

新規ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 OPC-7251 に関する細菌学的評価

—第1報 *In vitro* における抗菌作用—

河端 繁勝・大黒 絹枝・向井 典江
大森 和則・宮本 寿・玉岡 寿
大塚製薬株式会社徳島新薬第二研究所*

(平成元年1月30日受付)

新規ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 OPC-7251 の *in vitro* における抗菌作用を主として tetracycline (TC), erythromycin (EM), clindamycin (CLDM), gentamicin (GM), norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX) および enoxacin (ENX) を対照薬として検討し、以下の成績を得た。

(1) OPC-7251 は好気性のグラム陽性、陰性菌および嫌気性菌に対し、広範囲な抗菌スペクトラムを有し、その抗菌力は TC, EM および CLDM よりも優れ、グラム陽性菌および嫌気性菌においては NFLX および OFLX よりも優れていた。

(2) Methicillin 耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) を含む臨床分離株 8 菌種に対する感受性分布において、OPC-7251 は対照薬と同等かそれ以上の優れた抗菌力を示した。

(3) OPC-7251 の抗菌力は、培地 pH が酸性側で増強され、接種菌量による影響は少なかった。

(4) OPC-7251 の抗菌作用は殺菌的であった。

(5) OPC-7251 に対する自然耐性菌出現頻度は低率であった。また、*in vitro* の耐性獲得試験における MIC の上昇は、同系のピリドンカルボン酸系薬剤よりも低く、これらの薬剤とは強い交叉耐性を示さなかった。

以上の結果より、OPC-7251 は各科領域の感染症より分離される細菌類に対しての優れた効果が期待される。

Key words : OPC-7251, 外用抗菌剤, 尋常性痤瘡, 皮膚感染症

尋常性痤瘡(にきび)は種々の内的、外的要因により発症し¹⁻⁴⁾、特に、その病態の進行には *Propionibacterium acnes* および *Staphylococcus epidermidis* 等の細菌が大きく関与している⁵⁻⁷⁾。

治療には、内服あるいは外用による薬物療法および理学療法が主に行なわれている^{4,8,9)}。薬物療法の中でも、*P. acnes* や *S. epidermidis* 等の細菌を除去する目的で、主に TC 系、EM および CLDM 等の抗生物質が使用されている¹⁰⁻¹³⁾。しかしながら、これら抗生物質の長期内服による副作用や耐性菌の出現¹⁴⁾等の問題も生じてきている。

また、皮膚感染症¹⁵⁻¹⁷⁾や熱傷における感染症^{18,19)}では、起炎菌として *Staphylococcus aureus* が、また難治性への移行の点では *Pseudomonas aeruginosa* が問

題とされている。

今回、我々は尋常性痤瘡の要因の1つとされている *P. acnes* および *S. epidermidis* に対し強い抗菌力を有し、さらに *S. aureus* 等のグラム陽性球菌および *P. aeruginosa* を含むグラム陰性桿菌に対しても強い抗菌力を有する新規ピリドンカルボン酸系合成抗菌剤 OPC-7251[(±)-9-fluoro-8-(4-hydroxy-1-piperidyl)-5-methyl-6,7-dihydro-1-oxo-1H,5H-benzo [ij] quinolizine-2-carboxylic acid]を見出し、種々の細菌学的検討を主として TC, EM, CLDM, GM, NFLX, OFLX および ENX を対照薬として実施したので、その成績を報告する。Fig. 1 に OPC-7251 の構造式を示した。

I. 実験材料および方法

1. 試験薬剤

* 徳島県徳島市川内町加賀須野 463-10

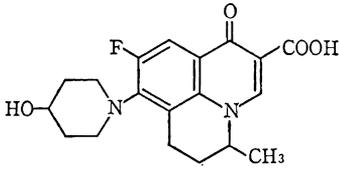


Fig. 1. Chemical structure of OPC-7251

OPC-7251 は大塚製薬で合成したものを使用した。tetracycline (TC), erythromycin (EM) および clindamycin (CLDM) は SIGMA, methicillin (DMPPC) は万有製薬, gentamicin (GM) は塩野義製薬から購入したものを使用した。ofloxacin (OFLX) は第一製薬, norfloxacin (NFLX) は杏林製薬, enoxacin (ENX) は大日本製薬の市販品から抽出したものをを使用した。

2. 使用菌株

標準菌株および各種臨床分離株 (1980 年から 1985 年に臨床材料より分離) は, 当研究室保存株を用いた。*P. acnes* 臨床分離株は岐阜大学医学部付属嫌気性菌実験施設から分与されたものを用いた。

3. 抗菌スペクトラム

好気性菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) は, 前培養に Mueller-Hinton broth (MHB: DIFCO), 感受性測定に Mueller-Hinton agar (MHA: DIFCO) を用いて, 日本化学療法学会標準法²⁰⁾に準じて測定した。なお, *Streptococcus* 属は 5% 馬脱線維血液添加 brain heart infusion agar (BHIA: DIFCO) を用いた。嫌気性菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)²¹⁾ は, 前培養に GAM ブイヨン (GAMB: ニッスイ), 感受性測定に GAM 寒天培地 (GAMA: ニッスイ) を用いて測定した。

4. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床材料から分離された *Staphylococcus epidermidis* 89 株, *Staphylococcus aureus* 54 株, methicillin 耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA) 54 株, *Streptococcus agalactiae* 38 株, *Escherichia coli* 54 株, *Pseudomonas aeruginosa* 54 株, *Propionibacterium acnes* 24 株 および *Bacteroides fragilis* 22 株に対する感受性分布を, 日本化学療法学会標準法に準じて測定した。すなわち, 好気性菌には前養に MHB を, 感受性測定に MHA あるいは 5% 馬脱線維血液添加 BHIA を, 嫌気性菌には前養に GAMB を, 感受性測定に GAMA を用いた。

なお, 全菌株において接種菌量は約 10^6 cells/ml で行なった。

5. 最小殺菌濃度 (MBC) の測定

S. epidermidis 56 株, *S. aureus* 16 株, *P. aeruginosa*

22 株および *P. acnes* 23 株に対する MIC を液体希釈法により測定した後, 各試験管から 1 白金耳を薬剤を含まない MHB あるいは GAMB に移植し, 37°C, 18 時間あるいは 48 時間培養した。菌の発育の認められない最小濃度を最小殺菌濃度 (MBC) とした。

6. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH および接種菌量の影響を, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* FDA 209 P, *P. aeruginosa* ATCC 10145 および *P. acnes* ATCC 6919 を試験菌として, MHA あるいは GAMA を用いた平板希釈法により検討した。

7. 増殖曲線に及ぼす影響

Heart infusion broth (HIB: ニッスイ) または GAMB で前培養した *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* No. 100, *P. aeruginosa* E-2 および *P. acnes* ATCC 6919 を対数増殖期まで培養し, 所定の濃度になるように薬剤を添加後, 経時的に生菌数を測定した。

8. 自然耐性変異株の出現頻度

HIB あるいは GAMB で前培養した *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* FDA 209 P, *P. aeruginosa* ATCC 10145 および *P. acnes* ATCC 6919 を, MIC の 10 倍濃度の薬剤を含む HIA あるいは GAMA に接種し, 37°C, 18 時間 (*P. acnes* の場合は 37°C, 3 日間) 培養後, 発育したコロニー数を測定し, 検討した。

9. 耐性獲得試験

試験菌として *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* FDA 209 P, *P. aeruginosa* ATCC 10145, *P. acnes* ATCC 6919 を用いて, MHA あるいは GAMA を用いた平板希釈法により 25 代継代培養し検討した。なお, 対照薬には同系薬剤である OFLX, NFLX および ENX を用いた。

10. 同系薬剤間での交叉耐性

In vitro 耐性獲得試験において 25 代継代培養後, MIC が 16 倍以上上昇した菌株を耐性獲得菌とし, これらの菌株を用いて, OPC-7251 と OFLX, NFLX および ENX との交叉耐性を MHA あるいは GAMA を用いた平板希釈法により, MIC を測定して検討した。

