

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6151257号  
(P6151257)

(45) 発行日 平成29年6月21日(2017.6.21)

(24) 登録日 平成29年6月2日(2017.6.2)

(51) Int.Cl.

F 1

A 61 K 31/546	(2006.01)	A 61 K 31/546	ZMD
A 61 K 31/431	(2006.01)	A 61 K 31/431	
A 61 P 11/00	(2006.01)	A 61 P 11/00	
A 61 P 31/04	(2006.01)	A 61 P 31/04	
A 61 P 43/00	(2006.01)	A 61 P 43/00	1 2 1

請求項の数 8 (全 17 頁)

(21) 出願番号	特願2014-529902 (P2014-529902)
(86) (22) 出願日	平成24年9月7日(2012.9.7)
(65) 公表番号	特表2014-526468 (P2014-526468A)
(43) 公表日	平成26年10月6日(2014.10.6)
(86) 國際出願番号	PCT/US2012/054191
(87) 國際公開番号	W02013/036783
(87) 國際公開日	平成25年3月14日(2013.3.14)
審査請求日	平成27年9月4日(2015.9.4)
(31) 優先権主張番号	61/657,386
(32) 優先日	平成24年6月8日(2012.6.8)
(33) 優先権主張国	米国(US)
(31) 優先権主張番号	61/532,914
(32) 優先日	平成23年9月9日(2011.9.9)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	596129215 メルク・シャープ・アンド・ドーム・コー ポレーション Merck Sharp & Dohme Corp. アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・O 7065-0907 ローウェイ、イース ト・リンカーン・アベニュー・126 126 East Lincoln Av enue, Rahway, New J ersey 07065-0907 U. S. A.
(74) 代理人	100108453 弁理士 村山 靖彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】肺内感染症の治療方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

2 g のセフトロザン及び 1 g のタゾバクタムを含み、約 8 時間毎に 1 回静脈内投与される、ヒトの肺炎を治療するための医薬製剤であって、前記肺炎が、緑膿菌 (*P. aeruginosa*)、大腸菌 (*E. coli*)、及び肺炎桿菌 (*K. pneumoniae*) から選択される病原体によって引き起こされるものである、医薬製剤。

## 【請求項 2】

2 g のセフトロザンと 1 g のタゾバクタムとを別々に含む複合製剤であり、約 8 時間毎に 1 回静脈内投与される、ヒトの肺炎を治療するための医薬製剤であって、前記肺炎が、緑膿菌 (*P. aeruginosa*)、大腸菌 (*E. coli*)、及び肺炎桿菌 (*K. pneumoniae*) から選択される病原体によって引き起こされるものである、医薬製剤。

10

## 【請求項 3】

前記セフトロザンが遊離塩基の形態である、請求項 1 又は 2 に記載の医薬製剤。

## 【請求項 4】

前記セフトロザンが塩の形態である、請求項 1 又は 2 に記載の医薬製剤。

## 【請求項 5】

前記セフトロザンの塩がセフトロザン硫酸水素塩である、請求項 4 に記載の医薬製剤。

## 【請求項 6】

前記肺炎が院内肺炎である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の医薬製剤。

## 【請求項 7】

20

前記院内肺炎が院内感染性肺炎である、請求項6に記載の医薬製剤。

【請求項 8】

前記肺炎が人工呼吸器関連肺炎である、請求項1～7のいずれか一項に記載の医薬製剤。

。

【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、発明の名称が「肺内感染症の治療方法 (Methods for Treating Intrapulmonary Infections)」である2011年9月9日出願の米国仮特許出願第61/532,914号、及び発明の名称が「肺内感染症の治療方法 (Methods for Treating Intrapulmonary Infections)」である2012年6月8日出願の米国仮特許出願第61/657,386号に基づく優先権を主張するものである。本明細書の全体を通じて引用されるすべての特許、特許出願、及び参照文献の内容をそれらの全容にわたって参照により本明細書に援用するものである。10

【0002】

(発明の分野)

本開示は、セファロスボリンによる院内肺炎感染症の治療を含む、肺内細菌感染症の治療に関する。20

【背景技術】

【0003】

セファロスボリン(6R,7R)-3-[5-アミノ-4-[3-(2-アミノエチル)ウレイド]-1-メチル-1H-ピラゾール-2-イウム-2-イルメチル]-7-[2-(5-アミノ-1,2,4-チアジアゾール-3-イル)-2-[(Z)-1-カルボキシ-1-メチルエトキシイミノ]アセトアミド]-3-セフェム-4-カルボン酸(「CXA-101」とも呼ばれ、以前にはFR264205と表記されていたもの)は、抗菌剤である。CXA-101は、図1に示される化合物として提供され得る。CXA-101の抗菌活性は、ペニシリン結合タンパク質(PBP)との相互作用により細菌の細胞壁の生合成を阻害し、これにより細菌の複製を停止させる作用により生じるものと考えられる。CXA-101は、タゾバクタムなどの-ラクタマーゼ阻害剤(「BLI」)と組み合わせる(例えは混合する)ことができる。タゾバクタムは、活性-ラクタム抗生物質と組み合わせた場合にin vitro及びin vivoでの有効性がよく確立されているクラスA及び一部のクラスC-ラクタマーゼに対するBLIである。CXA-101とタゾバクタムとを重量比2:1で組み合わせることで、非経口投与用の抗生医薬組成物(CXA-201)となる。CXA-201は、in vitroにおいて、一般的なグラム陰性菌及び選択されたグラム陽性菌に対して強力な抗菌活性を示す。CXA-201は、基質特異性拡張型-ラクタマーゼ耐性(MIC<sub>90</sub>=1μg/mL)を発現する株を含む腸内細菌科(Enterobacteriaceae)、及び多剤耐性株(MIC<sub>90</sub>=2μg/mL)を含む緑膿菌(シュードモナス・エルギノーサ(Pseudomonas aeruginosa)(P. aeruginosa))に対するin vitro活性を有する、広域スペクトルの抗菌剤である。CXA-201は、緑膿菌(P. aeruginosa)により引き起こされる院内肺炎を含む肺内感染症を引き起こすことが知られている多くのグラム陰性病原体に対する活性を有する複合型抗菌剤である。3040

【0004】

院内肺炎などの肺内感染症、特に緑膿菌(P. aeruginosa)などの薬剤耐性病原体によって引き起こされる感染症は、依然として罹患率及び死亡率の主因となっている。抗生物質の全身投与による肺内感染症の治療における課題の1つは、肺内の気管支粘膜面上の感染部位に対し、治療上安全かつ有効な濃度の抗生物質(すなわち、気管支分泌物中の抗生物質)を与える、抗生物質用量を決定することである。多くの抗生物質は、血流から気管支に透過する拡散性が低いことから[例えは、Pennington, J. E., 「Pe

50

netration of antibiotics into respiratory secretions,」Rev Infect Dis 3(1):67~73(1981)]、全身性の感染症に対して処方されるよりも高用量の抗生物質が投与される場合がある。更に、感染患者の特徴である膿性痰により、多くの抗生物質の有効性が低下する傾向がある(例えば、Levy, J., et al., 「Bioactivity of gentamicin in purulent sputum from patients with cystic fibrosis or bronchiectasis: comparison with activity in serum,」J Infect Dis 148(6):1069~76(1983)を参照)。場合によっては、その結果、肺内感染症を治療するために全身投与される抗生物質が大量に処方されることになる。10

