우수한 항균력을 보여주었다. 특히 LB10522는 면역 기능이 저하된 중환자에 있어서 병원내 감염의 주원인이 되고 있으나 우수한 치료약이 없는 *P. aeruginosa*에 대해서도, 세파계 항생제 중에서는 거의 유일하게 이 균의 감염증에 사용되고 있는 ceftazidime보다 우수한 항균력을 갖고 있어서, 최근에 많이 보고되고 있는 ceftazidime 내성 녹농균의 치료에 우수한 효과를 보여줄 것으로 기대된다.¹²⁾ LB10522는 생쥐의 여러 감염모델에서 대조약제인 cefpirome보다 우수한 치료효과를 보여줌으로써, *in vitro*에서의 결과

보다 *in vivo*에서의 약효가 우수한 특징을 보여주었다. 이는 LB10522의 우수한 약물동력학적 특성과 시험관내에서의 우수한 약효가 잘 조화를 이룬 결과로 사료된다. 따라서 LB10522는 인체에서의 안전성과 우수한 약물동력학적 특성이 입증되면, ceftazidime의 우수한 항녹농균 효과와 ceftriaxone의 1일 1회 요법의 장점을 모두 갖고 있는 우수한 항균제로 성공적인 신약 개발이 기대된다.

문헌

- 1) Neu, H. C.: Third generation cephalosporins, safety profiles after 10 years of clinical use. *J. Clin. Pharmacol.* **30**, 396 (1990).
- 2) Donowitz, G. R. and Mandell, G. L.: Beta-lactam antibiotics. *N. Engl. J. Med.* **318**, 400 (1988)
- 3) Davies, J.: Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance gene. *Science* **264**, 375 (1994).
- 4) Kim, M. Y., Oh, J. I., Song, H. K., Paek, K. S. and Kwak, J. H.: Prevalence of strains resistant to the third generation cephalosporins among clinical isolates and identification of TEM type β -lactamase from resistant strains by PCR method. *Yakhuk Hoeji* **39**, 276 (1995).
- 5) Vu, H. and Nikaido, H.: Role of β -lactam hydrolysis in the mechanism of resistance of a β -lactamase constitutive *Enterobacter cloacae* strains to extended spectrum β -lactams. *Antimicrob. Agents and Chemother.* **27**, 393 (1985).
- 6) Oh, J. I., Paek, K. S., Song, H. K., Kim, M. Y., Kim, Y. Z., Kim, I. C. and Kwak, J. H.: LB10522, a new catechol-substituted cephalosporin: I. *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities. In *Abstracts of the 35th Interscience Conference on Antimicrobial agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 1995*. Abstract F41, p. 120. American Society for Microbiology, Washington, D.C. (1995).
- 7) Kim, M. Y., Song, H. K., Oh, J. I., Seo, M. K., Lee, Y. H., Kim, I. C. and Kwak, J. H.: LB10522, a new catechol-substituted cephalosporin: II. β -lactamase stabilities and biological activities. In *Abstracts of the 35th Interscience Conference on An-*

- Antimicrobial agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 1995. Abstract F42, p. 120. American Society for Microbiology, Washington, D.C. (1995).*
- 8) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Document M7-A3 : Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Villanova, Pa., (1993).
 - 9) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Document M11-A3 : Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Villanova, Pa., (1993).
 - 10) Nishi, T. and Tsuchiya, K.: Experimental respiratory tract infection with *Klebsiella pneumoniae* DT-S in mice: Chemotherapy with kanamycin. *Antimicrob. Agents and Chemother.* **17**, 494 (1980).
 - 11) Nishi, T. and Tsuchiya, K.: Experimental urinary tract infection with *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Infection and Immunity.* **22**, 508 (1978).
 - 12) Song, H. K., Oh, J. I., Kim, M. Y., Kim, Y. J., Kim, I. C., and Kwak, J. H.: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of LB10517, a novel catechol-substituted cephalosporin with broad antibacterial spectrum. *J. Antimicrob. Chemother.* (In press).