I383801

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I383801B1**

(45)公告日： 中華民國 102 (2013) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：098103656 (22)申請日： 中華民國 98 (2009) 年 02 月 05 日

(51)Int. Cl.： *A61K38/12 (2006.01)* *C07K7/62 (2006.01)*

A61P31/04 (2006.01)

(30)優先權：2008/02/08 芬蘭 20085110

2008/05/16 芬蘭 20085469

2008/02/08 美國 61/065,214

2008/05/16 美國 61/127,933

(71)申請人：北方抗體科技公司 (芬蘭) NORTHERN ANTIBIOTICS OY (FI)

芬蘭

(72)發明人：薇拉 馬帝 VAARA, MARTTI (FI) ；薇拉 堤摩 VAARA, TIMO (FI)

(74)代理人：惲軼群；陳文郎

(56)參考文獻：

US 5620955

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：96 項 圖式數：0 共 0 頁

(54)名稱

短脂肪酸尾部多黏桿菌素衍生物及其用途

SHORT FATTY ACID TAIL POLYMYXIN DERIVATIVES AND USES THEREOF

(57)摘要

本發明係相關於一種多黏桿菌素衍生物，其中該衍生物在生理 pH 值下總共具有三個正電荷，其中該衍生物之末端部分(moiety)(D)包含總共 1 至 5 個碳原子，並相關於一種組合產物，包含至少二此類衍生物。本發明更相關於一種敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑之敏感度之方法，藉由同時或依序投以治療有效劑量之該抗菌劑與本發明衍生物至該個體中；並相關於一種發展新穎抗生素；並敏化臨床上重要的細菌對於血清中宿主防禦補體敏感度之方法。本發明亦相關於一種治療格蘭氏陰性菌感染個體之方法，藉由投以本發明之多黏桿菌素衍生物與第二抗菌劑之組合物。最後，本發明係相關於一種製備此類多黏桿菌素衍生物之方法。

The present invention relates to a polymyxin derivative wherein the derivative has a total of three positive charges at physiological pH and wherein the terminal moiety (D) of the derivative comprises a total of 1 to 5 carbon atoms; and to a combination product comprising at least two such derivatives. The invention further relates to a method for sensitizing Gram-negative bacteria to an antibacterial agent by administering, simultaneously or sequentially in any order a therapeutically effective amount of said antibacterial agent and a derivative according to the present invention to said subject; to methods for developing novel antibiotics; and for sensitizing clinically important bacteria to a host defense mechanism complement present in serum. The invention also relates to a method of treating a subject for a gram-negative bacterial infection by administering a polymyxin derivative of the invention in combination with a second antibacterial agent. Finally, the invention relates to a process for preparing such polymyxin derivatives.

I383801

公告本

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：98103656 A61K 38/12 (2006.01)

※ 申請日：98. 2. 5 ※IPC 分類：C07K 7/62 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

一、發明名稱：（中文/英文）

短脂肪酸尾部多黏桿菌素衍生物及其用途

SHORT FATTY ACID TAIL POLYMYXIN DERIVATIVES AND USES THEREOF

二、中文發明摘要：

本發明係相關於一種多黏桿菌素衍生物，其中該衍生物在生理pH值下總共具有三個正電荷，其中該衍生物之末端部分(moiety)(D)包含總共1至5 個碳原子，並相關於一種組合產物，包含至少二此類衍生物。本發明更相關於一種敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑之敏感度之方法，藉由同時或依序投以治療有效劑量之該抗菌劑與本發明衍生物至該個體中；並相關於一種發展新穎抗生素；並敏化臨床上重要的細菌對於血清中宿主防禦補體敏感度之方法。本發明亦相關於一種治療格蘭氏陰性菌感染個體之方法，藉由投以本發明之多黏桿菌素衍生物與第二抗菌劑之組合物。最後，本發明係相關於一種製備此類多黏桿菌素衍生物之方法。

三、英文發明摘要：

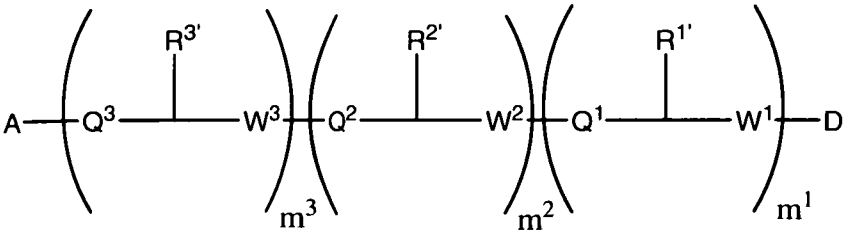
The present invention relates to a polymyxin derivative wherein the derivative has a total of three positive charges at physiological pH and wherein the terminal moiety (D) of the derivative comprises a total of 1 to 5 carbon atoms; and to a combination product comprising at least two such derivatives. The invention further relates to a method for sensitizing Gram-negative bacteria to an antibacterial agent by administering, simultaneously or sequentially in any order a therapeutically effective amount of said antibacterial agent and a derivative according to the present invention to said subject; to methods for developing novel antibiotics; and for sensitizing clinically important bacteria to a host defense mechanism complement present in serum. The invention also relates to a method of treating a subject for a gram-negative bacterial infection by administering a polymyxin derivative of the invention in combination with a second antibacterial agent. Finally, the invention relates to a process for preparing such polymyxin derivatives.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（　　）圖。(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



(I)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

發明領域

本發明係關於一種多黏桿菌素(多黏桿菌素)衍生物，及其於治療格蘭氏陰性菌(Gram-negative bacteria)所引發感染之用途。本發明多黏桿菌素衍生物特別可使用於敏化細菌以增進其他抗菌劑之功效。

【先前技術】

發明背景

敗血症(sepsis)每年造成超過215,000個美國人死亡。據估計，每年有750,000個美國人感染嚴重敗血症，其中有29%死亡。敗血症死亡為全美死亡率的9%。在美國，敗血症死亡人數與心肌感染(myocardial infections)人數相當，甚至超越車禍死亡人數。

每年有兩到三百萬個美國人發生院內感染，其中有10%的人演變成敗血症。有超過90,000個病人死於院內感染的敗血症。

根據2000年OECD健康報告，在歐盟，加護病房(ICU)中的嚴重敗血症與敗血性休克(嚴重敗血症併發低血壓)每年可奪去135,000條生命。英國的NHS機構急性照護病院中發現，在100,000個病患中每年有5,000人會因院內感染而死於敗血症。

然而死亡率卻逐年攀升，且並未因許多重症已較以往易於治療而有改善，因為易感染敗血症之病患族群如老年

人、早產新生兒與癌症病患增加。同時，使用侵襲性醫療設備與積極的治療措施增加所致。

格蘭氏陰性菌是超過40%敗血性感染的成因，且許多格蘭氏陰性菌具有極強的多重抗藥性。相較於格蘭氏陽性菌(Gram-positives)，格蘭氏陰性菌具備較高挑戰性，因其產生獨特構造，即外膜(outer membrane)，為其最外層構造。外膜上的脂多醣類(lipopolysaccharide)分子可抑制許多抗菌劑進入細胞內攻擊其標的。於1972-1991年所天然分離或化學合成的新型抗菌劑中，有超過95%的藥劑缺乏對抗格蘭氏陰性菌之活性(Vaara 1993)。

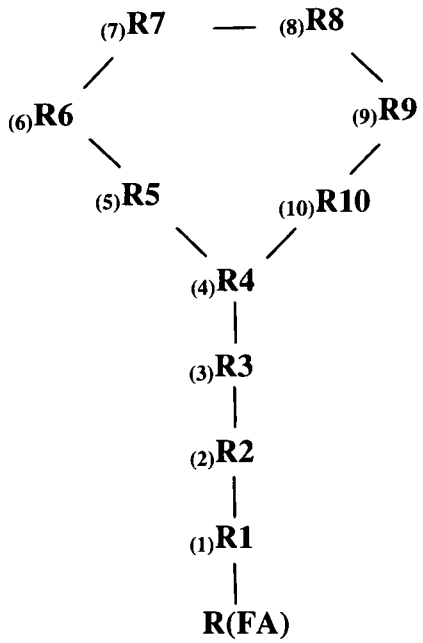
多黏桿菌素(Polymyxin)是一類抗生素物質，由多黏芽胞桿菌(*Paenibacillus polymyxa*)與其相關有機體所產生。此種陽離子藥物係相當簡單之胜肽構造且分子量約為1000。多黏桿菌素類如多黏桿菌素B，為十胜肽抗生素，亦即由10個胺基醯基殘基所構成。其為殺菌劑，並且對於格蘭氏陰性菌如大腸桿菌(*Escherichia coli*)與其他菌種如腸道菌(*Enterobacteriaceae*)、假單胞菌(*Pseudomonas*)與包氏不動桿菌(*Acinetpbacter baumannii*)等特別有效。然而，多黏桿菌素會產生嚴重不良影響，包括腎毒性與神經毒性。由於其高系統毒性，限制了這類藥物的治療用途。

多黏桿菌素已被用於治療嚴重細菌感染，但由於具有毒性，於70年代就已停用，並發展較新、較具耐受性之抗生素。當今格蘭氏陰性菌多重抗藥性菌株的出現，迫使需要採用多黏桿菌素作為最終手段，儘管其具有毒性，但是

許多低毒性抗生素已失去其對於特定菌株的效用，故使用多黏桿菌素的情況又再次增加。

據此，多黏桿菌素目前又回到治療行列，雖然其毒性侷限了使用規模。然而，其系統性(即非局部性)的給藥方式，大大地限制了由多重抗藥性菌株如綠膿桿菌(*Ps. aeruginosa*)與包氏不動桿菌以及卡巴盤尼姆(carbapenem)-抗藥性腸內菌所造成的致命感染。

多黏桿菌素係由一環狀七胜肽部，以及一由三胜肽部份(portion)組成之直線形部，以及一連接至該三胜肽N-端胺基酸殘基之α-胺基團之疏水性脂肪酸尾部組成，其一般式表示如下：



其中R1-R3代表該三胜肽側鏈部份；R4-R10為七胜肽環部份，以及R(FA)代表聯結至該三胜肽之N-端胺基酸殘基上之α-胺基之疏水性脂肪酸尾部。

該多黏桿菌素基團包括下列多黏桿菌素：A1、A2、

B1-B6、IL-多黏桿菌素B1、C、D1、D2、E1、E2、F、K1、K2、M、P1、P2、S與T (Storm *et al.* 1977; Srinivasa and Ramachandran 1979)。所有多黏桿菌素皆為聚陽離子性，並具有五個(5)正電荷，除了多黏桿菌素D、F與S之外，其具有四個(4)正電荷。應注意到該缺乏脂肪酸部R(FA)但帶有R1-R10之經修飾多黏桿菌素，具有一額外之正電荷，與其所衍生之天然多黏桿菌素比較時，由於該衍生物N-端之自由α-胺基所致。因此，例如，此多黏桿菌素B或多黏桿菌素E衍生物總共帶有六個(6)正電荷。

臨床上使用之多黏桿菌素B與多黏桿菌素E僅在殘基R6上不同，在多黏桿菌素B中為D-苯基丙胺酸殘基，而在多黏桿菌素E中為D-亮胺酸殘基。

環桿菌素A與B亦分類為多黏桿菌素(Storm *et al.* 1977)。其與多黏桿菌素不同處僅在於在R7位置帶有異亮胺酸殘基，而其他多黏桿菌素在相同位置上則為蘇胺酸或亮胺酸殘基。某些多黏桿菌素結構之總結請見表1。

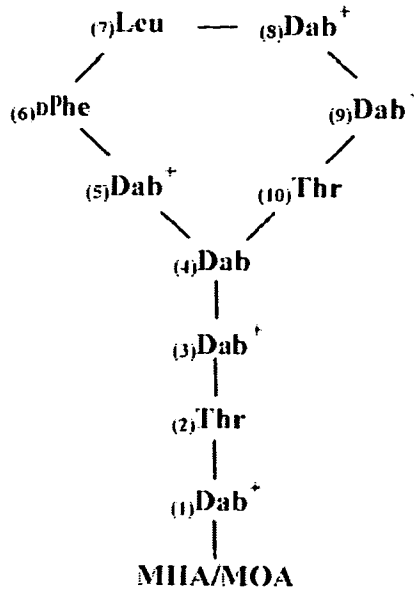
表1. 篩選出之多黏桿菌素與八肽黴素與其衍生物之結構

化合物	R(FA)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
多黏桿菌素B	MO(H)A-	Dab-	Thr-	Dab-	*Dab-	Dab-	D Phe-	Leu-	Dab	Dab	*Thr
黏菌素(多黏桿菌素E)	MO(H)A-	Dab-	Thr-	Dab-	*Dab-	Dab-	D Leu-	Leu-	Dab	Dab	*Thr
黏菌素甲磺酸鈉	MO(H)A-	sm-Dab-	Thr-	sm-Dab-	*Dab-	Sm-Dab-	D Leu-	Leu-	sm--Dab-	sm--Dab-	*Thr
多黏桿菌素A	MO(H)A-	Dab-	Thr-	D Dab-	*Dab-	Dab-	D Leu-	Thr-	Dab	Dab	*Thr
多黏桿菌素M	MOA	Dab-	Thr-	Dab-	*Dab-	Dab-	D Leu-	Thr-	Dab	Dab	*Thr
多黏桿菌素D	MO(H)A-	Dab-	Thr-	D-Ser-	*Dab-	Dab-	D Leu-	Thr-	Dab	Dab	*Thr
環桿菌素A	MOA	Dab-	Thr-	Dab-	*Dab-	Dab-	D Leu-	Ile-	Dab	Dab	*Thr
八肽黴素A	OHMDA	---	---	Dab-	*Dab-	Dab-	D Leu-	Leu-	Dab	Dab	*Leu
去醯基黏菌素(DAC)		Dab-	Thr-	Dab-	*Dab-	Dab-	D Leu-	Leu-	Dab	Dab	*Thr
多黏桿菌素E九胜肽(PMEN)			Thr-	Dab-	*Dab-	Dab-	D-Leu-	Leu-	Dab	Dab	*Thr
去醯基多黏桿菌素B (DAPB)		Dab-	Thr-	Dab-	*Dab-	Dab-	D Phe-	Leu-	Dab	Dab	*Thr
多黏桿菌素B九胜肽(PMBN)			Thr-	Dab-	*Dab-	Dab-	D Phe-	Leu-	Dab	Dab	*Thr
多黏桿菌素B八胜肽(PMBO)				Dab-	*Dab-	Dab-	D Phe-	Leu-	Dab	Dab	*Thr
多黏桿菌素B七胜肽(PMHP)					*Dab-	Dab-	D Phe-	Leu-	Dab	Dab	*Thr

101年6月5日修正替換頁

10年6月5日修正替換頁

多黏桿菌素B係以下式代表：



商業上可獲得之多黏桿菌素B為一混合物，其中R-FA主要為6-甲基辛醯基(6-MOA，於多黏桿菌素B1中)，但亦可為一相關之脂肪酸，如6-甲基庚醯基(6-MHA，於多黏桿菌素B2)、辛醯基(於多黏桿菌素B3)，或庚醯基(多黏桿菌素B4) (Sakura *et al.* 2004)。所有這些變異物對於格蘭氏陰性菌如大腸桿菌皆具有類似之藥效(Sakura *et al.* 2004)。相當類似地，於多黏桿菌素E1(黏菌素A)與環桿菌素A中，該R-FA為6-MOA，且於多黏桿菌素E2(黏菌素B)與環桿菌素B中，該R-FA為6-MHA。已有多位科學家將各種包含多種脂肪醯基殘基之疏水性部分聯結至多黏桿菌素衍生物與其類似物之N-端，並顯示所產生之衍生物具有強效之抗菌活性(Chihara *et al.* 1973, Sakura *et al.* 2004，並示於美國專利公開號2006004185)。即使是帶有大疏水性9-芴甲氧基羰基殘基作為R-FA之衍生物，也幾乎與多黏桿菌素B等效，在抑制大腸桿菌與其他格蘭氏陰性菌生長方面(Tsubery *et al.*

101年6月5日修正替換頁

2001)。

就生物活性而言，七胜肽之環結構是必要的(Storm *et al.* 1997)。具有八胜肽環之衍生物之抗生素活性明顯較差。

多種多黏桿菌素之修飾與多種多黏桿菌素-類似之合成分子已經製造出，在其生物活性上具有某些限制。該修飾包括，但不侷限於，在側鏈進行修飾，以及將疏水性胺基酸殘基(如DPhe或Leu)置換為另一疏水性胺基酸殘基，或將陽離子性Dab置換為另一陽離子性胺基醯基殘基如Lys、Arg或鳥胺酸殘基(Storm *et al.* 1997， Tsubery *et al.* 2000a，Tsubery *et al.* 2002，美國專利公開號2004082505，Sakura *et al.* 2004，美國專公開號2006004185)。

其他能產生微生物學上具至少部分活性之化合物之修飾包含，但不侷限於，醯基酯修飾，其中蘇胺酸殘基之OH-基團會與醯基如丙醯基與丁醯基形成酯類(美國專利3,450,687)。

八肽黴素則與多黏桿菌素密切相關，但在殘基R1-R2處為一共價鍵(表1)。在本發明中，R位置係依據天然多黏桿菌素標號，因此僅有八肽黴素側鏈上之胺基醯基殘基定義為R3。因此，八肽黴素為八胜肽，而所有天然多黏桿菌素皆為十胜肽，且僅具有四個(4)正電荷。各種八肽黴素(A1、A2、A3、B1、B2、B3、C1)中之R-FA殘基包括下列：3-OH-8-甲基癸酸、3-OH-8-甲基壬酸，以及-OH-6-甲基辛酸。具有6至18個碳原子之脂肪酸殘基之衍生物具有強效對抗大腸桿菌之抗菌活性(Storm *et al.* 1977)。

多黏桿菌素對抗格蘭氏陰性菌的第一個標的物為其外層膜(OM)，其為一有效之通透屏障，可對抗多種毒性試劑，包括大型(分子量超過700 d)抗體以及疏水性抗體。藉由結合至暴露於OM外表面上之脂多醣(LPS)分子，多黏桿菌素會破壞OM之結構與功能，結果為使OM可允許(即被強迫通透)多黏桿菌素本身，以及許多其他有毒試劑通透(Nikaido and Vaara 1985, Vaara 1992, Nikaido 2003)。一般認為多黏桿菌素最終與致命之標的(殺菌標的)為細菌之細胞膜(內層膜)。

目前已有多種研究可降低多黏桿菌素之毒性。以甲醛與亞硫酸鈉處理多黏桿菌素E(黏菌素colistin)會產生黏菌素甲磺酸鹽，其中該五個二胺基丁酸殘基之自由胺基已部分地被磺甲基取代(表1)。該製劑係由未經定義之單-、二-、三-、四-與五-取代基化合物組成。該磺甲基化製劑，當剛溶於水中時，會缺乏原始分子之抗菌活性與毒性，當該分子開始於溶液、血液或組織中崩解時，會產生較低取代之衍生物與自由黏菌素，二者之抗菌活性與毒性皆部分恢復。此外，商業上購得之醫藥製劑間，初始甲磺基化程度亦有明顯差異。許多其他可阻擋自由胺基之方法已發表。範例包括但不侷限於，形成不穩定之具有胺基酸之Schiff鹼(Storm *et al.* 1977)。

多黏桿菌素E九胜肽(PMEN，黏菌素九胜肽，表1)，係由酵素性處理多黏桿菌素E而得，其缺乏R-FA與R1，在1973便發現與原始化合物相較有較低毒性，在小鼠急性毒性試

驗中(立即死亡，假設係由於神經肌肉阻斷) (Chihara *et al.* 1973)。然而，其亦缺乏抗菌活性，經由測量其抑制細菌生長之能力(Chirara *et al.* 1973)。直線形部之角色可能為提供多黏桿菌素抗菌活性。