#### 【0005】

抗生物質の有効性は、作用部位における薬物の濃度に一部依存する。抗菌治療を有効なものとするには、細菌感染部位において抗生物質濃度が適当である必要があり、一部の専門家の間では、気道上皮被覆液(E LF)濃度が、肺炎などの肺内感染症を治療するために有効な濃度を予測するための妥当な代用となるものと考えられている。多くの抗生物質では、E LF濃度を臨床転帰と関連付ける臨床データは存在せず、抗生物質の肺浸透率の差の臨床的意義は不明であり、すなわち特性評価があまり行われていない。血漿中の濃度-時間曲線下面積(AUC)に対するE LF中のAUCの比(AUC(E LF)/AUC(血漿)比)として測定される、肺内への - ラクタム剤の浸透率を定量化した試験はほとんどない。発表されている一部の研究では、肺のE LF中で測定された抗生物質の濃度は大きく変化している。例えば、報告されている健康なヒトの志願者におけるテラバンシンの浸透比は、0.43~1.24の間で大きく変化している(Lodise, Gottfreid, Drusano, 2008 Antimicrobial Agents and Chemotherapy)。したがって、構造、分子量、サイズ及び溶解度に基づいてE LF中への薬物の浸透率を演繹的に予測することは、物理化学的性質が薬物の肺浸透率に対し示す影響に関する、利用可能なデータが限られているために困難である。20

#### 【先行技術文献】

#### 【非特許文献】

#### 【0006】

【非特許文献1】Rev Infect Dis 3(1):67~73(1981)

【非特許文献2】J Infect Dis 148(6):1069~76(1983)  
)

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0007】

したがって、肺内感染症、特に院内肺炎の治療における特定の薬物の有効性は、特定の細菌に対するその薬物の活性に関するデータなどといった、in vitroでのデータのみに基づいて予測することは不可能である。こうしたデータは、薬物が、肺の気管支粘膜面の感染部位に対し治療上安全かつ有効な濃度(すなわち、気管支分泌物中濃度)で蓄積するか否かに関しては何ら指標を与えるものではない。例えば、グリシルサイクリン系の抗菌剤であるチゲサイクリンは、グラム陽性菌及び緑膿菌(*P. aeruginosa*)を含むグラム陰性菌の多くの種に対するin vitro活性を有し、FDAにより、複雑性皮膚・皮膚構造感染症、複雑性腹腔内感染症、及び市中肺炎の治療用に承認されている。しかしながら、チゲサイクリンは、院内肺炎の治療患者においては、他の薬物と比較して、チゲサイクリンの使用時に高い死亡率が伴うことを考慮して、院内肺炎の治療用には承認されていない。40

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0008】

本発明は、セフトロザンを含む医薬組成物の全身投与により、院内肺炎を含む肺内感染50

症を治療するための方法を提供する。本発明は、院内肺炎の治療に適応されるピペラシリン／タゾバクタムと比較して C X A - 2 0 1 の E L F 浸透率を評価するように設計された、ヒト臨床試験の結果に一部基づいたものである。本明細書に述べられる試験は、血漿中の濃度・時間曲線下面積 (A U C) 対する気道上皮被覆液 (E L F) 中の A U C の比 (A U C (E L F) / A U C (血漿) 比) として測定される、肺内への C X A - 2 0 1 の浸透率を定量化した。この試験の結果は、C X A - 2 0 1 は、セフトロザンの E L F / 血漿 A U C 比 0.48 で、ヒト患者の E L F 中に浸透することを示している。測定されたセフトロザンの E L F 濃度は、投与間隔 8 時間の場合に 60% で、現在の調査データに基づいて 99% の緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) を阻害すると予測されている濃度である 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を上回った。

10

## 【0009】

この試験により、健康な志願者の E L F 中に、C X A - 2 0 1 が、下気道感染症の治療に広く使用されている薬剤であるピペラシリン／タゾバクタムと比較して効果的に浸透したことが示された。この試験で測定された肺内の薬物動態は、院内肺炎又は他の下気道感染症のような肺内感染症を治療するための非経口（例えば静脈内）抗生物質としての C X A - 2 0 1 の使用を支持するものである。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0010】

【図 1】セフトロザン硫酸水素塩の塩の化学構造である。

【図 2 A】C X A - 2 0 1 のセフトロザン硫酸水素塩の E L F 濃度・時間プロファイルを示すグラフ（中央値及び範囲）である。

20

【図 2 B】C X A - 2 0 1 のタゾバクタムの E L F 濃度・時間プロファイルを示すグラフ（中央値及び範囲）である。

【図 3 A】ピペラシリン／タゾバクタム比較用薬剤（ZOSYN（登録商標））のピペラシリンの（比較用）E L F 濃度・時間プロファイルを示すグラフ（中央値及び範囲）である。

【図 3 B】ピペラシリン／タゾバクタム比較用薬剤（ZOSYN（登録商標））のタゾバクタムの（比較用）E L F 濃度・時間プロファイルを示すグラフ（中央値及び範囲）である。

【図 4 A】セフトロザン硫酸水素塩を調製するための合成スキームである。

30

【図 4 B】セフトロザン硫酸水素塩を調製するための合成スキームである。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0011】

本開示は、セフトロザン及びタゾバクタムを含む医薬組成物を治療上有効な量で非経口投与するなど、セフトロザンを含む医薬組成物を全身投与することによる、院内肺炎を含む肺内感染症の治療に関する。本明細書において使用するとき、用語「セフトロザン」は、遊離塩基又は塩の形態、好ましくは硫酸水素塩の形態（図 1 に示される）の C X A - 1 0 1 を意味する。一実施形態では、セフトロザンは、その遊離塩基の形態の C X A - 1 0 1 である。別の実施形態では、セフトロザンは、その塩の形態、好ましくは硫酸水素塩の形態の C X A - 1 0 1 である。

40

## 【0012】

好ましい一実施形態では、セフトロザン（遊離塩基又は塩の形態、好ましくは硫酸塩の形態）及びタゾバクタムの重量比は 2 : 1（セフトロザン：タゾバクタム）である。一部の実施形態では、本明細書において、セフトロザン硫酸水素塩及びタゾバクタムを 2 : 1 の重量比で含む医薬組成物を全身投与することにより、院内肺炎を含む肺内感染症を治療する方法が提供される。セフトロザン硫酸水素塩とタゾバクタムの重量比 2 : 1 の組み合わせを、本明細書及び実施例において「C X A - 2 0 1」と呼ぶ。

## 【0013】

一態様では、本発明は、セフトロザンを含む医薬組成物を治療上有効な量で投与することを含む、肺内感染症を治療する方法を提供する。前記方法は、セフトロザンをタゾバク

50

タムと共に含む医薬組成物を投与することを含み得る。

【0014】

別の態様では、本発明は、3.0gのセフトロザンを含む医薬組成物を、治療を要する対象に約8時間毎に静脈内投与する工程を含む、肺内感染症を治療する方法を提供する。前記方法は、セフトロザンをタゾバクタムと共に含む医薬組成物を投与することを含み得る。一実施形態では、前記方法はCXA-201を投与することを含み、前記感染症はグラム陰性菌を含む。別の態様では、本発明は、3.0gのセフトロザンを含む医薬組成物を、治療を要する対象に8時間毎に静脈内投与する工程を含む、肺内感染症を治療する方法を提供する。

