

## 健康成人被検者における HBK の薬動学的研究

山作房之輔・鈴木康裕

水原郷病院内科

新開祥彦\*・庄村知子\*・小宮 泉\*\*

明治製菓株式会社

\* 薬品開発研究所

\*\* 薬理安全性研究所

1群4名の健康成人被検者の2群に HBK を筋注、持続注入器による定速度静脈内持続注入を行ない、bioassay, EIA, HPLC により血清中濃度、尿中濃度を測定した。3種類の体液内濃度測定法の中では EIA 測定値が常に最も安定していて信頼性が高く、HPLC 測定値は EIA と近似のこともあるが血清中濃度では高目、尿中濃度では低目のことが多かった。bioassay 値はばらつきがあり、信頼性に欠けた。

EIA による 75 mg と 100 mg 筋注時の HBK 最高血清中濃度は 30 分後で 3.7  $\mu\text{g/ml}$  と 4.9  $\mu\text{g/ml}$  となり用量依存性がみられた。100 mg/1 h 静脈内注入時の最高値は 6.6  $\mu\text{g/ml}$  であったが、2時間以後は同量の筋注時とほぼ同等であった。HBK 100 mg 筋注時の血清中濃度推移は同量の DKB, および AMK 筋注時とほぼ近似であった。HBK 100 mg と FOM 1 g を同時に1時間で静脈内に注入した際のそれぞれ血清中濃度は単独使用時とほぼ同様であった。

EIA 測定による8時間後までの HBK 尿中回収率は 74~94% の間にあり、FOM と併用した際にもこの範囲内であった。

EIA 測定値を解析した HBK の平均血清中濃度の  $T_{1/2}$  は静脈内注入時で 1.55 時間、筋注時 1.51 時間、平均血清中濃度における分布容積は 14.6, および 15.7 l, body clearance は 108.9, および 120.1 ml/min, renal clearance は 99.5 および 90.3 ml/min であった。

HBK は 1 位に aminohydroxybutyryl 基を有する dibekacin (DKB) の誘導体で、*P. aeruginosa* を含む各種グラム陰性桿菌に対して gentamicin (GM) や amikacin (AMK) と同様強い抗菌力を示し、AMK の耐性菌とは交叉耐性を示すこともあるが、DKB や GM の耐性菌には強い抗菌力を有する<sup>1)</sup>アミノ糖抗生剤である。

私どもは健康成人被検者計 8 名に HBK の筋注、静脈内持続注入、fosfomycin (FOM) との併用を行ない、体液内濃度は bioassay, high performance liquid chromatography (HPLC), enzymeimmunoassay (EIA) で測定し、使用量、使用法の比較と測定法による測定値の比較を行なった。

## I. 対象と方法

## 1. 対象

Table 1 に示した体格の健康成人被検者 1 群 4 名の 2 群、計 8 名で、試験前に血液検査 (赤血球数, Hb, Ht, 白血球数, 血小板数), 肝機能検査 (GOT, GPT, Al-P, ChE, LDH, LAP,  $\gamma$ -GTP), 腎機能検査 (BUN, S-

Table 1 Background of healthy volunteers

Subject	Age (yrs)	Height (cm)	Weight (kg)	Body surface area (m <sup>2</sup> )	Ccr (ml/min)
Group A					
No. 1	20	182	80	2.01	101
No. 2	20	178.2	60.5	1.76	91
No. 3	21	174	70	1.84	94
No. 4	18	174	62	1.75	95
Mean		177.1	68.1	1.84	95.3
Group B					
No. 5	20	180	66	1.84	98
No. 6	19	176	65	1.80	103
No. 7	19	165	58	1.64	114
No. 8	18	172	62	1.73	99
Mean		173.3	62.8	1.75	103.5

Cr, Ccr), 検尿 (蛋白, 糖, urobilinogen, 潜血) を行ない、全例異常のないことを確認した。

## 2. 投与方法

A 群の 4 名には HBK 75 mg と 100 mg の筋注、およ

Table 2 Serum levels of HBK in healthy volunteers of group A after intramuscular injection and 1-hour intravenous constant infusion

(1) HBK 75 mg, i.m. ( $\mu\text{g/ml}$ )

Volunteer	Time(hr) Assay	0.25	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	8.0
No. 1	Bioassay	4.3	4.6	4.3	3.4	2.8	2.0	1.2	0.5	0.3
	HPLC	3.7		3.2	2.6	2.2	1.3	0.3		
	EIA	3.8	4.3	3.5	2.9	2.2	1.6	1.3	0.4	0.2
No. 2	Bioassay	4.4	5.6	5.4	4.2	2.9	1.9	1.1	0.6	0.3
	HPLC	4.0		4.5	3.2	1.9	1.5		0.5	0.2
	EIA	4.0	5.2	4.2	3.4	2.4	1.7	1.3	0.3	0.1
No. 3	Bioassay	2.6	3.2	3.6	3.1	2.2	1.6	0.9	0.5	0.1
	HPLC		2.1	2.1	2.0	1.7			0.5	0.3
	EIA	2.0	2.6	2.9	2.6	2.1	1.6	0.7	0.2	0.1
No. 4	Bioassay	2.7	3.3	3.5	3.3	2.5	1.9	1.3	0.8	0.4
	HPLC	2.0	2.3	2.0	1.9	1.7	1.1	0.7	0.6	0.3
	EIA	2.2	2.6	2.9	2.3	2.1	1.3	1.3	0.4	0.2
Mean $\pm$ S.D.	Bioassay	3.5 $\pm$ 1.0	4.2 $\pm$ 1.2	4.2 $\pm$ 0.9	3.5 $\pm$ 0.5	2.6 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.1
	HPLC			3.0 $\pm$ 1.2	2.4 $\pm$ 0.6	1.9 $\pm$ 0.2				
	EIA	3.0 $\pm$ 1.1	3.7 $\pm$ 1.3	3.4 $\pm$ 0.6	2.8 $\pm$ 0.5	2.2 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.3	0.3 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1

(2) HBK 100 mg, i.m. ( $\mu\text{g/ml}$ )

Volunteer	Time(hr) Assay	0.25	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	8.0
No. 1	Bioassay	3.5	4.3	4.5	3.7	2.9	2.3	1.5	0.6	0.3
	HPLC	4.0	5.3	5.1	4.2	3.7	2.0	1.9	1.4	1.2
	EIA	3.1	4.0	4.1	2.4	2.1	1.5	0.9	0.5	0.2
No. 2	Bioassay	4.2	6.2	5.9	4.6	4.0	2.7	1.8	0.8	0.4
	HPLC	4.0	5.4	4.6		3.3	2.4	1.4	1.0	0.8
	EIA	3.5	5.3	4.7	4.0	2.5	1.8	1.0	0.3	0.2
No. 3	Bioassay	4.4	6.0	5.0	4.0	3.2	1.9	1.2	0.6	0.3
	HPLC	5.2	5.6	4.7	4.4	3.1			1.6	0.9
	EIA	4.0	5.0	4.5	3.7	2.3	1.6	0.7	0.3	0.2
No. 4	Bioassay	3.8	5.6	5.0	4.0	3.5	2.4	1.9	0.8	0.4
	HPLC	3.6	6.0	5.4	4.7	3.5	2.1	2.0	0.8	0.4
	EIA	3.4	5.3	4.6	3.4	2.9	2.1	1.3	0.3	0.2
Mean $\pm$ S.D.	Bioassay	4.0 $\pm$ 0.4	5.6 $\pm$ 0.9	5.1 $\pm$ 0.6	4.1 $\pm$ 0.4	3.4 $\pm$ 0.5	2.3 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.3	0.7 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1
	HPLC	4.2 $\pm$ 0.7	5.6 $\pm$ 0.3	5.0 $\pm$ 0.4		3.4 $\pm$ 0.3			1.2 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.3
	EIA	3.5 $\pm$ 0.4	4.9 $\pm$ 0.6	4.5 $\pm$ 0.3	3.4 $\pm$ 0.7	2.5 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.3	0.4 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.0

