

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6678599号
(P6678599)

(45) 発行日 令和2年4月8日(2020.4.8)

(24) 登録日 令和2年3月19日(2020.3.19)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 31/18	(2006.01)
A 6 1 P 31/04	(2006.01)
A 6 1 P 43/00	(2006.01)
A 6 1 K 45/00	(2006.01)
A 6 1 K 31/65	(2006.01)
	A 6 1 K 31/18
	A 6 1 P 31/04
	A 6 1 P 43/00 1 2 1
	A 6 1 K 45/00
	A 6 1 K 31/65

請求項の数 7 (全 87 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-572622 (P2016-572622)
(86) (22) 出願日	平成27年6月12日 (2015.6.12)
(65) 公表番号	特表2017-517547 (P2017-517547A)
(43) 公表日	平成29年6月29日 (2017.6.29)
(86) 國際出願番号	PCT/US2015/035534
(87) 國際公開番号	W02015/191988
(87) 國際公開日	平成27年12月17日 (2015.12.17)
審査請求日	平成30年4月19日 (2018.4.19)
(31) 優先権主張番号	62/011,613
(32) 優先日	平成26年6月13日 (2014.6.13)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)

(73) 特許権者	507245021 ユニバーシティ オブ ロチェスター アメリカ合衆国 ニューヨーク 1464 2, ロチェスター, エルムウッド ア ベニュー 601, ボックス ユーアー ルブイ
(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(74) 代理人	100102118 弁理士 春名 雅夫
(74) 代理人	100160923 弁理士 山口 裕孝
(74) 代理人	100119507 弁理士 刑部 俊

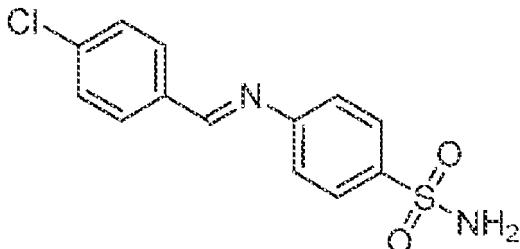
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 小分子排出ポンプ阻害剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

有効量の次式：



の排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩を含む、対象の微生物感染症を治療するための医薬組成物であって、該排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩は、抗微生物剤と組み合わせて対象に投与されるように用いられる、医薬組成物。

【請求項 2】

前記微生物感染症が細菌感染症である、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

前記細菌感染症がグラム陰性細菌感染症であり、

該グラム陰性細菌感染症がアシネットバクター (Acinetobacter) 細菌感染症、またはシユードモナス (Pseudomonas) 細菌感染症を含み、

該アシネットバクター細菌感染症がアシネットバクター・バウマンニ (baumanni) 感染症

10

20

を含み、かつ

該シュードモナス細菌感染症がシュードモナス・エルギノーサ (*aeruginosa*) 感染症を含む、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

前記細菌感染症がグラム陽性細菌感染症である、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

抗微生物剤を更に含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記抗微生物剤が、ミノサイクリン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、ナリジクス酸、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、メロペネム、セフトリアキソン、エリスロマイシン、コリスチン、ポリミキシン B、スルファメトキサゾール、チゲサイクリン、トブラマイシン、およびトリメトブリムからなる群から選択される、請求項 5 に記載の医薬組成物。10

【請求項 7】

医薬的に許容可能な担体を更に含む、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は 2014 年 6 月 13 日に出願された米国仮出願第 62/011,613 号の優先権を主張するものであり、これはその全体が参照により本明細書に包含される。20

【背景技術】

【0002】

背景

アシネットバクター・バウマンニ (*A c i n e t o b a c t e r b a u m a n n i i*) は、感受性患者群中の関連死亡率が 60 % にも達する人工呼吸器関連肺炎 (VAP) および菌血症を引き起こし得る主要な院内病原体であることが明らかになってきている。 *A. バウマンニ* 関連の罹患率および死亡率の高さは、主に、現在利用可能な抗生物質の効果を低下させている抗生物質耐性の出現によるものであった。米国疾病予防管理センターは、最近、全ての *A. バウマンニ* の米国における感染のうちの 63 % が 3 つ以上の分類の抗生物質に対して耐性がある多剤耐性菌株によって引き起こされていること、米国はじめ各地で現行の抗生物質の全ての分類に対して耐性がある菌株が最近同定されたことを報告した。30

【0003】

A. バウマンニ の抗生物質に対する耐性は、 - ラクタマーゼなどの酵素的決定因子の拡張レパートリーと、細胞から抗生物質を含む毒物を排出する排出ポンプとによってもたらされる。後者に関して、微生物が 5 つの細菌薬物排出ポンプファミリー それぞれの典型を有していることが示されている。例えば、 *C r a A* と *A m v A* は、それぞれクロラムフェニコールとエリスロマイシンを排出すると提唱されている M F S (m a j o r f a c i l i t a t o r s u p e r f a m i l y) ポンプであり、 *A b e M* は、アミノグリコシド、キノロン、およびクロラムフェニコールを排出する M A T E (m u l t i d r u g a n d t o x i c c o m p o u n d e x t r u s i o n) ファミリータンパク質であり、 *A b e S* はエリスロマイシンとノボビオシンに対する耐性を与えるのみならず、アミノグリコシド、キノロン、テトラサイクリン、およびトリメトブリムに対しても低レベルの耐性を与える S M R (s m a l l m u l t i d r u g r e s i s t a n c e) ファミリーポンプであり、 *A d e A B C*、*A d e F G H*、および *A d e I J K* はアミノグリコシド、 - ラクタム、フルオロキノロン、テトラサイクリン、チゲサイクリン、マクロライド、クロラムフェニコール、およびトリメトブリムに対する耐性に関係した R N D (r e s i s t a n c e n o d u l a t i o n d i v i s i o n) ファミリーポンプである。更に、 *A. バウマンニ* は、複数の A B C ファミリートransporter と、テトラ40

サイクリン耐性を与えるMFSに属する、水平伝搬で獲得したTet排出ポンプとを有していることも知られている。

【0004】

前述の十分に特性解析された排出ポンプに加えて、A. バウマンニは抗生物質耐性を与える追加的な推定上の排出ポンプを多く有すると報告されている。例えば、一般的な実験室株であるAYEとATCC17978は、推定上の薬剤排出ポンプとしてアノテーションされた46個と73個の遺伝子をそれぞれ含む。これらの因子が本当に抗生物質耐性を調節しているのか、あるいは何の外因性または内因性の刺激がこれらの活性を調節しているのかはまだ不明である。しかし、最近の研究からはこれらが臨床的な意義を有する可能性が高いことが示唆されている。生理学的塩条件でA. バウマンニを培養する際に、18個のこれまで未解析の推定上の薬剤排出関連因子がレボフロキサシンおよびアミカシンに対する耐性を大幅に上方制御し、付与することが見出された。同様に、ヒト血清中で培養したA. バウマンニが約22個の薬剤排出関連遺伝子を発現させ、これが臨床的に意義のあるレベルでの、排出によるミノサイクリン耐性に対応することが見出された。このような制御された変化が排出ポンプを発現させ、その結果、宿主に関連した環境刺激に応答する活性が、抗生物質の攻撃を切り抜けて生き残る細菌の能力を一時的に向上させると考えられる、あるいは臨床的に定義された抗生物質感受性株を抗生物質の攻撃に対して抵抗可能にすると仮説が立てられる。この現象は最近では適応排出媒介耐性(adaptive efflux-mediated resistance)と呼ばれている。

10

【発明の概要】

20

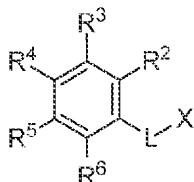
【0005】

概要

本明細書では、小分子排出ポンプ阻害剤について述べる。本明細書では、微生物の抗微生物薬感受性を回復させるための小分子排出ポンプ阻害剤の使用方法も述べる。

【0006】

本明細書で述べられる医薬組成物は、次式：



30

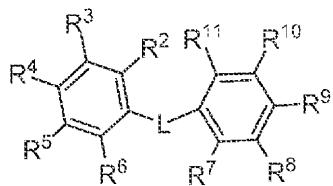
(式中、Lは直接結合または置換もしくは無置換の結合ユニットであり、R²、R³、R⁴、R⁵、およびR⁶はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、Xは置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のスルホニル、または置換もしくは無置換のカルボキシルからなる群から選択される)

40

の排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩またはそのプロドラッグと、抗微生物剤とを含む。

【0007】

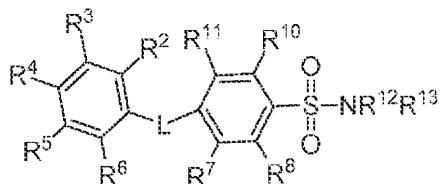
任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は、



(式中、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシリル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシリル、置換もしくは無置換のアリールオキシリル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシリル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される) 10 である。

【0008】

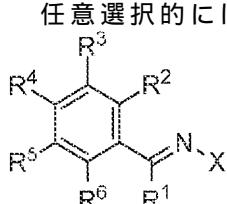
任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は、



(式中、R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシリル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシリル、置換もしくは無置換のアリールオキシリル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシリル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、R¹²およびR¹³は 20 それぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される) 30 である。

【0009】

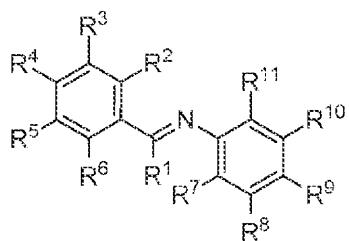
任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は、



(式中、R¹は水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択される) 40 である。

【0010】

任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は、

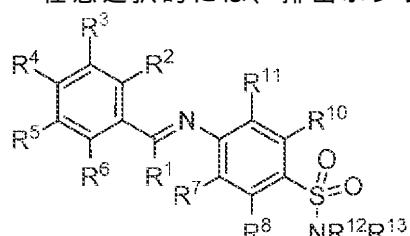


(式中、R¹は水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択され、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される) 10

である。

【0011】

任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は、

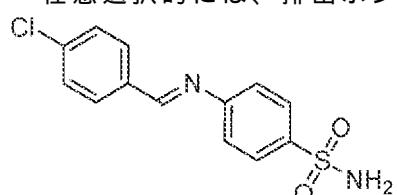


(式中、R¹は水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択され、R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、R¹²およびR¹³はそれぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される) 30

である。

【0012】

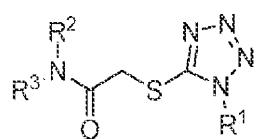
任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は、



である。

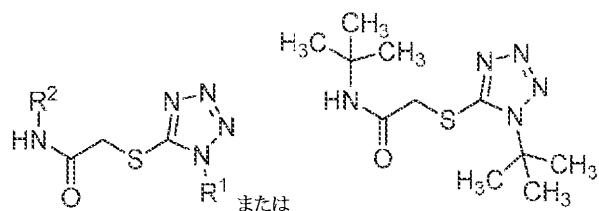
【0013】

本明細書で述べられる医薬組成物は、次式：



(式中、R¹、R²、およびR³はそれぞれ独立に水素、置換アルキル、置換アルケニル、置換アルキニル、置換もしくは無置換のアリール、または置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される)

の排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩またはそのプロドラッグと、抗微生物剤とを含む。任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は

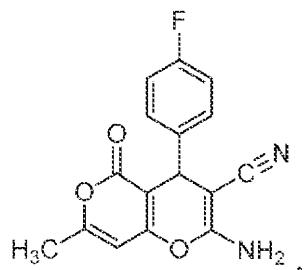
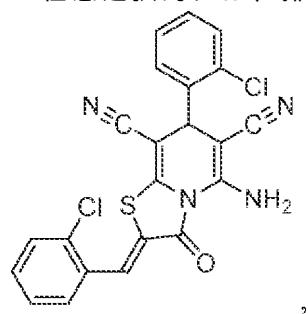


10

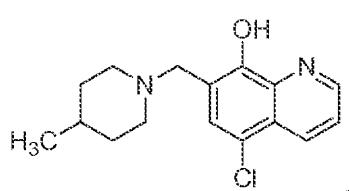
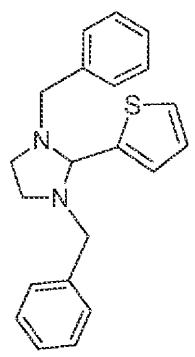
である。

【0014】

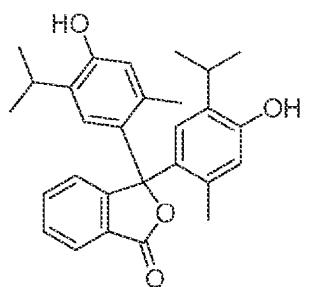
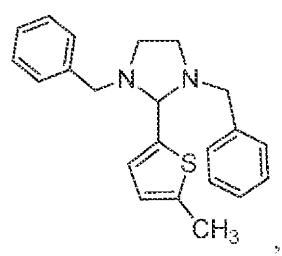
任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は、



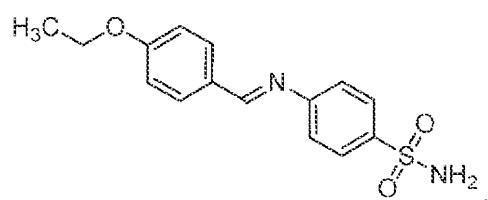
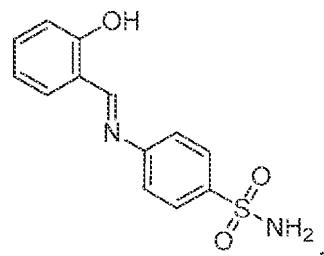
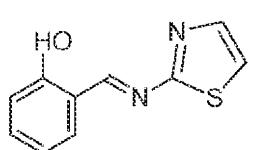
20



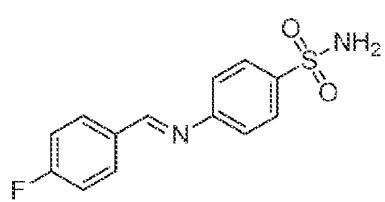
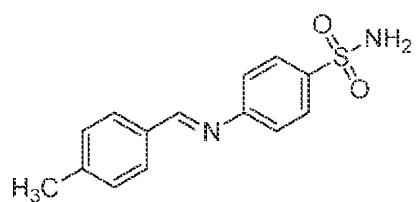
30



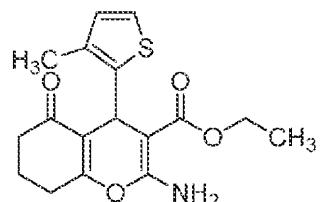
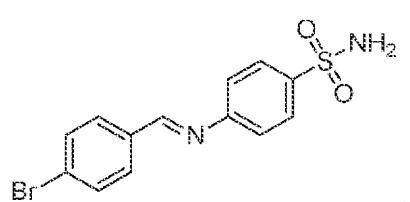
40



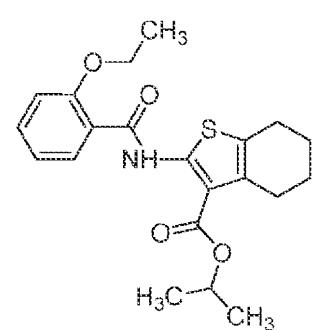
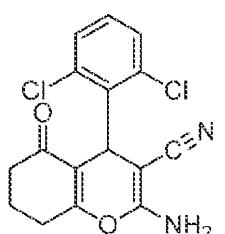
10



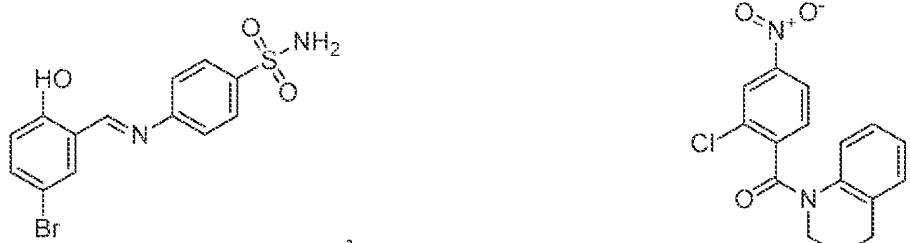
20



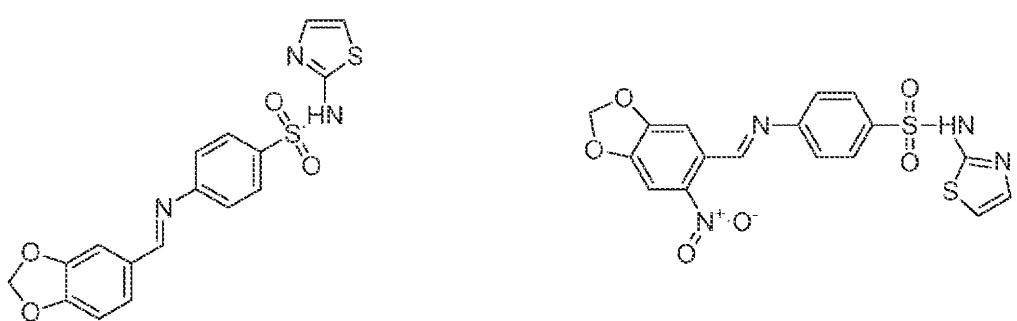
30



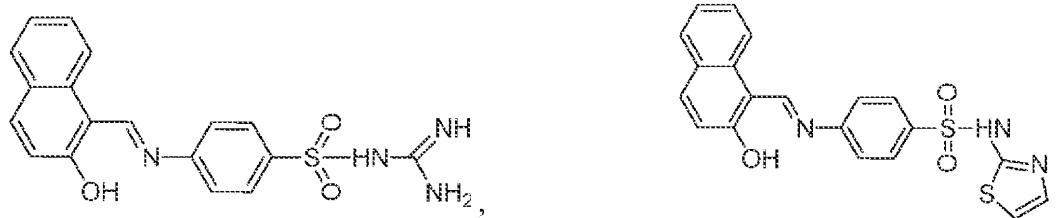
40



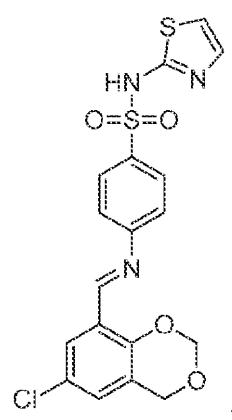
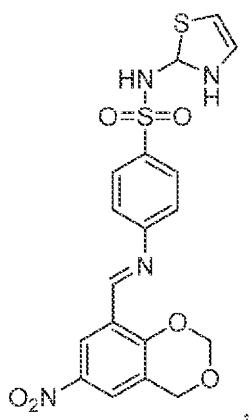
10



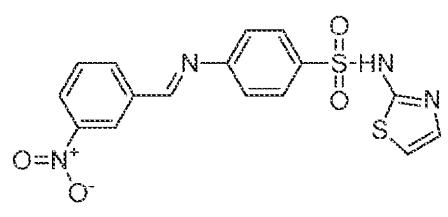
20



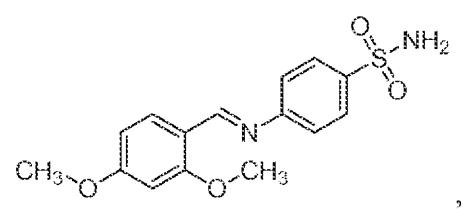
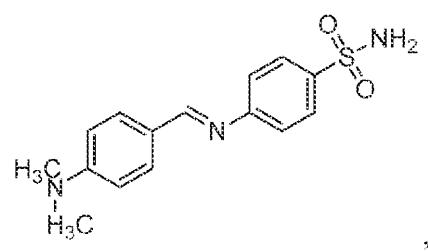
30



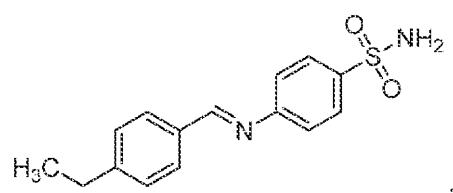
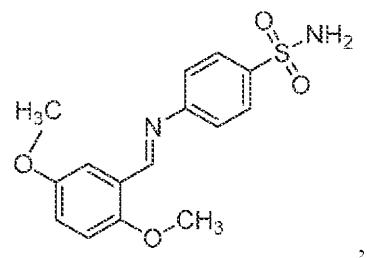
10

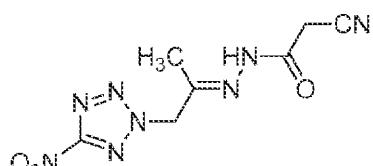
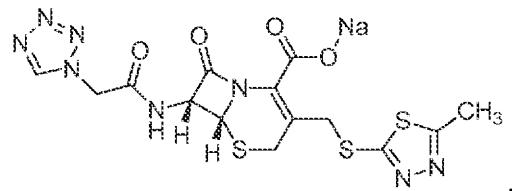
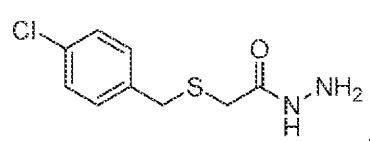
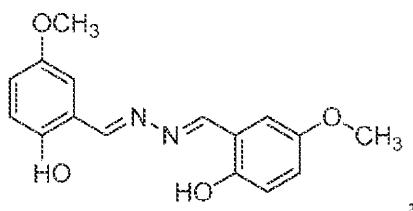


20

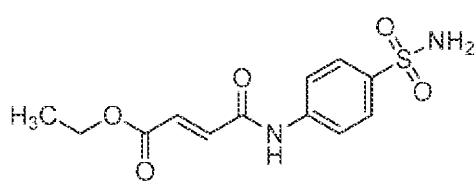
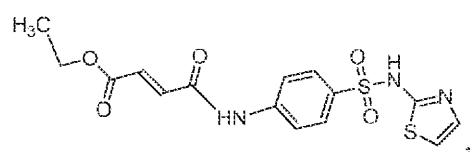


30

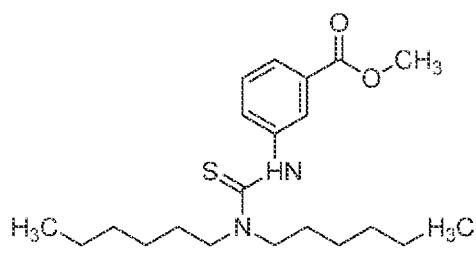
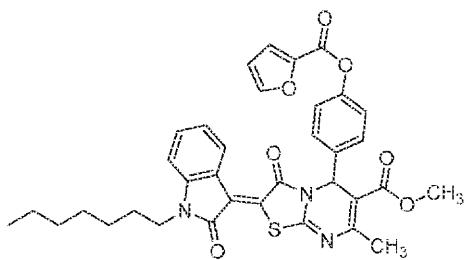




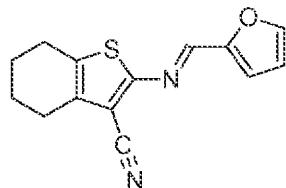
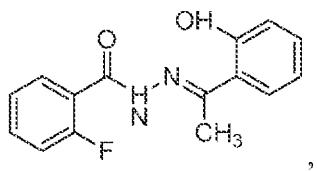
10

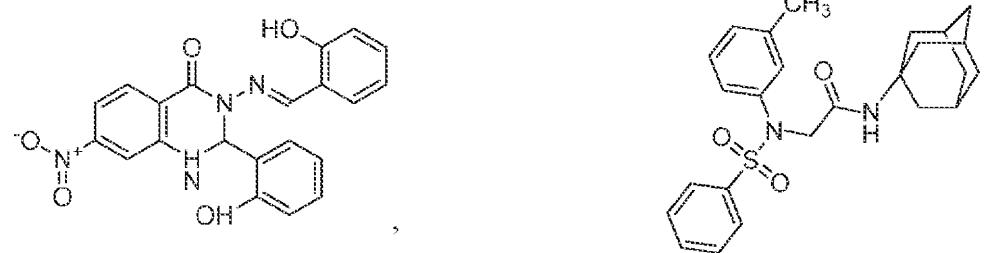
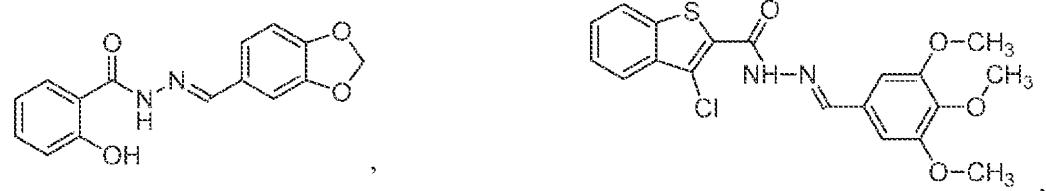


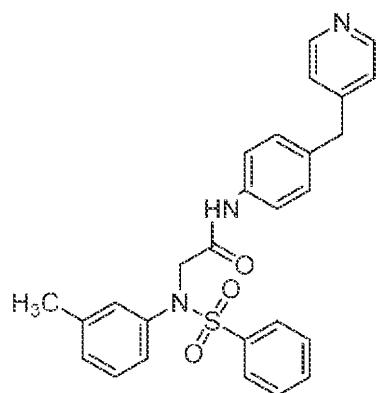
20



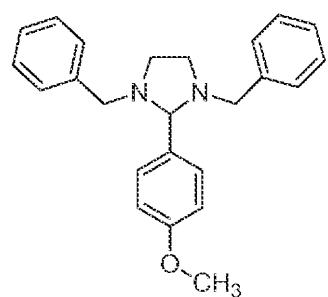
30



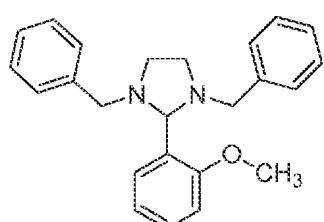




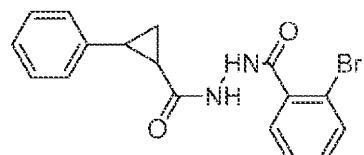
10



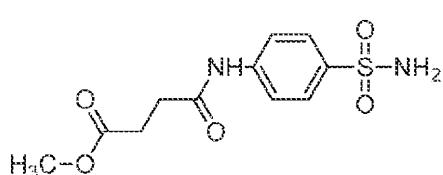
,



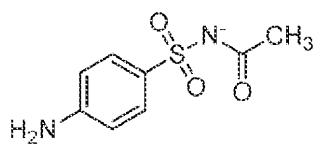
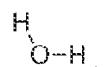
,



