

신규 Carbapenem 유도체 CRB 529, 535, 538, 545, 550의 시험관내 항균력 평가

민관기 · 김준겸* · 이홍우 · 김정우
(주)종근당 중앙연구소 약리 독성 연구실
(Received December 15, 1994)

In Vitro Antibacterial Activities of CRB 529, 535, 538, 545 and 550, A New Carbapenem Derivatives

Kwan Kee Min, Joon kyum Kim*, Hong Woo Lee and Jeong Woo Kim
*Department of Pharmacology and Toxicology, R & D Center,
Chong Kun Dang Corp., Seoul 152-070, Korea*

Abstract — The *in vitro* antibacterial activities of new carbapenem, CRB 529, 535, 538, 545 and 550 with meropenem and imipenem were compared. CRB 529, 535, 538, 545 and 550 proved to have a broad antibacterial spectrum. Its *in vitro* activity against standard 20 strains was almost the same as that of imipenem and slightly higher than that of meropenem. However, against clinical isolated *P. aeruginosa*, CRB 529, 535, 538, 545 and 550 showed significantly higher activity than imipenem, and also CRB 529, 535, 538, 545 and 550 showed almost the same activity than imipenem and meropenem against 82 clinical isolated strains including *S. aureus* (MRSA), *S. aureus* (MSSA), *E. faecalis*, *E. facium*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *P. mirabilis*, *P. stuartii*, *M. morgani*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *S. marcescens* and *A. calcoaceticus* var. *anitratu*s. The stability of CRB 529, 535, 538, 545 and 550 against porcine renal dehydropeptidase-I (DHP-I) was 10 folds higher than that of imipenem and was 3 folds higher than that of meropenem.

Keywords □ Carbapenem derivatives, antibacterial activity, stability, dehydropeptidase-I

Carbapenem계 항생물질의 개발은 1976년에 thienamycin이라는 cephalosporin과는 구조적으로 전혀 다른 β -lactam 환을 가지며 Gram (+), (--) 세균 등에 광범위한 spectrum과 강한 항균력을 갖는 물질이 발견되면서 시작되었다. 그러나, carbapenem계 유도체는 광범위한 spectrum과 강한 항균력을 나타내는 반면, 화학적으로 매우 불안정하여 포유류의 신장에 존재하는 dehydropeptidase-I (DHP-I) 이라는 효소에 의해 급속히 분해되는 단점을 가지고 있으며, *Pseudomonas aeruginosa* 균에 대한 항균력이 비교적 약한 것으로 알려져 있다.

이러한 문제점을 해결하기 위해 1979년 Merck사에 의해 thienamycin의 N-formimidoyl 유도체인 imi-

penem이라는 물질이 개발되어 DHP-I 효소의 저해제인 cilastatin과 1:1로 병용하는데 성공하여 1994년 현재 유일하게 상품화되어 있는 화합물이다¹⁾. 그러나 이 화합물 또한 DHP-I 저해제와의 병용 투여로 기인되는 부작용인 지속적 혈중농도의 증가로 인한 신장 독성과 중추 독성이 지적되고 있다. 그후 단일제제로서 DHP-I 효소에 안정하며, 녹농균과 그람음성균에서 탁월한 장점을 지닌 유도체의 개발이 요구되어 그 이후 Sankyo사의 panipenem, Sumitomo사의 meropenem 등 40여종이 개발되어 임상 시험중이거나 개발 허가를 얻고 있다. 이중에서도 특히 meropenem은 1- β -methyl 기와 2-pyrrolidine 기를 가지는 화합물로서 DHP-I에 안정하며 생체내에서의 안전성 및 부작용의 발현 빈도에서 뛰어난 장점을 가지고 있어, 고농도의 혈중효과를 유지해야 하는 안과, 이비인후과, CNS 영

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

역의 치료에 뛰어난 임상 시험 성적을 보이고 있다.^{2,5)} 이러한 1-β-methyl 유도체들이 강력한 활성을 지니면서도 안전성, 안정성이 뛰어나 meropenem 이후 많은 유도체들이 합성되어 지고 있으며, 1993년에는 Banyu사의 BO-2727 등이 유망한 화합물로 꼽히고 있다.⁶⁻⁸⁾