(3) HBK 100mg, 1-hour i.v. infusion

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

Volunteer	Assay	Time(hr)									
		0.5	1.0	1.08	1.25	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	8.0
No. 1	Bioassay	4.7	8.2	7.2	5.3	4.6	3.9	2.4	1.7	1.1	0.4
	HPLC	4.4	6.7	5.5	5.3	4.5	2.0	1.8	1.2	0.4	0.2
	EIA	4.6	7.3	5.5	4.8	4.4	2.8	1.9	1.3	0.7	0.3
No. 2	Bioassay	5.8	8.4	7.1	6.3	5.9	4.5	2.8	1.9	1.1	0.5
	HPLC	4.6	7.6	6.2	5.5	4.9	4.5	2.1	1.2	0.5	0.1
	EIA	5.2	7.8	6.7	5.8	3.9	3.0	2.1	1.0	0.6	0.2
No. 3	Bioassay	4.1	6.6	6.1	5.7	4.5	3.6	2.2	1.7	0.7	0.4
	HPLC	3.6	5.8	5.6	4.8	3.6	2.6	1.5	1.1	0.5	0.2
	EIA	4.0	5.2	5.2	4.4	3.8	2.1	1.6	0.5	0.5	0.1
No. 4	Bioassay	5.6	8.1	7.4	5.5	4.8	3.5	2.4	1.5	0.7	0.4
	HPLC	3.8	6.6	6.6	5.8	4.6	3.6	2.0	0.9	0.4	0.2
	EIA	4.5	6.9	5.7	4.8	4.4	2.9	1.9	1.3	0.5	0.2
Mean ±S.D.	Bioassay	5.0±0.7	7.8±0.8	6.9±0.6	5.7±0.4	4.9±0.7	3.9±0.4	2.4±0.3	1.7±0.2	0.9±0.2	0.4±0.1
	HPLC	4.1±0.5	6.7±0.7	6.0±0.5	5.4±0.4	4.4±0.6	3.2±1.1	1.9±0.3	1.1±0.1	0.6±0.1	0.2±0.1
	EIA	4.5±0.5	6.6±1.0	5.8±0.6	4.9±0.6	4.1±0.3	2.7±0.4	1.9±0.2	1.0±0.4	0.6±0.1	0.2±0.1

び DKB と AMK 100 mg の筋注を行ない、さらに持続注入器 (UNITA I 型 B. Braun Melsungen Apparatebau 社製) を用い 100 mg を定速度で 1 時間で静脈内に注入し、B 群の 4 名には HBK と FOM 併用時の相互の体内動態をみる目的で HBK 100 mg 単独、FOM 1 g 単独、HBK 100 mg と FOM 1 g の混合液を前記の持続注入器で定速度で 1 時間で静脈内に注入した。

### 3. 採血, 採尿法

投与方法に応じて Table 2, 3 に示した時間に 8 時間後まで 9~10 回採血し、血清を分離した。尿は筋注時には試験開始後 2, 4, 6, 8 時間後に採尿し、静脈内注入時には注入終了時 (1 時間) を加えた。各検体は測定まで  $-20^{\circ}\text{C}$  に保管した。

### 4. 体液中濃度測定法

検体は 4 薬剤とも bioassay を行ない、HBK は EIA、HPLC も加えて測定した。ただし、A 群の HPLC は最初予定してなく、bioassay と EIA 測定の終わった段階で追加したため、試料が不足して一部測定できないものがあった。

bioassay: HBK, DKB, および AMK は *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を試験菌とし、濃度測定培地に Mycin assay agar arei (共栄製薬) を、希釈用緩衝液に 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 8.0) を用いる薄層カップ法で行なった。なお、ヒト血清試料の希釈には健康人プール血清も併用した。

FOM は *Proteus* sp. (MB-838) を試験菌とし、濃度

測定培地に Nutrient agar (Difco) を、希釈用緩衝液 0.05 M トリス塩酸緩衝液 (pH 7.0) を用いる薄層カップ法で行なった。

HPLC: 試料 0.4 ml に内部標準として DKB の M/15 リン酸緩衝液 (pH 8.0、血清の場合は  $5\mu\text{g/ml}$ 、尿の場合は  $50\mu\text{g/ml}$ ) 0.4 ml を加え、よく攪拌した後、そのうちの 0.6 ml を bed volume 1 ml の CM-Sephadex (C-25) カラムにかけた。その後、カラムを 0.2 M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  2 ml で洗浄し、さらに 0.01 N NaOH を含む 0.2 M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.5 ml で洗浄後、同液 2.5 ml で溶出した。溶出液に 1 N HCl 0.025 ml を加えた後、蒸発乾固し、残渣を 0.4 ml の蒸留水にとかし、その 10  $\mu\text{l}$  を HPLC に注入した。

測定はポストラベル法により行ない、HPLC 測定条件は下記のとおりであった。

カラム: TSK gel ODS 120 A (東洋曹達工業) 5  $\mu\text{m}$  または 10  $\mu\text{m}$ , 4  $\phi$  × 250 mm

プレカラム: TSK gel ODS 120 A, 5  $\mu\text{m}$  または 10  $\mu\text{m}$ , 4  $\phi$  × 50 mm

移動相: 1 l 中に  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  28.41 g, PIC reagent B-7 (Waters Associates) 25 ml および pH 10.00 Titrisol buffer (E. Merck) 20 ml を含む水溶液

移動相流速: 1 ml/min

ラベル (o-phthalaldehyde, OPA) 試薬: 1 l 中に Fluescin (E. Merck) 20 ml, 2-mercaptoethanol 4 ml および pH 10.00 Titrisol buffer 200 ml を含む水溶液

Table 3 Serum levels of HBK in healthy volunteers of group B after 1-hour intravenous constant infusion of 100 mg alone and combined with FOM (1 g)

(1) HBK 100mg, 1-hour i.v. infusion alone ( $\mu\text{g/ml}$ )

