

新規単環性 N-sulfo- β -lactam 抗生物質 Carumonam の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用

近藤正熙・西 武・中尾雅文
深沢一郎・野路弓子・今田 哲
武田薬品工業株式会社中央研究所

Carumonam は *Pseudomonas aeruginosa* および *Haemophilus influenzae* を含む多くのグラム陰性菌に強い抗菌力を示した。グラム陽性菌および嫌気性菌に対する抗菌力は弱く、*Streptococcus pneumoniae* には弱い抗菌力を示したが、*Staphylococcus aureus* に対しては抗菌力を示さなかった。Carumonam の臨床分離腸内細菌 11 菌種、1,156 株の 80% の発育を阻止するのに必要な最小発育阻止濃度 (MIC₈₀) は 0.013~6.25 $\mu\text{g/ml}$ の範囲に含まれ、*Citrobacter freundii* 以外では 0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以下と低値で、ほとんどの場合対照薬剤のそれよりも小さい値であった。とくに *Klebsiella oxytoca* に対する carumonam の MIC₈₀ は 0.1 $\mu\text{g/ml}$ であったのに反し、aztreonam のそれは 25 $\mu\text{g/ml}$ であった。*P. aeruginosa* に対する carumonam の MIC₈₀ は sulbenicillin 感性株に対して 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 、耐性株に対しては 12.5 $\mu\text{g/ml}$ であり、aztreonam とほぼ同等の抗菌力を示した。また、carumonam の殺菌作用は強く、最小殺菌濃度 (MBC) は MIC とほぼ同じ値であった。

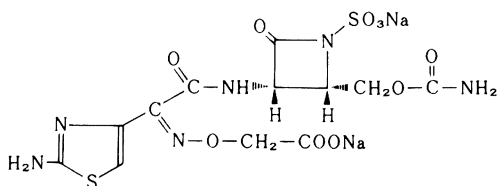
Carumonam の抗菌力は培地 pH、ウマ血清の添加、測定用培地種によっては変化しなかったが、接種菌量により僅かに変化した。

Carumonam は種々のグラム陰性菌腹腔内感染マウスにおいて *in vitro* の抗菌力に対応した強い防御効果を示した。*K. oxytoca* TN 1711 感染マウスにおいて carumonam の防御効果は、aztreonam より著しく強く、その他の菌株を感染したマウスでは aztreonam および cefmenoxime と同程度であったが、cefoperazone より優れていた。

結 言

最初の単環性 N-sulfo- β -lactam 抗生物質である sulfazecin が *Pseudomonas acidophila* sp. nov. の培養濾液から 1981 年に初めて見出された¹⁾。Sulfazecin の抗菌活性は弱かったので、基本骨格である N-sulfo-2-

Fig. 1 Chemical structure of carumonam



azetidinone 環を種々修飾することにより新しい β -lactam 剤の開発が試みられた。Azetidinone 環の 3 位および 4 位に種々の置換基を導入した結果、抗菌力、抗菌スペクトル、 β -lactamase に対する安定性などから carumonam (CRMN), (+)-(Z)-[[[1-(2-amino-4-thiazolyl)-2-[[[2S, 3S)-2-(carbamoyloxymethyl)-4-oxo-1-sulfo-3-azetidiny] amino]-2-oxoethylidene] amino] oxy] acetic acid (Fig. 1), を開発候補化合物として選出した²⁻⁴⁾。本報告では CRMN の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用を同じ単環性 β -lactam 剤である aztreonam (AZT)⁵⁾ および第 3 世代 cephem 剤 [cefoperazone (CPZ)⁶⁾, cefmenoxime (CMX)⁷⁾] のそれらと比較検討した。また、*Pseudomonas aeruginosa* に対する活性は cefsulodin (CFS)⁸⁾ とも比較した。

実験材料および方法

1. 薬剤：CRMN は武田薬品中央研究所で、AZT は Hoffmann-La Roche 社 (Nutley, N.J.) で合成し、CPZ, CMX および CFS は市販品を用いた。

2. 菌株：実験室保存好気性菌は Mueller Hinton agar (MHA: BBL), 10% ウシ血液加 MHA (Blood-MHA) あるいは 5% Fildes Enrichment (Difco) 加 Brain Heart Infusion agar (Fildes agar) に、嫌気性菌は GAM 半流動培地 (日水製薬) に継代保存した。各施設より分与された *Streptococcus pneumoniae* および *Haemophilus influenzae* の臨床分離株はそれぞれ Blood-MHA および Fildes agar で、その他の臨床分離株は Dorset 卵培地 (日水製薬) に 37°C, 1 夜培養後、保存した。

臨床分離 *Escherichia coli* および *Klebsiella pneumoniae* のうち 10^8 colony forming units (CFU)/ml の接種菌量において cefazolin (CEZ) の MIC が 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の菌株を耐性菌とした。同様に gentamicin (GM) の MIC が 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の *Serratia marcescens* および sulbenicillin (SBPC) の MIC が 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の *P. aeruginosa* を耐性菌とみなした。

3. 最小発育阻止濃度 (MIC) および最小殺菌濃度 (MBC) の測定：実験室保存菌株に対する MIC は寒天平板法により化学療法学会標準法に準じて測定した⁹⁾。約 10^8 および 10^6 CFU/ml の菌液は Mueller Hinton broth (MHB: BBL), Blood-MHA, Fildes agar および GAM broth (日水製薬), 37°C, 1 夜培養菌液より調製した。直径 2 mm の白金耳を用い、1 白金耳の菌液を約 2 cm の長さに、各薬剤の 2 倍希釈濃度系列を含む寒天培地の表面に塗抹した。MIC は 37°C, 1 夜培養後、肉眼的に発育の認められない最小薬剤濃度とした。

臨床分離株に対する MIC および MBC は微量液体培地希釈法により測定した¹⁰⁾。2 倍希釈濃度系列の薬剤を含む MHB 0.1 ml を滅菌 microtiter plate (8×12 wells) の各 well に分注した。次いで 10^6 CFU/ml の菌液 0.0015 ml を各 well に接種した。この plate を 37°C, 1 夜培養後、菌の発育の有無を濁度計 (Titertek Multiskan, Flow Laboratories) により自動的に測定し、吸光度 0.050 以上を発育有り、以下を発育無しとし、菌の発育のみられない最小薬

剤濃度を MIC とした¹¹⁾。MIC 判定後、各 well より培養液 0.0015 ml を inoculator を用いて薬剤を含まない Trypticase Soy agar (TSA: BBL), Blood-MHA, Fildes agar あるいは MacConkey agar (栄研化学) の平板に接種し、37°C, 1 夜培養した。MBC は寒天平板上に菌の発育のみられない最小薬剤濃度とした。

4. 試験管内耐性獲得：2 倍希釈系列の薬剤を含む Trypticase Soy broth (TSB: BBL) 5 ml に被験菌を約 10^6 CFU/ml に接種した。37°C, 48 時間培養後、薬剤を含まない対照培地とほぼ同程度の発育を示した最高薬剤濃度を含む培養菌液を同一およびさらに高濃度の薬剤を含む TSB に移植を繰り返した。

5. 感染防御試験：Brain Heart Infusion (Difco) に 37°C, 1 夜培養した菌を 5% mucin (Difco) に懸濁し、4 週齢、雄、体重 19~23 g の Slc: ICR マウスの腹腔内に 0.5 ml 接種した。感染菌量は感染対照マウスの 50% を死亡させる 30~100 倍量 (30~100×LD₅₀) とした。*P. aeruginosa* の感染では接種後 0, 2 および 4 時間後の 3 回、その他の菌による感染では接種直後に 1 回、2 倍希釈濃度系列の薬剤溶液 0.2 ml を皮下に投与した。実験は各薬剤濃度当り 5 匹のマウスを用い、5 回以上繰り返した。50% 有効量 (ED₅₀, mg/kg) は感染 5 日後の生残動物数より probit 法により求めた¹²⁾。

実験成績

1. 抗菌スペクトル：CRMN は AZT と同様にグラム陽性菌に対する抗菌力は弱く、とくに、*S. aureus* に対しては 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下では抗菌力を示さなかった。一方、グラム陰性菌に対しては *Flavobacterium meningosepticum* および *Alcaligenes denitrificans* を除き強い抗菌力を示した (Table 1)。*P. aeruginosa* に対する CRMN の抗菌力は AZT とほぼ同等であったが、CPZ および CMX より優れていた。

嫌気性菌に対し CRMN はほとんど抗菌力を示さなかったが、*Peptococcus aerogenes*, *Eubacterium alactolyticum*, *Bacteroides praecacutus*, *Fusobacterium nucleatum* および *Fusobacterium russii* に対しては 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の MIC 値を示した (Table 2)。

2. β -Lactamase 産生菌に対する抗菌力：

CRMN は各種の penicillinase および cephalosporinase 産生菌に対して強い抗菌力を示した。とくに AZT が弱い抗菌力しか示さない *Klebsiella oxytoca* TN 1711 (Richmond's type IV b β -

lactamase 産生菌) に対し, さらに CFS の抗菌力が劣る *P. aeruginosa* GN 3407 (type Vc β -lactamase 産生菌) に対しても, CRMN は強い抗菌力を示した (Table 3)。

Table 1-1 Antibacterial spectra of carumonam and reference antibiotics^{a)}

Organism	Medium ^{b)}	MIC (μ g/ml) at 10 ⁸ CFU/ml				MIC (μ g/ml) at 10 ⁶ CFU/ml			
		Caru- nam	Aztreo- nam	Cefope- razone	Cefme- noxime	Caru- nam	Aztreo- nam	Cefope- razone	Cefme- noxime
<i>S. aureus</i> FDA 209P	MH	>100	>100	0.78	1.56	>100	>100	0.39	0.39
<i>S. aureus</i> 308 A-1	MH	>100	>100	1.56	1.56	>100	>100	1.56	0.78
<i>S. aureus</i> Heatley	MH	>100	>100	1.56	0.78	>100	>100	0.78	0.78
<i>S. aureus</i> 1840	MH	>100	>100	3.13	1.56	>100	>100	1.56	1.56
<i>S. pyogenes</i> E-14	Blood-MH	12.5	25	0.1	0.025	12.5	25	0.1	0.013
<i>S. pyogenes</i> Dick	Blood-MH	12.5	25	0.1	0.025	12.5	25	0.1	0.013
<i>S. pyogenes</i> S-8	Blood-MH	12.5	25	0.1	0.025	12.5	25	0.1	0.013
<i>S. mitis</i> America	Blood-MH	>100	>100	0.78	0.025	100	>100	0.39	0.025
<i>S. faecium</i> IFO 3128	Blood-MH	>100	>100	25	>100	>100	>100	6.25	25
<i>S. pneumoniae</i> Type I	Blood-MH	25	>100	0.1	0.025	25	>100	0.1	0.025
<i>S. pneumoniae</i> Type II	Blood-MH	12.5	>100	0.2	0.013	6.25	>100	0.2	0.006
<i>S. pneumoniae</i> Type III	Blood-MH	12.5	>100	0.2	0.013	12.5	>100	0.1	0.013
<i>C. diphtheriae</i> Tronto	Blood-MH	>100	100	0.2	0.1	25	6.25	0.025	0.013
<i>B. subtilis</i> PCI-219	MH	>100	>100	1.56	3.13	>100	>100	0.78	0.78
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	MH	0.1	0.1	0.2	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1
<i>E. coli</i> Umezawa	MH	0.05	0.025	0.05	0.003	0.025	0.013	0.013	0.003
<i>E. coli</i> K-12	MH	0.1	0.1	0.05	0.013	0.1	0.1	0.025	0.006
<i>E. coli</i> O-78	MH	0.1	0.1	0.05	0.025	0.1	0.1	0.05	0.013
<i>E. coli</i> O-111	MH	0.025	0.025	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013
<i>E. coli</i> O-143	MH	0.05	0.05	0.013	0.006	0.025	0.05	0.006	0.006
<i>E. coli</i> T7	MH	0.2	0.39	>100	0.2	0.1	0.2	25	0.2
<i>C. freundii</i> IFO 12681	MH	0.1	0.1	0.39	0.2	0.05	0.05	0.1	0.1
<i>C. freundii</i> TN 518	MH	0.2	0.2	0.39	0.2	0.1	0.1	0.39	0.1
<i>S. typhi</i> Boxhill-58	MH	0.025	0.025	0.39	0.05	0.025	0.013	0.2	0.025
<i>S. typhi</i> Watson	MH	0.1	0.05	0.78	0.1	0.1	0.05	0.39	0.1
<i>S. paratyphi</i> A	MH	0.2	0.2	0.39	0.1	0.1	0.1	0.39	0.1
<i>S. schottmuelleri</i>	MH	0.05	0.05	0.78	0.1	0.05	0.05	0.39	0.1
<i>S. hirschfeldii</i>	MH	0.05	0.05	0.78	0.1	0.05	0.05	0.39	0.1
<i>S. typhimurium</i>	MH	0.05	0.05	0.39	0.05	0.05	0.05	0.39	0.05
<i>S. dysenteriae</i> EW-1	MH	0.025	0.013	0.006	0.003	0.013	0.013	0.006	0.003
<i>S. flexneri</i> EW-10	MH	0.2	0.2	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	0.05
<i>S. flexneri</i> EW-40	MH	0.1	0.1	0.05	0.025	0.1	0.1	0.05	0.025
<i>S. sonnei</i> EW-33	MH	0.05	0.025	0.05	0.013	0.025	0.025	0.05	0.013
<i>K. pneumoniae</i> DT	MH	0.05	0.025	0.05	0.025	0.025	0.013	0.025	0.013
<i>K. pneumoniae</i> IFO 13541	MH	0.1	0.1	0.2	0.013	0.05	0.05	0.1	0.013
<i>K. oxytoca</i> TN 1711	MH	0.1	25	>100	3.13	0.025	3.13	50	0.39