본 연구소에서도 1-β-methyl-2-pyrrolidine 모핵의 여러 신규 유도체를 합성하여 검색한 결과 광범위 spectrum과 강한 항균력을 나타내는 5종의 유도체 (CRB 529, 535, 538, 545, 550)를 얻었으며, 1차적으로 Gram (+), (-)에 대한 *in vitro* 항균력 및 DHP-I 효소에 대한 안정성을 imipenem, meropenem과 비교 평가하였다.

실험방법

시험 약물 및 시약 - Meropenem은 KIST에서 합성한 표품을 사용하였으며 imipenem은 시판표품을 사용하였다. Mueller-Hinton broth, Mueller-Hinton agar는 DIFCO에서 구입하여 사용하였으며 그 외의 Porcine kidney acetone powder 등 모든 시약은 Sigma chemical company에서 구입하였다.

사용 균주 - 표준 균주 20 종은 KIST로부터 분양받은 균주이며, 임상 균주는 모두 연세대학교 병원에서 분양받았다.

최소발육억제농도(MIC측정) - Mueller-Hinton broth 10 μl에 각 균주를 1 백금이 접종하여 37°C에서 18시간 배양한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하여 균의 수를 10⁸ CFU/ml로 희석하여 대조약물인 imipenem, meropenem과 CRB 529, 535, 538, 545, 550을 Mueller-Hinton agar에 100 μg/ml에서 부터 2배씩 희석하여 만든 agar plate에 10 μl씩 접종한 다음 37°C에서 18시간 배양하여 최소발육억제농도를 측정하여 MIC 값으로 하였다.⁹⁾

DHP-I 효소 안정성 실험 - Porcine kidney acetone powder를 butanol로 추출하여 dialysis membrane으로 투석한 다음 원심분리하여 상등액을 DHP-I의 효소원으로 하여 0.5 M Tris-Cl 용액에 20 μg/ml 으로 조제한 대조약물과 시험약물 2ml에 0.5 ml 씩 DHP-I 효소를 가한 다음 30°C에서 교반하며 배양하여 시간별로 검액을 취하여 1 M EDTA를 1/10배량 가하여 효소반응을 중지시키고 298 nm에서 흡광도를 측정하여 분해되지 않는 약물의 농도를 측정할 반감기로서

Table I—Chemical structures of various carbapenem derivatives

| Compound | R ₁ | R ₂ |
|-----------|-----------------|----------------|
| Imipenem | H | |
| Meropenem | CH ₃ | |
| BO-2727 | CH ₃ | |
| CRB529 | CH ₃ | |
| CRB535 | CH ₃ | |
| CRB538 | CH ₃ | |
| CRB545 | CH ₃ | |
| CRB550 | CH ₃ | |

가수분해 효소에 대한 안정성을 비교 평가하였다.¹⁰⁾

결과 및 고찰

표준균주 20 종에 대한 항균활성 - 호기성 Gram (+), (-) 표준균주 20 종에 대한 CRB 529, 535, 538, 545, 550 (Table I)의 *in vitro* 항균력을 imipenem, meropenem과 비교하여 Table II에 표시하였다. 그람 양성균과 그람음성균에 대하여 강력하고 광범위한 항균력을 나타내고 있으며 그람 양성균 6 종에 대한 기하 평균치를 비교해 보면, imipenem과 meropenem이 각각 0.080, 0.084 μg/ml인데 비해 CRB 529 및 CRB 550의 값은 0.079, 0.071 μg/ml로서 상대적으로 비슷하거나 약간 상회하는 것을 보여 주고 있다. 구체적으로 *S. pyogenes*에 대한 MIC (μg/ml)값은 대조 화합물 2 종을 포함한 전 시험 화합물에서 0.013 μg/ml 값을 나타내고 있으며 *S. faecium* 1 종에 대해서는 imipenem 보다 1~2 단계 뒤지는 것으로 나타났다. MRSA를 포함하지 않은 *S. aureus* 3 종에 대해서는 비

