

(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2017-504647  
(P2017-504647A)

(43) 公表日 平成29年2月9日(2017.2.9)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/7072 (2006.01)	A 6 1 K 31/7072	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/496 (2006.01)	A 6 1 K 31/496	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 31/06 (2006.01)	A 6 1 P 31/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 48 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-549373 (P2016-549373)  
 (86) (22) 出願日 平成27年1月29日 (2015.1.29)  
 (85) 翻訳文提出日 平成28年9月28日 (2016.9.28)  
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2015/050209  
 (87) 国際公開番号 W02015/114340  
 (87) 国際公開日 平成27年8月6日 (2015.8.6)  
 (31) 優先権主張番号 1401617.4  
 (32) 優先日 平成26年1月30日 (2014.1.30)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 512252250  
 ヘルパービー セラピューティクス リミ  
 テッド  
 Helperby Therapeuti  
 cs Limited  
 イギリス国 WC2A 3LH ロンドン  
 , リンカーンズ イン フィールズ 66  
 66 Lincoln's Inn Fi  
 elds, London WC2A 3L  
 H United Kingdom  
 (74) 代理人 110002206  
 特許業務法人せとうち国際特許事務所

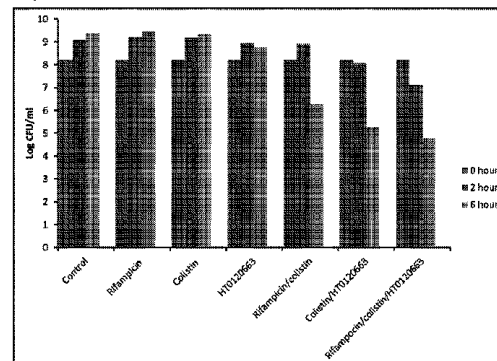
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微生物感染の治療のためのジドブジン組み合わせ療法

(57) 【要約】

本発明は、微生物感染に関連する臨床的に潜伏性の微生物を死滅させるためのジドブジンなどの抗レトロウィルス剤および抗微生物剤の組み合わせの使用、ならびに微生物感染治療のための、ジドブジンなどの抗レトロウィルス剤および抗微生物剤を含む新規組み合わせに関するものである。

Figure 4



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

微生物感染を治療するための、コリスチンまたはポリミキシン B から選択されるポリミキシン；リファンピシン、リファペンチンまたはリファブチンから選択される抗結核抗生物質；および適宜にピペリンと組み合わせたジドブジンの使用。

## 【請求項 2】

微生物感染に関連する臨床的に潜伏性の微生物を死滅させる上での同時、別個または順次使用するための組み合わせ薬剤としての、コリスチンおよびポリミキシン B から選択されるポリミキシン；リファンピシン、リファペンチンまたはリファブチンから選択される抗結核抗生物質；および適宜にピペリンと組み合わせたジドブジンを含む製品。

10

## 【請求項 3】

微生物感染の治療、好ましくは微生物感染関連の臨床的に潜伏性の微生物の死滅のために使用される、コリスチンおよびポリミキシン B から選択されるポリミキシン；リファンピシン、リファペンチンまたはリファブチンから選択される抗結核抗生物質；および適宜にピペリンと組み合わせたジドブジンならびに医薬として許容される担体を含む医薬組成物。

## 【請求項 4】

微生物感染治療、好ましくは微生物感染関連の臨床的に潜伏性の微生物の死滅のための請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 5】

ジドブジンをコリスチンおよびリファンピシンまたはリファペンチンと併用する前記請求項のいずれか 1 項に記載の使用。

20

## 【請求項 6】

微生物感染の治療での同時、別個または順次使用のための、ジドブジン、コリスチンおよびリファンピシンまたはリファペンチンを含む組成物。

## 【請求項 7】

コリスチンおよびリファンピシンまたはリファペンチンと組み合わせた、微生物感染治療のためのジドブジンの使用。

## 【請求項 8】

ジドブジンおよびリファンピシンまたはリファペンチンと組み合わせた、微生物感染治療のためのコリスチンの使用。

30

## 【請求項 9】

コリスチンおよびジドブジンと組み合わせた、微生物感染治療のためのリファンピシンまたはリファペンチンの使用。

## 【請求項 10】

ピペリンをさらに含む前記請求項のいずれか 1 項に記載の使用、製品または組み合わせ。

## 【請求項 11】

前記微生物感染が大腸菌(*E. coli*)、腸内細菌科(*Enterobacteriaceae*)、インフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*)、マイコバクテリア属(*Mycobacteria*)またはクレブシエラ属(*Klebsiella*)によって生じるものである、前記請求項のいずれか 1 項に記載の使用。