II. 実験結果

1. 抗菌スペクトラム

Tables 1~3 に OPC-7251 の好気性菌および嫌気性菌に対する抗菌力を示した。OPC-7251 は好気性のグラム陽性菌に対し, EM, CLDM および OFLX 等の対照薬よりも強い抗菌力を示し, また, グラム陰性菌に対しても NFLX および OFLX よりは劣るものの TC, EM および CLDM よりも強い抗菌力を示した。OPC-7251 のそれぞれに対する抗菌力は 0.012~0.78 $\mu\text{g/ml}$,

Table 1. Antimicrobial spectrum against aerobic gram-positive bacteria

Organism	10 ⁶ cells/ml			
	OPC-7251	TC	EM	CLDM
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209 P	0.012	0.20	0.10	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	0.024	0.39	0.20	0.05
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228	0.012	50	0.05	0.024
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IFO 3762	0.20	0.39	0.05	0.78
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.39	0.39	0.012	—
<i>Enterococcus faecalis</i> *	0.39	0.78	0.05	12.5
<i>Enterococcus faecalis</i> IFO 12580*	0.39	0.78	0.78	6.25
<i>Streptococcus pyogenes</i> IID Cook*	0.39	0.39	0.012	0.024
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type 2*	0.78	100	0.39	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type 3*	—	—	—	—
<i>Streptococcus viridans</i> *	0.39	0.78	0.39	12.5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	0.012	0.39	0.05	0.39

Organism	MIC (μ g/ml)			
	OPC-7251	TC	EM	CLDM
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209 P	0.024	0.78	0.20	0.10
<i>Staphylococcus aureus</i> SMITH	0.024	0.78	0.39	0.10
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228	0.05	100	0.10	0.10
<i>Staphylococcus epidermidis</i> IFO 3762	0.20	0.39	0.20	0.78
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.39	0.78	0.024	—
<i>Enterococcus faecalis</i> *	0.78	3.13	0.05	12.5
<i>Enterococcus faecalis</i> IFO 12580*	0.39	1.56	0.78	12.5
<i>Streptococcus pyogenes</i> IID Cook*	0.39	0.78	0.012	0.05
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type 2*	0.78	100	0.39	25
<i>Streptococcus pneumoniae</i> type 3*	0.20	0.20	0.024	\leq 0.006
<i>Streptococcus viridans</i> *	0.78	1.56	0.78	12.5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	0.012	0.39	0.10	0.78

Medium: Mueller-Hinton agar (Difco)

MIC (μ g/ml)

*: Supplemented with 5% horse blood

0.05~3.13 μ g/ml であった。さらに、OPC-7251 は嫌気性菌に対しても EM および CLDM よりは劣るものの NFLX および OFLX よりも強い抗菌力を示した。その抗菌力は \leq 0.006~6.25 μ g/ml であった。このように、OPC-7251 はグラム陽性菌、陰性菌および嫌気性菌に対して幅広い抗菌スペクトラムを示した。

2. 臨床分離株に対する感受性分布

臨床的に分離された *S. epidermidis* 89 株, *S. aureus* 54 株, MRSA 54 株, *S. agalactiae* 38 株, *E. coli* 54 株, *P. aeruginosa* 54 株, *P. acnes* 24 株および *B. fragilis* 22 株に対する感受性分布を Figs. 2~9 に示した。また、これらの菌に対する MIC₅₀ および MIC₉₀ を Table 4 に示した。

1) *S. epidermidis* の場合

Table 2. Antimicrobial spectrum against aerobic gram-negative bacteria

Organism	10 ⁶ cells/ml			
	OPC-7251	TC	EM	CLDM
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.39	1.56	100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC9362	0.20	0.78	50	100
<i>Salmonella typhi</i> NCTC8393	0.05	0.39	50	50
<i>Salmonella enteritidis</i> IFO3313	0.78	1.56	100	>100
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.78	1.56	100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC13048	0.78	3.13	100	>100
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC13047	0.78	1.56	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO12648	0.39	12.5	25	50
<i>Citrobacter freundii</i> IFO12681	0.20	0.78	12.5	50
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.05	50	>100	>100
<i>Morganella morganii</i> IID KONO	0.78	0.78	>100	25
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	0.39	3.13	12.5	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC10145	3.13	12.5	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC10490	0.39	25	>100	>100
			MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
Organism	10 ⁸ cells/ml			
	OPC-7251	TC	EM	CLDM
<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	0.39	3.13	100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC9362	0.39	0.78	100	100
<i>Salmonella typhi</i> NCTC8393	0.10	0.78	100	100
<i>Salmonella enteritidis</i> IFO3313	1.56	1.56	>100	>100
<i>Shigella sonnei</i> EW-33	0.78	3.13	>100	>100
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC13048	1.56	3.13	100	>100
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC13047	0.78	3.13	>100	>100
<i>Serratia marcescens</i> IFO12648	0.78	25	50	100
<i>Citrobacter freundii</i> IFO12681	0.39	1.56	50	50
<i>Proteus mirabilis</i> 1287	0.05	50	>100	>100
<i>Morganella morganii</i> IID KONO	0.78	1.56	>100	50
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Ac-54	0.78	3.13	25	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC10145	3.13	25	>100	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC10490	1.56	50	>100	>100
			MIC ($\mu\text{g/ml}$)	

Medium : Mueller-Hinton agar (Difco)

MIC ($\mu\text{g/ml}$)

Fig. 2 に示すように OPC-7251 は 0.05 $\mu\text{g/ml}$ に感受性のピークがあり, 0.10 $\mu\text{g/ml}$ 以下で全菌株の発育を阻止した。TC は 0.20 $\mu\text{g/ml}$ と 1.56 $\mu\text{g/ml}$ に 2 峰性の, EM は 0.10~0.20 $\mu\text{g/ml}$ に台形型の, CLDM は 0.10

$\mu\text{g/ml}$ に感受性のピークを示したが, EM では約 35%, CLDM では約 28%, TC では約 12% に 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高度耐性株が認められた。OPC-7251 は TC, EM および CLDM に比較し, 最も優れた抗菌力を示し, か

Table 3. Antimicrobial spectrum against anaerobic bacteria

Organism	10 ⁶ cells/ml			
	OPC-7251	TC	EM	CLDM
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC13123	0.10	0.10	1.56	0.05
<i>Eubacterium limosum</i> ATCC8486	0.39	0.20	0.10	0.20
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC14956	0.20	0.78	3.13	0.78
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> GM1003	0.78	25	0.78	0.20
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC6919	0.024	0.39	0.012	0.024
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC11827	0.012	0.20	≤0.006	0.39
<i>Propionibacterium granulosum</i> ATCC25564	≤0.006	0.39	≤0.006	0.012
<i>Bacteroides fragilis</i> GM7000	1.56	0.20	1.56	0.10
<i>Bacteroides thetaiotomicron</i> WAL3304	1.56	0.78	3.13	0.78
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	6.25	25	6.25	0.20
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC29237	0.78	0.20	1.56	0.024
<i>Fusobacterium necrophorum</i> S-45	0.78	0.05	6.25	—
<i>Veillonella parvula</i> ATCC10790	0.78	0.78	6.25	0.024
			MIC (μg/ml)	
Organism	10 ⁸ cells/ml			
	OPC-7251	TC	EM	CLDM
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC13123	0.20	0.10	1.56	0.05
<i>Eubacterium limosum</i> ATCC8486	0.39	0.39	0.20	0.39
<i>Peptostreptococcus magnus</i> ATCC14956	0.20	0.78	3.13	1.56
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> GM1003	0.78	50	1.56	0.20
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC6919	0.10	1.56	0.05	0.05
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC11827	0.39	0.78	0.024	0.39
<i>Propionibacterium granulosum</i> ATCC25564	0.05	0.78	0.024	0.012
<i>Bacteroides fragilis</i> GM7000	1.56	0.39	3.13	0.20
<i>Bacteroides thetaiotomicron</i> WAL3304	3.13	0.78	3.13	1.56
<i>Bacteroides ovatus</i> Ju-6-1	12.5	25	12.5	0.39
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC29237	1.56	0.39	6.25	0.024
<i>Fusobacterium necrophorum</i> S-45	1.56	0.05	6.25	—
<i>Veillonella parvula</i> ATCC10790	1.56	1.56	12.5	0.024
			MIC (μg/ml)	