Table II—Antibacterial susceptibility of CRB 529, 535, 538, 545 and 550 against standard 20 strains

| Strains | MIC ($\mu\text{g/ml}$)* | | | | | | |
|------------------------------|---------------------------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | Imipenem | Meropenem | CRB 529 | CRB 535 | CRB 538 | CRB 545 | CRB 550 |
| Streptococcus pyogenes A308 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 |
| Streptococcus pyogenes A77 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 | < 0.013 |
| Streptococcus faecium MD8b | 1.563 | > 6.25 | 3.125 | > 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 |
| Staphylococcus aureus SG51 | 0.098 | < 0.013 | 0.049 | 0.049 | 0.049 | 0.049 | 0.025 |
| Staphylococcus aureus 285 | 0.025 | 0.195 | 0.195 | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.195 |
| Staphylococcus aureus 503 | 0.391 | 0.013 | 0.049 | 0.049 | 0.098 | 0.098 | 0.025 |
| Escherichia coli O 55 | 0.098 | < 0.013 | 0.049 | 0.049 | 0.049 | 0.049 | 0.025 |
| Escherichia coli DC 0 | 0.391 | 0.049 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 |
| Escherichia coli DC2 | 0.391 | 0.025 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 |
| Escherichia coli TEM | 0.195 | 0.025 | 0.098 | 0.098 | 0.049 | 0.049 | 0.098 |
| Escherichia coli 1507E | 0.195 | 0.025 | 0.049 | 0.049 | 0.049 | 0.049 | 0.025 |
| Pesedomonas aeruginosa 9027 | 0.781 | 0.195 | 0.781 | 0.098 | 0.781 | 0.391 | 0.098 |
| Pesedomonas aeruginosa 1592 | 0.781 | 0.195 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.391 | 0.781 |
| Pesedomonas aeruginosa 1771 | 0.781 | 0.391 | 0.781 | 1.563 | 0.781 | 0.391 | 0.781 |
| Pesedomonas aeruginosa 1771M | 0.195 | 0.098 | 0.195 | 0.391 | 0.195 | 0.391 | 0.195 |
| Salmonella typhimurium | 0.781 | 0.049 | 0.195 | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.195 |
| Klebsiella oxytoca 1082E | 0.391 | 0.049 | 0.195 | 0.195 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| Klebsiella oxytoca 1552E | 0.391 | 0.049 | 0.195 | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.098 |
| Enterobacter cloacae P99 | 0.195 | 0.025 | 0.391 | 0.049 | 0.195 | 0.195 | 0.098 |
| Enterobacter cloacae 1321E | 0.195 | 0.025 | 0.049 | 0.049 | 0.049 | 0.049 | 0.025 |
| Geometric means** | | | | | | | |
| Gram (+) (6) | 0.081 | 0.084 | 0.079 | 0.089 | 0.089 | 0.089 | 0.071 |
| Gram (-) (14) | 0.337 | 0.052 | 0.177 | 0.163 | 0.145 | 0.132 | 0.114 |

*MICs were determined the agar dilution method. The inoculum size was approximately 10^6 CFU per spot.

**Geometric mean is defined as the n-root of n-variables multiplied by each other.

숫하거나 약간 상회하는 경향을 보이고 있으며, 그람 음성균에 대해서는 CRB 529, 550의 기하학적 평균치는 0.177, 0.114 $\mu\text{g/ml}$ 으로서 meropenem의 0.052 $\mu\text{g/ml}$ 보다는 1~2 단계 뒤지는 것으로 나타났으나 imipenem의 0.337 $\mu\text{g/ml}$ 보다는 약 1~2 단계 이상의 우수한 약효를 보이고 있다.