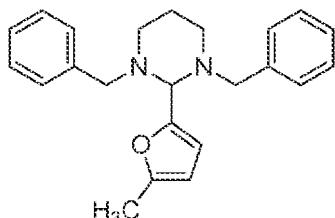
20



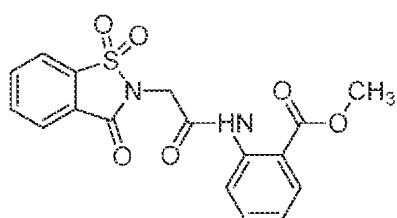
,

Na⁺

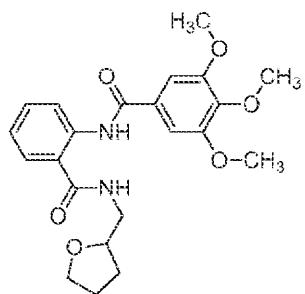
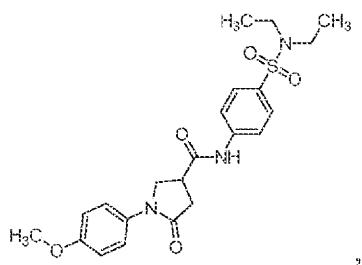
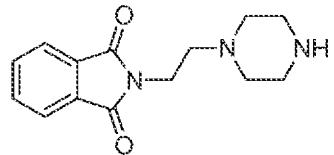
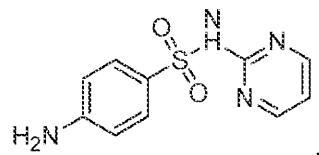
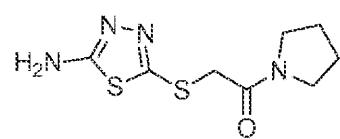
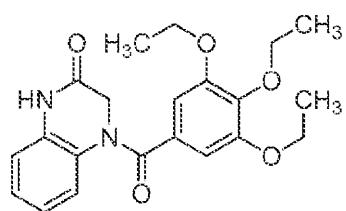
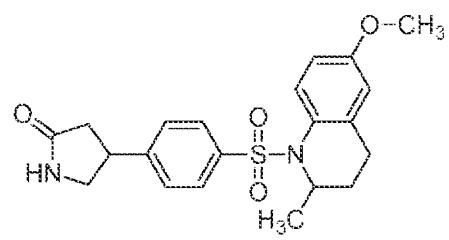
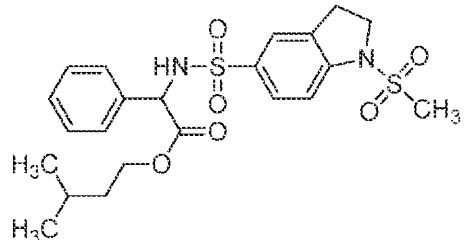
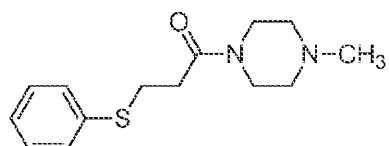
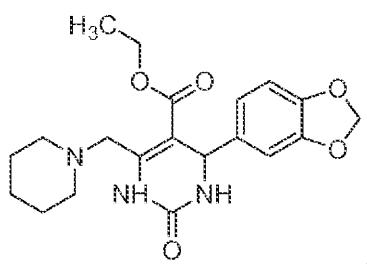
30

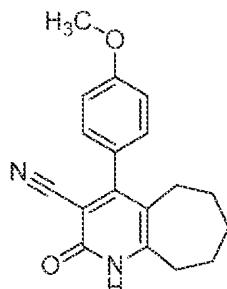
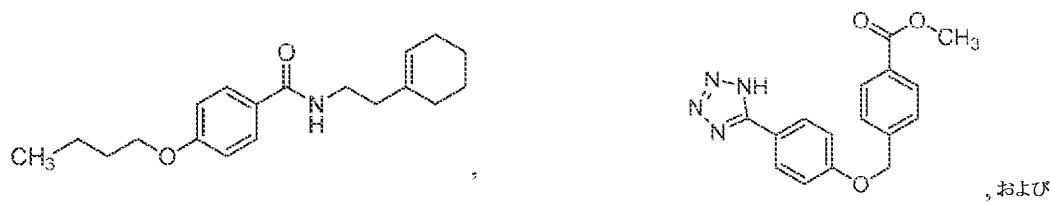


,



,





10

からなる群から選択される。

【0015】

任意選択的には、抗微生物剤は、ミノサイクリン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、ナリジクス酸、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、メロペネム、セフトリアキソン、エリスロマイシン、コリスチン ポリミキシンB、スルファメトキサゾール、チゲサイクリン、トプラマイシン、およびトリメトプリムからなる群から選択される。任意選択的には、組成物は医薬的に許容可能な担体を更に含む。

20

【0016】

本明細書では、対象の微生物感染症の治療方法も述べられる。対象の微生物感染症の治療方法は、対象に有効量の本明細書に記載の排出ポンプ阻害剤と抗微生物剤とを投与することを含む。任意選択的には、抗微生物剤はミノサイクリン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、ナリジクス酸、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、メロペネム、セフトリアキソン、エリスロマイシン、コリスチン ポリミキシンB、スルファメトキサゾール、チゲサイクリン、トプラマイシン、およびトリメトプリムからなる群から選択される。

30

【0017】

任意選択的には、方法は抗微生物剤に耐性のある微生物に感染している対象を選択することを更に含み得る。任意選択的には、方法は、抗微生物剤に対する耐性を発現する能力のある微生物に感染している対象を選択することを更に含み得る。耐性は排出ポンプによりもたらされ得る。排出ポンプ阻害剤と抗微生物剤は、連続的に（いずれかの順序で）投与してもよいし、同時に投与してもよい。

【0018】

任意選択的には、微生物感染症は細菌感染症である。細菌感染症は、任意選択的にはアシネットバクター細菌感染症（例えばアシネットバクター・バウマンニ感染症）またはシュードモナス（*Pseudomonas*）細菌感染症（例えばシュードモナス・エルギノーサ（*aeruginosa*）感染症）などのグラム陰性細菌感染症であってもよい。細菌感染症は、任意選択的にはグラム陽性細菌感染症であってもよい。

40

【0019】

本明細書では、細胞中の排出ポンプの阻害方法も更に述べる。細胞中の排出ポンプの阻害方法は、有効量の本明細書に記載の排出ポンプ阻害剤を細胞に接触させることを含む。任意選択的には、細胞は微生物細胞（例えば細菌細胞）である。任意選択的には、細菌細胞はグラム陰性細菌細胞である。任意選択的には、グラム陰性細菌細胞はアシネットバクター細菌細胞（例えばアシネットバクター・バウマンニ細菌細胞）またはシュードモナス細菌細胞（例えばシュードモナス・エルギノーサ細菌細胞）である。任意選択的には、細菌細

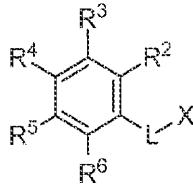
50

胞はグラム陽性細菌細胞である。

【0020】

[本発明1001]

有効量の次式：



(式中、

10

Lは直接結合または置換もしくは無置換の結合ユニットであり、

R²、R³、R⁴、R⁵、およびR⁶はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、かつ、

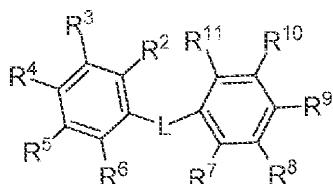
Xは置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のスルホニル、または置換もしくは無置換のカルボキシルからなる群から選択される)

20

の排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩もしくはプロドラッグと、抗微生物剤とを対象に投与することを含む、対象の微生物感染症の治療方法。

[本発明1002]

前記排出ポンプ阻害剤が、



(式中、

30

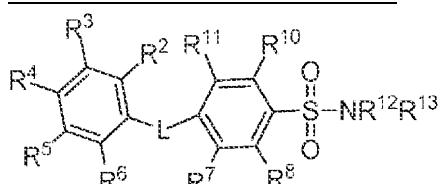
R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される)

40

である、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記排出ポンプ阻害剤が、



50

(式中、

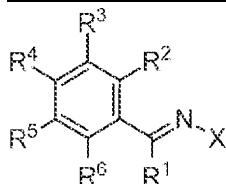
R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、

R¹²およびR¹³はそれぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される)

である、本発明1001の方法。

[本発明1004]

前記排出ポンプ阻害剤が、



10

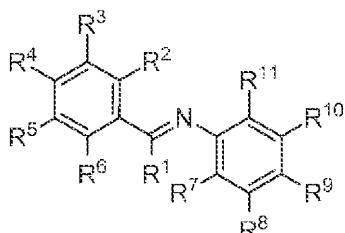
20

(式中、

R¹は、水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択される)
である、本発明1001の方法。

[本発明1005]

前記排出ポンプ阻害剤が、



30

(式中、

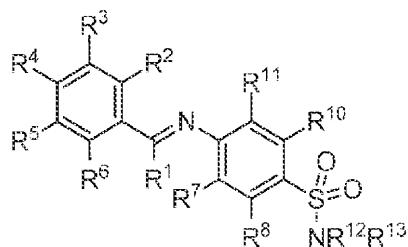
R¹は、水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択され、
R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される)

である、本発明1001の方法。

[本発明1006]

前記排出ポンプ阻害剤が、

40



(式中、

R¹は、水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択され、

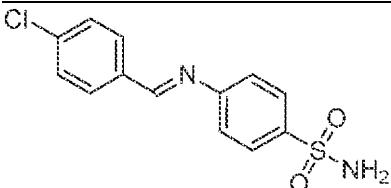
R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、かつ、

R¹²およびR¹³はそれぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される)

である、本発明1001の方法。

[本発明1007]

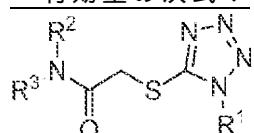
前記排出ポンプ阻害剤が、



である、本発明1001の方法。

[本発明1008]

有効量の次式：

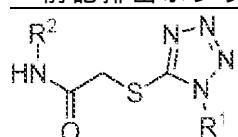


(式中、R¹、R²、およびR³はそれぞれ独立に水素、置換アルキル、置換アルケニル、置換アルキニル、置換もしくは無置換のアリール、または置換もしくは無置換のヘテロアリールから選択される)

の排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩もしくはプロドラッグと、抗微生物剤とを対象に投与することを含む、対象の微生物感染症の治療方法。

[本発明1009]

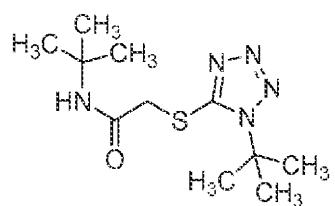
前記排出ポンプ阻害剤が、



である、本発明1008の方法。

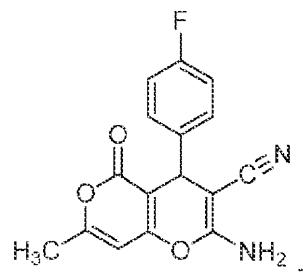
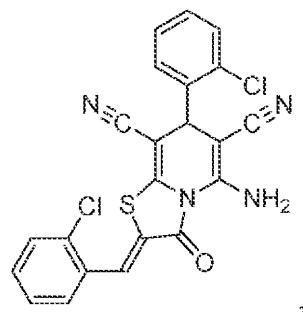
[本発明1010]

前記排出ポンプ阻害剤が、

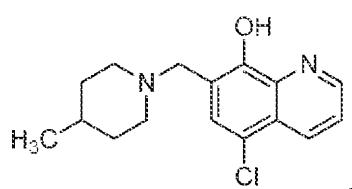
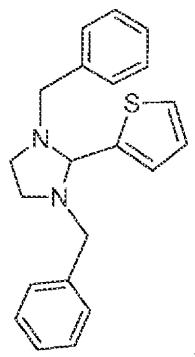


である、本発明1008または1009の方法。

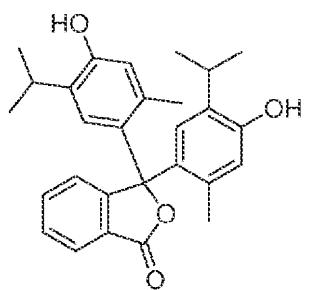
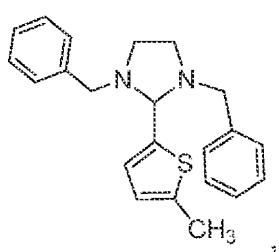
[本発明1011]



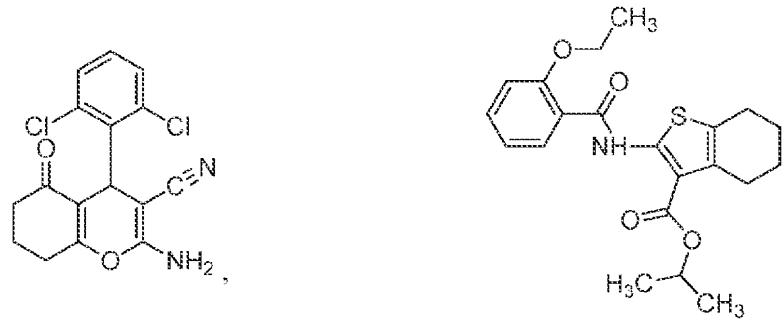
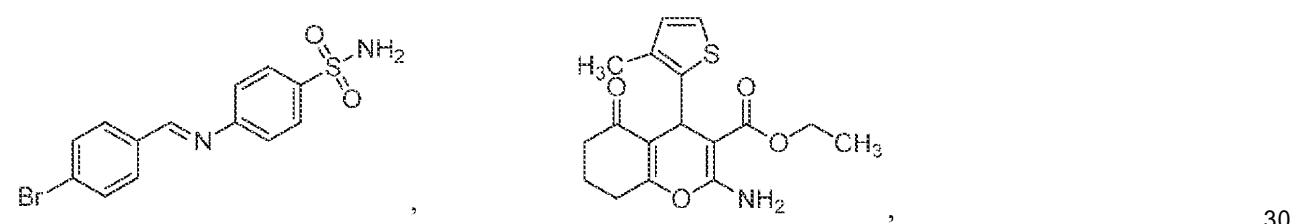
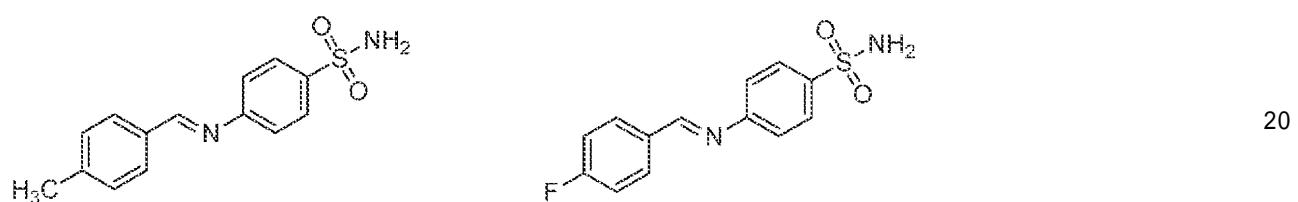
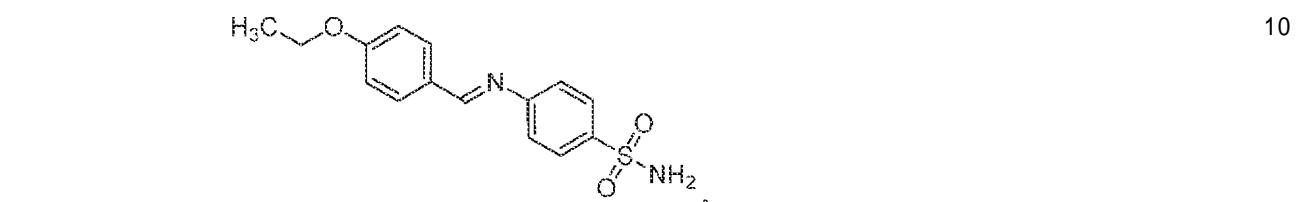
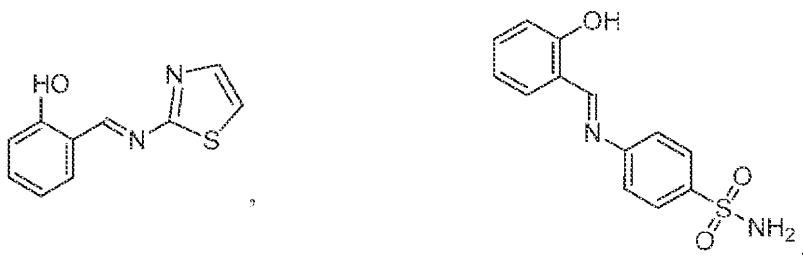
10

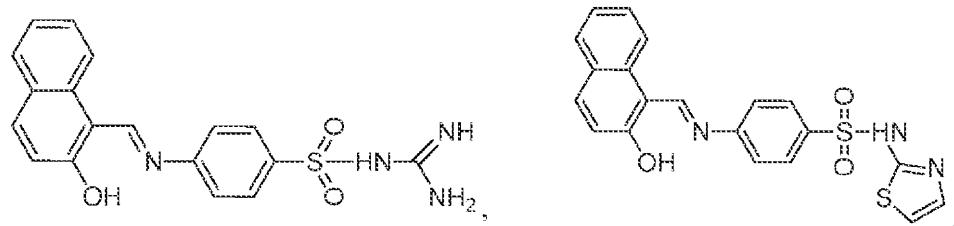
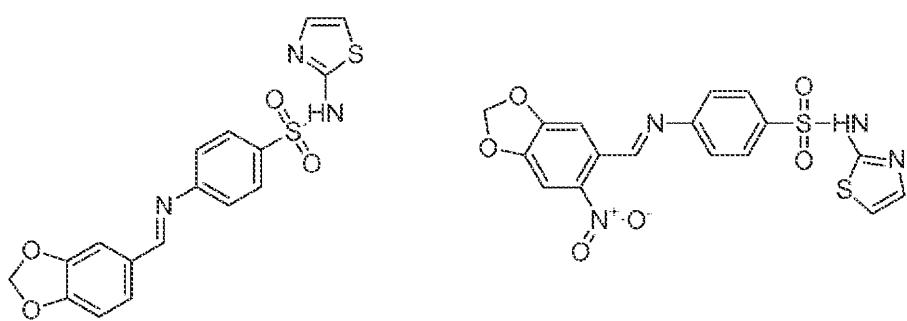
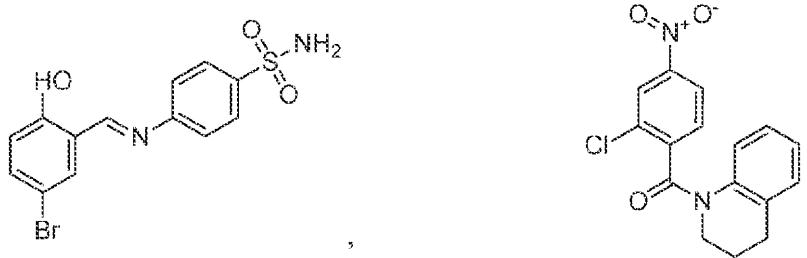
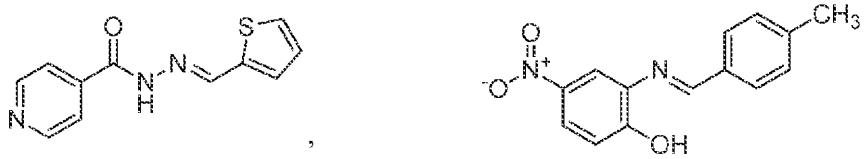


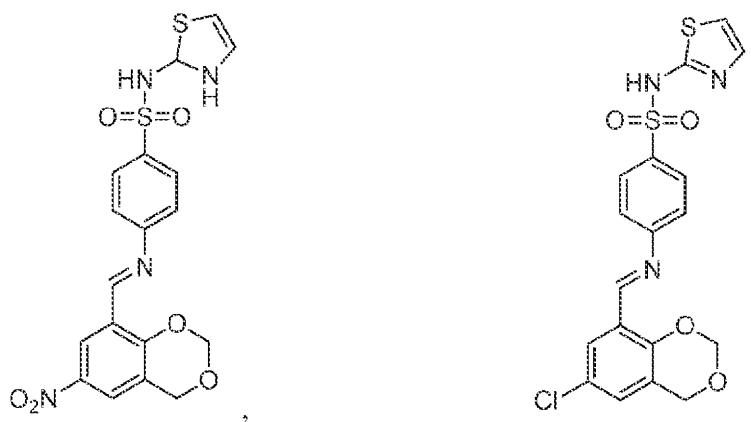
20



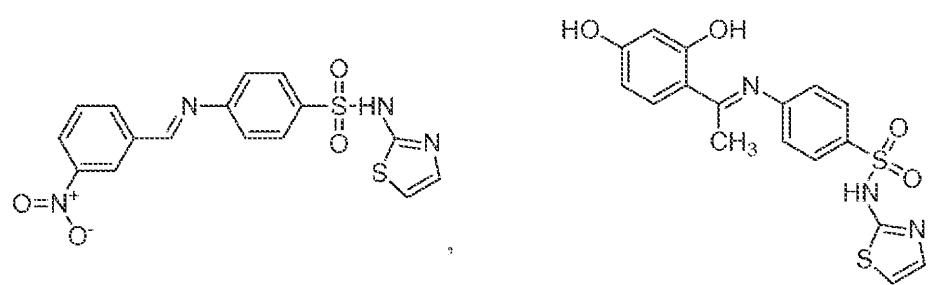
30



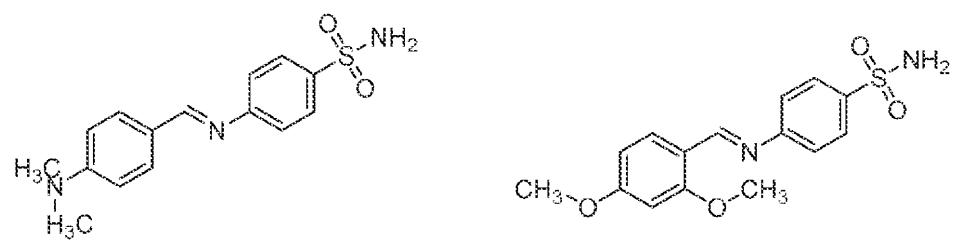




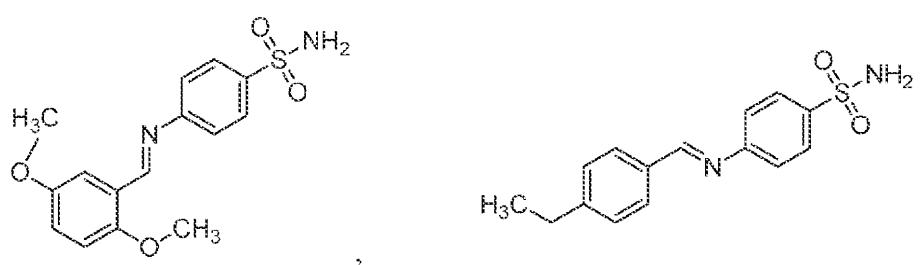
10

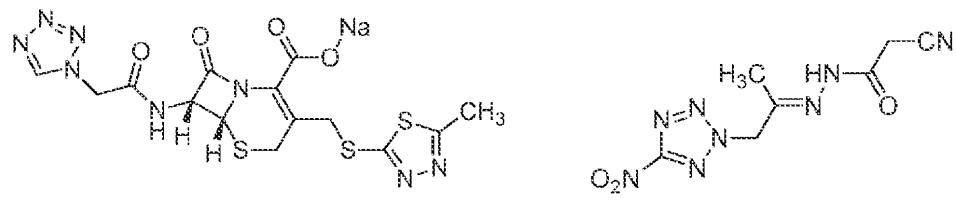
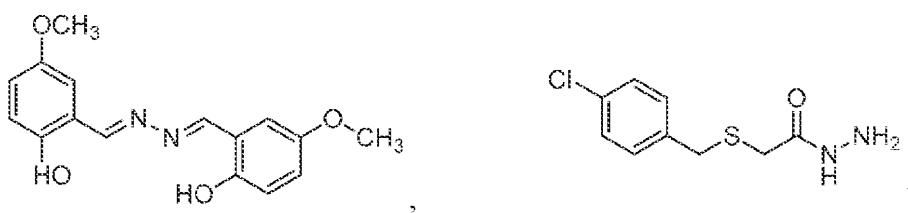


20

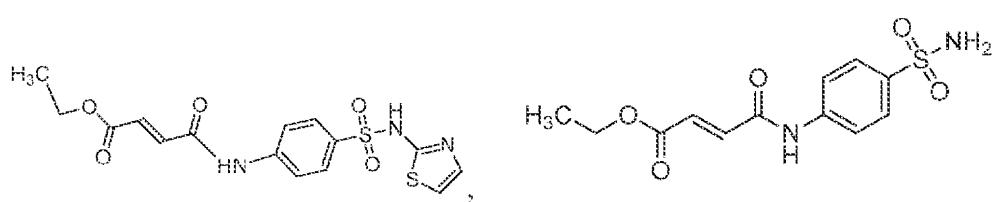


30

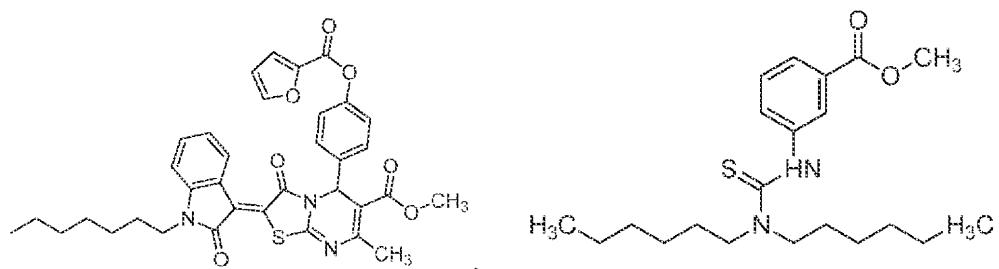




10

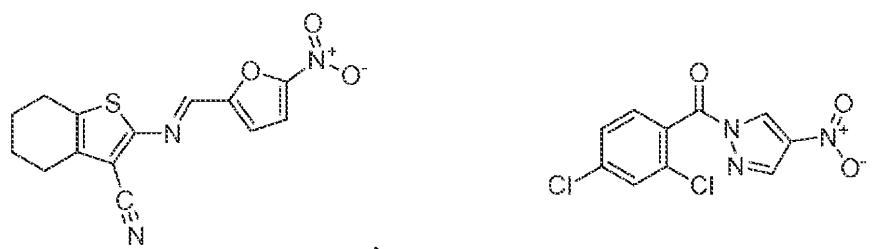


20



30

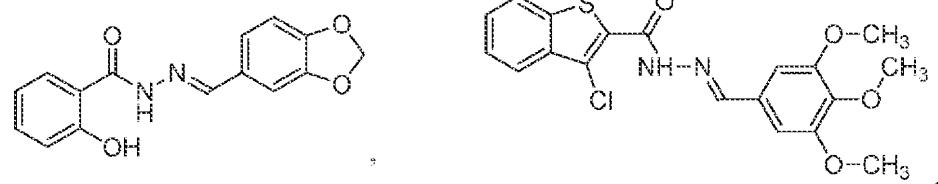




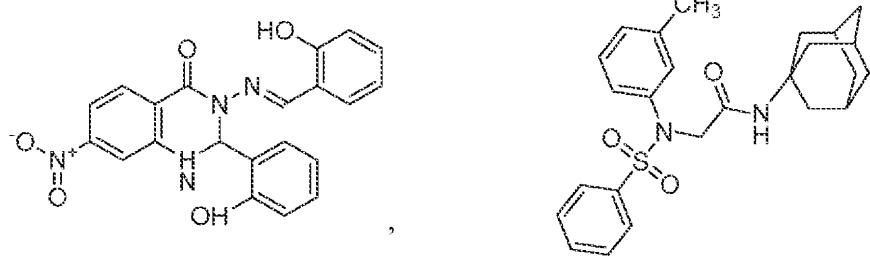
2



10

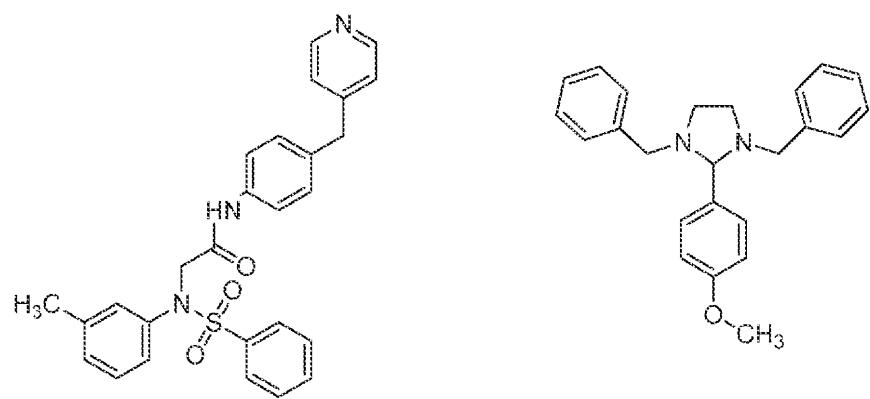


8

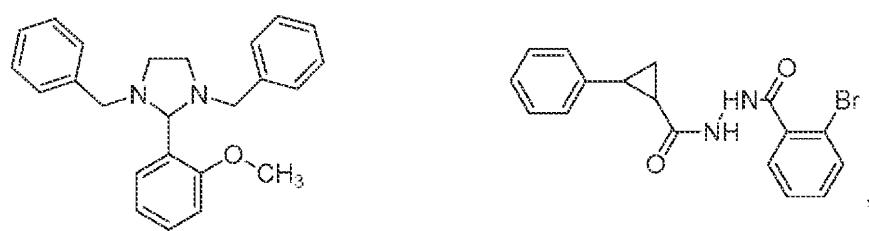


30

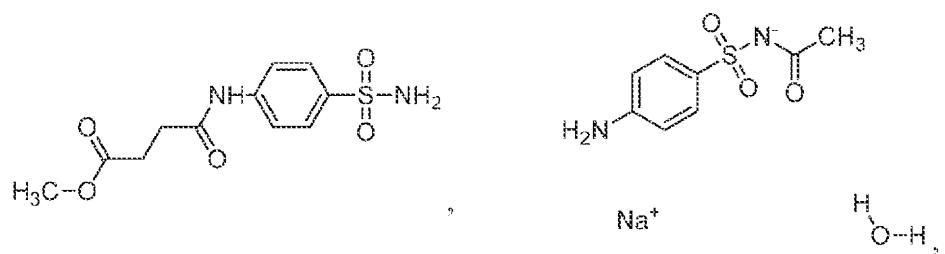
8



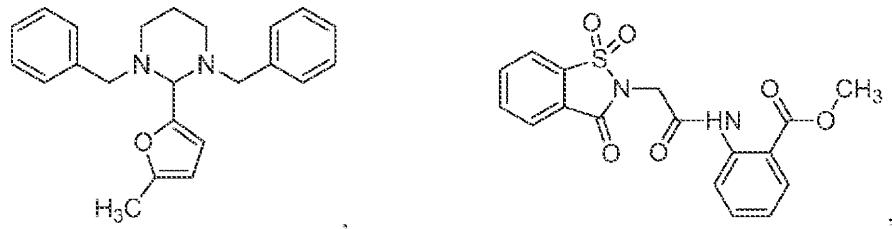
10

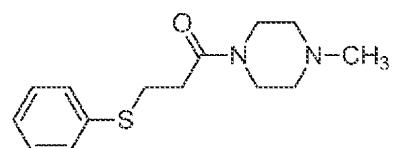
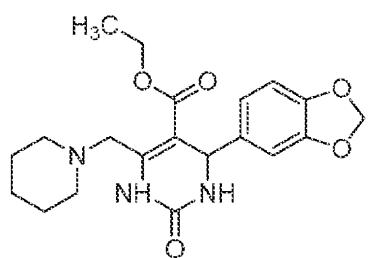