Volunteer		Time(hr)	0.5	1.0	1.25	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	8.0
		Assay									
No. 5	Bioassay		3.5	5.3	4.7	3.2	2.6	1.6	1.1	0.5	0.2
	HPLC		5.3	7.7	7.0	4.4	2.9	2.3	1.4	0.4	0.4
	EIA		3.8	4.8	4.4	3.8	2.6	1.5	1.3	0.4	0.2
No. 6	Bioassay		3.1	5.9	4.7	3.7	2.8	2.2	1.2	0.8	0.4
	HPLC		3.7	8.9	6.0	5.5	4.8	3.3	2.1	1.0	0.7
	EIA		3.5	5.3	4.7	4.3	3.1	2.1	1.3	0.7	0.5
No. 7	Bioassay		3.7	6.8	5.6	3.9	2.7	1.8	1.3	0.4	0.2
	HPLC		7.2	7.9	6.7	5.4	3.9	2.4	1.6	0.8	0.3
	EIA		5.8	7.9	6.8	6.0	3.4	2.1	1.3	0.4	0.2
No. 8	Bioassay		3.5	5.4	4.8	4.0	2.2	1.7	1.2	0.6	0.3
	HPLC		4.9	9.9	6.8	5.8	3.3	2.2	2.3	0.9	0.5
	EIA		5.0	7.3	7.0	5.3	4.3	2.7	1.8	0.5	0.3
Mean $\pm$ S.D.	Bioassay		3.5 $\pm$ 0.3	5.8 $\pm$ 0.7	4.9 $\pm$ 0.5	3.7 $\pm$ 0.3	2.6 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.1
	HPLC		5.3 $\pm$ 1.5	8.6 $\pm$ 1.0	6.6 $\pm$ 0.4	5.3 $\pm$ 0.6	3.7 $\pm$ 0.8	2.6 $\pm$ 0.5	1.9 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.2
	EIA		4.5 $\pm$ 1.0	6.3 $\pm$ 1.5	5.7 $\pm$ 1.4	4.9 $\pm$ 1.0	3.5 $\pm$ 0.8	2.1 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1

(2) HBK 100mg, 1-hour i.v. infusion combined with FOM (1 g) ( $\mu\text{g/ml}$ )

Volunteer		Time(hr)	0.5	1.0	1.25	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	8.0
		Assay									
No. 5	Bioassay		4.0	6.1	3.9	3.9	2.5	1.7	1.1	0.5	0.1
	HPLC		5.4	7.2	5.1	4.1	3.4	2.1	1.3	0.5	0.3
	EIA		4.5	6.5	5.7	4.6	3.1	2.2	1.2	0.6	0.3
No. 6	Bioassay		3.3	6.0	4.5	3.6	2.5	1.8	1.1	0.5	0.4
	HPLC		3.4	6.6	4.8	4.2	3.0	2.0	1.1	0.7	0.4
	EIA		3.7	6.2	5.4	5.0	3.6	2.5	1.5	0.6	0.4
No. 7	Bioassay		3.7	5.6	4.3	3.4	2.6	1.7	1.1	0.6	0.2
	HPLC		5.4	7.7	6.3	4.2	2.6	2.1	1.2	0.6	0.3
	EIA		4.5	7.0	4.7	3.7	3.2	1.8	1.0	0.4	0.2
No. 8	Bioassay		3.1	5.3	4.2	3.5	2.7	1.9	1.1	0.7	0.3
	HPLC		4.9	6.7	5.6	4.9	3.3	1.9	1.7	0.8	0.4
	EIA		4.2	4.7	4.0	3.9	3.0	1.7	1.3	0.5	0.3
Mean $\pm$ S.D.	Bioassay		3.5 $\pm$ 0.4	5.8 $\pm$ 0.4	4.2 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.2	2.6 $\pm$ 0.1	1.8 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1
	HPLC		4.8 $\pm$ 0.9	7.1 $\pm$ 0.5	5.5 $\pm$ 0.7	4.4 $\pm$ 0.4	3.1 $\pm$ 0.4	2.0 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.3	0.7 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1
	EIA		4.2 $\pm$ 0.4	6.1 $\pm$ 1.0	4.9 $\pm$ 0.8	4.3 $\pm$ 0.6	3.2 $\pm$ 0.3	2.1 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1

Table 4 Serum levels of FOM in healthy volunteers after 1-hour intravenous constant infusion of 1g

(1) FOM 1g, 1-hour i.v. infusion alone (μg/ml)										
Volunteer	Time(hr)	0.5	1.0	1.25	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	8.0
No. 5		29.70	47.74	34.38	28.01	16.93	9.91	5.79	2.42	1.72
No. 6		30.35	48.59	34.22	30.59	21.06	12.17	8.21	3.95	1.91
No. 7		33.91	56.17	37.48	31.91	21.42	11.86	6.66	3.03	2.04
No. 8		31.10	49.33	41.65	34.54	25.42	13.99	8.25	4.01	2.05
Mean ± S.D.		31.27 ± 1.85	50.46 ± 3.86	36.93 ± 3.48	31.26 ± 2.72	21.46 ± 3.53	11.98 ± 1.67	7.23 ± 1.21	3.35 ± 0.77	1.93 ± 0.15

(Bioassay)

(2) FOM 1g, 1-hour i.v. infusion combined with HBK (100mg) (μg/ml)										
Volunteer	Time(hr)	0.5	1.0	1.25	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	8.0
No. 5		31.87	49.46	32.25	28.80	18.41	10.38	6.22	4.15	1.76
No. 6		27.24	43.70	36.68	29.39	20.11	13.06	7.82	3.59	1.93
No. 7		33.98	49.04	35.85	28.55	19.29	9.64	5.84	2.63	1.72
No. 8		30.43	47.33	36.72	30.77	20.25	12.23	7.16	2.98	2.05
Mean ± S.D.		30.88 ± 2.83	47.38 ± 2.62	35.38 ± 2.12	29.38 ± 0.99	19.52 ± 0.85	11.33 ± 1.59	6.76 ± 0.90	3.34 ± 0.67	1.87 ± 0.15

(Bioassay)

ラベル試液流速: 1 ml/min

検出器: FP-110 Spectrofluorometer (日本分光), Hgランプ, Ex: 350 nm, Em: 440 nm

なお, 測定は SRL (スペシャル レファレンス ラボラトリー) において実施した。

EIA: HBK 測定用キット (第一化学薬品製) を使用し, 二抗体法で行なった<sup>2)</sup>。すなわち予想試料中濃度に従って血清の場合は 2~201 倍に, 尿の場合は精製水で 2~40 倍に希釈した後血清と同様に, それぞれ BSA 0.1% を含む 0.01 M リン酸緩衝液を用いて希釈し, その 0.1 ml を採り, アルカリ性ホスファターゼで標識した HBK 溶液 (1 μg/ml) 0.1 ml と家兎抗 HBK 血清 0.1 ml, およびデキストラン T-70 を 4% 含む 0.01 M リン酸緩衝液で 9 倍に希釈した山羊抗家兎 IgG 血清 0.1 ml を加えて, 室温 (20~25°C) で 30 分間インキュベーションした後, 氷冷した精製水 2 ml を加えて 4°C, 3,000 rpm, 20 分間遠心分離し上清液を除去した。氷冷した沈渣に冷基質 (P-ニトロフェニルリン酸・2 ナトリウム) 溶液 1 ml を加えて, 37°C で 15 分間インキュベーションした。氷冷下に 0.1 N NaOH 溶液 2 ml を加え振とう攪拌し, 反応を停止させ, 約 20 分間室温に放置した。生成した P-ニトロフェノールの呈色の強度を吸光波長 405 nm で測定した。

