

## 外科領域における新アミノ配糖体系抗生物質 HAPA-B の抗菌力, 吸収, 排泄および臨床応用

中山 一誠・秋枝 洋三・川村 弘志・川口 広・山地恵美子

日本大学医学部第三外科学教室

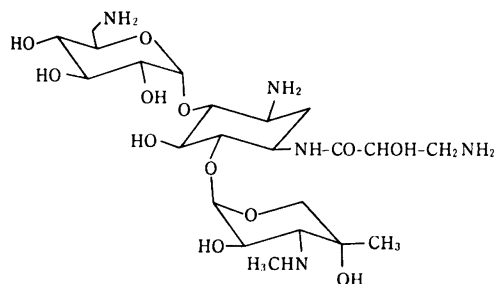
HAPA-B について基礎的, 臨床的検討を行った。本剤の抗菌スペクトルは, グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して幅広い AMK と類似したスペクトルを示した。病原由来菌に対する感受性分布は, *E. coli* に対しては, アミノ配糖体系抗生物質の中で最も優れた感受性分布を示したが, *S. aureus* では AMK と同等, *S. epidermidis* では AMK, ASTM より 1 段階優れ, *K. pneumoniae* では, SISO, GM 以外の薬剤より優れた感受性成績を示した。*E. cloacae* では, GM, TOB, AMK と同等であり, *S. marcescens* でも, GM と同等で, その他の薬剤より優れ, *P. mirabilis* では AMK, ASTM と同等の成績であった。インドール陽性 *Proteus* では ASTM と同等, *P. aeruginosa* では DKB, GM, MCR と同等の成績であった。

吸収, 排泄に関しては, 本剤 200 mg を筋注時, Bioassay, HPLC, EIA により測定した。その結果 HPLC による成績では, 投与後 1 時間でピークを示し, 平均  $9.07 \mu\text{g/ml}$  の濃度を示し 8 時間でも  $0.87 \mu\text{g/ml}$  であった。尿中濃度は投与後 1 時間でピークとなり, 平均  $1141.3 \mu\text{g/ml}$  の濃度を示し, 8 時間までの平均尿中回収率は 91.18% であった。血清中濃度のデーターを用い薬動学的検討を行った。Ka ( $\text{hr}^{-1}$ ): 3.35, Kel ( $\text{hr}^{-1}$ ): 0.37,  $T_{1/2}$  (hr): 1.89, Vd (l): 16.7,  $T_{\text{max}}$  (hr): 0.74,  $C_{\text{max}}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ): 9.12, および AUC ( $\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$ ): 32.7 であった。

臨床成績は外科感染症 8 例に使用し有効 7 例, 無効 1 例の成績であり, 有効率 87.5% であった。副作用に関しては特に問題となる副作用は認められなかった。

HAPA-B は米国シェリング社研究陣により半合成され, さらに東洋醸造㈱とエッセクス日本㈱により共同開発された新アミノ配糖体系抗生物質である。本剤の化学構造上の特徴は Gentamicin B の 1 位の  $\text{NH}_2$  基に hydroxyaminopropionyl 基を導入したことで, このことにより抗菌力の拡大が計られた物質である<sup>1)</sup> (Fig. 1)。

Fig. 1 Chemical structure of HAPA-B



### Chemical name

1-N-[(2S)-3-Amino-2-hydroxypropionyl]-4-O-(6-amino-6-deoxy- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-6-O-[3-deoxy-4-C-methyl-3-(methylamino)- $\beta$ -L-arabinopyranosyl]-2-deoxystreptamine

### Molecular formula

$\text{C}_{22}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_{12}$  (M. W. 569.61)

抗菌力については, 各種グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して広範囲の抗菌スペクトルを有し, 特に GM 耐性 *E. coli*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, および AMK 耐性 *S. marcescens* に対して優れた抗菌力を有している。不活化機構に関しては AAC (6')-4 により不活化されるが, AAC (6')-1, 3, APH (3'), AAD (2'') などでは不活化は受けない。また最近新たに発見された AMK 6' 位の  $\text{NH}_2$  基を修飾するアセチル転移酵素に対しても安定である。

本剤の吸収排泄に関しては, 他のアミノ配糖体系抗生物質と同様に, 代謝を受けることなくその大半は尿中より排泄される。

腎毒性, 聴器毒性に関しても, GM および AMK よりさらに弱い。また神経・筋伝達抑制作用もアミノ配糖体系薬剤の中では最も弱い部類の薬剤に属する。

本剤は白色〜微黄白色の粉末で, においはなく, 吸湿性で, 水にきわめて溶けやすく, メタノール, エタノール, アセトン, クロロホルム, エーテルにはほとんど溶けない<sup>2)</sup>。

本剤について, 昭和 58 年 5 月より昭和 59 年 8 月にかけて臨床応用に必要な基礎的検討とともに臨床検討を行った。

## I. 実験方法

### 1. 抗菌スペクトル

教室保存の標準菌株に対する HAPA-B の抗菌力を検討した。方法は Mueller-Hinton broth (Difco) 2.0 ml に 1 白金耳の菌を接種し、37°C、24 時間培養した菌液 ( $10^8$  cells/ml) を用い、培地は感受性ディスク用培地 (ニッスイ) pH 7.4 $\pm$ 0.1 を使用し、マイクロプランターにより菌接種を行い、37°C、18~20 時間培養後に最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた<sup>9)</sup>。

## 2. 病巣分離菌の感受性

抗菌スペクトルと同様の方法を用い、外科病巣よりの分離菌、*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *P. mirabilis*, インドール陽性 *Proteus*, および *P. aeruginosa* について MIC を求めた。Inoculum size は全ての菌種について  $10^6$  cells/ml にて検討を行った。

## 3. HAPA-B の吸収・排泄

### 1) Bioassay による測定

*Bacillus subtilis* ATCC 6633 株を検定菌とする Agar well 法にて行った。基層培地には寒天 15 g, 食塩 4 g を水に溶解し 1000 ml とし、その 10 ml を基層とした。種層培地は NA 培地 (栄研) を用い、pH 8.0 に調整しその 6 ml を種層とした。標準曲線は血清および尿を 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 8.0) にて希釈し作成した。

### 2) HPLC による測定

#### (1) 検体の処理

CM-Sephadex (C-25, 1 ml)

←血清または尿 400  $\mu$ l

←内部標準 (DKB 5  $\mu$ g/ml) 400  $\mu$ l

←0.2 M 硫酸ナトリウム 2 ml $\times$ 2

←0.01 M 水酸化ナトリウム+0.2 M 硫酸ナトリウム 600  $\mu$ l

溶離←0.01 M 水酸化ナトリウム+0.2 M 硫酸ナトリウム 500  $\mu$ l

検体 (5  $\mu$ l 注入)

#### (2) 分析条件

A. カラム: リクロソルブ RP-18 5  $\mu$ m 150 mm $\times$ 4 mm I. D.

B. カラム温度: 35°C

C. 流速: 0.7 ml/min

D. 検出: 励起波長 340 nm

蛍光波長 445 nm

E. 移動相: 3% メタノール水溶液 1000 ml 中

{ 0.025 M 1-ペンタンスルホン酸ナトリウム

0.2 M 硫酸ナトリウム

0.0174 M 酢酸

F. 蛍光試薬: ホウ酸ナトリウム緩衝液 (pH 11.0)

245.5 ml

25% ブリッジ 35

1 ml

メルカプトエタノール

0.5 ml

o-フタルアルデヒド 200 mg のエタノール液

3 ml

### 3) EIA による測定

#### (1) 検体の処理

血清または尿

← HAPA-B- $\beta$ -ガラクトシダーゼ溶液

←家兎抗 HAPA-B 血清

インキュベーション (37°C 30min)

←家兎 IgG

←山羊抗家兎 IgG 血清

インキュベーション (37°C 20min)

←洗浄液

遠心分離

↓ 沈渣

← 2-ニトロフェール- $\beta$ -D-ガラクトピラノシド

混合

インキュベーション (37°C 15min)

← 0.1 M グリシン-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH 10.5)

420 nm で測定

### 4. 臨床検討

外科感染症 8 例に本剤を使用し臨床検討を行った。疾患別内訳は術後創感染 4 例、骨盤内腹膜炎 2 例、巨大膿瘍兼蜂巣炎 1 例および骨髓炎 1 例の計 8 症例である。年齢は 17 歳から 73 歳までで平均 53 歳である。性別は男性 6 例、女性 2 例である。

HAPA-B 使用症例の効果判定は教室の判定基準に従った。すなわち、HAPA-B 使用後 48 時間以内に下熱傾向、白血球数の正常化を認めた症例を著効、48 時間より 7 日間の下熱傾向、白血球数の正常化、CRP 反応の正常化、および自覚的、他覚的症狀の軽快を示した症例を有効、それ以外の症例を無効とした。

## II. 成績

### 1. 抗菌スペクトル

本剤はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に対し、広範囲なスペクトルを示した (Table 1)。

### 2. 病巣分離菌の感受性分布

#### 1) *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* 27 株に対し、Gentamicin (GM), Dibekacin (DKB), Tobramycin (TOB), Amikacin (AMK), Sisomicin (SISO), Netilmicin (NTL), Micronomicin (MCR), および Astromicin (ASTM) とともに、その感受性分布を比較検討した。

