

新アミノ配糖体系抗生物質 HBK に関する細菌学的評価

数野勇造・常田早苗・田村 淳・白石志能・高田ひろみ

笠井隆夫・陣崎道子・原 哲郎・吉田 隆

明治製菓株式会社薬理安全性研究所

新しいアミノ配糖体抗生物質である HBK の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について細菌学的検討を行ない、次のような成績を得た。

(1) HBK はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に優れた抗菌力を示した。また、HBK は Gentamicin 耐性の *E. coli*, *P. inconstans*, *P. aeruginosa* に対して強い抗菌力を示した。

(2) HBK の各種臨床分離株に対する抗菌力は Gentamicin と同等あるいはやや劣るものの、Amikacin や Dibekacin よりも優れていた。また、Gentamicin 耐性ブドウ球菌に対しては、HBK は優れた抗菌力を示した。

(3) HBK は殺菌的に作用した。

(4) マウス実験の感染症に対して HBK は Gentamicin および Dibekacin 耐性菌による感染症に対しても優れた効果を示した。

(5) HBK は APH(3')-I, APH(3')-II, AAC(2'), AAC(3), AAD(2'), AAD(4') 等のアミノ配糖体不活性化酵素を産生する菌株に有効であった。

Table 1 Antibacterial activity of HBK, GM, AMK and DKB

HBK は、梅沢浜夫博士ら¹⁾によって合成された Dibekacin の誘導体である。構造式および化学名を Fig. 1 に示した。

今回は HBK の *in vitro*, *in vivo* における細菌学的評価について、Gentamicin, Amikacin および Dibekacin を対照薬剤として検討を行なったので報告する。

I. 実験材料および実験方法

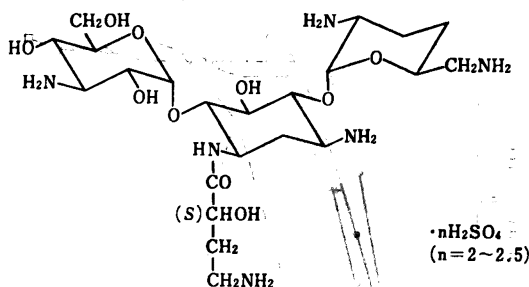
1. 使用菌株

当研究所保存の標準株および臨床分離株を使用した。

2. 使用薬剤

HBK, Gentamicin (GM), Amikacin (AMK) および Dibekacin (DKB) はいずれも明治製菓(株)の製品で力価の明らかなものを用いた。

Fig. 1 Structure of HBK



6-O-(3-Amino-3-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-4-O-(2,6-diamino-2,3,4,6-tetrahydroxy- α -D-erythro-hexopyranosyl)-1-N-[(S)-4-amino-2-hydroxybutyl]-2-deoxy-D-streptamine sulfate

Organisms	MIC (μ g/ml)			
	HBK	GM	AMK	DKB
<i>S. aureus</i> 209P JC-1	0.05	≤ 0.025	0.78	0.05
<i>S. aureus</i> SMITH	0.20	≤ 0.025	0.78	0.10
<i>S. aureus</i> Apo-1 ^{a)}	0.20	0.05	0.78	0.10
<i>S. epidermidis</i> 109 ^{a)}	0.10	0.05	1.56	0.39
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0.10	0.10	0.20	0.10
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0.78	0.20	1.56	0.78
<i>E. coli</i> No. 29	3.13	3.13	6.25	3.13
<i>E. coli</i> K-12 R5 ^{b)}	6.25	0.39	25	50
<i>E. coli</i> ML1410	0.78	0.39	1.56	0.78
<i>E. coli</i> ML1410 R81 ^{c)}	0.78	0.39	1.56	0.78
<i>E. coli</i> ML1410 R55 ^{d)}	0.78	25	1.56	100
<i>K. pneumoniae</i> PCI602	0.78	0.39	1.56	0.78
<i>S. dysenteriae</i> SHIGAE	0.78	0.39	1.56	0.78
<i>S. typhi</i> O-901-W	0.78	0.39	0.78	0.78
<i>S. enteritidis</i> No. 11	0.78	0.78	1.56	1.56
<i>P. mirabilis</i> J-Q010	0.39	0.39	1.56	0.78
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0.78	0.39	1.56	0.78
<i>P.morganii</i> Kono	1.56	0.39	1.56	1.56
<i>P. rettgeri</i> J-0026	3.13	25	1.56	50
<i>P. inconstans</i> Pv16 ^{e)}	0.78	12.5	0.78	25
<i>S. marcescens</i> No. 1	1.56	0.39	1.56	3.13
<i>P. aeruginosa</i> IAM 1007	0.78	1.56	1.56	0.78
<i>P. aeruginosa</i> E-2	3.13	3.13	3.13	1.56
<i>P. aeruginosa</i> H9 ^{f)}	3.13	3.13	6.25	3.13
<i>P. aeruginosa</i> TI-13 ^{g)}	1.56	3.13	1.56	1.56
<i>P. aeruginosa</i> 99 ^{h)}	3.13	100	3.13	3.13

Resistant mechanism:

^{a)} AAD(4'), ^{b)} AAC(6'), ^{c)} APH(3')-I, ^{d)} AAD(2'),
^{e)} AAC(2'), ^{f)} APH(3')-II, ^{g)} AAC(3)

3. 感受性測定

最小発育阻止濃度 (MIC) は、日本化学療法学会標準法³⁾に従い、増菌用培地として Sensitivity Test Broth (栄研)、測定用培地として Sensitivity Disc Agar (ニッスイ) を用いた寒天平板希釈法により求めた。

4. 増殖曲線におよぼす影響

Mueller-Hinton Broth (BBL) で前培養した *S. aureus* 209 P JC-1, *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* PCI 602 および *P. aeruginosa* E-2 を同 Broth で希釈し、さらに 37°C で 2~3 時間振盪培養を行なった。この菌液

を 10⁶ CFU/ml となるように調製し、これに所定濃度の各薬剤を添加し、経時的に生菌数を測定した。

5. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

抗菌力におよぼす接種菌量、培地 pH およびヒト血清添加の影響を *S. aureus* SMITH, *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* PCI 602, *P. vulgaris* OX-19, *S. marcescens* IAM 1223 および *P. aeruginosa* E-2 を用いて検討した。Mueller-Hinton Agar (BBL) を測定培地とした寒天平板希釈法により、各薬剤における MIC 値の変動を測定して諸因子の影響を調べた。