40

## 【請求項 12】

前記感染が、大腸菌(*E. coli*)、マイコバクテリウム・ツベルクロシス(*Mycobacterium tuberculosis*)またはクレブシエラ属(*Klebsiella*)によって生じるものである、請求項 11 に記載の使用。

## 【請求項 13】

前記感染が、薬剤耐性株によって生じるものである、請求項 11 または 12 に記載の使用。

## 【請求項 14】

前記感染が、カルバペネマーゼ耐性株または「拡張スペクトル - ラクタマーゼ」(E

50

S P L ) 株、例えばニューデリー・メタロ - - ラクタマーゼ - 1 ( N D M - 1 ) 耐性クレブシエラ・ニューモニエ (Klebs. Pneumonia) によって生じるものである、請求項 1 3 に記載の使用。

【請求項 1 5】

結核、炭疽病、膿瘍、尋常性座瘡、放線菌症、喘息、細菌性赤痢、細菌性結膜炎、細菌性角膜炎、細菌性膣炎、ポツリヌス中毒症、ブルーリ潰瘍、骨および関節の感染症、気管支炎(急性もしくは慢性)、ブルセラ症、火傷、猫引掻き熱、蜂巣炎(cellulitis)、軟性下疳、胆管炎、胆嚢炎、皮膚ジフテリア、嚢胞性線維症、膀胱炎、びまん性汎細気管支炎、ジフテリア、虫歯、上気道疾患、湿疹、蓄膿症、心内膜炎、子宮内膜炎、腸チフス、腸炎、精巣上体炎、喉頭蓋炎、エリシペリス(erysipelis)、丹毒、類丹毒、紅色陰癬、眼感染症、フルンケル、ガルドネラ菌性膣炎、胃腸管感染(胃腸炎)、生殖器感染、歯肉炎、淋病、鼠径部肉芽腫、ハーバーヒル熱、感染熱傷、歯科手術後の感染、口腔領域の感染、人工器官に関連する感染、腹腔内膿瘍、レジオネラ症、ハンセン病、レプトスピラ症、リステリア症、肝臓膿瘍、ライム病、鼠径リンパ肉芽腫、乳腺炎、乳様突起炎、髄膜炎および神経系の感染、菌腫、ノカルジア症、非特異的尿道炎、眼炎、骨髄炎、耳炎、精巣炎、膝炎、爪周囲炎、骨盤腹膜炎、腹膜炎、虫垂炎に伴う腹膜炎、咽頭炎、蜂巣炎(phlegmons)、ピンタ、伝染病、胸水、肺炎、術後創傷感染、術後ガス壊疽、前立腺炎、偽膜性大腸炎、オウム病、肺気腫、腎盂腎炎、膿皮症、Q熱、ネズミ咬熱、細網症、リシン中毒、リッター病、サルモネラ症、卵管炎、敗血症性関節炎、敗血症性感染、敗血症、副鼻腔炎、皮膚感染、梅毒、全身感染、へんとう炎、毒素性ショック症候群、トラコーマ、野兔病、腸チフス、発疹チフス、尿道炎、創傷感染、イチゴ腫、アスペルギルス症、カンジダ症、クリプトコッカス症、黄癬、ヒストプラズマ症、間擦疹、ムコール菌症、白癬、爪甲真菌症、虹色糝糠疹、輪癬(ringworm)もしくはスポロトリウム症;またはM S S A、M R S A、スタフィロコッカス・エピデルミディス(Staph. epidermidis)、ストレプトコッカス・アガラクチア(Strept. agalactiae)、ストレプトコッカス・ピオジェネス(Strept. pyogenes)、大腸菌(Escherichia coli)、クレブシエラ・ニューモニエ(Klebs. pneumoniae)、クレブシエラ・オキシトカ(Klebs. oxytoca)、プロテウス・ミラビリス(Pr. mirabilis)、プロテウス・レットゲリ(Pr. rettgeri)、プロテウス・バルガリス(Pr. vulgaris)、インフルエンザ菌(Haemophilis influenzae)、エンテロコッカス・フェーカリス(Enterococcus faecalis)およびエンテロコッカス・ファシウム(Enterococcus faecium)による感染の治療のための前記請求項のいずれか1項に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗微生物薬と組み合わせた微生物感染に関連する臨床的に潜伏性の微生物を死滅させるための抗レトロウィルス剤の使用に関するものである。