【0015】

別の態様では、本発明は、対象の気道上皮被覆液中に肺内感染症を治療するための有効量のタゾバクタム又はセフトロザンを与える方法であって、セフトロザンを含む医薬組成物を前記対象に静脈内投与する工程を含む、方法を提供する。前記方法は、必要に応じてタゾバクタムを更に含む医薬組成物を投与することを含んでよく、前記医薬組成物はCXA-201である。前記方法は、合計して約1.5gのセフトロザン及びタゾバクタムを8時間毎に投与することを含み得る。一実施形態では、肺内感染症を治療するための前記対象のELF中のセフトロザンの有効量は、少なくとも約8μg/mLである。ELF中のセフトロザンのELF濃度は、前記医薬組成物の投与後に少なくとも約8μg/mLに達し得る。前記対象は、典型的には、院内肺炎を有するか又は有するリスクがあると考えられるヒトである。一部の実施形態では、前記対象（又は患者）は、換気装置肺炎又は院内肺炎を有し得る。

10

【0016】

別の態様では、本発明は、セフトロザンを含む医薬組成物を治療上有効な量で投与することを含む、肺内感染症の治療用の薬剤の製造におけるセフトロザンの使用を提供する。前記使用は、セフトロザンをタゾバクタムと共に含む医薬組成物を投与することを含み得る。

20

【0017】

別の態様では、本発明は、3.0gのセフトロザンを含む医薬組成物を、治療を要する対象に8時間毎に静脈内投与することを含む、肺内感染症の治療用の薬剤の製造におけるセフトロザンの使用を提供する。前記使用は、セフトロザンをタゾバクタムと共に含む医薬組成物を投与することを含み得る。一実施形態では、前記使用はセフトロザン及びタゾバクタムを投与することを含み、前記感染症はグラム陰性菌を含む。

30

【0018】

別の態様では、本発明は、セフトロザンを含む医薬組成物を静脈内投与することを含む、肺内感染症の治療用の薬剤の製造におけるセフトロザンの使用であって、タゾバクタム又はセフトロザンが、肺内感染症を治療するための有効量で対象の気道上皮被覆液中に与えられる、使用を提供する。前記使用は、必要に応じてタゾバクタムを更に含む医薬組成物を投与することを含んでよく、前記医薬組成物はCXA-201である。前記使用は、約1.5gのセフトロザン及びタゾバクタムを8時間毎に投与することを含み得る。一実施形態では、肺内感染症を治療するための、前記対象のELF中のセフトロザンの有効量は、少なくとも約8μg/mLである。ELF中のセフトロザンのELF濃度は、前記医薬組成物の投与後に少なくとも約8μg/mLに達し得る。前記対象は、典型的には、院内肺炎を有するか又は有するリスクがあると考えられるヒトである。一部の実施形態では、前記対象（又は患者）は、換気装置肺炎又は院内肺炎を有し得る。本発明の方法及び使用においては、医薬組成物は非経口的に投与することができる。医薬組成物は静脈内投与することができる。一部の実施形態では、医薬組成物は、8時間毎に約1回、点滴として静脈内投与される。医薬組成物は、60分間点滴静脈内投与することができる。

40

【0019】

本発明の方法及び使用においては、肺内感染症は、肺の感染症であり得る。肺内感染症は肺炎であり得る。好ましい一実施形態では、肺内感染症は、院内肺炎である。肺内感染

50

症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、腸内細菌科 (*Enterobacteriaceae*)、又はこれらの組み合わせを含み得る。典型的に、肺内感染症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) を含む。肺内感染症は、CXA-201 の最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下である病原体を含み得る。肺内感染症は、セフトロザンの最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下である病原体を含み得る。

#### 【0020】

別の態様では、本発明は、肺内感染症を治療する方法において使用するためのセフトロザンを提供する。一実施形態では、セフトロザンは非経口的に投与される。典型的には、セフトロザンは静脈内投与される。一部の実施形態では、セフトロザンは、8時間毎に約1回、点滴として投与される。一部の実施形態では、セフトロザンは、60分間点滴静脈内投与される。10

#### 【0021】

一実施形態では、セフトロザンは、肺内感染症を治療する方法において使用するためのものであり、肺内感染症は肺の感染症を含む。肺内感染症は肺炎であり得る。好ましい一実施形態では、セフトロザンは、院内肺炎を治療する方法において使用するためのものである。肺内感染症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、腸内細菌科 (*Enterobacteriaceae*)、又はこれらの組み合わせを含み得る。典型的には、肺内感染症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) を含む。肺内感染症は、セフトロザン及びタゾバクタムの最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下である病原体を含み得る。肺内感染症は、セフトロザンの最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下である病原体を含み得る。20

#### 【0022】

本発明は、セフトロザンをタゾバクタムと併用して投与することを含む、肺内感染症を治療する方法において使用するためのセフトロザンを更に提供する。一実施形態では、セフトロザン及び/又はタゾバクタムは、非経口投与される。典型的には、セフトロザン及び/又はタゾバクタムは、静脈内投与される。一部の実施形態では、セフトロザン及び/又はタゾバクタムは、8時間毎に約1回、点滴として投与される。一部の実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムは、60分間点滴静脈内投与される。一実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムはいずれも非経口投与される。別の実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムはいずれも静脈内投与される。一部の実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムはいずれも、8時間毎に約1回、点滴として投与される。一部の実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムはいずれも60分間点滴静脈内投与される。一実施形態では、セフトロザンは肺内感染症を治療する方法において使用するためのものであり、肺内感染症は肺の感染症を含む。肺内感染症は肺炎であり得る。好ましい一実施形態では、セフトロザンは、院内肺炎を治療する方法において使用するためのものである。肺内感染症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、腸内細菌科 (*Enterobacteriaceae*)、又はこれらの組み合わせを含み得る。典型的には、肺内感染症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) を含む。肺内感染症は、セフトロザン及びタゾバクタムの最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下である病原体を含み得る。肺内感染症は、セフトロザンの最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下である病原体を含み得る。30

#### 【0023】

別の態様では、本発明は、タゾバクタムをセフトロザンと併用して投与することを含む、肺内感染症を治療する方法において使用するためのタゾバクタムを提供する。一実施形態では、タゾバクタム及び/又はセフトロザンは、非経口投与される。典型的には、タゾバクタム及び/又はセフトロザンは、静脈内投与される。一部の実施形態では、タゾバクタム及び/又はセフトロザンは、8時間毎に約1回、点滴として投与される。一部の実施形態では、タゾバクタム及び/又はセフトロザンは、60分間点滴静脈内投与される。一実施形態では、タゾバクタム及びセフトロザンはいずれも非経口投与される。別の実施形態では、タゾバクタム及びセフトロザンはいずれも静脈内投与される。別の実施形態では、タゾバクタム及びセフトロザンはいずれも、8時間毎に約1回、点滴として投与される。別の実施形態では、タゾバクタム及びセフトロザンはいずれも、60分間点滴静脈内投4050