Table 2 Antibacterial activity of HBK, GM, AMK and DKB against clinical isolates

Organisms	No. of strains	MIC ₁₀ (μg/ml)				MIC ₅₀ (μg/ml)			
		HBK	GM	AMK	DKB	HBK	GM	AMK	DKB
<i>S. aureus</i>	92	0.39	0.39	1.56	0.39	0.78	12.5	6.25	25
Coagulase (-) Staphylococci	55	0.20	0.10	1.56	0.20	0.39	0.20	6.25	3.13
<i>S. pyogenes</i>	25	12.5	6.25	25	25	12.5	12.5	25	50
<i>E. coli</i>	92	0.78	0.78	1.56	1.56	1.56	0.78	3.13	1.56
<i>E. cloacae</i>	40	0.78	0.39	0.78	0.78	6.25	1.56	6.25	25
<i>C. freundii</i>	27	0.78	0.39	1.56	0.78	1.56	0.78	3.13	1.56
<i>K. pneumoniae</i>	78	0.78	0.39	0.78	0.78	3.13	6.25	3.13	12.5
<i>K. oxytoca</i>	29	0.78	0.39	1.56	0.78	3.13	25	3.13	50
<i>P. mirabilis</i>	20	3.13	0.78	3.13	0.78	6.25	0.78	3.13	1.56
<i>P. vulgaris</i>	21	0.78	0.39	0.39	0.78	3.13	6.25	0.78	100
<i>P. morgani</i>	32	0.78	0.39	0.78	0.78	1.56	1.56	3.13	12.5
<i>S. marcescens</i>	46	12.5	1.56	12.5	100	100	50	50	>100
<i>P. aeruginosa</i>	51	3.13	3.13	6.25	1.56	100	50	50	>100
<i>A. calcoaceticus</i>	23	0.78	0.39	1.56	0.78	6.25	25	25	25
<i>H. influenzae</i>	62	1.56	0.78	3.13	1.56	3.13	1.56	6.25	1.56
GM-resistant <i>S. aureus</i>	13	0.78	50	6.25	50	3.13	100	12.5	100
GM-resistant Staphylococci	29	0.39	50	6.25	25	0.78	>100	6.25	25

Fig. 2 Sensitivity distribution of clinical isolates

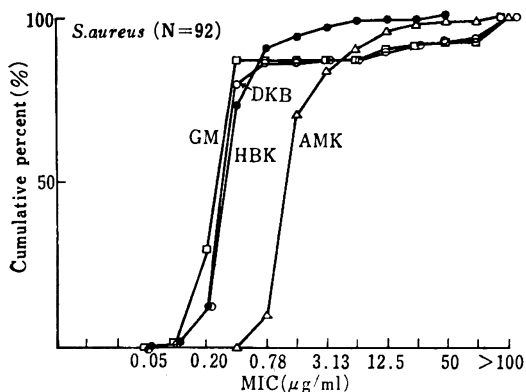
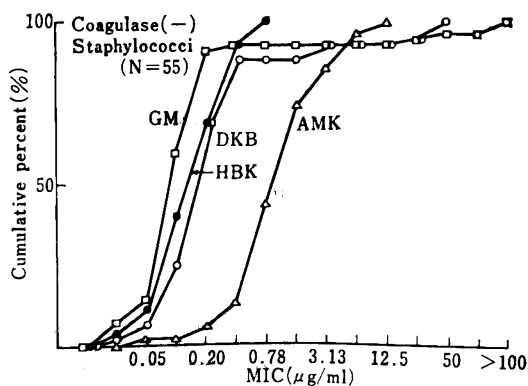


Fig. 3 Sensitivity distribution of clinical isolates



6. マウス実験的感染症に対する感染防禦効果

ICR 系雄マウス (4週齢, 体重 20 ± 1 g) を用いた。被検菌として *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens* および *P. aeruginosa* を用い, 腹腔内感染後 2 時間目に薬剤を皮下投与した。感染 7 日後の生存率か

Fig. 4 Sensitivity distribution of clinical isolates

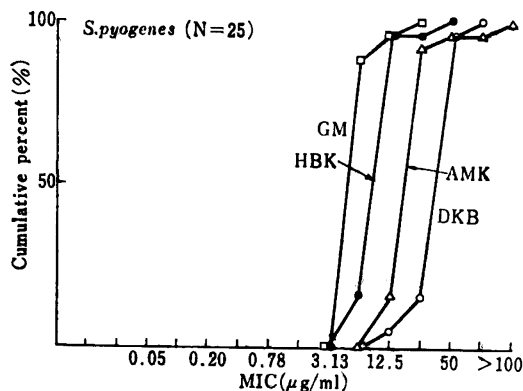


Fig. 5 Sensitivity distribution of clinical isolates

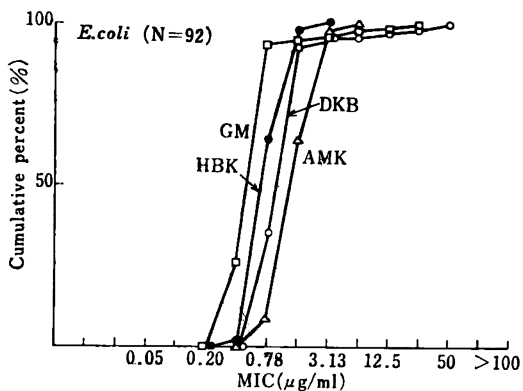
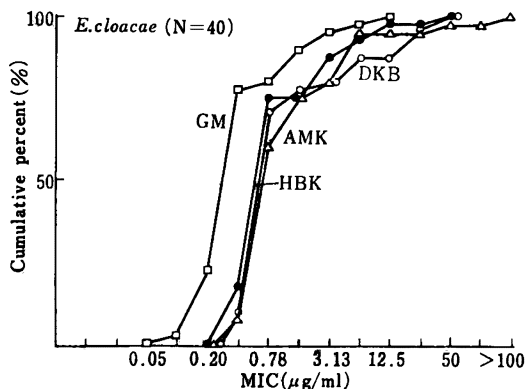