【背景技術】

【0002】

抗生物質が導入される以前は、急性微生物感染(例えば結核または肺炎)の患者は生存の確率が低かった。例えば、結核による死亡率はほぼ50%であった。1940年代および1950年代の抗微生物剤の導入によってこの状況は急速に変わったが、細菌は一般的に用いられる抗生物質に対する耐性を次第に獲得することにより、応答してきた。現在では、世界中の全ての国に抗生物質耐性細菌が存在する。実際、米国において院内感染を引き起こす細菌のうちの70%を超えるものが、感染との闘いのために通常用いられる主要な抗微生物剤の少なくとも1種に対して耐性である(Nature Reviews, Drug Discovery 1, 895-910(2002))。

【0003】

耐性細菌の増殖問題に取り組む一つの手法は、新たな種類の抗微生物剤の開発である。しかしながら、2000年にリネゾリドが導入されるまで、37年にもわたり新たな種類の抗生物質で上市されたものはなかった。さらに、新たな種類の抗生物質が開発されても

、一時的な解決しかもたらさず、実際に、リネゾリドに対してある種の細菌の耐性がすでに報告されている (Lancet 357, 1179(2001)およびLancet 358, 207-208(2001))。

【0004】

細菌耐性の問題に対するより長期的な解決法を開発するには、代替手法が必要であることは明らかである。そのような代替手法の一つは、細菌が重要な抗生物質に対する耐性を発達させる機会をできるだけ少なくすることである。従って、採用することができる戦略としては、非急性感染の治療への抗生物質の使用を制限すること、ならびに成長を促進することを目的としてどの抗生物質を動物に与えるかを管理することが挙げられる。

【0005】

しかしながら、この問題により効率的に取り組むためには、細菌が抗生物質に対する耐性を生じる実際のメカニズムに関する理解を得ることが必要である。そのためには、現在の抗生物質が細菌を死滅させるためにどのように作用するのかを考えることが第一に必要である。

10

【0006】

抗微生物剤は、細菌代謝の必須成分を標的とする。例えば、 $\beta$ -ラクタム類 (例えば、ペニシリン類およびセファロsporin類) は細胞壁合成を阻害し、他の薬剤はDNAジャイレース (キノロン類) およびタンパク質合成 (例えば、マクロライド類、アミノグリコシド類、テトラサイクリン類およびオキサゾリジノン類) などの様々な範囲の標的を阻害する。抗微生物剤が有効である生物の範囲は、どの生物が阻害される代謝段階に大きく依存するかに応じて変わる。さらに、細菌に対する効果は、単に増殖の阻害 (すなわち、テトラサイクリン類などの薬剤について認められるような静菌効果) から完全な死滅 (すなわち、例えば、ペニシリンについて認められるような殺細菌効果) まで変動し得るものである。

20

【0007】

細菌は地球上で30億年以上にわたって増殖してきたが、その際、多大な環境ストレスに応答する必要があった。従って、細菌が抗生物質によりそれらに課された代謝ストレスに応答することができる無限とも思える多様なメカニズムを発達させたことは驚くには当たらないであろう。実際、細菌が耐性を生じ得るメカニズムには、薬剤の不活性化、作用部位の変更、細胞壁の浸透性の変更、標的酵素の過剰産生および阻害される段階の迂回などの多様な戦略が含まれる。それにも関わらず、特定の薬剤に対して耐性が出現する速度は、薬剤の作用メカニズム、薬剤の殺菌メカニズムが時間依存的であるか濃度依存的であるか、細菌群に対する効力ならびに利用可能な血清濃度の大きさおよび持続時間などの因子に応じて広く変動することが認められている。

30

【0008】

単一の酵素を標的とする薬剤 (例えば、リファンピシン) は最も耐性を生じやすいことが提起されている (Science, 264, 388-393(1994))。さらに、準最適レベルの抗微生物剤が細菌と接触する時間が長いほど、耐性の出現の可能性が高くなる。

【0009】

さらに、多くの微生物感染が、抗微生物剤に対して表現型的に耐性である細菌の下位群を含むことが知られている (J. Antimicrob. Chemother., 4, 395-404(1988); J. Med. Microbiol., 38, 197-202(1993); J. Bacteriol., 182, 1794-1801(2000); 上掲, 182, 6358-6365(2000); 上掲, 183, 6746-6751(2001); FEMS Microbiol. Lett., 202, 59-65(2001); および Trends in Microbiology, 13, 34-40(2005))。存続菌、静止期菌などのいくつかの種類のような表現型的に耐性の細菌には数種類あるように思われ、例えば生残菌、静止期菌、ならびにバイオフィーム状態の細菌などがある。しかしながら、これらの各種類は、同じ条件下での対数増殖期の細菌と比較して低い増殖速度を特徴とする。栄養飢餓および高い細胞密度もそのような細菌の一般的特徴である。

