

イミダゾール系新抗真菌剤 SS 717 に関する研究

第 1 報 *In vitro* 抗菌活性

浅岡 健光・川原 隆一・岩佐 曜

エスエス製薬株式会社中央研究所*

(平成 2 年 3 月 2 日受付・平成 2 年 4 月 5 日受理)

新規なイミダゾール系の抗真菌剤である、SS 717 の基礎的な *in vitro* 活性について clotrimazole, cloconazole および bifonazole を比較薬剤として検討した結果、次のような試験成績が得られた。

SS 717 は酵母状真菌、皮膚糸状菌、黒色真菌およびその他の糸状菌に対して広範囲な抗真菌スペクトルを示した。中でも、*Candida glabrata*, *Trichophyton* 属, *Microsporum* 属, *Fonsecaea* 属および *Aspergillus* 属に強い活性が認められた。その抗真菌活性は酵母状真菌に対するよりも、糸状菌の方が強かった。また、臨床新鮮分離の皮膚糸状菌に対しても強い抗菌活性を示し、比較薬剤である clotrimazole, cloconazole および bifonazole よりも強かった。しかし、細菌に対する抗菌活性は、他のイミダゾール系比較薬剤と同様に、グラム陽性菌に対し中程度認められたが、グラム陰性菌にはほとんど認められなかった。

以上の SS 717 の抗真菌活性は、培地 pH の降下、接種菌量の増大、培養期間の延長および血清の添加により活性は低下傾向を示した。

Key words : 新規抗真菌剤, イミダゾール, SS 717, 抗真菌活性

イミダゾール系抗真菌剤の開発研究は近年急速な進展をとげており、主として表在性の抗真菌剤として数多く開発されている¹⁻⁴⁾。SS 717 はエスエス製薬(株)中央研究所にて合成開発された新規なイミダゾール系抗真菌剤であり、化学名は (E)-1-[2-(methylthio)-1-[2-(pentyloxy)phenyl]ethenyl]-1H-imidazole hydrochloride である。Fig. 1 にその化学構造式を示したが、分子量は 338.9 で融点 145~148℃の白色の結晶または結晶性の粉末で、溶解性は水、メタノールおよびエタノールにきわめて溶けやすくエーテルにはほとんど溶けない。現在既知のイミダゾール系抗真菌剤¹⁻⁴⁾は、酵母状真菌および皮膚糸状菌などの真菌に対して広範囲なスペクトルを有し、またグラム陽性の細菌に対しても抗菌作用⁵⁻⁷⁾を有することが知られている。そこ

で今回著者らは、SS 717 について抗真菌性化学療法剤として開発するための基礎的データを得ることを目的に、各種の真菌および細菌に対する *in vitro* での抗菌活性を clotrimazole (CTZ), cloconazole (CCZ) および bifonazole (BFZ) と比較検討したので報告する。また、抗真菌活性におよぼす諸因子についても検討をしたのでその成績もあわせて報告する。

I. 実験材料と方法

1. 薬剤

SS 717 は当研究所で合成精製し、比較対照薬の CTZ, CCZ および BFZ は市販薬剤より抽出精製して、原末標品とした。溶解液は各薬剤共に dimethyl sulfoxide (DMSO) を用い、活性測定培地中での DMSO の最終濃度は 1% になるように調製した。

2. 使用菌株

真菌は、著者らの研究所保存株と帝京大学医学部医真菌研究センター分与株および東京医科歯科大学皮膚科香川教授より分与された臨床新鮮分離株を使用した。また、好気性および嫌気性の細菌は、当研究所保存株を使用した。

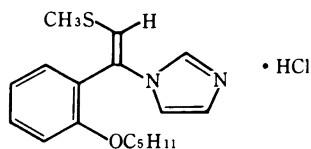


Fig. 1. Chemical structure of SS 717

Table 1. Antifungal activity of SS717 and other imidazole antimycotics against yeast like fungi on Sabouraud dextrose (2%) agar

| Organism | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|---|--------------------------|--------|------|------|
| | SS717 | CTZ | CCZ | BFZ |
| <i>Candida albicans</i> NHL 4019 | 25 | 25 | 12.5 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> Yu 1200 | 50 | 6.25 | 50 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 1060 | 3.12 | 1.56 | 12.5 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 1061 | 6.25 | 3.12 | 3.12 | 12.5 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 0692 | 3.12 | 1.56 | 3.12 | 6.25 |
| <i>Candida albicans</i> 3147 | 50 | 6.25 | 100 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1066 | 0.39 | 6.25 | 6.25 | 25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1067 | 0.78 | 12.5 | 25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1068 | 0.78 | 6.25 | 6.25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1069 | 1.56 | 12.5 | 12.5 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1070 | 0.39 | 6.25 | 3.12 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1071 | 0.78 | 12.5 | 12.5 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1072 | 0.78 | 12.5 | 6.25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1073 | 1.56 | 12.5 | 12.5 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1074 | 1.56 | 12.5 | 12.5 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1075 | 0.78 | 12.5 | 12.5 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1077 | 1.56 | 12.5 | 12.5 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1078 | 1.56 | 12.5 | 12.5 | >25 |
| <i>Candida tropicalis</i> TIMM 0316 | 6.25 | 3.12 | 25 | >25 |
| <i>Candida tropicalis</i> IFO 0589 | 25 | 12.5 | 100 | >25 |
| <i>Candida tropicalis</i> IFO 1400 | 25 | 12.5 | 25 | >25 |
| <i>Candida krusei</i> TIMM 0269 | 0.78 | 0.78 | 25 | 12.5 |
| <i>Candida krusei</i> TIMM 0270 | 0.78 | 0.39 | 25 | 12.5 |
| <i>Candida guilliermondii</i> TIMM 0259 | 3.12 | 0.78 | 50 | 12.5 |
| <i>Candida parapsilosis</i> IFO 0585 | 25 | 6.25 | 50 | >25 |
| <i>Candida kefyr</i> IFO 0432 | <0.006 | <0.006 | 0.05 | 0.20 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 0357 | 6.25 | 3.12 | 12.5 | >25 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 0361 | 1.56 | 0.78 | 3.12 | 12.5 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 0382 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | 12.5 |
| <i>Debaryomyces hansenii</i> IFO 0055 | 0.20 | 0.05 | 1.56 | 6.25 |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763 | 0.20 | 0.39 | 12.5 | 12.5 |
| <i>Saccharomyces ruxii</i> 6507 | 0.20 | 0.39 | 3.12 | 6.25 |

Inoculum size: 10^6 cells/ml

Incubation: 3 days at 27°C

CTZ: clotrimazole, CCZ: cloconazole, BFZ: bifonazole

3. 接種菌液の調製

Candida 属は, Sabouraud dextrose (2%) agar (SDA) 斜面培地にて 37°C で 24 時間培養し, その他の

酵母状菌は同斜面培地にて 37°C で 48 時間培養した後, 滅菌生理食塩水に懸濁して菌浮遊液とした。糸状菌も同様に同斜面培地にて十分に発育するまで培養 (27°C