Fig. 6 Sensitivity distribution of clinical isolates



ら ED_{50} 値を Litchfield-Wilcoxon 法により算出した。

II. 実験結果

1) 抗菌スペクトル

グラム陽性菌, グラム陰性菌に対する HBK の抗菌スペクトルを検討した結果を Table 1 に示した。HBK は

Fig. 7 Sensitivity distribution of clinical isolates

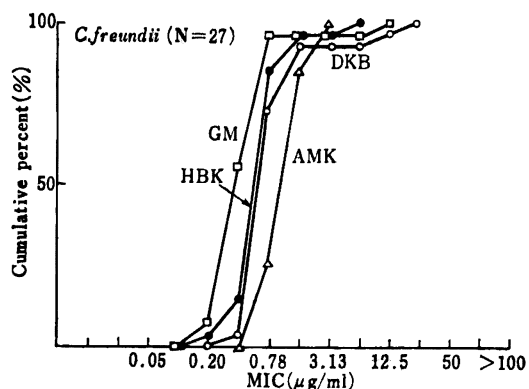


Fig. 8 Sensitivity distribution of clinical isolates

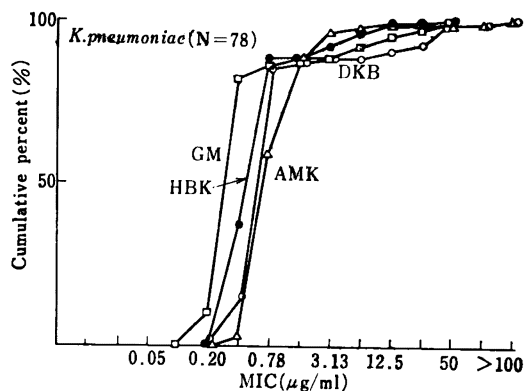
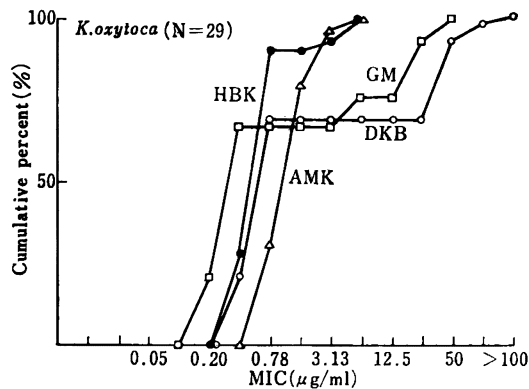


Fig. 9 Sensitivity distribution of clinical isolates



グラム陽性菌, グラム陰性菌に対し広領域の抗菌スペクトルを有していた。HBKの抗菌力は全体的にGMより劣るもののAMKやDKBよりも優れていた。HBKはアミノ配糖体不活性化酵素産生の *S. aureus* AAD(4'), *S. epidermidis* AAD(4'), *E. coli* APH(3')-I, *P. aeruginosa* APH(3')-I, APH(3')-II, のほか, GM耐性菌

Fig. 10 Sensitivity distribution of clinical isolates

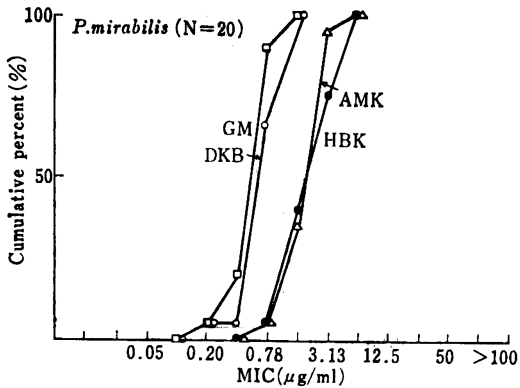


Fig. 11 Sensitivity distribution of clinical isolates

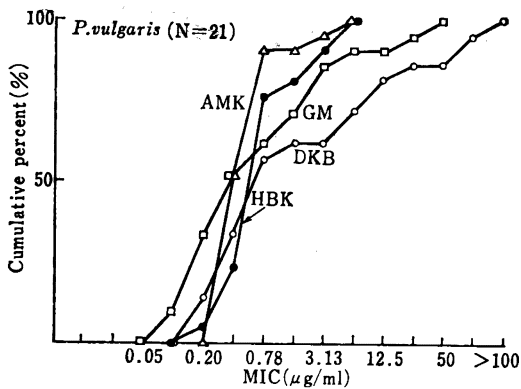
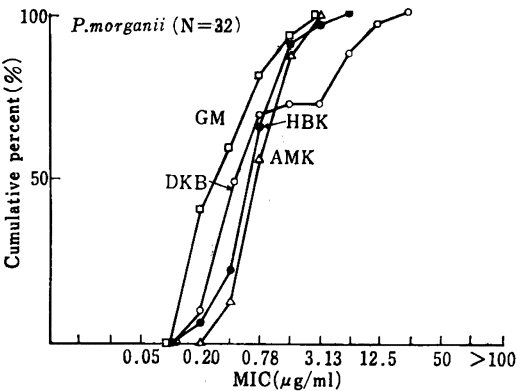


Fig. 12 Sensitivity distribution of clinical isolates



E. coli AAD(2''), *P. inconspans* AAC(2'), *P. aeruginosa* AAC(3) に対しても有効であった。しかし, *E. coli* AAC(6') に対し, GMに比べその抗菌力は劣っていたが, DKBより優れていた。