另一方面，Vaara與Vaara團隊研究出多黏桿菌素B九胜肽(PMBN，表1)可維持使格蘭氏陰性菌OM產生通透性之能力(Vaara and Vaara 1983a,b,c; US Patent 4,510,132; Vaara 1992)。因此，即使其缺乏直接之抗菌活性(即抑制細菌生長之能力)，其仍可敏化(即，使細菌較敏感，亦稱之為較易受影響)細菌對於許多抗菌劑之敏感度，如疏水性抗生素，以及大型抗生素與某些其他毒性試劑。

PMBN亦可敏化細菌對於人類補體系統中殺菌活性之敏感度，此存在於人類血清中作為第一線防禦系統對抗入侵者(Vaara and Vaara 1983a, Vaara *et al.* 1984, Vaara 1992)。此外，其可敏化細菌對於人類血清補體與人類多形核白血球結合物殺菌活性之敏感度(Rose *et al.* 1999)。

PMBN類似PMEN，但在小鼠急性毒性試驗中毒性較低，與未經修飾之多黏桿菌素相較。在其他毒理學試驗中，數種標準證實PMBN之毒性較原始化合物低，但此多黏桿菌素衍生物仍被評斷為在臨床應用上具腎毒性(Vaara 1992)。

PMBN帶有五個(5)正電荷。後續研究指出，相當符合預期，PMEN亦帶有五個(5)正電荷，且去醯基多黏桿菌素B與去醯基多黏桿菌素E皆帶有六個(6)正電荷，為強效之試劑，可敏化細菌對於其他抗生素之敏感性(Viljanen *et al.*

1991, Vaara 1992)。此外，已顯示出在結構上更簡化之衍生物多黏桿菌素B八胜肽(PMBO)，可維持相當有效之通透活性，而多黏桿菌素B七胜肽(PMBH)活性較低(Kimura *et al.* 1992)。PMBN、PMEN與PMBO具有五個(5)正電荷，而PMBH僅具有四個(4)正電荷。此不同可解釋PMBH活性較弱之原因。

Ofek, Tsubery與Friedkin團隊最近描述了多黏桿菌素-類似胜肽，聯結至趨化胜肽上，如fMLF，會攻擊多形核白血球(美國專利公開號2004082505，Tsubery *et al.* 2005)。他們描述了胜肽fMLF-PMBN、MLF-PMBN、fMLF-PMEN、fMLF-PMBO與MLF-PMBO，皆帶有四個(4)正電荷，會敏化格蘭氏陰性菌對於抗生素之敏感度，甚至無其他研究發表可與其相比之數據，即使增加化合物之濃度(Tsubery *et al.* 2005)。

為了研究多黏桿菌素之結構與功能特性，數項研究已被揭示，在其他化合物中多黏桿菌素衍生物具有小於四個(4)正電荷。

Teuber (1970)已描述以醋酸酐處理多黏桿菌素B會產生含有多黏桿菌素B，以及其單-、雙-、三-、四-與五-N-乙醯基化形式之製劑。Teuber亦分離出每一基團，非定量性地報導出使用瓊膠擴散試驗，五-乙醯基化與四-乙醯基形式缺乏中止沙門氏傷寒桿菌(*Salmonella typhimurium*)生長之能力，其中雙-與單-乙醯基化形式則具有此能力。三乙醯基化形式則具有部分能力。

Srinivasa與Ramachandran (1978)單離出部分甲醯化之多黏桿菌素B衍生物，並顯示二甲醯基化衍生物以及三甲醯基化衍生物會抑制綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)之生長。他們並未揭示該化合物可敏化細菌對於抗生素之敏感度。此外，在1980年代，他們已發現三甲醯基多黏桿菌素B之殘基R1與R3上之自由胺基酸基，以及多黏桿菌素B之殘基R1、R3與R5之二甲醯基自由胺基酸為生長抑制所必須的，當而R8與R9上之自由胺基酸則非必須(Srinivasa and Ramachandran, 1980a)。

短化之多黏桿菌素B衍生物辛醯基多黏桿菌素B七胜肽，已由Sakura *et al.* (2004)揭示。辛醯基殘基係聯結至多黏桿菌素B七胜肽R4殘基之N-端，產生具有三個(3)正電荷之化合物。Sakura等人發現該辛醯基多黏桿菌素B七胜肽，僅於非常高濃度(128 μg/ml)下會抑制細菌生長，而其他衍生物如辛醯基多黏桿菌素B八胜肽，與辛醯基多黏桿菌素B九胜肽，二者皆具有四個(4)電荷，皆為抑制細菌生長之強效藥劑。

美國專利公開號2006004185最近揭示了某些多黏桿菌素衍生物，以及可用於合成新胜肽類抗生素之中間物。所描述之抗菌化合物具有四(4)或五個(5)正電荷。

此外，相當有關聯之多黏桿菌素B與多黏桿菌素B_1化合物亦由Okimura *et al.* (2007)與de Visser *et al.*(2003)揭示。Okimura等人已研究出將天然多黏桿菌素B與黏菌素，經化學轉換為其N-端衍生物，以及de Visser等人已研究出多黏

桿菌素B_1與類似物之固態合成法，經由保險扣法(safety-catch approach)。這些文獻中所描述之抗菌化合物具有四個(4)或五個(5)正電荷。

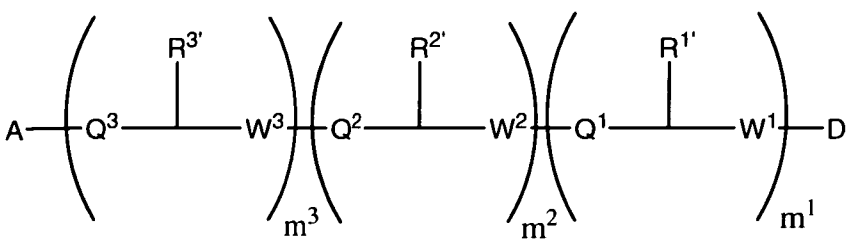
目前仍亟需一種多黏桿菌素衍生物，其可敏化細菌，而增強其他抗菌試劑之效果，以有效治療細菌感染，尤其是由多重抗藥性格蘭氏陰性菌造成之感染。

【發明內容】

發明概要

本發明係相關於一種多黏桿菌素衍生物，其中在生理pH值下之正電荷總數目為3，且其中該衍生物具有一脂肪酸尾部(即，R(FA)或D)，包含1至5個碳原子。目前已發現本發明某些多黏桿菌素衍生物具有一1至5個碳原子之脂肪酸尾部，可增進藥物動力學特性，與自然的多黏桿菌素、八肽黴素，以及具有較長脂肪酸尾部之多黏桿菌素衍生物相較。這些藥物動力學特性之範例包括，但不侷限於，較長之血清半生期、增加之腎臟清除率，及/或增加之尿液回收率。

本發明係相關於，至少部分，一種如式(I)之多黏桿菌素衍生物：



(I)

其中：

A為一多黏桿菌素環部分；

D為一包含1至5個碳原子之末端部分；

m^1、m^2與m^3每一者皆獨立地為0或1；

Q^1、Q^2與Q^3每一者皆獨立地為CH_2、C=O或C=S；

W^1、W^2與W^3每一者皆獨立地為NR^4、O或S；

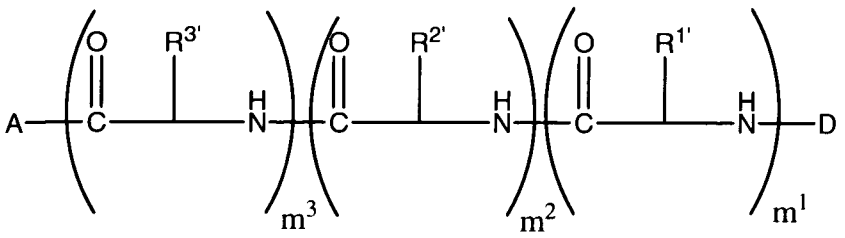
$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆獨立地為天然或非天然胺基酸之側鏈、烷基、烯基、烷基、芳基烷基、芳基、烷氧基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷基胺基或炔基；以及

R^4為氫或烷基，

以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中

(1)當A為一八肽黴素環，m^1與m^2為0，m^3為1，W^3為NH，Q^3為C=O，以及$R^{3'}$為二胺基丁酸(Dab)之側鏈時，則D非C_2-C_5醯基，以及(2)當D為乙醯基、丁醯基或戊醯基時，則$R^{3'}$非Dab之側鏈。

本發明亦相關於一種如式(II)之多黏桿菌素衍生物：



(II)

其中：

A為一多黏桿菌素環部分；

D為R^{12}-C(=O)、R^{12}-C(=S)或$R^{12'}$；

m^1、m^2與m^3每一者皆獨立地為0或1，其中m^1、m^2與m^3至少一者為1；

$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆獨立地為天然或非天然胺基酸之側鏈、烷基、烯基、芳基烷基、芳基、烷氧基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷基胺基或炔基；以及

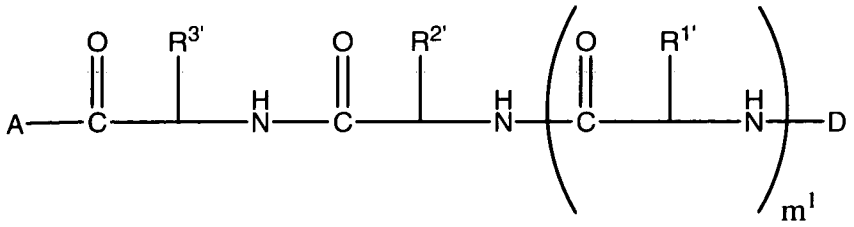
R^{12}為C_1-C_4烷基、C_2-C_4烯基或C_2-C_4炔基，

$R^{12'}$為C_1-C_5烷基、C_2-C_5烯基或C_2-C_5炔基，

以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中

(1)當A為一八肽黴素環，m^1與m^2為0，m^3為1，以及$R^{3'}$為二胺基丁酸(Dab)之側鏈，且D為R^{12}-C=O時，則R^{12}非C_1-C_5烷基，以及(2)當D為乙醯基、丁醯基或戊醯基，則$R^{3'}$非Dab之側鏈。

在另一實施例中，本發明亦包括如式(III)之多黏桿菌素衍生物：



(III)

其中：

A為多黏桿菌素B或多黏桿菌素E之環部分；

D為R^{12}-C(=O)、R^{12}-C(=S)或$R^{12'}$；

m^1為0或1；

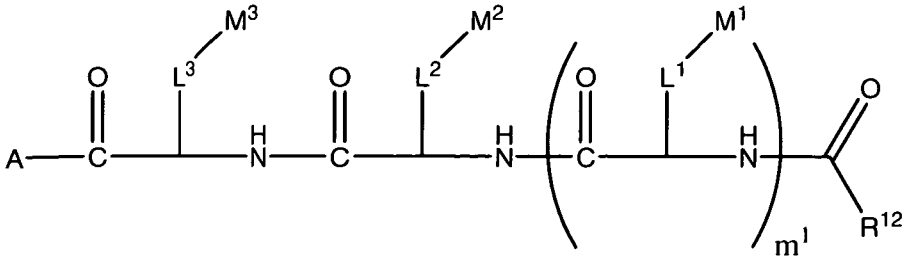
$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆獨立地為天然或非天然胺基酸之側鏈、烷基、烯基、烷基、芳基烷基、芳基、烷氧基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷基胺基或炔基，其中$R^{2'}$與$R^{3'}$之至少一者包含一胺基甲醯基、羥基或羧酸鹽基；

R^{12}為C_1-C_4烷基；

$R^{12'}$為C_1-C_5烷基；

以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中當D為乙醯基、丁醯基或戊醯基，則$R^{3'}$非Dab之側鏈。

在另一實施例中，本發明亦包括如式(IV)之多黏桿菌素衍生物：



(IV)

其中：

A為多黏桿菌素B或多黏桿菌素E之環部分；

m^1為0或1；

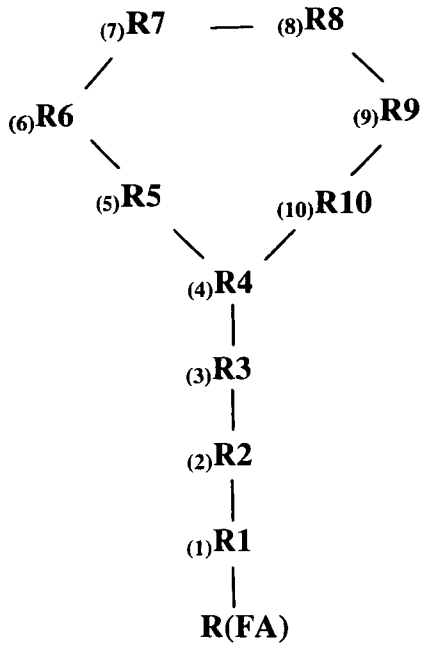
L^1、L^2與L^3每一者皆獨立地為C_1-C_3烷基或一共價鍵；

M^1、M^2與M^3每一者皆獨立地為H、$C(=O)NH_2$、$C(=O)OH$或-OH；

R^{12}為C_1-C_4烷基，

以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中當R^{12}為甲基、丙基或丁基時，則L^3-M^3並非Dab之側鏈，且其中該衍生物在生理pH下具有三個正電荷。

在另一實施例中，本發明亦相關於如式(V)之多黏桿菌素衍生物：



(V)

其中R4為含有可環化該分子之官能基側鏈之胺基酸殘基；

R6與R7每一者皆為獨立選出之選擇性經取代之疏水性胺基酸殘基；

R10為Leu或任一非疏水性胺基酸殘基；以及

其中R1為選擇性存在；以及其中R1、R2、R3、R5、R8與R9每一者皆為經獨立選出之胺基酸殘基；以及

其中R(FA)為選擇性經取代之烷醯基或烷基殘基，具有總共1至5個碳原子；

以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中(1)當R1與R2不存在，R3、R4、R5、R8與R9為Dab，R6為D-Leu，R7為L-Leu或L-Phe，以及R10為Thr時，或當R1與R2不存在，R3、R4、R5、R8與R9為Dab，R6為D-Phe，R7為L-Leu，以及R10為Thr時，則R(FA)並非未經取代之烷醯基殘基，以及(2)當R(FA)為乙醯基、丁醯基或戊醯基時，則R^3非Dab。

更特別的是，本發明係相關於一種衍生物，其中R2-R10係選自於由Thr-DSer-cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-][=SEQ ID NO: 10]，以及Thr-DAsn-cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-] [=SEQ ID NO: 39]組成之族群。SEQ ID NO: 10對應於SEQ ID NO:1，以及SEQ ID NO: 39對應於SEQ ID NO:2，在後附序列表中。

本發明亦相關於一種組合產物，包含二或多種本發明衍生物，並相關於一種醫藥組成物，包含此類衍生物或其組合物，與醫藥上可接受之載體與賦形劑。

此外，本發明亦相關於一種敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌試劑敏感度之方法，包含同時或依序投以治療有效劑量之抗菌試劑與本發明衍生物，其中該抗菌試劑選自於由克拉黴素(clarithromycin)、日舒(azithromycin)、紅黴素與其他巨環類、酮內酯類、克林達黴素(clindamycin)與其他林克胺類(lincosamines)、鏈陽菌素(streptogramins)、利福平(rifampin)、利服布汀(rifabutin)、利福拉索(rifalazile)與其他利福黴素(rifamycins)、梭鏈孢酸(fusidic acid)、莫匹羅星(mupirocin)、噁唑酮類、萬古黴素(vancomycin)、朵巴文星(dalbavancin)、替拉文星(telavancin)、奧瑞他文星(oritavancin)以及其他醣胜肽抗生素、氟奎諾酮類、桿菌肽(bacitracin)、四環黴素衍生物、β-內醯胺抗生素、新生黴素(novobiocin)、截短側耳素(pleuromutilins)、葉酸合成抑制劑、去甲醯基酶抑制劑，以及細菌流出泵抑制劑組成之族群。

本發明亦提供一種發展新穎抗生素之方法；以及用於敏化臨床上重要的格蘭氏陰性菌對於血清中宿主防禦補體敏感度之方法。

本發明亦相關於使用本發明多黏桿菌素衍生物，以製造可敏化格蘭氏陰性菌，如大腸桿菌(*Escherichia coli*)、克雷白氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)、克雷白氏菌(*Klebsiella oxytoca*)、陰溝桿菌(*Enterobacter cloacae*)、佛氏檸檬酸桿菌(*Citrobacter freundii*)，以及包氏不動桿菌(*Acinetpbacter baumannii*)對抗抗菌試劑之藥劑；以及敏化格蘭氏陰性菌對於血清中宿主防禦機制補體敏感度之藥劑，之用途。

本發明亦相關於一種治療個體中格蘭氏陰性菌感染症之方法，包含投以治療有效劑量之本發明衍生物(如式(I)-(V)之衍生物)，與抗菌劑組合，使得該細菌感染可被治療。

最後，本發明係相關於一種製備本發明多黏桿菌素衍生物之方法，包含(A)修飾一天然或合成之多黏桿菌素或八肽黴素化合物或其衍生物，具有4至5個正電荷殘基，以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，藉由取代該殘基之1至2者為中性殘基或共價鍵，或轉換該殘基之1至2者為中性殘基，以獲得如申請專利範圍第1項之式(I)多黏桿菌素衍生物，具有3個正電荷殘基，以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)；或

(B)修飾一天然或合成之多黏桿菌素或八肽黴素化合

物，或其具有4至5個正電荷殘基，且具有大於5個碳原子之末端部分(D)之衍生物，藉由取代該殘基之1至2者為中性殘基或共價鍵，或轉換該殘基之1至3者為中性殘基，並藉由置換包含大於5個原子之末端部分(D)為包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，以獲得如申請專利範圍第1項之式(I)多黏桿菌素衍生物，具有總共3個正電荷殘基，以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，或

(C)修飾一天然或合成之多黏桿菌素或八肽黴素化合物，或其具有4至6個正電荷殘基，且缺乏末端部分(D)之衍生物，藉由取代該殘基之1至3者為中性殘基或共價鍵，或轉換該殘基之1至3者為中性殘基，並藉由引入包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，以獲得如申請專利範圍第1項之式(I)多黏桿菌素衍生物，具有3個正電荷殘基，以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)。在本發明之一實施例中，該末端部分D為R^{12}-C(=O)、R^{12}-C(=S)或$R^{12'}$，其中R^{12}與$R^{12'}$如下定義。在另一實施例中，該末端部分(D)為R(FA)，其為選擇性經取代之醯基或烷基殘基，具有總共1至5個碳原子。

定義

“生理pH值”使用於此係定義為該pH值大於7.0，低於7.6，如pH值範圍7.1至7.5，如範圍7.2至7.4。

“正電荷”使用於此係指在上述生理pH下為正電荷。

“陽離子性”分子使用於此係指一分子，其含有一或多個正電荷。

“胺基酸殘基”使用於此係指任一天然、非天然或經修飾之胺基酸殘基，不論是L-或D-構形。

“等效殘基”使用於此係包括如胺基酸之明顯修飾，而產生非天然胺基酸或其衍生物，但維持經取代殘基結構及/或功能。

“天然多黏桿菌素”使用於此係指多黏桿菌素(polymyxin)與環桿菌素(circulin)。

“多黏桿菌素衍生物”，用於本發明目的係指天然多黏桿菌素或八肽黴素之合成或半合成衍生物，其具有一環狀七胜肽(或七胜肽環)部份R4-R10，以及一側鏈聯結至N-端胺基醯基殘基R4。該側鏈可由R(FA)-三胺基醯基(R1-R3)、R(FA)-二胺基醯基(R2-R3)、R(FA)-單胺基醯基(R3)，或僅為R(FA)組成。