Table 1 Antimicrobial spectrum

Bacteria	MIC( $\mu\text{g/ml}$ )		
	HAPA-B	DKB	AMK
1. <i>S. aureus</i> JC-1	0.4	0.1	0.8
2. <i>S. aureus</i> 209-P	0.2	0.1	0.4
3. <i>S. aureus</i> TERAJIMA	0.8	0.8	3.13
4. <i>S. aureus</i> SMITH	0.2	0.1	0.4
5. <i>S. aureus</i> NEUMANN	0.8	0.4	0.8
6. <i>S. aureus</i> ATCC 6538	0.8	0.4	1.56
7. <i>Streptococcus</i> COOK	25	>100	25
8. <i>S. faecalis</i> ATCC 8043	25	>100	25
9. <i>M. lysodeikticus</i>	—	—	—
10. <i>M. luteus</i> ATCC 9341	1.56	50	3.13
11. <i>K. pneumoniae</i> PCI 602	0.8	0.8	1.56
12. <i>Bacillus pumilus</i> IFO 3813	0.4	0.2	0.4
13. <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.4	0.8	1.56
14. <i>B. cereus</i> var mycoides ATCC 9654	0.8	1.56	0.8
15. <i>B. cereus</i> var mycoides ATCC 11778	1.56	1.56	0.8
16. <i>Corynebacterium</i> NOZI	0.1	$\leq 0.05$	0.4
17. <i>E. coli</i> K-12	0.4	0.8	1.56
18. <i>E. coli</i> B	0.4	0.8	0.8
19. <i>E. coli</i> BMW	0.8	0.8	1.56
20. <i>E. coli</i> C-14	0.4	0.8	1.56
21. <i>E. coli</i> NIHJ	0.8	0.8	1.56
22. <i>E. coli</i> JC-2	0.4	1.56	1.56
23. <i>S. sonnei</i> I	0.8	0.8	1.56
24. <i>E. aerogenes</i> IAM 1102	0.8	0.8	1.56
25. <i>P. morgani</i> No. 1001	3.13	0.4	1.56
26. <i>P. mirabilis</i> ATCC 21100	3.13	1.56	6.25
27. <i>P. aeruginosa</i> NCTC 10490	0.8	1.56	3.13

本剤の抗菌力は0.2～6.25  $\mu\text{g/ml}$  に分布し、0.4～0.8  $\mu\text{g/ml}$  にピークを示し、27 株中 16 株 (59.3%) が分布した。他剤との比較検討では、AMK と同等、その他より劣る成績を示した (Table 2, Fig. 2)。

#### 2) *Staphylococcus epidermidis*

*S. epidermidis* 27 株に対して本剤の抗菌力は $\leq 0.05 \sim 50$   $\mu\text{g/ml}$  に分布し、0.2  $\mu\text{g/ml}$  にピークを示し、27 株中 17 株 (63.0%) が分布した。他剤との比較検討では、AMK, ASTM より 1 管程度優れ、その他より 1～2 管程度劣る成績を示した (Table 3, Fig. 3)。

#### 3) *Escherichia coli*

*E. coli* 27 株に対して本剤の抗菌力は、0.4～1.56  $\mu\text{g/ml}$  に分布し、0.8  $\mu\text{g/ml}$  にピークを示し、27 株中 20 株

(74.1%) が分布した。他剤との比較検討では、最も優れた成績を示した (Table 4, Fig. 4)。

#### 4) *Klebsiella pneumoniae*

*K. pneumoniae* 27 株に対して本剤の抗菌力は0.2～0.8  $\mu\text{g/ml}$  に分布し、0.4  $\mu\text{g/ml}$  にピークを示し、27 株中 15 株 (55.6%) が分布した。他剤との比較検討では、SISO, GM より 1 ないし 2 管程度劣り、その他より 1～3 管程度優れた成績を示した (Table 5, Fig. 5)。

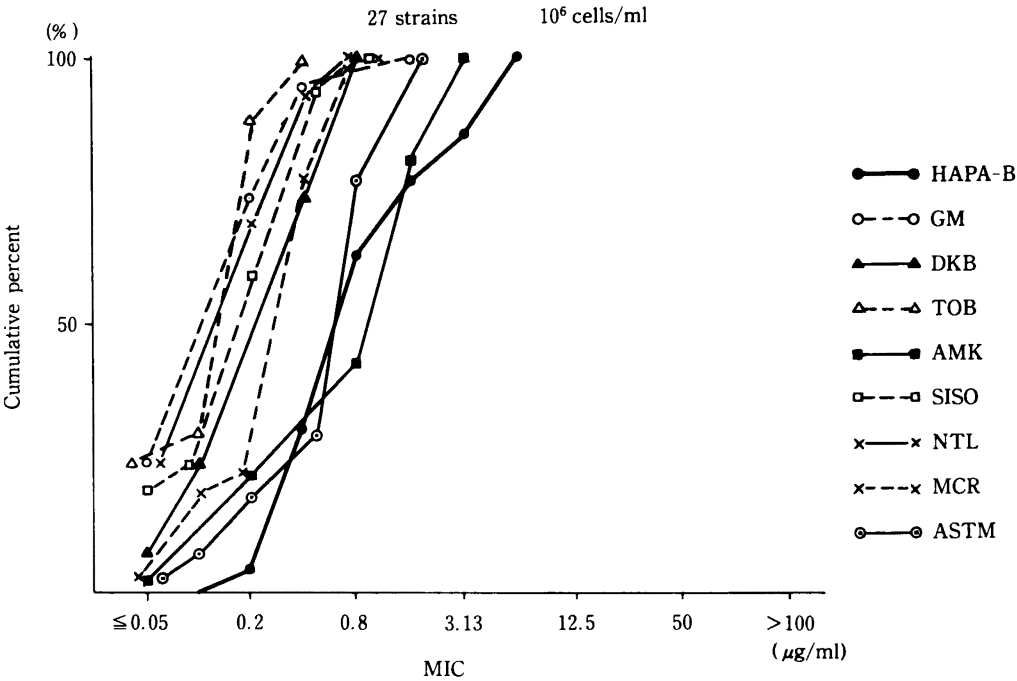
#### 5) *Enterobacter cloacae*

*E. cloacae* 27 株に対して本剤の抗菌力は0.8～100  $\mu\text{g/ml}$  に分布し、0.8～1.56  $\mu\text{g/ml}$  にピークを示し、27 株中 17 株 (63.0%) が分布した。25  $\mu\text{g/ml}$  以上の耐性を示す株を 9 株認めた。他剤との比較検討では、GM, SISO, NTL,

Table 2 Susceptibility of *S. aureus* to HAPA-B  
27 strains 10<sup>6</sup> cells/ml

	≤0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
HAPA-B			1	7	9	4	2	4					
G M	7		13	6		1							
D K B	2	5		13	7								
T O B	7	1	16	3									
A M K	1		5		6	10	5						
S I S O	5	2	9	10	1								
N T L	7		12	7	1								
M C R	1	4	1	15	6								
A S T M	1	1	3	3	13	6							

Fig. 2 Susceptibility of *S. aureus* to HAPA-B



MCR より 1 管劣り, TOB, AMK と同等な成績を示し, その他より優れた成績を示した (Table 6, Fig. 6)。

6) *Serratia marcescens*

*S. marcescens* 27 株に対して本剤の抗菌力は, 0.8~12.5 µg/ml に分布し, 0.8~1.56 µg/ml にピークを示し, 27 株

中 19 株 (70.4%) が分布した。他剤との比較検討では, GM と同等であり, その他より優れた成績を示した (Table 7, Fig. 7)。

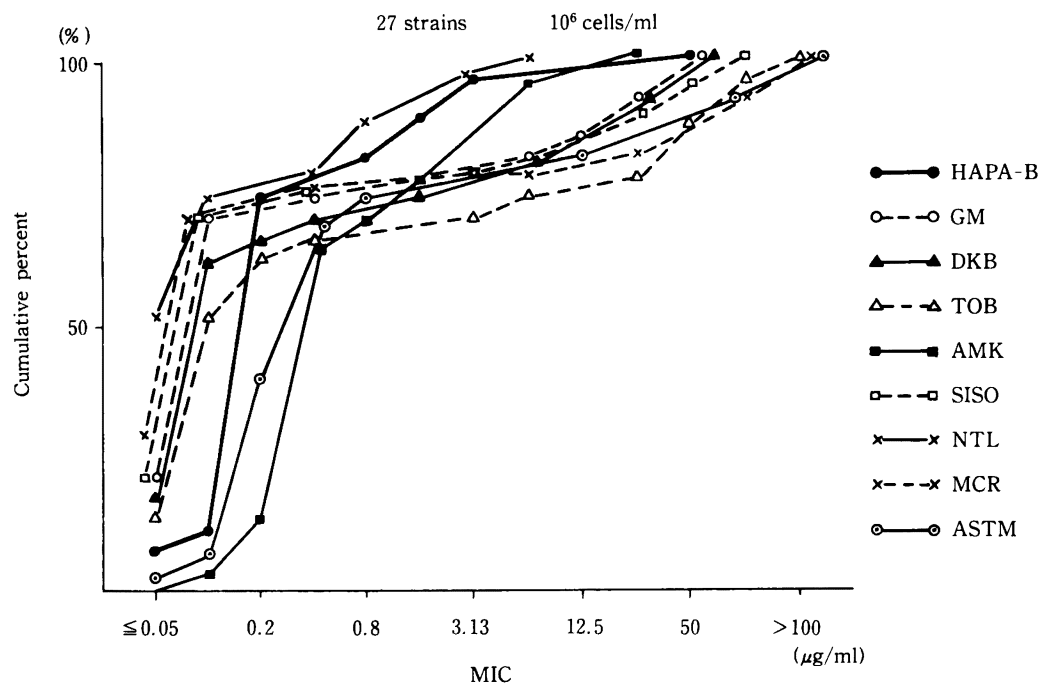
7) *Proteus mirabilis*

*P. mirabilis* 27 株に対して本剤の抗菌力は, 0.8~6.25

Table 3 Susceptibility of *S. epidermidis* to HAPA-B  
27 strains                      10<sup>6</sup> cells/ml

	≤0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
HAPA-B	2	1	17		2	2	2				1		
G M	6	13		1				2	1	2	2		
D K B	5	12	1	1		1		2		4	1		
T O B	4	10	3	1			1	1		1	3	2	1
A M K		1	3	14	1	2		5		1			
S I S O	6	13		1			1	1		3	1	1	
N T L	14	6		1	3		2	1					
M C R	8	11		1				1		1		3	2
A S T M	1	1	9	8	1				2			3	2