임상분리 녹농균에 대한 항균활성 - 특히 신규 카바페넴이 가져야 하는 *in vitro* 특성으로서 MRSA 및 *P. aeruginosa*에 대해 우수한 활성을 가지는 쪽으로 개발되어 지고 있어, Table III에서는 *P. aeruginosa* 16 종에 대한 *in vitro* 항균활성을 비교, 평가하였다. CRB 529의 기하 평균치가 1.205 $\mu\text{g/ml}$ 을 나타내고 있으며, CRB 535, 538, 545, 550등은 각각 0.852, 0.929, 0.781, 0.391 $\mu\text{g/ml}$ 을 나타내고 있어 imipenem의 1.314 $\mu\text{g/ml}$ 을 1~2 단계 이상 상회하고 있음을 보여주고 있다. 이러한 현상은 1- β -methylcarbapenem 유도체로 2번 위치에 pyrrolidine 치환기를 가지고 있는 유도체들 중에서 Sumitomo사가 개발한 meropenem^{2,5)} 과 현재 임상시험중인 Banyu사의 BO-2727^{6,8)}, 일본 Lederle사의 L-627¹¹⁻¹²⁾ 등의 화합물 모두 그람음성균

특히 *P. aeruginosa*에 대한 항균활성이 증가하고 있는 것과 일치하고 있다.

임상분리 82개 균주에 대한 항균활성 - 또한 MRSA 및 β -lactamase 생성 (CK-B) 균을 포함한 그람양성균 20종과 *P. aeruginosa* 6종을 포함한 임상분리균주 82종에 대한 *in vitro*에서의 항균력을 비교해 본 결과 (Table IV-1, IV-2), 그람양성균에 대한 CRB 529, 535, 538, 545, 550의 기하 평균치가 3.719, 5.08, 3.592, 3.85, 3.127 $\mu\text{g/ml}$ 으로서 meropenem의 5.443 $\mu\text{g/ml}$ 보다는 전체적으로는 우수한 것으로 평가되었으나 imipenem의 2.723 $\mu\text{g/ml}$ 보다는 다소 낮은 것으로 나타났다. MRSA 4종은 대조화합물을 포함한 모든 화합물에 대하여 MIC 값이 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 수치를 나타내고 있어 전반적으로 내성을 가지고 있는 것으로 판단되었으며 meropenem과 imipenem이 25 $\mu\text{g/ml}$ 및 그 이상의 MIC 값을 나타내고 있는데 비해 CRB 유도체들은 1~2 단계 우수한 것으로 평가되었다. 그람음성 임상분리균 62종에 대한 CRB 529, 535, 538, 545, 550의 기하 평균치가 0.209 $\mu\text{g/ml}$, 0.256 $\mu\text{g/ml}$, 0.248 $\mu\text{g/ml}$, 0.155 $\mu\text{g/ml}$, 0.16 $\mu\text{g/ml}$ 으로서 전체적

Table III—Antibacterial susceptibility of CRB 529, 535, 538, 545 and 550 against clinical isolated *Pseudomonas aeruginosa*

| Strains | MIC ($\mu\text{g/ml}$) * | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | Imipenem | CRB 529 | CRB 535 | CRB 538 | CRB 545 | CRB 550 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2 | 1.563 | 1.563 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.391 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4 | 1.563 | 0.781 | 0.391 | 0.391 | 0.391 | 0.391 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9 | 1.563 | 1.563 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.391 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 11 | 3.125 | 3.125 | 1.563 | 1.563 | 1.563 | 3.125 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12 | 1.563 | 1.563 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.391 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 14 | 1.563 | 1.563 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.391 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 15 | 1.563 | 0.781 | 1.563 | 1.563 | 1.563 | 1.563 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 16 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.781 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 17 | 1.563 | 1.563 | 0.391 | 0.391 | 0.195 | 0.195 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 18 | 1.563 | 0.391 | 0.781 | 0.781 | 0.391 | 0.391 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 19 | 1.563 | 0.781 | 0.391 | 0.781 | 0.391 | 0.391 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 21 | 0.195 | 0.049 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 31 | 1.563 | 3.125 | 1.563 | 1.563 | 1.563 | 1.563 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 32 | 0.391 | 1.563 | 1.563 | 3.125 | 1.563 | 1.563 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 33 | 3.125 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 6.25 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 36 | 1.563 | 1.563 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.391 |
| Geometric means ** | | | | | | |
| <i>P.aeruginosa</i> (16) | 1.314 | 1.205 | 0.852 | 0.929 | 0.781 | 0.631 |

* MICs were determined the agar dilution method. The inoculum size was approximately 10^6 CFU per spot.