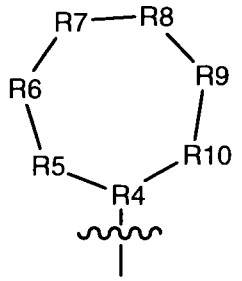
“R(FA)”或“脂肪酸尾部”使用於此，係指該多黏桿菌素之脂肪酸部，即醯基部，係聯結至多黏桿菌素直線形胜肽部之N-端胺基酸殘基(側鏈)，若無直線形胜肽部，則聯結至胺基酸殘基R4(多黏桿菌素環狀形胜肽部4-位置之胺基酸)。此外，就本發明目的而言，R(FA)亦可為一相關之疏水性基團，如烷基。在本發明之某些實施例中，該脂肪酸尾部可為，在某些案例中，一末段部分，選自於由R^{12}-(C=O)；R^{12}-SO_2-；R^{12}-(C=NH)-；R^{12}-NH-(C=S)-；R^{12}-NH-(C=O)-；R^{12}-NH-(C=NH)-；R^{12}-O-(C=S)-；R^{12}-O-(C=O)；R^{12}-P(O)OH-；R^{12}-(C=S)；以及$R^{12'}$組成之族群，其中R^{12}與$R^{12'}$為烷基、烯基、炔基、芳基或芳基烷基

組成之族群。

“化合物”使用於此包括該化合物之所有空間化學上之異構物。

“敏化活性”或”敏化之能力”使用於此係包括可增加細菌對於抗菌劑之敏感度，或使細菌對抗菌劑敏感或易受影響。

“多黏桿菌素環部分”或“A”包括多黏桿菌素A、多黏桿菌素B、IL-多黏桿菌素-B_1、多黏桿菌素D、多黏桿菌素E、多黏桿菌素F、多黏桿菌素M、多黏桿菌素S、多黏桿菌素T、環桿菌素A、八肽黴素A、八肽黴素B、八肽黴素C、八肽黴素D與其衍生物之環部份。衍生物之範例包括具有修飾之部分，其實質上不會影響環部分表現其功能之能力，即，作為抗生素，及/或敏化細菌對於一或多種抗生素試劑敏感之能力。術語“多黏桿菌素B之環部分”係指多黏桿菌素B之環部份(即cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-])。其他多黏桿菌素環部分之範例包括下式部分：



其中：

R4為一胺基酸殘基，包含一官能基側鏈，其可環化該分子；

R5、R8與R9皆為獨立選出之胺基酸殘基；

R6與R7為選擇性經取代之胺基酸殘基；以及

R10為Leu或任一非疏水性胺基酸殘基。R4-R10之其他範例係於式(V)中進行更詳細之討論。

術語"八肽黴素環"係指自然的八肽黴素A之環部份(即cy[Dab-Dab-DLeu-LLeu-Dab-Dab-Thr-]，即，化合物，其中R4、R5、R8與R9為Dab，R6為DLeu，R7為LLeu，及R10為Thr)、八肽黴素B(即cy[Dab-Dab-DLeu-LPhe-Dab-Dab-Thr-]，即，化合物其中R4、R5、R8與R9為Dab，R6為DLeu，R7為LPhe與R10為Thr)，以及八肽黴素C(即cy[Dab-Dab-DPhe-LLeu-Dab-Dab-Thr-]，即化合物其中R4、R5、R8與R9為Dab，R6為DPhe，R7為LLeu，以及R10為Thr)。

術語"前藥"包括可於體內裂解之部分，以產生本發明具活性之多黏桿菌素衍生物化合物。前藥包括遮蔽或中和該於生理pH值下為正電荷之部分(如$-NH_3^+$或其他質子化化合物)。一旦該前藥投至個體中，該前藥部分或電荷遮蔽部分會被裂解或移除，而產生本發明之活性多黏桿菌素衍生物，於生理pH值下選擇性地具有三個正電荷。

術語"電荷遮蔽部分"包括該可於衍生物上可逆性地中和該正電荷之部分。較佳為，該部分在投至個體後，可被裂解或與多黏桿菌素化合物上之正電荷分離。電荷遮蔽部分範例包括磺烷基(如磺甲基化衍生物)。其他正電荷遮蔽部分包括，但不侷限於，氯、溴、碘、硝酸鹽、硫酸鹽、亞硫酸鹽、磷酸鹽、酸性磷酸鹽、異菸鹼酸鹽、醋酸鹽；乳

酸鹽、水楊酸鹽、檸檬酸鹽、酸性檸檬酸鹽、酒石酸鹽、泛酸鹽、雙酒石酸鹽、抗壞血酸鹽、琥珀酸鹽、馬來酸鹽、龍膽酸鹽(gentisinate)、富馬酸鹽、葡萄醣酸鹽、葡萄醣醛酸鹽、糖精鹽、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲基磺酸鹽、乙基磺酸鹽、苯磺酸鹽、p-甲苯磺酸鹽與樸酸鹽(*即*1,1'-亞甲基-雙-(2-羥基-3-萘酸鹽))。

術語"個體"包括患有細菌感染之生物體。個體之範例包括哺乳動物，如馬、母牛、豬、綿羊、山羊、貓、狗、兔子、白鼬、猴子，以及，較佳為人類。

縮寫

脂肪酸：FA，脂肪醯基殘基； 6-MOA與MOA，6-甲基辛醯基殘基；6-MHA與MHA，6-甲基庚醯基殘基；MO(H)A，6-甲基辛醯基、6-甲基庚醯基與多黏桿菌素B中相關脂肪醯基殘基之混合物；OHMDA，3-OH-8-甲基癸醯基；OA，辛醯基；DA，癸醯基；Ac，乙醯基；Me，甲基。

胺基酸：Dab, α,γ-二胺基-n-丁醯基殘基；fDab，N-γ-甲醯基二胺基-n-丁醯基殘基；acDab，N-γ-乙醯基二胺基-n-丁醯基殘基；Abu，α-胺基丁醯基殘基；Asn，天門冬胺醯殘基；Thr，蘇胺酸殘基; Ser，絲胺酸殘基；Phe，苯基丙胺酸殘基；Leu，亮胺酸殘基；Ile，異亮胺酸殘基；Ala，丙胺酸殘基；sm-Dab，γ-硫基甲基化α,γ-二胺基-n-丁醯基殘基。經修飾胺基醯基殘基之單字母碼：X，Dab；Z，Abu；B，N-γ-fDab；J，N-γ-acDab。

胜肽：DAPB，去醯基多黏桿菌素B；DAC，去醯基黏

菌素；PMBN，多黏桿菌素B九胜肽；PMEN，多黏桿菌素E九胜肽；PMBO，多黏桿菌素B八胜肽；PMHP，多黏桿菌素B七胜肽。

其他：cy，環(指胜肽之環狀部，以括號標示)；f，甲醯基；ac，乙醯基；sm，硫甲基；MS，甲磺酸鹽；LPS，脂多醣；OM，外層膜；MIC，最低抑制濃度；CFU，菌落形成單位。標號*使用於此係標示該介於化合物七胜肽環部份間之殘基為封閉，而使該分子之其餘部分作為側鏈。

【實施方式】

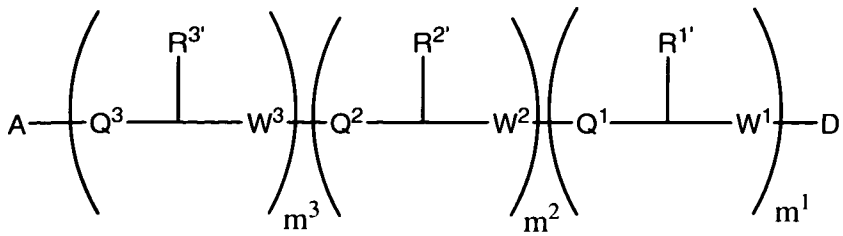
較佳實施例之詳細說明

目前已發現某些多黏桿菌素-類似化合物僅含有3個(3)正電荷，並僅具有一個短脂肪醯基尾部R(FA)或末端部分(D)(總共不超過5個碳原子)，而仍具有敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑，如抗生素、半合成抗生素，與化學治療試劑，以及宿主防禦因子，如新鮮人類血清之補體系統，之敏感度。

由於這些新穎之化合物具有不超過三個(3)正電荷，因此他們類似於美國專利申請案序號11/891,629中所述之多黏桿菌素衍生物，具有較低之一般毒性，以及較低之腎毒性，尤其是與多黏桿菌素與其已知之衍生物相較。類似的，本發明之化合物可降低由宿主組織分泌較少之組織胺，並具有較佳之藥物動力學特性，與多黏桿菌素B、黏菌素，以及其前述之衍生物相較。此外，短R(FA)或末端部分(D)可產生新穎之化合物，在急性毒性試驗中具有較低毒性，類

似於缺乏完整脂肪醯基部之多黏桿菌素B九胜肽與黏菌素九胜肽。此外，該新穎化合物可具有較佳之藥物動力學特性，與具有長R(FA)或末端部分(D)具有大於5個碳原子之多黏桿菌素衍生物相較。

在一實施例中，本發明之式(I)多黏桿菌素衍生物：



(I)

其中：

A為一多黏桿菌素環部分；

D為一包含1至5個碳原子之末端部分；

m^1、m^2與m^3每一者皆獨立地為0或1；

Q^1、Q^2與Q^3每一者皆獨立地為CH_2、C=O或C=S；

W^1、W^2與W^3每一者皆獨立地為NR^4、O或S；

$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆獨立地為天然或非天然胺基酸之側鏈、烷基、烯基、烷基、芳基烷基、芳基、烷氧基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷基胺基或炔基；以及

R^4為氫或烷基，

以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中

(1)當A為一八肽黴素環，m^1與m^2為0，m^3為1，W^3為NH，Q^3為C=O，以及$R^{3'}$為二胺基丁酸(Dab)之側鏈時，則D非C_2-C_5醯基，以及(2)當D為乙醯基、丁醯基或戊醯基時，則$R^{3'}$非Dab之側鏈。

在某些實施例中，本發明化合物(如式(I)-(V)任一項之衍生物)於生理pH值下可具有至少2但不大於3個正電荷。在另一實施例中，該化合物於生理pH值下具有3個正電荷。

這些衍生物之前藥範例包括具有可中和該三個正電荷之遮蔽部分，其在投藥至個體後可於體內被移除，以產生具有三個正電荷之化合物。電荷遮蔽部分包括磺烷基部分如磺甲基。

較佳為，該衍生物於生理pH值下，如上述定義，具有三個正電荷。在本發明之某些實施例中，$R^{1'}$、R^2與$R^{3'}$不包含在生理pH值下帶正電之基團。$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$可包含如羥基、羧酸鹽基、胺基甲醯基、硫基、硫酸鹽、碸基或磷酸鹽基之一或二或多者。

在一實施例中，m^1為0，且m^2與m^3每一者皆為1。在另一實施例中，Q^2與Q^3每一者皆為C=O，及W^2與W^3每一者皆為NH。

在某些實施例中，$R^{2'}$經一或多個基團取代，該基團選自於由羥基、胺基甲醯基、羧酸鹽基、硫基、硫酸鹽、碸基或磷酸鹽組成之族群。較佳為，$R^{2'}$經胺基甲醯基、羥基或羧酸鹽取代。$R^{2'}$之範例包括經取代之烷基，以及丙胺酸、胺基丁酸、天門冬醯胺酸、天門冬胺酸、二胺基丁酸、麩胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸，或蘇胺酸，不論是D-或L-構形，之側鏈。

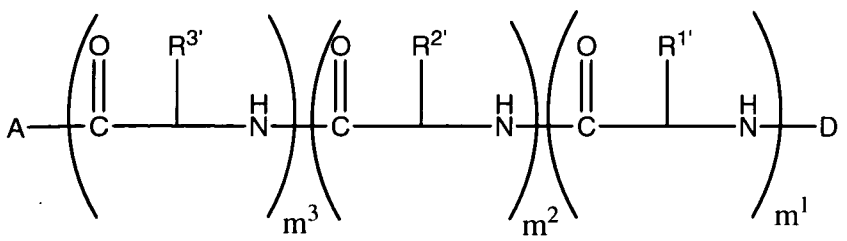
在某些實施例中，$R^{3'}$經一或多個基團取代，該基團選自於羥基、胺基甲醯基、醯胺基、羧酸酯、硫基、硫酸鹽、

碸基或磷酸鹽基團。較佳為，$R^{3'}$為經取代之烷基，且可經胺基甲醯基、羥基或羧酸酯基取代。$R^{3'}$可為丙胺酸、胺基丁酸、天門冬醯胺酸、天門冬胺酸、二胺基丁酸、麩胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸，或蘇胺酸，不論是D-或L-構形，之側鏈。較佳為，$R^{3'}$為D-精醯胺、L-或D-絲胺酸。

A之範例包括多黏桿菌素B（即cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-])與多黏桿菌素E（即cy[Dab-Dab-DLeu-Leu-Dab-Dab-Thr-])之環部分。

在又一實施例中，該末端部分選自於由R^{12}-(C=O)；R^{12}-SO_2-；R^{12}-(C=NH)-；R^{12}-NH-(C=S)-；R^{12}-NH-(C=O)-；R^{12}-NH-(C=NH)-；R^{12}-O-(C=S)-；R^{12}-O-(C=O)；R^{12}-P(O)OH-；R^{12}-(C=S)；或$R^{12'}$，其中R^{12}與$R^{12'}$為烷基、環烷基、炔基、炔基、芳基或芳基烷基。在某些實施例中，D為R^{12}-(C=O)或R^{12}-(C=S)，且R^{12}為甲基、乙基、丙基或丁基。D之特定範例包括乙醯基、丙醯基、丁醯基或戊醯基。

在另一實施例中，本發明亦包含如式(II)之多黏桿菌素衍生物：



(II)

其中：

A為一多黏桿菌素環部分；

D為R^{12}-C(=O)、R^{12}-C(=S)或$R^{12'}$；

m^1、m^2與m^3每一者皆獨立地為0或1，其中m^1、m^2與m^3至少一者為1；

$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆獨立地為天然或非天然胺基酸之側鏈、烷基、烯基、芳基烷基、芳基、烷氧基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷基胺基或炔基；以及

R^{12}為C_1-C_4烷基、C_2-C_4烯基或C_2-C_4炔基，

$R^{12'}$為C_1-C_5烷基、C_2-C_5烯基或C_2-C_5炔基，

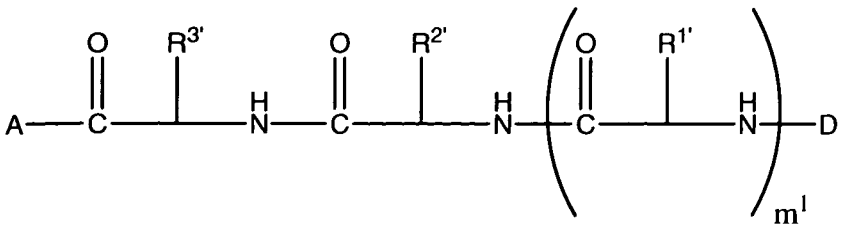
以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中

(1)當A為一八肽黴素環，m^1與m^2為0，m^3為1，以及$R^{3'}$為二胺基丁酸(Dab)之側鏈，且D為R^{12}-C=O時，則R^{12}非C_1-C_5烷基，以及(2)當D為乙醯基、丁醯基或戊醯基，則$R^{3'}$非Dab之側鏈。

較佳為，式(II)衍生物在生理pH值下具有三個正電荷。在另一實施例中，m^1可為0，及/或m^2與m^3可為1。在另一實施例中，$R^{2'}$及/或$R^{3'}$可獨立地為經取代之烷基(如經胺基甲醯基、羥基或羧酸鹽取代)。此外，$R^{2'}$及/或$R^{3'}$可為絲胺酸或蘇胺酸之側鏈(包括D與L構形)。$R^{2'}$之範例包括D-丙胺酸、L-絲胺酸或L-蘇胺酸之側鏈。$R^{3'}$之範例包括D-精醯胺、L-與D-絲胺酸。

在又一實施例中，R^{12}為烷基，且D可為乙醯基、丙醯基、丁醯基或戊醯基。

在另一實施例中，本發明係相關於一種如式(III)之多黏桿菌素衍生物：



(III)

其中：

A為多黏桿菌素B或多黏桿菌素E之環部分；

D為R^{12}-C(=O)、R^{12}-C(=S)或$R^{12'}$；

m^1為0或1；

$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆獨立地為天然或非天然胺基酸之側鏈、烷基、烯基、烷基、芳基烷基、芳基、烷氧基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷基胺基或炔基，其中$R^{2'}$與$R^{3'}$之至少一者包含一胺基甲醯基、羥基或羧酸鹽基；

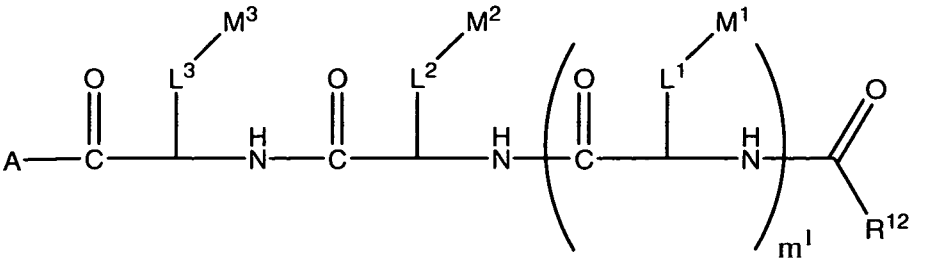
R^{12}為C_1-C_4烷基；

$R^{12'}$為C_1-C_5烷基；

以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中當D為乙醯基、丁醯基或戊醯基，則$R^{3'}$非Dab之側鏈。

較佳為，式(II)衍生物在生理pH值下具有三個正電荷，m^1為0，$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆為經取代之烷基，及/或D為乙醯基、丙醯基、丁醯基或戊醯基。

在又一實施例中，本發明亦包含如式(IV)之多黏桿菌素衍生物：



(IV)

其中：

A為多黏桿菌素B或多黏桿菌素E之環部分；

m^1為0或1；

L^1、L^2與L^3每一者皆獨立地為C_1-C_3烷基或一共價鍵；

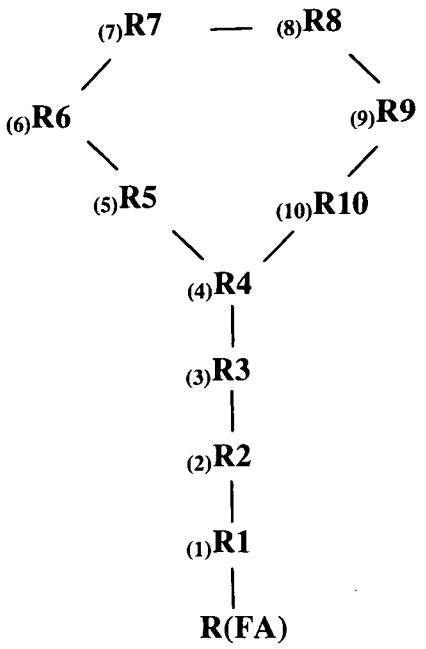
M^1、M^2與M^3每一者皆獨立地為H、$C(=O)NH_2$、$C(=O)OH$或-OH；

R^{12}為C_1-C_4烷基，

以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中當R^{12}為甲基、丙基或丁基時，則L^3- M^3並非Dab之側鏈。較佳式(IV)在生理pH下具有三個正電荷。

較佳，m^1為0。L^2之範例包括分支烷基(如-$CH(CH_3)$-)。M^2之範例包括OH。L^2之其他範例包括-CH_2-，以及M^2之其他範例包括OH與H。在另一實施例中，L^3為-CH_2-且M^3為OH。在本發明之又一實施例中，L^3為-CH_2-CH_2-，且M^3為$C(=O)NH_2$。較佳，式(IV)化合物在生理pH值下具有三個正電荷。

因此本發明係相關一種多黏桿菌素衍生物，由式(V)表示：



(V)

其中R4為含有可環化該分子之官能基側鏈之胺基酸殘基；

R6與R7每一者皆為獨立選出之選擇性經取代之疏水性胺基酸殘基；

R10為Leu或任一非疏水性胺基酸殘基；以及

其中R1為選擇性存在；以及其中R1、R2、R3、R5、R8與R9每一者皆為經獨立選出之胺基酸殘基；以及

其中R(FA)為選擇性經取代之烷醯基或烷基殘基，具有總共1至5個碳原子；

以及其醫藥上可接受之前藥與鹽類，其中(1)當R1與R2不存在，R3、R4、R5、R8與R9為Dab，R6為D-Leu，R7為L-Leu或L-Phe，以及R10為Thr時，或當R1與R2不存在，R3、R4、R5、R8與R9為Dab，R6為D-Phe，R7為L-Leu，以及R10為Thr時，則R(FA)並非未經取代之烷醯基殘基，以及(2)當R(FA)為乙醯基、丁醯基或戊醯基時，則R^3非Dab。