与される。

【0024】

一実施形態では、タゾバクタムは、肺内感染症を治療する方法において使用するためのものであり、肺内感染症は肺の感染症を含む。肺内感染症は肺炎であり得る。好ましい一実施形態では、タゾバクタムは、院内肺炎を治療する方法において使用するためのものである。肺内感染症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、腸内細菌科 (*Enterobacteriaceae*)、又はこれらの組み合わせを含み得る。典型的には、肺内感染症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) を含む。肺内感染症は、セフトロザン及びタゾバクタムの最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g} / \text{mL}$  以下である病原体を含み得る。肺内感染症は、セフトロザンの最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g} / \text{mL}$  以下である病原体を含み得る。

10

【0025】

別の態様では、本発明は、肺内感染症を治療する方法において、同時に、別々に、又は逐次使用するための複合製剤としてセフトロザン及びタゾバクタムを提供する。一実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムは非経口投与される。典型的には、セフトロザン及びタゾバクタムは、静脈内投与される。一部の実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムは、8時間毎に約1回、点滴として投与される。一部の実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムは、60分間点滴静脈内投与される。

【0026】

一実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムは、肺内感染症を治療する方法において使用するためのものであり、肺内感染症は肺の感染症を含む。肺内感染症は肺炎であり得る。好ましい一実施形態では、セフトロザン及びタゾバクタムは、院内肺炎を治療する方法において使用するためのものである。肺内感染症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、腸内細菌科 (*Enterobacteriaceae*)、又はこれらの組み合わせを含み得る。典型的には、肺内感染症は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) を含む。肺内感染症は、セフトロザン及びタゾバクタムの最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g} / \text{mL}$  以下である病原体を含み得る。肺内感染症は、セフトロザンの最小発育阻止濃度が  $8 \mu\text{g} / \text{mL}$  以下である病原体を含み得る。

20

【0027】

別の態様では、本発明は、対象の気道上皮被覆液中に、肺内感染症を治療するための有効量のタゾバクタム又はセフトロザンを与える方法であって、セフトロザンを静脈内投与する工程を含む方法において使用するためのセフトロザンを提供する。一部の実施形態では、セフトロザンは、タゾバクタムと併用して投与される。好ましくは、CXA-201が投与される。好ましい実施形態では、約1.5gのセフトロザン及びタゾバクタムが8時間毎に投与される。一実施形態では、肺内感染症を治療するための、前記対象のELF中のセフトロザンの有効量は、少なくとも約 $8 \mu\text{g} / \text{mL}$ である。ELF中のセフトロザンのELF濃度は、セフトロザンの投与後に少なくとも約 $8 \mu\text{g} / \text{mL}$ に達し得る。前記対象は、典型的には、院内肺炎を有するか又は有するリスクがあると考えられるヒトである。一部の実施形態では、前記対象（又は患者）は、換気装置肺炎又は院内感染性肺炎を有し得る。

30

【0028】

CXA-201による肺内感染症の安全かつ有効な治療は、気道上皮被覆液 (ELF) 中にCXA-201抗生物質の治療上の有効量を与えるように選択された量のCXA-201を投与することを含む。ピペラシリン/タゾバクタム比較用薬剤と比較したELF中のCXA-201の浸透率を、健康な成人志願者における第I相臨床試験で評価した。ピペラシリン/タゾバクタム比較用薬剤は、ピペラシリン/タゾバクタムを8:1の重量比で、ピペラシリン1g当たり合計して2.79ミリ当量のナトリウムと共に含む、商品名ZOSYN（登録商標）（ゾシン）としてFDAにより承認されているものである。試験結果は、血漿中の濃度-時間曲線下面積 (AUC) に対する気道上皮被覆液 (ELF) 中のAUCの比 (AUC (ELF) / AUC (血漿) 比) として測定される、健康なヒトの肺に静脈内投与されたCXA-201の浸透率を評価するものである。

40

50

## 【0029】

この試験では、4.5 g 量のピペラシリン／タゾバクタムが、1.5 g のCXA-201と同じ用量のタゾバクタム(0.5 g)を含む。この試験では、評価に先立ち、検体の濃度が血漿及びELF 中で安定状態に達するように複数回投与レジメンを用いた。被験者集団を標準化し、活動的な疾病患者を用いることに伴う変動を最小化するために健康な志願者を選択した。この試験の目的としては、(1) 健康な成人志願者におけるピペラシリン／タゾバクタムと比較したCXA-201の複数回静脈内投与のELF：血漿濃度比の決定及び比較、(2) 健康な成人志願者におけるCXA-201の複数回静脈内投与の安全性及び忍容性の評価がある。

## 【0030】

試験は、50名の健康な成人志願者の第I相、前向き、無作為化(1:1)、比較対照非盲検試験とした。健康な志願者のそれぞれに、CXA-201(60分間点滴として8時間毎に1.5 g)又はピペラシリン／タゾバクタム(30分間点滴として6時間毎に4.5 g)を3回投与した。被験者に試験薬を3回投与し、所定の血漿採取時点において連続採血を行い、予定した時点の1つで気管支肺胞洗浄(BAL)法を1回行った(表1)。

## 【0031】

## 【表1】

表1：血漿採取及びBALを行った時点

10

20

血漿採取の時点	BALの時点
1回の投与間隔に対して25名の被験者すべてから集中的に血漿採取を行った。	3回目の点滴の開始から毎時間、1時点当たり各処置群当たり5名の被験者
CXA-201	
3回目のCXA-201の点滴投与の開始から0(薬物動態測定前のトラフ値)、1、2、4、6、8時間後	3回目のCXA-201の点滴投与の開始から0、1、2、4、6、8時間後
ピペラシリン／タゾバクタム	
3回目のピペラシリン／タゾバクタムの点滴投与の開始から0(薬物動態測定前のトラフ値)、0.5、1、2、4、6時間後	3回目のピペラシリン／タゾバクタムの点滴投与の開始から0.5、1、2、4、6時間後

30

## 【0032】

CXA-201群で25名、及びピペラシリン／タゾバクタム群で26名の全体で51名の被験者に参加してもらった。試験の選択基準は、(1) 18才以上、50才以下の健康な成人男子又は妊娠していない女性、(2) ボディマス指数18.5～30、及び(3) 1秒間の努力呼気量(FEV1) 80%とした。試験の除外基準は、(1) 妊娠又は授乳中、(2) 臨床的に重要な全身性疾患又はCXA-201の分配、代謝若しくは分泌を妨げうるあらゆる外科的若しくは医学的状態の存在、(3) 喘息又はあらゆる拘束性若しくは閉塞性肺疾患の既往歴、(4) 喫煙歴又は睡眠薬若しくはアルコールの濫用歴、(5) ヒト免疫不全ウイルス、B型肝炎表面抗原、又はC型肝炎抗体について陽性の検査結果、(6) 気管支鏡検査が望ましくないあらゆる状態若しくは状況、及び(7) 腎機能障害(CrCl < 90 mL/分)とした。