既知量を加えて試料と同様に希釈して作製した標準曲線から濃度を算出した。なお標準曲線は血清としての希釈倍率が 2 倍, 21 倍, 201 倍の 3 段階のものを作製し, それぞれの試料の希釈倍率に合わせて使用した。また FOM を含む試料については既知量の HBK および

FOM を含む血清あるいは尿を調製し, 同様に測定し, いずれも FOM が HBK 濃度の測定に影響のないことを確認した。

### 5. 薬動学的解析

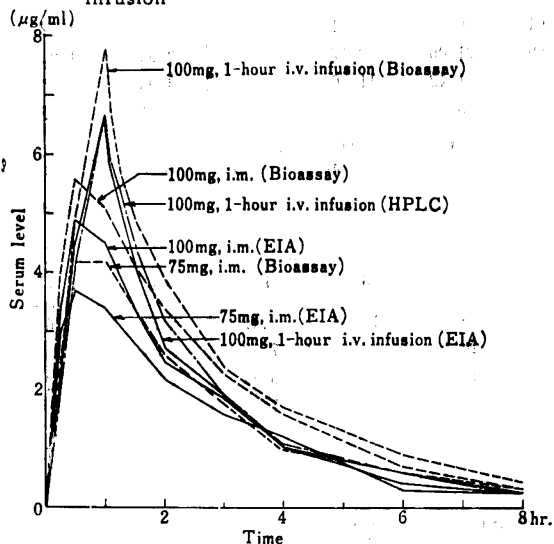
静脈内注入時の血清中濃度は two-compartment open model により, また筋注時のそれは one-compartment open model により, Gauss-Newton 法を用いたくり返し最小二乗法により解析した。renal clearance は投与後 8 時間までの尿中回収量を同時間までの AUC (血清中濃度-時間曲線下面積) で除して求めた。なお, この時の AUC は台形法により計算した。

## II. 成績

HBK 血清中濃度を A 群については Table 2 に, B 群については Table 3 に示した。B 群の FOM の bioassay による血清中濃度は Table 4 に示した。HBK, DKB, AMK の bioassay による血清中濃度はばらつきが大きく精度が劣ったので, Fig. 1, 2 に HBK の平均血清中濃度のみを示して他の測定法による成績と比較し, 3 通りの測定法によって得られた HBK 血清中濃度の相関を Fig. 3 に示した。

A 群の筋注例では前述の理由で HPLC 測定値が完全に揃わなかったため平均血清中濃度による 3 通りの測定法の比較は静脈内注入例についてのみ行ない, EIA 測定値と HPLC 測定値はほぼ等しい値となって一致したが, bioassay 値は全般に高目で, ピークでは 1 μg/ml 高値となった。一方, B 群の 2 回の HBK 静脈内注入時には EIA 測定値は 2 回ともほぼ等しく, また, A 群の測定値ともほぼ同等であったが, HPLC 測定値は EIA 値より

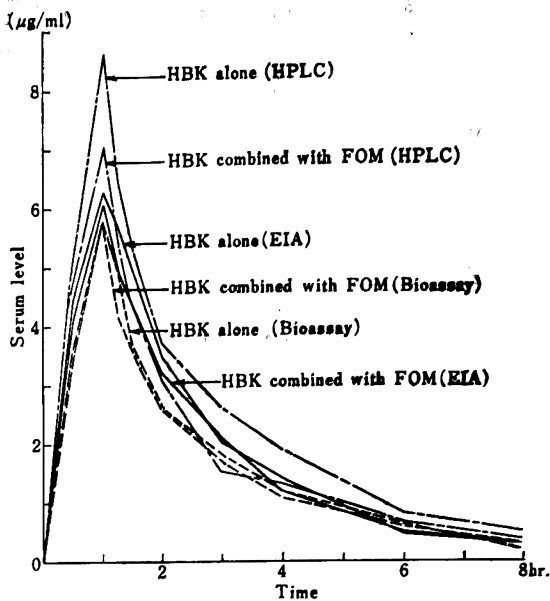
Fig. 1 Average serum levels of HBK in healthy volunteers of group A after intramuscular injection and 1-hour intravenous constant infusion



も高目で、特に 100 mg 単独使用時にはピークで 2 μg/ml 以上高値であった。また bioassay 値はやや低目ながら EIA 測定値に近似であった。以上の結果静脈内注入時の HBK 血清中濃度については EIA 測定は 3 回とも安定した測定値が得られ、HPLC は EIA 値と同等または高目、bioassay 値はばらつきが最も大であった。これらの結果は 3 測定法の相関関係にも反映していた。

A 群の 75 mg, 100 mg 筋注, 100 mg, 1 時間静脈内注入時の平均血清中濃度を最も安定した測定値が得られた EIA で比較すると筋注時のピークは 30 分後で 75 mg 筋注時 3.7 μg/ml, 100 mg 筋注時 4.9 μg/ml で、用量依存性がみられた (Fig. 1)。100 mg, 1 時間静脈内注入時のピークは 6.6 μg/ml で、同量筋注時のピークより 35% 高値を示したが、β 相では筋注とはほぼ同様の推移を示し、4 時間後には約 1 μg/ml, 8 時間後には 0.2 μg/ml

Fig. 2 Average serum levels of HBK in healthy volunteers of group B after 1-hour intravenous constant infusion of 100 mg alone and combined with FOM (1g)



程度となった。

HBK と同じアミノ糖抗生剤である DKB, AMK の 100 mg 筋注時の血清中濃度の比較は bioassay によることを考慮すれば 3 剤間に大きな差はないと考えられた (Fig. 4)。

B 群で実施した HBK と FOM 併用時、ならびにそれぞれの単独使用時の血清中濃度の比較では、両剤とも併用による血清中濃度への相互作用を認めず、単独使用時と同様な推移を示した。

EIA で測定した A 群, EIA と HPLC で測定した B 群の HBK 尿中回収を Table 5, 6, Fig. 5, 6 に示し、bioassay も含めた 3 通りの測定法の相関を Fig. 7 に示した。尿中濃度の HPLC 測定値は血清中濃度とは逆に

Fig. 3 Correlation between serum levels of HBK by the EIA, the HPLC and the bioassay

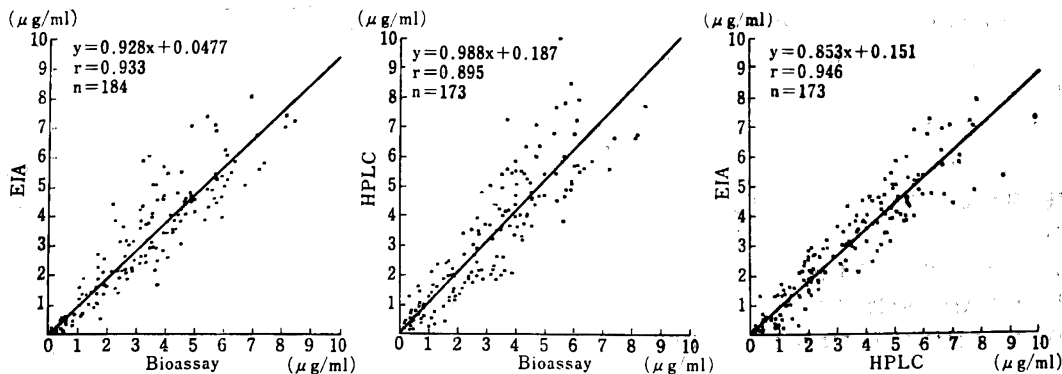


Table 5 Urinary levels and recovery rates of HBK after intramuscular injection and 1-hour intravenous constant infusion

(1) HBK 75mg, i.m.