在本發明之衍生物中，R(FA)可為具小分子量與1至5個碳原子之殘基。短R(FA)之主要角色係阻擋該胜肽之自由N-端胺基，因此會消除該胜肽之一個正電荷。

較佳，式(V)化合物在生理pH值下具有三個正電荷。此外，R1、R2、R3、R5、R8與R9可經特別選出，使得該化合物在生理pH值下具有三個正電荷。

該R(FA)較佳選自於由羧酸殘基，即醯基，或具有1至5個碳原子之烷基。R(FA)較佳選自於由甲基、甲醯基與乙醯基殘基組成之族群。其他可使用之殘基可選自丙醯基、丁醯基、異丁醯基、戊醯基或異戊醯基殘基。該殘基可為分支、直鏈或環狀。

R(FA)亦可為未飽和殘基，含有一或多個雙鍵或三鍵。

R(FA)可經技術上可立即辨識出之取代基取代，其中R(FA)具有不大於1至5個碳原子。該取代基可包括烷基、羥基與烷氧基。烷基較佳為甲基、乙基或丙基。烷氧基較佳為甲氧基、乙氧基或丙氧基。熟習此技術領域者應可立即辨識出這些較佳R(FA)殘基與其取代基之等效物。

在天然多黏桿菌素與八肽黴素中，R1為Dab或不存在(即，由共價鍵取代)。具有抗菌活性之已知衍生物範例包括，其中R1為Ala或共價鍵者。

在本發明衍生物中，若R1存在，則其可為任一胺基酸殘基，其中該衍生物之正電荷不超過三個，且側鏈部份之正電荷總數不超過1，較佳無。

在天然多黏桿菌素與八肽黴素中，R2為Thr或不存在

(即由共價鍵取代)。已知具有抗菌活性之衍生物範例包括其中R2為O-乙醯基-Thr、O-丙醯基-Thr、O-丁醯基-Thr或共價鍵者。

在本發明之衍生物中，R2可為任一胺基酸殘基，較佳為親水性，或相對親水性，其中該衍生物之正電荷總數不超過三個，且側鏈部份之正電荷總數不超過1。R2之範例包括丙胺酸、胺基丁酸、天門冬醯胺酸、天門冬胺酸、二胺基丁酸、麩胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸，或蘇胺酸，不論是D-或L-構形之側鏈，熟習此技術領域者亦可認知到Thr之等效殘基為Ser。

在天然多黏桿菌素與八肽黴素，R3為Dab、DDab或DSer。

在本發明之衍生物中，R3可為任一胺基酸殘基，較佳為親水性，或相對親水性，其中該衍生物之正電荷總數不超過三個，且鏈部份之正電荷總數不超過1，且選自於由丙胺酸、胺基丁酸、天門冬醯胺酸、天門冬胺酸、二胺基丁酸、麩胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸，或蘇胺酸，不論是D-或L-構形，之側鏈組成之族群。

熟習此技術領域者可立即辨識出其他親水性或相對親水性殘基，與較佳殘基R1、R2與R3相較，且選自於由精醯胺、N_{ω}-甲基精醯胺、α-甲基天門冬醯胺酸、半胱胺酸、組胺酸、羥嗪(hyderoxysine)、離胺酸、甲硫胺酸、鳥胺酸、青黴胺(penicilamine)、脯胺酸、磷化絲胺酸、磷化蘇胺酸與酪胺酸組成之族群。

熟習此技術領者應注意到殘基R1、R2與R3之一者並非親水性或相對親水性，但其他二殘基卻是如此。因此，R1、R2與R3可選自於由如共價鍵、丙胺酸、2-胺基己二酸、α-n-丁酸、N-(4-胺基丁基)甘胺酸、α-胺基丁酸、γ-胺基丁酸、α-胺基-己酸、胺基環丙烷羧酸鹽、胺基異丁酸、胺基冰片基羧酸鹽、α-胺基-n-戊酸、精胺酸、N_{ω}-甲基精胺酸、天門冬醯胺酸、α-甲基天門冬胺酸鹽、天門冬胺酸、N-苄基甘胺酸、N-(2-胺基甲醯基乙基)甘胺酸、N-(胺基甲醯基乙基)甘胺酸、1-羧基-1(2,2-二苯基乙基胺基)環丙烷、半胱胺酸、N_{α}-甲基二胺基-n-丁酸、N_{γ}-乙醯基二胺基-n-丁酸、N_{γ}-甲醯基二胺基-n-丁酸、N_{γ}-甲基二胺基-n-丁酸、$\tilde{N}$(N-2,2-二苯基乙基)胺基甲醯基甲基-甘胺酸、$\tilde{N}$(N-3,3-二苯基丙基)胺基甲醯基甲基(1)甘胺酸、N-(3,3-二苯基丙基)甘胺酸、麩胺酸、麩醯胺酸、甘胺酸、t-丁基甘胺酸、2-胺基-4-胍丁酸、N-(3-胍丙基)甘胺酸、組胺酸、同苯基丙胺酸、異鎖鍊素(isodesmosine)、異亮胺酸、亮胺酸、正亮胺酸、羥基離胺酸、N_{α}-甲基離胺酸、離胺酸、N_{α}-甲基羥基離胺酸、N_{α}-甲基離胺酸、N_{ε}-乙醯基羥基離胺酸、N_{ε}-乙醯基離胺酸、N_{ε}-甲醯基羥基離胺酸、N_{ε}-甲醯基離胺酸、N_{ε}-甲基羥基離胺酸、N_{ε}-甲基離胺酸、甲硫胺酸、α-甲基-γ-胺基丁酸酯、α-甲基-胺基異丁酸酯、α-甲基環己基丙胺酸、α-萘基丙胺酸、正亮胺酸、正纈胺酸、α-甲基鳥胺酸、N_{α}-甲基鳥胺酸、N_{δ}-乙醯基鳥胺酸、N_{δ}-甲醯基-鳥胺酸、N_{δ}-甲基鳥胺酸、鳥胺酸、青黴胺(penicilamine)、苯基丙胺酸、羥基脯胺酸、

脯胺酸、N_α-甲基二胺基-n-丙酸、N_β-乙醯基二胺基-n-丙酸、N_β-甲醯基二胺基-n-丙酸、N_β-甲基二胺基-n-丙酸、磷化絲胺酸、絲胺酸、磷化蘇胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸、正纈胺酸與纈胺酸組成之族群。

在天然多黏桿菌素與八肽黴素中，R4為Dab。具有抗菌活性之合成衍生物範例包括其中R4為Lys者。

在本發明之衍生物中，R4為一胺基酸殘基，包含一可環化該分子之官能基側鏈，並選自於由Lys、羥基離胺酸、鳥胺酸、Glu、Asp、Dab、二胺基丙酸、Thr、Ser與Cys，較佳為Dab之等效殘基組成之族群。

在天然多黏桿菌素與八肽黴素中，R5、R8與R9為Dab。具有抗菌活性之合成衍生物範例包括其中R5、R8與R9為Lys或2-胺基-4-胍基丁酸。

在本發明之衍生物中，R5、R8與R9可為正電性或中性胺基酸殘基，較佳為Dab，其中該衍生物之正電荷總數不超過3。

此技術領域者可立即瞭解到這些較佳殘基之等效殘基，可選自於由二胺基丁酸、二胺基丙酸、離胺酸、羥基離胺酸、鳥胺酸、2-胺基-4-胍基丁酸、甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、亮胺酸、異亮胺酸、苯基丙胺酸、D-苯基丙胺酸、甲硫胺酸、蘇胺酸、絲胺酸、α-胺基-n-丁酸、α-胺基-n-戊酸、α-胺基-己酸、N_ε-甲醯基-離胺酸、N_ε-乙醯基離胺酸、N_ε-甲基離胺酸、N_ε-甲醯基羥基離胺酸、N_ε-乙醯基羥基離胺酸、N_ε-甲基羥基離胺酸、L-N_α-甲基羥基離胺酸、N_γ-甲

醯基 二胺基-n-丁酸、N_γ-乙醯基二胺基-n-丁酸、N_γ-甲基二胺基-n-丁酸、N_β-甲醯基二胺基-n-丙酸、D-N_β-甲醯基二胺基-n-丙酸、N_β-乙醯基二胺基-n-丙酸、N_β-甲基二胺基-n-丙酸、N_δ-甲醯基鳥胺酸、N_δ-乙醯基鳥胺酸，以及N_δ-甲基鳥胺酸組成之族群。

在天然多黏桿菌素與八肽黴素中，R6為DPhe或DLeu，以及R7為Leu、Ile、Phe或Thr。具有抗菌活性之合成衍生物包括其中R6為DTrp，以及其中R7為Ala者。

在本發明衍生物中，R6為選擇性經取代之疏水性胺基酸殘基，較佳為DPhe或DLeu，以及R7為選擇性經取代之疏水性殘基，較佳為Leu、Thr或Ile。

此技術領域者可立即瞭解到這些較佳疏水性殘基之等效殘基，選自於由如苯基丙胺酸、α-胺基-n-丁酸、色胺酸、亮胺酸、甲硫胺酸、纈胺酸、正纈胺酸、正亮胺酸、異亮胺酸與酪胺酸組成之族群。此技術領域者可立即瞭解到蘇胺酸之等效殘基為絲胺酸。

在天然多黏桿菌素與八肽黴素中，R10為Thr與Leu。已知具有抗菌活性之衍生物範例包括其中R10為O-乙醯基-Thr、O-丙醯基-Thr，或O-丁醯基-Thr者。

在本發明之衍生物中，R10為Leu或任一非疏水性胺基酸殘基，其中該衍生物之正電荷總數不超過3。較佳R10為Thr或Leu。

此技術領域者可立即瞭解到蘇胺酸之等效殘基為絲胺酸。

本發明衍生物中之三個(3)正電荷，可位於七胜肽環部份，或二(2)正電荷位於七胜肽環部份，而另一正電荷位於側鏈上。

在一實施例中，本發明衍生物可選自於由衍生物，其中R2-R10選自於由Thr-DSer-cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-]，即SEQ ID NO: 10；以及Thr-DAsn-cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-]，即SEQ ID NO: 39組成之族群者。

在其他實施例中，本發明之衍生物可選自於由：乙醯基-Thr-DSer-cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-]，即Ac-SEQ ID NO: 10；以及乙醯基-Thr-DAsn-cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-]，即Ac-SEQ ID NO: 39組成之族群。

如同範例一節所述，本發明化合物可僅帶有三個(3)正電荷，並具有一含有1至5個碳之R(FA)，為強效試劑，可敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌試劑之敏感性。

就敏化活性而言，至少二(2)且較佳三(3)正電荷係位於七胜肽之環部。

Teuber (1970)、Srinivasa與Ramachandran團隊(1980a)，以及Sakura等人(2004)之文獻揭示，在其他多黏桿菌素衍生物中，僅具有二(2)或三(3)正電荷之衍生物。然而，這些化合物帶有長於5個碳原子之脂肪酸部R(FA)。另一方面，多黏桿菌素B九胜肽與黏菌素九胜肽，二者皆已知為敏化格蘭氏陰性菌對於抗生素敏感度之有效試劑，則缺乏完整之

R(FA)部，而帶有五個(5)正電荷。

在本發明之某些實施例中，式I-V之多黏桿菌素衍生物可以前藥形式投至個體中。該前藥可包括一或多種電荷遮蔽部分，其會遮蔽化合物之正電荷，直至其投至個體。

在一觀點中，本發明係提供一種新穎之多黏桿菌素衍生物，僅帶有三個(3)正電荷，以及一含有1至5個碳原子之R(FA)。且可敏化一或多種格蘭氏陰性菌對於抗生素或抗菌試劑之敏感度。

細菌對於抗菌試劑之敏感度可由兩種微生物法測定。一快速但較粗略之方法為使用商業上可購得之濾紙盤，其已預先浸漬有特定量之抗菌試劑。這些濾紙盤係置於洋菜膠盤表面，其以預先種有待測微生物之懸浮液，並觀察盤上之生長抑制圈。另一較準確之方法為，培養液稀釋敏感度測試，涉及製備含有系列稀釋之藥物於液體培養液中之測試管，之後將待測微生物植入試管中。靜置一段適當時間後，該藥物抑制細菌生長之最低濃度係被報導為最低抑制濃度(MIC)。

本發明衍生物可敏化臨床上重要之格蘭氏陰性菌對於抗菌試劑之敏感度，其中該格蘭氏陰性菌可歸屬於不動桿菌*(Acinetobacter)*、單胞菌*(Aeromonas)*、產鹼桿菌*(Alcaligenes)*、百日咳桿菌*(Bordetella)*、布蘭漢氏球菌*(Branhamella)*、彎曲桿菌*(Campylobacter)*、檸檬酸桿菌*(Citrobacter)*、腸內菌*(Enterobacter)*、埃西氏菌*(Escherichia)*、佛朗西氏菌*(Francisella)*、梭形桿菌

(*Fusobacterium*)、嗜血桿菌(*Haemophilus*)、螺旋桿菌(*Helicobacter*)、克雷白氏菌(*Klebsiella*)、退伍軍人桿菌(*Legionella*)、莫拉菌(*Moraxella*)、巴斯德桿菌(*Pasteurella*)、鄰單胞菌(*Plesiomonas*)、假單胞菌(*Pseudomonas*)、沙門氏菌(*Salmonella*)、沙雷氏菌(*Serratia*)、志賀菌(*Shigella*)，以及耶爾森氏菌(*Yersinia*)屬。該細菌可為如，大腸桿菌(*Escherichia coli*)、克雷白氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)、克雷白氏菌(*Klebsiella oxytoca*)、陰溝桿菌(*Enterobacter cloacae*)、產氣腸桿菌(*Enterobacter aerogenes*)、其他腸內菌種、佛氏檸檬酸桿菌(*Citrobacter freundii*)、包氏不動桿菌(*Acinetpbacter baumannii*)、綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)與其他假單胞菌(*Pseudomonas*)種，以及其他非發酵格蘭氏陰性菌。該細菌亦包括幽門螺旋桿菌(*Helicobacter pylori*)，以及其他臨床上重要之格蘭氏陰性菌。該可被治療之細菌感染包括，如，菌血症、敗血病、皮膚與軟組織感染、肺炎、腦膜炎、骨盆腹膜區域之感染、異物感染、血液病患之發燒、與靜脈內管線或其他導管、通道及/或裝置有關之感染、腸胃道、眼內或耳內之感染、表皮感染，以及腸胃道、黏膜及/或皮膚被潛在性毒性細菌植入感染。

該細菌感染疾病包括(但不侷限於)嚴重院內感染、免疫低下病患之感染、器官移植病患之感染、加護病房(ICU)之感染、燒傷之嚴重感染、嚴重社區內感染、囊性纖維化(cystic fibrosis)病患之感染，以及由於格蘭氏陰性菌多重抗藥性造

成之感染。

本發明亦相關於本發明衍生物之二或多者之組合物，用於組合治療。該組合物可包括具有可敏化不同之格蘭氏陰性菌種或菌株對於抗菌試劑敏感度之衍生物。

本發明之另一觀點係相關於一種醫藥組成物，其包含本發明之多黏桿菌素衍生物、其前藥或鹽類形式，經選出之組合物，以及選擇性地，一抗菌試劑，以及一或多種醫藥上可接受之載體或賦形劑。它們可幫助活性物質加工為製劑，可作為醫藥使用，並包括，如稀釋劑、填充劑、緩衝劑、增稠劑、濕潤劑、分散劑、溶解劑、懸浮劑、乳化劑、結合劑、穩定劑、分解劑、包覆劑、塗佈劑、包埋劑、潤滑劑、增劑色與香味劑，以及吸收劑、吸收增強劑、保濕劑、防腐劑及類似物，為此技術領域者所熟知。

醫藥組成物包括其中活性成分之量可達預定目的之組成物。更特別的是，本發明所指之治療有效劑量為該化合物可敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌試劑敏感度之劑量。有效劑量之決定為醫藥領域中所熟知者。

組成物可以任一技術上已知之方法製備，如藉由一般混合、溶解、包覆、捕捉、冷凍乾燥、乳化與顆粒化製程。較佳之配方係取決於所選擇之投藥路徑，該醫藥組成物可處理為用於立即釋放或緩慢釋放(如以延長療效，及/或增進忍受度)。此外，該配方可方便地為單元藥劑形式，以藥學上已知之方法形成。

本發明之醫藥組成物包括(但不侷限於)，用於靜脈內、

肌肉內、口服或局部投藥者，以及栓劑或吸入氣霧投藥。該組成物包括靜脈內、肌肉內、腹腔內、皮下、脊髓內、椎管內、室內、鼻內或眼內注射，吸入式氣霧，以及用於直腸、口腔、陰道內、經黏膜或經皮傳遞。

就非經腸胃投藥而言(如彈丸式注射、快速注入，或緩慢注入)，本發明化合物以及上述組合物可以其適合之鹽類或酯類形式配製於無菌水溶液中，較佳為生理上可接受之流體如生理食鹽水、5% 葡萄醣溶液、Ringer's溶液與Hank's溶液。該配方可包含有機溶劑如聚丙二醇、聚乙二醇、丙二醇，或相關之化合物，以及防腐劑與界面活性劑。

醫藥上可接受之酸添加鹽類可製備自無機與有機酸。衍生自無機酸之鹽類包括氫氯酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸與類似物。衍生自有機酸之鹽類包括醋酸、丙酸、甘醇酸、丙酮酸、草酸、蘋果酸、己二酸、琥珀酸、順丁烯二酸、反丁烯二酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、肉桂酸、杏仁酸、甲磺酸、乙磺酸、p-甲苯磺酸、水楊酸，及類似物。

此外，用於非經腸胃投藥之醫藥組成物可為溶於油或水性載劑中之懸浮液或乳化物，並包含成型試劑，如懸浮劑、穩定劑，及/或分散劑。適當之親脂性載劑與溶劑包括脂肪油，如天然及/或合成脂肪酸酯類，如油酸乙酯與三酸甘油酯，或微脂體。該懸浮液可包含會增加懸浮液黏度之物質，如羧基甲基纖維素鈉、山梨糖醇或葡聚醣。

該非經常腸胃投藥可為單位劑量或多劑量密封容器，

如安瓿與小瓶，並可儲存於冷凍乾燥(lyophilized)條件下，注射時僅需要在使用前加入無菌液體賦形劑，如水。

用於口服投藥，固體形式之製劑包括如粉末、藥錠、藥丸、糖衣藥丸、菱形錠、膠囊、封包與微顆粒製劑。醫藥製劑可使用固體賦形劑製備，選擇性地研磨所得混合物，並在加入適當之輔助物之後，若需要的話，加工該顆粒混合物，以獲得藥錠或糖衣藥丸。固體載體/賦形劑可為一或多種物質，其亦可作為稀釋劑、助溶劑、潤滑劑、懸浮劑、黏著劑、防腐劑、香味劑、濕潤劑、藥錠分解劑或包覆材料。適當之載體包括，但不侷限於，碳酸鎂、硬脂酸鎂、滑石、葡萄醣、乳醣、果糖、澱粉、明膠、黃耆膠、甲基纖維素、羧基甲基纖維素鈉、低熔點蠟、可可油，及類似物。

適用於口服投藥之液體製劑包括，如水溶液、糖漿、酏劑、水性懸浮液、乳液與凝膠。水性溶液可藉由溶解活性化合物於水中，並加入適當之穩定與增稠試劑，以及增色劑與香料而製備。水性懸浮液可藉由將微細分散之活性成分散佈於具有黏性物質之水中而製備，該黏性物質如天然或合成膠體、樹脂、甲基纖維素、羧基甲基纖維素鈉，以及其他已知之懸浮劑。乳液可製備於水性丙二醇溶液中，或可包含乳化試劑，如卵磷脂、山梨糖醇單油酸酯或洋槐(acacia)。