Medium : GAM agar (Nissui)

MIC (μg/ml)

つ、これら対照薬に対する耐性菌にも有効であった。

2) *S. aureus* の場合

Fig. 3 に示すように OPC-7251 は 0.05 μg/ml に感受性のピークを示し、その感受性は 0.025~0.20 μg/ml に分布していた。TC, EM, CLDM および GM はそれぞれ 0.39, 0.20, 0.10, 0.20 μg/ml に感受性のピークを

示したが、100 μg/ml 以上の高度耐性株も認められた。これらの高度耐性株に対して OPC-7251 は強い抗菌力を示し有効であった。

3) MRSA の場合

Fig. 4 に示すように OPC-7251 は 0.025 μg/ml に感受性のピークを示し、0.78 μg/ml で全菌株の発育を阻止

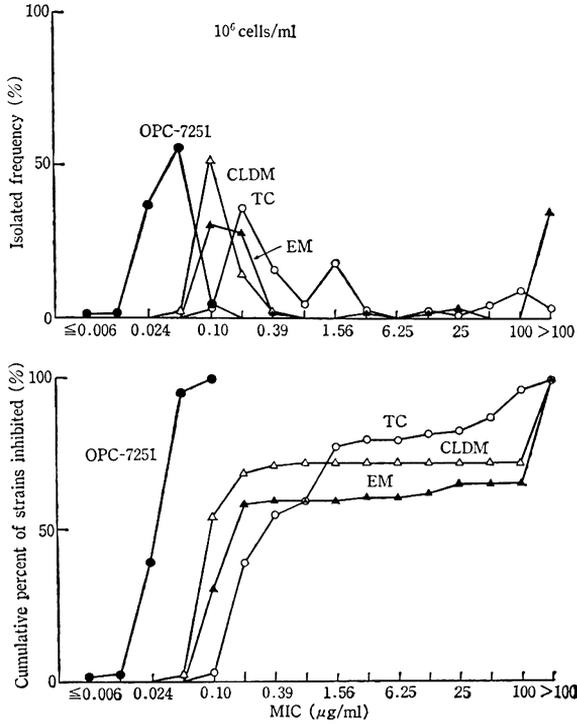


Fig. 2. Sensitivity distribution of clinical isolates : *Staphylococcus epidermidis* (89 strains)

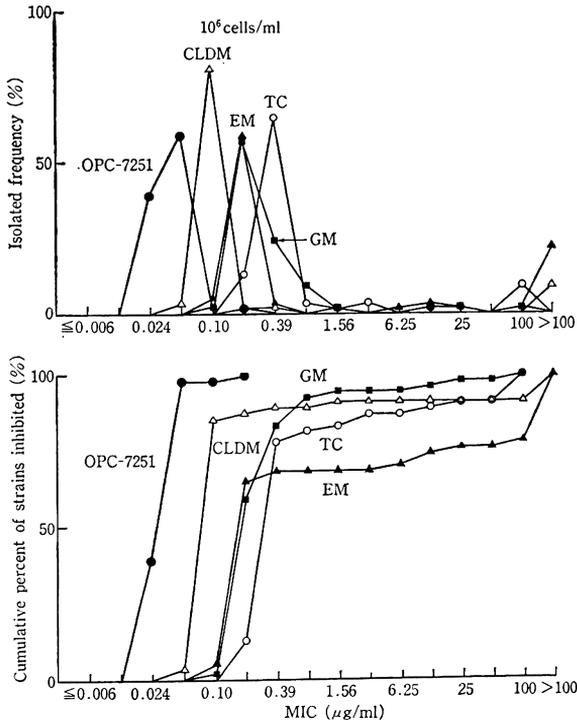


Fig. 3. Sensitivity distribution of clinical isolates :

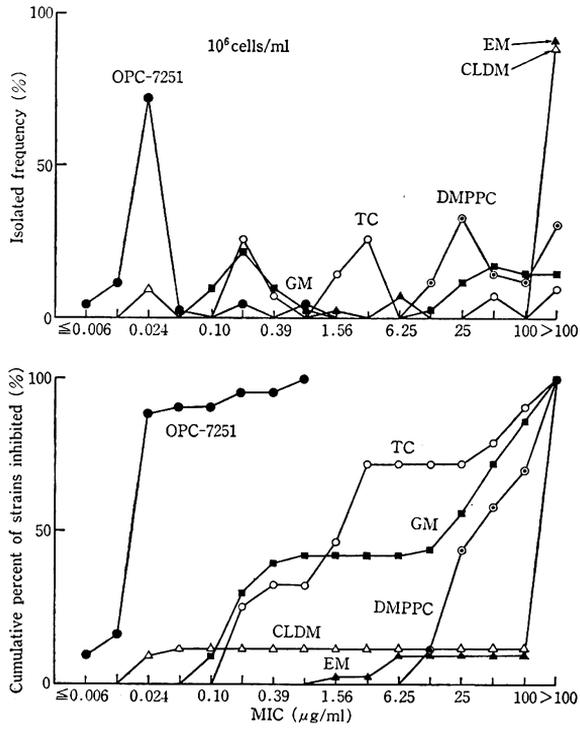


Fig. 4. Sensitivity distribution of clinical isolates : MRSA (43 strains)

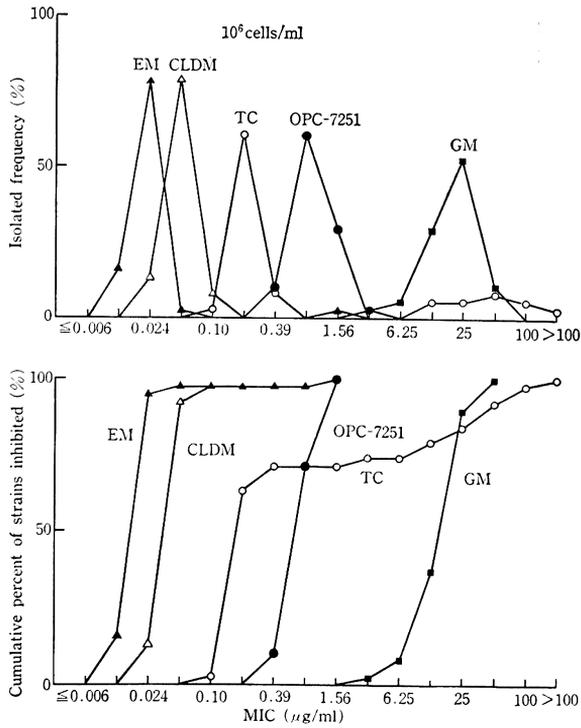


Fig. 5. Sensitivity distribution of clinical isolates : *Streptococcus agalactiae* (38 strains)

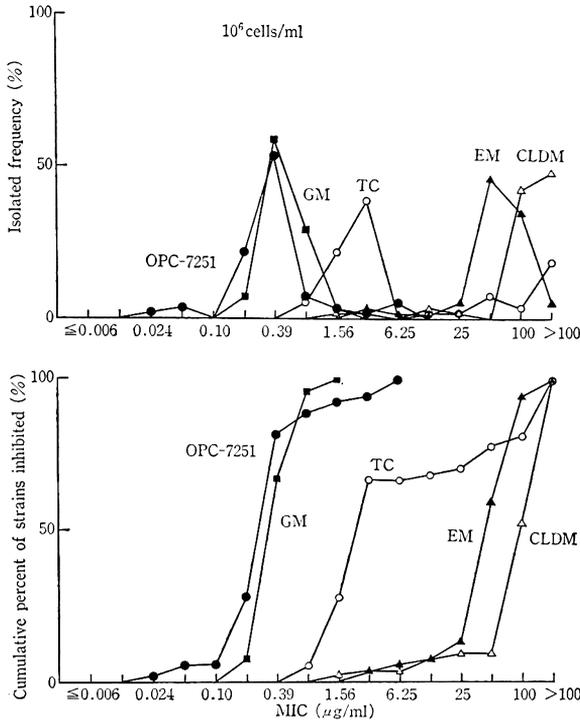


Fig. 6. Sensitivity distribution of clinical isolates : *Escherichia coli* (54 strains)