20

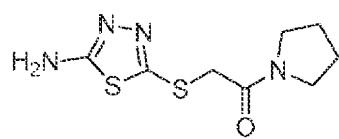
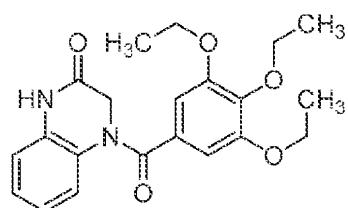
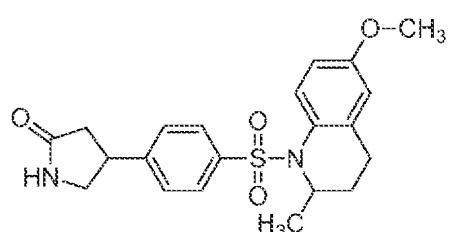
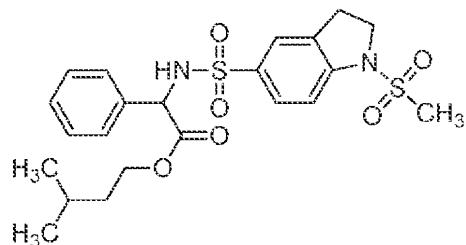


30

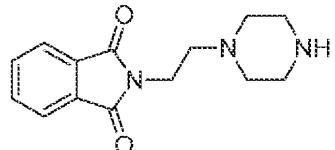
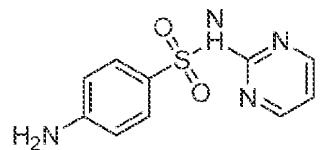




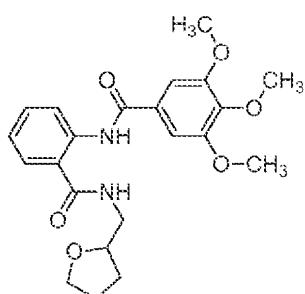
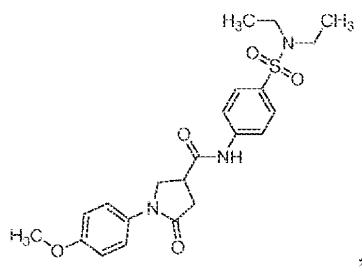
9



9



9

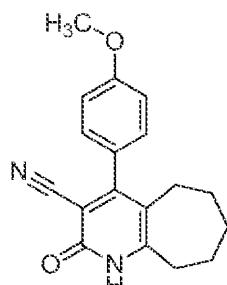
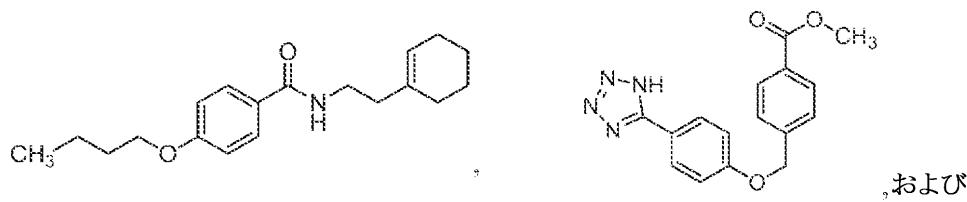


10

20

30

40



10

からなる群から選択される有効量の排出ポンプ阻害剤と抗微生物剤とを対象に投与することを含む、対象の微生物感染症の治療方法。

[本発明1012]

前記抗微生物剤に耐性のある微生物に感染している対象を選択することを更に含む、本発明1001～1011のいずれかの方法。

20

[本発明1013]

前記抗微生物剤に対する耐性を発現する能力のある微生物に感染した対象を選択することを更に含む、本発明1001～1012のいずれかの方法。

[本発明1014]

前記耐性が排出ポンプによりもたらされるものである、本発明1012または1013の方法。

[本発明1015]

前記微生物感染症が細菌感染症である、本発明1001～1014のいずれかの方法。

30

[本発明1016]

前記細菌感染症がグラム陰性細菌感染症である、本発明1015の方法。

[本発明1017]

前記グラム陰性細菌感染症がアシネットバクター (A c i n e t o b a c t e r) 細菌感染症である、本発明1016の方法。

[本発明1018]

前記アシネットバクター細菌感染症がアシネットバクター・バウマンニ (b a u m a n n i) 感染症である、本発明1017の方法。

[本発明1019]

前記グラム陰性細菌感染症がシュードモナス (P s e u d o m o n a s) 細菌感染症である、本発明1016の方法。

[本発明1020]

前記シュードモナス細菌感染症がシュードモナス・エルギノーサ (a e r u g i n o s a) 感染症である、本発明1019の方法。

40

[本発明1021]

前記細菌感染症がグラム陽性細菌感染症である、本発明1015の方法。

[本発明1022]

前記抗微生物剤が、ミノサイクリン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、ナリジクス酸、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、メロペネム、セフトリアキソン、エリスロマイシン、コリスチン、ポリミキシンB、スルファメトキサゾール、チゲサイクリン、トブラマイシン、およびトリメトブリムからなる群から選択される、本発明1001～1021のいずれかの方法。

[本発明1023]

50

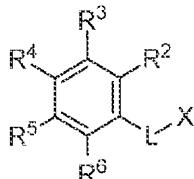
前記排出ポンプ阻害剤および抗微生物剤が連続的に投与される、本発明1001～1022のいずれかの方法。

[本発明1024]

前記排出ポンプ阻害剤および抗微生物剤が同時に投与される、本発明1001～1022のいずれかの方法。

[本発明1025]

有効量の次式：



(式中、

Lは直接結合または置換もしくは無置換の結合ユニットであり、

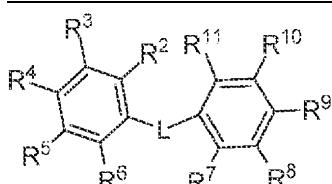
R²、R³、R⁴、R⁵、およびR⁶はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、かつ、

Xは置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のスルホニル、または置換もしくは無置換のカルボキシルからなる群から選択される)

の排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩もしくはプロドラッグを細胞に接触させることを含む、細胞中の排出ポンプの阻害方法。

[本発明1026]

前記排出ポンプ阻害剤が、



(式中、

R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される)

である、本発明1025の方法。

[本発明1027]

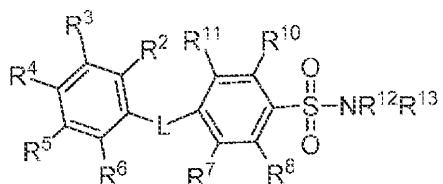
前記排出ポンプ阻害剤が、

10

20

30

40



(式中、

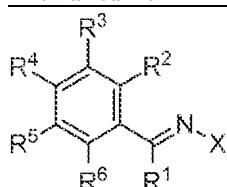
R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、かつ、

R¹²およびR¹³はそれぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される)

である、本発明1025の方法。

[本発明1028]

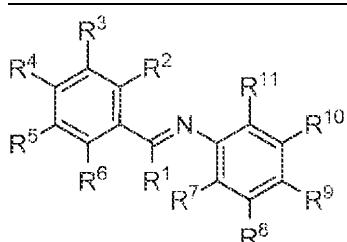
前記排出ポンプ阻害剤が、



(式中、R¹は水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択される)である、本発明1025の方法。

[本発明1029]

前記排出ポンプ阻害剤が、



(式中、

R¹は水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択され、かつ、

R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される)

である、本発明1025の方法。

[本発明1030]

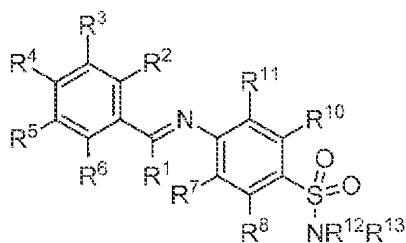
前記排出ポンプ阻害剤が、

10

20

30

40



(式中、

R¹は水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択され、

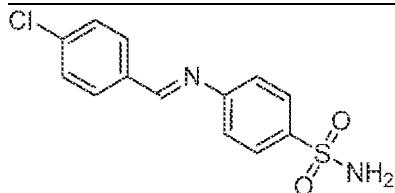
R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、かつ、

R¹²およびR¹³はそれぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される)

である、本発明1025の方法。

[本発明1031]

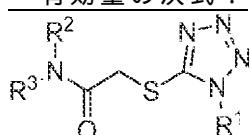
前記排出ポンプ阻害剤が、



である、本発明1025の方法。

[本発明1032]

有効量の次式：

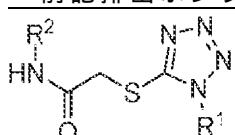


(式中、R¹、R²、およびR³はそれぞれ独立に水素、置換アルキル、置換アルケニル、置換アルキニル、置換もしくは無置換のアリール、または置換もしくは無置換のヘテロアリールから選択される)

の排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩もしくはプロドラッグと、抗微生物剤とを細胞に接触させることを含む、細胞中の排出ポンプの阻害方法。

[本発明1033]

前記排出ポンプ阻害剤が、



である、本発明1032の方法。

[本発明1034]

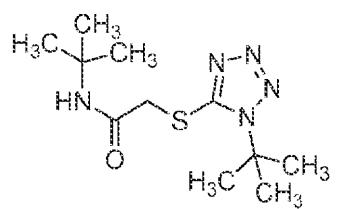
前記排出ポンプ阻害剤が、

10

20

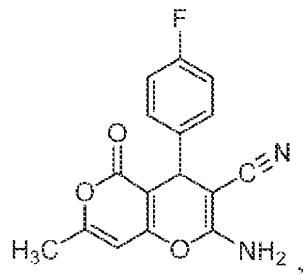
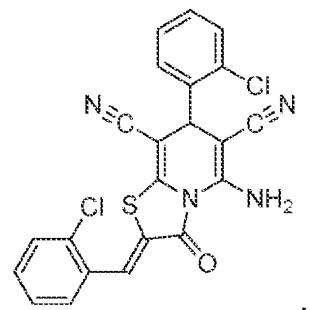
30

40

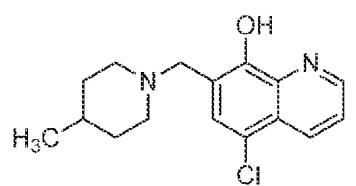
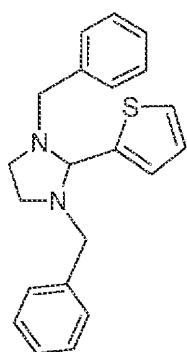


である、本発明1032の方法。

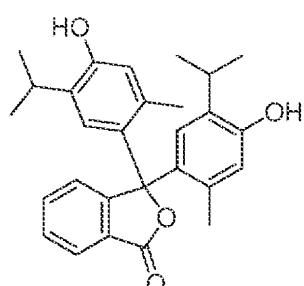
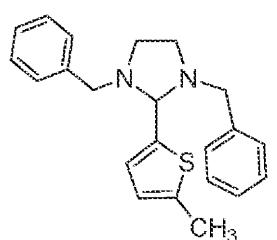
[本発明1035]



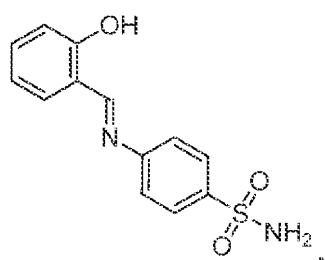
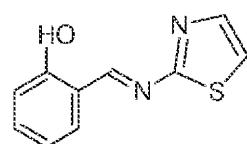
10



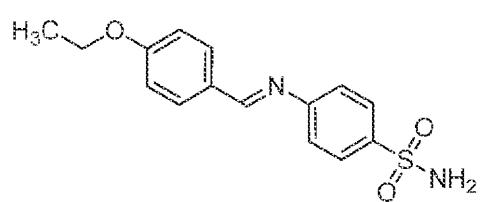
10

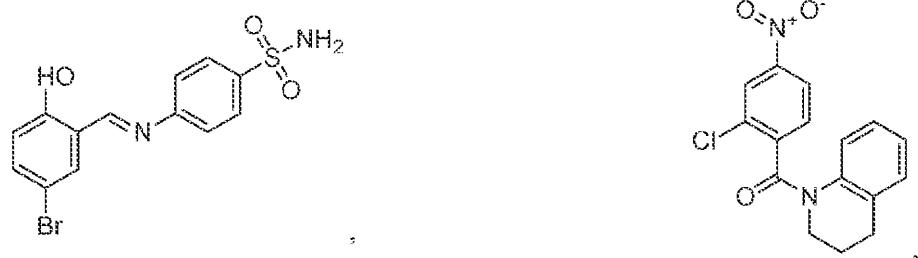
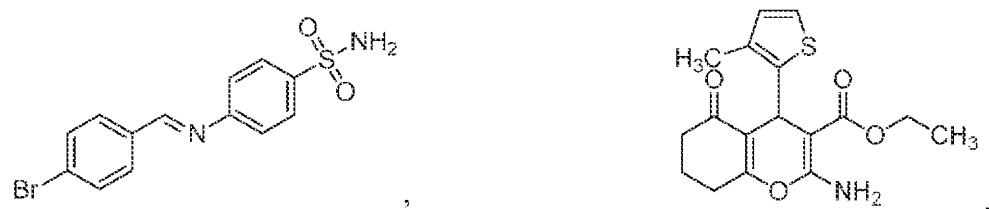
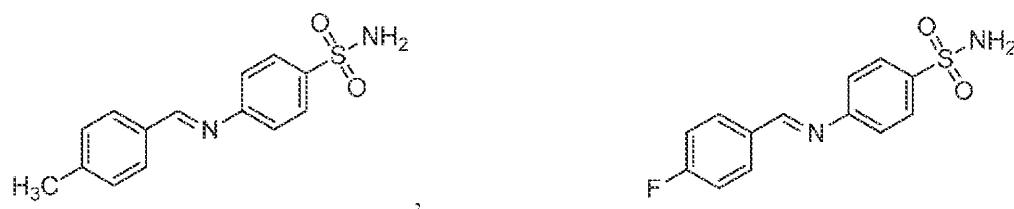


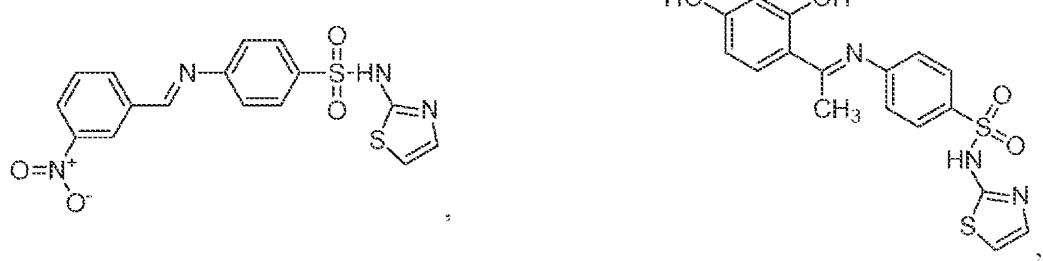
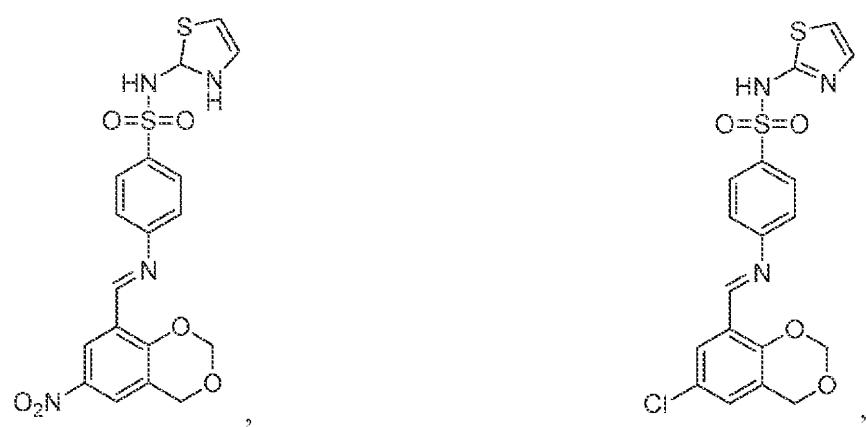
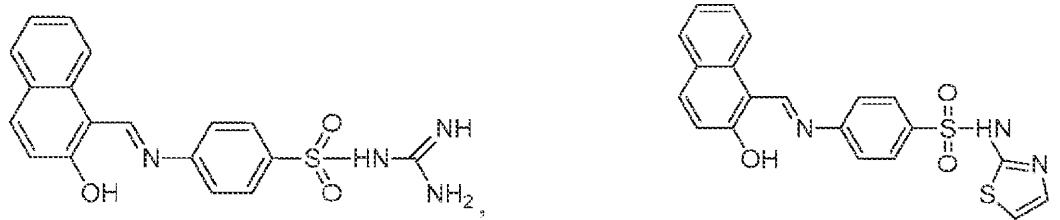
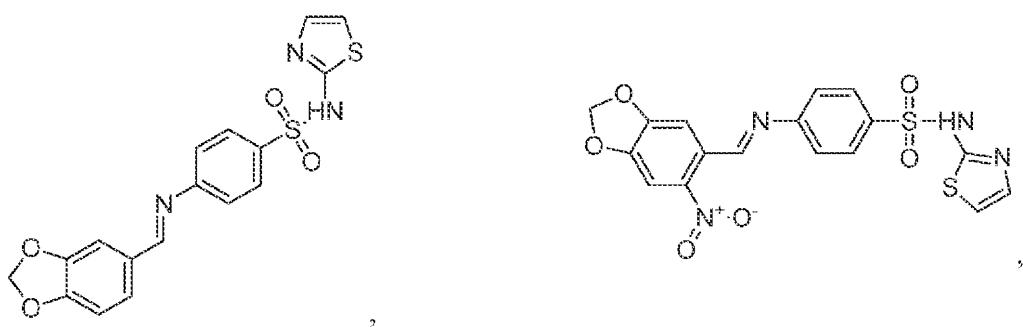
20



30





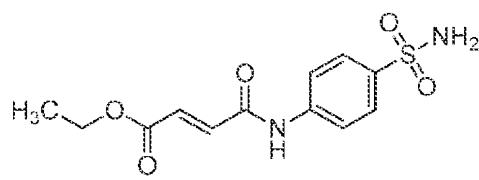
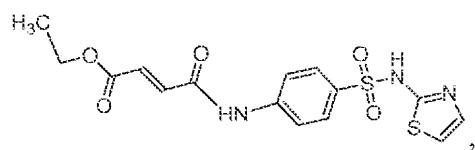
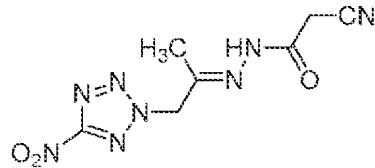
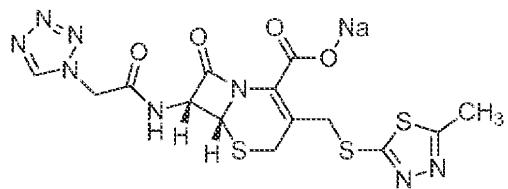
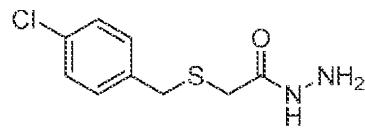
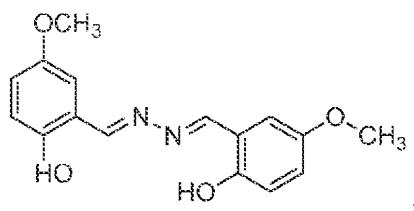
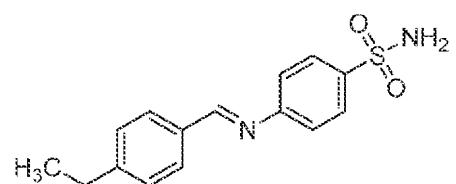
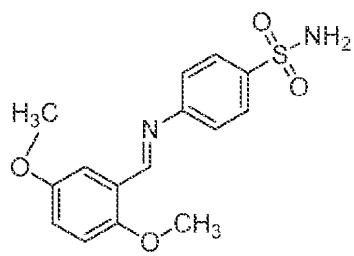
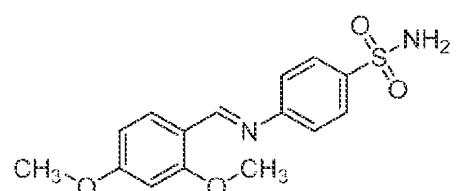
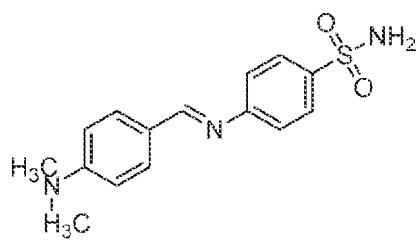


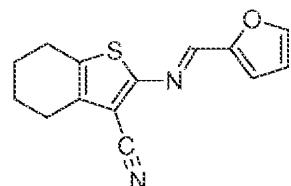
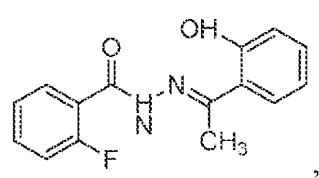
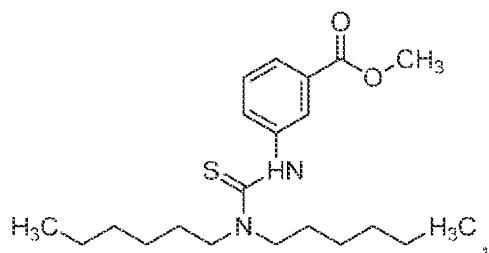
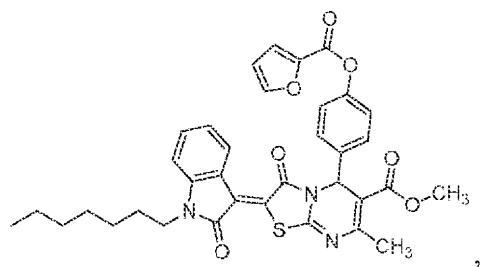
10

20

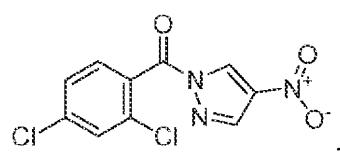
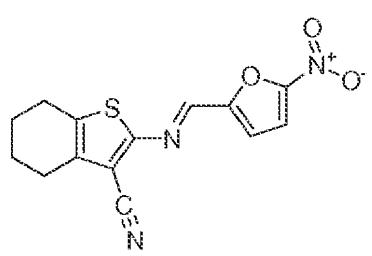
30

40

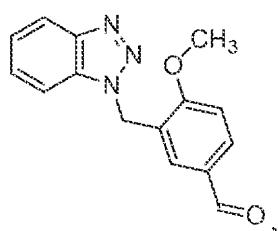
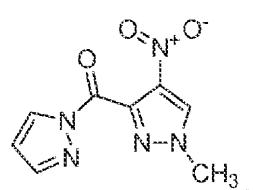




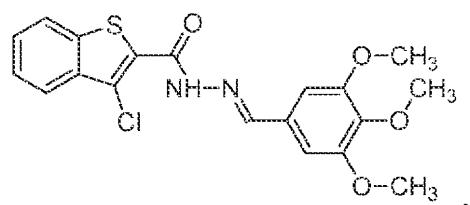
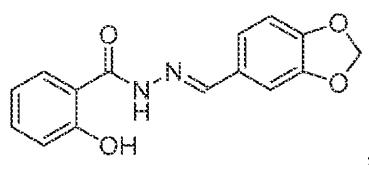
10

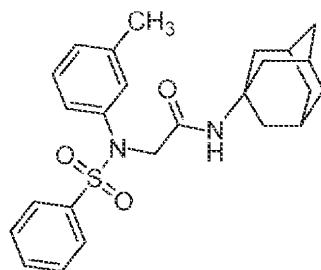
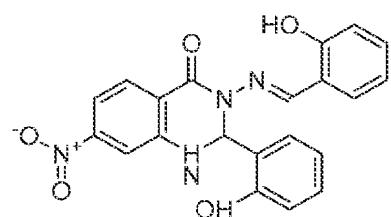


20

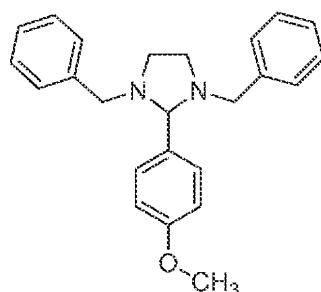
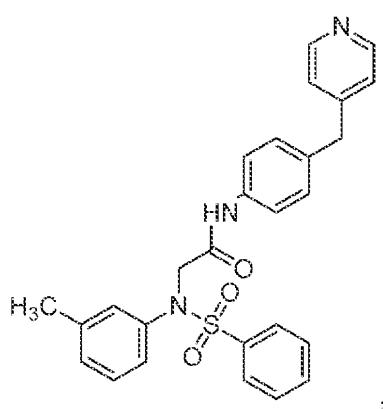