** Geometric mean is defined as the n-root of n-variables multiplied by each other.

으로는 imipenem의 $0.467 \mu\text{g/ml}$ 보다는 우수한 것으로 평가되고 있으나 meropenem의 $0.105 \mu\text{g/ml}$ 보다는 1 단계 정도 낮은 것으로 나타났다.

이러한 현상은 현재 가장 강력한 항균활성을 나타내는 것으로 알려져 있는 1- β -methyl-carbapenem 유도체들²⁻¹²⁾에서 공통적으로 보고되고 있는 현상으로, *in vitro*의 항균활성 이 그람양성균에서는 imipenem 보다는 비슷 하거나 다소 낮은 경향을 보이며, 그람음성균에 대해서는 meropenem보다 다소 낮은 항균력을 보이는 것과 일치하고 있다. 이러한 결과들은 CRB 529, 535, 538에 비해 상대적으로 수용성을 증가시킨 CRB 550, 545에서 그람음성균에 대한 항균효과가 증가되고 있는 것으로 나타나, 일반적으로 친수성기의 도입이 *E. coli* 등의 그람음성균에 대한 활성을 증가시킨다는 사실과 잘 일치하고 있다.

DHP-I에 대한 안정성 - CRB 529, 535, 538, 545, 550 유도체에 대한 신장 유래의 가수분해 효소인

DHP-I의 안정성을 imipenem, meropenem의 가수분해 반감기와 비교하는 것에 의해 평가하였다(Table V).

CRB 529, 535, 538, 545, 550의 DHP-I 효소에 대한 반감기는 567, 521, 309, 436, 402 분으로 imipenem, meropenem의 33분, 152분에 비해 상당히 지속적인 것으로 나타나 DHP-I에 대하여는 imipenem과 meropenem보다는 안정하였다. 이러한 DHP-I에 대한 안정성은 일반적으로 동물의 종에 따라서 현저하게 차이가 나고, 마우스, 랫트, 토끼 등의 중·소동물균에 비해 돼지, 개, 사람 등에서 비교적 안정성이 유지되는 것으로 알려지고 있으므로⁵⁾ 비교적 인체내에서 안정한 혈중유지도를 나타낼 것으로 판단되나 앞으로 계속되어질 전임상 연구에서는 본 유도체가 나타내는 약물동력학적 지표 및 장기분포의 연구가 더욱 필요하리라 사료되어 진다.

결 론

Table IV-1—Antibacterial susceptibility of CRB 529, 535, 538, 545 and 550 against clinical isolated strains