40

【0010】

そのゆっくり増殖する状態において抗微生物剤に対して耐性であるが、表現型的に耐性の細菌は、それらが速い増殖状態に戻る場合 (例えば、細菌が栄養素をより容易に得られ

50

るようになる場合)、抗微生物剤に対してその感染性を取り戻す点で遺伝子型的に耐性の細菌とは異なる。

【0011】

感染において表現型的に耐性の細菌が存在するために、複数回投与を含む抗微生物剤の長期使用の必要性をもたらす。これは、耐性の、ゆっくり増殖する細菌が、条件が許す場合に速く増殖する状態に転換する(それにより感染を効率的に再開する)ことができる「潜伏性」生物の群を提供するからである。長時間に渡る複数回投与は、「活性」型に転換する「潜伏性」細菌を徐々に死滅させることにより、この問題に取り組むものである。

【0012】

しかしながら、抗微生物剤の長期投与により「潜伏性」細菌に取り組むことは、それ自身の問題を引き起こす。すなわち、準最適レベルの濃度の抗微生物剤に細菌を長時間曝露することは、遺伝子型的に耐性の細菌の出現を誘発し、その菌は高濃度の抗微生物剤の存在下でも急速に増殖することができる。

10

【0013】

長期の抗微生物剤の投与は、非増殖性細菌が生存する傾向があり、興味深いことに突然変異して耐性となる能力が高まることから、相対的に短期間の使用と比較して遺伝子型耐性の出現を促進しやすい(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 11736-11740(1995); J. Bacteriol. 179, 6688-6691(1997); および Antimicrob. Agents Chemother. 44, 1771-1777(2000))。

【0014】

上記の内容を考慮すると、細菌耐性の問題と闘うための新しい手法は、「潜伏性」微生物を死滅させる能力に基づいて抗微生物剤を選択および開発することであると考えられる。そのような薬剤を製造することで、特に、微生物感染の治療における化学療法計画の短縮が可能となり、それにより遺伝子型耐性が微生物中で生じる頻度を低下させることが可能となる。

20

【0015】

下記の論文には、多剤耐性(MDR)アシネトバクター・バウマニ(*Acinetobacter baumannii*)などの細菌感染に対する併用療法としてコリスチン、ポリキシミンおよびリファンピシンの使用が開示されている(Motaouakkil S et al J Infect (2006) 53 274-278、Bassetti M et al J Antimicrob Chemo (2008) 61 417-420、Zhou A et al The AAPS J (2013年10月16日にオンラインで公開) DOI:10.1208/s12248-013-9537-8)。Lee JJらは、MDR-A・バウマニ(*A. baumannii*)の*in vitro*モデルでのコリスチンおよびリファンピシンの組み合わせの結果を開示している(Antimicrob Agents & Chemo (2013) 57(8)3738-3745)。いくつかの期間にわたりいくつかの濃度で相乗効果が認められた。コリスチンが細菌への自体の侵入を自己促進するだけでなく、それによってリファンピシンによる侵入を高めるメカニズムが提案されている。

30

【0016】

多施設無作為臨床試験についての報告で、Durante-Mangoni Eら(Clin Infect Dis (2013) 57(3) 349-58)は、組み合わせ群において30日死亡率に低下が全くないため、「これらの結果は、現時点で、臨床業務において、リファンピシンをコリスチンと日常的に組み合わせるべきではない。それでもなお、組み合わせ治療によってA・バウマニ(*A. baumannii*)根絶率が上がることは、臨床的有用性を示唆し得ると考えられる。」と結論付けている。

40

【0017】

Tascini Cら(Antimicrob Agents & Chemo (2013) 57(8) 3990-3993)は、カルバペネム耐性クレブシエラ・ニューモニエ(*Klebsiella pneumoniae*)での同じ組み合わせの使用を開示している。好ましい相乗効果に基づき、MDR-クレブシエラ・ニューモニエ(*K. pneumoniae*)でのその組み合わせの使用が、臨床的役割を有すると提案されている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

50

## 【 0 0 1 8 】

最近、抗レトロウイルス薬ジドブジンが、ゲンタマイシンと併用した場合に、抗微生物剤として活性であるという報告があった。そこで、Doleans-Jordheim A.らは、ジドブジン(AZT)が一部の腸内細菌に対する殺細菌効果を有しているが、大腸菌における耐性を誘発し得ることを開示している(Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011 Oct;30(10):1249-56)。これらの耐性は、チミジンキナーゼ遺伝子における各種改変に関連していた。さらに、AZTと2種類のアミノグリコシド系抗生物質アミカシンおよびゲンタマイシンとの間の相加的または相乗的活性が、腸内細菌に対して認められている。

## 【 課題を解決するための手段 】

## 【 0 0 1 9 】

従って、本発明の1態様では、微生物感染を治療するための、コリスチンまたはポリミキシンBから選択されるポリミキシン；リファンピシン、リファペンチンまたはリファブチンから選択される抗結核抗生物質；および適宜にピペリンと組み合わせたジドブジンの使用が提供される。

10

## 【 0 0 2 0 】

別の実施形態において本発明は、微生物感染に関連する臨床的に潜伏性の微生物の死滅における同時、別個もしくは順次使用のための、組み合わせ薬剤としての、コリスチンおよびポリミキシンBから選択されるポリミキシン；リファンピシン、リファペンチンまたはリファブチンから選択される抗結核抗生物質；および適宜にピペリンと組み合わせたジドブジンを含む製品に関するものである。

20

## 【 0 0 2 1 】

本発明の別の実施形態は、微生物感染の治療での、好ましくは微生物感染に関連する臨床的に潜伏性の微生物の死滅のために使用される、コリスチンおよびポリミキシンBから選択されるポリミキシン；リファンピシン、リファペンチンまたはリファブチンから選択される抗結核抗生物質；ならびに適宜にピペリンと組み合わせたジドブジン、ならびに医薬として許容される担体を含む医薬組成物に関するものである。

## 【 0 0 2 2 】

各記載の実施形態において、好ましい抗結核抗生物質はリファンピシンである。

従って本発明はさらに、微生物感染の治療における同時、別個もしくは順次使用のためのジドブジン、コリスチンおよびリファンピシンを含む組成物に関する。

30

## 【 0 0 2 3 】

従って本発明は、

コリスチンおよびリファンピシンまたはリファペンチンと組み合わせた、微生物感染の治療のためのジドブジンの使用、

ジドブジンおよびリファンピシンまたはリファペンチンと組み合わせた、微生物感染の治療のためのコリスチンの使用、および

コリスチンおよびジドブジンと組み合わせた、微生物感染の治療のためのリファンピシンまたはリファペンチンの使用も含む。

40

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 2 4 】

【 図 1 a 】 NDM - 1 クレブシエラ・ニューモニエ (*klebsiella pneumonia*) に対するコリスチン、リファンピシンを個別におよび組み合わせて投与した場合の時間 - 殺菌曲線

【 図 1 b 】 NDM - 1 クレブシエラ・ニューモニエ (*klebsiella pneumonia*) に対するコリスチン、リファンピシンを個別におよび組み合わせて投与した場合の時間 - 殺菌曲線

【 図 1 c 】 NDM - 1 クレブシエラ・ニューモニエ (*klebsiella pneumonia*) に対するコリスチン、リファンピシンを個別におよび組み合わせて投与した場合の時間 - 殺菌曲線

【 図 2 a 】 NDM - 1 大腸菌 (*Escherichia coli*) に対するコリスチン、リファンピシンを個別におよび組み合わせて投与した場合の時間 - 殺菌曲線

【 図 2 b 】 NDM - 1 大腸菌 (*Escherichia coli*) に対するコリスチン、リファンピシン

50

を個別におよび組み合わせて投与した場合の時間 - 殺菌曲線

【図 2 c】NDM - 1 大腸菌 (*Escherichia coli*) に対するコリスチン、リファンピシンを個別におよび組み合わせて投与した場合の時間 - 殺菌曲線

【図 2 d】NDM - 1 大腸菌 (*Escherichia coli*) に対するコリスチン、リファンピシンを個別におよび組み合わせて投与した場合の時間 - 殺菌曲線

【図 3】NDM - 1 大腸菌 (*Escherichia coli*) に対するコリスチン、リファンピシン、ジドブジンを個別におよび組み合わせて投与した場合の臓器 CFU カウンティング

【図 4】NDM - 1 クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*) に対するコリスチン、リファンピシン、ジドブジンを個別におよび組み合わせて投与した場合の臓器 CFU カウンティング

【発明を実施するための形態】

【0025】

本発明の各実施形態において、ピペリンを加えるか否かは適宜である。特に、*J Pharmacol Exp Ther* (2002) 302(2) 645-650に記載のヒト P - 糖タンパク質および CYP3A4 の両方の阻害薬としてのピペリンに関するデータに基づくと、ピペリンの活性は、本明細書で定義の組み合わせに有用であると考えられる。従って、ある好ましい実施形態では、本発明の組み合わせにピペリンが含まれる。

【0026】

本発明は、コリスチンおよびポリミキシン B から選択されるポリミキシン；およびリファンピシン、リファペンチンまたはリファブチンから選択される抗結核抗生物質の組み合わせの活性が、ジドブジンとともに投与した場合に、大幅に向上するという予想外の知見にも基づいている。さらに、驚くべきことに、その組み合わせが、対数期（すなわち増殖期）および/または臨床的に潜伏性の微生物に対する相乗的抗微生物活性を示すことが明らかになった。本発明の組み合わせの驚くべき生理活性は、化学療法を短縮する機会を提供するものであり、結果的に微生物耐性の発生を低減することができるものである。

【0027】

下記に記載のように、本発明の組み合わせは、薬剤耐性細菌に対して特に有効であることで、当該組み合わせを薬剤耐性株および薬剤耐性が構築される前の当該株の両方に、すなわち一次治療として投与する道を開くものであることが明らかになった。

【0028】

特に、本発明の組み合わせが、グラム陰性細菌、具体的には薬剤耐性グラム陰性細菌に対して有効であることが明らかになった。

【0029】

本明細書で使用される場合、「と組み合わせて」という用語は、抗微生物剤および麻酔薬の別個および順次の両方の投与を包含するものである。それら薬剤を順次投与する場合、いずれかの薬剤を最初に投与することができる。投与が同時である場合、それら薬剤は同一または異なる医薬組成物で投与することができる。補助的療法、すなわち一方の薬剤を一次治療として用い、他方の薬剤を一次治療の補助に用いる療法も、本発明の一実施形態である。

【0030】

本発明の組み合わせを用いて、微生物感染を治療することができる。特に、それは微生物感染に関連する増殖性および/または臨床的に潜伏性の微生物を死滅させるのに用いることができる。従って、本明細書において微生物感染の治療について言及する場合、それは、そのような感染に関連する増殖性および/または臨床的に潜伏性の微生物を死滅させることを含む。好ましくは、本発明の組み合わせは、微生物感染に関連する臨床的に潜伏性の微生物を死滅させるのに用いられる。

【0031】

本明細書で使用される場合、「死滅させる」とは、代謝活性欠如によって評価される生存度喪失を意味する。

【0032】

10

20

30

40

50

本明細書で使用される場合、「臨床的に潜伏性の微生物」とは、代謝的に活性であるが感染症発現の閾値以下の成長速度を有する微生物を意味する。感染症発現の閾値はそれ以下では宿主における感染症の症状がない成長速度閾値を指す。

#### 【0033】

臨床的に潜伏性の微生物の代謝活性は、当業者には公知のいくつかの方法によって測定することができ、例えば微生物におけるmRNAレベルを測定することで、または微生物のウリジン取り込み速度を測定することで行う。この点において、対数増殖条件下(in vitroまたはin vivo)の微生物と比較して、臨床的に潜伏性の微生物は、低いながらも有意な、

(I) mRNAレベル(例:mRNAのレベルの0.0001から50%、例えば1から30%、5から25%または10から20%);および/または

(II) ウリジン(例えば[<sup>3</sup>H]ウリジン)取り込みレベル(例:[<sup>3</sup>H]ウリジン取り込みのレベルの0.0005から50%、例えば1から40%、15から35%または20から30%)

を有する。

#### 【0034】

臨床的に潜伏性の微生物は代表的には、多くの識別可能な特徴を有する。例えば、それは生存しているが培養不能である場合がある。すなわち、その微生物は通常は標準的な培養技術によって検出できないが、液体希釈カウンティング、顕微鏡観察またはポリメラーゼ連鎖反応などの分子技術などの技術によって検出可能かつ定量可能である。さらに、臨床的に潜伏性の微生物は、表現型的に耐性であることから、従来の抗微生物剤の静菌効果に対して感受性(対数期において)である(すなわち、従来の抗微生物剤の最小阻害濃度(MIC)が実質的に変わらない微生物)であるが、薬剤誘発の死滅に対する感受性が大きく低下している(例えば、いずれか所定の従来の抗微生物剤で、最小殺菌剤濃度(例えば最小殺菌剤濃度、MBC)のMICに対する比率が10以上である微生物)。

#### 【0035】

本明細書で使用される場合、「微生物」という用語は、真菌および細菌を意味する。本明細書において「微生物の」、「抗微生物剤」または「抗微生物的に」と言う場合、それは前記に従って解釈されるものである。例えば「微生物の」という用語は「真菌の」または「細菌の」を意味し、「微生物感染」は真菌感染または細菌感染を意味する。

#### 【0036】

上記で要約したように、Doleans-Jordheim Aらは、ジドブジン(AZT)が、特にアミカシンおよびゲンタマイシンと組み合わせて一部の腸内細菌に対して殺微生物効果を有していることを開示した(Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011 Oct;30(10):1249-56)。

#### 【0037】

本明細書で使用される場合、「細菌」という用語(および「微生物感染」などのその派生語)は、下記の分類および具体的な種類の生物(または生物による感染)に言及することを含むが、これらに限定されるものではない。

#### 【0038】

グラム陽性球菌、例えば、ブドウ球菌(例えば、スタフィロコッカス・オーレウス(Staph. aureus)、スタフィロコッカス・エピデルミディス(Staph. epidermidis)、スタフィロコッカス・サプロフィティクス(Staph. Saprophyticus)、スタフィロコッカス・アウリクラリス(Staph. auricularis)、スタフィロコッカス・カピティス・カピティス(Staph. capitis capitis)、スタフィロコッカス・カピティス・ウレオリティクス(Staph. c. ureolyticus)、スタフィロコッカス・カブラエ(Staph. caprae)、スタフィロコッカス・コーニ・コーニ(Staph. cohnii cohnii)、スタフィロコッカス・コーニ・ウレアリティクス(Staph. c. urealyticus)、スタフィロコッカス・エクオラム(Staph. equorum)、スタフィロコッカス・ガリナルム(Staph. gallinarum)、スタフィロコッカス・ヘモリティクス(Staph. haemolyticus)、スタフィロコッカス・ホミニス・ホミニス(Staph. hominis hominis)、スタフィロコッカス・ホミニス・ノボバイオセプティシウス(Staph. h. novobioseptic

10

20

30

40

50

ius)、スタフィロコッカス・ヒクス(*Staph. hyicus*)、スタフィロコッカス・インターメ  
 ディウス(*Staph. intermedius*)、スタフィロコッカス・ルグドゥネンシス(*Staph. lugdun  
 ensis*)、スタフィロコッカス・パステウリ(*Staph. pasteurii*)、スタフィロコッカス・サ  
 ッカロリティクス(*Staph. saccharolyticus*)、スタフィロコッカス・シュレイフェリ・シ  
 ュレイフェリ(*Staph. schleiferi schleiferi*)、スタフィロコッカス・シュレイフェリ・  
 コアグランス(*Staph. s. coagulans*)、スタフィロコッカス・スシウリ(*Staph. sciuri*)  
 、スタフィロコッカス・シムランス(*Staph. simulans*)、スタフィロコッカス・ワルネリ(  
*Staph. warneri*)およびスタフィロコッカス・キシロサス(*Staph. xylosus*)、

連鎖球菌(*Streptococci*) (例えば、 - 溶血性化膿性連鎖球菌(ストレプトコッカス  
 ・アガラクチア(*Strept. agalactiae*)、ストレプトコッカス・カニス(*Strept. canis*)、 10  
 ストレプトコッカス・ジスガラクチア・ジスガラクチア(*Strept. dysgalactiae dysgalac  
 tiae*)、ストレプトコッカス・ジスガラクチア・エキシミリス(*Strept. dysgalactiae equ  
 isimilis*)、ストレプトコッカス・エキ・エキ(*Strept. equi equi*)、ストレプトコッカス  
 ・エキ・ズーエピデミクス(*Strept. equi zooepidemicus*)、ストレプトコッカス・イニア  
 エ(*Strept. iniae*)、ストレプトコッカス・ポルシヌス(*Strept. porcinus*)およびストレ  
 プトコッカス・ピオジェネス(*Strept. pyogenes*)など)、微好気性化膿性連鎖球菌(スト  
 レプトコッカス・「ミレリ」、例えば、ストレプトコッカス・アンギノサス(*Strept. an  
 ginosus*)、ストレプトコッカス・コンステラタス・コンステラタス(*Strept. constellatu  
 s constellatus*)、ストレプトコッカス・コンステラタス・ファリングイディス(*Strept. co  
 nstellatus pharyngidis*)およびストレプトコッカス・インターメディウス(*Strept. inte  
 rmedius*)、「ミティス」( - 溶血性ストレプトコッカス・「ピリダンス」、例えば、  
 ストレプトコッカス・ミティス(*Strept. mitis*)、ストレプトコッカス・オラリス(*Strept  
 . oralis*)、ストレプトコッカス・サンギニス(*Strept. sanguinis*)、ストレプトコッカス  
 ・クリスタタス(*Strept. cristatus*)、ストレプトコッカス・ゴルドニ(*Strept. gordonii*  
 )およびストレプトコッカス・パラサンギニス(*Strept. parasanguinis*)、「サリバリウ  
 ス」(非溶血性、例えば、ストレプトコッカス・サリバリウス(*Strept. salivarius*)およ  
 びストレプトコッカス・ベスチブラリス(*Strept. vestibularis*)および「ミュータンス  
 」(歯表面の連鎖球菌、例えば、ストレプトコッカス・クリセチ(*Strept. criceti*)、ス  
 レプトコッカス・ミュータンス(*Strept. mutans*)、ストレプトコッカス・ラッチ(*Strep  
 t. ratti*)およびストレプトコッカス・ソブリヌス(*Strept. sobrinus*))群の口腔内連鎖 30  
 球菌、ストレプトコッカス・アシドミニマス(*Strept. acidominimus*)、ストレプトコッカ  
 ス・ボビス(*Strept. bovis*)、ストレプトコッカス・ファカリス(*Strept. faecalis*)、ス  
 レプトコッカス・エキナス(*Strept. equinus*)、ストレプトコッカス・ニューモニエ(*St  
 rept. pneumoniae*)およびストレプトコッカス・スイス(*Strept. suis*)、または別途 A、  
 B、C、D、E、G、L、P、UもしくはV群連鎖球菌として分類される連鎖球菌)；