30

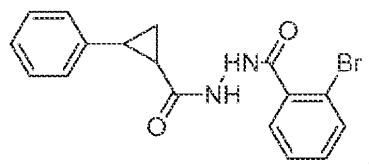
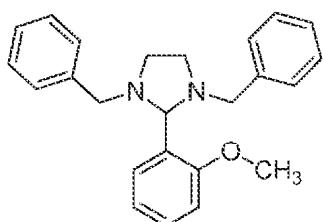




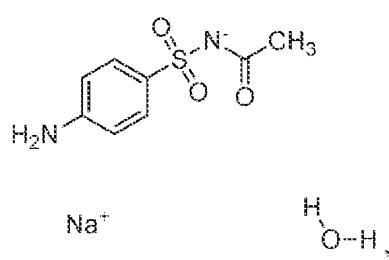
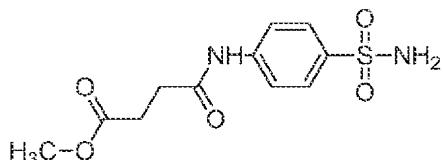
10

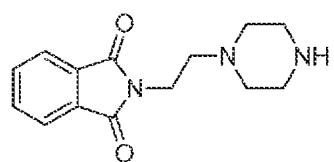
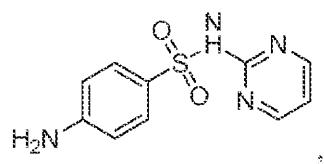
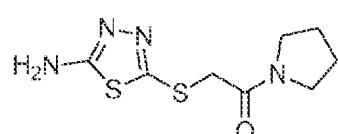
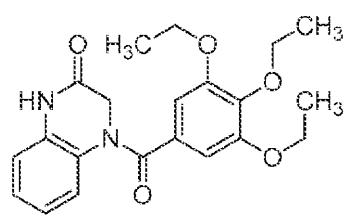
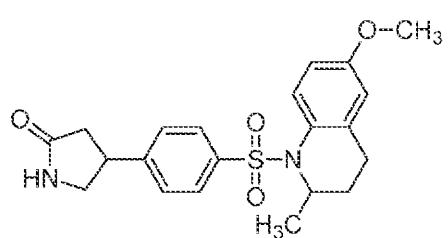
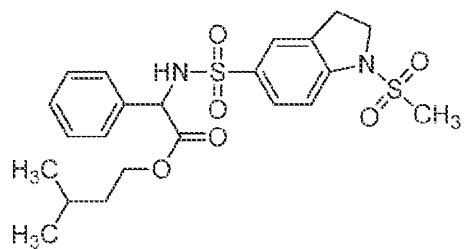
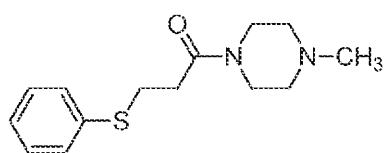
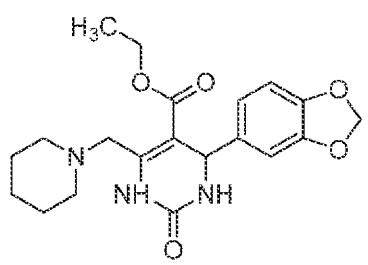
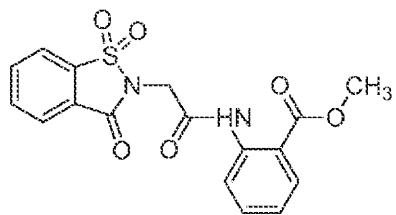
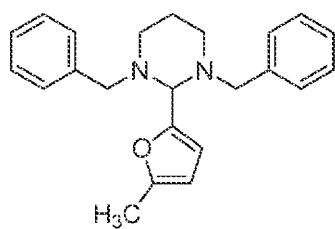


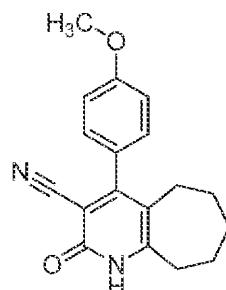
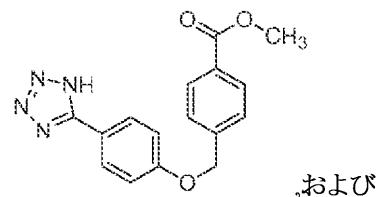
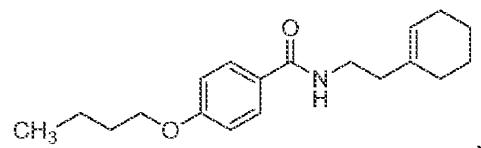
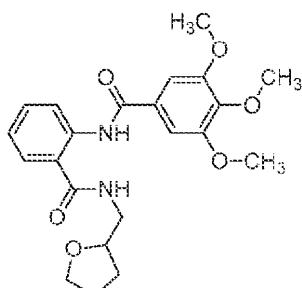
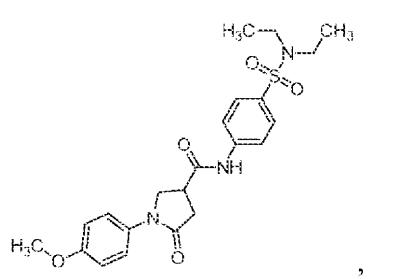
20



30

 Na^+ 





からなる群から選択される有効量の排出ポンプ阻害剤と抗微生物剤とを細胞に接触させる
ことを含む、細胞中の排出ポンプの阻害方法。

[本発明1036]

前記細胞が微生物細胞である、本発明1025～1035のいずれかの方法。

30

[本発明1037]

前記微生物細胞が細菌細胞である、本発明1036の方法。

[本発明1038]

前記細菌細胞がグラム陰性細菌細胞である、本発明1037の方法。

[本発明1039]

前記グラム陰性細菌細胞がアシнетバクター細菌細胞である、本発明1038の方法。

[本発明1040]

前記アシнетバクター細菌細胞がアシнетバクター・パウマンニ細菌細胞である、本発明1039の方法。

[本発明1041]

前記グラム陰性細菌細胞がシードモナス細菌細胞である、本発明1038の方法。

40

[本発明1042]

前記シードモナス細菌細胞がシードモナス・エルギノーサ細菌細胞である、本発明1041の方法。

[本発明1043]

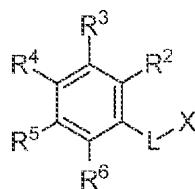
前記細菌細胞がグラム陽性細菌細胞である、本発明1037の方法。

[本発明1044]

次式：

10

20



(式中、

L は直接結合または置換もしくは無置換の結合ユニットであり、

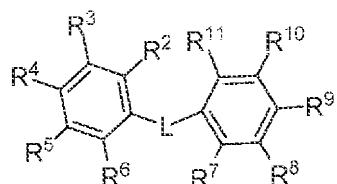
R²、R³、R⁴、R⁵、およびR⁶はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、かつ、

X は置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のスルホニル、または置換もしくは無置換のカルボキシルからなる群から選択される)

の排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩もしくはプロドラッグと抗微生物剤とを含有する、医薬組成物。

[本発明1045]

前記排出ポンプ阻害剤が、



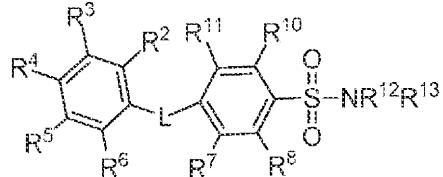
(式中、

R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される)

である、本発明1044の組成物。

[本発明1046]

前記排出ポンプ阻害剤が、



(式中、

R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、

10

20

30

40

50

置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシリル、置換もしくは無置換のアリールオキシリル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシリル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、かつ、

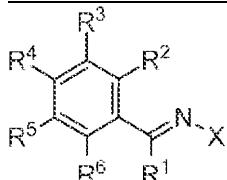
R¹²およびR¹³はそれぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される)

である、本発明1044の組成物。

[本発明1047]

10

前記排出ポンプ阻害剤が、

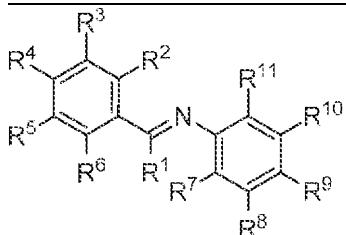


(式中、R¹は、水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択される)である、本発明1044の組成物。

[本発明1048]

20

前記排出ポンプ阻害剤が、



(式中、

R¹は水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択され、かつ、

R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシリル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシリル、置換もしくは無置換のアリールオキシリル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシリル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される)

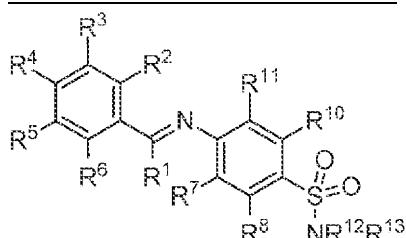
である、本発明1044の組成物。

[本発明1049]

30

前記排出ポンプ阻害剤が、

40



(式中、

R¹は水素および置換もしくは無置換のアルキルからなる群から選択され、

R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシリル、シアノ

50

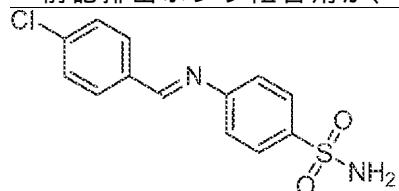
、二トロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択され、かつ、

R¹²およびR¹³はそれぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される)

である、本発明1044の組成物。

[本発明1050]

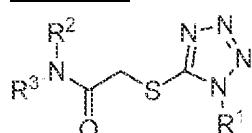
前記排出ポンプ阻害剤が、



である、本発明1044の組成物。

[本発明1051]

次式：

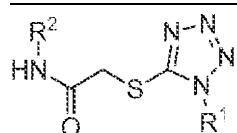


(式中、R¹、R²、およびR³はそれぞれ独立に水素、置換アルキル、置換アルケニル、置換アルキニル、置換もしくは無置換のアリール、または置換もしくは無置換のヘテロアリールから選択される)

の排出ポンプ阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩もしくはプロドラッグと抗微生物剤とを含む、医薬組成物。

[本発明1052]

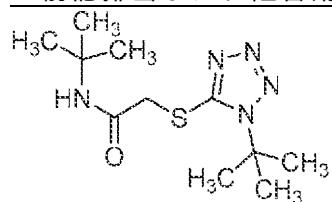
前記排出ポンプ阻害剤が、



である、本発明1051の組成物。

[本発明1053]

前記排出ポンプ阻害剤が、



である、本発明1051の組成物。

[本発明1054]

10

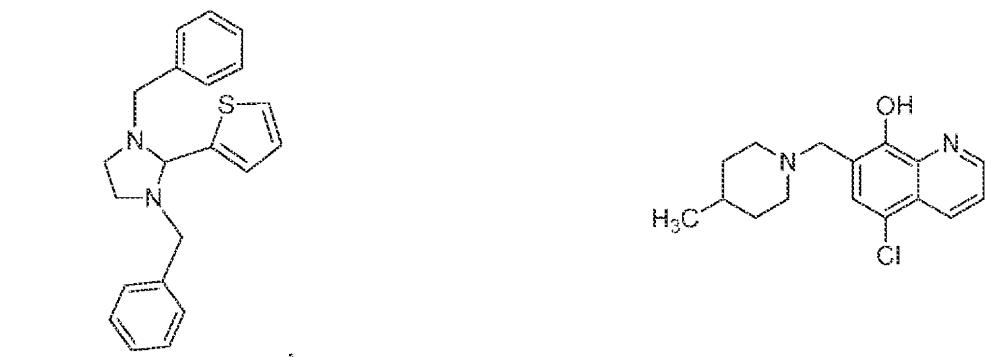
20

30

40



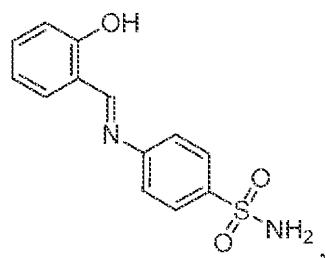
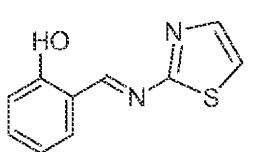
10



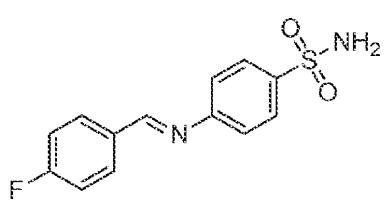
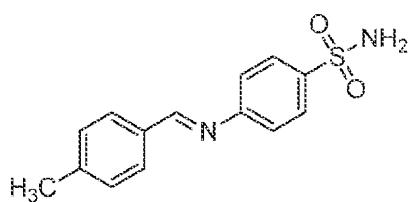
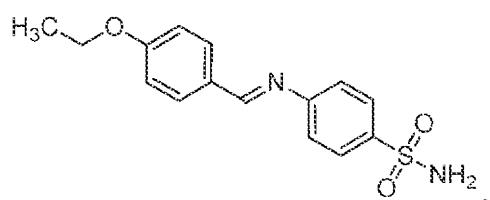
20



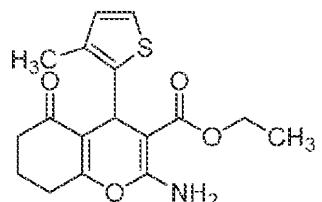
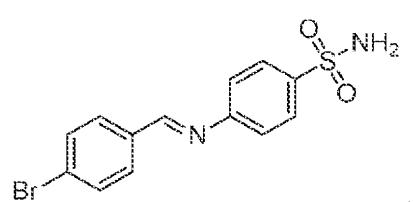
30



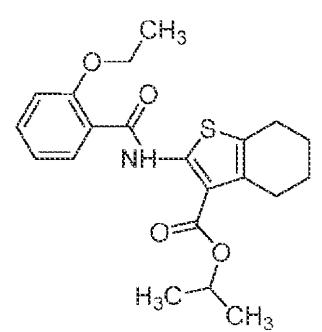
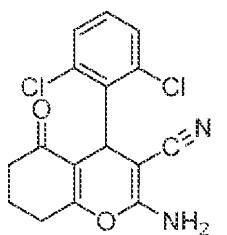
10



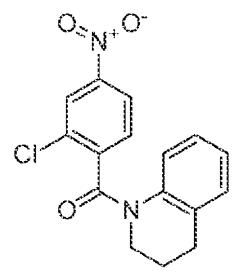
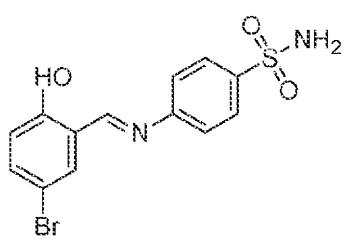
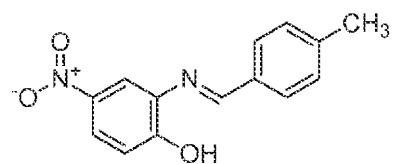
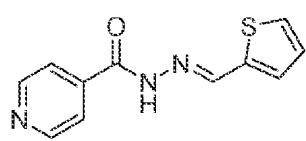
20



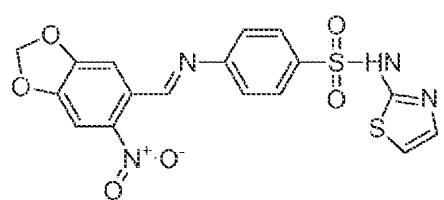
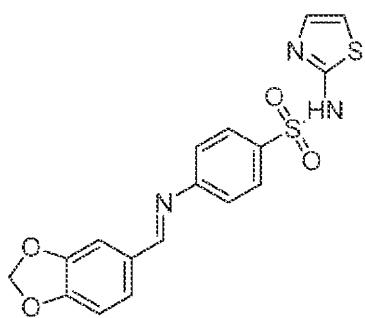
30



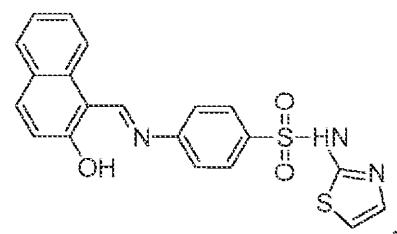
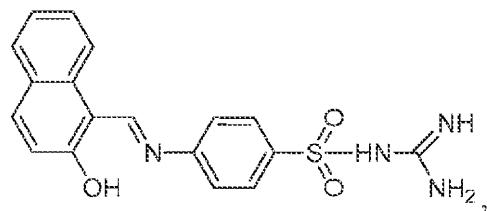
40



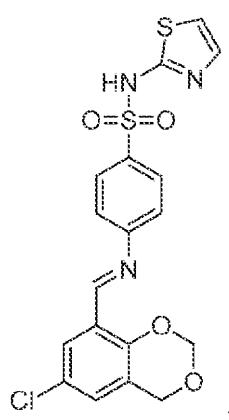
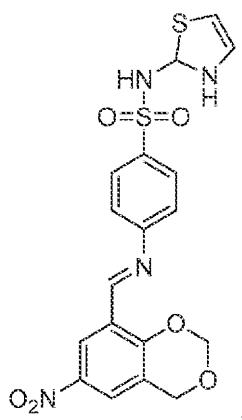
10



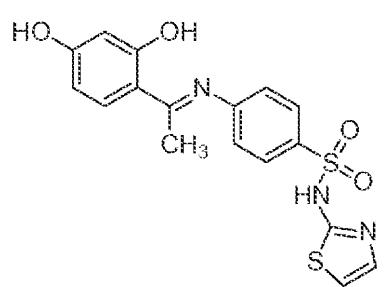
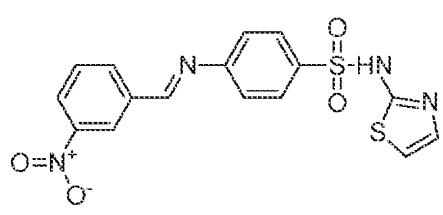
20



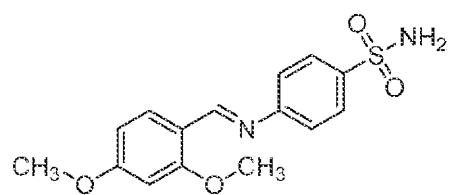
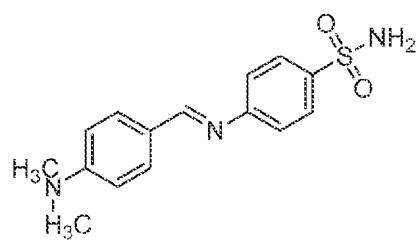
30



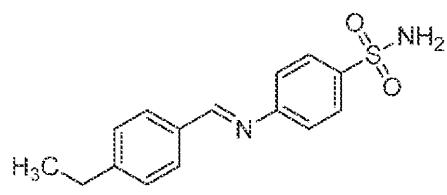
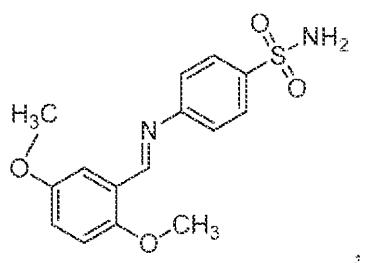
10

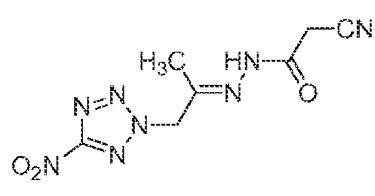
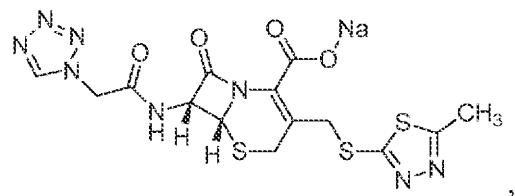
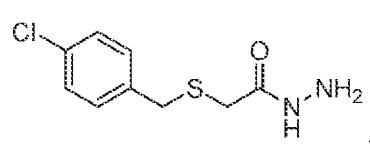
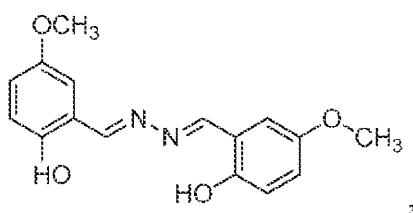


20

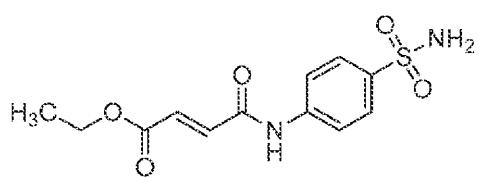
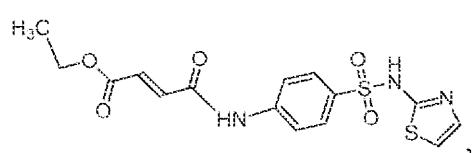


30

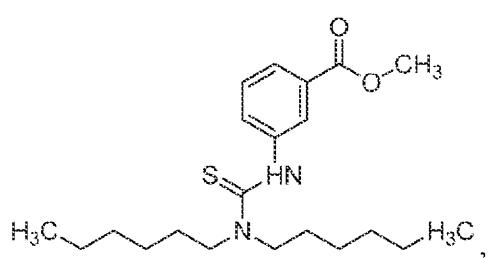
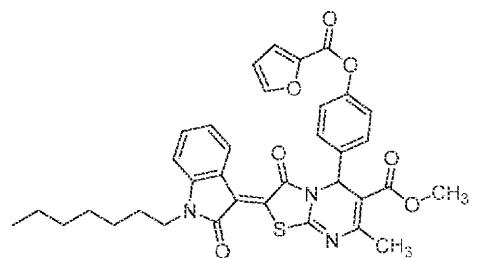




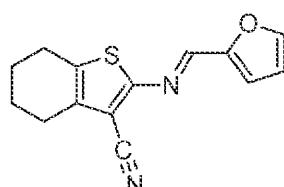
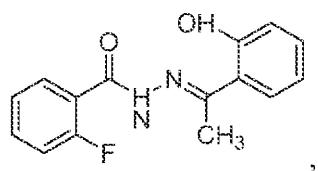
10

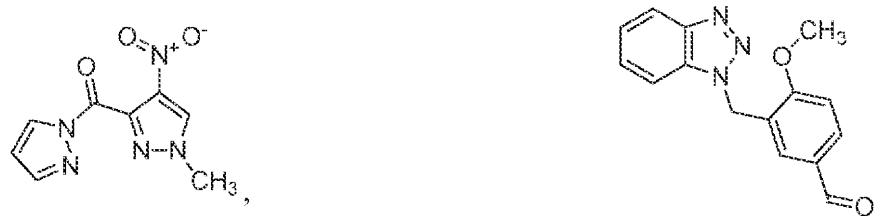


20

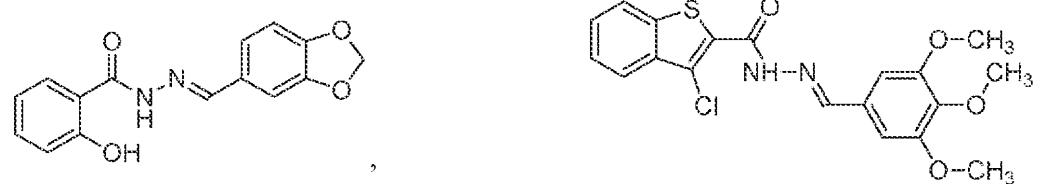


30





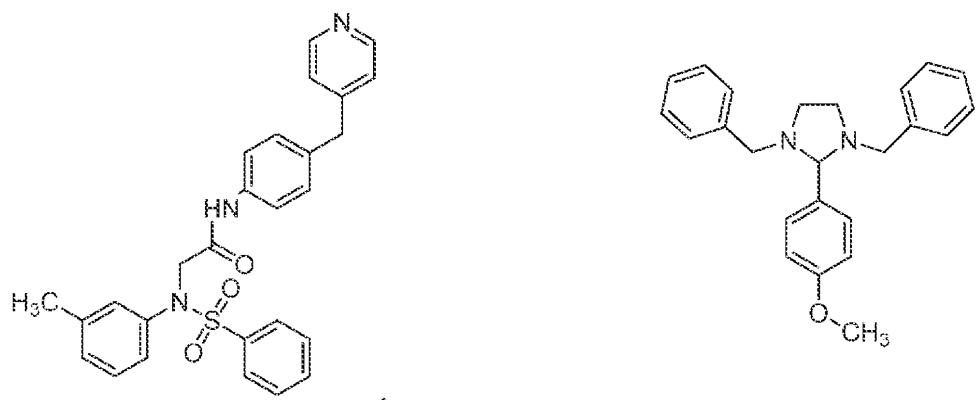
10



20



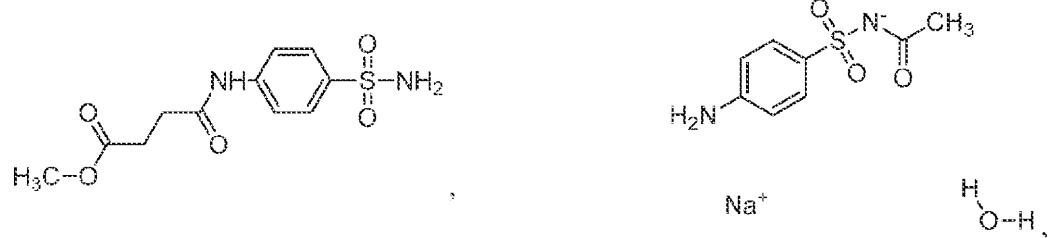
30



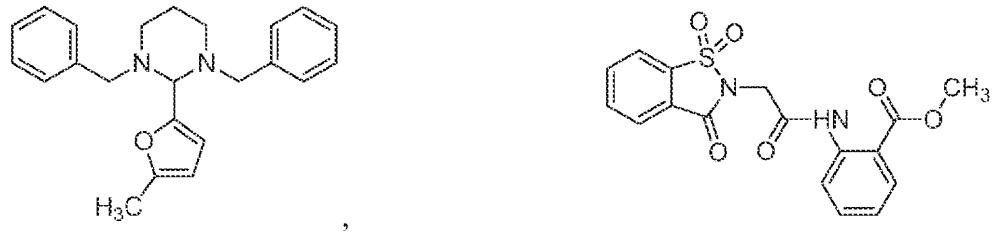
10

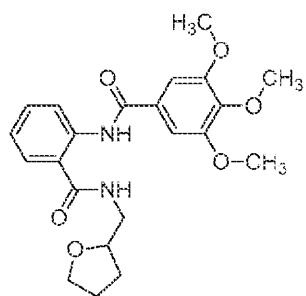
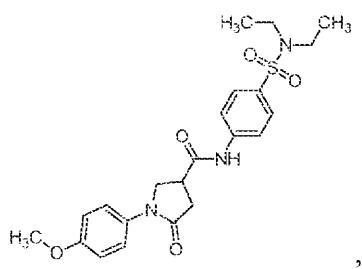
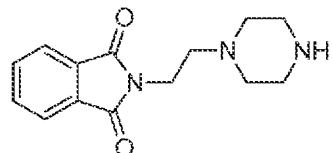
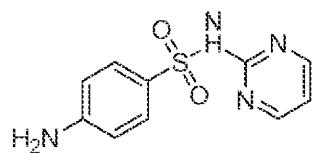
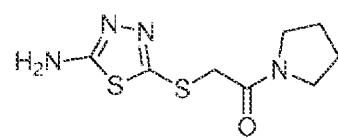
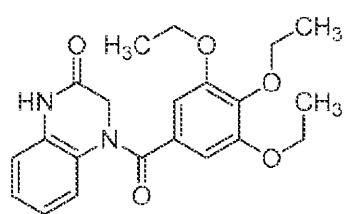
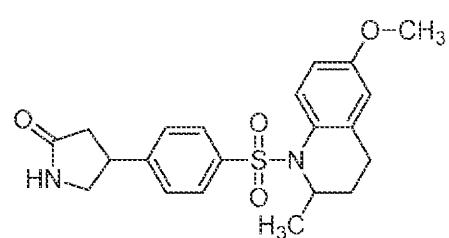
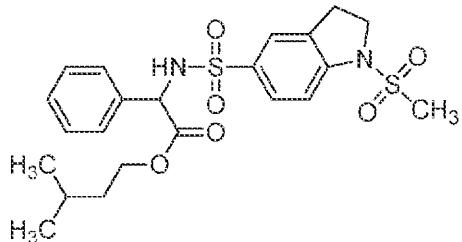
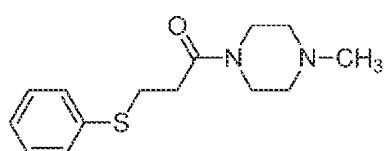
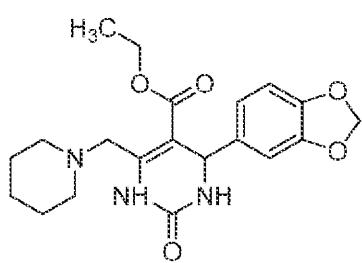