Table 1-2 Antibacterial spectra of carumonam and reference antibiotics^{a)}

Organism		Medium ^{b)}	MIC ($\mu\text{g/ml}$) at 10^8 CFU/ml				MIC ($\mu\text{g/ml}$) at 10^6 CFU/ml			
			Carumo- nam	Aztreo- nam	Cefope- razone	Cefme- noxime	Carumo- nam	Aztreo- nam	Cefope- razone	Cefme- noxime
<i>E. cloacae</i>	IFO 12937	MH	0.78	6.25	6.25	1.56	0.05	0.1	0.39	0.2
<i>E. cloacae</i>	IFO 13535	MH	6.25	12.5	25	12.5	0.78	1.56	1.56	1.56
<i>E. cloacae</i>	IFO 13536	MH	0.2	0.2	0.2	0.1	0.05	0.1	0.1	0.05
<i>E. cloacae</i>	TN 618	MH	0.2	0.2	0.39	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>S. marcescens</i>	IFO 12648	MH	0.05	0.1	1.56	0.1	0.05	0.1	0.78	0.1
<i>S. marcescens</i>	TN 66	MH	0.39	0.1	0.78	0.2	0.05	0.05	0.78	0.1
<i>P. vulgaris</i>	IFO 3851	MCA	0.013	0.006	0.006	0.003	0.006	0.003	0.003	0.003
<i>P. vulgaris</i>	IFO 3988	MCA	0.05	0.013	0.78	0.2	0.025	0.013	0.78	0.05
<i>P. vulgaris</i>	OX-19	MCA	0.025	0.006	0.2	0.006	0.013	0.006	0.006	0.003
<i>P. mirabilis</i>	IFO 3849	MCA	0.05	0.05	3.13	0.39	0.025	0.013	1.56	0.2
<i>P. mirabilis</i>	IFO 12255	MCA	0.025	0.025	1.56	0.39	0.025	0.013	1.56	0.2
<i>P. rettgeri</i>	IFO 13501	MCA	0.003	0.003	0.006	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003
<i>P. stuartii</i>	IFO 12930	MCA	0.025	0.013	0.78	0.05	0.006	0.006	0.2	0.013
<i>M. morgani</i>	IFO 3168	MCA	3.13	0.78	6.25	1.56	0.05	0.1	1.56	0.1
<i>M. morgani</i>	IFO 3848	MCA	0.025	0.006	0.025	0.003	0.013	0.006	0.013	0.003
<i>M. morgani</i>	GN 5278	MCA	0.1	0.025	3.13	0.05	0.025	0.013	1.56	0.013
<i>V. cholerae</i>	Inaba	MH	0.78	0.39	0.013	0.006	0.78	0.39	0.006	0.006
<i>P. aeruginosa</i>	U31	MH	12.5	6.25	100	100	6.25	6.25	25	50
<i>P. aeruginosa</i>	N18	MH	0.39	0.39	0.78	1.56	0.2	0.2	0.39	0.39
<i>P. aeruginosa</i>	D363	MH	6.25	6.25	12.5	25	3.13	6.25	3.13	25
<i>P. aeruginosa</i>	P8	MH	50	100	12.5	50	50	100	6.25	50
<i>P. aeruginosa</i>	P9	MH	1.56	3.13	3.13	12.5	0.78	1.56	3.13	6.25
<i>P. aeruginosa</i>	IFO 3455	MH	1.56	3.13	3.13	6.25	0.39	0.78	0.78	3.13
<i>P. aeruginosa</i>	GN 3407	MH	6.25	6.25	50	50	3.13	6.25	50	25
<i>P. cepacia</i>	E-34	MH	6.25	100	50	>100	3.13	50	25	50
<i>P. maltophilia</i>	IFO 14161	MH	25	>100	>100	>100	3.13	50	3.13	25
<i>F. meningosepticum</i>	IFO 12535	MH	>100	>100	50	100	>100	>100	25	25
<i>A. denitrificans</i>	IID 1344	MH	>100	>100	3.13	100	>100	>100	1.56	50
<i>A. calcoaceticus</i>	IFO 12552	MH	25	50	>100	100	25	50	>100	50
<i>A. calcoaceticus</i>	IFO 13006	MH	12.5	25	50	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
<i>H. influenzae</i>	NN 400	F-BHIA	0.1	0.1	0.05	0.013	0.1	0.1	0.025	0.013
<i>H. influenzae</i>	IID 983	F-BHIA	0.2	0.1	0.1	0.05	0.2	0.1	0.05	0.025
<i>H. influenzae</i>	IID 984	F-BHIA	0.2	0.1	0.1	0.05	0.2	0.05	0.05	0.025
<i>H. influenzae</i>	IID 985	F-BHIA	0.2	0.1	0.1	0.05	0.2	0.1	0.1	0.025
<i>H. influenzae</i>	IID 986	F-BHIA	0.1	0.1	0.05	0.013	0.1	0.1	0.013	0.013
<i>H. influenzae</i>	IID 987	F-BHIA	0.2	0.1	0.1	0.05	0.2	0.1	0.1	0.025
<i>H. influenzae</i>	IID 988	F-BHIA	0.2	0.1	0.1	0.025	0.2	0.1	0.05	0.025

a) Agar dilution method.

b) Medium: MH, Mueller Hinton agar (BBL); Blood-MH, MH supplemented with 10% bovine blood; MCA, MacConkey agar (Eiken); F-BHIA, Brain Heart Infusion agar (Difco) supplemented with 5% Fildes Enrichment (Difco).

Table 2-1 Antibacterial activity of carumonam and reference antibiotics against anaerobic bacteria^{a)}

Organism		MIC($\mu\text{g/ml}$) at 10^8 CFU/ml			
		Carumonomam	Aztreonam	Cefoperazone	Cefmenoxime
<i>P. anaerobius</i>	B-40	>100	50	0.39	0.39
<i>P. aerogenes</i>	ATCC 14963	1.56	0.2	0.006	0.006
<i>P. variabilis</i>	ATCC 14956	>100	>100	1.56	3.13
<i>P. anaerobius</i>	B-38	>100	50	12.5	0.78
<i>P. anaerobius</i>	B-30	>100	25	12.5	0.78
<i>A. fermentans</i>	1081	>100	25	12.5	0.78
<i>C. perfringens</i>	CW-2	>100	>100	1.56	3.13
<i>C. perfringens</i>	CW-3	>100	>100	0.78	0.78
<i>C. perfringens</i>	CW-14	>100	>100	0.006	0.006
<i>C. perfringens</i>	0668	>100	>100	0.013	0.006
<i>L. acidophilus</i>	IID-893	>100	>100	6.25	1.56
<i>E. aerofaciens</i>	ATCC 25986	>100	100	0.39	1.56
<i>E. alactolyticum</i>	1441	6.25	3.13	0.39	3.13
<i>E. limosum</i>	ATCC 8486	>100	>100	0.39	0.39
<i>B. adolescentis</i>	15706	>100	>100	0.1	0.05
<i>B. bifidum</i>	aE-319	>100	>100	0.1	0.39
<i>B. pseudolongum</i>	Mo2-10	100	>100	0.2	0.2
<i>B. fragilis</i>	2544	>100	>100	100	50
<i>B. fragilis</i>	2537	>100	>100	50	25
<i>B. fragilis</i>	2509	>100	50	25	12.5
<i>B. fragilis</i>	ATCC 25285	>100	>100	50	25
<i>B. fragilis</i>	1115	>100	>100	>100	100
<i>B. fragilis</i>	1117	>100	>100	25	50
<i>B. fragilis</i>	1119	>100	>100	50	50
<i>B. fragilis</i>	H-5	>100	>100	12.5	12.5
<i>B. vulgatus</i>	W-6	100	100	25	25
<i>B. hypermegas</i>	1108	>100	>100	50	3.13
<i>B. praeacutus</i>	ATCC 25539	3.13	50	3.13	0.05
<i>F. nucleatum</i>	MW-42	0.78	0.39	1.56	0.05
<i>F. nucleatum</i>	Mo-8	0.39	0.2	0.025	0.05
<i>F. russii</i>	ATCC 25533	0.78	1.56	0.1	0.05
<i>F. glutinosum</i>	Ju-21	>100	>100	6.25	12.5
<i>F. varium</i>	J-43	>100	>100	6.25	6.25
<i>F. varium</i>	ATCC 8501	>100	>100	100	25
<i>F. mortiferum</i>	15	>100	>100	6.25	25
<i>F. freundii</i>	ATCC 9817	>100	>100	6.25	50

a) Agar dilution method using GAM agar.

Table 2-2 Antibacterial activity of carumonam and reference antibiotics against anaerobic bacteria^{a)}

Organism		MIC(μ g/ml) at 10 ⁶ CFU/ml			
		Carumomam	Aztreonam	Cefoperazone	Cefmenoxime
<i>P. anaerobius</i>	B-40	100	6.25	0.39	0.2
<i>P. aerogenes</i>	ATCC 14963	1.56	0.1	0.006	0.003
<i>P. variabilis</i>	ATCC 14956	>100	50	0.78	1.56
<i>P. anaerobius</i>	B-38	>100	25	12.5	0.78
<i>P. anaerobius</i>	B-30	>100	25	12.5	0.78
<i>A. fermentans</i>	1081	>100	25	6.25	0.78
<i>C. perfringens</i>	CW-2	>100	>100	0.003	0.006
<i>C. perfringens</i>	CW-3	>100	100	0.006	0.003
<i>C. perfringens</i>	CW-14	>100	>100	0.006	0.003
<i>C. perfringens</i>	0668	>100	>100	0.006	0.003
<i>L. acidophilus</i>	IID-893	>100	>100	6.25	0.78
<i>E. aerofaciens</i>	ATCC 25986	>100	50	0.2	0.39
<i>E. alactolyticum</i>	1441	3.13	1.56	0.2	0.05
<i>E. limosum</i>	ATCC8486	>100	>100	0.2	0.1
<i>B. adolescentis</i>	15706	100	100	0.1	0.05
<i>B. bifidum</i>	aE-319	100	100	0.05	0.003
<i>B. pseudolongum</i>	Mo2-10	100	100	0.2	0.1
<i>B. fragilis</i>	2544	12.5	50	6.25	6.25
<i>B. fragilis</i>	2537	12.5	50	6.25	3.13
<i>B. fragilis</i>	2509	12.5	6.25	3.13	3.13
<i>B. fragilis</i>	ATCC 25285	12.5	50	6.25	3.13
<i>B. fragilis</i>	1115	100	>100	100	50
<i>B. fragilis</i>	1117	25	50	25	25
<i>B. fragilis</i>	1119	50	100	25	25
<i>B. fragilis</i>	H-5	100	>100	6.25	6.25
<i>B. vulgatus</i>	W-6	3.13	6.25	12.5	3.13
<i>B. hypermegas</i>	1108	>100	>100	25	1.56
<i>B. praeacutus</i>	ATCC 25539	0.2	0.2	0.05	0.05
<i>F. nucleatum</i>	MW-42	0.2	0.2	0.025	0.025
<i>F. nucleatum</i>	Mo-8	0.2	0.05	0.025	0.025
<i>F. russii</i>	ATCC 25533	0.2	1.56	0.1	0.05
<i>F. glutinosum</i>	Ju-21	12.5	12.5	3.13	0.2
<i>F. varium</i>	J-43	25	12.5	3.13	0.39
<i>F. varium</i>	ATCC 8501	12.5	6.25	3.13	0.2
<i>F. mortiferum</i>	15	1.56	1.56	0.39	0.1
<i>F. freundii</i>	ATCC 9817	6.25	6.25	0.78	0.2

a) Agar dilution method using GAM agar.

Table 3 Antibacterial activities of carumonam and reference antibiotics against β -lactamase producing organisms^{a)}

Organism		Type of β -lactamase	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
			Carumonam	Aztreonam	Cefoperazone	Cefmenoxime	Cefsulodin
<i>C. freundii</i>	GN1706	Ia	0.1	0.1	3.13	0.1	50
<i>E. coli</i>	GN206	Ib	1.56	1.56	0.1	0.2	50
<i>P. vulgaris</i>	GN4413	Ic	0.05	0.05	0.78	0.2	>100
<i>P. aeruginosa</i>	U31	Id	6.25	6.25	25	50	3.13
<i>E. coli</i>	T7	III	0.1	0.2	12.5	0.2	>100
<i>E. coli</i>	TN713	III	0.05	0.05	1.56	0.1	100
<i>K. pneumoniae</i>	TN1711	IVb	0.025	3.13	50	0.39	>100
<i>E. coli</i>	TN649	Va	0.1	0.1	0.2	0.39	50
<i>P. aeruginosa</i>	GN3407	Vc	3.13	6.25	50	25	25

a) Agar dilution method using Mueller Hinton agar (BBL) with inoculum size of 10^6 CFU/ml.

3. 臨床分離菌に対する抗菌力：臨床分離 *S. aureus* (50 株), *S. pneumoniae* (34 株), CEZ 感性 *E. coli* (103 株), CEZ 耐性 *E. coli* (67 株), *Citrobacter freundii* (104 株), CEZ 感性 *K. pneumoniae* (90 株), CEZ 耐性 *K. pneumoniae* (44 株), *K. oxytoca* (42 株), *Enterobacter cloacae* (97 株), GM 感性 *S. marcescens* (102 株), GM 耐性 *S. marcescens* (89 株), *Proteus vulgaris* (93 株), *Proteus mirabilis* (94 株), *Providencia rettgeri* (97 株), *Providencia stuartii* (32 株), *Morganella morgani* (102 株), SBPC 感性 *P. aeruginosa* (83 株), SBPC 耐性 *P. aeruginosa* (69 株) および *H. influenzae* (75 株) に対する CRMN の MIC および MBC を微量液体培地希釈法により測定し, AZT, CPZ, CMX および CFS のそれらと比較した。

CRMN および AZT は *S. aureus* に全く抗菌力を示さなかった (Table 4, 6, Fig. 2, 21)。 *S. pneumoniae* に対しては CRMN は AZT より強いが, 他の cephem 剤よりは弱い抗菌力を示した (Table 4, 7, Fig. 3, 22)。大部分の腸内細菌群の菌種 (CEZ 感性 *E. coli* および *K. pneumoniae*, CEZ 耐性 *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, GM 感性 *S. marcescens*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri*, *P. stuartii* および *M. morgani*) に対する CRMN の MIC₈₀ は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ 以下であり, この値は比較対照としていづれの薬剤のそれよりも小さく,

とくに CPZ より著しく優れていた (Table 4)。CRMN と他剤の抗菌力を比較すると, *K. oxytoca* に対しては AZT よりも優れ, 他の腸内細菌種に対しても CRMN は AZT および CMX と同等かやや優れた抗菌力を示し (Table 8~21, Fig. 4~17, 23~36), MIC₈₀ 値は CEZ 耐性 *E. coli* 0.78 $\mu\text{g/ml}$, *C. freundii* 6.25 $\mu\text{g/ml}$, *E. cloacae* 0.39 $\mu\text{g/ml}$, GM 耐性 *S. marcescens* 0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった (Table 4)。SBPC 感性および耐性 *P. aeruginosa* に対する CRMN の MIC₈₀ はそれぞれ 3.13 および 12.5 $\mu\text{g/ml}$ であり, AZT とほぼ同等, CPZ より優れた抗菌力を示した。また, CRMN は SBPC 耐性菌に対しては CFS より優れていた (Table 4, 22, 23, Fig. 18, 19, 37, 38)。 *H. influenzae* に対し CRMN は CMX より劣るが, AZT および CPZ と同等の強い抗菌力を示し, その MIC₈₀ は 0.2 $\mu\text{g/ml}$ であった (Table 4, 24, Fig. 20, 39)。

いづれの菌種に対しても CRMN の殺菌作用は強く, MBC₅₀, MBC₈₀ および MBC₉₀ 値は大部分の菌株で MIC₅₀, MIC₈₀ および MIC₉₀ 値に一致したが, *H. influenzae* に対する MBC₅₀ 値および *E. cloacae*, *P. rettgeri* に対する MBC₉₀ 値はそれぞれの MIC₅₀ および MIC₉₀ 値より約 2 倍大きかった (Table 4, 5)。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響：CRMN の抗菌力に及ぼす接種菌量, 培地 pH, ウマ血清添加およ

Table 4-1 Comparative MIC values of carumonam and reference antibiotics against clinical isolates^{a)}

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{b)}			
		Range	50%	80%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (50)	Carumonam	>100	>100	>100	>100
	Aztreonam	>100	>100	>100	>100
	Cefoperazone	0.78~6.25	1.56	3.13	3.13
	Cefmenoxime	0.78~6.25	1.56	1.56	1.56
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (34)	Carumonam	3.13~25	12.5	12.5	25
	Aztreonam	50~>100	>100	>100	>100
	Cefoperazone	0.05~0.2	0.1	0.1	0.2
	Cefmenoxime	0.006~0.025	0.013	0.025	0.025
<i>Escherichia coli</i> (103) CEZ-sensitive	Carumonam	0.025~0.78	0.1	0.2	0.2
	Aztreonam	0.013~0.78	0.1	0.2	0.2
	Cefoperazone	0.006~12.5	0.39	1.56	3.13
	Cefmenoxime	0.006~0.78	0.1	0.2	0.2
<i>Escherichia coli</i> (67) CEZ-resistant	Carumonam	0.05~12.5	0.1	0.78	3.13
	Aztreonam	0.1~50	0.2	1.56	6.25
	Cefoperazone	0.1~100	6.25	25	25
	Cefmenoxime	0.025~25	0.2	0.78	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> (104)	Carumonam	0.025~50	0.2	6.25	25
	Aztreonam	0.013~100	0.2	25	50
	Cefoperazone	0.025~>100	0.39	25	50
	Cefmenoxime	0.013~100	0.2	12.5	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (90) CEZ-sensitive	Carumonam	0.013~0.2	0.1	0.1	0.2
	Aztreonam	0.013~0.39	0.1	0.2	0.2
	Cefoperazone	0.1~25	0.2	0.78	3.13
	Cefmenoxime	0.006~0.78	0.1	0.2	0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (44) CEZ-resistant	Carumonam	0.05~6.25	0.1	0.39	0.39
	Aztreonam	0.05~>100	0.39	0.78	6.25
	Cefoperazone	0.1~>100	12.5	50	100
	Cefmenoxime	0.05~25	0.39	1.56	3.13
<i>Klebsiella oxytoca</i> (42)	Carumonam	0.025~25	0.05	0.1	0.2
	Aztreonam	0.025~>100	1.56	25	50
	Cefoperazone	0.2~>100	12.5	>100	>100
	Cefmenoxime	0.006~100	0.1	0.78	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> (97)	Carumonam	0.025~100	0.1	0.39	6.25
	Aztreonam	0.025~100	0.2	0.39	25
	Cefoperazone	0.025~>100	0.39	3.13	25
	Cefmenoxime	0.025~>100	0.2	1.56	25
<i>Serratia marcescens</i> (102) GM-sensitive	Carumonam	0.025~12.5	0.1	0.2	0.2
	Aztreonam	0.025~25	0.1	0.39	0.39
	Cefoperazone	0.1~>100	0.78	3.13	12.5
	Cefmenoxime	0.025~25	0.2	0.78	1.56