Fig. 3 Susceptibility of *S. epidermidis* to HAPA-B



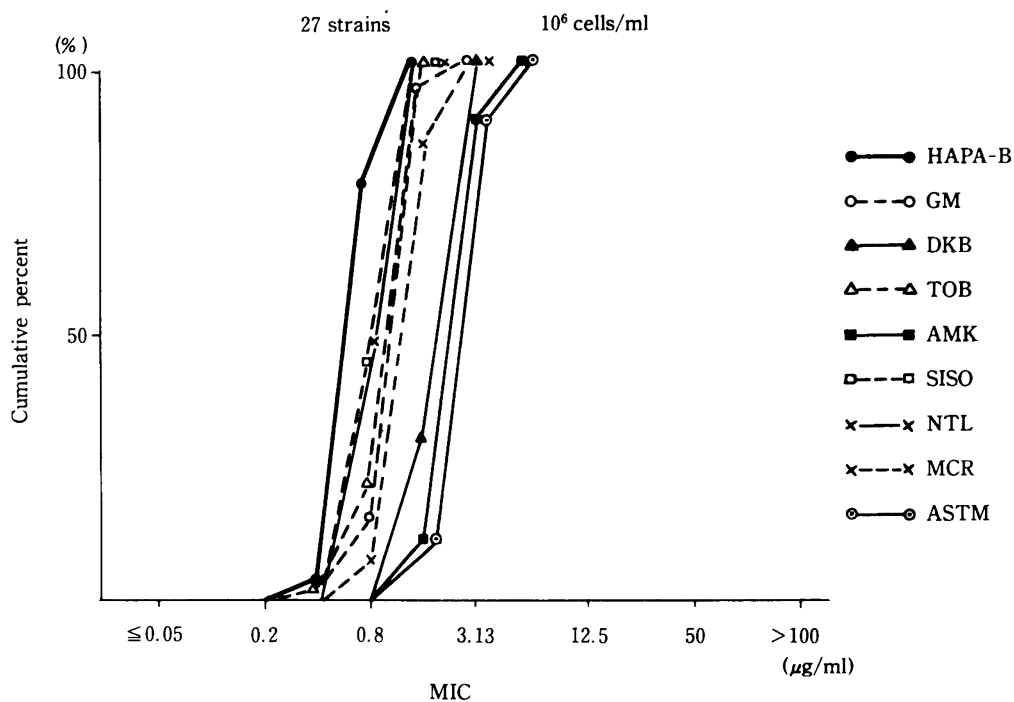
µg/ml に分布し、1.56~3.13 µg/ml にピークを示し 27 株中 18 株 (66.7%) が分布した。他剤との比較検討では、AMK, ASTM と同等、その他より 1 管程度劣る成績を示した (Table 8, Fig. 8)。

8) インドール陽性 *Proteus*

インドール陽性 *Proteus* 属 27 株に対して本剤の抗菌力は 0.4~6.25 µg/ml に分布し、1.56 µg/ml にピークを示し、27 株中 16 株 (59.3%) が分布した。他剤との比較検討では、GM, SISO より 1 管程度劣り、その他と同等の成績であった (Table 9, Fig. 9)。

Table 4 Susceptibility of *E. coli* to HAPA-B27 strains       $10^6$  cells/ml

	$\leq 0.05$	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
HAPA-B				1	20	6							
G M					4	22	1						
D K B						8	19						
T O B				1	5	21							
A M K						3	21	3					
S I S O					12	15							
N T L					13	14							
M C R					2	21	4						
A S T M						3	21	3					

Fig. 4 Susceptibility of *E. coli* to HAPA-B9) *Pseudomonas aeruginosa*

*P. aeruginosa* 27 株に対して本剤の抗菌力は 0.8~6.25 µg/ml に分布し、1.56 µg/ml にピークを示し、27 株中 10 株 (37.0%) が分布した。他剤との比較検討では、TOB, SISO より 1~2 管劣り、DKB, GM, MCR と同等、その他

より優れた成績を示した (Table 10, Fig. 10)。

## 3. HAPA-B の吸収・排泄

## A. 血清中濃度

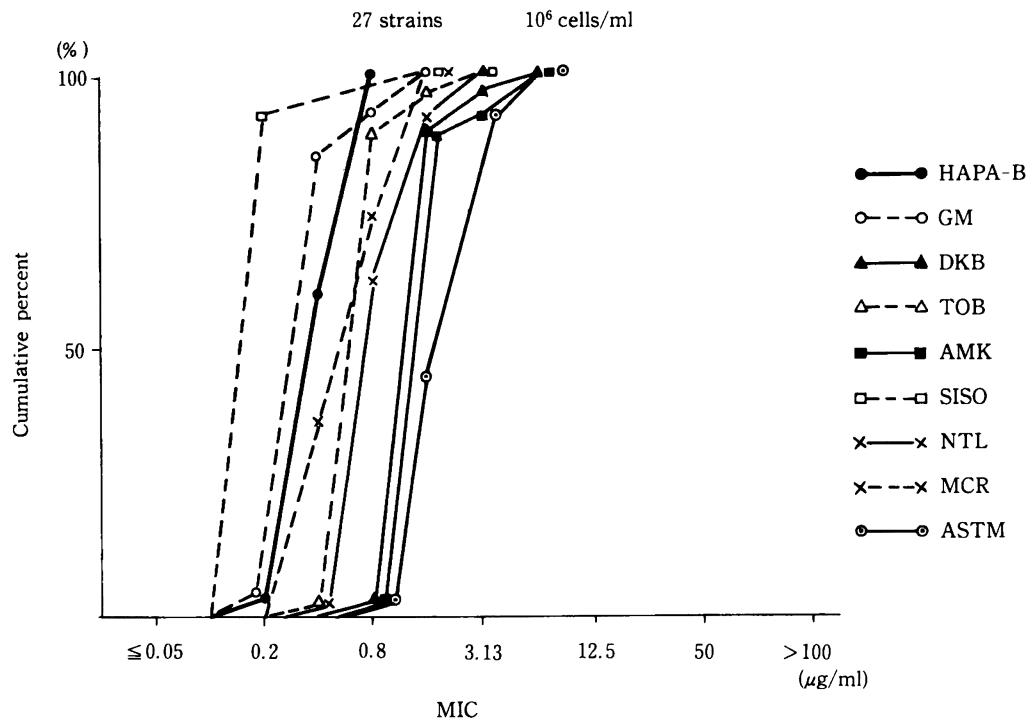
## i) Bioassay

HAPA-B 200 mg 筋注時の血清中濃度は投与後 15 分で

Table 5 Susceptibility of *K. pneumoniae* to HAPA-B  
27 strains 10<sup>6</sup> cells/ml

	≤0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
HAPA-B			1	15	11								
G M			1	22	2	2							
D K B					1	23	2	1					
T O B				1	23	2	1						
A M K					1	23	1	2					
S I S O			25			2							
N T L				1	16	8	2						
M C R				10	10	7							
A S T M					1	11	13	2					

Fig. 5 Susceptibility of *K. pneumoniae* to HAPA-B



平均 6.06  $\mu\text{g/ml}$ , 30 分で最高値を示し, 8.15  $\mu\text{g/ml}$ , 1 時間で 7.76  $\mu\text{g/ml}$ , 2 時間で 6.16  $\mu\text{g/ml}$ , 4 時間で 3.30  $\mu\text{g/ml}$ , 6 時間で 1.57  $\mu\text{g/ml}$ , および 8 時間で 0.90  $\mu\text{g/ml}$  の濃度を示した (Table 11, Fig. 11)。

ii) HPLC

Bioassay にて測定した同一サンプルにおける HPLC による血清中濃度は投与後 15 分で平均 6.45  $\mu\text{g/ml}$ , 30 分で 8.57  $\mu\text{g/ml}$ , 1 時間で最高値となり 9.07  $\mu\text{g/ml}$ , 2 時間で 6.39  $\mu\text{g/ml}$ , 4 時間で 2.93  $\mu\text{g/ml}$ , 6 時間で 1.44  $\mu\text{g/ml}$ , および 8 時間で 0.87  $\mu\text{g/ml}$  の濃度を示した (Table 11,

Table 6 Susceptibility of *E. cloacae* to HAPA-B  
27 strains 10<sup>6</sup> cells/ml

	≤0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
HAPA-B					11	6	1			2	2	5	
G M				6	9	1		7	1		1	2	
D K B					6	9		1	7				4
T O B				1	11	3		2	2	3	1	2	2
A M K					1	11	5	1	2	2	2	2	1
S I S O				5	10		1	4	3		1	3	
N T L			1	6	8			8	1	2			1
M C R				5	10	1	1	5	1		1	1	2
A S T M					1	7	10	1		8			

Fig. 6 Susceptibility of *E. cloacae* to HAPA-B

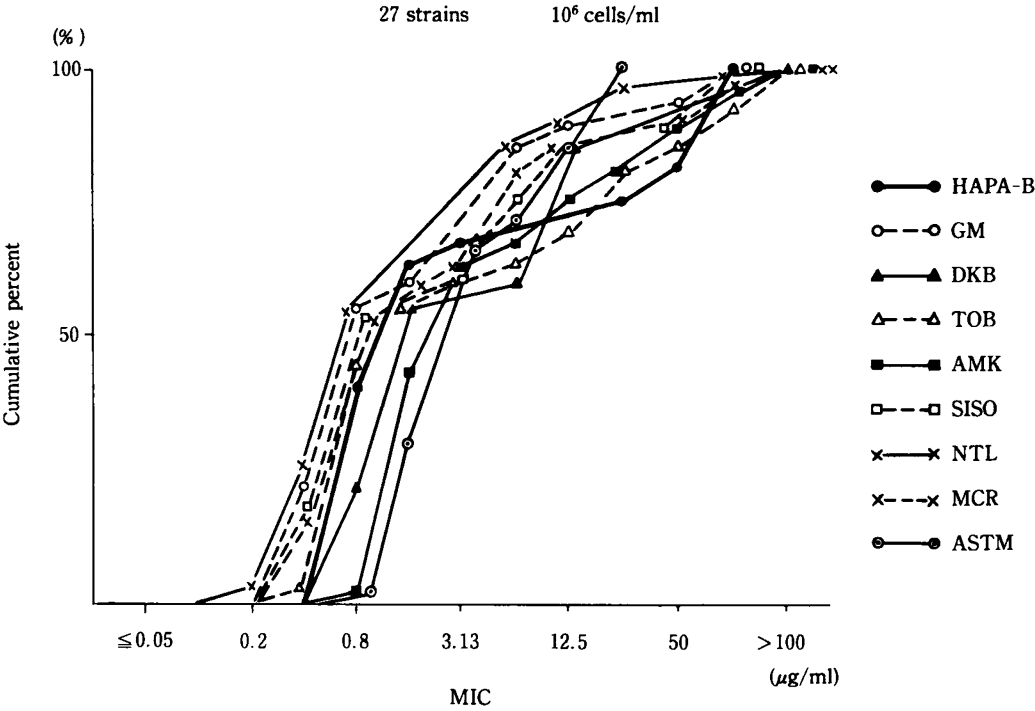


Fig. 12)。

iii) EIA

Bioassay, HPLCにて測定した同一サンプルにおけるEIAによる血清中濃度は、投与後15分で平均7.00 μg/ml, 30分で9.41 μg/ml, 1時間でHPLCと同様に最高値