20



30



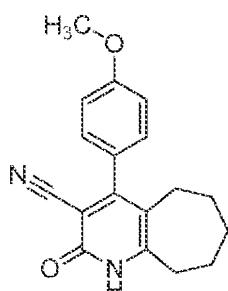
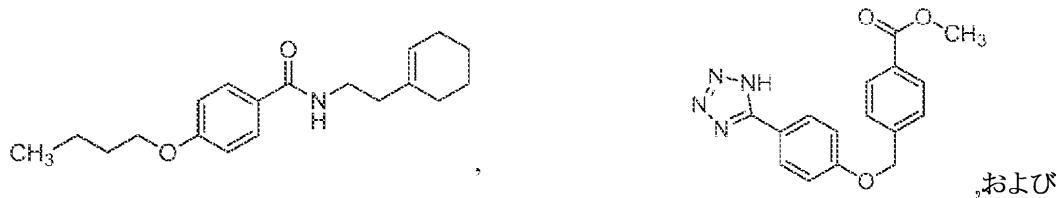


10

20

30

40



10

からなる群から選択される排出ポンプ阻害剤と抗微生物剤とを含む、医薬組成物。

[本発明1055]

前記抗微生物剤が、ミノサイクリン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、ナリジクス酸、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、メロペネム、セフトリアキソン、エリスロマイシン、コリスチン、ポリミキシンB、スルファメトキサゾール、チゲサイクリン、トプラマイシン、およびトリメトブリムからなる群から選択される、本発明1044～1054のいずれかの組成物。

20

[本発明1056]

医薬的に許容可能な担体を更に含む、本発明1044～1055のいずれかの組成物。

1つ以上の実施形態の詳細が、以下の図面および記載に示されている。他の特徴、目的、および利点は明細書および図面、ならびに請求項から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】濃度を増加させていったシプロフロキサシン（パネルA）、テトラサイクリン（パネルB）、またはチゲサイクリン（パネルC）が添加された、*Luria-Bertani* (LB) 培地中、ヒト血清中、および排出ポンプ阻害剤であるレセルピンを有する血清中での、アシネットバクター・バウマンニ株98-37-09の増殖を比較するグラフである。アスタリスクは、ステューデントのt検定によって決定されたLBでの増殖と血清での増殖との間の統計学的有意差を示す（*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001）。

30

【図2】0.5 μg ml⁻¹のミノサイクリンと、50 μg ml⁻¹のベラパミルまたは1×MECの本明細書に記載の化合物のいずれかとが添加されたヒト血清中で培養したA.バウマンニ株98-37-09中の細胞当たりの蓄積されたミノサイクリンの濃度を示すグラフである。破線は、ミノサイクリンと50 μg ml⁻¹のベラパミルとが添加されたヒト血清中で培養された細胞中のミノサイクリン濃度を表す。

40

【図3】パネルAは0.125 μg ml⁻¹のシプロフロキサシン、ST009675、ST058165、またはST060273が添加されたヒト血清中でのA.バウマンニ株98-37-09の増殖を示すグラフであり、パネルBは濃度を増加させていったシプロフロキサシンが添加された、LB培地またはヒト血清中でのシュードモナス・エルギノーサ株PA01の増殖のグラフである。排出は、公知の排出ポンプ阻害剤であるレセルピン（灰色の三角）、ABEPI1（灰色の×）、およびABEPI2（黒丸）で阻害された。アスタリスクは、ステューデントのt検定によって決定されたLBでの増殖と血清での増殖との間の統計学的有意差を示す（*P<0.05、**P<0.01）。パネルCはABEPI1とABEPI2の構造である。

50

【図4】公知のEPIフェニルアラニン-アルギニンペータナフチルアミド(PAN、白い四角)、ABEPI1(灰色の三角)、およびABEPI2(灰色の×)によるA.バウマンニ株98-37-09における排出の阻害を証明するエチジウムプロミド(EtBr)排出分析の結果を示す。

【図5】真核生物カルシウムチャネル阻害分析の結果である。ヒト胎児由来腎臓細胞(HEK293T)細胞を96ウェルの黒色壁のプレートに播種し、Fluo-4カルシウム結合蛍光発色団を入れた。蛍光モニタリングの15秒後、細胞をカルバコール単独(パネルA)、ベラパミル(パネルB)、ABEPI1(パネルC)、またはABEPI2(パネルD)で処理した(黒色矢印)。60秒後、全てのウェルをカルバコールで刺激した(灰色矢印)。

10

【発明を実施するための形態】

【0022】

詳細な説明

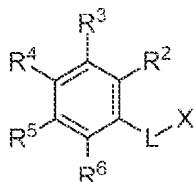
本明細書では、小分子排出ポンプ阻害剤について述べる。任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は微生物排出ポンプ阻害剤(例えば抗生物質排出ポンプ阻害剤)である。任意選択的には、排出ポンプ阻害剤は哺乳類排出ポンプ阻害剤である。本明細書では、グラム陰性細菌性病原体(例えばアシネットバクター・バウマンニおよびシュードモナス・エルギノーサ)などの微生物の抗生物質感受性を回復させるための小分子排出ポンプ阻害剤の使用方法も述べる。本明細書に記載の化合物は、通常他の分類の排出ポンプ阻害剤に関連している問題、すなわち著しい哺乳類細胞毒性およびカルシウムチャネル阻害がない。これらの化合物は細菌感染症(例えばグラム陰性細菌感染症およびグラム陽性細菌感染症)の治療的介入のための現行および将来の抗生物質の活性を増強するための補助的な治療法として使用することができる。

20

【0023】

I. 化合物

本明細書に記載の方法で有用な排出ポンプ阻害剤のある分類は、式I:



30

で表される化合物、またはその薬学的に許容可能な塩、またはそのプロドラッグを含む。

【0024】

式Iにおいて、Lは直接結合または置換もしくは無置換の結合ユニットである。本明細書において、直接結合という語は、Lが連結していることが示されている6員環構造上の炭素と、XまたはXの原子との共有結合を意味する。Lが置換もしくは無置換の結合ユニットである場合、これは1~4個の炭素原子と最大2個のヘテロ原子(例えば酸素、窒素、または硫黄)とを有する結合ユニットである。置換もしくは無置換の結合ユニットとしてのLの例としては、置換もしくは無置換のアルキル基(例えばメチル、エチル、プロピル、ブチル、-C(O)-、-CH2(O)-、または-C(O)CH2-)、置換もしくは無置換のアルケニル基(例えば=CH-、=CHCH2-、=CHCH2CH2-、または=CHCH2CH2CH2-)、置換もしくは無置換のアルキニル基、最大2個のヘテロ原子を有する置換もしくは無置換のヘテロアルキル基(例えば-NH-、-CH2NH-、-NHCH2-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-CH2NHC(O)-、-CH2C(O)NH-、-NHC(O)CH2-、または-C(O)NHCH2-)、最大2個のヘテロ原子を有する置換もしくは無置換のヘテロアルケニル基(例えば=N-または-N=)、最大2個のヘテロ原子を有する置換もしくは無置換のヘテロアルキニル基が挙げられる。

40

【0025】

任意選択的には、LはR¹基で置換されていてもよい。式Iにおいて、R¹は水素およ

50

び置換もしくは無置換のアルキル基からなる群から選択される。任意選択的には、R¹は水素またはメチルである。

【0026】

更に、式Iにおいて、R²、R³、R⁴、R⁵、およびR⁶はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される。任意選択的には、R²、R³、R⁴、R⁵、およびR⁶のうちの1つ以上は水素、ハロゲン（例えばプロモ、クロロ、またはフルオロ）、ヒドロキシル、メトキシ、エトキシ、メチル、エチル、ニトロ、アミノ、またはジメチルアミノである。

【0027】

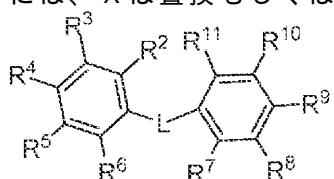
また、式Iにおいて、Xは置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、は置換もしくは無置換のスルホニル、または置換もしくは無置換のカルボキシルからなる群から選択される。任意選択的には、Xは置換もしくは無置換のアリールまたは置換もしくは無置換のヘテロアリールである。例えば、Xは任意選択的には五員環、六員環、または七員環であってもよい。任意選択的には、Xは置換もしくは無置換のフェニルである。任意選択的には、Xは置換もしくは無置換のチアゾールである。任意選択的には、Xには置換もしくは無置換のスルホニルが含まれる。例えば、Xはスルホニアミド基を含み得る。

【0028】

任意選択的には、式Iにおいて、隣接するR基は結び付いて置換もしくは無置換のシクロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロシクロアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および/または置換もしくは無置換のヘテロアリールを形成する。例えば、式Iにおいて、R²とR³、R³とR⁴、R⁴とR⁵、またはR⁵とR⁶は結び付いて置換もしくは無置換のシクロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロシクロアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および/または置換もしくは無置換のヘテロアリールを形成し得る。

【0029】

式Iのいくつかの実施例では、Xは置換もしくは無置換のアリールである。任意選択的には、Xは置換もしくは無置換のフェニルであり下記構造I-A：



構造I-A

を与える。構造I-Aにおいて、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、およびR⁶は式Iで定義したとおりである。また、構造I-Aにおいて、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、およびR¹¹はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される。

10

20

30

40

50

ルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される。任意選択的には、R⁹は水素、スルホニアミド、またはメチルから選択される。

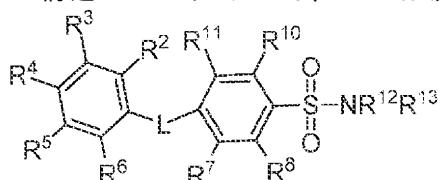
【0030】

任意選択的には、構造I-Aにおいて、隣接するR基は結び付いて置換もしくは無置換のシクロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロシクロアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および/または置換もしくは無置換のヘテロアリールを形成する。例えば、構造I-Aにおいて、R²とR³、R³とR⁴、R⁴とR⁵、R⁵とR⁶、R⁷とR⁸、R⁸とR⁹、R⁹とR¹⁰、および/またはR¹⁰とR¹¹は結び付いて置換もしくは無置換のシクロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロシクロアルキル、置換もしくは無置換のアリール、または置換もしくは無置換のヘテロアリールを形成し得る。

10

【0031】

構造I-Aにおいて、R⁹は次式I-B：



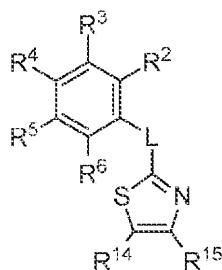
構造I-B

20

に従う置換もしくは無置換のスルホニアミドであってもよい。構造I-Bにおいて、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹は式Iで定義したとおりである。また、構造I-Bにおいて、R¹²およびR¹³はそれぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される。

【0032】

式Iのいくつかの例においては、Xは置換もしくは無置換のヘテロアリールである。任意選択的には、Xは構造I-C：



構造I-C

30

に従う置換もしくは無置換のチアゾールである。

【0033】

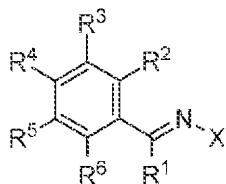
構造I-Cにおいて、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、およびR⁶は式Iで定義したとおりである。また、構造I-Cにおいて、R¹⁴およびR¹⁵はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される。任意選択的には、R¹⁴およびR¹⁵は水素である。

40

【0034】

50

式 I のいくつかの例においては、L は窒素原子を含む置換もしくは無置換のヘテロアルケニル基である。任意選択的には、L は $-C(R^1) = N -$ であり構造 I - D :

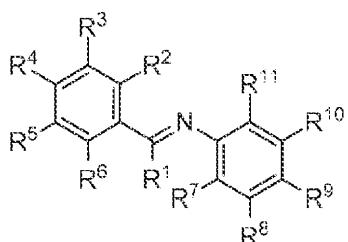


構造 I-D

を与える。構造 I - D において、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、および X は式 I 10 で定義したとおりである。

【0035】

構造 I - D のいくつかの例では、X は置換もしくは無置換のアリールである。任意選択的には、X は置換もしくは無置換のフェニルであり構造 I - E :



20

構造 I-E

を与える。構造 I - E において、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、および R^6 は式 I で定義したとおりである。また、構造 I - E において、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、および R^{11} はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシリル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシリル、置換もしくは無置換のアリールオキシリル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシリル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される。任意選択的には、 R^9 は水素、スルホニアミド、またはメチルからなる群から選択される。

30

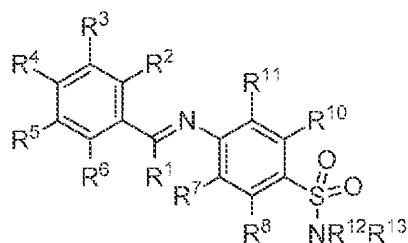
【0036】

任意選択的には、構造 I - E において、隣接する R 基は結び付いて置換もしくは無置換のシクロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロシクロアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および / または置換もしくは無置換のヘテロアリールを形成する。例えば、構造 I - E において、 R^2 と R^3 、 R^3 と R^4 、 R^4 と R^5 、 R^5 と R^6 、 R^7 と R^8 、 R^8 と R^9 、 R^9 と R^{10} 、および / または R^{10} と R^{11} は結び付いて置換もしくは無置換のシクロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロシクロアルキル、置換もしくは無置換のアリール、または置換もしくは無置換のヘテロアリールを形成し得る。

40

【0037】

構造 I - E において、 R^9 は次式 I - F :

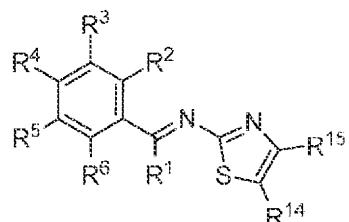


構造 I-F

に従う置換もしくは無置換のスルホンアミドであってもよい。構造 I - F において、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R¹⁰、およびR¹¹は式 I で定義したとおりである。また、構造 I - F において、R¹²およびR¹³はそれぞれ独立に水素、置換もしくは無置換のアミジン、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアリール、および置換もしくは無置換のヘテロアリールからなる群から選択される。

【0038】

構造 I - D のいくつかの例においては、X は置換もしくは無置換のヘテロアリールである。任意選択的には、X は構造 I - G :



20

構造 I-G

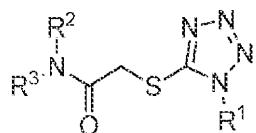
に従う置換もしくは無置換のチアゾールである。

【0039】

構造 I - G において、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、およびR⁶は式 I で定義したとおりである。また、構造 I - G において、R¹⁴およびR¹⁵はそれぞれ独立に水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、置換もしくは無置換のアルキル、置換もしくは無置換のアルケニル、置換もしくは無置換のアルキニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキル、置換もしくは無置換のヘテロアルケニル、置換もしくは無置換のヘテロアルキニル、置換もしくは無置換のアミノ、置換もしくは無置換のアリール、置換もしくは無置換のヘテロアリール、置換もしくは無置換のアルコキシル、置換もしくは無置換のアリールオキシル、置換もしくは無置換のカルボニル、置換もしくは無置換のカルボキシル、または置換もしくは無置換のスルホニルからなる群から選択される。任意選択的には、R¹⁴およびR¹⁵は水素である。

【0040】

本明細書に記載の方法で有用な排出ポンプ阻害剤のある分類には、式 I I :



40

で表される化合物、またはその薬学的に許容可能な塩、またはそのプロドラッグが含まれる。

【0041】

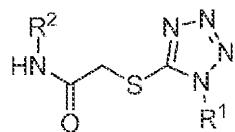
式 I I において、R¹、R²、およびR³はそれぞれ独立に水素、置換アルキル、置換アルケニル、置換アルキニル、置換もしくは無置換のアリール、または置換もしくは無置換のヘテロアリールから選択される。任意選択的には、R¹は tert - ブチルである。任意選択的には、R²は水素である。任意選択的には、R³は tert - ブチルである。式 I I のいくつかの例では、R²とR³は同時に水素ではない。任意選択的には、R¹と

50

R^2 は同じである。

【0042】

式IIのいくつかの例では、 R^3 は水素であり構造II-A：

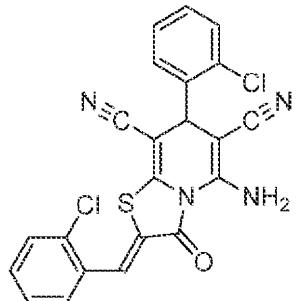


構造II-A

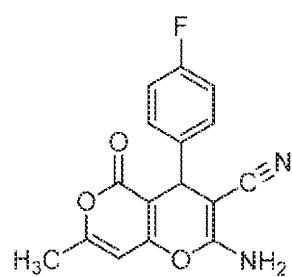
を与える。

【0043】

本明細書に記載の方法で有用な排出ポンプ阻害剤の例は、以下の化合物である。



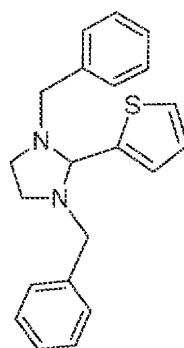
ST006953



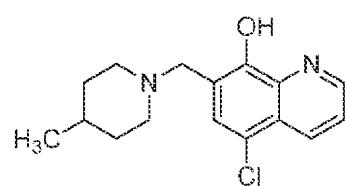
ST007013

10

20

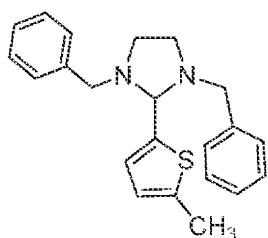


ST007852

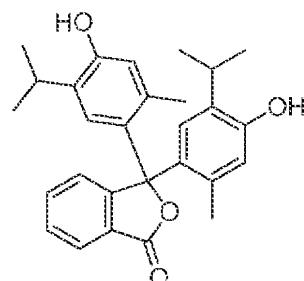


ST007924

10

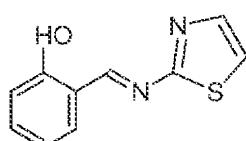


ST008277

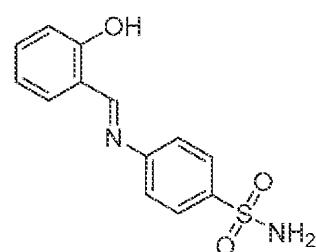


ST009495

20

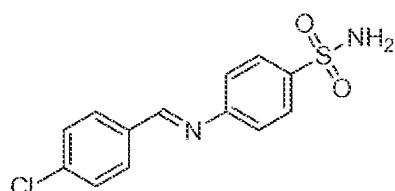


ST009531

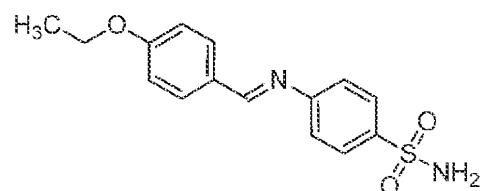


ST009655

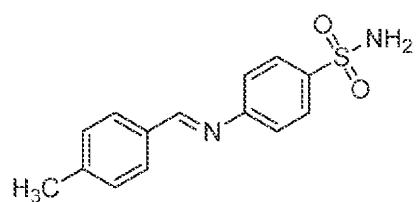
30



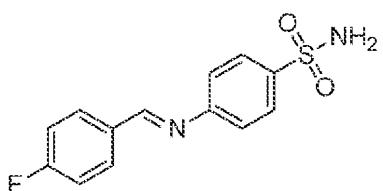
ST009675 (ABEPII)



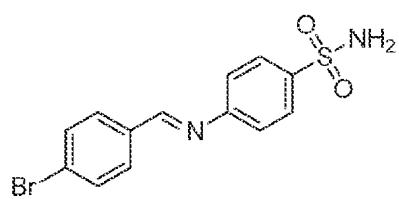
ST009694



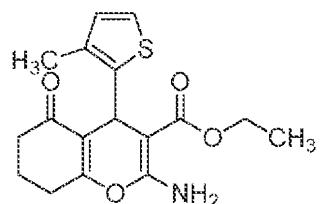
ST009696



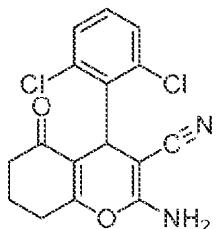
ST009698



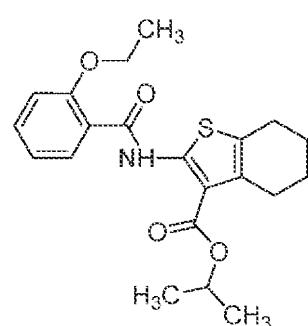
ST009699



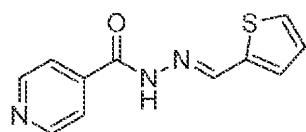
ST009847



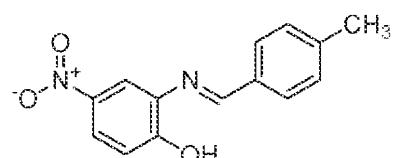
ST009850



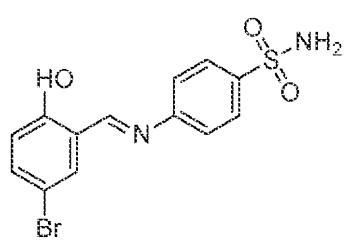
ST009896



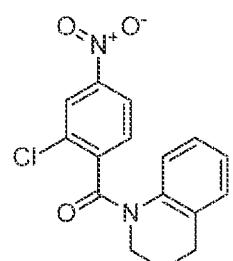
ST010260



ST010277



ST010344



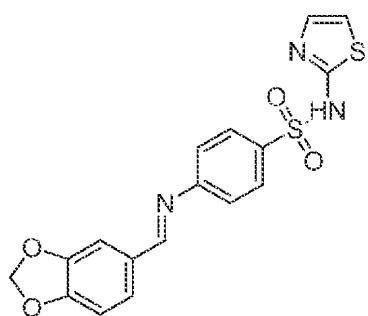
ST011123

10

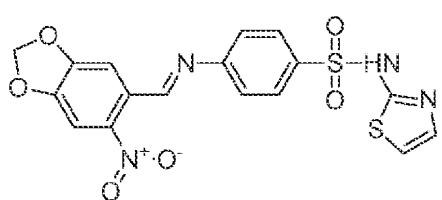
20

30

40

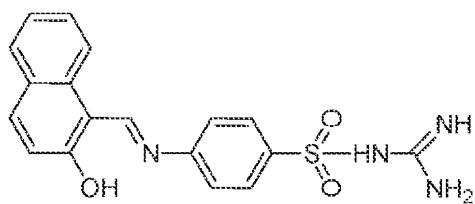


ST012901

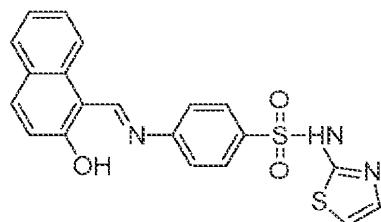


ST012902

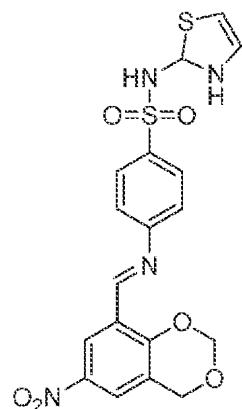
10



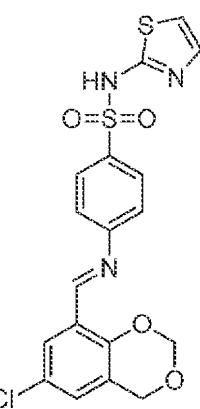
ST012929



ST012934

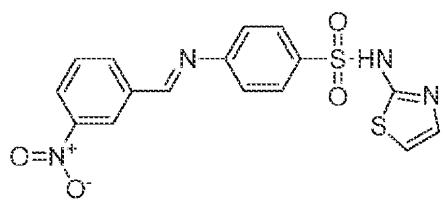


ST012941

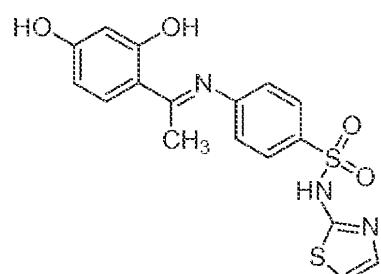


ST012955

20



ST012961



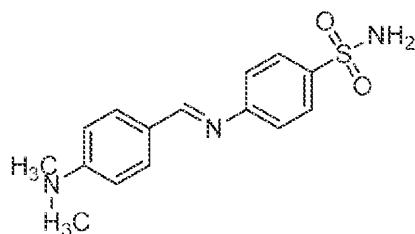
ST012963

30

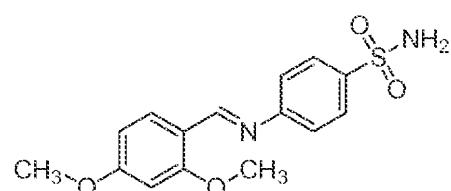


ST012966

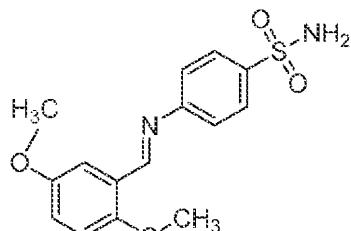
40



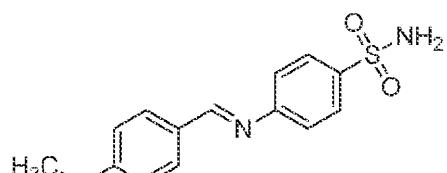
ST016436



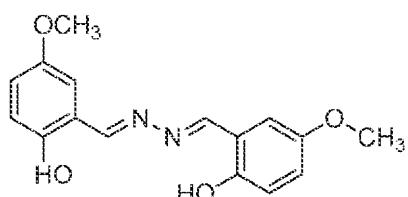
ST016442



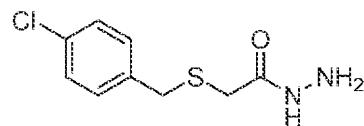
ST016443



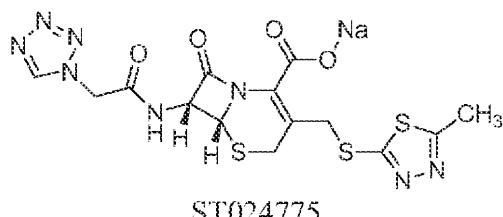
ST016444



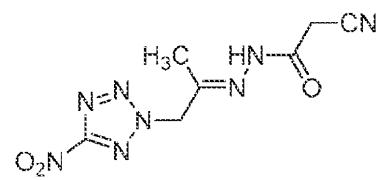
ST020959



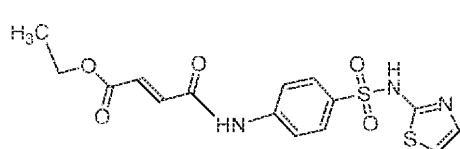
ST020992



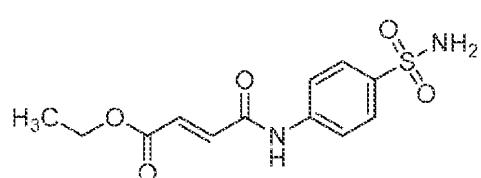
ST024775



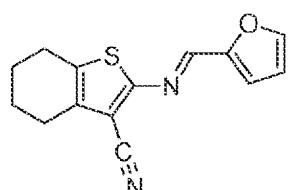
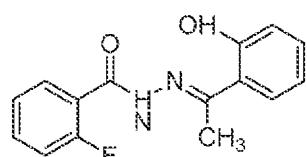
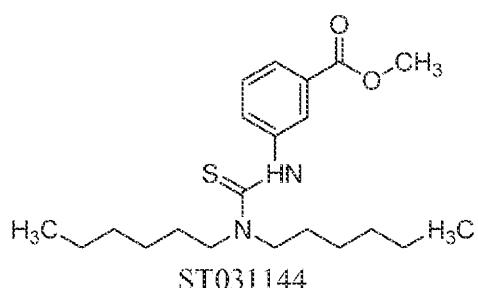
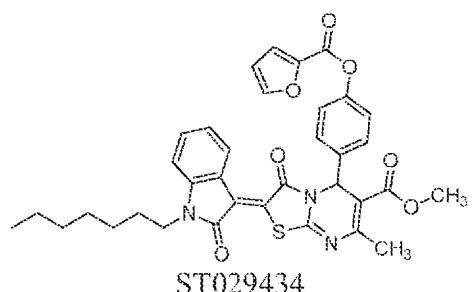
ST025773