本發明化合物或上述之組合物，亦可配製為局部投藥形式。該活性成分可於無菌條件下與醫藥上可接受之載體/

賦形劑混合，包括任何需要之緩衝試劑與防腐劑。藥膏、乳霜與乳液，可處理為水性或油性基底，加入適當之乳化劑、分散劑、懸浮劑、增稠劑、穩定劑或增色劑。一般使用之賦形劑包括動物與植物性脂肪與油類、蠟、石蠟、澱粉、纖維素衍生物、黃耆膠(tragacanth)，以及聚乙二醇。

其他局部配方包括，但不侷限於，耳藥滴劑、眼藥水與經皮貼布。

就經皮以及經黏膜投藥而言，一般技術上已知之滲透劑可用於配方中。

用於吸入投藥而言，本發明之化合物與上述之組合物，係以氣霧噴霧形式傳送，裝置於風扇器(ventilator)、加壓包裝或使用適當推進劑之霧化器中，推進劑範例如二氯二氟甲烷、三氯氟化甲烷、二氯四氟乙烷或二氧化碳。在加壓氣霧範例中，藥劑單位可藉由一閥控制，傳送預定之劑量。舉例而言，用於吸入器或吹氣器之明膠膠囊與卡匣可製備為含有該化合物與適當之粉末基底如乳醣或澱粉之粉末混合物。

本發明化合物與上述之組合物，可配製為直腸用組成物，如留置灌腸劑或栓劑，使用一般栓劑基底如可可油、其他甘油酯、聚乙二醇，或栓劑蠟。

本發明亦相關於一種使用本發明多黏桿菌素衍生物，或此衍生物之組合物作為臨床治療(或預防性治療)之一部分之方法，用於治療患有感染疾病(即格蘭氏陰性菌感染)之人類或動物個體，包含投以該個體治療有效劑量之至少

一本發明衍生物與抗菌試劑之組合物。

本發明亦相關於一種敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌試劑敏感度之方法，其中本發明之衍生物係與治療有效劑量之該抗菌試劑同時或依序投藥。

本發明衍生物與抗菌試劑可以單一配方共同投藥，或以不同路徑投藥。例如，該多黏桿菌素衍生物可靜脈投藥，而該抗菌試劑可肌內、靜脈內、皮下、口服或腹膜內投藥。此外，該衍生物可肌內或腹膜內投藥，而該抗菌試劑可靜脈內、肌內或腹膜內投藥，或該衍生物可以氣霧或噴霧形式投藥，而該抗菌試劑可，舉例而言，靜脈內投藥。該衍生物與該抗菌試劑可同時或依序投藥，只要它們可以足以在感染部位達到有效濃度之方式提供。

“治療有效性”係基於成功之臨床結果，而不需要本發明衍生物與抗菌試劑之組合物，達到殺死100%涉及感染之細菌之結果。成功之治療取決於在感染位置所達到之抗菌活性量，其足以抑制細菌，而使宿主達到平衡狀態。當宿主的防禦系統達到最有效，所需之抗菌效果便為最佳。降低生物體載入量一個級數(10倍)，便可使宿主自身防禦機制可控制感染。此外，加強早期殺菌/抑制細菌效果，對於長效殺菌/抑制細菌效果相當重要。這些早期事件對於治療成功與否相當重要且關鍵，由於他們讓宿主防禦機制有足夠的時間可被活化。增加殺菌速率對於感染如腦膜炎、骨頭或關節感染尤其重要。

抗菌試劑之治療效果取決於細菌種類對於該抗菌試劑

之敏感度，在本發明衍生物臨床上相關濃度下。本發明化合物於體內增進抗菌試劑治療效果之作用，可以體內動物實驗呈現，如小鼠腹膜炎或兔子菌血實驗，且可依據多個體外試驗為基礎預測，包括(1)測定24小時內抗菌試劑抑制格蘭氏陰性菌生長之最低抑制濃度(MIC)；(2)測定抗菌試劑對於格蘭氏陰性菌生長取線動力學之影響，以及(3)單一經系列稀釋之抗菌試劑，或與經系列稀釋之化合物結合之組合物之MIC棋盤式試驗。範例模式或測試為技術上已知。

使用24小時內體外測定MIC，本發明衍生物顯示出可降低抗菌試劑之MIC。經由此結果，預期體內與該化合物之共同投藥，可增加格蘭氏陰性菌對於抗菌試劑之敏感度。本發明化合物亦顯示出可降低抗菌試劑之MIC至該生物體臨床上敏感之範圍。就此結果而言，預期體內本發明一或多種化合物與抗菌試劑之共同投藥，可逆轉抗藥性，並可有效將抗生素抵抗生物體轉變為抗生素敏感生物體。

藉由測量抗菌試劑對於格蘭氏陰性菌體外生長曲線之影響，在本發明化合物存在或不存在下，該化合物顯示出可增強抗菌試劑之早期抗菌效果，其間較佳小於24小時。早期抗菌/生長抑制作用之強化對於治療結果相當重要。

在棋盤式試驗中，本發明化合物與抗菌試劑之組合可產生“協同”部分抑制濃度指數(FICI)。該棋盤試驗法係基於加成性，假設多種藥物觀察到的結果為測試藥物之單獨效應之總和；依據此系統，FICI小於0.5便定義為協同作用，1為相加作用，大於1但小於2為無關作用。

適用於與本發明衍生物形成組合物之抗菌試劑包括，如巨環類，如克拉黴素(clarithromycin)、日舒(azithromycin)與紅黴素、酮內酯類、林克胺(lincosamines)，如克林達黴素(clindamycin)、鏈陽菌素(streptogramins)、利福黴素(rifamycins)，如利福平(rifampin)、利服布汀(rifabutin)與利福拉索(rifalazile)、梭鏈孢酸(fusidic acid)、莫匹羅星(mupirocin)、噁唑酮類、醣胜肽抗生素，如萬古黴素(vancomycin)、朵巴文星(dalbavancin)、替拉文星(telavancin)與奧瑞他文星(oritavancin)、氟奎諾酮類、四環黴素衍生物、盤尼西林(penicillins)、頭胞菌素(cephalosporins)、單環內醯胺(monobactams)、碳青黴烯類(carbapenems)、青黴烯類(penems)與其他β-內醯胺抗生素之疏水性衍生物、新生黴素(novobiocin)、截短側耳素(pleuromutilins)、葉酸合成抑制劑、去甲醯基酶抑制劑，以及細菌流出泵抑制劑。熟習治療格蘭氏陰性菌領域者應輕易瞭解到，臨床上相關之其他抗菌試劑亦可使用。較佳該抗菌試劑係選自於由疏水性或中度疏水性抗菌試劑，其對抗格蘭氏陰性菌作為有效穿透屏障之外層膜，組成之族群。

本發明包括使用本發明化合物或其組合物，以敏化臨床上重要之菌類，列於此，對於宿主防禦機制補體(存在於新鮮人類與動物血清中)之敏感度，藉由將該細菌置於該化合物作用下，在臨床感染或懷疑有感染時。宿主防禦可藉由與補體與多形核白血球組合作用而發揮。

熟習藥物領域者應可立即將本發明化合物之劑量與投

藥路徑最佳化，以及用於與抗生素共同投藥，需考慮的因素包括待投藥之個體種類、年齡、體重、性別個體之用藥狀況、投藥路徑、個體之腎與肝功能、希望之效果、本發明所使用之特定化合物，及個體對於該化合物之耐受性。所有抗菌試劑之劑量應依據病患之腎損害與肝功能不全情況調整，由於患有這些症狀之病患對於藥物之代謝及/或排出能力較低。兒童之劑量亦應降低，一般依據體重。

本發明衍生物投至人體或動物體之每日總劑量可變化，如量為0.1至100 mg每公斤體重，較佳為0.25至25 mg每公斤體重。

此技術領域者應瞭解到最佳之治療時程，即，定義天數之每日劑量數目，應由待治療症狀之特性與內容、投藥形式、路徑與位置，以及待治療之特定病患所決定，此最佳化可由一般技術決定。

本發明亦提供一種本發明化合物之試驗方法，該化合物為天然多黏桿菌素或八肽黴素之衍生物，其中該衍生物僅具有3個正電荷，以及一包含1至5個碳原子之末端部分(D)，相對於其衍生自之天然化合物，或敏化有害格蘭氏陰性菌對於抗菌試劑，及/或血清中補體之敏感度，該方法包含將細菌與天然多黏桿菌素或八肽黴素衍生物接觸之步驟，並辨識出對於該細菌具有敏化活性之衍生物。

在又一觀點中，係提供一種發展新穎抗生素之方法，包含下列步驟：

a) 提供一天然多黏桿菌素或八肽黴素化合物，或其衍

生物，具有總共4至6個正電荷，以及一包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)；

b)將帶有一或多個正電荷之1至3個殘基置換為不帶正電荷之殘基，或一共價鍵，因而產生具有3個正電荷，以及末端部分(D)包含總共1至5個碳原子之多黏桿菌素化合物之衍生物；

c)試驗該多黏桿菌素衍生物敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑之敏感度之能力；以及

d)篩選出具有敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力之化合物。

在本發明之一實施例中，該末端部分(D)為R^{12}-C(=O)、R^{12}-(C=S)或$R^{12'}$，其中R^{12}與$R^{12'}$如上所述。在本發明之另一實施例中，該末端部分(D)為R(FA)，其選擇性地經總共有1至5個碳原子之醯基或烷基殘基取代。

在本發明之又一觀點中，係提供一種發展新穎抗生素之方法，包含下列步驟

a)提供一天然多黏桿菌素或八肽黴素化合物，或其衍生物，具有總共4或5個正電荷，或總共6個正電荷，以及末端部分(D)具有大於5個碳原子；

b)將帶有一或多個正電荷之1至3個殘基置換為不帶正電荷之殘基，或一共價鍵，因而產生具有3個正電荷之多黏桿菌素化合物之衍生物；

c)置換該具有大於5個碳原子之末端部分(D)為包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，因而產生具有3個正電

荷，以及末端部分(D)包含總共1至5個碳原子之多黏桿菌素化合物之衍生物；

d) 試驗該多黏桿菌素衍生物敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力；以及

e) 篩選出具有敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力之化合物。

在本發明方法之一實施例中，該末端部分(D)為R^{12}-C(=O)、R^{12}-(C=S)或$R^{12'}$，其中R^{12}與$R^{12'}$如上所述。在本發明之另一實施例中，該末端部分(D)為R(FA)，其選擇性地經總共有1至5個碳原子之醯基或烷基殘基取代。

在本發明之又一觀點中，係提供一種發展新穎抗生素之方法，包含下列步驟：

a) 提供一多黏桿菌素或八肽黴素化合物，或其衍生物，具有總共4至6個正電荷，且缺乏末端部分(D)，

b) 將帶有一或多個正電荷之1至3個殘基置換為不帶正電荷之殘基，或一共價鍵，因而產生具有3個正電荷之多黏桿菌素化合物之衍生物；

c) 引入包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，因而產生具有3個正電荷，以及末端部分(D)包含總共1至5個碳原子之多黏桿菌素化合物之衍生物；

e) 試驗該多黏桿菌素衍生物敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力；以及

f) 篩選出具有敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力之化合物。

在本發明方法之一實施例中，該末端部分(D)為R^{12}-C(=O)、R^{12}-(C=S)或$R^{12'}$，其中R^{12}與$R^{12'}$如上所述。在本發明之另一實施例中，該末端部分(D)為R(FA)，其選擇性地經總共有1至5個碳原子之醯基或烷基殘基取代。

本發明提供一種半合成多黏桿菌素衍生物，藉由化學性或酵素性分別處理天然多黏桿菌素或八肽黴素，或其經基因修飾生物體製造之變異物。化學性處理包括，但不侷限於，以醋酸酐、甲酸、肼與草酸處理。酵素性處理包括，但不侷限於，以酵素如多黏桿菌素去醯基酶、無花果酵素(ficin)、木瓜酵素(papain)、鳳梨酵素(bromelain)、subtilopeptidases、枯草桿菌蛋白(subtilisin)、黏菌素水解酶，以及枯草菌蛋白酶(Nagarse)處理。

本發明較佳化合物比天然多黏桿菌素或八肽黴素具有更低之陽離子性，僅帶有三個(3)正電荷與一具有1至5個碳原子之R(FA)，並為：

(a) 可敏化格蘭氏陰性菌如大腸桿菌(*Escherichia coli*)、克雷白氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)、克雷白氏菌(*Klebsiella oxytoca*)、陰溝桿菌(*Enterobacter cloacae*)、佛氏檸檬酸桿菌(*Citrobacter freundii*)，以及包氏不動桿菌(*Acinetpbacter baumannii*)對於抗生素之敏感度，及/或

(b) 毒性較臨床上使用之多黏桿菌素低，證據顯示於體內動物模式中，及/或

(c) 腎毒性較臨床上使用之多黏桿菌素低，證據顯示於體內動物模式，及/或化合物對腎構造親和性之體外試驗，

及/或

(d) 可導致較低之組織胺自組織釋放，與臨床上使用之多黏桿菌素相較，當局部投藥或以氣霧吸入投藥時，及/或

(e) 更佳之藥物動力學，如具有較長之血清半生期；增加之腎臟清除率、增加之尿液回收率，及/或較少由於多陰離子組織或膿造成失活，與臨床上使用之多黏桿菌素相較。

在又一實施例中，本發明化合物具有一或多種較佳之藥物動力學特性，與自然的多黏桿菌素或八肽黴素相較(如多黏桿菌素A、多黏桿菌素B、IL-多黏桿菌素-B_1、多黏桿菌素D、多黏桿菌素E、多黏桿菌素F、多黏桿菌素M、多黏桿菌素S、多黏桿菌素T、環桿菌素A、八肽黴素A、八肽黴素B、八肽黴素C，或八肽黴素D)。此較佳之藥物動力學特性範例包括較長之血清半生期、增加之腎臟清除率，或增加之尿液回收率，與自然的多黏桿菌素或八肽黴素(如多黏桿菌素E)相較。

在又一實施例中，本發明化合物可具有較大之尿液回收百分比，在投藥24小時後，與多黏桿菌素E(黏菌素)相較。在另一實施例中，大鼠試驗中該尿液回收率約為1%或更高，約5%或更高，約10%或更高，約15%或更高，約20%或更高，約25%或更高，約30%或更高，約35%或更高，約40%或更高，約45%或更高，約50%或更高。相對的，多黏桿菌素E(黏菌素)之尿液回收率係測定為約0.18 ± 0.14%，投藥24小時後(Li *et al.*, 2003)，使用相同劑量與流程。

在另一實施例中，本發明可具有較大之腎臟清除率，

與多黏桿菌素E(黏菌素)相較，當使用相同路徑與劑量投藥時。在又一實施例中，本發明化合物具有腎臟清除率，以大鼠試驗為基礎，大於約0.1ml/min/kg，大於約0.5ml/min/kg，大於約1.0ml/min/kg，大於約2.0ml/min/kg，大於約2.5ml/min/kg，大於約3.0ml/min/kg，或大於約3.5ml/min/kg。在另一實施例中，本發明化合物之腎臟清除率為多黏桿菌素E之至少10倍、至少50倍、至少100倍、至少150倍、至少200倍、至少250倍，或至少300倍，當以相同劑量與投藥路徑投藥時。

在另一實施例中，本發明化合物亦具有一或多種較佳之藥物動力學特性，與類似但具有較長脂肪酸尾部之化合物相較(即末端部分或R(FA)具有大於5個碳原子)。如同範例8所示，NAB741具有增加之腎臟清除率，以及增加之尿液回收率，與NAB739相較。該化合物為化學性相等，除了NAB741具有一乙醯基末端部分，且NAB739具有一辛醯基末端部分。

本發明合成化合物之方法包括，但不侷限於下面所述。就待合成之特定化合物而言，此技術領域之專家可選擇適當之方法。

1. 多黏桿菌素與八肽黴素之半合成衍生物，其帶有未改變之七胜肽部，以及一經修飾之醯基-胺基醯基側鏈，可由下列流程製備：

保護起始物質中之自由胺基基團(多黏桿菌素或八肽黴素，或其修飾物)，藉由技術上已知之方法。該保護可藉

由使用殘基如t-丁氧基羰基(tBoc)、芴甲氧基羰基(Fmoc)、苄基氧基羰基(CBZ, Z)、烯丙基氧基羰基(ALOC)、3-吡啶基-N-氧基-甲氧基羰基(如專利公開案 GB 1323962所述)，藉由使用Schiff鹼如苯甲醛，使用揭示於日本專利公開案7115630/1971之方法，或類似之方法而達成，其可以一般與該產物性質相容之條件移除。

在水溶性差之條件下，有時會產生後續步驟之問題，該保護基團需使用負電性阻擋基團產生，如Fmoc之磺酸衍生物或Fmoc之羧酸衍生物，方法描述於美國專利公開號2006004185。水溶性可藉由聯結一適當之可移除、負電性、高親水性阻擋基團至蘇胺酸之OH-基上而強化。

之後，該化合物係進行酵素性處理，使用酵素如多黏桿菌素去醯基酶、多黏桿菌素水解酶、木瓜酵素、無花果酵素、鳳梨酵素、枯草桿菌酶、枯草桿菌酶(Nagarse)，或其他可移除多黏桿菌素或八肽黴素化合物側鏈末端部分或甚至整個側鏈之酵素。此處理可選擇性地進行Edman降解步驟。所得之化合物缺乏完整之側鏈，並僅由環七胜肽部組成，但具有一自由N-端alpha胺基。

此外，具有胺基經酸穩定基團如苄基氧基羰基保護之多黏桿菌素與八肽黴素，可經由草酸或甲酸處理，以產生經保護之去醯基衍生物，該方法描述於Kurihara *et al.* (1974)。該流程之後進行上述之酵素性處理，及/或Edman降解，以產生七胜肽。

之後，適當之殘基係聯結至該七胜肽環部份之自由

alpha-胺基位置上。該殘基可含有一醯基或相關之殘基(R(FA)，其具有總共1至5個碳原子)，如甲基、乙醯基、丙醯基、丁醯基、異丁醯基、戊醯與異戊醯殘基)，以及胺基酸殘基，至多三，較佳二個殘基。例如，依據有一醯基與二胺基酸殘基之半合成化合物，可藉由將上述七胜肽加入一合成之N-(醯基)-蘇胺酸基-D蘇胺酸基殘基而製備。此可藉由有機化學技術領域者所知之一般技術而達成，這些技術包括使用N-羥基琥珀醯胺-聯結殘基，描述於US 2006004185。在此特定合成中，該流程可涉及使用N-乙醯基蘇胺酸基-D絲胺酸基-N-羥基琥珀醯胺。

2. 帶有三個(3)自由胺基之醯基化多黏桿菌素九胜肽。多黏桿菌素D僅具有四個(4)正電荷，並在位置R3具有DSer。多黏桿菌素D之自由胺基可藉由上述方法保護。之後進行酵素處理，以及選擇性使用Edman降解步驟，產生九胜肽，其之後可以醯基異硫基氰酸酯進行醯化(藉由此技術領域者所知之方法，以及描述於US 2006004185中之方法，使用氯化醯類(使用此技術領域者所知之方法，以及描述於Chihara *et al.* 1974者)，或藉由使用聯結至N-羥基琥珀醯胺之殘基(藉由技術上已知之方法，並描述於US 2006004185者)。最後，移除該保護基團。該醯基化多黏桿菌素D九胜肽僅帶有三個(3)自由胺基，所有皆位於七胜肽環部份上。

在類似方法中，醯基化多黏桿菌素S九胜肽可被製造。其僅帶有三個(3)自由胺基。

3. 全合成多黏桿菌素與八肽黴素衍生物，可由技術上

已知之一般方法製備。此方法包括液相合成流程，以及固相合成流程，描述於如Sakura *et al.* (2004), Tsubery *et al.* (2000a, 2000b, 2002, 2005)，以及Ofek *et al.* (2004)之文獻中。該方法包括如使用保護試劑如Fmoc、tBoc與CBZ，在策略位置上，以及環化步驟中使用DPPA(二苯基磷酸疊氮)，或苯並三唑-1-基-氧基-三-吡咯烷基-鏻六氟磷酸鹽(PyBop)、N-羥基苯並三唑(HoBt)，以及N-甲基嗎啉(NMM)。許多非不重要(non-trivial)Fmoc與D-胺基酸之衍生物為商業上可購得。最終胺基酸殘基之胺基末端未經保護，在醯化流程中可直接與酸如丙酸、丁酸、異丁酸、戊酸與異戊酸反應。

4. 上述中間產物之自由N-端alpha-胺基之醯化(第1-3段)，可使用如酸酐如醋酸酐(請見範例1)、丙酸酐、丁酸酐與戊酸酐而達成，藉由使用此技術領域者所知之技術。N-甲醯基化可藉由使用p-硝基苯基甲酸酯之N-甲基吡咯烷溶液，以及技術上已知之條件進行。N-甲基化可使用甲酸與醋酸之二甲基甲醯胺混合物，以及技術上已知之技術進行。

等效

此技術領域者應瞭解到在一般實驗法中，此述之特定流程可具有多種等效方法。此等效方法被視為落於本發明範疇中，並以申請專利範圍為準。所有引用之參考文獻、專利與專利公開案皆在此併入本案以作為參考資料。這些專利、申請案或其他文獻中之適當成分、流程與方法可選用於本發明與其實施例中。

參考資料

所有在本申請案中引用之參考資料皆在此併入本案以作為參考資料。

Chihara S, Tobita T, Yahata M, Ito A, Koyama Y. 1973. Enzymatic degradation of colistin. Isolation and identification of α-N-Acyl α,γ-diamino-butyric acid and colistin nonapeptide. Agr Biol Chem 37:2455-2463.