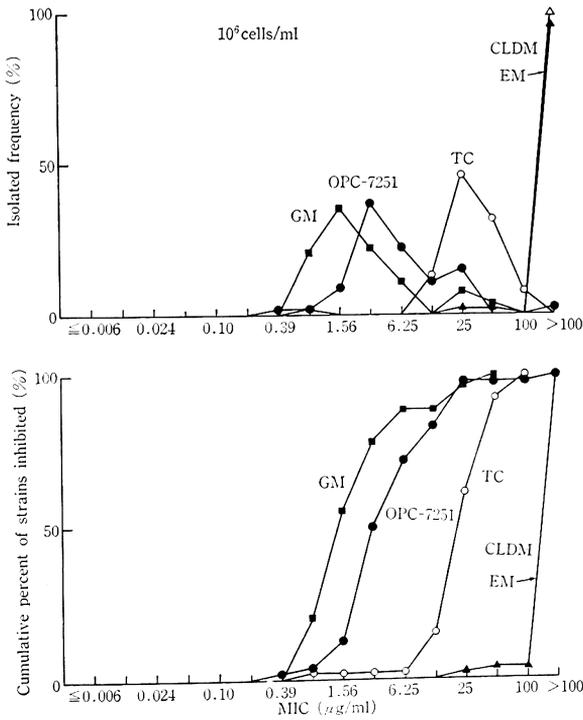


Fig. 7. Sensitivity distribution of clinical isolates : *Pseudomonas aeruginosa* (54 strains)

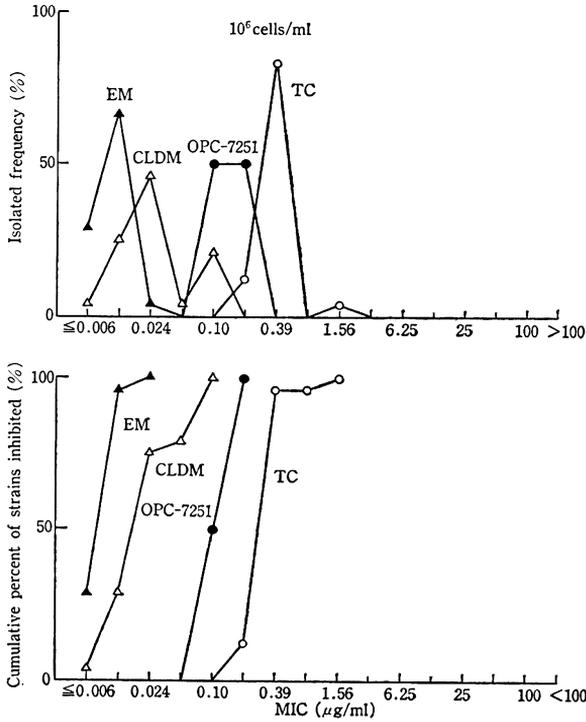


Fig. 8. Sensitivity distribution of clinical isolates : *Propionibacterium acnes* (24 strains)

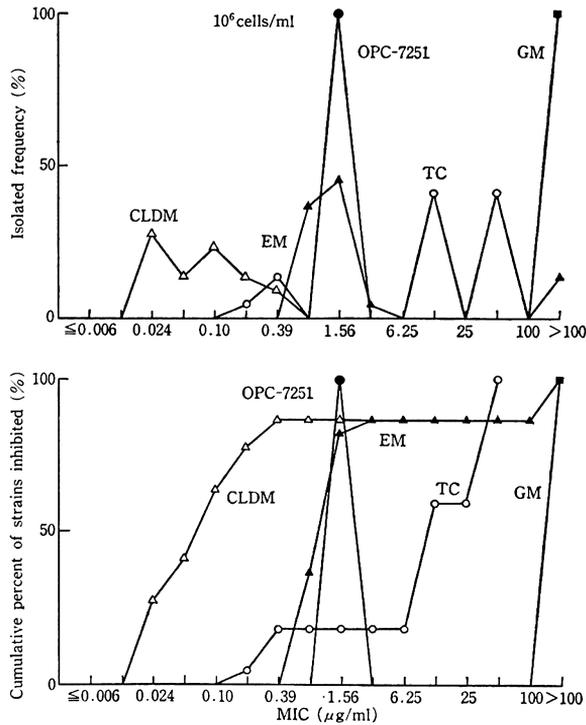


Fig. 9. Sensitivity distribution of clinical isolates : *Bacteroides fragilis* (22 strains)

Table 4. *In vitro* activity of OPC-7251 against clinical isolates

Organism (No. tested)	Drug	Range ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (89)	OPC-7251	$\leq 0.006-0.10$	0.028	0.045
	TC	0.10->100	0.33	59.46
	EM	0.10->100	0.16	>100
	CLDM	0.05->100	0.097	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> (54)	OPC-7251	0.024-0.20	0.029	0.045
	TC	0.20-100	0.29	17.68
	EM	0.10->100	0.17	>100
	CLDM	0.05->100	0.076	0.097
	GM	0.10-100	0.18	0.66
MRSA (43)	OPC-7251	$\leq 0.006-0.78$	0.024	0.05
	TC	0.20->100	3.13	100
	EM	1.56->100	>100	>100
	CLDM	0.024->100	>100	>100
	GM	0.10->100	25	>100
	DMPPC	12.5->100	>100	>100
<i>Streptococcus agalactiae</i> (38)	OPC-7251	0.39-1.56	0.78	1.56
	TC	0.10->100	0.20	50
	EM	0.012-1.56	0.024	0.024
	CLDM	0.024-0.10	0.05	0.05
	GM	3.13-50	25	25
<i>Escherichia coli</i> (54)	OPC-7251	0.024-6.25	0.26	0.96
	TC	0.78->100	2.28	>100
	EM	3.13->100	43.53	90.13
	CLDM	1.56->100	96.59	>100
	GM	0.20-1.56	0.33	0.66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (54)	OPC-7251	0.39->100	3.13	17.08
	TC	0.78-100	21.02	46.65
	EM	25->100	>100	>100
	CLDM	>100	>100	>100
	GM	0.78-50	1.36	13.87
<i>Propionibacterium acnes</i> (24)	OPC-7251	0.10-0.20	0.097	0.17
	TC	0.20-1.56	0.27	0.37
	EM	$\leq 0.006-0.024$	0.007	0.011
	CLDM	$\leq 0.006-0.10$	0.016	0.068
<i>Bacteroides fragilis</i> (22)	OPC-7251	1.56	1.56	1.56
	TC	0.20-50	12.5	50
	EM	0.78->100	1.56	>100
	CLDM	0.024->100	0.10	>100
	GM	>100	>100	>100

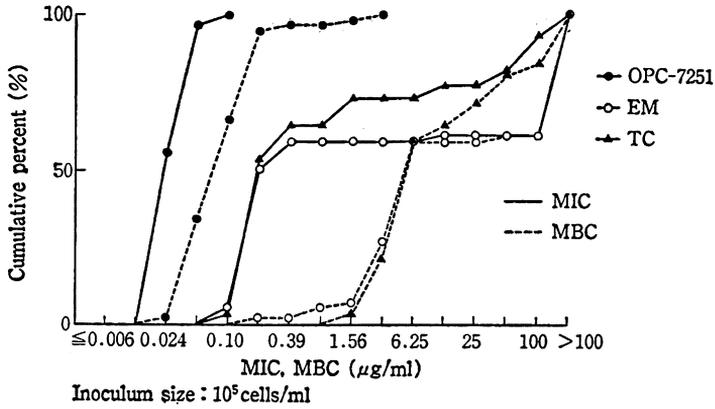


Fig. 10. Bactericidal activity of OPC-7251 against *Staphylococcus epidermidis* (56 strains)