2) 臨床分離株に対する感受性

臨床分離株 15 菌種に対する HBK の感受性を検討し

Fig. 13 Sensitivity distribution of clinical isolates

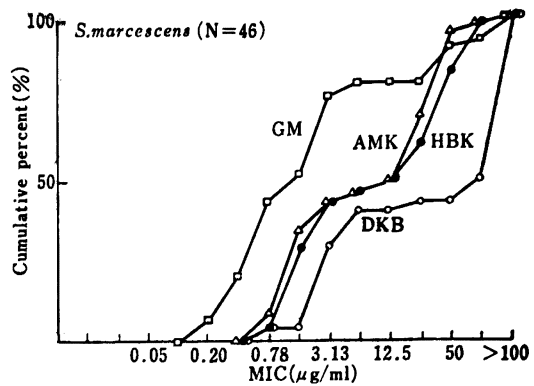


Fig. 14 Sensitivity distribution of clinical isolates

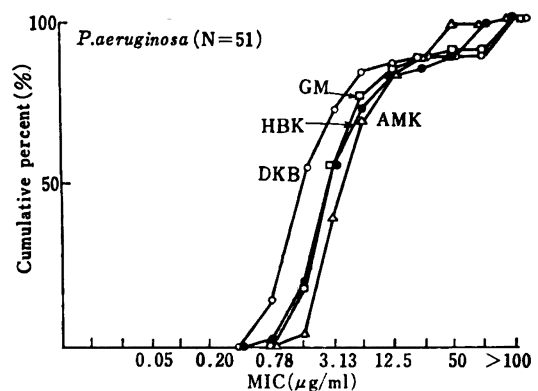
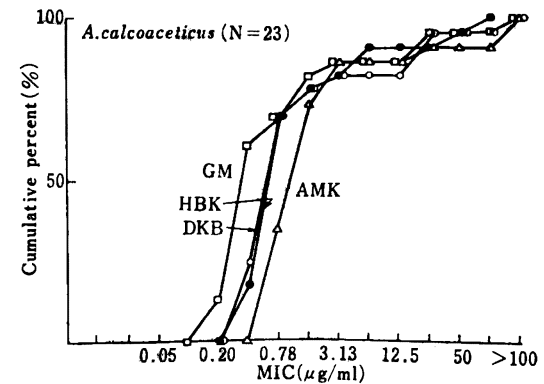


Fig. 15 Sensitivity distribution of clinical isolates



た。その結果は、累積百分率として Fig. 2~Fig. 16 に示し、また菌種ごとに 50%, 90% の菌株の発育を阻止する薬剤濃度 MIC_{50} , MIC_{90} をそれぞれ Fig. から求め Table 2 に示した。さらに GM に対する MIC が 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の *S. aureus* および Coagulase(-) Staphylococci の累積百分率を Fig. 17 および Fig. 18 に示した。

S. aureus: MIC_{50} は HBK, GM, DKB とともに 0.39 $\mu\text{g/ml}$, AMK で 1.56 $\mu\text{g/ml}$ であったが、HBK の MIC_{90} は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ であり、GM, AMK および DKB より優れた抗菌力であった。*S. aureus* の中には GM, AMK, DKB 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性菌が使用菌株の 10% 強に認められた (Fig. 2)。

Coagulase(-) Staphylococci: HBK の MIC_{90} は 0.39 $\mu\text{g/ml}$ で AMK および DKB より優れ、GM と同等の抗菌力を示した。また、GM と DKB では 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性菌がみられたが、HBK と AMK には耐性菌はみられなかった (Fig. 3)。

S. pyogenes: HBK の MIC_{90} は 12.5 $\mu\text{g/ml}$ であり、AMK と DKB より 1 管以上優れた抗菌力を示した (Fig. 4)。

E. coli: HBK の MIC_{90} は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ であり、GM よりやや劣るものの AMK より 1 管程度優れた抗菌力を示した (Fig. 5)。

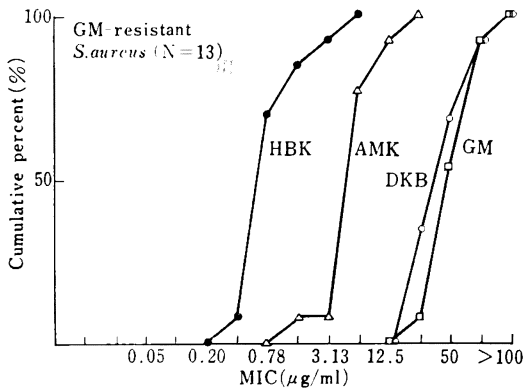
E. cloacae: HBK の MIC_{90} は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であり、その抗菌力は AMK と同程度であったが、GM の MIC_{90} 1.56 $\mu\text{g/ml}$ に比べて劣っていた (Fig. 6)。

C. freundii: HBK と DKB の MIC_{90} は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ であり、GM より劣るものの、AMK より優れた抗菌力を示した (Fig. 7)。

K. pneumoniae: HBK の MIC_{90} は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ であり、GM, AMK とほぼ同程度の抗菌力を示した (Fig. 8)。

K. oxytoca: HBK の MIC_{90} は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ であり、

Fig. 17 Sensitivity distribution of clinical isolates



AMK と同等で GM および DKB より優れた抗菌力を示した。GM と DKB については、 MIC_{50} と MIC_{90} の間には著しい差が認められ、その 7% に 25 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性菌が認められた (Fig. 9)。

P. mirabilis: HBK の MIC_{90} は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であり、AMK の MIC_{90} 3.13 $\mu\text{g/ml}$ に比べやや劣った。GM の MIC_{90} は 0.78 $\mu\text{g/ml}$ で HBK, AMK に比べ強い抗菌力を示した (Fig. 10)。

P. vulgaris: HBK の MIC_{90} は 3.13 $\mu\text{g/ml}$ で AMK より劣るものの GM より 1 管程度強い抗菌力を示した。GM と DKB に対する耐性菌も認められた (Fig. 11)。

P.morganii: HBK の MIC_{90} は 1.56 $\mu\text{g/ml}$ であり、GM, AMK のそれはそれぞれ 1.56, 3.13 $\mu\text{g/ml}$ であった。DKB に 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 以上の耐性菌が 5% に認められた (Fig. 12)。

S. marcescens: HBK の MIC_{90} は 100 $\mu\text{g/ml}$ であり、GM, AMK より劣る抗菌力を示した (Fig. 13)。

P. aeruginosa: HBK の MIC_{90} は 100 $\mu\text{g/ml}$ であり、GM, AMK と同等の抗菌力を示した (Fig. 14)。

A. calcoaceticus: MIC_{50} の値は GM, HBK=DKB,

Fig. 16 Sensitivity distribution of clinical isolates

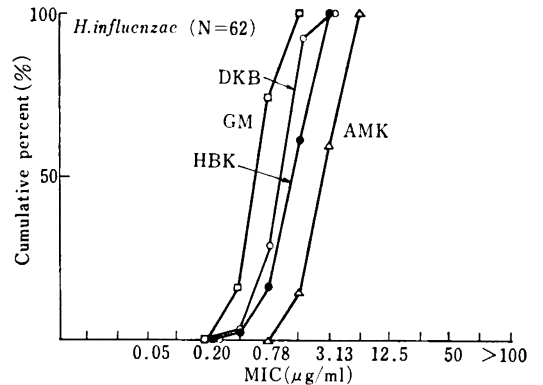
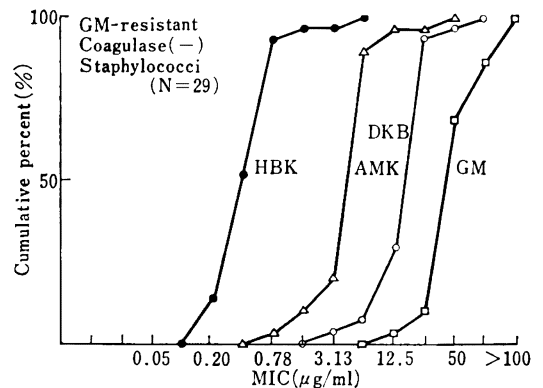