40

## 【0033】

健康な成人志願者におけるピペラシリン／タゾバクタムと比較したCXA-201の複数回静脈内投与のELF：血漿濃度比の決定

血漿及びBALのデータポイントを使用し、各時点における平均濃度を用いてELF中の1つの濃度・時間プロファイルを作成した。投与後、1つのELF試料を、5つの予定された時点(5名の被験者/時点/処理群)の1つにおいてそれぞれの健康な志願者から、気管支肺胞洗浄(BAL)により得た。複数回投与時のELF：血漿濃度を求めた。一連の血漿試料を、6時間(ピペラシリン／タゾバクタム)又は8時間(CXA-201)

50

にわたって処置前及び処置後に採取した。血漿及びBAL中の尿素濃度を用いてELF薬物濃度を計算した(表1を参照)。ELFの薬物動態パラメータを、各時点における平均濃度を用いてノンコンパートメント解析により計算した。ELF中へのCXA-201の肺内浸透率を、ELF AUC<sub>0-t</sub>を平均血漿AUC<sub>0-t</sub>で除することによって求めた。

#### 【0034】

ELF中のCXA-201及びピペラシリン/タゾバクタムの濃度を、BAL液中の薬物の濃度、採取したBAL液の体積、及び、血漿中の尿素濃度に対するBAL液中の尿素濃度の比から推定した。ELF体積の計算は、BALにより回収されたELFの内因性マーカーとして尿素を用い、尿素希釈法によって求めた。ELF中のCXA-201及びピペラシリン/タゾバクタムの濃度を、BAL液中の薬物の濃度、採取したBAL液の体積、及び、血漿中の尿素濃度に対するBAL液中の尿素濃度の比から推定した。以下の式はこれらの計算を表す。

$$CXA-201(CXA/T) = [CXA/T]_{BAL} \times V_{BAL} / V_{ELF}$$

$[CXA/T]_{BAL}$ は、BAL液中のCXA-201の濃度であり、 $V_{BAL}$ は、吸引されたBAL液の体積(全体)であり、 $V_{ELF}$ は、 $V_{BAL} \times [尿素]_{BAL} / [尿素]_{血漿}$ であり、ただし、 $[尿素]_{BAL}$ は、BAL液(上清)中の尿素の濃度であり、 $[尿素]_{血漿}$ は、血漿試料中の尿素の濃度である。

#### 【0035】

$$\text{ピペラシリン/タゾバクタム} = [PIP/T]_{BAL} \times V_{BAL} / V_{ELF}$$

$[PIP/T]_{BAL}$ は、BAL液中のピペラシリン/タゾバクタムの濃度であり、 $V_{BAL}$ は、吸引されたBAL液の体積(全体)であり、 $V_{ELF}$ は、 $V_{BAL} \times [尿素]_{BAL} / [尿素]_{血漿}$ であり、ただし、 $[尿素]_{BAL}$ は、BAL液(上清)中の尿素の濃度であり、 $[尿素]_{血漿}$ は、血漿試料中の尿素の濃度である。

#### 【0036】

抗生素質の経口投与による治療は行わない。安全性は、バイタルサインの評価、臨床検査及び物理検査、及び有害事象(AE)の発生により監視した。試験薬剤を3回投与し、BAL及び血漿試料の両方を採取した被験者を、薬物動態(PK)分析集団に組み入れた。任意の用量(部分用量を含む)の試験薬剤を投与した無作為化した被験者のすべてを、安全性解析集団に組み入れた。

#### 【0037】

試験結果(表2)は、CXA-201がELF中に効果的に浸透したことを見ている。CXA-201のセフトロザン成分のELF/血漿AUC比は、ピペラシリン/タゾバクタムのピペラシリン成分の0.26に対して0.48であった。セフトロザンのELF濃度は、8時間の投与間隔のうち60%で8μg/mLを上回った。セフトロザンの血漿濃度は、この用量で以前に見られたものと一致していた。

#### 【0038】

CXA-201のセフトロザン及びタゾバクタム成分のELF濃度-時間プロファイルを図2A及び2Bにそれぞれ示す。比較用薬剤のピペラシリン及びタゾバクタム成分のELF濃度-時間プロファイルを示した比較用データを、図3A及び3Bにそれぞれ示す。ELF: 血漿浸透比を表2に示す。

#### 【0039】

PKパラメータは、ノンコンパートメンタルPK解析によって求めた。Phoenix(登録商標)WinNonlin v 6.1(ファーサイト(PHARSIGHT)社(登録商標)、カリフォルニア州マウンテンビュー)を使用して、各被験者についてすべてのPKの個々の測定値を導出した。各時点における5名の被験者の平均濃度を取り、試料採取の時間にわたって1つのプロファイルを作成することによってELFのPKパラメータを計算した。血漿又はELF中で測定された尿素濃度が定量可能限界を下回り、濃度の推定値しか与えられない場合には、これらの値は、その時点における平均濃度の計算には使用しなかった。血漿中及びELF中で計算したセフトロザン、ピペラシリン、及びタゾバクタム

10

20

30

40

50

ムのPKパラメータは、以下の通りである。

- ・ $C_{\text{最大}}$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )：内挿を行わずに実験の血漿濃度 - 時間データから直接得られた、試料採取フェーズ全体にわたる最大血漿濃度及び最大ELF濃度。

- ・ $T_{\text{最大}}$  (時間)：内挿を行わずに実験の血漿及びELF濃度 - 時間データから直接得られた、 $C_{\text{max}}$  が生じた試料採取時間。

- ・ $C_{\text{最終}}$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )：点滴の終了に対して、最後の定量可能濃度が観察された時点の血漿又はELF濃度。

- ・ $T_{\text{最終}}$  (時間)：最後の定量可能濃度が観察された時間。

- ・ $AUC_{0-\infty}$  ( $\mu\text{g}^*\text{hr}/\text{mL}$ )：投与の時点から投与間隔の終了までの濃度 - 時間曲線下面積。

- ・ELF中への浸透率 (%)： $AUC_{0-\infty, \text{ELF}}$  と平均 $AUC_{0-\infty, \text{血漿}}$ との比として計算される値。

【0040】

【表2】

表2：ELF：血漿浸透比の一覧

検体	平均血漿 $AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}^*\text{hr}/\text{mL}$ )	ELF $AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}^*\text{hr}/\text{mL}$ )	ELF浸透比
セフトロザン (CXA-201中)	158.5	75.1	0.48
タゾバクタム (CXA-201中)	19.3	8.5	0.44
ピペラシリン (ピペラシリン/タゾバクタム中)	357.3	94.5	0.26
タゾバクタム (ピペラシリン/タゾバクタム中)	46.1	24.7	0.54

【0041】

CXA-201のセフトロザン成分のELF / 血漿AUC比は、比較用薬剤(ピペラシリン / タゾバクタム)のピペラシリン成分の0.26に対して、0.48であった。タゾバクタムのELF / 血漿AUC比は、それぞれCXA-201及びピペラシリン / タゾバクタムの一部として投与された場合に0.44及び0.54であった。セフトロザンのELF濃度は、8時間の投与間隔のうち60%で8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を上回った。ピペラシリン / タゾバクタムとして投与された場合、タゾバクタムの血漿及びELF濃度は、同じ用量がCXA-201として投与された場合と比較して約2倍高くなつた。