Volunteer	Time(hr) Assay	0~2		2~4		4~6		6~8		0~8
		$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	%
No. 1	Bioassay	226	43.4	90	20.9	58	10.1	36	3.1	77.5
	EIA	218	41.9	68	15.8	79	13.8	37	3.2	74.7
No. 2	Bioassay	170	47.6	55	21.1	16	7.7	34	2.9	79.3
	EIA	172	48.2	76	29.2	20	9.6	41	3.5	90.5
No. 3	Bioassay	298	35.0	190	21.8	12	3.2	11	2.4	62.4
	EIA	354	41.5	209	24.0	18	4.8	18	3.9	74.2
No. 4	Bioassay	66	31.5	108	18.0	43	8.5	19	3.1	61.1
	EIA	52	24.8	115	19.2	44	8.7	24	3.9	56.6
Mean ± S.D.	Bioassay	190.0± 97.9	39.4± 7.4	110.8± 57.2	20.5± 1.7	32.3± 22.0	7.4± 3.0	25.0± 12.0	2.9± 0.3	70.1± 9.7
	EIA	199.0± 124.8	39.1± 10.0	117.0± 64.7	22.1± 5.8	40.3± 28.4	9.2± 3.7	30.0± 10.8	3.6± 0.3	74.0± 13.9

(2) HBK 100mg, i.m.

Volunteer	Time(hr) Assay	0~2		2~4		4~6		6~8		0~8
		$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	%
No. 1	Bioassay	121	23.0	34	12.4	17	5.8	25	3.3	44.5
	EIA	148	28.1	40	14.6	20	6.8	34	4.5	54.0
No. 2	Bioassay	175	45.5	108	22.8	22	7.2	21	4.2	79.7
	EIA	195	50.7	125	26.4	24	7.9	23	4.6	89.6
No. 3	Bioassay	204	32.6	179	27.7	58	11.8	24	3.6	75.7
	EIA	228	36.5	200	31.0	66	13.5	30	4.4	85.4
No. 4	Bioassay	512	43.0	190	22.0	100	9.1	55	3.4	77.5
	EIA	558	46.9	205	23.8	87	7.9	67	4.2	82.8
Mean ± S.D.	Bioassay	253.0± 176.1	36.0± 10.3	127.8± 72.3	21.2± 6.4	49.3± 38.4	8.5± 2.6	31.3± 15.9	3.6± 0.4	69.4± 16.6
	EIA	282.3± 186.7	40.6± 10.2	142.5± 77.5	24.0± 6.9	49.3± 32.7	9.0± 3.0	38.5± 19.5	4.4± 0.2	78.0± 16.2

(3) HBK 100mg, 1-hour i.v. infusion

Volunteer	Time(hr) Assay	0~1		1~2		2~4		4~6		6~8		0~8
		$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	%
No. 1	Bioassay	599	30.0	695	19.5	269	22.9	80	10.1	44	4.6	87.1
	EIA	473	23.7	715	20.0	355	30.2	99	12.5	49	5.1	91.5
No. 2	Bioassay	389	30.0	456	21.9	275	23.9	71	9.4	42	4.4	89.6
	EIA	438	33.7	490	23.5	303	26.4	83	11.0	44	4.6	99.2
No. 3	Bioassay	50	7.6	168	17.8	185	19.2	60	7.0	22	3.2	54.8
	EIA	51	7.8	195	20.7	195	20.3	67	7.8	31	4.6	61.2
No. 4	Bioassay	71	23.0	167	22.0	269	21.5	54	7.2	14	2.7	76.4
	EIA	94	30.5	162	21.4	297	23.8	61	8.1	24	4.7	88.5
Mean ± S.D.	Bioassay	277.3± 264.7	22.7± 10.6	371.5± 255.0	20.3± 2.0	249.5± 43.1	21.9± 2.0	66.3± 11.6	8.4± 1.6	30.5± 14.8	3.7± 0.9	77.0± 15.9
	EIA	264.0± 222.3	23.9± 11.5	390.5± 261.8	21.4± 1.5	287.5± 66.9	25.2± 4.2	77.5± 17.1	9.9± 2.3	37.0± 11.5	4.8± 0.2	85.1± 16.6

Table 6 Urinary levels and recovery rates of HBK after 1-hour intravenous constant infusion of 100mg

(1) HBK 100mg, 1-hour i.v. infusion alone

Volunteer	Time(hr) Assay	0~1		1~2		2~4		4~6		6~8		0~8
		$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	%
No. 5	Bioassay	106.4	23.0	276.1	22.1	204.1	21.2	42.0	9.3	11.9	2.9	78.4
	HPLC	85.9	18.6	268.2	21.5	212.4	22.1	37.3	8.2	11.3	2.7	73.1
	EIA	109.6	23.7	317.4	25.4	242.7	25.2	38.4	8.4	11.3	2.7	85.4
No. 6	Bioassay	281.1	19.7	680.8	20.4	455.9	26.4	163.8	10.7	58.8	4.7	81.9
	HPLC	253.1	17.7	669.3	20.1	381.7	22.1	110.4	7.2	49.4	4.0	71.1
	EIA	337.7	23.6	888.1	26.6	412.2	23.9	173.9	11.3	52.3	4.2	89.6
No. 7	Bioassay	620.5	27.9	527.9	20.6	201.4	18.5	61.8	8.8	28.7	3.3	79.1
	HPLC	553.1	24.9	565.1	22.0	185.8	17.1	50.5	7.2	26.6	3.0	74.2
	EIA	617.5	27.8	704.9	27.5	277.6	25.5	73.7	10.5	27.5	3.1	94.4
No. 8	Bioassay	57.0	24.4	171.8	22.3	144.7	22.0	49.7	10.5	15.4	4.2	83.4
	HPLC	36.6	15.7	145.4	18.9	116.1	17.6	40.8	8.6	0	0	60.8
	EIA	50.6	21.7	213.5	27.8	177.8	27.0	45.0	9.5	13.4	3.6	89.6
Mean ± S.D.	Bioassay	266.3± 255.0	23.8± 3.4	414.2± 232.2	21.4± 1.0	251.5± 139.0	22.0± 3.3	79.3± 56.9	9.8± 0.9	28.7± 21.3	3.8± 0.8	80.7± 2.4
	HPLC	232.2± 233.1	19.2± 4.0	412.0± 245.9	20.6± 1.4	244.0± 112.7	19.7± 2.8	59.8± 34.2	7.8± 0.7	21.8± 21.4	2.4± 1.7	69.8± 6.1
	EIA	278.9± 257.5	24.2± 2.6	531.0± 318.4	26.8± 1.1	277.6± 98.8	25.4± 1.3	82.8± 62.7	9.9± 1.3	26.1± 18.9	3.4± 0.6	89.8± 3.7