Fig. 18 Sensitivity distribution of clinical isolates



AMK の順に優れていたが、 MIC_{90} では HBK は GM, AMK, DKB より優れた値を示した (Fig. 15)。

H. influenzae: HBK の MIC_{90} は $8.13 \mu\text{g/ml}$ であり、GM と DKB より劣るものの AMK より優れた抗菌力を示した (Fig. 16)。

GM 耐性 *S. aureus*: HBK の MIC_{90} は $3.13 \mu\text{g/ml}$ であり、GM, AMK, DKB より明らかに優れた抗菌力

を示した (Fig. 17)。

GM 耐性 Coagulase(-) *Staphylococci*: HBK の MIC_{90} は $0.78 \mu\text{g/ml}$ であり、GM 耐性 *S. aureus* と同様 GM, AMK, DKB より明らかに優れた抗菌力を示した (Fig. 18)。

3. 増殖曲線におよぼす影響

S. aureus 209 P JC-1, *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneu-*

Fig. 19 Bactericidal activity of HBK, GM and AMK against *S. aureus* 209 P JC-1

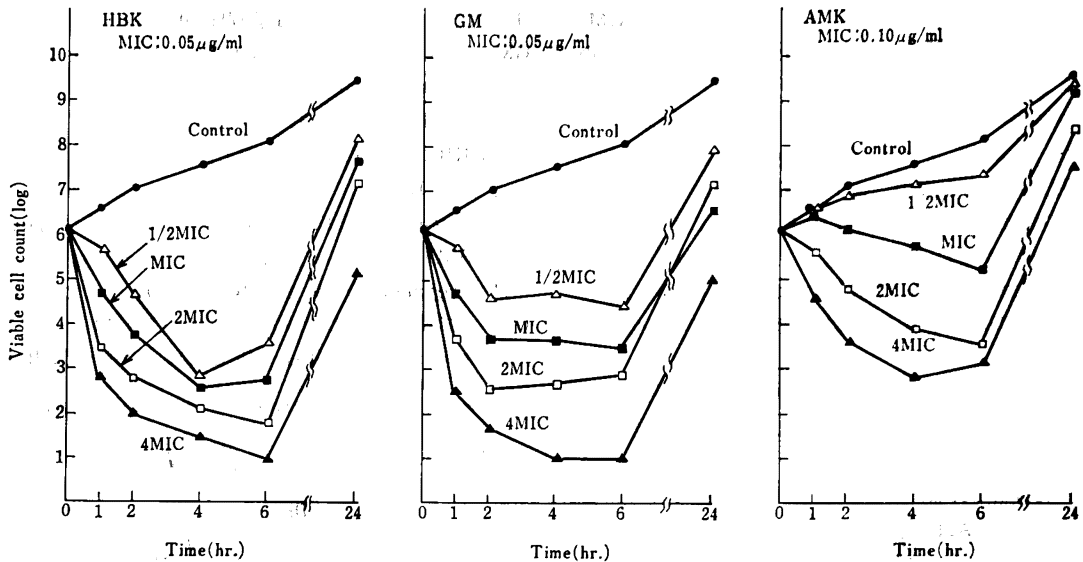


Fig. 20 Bactericidal activity of HBK, GM and AMK against *E. coli* NIHJ JC-2

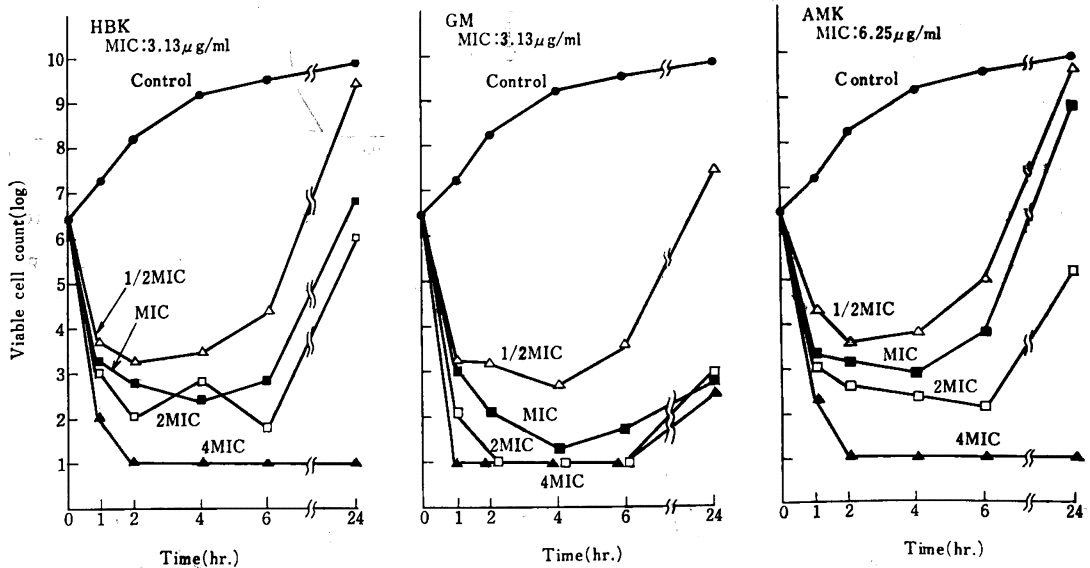