【0042】

これらの結果は、セフトロザン及びタゾバクタム(すなわち、CXA-201として投与されたもの)が、下気道感染症の治療に広く使用されている薬剤であるピペラシリン / タゾバクタムと比較して、健康な志願者のELF中に効果的に浸透したこと示している。CXA-201の肺内の薬物動態学は、最小発育阻止濃度が8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下である病原体によって引き起こされる感染症を含む下気道感染症を治療するための非経口(例えは静脈内)抗生物質としてのCXA-201の使用を支持するものである。ELF中のセフトロザンの濃度は、60分間点滴として8時間毎に1.5gのCXA-201レジメンの8時間の投与間隔のうち約60%で99%の緑膿菌(*P. aeruginosa*)を阻害する濃度である8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を上回つた。

【0043】

健康な成人志願者における静脈内CXA-201の複数回投与の安全性及び忍容性の評価

被験者中、51名の内の50名(98%)の被験者に、3回の試験薬剤をすべて投与し、BAL法を行つた。1名の被験者は、初回の投与の際に過敏症の有害事象(AE)を発症したことから、ピペラシリン / タゾバクタムの投与を途中で中断し、試験への参加を終

了させた。個体群統計及びベースライン特性を表3にまとめる。2つの治療群はよく平衡がとれていた。

【0044】

【表3】

表3：個体群統計及びベースライン特性（安全性集団）

	CXA-201 1.5g (N=25)	ピペラシリン／ タゾバクタム 4.5g (N=26)
性別、n(%)		
女性	11(44.0)	11(42.3)
男性	14(56.0)	15(57.7)
年齢、才		
平均(SD)	32.6(7.8)	34.2(8.5)
最小、最大	21、47	22、49
人種、n(%)		
白人	20(80.0)	21(80.8)
黒人又はアフリカ系アメリカ人	2(8.0)	2(7.7)
アジア人	1(4.0)	0(0.0)
アメリカインディアン又はアラスカ先住民	0(0.0)	1(3.8)
ハワイ先住民又は太平洋諸島系住民	1(4.0)	0(0.0)
その他	1(4.0)	2(7.7)
BMI、kg/m <sup>2</sup>		
平均(SD)	26.21(2.6)	23.23(2.4)
最小、最大	22.3、30.0	20.6、29.9

10

20

30

【0045】

この試験において、治療下発現有害事象(TEAE)が、CXA-201を投与した被験者の20.0%(5/25)に、ピペラシリン／タゾバクタムを投与した被験者の23.1%(6/26)で起こった。いずれの処置群においても重篤なAEは報告されなかつた。いずれのAEも重症度は軽度であった。AEの発症及びパターンは2つの処置群で概ね同様であった(表4)。

【0046】

【表4】

表4：基本語によるTEAE(安全性集団(Safety Population))

少なくとも1つのTEAEを示した被験者	5(20.0)	6(23.1)
下痢	1(4.0)	3(11.5)
ウイルス性上気道感染症	1(4.0)	0(0)
筋骨格系胸痛	1(4.0)	0(0)
眠気	1(4.0)	0(0)
血尿	1(4.0)	0(0)
咳嗽	1(4.0)	0(0)
1型過敏症	0(0)	1(3.8)
アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇	0(0)	1(3.8)
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ上昇	0(0)	1(3.8)
血中クレアチニンホスホキナーゼ上昇	0(0)	1(3.8)
高カリウム血症	0(0)	1(3.8)

40

【0047】

50

8名の被験者が、試験薬に関連しているものとして評価されたT E A Eを示した。すなわち、C X A - 2 0 1群中の2名（下痢及び眠気の被験者が1名ずつ）、及びピペラシリソルバクタム群の6名（3名の被験者で下痢、1名の被験者で1型過敏症、1名の被験者で血中クレアチニンホスホキナーゼ上昇、同じ1名の被験者でアラニンアミノトランスフェラーゼ上昇、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ上昇、及び高カリウム血症のすべて）である。ピペラシリソルバクタムで処置した被験者のうち1名が、1型過敏症の有害事象を示したために試験薬を中断した。安全性の臨床検査評価又はバイタルサイインには臨床的に有意な変化は認められなかった。

#### 【 0 0 4 8 】

C X A - 2 0 1は、健康な成人被験者の群では安全であり、忍容性が高いと考えられる。

10

#### 【 0 0 4 9 】

##### 適切な用量の決定

臨床試験データに基づいてモンテカルロシミュレーションを行い、集団PK/PD解析用のデータ処理及びモデリングを行うツールであるPHOENIX（登録商標）N L M E（ファーサイト（PHARSIGHT）社（登録商標）、カリフォルニア州マウンテンビュー）ソフトウェアを使用して院内肺炎を治療するために有効なC X A - 2 0 1の用量を予測した。集団薬物動態（PK）モデルを、複雑性腹腔内感染症の患者において以前に行われた第I I 相試験で得られたC X A - 2 0 1の血漿濃度 - 時間のデータを用いて開発した。これらの解析から、クリアランス及び分配量、並びにこれらに関連する個人間の変動の推定値を求めた。PK集団モデルから得られた出力値を、相互作用薬物モデルを定義及び試験し、試験設計の属性を探索及び伝達し、グラフィック及び統計学的なサマリーによって統計学的及び感度分析を行うツールである、PHARSIGHT（登録商標）Trial Simulator（ファーサイト（PHARSIGHT）社（登録商標））ソフトウェアを使用した臨床試験シミュレーションの入力値として使用した。平均のE L F浸透データに基づき、上記に述べたセフトロザンE L F試験で計算したセフトロザンのE L F / 血漿A U C比0 . 4 8 (0 . 2 5 ~ 0 . 6 5 の数値範囲としてモデリングしたもの)を用いて、シミュレートした各患者について、0 . 2 5 ~ 0 . 6 5 の範囲よりランダム / 血漿A U C比を得た。この範囲は、患者集団における潜在的な分配の控えめな推定値を反映している。PK集団モデルの結果及びE L F / 血漿A U C比を用い、このモデルにより、院内肺炎を有する1 , 0 0 0名の仮想臨床試験患者について、C X A - 2 0 1の血漿及びE L F濃度 - 時間プロファイルをシミュレートした。このモデルにより、院内肺炎の3つの主要な病原体に対して3 . 0 g用量のC X A - 2 0 1を8時間毎（q 8 h）に投与することについての臨床的成功の確率を評価した。これらの病原体のM I C分布には、2 0 0 8年の米国での調査データを利用した。臨床的成功は、与えられた患者の下気道病原体のM I Cよりも高いセフトロザンのE L F又は血漿濃度の達成として定義した。in vivoモデルにおいて、典型的なセファロスボリンの場合と同様、C X A - 2 0 1の関連PK/PD駆動パラメータは、投与間隔の間でM I Cを上回る時間の割合（%）であることが示されている。その目的は、各q 8 H投与間の時間のうち4 5 ~ 5 0 %で病原体のM I Cを上回る濃度を達成することにある。このため、治療の7日目において最小発育阻止濃度を上回る時間[T > M I C]が5 0 %という閾値を用いた。血漿及びE L F濃度は、8時間毎に投与した場合の7日目に、投与後の1 5の時点で推定した。これらのシミュレーションの結果を表5に示す。

