

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6486271号
(P6486271)

(45) 発行日 平成31年3月20日(2019.3.20)

(24) 登録日 平成31年3月1日(2019.3.1)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 38/12 (2006.01)	A 6 1 K 38/12
A 6 1 K 31/407 (2006.01)	A 6 1 K 31/407
A 6 1 K 31/496 (2006.01)	A 6 1 K 31/496
A 6 1 K 31/702 (2006.01)	A 6 1 K 31/702
A 6 1 K 31/7052 (2006.01)	A 6 1 K 31/7052

請求項の数 18 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-525879 (P2015-525879)
(86) (22) 出願日	平成25年8月7日(2013.8.7)
(65) 公表番号	特表2015-524461 (P2015-524461A)
(43) 公表日	平成27年8月24日(2015.8.24)
(86) 國際出願番号	PCT/EP2013/066551
(87) 國際公開番号	W02014/023766
(87) 國際公開日	平成26年2月13日(2014.2.13)
審査請求日	平成28年5月10日(2016.5.10)
審判番号	不服2018-1432 (P2018-1432/J1)
審判請求日	平成30年2月2日(2018.2.2)
(31) 優先権主張番号	12005743.5
(32) 優先日	平成24年8月8日(2012.8.8)
(33) 優先権主張國	歐州特許庁(EP)

(73) 特許権者	512029010 ポリフォー・アクチングゼルシャフト POLYPHOR AG イス、ツェーハー-4 1 2 3アルシュヴィル、ヘーゲンハイマー・マットヴェーク1 25番
(74) 代理人	100101454 弁理士 山田 卓二
(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子
(74) 代理人	100156144 弁理士 落合 康

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】環状骨格ペプチドとの組合せ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式：

シクロ(-Thr-Trp-Ile-Dab-Orn-^DDab-Dab-Trp-Da
b-Dab-Ala-Ser-^DPro-Pro) (I)

(式中、

Dabは、(S)-2,4-ジアミノブタン酸であり；

^DDabは、(R)-2,4-ジアミノブタン酸であり；

Ornは、(S)-2,5-ジアミノペンタン酸である)

の-ヘアピンペプチド模倣体、ならびに

エルタペネム、アジスロマイシン、シプロフロキサシンまたはアミカシンから選択される
抗菌活性を有するさらなる化合物、あるいはその医薬上許容し得る塩、水和物または溶媒
和物を含む、組合せ抗菌剤。

【請求項 2】

さらなる抗菌性化合物が、エルタペネムまたはその医薬上許容し得る塩である、請求項
1に記載の組合せ抗菌剤。

【請求項 3】

さらなる抗菌性化合物が、アジスロマイシンまたはその医薬上許容し得る塩である、請
求項 1に記載の組合せ抗菌剤。

10

20

【請求項 4】

さらなる抗菌性化合物が、シプロフロキサシンまたはその医薬上許容し得る塩である、請求項 1 に記載の組合せ抗菌剤。

【請求項 5】

さらなる抗菌性化合物が、アミカシンまたはその医薬上許容し得る塩である、請求項 1 に記載の組合せ抗菌剤。

【請求項 6】

医薬に使用するための、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組合せ抗菌剤。

【請求項 7】

ヒトまたは動物において感染または前記感染に関連のある疾患を治療するための、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組合せ抗菌剤。10

【請求項 8】

ヒトまたは動物において感染または前記感染に関連のある疾患の治療において使用するための、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組合せ抗菌剤。

【請求項 9】

ヒトまたは動物において感染または前記感染に関連のある疾患を治療するための医薬組成物の製造のための、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組合せ抗菌剤の使用。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組合せ抗菌剤、および少なくとも 1 つの医薬上不活性な担体を含む、医薬組成物。20

【請求項 11】

経口投与、局所投与、経皮投与、注射投与、点滴投与、口腔投与、経粘膜投与、直腸投与、膣内投与、経肺投与または吸入投与に適切な形態、特に錠剤、糖衣錠、カプセル剤、溶液剤、液剤、ゲル剤、プラスター剤、クリーム剤、軟膏剤、シロップ剤、スラリー剤、粉剤、懸濁剤、スプレー剤、ネプライザーまたは坐剤の形態にある、請求項 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

ヒトまたは動物において感染または前記感染に関連のある疾患を治療するための、請求項 10 または請求項 11 に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

30

式：

シクロ(-Thr-Trp-Ile-Dab-Orn-^DDab-Dab-Trp-Da
b-Dab-Ala-Ser-^DPro-Pro) (I)

(式中、

Dabは、(S)-2,4-ジアミノブタン酸であり；

^DDabは、(R)-2,4-ジアミノブタン酸であり；

Ornは、(S)-2,5-ジアミノペンタン酸である)

の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、およびエルタペネム、アジスロマイシン、シプロフロキサシンまたはアミカシンから選択される抗菌活性を有する化合物、その医薬上許容し得る塩、水和物または溶媒和物を含有する部分を含む、抗菌用キット。40

【請求項 14】

抗菌活性を有する化合物が、エルタペネムまたはその医薬上許容し得る塩である、請求項 13 に記載のキット。

【請求項 15】

抗菌活性を有する化合物が、アジスロマイシンまたはその医薬上許容し得る塩である、請求項 13 に記載のキット。

【請求項 16】

抗菌活性を有する化合物が、シプロフロキサシンまたはその医薬上許容し得る塩である、請求項 13 に記載のキット。50

【請求項 17】

抗菌活性を有する化合物が、アミカシンまたはその医薬上許容し得る塩である、請求項 13 に記載のキット。

【請求項 18】

ヒトまたは動物において感染または前記感染に関連する疾患を治療するための、請求項 13 ~ 17 のいずれか一項に記載のキット。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、ヒトまたは動物において特定の微生物感染に関する治療的コントロールを可能とする化合物の組合せを、単独で投与されるどちらの化合物の用量よりも低い用量で提供する。この化合物の 1 つは、病原体に特異的な抗菌性を有する、 - ヘアピン様コンフォメーションに特定の構造的拘束を提供するテンプレートに結合した 12 個の - アミノ酸残基の鎖を組み込んでいる環状骨格ペプチドであり、これは高い有効性およびバイオアベイラビリティーならびに卓越した長いインビボ半減期を示す。

【0002】

確立された抗生物質に対する細菌の耐性に関して深刻化する問題は、新しい作用様式を有する新規抗菌剤の開発への強い関心を刺激してきた(H. Breithaupt, Nat. Biotechnol. 1999, 17, 1165-1169)。1 つの新たな抗生物質の分類は、天然のカチオン性ペプチドに基づくものである(T. Ganz, R. I. Lehrer, Mol. Medicine Today 1999, 5, 292-297; R. M. Epand, H. J. Vogel, Biochim. Biophys. Acta 1999, 1462, 11-28)。これらには、ジスルフィド架橋した - ヘアピンおよび - シートペプチド [例えば、プロテグリン類 (O. V. Shamova, H. A. Korneva, R. I. Lehrer, FEBS Lett. 1993, 327, 231-236) 、タキプレシン類 (T. Nakamura, H. Furunaka, T. Miyata, F. Tokunaga, T. Muta, S. Iwanaga, M. Niwa, T. Takao, Y. Shimonishi, Y. J. Biol. Chem. 1988, 263, 16709-16713) およびディフェンシン類 (R. I. Lehrer, A. K. Lichtenstein, T. Ganz, Annu. Rev. Immunol. 1993, 11, 105-128) 、両親媒性 - ヘリカルペプチド類 (例えば、セクロピン類、ダーマセプチン類、マガイニン類およびメリチン類 (A. Tossi, L. Sandri, A. Giangaspero, Biopolymers 2000, 55, 4-30)] ならびにその他の直線構造およびループ構造のペプチド類が挙げられる。抗菌性カチオンペプチドの作用機構は、まだ完全には理解されていないが、相互作用に関するその最初の部位は微生物細胞膜である(H. W. Huang, Biochemistry 2000, 39, 8347-8352)。これらの剤への暴露により、細胞膜は透過性となり、その後急速に細胞死へと至る。しかし、より複雑な作用機構 (例えば、受容体介在性シグナル伝達を含む) を無視することはできない(M. Wu, E. Maier, R. Benz, R. E. Hancock, Biochemistry 1999, 38, 7235-7242; M. Scocchi, A. Tossi, R. Gennaro, Cell. Mol. Sci. 2011, 68, 2317-2330)。

【0003】

これら多くのカチオン性ペプチドの抗菌活性は、通常、その好ましい二次構造と相關しており、水溶液または膜様環境のいずれかにおいて認められる(N. Sitaram, R. Nagaraj, Biochim. Biophys. Acta 1999, 1462, 29-54)。核磁気共鳴 (NMR) 分光法による構造試験から、カチオン性ペプチド、例えばプロテグリン 1 (A. Aumelas, M. Mangoni, C. Roumestand, L. Chiche, E. Despaux, G. Grassy, B. Calas, A. Chavanieu, A. Eur. J. Biochem. 1996, 237, 575-583; R. L. Fahrner, T. Dieckmann, S. S. L. Harwig, R. I. Lehrer, D. Eisenberg, J. Feigon, J. Chem. Biol. 1996, 3, 543-550) およびタキプレシン I (K. Kawano, T. Yoneya, T. Miyata, K. Yoshikawa, F. Tokunaga, Y. Terada, S. J. Iwanaga, S. J. Biol. Chem. 1990, 265, 15365-15367) は、2 つのジスルフィド架橋の拘束効果により、規定される - ヘアピンコンフォメーションをよくとることが示された。しかし、高い溶血活性のために、抗生物質としてのその広範な用途が妨害されている。NMR による最近の構造試験から、高い溶血活性は、環状 - ヘアピン様分子の高い両親媒性と相關しているようであるが、コンフォメーションおよび両親媒性を変更することに

10

20

30

40

50

より、抗菌活性と溶血活性とは無関係であると考え得ることが示された(L. H. Kondejewski, M. Jelokhani-Niaraki, S. W. Farmer, B. Lix, M. Kay, B. D. Sykes, R. E. Hancock, R. S. Hodges, J. Biol. Chem. 1999, 274, 13181-13192; C. McInnesL. H. Kondejewski, R. S. Hodges, B. D. Sykes, J. Biol. Chem. 2000, 275, 14287-14294)。

【0004】

最近、これらの設計基準に従う一連の抗菌性化合物が、WO 2007079605、WO 2007079597に各々開示されており、これらは特に緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)に対して高い有効性と低い血液毒効果とを併せもつ。この一連の化合物は、WO 2002070547およびWO 2004018503においてこれらの概念を導入する先行の開示内容に後続するものである。そこに記述された化合物を用いて、高い選択的抗菌活性を提示する環状骨格のカチオン性ペプチド模倣体における -ヘアピンコンフォメーションを安定させるために新規ストラテジーが導入された。このストラテジーは、カチオン性および疎水性ヘアピン配列をテンプレート上に移行させることを含んでおり、この役割はペプチドループ骨格をヘアピン立体配置に拘束することである。

【0005】

このタイプのテンプレート結合ヘアピン模倣ペプチド類は、文献(D. Obrecht, M. Altorfer, J. A. Robinson, Adv. Med. Chem. 1999, 4, 1-68; J. A. Robinson, Syn. Lett. 2000, 4, 429-441)にも記述されおり、コンビナトリアル法およびパラレル合成法を用いて -ヘアピンペプチド模倣体を作成する技術が確立されている(L. Jiang, K. Moehle, B. Dhanapal, D. Obrecht, J. A. Robinson, Helv. Chim. Acta. 2000, 83, 3097-3112)。

【0006】

有病率の増加および多剤耐性細菌の蔓延を解消するための別法は、一般に使用される抗生素質類、例えばアミノグリコシド類、 -ラクタム類、キノロン類またはマクロライド類を改変して、さらなる開発を行なうことである：

アミノグリコシド類は、有効な広範囲スペクトルの抗生素質として主要な役割を果たす。ストレプトマイシンの発見以来、幾つかの他の天然由来生成物の半合成アミノグリコシド類、例えばネオマイシン、カナマイシン、パロモマイシン、ゲンタマイシン、トプラマイシン、シソマイシン、アミカシン、イセパマイシン、ネチルミシンおよびアルベカシンが開発してきた(I.R. Hooper, aminoglycoside Antibiotics, edited by H. Umezawa, I.R. Hooper, Springer Verlag, Berlin, 1982; P. Dozzo, H.E. Moser, Expert Opin. Ther. Patents, 2010, 20, 1321)。例えば、アミカシンは、多剤耐性グラム陰性細菌、例えばエンテロバクター(*Enterobacter*)および緑膿菌による院内感染を治療するために使用されることが多い(E.M. Scholar, W. B. Pratt, The Antimicrobial Drugs, 2nd edition, Oxford University Press, Inc. New York, 2000, 150)。しかし、有効な細菌薬剤排出ポンプ、および /あるいはメチル化、N - アセチル化、O - ホスホリル化またはO - アデニル化による分子修飾によってアミノグリコシド類を不活性化させる酵素は、2つの主要な耐性機構を構成するものである(P. Dozzo, H.E. Moser, Expert Opin. Ther. Patents, 2010, 20, 1321)。

【0007】

ペニシリングの広範な治療的用途のために、多くの改良された -ラクタム抗生素質が設計および開発されてきた(K. Bush, M.J. Macielag, Expert Opin. Ther. Patents, 2010, 20, 1277)。 -ラクタム抗生素質には、ペナム(ペニシリン)、ペネム、カルバペネム、セフェム(セファロスボリン)、カルバセフェムおよびモノバクタムのサブファミリーが挙げられる。エルタペネム、即ちカルバペネムサブファミリーの一員は、グラム陽性およびグラム陰性細菌に対して有効であるが(L.L. Estes, J.W. Wilson, Antimicrobials in Mayo Clinic Internal Medicine Board Review, edited by A.K. Gosh, Oxford University Press, Inc., 2010, 565)、一方でペニシリングは、主にグラム陽性生物に対して有効性を示すことに注目すべきである(L.L. Estes, J.W. Wilson, Antimicrobials in Mayo Clinic Internal Medicine Board Review, edited by A.K. Gosh, Oxford University Press, Inc., 2010, 560)。 -ラクタム耐性に関する重要な機序は、 -ラクタマーゼによ

10

20

30

40

50

る - ラクタム環の加水分解である。 - ラクタマーゼ類の様々な分類の出現は、重大な問題となっており、特にグラム陰性細菌に対する戦いにおいて問題となっている。最近、

- ラクタム抗生物質のなかで、後期臨床開発段階(フェーズⅢ)にあるか、または上市されたものは、抗メチシリソ耐性黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)(M R S A)セファロスボリン類のセフトビプロールおよびセフタロリンの 2 つである(K. Bush, M.J. Macielag, *Expert Opin. Ther. Patents*, 2010, 20, 1277)。しかし、それらは、広範囲スペクトルの - ラクタマーゼ(E S B L)を産生するグラム陰性細菌に由来する耐性を克服していない(M.G.P. Page, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2006, 6, 480; K.M. Amsler, T.A. Davies, W. Shang et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, 52, 3418)。

【0008】

10

キノロン類は、過去 50 年間に同定された抗生物質の最も重要な分類の 1 つである。グラム陰性病原体を含めたその卓越した広範囲スペクトル活性から、第 2 世代のキノロン抗生物質として、フルオロキノロン類の発見が 1980 年代における突破口となった。シプロフロキサシン、レボフロキサシンおよびモキシフロキサシンが主要な医薬品となってきており、シプロフロキサシンは、グラム陰性細菌に対する最も強力なキノロンであり、多くのアシネットバクター・バウマニ(*Acinetobacter baumannii*)および緑膿菌感受性株に有効であるが、キノロン耐性は依然として増加し続けている(J.A. Wiles, B. J. Bradbury, M. J. Pucci, *Expert Opin. Ther. Patents*, 2010, 20, 1295)。

【0009】

20

世界で最も良く売れている抗生物質の一つであるアジスロマイシンは、マクロライド抗生物質のサブクラスであるアザライドである。アジスロマイシンは、エリスロマイシンおよびクラリスロマイシンと類似したスペクトルを有するが、ある特定のグラム陰性細菌に対する有効性がさらに高い(L.L.Estes, J.W. Wilson, *Antimicrobials in Mayo Clinic Internal Medicine Board Review*, edited by A.K. Gosh, Oxford University Press, Inc ., 2010, 568-569)。しかし、緑膿菌は、アジスロマイシンに耐性であると考えられる(T. Wagner, G. Soong, S. Sokol, L. Saiman, A. Prince, *Chest*, 2005, 128, 912)。

【0010】

上記に示した例から判るように、最も広い範囲スペクトルを有する幾つかの抗生物質でさえ、その治療的用途は完全ではなく、応答性の低い病原体、例えば緑膿菌についての抜けがある。そのため、2 以上の抗生物質(例えば、狭い範囲と広い範囲の抗生物質)を組み合わせて用いるというコンセプトは、高い有効性かつ強力な薬剤を提供する(例えば、細菌の耐性形成の出現を少なくさせる)。

30

【0011】

歴史的に見て様々な方法論を用いて、2 つの医薬上活性成分の個別および組合せに関する生物学的効果が特徴づけられた(E. Jawetz, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1967; 2 03-209; T.-C. Chou, P. Talalay, *Adv. Enzyme Regul.*, 1984, 22, 27-55)。一方、観察される薬剤 - 薬剤相互作用の分類、特に抗生物質類については広い同意に至っている。この用語によれば、各々互いに独立して作用する両方の活性成分が類似した共同作用を有するならば、薬剤 - 薬剤相互作用の組合せた用量に対応した効果の量は、「相加的」または「無関係(indifferent)」であると決定される。用語「アンタゴニズム」とは、用いた活性化合物相互に負の影響が見られる可能性がある場合、すなわち基本的にはそれらが互いに打ち消す場合に用いられる。最後に、「相乗効果」とは、用量に対する効果の応答が個々の各薬剤単独の固有レベルを超えて有意に高められる場合に使用される(J. M. T. Hamilton-Miller, *J. Antimicrob. Chemother.*, 1985, 15, 655-657; G. M. Eliopoulos, R. C. Moellering Jr., "Antibiotics in laboratory medicine", 1991, 3rd Ed., The William & Wilkins Co., 432-492)。

40

【0012】

薬剤 - 薬剤相互作用、特に抗生物質の相互作用は、様々な臨床段階および前臨床段階で評価することができる。現在、抗生物質の組合せを試験するために最も広範囲に使用されるインビトロ方法は、分別阻害濃度指数を導くチェックボード技術および殺曲線法であ

50

る(H. O. Hallender et al., Antimicrob. Agents Chemother., 1982; 22, 743-752; M. J. Hall et al., J. Antimicrob. Chemother., 1983, 11, 427-433)。基本的に同じ原理を用いる幾つかの技術により補完されるならば(例えば、R. C. Li et al., Antimicrob. Agents Chemother., 1993; 37, 523-531; Chr. C. Sanders et al., Antimicrob. Agents Chemother., 1993; 37, 260-264)、これらの試験に関する目的は、主に臨床用途のための潜在的な相乗的組合せを同定すること、または臨床実施において拮抗する組合せの使用を回避することである。しかし、全てのインビトロ技術は、これまでのところ、標準化の不足により、また特にインビオ環境についての予測力が欠落していることにより進展していない。従って、同時に投与される医薬化合物の有効性を直接的に評価するインビオ実験が強く推奨される。

10

【0013】

本発明は、
式：

シクロ(-Thr-Trp-Ile-Dab-Orn-^DDab-Dab-Trp-Dab-Dab-Ala-Ser-^DPro-Pro) (I)

(式中、

Dabは、(S)-2,4-ジアミノブタン酸であり；

^DDabは、(R)-2,4-ジアミノブタン酸であり；

Ornは、(S)-2,5-ジアミノペンタン酸であり；

全ての他のアミノ酸残基は、D-アミノ酸残基として明示されなければ、L-アミノ酸残基であり、標準IUPAC命名法に記載されている)

20

の-ヘアピンペプチド模倣体、ならびに

抗菌活性を有する別の化合物(例えば、Ph. Eur. 7th (7.5) Editionに記載)、あるいはその医薬上許容し得る塩、水和物または溶媒和物を含む、新規組合せを提供する。

【0014】

誤解を避けるために、以下に、本発明の目的に適切で、この文書で言及しているアミノ酸またはその残基の一般的に採用されている慣例に対応する略語のリストを示す。

【0015】

例えば、^DProにおける記号LおよびDは、-アミノ酸の-位での立体化学を指すものであり、IUPACのフィッシャー・ロザノフ則にしたがって使用される。

30

【表1】

Ala	L-アラニン	(S)-2-アミノプロパン酸
Ile	L-イソロイシン	(2S,3S)-2-アミノ-3-メチルペンタン酸
Orn	L-オルニチン	(S)-2,5-ジアミノペンタン酸
Pro	L-プロリン	(S)-2-ピロリジンカルボン酸
^D Pro	D-プロリン	(R)-2-ピロリジンカルボン酸
Ser	L-セリン	(S)-2-アミノ-3-ヒドロキシプロパン酸
Thr	L-スレオニン	(2S,3R)-2-アミノ-3-ヒドロキシブタン酸
Trp	L-トリプトファン	(S)-2-アミノ-3-(1H-インドール-3-イル)プロパン酸
Dab		(S)-2,4-ジアミノブタン酸
^D Dab		(R)-2,4-ジアミノブタン酸

40

【0016】

別の実施態様において、本発明は、式(I)の-ヘアピンペプチド模倣体と、アミノグリコシド類、アンサマイシン類、アンフェニコール類、カルバペネム類、セファロスボリン類、ジアミノピリミジン類、グリコペプチド類、リンコサミド類、リポペプチド類、マクロライド類、-ラクタム類、モノバクタム類、ニトロフラン類、ニトロイミダゾール類、オキサゾリジノン類、ペニシリン類、ブリューロムチリン類、ポリペプチド類、キノ

50

ロン類、リファマイシン類、ストレプトグラミン類、スルホンアミド類またはテトラサイクリン類から選択される抗菌性化合物あるいはその医薬上許容し得る塩、との組合せを提供する。

【0017】

発明のまた別の実施態様において、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と組み合わせる抗菌性化合物は、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、モキシフロキサシン、ゲミフロキサシン、セフタロリン、セフトビプロール、セフタジジム、セフトリアキソン、セフェピム、ダブトマイシン、ラモプラニン、バンコマイシン、コリスチン、ポリミキシンB、エルタペネム、メロペネム、ドリペネム、イミペネム、アズトレオナム、ピペラシリソ¹⁰ン、アミカシン、リファンピシン、ネオマイシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、ホスホマイシン、アジスロマイシン、ミノサイクリン、ドキシサイクリンまたはテトラサイクリン、あるいはその医薬上許容し得る塩から選択される。

【0018】

好ましい実施態様において、本発明は、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と、 -ラクタム類、カルバペネム類、マクロライド類、キノロン類またはアミノグリコシド類から選択される抗菌性化合物、あるいはその医薬上許容し得る塩との組合せを提供する。

【0019】

本発明の別の好ましい実施態様において、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と組み合わせる抗菌性化合物は、エルタペネム、アジスロマイシン、シプロフロキサシンまたはアミカシン、あるいはその医薬上許容し得る塩から選択される。²⁰

【0020】

特に好ましい別の実施態様において、本発明は、式(I)のペプチド模倣体とカルバペネム類またはその医薬上許容し得る塩から選択される抗菌性化合物との組合せを提供する。

【0021】

さらなる別の特に好ましい実施態様において、本発明は、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と、マクロライド類またはその医薬上許容し得る塩から選択される抗菌性化合物との組合せを提供する。

【0022】

また別の特に好ましい実施態様において、本発明は、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と、キノロン類またはその医薬上許容し得る塩から選択される抗菌性化合物との組合せを提供する。³⁰

【0023】

さらなる別の特に好ましい実施態様において、本発明は、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と、アミノグリコシド類から選択される抗菌性化合物またはその医薬上許容し得る塩との組合せを提供する。

【0024】

本発明の特に好ましい実施態様において、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と組み合わせる抗菌性化合物は、エルタペネムまたはその医薬上許容し得る塩である。

【0025】

本発明の別の特に好ましい実施態様において、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と組み合わせる抗菌性化合物は、アジスロマイシンまたはその医薬上許容し得る塩である。⁴⁰

【0026】

また本発明の別の特に好ましい実施態様において、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と組み合わせる抗菌性化合物は、シプロフロキサシンまたはその医薬上許容し得る塩である。

【0027】

本発明のさらなる別の特に好ましい実施態様において、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体と組合せる抗菌性化合物は、アミカシンまたはその医薬上許容し得る塩である。

【0028】

本発明の別の実施態様において、本発明は、ヒトまたは動物における特定の微生物感染⁵⁰

の治療的コントロールを可能とする化合物の組合せを、単独投与される式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体の用量よりも低い用量で提供する。

【0029】

式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体とグリシルサイクリン類の化合物(特に、チゲサイクリン)とを含む組合せは、同時に提出した本出願人の同時継続出願の対象である。

【0030】

本発明の化合物の組合せは、微生物の生長を阻害するか、または微生物を殺すために、広い適用範囲に使用して、ヒトまたは他の脊椎動物(病因が類似しているため)に所望の治療効果をもたらすことができる。特に、本願の組合せを使用して、好気性または嫌気性のグラム陽性またはグラム陰性細菌に渡る広い範囲の微生物あるいは変種微生物(特に、緑膿菌)の増殖を阻害するか、または前記微生物を殺すことができる。10

【0031】

そのような感染に関連する感染または疾患、特に、人工呼吸器関連肺炎(VAP)、院内感染性肺炎(HAP)、医療関連肺炎(HCAP)などの疾患に関連する院内感染；尿路感染(UTI)などのカテーテル関連および非カテーテル関連感染；肺炎、囊胞性線維症、気腫および喘息などの呼吸器疾患に関連する感染；手術創傷、外傷および火傷などの皮膚または軟組織疾患に関連する感染；角膜炎および眼内炎などの眼の疾患に関連する感染；耳炎などの眼内炎に関連する感染；脳膿瘍および髄膜炎などのCNS疾患に関連する感染；骨軟骨炎および骨髓炎などの骨疾患に関連した感染；心内膜炎および心膜炎などの心臓血管に関連する感染；敗血症などの血液感染(BSI)；副睾丸炎、前立腺炎および尿道炎などの泌尿生殖器疾患に関連する感染；流行性下痢、壊死性腸炎、虫垂炎、胃腸炎または膵炎などの胃腸疾患に関連する感染；あるいは微生物性腹膜炎などの腹腔内感染を、治療または予防するために使用される場合、本発明の組合せの成分として、化合物またはその医薬組成物各々を、1つの物理的実体または別々の物理的実体として、同時ならびに連続的に、即ち投与計画に従って特定の時間差にて投与することができる。20

【0032】

従って、これらの成分は、「複数部のキット」として本発明の特定の実施態様を形成する機能単位として相乗的に作用することが明白に理解されよう。

【0033】

本発明の別の特定の実施態様において、このキットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、および抗菌活性を有する化合物(Ph. Eur. 7th (7.5) Editionに記載)またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。30

【0034】

本発明のまた別の特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、およびアミノグリコシド類、アンサマイシン類、アンフェニコール類、カルバペネム類、セファロスポリン類、ジアミノピリミジン類、グリコペプチド類、リンコサミド類、リポペプチド類、マクロライド類、 -ラクタム類、モノバクタム類、ニトロフラン類、ニトロイミダゾール類、オキサゾリジノン類、ペニシリン類、ブリューロムチリン類、ポリペプチド類、キノロン類、リファマイシン類、ストレプトグラミン類、スルホンアミド類またはテトラサイクリン類から選択される抗菌性化合物、あるいはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。40

【0035】

本発明のさらなる別の特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、およびエルタペネム、メロペネム、アジスロマイシン、シプロフロキサシン、アミカシン、ネオマイシン、トブラマイシン、コリスチン、ポリミキシンB、ミノサイクリンまたはテトラサイクリンから選択される抗菌活性を有する化合物、あるいはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。

【0036】

発明の好みしい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模

10

20

30

40

50

倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、および -ラクタム類、カルバペネム類、マクロライド類、キノロン類またはアミノグリコシド類から選択される抗菌性化合物、あるいはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。

【 0 0 3 7 】

本発明の別の好ましい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、およびエルタペネム、アジスロマイシン、シプロフロキサシンまたはアミカシンから選択される抗菌活性を有する化合物あるいはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。

【 0 0 3 8 】

本発明の特に好ましい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、およびカルバペネム類から選択される抗菌性化合物またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。 10

【 0 0 3 9 】

本発明の別の特に好ましい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、およびマクロライド類から選択される抗菌性化合物またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。

【 0 0 4 0 】

本発明のまた別の特に好ましい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、およびキノロン類から選択される抗菌性化合物またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。 20

【 0 0 4 1 】

本発明のさらなる別の特に好ましい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、およびアミノグリコシド類から選択される抗菌性化合物またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。

【 0 0 4 2 】

本発明の特に好ましい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、ならびに抗菌活性を有する化合物としてエルタペネムまたはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。

【 0 0 4 3 】

本発明の別の特に好ましい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、ならびに抗菌活性を有する化合物としてアジスロマイシンまたはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。 30

【 0 0 4 4 】

本発明のまた別の特に好ましい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、ならびに抗菌活性を有する化合物としてシプロフロキサシンまたはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。

【 0 0 4 5 】

本発明のさらなる別の特に好ましい特定の実施態様において、キットは、式(I)の -ヘアピンペプチド模倣体またはその医薬上許容し得る塩を含有する部分、ならびに抗菌活性を有する化合物としてアミカシンまたはその医薬上許容し得る塩を含有する部分を含む。 40

【 0 0 4 6 】

本発明の化合物を個別または組合せて含む医薬組成物は、慣用の混合、溶解、造粒、被覆錠形成、粉状化(levigating)、乳化、カプセル化、封入または凍結乾燥工程により製造され得る。医薬組成物は、活性成分の加工を促進する1以上の生理的に許容し得る担体、希釈剤、賦形剤または助剤を用いる慣用の方法で、医薬として使用できる製剤へと処方され得る。適切な処方は、選択される投与方法に応じて変わる。

【 0 0 4 7 】

50

局所投与のために、本発明の医薬上有効な化合物は、当業者には周知の溶液剤、ゲル剤、軟膏剤、クリーム剤、懸濁剤などとして処方され得る。

【0048】

全身的処方には、例えば皮下注射、静脈内注射、筋肉内注射、髄腔内注射または腹腔内注射などの注射による投与として設計されたもの、および経皮投与、経粘膜投与、経口投与または経肺投与のために設計されたものが挙げられる。

【0049】

注射用には、本発明の化合物は、適切な溶液中で、好ましくは生理学的に適合性のある緩衝液、例えばハンクス溶液、リンガー溶液または生理食塩緩衝液中で処方され得る。溶液は、製剤化剤、例えば懸濁化剤、安定化剤および／または分散剤を含有し得る。あるいは、本発明の活性な医薬成分は、適切なビヒクリ、例えば滅菌性の外因性発熱物質不含水と使用前に組み合わせるための粉末形態であってもよい。

10

【0050】

経粘膜投与のために、透過されるバリアに適切な浸透剤は、当技術分野で既知のように製剤に使用される。

【0051】

経口投与のために、本発明の化合物は、当分野では既知の医薬上許容し得る担体を組み合わせることにより、容易に処方され得る。このような担体により、本発明の化合物を、治療される患者の経口摂取用の錠剤、丸剤、糖衣錠、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤などとして処方することができる。経口処方、例えば、粉末剤、カプセル剤および錠剤のための適切な賦形剤には、充填剤、例えば糖類、例えばラクトース、スクロース、マンニトールおよびソルビトール；セルロース製剤、例えばトウモロコシデンプン、コムギデンプン、コメデンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロースおよび／またはポリビニルピロリドン(PVP)；造粒剤；ならびに結合剤が挙げられる。必要に応じて、崩壊剤、例えば架橋したポリビニルピロリドン、アガーまたはアルギン酸あるいはその塩(例えば、アルギン酸ナトリウム)が添加されてもよい。必要に応じて、固形投与形態は、標準技術を用いて糖衣被覆または腸溶被覆されてもよい。

20

【0052】

30

経口液体製剤、例えば、懸濁剤、エリキシル剤および溶液剤のために、適切な担体、賦形剤または希釈剤には、水、グリコール、油、アルコールなどが挙げられる。さらに、香味剤、保存剤、着色剤などが添加されてもよい。

【0053】

口腔投与のために、該組成物は、通常どおり処方される錠剤やロゼンジなどの形態をとってもよい。

【0054】

吸入による投与のために、本発明の化合物は、適切な噴射剤、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、カーボンジオキシドまたは別の適切なガスを使用して、加圧パックまたはネブライザーからエアゾールスプレーの形態にて適宜送達され得る。加圧型エアゾールの場合、用量単位は、一定量を送達するためのバルブを備えることにより決定され得る。カプセルおよびカートリッジ(例えば、噴霧器または吸入器に使用するためのゼラチンのカプセルおよびカートリッジ)は、本発明の化合物および適切な粉末基剤(例えば、ラクトースまたはデンプン)の粉末混合物を含有して処方されてもよい。

40

【0055】

本願化合物は、適切な坐剤用基剤(例えば、カカオバターまたは他のグリセリド類)と共に、かん腸剤または坐剤用溶液などの直腸用または膣用組成物に処方されてもよい。

【0056】

前記した処方に加えて、本発明の化合物は、デポー製剤として処方されてもよい。この

50

ように長期的に作用する処方物は、インプラント術(例えば、皮下または筋肉内移植)または筋肉内注射により投与され得る。かかるデポー製剤の製造のために、本発明の化合物は、適切な高分子または疎水性材(例えば、許容可能なエマルジョンとして)あるいはイオン交換樹脂と共に、または難溶性塩として処方されてもよい。

【0057】

さらに他の医薬送達系、例えばリポソームおよびエマルジョンは、当分野では十分知られている。特定の有機溶媒、例えばジメチルスルホキシドが用いられてもよい。さらに、本発明の医薬上活性な化合物は、徐放システム、例えば治療薬を含有する固体ポリマーの半透過性材を用いて送達され得る。様々な徐放性材は、確立されており、当業者にはよく知られている。徐放性カプセルは、その化学的性質に依拠して、数週間から3年間まで化合物を放出し得る。治療薬の化学的性質および生物学的安定性に応じて、タンパク質安定化のためのさらなる方策を用いてもよい。

10

【0058】

-ヘアピンペプチド模倣体ならびに本発明のグリシルシクリン類の化合物は、荷電残基を含んでいるため、即ちそれぞれ電荷を帯びた下位構造を含有できるため、それらは、それ自体または医薬上許容し得る塩として前記した処方物いずれかに独立して含まれ得る。医薬上許容し得る塩は、対応する遊離塩基形態よりも、水性溶媒および他のプロトン性溶媒に溶解し易い傾向にある。

【0059】

さらに、本発明の化合物およびその医薬上許容し得る塩は、それ自体で、または形態的に異なる固形形態でいずれか適切な処方に使用されてもよく、様々な量の溶媒を、例えば、結晶化過程で残る水和物を含んでいても、または含んでいなくともよい。

20

【0060】

本発明の抗生物質の組合せまたはその組成物は、一般的に所定の目的を達成するのに有効な量および割合で使用される。使用される量は、特定の用途に応じて変わるということを理解されたい。

【0061】

微生物感染または前記感染に関連のある疾患の治療または予防に使用するために、本発明の化合物またはその組成物は、治療上有効な量で投与または適用される。治療上有効な量とは、微生物の感染またはそれに関連する疾患の症候を緩和する際に、あるいは微生物の感染またはそれに関連する疾患を緩和、治療または処方する際に、有効な量を意味する。治療上有効な量の決定は、当業者の能力の範囲内において十分に可能である。

30

【0062】

全身投与のために、治療上有効な用量は、まずインピトロアッセイから算出され得る。例えば、用量は、動物モデルにおいて、細胞培養において決定されたIC₅₀(即ち、細胞培養物において50%の致死率である試験化合物の濃度)、細胞培養において決定されたMIC(即ち、微生物の観察できる増殖を防止する試験化合物の濃度)を含む循環有効医薬成分濃度範囲を達成することができるよう処方され得る。初期投与量は、インピボデータ、例えば動物モデルから、当分野では周知の技術を用いて、例えば後記実施例に記載したような技術を用いても決定され得る。当業者は、動物データに基づいてヒトへの投与を容易に最適化できる。

40

【0063】

用いる活性成分の有効投与量は、用いる特定の化合物または医薬製剤、投与様式ならびに治療される症状の重症度およびタイプに拠って変化し得る。このように、投与計画は、投与経路およびクリアランス経路、例えば患者の腎臓および肝臓機能を含めたファクターに従って選択される。当分野の医師、臨床医または獣医は、症状または疾患の進行を予防、緩和または停止するために必要な単一の活性成分の量またはその組合せた量を、容易に決定および処方することができる。毒性がない活性成分の濃度を最適精度で達成するには、標的部位への活性成分のアベイラビリティーに関する動態学に基づいた投与計画を必要とする。これには、活性成分の分布、平衡および排出に関する検討事項が含まれる。

50

【 0 0 6 4 】

局所投与または選択的取り込みの場合には、本発明の化合物の有効局所濃度は、血漿濃度に関連していなくてもよい。当業者は、過度な実験を行うことなく治療上有効な局所投与量を最適化することができる。

【 0 0 6 5 】

本発明の個々の化合物の組み合わせ、または本発明の個々の化合物についての臨床背景において、医薬としての有効性、用量、投与計画および一般的な治療インデックスを決定するさらなるパラメーターは、様々なインビトロアッセイにより予め評価され得る。これらの重要な幾つかのパラメーターは、例えば最小細菌濃度、最小阻害濃度、抗菌性殺菌曲線、細胞毒性、溶血性、血漿安定性、それぞれ血漿半減期、ミクロソーム安定性、薬物代謝(薬物-薬物相互作用を含む)、タンパク質結合性、膜透過性、溶解度などである。10

【 0 0 6 6 】

本発明は、以下の実施例においてさらに記述されるが、これらは単なる説明を意図しているに過ぎず、決して本発明の範囲を制限するものとして解釈されるべきではない。

【 実施例 】**【 0 0 6 7 】****インビオ効力試験****緑膿菌 PAX11045 に対するマウス肺炎モデルにおける有効性および E D₅₀ の推定****参照試験 1 :**

緑膿菌臨床単離株 PAX11045 に対する式(I)の化合物(“化合物1”)の有効性および E D₅₀ を、マウス肺炎モデルにおいて決定した。肺および脾臓内のコロニー数を、処置 20 時間後に決定した。20

【 0 0 6 8 】**マウスの感染**

新規に一晩置いた 5 %ウマ血液寒天プレートから得た PAX11045 のコロニーを、0.9 %滅菌生理食塩水で、約 10⁸ C F U / m l に懸濁して、さらに約 5 × 10⁷ C F U / m l に希釈した。雌マウス(DBA/2, 非近交系, 18-22 g, Charles River)を、ゾレチル(チレタミン + ゾラゼパム)(0.08 m l)で麻酔して、約 10⁶ C F U を含む細菌懸濁液(0.05 m l)をピペットにより鼻から植菌した。植菌 4 時間後に、鎮痛剤としてニューロフェン(約 30 mg / k g に対応する 20 mg イブプロフェン / m l)(45 μl)を用いてマウスを経口的に処置した。30

【 0 0 6 9 】**化合物1によるマウスの処置**

有効な化合物1(10 mg)を含有する 2 つのバイアルを、各々 4.5 mg / m l の濃度まで 0.9 %滅菌生理食塩水(2.25 m l)に溶解した。1つのバイアルをさらに、生理食塩を用いて 2.25、1.125、0.56 および 0.28 mg / m l まで 2 倍希釈した。マウスを、感染 4 時間後に平均動物体重(20 g)に基づく用量計算により単回用量(0.2 m l)を頸部に皮下的に処置した。ポジティブコントロールとして、シプロフロキサンを、同じ方法で固定用量の 19 mg / k g にて用いた。40

【 0 0 7 0 】**サンプル採取**

コロニー数を、植菌 4 時間後(非処置マウス)および 24 時間後(処置マウスおよびビヒクリ単独処置マウス)に決定した。マウスを屠殺した直後に、肺および脾臓を摘出して、-20 で凍結した。解凍した後に、臓器を 0.9 %生理食塩水(1 m l)中でホモジネートした。次いで、各サンプルを、生理食塩水で 10 倍希釈して、スポット(20 μl)を、血液寒天プレート(1 m l)に塗布した。全てのアガープレートを、大気中 35 で 18 ~ 48 時間インキュベートした。

【 0 0 7 1 】**C F U 計測**

植菌物中の C F U / m l を、6.62 log₁₀ C F U / マウスに対応する 7.921

50

0 g₁₀ CFU / ml と決定した。

【0072】

感染 4 時間後の平均 10 g₁₀ CFU / 肺は 5.28 であり、CFU レベルはビヒクル単独群において 24 時間後に同じレベルを維持していた。同様のベースラインのデータを、4 時間時に 1.96 の平均 10 g₁₀ CFU / 脾臓を示す脾臓について集めた、これはビヒクル単独群においては 24 時間後に 2.60 まで増加した。

【0073】

化合物 1 を用いた処置は、ビヒクル処置と比較して(より高い濃度については $p < 0.01$)、双方の臓器において CFU レベルの有意な濃度依存的低下を示した。シプロフロキサシン(19 mg / kg)は、細菌量の低下に対して有意な効果をもたらした($p < 0.01$)。
10

【0074】

シグモイド型用量反応モデル(可変勾配)を用いるマウスの肺における PAX11045 に対する化合物 1 の ED₅₀ に対する用量反応曲線の評価により、4.33 mg / kg の推定値が明らかとなった。以下の表 1 に、相対効力値を要約する。

【0075】

実施例 1 :

マウス肺炎モデルにおいて、緑膿菌臨床単離株 PAX11045 に対するエルタペネムと組み合わせた式(I)の化合物(“化合物 1”)の有効性および ED₅₀ を決定した。肺内のコロニー数を処置 20 時間後に決定した。
20

【0076】

マウスの感染

新規に一晩置いた 5% ウマ血液寒天プレートから得た PAX11045 のコロニーを、0.9% 滅菌生理食塩水で約 10⁸ CFU / ml に懸濁して、さらに約 5 × 10⁷ CFU / ml に希釈した。雌のマウス(DBA/2, 非近交系, 18-22 g, Charles River)を、ゾレチル(1 ml)で麻酔して、約 10⁶ CFU を含有する細菌懸濁液(0.05 ml)を用いてピペットにより鼻から植菌した。植菌 4 時間後に、マウスを、鎮痛剤としてニューロフェン(約 30 mg / kg)に対応する 20 mg イブプロフェン / ml (45 μl)を用いて経口的に処置した。
30

【0077】

エルタペネムによるマウスの処置

エルタペネム(InvanzTM、MSD Denmark Aps)(1 g)を、100 mg / ml の濃度まで 0.9% 滅菌生理食塩水(10 ml)に溶解させて、さらに生理食塩水で 5 mg / ml に希釈した。マウスを、植菌 3 時間後に平均動物体重(20 g)に基づいて 50 mg / kg に対応する 0.2 ml の単回用量にて頸部に皮下的に処置した。

【0078】

化合物 1 によるマウスの処置

有効な化合物 1(10 mg)を含有する 1 つのバイアルを、5 mg / ml の濃度まで 0.9% 滅菌生理食塩水(2 ml)に溶解して、さらに生理食塩水で 2、1、0.55、0.275 および 0.137 mg / ml に希釈した。マウスを、感染 4 時間後に平均動物体重(20 g)に基づく用量計算により単回用量(0.2 ml)で頸部に皮下的に処置した。ポジティブコントロールとして、シプロフロキサシンを、同じ方法で固定用量(20 mg / kg)にて用いた。
40

【0079】

サンプル採取

コロニー数を、感染 4 時間後(非処置マウス)および 24 時間後(処置マウスおよびビヒクル単独処置マウス)に決定した。マウスを屠殺した直後に、肺を摘出して、-20° で凍結した。解凍した後に、臓器を 0.9% 生理食塩水(1 ml)でホモジネートした。次いで、各サンプルを、生理食塩水で 10 倍希釈して、スポット(20 μl)を、血液寒天プレート(1 ml)に塗布した。全てのアガーブレートを、大気中 35° で 18 ~ 48 時間イン
50

キュベートした。

【0080】

CFU計測

植菌物中のCFU/mlを、 $6.35 \log_{10}$ CFU/マウスに対応する $7.65 \log_{10}$ CFU/mlと決定した。

【0081】

感染4時間後の平均 \log_{10} CFU/肺は5.14であって、CFUレベルは、ビヒクル単独群において24時間後の同等レベルを維持した。

【0082】

化合物1およびエルタペネムの組み合わせによる処置は、ビヒクル処置と比較して($p < 0.01 - p < 0.001$)、CFUレベルの有意な濃度依存的低下をもたらした。シプロフロキサシン処置(20mg/kg)、化合物1(2.75mg/kg)単独およびエルタペネム(50mg/kg)単独も、細菌量の低下に対して有意な効果を示した($p < 0.001$)。

【0083】

シグモイド型用量反応モデル(可変勾配)を用いる、エルタペネム(50mg/kg)の固定用量存在下で、マウス肺においてPAX11045に対する化合物1のED₅₀に対する用量反応曲線の評価により、1.24mg/kgの推定値が明らかとなった。以下の表1に、相対効力値を要約する。

【0084】

【表2】

表1：化合物1の効力値

	化合物1	エルタペネム50mg/kgの存在下での化合物1
トップレベル	$1.3 \log_{10}$ CFU/ml	$-0.34 \log_{10}$ CFU/ml
ボトムレベル	$-2.2 \log_{10}$ CFU/ml	$-2.32 \log_{10}$ CFU/ml
E _{max}	$3.5 \log_{10}$ CFU/ml	$1.98 \log_{10}$ CFU/ml
ED ₅₀	4.33 mg/kg	1.24 mg/kg
定常用量	1.55 mg/kg	0.63 mg/kg
1 log殺用量	8.1 mg/kg	1.14 mg/kg
2 log殺用量	20 mg/kg	1.48 mg/kg
R ²	0.55—0.75	0.54

【0085】

実施例2：

マウス肺炎モデルにおいて、緑膿菌臨床単離株 PAX11045に対するアジスロマイシンと組み合わせた式(I)の化合物(“化合物1”)の有効性およびED₅₀を、決定した。肺内コロニー数を、処置20時間後に決定した。

【0086】

マウスの感染

新たに一晩置いた5%ウマ血液寒天プレートから得たPAX11045のコロニーを、約 10^8 CFU/mlまで0.9%滅菌生理食塩水に懸濁して、さらに約 5×10^7 CFU/mlに希釈した。雌のマウス(DBA/2, 非近交系, 17-23g, Charles River)を、ゾレチル(0.1ml)を用いて麻酔して、約 10^6 CFUを含む細菌懸濁液(0.05ml)を用いてピペットにより鼻から植菌した。植菌4時間後に、マウスを、鎮痛剤としてニューロフェン(45μl)(約30mg/kgに対応する20mgイブプロフェン/ml)を用いて経口的に処置した。

【0087】

アジスロマイシンによるマウスの処置

10

20

30

40

50

アジスロマイシン(ZitromaxTM、Pfizer)(480 mg)を、100 mg / ml 濃度まで0.9%の滅菌生理食塩水(4.8 ml)に溶解して、さらに生理食塩水を用いて5 mg / ml に希釈した。マウスを、感染3時間後に、平均動物体重(20 g)に基づいて、50 mg / kg に対応する単回用量(0.2 ml)を頸部に皮下的に処置した。

【0088】

化合物1によるマウスの処置

1つのバイアルに含まれた有効な化合物1(10 mg)を、0.9%滅菌生理食塩水(2 ml)で5 mg / ml の濃度まで溶解して、さらに生理食塩水で2、1、0.55、0.275および0.137 mg / ml に希釈した。感染4時間後に、マウスを、平均動物体重20 gに基づく用量計算により、単回用量(0.2 ml)を頸部に皮下的に処置した。¹⁰ ポジティブコントロールとして、シプロフロキサシンを、同じ方法で固定用量(20 mg / kg)にて用いた。

【0089】

サンプル採取

コロニー数を、接種4時間後(非処置マウス)および24時間後(処置およびビヒクル単独処置したマウス)に決定した。マウスを屠殺した直後に、肺を摘出して、-20²⁰ で凍結した。解凍した後に、臓器を、0.9%生理食塩水(1 ml)にホモジネートした。次いで各サンプルを、生理食塩水で10倍希釈して、スポット(20 µl)を血液寒天プレートに塗布した。全てのアガーブレートを、大気中35²⁰ で18~24時間インキュベートした。

【0090】

CFU計測

植菌物中のCFU / mlを、6.0 log₁₀ CFU / マウスに対応する7.3 log₁₀ CFU / mlと決定した。

【0091】

感染4時間後に、平均log₁₀ CFU / 肺は、5.84であり、CFUレベルは、ビヒクル単独群において24時間後に同等のレベルを維持した。

【0092】

化合物1とアジスロマイシンとの組み合わせによる処置は、ビヒクル処置と比較して、CFUレベルの有意な濃度依存的低下をもたらした(p < 0.01 - p < 0.001)。シプロフロキサシン処置(20 mg / kg)および化合物1単独処置(5.5 mg / kg)は、細菌量に対して有意な効果を示した(p < 0.001)。アジスロマイシン(50 mg / kg)単独による処置は、細菌量に対して効果を示さなかった。³⁰

【0093】

シグモイド型用量反応モデル(可変勾配)を用いる、マウス肺におけるアジスロマイシン(50 mg / kg)の固定用量存在下でのPAX11045に対する化合物1のED₅₀に対する用量反応曲線の評価から、1.74 mg / kgの推定値が明らかになった。以下の表2に、相対効力値を要約する。

【0094】

【表3】

表2：化合物1の有効性

	化合物1	5.0 mg/kgアジスロマイシンの存在下の化合物1
トップレベル	1.3 log ₁₀ CFU/ml	-0.10 log ₁₀ CFU/ml
ボトムレベル	-2.2 log ₁₀ CFU/ml	-2.59 log ₁₀ CFU/ml
E _{max}	3.5 log ₁₀ CFU/ml	2.49 log ₁₀ CFU/ml
ED ₅₀	4.33 mg/kg	1.74 mg/kg
定常用量	1.55 mg/kg	0.63 mg/kg
1 log 疫用量	8.1 mg/kg	1.2 mg/kg
2 log 疫用量	20 mg/kg	2.4 mg/kg
R ²	0.55-0.75	0.52

【0095】

緑膿菌 PA9349 マウス肺炎モデルにおける効力ならびに ED₅₀ の推定

参考試験2：

式(I)の化合物(“化合物1”)の有効性およびED₅₀を、マウス肺炎モデルにおいて緑膿菌臨床単離株PA9349に対して決定した。肺内のコロニー数を処置18~20時間後に決定した。

【0096】

マウスの感染

新規に一晩置いた5%ウシ血液寒天プレートから得たPA9349のコロニーを、0.9%滅菌生理食塩水で約10⁸ CFU/mlに懸濁して、さらに約5×10⁶ CFU/mlに希釈した。雌のマウス(DBA/2, 近系交配, 18-22g, Charles River)を、ゾレチル(チレタミン+ゾラゼパム)(0.1ml)で麻酔して、約5×10⁵ CFUを含有する細菌懸濁液(0.05ml)を用いてピペットにて鼻から植菌した。植菌4時間後に、マウスを、鎮痛剤としてニューロフェン(約30mg/kgに対応する20mgイブプロフェン/ml)(45μl)を用いて経口的に処置した。

【0097】

化合物1によるマウスの処置

有効な化合物1(10mg)を含有する1つのバイアルを、2mg/mlの濃度に0.9%滅菌生理食塩水(5ml)で溶解して、さらに1、0.5、0.25、0.125および0.06mg/mlに生理食塩水で2倍希釈した。感染4時間後に、マウスを、平均動物体重(20g)に基づく用量計算による単回用量(0.2ml)を頸部に皮下的に処置した。ポジティブコントロールとして、コリスチンを、同じ方法で固定用量(40mg/kg)にて用いた。

【0098】

サンプル採取

コロニー数を、接種4時間後(非処置マウス)および24時間後(処置およびビヒクル単独処置マウス)に決定した。マウスを屠殺した直後に、肺を摘出して、-20で凍結させた。解凍した後に、臓器を、0.9%生理食塩水(1ml)中でホモジネートした。次いで各サンプルを、生理食塩水で10倍希釈して、スポット(20μl)を血液寒天プレートに塗布した。全てのアガーブレートを、大気中35で18~24時間インキュベートした。

【0099】

CFU計測

植菌物中のCFU/mlを、5.98 log₁₀ CFU/マウスに対応する7.2910₁₀ CFU/mlに決定した。

【0100】

10

20

30

40

50

植菌 4 時間後、平均 $1.0 \text{ g}_{10} \text{ CFU}$ / 肺は 3.47 であり、CFU レベルは、ビヒクル単独群において植菌 20 時間後に 4.92 まで増加した。

【0101】

ビヒクル群と比較して、平均 CFU レベルの低下を $1.0 \text{ mg} / \text{kg}$ の化合物 1 の処置群において観察し、 $2.0 \text{ mg} / \text{kg}$ の化合物 1 の処置群において有意な低下を観察した。

【0102】

シグモイド型の用量反応モデル(可変勾配)を用いるマウス肺における PA9349 に対する化合物 1 の ED_{50} に対する用量反応曲線の評価から、 $7.35 \text{ mg} / \text{kg}$ の推定値が明らかとなった。以下の表 3 に、相対効力値を要約する。

【0103】

実施例 3 :

緑膿菌臨床単離株 PA9349 に対するシプロフロキサシンと組み合わせた式(I)の化合物(“化合物 1”)の有効性および ED_{50} を、マウス肺炎モデルにおいて決定した。肺内のコロニー数を処置 20 時間後に決定した。

【0104】

マウスの感染

新規に一晩置いた 5 % ウシ血液寒天プレートから得た PA9349 のコロニーを、0.9 % 滅菌生理食塩水で $1.0^8 \text{ CFU} / \text{ml}$ に懸濁して、さらに $1.0^7 \text{ CFU} / \text{ml}$ に希釈した。雌のマウス(C57BL/6匹の雄、非近交系、20-25g, Hellenic Pasteur Institute)を、エーテルで麻酔して、約 1.0^6 CFU を含有する細菌懸濁液(0.05 ml)を用いてピペットにより鼻から植菌した。植菌後に、マウスを、鎮痛剤としてパラセタモール坐剤を用いて処置した。

【0105】

シプロフロキサシンによるマウスの処置

シプロフロキサシン(Sigma)(4.00 mg)を、0.9 % 滅菌生理食塩水で $1.0 \text{ mg} / \text{ml}$ 濃度に溶解して、さらに生理食塩水で $2 \text{ mg} / \text{ml}$ に希釈した。マウスを、感染 3 時間後に、平均動物体重(2.0 g)に基づいて $2.0 \text{ mg} / \text{kg}$ に対応する単回用量(0.2 ml)を頸部に皮下的に処置した。

【0106】

化合物 1 によるマウスの処置

有効な化合物 1(5 mg)を含有する 1 つのバイアルを、 $2 \text{ mg} / \text{ml}$ 濃度まで 0.9 % 滅菌生理食塩水(2.5 ml)に溶解した。1 つのバイアルを、さらに生理食塩水で 1、 0.8 および $0.4 \text{ mg} / \text{ml}$ に希釈した。マウスを、感染 4 時間後に、平均動物体重(2.0 g)に基づいた用量算出により、 0.25 ml ($2.5 \text{ mg} / \text{kg}$ 用量)または 0.2 ml (全ての他の用量について)の単回用量を頸部に皮下的に処置した。コントロールとして、コリスチンおよびシプロフロキサシンを、 $2.0 \text{ mg} / \text{kg}$ の固定用量で同じ方法において使用した。

【0107】

サンプル採取

コロニー数を、接種 4 時間後(非処置マウス)および 24 時間後(処置マウスおよびビヒクル単独処置したマウス)に決定した。マウスの屠殺直後に、肺を摘出して、-20°で凍結した。解凍した後に、臓器を、0.9 % 生理食塩水(1 ml)中でホモジネートした。次いで、各サンプルを、生理食塩水に 10 倍希釈して、スポット($2.0 \mu\text{l}$)を血液寒天プレート上に塗布した。全てのアガープレートを、大気中 35°で $18 \sim 24$ 時間インキュベートした。

【0108】

CFU 計測

植菌物中の CFU / ml を、 $5.8 \text{ log}_{10} \text{ CFU}$ / マウス に対応する $7.0 \text{ log}_{10} \text{ CFU} / \text{ml}$ に決定した。

【0109】

10

20

30

40

50

感染 4 時間後、平均 $10\log_{10}$ CFU / 肺は 5.63 であり、CFU レベルは、24 時間後、ビヒクル単独群において同等のレベルで維持された。

【0110】

1.88 ~ 2.5 mg / kg の化合物 1 およびシプロフロキサシンの組み合わせによる処置は、ビヒクル処置 ($p < 0.001$) と比較して、CFU レベルの有意な低下をもたらした。化合物 1 (5.5 mg / kg) 単独による処置は、細菌量 ($p < 0.001$) の低下に有意な効果を有するが、一方でコリスチン単独処置 (2.0 mg / kg) およびシプロフロキサシン単独処置 (2.0 mg / kg) は、細菌量に対して、効果が全くないか、または若干の効果しか示さなかった。

【0111】

シグモイド型の用量反応モデル(可変勾配)を用いるマウスの肺におけるシプロフロキサシン (2.0 mg / kg) の固定用量の存在下での PA9349 に対する化合物 1 の ED₅₀ に対する用量反応曲線の評価により、1.55 mg / kg の推定値が明らかとなった。以下の表 3 に、相対効力値を要約する。

【0112】

【表 4】

表 3 : 化合物 1 の効力値

	化合物 1	2.0 mg / kg シプロフロキサシンの存在下の化合物 1
トップレベル	1.59 log ₁₀ CFU/ml	-0.21 log ₁₀ CFU/ml
ボトムレベル	-0.80 log ₁₀ CFU/ml	-4.17 log ₁₀ CFU/ml
E _{max}	2.4 log ₁₀ CFU/ml	3.96 log ₁₀ CFU/ml
ED ₅₀	7.35 mg/kg	1.55 mg/kg
定常用量	9.15 mg/kg	nd
1 log 級用量	nd	0.45 mg/kg
2 log 級用量	nd	1.00 mg/kg
3 log 級用量	nd	1.82 mg/kg
R ²	0.67	0.54

nd : 決定せず

10

20

30

【0113】

緑膿菌 PA18298 に対するマウス肺炎モデルにおける効力および ED₅₀ の推定値

参照試験 3 :

マウス肺炎モデルにおいて緑膿菌臨床単離株 PA18298 に対する式(I)の化合物(“化合物 1”)の効力および ED₅₀ を決定した。肺内のコロニー数を、処置 18 ~ 20 時間後に決定した。

【0114】

マウスの感染

5 % ウシ血液寒天プレートから得た新たに一晩置いた PA18298 のコロニーを、0.9 % 滅菌生理食塩水で約 10⁸ CFU / ml まで懸濁して、さらに約 4 × 10⁷ CFU / ml に希釈した。雌のマウス(DBA/2, 近系交配, 18-22g, Charles River)を、ゾレチル(チレタミン + ゾラゼパム)(0.1 ml)で麻酔して、約 1 × 10⁶ CFU を含有する細菌懸濁液 (0.05 ml)を用いてピペットにより鼻から植菌した。感染 4 時間後に、マウスを、鎮痛剤としてニューロフェン(約 3.0 mg / kg に対応する 2.0 mg イブプロフェン / ml) (4.5 μl)を用いて経口的に処置した。

【0115】

化合物 1 によるマウスの処置

有効な化合物 1 (1.0 mg) を含有する 1 つのバイアルを、5 mg / ml の濃度まで 0.9 % 滅菌生理食塩水 (2 ml) に溶解して、さらに生理食塩水で 2、1、0.75、0.55

40

50

、0.275および0.137mg/mlに希釈した。マウスを、感染4時間後に、平均動物体重(20g)に基づく用量計算により、単回用量(0.2ml)を頸部に皮下的に処置した。ポジティブコントロールとして、コリスチンを、同じ方法で固定用量(20mg/kg)にて用いた。

【0116】

サンプル採取

コロニー数を、接種4時間後(非処置マウス)および24時間後(処置マウスおよびビヒクル単独処置マウス)に決定した。マウスを屠殺した直後に、肺を摘出して、-20で凍結した。解凍後、臓器を0.9%生理食塩水(1ml)にホモジネートした。次いで、各サンプルを、生理食塩水に10倍希釈して、スポット(20μl)を血液寒天プレート上に塗布した。全てのアガーブレートを、大気中18~48時間35でインキュベートした。

。

【0117】

CFU計測

植菌物中のCFU/mlを、6.20log₁₀CFU/マウスに対応する7.4910₀CFU/mlに決定した。

【0118】

感染4時間後に、平均10g₁₀CFU/肺は5.05であり、CFUレベルは、ビヒクル単独群において、接種24時間後に2.62まで低下した。

【0119】

11~20mg/kgのPOL7080を用いる処置は、ビヒクル処置と比較してCFUレベルの有意な低下をもたらした($p < 0.01$ - $p < 0.001$)。コリスチン処置(20mg/kg)は、細菌量($p < 0.001$)をある程度低下させる効果を示した。

【0120】

シグモイド型の用量反応モデル(可変勾配)を用いるマウス肺におけるPA18298に対する化合物1のED₅₀に対する用量反応曲線の評価から、26.6mg/kgの推定値が明らかとなった。以下の表4に、相対効力値を要約する。

【0121】

実施例4:

マウス肺炎モデルにおいて、緑膿菌臨床単離株PA18298に対するアミカシンと組み合わせた式(I)の化合物(“化合物1”)の効力およびED₅₀を決定した。肺内のコロニー数を、処置20時間後に決定した。

【0122】

マウスの感染

新規に一晩置いた5%ウシ血液寒天プレートから得たPA18298のコロニーを、約10⁸CFU/mlまで0.9%滅菌生理食塩水に懸濁して、約5×10⁷CFU/mlまでさらに希釈した。雌のマウス(DBA/2, 近系交配, 18-22g, Charles River)を、ゾレチル(0.1ml)で麻酔して、約10⁶CFUを含有する細菌懸濁液(0.05ml)を用いてピペットにより鼻から植菌した。植菌4時間後に、マウスを、鎮痛剤としてニューロフェン(約30mg/kg)に対応する20mgイブプロフェン/ml(45μl)を経口的に処置した。

【0123】

アミカシンによるマウスの処置

アミカシン(Sigma)(175mg)を、35mg/mlの濃度まで0.9%滅菌生理食塩水(5ml)に溶解して、さらに生理食塩水で3mg/mlに希釈した。マウスを、感染3時間後に、平均動物体重(20g)に基づいて30mg/kgに対応する単回用量(0.2ml)を頸部に皮下的に処置した。

【0124】

化合物1によるマウスの処置

有効な化合物1(10mg)を含有する1つのバイアルを、0.9%滅菌生理食塩水(2m

10

20

30

40

50

1)で5 mg / mlの濃度に溶解して、さらに生理食塩水で2、1、0.55、0.275および0.137 mg / mlに希釈した。マウスを、感染4時間後に、平均動物体重(20 g)に基づいた用量計算による単回用量(0.2 ml)を頸部に皮下的に処置した。コリスチンを、20 mg / kgの固定用量にて同じ方法におけるコントロールとして使用した。

【0125】

サンプル採取

コロニー数を、植菌4時間後(非処置マウス)および24時間後(処置マウスおよびビヒクル単独処置マウス)に決定した。マウスを屠殺した直後に、肺を摘出して、-20で凍結した。解凍後に、臓器を、0.9%生理食塩水(1 ml)中でホモジネートした。次いで、各サンプルを、生理食塩水で10倍希釈して、スポット(20 µl)を、血液寒天プレート上に塗布した。全てのアガーブレートを、大気中35°で18~24時間インキュベートした。

【0126】

CFU計測

植菌物中のCFU / mlを、 $6.17 \log_{10}$ CFU / マウスに対応する $7.4 \log_{10}$ CFU / mlと決定した。

【0127】

植菌4時間後の平均 \log_{10} CFU / 肺は5.06であり、CFUレベルはビヒクル群において、24時間後に1.55平均 \log_{10} CFU / 肺まで低下した。コリスチン単独処置(20 mg / kg)ならびにアミカシン単独処置(30 mg / kg)は、細菌量の低下に対してある程度の効果を有した。

【0128】

シグモイド型の用量反応モデル(可変勾配)を用いるマウスの肺におけるアミカシン(30 mg / kg)の固定用量存在下でのPA18298に対する化合物1のED₅₀に対する用量反応曲線の評価により、9.1 mg / kgの推定値が明らかとなった。以下の表4に、相対効力値を要約する。

【0129】

【表5】

表4：化合物1の効力値

	化合物1	30 mg/kgアミカシンの存在下の化合物1
トップレベル	-3.60 \log_{10} CFU/ml	-3.03 \log_{10} CFU/ml
ボトムレベル	-2.48 \log_{10} CFU/ml	-3.82 \log_{10} CFU/ml
E _{max}	1.12 \log_{10} CFU/ml	0.79 \log_{10} CFU/ml
ED ₅₀	26.6 mg/kg	9.1 mg/kg
定常用量	9.15 mg/kg	nd
1 log 穀用量	nd	nd
2 log 穀用量	nd	nd
R ²	0.26	0.05

nd : 決定しない

30

40

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 31/04 (2006.01) A 6 1 P 31/04
A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 121

(72)発明者 グレン・エー・ダーレ
スイス、ツェーハー-4059バーゼル、ツェー・エフ・マイヤー-シュトラーセ10番
(72)発明者 ダニエル・オブレヒト
スイス、ツェーハー-4112ベトヴィル、イム・アイハッカー21番
(72)発明者 フランチェスカ・ベルナルディーニ
フランス、エフ-68220エザング、リュ・デ・プリエ6番

合議体

審判長 關 政立

審判官 大久保 元浩

審判官 長谷川 茜

(56)参考文献 特表2009-523713(JP,A)
Science, 2010年, Vol. 327, No. 5968, p1010-1013
West Indian Medical Journal, 2008年, Vol. 57, No. 2, p106-111
日本内科学会雑誌, 2008年, Vol. 97, No. 9, p2309-2314
Current Opinion In Pharmacology, Available online: 2012年 7月26日, Vol. 12, No. 5, p535-544 [online], doi:10.1016/j.coph.2012.07.004, Retrieved from the internet:<URL:<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471489212001154>>
真菌と真菌症, 1974年, Vol. 15, No. 1, p18-25
CHEMOTHERAPY, 1986年, Vol. 34, No. 4, p294-301
Japanese Journal of Antibiotics, 2011年, Vol. 64, No. 4, p203-216

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/00-48/00

CAPplus/REGISTRY/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE(STN)
JSTplus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)