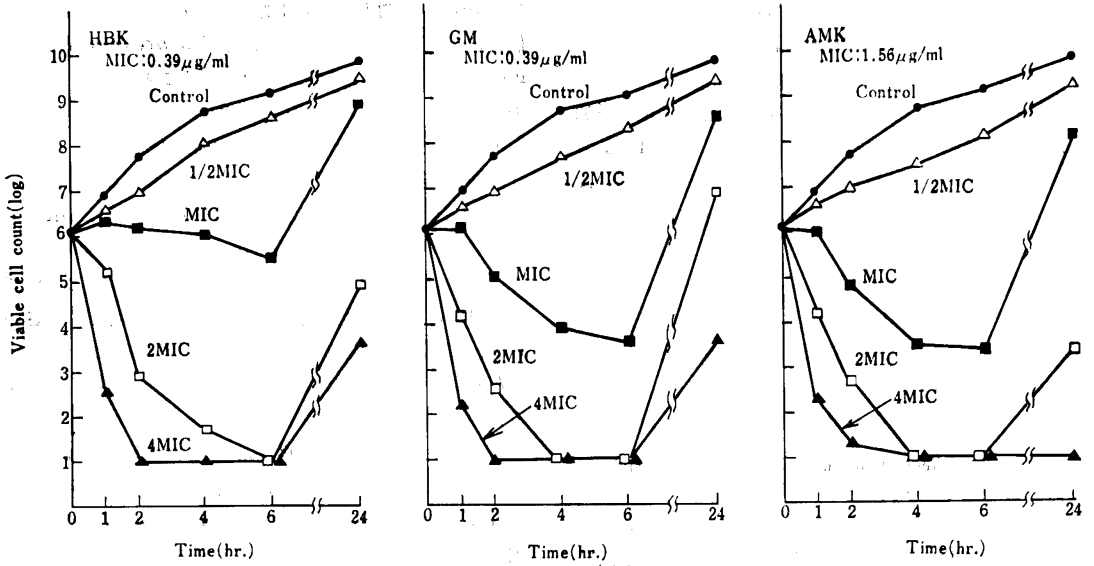
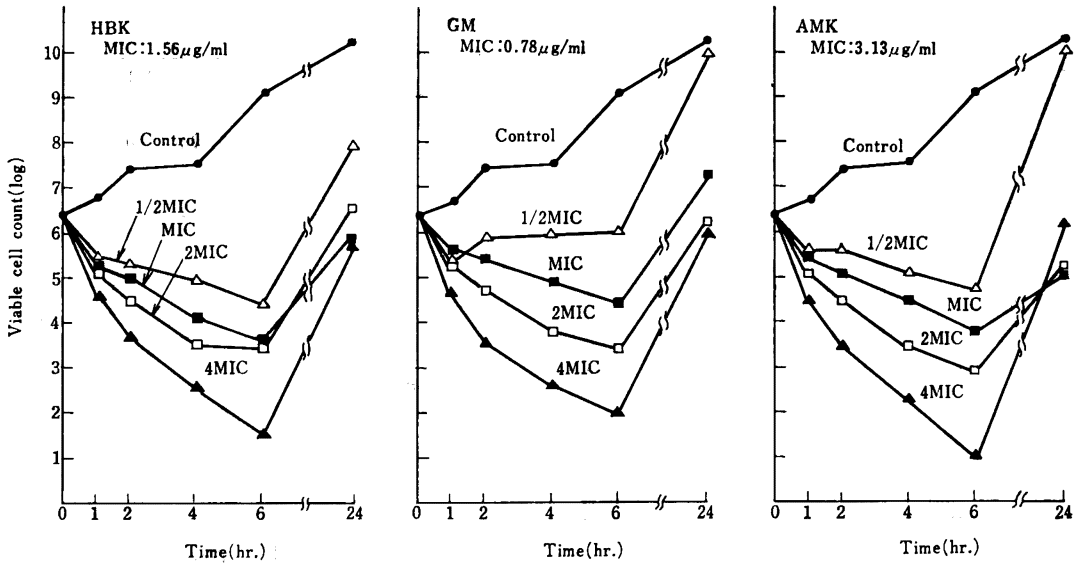


Fig. 21 Bactericidal activity of HBK, GM and AMK against *K. pneumoniae* PCI 602Fig. 22 Bactericidal activity of HBK, GM and AMK against *P. aeruginosa* E-2

moniae PCI 602 および *P. aeruginosa* E-2 を用いて、増殖曲線におよぼす影響について GM, AMK を対照薬剤として検討した。

S. aureus では、HBK は 1/2 MIC でも殺菌的に作用したが、GM ではその作用は弱く、AMK の 1/2 MIC では殺菌作用がみられなかった。3 薬剤とも 4 MIC で 24 時間後に再増殖がみられた (Fig. 19)。

E. coli では、3 薬剤とも低い濃度でも殺菌的な作用がみられた。HBK では AMK と同様に 4 MIC で再増殖がみられなかったが、GM では再増殖が認められた (Fig. 20)。

K. pneumoniae では、3 薬剤ともほぼ同様の曲線パターンがみられ、2 MIC, 4 MIC で殺菌作用がみられた (Fig. 21)。

P. aeruginosa では、3薬剤ともに再増殖がみられ、比較的弱い殺菌作用が認められた (Fig. 22)。

4. 抗菌力におよぼす諸因子の影響

1) 接種菌量の影響

3薬剤とも、使用菌株すべてに対して接種菌量の増加にともない MIC 値は大きくなり、菌量による 1~3 管程度の抗菌力の変動が認められた。しかし、HBK は AMK, DKB に比べて変動は比較的少なかった (Table 3)。