Table 2. Antifungal activity of SS 717 and other imidazole antimycotics against dermatophytic fungi on Sabouraud dextrose (2%) agar

| Organism | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|--|--------------------------|------|------|------|
| | SS 717 | CTZ | CCZ | BFZ |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> QM 248 | 0.20 | 0.20 | 0.39 | 3.12 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> IFO 5812 | 0.20 | 0.39 | 0.39 | 3.12 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM 1189 | 0.10 | 0.39 | 1.56 | 1.56 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> NHL J | 0.20 | 0.39 | 0.20 | 0.39 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 6204 | 0.10 | 0.39 | 0.78 | 1.56 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 9185 | 0.20 | 0.39 | 1.56 | 3.12 |
| <i>Trichophyton tonsurans</i> IFO 5928 | 0.05 | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| <i>Microsporum gypseum</i> IFO 8231 | 0.39 | 0.39 | 0.39 | 25 |
| <i>Microsporum audouinii</i> IFO 6074 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 3.12 |
| <i>Microsporum cookei</i> IFO 8303 | 0.78 | 3.12 | 3.12 | 12.5 |
| <i>Microsporum canis</i> TIMM 0760 | 0.78 | 0.78 | 1.56 | >25 |

Inoculum size : 10^6 cells/ml

Incubation : 7 days at 27°C

CTZ : clotrimazole, CCZ : cloconazole, BFZ : bifonazole

Table 3. Antifungal activity of SS 717 and other imidazole antimycotics against filamentous fungi on Sabouraud dextrose (2%) agar

| Organism | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|---|--------------------------|------|------|------|
| | SS 717 | CTZ | CCZ | BFZ |
| <i>Aspergillus niger</i> ATCC 9642 | 0.78 | 3.12 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> IFO 6344 | 0.39 | 1.56 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Aspergillus terreus</i> IFO 6346 | 0.39 | 3.12 | 3.12 | 6.25 |
| <i>Aspergillus flavus</i> TIMM 0061 | 0.78 | 6.25 | 3.12 | >25 |
| <i>Penicillium chrysogenum</i> NHL 6010 | 1.56 | 1.56 | 3.12 | >25 |
| <i>Penicillium notatum</i> IFO 4640 | 0.39 | 3.12 | 3.12 | 12.5 |
| <i>Penicillium citrinum</i> IFO 7784 | 0.78 | 3.12 | 3.12 | 12.5 |
| <i>Mucor spinosus</i> IFO 4575 | 12.5 | 12.5 | 6.25 | >25 |
| <i>Rhizopus oryzae</i> IFO 4706 | 3.12 | 0.20 | 3.12 | 25 |
| <i>Fusarium moniliforme</i> TIMM 1294 | 0.39 | 3.12 | 25 | >25 |

Inoculum size : 10^6 cells/ml

Incubation : 5 days at 27°C

CTZ : clotrimazole, CCZ : cloconazole, BFZ : bifonazole

で7~14日間)し、その斜面培地上に0.1% (W/V) Tween 80 添加滅菌生理食塩水を加え胞子含有液を採取した。また、滅菌ガーゼにて大きな菌塊をろ過し、均一な胞子浮遊液とした。接種菌液の菌量調整にはBurker-Turkの血球計算盤を用いて菌数を計測し、滅菌生理食塩水にてそれぞれ 10^6 cells/mlに調製した。

4. 試験培地

抗真菌活性測定培地はSDA, Bact-yeast morphology agar (YMA) およびSabouraud dextrose (2%) broth (SDB)を使用した。

抗細菌活性測定培地は、好気性菌用にMueller-Hinton medium (Difco製)を、嫌気性菌用にGAM寒天(日本製薬株)を使用した。

5. 抗菌活性測定法

(1) 真菌の最小発育阻止濃度(MIC)の測定は、薬剤濃度 $100\sim 0.006$ $\mu\text{g/ml}$ の2倍希釈系列での寒天平板希釈法にて行い、菌接種は自動接種装置マイクロプランター(佐久間株)を使用し、1白金耳量ずつ寒天平板に接種した。培養および判定は酵母状真菌が27°Cで3日後に、糸状菌が27°Cで5~7日後に発育阻止を示す最小濃度をもってMIC値とした。ただし、BFZにあっては水系希釈系列において、 16 $\mu\text{g/ml}$ 以上溶解しないこと⁸⁾より最高濃度 25 $\mu\text{g/ml}$ からの2倍希釈系列とした。

(2) 真菌の最小殺菌濃度(MCC)の測定は、薬剤濃度 $100\sim 0.05$ $\mu\text{g/ml}$ の2倍希釈系列での液体培地希釈法にてMIC値を測定し、菌の発育が認められない濃度系列から $10\mu\text{l}$ を採取して、新たなSDA平板に塗抹後、27°Cで7日間培養後に菌の発育が認められない最

小濃度をもってMCC値とした。MCC値測定のための接種菌量は培地中での最終菌濃度が 10^6 cells/mlとなるようにした。また、BFZはMIC値測定と同様に最高濃度 25 $\mu\text{g/ml}$ からの2倍希釈系列とした。

(3) 細菌のMIC値の測定は、日本化学療法学会標準法^{9,10)}に基づく寒天希釈法で行い、嫌気性菌では岐阜大学医学部の方法に基づくGas Pak法^{11,12)}を用いた。接種菌液はすべて 10^6 cells/mlに調製し、マイクロプランターで1白金耳量ずつ接種し、MIC値の判定は37°Cで24時間培養後に行った。また、BFZは抗真菌活性測定と同様に最高濃度 25 $\mu\text{g/ml}$ よりの希釈系列とした。

6. 抗真菌活性におよぼす諸因子の影響

(1) 培地の種類の影響: SDA培地およびYMA培地にてMIC値を測定した。

(2) 培地のpHの影響: SDA培地を塩酸または苛性ソーダ溶液を用いてpH 4, 5, 6, 7, 8および9に調製し、MIC値を測定した。

(3) 接種菌量と培養期間の影響: $10^2\sim 10^7$ cells/mlの接種菌液を用い、*Candida*属は培養日数2日, 3日, 5日, 7日および10日後に、*Trichophyton*属では5日, 7日, 10日, 14日および21日後に、それぞれの条件下でのMIC値を判定した。

(4) 血清添加の影響: SDA培地中にウマ血清(日本生物材料)を10%添加してMIC値を測定し、無添加時のMIC値と比較した。

II. 実験成績

1 抗真菌活性

Table 1に、*Candida*属や*Cryptococcus neoformans*

Table 4. Antifungal activity of SS717 and other imidazole antimycotics against dematiaceous fungi on Sabouraud dextrose (2%) agar

| Organism | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|---|--------------------------|------|------|--------|
| | SS717 | CTZ | CCZ | BFZ |
| <i>Fonsecaea pedrosoi</i> TIMM 0486 | 0.05 | 0.10 | 0.78 | <0.006 |
| <i>Fonsecaea pedrosoi</i> TIMM 0487 | 0.20 | 1.56 | 12.5 | <0.006 |
| <i>Fonsecaea compacta</i> TIMM 0477 | 0.39 | 3.12 | 12.5 | 0.006 |
| <i>Fonsecaea compacta</i> TIMM 0478 | 0.20 | 1.56 | 3.12 | 0.006 |
| <i>Cladosporium bantianum</i> TIMM 0343 | 1.56 | 3.12 | 6.25 | 0.39 |
| <i>Phialophora verrucosa</i> TIMM 0903 | 0.39 | 1.56 | 12.5 | 0.10 |