| Strains | MIC (µg/ml) * | | | | | | | |
|------------------------------|---------------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | | | CRB529 | CRB 535 | CRB 538 | CRB 545 | CRB 550 |
| Staphylococcus aureus (MRSA) | CK 1B | 25 | 25 | 12.5 | 25 | 6.25 | 6.25 | 12.5 |
| | CK 10B | > 25 | 25 | 12.5 | 25 | 12.5 | 12.5 | 12.5 |
| | CK 11B | > 25 | 25 | 12.5 | 25 | 12.5 | 12.5 | 12.5 |
| | CK 2 | > 25 | 25 | 12.5 | 25 | 12.5 | 12.5 | 12.5 |
| Staphylococcus aureus (MSSA) | CK 3B | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 6B | < 0.049 | 0.195 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 |
| | CK 7B | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 4 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| Enterococcus faecalis | CK 6B | 1.563 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | 6.25 |
| | CK 7B | 0.781 | 3.125 | 3.125 | 6.25 | 3.125 | 3.125 | 3.125 |
| | CK 8B | 0.781 | 3.125 | 3.125 | 6.25 | 3.125 | 3.125 | 3.125 |
| | CK 3 | 1.563 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 |
| | CK 4 | 1.563 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 3.125 |
| | CK 5 | 1.563 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 3.125 |
| Enterococcus faecium | CK 26B | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 |
| | CK 28B | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 |
| | CK 30B | > 25 | > 25 | > 25 | 12.5 | > 25 | > 25 | 6.25 |
| | CK 1 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 |
| | CK 25 | 6.25 | 25 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 6.25 |
| | CK 65 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 | > 25 |
| Escherichia coli | CK 4B | 0.195 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 11B | 0.098 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 22B | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 20 | 0.195 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 26 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 27 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| Pseudomonas aeruginosa CK 4 | CK 11 | 3.125 | 3.125 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | 3.125 | 6.25 |
| | CK 33B | 3.125 | 6.25 | 25 | 25 | 25 | 12.5 | 12.5 |
| | CK 2B | 1.563 | 0.391 | 1.563 | 1.563 | 1.563 | 0.781 | 0.781 |
| | CK 4 | 1.563 | 0.195 | 0.781 | 0.391 | 0.781 | 0.391 | 0.391 |
| | CK 9 | 1.563 | 0.391 | 1.563 | 1.563 | 1.563 | 0.781 | 0.781 |
| | CK 16B | 1.563 | 0.391 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.781 |
| | CK 21 | 0.391 | < 0.049 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 |
| | CK 32 | 0.781 | 1.563 | 3.125 | 3.125 | 6.25 | 1.563 | 3.125 |
| Klebsiella pneumoniae | CK 2B | 0.195 | < 0.049 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 |
| | CK 9B | 0.195 | < 0.0497 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 14B | 0.195 | < 0.049 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 5 | 0.195 | < 0.049 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.049 | < 0.049 |
| | CK 6 | 0.781 | < 0.049 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | < 0.049 |
| | CK 13 | 0.195 | < 0.049 | < 0.049 | 0.049 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 |

신규 1-β-methylcarbapenem 유도체인 CRB 유도체 5종 (CRB 529, 535, 538, 545, 550)에 대한 *in vitro*에서의 세균학적 비교 실험을 실시한 결과는 다음과 같다.

1) MRSA 균주를 제외한 그람양성균주에서는

CRB 529, 550 ≥ Imipenem > Meropenem > CRB 535, 545, 538의 순으로 우수한 항균활성을 나타냈다.

2) 녹농균을 제외한 그람음성균주에서는 meropenem CRB > 550 > CRB 529, 535, 538, 545 > imipenem의 순으로 meropenem보다는 1 단계 정도 뒤

Table IV-2—Antibacterial susceptibility of CRB 529, 535, 538, 545 and 550 against clinical isolated strains