(2) HBK 100mg, 1-hour i.v. infusion combined with FOM (1g)

Volunteer	Time(hr) Assay	0~1		1~2		2~4		4~6		6~8		0~8
		$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	%
No. 5	Bioassay	160.6	24.1	169.6	22.4	166.3	20.0	54.5	9.7	7.3	2.7	78.8
	HPLC	142.1	21.3	167.4	22.1	155.4	18.6	42.2	7.5	7.0	2.5	72.0
	EIA	141.4	21.2	221.0	29.2	202.0	24.2	51.7	9.2	7.0	2.5	86.3
No. 6	Bioassay	484.1	23.7	345.3	24.9	152.5	18.0	74.8	10.2	23.4	3.5	80.2
	HPLC	511.4	25.1	330.1	23.8	180.4	21.3	59.2	8.1	26.0	3.9	82.2
	EIA	652.8	32.0	509.2	36.7	226.5	26.7	75.5	10.3	27.8	4.1	109.8
No. 7	Bioassay	98.0	27.0	119.8	23.6	42.7	19.1	13.2	7.3	7.4	2.7	79.7
	HPLC	89.5	24.6	100.8	19.9	43.2	19.3	12.6	7.0	7.7	2.9	73.7
	EIA	111.6	30.7	132.5	26.1	42.5	18.9	11.3	6.3	6.3	2.3	84.3
No. 8	Bioassay	174.0	20.2	124.3	20.4	109.5	20.7	21.3	8.8	7.7	3.5	73.5
	HPLC	185.5	21.5	134.9	22.1	103.2	19.5	21.2	8.7	7.8	3.6	75.4
	EIA	264.3	30.7	172.0	28.2	126.0	23.8	21.6	8.9	7.8	3.6	95.2
Mean ± S.D.	Bioassay	229.2± 173.1	23.8± 2.8	189.8± 106.1	22.8± 1.9	117.8± 55.6	19.5± 1.2	41.0± 28.8	9.0± 1.3	11.5± 8.0	3.1± 0.5	78.1± 3.1
	HPLC	232.1± 190.3	23.1± 2.0	183.3± 101.6	22.0± 1.6	120.6± 60.8	19.7± 1.2	33.8± 21.0	7.8± 0.7	12.1± 9.3	3.2± 0.6	75.8± 4.5
	EIA	292.5± 249.1	28.7± 5.0	258.7± 170.9	30.1± 4.6	149.2± 83.0	23.4± 3.3	40.0± 29.2	8.7± 1.7	12.2± 10.4	3.1± 0.8	93.9± 11.6



Fig. 4 Average serum levels of HBK, DKB and AMK after intramuscular injection of 100 mg

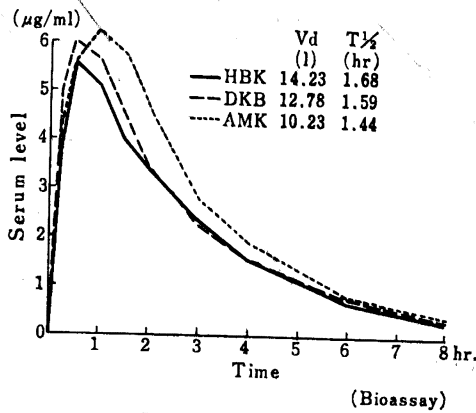


Fig. 5 Average urinary recovery rates of HBK in healthy volunteers of group A after intramuscular injection and 1-hour intravenous constant infusion

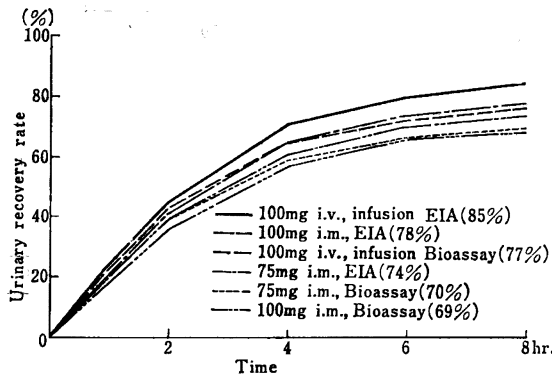
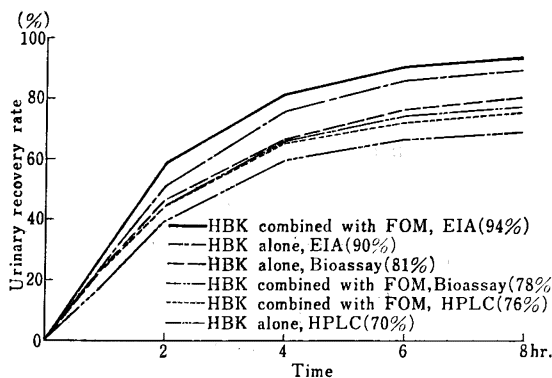


Fig. 6 Average urinary recovery rates of HBK in healthy volunteers of group B after 1-hour intravenous constant infusion of 100 mg alone and combined with FOM (1g)



EIA 測定値より低く, bioassay 値も EIA より低目のことが多かった。EIA で測定した 8 時間後までの HBK 尿中回収率は 74~94% で, FOM と併用した際にもこの範囲内にあった。

bioassay で測定した FOM の尿中回収を Table 7 に示した。血清中濃度と同じく FOM の尿中回収は HBK との併用の影響をうけず, FOM 単独使用時と同様な排泄を示した。

静脈内注入時には 3 通りの測定法で, 筋注時には bioassay と EIA 測定値による HBK の平均血清中濃度について, 静脈内注入時には two-compartment open model, 筋注時には one-compartment open model により解析した薬動学的パラメーターと FOM 静脈内注入時のパラメーターを Table 8 に示した。EIA 測定時のパラメーターによれば HBK の  $T_{1/2\beta}$ , あるいは  $T_{1/2}$  はおよそ 1.5 時間, renal clearance は 90~100 ml/min, body clearance は 109~120 ml/min で, 腎排泄型であった。FOM の血中濃度半減期もおよそ 1.5 時間で, このことは HBK と FOM を併用した場合の両剤の血清中濃度比が常に一定であることを示した。FOM の renal clearance および body clearance はそれぞれおよそ 150 ml/min, 160 ml/min で, 腎排泄型であった。

### III. 考 察

抗生剤の体内濃度測定は bioassay のほかに近年 radioimmunoassay (RIA), EIA, HPLC が行なわれるようになり, 特にアミノ糖抗生剤は  $\beta$ -ラクタム剤に比べて bioassay の精度に問題があって, 上記の非生物学的測定法の方が優れているといわれ, 臨床的にアミノ糖抗生剤を使用中の患者の血清中濃度のモニタリングにも用いられている<sup>8,9)</sup>。