となり、9.71 μg/ml, 2時間で6.27 μg/ml, 4時間で3.28 μg/ml, 6時間で1.80 μg/ml, および8時間で0.94 μg/mlの濃度を示した (Table 11, Fig. 13)。

B. 尿中濃度

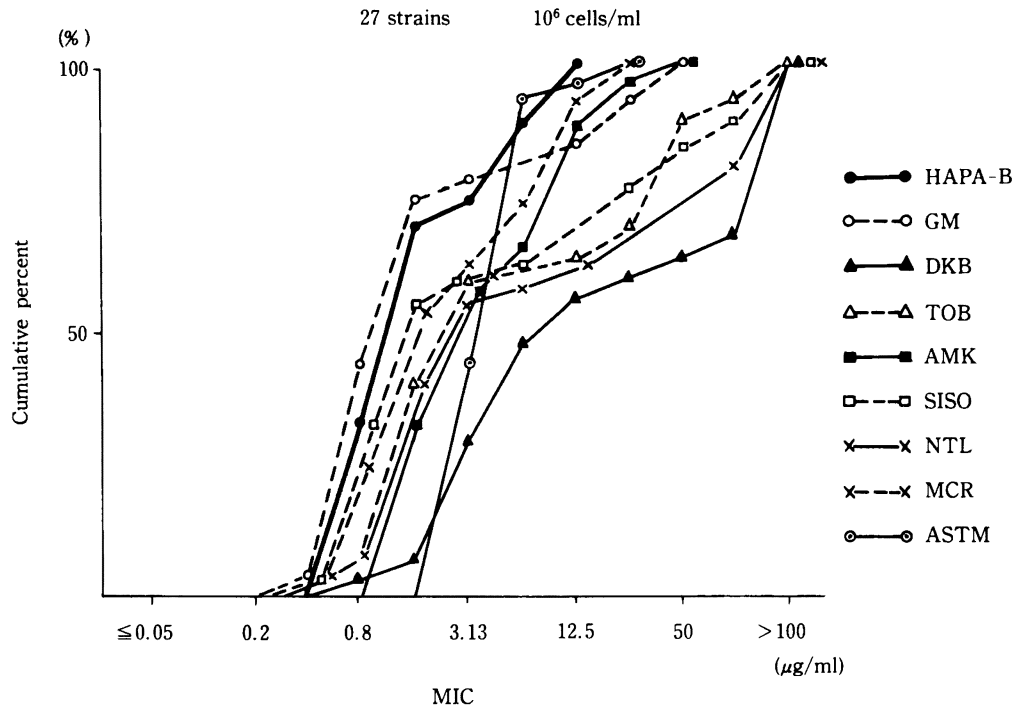
i) Bioassay



Table 7 Susceptibility of *S. marcescens* to HAPA-B  
27 strains 10<sup>6</sup> cells/ml

	≤0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
HAPA-B					9	10	1	4	3				
G M				1	11	8	1		2	2	2		
D K B					1	1	6	5	2	1	1	1	9
T O B					1	10	5		1	2	5	1	2
A M K						9	7	2	6	2	1		
S I S O				1	8	6	1	1		4	2	1	3
N T L				1	1	9	4	1	1			5	5
M C R					7	8	2	3	5	2			
A S T M							12	13	1	1			

Fig. 7 Susceptibility of *S. marcescens* to HAPA-B



HAPA-B 200 mg 筋注時の尿中濃度は、投与後 30 分で平均 168.4  $\mu\text{g/ml}$ 、1 時間で最高濃度を示し 1006.7  $\mu\text{g/ml}$ 、2 時間で 623.7  $\mu\text{g/ml}$ 、4 時間で 370.0  $\mu\text{g/ml}$ 、6 時間で 213.7  $\mu\text{g/ml}$ 、および 8 時間で 93.6  $\mu\text{g/ml}$  の濃度を示した (Table 12, Fig. 14)。

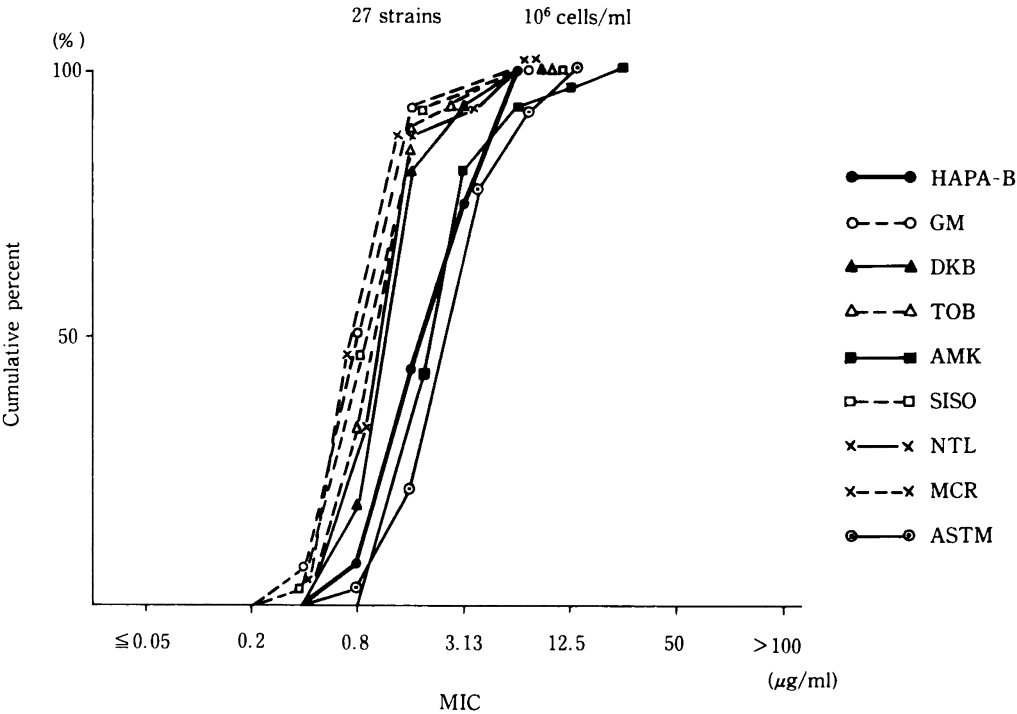
ii) HPLC

Bioassay にて測定した同一サンプルにおける HPLC による尿中濃度は、投与後 30 分で 214.3  $\mu\text{g/ml}$ 、1 時間で Bioassay と同様最高濃度を示し 1141.3  $\mu\text{g/ml}$ 、2 時間で 558.6  $\mu\text{g/ml}$ 、4 時間で 319.5  $\mu\text{g/ml}$ 、6 時間で 214.4  $\mu\text{g/ml}$

Table 8 Susceptibility of *P. mirabilis* to HAPA B  
27 strains 10<sup>6</sup> cells/ml

	≤0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
HAPA-B					2	10	8	7					
G M				2	12	11		2					
D K B					5	17	3	2					
T O B					9	14	2	2					
A M K						12	10	3	1	1			
S I S O				1	12	12		2					
N T L					9	15	1	2					
M C R					13	11	1	2					
A S T M					1	5	15	4	2				

Fig. 8 Susceptibility of *P. mirabilis* to HAPA-B



ml, および 8 時間で 107.3  $\mu\text{g/ml}$  の濃度を示した (Table 13, Fig. 15)。

iii) EIA

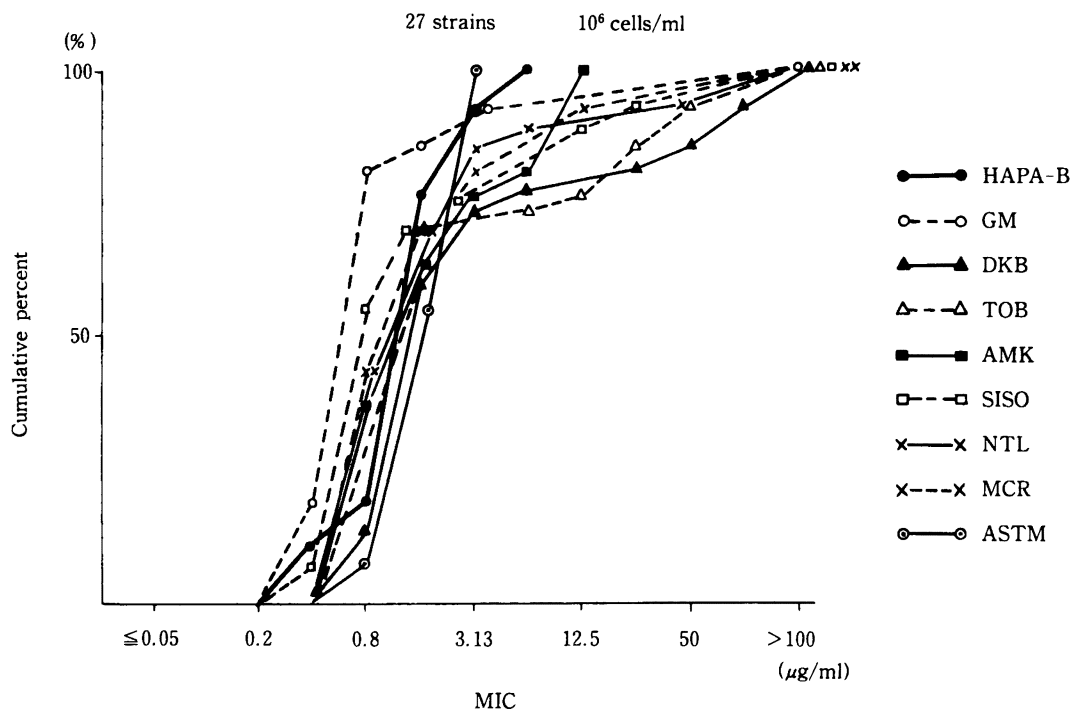
Bioassay, HPLC にて測定した同一サンプルにおける EIA による尿中濃度は、投与後 30 分で平均 157.8  $\mu\text{g/ml}$ ,