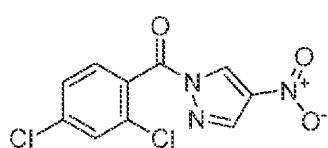
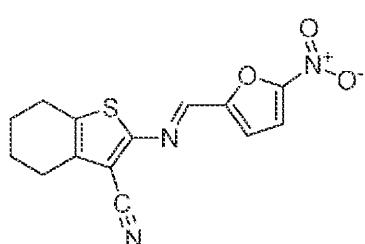
ST026450



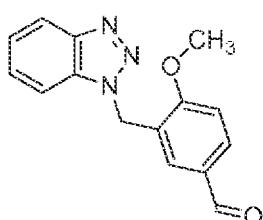
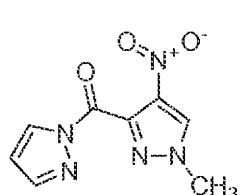
ST026465



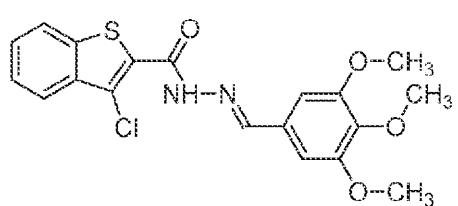
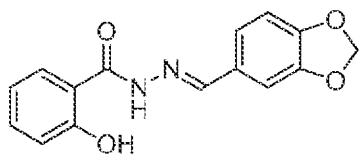
10

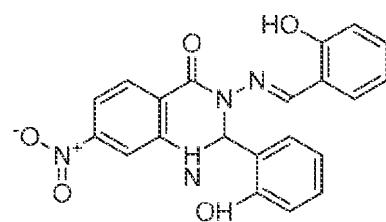


20

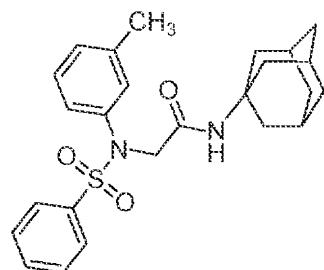


30



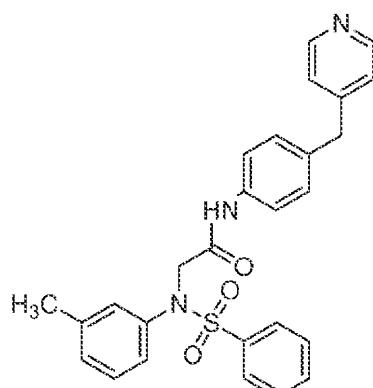


ST033447

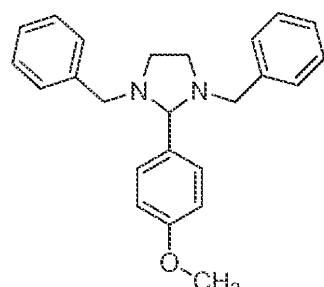


ST034012

10

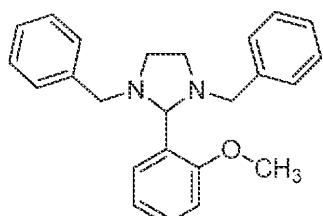


ST034014

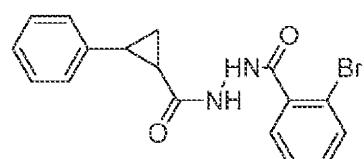


ST036291

20

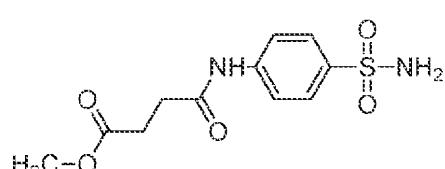


ST036365

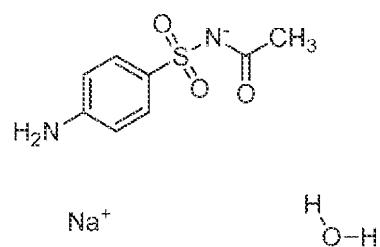


ST040282

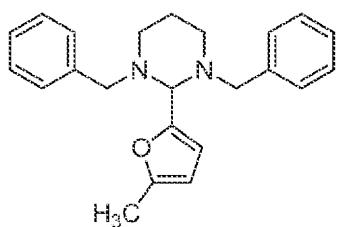
30



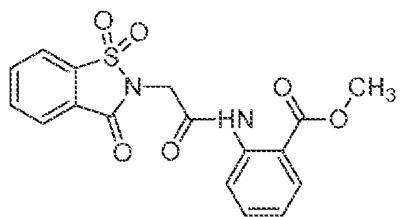
ST040289



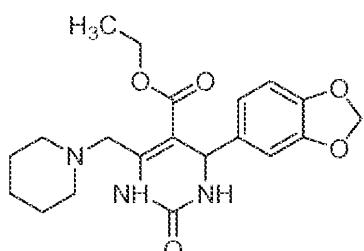
ST040724



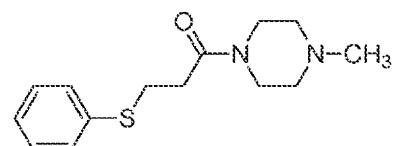
ST048001



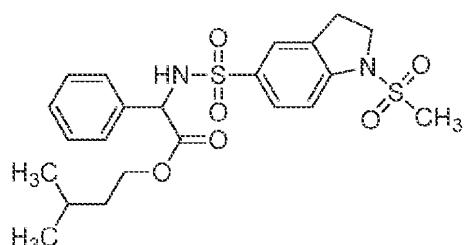
ST058165



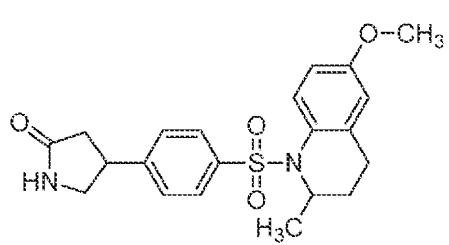
ST058478



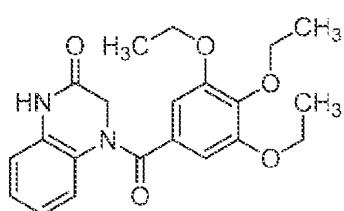
ST058672



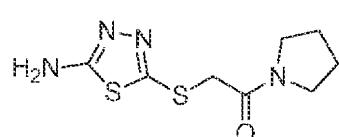
ST058811



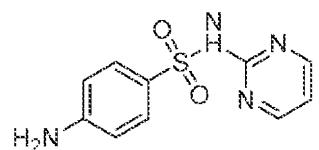
ST058899



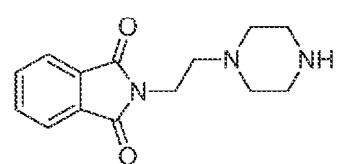
ST059010



ST059421



ST059447



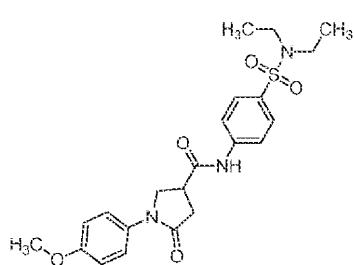
ST059581

10

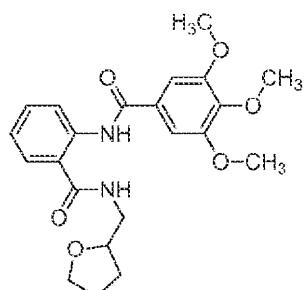
20

30

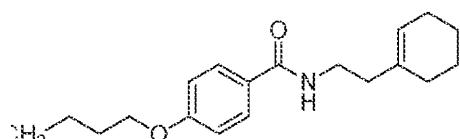
40



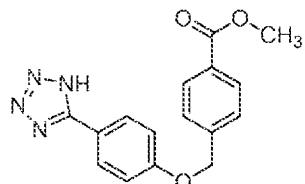
ST059822



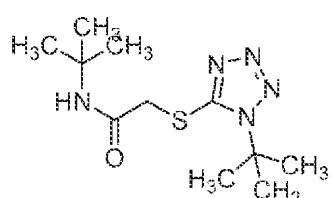
ST060053



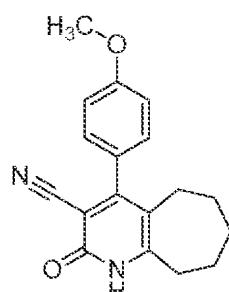
ST060056



ST060272



ST060273 (ABEPI2)



ST060355

【0044】

任意選択的には、排出ポンプ阻害剤はST009675(ABEPI1)またはST060273(ABEPI2)である。任意選択的には、排出ポンプ阻害剤はST009655、ST009694、ST009699、ST009696、ST009698、ST010277、ST010344、ST012901、ST012902、ST012929、ST012934、ST012941、ST012955、ST012961、ST012963、ST016436、ST016442、ST016443、ST016444、ST009531、ST006953、ST007013、ST007852、ST007924、ST008277、ST009495、ST009847、ST060355、ST009850、ST009896、ST010260、ST011123、ST020959、ST020992、ST024775、ST025773、ST026450、ST026465、ST029434、ST031144、ST033061、ST033063、ST033065、ST033231、ST033232、ST033235、ST033341、ST033346、ST033447、ST034012、ST034014、ST036291、ST036365、ST040282、ST040289、ST040724、ST048001、ST058165、ST058478、ST058672、ST058811、ST058899、ST059010、ST059421、ST059447、ST059581、ST059822、ST060053、ST060056、またはST060272ではない。

【0045】

本明細書において、アルキル、アルケニル、およびアルキニルという用語には直鎖また

10

20

30

40

50

は分岐鎖の一価の置換基が含まれる。例としては、メチル、エチル、イソブチル、3-ブチニル等が挙げられる。本明細書に記載の化合物および方法で有用なこれらの基の範囲には、C₁～C₂₀のアルキル、C₂～C₂₀のアルケニル、およびC₂～C₂₀のアルキニルが含まれる。本明細書に記載の化合物および方法で有用なこれらの基の追加的な範囲には、C₁～C₁₂のアルキル、C₂～C₁₂のアルケニル、C₂～C₁₂のアルキニル、C₁～C₆のアルキル、C₂～C₆のアルケニル、C₂～C₆のアルキニル、C₁～C₄のアルキル、C₂～C₄のアルケニル、およびC₂～C₄のアルキニルが含まれる。

【0046】

ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、およびヘテロアルキニルは、アルキル、アルケニル、およびアルキニルと同様であるが、O、S、またはNヘテロ原子またはその組み合わせを主鎖に含み得る。本明細書に記載の化合物および方法で有用なこれらの基の範囲には、C₁～C₂₀のヘテロアルキル、C₂～C₂₀のヘテロアルケニル、およびC₂～C₂₀のヘテロアルキニルが含まれる。本明細書に記載の化合物および方法で有用なこれらの基の追加的な範囲には、C₁～C₁₂のヘテロアルキル、C₂～C₁₂のヘテロアルケニル、C₂～C₁₂のヘテロアルキニル、C₁～C₆のヘテロアルキル、C₂～C₆のヘテロアルケニル、C₂～C₆のヘテロアルキニル、C₁～C₄のヘテロアルキル、C₂～C₄のヘテロアルケニル、およびC₂～C₄のヘテロアルキニルが含まれる。

【0047】

シクロアルキル、シクロアルケニル、およびシクロアルキニルという用語には、単環式環または多環式縮合環を有する環状アルキル基が含まれる。例としては、シクロヘキシリ、シクロペンチルエチル、およびアダマンチルが挙げられる。本明細書に記載の化合物および方法で有用なこれらの基の範囲には、C₃～C₂₀のシクロアルキル、C₃～C₂₀のシクロアルケニル、およびC₃～C₂₀のシクロアルキニルが含まれる。本明細書に記載の化合物および方法で有用なこれらの基の追加的な範囲には、C₅～C₁₂のシクロアルキル、C₅～C₁₂のシクロアルケニル、C₅～C₁₂のシクロアルキニル、C₅～C₆のシクロアルキル、C₅～C₆のシクロアルケニル、およびC₅～C₆のシクロアルキニルが含まれる。

【0048】

ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルケニル、およびヘテロシクロアルキニルという用語は、シクロアルキル、シクロアルケニル、およびシクロアルキニルと同様に定義されるが、O、S、またはNヘテロ原子またはその組み合わせを環状主鎖に含み得る。本明細書に記載の化合物および方法で有用なこれらの基の範囲には、C₃～C₂₀のヘテロシクロアルキル、C₃～C₂₀のヘテロシクロアルケニル、およびC₃～C₂₀のヘテロシクロアルキニルが含まれる。本明細書に記載の化合物および方法で有用なこれらの基の追加的な範囲には、C₅～C₁₂のヘテロシクロアルキル、C₅～C₁₂のヘテロシクロアルケニル、C₅～C₁₂のヘテロシクロアルキニル、C₅～C₆のヘテロシクロアルケニル、およびC₅～C₆のヘテロシクロアルキニルが含まれる。

【0049】

アリール分子には、例えば、あたかも交互の一重共有結合と二重共有結合とから構成されているように含まれている非局在化電子によって連結されている、典型的には6個の炭素原子の、1つ以上の平面集合体を包含する、環状炭化水素が含まれる。アリール分子の1つの例はベンゼンである。ヘテロアリール分子は、O、N、またはSなどの原子によるこれら主環式鎖の置換を含む。ヘテロ原子が導入される場合には、例えば4個の炭素と1個のヘテロ原子などの5個の原子の集合も芳香族系を形成することができる。ヘテロアリール分子の例としては、フラン、ピロール、チオフェン、イミダゾール、オキサゾール、ピリジン、およびピラジンが挙げられる。アリール分子およびヘテロアリール分子は、例えばベンゾフラン、インドール、ベンゾチオフェン、ナフタレン、アントラセン、およびキノリンなどの追加的な縮合環も含み得る。アリール分子およびヘテロアリール分子は、特段の記載がない限り、環の任意の位置で連結することができる。

10

20

30

40

50

【0050】

本明細書で使用されるアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、ヘテロアリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルケニル、またはヘテロシクロアルキニル分子は、置換されていても置換されていなくてもよい。本明細書において、置換されるという用語には、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、ヘテロアリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルケニル、またはヘテロシクロアルキニル基の主鎖に結合している位置へのアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、ヘテロアリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルケニル、またはヘテロシクロアルキニルの付加、例えばこれらの分子のうちの1つによる水素の置換が含まれる。置換基の例としては、これらに限定されるものではないが、ヒドロキシル、ハロゲン（例えばF、Br、Cl、またはI）、およびカルボキシル基が含まれる。一方で、本明細書において、無置換という用語は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、ヘテロアリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルケニル、またはヘテロシクロアルキニルが水素を完全に備えていること、すなわち例えば直鎖デカン（-（CH₂）₉-CH₃）などのように置換なしでその飽和レベルに等しいことを示す。

10

20

【0051】

I I . 医薬組成物

本明細書に記載の化合物またはその誘導体は、医薬組成物中で提供することができる。医薬組成物は、意図される投与方法に応じて、例えば錠剤、座薬、丸薬、カプセル、粉末、液体、懸濁液、軟膏、ゲル、クリーム、または溶液などの、固体、半固体、または液体の投与形態であってもよく、好ましくは正確な用量の単回投与に好適な単位剤形であってもよい。組成物は、医薬的に許容可能な担体と組み合わされた、治療に有効な量の本明細書に記載の化合物またはその誘導体を含むであろう。また更に、組成物は他の薬剤、医薬品、担体、または希釈剤を含んでいてもよい。医薬的に許容可能とは、許容できない生物学的影響を生じることなしに、あるいはこれが含まれる医薬組成物の他の成分と有害な相互作用をすることなしに、選択された化合物と共に個体に投与可能な、生物学的にまたはその他に不適切ではない物質を意味する。

30

【0052】

本明細書において、担体という用語には、医薬組成物中で使用するための当該技術分野で周知のあらゆる添加剤、希釈剤、フィラー、塩、緩衝液、安定剤、可溶化剤、脂質、安定剤、または他の物質が包含される。組成物中での使用のための担体の選択は、組成物の意図される投与方法に依存するであろう。これらの物質を含む医薬的に許容可能な担体および配合物の調製は、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences, 21st Edition, ed. University of the Sciences in Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia Pa.,

40

2005に記載されている。生理学的に許容可能な担体の例としては、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、および他の有機酸を用いた緩衝液などの緩衝液；アスコルビン酸を含む酸化防止剤；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、またはリシンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、またはデキストリンなどの单糖類、二糖類、および他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤、マンニトールまたはソルビトールなどの糖アルコール；ナトリウムなどの塩形成対イオン；および/またはWEEN（登録商標）（ICI, Inc. ; Bridgewater, New Jersey）、ポリエチレングリコール（PEG）

50

G)、およびPLURONICS(商標)(BASF; Floryham Park, NJ)などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。

【0053】

注射剤に好適な、本明細書に記載の1種以上の化合物またはその誘導体を含む組成物は、生理学的に許容可能な滅菌水溶液もしくは非水溶液、分散液、懸濁液、またはエマルションと、滅菌注射用溶液または分散液に再調製するための滅菌粉末とを含んでいてもよい。好適な水性および非水性の担体、希釈剤、溶媒、または賦形剤の例としては、水、エタノール、ポリオール(プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセロール等)、これらの適切な混合物、植物油(オリーブオイル等)、およびオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルが挙げられる。適切な流動性は、例えばレシチンなどのコーティングの使用によって、分散液の場合には必要とされる粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持することができる。10

【0054】

これらの組成物は、保存料、湿潤剤、乳化剤、および分散剤などの補助剤も含んでいてもよい。微生物の作用の阻止は、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などの様々な抗微生物薬および抗真菌剤によって促進することができる。例えば糖や塩化ナトリウムなどの等張剤も含まれていてもよい。注射可能な薬剤形態の持続的な吸収は、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの吸収を遅らせる薬剤の使用によってもたらされ得る。20

【0055】

本明細書に記載の化合物またはその誘導体の経口投与用の固体剤形としては、カプセル、錠剤、丸薬、粉末、および顆粒が挙げられる。このような固体剤形においては、本明細書に記載の化合物またはその誘導体は、クエン酸ナトリウムまたはリン酸二カルシウムなどの少なくとも1種の不活性な通常の添加剤(もしくは担体)、あるいは(a)例えばデンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、およびケイ酸などのフィラーもしくは增量剤、(b)例えばカルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース、およびアカシアなどのバインダー、(c)例えばグリセロールなどの保湿剤、(d)例えば寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモもしくはタピオカのデンプン、アルギン酸、特定の複合ケイ酸塩、および炭酸ナトリウムなどの崩壊剤、(e)例えばパラフィンなどの溶解遅延剤、(f)例えば四級アンモニウム化合物などの吸収促進剤、(g)例えばセチルアルコール、およびグリセロールモノステアレートなどの湿潤剤、(h)例えばカオリンおよびベントナイトなどの吸着剤、ならびに(i)例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウムなどの滑剤、またはこれらの混合物と混合される。カプセル、錠剤、および丸薬の場合には、剤形は緩衝剤も含有していてもよい。30

【0056】

類似した種類の固体組成物は、ラクトースまたは乳糖および高分子量ポリエチレングリコールなどのような添加剤を使用した軟ゼラチンカプセルおよび硬ゼラチンカプセル中のフィラーとして用いることもできる。

【0057】

錠剤、糖衣錠、カプセル、丸薬、および顆粒などの固体剤形は、溶腸性コーティングおよび当技術分野において公知の他のもののような、コーティングおよびシェルを用いて調製することができる。これらは乳白剤を含んでいてもよく、またこれらは活性物質もしくは活性物質群を腸管の特定の部分において徐放する組成物のものであってもよい。使用可能な組込用組成物の例は、ポリマー物質およびワックスであってもよい。活性物質はまた、適切な場合には、上述した1つ以上の添加剤を有するマイクロカプセル化された形態とすることができる。40

【0058】

本明細書に記載の1種以上の化合物またはその誘導体の経口投与用の液体剤形としては、医薬的に許容可能なエマルション、溶液、懸濁液、シロップ、およびエリキシル剤が挙50

げられる。活性化合物に加えて、液体剤形は、水または他の溶媒などの当該技術分野で一般的に使用されている不活性な希釈剤、可溶化剤、ならびに乳化剤、例えばエチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1, 3 - ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、オイル（特には綿実油、落花生油、トウモロコシ胚芽油、オリーブ油、ひまし油、ゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコール、およびソルビタンの脂肪酸エステル、またはこれらの物質の混合物などを含んでいてもよい。

【0059】

このような不活性な希釈剤に加えて、組成物は湿潤剤、乳化剤、懸濁剤、甘味料、香料、または芳香剤などの追加的な薬剤も含んでいてもよい。

【0060】

懸濁液は、活性化合物に加えて、例えばエトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトールおよびソルビタンエステル、微結晶セルロース、アルミニウムメタヒドロキシド、ベントナイト、寒天、およびトラガカント、またはこれらの物質の組み合わせ等の、1種以上の追加的な薬剤を含んでいてもよい。

【0061】

本明細書に記載の1種以上の化合物またはその誘導体の直腸投与用の組成物は、任意選択的には座薬であり、これは、常温で固体であるが体温では液体であり、その結果として直腸または膣腔内で溶けて活性成分（群）を放出するものであるココアバター、ポリエチレングリコール、または座薬ワックスなどの適切な非刺激性の添加剤または担体と、化合物とを混合することによって調製することができる。

【0062】

本明細書に記載の1種以上の化合物またはその誘導体の局所投与のための剤形としては、軟膏、粉末、スプレー、吸入剤、ゲル、クリーム、および溶液が挙げられる。本明細書に記載の化合物またはその誘導体は、生理学的に許容可能な担体、および必要に応じた任意の保存料、緩衝液、または噴射剤と無菌条件下で混合される。眼科用の製剤、軟膏、粉末、および溶液も組成物の範囲内にあると想定されている。

【0063】

組成物は、本明細書に記載の1種以上の化合物と、薬学的に許容可能な担体とを含んでいてもよい。本明細書において、薬学的に許容可能な塩という用語は、信頼できる医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応などなしに対象の組織と接触させて使用するのに適切であり、妥当な利益 / リスク比に見合う、意図された用途に有効な、本明細書に記載の化合物またはその誘導体の塩のことをいい、また可能な場合には本明細書に記載の化合物の双性イオン形態のことという。塩という用語は、比較的毒性がない、本明細書に記載の化合物の無機酸または有機酸の付加塩のことをいう。これらの塩は、化合物の単離および精製時に in - situ で調製されてもよいし、そのフリーの塩基の形態の精製した化合物を別途適切な有機酸または無機酸と反応させ、その結果形成された塩を単離することによって調製されてもよい。代表的な塩としては、臭化水素酸塩、塩酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、硝酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、吉草酸塩、オレイン酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリン酸塩、ホウ酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、リン酸塩、トリル酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、ナフチル酸塩、メシル酸塩、グルコヘプトン酸塩、ラクトビオン酸塩、メタンスルホン酸塩、およびラウリルスルホン酸塩等が挙げられる。これらは、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどのアルカリ金属およびアルカリ土類金属を主体とするカチオンだけでなく、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、およびエチルアミン等（ただしこれらに限定されない）を含む毒性がないアンモニウム、四級アンモニウム、およびアミンカチオンも含んでいてもよい。（S. M. Barge et al., J. Pharm Sci., (1977) 66, 1, 参照のこと。これはその全体が、少な

10

20

30

40

50

くともこの中で教示されている組成物に関して、参照により本明細書に包含される。)

【0064】

本明細書に記載の化合物および組成物またはその薬学的に許容可能な塩の投与は、不調を治療するのに効果的な時間、治療有効量の本明細書に記載の化合物および組成物または本明細書に記載のその薬学的に許容可能な塩を用いて行うことができる。本明細書に記載の化合物および組成物または本明細書に記載のその薬学的に許容可能な塩の治療に有効な量は当業者が決定することができ、これには1日当たりの活性化合物が体重1kg当たり約0.5～約200mgである哺乳動物についての典型的な投与量が含まれ、これは単回用量で投与されてもよいし、1日に1～4回などの個別の分割用量の形態で投与されてもよい。あるいは、投与量は、1日当たりの活性化合物が体重1kg当たり約0.5～約150mg、1日当たりの活性化合物が体重1kg当たり約0.5～約100mg、1日当たりの活性化合物が体重1kg当たり約0.5～約75mg、1日当たりの活性化合物が体重1kg当たり約0.5～約50mg、1日当たりの活性化合物が体重1kg当たり約1～約20mg、1日当たりの活性化合物が体重1kg当たり約20mg、1日当たりの活性化合物が体重1kg当たり約10mg、または1日当たりの活性化合物が体重1kg当たり約5mgであってもよい。当業者であれば、具体的な投与量および任意の特定の対象に対する投薬頻度は変わることがあり、用いる具体的な化合物または化合物群の活性、化合物(群)の代謝安定性および作用の長さ；対象の種、年齢、体重、全体的な健康、性別、および食事；投与の方式および時間；排泄速度；薬の組み合わせ；ならびに具体的な状態の重症度を含む様々な因子に依存することを理解するであろう。

【0065】

I I I . 化合物の製造方法

本明細書に記載の化合物は、有機合成の技術分野で公知の様々な方法および当業者に理解されるそのバリエーションで合成することができる。本明細書に記載の化合物は、容易に入手可能な出発物質から合成することができる。最適な反応条件は、使用される具体的な反応物または溶媒によって変化し得るが、そのような条件は当業者が決定することができる。