既に著者の一人山作は micronomicin の体内濃度測定を HPLC で行ない, 妥当性のある結果を得た<sup>7)</sup>ので, 今回の HBK の血清中, 尿中濃度は bioassay とともに EIA, さらに途中から HPLC を加えて 3 通りの測定法による比較を行なった。その結果, bioassay による測定値は HBK の場合にもばらつきが大きく, 信頼性に欠け, HPLC は B 群の測定値が A 群に比較して高く, EIA では両群を通じて最も安定した測定値が得られ, A 群の使用量, 使用法を変えた試験でも妥当な用量依存性を示し, 最も信頼できる成績が得られた。

そこで, 薬動学的パラメーターも EIA 測定時のものを用いて 75 mg および 100 mg の筋注とそれぞれ 1/2, 2 時間点滴静注時の HBK 血清中濃度のシミュレーション曲線を描き, Fig. 8, 9 に示した。GM や TOB 使用時には最高血清中濃度が 12  $\mu$ g/ml を越えず, かつ, 次回注射前の最低血清中濃度が 2  $\mu$ g/ml 以下であれば副

Fig. 7 Correlation between urinary levels of HBK by the EIA, the HPLC and the bioassay

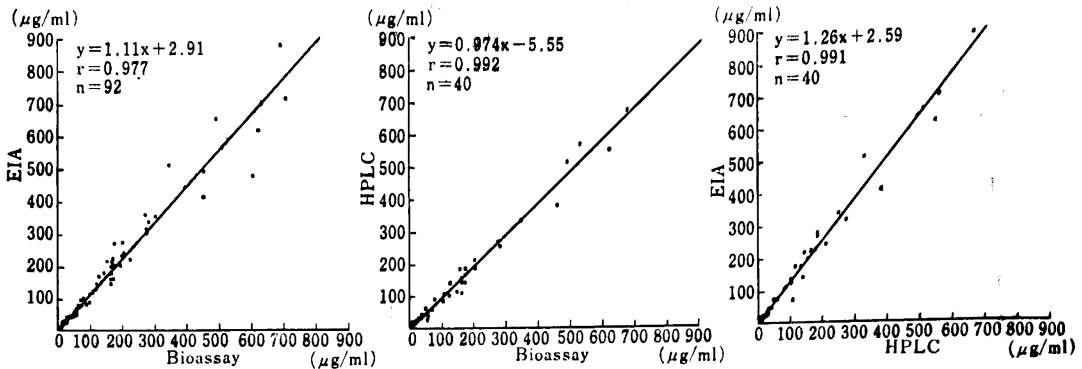


Table 7 Urinary levels and recovery rates of FOM after 1-hour intravenous constant infusion of 1g

(1) FOM 1g, 1-hour i.v. infusion alone

Time(hr)	0~1		1~2		2~4		4~6		6~8		0~8
	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	%
No. 5	854.0	29.1	1253.3	25.3	1485.5	22.9	552.1	9.7	114.3	4.6	91.6
No. 6	4660.0	25.2	4609.0	24.0	3496.8	24.5	1110.0	10.8	457.8	6.8	91.3
No. 7	7673.2	27.6	8260.1	27.3	2136.7	19.2	412.7	9.9	170.7	4.9	88.9
No. 8	1373.9	24.7	3172.4	24.1	1737.9	23.3	921.4	10.9	418.6	7.2	90.2
Mean $\pm$ S.D.	$3640.3 \pm 3173.0$	$26.7 \pm 2.1$	$4323.7 \pm 2962.5$	$25.2 \pm 1.5$	$2214.2 \pm 896.1$	$22.5 \pm 2.3$	$749.1 \pm 322.4$	$10.3 \pm 0.6$	$290.4 \pm 173.0$	$5.9 \pm 1.3$	$90.5 \pm 1.2$

(Bioassay)

(2) FOM 1g, 1-hour i.v. infusion combined with HBK (100mg)

Time(hr)	0~1		1~2		2~4		4~6		6~8		0~8
	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	$\mu\text{g/ml}$	%	%
No. 5	1957.6	29.4	2078.6	27.4	1832.0	22.0	538.7	9.6	125.0	4.5	92.9
No. 6	5717.9	28.0	3407.4	24.5	1873.6	22.1	698.1	9.5	426.7	6.4	90.5
No. 7	1201.2	33.0	1318.4	26.0	466.7	20.8	157.0	8.7	121.0	4.5	93.0
No. 8	2217.0	25.7	1553.5	25.4	1212.3	22.9	260.1	10.7	116.7	5.3	90.0
Mean $\pm$ S.D.	$2773.4 \pm 2009.7$	$29.0 \pm 3.1$	$2089.5 \pm 934.3$	$25.8 \pm 1.2$	$1346.2 \pm 659.7$	$22.0 \pm 0.9$	$413.5 \pm 249.0$	$9.6 \pm 0.8$	$197.4 \pm 152.9$	$5.2 \pm 0.9$	$91.6 \pm 1.6$

(Bioassay)

Table 8 Pharmacokinetic parameters of HBK and FOM

	HBK					FOM
	Intravenous constant infusion			Intramuscular injection		Intravenous constant infusion
	Bioassay Mean ( $n=12$ )	HPLC Mean ( $n=12$ )	EIA Mean ( $n=12$ )	Bioassay Mean ( $n=8$ )	EIA Mean ( $n=8$ )	Bioassay Mean ( $n=8$ )
$\beta$ or $K_{el}(\text{hr}^{-1})$	0.328	0.387	0.446	0.419	0.458	0.443
$T_{1/2\beta}$ or $T_{1/2}$ (hr)	2.11	1.79	1.55	1.65	1.51	1.56
Vd $\beta$ or Vd(l)	19.4	15.1	14.6	13.5	15.7	22.2
ClB (ml/min)	106.0	97.4	108.9	94.5	120.1	164.5
Clr (ml/min)	85.8	73.6	99.5	68.5	90.3	152.1

Fig. 8 Simulated serum levels of HBK at the dose of 75 mg by the EIA method

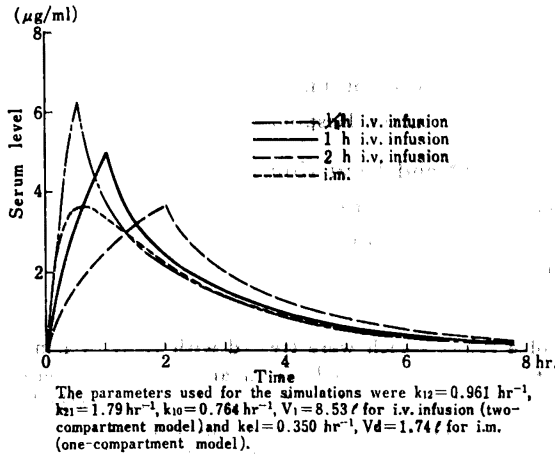
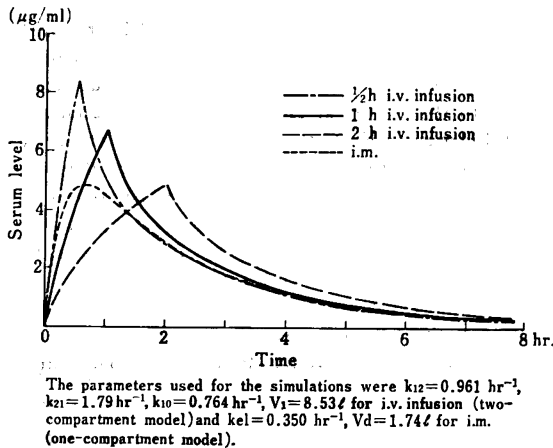