Table 4-2 Comparative MIC values of carumonam and reference antibiotics against clinical isolates^{a)}

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$) ^{b)}			
		Range	50%	80%	90%
<i>Serratia marcescens</i> (89) GM-resistant	Carumonam	0.05~12.5	0.39	0.78	3.13
	Aztreonam	0.05~25	0.78	3.13	6.25
	Cefoperazone	0.1~>100	50	>100	>100
	Cefmenoxime	0.1~25	3.13	6.25	6.25
<i>Proteus vulgaris</i> (93)	Carumonam	$\leq 0.003\sim 0.1$	0.025	0.025	0.05
	Aztreonam	0.006~0.2	0.013	0.025	0.025
	Cefoperazone	0.2~25	1.56	3.13	3.13
	Cefmenoxime	0.006~3.13	0.1	0.2	0.39
<i>Proteus mirabilis</i> (94)	Carumonam	0.006~0.025	0.013	0.025	0.025
	Aztreonam	0.006~0.025	0.013	0.013	0.013
	Cefoperazone	0.39~6.25	0.78	1.56	1.56
	Cefmenoxime	0.025~0.39	0.05	0.1	0.1
<i>Providencia rettgeri</i> (97)	Carumonam	$\leq 0.003\sim 0.05$	0.013	0.013	0.013
	Aztreonam	$\leq 0.003\sim 0.2$	0.013	0.025	0.025
	Cefoperazone	0.2~50	1.56	6.25	6.25
	Cefmenoxime	0.006~1.56	0.025	0.1	0.2
<i>Providencia stuartii</i> (32)	Carumonam	0.013~0.05	0.025	0.025	0.025
	Aztreonam	0.006~0.05	0.013	0.025	0.025
	Cefoperazone	0.2~50	1.56	3.13	25
	Cefmenoxime	0.013~3.13	0.05	0.2	0.39
<i>Morganella morganii</i> (102)	Carumonam	0.025~3.13	0.05	0.2	0.78
	Aztreonam	0.006~3.13	0.025	0.05	0.39
	Cefoperazone	0.1~50	0.78	6.25	12.5
	Cefmenoxime	0.006~3.13	0.025	0.2	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (83) SBPC-sensitive	Carumonam	0.2~25	3.13	3.13	12.5
	Aztreonam	0.39~50	6.25	6.25	12.5
	Cefoperazone	0.78~>100	3.13	12.5	25
	Cefsulodin	0.2~25	3.13	3.13	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (69) SBPC-resistant	Carumonam	0.78~100	3.13	12.5	12.5
	Aztreonam	0.78~>100	6.25	25	25
	Cefoperazone	1.56~>100	50	50	100
	Cefsulodin	3.13~>100	25	100	100
<i>Haemophilus influenzae</i> (75)	Carumonam	0.1~0.39	0.1	0.2	0.2
	Aztreonam	0.025~0.2	0.1	0.1	0.1
	Cefoperazone	0.006~0.1	0.025	0.05	0.1
	Cefmenoxime	0.006~0.05	0.025	0.025	0.025

a) Microbroth dilution method with Mueller Hinton broth. For *S. pneumoniae* and *H. influenzae*, 10% horse serum and 5% Fildes Enrichment were supplemented, respectively. Inoculum, 10^6 CFU/ml.

b) MIC₅₀, MIC₈₀, and MIC₉₀ represent the concentrations required to inhibit the growth of 50, 80, and 90% of the number of strains tested, respectively.

Table 5-1 Comparative MBC values of carumonam and reference antibiotics against clinical isolates^{a)}

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MBC ($\mu\text{g/ml}$) ^{b)}			
		Range	50%	80%	90%
<i>Staphylococcus aureus</i> (50)	Carumonam	>100	>100	>100	>100
	Aztreonam	>100	>100	>100	>100
	Cefoperazone	0.78~6.25	1.56	3.13	3.13
	Cefmenoxime	0.78~6.25	1.56	1.56	3.13
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (34)	Carumonam	3.13~25	12.5	12.5	25
	Aztreonam	50~>100	>100	>100	>100
	Cefoperazone	0.05~0.2	0.1	0.1	0.2
	Cefmenoxime	0.006~0.025	0.013	0.025	0.025
<i>Escherichia coli</i> (103) CEZ-sensitive	Carumonam	0.025~0.78	0.1	0.2	0.2
	Aztreonam	0.013~0.78	0.2	0.2	0.2
	Cefoperazone	0.006~12.5	0.39	3.13	3.13
	Cefmenoxime	0.013~0.78	0.1	0.2	0.2
<i>Escherichia coli</i> (67) CEZ-resistant	Carumonam	0.05~12.5	0.1	0.78	3.13
	Aztreonam	0.1~50	0.2	1.56	6.25
	Cefoperazone	0.1~100	6.25	25	25
	Cefmenoxime	0.025~25	0.2	0.78	1.56
<i>Citrobacter freundii</i> (104)	Carumonam	0.025~100	0.2	12.5	25
	Aztreonam	0.013~100	0.2	25	50
	Cefoperazone	0.025~>100	0.78	25	50
	Cefmenoxime	0.013~100	0.2	12.5	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (90) CEZ-sensitive	Carumonam	0.013~0.2	0.1	0.1	0.2
	Aztreonam	0.013~0.39	0.1	0.2	0.2
	Cefoperazone	0.1~25	0.39	0.78	3.13
	Cefmenoxime	0.006~0.78	0.1	0.2	0.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (44) CEZ-resistant	Carumonam	0.05~6.25	0.1	0.39	0.39
	Aztreonam	0.05~>100	0.39	0.78	6.25
	Cefoperazone	0.1~>100	12.5	50	>100
	Cefmenoxime	0.05~25	0.39	1.56	3.13
<i>Klebsiella oxytoca</i> (42)	Carumonam	0.025~25	0.05	0.2	0.2
	Aztreonam	0.025~>100	1.56	25	50
	Cefoperazone	0.2~>100	12.5	>100	>100
	Cefmenoxime	0.006~100	0.1	0.78	1.56
<i>Enterobacter cloacae</i> (97)	Carumonam	0.025~100	0.1	0.39	12.5
	Aztreonam	0.025~100	0.2	0.78	25
	Cefoperazone	0.025~>100	0.78	3.13	25
	Cefmenoxime	0.025~>100	0.2	3.13	25
<i>Serratia marcescens</i> (102) GM-sensitive	Carumonam	0.025~12.5	0.1	0.2	0.2
	Aztreonam	0.025~25	0.2	0.39	0.78
	Cefoperazone	0.1~>100	1.56	3.13	12.5
	Cefmenoxime	0.025~25	0.2	0.78	1.56

Table 5-2 Comparative MBC values of carumonam and reference antibiotics against clinical isolates^{a)}

Organism (No. of strains)	Antibiotic	MBC ($\mu\text{g/ml}$) ^{b)}			
		Range	50%	80%	90%
<i>Serratia marcescens</i> (89) GM-resistant	Carumonam	0.05~12.5	0.39	1.56	3.13
	Aztreonam	0.1~25	1.56	3.13	6.25
	Cefoperazone	0.1~>100	50	>100	>100
	Cefmenoxime	0.1~25	3.13	6.25	12.5
<i>Proteus vulgaris</i> (93)	Carumonam	$\leq 0.003\sim 0.1$	0.025	0.025	0.05
	Aztreonam	0.006~0.2	0.013	0.025	0.05
	Cefoperazone	0.39~25	1.56	3.13	3.13
	Cefmenoxime	0.025~3.13	0.1	0.2	0.39
<i>Proteus mirabilis</i> (94)	Carumonam	0.006~0.025	0.013	0.025	0.025
	Aztreonam	0.006~0.025	0.013	0.013	0.013
	Cefoperazone	0.39~6.25	0.78	1.56	1.56
	Cefmenoxime	0.025~0.39	0.05	0.1	0.1
<i>Providencia rettgeri</i> (97)	Carumonam	$\leq 0.003\sim 0.05$	0.013	0.013	0.025
	Aztreonam	$\leq 0.003\sim 0.39$	0.013	0.025	0.05
	Cefoperazone	0.2~50	1.56	6.25	12.5
	Cefmenoxime	0.006~1.56	0.025	0.1	0.39
<i>Providencia stuartii</i> (32)	Carumonam	0.013~0.05	0.025	0.025	0.025
	Aztreonam	0.006~0.05	0.013	0.025	0.025
	Cefoperazone	0.2~50	1.56	3.13	25
	Cefmenoxime	0.013~3.13	0.1	0.2	0.39
<i>Morganella morganii</i> (102)	Carumonam	0.025~3.13	0.05	0.2	0.78
	Aztreonam	0.006~3.13	0.025	0.05	0.39
	Cefoperazone	0.2~50	1.56	6.25	12.5
	Cefmenoxime	0.006~3.13	0.05	0.39	1.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (83) SBPC-sensitive	Carumonam	0.2~50	3.13	6.25	12.5
	Aztreonam	0.39~50	6.25	12.5	25
	Cefoperazone	0.78~>100	6.25	12.5	25
	Cefsulodin	0.2~50	3.13	6.25	6.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (69) SBPC-resistant	Carumonam	0.78~100	3.13	12.5	12.5
	Aztreonam	0.78~>100	6.25	25	50
	Cefoperazone	1.56~>100	50	100	100
	Cefsulodin	3.13~>100	50	100	>100
<i>Haemophilus influenzae</i> (75)	Carumonam	0.1~0.78	0.2	0.2	0.2
	Aztreonam	0.05~0.2	0.1	0.1	0.1
	Cefoperazone	0.006~0.1	0.025	0.05	0.1
	Cefmenoxime	0.013~0.05	0.025	0.025	0.025

a) Microbroth dilution method with Mueller Hinton broth. For *S. pneumoniae* and *H. influenzae*, 10% horse serum and 5% Fildes Enrichment were supplemented, respectively. Inoculum, 10^6 CFU/ml.

b) MBC_{50} , MBC_{80} , and MBC_{90} represent the concentrations required to inhibit the growth of 50, 80, and 90% of the number of strains tested, respectively.

Table 6 Susceptibility of 50 clinically isolated strains of *S. aureus* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Carumonam MIC MBC																	50 50
Aztreonam MIC MBC																	50 50
Cefoperazone MIC MBC									2	33	14	1					
Cefmenoxime MIC MBC									2	29	18	1					
									12	33	4	1					
									5	37	7	1					

Table 7 Susceptibility of 34 clinically isolated strains of *S. pneumoniae* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Carumonam MIC MBC																	
Aztreonam MIC MBC											1	7	20	6			
Cefoperazone MIC MBC											1	7	20	6			
Cefmenoxime MIC MBC															2	4	28
		4	16	14	11	17	6								2	4	28
		4	16	14	11	17	6								2	4	28

Table 8 Susceptibility of 103 clinically isolated strains of CEZ-sensitive *E. coli* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
MIC				1	23	54	23	1	1								
MBC				1	19	54	27	1	1								
MIC			1		11	41	46	3	1								
MBC			1		11	37	49	4	1								
MIC		1			2	12	34	15	6	14	11	4	4				
MBC		1			2	11	35	14	7	12	13	4	4				
MIC		1		1	5	52	37	5	2								
MBC			1	1	4	46	43	6	2								

Table 9 Susceptibility of 67 clinically isolated strains of CEZ-resistant *E. coli* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
MIC					6	28	12	5	4	4	2	3	3				
MBC					6	28	12	4	5	4	2	3	3				
MIC						17	20	8	7	2	5	4	2	1	1		
MBC						16	20	8	8	2	5	3	3	1	1		
MIC						3	4	6	1	2	11	12	12	13	2	1	
MBC				1		3	4	6	1	2	11	12	11	13	2	2	
MIC					2	18	27	4	6	3	2	2	1	1			
MBC				1	2	18	26	5	6	3	2	2	1	1			

Table 12 Susceptibility of 44 clinically isolated strains of CEZ-resistant *K. pneumoniae* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	> 100
MIC					7	16	9	9	1		1	1					
MBC					7	15	10	9	1		1	1					
MIC					1	12	6	15	3	2		2		1	1		1
MBC					1	11	7	13	5	1	1	1	1		2		1
MIC						1	4	4	1		5	4	7	6	6	2	4
MBC						1	3	4	2		4	5	7	5	6	1	6
MIC					1	8	12	5	7	5	3	1	1	1			
MBC					1	6	13	6	7	5	3	1	2	1			

Table 13 Susceptibility of 42 clinically isolated strains of *K. oxytoca* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	> 100
MIC				1	21	12	5	1		1				1			
MBC				1	20	12	6	1		1				1			
MIC				1		5	6	6	2	2	3	2	5	3	5	1	1
MBC				1		4	7	4	4	2	3	2	5	3	5	1	1
MIC							2	1	1	6	1	1	1			7	14
MBC							2	1	1	6	2	2	1			7	14
MIC		1		1	6	15	1	8	3	3	2		1		1		
MBC		1		1	5	16	1	7	4	3	2		1		1		

Table 14 Susceptibility of 97 clinically isolated strains of *E. cloacae* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Carumonam	MIC			4	16	33	19	9	1	2	1	3	3	3	2	1	
	MBC			4	15	32	19	9	2	2	1	2	5	3	2	1	
Aztreonam	MIC			2	12	33	20	12	2	1		3	2	2	5	3	
	MBC			2	10	32	23	9	3	2	1	2	3	2	5	3	
Cefoperazone	MIC			1	2	8	12	26	23	5	3	1	1	7	4	1	3
	MBC			1	1	9	11	20	28	6	4	1	1	6	5	1	3
Cefmenoxime	MIC			1	2	10	38	19	3	5	4	1	3	4	2	3	2
	MBC			1	2	9	38	19	3	5	5	1	3	4	2	3	2

Table 15 Susceptibility of 102 clinically isolated strains of GM-sensitive *S. marcescens* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Carumonam	MIC			1	35	33	24	6	2				1				
	MBC			1	25	36	30	7	2				1				
Aztreonam	MIC			1	7	45	24	16	6	1	1			1			
	MBC			1	3	35	34	16	9	2	1			1			
Cefoperazone	MIC					2	6	22	22	23	7	7	4	3	2	1	3
	MBC					1	3	18	24	21	15	4	7	3	2	1	3
Cefmenoxime	MIC			2	5	19	35	19	11	8	2						
	MBC			2	5	12	37	21	13	9	2						