Chihara S, Ito A, Yahata M, Tobita T, Koyama Y. 1974. Chemical synthesis, isolation and characterization of α-N-fattyacyl colistin nonapeptide with special reference to the correlation between antimicrobial activity and car-bon number of fattyacyl moiety. Agric Biol Chem 38:521-529.

de Visser PC, Kriek NMAJ, van Hooft PAV, Van Schepdael A, Filippov DV, van der Marel GA, Overkleeft HS, van Boom JH, Noort D. 2003. Solid-phase synthesis of polymyxin B_1 and analogues via a safety-catch approach. J. Peptide Res. 61:298-306.

Kimura Y, Matsunaga H, Vaara M. 1992. Polymyxin B octapeptide and polymyxin B heptapeptide are potent outer membrane permeability-increasing agents. J Antibiot 45:742-749.

Kurihara T, Takeda H, Ito H, Sato H, Shimizu M, Kurosawa A. 1974. Studies on the compounds related to colistin. IX. On the chemical deacylation of colistin and

colistin derivatives. Yakugaku Zasshi 94:1491-1494.

Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JB, Smeaton TC, and Coulthard K. 2003. Use of high-performance liquid chromatography to study the pharmacokinetics of colistin sulfate in rats following intravenous administration. Antimicrob Agents Chemother 47:1766-1770.

Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JB, Smeaton TC, and Coulthard K. 2004. Pharmacokinetics of colistin methanesulphonate and colistin in rats following an intravenous dose of colistin methanesulphonate. J Antimicrob Chemother 53:837-840.

Nagai J, Saito M, Adachi Y, Yumoto R, Takano M. 2006. Inhibition of gentamicin binding to rat renal brush-border membrane by megalin ligands and basic peptides. J Control Release 112:43-50.

Nikaido H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane per-meability revisited. Microbiol Molec Biol Rev 67:593-656.

Nikaido H, Vaara M. 1985. Molecular basis of bacterial outer mem-brane permeability. Microbiol Rev 49:1-32.

Okimura K, Ohki K, Sato Y, Ohnishi K, Uchida Y, Sakura N. 2007. Chemical conversion of natural polymyxin B and colistin to their N-terminal derivatives. Bull. Chem. Soc. Jpn. 80 (No. 3):543-552.

Rose F, Heuer KU, Sibelius U, Hombach-Klonisch S, Ladislau K, Seeger W, Grimminger F. 1999. Targeting lipopolysaccharides by the non-toxic polymyxin B nonapeptide sensitizes resistant E. coli to the bactericidal effect of human neutrophils. J Infect Dis 182:191-199.

Sakura N, Itoh T, Uchida Y, Ohki K, Okimura K, Chiba K, Sato Y, Sawanishi H. 2004. The contribution of the N-terminal structure of polymyxin B peptides to antimicrobial and lipopolysaccharide binding activity. Bull Chem Soc Jpn 77:1915-1924.

Srinivasa BD, Ramachandran LK. 1978. Chemical modification of peptide antibiotics: Part VI - Biological activity of derivatives of polymyxin B. Ind J Biochem Biophys 14:54-58.

Srinivasa BD, Ramachandran LK. 1979. The polymyxins. J Scient Industr Res 38:695-709.

Srinivasa BD, Ramachandran LK. 1980. Essential amino groups of polymyxin B. Ind J Biochem Biophys 17:112-118.

Storm DR, Rosenthal KS, Swanson PE. 1977. Polymyxin and re-lated peptide antibiotics. Annu Rev Biochem 46:723-63.

Teuber M. 1970. Preparation of biologically active mono-N-acetyl(14C)-derivatives of the membrane-specific polypeptide antibiotic po-lymyxin B. Z Naturforsch 25b:117.

Tsubery H, Ofek I, Cohen S, Fridkin M. 2000a. Structure-function studies of polymyxin B nonapeptide: Implications to sensitization of Gram-negative bacteria. J. Med Chem 43:3085-3092.

Tsubery H, Ofek I, Cohen S, Fridkin M. 2000b. The functional asso-ciation of polymyxin B with bacterial lipopolysaccharide is stereospecific: Stud-ies on polymyxin B nonapeptide. Biochemistry 39:11837-11844.

Tsubery H, Ofek I, Cohen S, Fridkin M. 2001. N-terminal modifica-tions of polymyxin B nonapeptide and their effect on antibacterial activity. Pep-tides 22:1675-1681.

Tsubery H, Ofek I, Cohen S, Eisenstein M, Fridkin M. 2002. Modula-tion of the hydro-phobic domain of polymyxin B nonapeptide: effect on outer-membrane permeabilization and lipopolysaccharide neutralization. Molecular Pharmacology 62:1036-42.

Tsubery H, Yaakov H, Cohen S, Giterman T, Matityahou A, Fridkin M, Ofek I. 2005. Neopeptide antibiotics that function as opsonins and mem-brane-permeabilizing agents for gram-negative bacteria. Antimicrob Agents Chemother 49:3122-3128.

Vaara M. 1992. Agents that increase the permeability of the outer membrane. Microbiol Rev 56:395-411.

Vaara M. 1993. Antibiotic-supersusceptible mutants of

Escherichia coli and Salmonella typhimurium. Antimicrob Agents Chemother 37:2255-2260.

Vaara M, Vaara T. 1983a. Sensitization of Gram-negative bacteria to antibiotics and complement by a nontoxic oligopeptide. Nature (London) 303:526-528.

Vaara M, Vaara T. 1983b. Polycations sensitize enteric bacteria to antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 24:107-113.

Vaara M, Vaara T. 1983c. Polycations as outer membrane-disorganizing agents. Antimicrob Agents Chemother 24:114-122.

Vaara M, Viljanen P, Vaara T, Mäkelä P. 1984. An outer membrane disorganizing peptide PMBN sensitizes E. coli strains to serum bactericidal action. J Immunol 132:2582-2589.

Viljanen P, Matsunaga H, Kimura Y, Vaara M. 1991. The outer membrane permeability-increasing action of deacylpolymyxins. J Antibiotics 44:517-523.

範例

下列範例詳細說明本發明之某些實施例，不應被視為限制本發明範疇。

範例1

胜肽合成

多黏桿菌素衍生物("NAB胜肽"或"NAB化合物")係以一般固相化學法合成，使用標準Fmoc保護策略。C-端之胺基酸為商業上可購得，預先聯結至固相上，以酸處理該樹脂而切斷後，會產生C-端羧酸。

保護策略係使用三層交錯保護，α胺基以暫時Fmoc保護，其之後以酸裂解法移除，以及半固定保護，以遮蔽反應側鏈官能基，當進行環化步驟時。由樹脂上切下胜肽後，該C-端羧酸係與一胺基酸側鏈之胺基官能基反應，形成一環狀胜肽。環化步驟後，移除該半固定保護基，以產生NAB胜肽。

因此，胺基酸之α胺基官能基係經芴-甲氧基羰基(Fmoc)保護，且Fmoc以20%哌啶之二甲基甲醯胺(DMF)移除，在每一次循環中。涉及環化之胺基酸，即二胺基丁酸，係以t-丁氧基羰基(tBoc)保護，其為酸不穩定基團，會在切除步驟中移除。天門冬醯胺酸官能基係經三苯甲基化保護。所有其他具有官能性側鏈基團之胺基酸，係經在酸裂解步驟中仍穩定之基團保護，即苄基氧基羰基(Z)。胺基酸苯基丙胺酸與亮胺酸原本就不需要側鏈保護。該胺基末端未經保護，此可允許醯基化步驟之直接反應。

該合成步驟係於商用自動化合成儀中進行，使用O-(6-氯苯並三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸鹽(HCTU)作為活化劑。

該醯化反應係使用四倍莫耳過量之胺基酸或脂肪酸，四倍莫耳過量之活化劑HCTU(請見上述)，以及八倍莫耳過量之N-甲基嗎啉進行，反應時間為30分鐘。

所購買之胺基酸已經標準供應商進行保護反應。

該胜肽係自樹脂上移除，使用95%三氟醋酸與5%水之溶液，於室溫下處理2小時，產生部分經保護基產物。所得胜肽係以乙醚沈澱。

所使用之環化混合物為苯並三唑-1-基-氧基-三-吡啶烷基-鏻六氟磷酸鹽(PyBop)、N-羥基苯並三唑(HoBt)，以及N-甲基嗎啉(NMM)，分別為過量2、2與4莫耳。該胜肽溶於二甲基甲醯胺中，加入環化混合物，並反應2小時。該經環化、保護之胜肽係以加入冰冷之乙醚沈澱。任何殘餘之PyBop水清洗該胜肽而移除。

乙醯基化係使用醋酸酐-二異丙基乙基胺– DMF (體積比1:1:18)進行。

殘餘之側鏈保護基(Z)係以催化性降解移除。該胜肽溶於醋酸-甲醇–水中(5:4:1)，在氫氣環境下，以及鈀焦炭催化劑存在下。

該胜肽經逆相層析法純化，使用一般梯度之乙腈：水：三氟醋酸。該產物進行冷凍乾燥。

產率為10-20mg，代表約10%-20%之理論值，計算自結

合至樹脂上之第一胺基醯基殘基莫耳量(約100微莫耳)。

由逆相HPLC預測之純度大於90%。在實驗錯誤忍受度中，所獲得之質量為理論值所預期的。

範例2

各化合物對抗大腸桿菌(*Escherichia coli*)與綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)之活性

由範例1合成之胜肽，二者皆僅帶有三個(3)正電荷，係研究其敏化大腸桿菌對於示範抗生素利福平(rifampin)敏感度之能力。此試驗使用含有增加濃度(0.1 μg/ml, 0.3 μg/ml, 1 μg/ml)之利福平(rifampin)(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, U.S.A)之LB洋菜膠盤(LB Agar Lennox, Difco, BD, Sparks, MD, U.S.A)，以及使用不含利福平(rifampin)之控制組LB洋菜膠盤。

指示用生物體*E. coli* IH3080 (K1:O18)為莢膜株(encapsulated strain)，單離自患有腦膜炎之新生兒(Vaara *et al.* 1984)，得自芬蘭赫爾辛基國家衛生院(National Public Health Institute, Helsinki, Finland)。

將IH3080於LB洋菜膠上培養整夜後，約10^8 cells/ml之懸浮液係製備於0.9% NaCl中。此懸浮液之分液係用微滴定管滴加至洋菜膠盤上，該盤均勻搖晃以均勻分散該懸浮液至該盤之整個表面。之後，懸浮液之未吸收部係使用Pasteur微滴定管移除。待表面乾燥後，在盤上鑽出小孔(直徑2 mm)(每盤五孔)，使用滅菌過之尖銳邊緣窄金屬小管，單次使用微滴定管尖頭，以及真空吸引。此外，塗抹散佈該接種物。

溶於0.9% NaCl溶液(濃度為1 μg/ml與0.1 μg/ml)之胜肽溶液樣本(4 μl與10 μl)之後吸至小孔中，使樣本流動以便吸收。控制組亦溶於0.9% NaCl溶液中，但不含待測化合物。之後將該盤靜置於37℃，18 h，之後測量圍繞每一小孔之生長抑制圈直徑；孔本身直徑未減少。最後，該直徑換算成生長抑制之表面積(mm^2)。

表2顯示各新穎化合物對抗*E. coli* IH3080之活性，與控制組化合物相較。即使NAB739對於二者缺乏直接抗菌活性，但其可於化合物4 μg/ml之濃度下敏化目標物對於利福平(rifampin)之敏感度，即使其濃度低至0.1 μg/ml。有趣的是，NAB747可直接對抗綠膿桿菌(*P. aeruginosa*) ATCC 27853。在含有10μg胜肽之小孔中，其可導致抑制圈表面積為50mm^2。在4 μg時，該對應值為20mm^2。

表2. 新穎化合物之結構與其對抗E. coli IH3080之活性

化合物基團	化合物名稱	SEQ ID NO.	結構*			總正電荷(環狀)	直接活性**	活性w. 利福平(rifampin)***
			FA-部	胜肽序列				
				側鏈	環狀部			
控制組化合物	多黏桿菌素B		MO (H) A	XTX	cy[XXfLXXT]	5 (3)	79	95
	去醯基多黏桿菌素B		-	+XTX	cy[XXfLXXT]	6 (3)	57	79
	去醯基黏菌素		-	+XTX	cy[XXlLXXT]	6 (3)	79	87
	多黏桿菌素B九胜肽		-	+TX	cy[XXfLXXT]	5 (3)	0	20
	多黏桿菌素B七胜肽		-	+	cy[XXfLXXT]	4 (4)	0	0
	NAB 704		-	+TZ	cy[XXfLXXT]	4 (3)	0	0
	NAB 705		-	+ZTZ	cy[XXfLXXT]	4 (3)	0	0
	NAB 701		-	+TX	cy[XXfLZZT]	3 (1)	0	0
	NAB 702		-	+TX	cy[XXfLBBT]	3 (1)	0	0
	NAB 703		-	+TX	cy[XXfLJJT]	3 (1)	0	0
	辛醯基PMBH		OA	-	cy[XXfLXXT]	3 (3)	0	0
	NAB 736		DA	-	[XXfLXXT]	3 (3)	0	113
	NAB 739		OA	Ts	cy[XXfLXXT]	3 (3)	133	177
	NAB 740		DA	Ts	cy[XXfLXXT]	3 (3)	95	95
	NAB 7061		OA	TZ	cy[XXfLXXT]	3 (3)	0	113
新穎化合物	NAB 741	10	Ac	Ts	cy[XXfLXXT]	3 (3)	0	95
	NAB 745	39	Ac	Tn	cy[XXfLXXT]	3 (3)	0	50
	NAB 747	10	Me	Ts	cy[XXfLXXT]	4 (3)	0	28

*胺基醯基殘基之單一字碼：F, Phe；L,Leu；N, Asn；S, Ser；T, Thr；X Dab；Z, Abu；B, N-γ甲醯基-Dab；J, N-γ-乙醯基-Dab。小字母代表該殘基為D-構形。

+代表在該胜肽N-端自由端之α-胺基。縮寫：MO(H)A，6-甲基辛醯基、6-甲基庚醯基與多黏桿菌素B中相關脂肪酸殘基之混合物；OA，辛醯基；DA，癸醯基；Ac，乙醯基；Me，甲基。

**抗菌活性係以LB盤上圍繞於含有4微克化合物之孔之生長抑制(單位為mm^2)測量。

***抗菌活性係以含有利福平(rifampin)(0.1微克/ml)之LB盤上圍繞於含有4微克化合物之孔之生長抑制(單位為mm^2)測量。

10年10月9日修正替換頁

範例3

NAB741可敏化*大腸桿菌、克雷白氏肺炎菌(Klebsiella pneumoniae)*與*陰溝桿菌(Enterobacter cloacae)*對於廣範圍抗菌試劑之敏感度

臨床上對於抗菌試劑之代表參數，最低抑制濃度(MIC)，係於二大腸桿菌菌株(ATCC25922與IH3080)、克雷白氏肺炎菌*(K. pneumoniae)* ATCC13883與陰溝桿菌*(E. cloacae)* ATCC23355 中測量，使用Mueller-Hinton洋菜培養液(產品編號LabO39; LabM Ltd., Bury, Lancs, U.K.)，在NAB741 (4 μg/ml)存在或不存在下。MIC係使用E-試條(Biodisk Ltd., Solna, Sweden)測量，依據使用說明。所使用之NAB741濃度並未抑制目標細菌之生長。NAB741對於所有菌株之MIC係>16 μg/ml。

結果顯示於表3。濃度為4 μg/ml之NAB741可敏化待測菌株對於利福平(rifampin)之敏感度>64至>2000倍。敏化倍數係定義為在無NAB741與4 μg/ml之NAB741存在下，抗生素之MIC之比例。相當高之敏化倍數亦於克拉黴素(clarithromycin) (24-340)、莫匹羅星(mupirocin) (8-192)、日舒(azithromycin) (16-32)中觀察到，某些菌株則對於梭鏈孢酸(fusidic acid)有相當高之敏化倍數(128-170)，以及陰溝桿菌(*E. cloacae*)對於萬古黴素(vancomycin)有相當高之敏化倍數(170)。這些抗菌試劑皆為相當疏水性或大(萬古黴素(vancomycin))，且已知會排除於格蘭氏陰性菌完整OM外，但會穿透受損之OM。

表3. 經篩選抗菌試劑之敏化倍數*，於NAB 741濃度為4 μg/ml時

	大腸桿菌 (E. coli) ATCC 25922	大腸桿菌 (E. coli) IH 3080	克雷白氏肺炎菌 (K. pneum.) ATCC 13883	陰溝桿菌 (E. cloacae) ATCC 23355
利福平(rifampin)	750	250	>64	>2000
克拉黴素(clarithromycin)	340	96	24	96
莫匹羅星(mupirocin)	128	64	8	190
日舒(azithromycin)	24	32	32	16
梭鏈孢酸(fusidic acid)	170	130	>5	>130
萬古黴素(vancomycin)	>16	16	>2	170

*敏化倍數為在無NAB741與4 μg/ml之NAB741存在下，抗生素之MIC之比例。

範例4

七種不同格蘭氏陰性菌株對於利福平(rifampin)與克拉黴素(clarithromycin)之敏感度，在NAB741 (4 μg/ml)存在下

臨床上對於抗菌試劑對抗格蘭氏陰性菌之代表參數，最低抑制濃度(MIC)，係以E-試驗法進行，如範例3，並使用 Mueller-Hinton 洋菜膠，具有或不具有NAB741(4 μg/ml)。此濃度之NAB741並未抑制目標細菌之生長。五株來自於ATCC。包氏不動桿菌*(Acinetpbacter baumannii)* F264，係購自Mobidiag Ltd., Helsinki, Finland。大腸桿菌*(E. coli)* IH3080之來源亦列於範例2中。

結果列於表4。顯示NAB 741具顯著活性，即使是對抗*包氏不動桿菌(Acinetpbacter baumannii)*時。

表4. NAB 741敏化格蘭氏陰性菌對於示範性抗生素(利福平(rifampin)與克拉黴素(clarithromycin))敏感度之能力

菌株	在4 μg/ml之NAB 741存在下之利福平(rifampin)之MIC* (μg/ml)	對於利福平(rifampin)之敏化倍數*	在4 μg/ml之NAB 741存在下之克拉黴素(clarithromycin)之MIC (μg/ml)	對於克拉黴素(clarithromycin)之敏化倍數*
大腸桿菌(E. coli) ATCC25922	0,016	750	0,125	340
大腸桿菌(E. coli) IH3080	0,047	250	0,125	96
克雷白氏肺炎菌(K. pneumoniae) ATCC13883	0,5	>64	1	24
陰溝桿菌(E. cloacae) ATCC23355	0,016	2000	0,5	96
包氏不動桿菌(Ac. baumannii) ATCC19606	0,19	16	0,5	32
包氏不動桿菌(Ac. baumannii) F264	0,125	64	0,5	32
綠膿桿菌(P. aeruginosa) ATCC27853	16	2	64	2