Fig. 9 Simulated serum levels of HBK at the dose of 100 mg by the EIA method



作用出現頻度が少なく、治療効果を期待し得る有効濃度としては最高血清中濃度で  $4 \mu\text{g/ml}$  以上が求められている<sup>6)</sup>が、動物実験による HBK の腎毒性<sup>7)</sup>と聴器毒性<sup>8)</sup>は DKB より低いので、上記の血清中濃度の基準を適用することは問題がない。安全性に関しては HBK 100 mg を 1/2 時間で点滴しても最高血清中濃度は  $8 \mu\text{g/ml}$  台であり、有効性に関しては 100 mg 使用時の 4 通りの使用法の全てと 75 mg 使用時の 1/2, 1 時間での点滴静注時のシミュレーション曲線のピークが  $4 \mu\text{g/ml}$  を越えた。本試験の被検者 8 名の平均体重は 65.4 kg で、100 mg および 75 mg 使用時の被検者の平均体重当り使用量はそれぞれ  $1.53 \text{ mg/kg}$  と  $1.17 \text{ mg/kg}$  となる。したがっ

て HBK を臨床的に用いる際の最初の使用量は点滴静注時には 1 回量  $1.2 \sim 1.5 \text{ mg/kg}$ 、筋注時には  $1.5 \text{ mg/kg}$  で治療を開始して、使用中に血清中濃度をモニタリングして使用量を補正するのが適当と思われた。

アミノ糖抗生剤に FOM を併用するとアミノ糖抗生剤の腎の lysosome 中への取り込みが抑制され、腎毒性を予防する<sup>9-10)</sup>という報告があるが、ヒトでの併用時の両剤の血清中濃度に対する相互作用についての検索はされていない。両剤の常用使用量を併用した今回の試験では HBK も FOM も血清中濃度、尿中回収ともそれぞれの単独使用時と同一で、腎毒性を予防する可能性とともに、両剤の血清中濃度比が常に一定であることから双方に感受性菌の場合には併用効果も期待し得るものと思われた。

## 文 献

- 1) 三橋 進: 抗菌力. *Chemotherapy* 32: 257, 1984
- 2) Ueda, T.; N. Shimada, T. Yokoshima, T. Shomura, I. Komiya & S. Shinkai: A rapid enzyme immunoassay for measurement of HBK in blood. *J. Immunoassay* (in press)
- 3) 田中美雄, 篠崎公一, 増原慶壮, 荒井 栄, 高橋 悟, 佐野隆志, 染谷一彦, 佐々木康人: 血中トブラマイシンの測定法 5 種の比較検討. *Chemotherapy* 31: 324~330, 1983
- 4) 渡辺 誠, 三橋慎一, 石川道雄, 山岡澄夫, 真下啓明: トブラマイシン使用時の血中濃度モニタリングの試み. *Chemotherapy* 30: 755~759, 1982
- 5) 山作房之輔: Micronomicin の定速度静脈内持続注入時の薬動力学的研究. *Jap. J. Antibiotics* 36: 3283~3290, 1983
- 6) MAITRA, S. K.; T. YOSHIKAWA, L. B. GUZE & M. C. SCHOTZ: Determination of aminoglycoside antibiotics in biological fluids: A review. *Clin. Chem.* 25: 1361~1367, 1979
- 7) 斎藤 篤: 腎毒性. *Chemotherapy* 32: 258, 1984
- 8) 秋吉正豊: 聴器毒性. *Chemotherapy* 32: 258, 1984
- 9) BERTELLI, A.; L. GIOVANNINI & A. PAPARELLI: Reduced gentamicin nephrotoxicity by fosfomicin association. *Future Trends Chemoth.* 4: 429~432, 1981
- 10) NEUMAN, M.: Comparative study of the renal toxicity of amikacin alone and combined with fosfomicin. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 11: 9~20, 1982
- 11) 藤田公生, 藤田弘子, 阿曾佳郎: アミノ配糖体系抗生物質の腎蓄積に対するホスホマイシンの効果. *Jap. J. Antibiotics* 36: 3392~3394, 1983

## PHARMACOKINETICS OF HBK IN HEALTHY ADULT VOLUNTEERS

FUSANOSUKE YAMASAKU and YASUTOSHI SUZUKI  
Department of Internal Medicine, Suibarago Hospital

SACHIHIKO SHINKAI\*, TOMOKO SHOMURA\* and IZUMI KOMIYA\*\*

\* Pharmaceutical Development Laboratories,

\*\* Pharmacology & Toxicology Laboratories,

Meiji Seika Kaisha, Ltd.

Two groups of healthy adult subjects consisting of 4 subjects each were treated with HBK by i. m. route or by i. v. infusion route using rate constant infusion pump, and serum and urinary concentrations of HBK were determined by bioassay, EIA and HPLC methods. Among the three methods used for determination of HBK concentrations in biological fluids, EIA gave the most stable and reliable results. The results obtained by HPLC were sometimes similar to those obtained by EIA, but it was often that HPLC gave higher values for serum concentration and lower values for urinary concentration. On the other hand, results obtained by bioassay method showed scatterings, with low reliability.

Following i. m. injection of 75 and 100 mg, the serum concentrations as determined by EIA reached its peak of 3.7 and 4.9  $\mu\text{g/ml}$ , respectively, at 30 min after the administration, showing dose dependency. The peak concentration following i. v. infusion of 100 mg for 1 hr was 6.4  $\mu\text{g/ml}$ , but from 2 hr later the serum concentration became almost similar to that noted after i. m. injection. Changes in the serum concentration following i. m. injection of 100 mg HBK were similar to those observed with i. m. injection of DKB or AMK at the same dose. The serum concentration observed after i. v. infusion of HBK 100 mg and FOM 1 g simultaneously taking 1 hr was similar to that obtained after administration of each drug alone.

The urinary recovery of HBK within 8 hr after administration as determined by EIA was 74 to 94% of the dose, being in this range when HBK was administered with FOM 1 g combinedly.

Analysis of results of EIA revealed  $T_{1/2}$  values of mean serum concentration were 1.55 hr for i. v. route and 1.51 hr for i. m. route, with mean distribution volume at mean serum concentration being 14.6 and 15.7 l, body clearance 108.9 and 120.1 ml/min and renal clearance 99.5 and 90.3 ml/min, respectively.