Inoculum size: 10^6 cells/ml

Incubation: 5 days at 27°C

CTZ: clotrimazole, CCZ: cloconazole, BFZ: bifonazole

Table 5. Sensitivity distributions of clinical isolates of *Candida albicans* and dermatophytes on Sabouraud dextrose (2%) agar

| Organism (Number of strains) | Antimycotic | Cumulative % of strains inhibited at drug concentration ($\mu\text{g/ml}$): | | | | | | | | | | Geometric mean MICs ($\mu\text{g/ml}$) | | | | |
|--|-------------|---|-------|-------|------|------|------|------|------|------|------|--|------|------|------|--------|
| | | 0.006 | 0.012 | 0.024 | 0.05 | 0.10 | 0.20 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.12 | | 6.25 | 12.5 | 25.0 | 50.0 |
| <i>Candida albicans</i> (22) Cumulative (%) | SS 717 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 18.2 | 77.3 | 100 | - | 12.90 |
| | CTZ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 45.5 | 95.0 | 100 | - | 5.01 |
| | CCZ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 40.1 | 100 | - | - | 9.41 |
| | BFZ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 4.5 | 100 | >25.00 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (21) Cumulative (%) | SS 717 | - | - | - | - | 57.1 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.13 |
| | CTZ | - | - | - | - | 47.6 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.15 |
| | CCZ | - | - | - | - | - | 38.1 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | 0.30 |
| | BFZ | - | - | - | - | - | - | - | 95.2 | 100 | - | - | - | - | - | 1.56 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> (18) Cumulative (%) | SS 717 | - | - | - | 50.0 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.07 |
| | CTZ | - | - | - | - | - | 44.4 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | 0.29 |
| | CCZ | - | - | - | - | - | 16.7 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | 0.35 |
| | BFZ | - | 22.2 | 22.2 | 33.3 | 38.9 | 44.4 | 72.2 | 100 | - | - | - | - | - | - | 0.16 |
| <i>Microsporum canis</i> (8) Cumulative (%) | SS 717 | - | 12.5 | 37.5 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.04 |
| | CTZ | - | - | - | 12.5 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.09 |
| | CCZ | - | - | - | - | 12.5 | 50.0 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | 0.26 |
| | BFZ | - | - | - | - | - | - | 12.5 | 100 | - | - | - | - | - | - | 1.43 |
| <i>Microsporum gypsum</i> (5) Cumulative (%) | SS 717 | - | - | - | - | - | - | 100 | - | - | - | - | - | - | - | 0.39 |
| | CTZ | - | - | - | - | - | 40.0 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | 0.30 |
| | CCZ | - | - | - | - | - | - | 20.0 | 100 | - | - | - | - | - | - | 0.68 |
| | BFZ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 100 | - | - | 25 |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> (5) Cumulative (%) | SS 717 | - | 100 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.012 |
| | CTZ | - | - | - | - | 20.0 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.17 |
| | CCZ | - | - | - | - | 40.0 | 100 | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.15 |
| | BFZ | 100 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.006 |

Inoculum size : 10^6 cells/ml

Incubation : 3 to 7 days at 27°C

CTZ : clotrimazole, CCZ : cloconazole, BFZ : bifonazole

mans などの酵母状真菌に対する各薬剤の MIC 値を示したが、全体的な MIC 値は CTZ が低く、次いで SS 717, CCZ, BFZ の順であった。しかし、*Candida glabrata* の活性は SS 717 が MIC 値 0.39~1.56 $\mu\text{g/ml}$ と最も低く、CTZ の MIC 値より 8~16 倍低かった。

Table 2 に、*Trichophyton* 属や *Microsporum* 属などの皮膚糸状菌に対する MIC 値を示したが、SS 717 の MIC 値は 0.05~0.78 $\mu\text{g/ml}$ と最も低く、次いで CTZ, CCZ および BFZ の順であり、その MIC 値は CTZ より約 2.4 倍低かった。

Table 3 に、*Aspergillus* 属や *Penicillium* 属などの糸状菌に対する MIC 値を示したが、皮膚糸状菌と同様に SS 717 の MIC 値は 0.39~12.5 $\mu\text{g/ml}$ と最も低く、次いで CTZ, CCZ および BFZ の順であり、MIC 値は CTZ より約 3 倍低かった。

Table 4 に、*Fonsecaea* 属、*Cladosporium bantianum* および *Phialophora verrucosa* などの黒色

真菌に対する MIC 値を示したが、最も低かったのは BFZ の $<0.006\sim0.39 \mu\text{g/ml}$ であった。次いで SS 717 の 0.05~1.56 $\mu\text{g/ml}$ で、CTZ と比較して約 5 倍低い MIC 値を示した。

Table 5 に、皮膚科臨床分離株 79 株に対する各薬剤の感受性分布と累積阻止率および MIC 幾何平均値を示した。

Candida albicans 22 株の累積阻止率は、SS 717 が 6.25 $\mu\text{g/ml}$ で 18% なのに対して BFZ は 0% であった。また、CCZ は 40% であり、CTZ は 95% であった。り、MIC 幾何平均値は SS 717 が 12.9 $\mu\text{g/ml}$ と CTZ の 2 倍以上高かった。

Trichophyton mentagrophytes 21 株の累積阻止率は、SS 717 が 0.20 $\mu\text{g/ml}$ で 100% であるのに対して、CTZ は 95%、CCZ は 38%、BFZ は 0% であった。MIC 幾何平均値は SS 717 と CTZ がほぼ同等であり、0.13 $\mu\text{g/ml}$ と 0.15 $\mu\text{g/ml}$ であった。

Table 6. Antibacterial activity of SS 717 and other imidazole antimycotics against aerobic bacteria on Mueller-Hinton medium

| Organism | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|--|--------------------------|------|------|------|
| | SS 717 | CTZ | CCZ | BFZ |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 | 6.25 | 6.25 | 3.12 | 6.25 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> Terashima | 6.25 | 6.25 | 3.12 | 6.25 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> Smith | 6.25 | 6.25 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 | 3.12 | 1.56 | 0.78 | 1.56 |
| <i>Streptococcus faecalis</i> IFO 12964 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 12.5 |
| <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341 | 0.78 | 0.39 | 0.39 | 0.39 |
| <i>Micrococcus lysodeikticus</i> IFO 3333 | 3.12 | 0.78 | 0.78 | 1.56 |
| <i>Escherichia coli</i> 0-1 | >100 | >100 | >100 | >25 |
| <i>Escherichia coli</i> K-12 | >100 | >100 | >100 | >25 |
| <i>Salmonella typhi</i> TD | >100 | >100 | >100 | >25 |
| <i>Shigella flexneri</i> 2b | 25 | 12.5 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 13736 | >100 | >100 | >100 | >25 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 | >100 | >100 | >100 | >25 |
| <i>Proteus vulgaris</i> OXK | >100 | >100 | 50 | >25 |
| <i>Proteus rettgeri</i> | >100 | >100 | >100 | >25 |
| <i>Serratia marcescens</i> NHL | >100 | >100 | >100 | >25 |