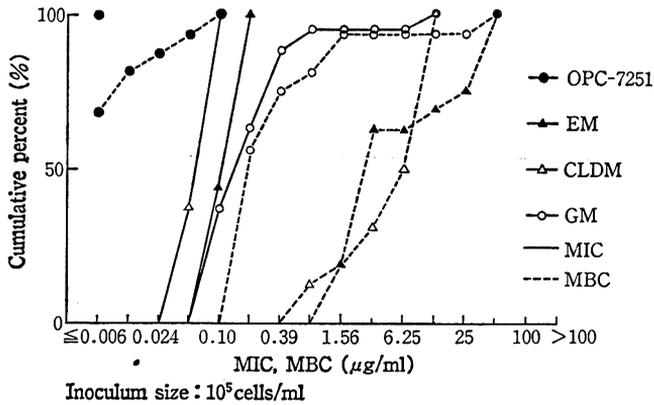


Fig. 11. Bactericidal activity of OPC-7251 against *Staphylococcus aureus* (16 strains)

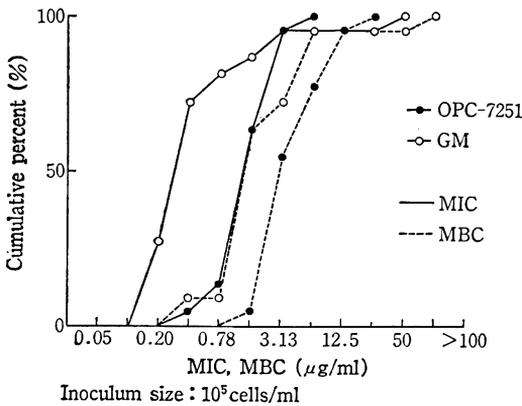


Fig. 12. Bactericidal activity of OPC-7251 against *Pseudomonas aeruginosa* (22 strains)

した。これに対し、TC および GM は高度耐性株の割合が増加し、また、EM および CLDM は約 90% が 100 µg/ml 以上の高度耐性株であった。

OPC-7251 はこれらの耐性菌に対しても強い抗菌力を示した。

4) *S. agalactiae* の場合

Fig. 5 に示すように OPC-7251 は 0.78 µg/ml に感受性のピークを示し、その感受性は 0.39~1.56 µg/ml に分布していた。TC は 0.20 µg/ml, EM は 0.025 µg/ml, CLDM は 0.05 µg/ml および GM は 25 µg/ml にそれぞれ感受性のピークを示した。OPC-7251 の抗菌力は EM, CLDM および TC よりは劣るものの GM よりは優れていた。

5) *E. coli* の場合

Fig. 6 に示すように OPC-7251 および GM はともに 0.39 µg/ml に感受性のピークを示した。TC は 3.13 µg/ml にピークを示したが、100 µg/ml 以上の耐性菌も

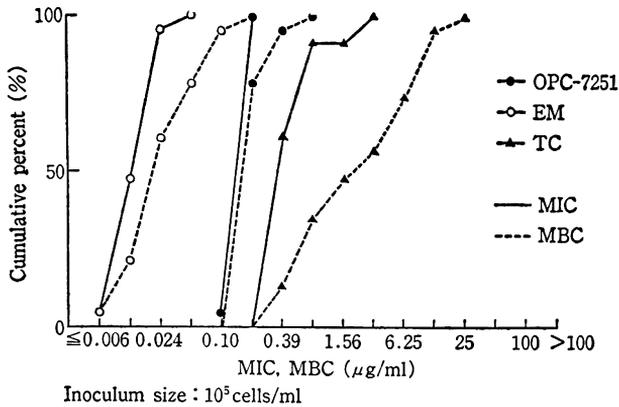


Fig. 13. Bactericidal activity of OPC-7251 against *Propionibacterium acnes* (23 strains)

Table 5. Influence of medium pH on MIC

Organism	Medium pH	OPC-7251	TC	EM	CLDM	GM
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	8.0	0.024	100	0.05	0.024	0.05
	7.0	0.024	100	0.10	0.05	0.05
	6.5	≤0.006	50	0.78	0.20	0.10
	6.0	≤0.006	25	0.78	0.39	0.20
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	8.0	0.024	0.10	0.05	0.05	0.10
	7.0	0.024	0.10	0.10	0.05	0.20
	6.5	≤0.006	0.05	0.39	0.20	0.78
	6.0	≤0.006	0.05	0.78	0.39	0.78
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	8.0	3.13	25	>100	>100	1.56
	7.0	3.13	25	>100	>100	1.56
	6.5	1.56	12.5	>100	>100	6.25
	6.0	0.78	12.5	>100	>100	6.25
<i>P. acnes</i> ATCC 6919	8.0	0.20	1.56	≤0.006	≤0.006	—
	7.0	0.20	1.56	0.012	0.012	—
	6.5	0.20	1.56	0.024	0.05	—
	6.0	0.10	0.39	0.39	0.20	—

Inoculum size : 10^6 cells/ml

MIC (μ g/ml)

認められた。また、EM および CLDM はほとんどの菌株が 50μ g/ml 以上であった。

6) *P. aeruginosa* の場合

Fig. 7 に示すように OPC-7251 は 3.13μ g/ml に感受性のピークを示した。これに対して GM は 1.56μ g/ml にピークが認められた。OPC-7251 の抗菌力は GM よりも約 2 倍程度劣った。

7) *P. acnes* の場合

Fig. 8 に示すように OPC-7251 の感受性は $0.10 \sim$

0.20μ g/ml に分布していた。これに対し、TC は 0.39μ g/ml, EM は 0.012μ g/ml および CLDM は 0.025μ g/ml と 0.10μ g/ml の 2 峰性の感受性ピークを示した。OPC-7251 の抗菌力は EM, CLDM よりは劣るものの TC よりは優れていた。

8) *B. fragilis* の場合

Fig. 9 に示すように OPC-7251 の感受性は全菌株が 1.56μ g/ml に分布していた。これに対し、TC は $0.39, 12.5, 50 \mu$ g/ml の 3 峰性の、EM は 1.56μ g/ml にピーク

Table 6. Influence of inoculum size on MIC

Organism	Inoculum size (cells/ml)	MIC				
		OPC-7251	TC	EM	CLDM	GM
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	1.2×10^6	0.05	>100	0.39	0.10	0.10
	1.2×10^7	0.024	>100	0.20	0.05	0.10
	1.2×10^6	0.024	100	0.10	0.05	0.05
	1.2×10^5	0.024	100	0.05	0.024	0.024
	1.2×10^4	0.012	50	0.05	0.012	0.024
<i>S. aureus</i> FDA 209 P	1.4×10^8	0.05	0.39	0.39	0.10	0.39
	1.4×10^7	0.024	0.20	0.10	0.05	0.20
	1.4×10^6	0.024	0.20	0.10	0.05	0.20
	1.4×10^5	0.024	0.10	0.05	0.05	0.20
	1.4×10^4	0.024	0.10	0.05	0.024	0.20
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	1.5×10^8	3.13	50	>100	>100	3.13
	1.5×10^7	3.13	50	>100	>100	3.13
	1.5×10^6	3.13	25	>100	>100	1.56
	1.5×10^5	3.13	25	>100	>100	1.56
	1.5×10^4	1.56	25	100	>100	1.56
<i>P. acnes</i> ATCC 6919	1.8×10^9	0.20	3.13	0.024	0.024	—
	1.8×10^8	0.20	3.13	0.024	0.024	—
	1.8×10^7	0.20	3.13	0.024	0.012	—
	1.8×10^6	0.20	1.56	0.012	0.012	—