Table 16 Susceptibility of 89 clinically isolated strains of GM-resistant *S. marcescens* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	> 100
MIC					9	7	13	28	16	7	7		2				
MBC					8	6	11	26	16	12	8		2				
MIC				3		5	6	15	22	14	15	5	2	2			
MBC						8	4	13	19	18	16	6	2	3			
MIC						1		1	5		2	4	10	14	14	17	21
MBC						1		1	5		2	2	8	16	13	15	26
MIC						4	8	4	6	13	30	18	5	1			
MBC						3	9	3	5	13	29	18	8	1			

Table 17 Susceptibility of 93 clinically isolated strains of *P. vulgaris* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	> 100
MIC	1	2	25	51	13	1											
MBC	1	2	21	51	15	3											
MIC		24	44	16	4	3	2										
MBC		17	43	23	4	4	2										
MIC							1	8	24	40	15	1	1	3			
MBC								5	20	43	17	4	1	3			
MIC		1	2	12	24	29	14	5	4	1	1						
MBC			11	11	23	25	19	7	5	2	1						

Table 18 Susceptibility of 94 clinically isolated strains of *P. mirabilis* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	> 100
MIC		3	54	37													
MBC		3	44	47													
MIC		38	54	2													
MBC		31	59	4													
MIC								10	55	22	5	2					
MBC								5	47	34	5	3					
MIC																	
MBC																	
MIC																	
MBC																	

Table 19 Susceptibility of 97 clinically isolated strains of *P. rettgeri* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	> 100
MIC	1	43	45	7	1												
MBC	1	32	53	9	2												
MIC	2	37	36	13	6	2	1										
MBC	1	26	44	15	5	5		1									
MIC																	
MBC																	
MIC																	
MBC																	
MIC		8	33	23	12	7	5	6	2	11	17	14	6	2	1		
MBC		4	20	31	16	8	8	4	5	20	7	24	7	2	2		

Table 20 Susceptibility of 32 clinically isolated strains of *P. stuartii* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	> 100
MIC			8	23	1												
MBC			5	26	1												
MIC		6	16	9	1												
MBC		3	13	15	1												
MIC						1	3	4	13	6	1			3	1		
MBC						1	2	2	11	10	2			2	2		
MIC			2	3	12	7	4	2	1	1							
MBC			1	1	8	13	4	2	2	1							

Table 21 Susceptibility of 102 clinically isolated strains of *M. morgani* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	> 100
MIC				33	39	9	2	7	4	4	4						
MBC				22	48	10	2	8	4	4	4						
MIC		1	27	46	8	2	4	5	4	4	1						
MBC		1	11	55	15	1	2	8	3	5	1						
MIC						1	1	12	39	24	4			3	3		
MBC							2	7	32	33	7		5	2	2		
MIC		1	12	38	18	11	4	2	5	10	1						
MBC		1	5	40	21	11	3	4	6	9	2		7	2	4		

Table 22 Susceptibility of 83 clinically isolated strains of SBPC-sensitive *P. aeruginosa* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
MIC							1	2	2	23	39	6	7	3			
MBC						1	1	2	2	16	42	8	8	2	2		
MIC								2	3	5	22	35	8	5	3		
MBC							1	4	4	5	15	39	9	7	3		
MIC								3	3	2	37	20	10	8	2		1
MBC								1	1	4	18	35	11	10	3		1
MIC						1	1	1	2	34	30	8	3	4			
MBC						1	1	1	1	27	34	11	4	2	2		

Table 23 Susceptibility of 69 clinically isolated strains of SBPC-resistant *P. aeruginosa* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
MIC									3	24	11	11	14	5		1	
MBC									2	15	20	10	16	5		1	
MIC								1	1	2	23	13	10	14	4	1	1
MBC								1	1	2	18	16	10	14	6	1	1
MIC										1	1	2	7	23	24	9	2
MBC										1		2	6	21	25	12	2
MIC											3	3	16	14	18	9	6
MBC											3	3	12	15	16	13	7

Table 24 Susceptibility of 75 clinically isolated strains of *H. influenzae* to carumonam and reference antibiotics

Antibiotic	MIC and MBC ($\mu\text{g/ml}$)																
	≤ 0.003	0.006	0.013	0.025	0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
Carumonam						41 24	33 50	1	1								
Aztreonam				1	28 22	45 50	1 3										
Cefoperazone		6 2	21 22	21 23	13 14	14 14											
Cefmenoxime		3	29 28	41 41	2 6												

び測定用培地の種類について *E. coli* NIHJ JC-2 および T7, *C. freundii* IFO 12681, *K. pneumoniae* DT, *E. cloacae* IFO 13535, *S. marcescens* IFO 12648, *P. vulgaris* IFO 3988, *P. mirabilis* IFO 3849, *M. morgani* IFO 3168 および *P. aeruginosa* P9 を用いて検討した (Table 25)。CRMN の抗菌力は *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* および *P. vulgaris* では接種菌量の影響を受けなかったが, *C. freundii*, *E. cloacae*, *P. mirabilis*, *M. morgani* および *P. aeruginosa* では接種菌量 $10^4 \sim 10^9$ CFU/ml で菌量の増加につれて MIC 値が大きくなった。培地 pH, ウマ血清添加および培地種により CRMN の抗菌力はほとんど影響を受けなかったが, *E. cloacae* ではウマ血清 50% 添加により著しく抗菌力が減弱した。

5. 試験管内耐性獲得: *E. coli* NIHJ JC-2 の CRMN に対する耐性獲得は AZT および CPZ と同様の速度で徐々に上昇し, MIC は継代前 $0.2 \mu\text{g/ml}$ であったものが, 25 継代後には $200 \mu\text{g/ml}$ となった。*P. aeruginosa* P9 の CRMN に対する耐性獲得は他の 2 剤より遅く, MIC は継代前の $12.5 \mu\text{g/ml}$ から 25 継代後に $200 \mu\text{g/ml}$ になったにとどまった。一方, AZT および CPZ では MIC は $25 \mu\text{g/ml}$ から 25 継代後にはそれぞれ $1,600 \mu\text{g/ml}$ および $1,600 \mu\text{g/ml}$ 以上に上昇した (Fig. 40)。

6. 試験管内耐性獲得株における交叉耐性: CRMN に試験管内で耐性を獲得した *E. coli* NIHJ JC-2 は AZT には高度耐性を示したが, CPZ および CMX に対する耐性は低かった。一方, CRMN 耐性 *P. aeruginosa* は被験薬剤のすべてに高度耐性を示した (Table 26)。

7. 感染防御効果: CRMN はいずれの菌株の腹腔内感染マウスにおいても *in vitro* 抗菌力をよく反映する強い防御効果を示し, 他剤と比較して同等ないし優れた効果を示した。とくに CPZ と比較すると多くの場合 CRMN の方が著しく優れた効果を示した。

E. coli O-111, T7 および N-3-18 感染マウスにおいて CRMN は他剤とほぼ同等の強い防御効果を示した。*C. freundii* TN 518 および GN 7089 感染マウスでは CRMN が最も強い防御効果を示した。*K. pneumoniae* DT-S 感染マウスにおける CRMN および AZT の効果は CMX と同程度に強かった。*K. oxytoca* 感染マウスにおける CRMN の効果は

Fig. 2 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 50 clinically isolated strains of *S. aureus*

(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

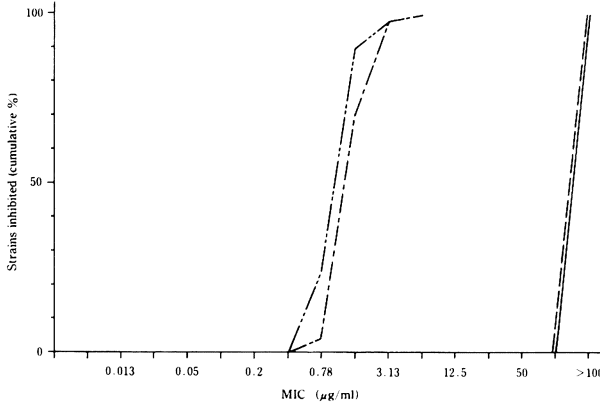


Fig. 3 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 34 clinically isolated strains of *S. pneumoniae*

(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

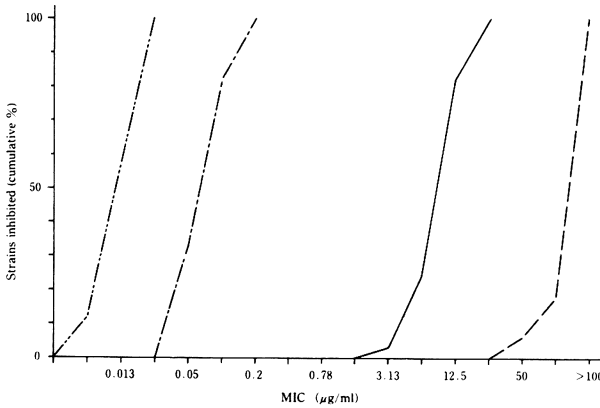


Fig. 4 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 103 clinically isolated strains of cefazolin sensitive *E. coli*

(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

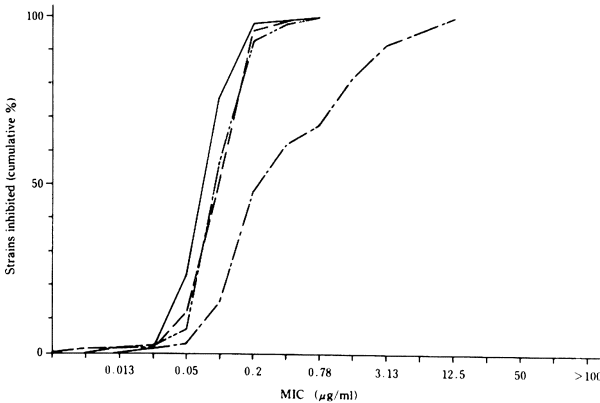


Fig. 5 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 67 clinically isolated strains of cefazolin resistant *E. coli*
(Carumonam—, Aztreonam—, Cefoperazone—, Cefmenoxime—)

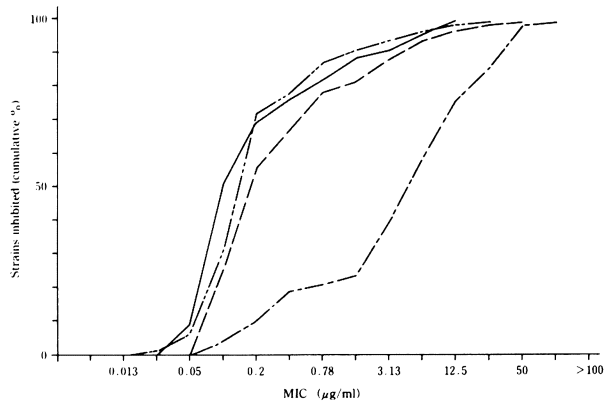


Fig. 6 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 104 clinically isolated strains of *C. freundii*
(Carumonam—, Aztreonam—, Cefoperazone—, Cefmenoxime—)

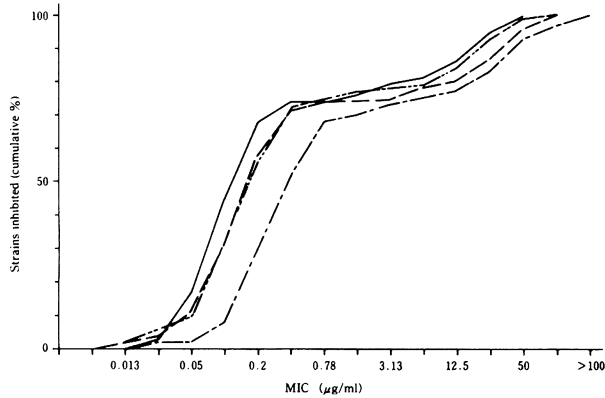


Fig. 7 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 90 clinically isolated strains of cefazolin sensitive *K. pneumoniae*
(Carumonam—, Aztreonam—, Cefoperazone—, Cefmenoxime—)

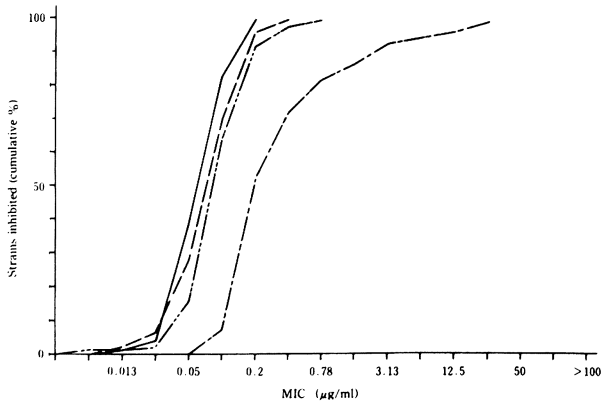


Fig. 8 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 44 clinically isolated strains of cefazolin resistant *K. pneumoniae*
(Carumonam—, Aztreonam—, Cefoperazone—, Cefmenoxime—)

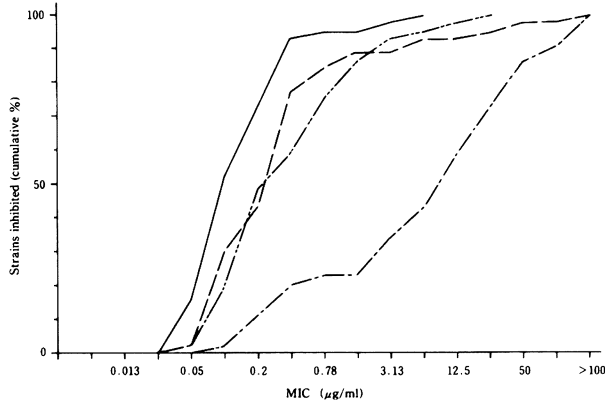


Fig. 9 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 42 clinically isolated strains of *K. oxytoca*
(Carumonam—, Aztreonam—, Cefoperazone—, Cefmenoxime—)

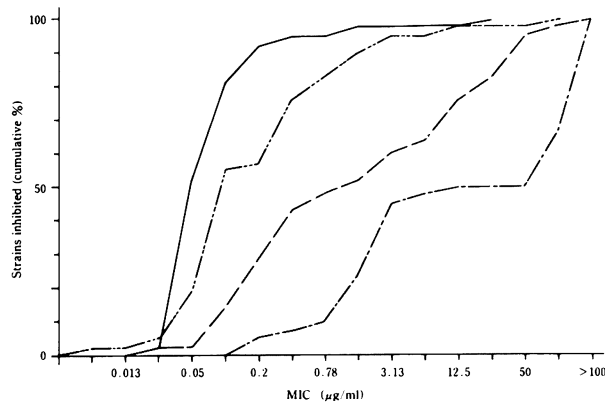


Fig. 10 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 97 clinically isolated strains of *E. cloacae*
(Carumonam—, Aztreonam—, Cefoperazone—, Cefmenoxime—)

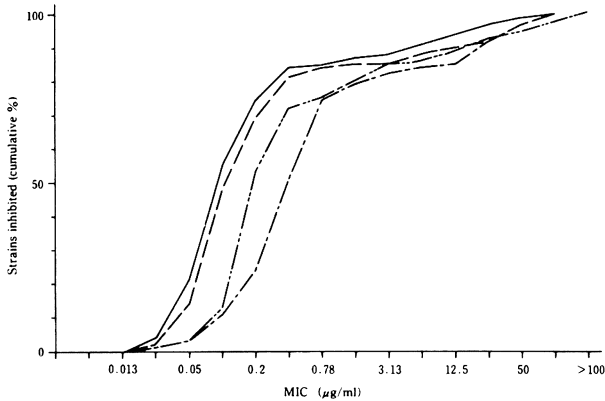


Fig. 11 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 102 clinically isolated strains of gentamicin sensitive *S. marcescens*
(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

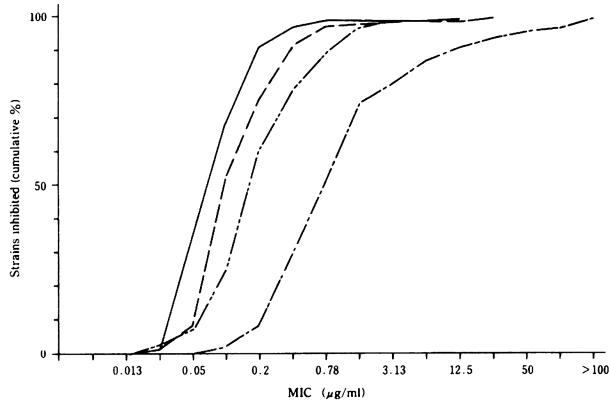


Fig. 12 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 89 clinically isolated strains of gentamicin resistant *S. marcescens*
(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

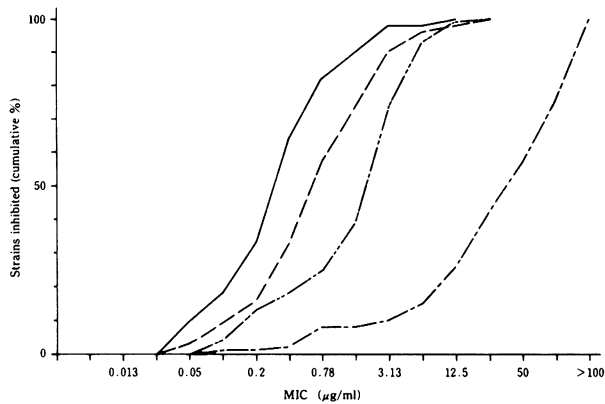


Fig. 13 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 93 clinically isolated strains of *P. vulgaris*
(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

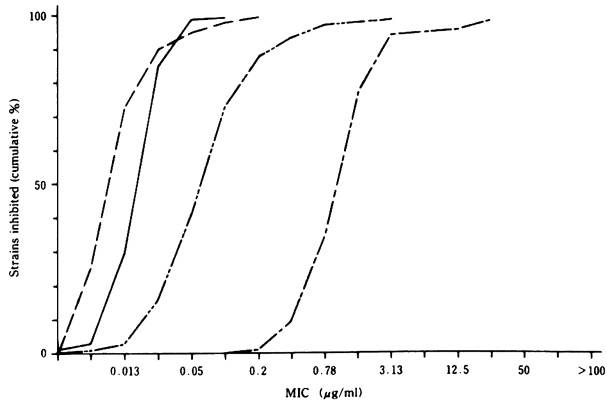


Fig. 14 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 94 clinically isolated strains of *P. mirabilis*

(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

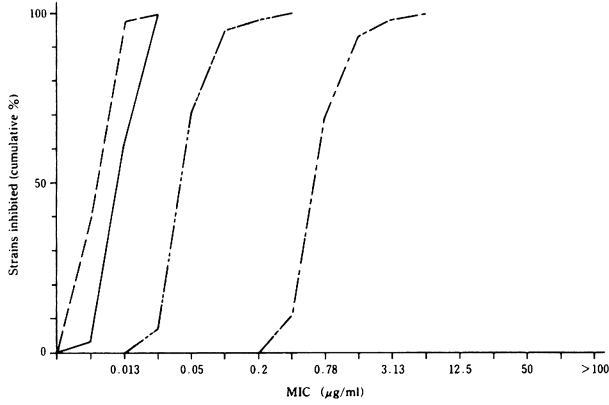


Fig. 15 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 97 clinically isolated strains of *P. rettgeri*

(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

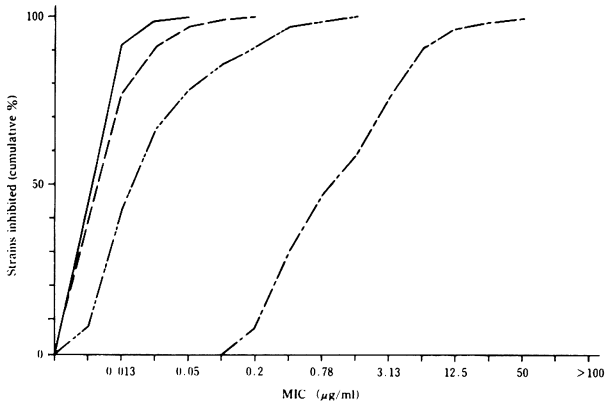


Fig. 16 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 32 clinically isolated strains of *P. stuartii*

(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

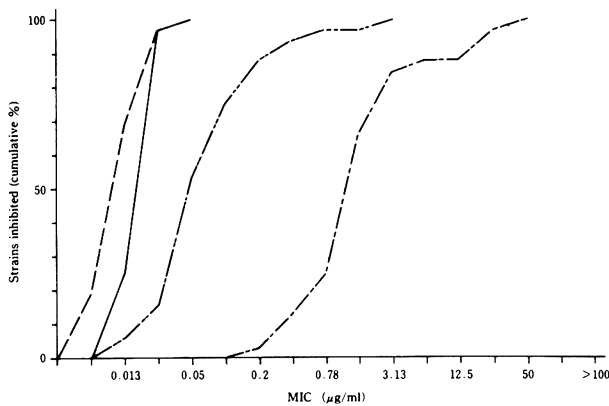


Fig. 17 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 102 clinically isolated strains of *M. morgani*
(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefmenoxime——)

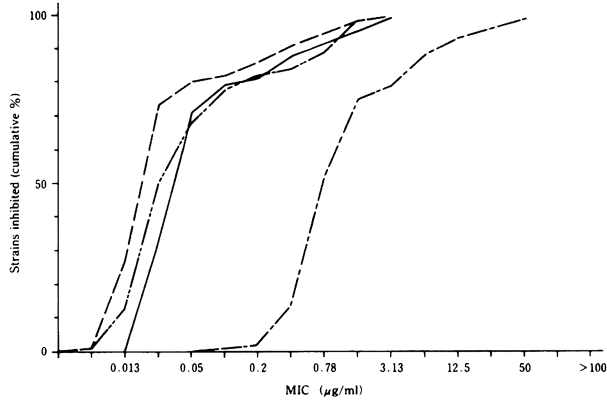


Fig. 18 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 83 clinically isolated strains of sulbenicillin sensitive *P. aeruginosa*
(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefsulodin——)

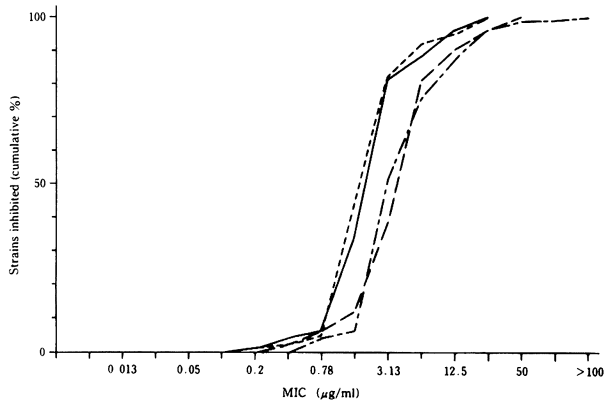


Fig. 19 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 69 clinically isolated strains of sulbenicillin resistant *P. aeruginosa*
(Carumonam——, Aztreonam——, Cefoperazone——, Cefsulodin——)

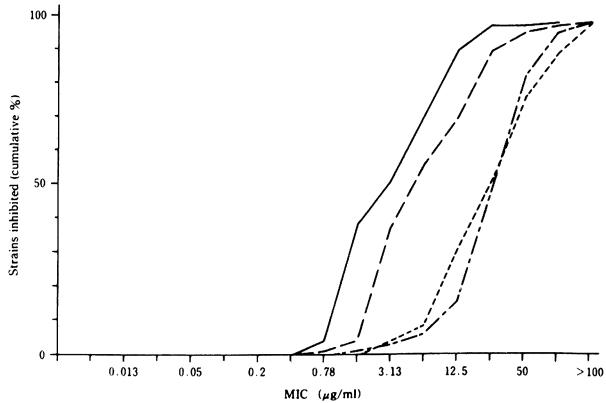


Fig. 20 Comparative activities of carumonam and reference antibiotics against 75 clinically isolated strains of *H. influenzae*
(Carumonam—, Aztreonam—, Cefoperazone—, Cefmenoxime—)

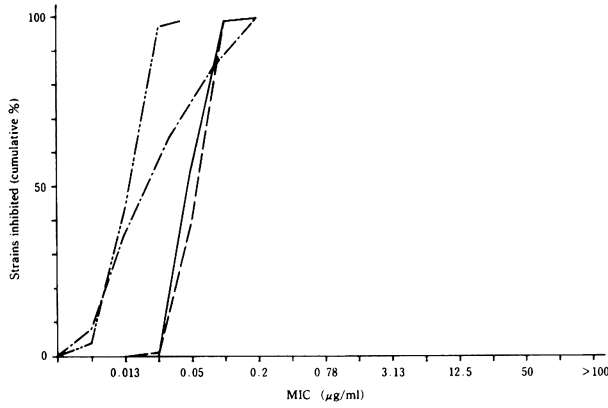


Fig. 21 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *S. aureus*
Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

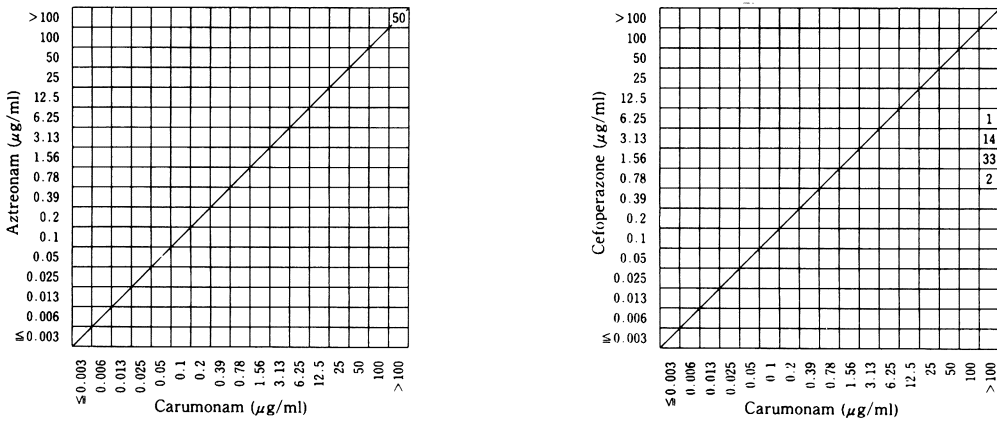


Fig. 22 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *S. pneumoniae*
Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

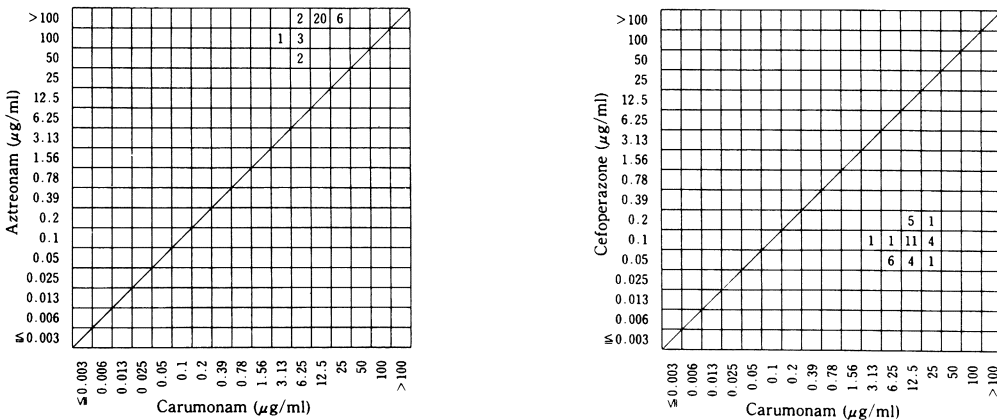


Fig. 23 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or ceftoperazone against cefazolin sensitive *E. coli*

Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

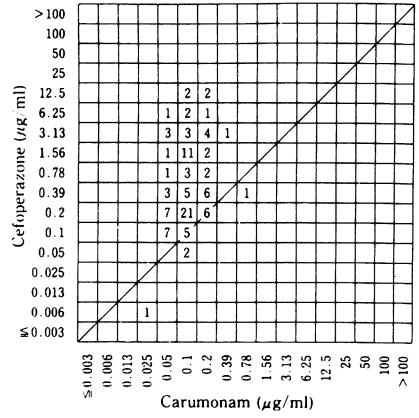
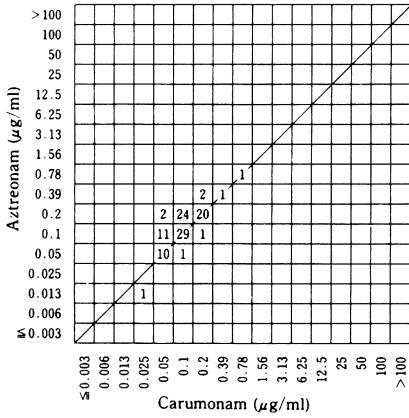


Fig. 24 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or ceftoperazone against cefazolin resistant *E. coli*

Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

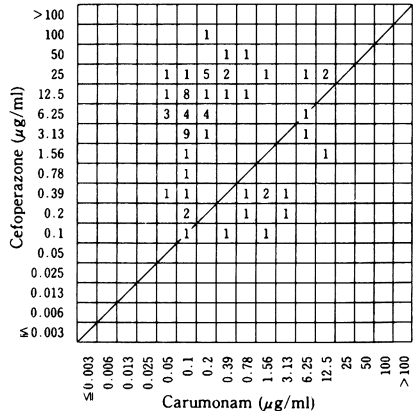
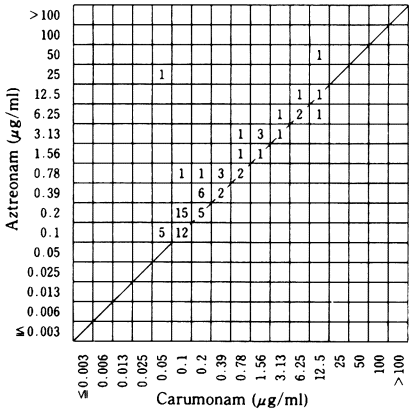


Fig. 25 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or ceftoperazone against *C. freundii*

Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

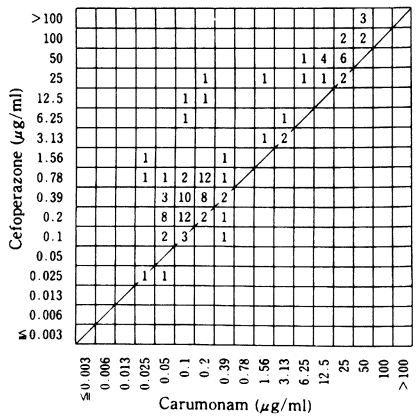
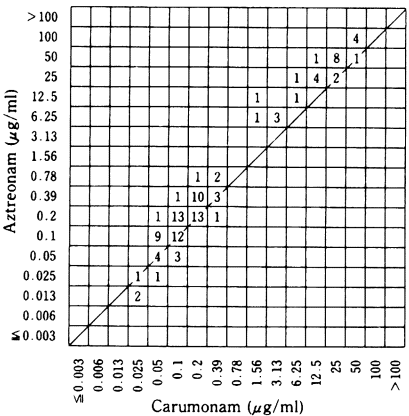


Fig. 26 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against cefazolin sensitive *K. pneumoniae*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

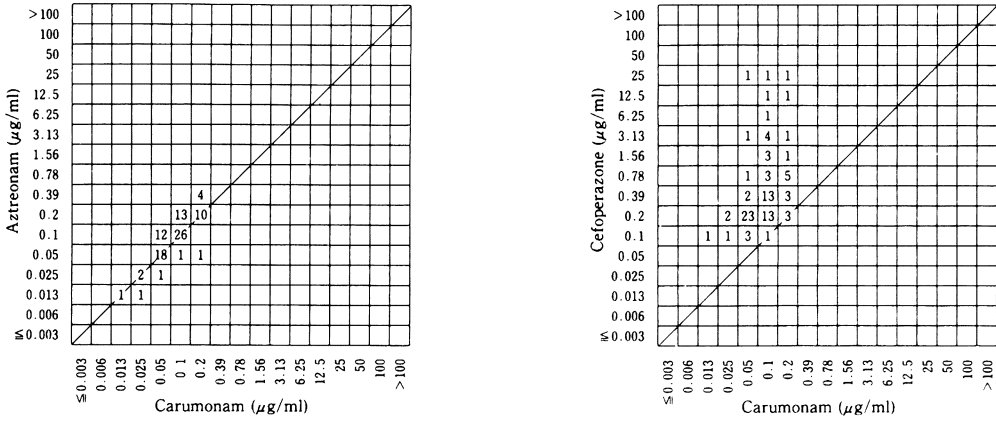


Fig. 27 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against cefazolin resistant *K. pneumoniae*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

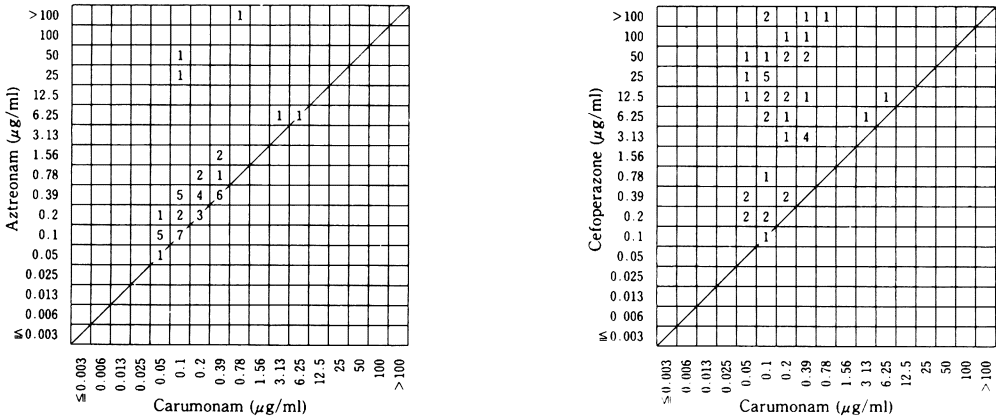


Fig. 28 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *K. oxytoca*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

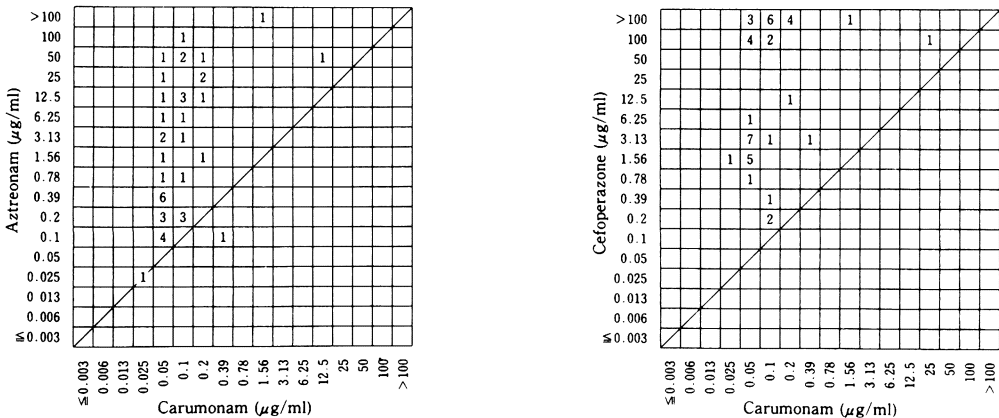


Fig. 29 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *E. cloacae*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

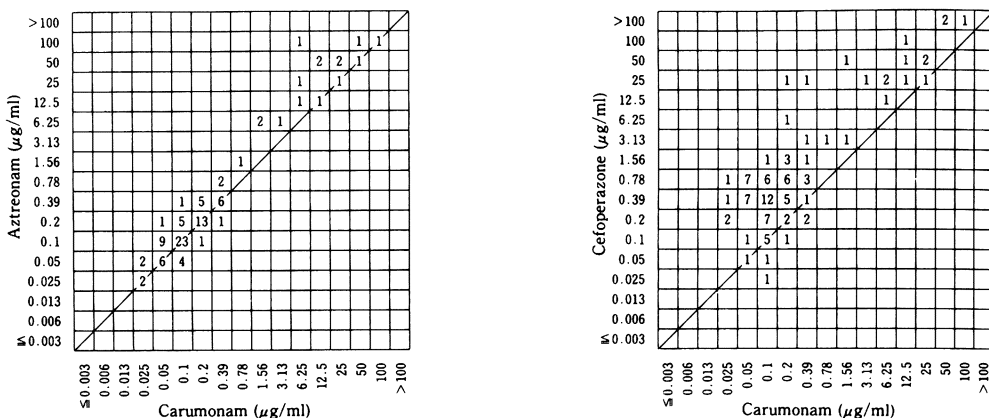


Fig. 30 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against gentamicin sensitive *S. marcescens*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

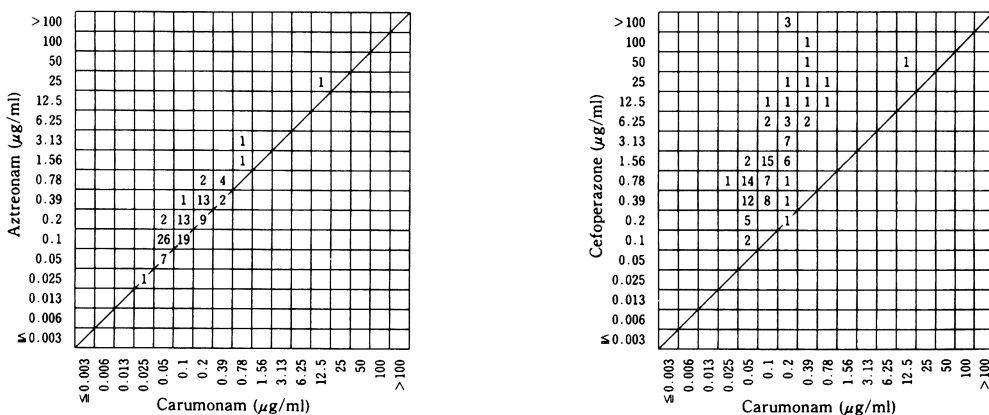


Fig. 31 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against gentamicin resistant *S. marcescens*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

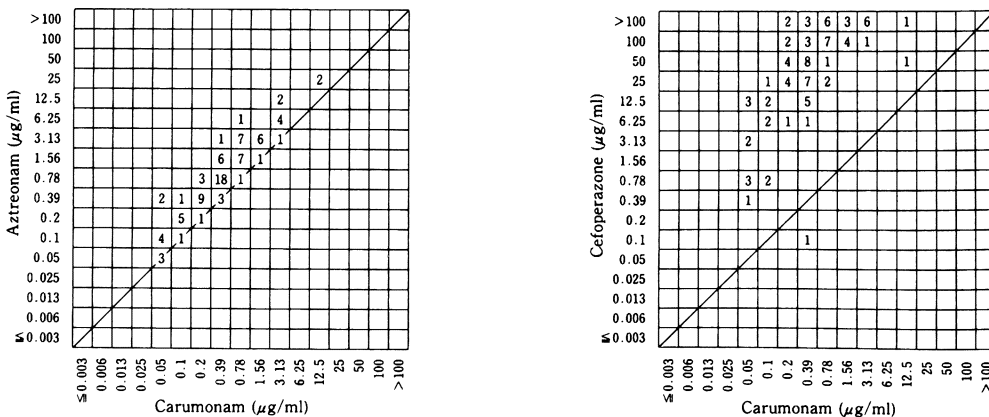


Fig. 32 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *P. vulgaris*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

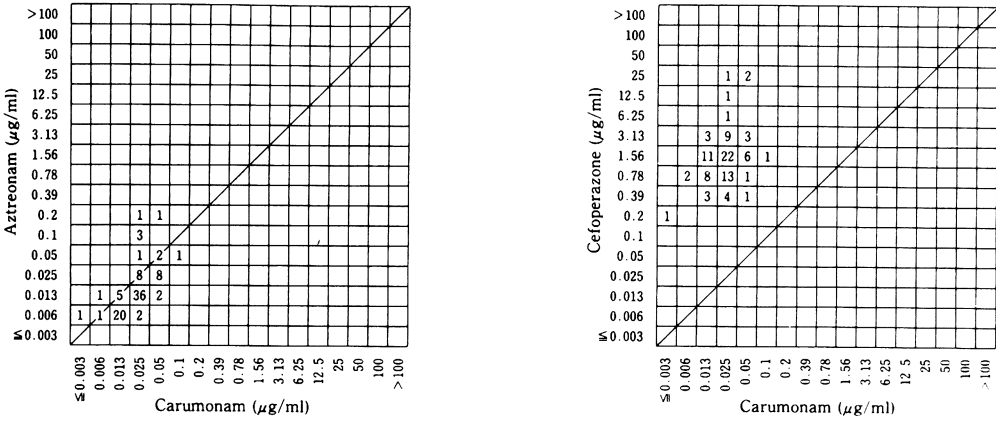


Fig. 33 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *P. mirabilis*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

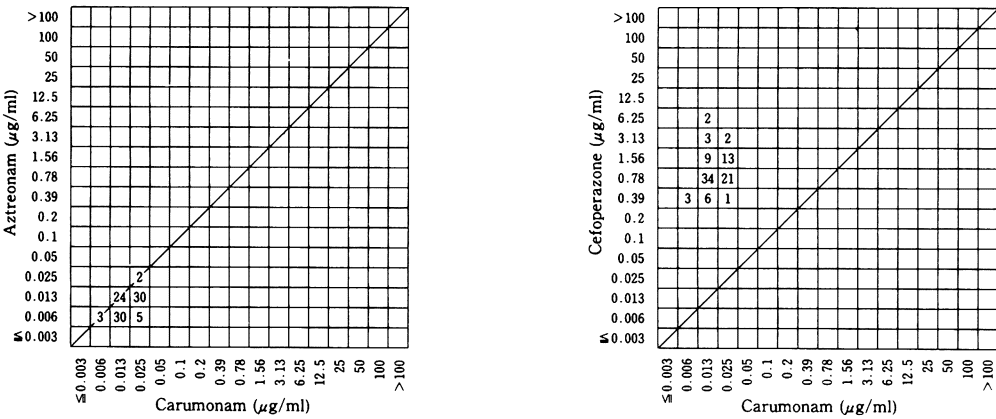


Fig. 34 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *M. morgani*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

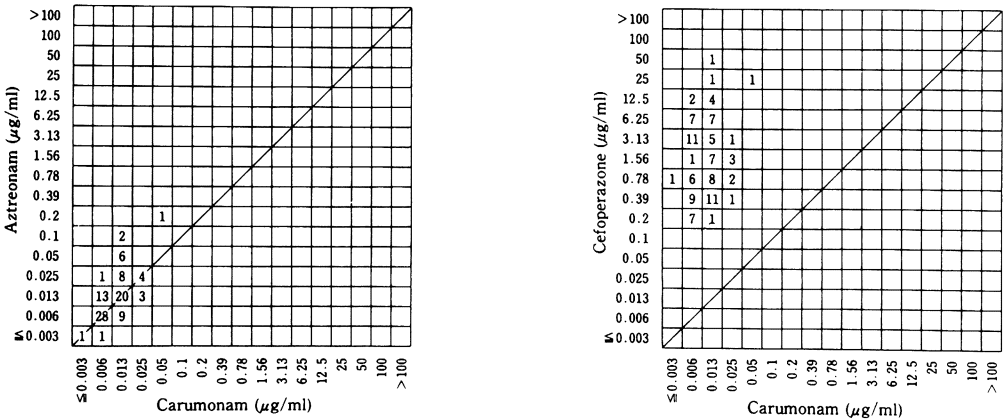


Fig. 35 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *P. rettgeri*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

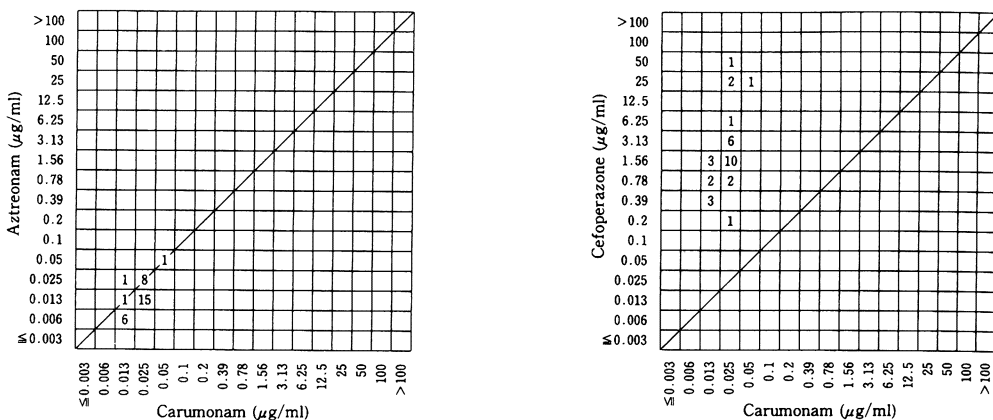


Fig. 36 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *P. stuartii*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

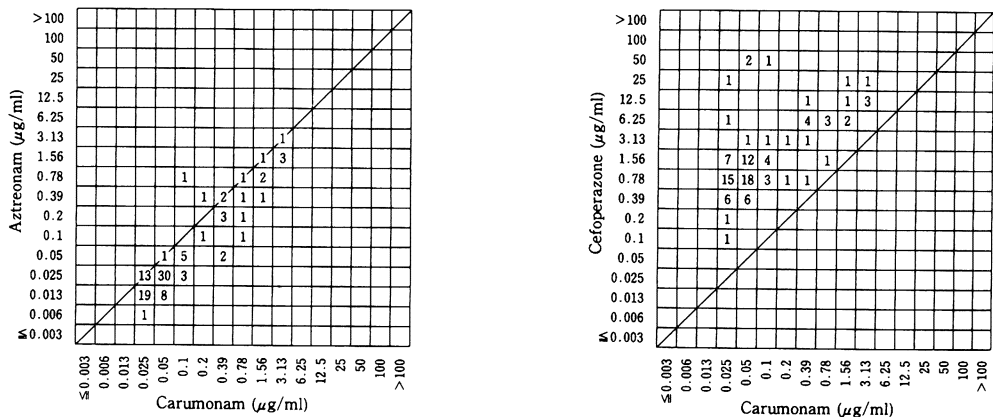


Fig. 37 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against sulbenicillin sensitive *P. aeruginosa*
 Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

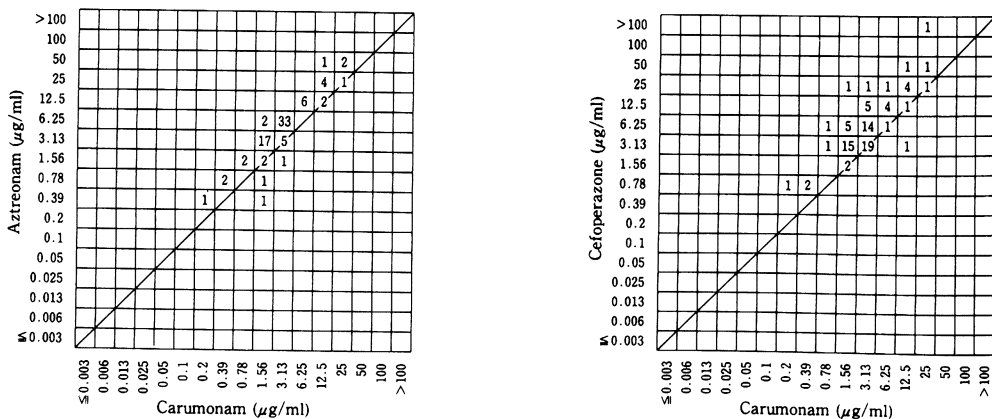


Fig. 38 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against sulbenicillin resistant *P. aeruginosa*

Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

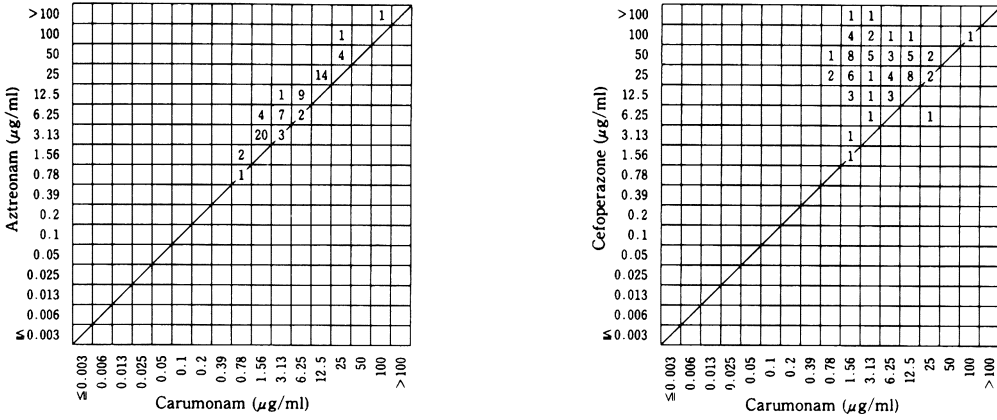


Fig. 39 Correlation of MICs of carumonam and aztreonam or cefoperazone against *H. influenzae*

Figures represent the number of strains with the MIC coordinates indicated.

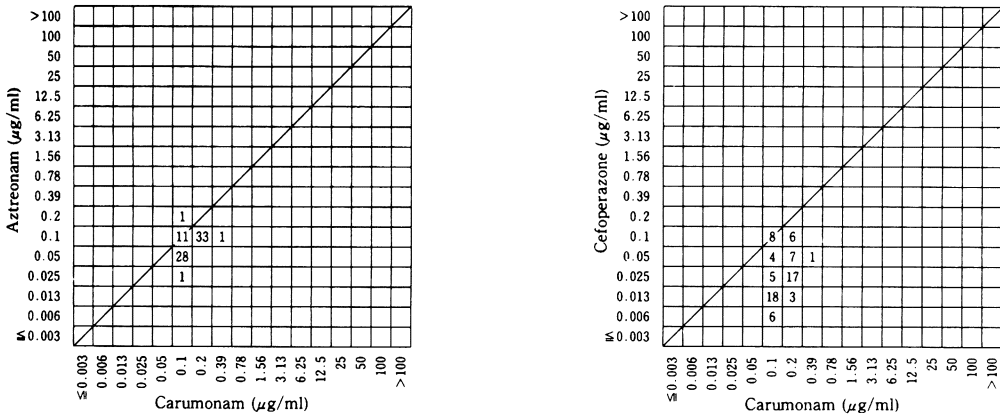


Fig. 40 Patterns of development of resistance of *E. coli* NIHJ JC-2 and *P. aeruginosa* P9 to carumonam (—), aztreonam (---), and cefoperazone (----).

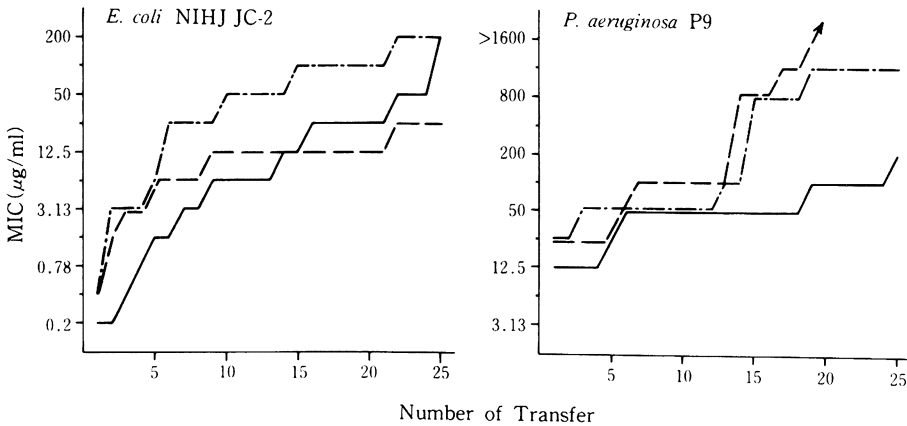


Table 25 Effect of various factors on antibacterial activity of carumonam

Factor	MIC ($\mu\text{g/ml}$)									
	<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	<i>E. coli</i> T 7	<i>C. freundii</i> IFO 12681	<i>K. pneumoniae</i> DT	<i>E. cloacae</i> IFO 13535	<i>S. marcescens</i> IFO 12648	<i>P. vulgaris</i> IFO 3988	<i>P. mirabilis</i> IFO 3849	<i>M. morganii</i> IFO 3168	<i>P. aeruginosa</i> P 9
Inoculum organism ^a										
10 ⁴	0.05	0.05	0.025	0.013	0.39	0.05	0.013	0.025	0.39	
10 ⁵	0.05	0.1	0.05	0.025	0.39	0.05	0.013	0.025	0.78	
10 ⁶	0.05	0.1	0.05	0.025	0.39	0.1	0.025	0.1	1.56	
10 ⁷	0.1	0.1	0.05	0.025	0.39	0.1	0.025	0.78	1.56	
10 ⁸	0.1	0.2	0.1	0.05	6.25	0.1	0.025	0.78	1.56	
10 ⁹	0.2	0.2	0.39	0.05	6.25	0.1	0.05	0.78	3.13	
Medium pH ^b										
6	0.1	0.2	0.05	0.05	0.78	0.05	0.025	0.1	1.56	
7	0.05	0.2	0.05	0.025	0.39	0.1	0.025	0.1	1.56	
8	0.1	0.2	0.05	0.025	0.2	0.1	0.025	0.1	0.78	
9	0.1	0.2	0.1	0.05	0.1	0.2	0.1	0.1	1.56	
Horse serum (%) ^c										
0	0.05	0.2	0.1	0.025	0.1	0.05	0.025	0.05	0.78	
10	0.05	0.2	0.05	0.025	0.39	0.05	0.025	0.05	0.78	
20	0.025	0.1	0.1	0.025	0.39	0.05	0.05	0.025	0.78	
50	0.05	0.2	0.05	0.025	6.25	0.1	0.05	n. g. ^d	0.78	
Medium ^d										
MHA	0.05	0.1	0.05	0.025	0.78	0.05	0.025	0.05	1.56	
TSA	0.05	0.2	0.05	0.025	0.78	0.05	0.025	0.025	1.56	
NA	0.1	0.2	0.05	0.025	1.56	0.025	0.025	0.025	1.56	
HIA	0.1	0.2	0.05	0.025	0.78	0.05	0.025	0.025	1.56	
BHIA	0.05	0.2	0.05	0.025	0.78	0.05	0.025	0.05	1.56	

a), b) Agar dilution method in Mueller Hinton agar (MHA:BBL). Inoculum, as indicated in a); 10⁶ CFU/ml in b).

c) Microbroth dilution method in MH broth (BBL), 0.1 ml/well. Inoculum, 10⁶ CFU/ml.

d) Agar dilution method. Inoculum, 10⁶ CFU/ml. TSA, Trypticase Soy agar; NA, Nutrient agar; HIA, Heart Infusion agar; BHIA, Brain Heart Infusion agar.

e) No growth in an antibiotic-free medium.

Table 26 Cross resistance between carumonam and reference antibiotics in strains acquired resistance *in vitro*^{a)}

Organism	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	Carumonam	Aztreonam	Cefoperazone	Cefmenoxime	Cefsulodin
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2 (Parent)	0.1	0.2	0.2	0.1	50
” r-CRMN ^{b)}	25	12.5	0.78	0.39	>1,600
” r-AZT	50	50	3.13	0.39	400
” r-CPZ	1.56	1.56	12.5	6.25	400
” r-CMX	3.13	6.25	25	25	1,600
<i>P. aeruginosa</i> P9 (Parent)	1.56	3.13	3.13	12.5	1.56
” r-CRMN	50	100	50	200	100
” r-AZT	100	100	200	400	50
” r-CPZ	100	100	400	800	50

a) Agar dilution method using Mueller Hinton agar (BBL) with inoculum size of 10^6 CFU/ml.

b) r-antibiotic-X: strain acquired resistance to antibiotic-X *in vitro*.

CMX よりやや強く、AZT および CPZ より著しく強かった。*E. cloacae* TN 618 および GN 5763 感染マウスでは CRMN は他剤とほぼ同程度の強い効果を示した。*S. marcescens* TN 66, TN 1765 および *M. morgani* GN 5278 感染マウスにおける CRMN の効果は AZT, CMX と同程度に強かった。一方、*P. vulgaris* GN 4712 および *P. mirabilis* IFO 3849 感染マウスでは *in vitro* 抗菌力を反映して AZT が最も強い効果を示し、次いで CMX, CRMN の順であり、CPZ の効果は最も劣った (Table 27)。*P. aeruginosa* U31 および P9 感染マウスでは CFS が最も強い効果を示し、次いで CRMN, AZT, CPZ の順であった。*P. aeruginosa* GN 3407 感染マウスでは CRMN の効果が AZT および CFS よりは僅かに、CPZ よりは著しく優れていた (Table 28)。

8. 感染菌量の感染防御効果への影響：*E. coli* T7, *K. pneumoniae* DT-S, *S. marcescens* TN 66 および *P. aeruginosa* P9 の種々な感染菌量を腹腔内に感染したマウスにおける CRMN の防御効果を比較した (Table 29)。いずれの感染菌においても同様な感染菌量と防御効果の関係を示し、とくに一定菌量以上での防御効果の変化は著しかった。

9. 投与経路の感染防御効果への影響：CRMN の効果はいずれの感染菌においても腹腔内投与が最も優れ、次いで皮下、静脈内投与の順であったが、その差は僅かであった。経口投与による防御効果は

皮下投与のその 1/2~1/16 であった (Table 30)。

考 察

Sulfazecin の発見¹⁾とそれにつぐ化学修飾の研究から、sulfazecin に含まれる 3-amino-2-azetidinone-1-sulfonic acid (AAS) が、penicillin に含まれる 6-aminopenicillanic acid や cephalosporin に含まれる 7-aminocephalosporanic acid と同様に抗細菌作用を与える基本骨格となり得ることが明らかにされた¹³⁾。CRMN は AAS 関連化合物の構造活性相関についての研究を通して発見された化合物で²⁻⁴⁾、AAS の 3 位アミノ基が 2-アミノチアゾール酢酸誘導体で、4 位がカルバモイルオキシメチル基で置換されている。また 3, 4 位は cis 型の配位を示す (Fig. 1)。

CRMN の抗菌力はグラム陽性菌および嫌気性菌には弱い、腸内細菌群、*P. aeruginosa* および *H. influenzae* などの好気性グラム陰性菌には、他の β -lactam 抗生物質と同等またはより強いことが明らかになった。

AAS 誘導体としては AZT が開発されているが、CRMN の抗菌力を AZT のそれと比較すると、CEZ 耐性 *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* および *E. cloacae* に対する作用で CRMN が優れていた。とくに *K. oxytoca* に対する抗菌力の差は大きく、この原因として同菌の産生する β -lactamase に対する両薬剤

Table 27-1 Protective effects of carumonam and reference antibiotics against experimental intraperitoneal infection caused by strains of *Enterobacteriaceae* in mice^{a)}

Organism (Challenge dose)	Antibiotic	ED ₅₀ (mg/kg) ^{b)}	MIC ^{c)} (μ g/ml)
<i>E. coli</i> O-111 (10 ⁶ CFU/mouse)	Carumonam	0.021 (0.017~0.024)	0.013
	Aztreonam	0.020 (0.016~0.023)	0.013
	Cefoperazone	0.019 (0.015~0.023)	0.013
	Cefmenoxime	0.020 (0.017~0.024)	0.013
<i>E. coli</i> T 7 ^{d)} (10 ⁴ CFU/mouse)	Carumonam	0.144 (0.125~0.166)	0.1
	Aztreonam	0.352 (0.297~0.417)	0.2
	Cefoperazone	66.7 (55.0~81.4)	25
	Cefmenoxime	0.354 (0.295~0.424)	0.2
<i>E. coli</i> N-3-18 ^{d)} (10 ⁴ CFU/mouse)	Carumonam	0.546 (0.463~0.646)	0.78
	Aztreonam	1.45 (1.18~1.78)	0.78
	Cefoperazone	0.635 (0.513~0.790)	0.39
	Cefmenoxime	0.274 (0.212~0.341)	0.1
<i>C. freundii</i> TN 518 (10 ⁶ CFU/mouse)	Carumonam	0.058 (0.050~0.066)	0.1
	Aztreonam	0.165 (0.136~0.202)	0.1
	Cefoperazone	0.339 (0.282~0.409)	0.39
	Cefmenoxime	0.157 (0.132~0.190)	0.1
<i>C. freundii</i> GN 7089 (10 ⁶ CFU/mouse)	Carumonam	0.047 (0.041~0.055)	0.1
	Aztreonam	0.096 (0.078~0.116)	0.1
	Cefoperazone	0.449 (0.349~0.581)	0.78
	Cefmenoxime	0.103 (0.086~0.127)	0.1
<i>K. pneumoniae</i> DT-S (10 ¹ CFU/mouse)	Carumonam	0.541 (0.392~0.756)	0.025
	Aztreonam	0.361 (0.267~0.473)	0.025
	Cefoperazone	0.340 (0.252~0.456)	0.05
	Cefmenoxime	0.084 (0.068~0.104)	0.025

a) Mice were infected intraperitoneally with test organisms suspended in 5% mucin.

b) Antibiotics were administered subcutaneously immediately after infection. ED₅₀ values were calculated by the probit method from survival rate on day 5 after infection. Figures in parentheses indicate 95% confidence limits.

c) MICs were determined with a bacterial suspension of 10⁶ CFU/ml.

d) Cefazolin resistant strain.