Inoculum size : 10^6 cells/ml

Incubation : 24 h at 37°C

CTZ : clotrimazole, CCZ : cloconazole, BFZ : bifonazole

Trichophyton rubrum 18 株の累積阻止率は、SS 717 が 0.10 $\mu\text{g/ml}$ で 100 % であるのに対して、CTZ および CCZ は 0 % であり、BFZ では約 40 % であった。感受性分布は SS 717 が 0.05~0.10 $\mu\text{g/ml}$ と狭い幅であるのに、BFZ では 0.012~0.78 $\mu\text{g/ml}$ と広い分布幅を示した。また、MIC 幾何平均値では SS 717 が 0.07 $\mu\text{g/ml}$ と CTZ の 4 倍低かった。

Microsporum canis 8 株の累積阻止率は、SS 717 が 0.05 $\mu\text{g/ml}$ で 100 % であるのに対して、CTZ は 12.5 %、また CCZ および BFZ は 0 % であった。MIC 幾何平均値も SS 717 は 0.04 $\mu\text{g/ml}$ と CTZ の 2 倍低かった。

Microsporum gypseum 5 株の抗菌活性は、MIC 幾何平均値が SS 717 と CTZ はほぼ同等であり、それぞれ 0.39 $\mu\text{g/ml}$ と 0.30 $\mu\text{g/ml}$ で、CCZ は 0.68 $\mu\text{g/ml}$ であり、BFZ は 25 $\mu\text{g/ml}$ であった。

Epidermophyton floccosum 5 株の抗菌活性は、MIC 幾何平均値で BFZ が最も低く 0.006 $\mu\text{g/ml}$ 以下であった。SS 717 は 0.012 $\mu\text{g/ml}$ と次に続き、CCZ と CTZ はほぼ同等で、0.15 $\mu\text{g/ml}$ および 0.17 $\mu\text{g/ml}$ であった。

2 抗細菌活性

Table 6 に、好気性の細菌に対する各薬剤の抗菌活性を示した。*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* および *Micrococcus luteus* など

のグラム陽性菌に対する抗菌活性は、4 薬剤中で CCZ がやや強い活性を示したが、SS 717, CTZ および BFZ はほぼ同程度の活性であり、MIC 値は 0.39~12.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。しかし、*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* および *Serratia marcescens* などのグラム陰性菌には、4 薬剤共にほとんど活性は認められなかった。

Table 7 に、嫌気性の細菌に対する抗菌活性を示した。4 薬剤共に類似しており、グラム陽性菌の MIC 値は 1.56~50 $\mu\text{g/ml}$ で、またグラム陰性菌は 25~50 $\mu\text{g/ml}$ と弱い活性であった。

3 最小殺菌濃度

Table 8 に、4 薬剤の酵母状真菌および皮膚糸状菌に対する MIC 値と MCC 値の関係を示した。酵母状真菌の液体培地希釈法による MIC 値は、*C. albicans* や *Candida tropicalis* に対して CTZ が最も低く 0.39~25 $\mu\text{g/ml}$ であり、SS 717 は 0.78~50 $\mu\text{g/ml}$ であった。しかし、*C. glabrata* には SS 717 が最も低く 0.20~6.25 $\mu\text{g/ml}$ であった。酵母状真菌の MCC 値は、SS 717 および CTZ がほぼ同程度かやや CTZ が低かった。

皮膚糸状菌の液体培地希釈法による MIC 値は、SS 717 が寒天平板希釈法と同様に最も低く、0.05~0.78 $\mu\text{g/ml}$ であり、次いで CTZ の 0.10~0.78 $\mu\text{g/ml}$ であった。MCC 値は菌株間に差異が認められるが、SS 717 と CTZ はほぼ同程度の強い活性であった。MIC 値と

Table 7. Antibacterial activity of SS 717 and other imidazole antimycotics against anaerobic bacteria on GAM agar

| Organism | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | |
|--|--------------------------|------|------|------|
| | SS 717 | CTZ | CCZ | BFZ |
| <i>Clostridium perfringens</i> KZ 210 | 50 | 25 | 50 | 25 |
| <i>Clostridium botulinum</i> KZ 532 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | 12.5 |
| <i>Clostridium botulinum</i> KZ 533 | 6.25 | 12.5 | 12.5 | 25 |
| <i>Clostridium botulinum</i> KZ 536 | 1.56 | 3.12 | 3.12 | 1.56 |
| <i>Clostridium tetani</i> KZ 1750 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 12.5 |
| <i>Peptococcus magnum</i> GAI 0664 | 12.5 | 12.5 | 25 | 12.5 |
| <i>Propionibacterium acnes</i> GAI 5419 | 50 | 25 | 50 | >25 |
| <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> GAI 0659 | 50 | 25 | 25 | 25 |
| <i>Bacteroides vulgatus</i> GAI 0673 | 25 | 25 | 12.5 | 25 |
| <i>Bacteroides gingivalis</i> GAI 7802 | 50 | 50 | 50 | >25 |

Inoculum size : 10^6 cells/ml

Incubation : 24 h at 37°C

CTZ : clotrimazole, CCZ : cloconazole, BFZ : bifonazole

Table 8. Fungistatic and fungicidal activities of SS 717 and other imidazole antimycotics against yeasts and dermatophytes in Sabouraud dextrose (2%) broth

| Organism | SS 717 | | | CTZ | | | CCZ | | | BFZ | | |
|--|----------------------------------|------|----------------------------------|------|----------------------------------|------|----------------------------------|------|----------------------------------|------|----------------------------------|------|
| | MIC ($\mu\text{g ml}^{-1}$) | MCC | MIC ($\mu\text{g ml}^{-1}$) | MCC | MIC ($\mu\text{g ml}^{-1}$) | MCC | MIC ($\mu\text{g ml}^{-1}$) | MCC | MIC ($\mu\text{g ml}^{-1}$) | MCC | MIC ($\mu\text{g ml}^{-1}$) | MCC |
| <i>Candida albicans</i> NHL 4019 | 50 | >100 | 25 | 100 | 25 | >100 | 25 | >100 | 25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> Yu 1200 | 6.25 | 100 | 0.39 | 25 | 12.5 | >100 | 12.5 | >100 | 12.5 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 1060 | 0.78 | 25 | 0.78 | 12.5 | 6.25 | 100 | 6.25 | 100 | 6.25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 0692 | 6.25 | 100 | 6.25 | 25 | 25 | 100 | 12.5 | 100 | 6.25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1067 | 0.78 | 25 | 25 | 25 | 25 | 100 | 25 | 100 | 12.5 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1068 | 1.56 | 25 | 25 | 25 | 25 | 100 | 25 | 100 | 25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1069 | 6.25 | 25 | 12.5 | 50 | 12.5 | 100 | 50 | 100 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1070 | 0.20 | 25 | 12.5 | 50 | 12.5 | 100 | 6.25 | 100 | 6.25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida tropicalis</i> IFO 0589 | 3.12 | >100 | 1.56 | 12.5 | 1.56 | >100 | 50 | >100 | 25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida tropicalis</i> IFO 1400 | 12.5 | >100 | 12.5 | >100 | 12.5 | >100 | 25 | >100 | 25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> QM 248 | 0.20 | 0.39 | 0.10 | 0.20 | 0.10 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 1.56 | 3.12 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> IFO 5812 | 0.39 | 0.78 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM 1189 | 0.39 | 3.12 | 0.39 | 1.56 | 1.56 | 6.25 | 1.56 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 6.25 | 6.25 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> NHL J | 0.10 | 0.39 | 0.39 | 0.78 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 1.56 | 1.56 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 6204 | 0.05 | 0.39 | 0.20 | 0.78 | 0.20 | 0.78 | 0.20 | 0.78 | 0.39 | 0.78 | 0.78 | 0.78 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 9185 | 0.05 | 0.78 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 3.12 | 0.10 | 3.12 | <0.0024 | 0.78 | 0.78 | 0.78 |
| <i>Trichophyton tonsurans</i> IFO 5928 | 0.20 | 0.78 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 1.56 | 1.56 | 1.56 | 3.12 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Microsporum gypsum</i> IFO 8231 | 0.78 | 6.25 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 3.12 | 1.56 | 3.12 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 |
| <i>Microsporum canis</i> TIMM 0760 | 0.78 | 12.5 | 0.78 | 6.25 | 0.78 | 12.5 | 1.56 | 12.5 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 |