| Strains | | MIC ($\mu\text{g/ml}$)* | | | | | | |
|--|--------|---------------------------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | Imipenem | Meropenem | CRB 529 | CRB 535 | CRB 538 | CRB 545 | CRB 550 |
| Proteus mirabilis | CK 5B | 3.125 | 0.098 | 0.195 | 0.391 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 8B | 1.563 | 0.098 | 0.391 | 0.391 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 8B | 0.391 | < 0.049 | 0.195 | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.098 |
| | CK 17 | 0.391 | < 0.049 | 0.195 | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.098 |
| | CK 18 | 0.781 | < 0.049 | 0.195 | 0.195 | 0.195 | 0.195 | 0.098 |
| | CK 19 | 0.195 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| Proteus stuartii | CK 4B | 1.563 | < 0.049 | 0.195 | 0.391 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 8B | 1.563 | < 0.049 | 0.195 | 0.195 | 0.098 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 9B | 1.563 | < 0.049 | 0.195 | 0.391 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 18 | 3.125 | 0.098 | 0.391 | 0.391 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 19 | 3.125 | 0.098 | 0.391 | 0.391 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 23 | 3.125 | 0.098 | 0.391 | 0.391 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| Morganella morganii | CK 7B | 0.781 | < 0.049 | 0.195 | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.195 |
| | CK 8B | 1.563 | 0.098 | 0.195 | 0.391 | 0.098 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 12B | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 2 | 1.563 | 0.098 | 0.391 | 0.391 | 0.195 | 0.391 | 0.391 |
| | CK 5 | 1.563 | 0.098 | 0.391 | 0.391 | 0.195 | 0.391 | 0.391 |
| | CK 21 | 1.563 | 0.098 | 0.195 | 0.391 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| Citrobacter freundii | CK 4B | 0.195 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 6B | 0.391 | < 0.049 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 8B | 0.391 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 18 | 0.195 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 19 | 0.195 | < 0.049 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 28 | 0.391 | < 0.049 | < 0.049 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| Enterococcus cloacae | CK 4B | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.098 | 0.195 |
| | CK 6B | 0.391 | 0.195 | 0.391 | 0.391 | 0.391 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 8B | 0.391 | 0.195 | 0.391 | 0.391 | 0.195 | 0.195 | 0.195 |
| | CK 18 | 0.391 | < 0.049 | 0.098 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 19 | 0.391 | 0.098 | 0.195 | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.098 |
| | CK 28 | 0.195 | < 0.049 | 0.098 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| Serratia marcescens | CK 1B | 0.391 | < 0.049 | 0.098 | 0.195 | 0.195 | 0.098 | 0.098 |
| | CK 4B | 0.391 | < 0.049 | 0.098 | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.098 |
| | CK 15B | 0.391 | < 0.049 | 0.098 | 0.195 | 0.098 | < 0.049 | 0.098 |
| | CK 9 | 0.391 | < 0.049 | 0.098 | 0.098 | < 0.049 | < 0.049 | < 0.049 |
| | CK 24 | 0.391 | < 0.049 | 0.098 | 0.195 | 0.098 | 0.098 | 0.195 |
| | CK 27 | 0.391 | < 0.049 | 0.098 | 0.195 | 0.098 | < 0.049 | 0.195 |
| Acinetobacter calcoaceticus var. anitratus | CK 7B | 0.195 | 0.625 | 12.5 | 25 | 12.5 | 12.5 | 6.25 |
| | CK 13B | 0.195 | 0.391 | 0.781 | 1.563 | 0.781 | 0.391 | 0.391 |
| | CK 16B | 0.195 | 0.195 | 0.781 | 0.781 | 0.781 | 0.391 | 0.391 |
| | CK 2 | 0.098 | 0.391 | 0.391 | 0.781 | 0.391 | 0.391 | 0.391 |
| | CK 3 | 0.195 | 0.781 | 3.125 | 3.125 | 3.125 | 1.563 | 1.563 |
| CK 5 | 0.391 | 0.781 | 1.563 | 3.125 | 1.563 | 0.781 | 1.563 | |
| Geometric means** | | | | | | | | |
| Gram (+) | (20) | 2.723 | 5.443 | 3.719 | 5.081 | 3.592 | 3.851 | 3.127 |
| Gram (-) | (62) | 0.467 | 0.105 | 0.209 | 0.256 | 0.248 | 0.155 | 0.161 |

* MICs were determined the agar dilution method. The inoculum size was approximately 10^6 CFU per spot.

** Geometric mean is defined as the n-root of n-variables multiplied by each other.

Table V—DHP-I enzyme stability of CRB 529, 535, 538, 545 and 550

| Substrate | t _{1/2} (min) ^{a)} | Relative ratio ^{b)} |
|-----------|--|------------------------------|
| Imipenem | 33.77 | 1.00 |
| Meropenem | 152.22 | 4.51 |
| CRB 529 | 567.49 | 16.80 |
| CRB 535 | 521.27 | 15.44 |
| CRB 538 | 309.47 | 9.16 |
| CRB 545 | 436.51 | 12.93 |
| CRB 550 | 402.53 | 11.92 |

^{a)}Hydrolysis rate was determined by spectrophotometric method.

^{b)}Compared to the t_{1/2} value of imipenem

지는 것으로 나타났으나 imipenem보다는 뛰어난 활성을 나타냈다.