2) 培地 pH による影響

HBK, AMK, DKB ともに使用菌株に対する抗菌力は酸性側で弱く、アルカリ側で強くなる傾向を示した (Table 4)。

3) ヒト血清添加による影響

Table 3 Effect of inoculum size on antibacterial activity of HBK, AMK and DKB

Organisms	Inoculum size /ml	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		HBK	AMK	DKB
<i>S. aureus</i> SMITH	10 ⁸	0.20	0.78	0.10
	10 ⁷	0.20	0.39	0.10
	10 ⁶	0.10	0.20	0.10
	10 ⁵	0.10	0.20	0.10
	10 ⁴	<0.05	<0.05	<0.05
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	10 ⁸	1.56	6.25	3.13
	10 ⁷	1.56	3.13	1.56
	10 ⁶	0.78	1.56	1.56
	10 ⁵	0.78	1.56	0.78
	10 ⁴	0.78	1.56	0.78
<i>K. pneumoniae</i> PCI 602	10 ⁸	0.78	3.13	0.78
	10 ⁷	0.78	1.56	0.78
	10 ⁶	0.39	0.78	0.39
	10 ⁵	0.39	0.78	0.39
	10 ⁴	0.39	0.78	0.39
<i>P. vulgaris</i> OX-19	10 ⁸	3.13	6.25	3.13
	10 ⁷	3.13	6.25	3.13
	10 ⁶	3.13	6.25	3.13
	10 ⁵	1.56	3.13	1.56
	10 ⁴	0.78	1.56	0.39
<i>S. marcescens</i> IAM 1223	10 ⁸	1.56	1.56	3.13
	10 ⁷	0.78	1.56	1.56
	10 ⁶	0.78	0.78	1.56
	10 ⁵	0.78	0.78	0.78
	10 ⁴	0.78	0.78	0.78
<i>P. aeruginosa</i> E-2	10 ⁸	6.25	12.5	3.13
	10 ⁷	6.25	6.25	3.13
	10 ⁶	3.13	6.25	1.56
	10 ⁵	3.13	6.25	1.56
	10 ⁴	3.13	3.13	1.56

3薬剤とも *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* および *P. vulgaris* に対して、ヒト血清を 50% 添加しても MIC 値はほとんど変動しなかったが、*S. marcescens*, *P. aeruginosa* に対しては血清濃度を上げることによって抗菌力の低下が認められた (Table 5)。

5. マウス実験的感染症における防禦効果

感染防禦効果の成績を Table 6 に示した。まず、*S. aureus* SMITH(I) に対しては、HBK は GM, DKB と同等の ED₅₀ 値を示し、AMK より優れた効果を示した。GM および DKB 耐性の *S. aureus* T-308 においては、HBK は他の 3薬剤に比べ MIC 値と同様に小さい ED₅₀ 値を示し、優れた防禦効果が認められた。

E. coli No. 29 に対しては、HBK は AMK, DKB より優れた効果を示した。

K. pneumoniae PCI 602 においては、HBK は AMK より優れ GM, DKB とほぼ同等の防禦効果を示した。

GM および DKB 耐性の *S. marcescens* MB-3848 に対して HBK は AMK より劣るものの、*S. marcescens* I-0176 に対して AMK と同等の効果を示した。また、

Table 4 Effect of medium pH on antibacterial activity of HBK, AMK and DKB

Organisms	Medium pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		HBK	AMK	DKB
<i>S. aureus</i> SMITH	5	1.56	3.13	0.78
	6	0.39	0.78	0.20
	7	0.10	0.39	0.10
	8	0.10	0.39	0.20
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	5	>100	>100	100
	6	3.13	12.5	6.25
	7	1.56	1.56	1.56
	8	0.39	0.78	0.78
<i>K. pneumoniae</i> PCI 602	5	50	100	50
	6	1.56	3.13	1.56
	7	0.39	0.78	0.39
	8	0.39	0.78	0.39
<i>P. vulgaris</i> OX-19	5	100	>100	50
	6	12.5	25	12.5
	7	3.13	3.13	3.13
	8	1.56	3.13	0.78
<i>S. marcescens</i> IAM 1223	5	100	100	>100
	6	3.13	3.13	3.13
	7	0.78	0.78	1.56
	8	0.78	0.78	1.56
<i>P. aeruginosa</i> E-2	5	50	100	25
	6	6.25	12.5	3.13
	7	3.13	3.13	1.56
	8	3.13	3.13	1.56

Table 5 Effect of human serum on antibacterial activity of HBK, AMK and DKB

Organisms	Percent of serum	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		HBK	AMK	DKB
<i>S. aureus</i> SMITH	0	0.10	0.39	0.10
	10	0.10	0.39	0.10
	25	0.10	0.39	0.10
	50	0.20	0.78	0.20
<i>E. coli</i> NIHJ JC-2	0	1.56	1.56	0.78
	10	1.56	1.56	0.78
	25	1.56	3.13	1.56
	50	1.56	3.13	1.56
<i>K. pneumoniae</i> PCI 602	0	0.39	0.78	0.39
	10	0.39	0.78	0.39
	25	0.39	1.56	0.39
	50	0.39	1.56	0.39
<i>P. vulgaris</i> OX-19	0	3.13	3.13	1.56
	10	3.13	3.13	1.56
	25	3.13	6.25	3.13
	50	3.13	6.25	3.13
<i>S. marcescens</i> IAM 1223	0	0.78	0.78	1.56
	10	0.78	0.78	1.56
	25	0.78	1.56	3.13
	50	3.13	3.13	6.25
<i>P. aeruginosa</i> E-2	0	3.13	6.25	1.56
	10	3.13	6.25	1.56
	25	12.5	12.5	6.25
	50	12.5	12.5	6.25

GM, DKB 耐性菌を用いたにもかかわらず ED_{50} は GM (3.05), DKB (4.70) でこの値は HBK, AMK の 2~3 倍であった。

P. aeruginosa E-2 に対しては, HBK は GM, DKB とほぼ同等の効果を示して, AMK より優れた効果を示した。GM および DKB 耐性の *P. aeruginosa* T-440 においては HBK がもっとも小さい ED_{50} 値を示し, AMK とほぼ同等の効果を示した。

III. 考 察

新しいアミノ配糖体抗生物質 HBK の細菌学的評価を GM, AMK および DKB を対照薬剤として比較検討した。HBK はグラム陽性およびグラム陰性菌に広領域の抗菌スペクトルを有し, その抗菌力は GM より劣るものの AMK および DKB より優れていた。そして臨床分離株に対する感受性をみたところ, *S. aureus*, Coagulase (-) Staphylococci, *K. oxytoca* の中には GM および AMK 耐性菌が認められたが, HBK はこれらの耐性菌にも有効であった。

HBK は DKB の 1 位のアミノ基を (S)-4-amino-2-hydroxybutyric Acid (AHB) でアシル化した誘導体である。これによりアミノ配糖体不活性化酵素^{3), 4), 5), 6)} を産生する耐性菌にも抵抗性を示すことが推察された。HBK が *S. aureus* AAD(4'), *E. coli* APH(3')-I, *P. aeruginosa* APH(3')-I, APH(3')-II ならびに GM 耐性菌 *E. coli* AAD(2'), *P. inconstans* AAC(2'), *P. aeruginosa* AAC(3) に対して有効であったことは, このことを裏付けている。