Inoculum size: 10^5 cells/ml

Incubation: 3 to 7 days at 27°C

CTZ: clotrimazole, CCZ: clotrimazole, BFZ: bifonazole

Table 9 1. Comparison of antifungal activities of SS 717 and other imidazole antimycotics against various fungi on Sabouraud dextrose (2%) agar and Bact-yeast morphology agar

| Organism | SS 717 | | | | CTZ | | | | CCZ | | | | BFZ | | | |
|--|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|
| | SDA | | YMA | | SDA | | YMA | | SDA | | YMA | | SDA | | YMA | |
| | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ($\mu\text{g/ml}$) |
| <i>Candida albicans</i> NHL 4019 | 25 | 50 | 12.5 | 25 | 12.5 | 25 | 12.5 | 25 | 12.5 | 25 | 12.5 | 25 | 12.5 | 25 | >25 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 1060 | 1.56 | 3.12 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | >25 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 0692 | 3.12 | 25 | 1.56 | 6.25 | 1.56 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | 1.56 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | >25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1067 | 0.78 | 3.12 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | 25 | 25 | 6.25 | 12.5 | 25 | 25 | 25 | 25 | >25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1068 | 1.56 | 6.25 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 25 | 25 | 12.5 | 12.5 | 25 | 25 | 25 | 25 | >25 | >25 |
| <i>Candida tropicalis</i> IFO 0589 | 12.5 | 50 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | 100 | 100 | 6.25 | 12.5 | 100 | 100 | 6.25 | 12.5 | >25 | >25 |
| <i>Candida tropicalis</i> IFO 1400 | 25 | 50 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | 50 | 50 | 6.25 | 12.5 | 50 | 50 | 6.25 | 12.5 | >25 | >25 |
| <i>Candida krusei</i> TIMM 0269 | 0.78 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | >25 | >25 |
| <i>Candida guilliermondii</i> TIMM 0259 | 6.25 | 6.25 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 50 | 100 | 0.78 | 0.78 | 50 | 100 | 0.78 | 0.78 | >25 | >25 |
| <i>Candida parapsilosis</i> IFO 0585 | 25 | 50 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 50 | 100 | 6.25 | 6.25 | 50 | 100 | 6.25 | 6.25 | >25 | >25 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 0357 | 12.5 | 25 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | 12.5 | 12.5 | 25 | 6.25 | 12.5 | 12.5 | 25 | 6.25 | 12.5 | >25 | >25 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 0361 | 1.56 | 3.12 | 0.78 | 3.12 | 0.78 | 3.12 | 0.78 | 3.12 | 0.78 | 3.12 | 0.78 | 3.12 | 0.78 | 3.12 | >25 | >25 |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> IFO 6344 | 0.39 | 1.56 | 1.56 | 6.25 | 1.56 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 1.56 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 1.56 | 6.25 | 3.12 | 6.25 |
| <i>Aspergillus terreus</i> IFO 6346 | 0.39 | 3.12 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 6.25 | 12.5 |
| <i>Penicillium notatum</i> IFO 4640 | 0.39 | 0.78 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 12.5 | 12.5 |
| <i>Penicillium citrinum</i> IFO 7784 | 0.78 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 6.25 | 12.5 | 12.5 |
| <i>Mucor spinosus</i> IFO 4575 | 12.5 | 50 | 12.5 | 25 | 12.5 | 25 | 6.25 | 25 | 12.5 | 25 | 6.25 | 25 | 12.5 | 25 | >25 | >25 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> IFO 5812 | 0.20 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 3.12 | 6.25 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM 1189 | 0.10 | 0.39 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 1.56 | 0.78 | 0.39 | 1.56 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 6204 | 0.10 | 0.20 | 0.39 | 0.78 | 0.39 | 0.78 | 0.39 | 0.78 | 0.39 | 0.78 | 0.78 | 0.39 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 3.12 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 9185 | 0.20 | 0.39 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 1.56 | 1.56 | 0.78 | 0.39 | 1.56 | 3.12 | 6.25 |

Inoculum size: 10^6 cells/ml

Incubation: 3 to 7 days at 27°C

CTZ: clotrimazole, CCZ: cloconazole, BFZ: bifonazole

Table 9-2. Comparison of antifungal activities of SS 717 and other imidazole antimycotics against various fungi on Sabouraud dextrose (2%) agar and Bact-yeast morphology agar

| Organism | SS 717 | | | CTZ | | | CCZ | | | BFZ | | |
|--|--------|------|--------------------------|------|------|--------------------------|------|------|--------------------------|------|------|--------------------------|
| | SDA | YMA | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | SDA | YMA | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | SDA | YMA | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | SDA | YMA | MIC ($\mu\text{g/ml}$) |
| <i>Trichophyton tonsurans</i> IFO 5928 | 0.10 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.39 | 0.78 | 0.78 | 0.39 | 0.20 | 0.20 | 0.39 | 0.20 |
| <i>Microsporium gypseum</i> IFO 8231 | 0.39 | 1.56 | 0.39 | 0.39 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | 1.56 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| <i>Microsporium audouinii</i> IFO 6074 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Microsporium cookei</i> IFO 8303 | 0.78 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | 1.56 | 1.56 | 1.56 | 1.56 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 12.5 |
| <i>Microsporium canis</i> TIMM 0760 | 0.78 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 1.56 | 1.56 | 3.12 | >25 | >25 | 12.5 | 12.5 |

Inoculum size: 10^6 cells/ml

Incubation: 3 to 7 days at 27°C

CTZ: clotrimazole,

CCZ: cloconazole,

BFZ: bifonazole

MCC 値との差は、4 薬剤中で CTZ が最も少なかった。

4. 抗真菌活性におよぼす諸因子の影響

(1) 培地の影響: Table 9 に、SS 717, CTZ, CCZ および BFZ の SDA 培地と YMA 培地を用いての MIC 値を示した。4 薬剤共に YMA 培地にて測定した MIC 値の方が全体的に高い傾向にあり、SS 717 は約 3.4 倍高くなった。最も影響の少なかったのは CCZ の約 1.6 倍であった。また、YMA 培地で測定した酵母状真菌の MIC 値は CTZ が最も低く 0.78~25 $\mu\text{g/ml}$ であり、皮膚糸状菌やその他の糸状菌は、SS 717 が最も低い MIC 値を示し、0.20~6.25 $\mu\text{g/ml}$ (*Mucor spinosus* の 50 $\mu\text{g/ml}$ を除く) であった。

(2) 培地 pH の影響: Table 10 に、SS 717 の *Candida* 属と皮膚糸状菌に対する培地の pH 変動による活性変化を示した。SS 717 は酸性側の pH 4 で最も活性が弱く、短期培養では中性からアルカリ側で活性の上昇が認められた。しかし、培養日数を延長すると菌株により多少の差が認められるが、中性域前後の pH に活性極大が認められた。なお、アルカリ性の最も強い pH 9 では発育の遅れや増殖阻害作用が認められ、また pH 4 では *E. floccosum* の発育増殖が認められなかった。

(3) 接種菌量と培養期間の影響: Table 11 に、SS 717 の *C. albicans*, *C. glabrata*, *T. mentagrophytes* および *T. rubrum* の接種菌量と培養期間による影響を示した。

C. albicans は接種菌液を 10^2 から 10^7 cells/ml に増すと MIC 値が 8~32 倍高くなった。しかし、同じ *Candida* 属である *C. glabrata* では 4~8 倍程度であった。*T. mentagrophytes* に対しても同様に接種菌量を増すと MIC 値が 4~16 倍高くなり、*T. rubrum* も 8~16 倍高くなった。

また、*C. albicans* の培養期間を 2 日から 10 日に延長すると MIC 値は 2~4 倍高くなり、*C. glabrata* も 4~8 倍高くなった。*T. mentagrophytes* も同様に 5 日から 21 日に培養期間を延長すると MIC 値は 1~4 倍高くなり、*T. rubrum* も 2~4 倍以上高くなった。

(4) 血清添加の影響: Table 12 に、4 薬剤の酵母状真菌および糸状菌に対する血清添加の影響を示した。4 薬剤共に大小の MIC 値の上昇が認められ、CCZ が最も影響が少なく約 1.7 倍の上昇であった。次いで、SS 717 の約 2.8 倍であり CTZ は約 5.1 倍であった。しかし、SS 717 は添加前の MIC 値が低く添加の影響も比較的少ないことより、添加時の MIC 値としては 4 薬剤中で最も低かった。

Table 10. Influence of pH values on antifungal activity of SS 717 against yeasts and dermatophytic fungi on Sabouraud dextrose (2%) agar

| Organism | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | | | | | | | | |
|--|--------------------------|-------|-------|------|------|--------|-------|------|------|------|------|------|------|
| | pH 4 | | | | | pH 5 | | | | | | | |
| | pH 4 | pH 5 | pH 6 | pH 7 | pH 8 | pH 8 | pH 9 | pH 4 | pH 5 | pH 6 | pH 7 | pH 8 | pH 9 |
| | Incubation time (days) | | | | | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | 7 | | | | | | |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 44859 | 50 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 0.10 | 50 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 1060 | 1.56 | 0.78 | 0.39 | 0.39 | 0.39 | 0.20 | 0.05 | 3.12 | 3.12 | 1.56 | 1.56 | 1.56 | 0.78 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 0692 | 25 | 6.25 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 0.20 | 0.10 | 25 | 6.25 | 3.12 | 3.12 | 0.20 | 0.10 |
| <i>Candida albicans</i> TIMM 0171 | 50 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 6.25 | 6.25 | 0.20 | 50 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 1.56 |
| <i>Candida albicans</i> Yu-1200 | 25 | 12.5 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 50 | 25 | 25 | 25 | 50 | 50 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1066 | 3.12 | 0.78 | 0.20 | 0.10 | 0.05 | 0.05 | 0.012 | 6.25 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | 1.56 | 0.20 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1067 | 6.25 | 1.56 | 0.39 | 0.39 | 0.39 | 0.20 | 0.025 | 12.5 | 3.12 | 1.56 | 1.56 | 0.78 | 0.39 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1068 | 1.56 | 0.78 | 0.39 | 0.20 | 0.05 | <0.006 | | 6.25 | 3.12 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.10 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1069 | 6.25 | 1.56 | 0.39 | 0.39 | 0.20 | 0.025 | 0.025 | 12.5 | 6.25 | 1.56 | 1.56 | 1.56 | 0.39 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1070 | 1.56 | 0.39 | 0.20 | 0.10 | 0.05 | 0.012 | 0.012 | 6.25 | 1.56 | 0.78 | 0.39 | 0.39 | 0.10 |
| | Incubation time (days) | | | | | | | | | | | | |
| | 7 | | | | | | 14 | | | | | | |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> QM 248 | 1.56 | 0.39 | 0.20 | 0.10 | 0.20 | 0.10 | 0.10 | 1.56 | 0.39 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> IFO 5812 | 0.39 | 0.20 | 0.20 | 0.10 | 0.20 | 0.10 | 0.10 | 0.78 | 0.39 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM 1189 | 1.56 | 0.20 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 3.12 | 0.39 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| <i>Trichophyton tonsurans</i> IFO 5928 | 0.10 | 0.10 | 0.05 | 0.10 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.39 | 0.20 | 0.10 | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> NHL J | 0.39 | 0.10 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.78 | 0.20 | 0.20 | 0.10 | 0.20 | 0.20 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 6204 | 0.78 | 0.20 | 0.10 | 0.20 | 0.39 | 0.20 | 0.20 | 0.78 | 0.20 | 0.20 | 0.39 | 0.39 | 0.39 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 9185 | 0.78 | 0.20 | 0.20 | 0.39 | 0.39 | 0.39 | 0.39 | 0.78 | 0.39 | 0.20 | 0.39 | 0.78 | 0.78 |
| <i>Microsporum gypsum</i> IFO 8231 | 1.56 | 0.39 | 0.20 | 0.39 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 0.39 | 0.20 | 0.39 | 0.78 | 0.78 |
| <i>Microsporum audouinii</i> IFO 6074 | 1.56 | 0.20 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 1.56 | 0.39 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| <i>Microsporum cookei</i> IFO 8303 | 6.25 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 6.25 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 1.56 | 0.78 |
| <i>Microsporum canis</i> TIMM 0760 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | 1.56 | 0.78 |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> IFO 9045 | NG | 0.025 | 0.025 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | NG | 0.05 | 0.05 | 0.10 | 0.10 | 0.10 |