* 利福平(rifampin) MIC在無NAB 741與NAB 741(4 μg/ml)存在下之比例

**克拉黴素(clarithromycin) MIC在無NAB 741與NAB 741 (4 μg/ml)存在下之比例

範例5

NAB741會敏化美洛培南(meropenem)-抗藥株包氏不動桿菌*(Acinetpbacter baumannii)*對於美洛培南之敏感度

美洛培南對於包氏不動桿菌(*A. baumannii*)二菌株之最低抑制濃度(MIC)，係以E-試驗法決定，如範例4所示，並使用Mueller-Hinton洋菜膠，具有或不具有NAB741 (4 μg/ml)。此濃度之NAB741並未抑制目標細菌之生長。敏化倍數係如範例4所述定義。結果示於表5中。NAB7061會敏化美洛培南-抗藥株F264對於美洛培南之敏感度，倍數>4。

表5. 敏化包氏不動桿菌(*Acinetpbacter baumannii*)之美洛培南-抗藥株對於美洛培南之敏感度，在NAB 741 (4 μg/ml)存在下

菌株	在指定濃度(μg/ml) NAB 741下，美洛培南之 MIC (μg/ml)	
	0	4
包氏不動桿菌(*A. baumannii*) ATCC19606	0,75	0,5
包氏不動桿菌(*A. baumannii*) F264	>32	8

範例6

NAB741會敏化大腸桿菌對於新鮮正常血清中補體之敏感度

NAB741敏化大腸桿菌之莢膜、平滑株對於正常天竺鼠血清(GPS)殺菌作用敏感度之能力，係使用Vaara *et al.* (1984)所描述之方法研究。*E. coli* IH3080(018,K1)係生長於LB培養液中(LB broth Lennox, Difco, BD, Sparks, MD, U.S.A)，於37°C旋轉搖晃器中生長至早期對數期，以PBS(磷酸鹽-緩衝生理食鹽水，8.0g之NaCl、0.2g之KCl、1.44g之$Na_2HPO_4x2H_2O$與0.2g之KH_2PO_4每公升)清洗，懸浮於PBS中至約10^9細胞/ml)。GPS使用作為補體來源。儲存於-70°C直到使用。為了活化補體，血清係於56°C靜置30分鐘。

如下進行實驗流程。10%GPS之PBS溶液係以約500CFU(菌落形成單位)細菌每毫升植入，並以微滴定管吸入0.2 ml分液至微滴定盤上之每一孔。該孔已包含增加量之NAB7061之0.020ml之0.9% NaCl溶液。該盤於37°C靜置2 h，之後每一孔係流至LB盤上。該盤於37°C培養整夜後，計算發展出之菌落數。

結果列於表6。NAB741本身並未明顯降低CFU計數，在無GPS存在，或在熱失活10%GPS存在下。然而，劑量低至2μg/ml之NAB741卻足以降低CFU計數約100倍，在10%新鮮GPS存在下。因此，NAB741可與新鮮血清中之殺菌補體機制產生協同作用，如同PMBN，該試劑已知具有此特性。

表6. NAB741與10%天竺鼠血清(GPS)對抗大腸桿菌IH3080 (O18:K1)*之協同殺菌作用

化合物	溶液新鮮度	0	1	2	4
NAB 739 MS**	新鮮	100	70	62	16
NAB 739 MS**	24 h		55	34	6
NAB 739 MS**	48 h		35	11	0
NAB 739	新鮮		21	2	0

*以%存活率測量，於37℃處理2-小時

範例7

NAB 739甲磺酸鈉鹽之製備以及生物活性

NAB 739醋酸鹽(100 mg)係溶於水中(2 ml)，加入中性甲醛溶液(400微升之30%甲醛溶液[以1N Na-HCO3調整至pH 7.2])。之後，加入1N NaHCO3溶液(2ml)，沈澱之NAB 739甲醛衍生物係經過濾並以水清洗。濕潤之固體懸浮於水中(5 ml)，並加入重硫酸鈉(100 mg)。數分鐘後得到澄清之溶液，並冷凍乾燥。絨毛狀白色固體係以溫暖之丙酮(7.5 ml)萃取，並真空乾燥。產率為56 mg。產物以ESI質譜分析，顯示一主要尖峰為分子量1075.3，代表大部分之衍生物中，NAB 739化合物之三Dab殘基每一者皆為磺基甲基化，次要尖峰代表亦觀察到NAB 739之該三Dab殘基之二者上

係經隨機阻擋。

為了測量NAB 739甲磺酸鈉水溶液之抗菌活性，遂製備三種不同溶液：1)在實驗前立即製備於0.9% NaCl溶液中(1mg/ml)，2)在實驗前24小時製備於0.9% NaCl溶液中(1mg/ml)，並保存於37℃，3)在實驗前48小時製備於0.9% NaCl溶液中(1mg/ml)，並保存於37℃。NAB 739醋酸鹽之新鮮製備溶液係作為控制組化合物。

表7. NAB 739甲基磺酸鹽對抗大腸桿菌IH3080*之抗菌活性，與NAB 739相較

化合物	溶液新鮮度	0	1	2	4
NAB 739 MS**	新鮮	100	70	62	16
NAB 739 MS**	24 h		55	34	6
NAB 739 MS**	48 h		35	11	0
NAB 739	新鮮		21	2	0

*以於37℃處理2小時後之存活%表示

**MS, 甲基磺酸鹽

測試細菌為大腸桿菌IH3080。其生長於LB培養液中(LB broth Lennox, Difco, BD, Sparks, MD, U.S.A.)，於37℃旋轉搖晃器中生長至早期對數期，以PBS沖洗，懸浮於PBS中至約10^9細胞/ml PBS，以約500 CFU(菌落形成單位)之細菌每毫升植入，並以微滴定管吸入0.2 ml分液至微滴定盤上之每一孔。該盤已包含增加濃度之NAB 739 甲磺酸鹽，或控制組化合物之0.020 ml之0.9% NaCl。該盤靜置於37℃，1 h後，每一孔係流至LB盤上。該盤於37℃靜置整夜後，計算發展出之菌落數。

結果列於表7。NAB 739甲磺酸鹽之新鮮溶液具有較低之抗菌活性，與控制組NAB 739相較。將NAB 739甲磺酸鹽溶液維持於37℃，24 h後使用，活性有輕微增加；而維持48 h，則活性幾乎控制組與相等。這些結果表示NAB 739甲磺酸鹽，類似於黏菌素甲磺酸鹽，會在水溶液中緩慢分解，產生更具抗藥性之活性物質，即較少之磺甲基化物質，最終為自由NAB 739。

類似地，係製備於此描述之NAB 741、NAB 745、NAB 747之甲磺酸鹽衍生物與其他化合物。這些前藥會於體內分解，產生具有可敏化標靶細菌對於其他抗菌試劑以及血清補體之敏感度之化合物。

範例8

比較NAB 741與NAB 739之基本藥物動力學特性

此研究原則上係使用Li et al. (2003, 2004)中所描述之方法進行。每一隻大鼠(n=4，就二化合物而言，Sprague-Dawley，雄性)係使用異氟烷麻醉，並使用聚乙醯套管插至頸靜脈。每一隻大鼠皆置於代謝籠中，並自手術恢復至隔日。待測化合物(醋酸鹽，1 mg/kg)係以彈丸(於200 µl無菌0.9%生理食鹽水中)經插管投藥，之後以0.8 ml生理食鹽水清洗。九個血液樣本(0、10、20、30、60、90、120、180與240分鐘)，每一者皆為200 µl，係經插管人工收集。收集樣本時，最初之100 µl血液係吸出，並保存於針筒中。以另一針筒收集實際樣本後，該第一針筒之內容物係與400 µl肝素化生理食鹽水轉移至大鼠中。血液樣本係經離心得

到血漿。尿液樣本係於0-4 h、4-6 h與6-24 h間隔收集。血漿與尿液樣本係於-80°C儲存。

該樣本係使用液相層析法與裝置有電灑離子化介面之質譜分析(LC/電灑離子化MS)。就100-μl樣本而言，係加入10 μl之中間標準物(NAB 739，80 μg/ml)與200 μl(血漿樣本)或100 μl(尿液樣本)之乙腈，混合物震盪混合1分鐘，並於10.000 g離心10分鐘。層析法係使用HPLC C18管柱(50 x 2 mm)、0.1%甲酸作為溶劑A，0.1%乙腈作為溶劑B，流速為0.2 ml/min，以及下列梯度：5%-30% B於6分鐘，30%-90% B於0.5分鐘，90% B維持2.5分鐘，90%-5%B於1分鐘。介於5.90-7.00分鐘與9.00-10.1分鐘之沖提物，係直接進入MS系統，使用轉換閥。m/z為496.7及331.4之NAB 741之正電質子化分子離子，以及m/z=538.8與359.6之NAB 739 係經監測。NAB 741係於6.65±0.05分鐘沖提出，而NAB739係於9.45±0.05分鐘沖提出。血漿中之化合物之非部分式分析係使用WinNonlin軟體(4.0版，Mountain View, CA, USA)進行，模組為NA201 (靜脈彈丸輸入，用於血漿資料)。

NAB 741所測定之基本藥物動力學參數如下：半生期(分鐘)，32.7±2.41；分佈體積(ml/kg)，243±24.0；清除率(ml/min/kg)，7.39±0.85；尿液回收率(%投藥24小時內)，50.9±13.6；以及腎臟清除率(ml/min/kg)，3.78±1.11。

NAB 739，一種類似於NAB 741但具有辛醯基殘基，而非乙醯基殘基為其末端部分之化合物，所測定之基本藥物動力學參數如下：半生期(分鐘)，69.0±21.9；分佈體積

(ml/kg)，222±20.5；清除率(ml/min/kg)，2.63±0.54；尿液回收率(% 投藥24小時內)，19.4±7.38；以及腎臟清除率(ml/min/kg)，0.53±0.30。

黏菌素之對應參數，如Li et al. (2003)所述決定，係使用相同劑量與投藥路徑，如下：半生期(分鐘)，74.6±13.2；分佈體積(ml/kg)，496±60；清除率(ml/min/kg)，5.2±0.4；尿液回收率(% 投藥24小時內)，0.18±0.14；以及腎臟清除率(ml/min/kg)，0.010±0.008。

【圖式簡單說明】

(無)

【主要元件符號說明】

(無)

序 列 表

<110> Northern Antibiotics Ltd
Vaara, Martti
Vaara, Timo

<120> 短脂肪酸尾部多黏桿菌素衍生物及其用途

<130> 2071882PC

<160> 2

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 9
<212> PRT
<213> 細菌

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(4)
<223> Dab

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(9)
<223> 環狀

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> D-Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(8)
<223> Dab

<400> 1

Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Thr
1 5

<210> 2
<211> 9
<212> PRT
<213> 細菌

<220>
<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)
<223> D-Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(4)
<223> Dab

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(9)
<223> 環狀

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> D-Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(8)
<223> Dab

<400> 2

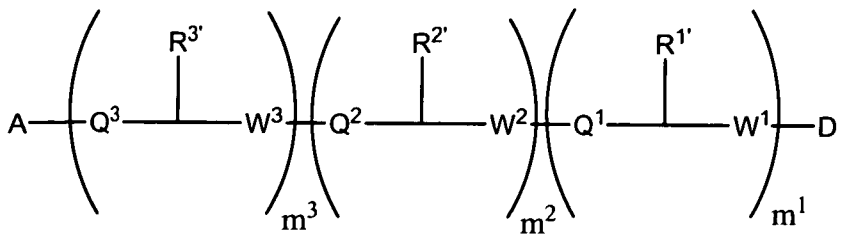
Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Thr
1 5

七、申請專利範圍：

公告本

101年10月9日修正本

1. 一種如式(I)之多黏桿菌素衍生物：



(I)

其中：

A為一多黏桿菌素環部分(moiety)；

D為一包含1至5個碳原子之末端部分；

m^1、m^2與m^3每一者皆獨立地為0或1；前提是m^1、m^2與m^3之至少一者為1，

Q^1、Q^2與Q^3每一者皆獨立地為CH_2、C=O或C=S；

W^1、W^2與W^3每一者皆獨立地為NR^4、O或S；

$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆獨立地為天然或非天然胺基酸之側鏈、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、芳基、烷氧基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷基胺基或炔基；以及

R^4為氫或烷基，

其中該衍生物在生理pH值下具有至少二個但不多於三個正電荷，

以及其醫藥上可接受之鹽類。

2. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中m^1為0。

3. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中m^2與

m^3每一者皆為1。

4. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中Q^2與Q^3每一者皆為C=O。

5. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中W^2與W^3每一者皆為NH。

6. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$不包含在生理pH值下帶正電之官能基。

7. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$包含一或多個羥基、胺基甲醯基、醯胺基(amidyl)、羧酸鹽、硫基、硫酸鹽、碸基或磷酸鹽基團。

8. 如申請專利範圍第7項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$包含二或多個羥基、羧酸鹽、硫基、醯胺基、胺基甲醯基、硫酸鹽、碸基或磷酸鹽基團。

9. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$經一或多個基團取代，該基團選自於由羥基、胺基甲醯基、醯胺基、羧酸鹽、硫基、硫酸鹽、碸基或磷酸鹽基團組成之族群。

10. 如申請專利範圍第9項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$經胺基甲醯基、羥基或羧酸鹽基團取代。

11. 如申請專利範圍第9項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$為經取代之烷基。

12. 如申請專利範圍第9項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$為D-或L-構形的丙胺酸、胺基丁酸、天門冬醯胺酸、天門冬胺酸、二胺基丁酸、麩胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸或蘇

胺酸之側鏈。

13. 如申請專利範圍第12項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$為D-丙胺酸、L-絲胺酸或L-蘇胺酸之側鏈。

14. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{3'}$經一或多個基團取代，該基團選自於羥基、醯胺基、胺基甲醯基、羧酸鹽、硫基、硫酸鹽、碸基或磷酸鹽基團。

15. 如申請專利範圍第12項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{3'}$經胺基甲醯基、羥基或羧酸鹽基取代。

16. 如申請專利範圍第14項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{3'}$為經取代之烷基。

17. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{3'}$為D-或L-構形的丙胺酸、胺基丁酸、天門冬醯胺酸、天門冬胺酸、二胺基丁酸、麩胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸或蘇胺酸之側鏈。

18. 如申請專利範圍第17項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{3'}$為D-天門冬醯胺酸、L-絲胺酸或D-絲胺酸之側鏈。

19. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中A為多黏桿菌素環部分，係選自於多黏桿菌素A、多黏桿菌素B、IL-多黏桿菌素-B_1、多黏桿菌素D、多黏桿菌素E、多黏桿菌素F、多黏桿菌素M、多黏桿菌素S、多黏桿菌素T、環桿菌素A、八肽黴素A、八肽黴素B、八肽黴素C、八肽黴素D或其等衍生物之多黏桿菌素環部分。

20. 如申請專利範圍第19項之多黏桿菌素衍生物，其中A為多黏桿菌素B或多黏桿菌素E之多黏桿菌素環部分。

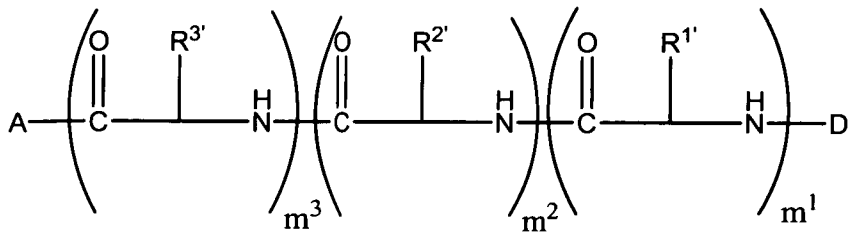
21. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中D為R^{12}-(C=O)；R^{12}-SO_2-；R^{12}-(C=NH)-；R^{12}-NH-(C=S)-；R^{12}-NH-(C=O)-；R^{12}-NH-(C=NH)-；R^{12}-O-(C=S)-；R^{12}-O-(C=O)；R^{12}-P(O)OH-；R^{12}-(C=S)；或$R^{12'}$，其中R^{12}與$R^{12'}$為烷基、環烷基、烯基、炔基、芳基或芳基烷基。

22. 如申請專利範圍第21項之多黏桿菌素衍生物，其中D為R^{12}-(C=O)或R^{12}-(C=S)。

23. 如申請專利範圍第21項之多黏桿菌素衍生物，其中R^{12}為甲基、乙基、丙基、異丙基、環丙基，或丁基。

24. 如申請專利範圍第22項之多黏桿菌素衍生物，其中D為乙醯基、丙醯基、丁醯基或戊醯基。

25. 一種如式(II)之多黏桿菌素衍生物：



(II)

其中：

A為一多黏桿菌素環部分；

D為R^{12}-C(=O)、R^{12}-C(=S)或$R^{12'}$；

m^1、m^2與m^3每一者皆獨立地為0或1，且其中m^1、m^2與m^3至少一者為1；

$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆獨立地為天然或非天然胺基酸之側鏈、烷基、烯基、芳基烷基、芳基、烷氧基、烷

氧基羰基、芳基氧基羰基、烷基胺基或炔基；以及

R^{12}為C_1-C_4烷基、C_2-C_4烯基或C_2-C_4炔基，

$R^{12'}$為C_1-C_5烷基、C_2-C_5烯基或C_2-C_5炔基，

其中該衍生物在生理pH值下具有至少二個但不多於三個正電荷，

以及其醫藥上可接受之鹽類。

26. 如申請專利範圍第25項之多黏桿菌素衍生物，其中m^1為0。

27. 如申請專利範圍第25項之多黏桿菌素衍生物，其中m^2與m^3每一者皆為1。

28. 如申請專利範圍第25項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$為經取代的烷基。

29. 如申請專利範圍第28項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$經胺基甲醯基、羥基或羧酸鹽基取代。

30. 如申請專利範圍第28項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$為D-或L-構形的丙胺酸、胺基丁酸、天門冬醯胺酸、天門冬胺酸、二胺基丁酸、麩胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸或蘇胺酸之側鏈。

31. 如申請專利範圍第30項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$為D-丙胺酸、L-絲胺酸或L-蘇胺酸之側鏈。

32. 如申請專利範圍第25項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{3'}$為經取代之烷基。

33. 如申請專利範圍第32項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{3'}$經胺基甲醯基、羥基或羧酸鹽基取代。

34. 如申請專利範圍第33項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{3'}$為D-或L-構形的丙胺酸、胺基丁酸、天門冬醯胺酸、天門冬胺酸、二胺基丁酸、麩胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸或蘇胺酸之側鏈。

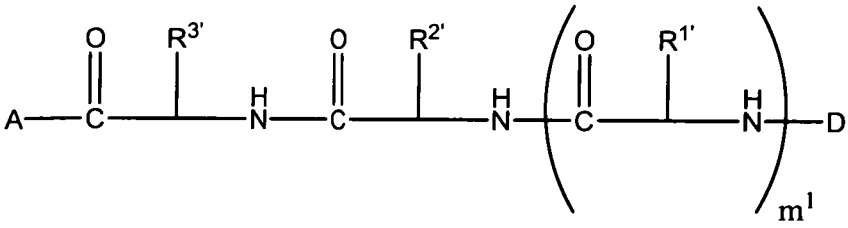
35. 如申請專利範圍第34項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{3'}$為D-天門冬醯胺酸、L-絲胺酸或D-絲胺酸之側鏈。

36. 如申請專利範圍第25項之多黏桿菌素衍生物，其中A為多黏桿菌素B或多黏桿菌素E之多黏桿菌素環部分。

37. 如申請專利範圍第25項之多黏桿菌素衍生物，其中R^{12}為烷基。

38. 如申請專利範圍第37項之多黏桿菌素衍生物，其中D為乙醯基、丙醯基、丁醯基或戊醯基。

39. 一種如式(III)之多黏桿菌素衍生物：



(III)