#### 【 0 0 5 0 】

20

30

40

## 【表5】

表5 シミュレーションによる3.0g-1.5g用量のセフトロザン/タゾバクタムを使用した、院内肺炎の主要病原体に対する標的値達成の確率

病原体	投与レジメン	血漿中のT>MICが50%	ELF中のT>MICが50%
緑膿菌( <i>P. aeruginosa</i> )	1.5g q8h	98.2	94.6
	3.0g q8h	99.4	98.5
大腸菌( <i>E. coli</i> )	1.5g q8h	96.3	94.2
	3.0g q8h	98.8	95.5
肺炎桿菌( <i>K. pneumoniae</i> )	1.5g q8h	90.2	87.3
	3.0g q8h	92.6	89.3

略語：T &gt; MIC = 最小発育阻止濃度を上回る時間

## 【0051】

これらのシミュレーションにより、3.0g用量のCXA-201を8時間毎に投与することで、これらの病原体によって引き起こされる下気道感染症の大部分を治療するのに適切な濃度が与えられることが予想される。

## 【0052】

これらのシミュレーションに続いて、10日間にわたって、8時間毎(q8h)に3.0gのCXA-201を静脈内に投与する過程の安全性及び忍容性を、健康なヒト志願者において評価した。被験者は無作為化し、3.0g(2.0g/1.0g)のCXA-201(n=8)、1.5g(1.0/0.5g)のCXA-201(n=4)、又はプラシーボ(n=4)のいずれかを投与した。これらのデータにより、CXA-201はこの試験では一般的に安全であり、忍容性が高いことが示された。この試験では重篤な有害事象又は死亡例は報告されなかった。

## 【0053】

結論として、薬物動態学的シミュレーションを行い、肺内PK試験で得られた好ましいデータにより、上記に述べた第I相試験における高用量のCXA-201の安全性及び忍容性が実証されたことを考慮すると、これらのデータは、グラム陰性病原体によって引き起こされる院内肺炎を有する患者を治療する際に、8時間毎(q8h)に3.0gのCXA-201を静脈内に投与することの正当性を与えるものである。

## 【0054】

CXA-201の調製

CXA-201は、セフトロザンとタゾバクタムを2:1の重量比で組み合わせることによって調製することができる。CXA-201は、本明細書にその全容を参照により援用するところの米国特許第7,129,232号及びトダ(Toda)らにより述べられる方法を用いて得ることができる(Toda et al., 'Synthesis and SAR of novel parenteral anti-pseudomonal cephalosporins: Discovery of FR264205,' Bioorganic Medicinal Chemistry Letters & 18, 4849~4852(2008))。

## 【0055】

トダ(Toda)らにより述べられる方法によれば、セフトロザンは、図4A及び4Bの合

10

20

30

40

50

成スキームにより得ることができる (Toda et al., 'Synthesis and SAR of novel parenteral anti-pseudomonal cephalosporins: Discovery of FR264205,' Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 18, 4849~4852 (2008))。図4A及び4Bを参照すると、セフトロザンの合成は、10のDMA中でメタンスルホニルクロリド及び $K_2CO_3$ によりチアジアゾリル-オキシイミノ酢酸誘導体(I)を活性化した後、冷EtOAc/H<sub>2</sub>O中でEt<sub>3</sub>Nにより7-アミノセフェム(II)とカップリングし、アミド(III)を生成することで実施できる(1)。次いで、化合物(III)のアリルクロリドを、DMF中、1,3-ビス(トリメチルシリル)尿素(BSU)及びKIの存在下で4-[N-Boc-アミノエチル]カルバモイルアミノ]-1-メチル-5-トリチルアミノピラゾール(IV)により置換することで、保護されたピラゾリウム付加物(V)が得られ、これをアニソール/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中でトリフルオロ酢酸により完全に脱保護した後、i-PrOH/H<sub>2</sub>O中、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で処理することにより硫酸水素塩として単離することができる(1,2)。スキーム1ピラゾリル尿素中間体(IV)は以下のようにして調製することができる。5の水中で、5-アミノ-1-メチルピラゾール(VI)をNaNO<sub>2</sub>/HClにより処理することで4-ニトロソピラゾール誘導体(VII)が得られ、これをH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>の存在下、Pd/C上で接触水素化することにより、ジアミノピラゾール(VIII)に還元することができる。化合物(VIII)の4-アミノ基を、10のH<sub>2</sub>O/ジオキサン中、NaOHの存在下でクロロギ酸フェニルにより選択的にアシリ化することでフェニルカルバメート(IX)が得られる。カルバメート(IX)の遊離アミノ基を、THF中、Et<sub>3</sub>Nの存在下でクロロトリフェニルメタンにより保護した後、得られたN-トリチル誘導体(X)を、DMF中、Et<sub>3</sub>Nの存在下でN-Boc-エチレンジアミン(XI)とカップリングすることでピラゾリル尿素(IV)が得られる。

#### 【0056】

##### 生物活性のアッセイ

CXA-201又は他の化合物の抗菌活性は、下記に述べるような改変を行った臨床・検査標準協会(Clinical and Laboratory Standards Institute)(CLSI)のガイドラインにしたがって行った微量液体希釈法を用いることにより測定される、各種細菌に対する化合物の最小発育阻止濃度(MIC)により測定することができる(CLSIガイドラインは、2009年1月に刊行されたCLSI文献M7-A8号:Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Editionより得ることができる)。

#### 【0057】

MIC試験の準備を行う際には、スタフィロコッカス(Staphylococcus)又はシュードモナス属(Pseudomonas spp)を含む凍結グリセロール材料を、5%ヒツジ血液を含有させた高栄養、非選択的、トリプチケースソイ寒天培地上(TSAB)上に画線し、37で18~24時間インキュベートすることにより、個々のコロニーを単離することができる。

#### 【0058】

試験の当日、TSABプレートから5~10個のコロニーを搔き取り初代培養を開始することができる。この材料を、14mLの培養チューブに入れた約5mLのカチオン調整ミューラーヒントンプロス(CAMHB)に懸濁し、OD600が0.1以上となるまで、通気(200rpm)しながら約2時間、37でインキュベートすることができる。

#### 【0059】

接種菌培養液は、初代培養をOD600=0.1に標準化し、次いで20μLの調整した初代培養を、シュードモナス(Pseudomonas)では1mLのCAMHB当たり、MRS

10

20

30

40

50

Aでは1mLのC A M H B + 4% N A C L当たりの最終接種菌密度が、約 $10^5$ コロニー形成単位(C F U)/mLとなるように加えることにより調製することができる。希釈した接種菌培養液を用いて、96ウェル微量液体希釈アッセイプレートに、ウェル当たり50μLを接種することができる。2倍希釈系列により64~0.06μg/mLの範囲の濃度で化合物を含む50μLのC A M H Bを、ウェル当たりの最終体積が100μLとなるよう微量液体希釈アッセイプレートに加えてもよく、したがって最終的な培養液のOD<sub>600</sub>は約0.001であり、M R S A株の最終N a C l濃度は2%であった。