Leitner ら⁷⁾ は, HBK が AAC(6')-N, AAC(2') 産生菌に対して無効であると報告した。今回の *E. coli* AAC(6') に対する HBK の MIC が示すように GM の MIC に比べてその値は大きかったが, HBK の MIC 値が 6.25 $\mu\text{g/ml}$ であることから HBK は AAC(6')-N 酵素を産生する菌に対してかなり抵抗性を示すことが推察された。また, GM の MIC 値 12.5 $\mu\text{g/ml}$ に比べ, 前述の *P. inconstans* AAC(2') に対する HBK の MIC が 0.78 $\mu\text{g/ml}$ と小さい値を示したことが挙げられる。これらのことから, この 2 つの不活性化酵素に対する親和性が HBK にあったとしても, AHB がついたことによる構造上の変化が, HBK の不活化を抑制していることが考えられる。マウス感染防禦実験でグラム陰性菌のみならず, *S. aureus* に対して優れた効果を示したことは HBK の臨床上的効果が示されることが期待される。

アミノ配糖体抗生物質は一般的に β -ラクタムあるいはテトラサイクリン系抗生物質などに比べて, 強い殺菌力を有している。増殖曲線におよぼす影響の成績からも, HBK が GM, AMK と同様, 薬剤添加後速やかに殺菌することが認められた。このことは *in vitro* のみならず, *in vivo* における優れた抗菌力を反映しているものであり, HBK は臨床上的有用性が期待できる薬剤と考えられる。

文 献

- 1) KONDO, S.; K. IINUMA, H. YAMAMOTO, K. MAEDA & H. UMEZAWA: Syntheses of 1-N-[(s)-4-amino-2-hydroxybutyryl]-kanamycin B and -3', 4'-dideoxykanamycin B active against kanamycin-resistant bacteria. *J. Antibiot.* 26: 412~415, 1973
- 2) MIC 測定法改訂委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改訂について. *Chemotherapy*, 29: 76~79, 1981
- 3) BENVENISTE, R.; & J. DAVIS: Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. *Ann. Rev. Biochem.* 42: 471~505, 1973
- 4) UMEZAWA, H. & S. KONDO: Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics. In *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 62. Aminoglycoside Antibiotics, Edited by

Table 6 Protective effect of HBK,GM,AMK and DKB against experimental infections of mice

Organisms	Challenge dose (CFU/mouse)	Mucin (%)	Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	ED ₅₀ (mg/mouse)
<i>S. aureus</i> SMITH (I)	4.4×10^7	2.5	HBK	0.20	0.006
			GM	≤ 0.025	0.006
			AMK	0.78	0.026
			DKB	0.10	0.009
<i>S. aureus</i> T-308	1.8×10^7	2.5	HBK	1.56	1.0
			GM	100	>2
			AMK	6.25	>2
			DKB	100	>2
<i>E. coli</i> No. 29	8.5×10^4	2.5	HBK	3.13	0.044
			AMK	6.25	0.129
			DKB	3.13	0.084
<i>K. pneumoniae</i> PCI 602	7×10^4	2.5	HBK	0.78	0.03
			GM	0.39	0.02
			AMK	1.56	0.10
			DKB	1.56	0.04
<i>S. marcescens</i> MB-3848	7×10^7	2.5	HBK	3.13	0.62
			GM	>100	>4
			AMK	1.56	0.25
			DKB	50	1.55
<i>S. marcescens</i> I-0176	1.5×10^7	2.5	HBK	6.25	1.30
			GM	100	3.05
			AMK	6.25	1.41
			DKB	100	4.70
<i>P. aeruginosa</i> E-2	6×10^8	2.5	HBK	3.13	0.38
			GM	3.13	0.30
			AMK	3.13	1.15
			DKB	1.56	0.45
<i>P. aeruginosa</i> T-440	1.2×10^7	2.5	HBK	6.25	1.09
			GM	>100	>2
			AMK	12.5	1.30
			DKB	>100	>2

Administration(S.C.): Two hours after intraperitoneal infection.

- H. UMEZAWA & I. R. HOOPER, Springer-Verlag, Berlin, p.267~292, 1982
- 5) MITSUHASHI, S.; S. YAMAGISHI, T. SAWAI & H. KAWABE: Biochemical mechanisms of plasmid-mediated resistance. In R Factor-Drug Resistance Plasmid, edited by MITSUHASHI, S. Tokyo, University of Tokyo Press, p. 195, 1977
- 6) DAVIS, J.; & D. I. SMITH: Plasmid-determined resistance to antimicrobial agents. Ann. Rev. Microbiol. 32: 469~518, 1978
- 7) LEITNER, F.: & K. E. Price: Aminoglycosides under development. In the aminoglycosides, edited by WHELTON, A. & NEU, N. C. New York & Basel, Marcel Dekker, Inc., p.29-64, 1982

BACTERIOLOGICAL EVALUATION OF A NEW AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTIC, HBK

YUZO KAZUNO, SANAE TSUNETA, ATSUSHI TAMURA, SHINO SHIRAISHI, HIROMI TAKADA
TAKAO KASAI, MICHIKO JINZAKI, TETSUO HARA and TAKASHI YOSHIDA
Pharmacology & Toxicology Laboratories, Meiji seika Kaisha, Ltd.

HBK, a new aminoglycoside antibiotic, was synthesized from dibekacin (DKB). The antibacterial activity of HBK was compared with gentamicin (GM), amikacin (AMK) and DKB, *in vitro* and *in vivo*. The results are summarized as follows.

- 1) HBK showed a broad spectrum of antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria. HBK had superior activity against GM-resistant *E. coli*, *P. inconstans* and *P. aeruginosa*.
- 2) HBK was more effective than AMK and DKB against clinical isolates, although HBK was slightly less active than GM. HBK had superior activity against GM-resistant staphylococci.
- 3) HBK had potent bactericidal activity against *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*.
- 4) *In vivo*, the protective effect was shown by injection of HBK on mouse systemic infections with gram-positive and gram-negative bacteria including GM- and DKB-resistant ones.
- 5) HBK was active against resistant the strains expressing aminoglycoside inactivating enzymes such as APH(3')-I, APH(3')-II, AAC(2'), AAC(3'), AAD(2'') and AAD(4').