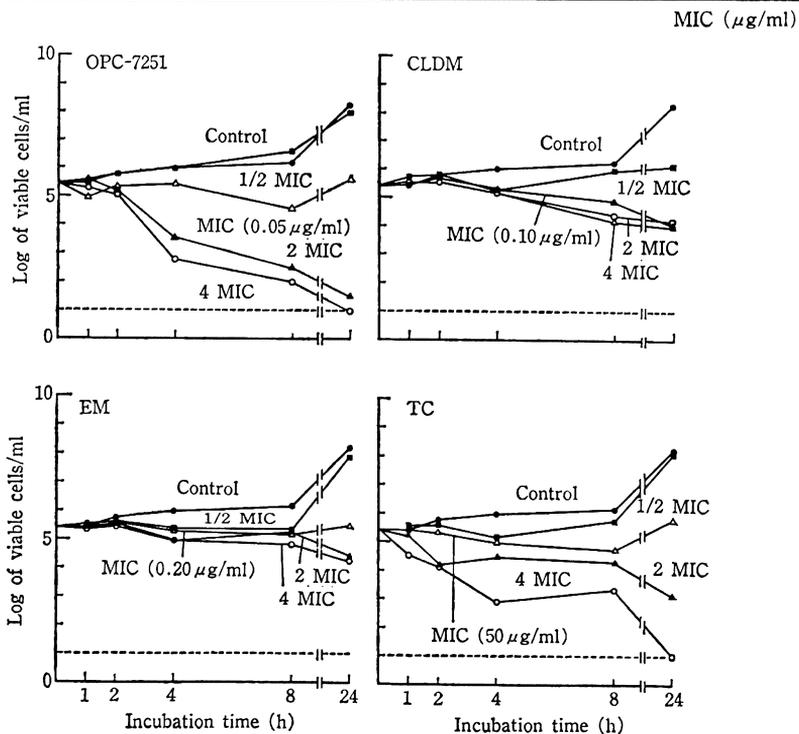


Fig. 14. Bactericidal activity of OPC-7251 against *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

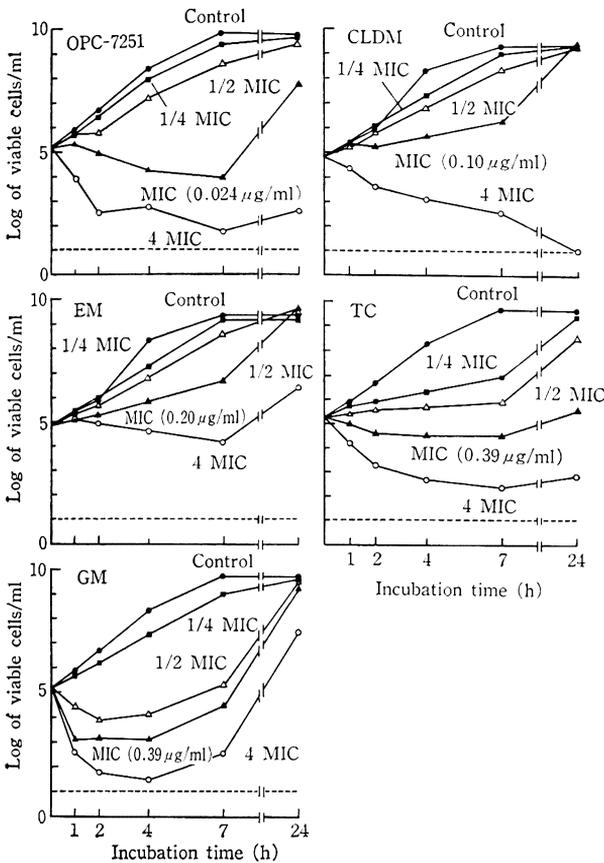


Fig. 15. Bactericidal activity of OPC-7251 against *Staphylococcus aureus* No. 100

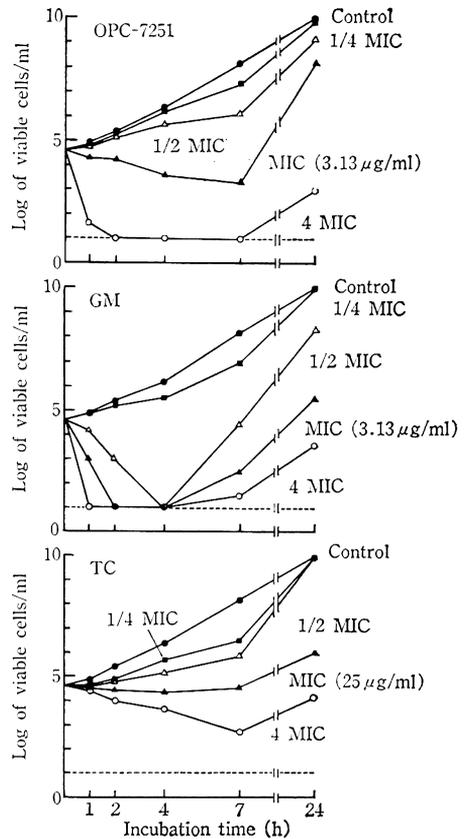


Fig. 16. Bactericidal activity of OPC-7251 against *Pseudomonas aeruginosa* E-2

クのある感受性分布を示し、また、CLDM は 0.025 $\mu\text{g/ml}$ と 0.10 $\mu\text{g/ml}$ の 2 峰性の分布を示した。GM はすべて 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった。CLDM および EM には 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の高度耐性菌が認められた。OPC-7251 は CLDM よりは劣るものの EM と同等であり、TC よりも優れた抗菌力であった。

Table 4 に示した MIC₉₀ においても OPC-7251 は対照薬に比較し、優れた抗菌力が認められた。

3. 最小殺菌濃度 (MBC) の測定

臨床的に分離された *S. epidermidis* 56 株、*S. aureus* 16 株、*P. aeruginosa* 22 株および *P. acnes* 23 株に対する MBC の分布を Figs. 10~13 に示した。なお、殺菌力の強さを MIC₉₀ と MBC₉₀ の濃度より比較検討した。

S. epidermidis の場合、TC、EM は共に 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上であったが、OPC-7251 は MIC₉₀ と MBC₉₀ の差は 4 倍であった。

S. aureus の場合、OPC-7251 および GM の差は約 4 倍であったのに対し、EM および CLDM の差はそれぞ

れ、500 倍以上と 128 倍の差であった。

P. aeruginosa の場合、OPC-7251 の差は約 4 倍であり、GM は約 2 倍の差であった。

P. acnes の場合、OPC-7251 の差は 2 倍であり、TC および EM の差はそれぞれ 16 倍と 4 倍の差であった。このように OPC-7251 はいずれの菌種においても MIC と MBC の差は小さかった。

4. 抗菌力に及ぼす諸因子の影響

抗菌力に及ぼす培地 pH、接種菌量の影響を、*S. epidermidis* ATCC 12228、*S. aureus* FDA 209 P、*P. aeruginosa* ATCC 10145 および *P. acnes* ATCC 6919 を用いて検討した結果を Tables 5, 6 に示した。OPC-7251 および TC は酸性側で、EM はアルカリ側で抗菌力が増強する傾向にあった。接種菌量では、OPC-7251 は TC、EM に比べ影響は少なかった。