1 時間で Bioassay, HPLC と同様に最高濃度に達し 838.0  $\mu\text{g/ml}$ , 2 時間で 703.3  $\mu\text{g/ml}$ , 4 時間で 369.6  $\mu\text{g/ml}$ , 6 時間で 228.3  $\mu\text{g/ml}$ , および 8 時間で 107.0  $\mu\text{g/ml}$  の濃度を示した (Table 14, Fig. 16)。

C. 尿中回収率

Table 9 Susceptibility of Indole(+) *Proteus* to HAPA-B27 strains 10<sup>6</sup> cells/ml

	≤0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
HAPA-B				3	2	16	4	2					
G M				5	17	1	2						2
D K B					4	12	4	1		1	1	2	2
T O B					12	7		1	1	2	2		2
A M K					10	7	3	2	5				
S I S O				2	13	4	1		4	1			2
N T L					12	7	4	1			1		2
M C R					8	9	5		3				2
A S T M					2	13	12						

Fig. 9 Susceptibility of Indole(+) *Proteus* to HAPA-B

HAPA-B 200 mg 筋注時における8時間までの尿中回収率は、Bioassayで91.78%、HPLCで91.18%およびEIAで95.50%であり、何れの測定においても高い尿中回収率を示した(Table 12, 13, 14)。

#### D. HAPA-B の pharmacokinetics

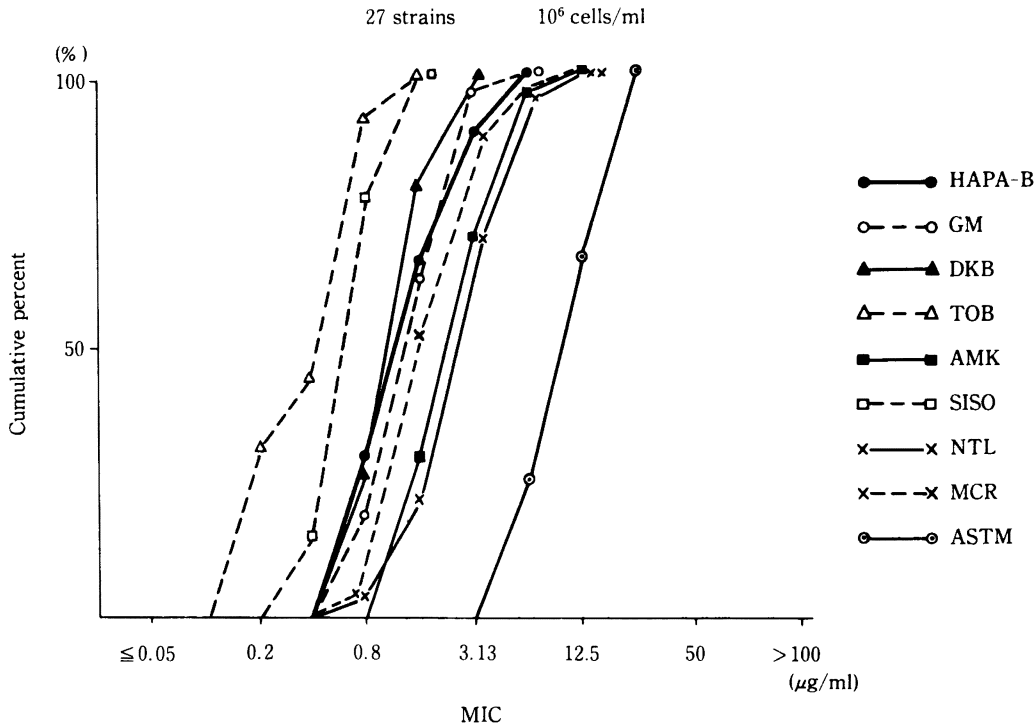
HAPA-B 200 mg 筋注時の pharmacokinetic parameter を Bioassay, HPLC および EIA の血清中濃度のデータを用い、one compartment open model method により検討した。

##### i) Bioassay の pharmacokinetics

Table 10 Susceptibility of *P. aeruginosa* to HAPA-B

	27 strains 10 <sup>6</sup> cells/ml												
	≤0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100
HAPA-B					8	10	6	3					
G M					5	12	9	1					
D K B					7	15	5						
T O B			9	3	13	2							
A M K						8	11	7	1				
S I S O				4	17	6							
N T L					1	5	13	7	1				
M C R					1	13	10	2	1				
A S T M								7	11	9			

Fig. 10 Susceptibility of *P. aeruginosa* to HAPA-B



Bioassay による血清中濃度の成績を用いた, pharmacokinetic parameter は,  $K_a$  ( $\text{hr}^{-1}$ ): 3.78,  $K_{el}$  ( $\text{hr}^{-1}$ ): 0.32,  $T_{1/2}$  (hr): 2.17,  $V_d$  (l): 19.2,  $T_{max}$  (hr): 0.71,  $C_{max}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ): 8.31 および  $AUC$  ( $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ ): 32.7 であった (Table 15)。

ii) HPLC の pharmacokinetics  
HPLC による血清中濃度の成績を用いた pharmacokinetic parameter は,  $K_a$  ( $\text{hr}^{-1}$ ): 3.35,  $K_{el}$  ( $\text{hr}^{-1}$ ): 0.37,  $T_{1/2}$  (hr): 1.89,  $V_d$  (l): 16.7,  $T_{max}$  (hr): 0.74,  $C_{max}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ): 9.12, および  $AUC$  ( $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ ):

Table 11 Serum levels of HAPA-B

		200 mg i.m.							
	Method	0.25	0.5	1	2	4	6	8	hr
H. K. (2.22 mg/kg)	Bioassay	3.88	5.63	6.25	6.03	3.04	1.67	1.09	$\mu\text{g/ml}$
	HPLC	3.91	6.15	8.65	5.60	2.95	1.73	1.01	$\mu\text{g/ml}$
	EIA	4.19	6.62	8.35	5.25	3.81	2.35	1.00	$\mu\text{g/ml}$
A. K. (3.51 mg/kg)	Bioassay	8.67	10.47	8.35	5.25	3.09	1.45	0.92	$\mu\text{g/ml}$
	HPLC	8.76	10.34	9.04	6.77	2.64	1.65	0.90	$\mu\text{g/ml}$
	EIA	9.92	11.63	9.83	6.28	3.07	1.88	1.05	$\mu\text{g/ml}$
K. M. (3.77 mg/kg)	Bioassay	5.63	8.35	8.67	7.21	3.40	1.58	0.70	$\mu\text{g/ml}$
	HPLC	6.68	9.23	9.52	6.81	3.20	0.94	0.64	$\mu\text{g/ml}$
	EIA	6.89	9.99	10.67	6.95	2.97	1.17	0.77	$\mu\text{g/ml}$
Mean (3.17 mg/kg)	Bioassay	6.06	8.15	7.76	6.16	3.30	1.57	0.90	$\mu\text{g/ml}$
	HPLC	6.45	8.57	9.07	6.39	2.93	1.44	0.87	$\mu\text{g/ml}$
	EIA	7.00	9.41	9.71	6.27	3.28	1.80	0.94	$\mu\text{g/ml}$

Fig. 11 Serum levels of HAPA-B

200 mg i.m.

Bioassay

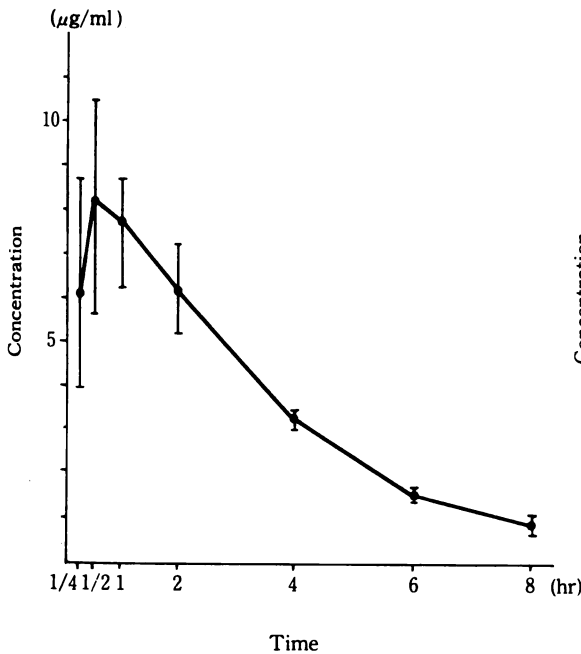
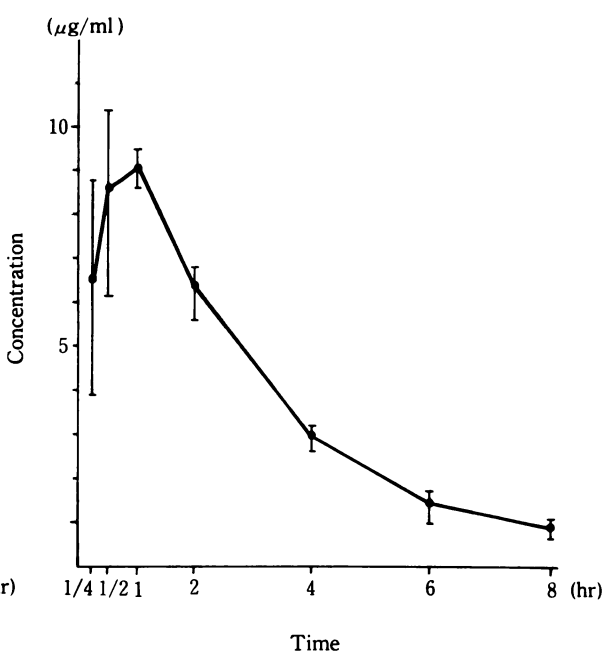


Fig. 12 Serum levels of HAPA-B

200 mg i.m.