Inoculum size : 10^6 cells/ml

NG : No visible growth on drug free control plates

Table 11. Influence of inoculum sizes on MIC values of SS 717 against *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum* on Sabouraud dextrose (2%) agar at different incubation periods

| Organism | Inoculum size | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | | |
|--|---------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | | Incubation time (days) | | | | |
| | | 2 | 3 | 5 | 7 | 10 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 1060 | 10^2 | 0.05 | 0.10 | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| | 10^3 | 0.10 | 0.10 | 0.20 | 0.20 | 0.39 |
| | 10^4 | 0.10 | 0.10 | 0.20 | 0.39 | 0.39 |
| | 10^5 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.39 | 0.78 |
| | 10^6 | 0.39 | 0.39 | 0.39 | 0.78 | 0.78 |
| | 10^7 | 1.56 | 1.56 | 1.56 | 3.12 | 3.12 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1069 | 10^2 | 0.20 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 1.56 |
| | 10^3 | 0.39 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 1.56 |
| | 10^4 | 0.39 | 0.39 | 1.56 | 1.56 | 1.56 |
| | 10^5 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 1.56 | 3.12 |
| | 10^6 | 0.78 | 0.78 | 1.56 | 3.12 | 3.12 |
| | 10^7 | 1.56 | 1.56 | 3.12 | 6.25 | 6.25 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM 1189 | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 6204 | 10^2 | <0.006 | 0.012 | 0.025 | 0.025 | 0.025 |
| | 10^3 | 0.025 | 0.025 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| | 10^4 | 0.025 | 0.05 | 0.05 | 0.10 | 0.10 |
| | 10^5 | 0.05 | 0.05 | 0.10 | 0.10 | 0.20 |
| | 10^6 | 0.05 | 0.10 | 0.10 | 0.20 | 0.20 |
| | 10^7 | 0.10 | 0.20 | 0.20 | 0.39 | 0.39 |

III. 考 察

新規イミダゾール系合成抗真菌剤である SS 717 の *in vitro* における抗菌活性を CTZ, CCZ および BFZ と比較検討を行った。SS 717 の保存菌株に対する抗菌活性は、*C. albicans* などの酵母状真菌に中程度の活性

を示したが、難治性陰カンジダ症の起原菌^{13,14)}でもある *C. glabrata* には特異的に強い活性を示した。その活性は MIC 幾何平均値で CTZ, CCZ および BFZ の約 10 倍以上であった。

Trichophyton, *Microsporum* などの皮膚糸状菌や

Table 12-1. Influence of horse serum on antifungal activity of SS 717 and other imidazole antimycotics against various fungi on Sabouraud dextrose (2%) agar

| Organism | SS 717 | | | CTZ | | | CCZ | | | BFZ | | |
|--|---------------|----------------|--------------------------|---------------|----------------|--------------------------|---------------|----------------|--------------------------|---------------|----------------|--------------------------|
| | without serum | with 10% serum | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | without serum | with 10% serum | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | without serum | with 10% serum | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | without serum | with 10% serum | MIC ($\mu\text{g/ml}$) |
| <i>Candida albicans</i> NHL 4019 | 25 | 25 | 12.5 | 12.5 | 50 | 12.5 | 12.5 | 25 | 12.5 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 1060 | 1.56 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 12.5 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida albicans</i> IFO 0692 | 3.12 | 1.56 | 1.56 | 1.56 | 1.56 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | 6.25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1067 | 0.78 | 12.5 | 6.25 | 6.25 | 50 | 25 | 25 | 50 | 25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida glabrata</i> TIMM 1068 | 1.56 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 50 | 25 | 25 | 50 | 25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida tropicalis</i> IFO 0589 | 12.5 | 50 | 6.25 | 6.25 | 100 | 100 | 100 | >100 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida tropicalis</i> IFO 1400 | 25 | 25 | 6.25 | 6.25 | 25 | 50 | 50 | 100 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida krusei</i> TIMM 0269 | 0.78 | 3.12 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 25 | 25 | 50 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida guilliermondii</i> TIMM 0259 | 6.25 | 12.5 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 50 | 50 | 100 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Candida parapsilosis</i> IFO 0585 | 25 | 50 | 6.25 | 6.25 | 25 | 50 | 50 | 100 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 0357 | 12.5 | 12.5 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 25 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 0361 | 1.56 | 3.12 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> IFO 6344 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 1.56 | 12.5 | 3.12 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 3.12 | >25 | >25 |
| <i>Aspergillus terreus</i> IFO 6346 | 0.39 | 0.78 | 3.12 | 3.12 | 25 | 3.12 | 3.12 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | >25 | >25 |
| <i>Penicillium notatum</i> IFO 4640 | 0.39 | 1.56 | 3.12 | 3.12 | 25 | 3.12 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 12.5 | >25 | >25 |
| <i>Penicillium citrinum</i> IFO 7784 | 0.78 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 25 | 3.12 | 3.12 | 6.25 | 3.12 | 12.5 | >25 | >25 |
| <i>Mucor spinosus</i> IFO 4575 | 12.5 | 50 | 12.5 | 12.5 | 50 | 6.25 | 6.25 | 12.5 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> IFO 5812 | 0.20 | 0.39 | 0.39 | 0.39 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | 1.56 | 3.12 | 3.12 | 25 | 25 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM 1189 | 0.10 | 0.10 | 0.39 | 0.39 | 0.39 | 1.56 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 1.56 | 6.25 | 6.25 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 6204 | 0.10 | 0.20 | 0.39 | 0.39 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 1.56 | 1.56 | 6.25 | 6.25 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> IFO 9185 | 0.20 | 0.20 | 0.39 | 0.39 | 0.78 | 1.56 | 1.56 | 0.78 | 3.12 | 3.12 | 3.12 | 3.12 |

Inoculum size : 10^6 cells/ml

Incubation : 3 to 7 days at 27°C

CTZ : clotrimazole, CCZ : cloconazole, BFZ : bifonazole

Table 12-2. Influence of horse serum on antifungal activity of SS 717 and other imidazole antimycotics against various fungi on Sabouraud dextrose (2%) agar

| Organism | SS 717 | | CTZ | | CCZ | | BFZ | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | without serum | with 10% serum | without serum | with 10% serum | without serum | with 10% serum | without serum | with 10% serum |
| | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) |
| <i>Trichophyton tonsurans</i> IFO 5928 | 0.10 | 0.20 | 0.20 | 1.56 | 0.78 | 1.56 | 0.20 | 12.5 |
| <i>Microsporum gypseum</i> IFO 8231 | 0.39 | 0.39 | 0.39 | 1.56 | 0.78 | 0.78 | >25 | >25 |
| <i>Microsporum audouinii</i> IFO 6074 | 0.20 | 0.39 | 0.20 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 25 |
| <i>Microsporum cookei</i> IFO 8303 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 3.12 | 1.56 | 3.12 | 12.5 | >25 |
| <i>Microsporum canis</i> TIMM 0760 | 0.78 | 1.56 | 0.78 | 6.25 | 1.56 | 1.56 | >25 | >25 |

Inoculum size: 10^6 cells/ml

Incubation: 3 to 7 days at 27°C

CTZ: clotrimazole, CCZ: cloconazole,

BFZ: bifonazole

Aspergillus, *Penicillium* などの糸状菌および *Fonsecaea*, *Cladosporium* などの黒色真菌に対しては、4 薬剤中で SS 717 が最も強い活性を示し、また白癬菌症の主要病因菌である臨床分離の *T. rubrum* や *T. mentagrophytes* の活性も、SS 717 が 4 薬剤中で最も強かった。一方、細菌に対する活性は、*S. aureus* などのグラム陽性菌に中程度の活性を示し、4 薬剤共に活性に大きな差は認められなかった。