5. 増殖曲線に及ぼす影響

1) *S. epidermidis* ATCC 12228 の場合

Fig. 14 に示すように、OPC-7251 は 2 MIC 濃度以上

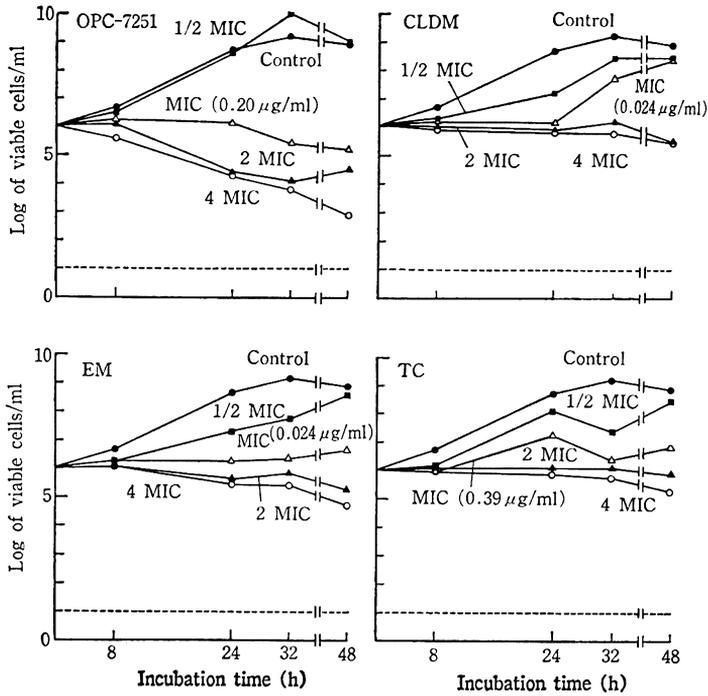


Fig. 17. Bactericidal activity of OPC-7251 against *Propionibacterium acnes* ATCC 6919

Table 7. Isolation frequency of spontaneous mutants resistant to OPC-7251

Organism	Drug	Selected concentration (µg/ml)	Frequency
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	OPC-7251	0.50	$<3.0 \times 10^{-8}$
	TC	100	$<3.0 \times 10^{-8}$
	EM	2.00	4.0×10^{-7}
	CLDM	1.00	$<3.0 \times 10^{-8}$
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209 P	OPC-7251	0.50	$<1.6 \times 10^{-9}$
	TC	7.80	$<1.6 \times 10^{-9}$
	EM	3.90	2.5×10^{-9}
	CLDM	1.00	3.1×10^{-8}
	GM	3.90	6.4×10^{-6}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	OPC-7251	62.50	$<1.0 \times 10^{-9}$
	GM	15.60	$<1.0 \times 10^{-9}$
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 6919	OPC-7251	2.00	1.8×10^{-8}
	TC	3.90	$<1.7 \times 10^{-8}$
	EM	0.24	2.1×10^{-8}
	CLDM	0.24	$<1.7 \times 10^{-8}$

Selected concentration : 10 MIC

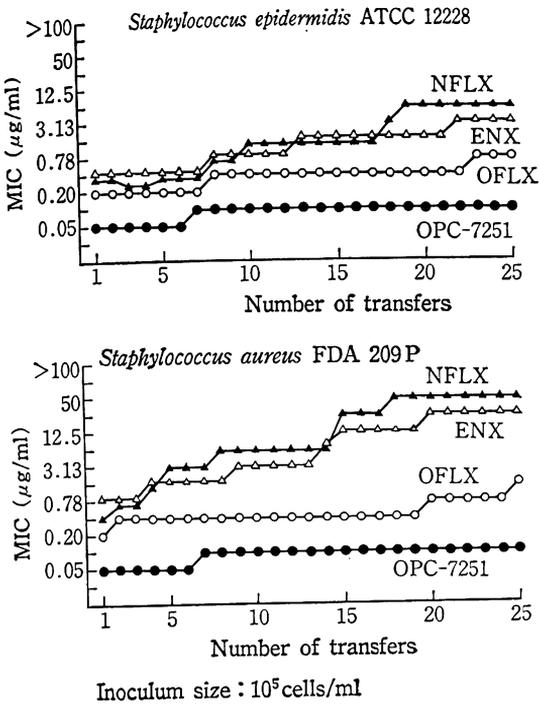


Fig. 18. Development of drug resistance to OPC-7251 norfloxacin, ofloxacin and enoxacin

で殺菌的な作用が認められたが、MIC 濃度では静菌的な作用であった。TC は 4 MIC 濃度で殺菌的に作用したがそれ以下の濃度では静菌的な作用であった。EM および CLDM はいずれの濃度においても静菌的な作用であった。

2) *S. aureus* No.100 の場合

Fig. 15 に示すように、OPC-7251、TC および CLDM は 4 MIC 濃度で殺菌的な作用が認められた。GM は 1/2 MIC 濃度以上で殺菌的な作用が認められたが、すべての濃度において再増殖が認められた。EM は 4 MIC 濃度でも静菌的な作用であった。

3) *P. aeruginosa* E-2 の場合

Fig. 16 に示すように、OPC-7251 は MIC 濃度以上で殺菌的な作用が認められたが、すべての濃度で再増殖が認められた。GM は 1/2 MIC 濃度以上で殺菌的な作用が認められたが、同じく再増殖が認められた。

4) *P. acnes* ATCC 6919 の場合

Fig. 17 に示すように、OPC-7251 は 2 MIC 濃度以上で殺菌的な作用が認められたが、MIC 濃度では静菌的な作用であった。TC、EM および CLDM は 4 MIC 濃度でも静菌的な作用であった。

6. 自然耐性変異株の出現頻度

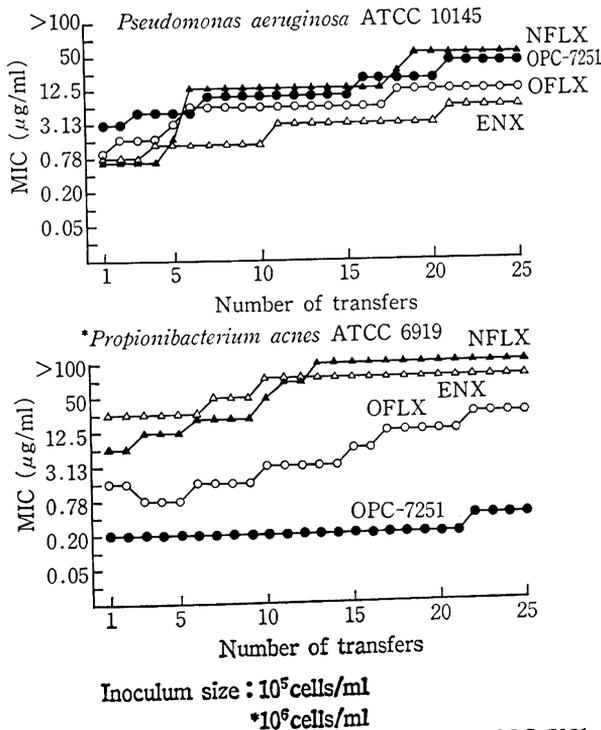


Fig. 19. Development of drug resistance to OPC-7251, norfloxacin, ofloxacin and enoxacin

Table 8. Cross-resistance among OPC-7251 and other quinolones

Organism	OPC-7251	NFLX	OFLX	ENX
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228				
Parent strain	0.05	0.20	0.20	0.39
NFLX resistant strain	0.10	6.25	0.78	3.13
ENX resistant strain	0.10	3.13	0.78	3.13
<i>S. aureus</i> FDA 209 P				
Parent strain	0.05	0.78	0.20	0.78
NFLX resistant strain	0.20	100	6.25	50
OFLX resistant strain	0.10	50	3.13	25
ENX resistant strain	3.13	100	25	100
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145				
Parent strain	3.13	0.78	1.56	0.78
OPC-7251 resistant strain	50	6.25	12.5	12.5
NFLX resistant strain	50	50	25	50
<i>P. acnes</i> ATCC 6919				
Parent strain	0.10	6.25	0.78	12.5
NFLX resistant strain	0.39	200	12.5	100
OFLX resistant strain	1.56	>200	25	>100
Inoculum size : 10^6 cells/ml			MIC (μ g/ml)	

Table 7 に示すように、EM は3菌種において 10^{-7} ~ 10^{-9} の頻度で自然耐性菌の出現が認められた。これに対し、OPC-7251 の耐性菌の出現頻度は 10^{-8} ~ 10^{-9} 以下と若干低率であった。