HPLC



32.7であった (Table 16)。

iii) EIA による pharmacokinetics

EIA による血清中濃度の成績を用いた, pharmacokinetic parameter は,  $K_a$  ( $\text{hr}^{-1}$ ): 3.87,  $K_{el}$  ( $\text{hr}^{-1}$ ): 0.34,  $T_{1/2}$  (hr): 2.04,  $V_d$  (l): 16.5,  $T_{\max}$  (hr):

0.69,  $C_{\max}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ): 9.58, および  $AUC$  ( $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ ): 35.6 であった (Table 17)。

上述の pharmacokinetic parameter を用いて個々のデータ, および平均値についての simulation curve を作成した (Fig. 17, 18, 19)。

Table 12 Urinary excretions of HAPA-B

200 mg i.m.  
Bioassay

	0~0.5	0.5~1	1~2	2~4	4~6	6~8	hr	Recovery
H. K. (2.22 mg/kg)	198.2	728.2	652.6	324.4	204.6	76.9	$\mu\text{g/ml}$	190.14 mg
	55	30	80	185	155	175	ml	95.07 %
	10.9	21.85	52.21	60.01	31.71	13.46	mg	
A. K. (3.51 mg/kg)	74.0	783.9	490.3	359.1	218.3	140.1	$\mu\text{g/ml}$	172.61 mg
	250	30	95	140	100	85	ml	86.31 %
	18.5	23.52	46.58	50.27	21.83	11.91	mg	
K. M. (3.77 mg/kg)	232.9	1,507.9	728.2	426.4	218.3	63.7	$\mu\text{g/ml}$	187.91 mg
	70	25	65	135	95	130	ml	93.96 %
	16.30	37.70	47.33	57.56	20.74	8.28	mg	
Mean (3.17 mg/kg)	168.4	1,006.7	623.7	370.0	213.7	93.6	$\mu\text{g/ml}$	183.55 mg
	15.23	27.69	48.71	55.95	24.76	11.22	mg	91.78 %

Fig. 13 Serum levels of HAPA-B

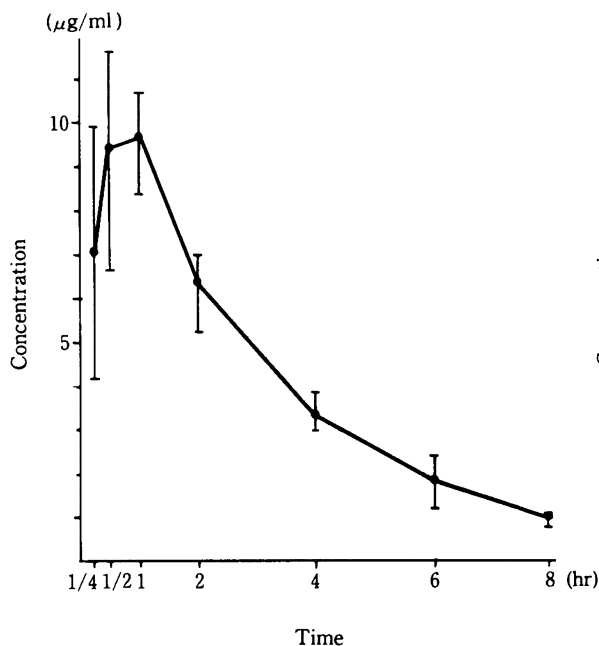
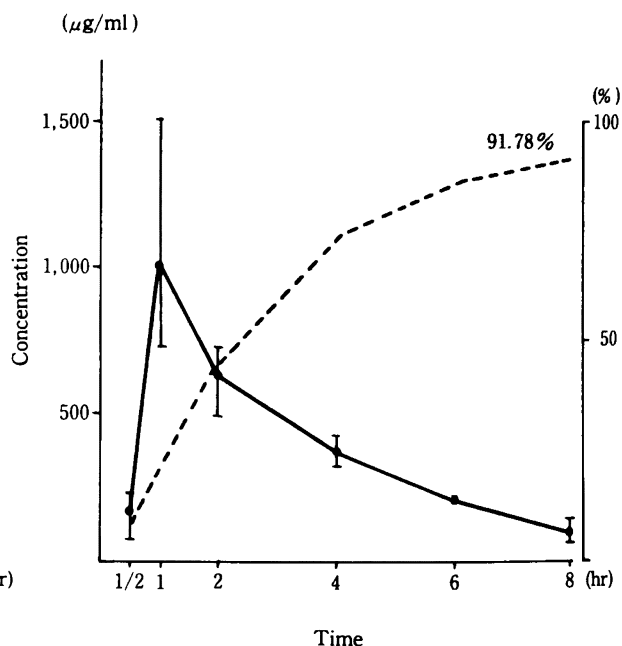
200 mg i.m.  
EIA

Fig. 14 Urinary excretions of HAPA-B

200 mg i.m.  
Bioassay

## 4. 臨床成績

外科感染症 8 例に本剤を使用した。1 回使用量は 200 mg，朝夕 2 回筋注を全症例に施行した。使用日数は最少 5 日より最長 13 日であり平均日数は 8.0 日である。使用総量は最少 2000 mg より最高 5200 mg であり，平均 3200 mg

である。

起炎菌は 8 例に菌検索を行い，全例に菌を検出した。起炎菌の内訳は *S. epidermidis* 2 例，*S. aureus* 1 例，*P. mirabilis* 1 例，*P. aeruginosa* 2 例の 6 例の単独菌感染と，*P. aeruginosa* と *B. fragilis* の 2 種混合感染 1 例，*P. aeruginosa*

Table 13 Urinary excretions of HAPA-B

200 mg i.m.  
HPLC

	0~0.5	0.5~1	1~2	2~4	4~6	6~8	hr	Recovery
H. K. (2.22 mg/kg)	285.8 55 15.72	878.6 30 26.36	496.6 80 39.73	321.2 185 59.42	208.3 155 32.29	103.6 175 18.13	$\mu\text{g/ml}$ ml mg	191.65 mg 95.84 %
A. K. (3.51 mg/kg)	111.6 250 27.90	921.1 30 27.63	458.3 95 43.54	268.2 140 37.55	225.9 100 22.59	147.7 85 12.55	$\mu\text{g/ml}$ ml mg	171.76 mg 85.90 %
K. M. (3.77 mg/kg)	245.5 70 17.19	1,624.2 25 40.61	721.0 65 46.87	369.2 135 49.84	208.9 95 19.85	70.7 130 9.19	$\mu\text{g/ml}$ ml mg	183.55 mg 91.80 %
Mean (3.17 mg/kg)	214.3 20.27	1,141.3 31.53	558.6 43.38	319.5 48.94	214.4 24.91	107.3 13.29	$\mu\text{g/ml}$ mg	182.32 mg 91.18 %

Table 14 Urinary excretions of HAPA-B

200 mg i.m.  
EIA

	0~0.5	0.5~1	1~2	2~4	4~6	6~8	hr	Recovery
H. K. (2.22 mg/kg)	177.5 55 9.76	768.0 30 23.04	624.0 80 49.92	303.6 185 56.17	216.0 155 33.48	122.4 175 21.42	$\mu\text{g/ml}$ ml mg	193.79 mg 96.90 %
A. K. (3.51 mg/kg)	111.0 250 27.75	642.0 30 19.26	614.0 95 58.33	403.2 140 56.45	239.0 100 23.90	126.0 85 10.71	$\mu\text{g/ml}$ ml mg	196.40 mg 98.20 %
K. M. (3.77 mg/kg)	185.0 70 12.95	1,104.0 25 27.60	872.0 65 56.68	402.0 135 54.27	230.0 95 21.85	72.6 130 9.44	$\mu\text{g/ml}$ ml mg	182.79 mg 91.40 %
Mean (3.17 mg/kg)	157.8 16.82	838.0 23.30	703.3 54.98	369.6 55.63	228.3 26.41	107.0 13.86	$\mu\text{g/ml}$ mg	190.99 mg 95.50 %

Table 15 Pharmacokinetic parameters of HAPA-B

200 mg i.m. Bioassay

	Ka (hr <sup>-1</sup> )	Kel (hr <sup>-1</sup> )	T <sub>1/2</sub> (hr)	Vd (l)	T <sub>max</sub> (hr)	C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ )
H. K.	2.25	0.29	2.40	22.1	1.05	6.68	31.4
A. K.	7.31	0.34	2.02	17.8	0.44	9.64	32.7
K. M.	2.50	0.38	1.84	15.7	0.89	9.13	34.0
Mean	3.78	0.32	2.17	19.2	0.71	8.31	32.7