#### 【0060】

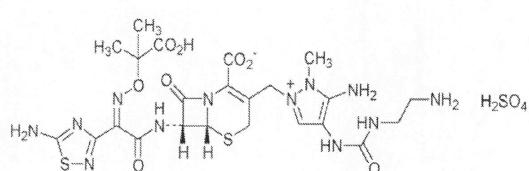
各プレートを通気(200rpm)しながら37℃で18~20時間インキュベートすることができる。インキュベート後、観測装置(鏡を下に置いたスタンド)上にプレートを置き、視覚的に増殖を確認し、更にS p e c t r a M a x 340 P C 384プレートリーダー(モレキュラー・デバイシーズ社(Molecular Devices)、カリフォルニア州サンニーベール)を使用してOD<sub>600</sub>を測定することができる。増殖は、肉眼で検出可能な濁度、又は最小のOD<sub>600</sub>が0.1に達する濁度として定義した。M I C値は、視認可能な濁度を生じない最低濃度として定義した。

#### 【0061】

本明細書に記載の実施例及び例示的な実施形態は、あくまで実例として与えられるものであり、特許請求の範囲に対する更なる限定を構成するものではない。本明細書においては、特定の実施形態について図示及び説明したが、関連する技術分野における当業者には明白であるように、本明細書は、本明細書に明確に開示される実施例の様々な改変例及び代替例をも開示するものである。本明細書の代表的な実施形態は、特許請求の範囲に更なる限定を読み込むために与えられるものではない。

【図1】

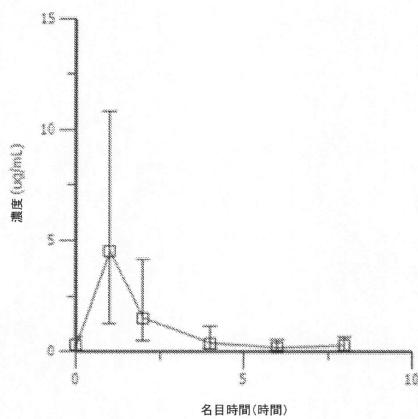
図1



【図2B】

図2B

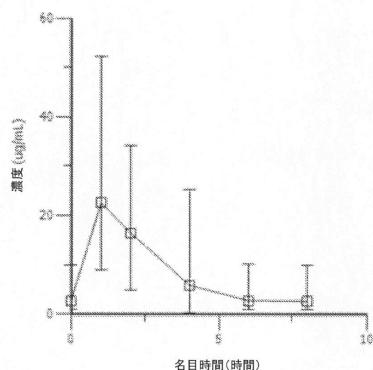
検体=タジバクタム《CXA-101》



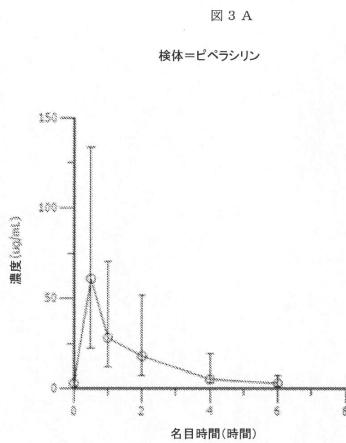
【図2A】

図2A

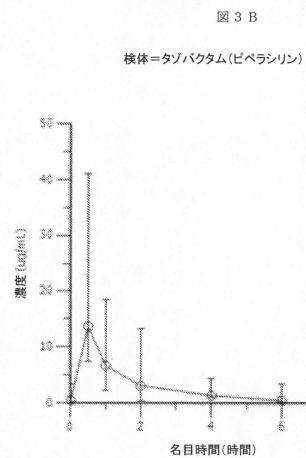
検体=CXA-101



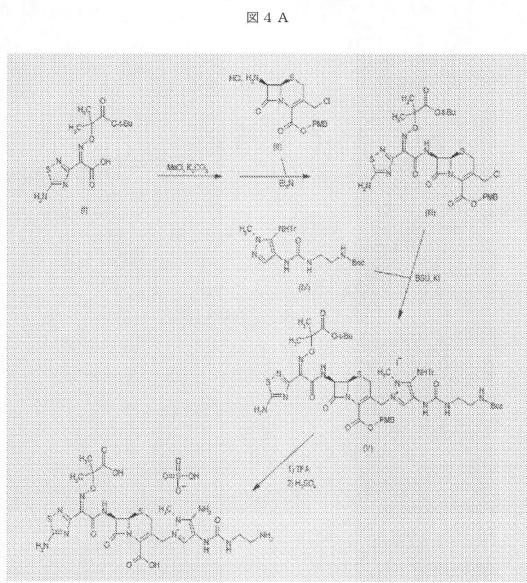
【図3A】



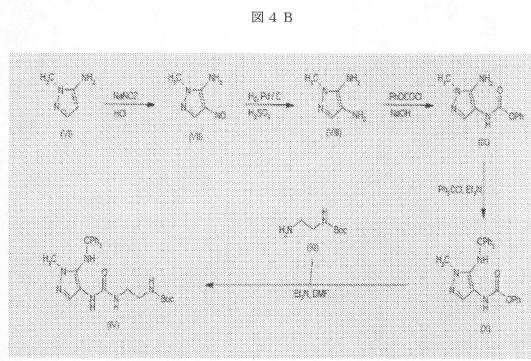
【図3B】



【図4A】



【図4B】



---

フロントページの続き

(74)代理人 100110364  
弁理士 実広 信哉  
(74)代理人 100133400  
弁理士 阿部 達彦  
(72)発明者 グルダット・エー・チャンドーカー  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02452・ウォルサム・ビショップス・フォレスト・ドライヴ・267  
(72)発明者 ジェニファー・エー・ハンティントン  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・01867・レディング・グランド・ストリート・55  
(72)発明者 タラ・パーソンズ  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02339・ハノーヴァー・シングル・ミル・レーン・32  
(72)発明者 オビアミウェ・シー・ウメー  
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・01720・アクトン・ストーニーミード・ウェイ・57

審査官 小堀 麻子

(56)参考文献 Cubist Announces Positive Results from Two Phase 2 Trials, CXA-201 and CDAD Program ,  
2011年 6月16日 , URL , <http://www.businesswire.com/news/home/20110616005698/en/Cubist-Announces-Positive-Results-Phase-2-Trials>  
Cubist Pharmaceuticals Corporate Presentation , 2010年 , URL , <http://www.rationalinvesting.com/present/CBST.pdf>  
臨床と研究 , 1997年 , 第74巻 , 第12号 , p.66-71  
B-590 - In Vivo Activity of CXA-101 Against Pseudomonas aeruginosa (PA) in a Rabbit Experimental Model of Pneumonia: Comparison with Ceftazidime (CAZ), Piperacillin/Tazobactam (TZP), and Imipenem (IMP) , 51st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy Abstract , 2011年 8月18日 , URL , <http://www.abstractsonline.com/Plan/ViewAbstract.aspx?sKey=d5a362cf-cdbe-41e1-83a4-6b3da30e2985&cKey=ed4f0791-de2d-494d-86ab-2a7e9c77d4d3&mKey={0C918954-D607-46A7-8073-44F4B537A439}>  
Welcome to the Online Program Planner to help you plan your meeting schedule. , 2011年 , URL , <http://www.abstractsonline.com/plan/start.aspx?mkey={0C918954-D607-46A7-8073-44F4B537A439}>  
ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY , 2011年 3月 , Vol.55, No.5 , p.2390-2394  
ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY , 2010年 , Vol.54, No.8 , p.3427-3431

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

A 61 K 31 / 00  
C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )