(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2012-520864
(P2012-520864A)
(43)公表日　平成24年9月10日(2012.9.10)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
C07D 413/14	(2006.01)	C07D 413/14	CSP	4C063
A61K 31/4439	(2006.01)	A61K 31/4439		4C084
A61P 31/06	(2006.01)	A61P 31/06		4C086
A61P 31/04	(2006.01)	A61P 31/04		
A61K 45/00	(2006.01)	A61K 45/00		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 14 頁）

(21)出願番号　特願2012-500313 (P2012-500313)
(86)(22)出願日　平成22年3月16日 (2010.3.16)
(85)翻訳文提出日　平成23年11月16日 (2011.11.16)
(86)国際出願番号　PCT/GB2010/050445
(87)国際公開番号　WO2010/106355
(87)国際公開日　平成22年9月23日 (2010.9.23)
(31)優先権主張番号　61/160,385
(32)優先日　平成21年3月16日 (2009.3.16)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　300022641
アストラゼネカ　アクチボラグ
スウェーデン国　１５１　８５　セーデルテルイェ（無番地）
(74)代理人　100140109
弁理士　小野　新次郎
(74)代理人　100075270
弁理士　小林　泰
(74)代理人　100080137
弁理士　千葉　昭男
(74)代理人　100096013
弁理士　富田　博行
(74)代理人　100122644
弁理士　寺地　拓己

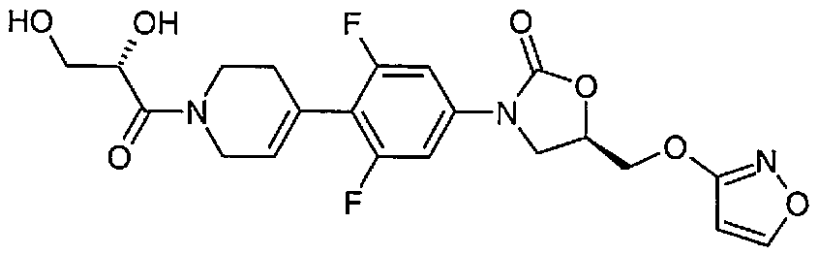
最終頁に続く

(54)【発明の名称】結核の治療のための化合物

(57)【要約】
結核菌の治療に使用の、（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステル。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
結核菌（Mycobacterium tuberculosis）の治療に使用の、（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステル。
【請求項２】
結核菌の治療に使用の医薬品の製造における、（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルの使用。
【請求項３】
結核菌の弱毒化の方法であって、医薬有効量の（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オンと結核性細胞を接触させて、それにより該細胞を弱毒化することを含む、前記方法。
【請求項４】
結核菌の治療のための方法であって、抗結核療法を必要とする患者へ（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルの治療有効量を投与することを含む、前記方法。
【請求項５】
（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルを１日１回以下投与する、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
１日１回以下の投与のための（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルを含んでなる医薬製剤。
【請求項７】
（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩を：ｉ）１以上の追加の抗菌剤；及び／又はｉｉ）１以上の抗感染症剤；及び／又はｉｉｉ）生体タンパク治療薬、例えば、抗体、サイトカイン、殺菌性／透過性亢進タンパク質（ＢＰＩ）産物；ｉｖ）結核の治療に有用な１以上の抗菌剤、及び／又はｖ）１以上の薬剤排出ポンプ阻害剤より選択される化学療法剤との組合せにおいて含んでなる、組合せ療法。
【請求項８】
１日１回以内の投与のための、請求項７に記載の組合せ療法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】

【０００１】
本発明は、結核の治療におけるＡＺＤ２５６３の使用に関する。
【背景技術】
【０００２】
結核は、結核菌（Mtu）によって引き起こされる疾患であり、１９９０年には、世界保健機構（ＷＨＯ）によって、世界的流行病であると宣言された。これには、世界の人口の１／３より多くが罹患して、毎年８００万人の新患者と２００万件の死亡例をもたらす。また、病原菌が無活動状態であるが個体の健康に対して明らかな影響を及ぼさずに体内に残るときに生じる、「潜伏結核（ＴＢ）」と呼ばれるシナリオも存在する。多くの症例では、このステージが数年又は数十年続く場合がある。普通のヒトの症例において、活性化の見込みは、生涯で２～２３％である。しかしながら、免疫不全患者（ＨＩＶのような）の症例では、活性化の見込みが毎年１０％へ上昇する。
【０００３】
薬剤感受性結核の現行の治療法は、少なくとも６ヶ月の長さであり、最初の２ヶ月はイソニアジド、リファンピシン、ピラジナミド、及びエタンブトールの組合せを必要として、４ヶ月の期間は、イソニアジドとリファンピシンを続ける。ここ数年、これら薬剤に対する薬剤耐性が高まってきたが、最後の結核用医薬品が臨床現場へ導入されたのは１９６０年代の後期である。耐性の進化は、現行で利用可能な抗結核剤が無効になる菌株をもたらす可能性があり、そのような症例での治療は、治癒の保証がないままに２年続くかもしれない。そこで、高まりつつある薬剤耐性を克服するだけでなく、全体の治療期間を改善するために、新薬、特に、新規の作用機序がある、及び／又は新たな薬理作用基（pharmacophoric groups）と新たな治療レジメンを含有するものを導入することへの焦眉の急がある。
【０００４】
R. Sood et al（Infectious Disorders - Drug Targets 2006, 343-354）は、「オキサゾリジノンは、臨床的に重要で多様な感受性及び耐性細菌に抗する広い活性スペクトルを有する、新しいクラスの完全合成抗菌剤である。これらの化合物は、タンパク質合成の開始期で翻訳を阻害することが示された。最初のオキサゾリジノンであるＤｕＰ－７２１は、実験動物へ経口又は非経口で投与するときに、結核菌に抗する良好な活性を示したが、動物モデルでの致死性の毒性のためにさらに開発されなかった。後に、２種のオキサゾリジノン、ＰＮＵ－１００４８０とリネゾリドは、マウスモデルにおいて有望な抗マイコバクテリウム活性を示した。リネゾリドが広いスペクトル領域での臨床使用を承認されたのに対して、ＰＮＵ－１００８４０は、さらに開発されなかった。ＤＡ－７８６７は、良好な in vitro 効力とリネゾリドより優れた in vivo 効力を示したが、ラット毒性試験では、忍容性に乏しかった。ＡＺＤ２５６３の抗マイコバクテリウム活性は探究されたことがない。ＲＢｘ７６４４がわずかな抗マイコバクテリウム活性を有したのに対して、ＲＢｘ８７００は、すべての遅成長性マイコバクテリウムに抗する強力な抗菌活性と濃度依存性の活性を有する。それは、細胞内の活性とともに、結核菌のＭＤＲ株に抗して、ＲＢｘ７６４４より優れた活性を示した」と報告している。
【０００５】
我々の公開特許出願ＷＯ－９９／６４４１７において、我々は、化合物：
【０００６】
【化１】



【０００７】
即ち、ＡＺＤ２５６３としても知られる（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オンを開示する。R. Sood et al（前掲書）によって報告されているように、ＡＺＤ２５６３の抗マイコバクテリウム活性は、探究されたことがない。

【発明の概要】

【０００８】
本発明の第一の側面において、我々は、今回、（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルを結核菌の治療における使用に提供する。

【０００９】
該化合物は、安定した酸性又は塩基性の塩を形成し得て、そのような場合、化合物の塩としての投与が適正であり得て、以下に記載のような慣用法によって医薬的に許容される塩を作製してよい。

【００１０】
好適な医薬的に許容される塩には、メタンスルホン酸塩、トシラート、α－グリセロリン酸塩、フマル酸塩、塩酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、及び臭化水素酸塩のような酸付加塩が含まれる。また適しているのは、リン酸や硫酸とともに形成される塩である。別の側面において、好適な塩は、アルカリ金属（例えば、ナトリウム）塩、アルカリ土類金属（例えば、カルシウム又はマグネシウム）塩、有機アミン（例えば、トリエチルアミン、モルホリン、Ｎ－メチルピペリジン、Ｎ－エチルピペリジン、プロカイン、ジベンジルアミン、Ｎ，Ｎ－ジベンジルエチルアミン、トリス－（２－ヒドロキシエチル）アミン、Ｎ－メチルｄ－グルカミン、及びリジンのようなアミノ酸）塩のような塩基性塩である。荷電官能基の数とカチオン又はアニオンの原子価に依存して、１より多いカチオン又はアニオンがあり得る。本発明の１つの側面において、医薬的に許容される塩は、ナトリウム塩である。

【００１１】
しかしながら、製造の間で塩の単離を容易にするには、医薬的に許容されるかどうかにかかわらず、選択した溶媒にさほど溶けない塩を利用してよい。

本発明では、該化合物又はその塩が互変異性の現象を明示する場合があって、本明細書内の式図がその可能な互変異性型の１つだけを表し得ると理解されたい。本発明にはどの互変異性型も含まれて、式図内で利用されるどの１つの互変異性型だけにも限定されないと理解されたい。本明細書内の式図は、その可能な互変異性型の１つだけを表し得るのであって、本明細書には、本明細書で描いて示すことが可能である形態だけでない、引用される化合物のすべての可能な互変異性型が含まれると理解されたい。

【００１２】
本発明には、抗結核特性を保有する、あらゆる追加の不斉置換炭素及びイオウ原子（複数）での、あらゆるラセミ型、光学活性型、多形又は立体異性型、又はこれらの混合物が含まれると理解されたい。

【００１３】
光学活性型は、当該技術分野で知られた手順によって、例えば、再結晶化技術によるラセミ型の分割によって、光学活性のある出発材料からの合成によって、キラル合成によって、酵素分割によって、生物学的転換によって、又はキラル定常相を使用するクロマトグラフィー分離によって製造し得る。

【００１４】
該化合物は、多形性を示す場合がある。本発明には、抗結核特性を保有する、あらゆる多形型、又はその混合物が含まれると理解されたい。

また、本発明の化合物とその塩は、非溶媒和型だけでなく、例えば、水和型のような溶媒和型でも存在し得ると理解されたい。本発明には、抗結核特性を保有する、すべてのそのような溶媒和型の使用が含まれると理解されたい。

【００１５】

我々の研究は、ＡＺＤ２５６３が、リネゾリドと比較するときに、より低い曝露でより長い時間の間、抗結核剤として作用し得ることを示した。これにより、リネゾリドが１日２回投薬されるのに対して、１日１回の投薬が可能になるかもしれない。理論上の考察によって束縛されることを望まないが、これにより、改善された安全性プロフィールが提供される可能性がある。

【００１６】

本発明のさらなる側面において、我々は、ＡＺＤ２５６３又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルの、結核菌の治療に使用の医薬品の製造における使用を提供する。

【００１７】

本発明のさらなる側面において、我々は、結核菌の弱毒化の方法を提供し、該方法は、結核菌により感染された細胞を、ＡＺＤ２５６３又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルの医薬有効量と接触させて、それにより該細胞を弱毒化することを含む。

【００１８】

本発明のさらなる側面において、我々は、結核菌の治療のための方法を提供し、該方法は、抗結核療法を必要とする患者へＡＺＤ２５６３又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルの治療有効量を投与することを含む。

【００１９】

本発明のさらなる側面では、（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルを１日１回以内投与する。

【００２０】

本発明のさらなる側面において、我々は、（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン又はその医薬的に許容される塩、又はその in vivo 加水分解可能エステルを含んでなる医薬製剤を１日１回以内の投与のために提供する。

【００２１】

ＡＺＤ２５６３は、ヒトと動物の両方の療法に使用し得ると理解されよう。それぞれが本発明の独立した側面を表す。

組合せ

本明細書に記載する本発明の化合物は、単独療法として適用しても、本発明の化合物に加えて、１以上の他の物質及び／又は治療薬を伴ってもよい。そのような併用治療は、治療の個別成分の同時、連続、又は分離投与により達成され得る。投与が連続的又は分離的である場合、第二の成分を投与することにおける遅れは、この組合せの有益な効果を失わせるようなものであってはならない。

【００２２】

好適な群及び物質は、以下の１以上より選択してよい：

ｉ）他の抗菌剤、例えば、マクロライド（例、エリスロマイシン、アジスロマイシン、カプレオマイシン、又はクラリスロマイシン）；キノロン（例、シプロフロキサシン又はレボフロキサシン）；β－ラクタム（例、ペニシリン、アモキシシリン、又はピペラシリン）；セファロスポリン（例、セフトリアキソン又はセフタジジム）；カルバペネム（例、メロペネム又はイミペネム、等）；アミノグリコシド（例、ゲンタマイシン又はトブラ

マイシン）；又はオキサゾリジノン；及び／又は
ｉｉ）抗感染症剤、例えば、抗真菌性のトリアゾール（例、アンホテリシン）；及び／又は
ｉｉｉ）生体タンパク治療薬、例えば、抗体、サイトカイン、殺菌性／透過性亢進タンパク質（ＢＰＩ）産物；及び／又は
ｉｖ）リファンピシン、イソニアジド、ピラジナミド、エタンブトール、キノロン（例、モキシフロキサシン又はガチフロキサシン）、ストレプトマイシン、シクロセリン、エチオナミド、チアセタゾン、ｐ－アミノサリチル酸（ＰＡＳ）、アミカシン、カナマイシン、クロファジミンの１以上といった、結核の治療に有用な１以上の抗菌剤、
ｖ）薬剤排出ポンプ阻害剤。

【００２３】
故に、本発明のさらなる側面において、我々は、（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン、又はその医薬的に許容される塩を：
ｉ）１以上の追加の抗菌剤；及び／又はｉｉ）１以上の抗感染症剤；及び／又はｉｉｉ）生体タンパク治療薬、例えば、抗体、サイトカイン、殺菌性／透過性亢進タンパク質（ＢＰＩ）産物；ｉｖ）結核の治療に有用な１以上の抗菌剤、及び／又はｖ）１以上の薬剤排出ポンプ阻害剤より選択される化学療法剤との組合せにおいて含んでなる、組合せ療法を提供する。

【００２４】
本発明のさらなる側面において、組合せ療法は、１日１回以内の投与のために提供される。
これから本発明について例解するが、本発明は、以下の具体的な記載に限定されるものではない。

【００２５】
（５Ｒ）－３－［４－［１－［（２Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロパノイル］－３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－４－イル］－３，５－ジフルオロ－フェニル］－５－（イソオキサゾール－３－イルオキシメチル）オキサゾリジン－２－オン（ＡＺＤ２５６３）の合成については、我々の公開特許出願：ＷＯ９９／６４４１７に開示されている。

【００２６】
比較対照薬として、Ｎ－［（Ｓ）－３－（３－フルオロ－４－モルホリン－４－イル－フェニル）－２－オキソ－オキサゾリジン－５－イルメチル］－アセトアミドである、リネゾリド（Ｚｙｖｏｘ（登録商標）として市販されている）について概説した。

【００２７】
生物学的試験の手順
細菌感受性試験法
化合物について、液体培地中の感受性試験によって抗微生物活性を試験することができる。化合物をジメチルスルホキシドに溶かして、１０回の倍々希釈液において、感受性アッセイで試験してよい。アッセイに使用する微生物を好適な寒天培地上で一晩増殖させてから、その微生物の増殖に適した液体培地に懸濁してよい。この懸濁液は、０．５マクファーランド（McFarland）であり得て、同じ液体培地でさらに１０倍希釈して、最終の微生物懸濁液を１００μＬで調製することができる。プレートを適切な条件下に３７℃で２４時間インキュベートしてから読み取ることができる。増殖を９０％以上抑えることが可能な最低の薬物濃度として最小阻止濃度（ＭＩＣ）を決定してよい。

【００２８】
in vitro マイコバクテリウム感受性試験法
ＭＩＣ検査用プロトコール：Microplate Alamar Blue アッセイ（Franzblau et al, 1998. J. Clin. Microbiol. 36: 362-366）。細菌培養物：Ｍｔｕ　Ｈ３７Ｒｖ（ＡＴＣＣ２７２９４）を－７０℃で保存して、感染に使用した。

【００２９】
滅菌９６ウェルプレートのすべての外周ウェルへ２００マイクロリットルの滅菌脱イオン水を加えて、試験ウェル中の培地のインキュベーションの間の蒸発を最少化した。別の９６ウェルプレートにおいて、６４μｇ／ｍｌより始めて０．５μｇ／ｍｌへ至る、化合物のＤＭＳＯでの連続２倍希釈液を作製した。このうちの４μｌ容量を、マルチチャネルピペットを使用することによって、Ｂ～Ｇ行、２～１０列の試験ウェルへ分配した。このすべてのウェルへ約５ｘ１０^{5}ｃｆｕ／ｍｌの細胞数へ希釈した２００μＬのＭｔｕ培養液を加えて、このウェルの内容物をよく混合した。１１列中の３つのウェルは、薬物フリー（接種物のみ）の対照として役立てた。そして、３つのウェルを薬物フリー培地の対照として役立てた。このプレートを３７℃で５日間インキュベートした。Alamar Blue（Accumed International，オハイオ州ウェストレーク）試薬と１０％　Ｔｗｅｅｎ８０の用時調製した１：１混合物の５０マイクロリットルをＢ１１ウェルへ加えた。このプレートを３７℃で２４時間再インキュベートした。Ｂ１１ウェルがピンク色になったならば、この試薬混合物をマイクロプレート中の全ウェルへ加えた（このウェルが青色のままであれば、試薬混合物を別の対照ウェルへ加えて、この結果を翌日読み取ることにした）。マイクロプレートを３７℃でさらに２４時間再インキュベートして、すべてのウェルの色を記録した。ウェル中の青色は「増殖なし」と解釈して、ピンク色は、「増殖あり」と記録した。

【００３０】
ＭＩＣは、青色からピンク色への色変化を妨げる最低の薬物濃度と定義した。
上記の実験からの結果が得られたらすぐに、最小殺菌濃度（ＭＢＣ）の定量のために反復ＭＩＣアッセイを同一２検体で設定する。上記に詳述したようなインキュベーションの後で、第二のプレートからの対応するＭＩＣウェルより、並びに最高濃度までのウェルより１００μｌを７Ｈ１０寒天プレートに蒔く。これらのプレートを３７℃で１５～２０日間インキュベートする。陽性対照ウェルからのアリコートを増殖対照として役立てて、培地ウェルからの１００μｌアリコートを陰性対照として役立てる。２１日後、各プレートについて、目視により、又はコロニーカウンターでコロニー形成単位（ＣＦＵ）を記録する。５０未満のコロニーが得られる濃度をＭＢＣと呼ぶ。

【００３１】
骨髄由来マクロファージ（ＢＭＤＭ）の培養及び感染
ＢＡＬＢ／ｃマウスより骨髄由来マクロファージを入手した。CO_2への曝露によってマウスを安楽死させて、大腿骨と脛骨を切り取った。骨を両端でトリミングして、２６ゲージ針を使用して、冷たいＲＰＭＩ１６４０培地とともに骨髄を流出させた。次いで、この細胞懸濁液を培地で２回洗浄して、２４ウェルプレート中の１０％胎仔ウシ血清（ＦＢＳ）とＬ９２９（マウス線維芽細胞系）の２０％培養上清を補充したＲＰＭＩ　１６４０培地に２ｘ１０^{6}細胞／ｍｌで蒔いた。この細胞を、培地を２回交換して、５％　CO_2において３７℃で７日間インキュベートした。

【００３２】
培養８日目に、マクロファージをＭｔｕでの感染に使用した。それらを定型の培養条件で２時間、１：１０のＭＯＩ（マクロファージ：細菌）で感染させた。２時間後、その単層を予温したリン酸緩衝化生理食塩水で２回徹底的に洗浄して余分の細菌を除去して、異なる濃度（０．５～８ｍｇ／Ｌ）の薬物を含有するすべての上清を含むＲＰＭＩ１６４０と交換した。細胞を含有するプレートについて定期的に観察して、細胞形態のあらゆる変化（薬物の毒性による）又は単層の溶解に注目した。（感染後の）薬物曝露の１０日後に単層を穏やかに洗浄して、０．０４％　ＳＤＳで溶解させて、栄養のある７Ｈ１１寒天上へ蒔いた。加湿雰囲気において３７℃、５％　CO_2で２１日間のプレートのインキュベーションの後で、細菌のコロニー形成を計数した。各薬物濃度についての平均Log_{10}平均ＣＦＵとしてデータを表して、この実験全体を２回繰り返した。

【００３３】
in vivo 用量－応答試験（効力検査法）

少数の結核菌での呼吸器感染に続いて薬物の効果を評価するエアゾール感染モデルを使用した。バイオセイフティーレベル３の施設において、エアゾール感染チャンバ内でマウスを吸入経路より感染させた。感染の日に、ＢＡＬＢ／ｃマウス（８～１０週齢）を呼吸経路より感染させて、１００～２００結核菌／動物を達成した。感染から４週後、マウスに体重１ｋｇにつき１００～１２５ｍｇを１日１回経口で投薬して、この療法を週６日、４週間施した。治療の開始時とその完了後２４時間目にマウスの群をCO_2への曝露によって殺して、両肺を無菌的に取り出して、Wheaton テフロンガラス組織粉砕器（型番Ｗ０１２５７６）を使用することによる、最終容量３ｍｌのホモジェナイゼーションへ処した。それぞれの懸濁液を１０倍ステップで連続希釈して、少なくとも３つの希釈液を、１０％アルブミンデキストロースカタラーゼ（Difco Laboratories）を補充した Middlebrook ７Ｈ１１寒天上へ蒔いて、５％ CO_2とともに３７℃で３週間インキュベートした。このプレートについてコロニー形成単位（ＣＦＵ）を計数して、その効果を無処置対照に対して比較する。

【００３４】

統計解析

プレーティングより得られるコロニーカウント数をLog_{10}（ｘ＋１）［ここでｘは、所与の試料に存在する生存結核菌の全数に等しい］へ変換した。統計評価には Prism ソフトウェア（バージョン３；Graph Pad Software 社、カリフォルニア州サンディエゴ）を使用した。

【００３５】

薬物動態（ＰＫ）変数の評価

ＢＡＬＢ／ｃマウス（８～１０週齢）に、適正な担体中の特定用量の化合物を１０ｍＬ／Ｋｇの投薬容量で投薬した。この用量は、経口又は非経口のいずれかで投与した。投薬後０．０８時間～５０時間に及ぶ様々な時点で血液試料を採取して、沈降又は抽出のような許容される方法によって血漿を採取した。ＨＰＬＣ及び／又はＬＣ－ＭＳのような標準分析装置によって、化合物の血漿濃度を定量した。

【００３６】

ＰＫ分析：

血漿濃度－時間の関係についてのＰＫ分析を WinNonLin ソフトウェア（又は他の好適なソフトウェアプログラム）で実施した。ノンコンパートメント分析プログラムを使用して、薬物の最高血中濃度（C_{max}）、C_{max}への時間（t_{max}）、消失速度定数、消失半減期、及び０～無限の時間の（AUC_{0-inf}）といったＰＫ変数を計算した。

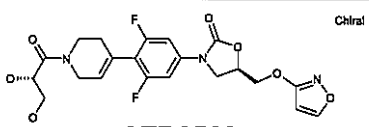
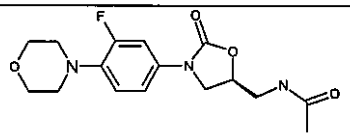
【００３７】

上記のアッセイにおいてＡＺＤ２５６３を試験して、以下の結果を得た：

表１：ＡＺＤ２５６３及びリネゾリドの微生物学的活性の比較

【００３８】

【表１】

	AZD2563	リネゾリド
構造	 AZD2563	 Linezolid
MIC Mtu（μg/mL）	0.5	0.5
MBC Mtu（μg/mL）	2.0	4
BMDM（8μg/mLでの対数抑制）	1.3	-0.05
4週有効性モデルにおける最小有効用量（mg/kg）	125	250
AUC（時間･μg/mL）	150.39	278.7
PPB（画分フリー）	0.18	0.70
fAUC	27.07	195.12
fAUC/MIC	54.14	390.24

【００３９】

我々の研究は、細胞内感染モデル（ＢＭＤＭ）において、ＡＺＤ２５６３がリネゾリドに比較してより大きい殺菌活性を有することを示した。効力実験においてＰＫ／ＰＤ指標を比較すると、ＡＺＤ２５６３が、リネゾリドと比較するとき、最小有効用量でずっとより低い曝露を示して、より低いｆＡＵＣ／ＭＩＣを必要としても、同等の効力をもたらすことがわかる。

【００４０】

表２：様々な種におけるＡＺＤ２５６３及びリネゾリドのＰＫ特性の比較

【００４１】

【表２】

種	ＰＫ変数	リネゾリド	AZD2563
マウス（10mg/kg）	$t_{1/2}$	1	1.3
	PPB	0.70	0.18
	AUC	7.3	20.3
ラット（20-25mg/kg）	$t_{1/2}$	1.3-3.0	4.0-6.0
	PPB	0.78	0.13
	AUC	41.6	9
イヌ（12.5-15mg/kg）	$t_{1/2}$	4	10
	PPB	0.70	0.35
	AUC	42	42

【００４２】

該化合物を動物へ様々な用量（２５ｍｇ／ｋｇを超えない）で投薬して、様々な時点での該化合物の濃度を評価した。データを解析して、ＡＵＣ、$t_{1/2}$、及びｆＡＵＣ／ＭＩＣのようなＰＫ変数を評価して、そのデータを上記の表に示した。このデータより、より長い$t_{1/2}$とより低い曝露といったＰＫ変数がすべての種で適用されるように見えるので、様々な種において毒性や投与間隔に関して同様の結論を下すことができよう。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2010/050445

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/4439 A61K45/06 A61P31/06
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99/64417 A2 (ZENECA LTD [GB]; GRAVESTOCK MICHAEL BARRY [GB]) 16 December 1999 (1999-12-16) cited in the application	6-8
Y	page 1, lines 3-16 page 50, lines 8-16, 26 - page 51, line 3 page 51, lines 10-13 example 21	1-8
X	WO 03/099217 A2 (ACTIVBIOTICS INC [US]) 4 December 2003 (2003-12-04)	6-8
Y	page 2, lines 19-23 page 7, line 1 page 9, line 25 page 17, lines 12-15	1-8

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the International filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
1 July 2010	16/07/2010

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax (+31-70) 340-3016	Houyvet-Landriscina

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2010/050445

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/070084 A1 (ACTIVBIOTICS INC [US]; MURPHY CHRISTOPER K [US]; ROTHSTEIN DAVID M [US) 21 June 2007 (2007-06-21)	6-8
Y	page 2, paragraphs 1, 5 - page 3, paragraph 1 page 14, paragraph 1 page 15, paragraph 5 claims 6-10	1-8
X	HUDSON A. ET AL.: "The current anti-TB drug research and development pipeline" Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR) 2003, pages 1-44, XP002589731 Retrieved from the Internet: URL:http://www.who.int/tdrold/cd_publications/pdf/anti-tb_drug.pdf [retrieved on 2010-06-29]	6
Y	pages 25,37	1-8
Y	WOOKEY A ET AL: "AZD2563, a novel oxazolidinone: definition of antibacterial spectrum, assessment of bactericidal potential and the impact of miscellaneous factors on activity in vitro." CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTION : THE OFFICIAL PUBLICATION OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES MAR 2004 LNKD-PUBMED:15008947, vol. 10, no. 3, March 2004 (2004-03), pages 247-254, XP002589732 ISSN: 1198-743X * abstract page 247 page 248, column 2, paragraph 4 page 250, column 1, paragraph 2 - column 2, paragraph 1 page 252, column 1, paragraph 2 - column 2, paragraph 1	1-8
Y	DIEKEMA D J ET AL: "Oxazolidinone antibiotics" LANCET THE, LANCET LIMITED. LONDON, GB LNKD- DOI:10.1016/S0140-6736(01)06964-1, vol. 358, no. 9297, 8 December 2001 (2001-12-08), pages 1975-1982, XP004805504 ISSN: 0140-6736 * abstract table 1 page 1979, column 2, paragraph 3	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/GB2010/050445

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9964417 A2	16-12-1999	AU 753988 B2	31-10-2002
		AU 4157199 A	30-12-1999
		BG 105001 A	28-09-2001
		BR 9910971 A	13-02-2001
		CA 2333332 A1	16-12-1999
		CN 1311787 A	05-09-2001
		EE 200000707 A	15-04-2002
		EP 1082323 A2	14-03-2001
		HU 0103082 A2	28-10-2002
		ID 30299 A	22-11-2001
		IS 5747 A	30-11-2000
		JP 2002517498 T	18-06-2002
		MX PA00011536 A	17-10-2002
		NO 20006152 A	02-02-2001
		NZ 508174 A	31-10-2003
		PL 345162 A1	03-12-2001
		SK 18362000 A3	11-06-2001
		TR 200003595 T2	23-07-2001
		US 6617339 B1	09-09-2003
WO 03099217 A2	04-12-2003	AU 2003265241 A1	12-12-2003
		CA 2490062 A1	04-12-2003
		EP 1531828 A2	25-05-2005
WO 2007070084 A1	21-06-2007	AU 2006325493 A1	21-06-2007
		CA 2631954 A1	21-06-2007
		CN 101365455 A	11-02-2009
		EP 1971342 A1	24-09-2008

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．テフロン

(72)発明者 カヴェリ，ダス
インド国 ５６０ ０２４ バンガロール，ヘバル，ベラリー・ロード，アストラゼネカ・インディア・プライベート・リミテッド
(72)発明者 メルニック，デヴィッド・アラン
アメリカ合衆国デラウェア州１９８５０－５４３７，ウィルミントン，コンコード・パイク １８００，ピー・オー・ボックス １５４３７，アストラゼネカ・アール・アンド・ディー・ウィルミントン
(72)発明者 ラダ，シャンディル
インド国 ５６０ ０２４ バンガロール，ヘバル，ベラリー・ロード，アストラゼネカ・インディア・プライベート・リミテッド

Ｆターム(参考) 4C063 AA03 BB05 CC52 DD11 EE01
4C084 AA19 NA05 ZA591 ZB321 ZB351 ZC751
4C086 AA01 AA02 AA03 BC69 GA07 GA09 MA01 MA02 MA04 NA14
ZA59 ZB32 ZB35 ZC75