其中：

A為多黏桿菌素B或多黏桿菌素E之環部分；

D為R^{12}-C(=O)、R^{12}-C(=S)或$R^{12'}$；

m^1為0或1；

$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆獨立地為天然或非天然胺基酸之側鏈、烷基、烯基、芳基烷基、芳基、烷氧基、烷氧基羰基、芳基氧基羰基、烷基胺基或炔基，其中$R^{2'}$

與$R^{3'}$之至少一者包含一胺基甲醯基、羥基或羧酸鹽基；

R^{12}為C_1-C_4烷基；

$R^{12'}$為C_1-C_5烷基；

其中該衍生物在生理pH值下具有至少二個但不多於三個正電荷，

以及其醫藥上可接受之鹽類。

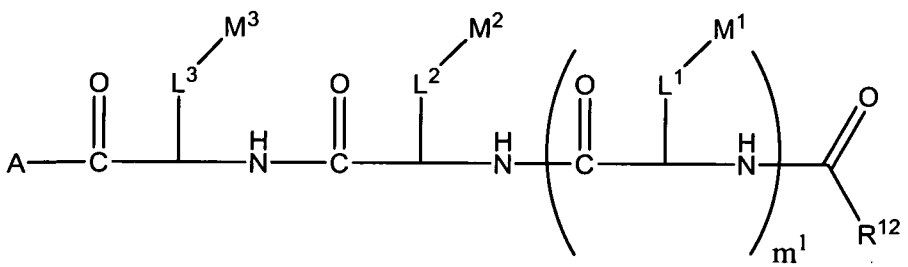
40. 如申請專利範圍第39項之多黏桿菌素衍生物，其中m^1為0。

41. 如申請專利範圍第39項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{2'}$與$R^{3'}$每一者皆為經取代之烷基。

42. 如申請專利範圍第39項之多黏桿菌素衍生物，其中D為乙醯基、丙醯基、丁醯基或戊醯基。

43. 如申請專利範圍第39項之多黏桿菌素衍生物，其中$R^{1'}$、$R^{2'}$與$R^{3'}$包含胺基甲醯基、羥基與羧酸鹽基之至少二者。

44. 一種如式(IV)之多黏桿菌素衍生物：



(IV)

其中：

A為多黏桿菌素B或多黏桿菌素E之環部分；

m^1為0或1；

L^1、L^2與L^3每一者皆獨立地為C_1-C_3烷基或一共價鍵；

M^1、M^2與M^3每一者皆獨立地為H、$C(=O)NH_2$、$C(=O)OH$或-OH；

R^{12}為C_1-C_4烷基，

其中該衍生物在生理pH值下具有至少二個但不多於三個正電荷，

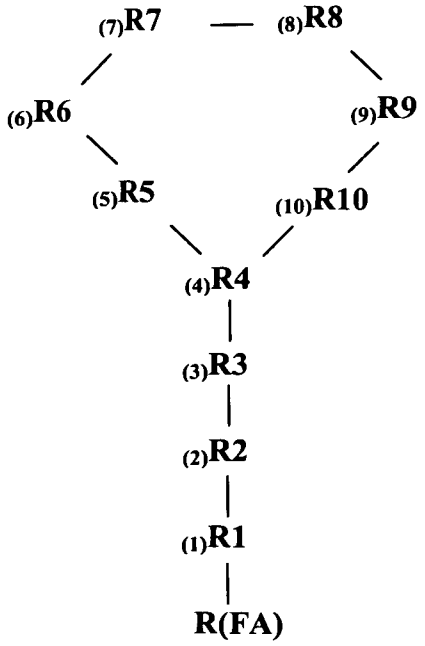
以及其醫藥上可接受之鹽類。

45. 如申請專利範圍第44項之多黏桿菌素衍生物，其中m^1為0。

46. 如申請專利範圍第44項之多黏桿菌素衍生物，其中L^2為$-CH(CH_3)-$，且M^2為OH；L^2為$-CH_2-$，且M^2為H；或L^2為$-CH_2-$，且M^2為OH。

47. 如申請專利範圍第44項之多黏桿菌素衍生物，其中L^3為$-CH_2-$，且M^3為OH；或L^3為$-CH_2-CH_2-$，且M^3為$C(=O)NH_2$。

48. 一種如式(V)之多黏桿菌素衍生物



(V)

其中R4為含有可環化該分子之官能基側鏈之胺基酸殘基；

R6為獨立選出之選擇性經取代之疏水性胺基酸殘基；

R7為獨立選出之選擇性經取代之疏水性胺基酸殘基或Thr；

R10為Leu或任一非疏水性胺基酸殘基；以及

其中R1為選擇性的；以及其中R1、R2、R3、R5、R8與R9每一者皆為經獨立選出之胺基酸殘基；以及

其中R(FA)為選擇性經取代之烷醯基或烷基殘基，具有總共1至5個碳原子；

其中該衍生物在生理pH值下具有至少二個但不多於三個正電荷，

或其醫藥上可接受之鹽類。

49. 如申請專利範圍第48項之衍生物，其中R(FA)為具有1至3個碳原子之殘基。

50. 如申請專利範圍第48項之衍生物，其中R(FA)為乙醯基。

51. 如申請專利範圍第48項之衍生物，其中R1-R10係選自於由 Thr-DSer-cy [Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-] 與 Thr-DAsn-cy [Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-]組成之族群。

52. 如申請專利範圍第51項之衍生物，係選自於由 Ac-Thr-DSer-cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-] 與 Ac-Thr-DAsn-cy[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr-] 組

成之族群。

53. 如申請專利範圍第1項之多黏桿菌素衍生物，其中該正電荷係選自於由自由、未經取代之胺基及其他陽離子基團組成之族群。

54. 如申請專利範圍第1項之衍生物，其中該衍生物為含有一或多個正電荷遮蔽磺烷基部分之前藥。

55. 如申請專利範圍第54項之衍生物，其中該磺烷基部分為磺甲基。

56. 如申請專利範圍第1項之衍生物，其中該衍生物會增加細菌對第二抗菌劑或血清補體之敏感度。

57. 如申請專利範圍第1項之衍生物，其中該衍生物會增加細菌對第二抗菌劑之敏感度達五倍或更高。

58. 如申請專利範圍第57項之衍生物，其中該衍生物會增加細菌對第二抗菌劑之敏感度達十倍或更高。

59. 如申請專利範圍第56項之衍生物，其中該第二抗菌劑為利福平(rifampin)、克拉黴素(clarithromycin)、莫匹羅星(mupirocin)、日舒(azithromycin)、梭鏈孢酸(fusidic acid)或萬古黴素(vancomycin)。

60. 如申請專利範圍第1項之衍生物，其中該衍生物與自然的多黏桿菌素、八肽黴素或末端具有大於5個碳原子之多黏桿菌素衍生物相較之下，具有一或多個藥物動力學希望之特性。

61. 如申請專利範圍第60項之衍生物，其中該藥物動力學希望特性為與自然的多黏桿菌素、八肽黴素或末端具有大

於5個碳原子之多黏桿菌素衍生物相較之下，較長之血清半生期、增加之腎臟清除率，或增加之尿液回收率。

62. 如申請專利範圍第61項之衍生物，其中該尿液回收率大於約10%之該衍生物的投藥劑量超過24小時。

63. 如申請專利範圍第62項之衍生物，其中該尿液回收率大於約30%之該衍生物的投藥劑量超過24小時。

64. 如申請專利範圍第61項之衍生物，其中該衍生物之腎臟清除率大於約0.5 ml/min/kg。

65. 如申請專利範圍第64項之衍生物，其中該衍生物之腎臟清除率大於約2 ml/min/kg。

66. 如申請專利範圍第60項之衍生物，其中該自然的多黏桿菌素或八肽黴素為多黏桿菌素A、多黏桿菌素B、IL-多黏桿菌素-B_1、多黏桿菌素D、多黏桿菌素E、多黏桿菌素F、多黏桿菌素M、多黏桿菌素S、多黏桿菌素T、環桿菌素A、八肽黴素A、八肽黴素B、八肽黴素C或八肽黴素D。

67. 如申請專利範圍第66項之衍生物，其中該自然的多黏桿菌素或八肽黴素為多黏桿菌素E。

68. 一種組合產物，包含二或多種如申請專利範圍第1項之衍生物。

69. 一種醫藥組成物，包含至少一如申請專利範圍第1至67項中任一項之衍生物，以及至少一醫藥上可接受之載體及/或賦形劑。

70. 如申請專利範圍第69項之醫藥組成物，更包含一第二抗

菌劑。

71. 一種用於敏化格蘭氏陰性菌對於一抗菌劑敏感度之醫藥組成物，包含一治療有效量之該抗菌劑，以及一如申請專利範圍第1至67項中任一項之多黏桿菌素衍生物或如申請專利範圍第68項之組合產物，其中該抗菌劑以及該衍生物或組合產物係被同時或以任一順序依序投藥。

72. 如申請專利範圍第71項之醫藥組成物，其中該抗菌劑係選自於由克拉黴素(clarithromycin)、日舒(azithromycin)、紅黴素與其他巨環類、酮內酯類、克林達黴素(clindamycin)與其他林克胺類(lincosamines)、鏈陽菌素(streptogramins)、利福平(rifampin)、利服布汀(rifabutin)、利福拉索(rifalazile)與其他利福黴素(rifamycins)、梭鏈孢酸(fusidic acid)、莫匹羅星(mupirocin)、噁唑酮類、萬古黴素(vancomycin)、朵巴文星(dalbavancin)、替拉文星(telavancin)、奧瑞他文星(oritavancin)以及其他醣胜肽抗生素、氟奎諾酮類、桿菌肽(bacitracin)、四環黴素衍生物、β-內醯胺抗生素、新生黴素(novobiocin)、截短側耳素(pleuromutilins)、葉酸合成抑制劑、去甲醯基酶抑制劑，以及細菌流出泵抑制劑組成之族群。

73. 如申請專利範圍第72項之醫藥組成物，其中該抗菌劑係選自於由：克拉黴素(clarithromycin)、日舒(azithromycin)、紅黴素、克林達黴素(clindamycin)、鏈陽菌素(streptogramins)合併奎紐普汀(quinupristin)-達福

普汀(dalfopristin)、利福平(rifampin)、梭鏈孢酸(fusidic acid)、莫匹羅星(mupirocin)、噁唑酮林尼左里(oxazolidinone linezolid)、萬古黴素(vancomycin)、氟奎諾酮莫西福沙星(moxifloxacin)，以及葉酸合成抑制劑三美托普米(trimetoprim)組成之族群。

74. 如申請專利範圍第71項之藥學組成物，其中該細菌係選自於由：大腸桿菌(*Escherichia coli*)、克雷白氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)、克雷白氏菌(*Klebsiella oxytoca*)、陰溝桿菌(*Enterobacter cloacae*)、佛氏檸檬酸桿菌(*Citrobacter freundii*)，以及包氏不動桿菌(*Acinetpbacter baumannii*)組成之族群。

75. 一種發展新穎抗生素之方法，包含下列步驟

a) 提供一天然多黏桿菌素或八肽黴素化合物，或其等之衍生物，其具有總共4至6個正電荷以及一包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)；

b) 將帶有一或多個正電荷之1至3個殘基置換為不帶正電荷之殘基，或一共價鍵，因而產生具有3個正電荷以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)之多黏桿菌素化合物之衍生物；

c) 試驗該多黏桿菌素衍生物敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑之敏感度之能力；以及

d) 篩選出具有敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力之化合物。

76. 一種發展新穎抗生素之方法，包含下列步驟

a) 提供一天然多黏桿菌素或八肽黴素化合物，或其等之衍生物，其具有總共4至6個正電荷以及具有大於5個碳原子之末端部分(D)；

b) 將帶有一或多個正電荷之1至3個殘基置換為不帶正電荷之殘基，或一共價鍵，因而產生具有3個正電荷之多黏桿菌素化合物之衍生物；

c) 置換該具有大於5個碳原子之末端部分(D)為包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，因而產生具有3個正電荷，以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)之多黏桿菌素化合物之衍生物；

d) 試驗該多黏桿菌素衍生物敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力；以及

e) 篩選出具有敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力之化合物。

77. 一種發展新穎抗生素之方法，包含下列步驟：

a) 提供一多黏桿菌素或八肽黴素化合物，或其等之衍生物，其具有總共4至6個正電荷且缺乏末端部分(D)，

b) 將帶有一或多個正電荷之1至3個殘基置換為不帶正電荷之殘基，或一共價鍵，因而產生具有3個正電荷之多黏桿菌素化合物之衍生物；

c) 引入包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，因而產生具有3個正電荷以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)之多黏桿菌素化合物；

e) 試驗該多黏桿菌素衍生物敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力；以及

f) 篩選出具有敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑敏感度之能力之化合物。

78. 一種如申請專利範圍1至67項中任一項之衍生物於製造一藥物之用途，該藥物係用於敏化格蘭氏陰性菌對於抗菌劑之敏感度。

79. 如申請專利範圍第78項之用途，其中該細菌係選自於由大腸桿菌(*Escherichia coli*)、克雷白氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)、克雷白氏菌(*Klebsiella oxytoca*)、陰溝桿菌(*Enterobacter cloacae*)、佛氏檸檬酸桿菌(*Citrobacter freundii*)，以及包氏不動桿菌(*Acinetpbacter baumannii*)組成之族群。

80. 如申請專利範圍第79項之用途，其中該抗菌劑係選自於由克拉黴素(clarithromycin)、日舒(azithromycin)、紅黴素與其他巨環類、酮內酯類、克林達黴素(clindamycin)與其他林克胺類(lincosamines)、鏈陽菌素(streptogramins)、利福平(rifampin)、利服布汀(rifabutin)、利福拉索(rifalazile)與其他利福黴素(rifamycins)、梭鏈孢酸(fusidic acid)、莫匹羅星(mupirocin)、噁唑酮類、萬古黴素(vancomycin)、朵巴文星(dalbavancin)、替拉文星(telavancin)、奧瑞他文星(oritavancin)以及其他醣胜肽抗生素、氟奎諾酮類、桿菌肽(bacitracin)、四環黴素衍生物、β-內醯胺抗生素、

新生黴素(novobiocin)、截短側耳素(pleuromutilins)、葉酸合成抑制劑、去甲醯基酶抑制劑，以及細菌流出泵抑制劑組成之族群。

81. 如申請專利範圍第80項之用途，其中該抗菌劑係選自於由：克拉黴素(clarithromycin)、日舒(azithromycin)、紅黴素、克林達黴素(clindamycin)、鏈陽菌素(streptogramins)合併奎紐普汀(quinupristin)-達福普汀(dalfopristin)、利福平(rifampin)、梭鏈孢酸(fusidic acid)、莫匹羅星(mupirocin)、噁唑酮林尼左里(oxazolidinone linezolid)、萬古黴素(vancomycin)、氟奎諾酮莫西福沙星(moxifloxacin)，以及葉酸合成抑制劑三美托普米(trimetoprim)組成之族群。

82. 一種如申請專利範圍1至67項中任一項之衍生物於製造一藥物之用途，該藥物係用於敏化格蘭氏陰性菌對於血清中宿主防禦機制補體之敏感度之藥劑。

83. 如申請專利範圍第82項之用途，其中該細菌係選自於由大腸桿菌(*Escherichia coli*)、克雷白氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)、克雷白氏菌(*Klebsiella oxytoca*)、陰溝桿菌(*Enterobacter cloacae*)、佛氏檸檬酸桿菌(*Citrobacter freundii*)，以及包氏不動桿菌(*Acinetpbacter baumannii*)組成之族群。

84. 一種製備如申請專利範圍第1項界定之式(I)多黏桿菌素衍生物之方法，包含：

(A) 修飾一天然或合成之多黏桿菌素或八肽黴素化

合物或其等之衍生物，其等係具有4至5個正電荷殘基，以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，係藉由以中性殘基或共價鍵取代該等殘基之1至2者，或藉由轉換該等殘基之1至2者成為中性殘基，以獲得如申請專利範圍第1項之式(I)多黏桿菌素衍生物，該多黏桿菌素衍生物具有3個正電荷殘基，以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)；或

(B) 修飾一天然或合成之多黏桿菌素或八肽黴素化合物，或其等具有4至5個正電荷殘基且具有大於5個碳原子之末端部分(D)之衍生物，係藉由以中性殘基或共價鍵取代該等殘基之1至2者，或藉由轉換該等殘基之1至3者成為中性殘基，並藉由以包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)置換包含大於5個碳原子之末端部分(D)，以獲得如申請專利範圍第1項之式(I)多黏桿菌素衍生物，該多黏桿菌素衍生物具有總共3個正電荷殘基，以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，或

(C) 修飾一天然或合成之多黏桿菌素或八肽黴素化合物，或其等具有4至6個正電荷殘基且缺乏末端部分(D)之衍生物，係藉由以中性殘基或共價鍵取代該等殘基之1至3者，或藉由轉換該等殘基之1至3者成為中性殘基，並藉由引入包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)，以獲得如申請專利範圍第1項之式(I)多黏桿菌素衍生物，該多黏桿菌素衍生物具有3個正電荷殘基，以及包含總共1至5個碳原子之末端部分(D)。

85. 如申請專利範圍第84項之方法，包含進行全合成步驟。

86. 如申請專利範圍第84項之方法，包含進行半合成步驟。

87. 如申請專利範圍第86項之方法，包含下列步驟：

a) 將天然或合成之多黏桿菌素或八肽黴素化合物或其等之衍生物進行裂解，以移除該多黏桿菌素化合物之側鏈，並回收該化合物之環狀部分，以及

b) 將一合成製備之側鏈耦合至於步驟a)獲得之環狀部分，以獲得如申請專利範圍第1項之式(I)多黏桿菌素衍生物。

88. 如申請專利範圍第87項之方法，包含以酵素進行步驟a)之裂解。

89. 如申請專利範圍第87項之方法，包含以化學方法進行步驟a)之裂解。

90. 如申請專利範圍第87項之方法，包含使用化學與酵素處理兩者之組合進行步驟a)之裂解。

91. 一種用於治療個體中格蘭氏陰性菌感染之醫藥組成物，包含一治療有效量之如申請專利範圍1至67項中任一項之衍生物以及一第二抗菌劑之組合。

92. 如申請專利範圍第91項之醫藥組成物，其中該第二抗菌劑係選自於由克拉黴素(clarithromycin)、日舒(azithromycin)、紅黴素與其他巨環類、酮內酯類、克林達黴素(clindamycin)與其他林克胺類(lincosamines)、鏈陽菌素(streptogramins)、利福平(rifampin)、利服布汀(rifabutin)、利福拉索(rifalazile)與其他利福黴素

(rifamycins)、梭鏈孢酸(fusidic acid)、莫匹羅星(mupirocin)、噁唑酮類、萬古黴素(vancomycin)、朵巴文星(dalbavancin)、替拉文星(telavancin)、奧瑞他文星(oritavancin)以及其他醣胜肽抗生素、氟奎諾酮類、桿菌肽(bacitracin)、四環黴素衍生物、β-內醯胺抗生素、新生黴素(novobiocin)、截短側耳素(pleuromutilins)、葉酸合成抑制劑、去甲醯基酶抑制劑，以及細菌流出泵抑制劑組成之族群。

93. 如申請專利範圍第91項之醫藥組成物，其中該個體為哺乳動物。

94. 如申請專利範圍第93項之醫藥組成物，其中該個體為人類。

95. 如申請專利範圍第91項之醫藥組成物，其中該細菌感染為大腸桿菌(*Escherichia coli*)、克雷白氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)、克雷白氏菌(*Klebsiella oxytoca*)、陰溝桿菌(*Enterobacter cloacae*)、佛氏檸檬酸桿菌(*Citrobacter freundii*)，或包氏不動桿菌(*Acinetpbacter baumannii*)之感染。

96. 如申請專利範圍第91項之醫藥組成物，其中該衍生物與該第二抗菌劑係與一醫藥上可接受之載體合併使用。