3) 녹농균에 대한 항균활성은 CRB 550 > CRB 535, 538, 545 > CRB 529 imipenem 순으로 녹농균에 강한 활성을 소유하는 것으로 밝혀졌다.

4) MRSA에 대한 활성은 CRB 529, 538, 545, 550 ≥ meropenem > imipenem의 순으로 상대적으로 비슷하거나 우수한 활성을 보였다.

5) DHP-I 효소에 대한 CRB 529, 535, 538, 545, 550의 반감기는 imipenem에 비해서 약 9~17배 안정하였으며 meropenem에 비해서는 약 2~3배 긴 것으로 나타나 상대적으로 우수한 안정성을 나타냈다.

이러한 *in vitro* 상에서의 항균력을 종합하여 볼 때, 본 연구소에서 합성되어진 5종의 CRB 유도체 (CRB 529, 535, 538, 545, 550)는 4세대 carbapenem 유도체가 지향하는 MRSA를 포함한 그람양성균 및 녹농균에 대한 강한 항균력을 소유하고 있는 것으로 나타났으며 DHP-I 가수분해 효소에도 상대적으로 안정한 물질로 평가되어 생체내에서도 유효한 활성을 나타낼 것으로 사료된다.

문 헌

1) Maki, E., Kudo, M. and Yoshida, T.: Studies on immunogenicity of imipenem, a carbapenem, and cilastatin sodium, a specific competitive inhibitor of dehydropeptidase-I. *Chemother.* **33**, 257 (1985).
 2) Goto, S., Miyazaki, S. and Kaneko, Y.: *In vitro* and *in vivo* activities of a new carbapenem, meropenem. *Chemother.* **40**, 16 (1992).

3) Sumita, Y. and Mitsuhashi, S.: *In vitro* antibacterial activity of meropenem, a new carbapenem antibiotic. *Chemother.* **40**, 15 (1992).
 4) Yokota, T., Suzuki, E. and Arai, K.: Meropenem its *in vitro* antibacterial activity and biological stability. *Chemother.* **40**, 30 (1992).
 5) Sumita, Y., Nouda, H., Tada, E., Kohzuki, T., Kato, M., Okuda, T and Fukasawa, M.: Pharmacokinetics of meropenem, a new carbapenem antibiotic, parenterally administrated to laboratory animals. *Chemother.* **40**, 123 (1992).
 6) Inoue, K., Hamano, Y. and Mitsuhashi, S.: Antibacterial activity of a new carbapenem BO 2727 and its stability to β-lactamases. *34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Abstract No. F-1, Orlando, U.S.A. (1994).
 7) Suzuki, E., Asada, K. and Hironatsu, K.: Evaluation of *in vitro* antimicrobial activity of BO2727, a novel carbapenem, against MRSA and coagulase negative staphylococci. *34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemother.* Abstract No. F-5, Orlando, U.S.A. (1994).
 8) Hashizume, T., Hazumi, N., Shibata, K. and Tanaka, N.: Antipseudomonal activity of BO 2727 against imipenem and meropenem resistant pseudomonas aeruginosa. *34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemother.* Abstract No. F-11, Orlando, U.S.A. (1994).
 9) Cleveland, R. and Grunberg, E.: Laboratory evaluation of new antibiotics *in vitro* and experimental animal infection. *In Antibiotics in Laboratory medicine*, Lorian, V., Williams and Wilkins, 2nd ed. Baltimore, 502 (1986).
 10) Sugiura, M., Ito, Y., Hirana, K. and Sawaki, S.: Purification and properties of human kidney dihydropeptidases. *Biochem. Biophys. Acta* **522**, 541 (1978).
 11) Kawada, Y.: Comparative study of biapenem(L 627) and imipenem/cilastatin in complicated urinary tract infection. *34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Abstract No. F-31, Orlando, U.S.A.(1994).
 12) Fuji, R., Nishimura, T. and Sunakawa, K.:

Biapenem (L-627). A new carbapenem: pharmacokinetics and clinical evaluation in pediatric patients. *34th Interscience Conference on*

Antimicrobial Agents and Chemotherapy Abstract No. F-29, Orlando, U.S.A. (1994).