Table 27-2 Protective effects of carumonam and reference antibiotics against experimental intraperitoneal infection caused by strains of *Enterobacteriaceae* in mice^{a)}

Organism (Challenge dose)	Antibiotic	ED ₅₀ (mg/kg) ^{b)}	MIC ^{c)} (μ g/ml)
<i>K. oxytoca</i> TN 1711 (10 ⁶ CFU/mouse)	Carumonam	0.067(0.056~0.080)	0.025
	Aztreonam	10.7 (8.84~12.9)	3.13
	Cefoperazone	313 (251~403)	50
	Cefmenoxime	0.778(0.647~0.934)	0.39
<i>E. cloacae</i> TN 618 (10 ⁵ CFU/mouse)	Carumonam	0.053(0.047~0.061)	0.1
	Aztreonam	0.059(0.051~0.069)	0.1
	Cefoperazone	0.093(0.075~0.118)	0.1
	Cefmenoxime	0.110(0.092~0.134)	0.1
<i>E. cloacae</i> GN 5763 (10 ⁵ CFU/mouse)	Carumonam	0.257(0.192~0.324)	0.2
	Aztreonam	0.543(0.420~0.683)	0.39
	Cefoperazone	2.53 (1.74~3.37)	1.56
	Cefmenoxime	0.280(0.186~0.383)	0.78
<i>S. marcescens</i> TN 66 (10 ³ CFU/mouse)	Carumonam	0.110(0.091~0.134)	0.05
	Aztreonam	0.112(0.091~0.136)	0.05
	Cefoperazone	2.35 (1.86~2.95)	0.78
	Cefmenoxime	0.208(0.172~0.250)	0.1
<i>S. marcescens</i> TN 1765 (10 ⁶ CFU/mouse)	Carumonam	0.120(0.077~0.205)	0.05
	Aztreonam	0.142(0.108~0.194)	0.1
	Cefoperazone	0.045(0.027~0.077)	0.78
	Cefmenoxime	0.210(0.166~0.276)	0.1
<i>P. vulgaris</i> GN 4712 (10 ³ CFU/mouse)	Carumonam	0.282(0.215~0.377)	0.013
	Aztreonam	0.099(0.077~0.130)	0.006
	Cefoperazone	9.16 (7.05~13.0)	0.78
	Cefmenoxime	0.202(0.166~0.248)	0.05
<i>P. mirabilis</i> IFO 3849 (10 ⁶ CFU/mouse)	Carumonam	0.132(0.106~0.163)	0.025
	Aztreonam	0.073(0.058~0.090)	0.013
	Cefoperazone	2.42 (1.78~3.38)	1.56
	Cefmenoxime	0.054(0.041~0.070)	0.2
<i>M. morgani</i> GN 5278 (10 ⁶ CFU/mouse)	Carumonam	0.654(0.492~0.832)	0.025
	Aztreonam	0.496(0.348~0.706)	0.025
	Cefoperazone	22.0 (17.2~29.2)	0.78
	Cefmenoxime	0.208(0.156~0.289)	0.013

Table 28 Protective effects of carumonam and reference antibiotics against experimental intraperitoneal infection caused by *P. aeruginosa* in mice^{a)}

Organism (Challenge dose)	Antibiotic	ED ₅₀ (mg/kg) ^{b)}	MIC ^{c)} (μ g/ml)
<i>P. aeruginosa</i> U 31 (10 ⁶ CFU/mouse)	Carumonam	15.8 (13.8~18.1)	6.25
	Aztreonam	21.8 (18.4~25.9)	6.25
	Cefoperazone	137 (114~166)	25
	Cefsulodin	5.03 (4.25~5.95)	0.78
<i>P. aeruginosa</i> P 9 (10 ³ CFU/mouse)	Carumonam	1.96 (1.66~2.34)	0.78
	Aztreonam	5.67 (4.69~6.91)	1.56
	Cefoperazone	10.8 (9.09~12.8)	3.13
	Cefsulodin	0.855 (0.717~1.020)	0.78
<i>P. aeruginosa</i> GN 3407 ^{d)} (10 ⁵ CFU/mouse)	Carumonam	6.80 (5.90~7.84)	3.13
	Aztreonam	18.3 (14.8~22.8)	6.25
	Cefoperazone	439 (355~542)	50
	Cefsulodin	39.2 (32.7~47.5)	25

- a) Mice were infected intraperitoneally with test organisms suspended in 5% mucin.
 b) Antibiotics were administered subcutaneously 0, 2 and 4 hours after infection. ED₅₀ values were calculated by the probit method from survival rate on day 5 after infection. Figures in parentheses indicate 95% confidence limits.
 c) MICs were determined with a bacterial suspension of 10⁶ CFU/ml.
 d) Sulbenicillin resistant strain.

Table 29 Effect of challenge dose on protective effect of carumonam against experimental intraperitoneal infection in mice^{a)}

Challenge dose (CFU/mouse)	ED ₅₀ (mg/kg) ^{b)}			
	<i>E. coli</i> T 7	<i>K. pneumoniae</i> DT-S	<i>S. marcescens</i> TN 66	<i>P. aeruginosa</i> P 9
10 ¹		2.83 (2.09~3.79)		
10 ²		12.1 (9.49~15.4)		
10 ³	0.268 (0.213~0.342)	26.3 (21.1~32.8)	0.180 (0.138~0.233)	1.42 (1.12~1.78)
10 ⁴	0.729 (0.574~0.964)	63.5 (49.4~83.1)	1.47 (0.970~2.20)	3.12 (2.53~3.80)
10 ⁵	1.47 (1.10~2.02)	165 (130~219)	14.8 (9.94~19.5)	4.96 (4.21~5.80)
10 ⁶	3.87 (3.02~5.05)	391 (313~508)	84.6 (66.7~106)	18.5 (11.4~25.7)
10 ⁷	67.8 (49.0~92.1)	>800	258 (207~324)	>2400
10 ⁸	>800		>800	

- a) Mice were infected intraperitoneally with test organisms suspended in 5% mucin.
 b) Carumonam was administered subcutaneously 0, 2, and 4 h after infection for *P. aeruginosa* and immediately after infection for other bacteria. ED₅₀ values were calculated by the probit method from survival rate on day 5 after infection. Figures in parentheses indicate 95% confidence limits.

Table 30 Effect of administration route on protective effect of carumonam against experimental intraperitoneal infection in mice^{a)}

Organism (Challenge dose)	ED ₅₀ (mg/kg) ^{b)}			
	Subcutaneous	Intravenous	Intraperitoneal	Oral
<i>E. coli</i> O-111 (10 ⁶ CFU/mouse)	0.038 (0.030~0.048)	0.064 (0.051~0.083)	0.024 (0.020~0.029)	0.486 (0.402~0.589)
<i>E. coli</i> T 7 (10 ⁴ CFU/mouse)	0.289 (0.243~0.343)	0.553 (0.458~0.669)	0.179 (0.148~0.216)	4.42 (3.70~5.29)
<i>C. freundii</i> TN 518 (10 ⁶ CFU/mouse)	0.120 (0.101~0.142)	0.189 (0.148~0.239)	0.104 (0.084~0.132)	1.42 (1.19~1.69)
<i>K. pneumoniae</i> DT-S (10 ¹ CFU/mouse)	0.562 (0.398~0.750)	0.515 (0.387~0.751)	0.412 (0.298~0.531)	1.18 (0.971~1.47)
<i>K. oxytoca</i> TN 1711 (10 ⁶ CFU/mouse)	0.095 (0.076~0.121)	0.167 (0.136~0.205)	0.072 (0.059~0.087)	1.19 (0.947~1.490)
<i>E. cloacae</i> TN 618 (10 ⁵ CFU/mouse)	0.116 (0.097~0.139)	0.168 (0.133~0.211)	0.074 (0.057~0.094)	1.37 (1.14~1.65)
<i>S. marcescens</i> TN 66 (10 ³ CFU/mouse)	0.229 (0.176~0.306)	0.291 (0.222~0.383)	0.200 (0.151~0.257)	0.854 (0.735~0.975)
<i>P. aeruginosa</i> P 9 (10 ³ CFU/mouse)	2.97 (2.48~3.55)	4.02 (3.31~4.88)	1.28 (1.05~1.56)	30.5 (25.4~36.4)

a) Mice were infected intraperitoneally with test organisms suspended in 5% mucin.

b) Carumonam was administered 0, 2, and 4 h after infection for *P. aeruginosa* and immediately after infection for other bacteria. ED₅₀ values were calculated by the probit method from survival rate on day 5 after infection. Figures in parentheses indicate 95% confidence limits.

の安定性の差によることが明らかにされている⁴⁾。

現在、わが国で臨床的に使用されている抗緑膿菌性の β -lactam 剤としては CFS が最も強い抗菌力を示す。CRMN の抗緑膿菌活性を CFS のそれと比較すると、SBPC 感性菌に対しては差はないが、SBPC 耐性菌に対しては CRMN が強い抗菌力を示した。CPZ のグラム陰性菌に対する抗菌スペクトルは CRMN のそれと類似しているが、抗菌力は CPZ が一般的に弱く、とくに MIC₈₀ あるいは MIC₉₀ は CPZ が高い値を示す菌種が数多くみられた。この差は CPZ が CRMN に比べて相対的に β -lactamase に不安定であることに起因すると考えられる⁴⁾。

以上のような CRMN の優れた抗菌力は、CRMN が β -lactam 剤の作用標的であるペニシリン結合蛋白(PBP)へ高い親和性を示し⁴⁾、かつ β -lactamase に対して優れた安定性を示すこと⁴⁾から説明される。

CRMN は PBP のうち細菌の隔壁形成の合成を支配する PBP3 に対して特異的に高い親和性を示し、その 50% を阻害するのに必要な濃度は多くの腸内細菌で MIC 値とほぼ一致した¹⁴⁾。また、臨床分離株に対する CRMN の MIC 値は MBC 値とほとんどの株で一致した。このことは、CRMN が PBP3 を阻害することによって殺菌的に働くことを示唆している。

CRMN は penicillinase に対しては PCG の 100 倍以上、cephalosporinase に対しては CER の 1,000 倍以上の安定性を示す⁴⁾。これを反映して、CRMN は各種 β -lactamase 産生菌に対して、非産生菌に対するとほぼ同等の強い抗菌力を示した。

CRMN は多くのグラム陰性菌腹腔内感染マウスにおいて強い防御効果を示した。CRMN と対照薬剤の感染防御効果の強弱は *in vitro* 抗菌力のそれをよく反映していた。たとえば、CRMN と AZT との

比較では *K. oxytoca* 感染において、CRMN と CPZ との比較では多くの腸内細菌および *P. aeruginosa* 感染において CRMN の方が著しく強い防御効果を示した。

CRMN をヒトに静脈内または筋肉内投与すると腸内細菌, *P. aeruginosa* および *H. influenzae* のほとんどの菌株に対する MIC 値を上まわる血中濃度が得られる¹⁵⁾。また, 各種実験動物に投与した実験でも MIC 値を上まわる高い血中, 尿中および組織内濃度が得られた¹⁶⁾。

以上のことから CRMN は好気性グラム陰性菌による感染症の治療剤としての有効性が期待される。

(試験期間: 1979. 9~1984. 10)

文 献

- 1) IMADA, A.; K. KITANO, K. KINTAKA, M. MUROI & M. ASAI: Sulfazecin and isosulfazecin, novel β -lactam antibiotics of bacterial origin. *Nature* 289: 590~591, 1981
- 2) KISHIMOTO, S.; M. SENDAI, S. HASHIGUCHI, M. TOMIMOTO, Y. SATOH, T. MATSUO, M. KONDO & M. OCHIAI: Synthesis of sulfazecin-type 2-azetidinones with a carbon substituent at the 4-position. *J. Antibiotics* 36: 1421~1424, 1983
- 3) KONDO, M.; S. KISHIMOTO, M. OCHIAI, K. OKONOGI & A. IMADA: *In vitro* and *in vivo* evaluation of AMA-1080 (Ro 17-2301), a new synthetic sulfazecin-type antibiotic. *Proc. 13th Int. Congr. Chemother., Vienna, Austria, p.56/1~56/5, 1983*
- 4) 小此木研二, 久野光造: Carumonam の β -lactamase に対する安定性および β -lactamase 産生菌に対する抗菌力. *Chemotherapy* 35 (S-2): 163~171, 1987
- 5) SYKES, R.B.; D.P. BONNER, K. BUSH & N.H. GEORGOPAPADAKOU: Azthreonam (SQ 26, 776), a synthetic monobactam specifically active against aerobic gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 21: 85~92, 1982
- 6) MATSUBARA, N.; S. MINAMI, T. MURAOKA, I. SAIKAWA & S. MITSUHASHI: *In vitro* antibacterial activity of cefoperazone (T-1551), a new semisynthetic cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 16: 731~735, 1979
- 7) TSUCHIYA, K.; M. KONDO, M. KIDA, M. NAKAO, T. IWAHI, T. NISHI, Y. NOJI, M. TAKEUCHI & Y. NOZAKI: Cefmenoxime (SCE-1365), a novel broad-spectrum cephalosporin: *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities. *Antimicrob. Agents Chemother.* 19: 56~65, 1981
- 8) TSUCHIYA, K.; M. KONDO & H. NAGATOMO: SCE-129, antipseudomonal cephalosporin: *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities. *Antimicrob. Agents Chemother.* 13: 137~145, 1978
- 9) MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について. *Chemotherapy* 29: 76~79, 1981
- 10) 近藤正熙, 土屋皖司: 微量液体培地希釈法による薬剤感受性測定について. *基礎と臨床* 16: 5071~5082, 1982
- 11) GENTA, V.M.; L.R. McMAETHY, M. HERRICK & F. ROSE: Evaluation of the Titertek Multiskan for determining minimal inhibitory concentration endpoints. *Antimicrob. Agents Chemother.* 22: 151~153, 1982
- 12) LITCHFIELD, J.T. & F. WILCOXON: A simple method of evaluating dose effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99~113, 1949
- 13) 今田 哲: β -ラクタム抗生物質の最近の進歩. *武田研究所報* 14: 194~214, 1982
- 14) 中尾雅文, 幸重浩一, 長谷暁子, 近藤正熙, 今田 哲: Carumonam のペニシリン結合蛋白への親和性, 殺菌, 溶菌作用ならびに形態変化誘発作用について. *Chemotherapy* 35 (S-2): 146~156, 1987
- 15) 山本俊夫, 足立幸彦, 諏訪雅男, 長峯保郎, 榎本雅一, 井上博司, 南野達夫, 大場康寛, 中村允人: Carumonam の臨床第一相試験. *Chemotherapy* 35 (S-2): 216~233, 1987
- 16) 喜多八洲男, 畚野 剛, 今田 哲: Carumonam の実験動物における体内動態. *Chemotherapy* 35 (S-2): 187~197, 1987

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITY
OF CARUMONAM, A NEW N-SULFONATED
MONOCYCLIC β -LACTAM ANTIBIOTIC

MASAHIRO KONDO, TAKESHI NISHI, MASAFUMI NAKAO,
ICHIRO FUKAZAWA, YUMIKO NOJI and AKIRA IMADA

Central Research Division,
Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka

The *in vitro* and *in vivo* activities of carumonam were compared with those of aztreonam and third-generation cephalosporins such as cefoperazone, cefmenoxime, and cefsulodin. Carumonam was highly active *in vitro* against *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Haemophilus influenzae* strains and weakly active against *Streptococcus pneumoniae* and anaerobic bacteria, but it was not active against *Staphylococcus aureus*. Its minimum inhibitory concentrations (MIC's) for 80% of 1,156 clinical *Enterobacteriaceae* isolates (MIC₈₀) were between 0.013 and 6.25 $\mu\text{g/ml}$, the lowest MIC's of the antibiotics tested. The MIC₈₀ of carumonam for *Klebsiella oxytoca* was 0.1 $\mu\text{g/ml}$, whereas that of aztreonam was 25 $\mu\text{g/ml}$. The superiority of carumonam to aztreonam and reference cephalosporins was also demonstrated by their activities against cefazolin-sensitive *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, cefazolin-resistant *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, gentamicin-sensitive *Serratia marcescens*, *Proteus* spp., *Providencia* spp., and *Morganella morganii*, against which the MIC₈₀ of carumonam was less than 0.78 $\mu\text{g/ml}$. The MIC₈₀ of carumonam for sulbenicillin-sensitive and -resistant *P. aeruginosa* was 3.13 and 12.5 $\mu\text{g/ml}$, respectively, and comparable to the MIC's of aztreonam. The minimum bactericidal concentration values were mostly equal to the respective MIC values. Variation in pH, addition of horse serum, and type of growth medium had no definite effects on the activity of carumonam, but inoculum size had the usual inverse effect against several bacteria.

Carumonam protected well against lethal intraperitoneal infection caused by a variety of Gram-negative bacteria in mice. In general, the protective effects (ED₅₀) of carumonam and reference antibiotics correlated with the *in vitro* activities (MIC); carumonam showed excellent protective activity against most aerobic bacteria including *K. oxytoca* TN 1711 against which aztreonam was weakly active.