Fig. 15 Urinary excretions of HAPA-B

200 mg i.m.  
HPLC

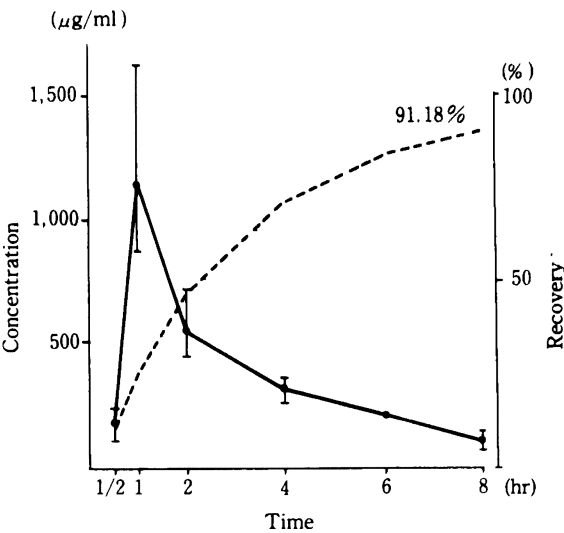


Fig. 16 Urinary excretions of HAPA-B

200 mg i.m.  
EIA

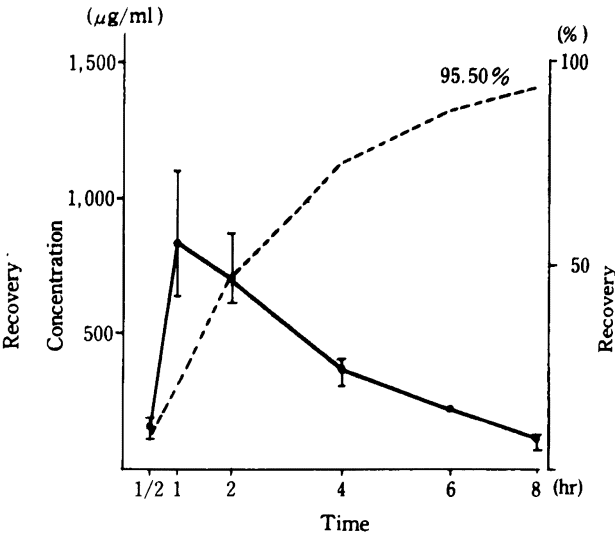


Table 16 Pharmacokinetic parameters of HAPA-B

200 mg i.m. HPLC							
	Ka (hr <sup>-1</sup> )	Kel (hr <sup>-1</sup> )	T <sub>1/2</sub> (hr)	Vd (l)	T <sub>max</sub> (hr)	C <sub>max</sub> (μg/ml)	AUC (μg·hr/ml)
H. K.	2.24	0.33	2.11	19.5	1.01	7.37	31.2
A. K.	5.61	0.36	1.93	16.2	0.52	10.22	34.4
K. M.	2.84	0.44	1.59	14.4	0.78	9.89	31.8
Mean	3.35	0.37	1.89	16.7	0.74	9.12	32.7

Table 17 Pharmacokinetic parameters of HAPA-B

200 mg i.m. EIA							
	Ka (hr <sup>-1</sup> )	Kel (hr <sup>-1</sup> )	T <sub>1/2</sub> (hr)	Vd (l)	T <sub>max</sub> (hr)	C <sub>max</sub> (μg/ml)	AUC (μg·hr/ml)
H. K.	2.44	0.29	2.40	19.7	0.99	7.63	35.2
A. K.	7.06	0.34	2.01	15.5	0.45	11.03	37.4
K. M.	2.89	0.43	1.60	13.6	0.77	10.51	33.9
Mean	3.87	0.34	2.04	16.5	0.69	9.58	35.6



Fig. 17 Serum levels of HAPA-B 200mg i.m.

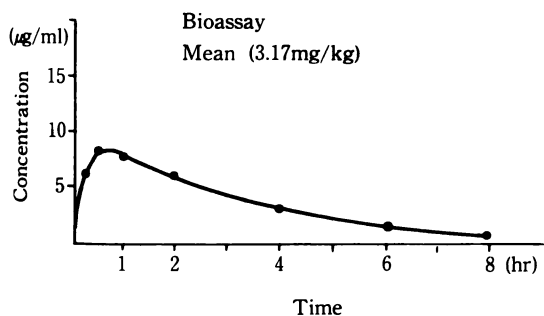
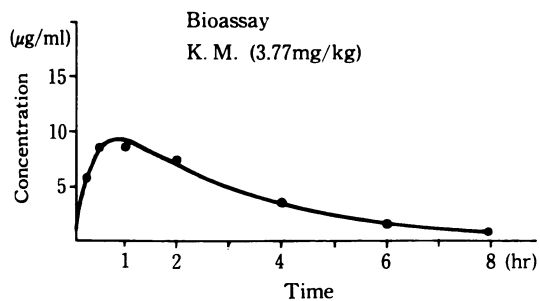
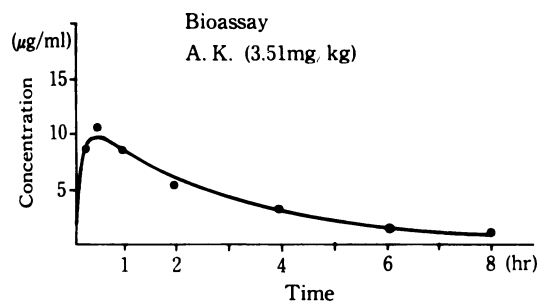
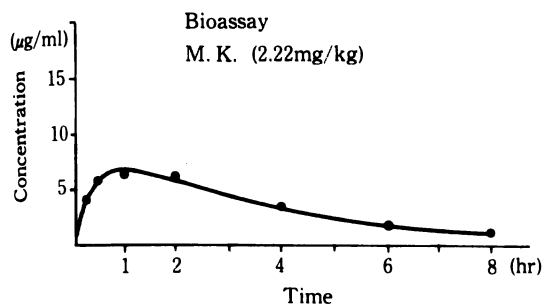
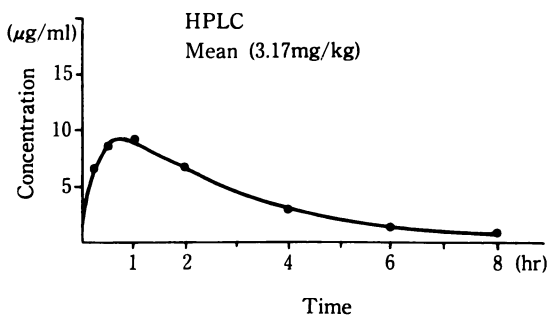
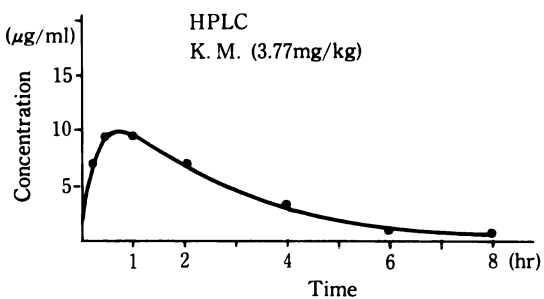
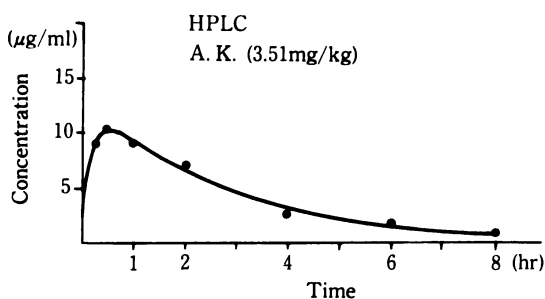
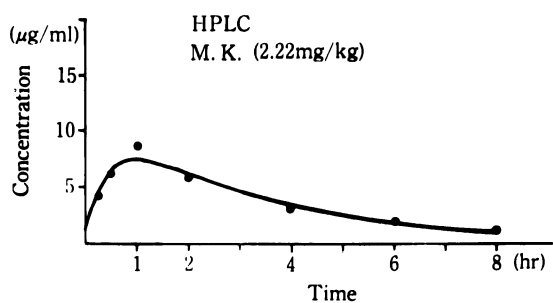


Fig. 18 Serum levels of HAPA-B 200mg i.m.



と *E. coli* および *B. fragilis* の3種混合感染の1例の計2例の混合感染症例である。その結果臨床効果は有効7例、無効1例であり、有効率は87.5%であった。

細菌学的効果は8例中5例消失(62.5%), 不変3例

(37.5%)であった。菌交代に関しては *P. mirabilis* より *S. epidermidis* に菌交代症例が1例認められたが、特に臨床上前問題なく経過した(Table 18)。

#### 5. 副作用

副作用に関しては、筋注による疼痛は特に問題なく、自

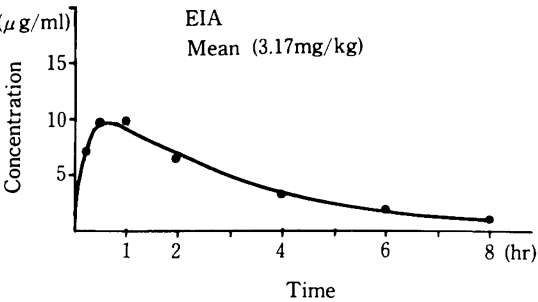
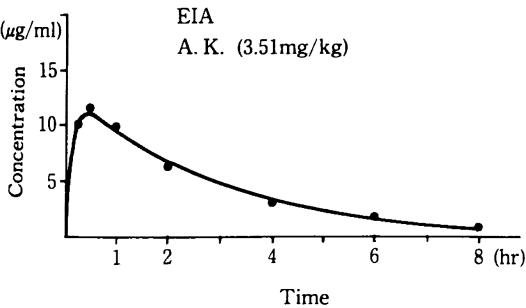
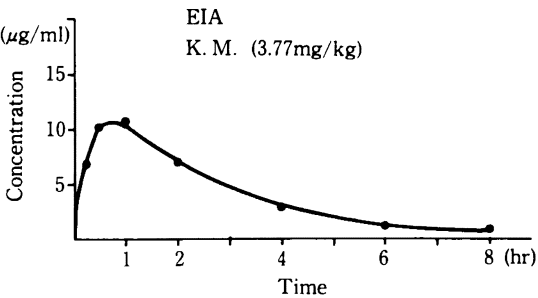
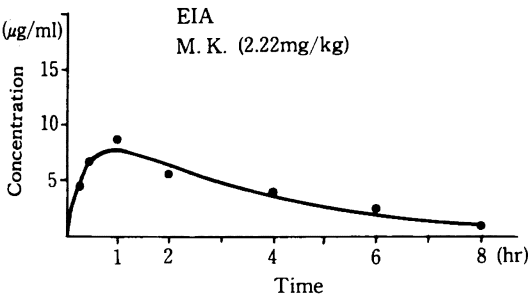
Table 18 Clinical responses to HAPA-B