7. *In vitro* 耐性獲得試験

Figs. 18, 19 に *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* FDA 209 P, *P. aeruginosa* ATCC 10145, および *P. acnes* ATCC 6919 を用いた 25 代継代培養後の *in vitro* 耐性獲得試験の結果を示した。

S. epidermidis および *S. aureus* において OFLX は 4~8 倍, NFLX は 32~128 倍, ENX は 8~32 倍の MIC の上昇が認められたのに対し, OPC-7251 は 2 倍の上昇が認められたのみであった。*P. aeruginosa* においては OPC-7251 の MIC の上昇は 16 倍であった。OFLX は 16 倍, NFLX は 64 倍, ENX は 8 倍の上昇が認められた。*P. acnes* においては OPC-7251 の MIC の上昇は 2 倍であった。これに対し, OFLX は 32 倍, NFLX は 32 倍以上, ENX は 4 倍であった。

8. 同系薬剤間での交叉耐性

In vitro 耐性獲得試験において、耐性を獲得した菌株を用いて、OPC-7251 と他剤との交叉耐性を検討した。Table 8 に示すように、*P. aeruginosa* ATCC 10145 を除くいずれの菌においても検討薬剤間に強い交叉耐性は認められなかった。

III. 考 察

OPC-7251 は好気性のグラム陽性菌、陰性菌および嫌気性菌等の標準株に対し幅広い抗菌スペクトラムと強い抗菌力を示した。特に臨床分離株においては、尋常性瘡瘡の病態に大きく関与している *P. acnes* および *S. epidermidis* に対し、さらに皮膚感染症および熱傷感染症における重要な起因菌である *S. aureus* および *P. aeruginosa* に対しても強い抗菌力を有していた。MRSA や TC, EM, CLDM および GM 等の耐性菌に対しても抗菌力を示し交叉耐性は認められなかった。

また、自然耐性変異株の出現頻度が低率であったことや *in vitro* での耐性獲得試験において MIC の上昇程度が低く、比較的耐性を獲得し難い等の点は OPC-7251 の大きな特徴であると考えられる。

OPC-7251 の抗菌作用は今回検討した菌種において MIC と MBC の差が小さいことや、増殖曲線に及ぼす影響から伺われるように殺菌的であった。

本薬剤はピリドンカルボン酸系化合物であり、他の同系抗菌剤で報告されているように殺菌的に作用することから、主な作用機作は細菌に対する DNA gyrase の阻害^{22,23)}によるものと考えられる。

現在、尋常性瘡瘡に対する外用抗菌剤が無いこと、また臨床において MRSA および GM 耐性菌が増加している現状と今回我々が得た検討成績から、OPC-7251 は

尋常性痤瘡および皮膚感染症の外用治療薬としての有用性が期待された。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、本研究における臨床分離株を分与していただきました岐阜大学医学部嫌気性菌実験施設上野一恵教授、京都薬科大学微生物学教室西野武志教授および徳島大学中央検査室下田格先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 朝田康夫：皮脂と微生物—とくに痤瘡との関連において—。臨皮 29(6)：437～448, 1975
- 2) 高安 進：痤瘡と内分泌。皮膚臨床 23(6) 特：21：515～524, 1981
- 3) 林 良一, 小川 力：痤瘡病変の成り立ち。皮膚臨床 23(6) 特：21：507～513, 1981
- 4) 朝田康夫：にきび(尋常性痤瘡)。新臨床医学文庫, 金原出版, 1983
- 5) HOLLAND K T, INGHAM E, CUNLIFFE W J: A Review of the Microbiology of Acne. J Appli Bacteriol 51: 195～215, 1981
- 6) 加賀美潔, 佐藤みち子, 大沢知子：痤瘡の細菌学。皮膚臨床 23(6) 特：21：499～505, 1981
- 7) 滝沢清宏：痤瘡と細菌。皮膚臨床 17(7)：465～474, 1975
- 8) 嶋 多門：Office における尋常性痤瘡の治療。皮膚臨床 23(2)：107～114, 1981
- 9) 川津智是：尋常性痤瘡—症状と治療—。皮膚臨床 23(6) 特：21：525～536, 1981
- 10) アクネ研究班(班長 久木田淳)：尋常性痤瘡にたいするテトラサイクリンの長期連用法の臨床的検討。西皮皮膚 41(4)：722～729, 1979
- 11) RICHARD B. STOUGHTON: Topical Antibiotics for Acne Vulgaris. Arch Dermatol 115, April: 486～489, 1979
- 12) BURKE B, EADY E A, CUNLIFFE W J: Benzoyl-peroxide versus topical erythromycin in the treatment of acne vulgaris. Br J Dermatol 108: 199～204, 1983
- 13) クリンダマイシンローション研究班(代表 朝田康夫)：1%クリンダマイシンローションの尋常性痤瘡にたいする治療効果。西皮皮膚 43(2)：287～290, 1981
- 14) 第85回日本皮膚科学会学術大会, シンポジウム。抗細菌療法, 京都, 1986
- 15) 荒田次郎：皮膚感染症。薬物療法 7: 802～805, 1974
- 16) 洲脇正雄, 山本康生, 荒田次郎：皮膚一般細菌感染症に対する化学療法の基礎的検討。Chemotherapy 26(3)：324～327, 1978
- 17) 朝田康夫：皮膚細菌感染症序説—現況と問題点—。皮膚臨床 29(11) 特：27：1009～1016, 1987
- 18) 石引久弥, 山田好則, 相川直樹, 山本修三：熱傷と感染。外科治療 41(6)：659～666, 1979
- 19) 細田富生, 柳川忠二, 田中美雄, 原沢 功, 中塩哲士：聖マリアンナ医科大学病院熱傷センター内の細菌学的検討及び広範囲熱傷患者における細菌の動向。化学療法の領域 4(1)：123～128, 1988
- 20) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76～79, 1981
- 21) 嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会：嫌気性菌の最小発育阻止濃度(MIC)測定法。Chemotherapy 27: 559～560, 1979
- 22) SUGINO A; PEEBLES C L, KREUZER K N, COZZARELLI N R, : Mechanism of action of nalidixic acid: Purification of *Escherichia coli* nal A gene products and its relationship to DNA gyrase and novel nicking-closing enzyme. Proc Natl Acad Sci 74: 4767～4771, 1977
- 23) 佐藤謙一, 三橋 進：キノロン系誘導体の作用機作。診断と治療 74: 1322～1327, 1986

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF OPC-7251,
A NEW PYRIDONE CARBOXYLIC
ACID ANTIMICROBIAL AGENT

1. *IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY

SHIGEKATSU KAWABATA, KINUE OHGURO, FUMIE MUKAI,
KAZUNORI OHMORI, HISASHI MIYAMOTO
and HISASHI TAMAOKA

2nd Tokushima Institute of New Drug Research, Otsuka Pharmaceutical Co.,Ltd.,
463-10 Kagasuno Kawauchi-cho Tokushima 771-01, Japan

The antibacterial activity of OPC-7251 was compared with that of tetracycline (TC), erythromycin (EM), clindamycin (CLDM), gentamicin (GM), norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX) and enoxacin (ENX). The results were as follows:

(1) OPC-7251 had a potent and broad spectrum of antibacterial activity against aerobic Gram-positive, aerobic Gram-negative and anaerobic bacteria.

(2) OPC-7251 had potent antibacterial activity against clinically isolated strains of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*, which are known as exogenous factors in acne vulgaris.

OPC-7251 also had potent antibacterial activity against clinically isolated strains of *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

(3) The antibacterial activity of OPC-7251 was augmented in an acidic medium and was little influenced by the inoculum size.

(4) The mode of antibacterial action of OPC-7251 was bactericidal.

(5) The incidence of bacterial strains which developed spontaneous resistance to OPC-7251 was low. OPC-7251 did not cause cross-resistance to NFLX, OFLX and ENX.

We therefore anticipate that OPC-7251 will show clinical efficacy in acne vulgaris and other skin infections.