【0066】

式I、式II、および本明細書に記載の化合物のバリエーションには、各化合物について記載されているような様々な構成要素の加減または移動が含まれる。同様に、分子の中に1つ以上のキラル中心が存在する場合には、分子のキラリティーは変更されてもよい。更に、化合物の合成は、様々な化学基の保護および脱保護を含み得る。保護および脱保護の利用ならびに適切な保護基の選択は当業者が決定することができる。保護基の化学は、例えばWu ts and Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Ed., Wiley & Sons, 2006(これはその全体が参照により本明細書に包含される)中で見ることができる。本明細書に記載の様々な化合物の合成およびその後の有効性を決定するための試験が想定される。

【0067】

本明細書に記載の化合物を製造するための反応は、有機合成の分野の当業者が選択し得る溶媒中で行うことができる。溶媒は、反応が行われる条件、すなわち温度および圧力の下で、出発物質(反応物)、中間体、または生成物に対して実質的に非反応性とすることができます。反応は、1つの溶媒中で行うこともできるし、1種より多い溶媒の混合物中で行うこともできる。生成物または中間体の形成は、当該技術分野で公知の任意の適切な方法によってモニタリングすることができる。例えば、生成物の形成は、核磁気共鳴分光法(例えば¹Hまたは¹³C)、赤外分光法、分光光度法(例えば紫外-可視)、もしくは質量分析法などの分光手段によって、または高速液体クロマトグラフィー(HPLC)または薄層クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィーによって、モニタリングすること

10

20

30

40

50

ができる。

【0068】

任意選択的には、本明細書に記載の化合物は、例えばTimTec (Newark, DE)などの販売元から入手可能である。

【0069】

IV. 使用方法

本明細書では、対象の微生物感染症を治療、予防、または改善するための方法が提供される。方法は、対象に有効量の本明細書に記載の排出ポンプ阻害剤と、抗微生物剤を投与することを含む。本明細書に記載の化合物および組成物またはその薬学的に許容可能な塩は、ヒト（例えば小児および高齢者）および動物（例えば家畜用途）の微生物感染症の治療に有用である。微生物感染症としては、例えば細菌感染症および真菌感染症が挙げられる。いくつかの例では微生物感染症は細菌感染症である。任意選択的には、細菌感染症は、アシネットバクター感染症（例えばアシネットバクター・パウマンニ感染症）、シュードモナス感染症（例えばシュードモナス・エルギノーサ感染症）、クレブシエラ（*Klebsiella*）感染症、エシェリキア（*Escherichia*）感染症、サルモネラ（*Salmonella*）感染症、エルシニア（*Yersinia*）感染症、シゲラ（*Shigella*）感染症、プロテウス（*Proteus*）感染症、エンテロバクター（*Enterobacter*）感染症、セラチア（*Serratia*）感染症、またはシトロバクター（*Citrobacter*）感染症などのグラム陰性細菌感染症である。いくつかの例では、微生物感染症は、バチルス（*Bacillus*）感染症、リステリア（*Listeria*）感染症、スタフィロコッカス（*Staphylococcus*）感染症、ストレプトコッカス（*Streptococcus*）感染症、エンテロコッカス（*Enterococcus*）感染症、またはクロストリジウム（*Clostridium*）感染症などのグラム陽性細菌感染症である。10

【0070】

対象の微生物感染症を治療、予防、または改善するための方法は、抗微生物剤に対して耐性のある微生物に感染している対象を選択すること、または抗微生物剤に対する耐性の獲得が可能な微生物に感染している対象を選択することを更に含んでいてもよい。任意選択的には、耐性は排出ポンプによってもたらされる。本明細書に記載の排出阻害剤は、抗微生物剤に対する微生物の感受性を向上させることができる。任意選択的には、本明細書に記載の排出阻害剤は、微生物に対する抗微生物剤の抗微生物活性を向上させることができる。20

【0071】

これらの方法は、1種以上の追加的な治療薬（例えば抗生物質）を用いた治療を更に含んでいてもよい。1種以上の追加的な薬剤と、本明細書に記載の化合物および組成物またはその薬学的に許容可能な塩は、同時投与および連続投与（例えば最大数日間差のオーダーで時間的に間隔を空けて）を含む、任意の順序で投与することができる。方法は、1種以上の追加的な薬剤および/または本明細書に記載の化合物および組成物もしくはその薬学的に許容可能な塩の1回より多い投与も含んでいてもよい。1種以上の追加的な薬剤と、本明細書に記載の化合物および組成物またはその薬学的に許容可能な塩の投与は、同じ経路であってもよいし、異なる経路であってもよい。1種以上の追加的な薬剤を用いて治療を行う場合、本明細書に記載の化合物および組成物またはその薬学的に許容可能な塩は、1種以上の追加的な薬剤を含む医薬組成物の中に組み込まれてもよい。例えば、本明細書に記載の化合物および組成物またはその薬学的に許容可能な塩は、抗生物質と共に医薬組成物の中に組み込まれてもよい。好適な抗生物質には、細菌感染症を治療するのに有効なあらゆる抗生物質を含めることができ、例えばテトラサイクリン（例えばミノサイクリン）、キノロン（例えばシプロフロキサシン、レボフロキサシン、およびナリジクス酸）、アミノグリコシド（例えばアミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、およびトブラマイシン）、カルバペネム（例えばメロペネム）、セファロスポリン（例えばセフトリアキソン）、マクロライド（例えばエリスロマイシン）、ポリペプチド（例えばコリスチン30

およびポリミキシンB)、スルホンアミド(例えばスルファメトキサゾール)、グリシルサイクリン(例えばチゲサイクリン)、ベータラクタム(例えばペナム)、リポペプチド(例えばダブトマイシン)、オキサゾリジノン(例えばリネゾリド)、およびトリメトブリムを挙げることができる。

【0072】

本明細書に記載の方法および化合物は、予防的治療と治療処置の両方で有用である。本明細書において、治療するまたは治療という用語には、予防；発病を遅らせること；発病後の兆候または症状の低減、根絶、または憎悪を遅らせること；および再発の予防が含まれる。予防的用途のためには、治療有効量の本明細書に記載の化合物および組成物またはその薬学的に許容可能な塩は、発病前(例えば微生物感染症の明確な兆候の前)、発病の早期(例えば微生物感染症の初期の兆候および症状が出た時)、微生物感染症が確定した後に、または更には抗生物質耐性が生じた後に、対象に投与される。予防的投与は、感染症の症状が現れる前に、数日から数年行うことができる。治療処置には、微生物感染症と診断された後に、治療有効量の本明細書に記載の化合物および組成物またはその薬学的に許容可能な塩を対象に投与することが含まれる。

【0073】

本明細書においては、真核細胞および原核細胞などの細胞中の排出ポンプの阻害方法も提供される。原核細胞排出ポンプの分類の好適な分類としては、major facilitator superfamily、ABC (ATP-binding cassette) superfamily、SMR (small multidrug resistance) family、RND (resistance-nodulation-cell division) superfamily、MATE (multi-antimicrobial extension)、およびDMT (drug metabolite transporter) superfamilyが挙げられる。真核細胞排出ポンプの好適な分類としては、モノカルボン酸トランスポーター(MCT)、多剤耐性タンパク質、多剤耐性関連タンパク質、ペプチドトランスポーター(PEPT)、およびNa⁺リン酸塩トランスポーター(NPT)が挙げられる。

【0074】

細胞中の排出ポンプの阻害方法は、有効量の本明細書に記載の排出ポンプ阻害剤を細胞と接触させることを含んでいてもよい。排出ポンプ阻害剤の有効量は、細胞中の排出ポンプを阻害する量とことができる。任意選択的には、細胞は微生物細胞であってもよい。任意選択的には、微生物細胞は細菌細胞であってもよい。任意選択的には、細菌細胞はグラム陰性細菌細胞である。任意選択的には、グラム陰性細菌細胞は、アシネットバクター細菌細胞(例えばアシネットバクター・バウマンニ細菌細胞)、シュードモナス細菌細胞(例えばシュードモナス・エルギノーサ細菌細胞)、クレブシエラ細菌細胞、エシェリキア細菌細胞、サルモネラ細菌細胞、エルシニア細菌細胞、シゲラ細菌細胞、プロテウス細菌細胞、エンテロバクター細菌細胞、セラチア細菌細胞、またはシトロバクター細菌細胞である。任意選択的には、細菌細胞はグラム陽性細菌細胞である。任意選択的には、グラム陽性細菌細胞は、バチルス細菌細胞、リステリア細菌細胞、スタフィロコッカス細菌細胞、ストレプトコッカス細菌細胞、エンテロコッカス細菌細胞、またはクロストリジウム細菌細胞である。接触は生体内(例えばヒト対象中)で行われてもよいし、生体外で行われてもよい。

【0075】

V. キット

本明細書では、対象の微生物感染症(例えば細菌感染症)を治療または予防するためのキットも提供される。キットは、本明細書に記載の任意の化合物(単独でまたは組み合わせて)または1種以上の組成物と、抗生物質製剤などの1種以上の追加的な薬剤とを含んでいてもよい。例えば、キットは本明細書に記載の化合物と、テトラサイクリン(例えばミノサイクリン)、キノロン(例えばシプロフロキサシン、レボフロキサシン、およびナリジクス酸)、アミノグリコシド(例えばアミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、

10

20

30

40

50

およびトプラマイシン)、カルバペネム(例えばメロペネム)、セファロスポリン(例えばセフトリアキソン)、マクロライド(例えばエリスロマイシン)、ポリペプチド(例えばコリスチンおよびポリミキシンB)、スルホンアミド(例えばスルファメトキサゾール)、グリシルサイクリン(例えばチゲサイクリン)、およびトリメトブリムなどの抗生物質製剤とを含んでいてもよい。キットは、本明細書に記載の任意の化合物または組成物の経口製剤を更に含んでいてもよい。キットは、キットの使用のための指示書(例えば対象の治療のための使用説明書)、1種以上の容器(化合物、組成物、または追加的な薬剤用)、化合物または組成物を投与するための手段、および/または担体を更に含んでいてもよい。

【0076】

本明細書において、治療、治療する、または治療すること、という用語は、感染症、病気、または状態の1つ以上の症状を低減することをいう。したがって、開示されている方法において、治療とは、感染症、病気、または状態の1つ以上の症状の重症度を10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%低減すること、または10%と100%の間の任意の%の低減をいう。例えば、感染症の治療方法は、対照と比較して対象の感染症の1つ以上の症状または兆候が10%低減された場合に治療であるとみなされる。本明細書において、対照とは未治療の感染症のことをいう。したがって、低減は、そのままのもしくは対照の水準と比較して10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%の低減、または10%と100%の間の任意の%の低減であってもよい。治療は、感染症、病気、もしくは疾病の、または、感染症、病気、もしくは疾病の症状の、治癒または完全な除去を必ずしも指すものではないことが理解される。

【0077】

本明細書において、感染症、病気、または不調についての予防する、予防すること、および予防という用語は、例えば、対象が病気または不調の1つ以上の症状を示し始める前またはそれとほぼ同時に、組成物または治療薬を投与する行為を指し、これによって病気または不調の1つ以上の症状の発症または重症度が抑えられるか遅らされる。

【0078】

本明細書において、低下、減少、または抑制についての言及には、対照の水準と比較して10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上の変化、または10%と約90%超またはそれ以上の間の任意の%の変化が含まれる。このような用語には、完全な除去が含まれてもよいが、必ずしも含まれるものではない。

【0079】

本明細書において、対象は哺乳類と非哺乳類の両方を意味する。哺乳類には、例えばヒト、ヒトではない霊長類(例えば類人猿およびサル)、ウシ、ウマ、ヒツジ、ラット、マウス、ブタ、ヤギが含まれる。非哺乳類には例えば魚類および鳥類が含まれる。

【0080】

以下の実施例は本明細書に記載の方法および組成物の特定の態様を詳しく説明することを意図するものであり、請求項の範囲を限定することを意図するものではない。

【実施例】

【0081】

細菌株および成長条件:

A. バウマンニ株98-37-02、98-37-05、98-37-09、および07-09-54は、米国疾病予防管理センターから入手した臨床分離株である。シュードモナス・エルギノーサ株P A 0 1およびクレブシエラ・ニューモニ工株C K P 4は一般的な実験室株である。全ての菌株はLuria-Bertani(LB)培地(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)または100%ヒト血清(MP Biomedicals, Solon, OH)のいずれかの中で培養した。示されている場合には、LBまたは血清にはカナマイシン(50 μ g ml⁻¹, Ther

10

20

30

40

50

mo Fisher, Waltham, MA) および / または示されている濃度のミノサイクリン (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO)、シプロフロキサシン (Sigma Aldrich)、メロペネム (LKT laboratories, Minneapolis-St. Paul, MO) またはチゲサイクリン (Pfizer, Groton, CT) が添加された。

【0082】

実施例 1：抗生物質感受性試験

抗生物質排出ポンプは、事実上すべての現在入手可能な抗生物質に対する細菌の耐性に寄与していることが見出されている。これまでに 10 個の *A. baumannii* の抗生物質排出システムが特徴付けられている。生体関連培地であるヒト血清中での *A. baumannii* の培養によって、22 個のこれまでに特徴付けられていない薬物排出ポンプに関連する遺伝子の発現が誘発され、これらの発現が、治療時に患者の血清レベルに関連するレベルでの抗生物質ミノサイクリンに対する排出による耐性に対応することが示されている。この現象を詳しく評価する手段として、ここでは、血清中での *A. baumannii* の培養が、他のテトラサイクリン類、キノロン類 (シプロフロキサシン、レボフロキサシン、およびナリジクス酸)、アミノグリコシド類 (アミカシン、ゲンタマイシン、およびカナマイシン)、カルバペネム (メロペネム)、セファロスボリン (セフトリアキソン)、マクロライド (エリスロマイシン)、ポリペプチド類 (コリスチンおよびポリミキシン B)、スルホンアミド (スルファメトキサゾール)、グリシルサイクリン (チゲサイクリン)、およびトリメトブリムに対する、薬剤排出による耐性を生じさせるかどうかを評価した。

【0083】

LB 培地または 100 % ヒト血清のいずれかの中で培養した *A. baumannii* とシュードモナス・エルギノーサの抗生物質に対する感受性は、以下に記載の方法にしたがって測定した。簡潔にいうと、示されている細菌種 / 菌株を LB 培地中で一晩培養し、新鮮培地で希釈し (1 : 100 希釀)、通気しつつ 37 °C で指数期の中盤 (OD_{600 nm} = 0.4 ~ 0.5) まで培養した。2 倍漸増濃度 (0 ~ 2 μg mL⁻¹) のミノサイクリン、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、メロペネム、セフトリアキソン、エリスロマイシン、コリスチン、ポリミキシン B、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、ナリジクス酸、スルファメトキサゾール、トリメトブリム、チゲサイクリン、または 0 ~ 16 μg mL⁻¹ のテトラサイクリンが添加された 100 μL の LB または 100 % のヒト血清が入った 96 ウェルの丸底プレートの各ウェルに、合計 1 × 10⁵ コロニー形成単位 (CFU) を移し、37 °C で 48 時間培養した。LB または血清中での細菌増殖に対する各抗生物質の抗菌作用を定量化するために、ウェルの内容物を PBS で段階希釈し、LB 寒天上にプレーティングして CFU mL⁻¹ を数えた。示されている場合には、50 μg mL⁻¹ の、排出ポンプ阻害剤であるペラパミル、レセルピン、フェニルアラニン アルギニン ベータナフチルアミド (PAN)、または排出ポンプ阻害剤と推定される ABEP I および ABEP II 存在下での抗微生物薬感受性試験も行って、抗生物質耐性に対する抗生物質排出ポンプの寄与、または推定上の排出ポンプ阻害剤の、示されている抗生物質の抗菌活性を高めるための能力をそれぞれ測定した。

【0084】

図 1 A に示すように、1 μg mL⁻¹ の濃度では、ヒト血清中で培養した *A. baumannii* 株 98-37-09 は、LB 中での培養と比較して、シプロフロキサシンに対する感受性が著しく低かった (P < 0.001)。シプロフロキサシン感受性は、公知の排出ポンプ阻害剤のレセルピンを添加したヒト血清中で培養した細胞で回復させることができた。これは微生物の血清に関連したシプロフロキサシン耐性が、血清成分による抗生物質の捕捉および / または不活性化によるものではなく、排出によるものであることを示している。同様に、2 μg mL⁻¹ の抗生物質濃度において、ヒト血清中で培養した *A. baumannii* は、テトラサイクリンに対して排出による耐性を示した (図 1 B)。より詳しくは、LB で培養した *A. baumannii* を 4 ~ 16 μg mL⁻¹ のテトラサイクリンを用いて処理すると、細胞の生存率が検出不可能なレベルまで下がった (< 1 × 10⁻¹ コロニー

10

20

30

40

50

一形成単位 ; c f u) 一方で、血清中で培養した細胞は $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^4$ c f u に相当する大きな抗生物質耐性を示した。血清で培養した A . バウマンニのテトラサイクリン感受性は、薬剤排出ポンプ阻害剤である P A N の存在下で部分的に回復した。これは、血清培養時に排出ポンプが微生物のテトラサイクリン耐性を部分的に調節していることを示している。同様の表現型が、評価したこれまでに特徴付けられている 11 個の A . バウマンニ系統のうちの 3 つの代表で観察された。これは、血清に関連した排出ポンプによるミノサイクリン耐性およびシプロフロキサシン耐性が、評価した微生物の遺伝子構成に依存すると考えられる半保存的な A . バウマンニの応答であることを示している。更に、調査中に試験した他の種類の抗生物質に対しては血清と LB で培養した 98 - 37 - 09 細胞の感受性の間に大きな違いはみられなかった一方で、試験した 11 個の他の系統のうちの 7 個に相当する株は、様々ではあるものの、血清培養時に抗生物質チゲサイクリンに対する、排出による耐性が大幅に増加した (代表的な結果を図 1 C に示す) 。 1 つの例として、チゲサイクリンは、 $1 \mu g \text{ mL}^{-1}$ の濃度において LB 培地で培養時の A . バウマンニ株 01 - 12 - 05 に対する明らかな抗菌活性を示したが、この菌株は血清中の培養時には抗生物質に対して高い耐性を示すようであった。排出ポンプ阻害剤であるレセルピンを添加することによって感受性はある程度回復できた。これは血清に関連した排出ポンプ活性が少なくとも部分的には血清中の培養時のチゲサイクリンに耐える菌株の能力に寄与するものであることを示している。

【 0085 】

観察された血清依存型の排出ポンプによる抗生物質耐性は、臨床的に定義される感受性 A . バウマンニ株に対する抗生物質の臨床的な失敗の一因になりうる。血清などの宿主に関連する環境条件に適応する際に、微生物は排出ポンプを誘導し、これが臨床的に定義される抗生物質感受性の微生物を生体内での抗生物質の攻撃に耐えることを可能にする。したがって、対応する排出ポンプ阻害剤を用いた補助療法によって、宿主の中での抗生物質耐性を抑制する有益な戦略が与えられ、その結果、現在と将来の抗生物質の両方のための魅力的な治療的アプローチがもたらされる。

【 0086 】

実施例 2 : A . バウマンニ血清依存型抗生物質排出ポンプ阻害剤のための高速大量スクリーニング

ヒト血清中で培養した A . バウマンニに対する阻害濃度以下のミノサイクリンの抗菌特性を高める化合物を同定することによって、排出ポンプ阻害剤と推定されるものについて、 TimTec ActiProbe - 25 K ダイバーシティーセットおよび、 Natural Product 化合物ライブラリー (合計 29,900 個の化合物 ; TimTec, Newark, DE) を最初にスクリーニングした。そのために、 225 rpm のロータリーシェーカー上の 37 の LB 培地中で、 A . バウマンニ株 98 - 37 - 09 を 16 時間培養した。その後、ミノサイクリン ($0.5 \mu g \text{ mL}^{-1}$; $0.5 \times$ 血清中の最小阻害濃度) および Timtec ActiProbe または Natural product ライブラリーの各メンバー ($50 \mu M$) が添加された $100 \mu L$ のヒト血清が入った 96 ウェルの丸底プレート (Corning Costar, Tewksbury, MA) の各ウェルに、約 1×10^5 CFU を移した。その後、プレートを 37 度 48 時間培養した。増殖は濁度の関数として測定した。排出ポンプ阻害剤と推定される化合物は、ミノサイクリンを含むヒト血清中で A . バウマンニの増殖を阻害した化合物として特定され、これらは前述の通りにその後 3 つ組 (triplicate) で再試験された。ミノサイクリン + / - P A N が添加された血清中での未処理の A . バウマンニの培養は、それぞれ陽性対照と陰性対照の役割を果たした。ほとんどの化合物 (99.6 % ; 29,806 個の化合物) が微生物の増殖に影響を与えるなかった一方で、 94 個の化合物 (0.4 %) はミノサイクリンを添加した血清中での菌株の増殖能力を阻害した。ウェルの中身を段階希釈して LB 寒天プレートにプレーティングした反復試験によって、 85 個の化合物がミノサイクリンを添加した血清中の A . バウマンニの増殖を確かに阻害し、ミノサイクリン単独で処理した細胞と比べて $2 \sim 6 \log$ c f u の生存コロニー形成単位の数を減

10

20

30

40

50

らしたことが確認された。

【0087】

排出ポンプ阻害剤と推定される化合物と、元々抗菌性を有する化合物とを区別するためには、各化合物について、ミノサイクリンなしの血清またはLB中でのA.バウマンニに対する抗菌活性を引き続き評価した。これを行うために、濃度を漸増させた試験化合物(0~128 μg mL⁻¹)が添加された100 μLの100%ヒト血清が入ったマイクロタイタープレートの各ウェルに、 1×10^5 CFUのA.バウマンニ株98-37-09を添加し、37で48時間培養した。試験した85個の化合物のうちの12個(12.7%)がミノサイクリンなしの血清および/またはLB中でのA.バウマンニ株の増殖に対する抗菌活性を示し、これらは新規な抗微生物剤になり得る。残りの73個の化合物はミノサイクリンなしでは抗菌活性を示さなかった。これは、これらの化合物の一部が、血清中で培養したA.バウマンニに対するミノサイクリンの抗菌活性を高める排出ポンプ阻害剤になり得ることを示唆している。抗菌活性を示した化合物が得られた一方で、直接的な抗菌活性を示さなかったものは排出ポンプ阻害剤と推定される化合物であるとみなしう、血清で培養したA.バウマンニに対するミノサイクリンの抗菌活性をこれらが高める最小有効濃度(MEC)を決定した。

【0088】

MECの決定のため、 $0.5 \times MIC$ のミノサイクリン(0.5 μg mL⁻¹)および漸増濃度の試験化合物(0~128 μg mL⁻¹)が添加された100%ヒト血清が入った96ウェルの丸底プレートの各ウェルに、約 1×10^5 CFUのA.バウマンニ株98-37-09を接種し、37で48時間培養した。MECは、 $0.5 \mu g mL^{-1}$ のミノサイクリンの存在下で血清中のA.バウマンニの増殖を阻害するために必要な試験化合物の最小濃度として定義された。ブレーティングによって、 $1 \times MEC$ の各化合物を添加すると、ミノサイクリンだけが添加された血清中で培養されたA.バウマンニ細胞を1.9-1.0g減少させることが確認された(表1参照)。

【0089】

(表1)

ID	MEC	対数減少 コロニー 形成単位 (ml^{-1})	細胞当たりの ミノサイクリン (細胞 当たりのフェムトモル)	生存率%	シプロフロキサシン 増強	
					A. バウ マンニ	P. エルギ ノーサ
ST006953	4 $\mu\text{g/mL}$	2.71	4.310000E-08			
ST007013	4 $\mu\text{g/mL}$	1.95	5.000000E-04	80.9	無	
ST007852	4 $\mu\text{g/mL}$	4.21	5.900000E-05	65.77		
ST007924	4 $\mu\text{g/mL}$	2.42	5.120000E-05	67.45		
ST008277	4 $\mu\text{g/mL}$	5.19	4.410000E-08			
ST009495	2 $\mu\text{g/mL}$	2.23	4.700000E-08			
ST009531	2 $\mu\text{g/mL}$	2.77	5.880000E-09			
ST009655	2 $\mu\text{g/mL}$	6.67	2.610000E-07			
ST009675	2 $\mu\text{g/mL}$	6.73	5.880000E-04	96.6 (2.28)	有 (> 8.0)	有
ST009694	4 $\mu\text{g/mL}$	6.24	6.800000E-07	74.6		
ST009696	4 $\mu\text{g/mL}$	5.67	8.200000E-09			
ST009698	64 $\mu\text{g/mL}$	6.45	1.520000E-05	73.56		
ST009699	2 $\mu\text{g/mL}$	6.84	1.150000E-04	70.45		
ST009847	2 $\mu\text{g/mL}$	4.97	2.540000E-07			
ST009850	2 $\mu\text{g/mL}$	2.47	7.250000E-08			
ST009896	2 $\mu\text{g/mL}$	2.45	3.990000E-05	73.54		
ST010260	16 $\mu\text{g/mL}$	2.66	3.270000E-08			
ST010277	32 $\mu\text{g/mL}$	7.33	1.150000E-05	82.4	無	
ST010344	32 $\mu\text{g/mL}$	5.29	2.980000E-08			
ST011123	32 $\mu\text{g/mL}$	2.83	1.190000E-05	67.89		

10

20

30

40

ST012901	2 ug/mL	2.66	4.160000E-09			
ST012902	2 ug/mL	3.71	1.100000E-05	55.1		
	32 ug/mL	4.64	2.740000E-08			
ST012929	ug/mL					
	32 ug/mL	4.42	2.280000E-08			
ST012934	ug/mL					
	64 ug/mL	6.23	8.120000E-09			
ST012941	ug/mL					
	32 ug/mL	4.42	1.040000E-08			
ST012955	ug/mL					
	32 ug/mL	6.23	1.130000E-04	59.32		
ST012961	ug/mL					
	32 ug/mL	3.90	3.230000E-08			
ST012963	ug/mL					
	16 ug/mL	4.98	5.380000E-05	55.73		
ST016436	ug/mL					
	2 ug/mL	3.88	1.960000E-04	53.43		
ST016442	ug/mL					
	2 ug/mL	2.00	4.400000E-04	57.49		
ST016443	ug/mL					
	16 ug/mL	4.86	2.020000E-05	53.92		
ST016444	ug/mL					
	2 ug/mL	6.90	1.270000E-04	51.04		
ST020959	ug/mL					
	2 ug/mL	7.43	1.530000E-07			
ST020992	ug/mL					
	16 ug/mL	4.84	1.720000E-05	41.62		
ST024775	ug/mL					
	32 ug/mL	8.00	1.040000E-07			
ST025773	ug/mL					
	32 ug/mL	5.37	2.350000E-06	100	無	
ST026450	ug/mL					
	32 ug/mL	6.36	3.820000E-04	100	無	
ST026465	ug/mL					
	64 ug/mL	3.02	1.730000E-08			
ST029434	ug/mL					
	2 ug/mL	8.00	2.090000E+03	63.7		
ST031144	ug/mL					

10

20

30

40

ST033061	2 ug/mL	2.18	1.960000E-04	77.58	無	
ST033063	2 ug/mL	1.93	5.840000E-08			
ST033065	2 ug/mL	2.44	2.060000E-05	75.6	無	
	32					
ST033231	ug/mL	1.91	3.420000E-06	70.87		
	16					
ST033232	ug/mL	2.32	2.320000E-06	77.75	無	
	32					
ST033235	ug/mL	2.21	6.651840E-08			
ST033341	2 ug/mL	2.42	3.390000E-05	75.88	無	
ST033346	2 ug/mL	2.00	3.615000E-07	74.67		
	32					
ST033447	ug/mL	1.92	3.680000E-06	74.39		
ST034012	2 ug/mL	2.00	1.550000E-07			
ST034014	2 ug/mL	2.37	5.460000E-04	84.27	無	
ST036291	2 ug/mL	3.31	5.500000E-05	75.74	無	
ST036365	4 ug/mL	3.50	3.590000E-08			
ST040282	4 ug/mL	2.25	3.050000E-06	85.04	無	
ST040289	4 ug/mL	4.32	8.380000E-04	78.8	無	
	64					
ST040724	ug/mL	4.08	1.450000E-04	82.42	無	
	32					
ST048001	ug/mL	7.06	1.990000E-04	82.72	無	
	32				有	
ST058165	ug/mL	6.27	1.110000E-04	76.9	(1.53)	無
	64					
ST058478	ug/mL	6.33	1.520000E-07			
ST058672	4 ug/mL	5.97	3.200000E-07			
ST058811	4 ug/mL	6.17	2.480000E-07			
	64					
ST058899	ug/mL	6.21	1.080000E-04	80.69	無	
	32					
ST059010	ug/mL	6.11	3.780000E-08			