Case No. Name	Age Sex B. W. (kg)	Diagnosis (Underlying disease)	Dose mg × times × days	Total (mg)	Organism	Adj. therapy	Effect		Side effect
							Bacteriological	Clinical	
1 K. M.	21 M 55.5	Postoperative wound infection (Open fracture)	200 × 2 × 13 im	5200	<i>S. epidermidis</i>	Amputation of r. the fifth finger	Unchanged	Good	—
2 S. O.	67 F 38.0	Postoperative wound infection (Fracture of bipubic bone & ischium. Sepa- ration of the symphysis ossis pubis)	200 × 2 × 7 im	2800	<i>S. aureus</i>	—	Unchanged	Good	—
3 K. S.	17 M 67.5	Pelvic peritonitis (r. ilium open fracture, Sacroiliac joint luxa- tion)	200 × 2 × 13 im	5200	<i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i> <i>B. fragilis</i>	Raphe, Drainage	Eradicated	Good	—
4 S. Y.	61 M 47.0	Postoperative pelvic peritonitis (Rectum cancer)	200 × 2 × 7 im	2800	<i>P. aeruginosa</i>	Drainage	Eradicated	Good	—
5 M. S.	66 M 47.0	Abscess, Phlegmon (r. Lumbar) (—)	200 × 2 × 7 im	2800	<i>P. aeruginosa</i>	Incision	Eradicated	Good	—
6 K. A.	73 M 54.0	Postoperative wound infection (Perforative peritonitis)	200 × 2 × 5 im	2000	<i>P. mirabilis</i> ↓ <i>S. epidermidis</i>	—	Changed	Good	—
7 S. O.	68 F 40.0	Postoperative wound infection (Plastic operation of urethra)	200 × 2 × 5 im	2000	<i>S. epidermidis</i>	—	Eradicated	Good	—
8 T. S.	53 M 45.0	Osteomyelitis (r. Foot) (D. M.)	200 × 2 × 7 im	2800	<i>P. aeruginosa</i> <i>B. fragilis</i>	Drainage	Unchanged	Poor	—

Table 19 Laboratory Findings Before & After HAPA-B Administration

Case No.		RBC (10 <sup>4</sup> )	Hb (g/dl)	Plats. (10 <sup>4</sup> )	GOT (KU)	GPT (KU)	Al-p (KAU)	BUN (mg/dl)	Cr. (mg/dl)
1	B	409	12.3	41.9	26	41	5.2	10	0.9
	A	431	13.8	20.7	15	18	4.6	10	0.9
2	B	392	12.6	36.3	19	23	9.7	14	0.6
	A	380	12.4	30.0	21	26	8.0	9	0.7
3	B	415	13.5	25.9	12	9	8.1	12	0.8
	A	441	14.3	19.4	13	11	7.7	10	0.9
4	B	323	10.8	17.8	24	23	2.8	13	0.8
	A	350	11.6	16.3	18	12	2.8	16	0.6
5	B	303	9.4	31.3	13	10	9.4	39	2.9
	A	349	10.6	22.5	19	16	10.8	44	3.0
6	B	444	13.4	22.6	22	13	6.5	19	1.1
	A	378	11.2	21.8	17	12	6.0	16	0.9
7	B	446	14.1	33.6	32	35	5.5		
	A	418	13.1	31.6	37	44	6.0	10	0.6
8	B	403	11.9	47.9	19	9	12.8	6	0.8
	A	419	11.9	41.3	23	11	11.9	9	1.0

Fig. 19 Serum levels of HAPA-B 200mg i. m.



覚的、他覚的症狀についても特に問題となる副作用は認められなかった。

検査値異常に関しては第7症例に GOT, GPT の軽度の上昇が認められたが、基礎疾患に起因すると考えられる。第5症例に BUN, および S-creatinine の上昇が認められたが、本剤投与前より高値の臨床検査値を示しており特に本剤とは関係ないと考えられた (Table 19)。

### III. 考 案

HAPA-B の抗菌スペクトルは AMK に類似しており、グラム陽性菌およびグラム陰性菌に対して幅広い抗菌力を有する。しかし *E. faecalis* および嫌気性菌に対しては適応がない。外科病巣由来菌に対しては、*S. aureus* では AMK と同等であるが、他のアミノ配糖体系抗生物質より劣る。しかし耐性株は1株も認められなかった。*S. epidermidis* に対しては、AMK, ASTM より1段階優れ、その他より1~2段階劣る成績であった。*E. coli* では最も優れた感受性分布を示し、GM, TOB より1段階、DKB より2段階優れた感受性成績を示した。*K. pneumoniae* では SISO, GM より1~2段階劣り、その他の薬剤より1~3段階程度優れた感受性成績を示した。*E. cloacae* では TOB, AMK と同等の成績であり、GM, SISO, NTL, MCR より1段階劣り、その他の薬剤より優れた感受性成績を示した。*S. marcescens* では GM と同等、その他の薬剤より優れた成績を示した。*P. mirabilis* では、AMK, ASTM と同等、その他の薬剤より1段階劣る成績を示した。インドール陽性 *Proteus* 群では、GM, SISO よりも1段階劣り、その他と同等の成績を示した。*P. aeruginosa* では TOB, SISO より1~2段階劣り、DKB, GM, MCR と同等、その他の薬剤より優れた感受性成績を示した。今回我々の検討した外科病巣由来菌の成績では 25  $\mu\text{g/ml}$  以上に分布した菌株は、*E. cloacae* の9株のみであった。全国集計における、GM 耐性 *E. coli*, GM 耐性 *S. marcescens* に関しては HAPA-B は AMK より優れ、GM 耐性 *P. aeruginosa* については HAPA-B は AMK より多少劣る成績であった<sup>1)</sup>。その他の菌種において本剤は、*H. influenzae* に対しては AMK と同等、*Mycobacterium* に対しては AMK と同等、SM, KM より多少優れた成績であった。

吸収、排泄に関しては、本剤 200 mg 筋注時の成績では、AMK, ASTM などと差はなく<sup>4,5,6)</sup>、最高血清中濃度は 10

$\mu\text{g/ml}$  前後の濃度を示すため、臨床使用上は中等度感染症、および重症感染症に対して 200 mg 1 日 2 回投与で十分と考えられる。尿中移行は 8 時間以内に投与量の 90% 以上が排泄される。薬動学的検討では  $T_{1/2}$  は 2 時間前後である。耐性機構に関しては、本剤は AAC (6')-4 により不活化を受け、同系薬剤の中では耐性菌が最も少ない部類の薬剤と考えられる。本剤の不活化酵素を産生する菌種としては、*E. coli*, *E. cloacae*, および *P. aeruginosa*, などの菌種が考えられる。

使用方法に関しては、中等症以上がその適応となる。使用量に関しては上述の如くであり、副作用に関しても特に問題はない。

### 文 献

- 1) NAGABHUSHAN T. L.; A. B. COOPER, H. TSAI, P. J. L. DANIELS & G. H. MILLER: The syntheses and biological properties of 1-N-(S-4-amino-2-hydroxybutyryl) gentamicin B and 1-N-(S-3-amino-2-hydroxypropionyl) gentamicin B. J. Antibiotics 31: 681~687, 1978
- 2) 第31回日本化学療法学会東日本支部総会, 新薬シンポジウム, HAPA-B, 1984
- 3) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法 (1968年度制定, 1976年改訂). Chemotherapy 23 (8): 1~2, 1975
- 4) 石山俊次, 中山一誠, 岩本英男, 岩井重富, 鷹取睦美, 川辺隆道, 坂田育弘, 川村弘志, 水足裕子, 柴田賀代子: Amikacin (BB-K 8) の抗菌力, 吸収, 排泄および外科における臨床応用. Chemotherapy 23 (6): 2144~2149, 1975
- 5) 石山俊次, 中山一誠, 岩本英男, 岩井重富, 鷹取睦美, 川辺隆道, 坂田育弘, 川村弘志, 水足裕子: 外科における Tobramycin の抗菌力および吸収, 排泄, 代謝と臨床応用. Chemotherapy 23 (3): 1151~1168, 1975
- 6) 中山一誠, 岩井重富, 鷹取睦美, 秋枝洋三, 神野大乗, 田島華陽, 川村弘志, 川口広, 坂部孝: 新アミノ配糖体系抗生物質 KW-1070 (Fortimicin) の抗菌力, 吸収, 排泄, 代謝, 臓器移行性および外科臨床応用について. Chemotherapy 29 (2): 382~394, 1981

## STUDIES ON HAPA-B A NEW AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTIC ANTIBACTERIAL ACTIVITY, ABSORPTION, EXCRETION AND CLINICAL APPLICATION IN SURGERY

ISSEI NAKAYAMA, YOZO AKIEDA, HIROSHI KAWAMURA,  
HIROSHI KAWAGUCHI and EMIKO YAMAJI

The 3rd department of surgery, Nihon University, School of Medicine

Fundamental and clinical studies were carried out on HAPA-B. This drug possessed broad antimicrobial spectra and was active against gram positive and negative bacteria.

Antimicrobial activities of 9 aminoglycosides against clinical isolates were tested. The activity of HAPA-B was the most excellent against *E. coli*, similar to AMK against *S. aureus*, two times superior to AMK & ASTM against *S. epidermidis*, superior to other drugs except GM & SISO against *K. pneumoniae*, similar to GM, TOB & AMK against *E. cloacae*, similar to GM and superior to other drugs against *S. marcescens*, similar to AMK & ASTM against *P. mirabilis*, similar to ASTM against indole positive *Proteus* and similar to GM & MCR against *P. aeruginosa*.

HAPA-B was administered intramuscularly at a single dose of 200 mg to three healthy male volunteers to determine serum and urine levels by bioassay, HPLC and EIA method. Mean peak serum level of HAPA-B assayed by HPLC was 9.07  $\mu\text{g/ml}$  at one hour after administration and 0.87  $\mu\text{g/ml}$  of serum level was obtained at 8 hours. Mean peak of urine level assayed by HPLC was 1141  $\mu\text{g/ml}$  at 1 hour and recovery rate of HAPA-B was 91.8% within 8 hours.

Pharmacokinetic parameters were 3.35  $\text{hour}^{-1}$  for  $K_a$ , 0.37  $\text{hour}^{-1}$  for  $K_{el}$ , 1.89 hour for  $T_{1/2}$ , 16.7  $\ell$  for  $V_d$ , 0.74 hour for  $T_{max}$ , 9.12  $\mu\text{g/ml}$  for  $C_{max}$  and 32.7  $\mu\text{g}\cdot\text{hour/ml}$  for AUC.

HAPA-B was administered to 8 cases with surgical infection and the clinical responses were effective in 7 cases and failure in a case, with the effective rate of 87.5%. No side effect and no abnormal laboratory findings were observed.