イミダゾール系抗真菌剤の活性には、低濃度における静菌的作用と高濃度における殺菌的作用がある^{18,19}とされている。MIC 値が低く MIC 値と MCC 値の差が小さいものほど、殺菌的活性の強い薬剤であり、MIC 値が低く MIC 値と MCC 値の差が大きいものほど、静菌的活性の強い薬剤と言える。今回測定した結果より、CTZ が MIC 値と MCC 値の差が最も少なく殺菌的であり、SS 717 は最も差が大きく静菌的活性の非常に強い薬剤と言える。しかし、SS 717 は殺菌活性が CTZ と同程度あり、さらに静菌活性は CTZ よりも上回ったことより強い抗真菌作用を有することが認められた。

次に、SS 717 の抗真菌活性におよぼす諸因子の影響について種々の検討を行った結果、econazole¹⁷, miconazole¹⁸, CCZ⁹ および BFZ⁸ などの多くの報告と類似したデータが得られた。すなわち、SS 717 は活性測定培地の pH をアルカリ側にするると活性が増強し、酸性側にするると活性が低下した。また、接種菌量の影響は、*C. albicans* の培養日数の短い 2 日目に最も大きな活性変動が認められ、 10^8 から 10^7 の高濃度の菌量接種による活性低下も試験菌 4 株中で、*C. albicans* が最も大きかった。さらに、培養日数の影響は、*C. albicans* と比較すると SDA 培地では発育速度のやや遅い *C. glabrata* に、*T. mentagrophytes* と比較すると発育速度の遅い *T. rubrum* に大きな活性変動が認められた。この現象は、SS 717 の強い静菌的な活性に由来するものと思われる。そして、血清添加による影響は、CCZ や SS 717 が比較的少なく、酵母状真菌よりも皮膚糸状菌に対する活性の低下は少なかった。その活性を低下させる物質として、山口ら¹⁹や江川ら¹⁹は、不飽和脂肪酸や不飽和脂肪酸残基を含む脂質およびリポ蛋白質などを上げているが、SS 717 の活性低下も同様に血清中の脂質成分によるものと推測される。

以上、SS 717 は広い抗菌スペクトルを有し、強い抗真菌活性を示すことより、婦人科領域の難治性膣カンジダ症の治療薬として、また皮膚科領域におけるカンジダ症や白癬菌症の治療薬として十分な期待が持たれ、現在 *in vivo* 抗真菌活性について検討中である。

謝 辞

稿を終るに臨み、菌株を分与され諸御指導を賜りました帝京大学医学部医真菌研究センター山口英世教授ならびに内田勝久博士に深謝いたします。また、臨床分離株を分与された東京医科歯科大学皮膚科香川郎教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Plempel M, Bartmann K, Büchel K H, Regel E : Bay b 5097, a newly orally applicable antifungal substance with broad spectrum activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 1969 : 271~274, 1970
- 2) Van Cutsem J M, Thienpont D : Miconazole, a broad-spectrum antimycotic agent with antibacterial activity. *Chemotherapy* 17 : 392~404, 1972
- 3) Yamaguchi H, Hiratani T, Plempel M : *In vitro* studies of a new imidazole antimycotic, bifonazole, in comparison with clotrimazole and miconazole. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* 33 : 546~551, 1983
- 4) 依 勝也, 砂川則雄, 竹間盛夫 : 710674-S の抗真菌作用に関する研究, 第 1 報 *In vitro* 抗菌活性. *真菌誌* 25 : 281~289, 1984
- 5) 江川朝生, 山口英世, 内田勝久, 平谷民雄, 山本容正, 岩田和夫 : Miconazole の *in vitro* の抗菌活性. *真菌誌* 18 : 65~72, 1977
- 6) 山崎良治, 内田勝久, 山口英世, 平谷民雄, 山本容正, 岩田和夫 : Econazole の抗真菌活性に関する研究, 第 1 報 試験管内抗真菌活性. *真菌誌* 18 : 216~224, 1977
- 7) 江川朝生, 山口英世, 内田勝久, 平谷民雄, 山本容正, 岩田和夫 : Miconazole の嫌気性並びに好気性細菌に対する抗菌活性. *真菌誌* 19 : 298~299, 1978
- 8) Plempel M, Regel E, Büchel K H : Antimycotic efficacy of bifonazole *in vitro* and *in vivo*. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* 33 : 517~524, 1983
- 9) 日本化学療法学会 : 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定改訂について. *Chemotherapy* 29 : 76~79, 1981
- 10) 日本化学療法学会嫌気性菌 MIC 測定法検討委員会 : 嫌気性菌の最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法. *Chemotherapy* 27 : 559~560, 1979
- 11) 渡辺邦友 : 嫌気性菌の薬剤感受性試験の標準化について, 第 1 報 MIC に影響する因子. *Chemotherapy* 22 : 1459~1465, 1974
- 12) 渡辺邦友 : 嫌気性菌の薬剤感受性試験の標準化について, 第 2 報 再現性について. *Chemotherapy* 22 : 1495~1501, 1974
- 13) 水野重光 : 女性性器トルロブシス症の問題点. *産婦治療* 46 : 1~11, 1983
- 14) 久保田武美 : 外陰・膣真菌症と膣トリコモナス症. *産婦の実際* 33 : 559~567, 1984
- 15) 岩田和夫, 山口英世 : Clotrimazole の作用機序 I. *Candida albicans* に対する一次作用点の検討. *日細菌誌* 28 : 513~521, 1973
- 16) 山崎良治, 船井健三, 植島基雄, 新宮平三 : Econazole nitrate および関連化合物の抗真菌活性. *日細菌誌* 34 : 813~825, 1979
- 17) 山崎良治, 岩田和夫 : Econazole の抗真菌活性に関する研究, 第 2 報 抗真菌活性に及ぼす諸因子の影響. *真菌誌* 19 : 316~331, 1978
- 18) 江川朝生, 山口英世, 岩田和夫 : Miconazole の *in vitro* 抗菌活性, 第 2 報 MIC 値ならびに MCC 値におよぼす諸因子の影響. *真菌誌* 19 : 303~315, 1978
- 19) Yamaguchi H : Antagonistic action of lipid components of membranes from *Candida albicans* and various other lipids on two imidazole antimycotics, clotrimazole and miconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 12 : 16~25, 1977

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SS 717, A NEW IMIDAZOLE ANTIMYCOTIC
I *IN VITRO* ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Takemitsu Asaoka, Ryuichi Kawahara and Akira Iwasa

Central Research Laboratories, SS Pharmaceutical Co., Ltd., Narita, Chiba 286, Japan

We evaluated the *in vitro* antimicrobial activity of SS 717, a new imidazole antimycotic, and compared it with those of clotrimazole (CTZ), cloconazole (CCZ) and bifonazole (BFZ).

SS 717 exhibited potent activity against a wide variety of fungi, especially *Candida glabrata*, *Trichophyton*, *Microsporum*, *Aspergillus* and *Fonsecaea* spp.

It was much more potent against filamentous than against yeast-like fungi. Among the yeast-like fungi tested, *C. glabrata* was more sensitive to SS 717 than to CTZ, CCZ or BFZ. Against clinical isolates of dermatophytes, SS 717 also showed lower geometric mean MIC values than did CTZ, CCZ or BFZ. It exhibited moderate activity against Gram-positive bacteria, but Gram-negative were insensitive to it.

The *in vitro* antifungal activity of SS 717 was not much affected by changes in assay medium, pH of the medium, inoculum size, incubation period or addition of serum.