10

20

30

40

ST059421	4 ug/mL	6.31	1.270000E-07			
ST059447	4 ug/mL	5.74	4.520000E-05	76.78	無	
	32 ug/mL					
ST059581	ug/mL	6.12	5.640000E-05	84.56	無	
ST059822	4 ug/mL	6.23	1.360000E-07			
ST060053	4 ug/mL	4.94	1.780000E-04	76.11	無	
ST060056	4 ug/mL	5.38	4.220000E-08			
	32 ug/mL					
ST060272	ug/mL	6.90	3.670000E-07	85.35	無	
	32 ug/mL					
ST060273	ug/mL	6.53	6.840000E-06	90.1 (4.36)	有 (>8.0)	
	32 ug/mL					
ST060355	ug/mL	6.94	1.230000E-08			

【 0 0 9 0 】

実施例 3 : ミノサイクリンの細胞蓄積

高圧液体クロマトグラフィーおよび三連四重極質量分析計を使用して、各推定上の排出ポンプ阻害剤不存在下および存在下でのヒト血清中の培養時の、ミノサイクリンの A . バウマンニ細胞内レベルを測定した。これを行うために、0 . 5 × M E C の各推定上の排出ポンプ阻害剤（試験化合物）または公知の排出ポンプ阻害剤であるベラパミルの不存在下または存在下、0 . 5 μ g mL^{-1} のミノサイクリンが添加された5 mL の 1 0 0 % ヒト血清中で、A . バウマンニ株 9 8 - 3 7 - 0 9 を培養した。培養物は振とうしながら 4 8 時間培養し、この時点で一定量を取り出し、段階希釈し、プレーティングして混合物当たりの生存 C F U の数を決定した。細胞の残りは 4 、 9 0 0 \times g で遠心分離することによってペレット化し、P B S 中で 2 回洗浄し、F a s t P r e p 細胞破碎装置 (M P Biomedicals , Santa Ana , CA) を用いて 5 m s^{-1} で 2 0 秒間機械的に溶解させ、細胞片を 9 0 0 \times g 、 4 で遠心分離することによってペレット化した。破裂した細胞の上澄み中に存在するミノサイクリンの量を測定した。簡潔にいうと、試料間の調製のばらつきを算定するために、各上澄みにドキシサイクリン (0 . 5 μ g mL^{-1}) を最初に添加して内部標準として機能させた。その後、上澄みを 1 : 1 0 の比率でアセトニトリル (A C N) と混合し、1 6 , 0 0 0 \times g 、 4 で遠心分離することによってミノサイクリンとドキシサイクリンを集めた。上澄みを捨て、残りの液体を高速真空装置中、8 0 0 0 \times g で 2 時間蒸発させた。保たれている抗生物質の量を定量するために、試料物質を 5 0 % のアセトニトリルの中に懸濁させ、0 . 2 μ m のタンパク質低吸着親水性膜 (M i l l i p o r e , B i l l e r i c a , MA) で濾過し、次いで B e t a B a s i c C 1 8 逆相カラム (T h e r m o S c i e n t i f i c) を用いた S h i m a d z u 高速液体クロマトグラフィー装置 (F i s h e r S c i e n t i f i c) で分離した。分離は、溶液 (A) 0 . 1 % のギ酸を含んだ水と、溶液 (B) 1 0 0 % A C N と、からなる 2 つの移動相溶液を用いて行った。クロマトグラフィー実行のグラジエントプロファイルは次の通りであった：0 分から 0 . 1 分まで 8 % の溶液 B 、 0 . 1 分から 6 . 5 分まで段階的に上げていき (3 7 % ~ 6 0 % の溶液 B) 、その後 1 分間保持した後、7 . 5 分から 8 分まで 6 0 % から 1 0 % まで下げる。その後これを、1 0 % の溶液 B で 1 分間保持した。1 0 分から 1 3 分までのグラジエントは、1 0 0 % の溶液 B まで上げ、1 1 . 5 分まで保持し、その後 8 % の溶液 B まで下げ、追加的に 4 分これらの条件においていた。カラムは 4 0 、 8 % の溶液 B の中に平衡にし、流速は 0 . 2 mL min^{-1} に設定した。フラクションのマススペクトル分析は、T h e r m o T S Q Q u a n t u m U l t r a 三連四重極質量分析計 (F i s h e r S c i e n t i f i c) を使用して行

10

20

30

40

50

った。データは、X caliburソフトウェア(Thermo Scientific)を用いて分析した。ミノサイクリンおよび内部標準のドキシサイクリンを検出するために次のパラメーターを使用した：ミノサイクリンについて、458.208 m/z 282.971 m/z (衝突エネルギー = 43、チューブレンズ = 119)、ドキシサイクリンについて、445.144 m/z 266.900 m/z (衝突エネルギー = 39、チューブレンズ = 127)。生データの分析はGenesisアルゴリズムを用いた曲線下面積計算を用いることによって行い、各試料中の濃度を決定した。予め設定されたミノサイクリンとドキシサイクリンの標準曲線のピーク強度とy切片との間の差を、標準曲線の傾きで割ることで各試料中のミノサイクリンの量を定量した。各細胞中のミノサイクリンの総濃度は、各対応する菌株中の細胞の数で正規化することによって計算した。

10

【0091】

血清中での培養時(排出活性条件)、細胞のミノサイクリン濃度は細菌細胞当たり 1.58×10^{-10} フェムトモルと決定された一方で、公知の排出ポンプ阻害剤のベラパミルを添加すると細胞濃度はほぼ 1,000 倍(細胞当たり 3.56×10^{-7} フェムトモル)増加した。これは、この手法が排出ポンプ依存型の細胞の抗生物質蓄積の測定に適切であることを示している。図 2 に示されているように、事実上評価された全ての化合物がモック(mock)処理した細胞と比べてミノサイクリンの蓄積を生じさせたと考えられる一方で、41 個の化合物は、公知の排出ポンプ阻害剤であるベラパミルと同じかそれを超えるレベルまで、血清中で培養した A. バウマンニ細胞の中へのミノサイクリンの蓄積を促した。これらは排出阻害剤を含むと推定される最優先の薬剤であると考えられ、また評価されていない手段によって抗生物質蓄積を促す化合物としても考えられた。これらの 41 個の化合物は、抗菌活性と、血清中での A. バウマンニへのミノサイクリンの細胞蓄積とを高める臨床的に価値のある薬剤とみなされ、追加的な特性評価へと進められた。

20

【0092】

実施例 4：細胞毒性分析

非毒性と推定されるものをヒト細胞毒性化合物と見分けるために、関心対象の各化合物について、それらの $1 \times$ および $4 \times$ の MEC で、従来の 3-(4,5-ジメチルチアゾール-2イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロミド(MTT)細胞生存率試験(American Type Culture Collection, Manassas, VA)を行った。簡潔にいうと、ヒト Hep G 2 細胞を、10%のウシ胎児血清(Invitrogen, Carlsbad, CA)を添加したダルベッコ変形イーグル培地の中で、ウェル当たり約 1×10^6 個の細胞になるまで培養し、次いでこれを $1 \times$ または $4 \times$ MEC の示されている化合物単独で、および $0.5 \mu\text{g m l}^{-1}$ のミノサイクリンを併用して、24 時間処理した。細胞生存率は、メーカーが推奨する通りにテトラゾリウム塩(MTT)を添加した後に測定した。 $50 \mu\text{g m l}^{-1}$ の Mitomycin C(Sigma Aldrich)が添加された細胞およびモック処理された細胞は、それぞれ陽性対照および陰性対照の役割を果たした。

30

【0093】

表 1 に示されているように、19 個(46.3%)の試験した化合物が Hep G 2 細胞に対する顕著な毒性を生じさせた。これは、 $4 \times$ MEC で 48 時間処理した際の < 75% の細胞生存率として定義された。逆に、22 個(53.6%)の化合物は 75% の生存率(75.1 ~ 100%)を示し、ヒト細胞毒性を全く示さないか低レベルでしか示さないと見なされた。なお、75% のヒト細胞生存率を淘汰基準として使用したのは、これらの分析条件で単独で試験した場合の抗生物質ミノサイクリンの毒性の程度に近似する($2 \mu\text{g m l}^{-1}$ で 77.9% の Hep G 2 生存率)ためである。

40

【0094】

実施例 5：活性のスペクトル

治療上の有用性に基づいて関心対象の非毒性化合物に更に優先順位を付けるための手段として、限られた数の抗生物質の活性しか高めない、あるいは単一の細菌種に対してしか活性を示さない狭いスペクトルの薬剤よりも、幅広いスペクトルの抗微生物薬排出ポンプ

50

阻害剤の方が臨床的により価値がある可能性があると考えられた。上で述べたように、ヒト血清中で培養した A. バウマンニは、ミノサイクリンに加えて、シプロフロキサシンの排出および微生物耐性も促進する（図 1 A）。そのため、各化合物が血清で培養した細胞に対するシプロフロキサシンの活性を高めるか否かを評価した。このために、0.125 $\mu\text{g m l}^{-1}$ のシプロフロキサシンと、0、1×、または2×の化合物の MEC（ミノサイクリンの抗微生物効果を高めるために必要とされる最小濃度として定義される（上述））とが添加された 100% ヒト血清が入ったマイクロタイタープレートの各ウェルに、 1×10^5 の A. バウマンニ株 98-37-09 を接種した。プレートを 48 時間培養し、その時点で各化合物のシプロフロキサシンの薬効を高める能力を、増殖の阻害として測定した。評価した化合物のうちの 19 個が、これらの条件でシプロフロキサシンに対する微生物の耐性に影響を与えたかった。これは、これらがミノサイクリンの排出を抑制するがシプロフロキサシンは抑制しない狭いスペクトルの薬剤であることを示している。その一方で、3 個の化合物がシプロフロキサシンの抗微生物活性を高めた。これは、これらが幅広いスペクトルの抗生物質薬剤排出ポンプ阻害剤になり得ることを示している。ブレーティングによって、シプロフロキサシンと組み合わせて投与した場合に、シプロフロキサシン単独で処理した細胞と比較して、各化合物は、1×の化合物の MEC で少なくとも 1.5 μg 、A. バウマンニの生存率を減少させたことが確認された（図 3 A；表 1）。

【0095】

グラム陰性病原菌であるクレブシエラ・ニューモニエおよびシュードモナス・エルギノーサが、ヒト血清中での培養時にミノサイクリンおよび/またはシプロフロキサシンに対する抗生物質耐性を示すかどうかについても調査した。K. ニューモニエ株 CKP4 が示さない一方で、以降で述べるように血清培養した P. エルギノーサ PA01 細胞が排出によるシプロフロキサシンに対する耐性を示すことが見出された。そのため、活性のスペクトルを評価し、それと同時に細菌種全般に亘っての抗生物質の活性を高める最も優先度が高い関心対象の化合物を特定するための追加的な手段として、前述の 3 つの、幅広いスペクトルの A. バウマンニ排出ポンプ阻害剤と推定される排出ポンプ阻害剤が、P. エルギノーサの血清依存型シプロフロキサシン耐性も阻害するかどうかについても評価した。するために、1×MEC の試験化合物と、漸増濃度のシプロフロキサシン（0~2 $\mu\text{g m l}^{-1}$ ）とが添加された 100% ヒト血清が入ったマイクロタイタープレートの各ウェルに、PA01 を接種し、細胞生存率を測定した。結果から、3 つの幅広いスペクトルの排出ポンプ阻害剤と推定されるもののうちの 2 つが、血清で培養した P. エルギノーサに対するシプロフロキサシンの活性も高めることが明らかになった（図 3 B）。これは、これらの化合物、ABEPI1 および ABEPI2（図 3 C）が、目下の医療上の懸念事項になっている少なくとも 2 つの細菌種、A. バウマンニおよび P. エルギノーサに対する、抗生物質の抗微生物活性を高め得る幅広いスペクトルの薬剤になることを示している。

【0096】

ABEPI1 および ABEPI2 の抗微生物増強作用が A. バウマンニの排出特性を阻害することに関連するものであるかどうかを識別するために、各化合物の存在下および不存在下で従来のエチジウムプロミド排出分析を行った。この分析は、細胞の核酸に挿入された際のエチジウムプロミドの蛍光特性に基づくものであり、それによると、排出活性な細胞は細胞内にわずかしかエチジウムプロミドを蓄積せず、結果として弱い蛍光を示す。逆に、排出が阻害されると、細胞のエチジウムプロミドレベルが上昇し、それに対応して排出能力のある細胞と比べて強い蛍光になる。細菌のエチジウムプロミド排出活性分析を使用して、関心対象の化合物の排出阻害特性を測定した。分析のため、一晩培養した A. バウマンニ株 98-37-09 を、100% ヒト血清または新鮮な LB で希釈し（1:100）、指数期の中盤まで培養した。細胞のペレットを $900 \times g$ で 20 分間遠心分離することによって集め、20 mM のリン酸ナトリウム緩衝液で 3 回洗浄し、リン酸ナトリウム緩衝液中に $OD_{600\text{nm}} = 0.2$ まで再懸濁した。約 1×10^6 CFU を 96 ウェルの白色底プレートの各ウェルの中に入れ、 $10 \mu\text{g m l}^{-1}$ のエチジウムプロミドと混

合し、エチジウムの蛍光（励起光 530 nm ：発光 600 nm ）を、90分間5分毎にSpectraMax 5蛍光光度計（Molecular Devices, Sunnyvale, CA）で測定した。推定上の排出ポンプ阻害剤がエチジウムプロミドの排出に影響を与えるかどうかを決定するために、細胞を指示された量の関心対象の化合物または排出ポンプ阻害剤PA-Nで処理し、2分後にモニタリングを開始した。モック処理された細胞は陰性対照の役割を果たした。プレーティングにより、使用した試験条件は細胞生存率に影響を与えないことが確認された。

【0097】

図4に示されているように、モック処理された細胞は低いレベルのエチジウムプロミド蛍光シグナルを示し、これは実験の過程でゆっくりと増加した。排出ポンプが活性であるにもかかわらず、経時的にゆっくり染料が蓄積されていることを反映していると考えられる。一方で、PA-Nで処理された排出が不十分な細胞は、モック処理された細胞と比べて大幅に増加したエチジウムプロミドの細胞蓄積を示した。これにより、分析条件がA.バウマンニ細胞の排出特性を測定するのに適切であることが確認された。同様に、全ての測定時点において、ABEPI1とABEPI2の両方がモック処理された細胞と比べて大幅に増加したシグナルを示した。これは、これらがA.バウマンニ排出ポンプ阻害剤として機能することを示している。より詳しくは、ABEPI1は、処理後の最初の20分以内にPA-Nを超えるレベルまで劇的に細胞の蛍光を増加させ、この時点で化合物の有効性は横ばいになったようである。ABEPI2処理での程度は、処理後約35分までPA-Nとほぼ同じであり、この時点で排出の阻害はPA-Nのレベルより下まで低下するようであるが、観察された差は大きな差とはみなされなかった。したがって、ABEPI1とABEPI2は新規な細菌の薬物排出阻害剤となる。

【0098】

実施例6：哺乳類カルシウムチャネル分析

多くの実験室細菌排出阻害剤ツール化合物は、哺乳類イオンチャネル活性を抑制するため臨床現場で使用することができない。ベラパミルはそのような薬剤の1つであり、細菌の抗生物質排出ポンプを効果的に抑制するものの、宿主の Ca^{2+} チャネルの阻害によるヒト神経毒性も生じさせる。そのため、我々はFluo-4 Direct Calcium Channel Assayキット（Life Technologies, Carlsbad, CA）を使用して、哺乳類のカルシウムチャネルの機能に対するABEPI1とABEPI2の影響を測定した。この中で、染料Fluo-4は、試験化合物の不存在下および存在下における、カルシウムチャネル刺激物質カルバコールに応答する哺乳類細胞質内 Ca^{2+} レベルの変化を測定するために使用された。簡潔にいうと、 5×10^4 個のヒトHEK293T胎児由来腎臓細胞を、96ウェルの黒色壁のプレート（COSTAR（登録商標），Corning Incorporated, Corning, NY）の各ウェルの中で培養した。次に、プロベネシド（5mM）を添加した $2 \times$ のFluo-4染料を各ウェルに添加し、37℃で1時間平衡化した。ABEPI1またはABEPI2が Ca^{2+} チャネル活性に影響を与えるか否かを決定するために、その後、Fluo-4蛍光測定（励起 495 nm ；発光 516 nm ）を15秒間毎秒行った。その時点で、細胞をDMSO（モック）、 $50\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ の Ca^{2+} チャネル阻害剤ベラパミル（陽性対照）、または $1 \times$ MECのABEPI1またはABEPI2で処理し、次いで60秒の時点でカルシウムチャネル刺激物質カルバミルコリンクロリド（ $50\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ；Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA）で処理した。蛍光は、FlexStation 3ベンチトップマルチモードマイクロプレートリーダー（Molecular Devices, Sunnyvale, CA）で更に120秒測定した。

【0099】

図5Aは、小胞体のカルシウムチャネル活性を刺激し、その結果、細胞質内に Ca^{2+} を放出するカルバコールの添加前および添加後の、ヒト胎児由来腎臓細胞（HEK293T）の細胞内 Ca^{2+} レベルのプロファイルを示している。カルバコール処理によって、

10

20

30

40

50

細胞質内 Ca^{2+} レベルの約 2 ～ 3 倍の増加が誘発された。一方で、公知のカルシウムチャネル拮抗剤であるベラパミルで HEK293T 細胞を処理すると、事実上 Ca^{2+} チャネル活性および細胞質内蓄積がなくなった。これは、この系が哺乳類の細胞質チャネルの活性および阻害を測定するのに適切であったことを示している（図 5B）。図 5C および 5D に示されているように、1 × MEC の ABEPI1 または ABEPI2 のいずれかで HEK293T を処理することは、カルバコールに応答する哺乳類細胞 Ca^{2+} チャネル刺激にそれほど影響を与えないようであった。

【0100】

以上まとめると、ABEPI1 と ABEPI2 は、微生物の薬剤排出特性を阻害することによって血清で増殖した細菌細胞に対する抗生物質の活性を高め、それにより細胞内に抗生物質を蓄積させ、結果として抗菌作用を示す、新規な、構造的に異なる分子である。これらの化合物は、細菌感染症の治療法を改善するために現行の抗生物質と併用される、補助的な排出ポンプ阻害剤として有効である。

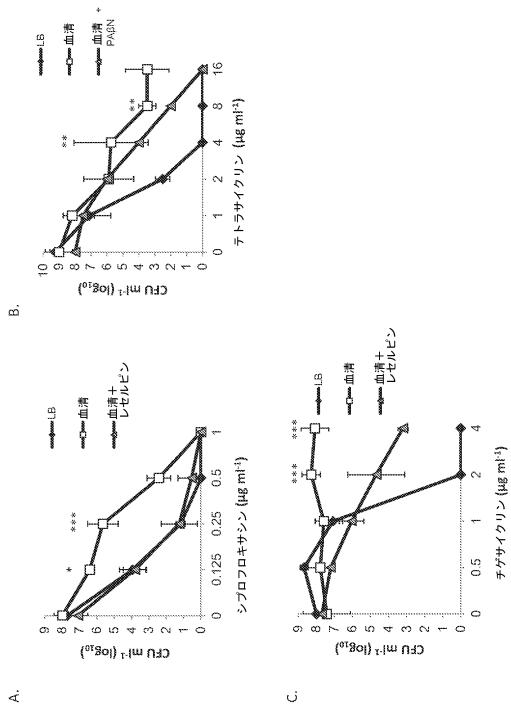
10

【0101】

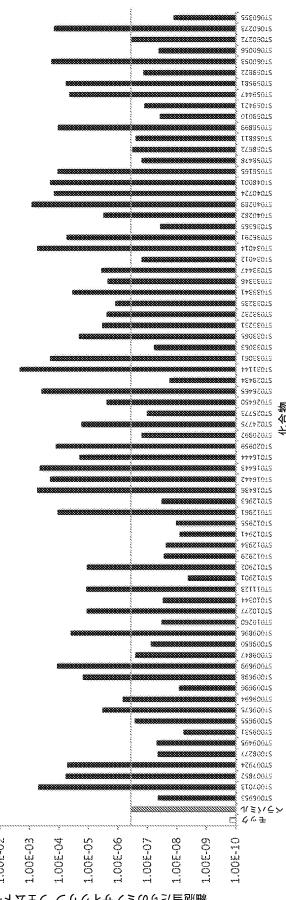
添付の請求項の化合物および方法は、本明細書に記載の具体的な化合物および方法によつては限定されない。これらは請求項のいくつかの態様を説明するものとして意図されており、機能的に均等なあらゆる化合物および方法は本開示の範囲に含まれる。本明細書中に示されているものおよび記載されているものに加え、化合物および方法の様々な変更形態も、添付の請求項の範囲内に含まれることが意図されている。更に、特定の代表的な化合物、方法、ならびにこれらの化合物および方法の態様のみが具体的に記載されているが、具体的な例挙がなくても、他の化合物および方法、ならびに、化合物および方法の様々な特徴の組み合わせが添付の請求項の範囲に含まれることが意図されている。したがつて、工程、要素、成分、または構成要素の組み合わせは、本明細書で明示的に述べられている場合もあるが、明示的に述べられていない場合、工程、要素、成分、または構成要素の全ての他の組み合わせは包含される。本明細書で引用されている全ての刊行物、特許、および特許出願は、あらゆる目的のため、その全体が参考により本明細書に包含される。

20

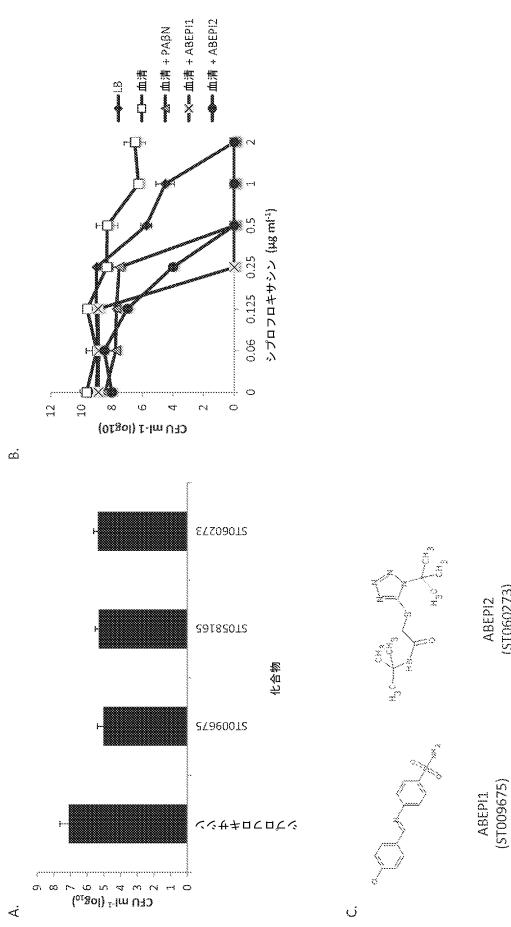
【図 1】



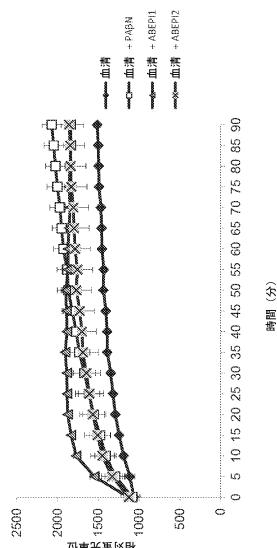
【図 2】



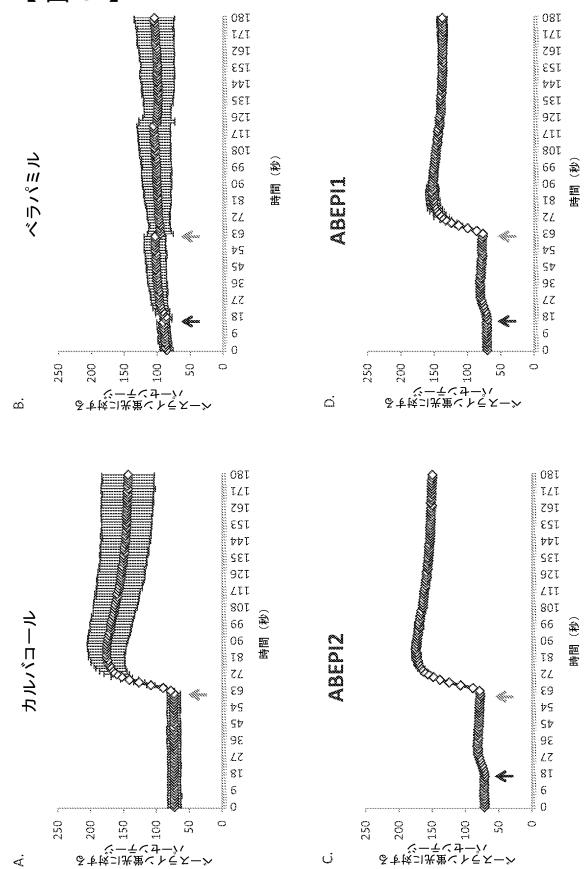
【図 3】



【図 4】



【図5】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K	31/496	(2006.01) A 6 1 K 31/496
A 6 1 K	31/5383	(2006.01) A 6 1 K 31/5383
A 6 1 K	31/4375	(2006.01) A 6 1 K 31/4375
A 6 1 K	31/7036	(2006.01) A 6 1 K 31/7036
A 6 1 K	31/407	(2006.01) A 6 1 K 31/407
A 6 1 K	31/53	(2006.01) A 6 1 K 31/53
A 6 1 K	31/7048	(2006.01) A 6 1 K 31/7048
A 6 1 K	38/12	(2006.01) A 6 1 K 38/12
A 6 1 K	31/42	(2006.01) A 6 1 K 31/42
A 6 1 K	31/505	(2006.01) A 6 1 K 31/505

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ダンマン ポール エム.

アメリカ合衆国 1 4 5 3 4 ニューヨーク州 ピットフォード ウェスト ブルームフィールド
ロード 6 9 5

(72)発明者 ブランチャード キャトリーン イー.

アメリカ合衆国 1 4 6 2 0 ニューヨーク州 ロチェスター アレクサンダー ストリート 8
2 アパートメント ディー.

審査官 磯部 洋一郎

(56)参考文献 特表平11-503913 (JP, A)

中国特許出願公開第103156844 (CN, A)

国際公開第2014/022923 (WO, A1)

Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 2011, Vol.55(1), p.439-442

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 31 / 1 8

A 6 1 K 31 / 4 0 7

A 6 1 K 31 / 4 2

A 6 1 K 31 / 4 3 7 5

A 6 1 K 31 / 4 9 6

A 61K 31/505
A 61K 31/53
A 61K 31/5383
A 61K 31/65
A 61K 31/7036
A 61K 31/7048
A 61K 38/12
A 61K 45/00
A 61P 31/04
A 61P 43/00
JSTPplus/JMEDplus/JST7580 (JDreamIII)
Caplus/REGISTRY(STN)