グラム陰性球菌、例えば、ナイセリア・ゴノロア(*Neisseria gonorrhoeae*)、ナイセリ  
 ア・メニングイティディス(*Neisseria meningitidis*)、ナイセリア・シネレア(*Neisseria c  
 inerea*)、ナイセリア・エロンガタ(*Neisseria elongata*)、ナイセリア・フラベセンス(*Ne  
 isseria flavescens*)、ナイセリア・ラクタミカ(*Neisseria lactamica*)、ナイセリア・ム  
 コサ(*Neisseria mucosa*)、ナイセリア・シッカ(*Neisseria sicca*)、ナイセリア・スブフ  
 ラバ(*Neisseria subflava*)およびナイセリア・ウェアベリ(*Neisseria weaveri*)； 40

バチルス科、例えば、バチルス・アントラシス(*Bacillus anthracis*)、バチルス・スブ  
 チリス(*Bacillus subtilis*)、バチルス・スリングエンシス(*Bacillus thuringiensis*)、  
 バチルス・ステアロテルモフィルス(*Bacillus stearothermophilus*)およびバチルス・セ  
 レウス(*Bacillus cereus*)；

腸内細菌科、例えば、大腸菌(*Escherichia coli*)、エンテロバクター属(例えば、エン  
 テロバクター・エロゲネス(*Enterobacter aerogenes*)、エンテロバクター・アグロメラン  
 ス(*Enterobacter agglomerans*)およびエンテロバクター・クロアカ(*Enterobacter cloaca  
 e*))、シトロバクター属(シトロバクター・フレウンジ(*Citrob. freundii*)およびシトロ  
 バクター・ジベルニス(*Citrob. divernis*)など)、ハフニア属(例えば、ハフニア・アル 50

ベイ(*Hafnia alvei*))、エルウィニア属(例えば、エルウィニア・ペルシシヌス(*Erwinia persicinus*))、モルガネラ・モルガニ(*Morganella morganii*)、サルモネラ菌(サルモネラ・エンテリカ(*Salmonella enterica*)およびサルモネラ・チフィ(*Salmonella typhi*))、シゲラ菌(例えば、シゲラ・ジセンテリア(*Shigella dysenteriae*)、シゲラ・フレクスネリ(*Shigella flexneri*)、シゲラ・ボイジ(*Shigella boydii*)およびシゲラ・ソネイ(*Shigella sonnei*))、クレブシエラ菌(例えば、クレブシエラ・ニューモニエ(*Klebs. pneumoniae*)、クレブシエラ・オキシトカ(*Klebs. oxytoca*)、クレブシエラ・オルニトリティカ(*Klebs. ornitholytica*)、クレブシエラ・プランチコラ(*Klebs. planticola*)、クレブシエラ・オザナエ(*Klebs. ozaenae*)、クレブシエラ・テリゲナ(*Klebs. terrigena*)、クレブシエラ・グラヌロマトイス(*Klebs. granulomatis*) (カリマトバクテリウム・グラヌロマトイス(*Calymatobacterium granulomatis*))およびクレブシエラ・リノスクレロマトイス(*Klebs. rhinoscleromatis*))、プロテウス属(例えば、プロテウス・ミラピリス(*Pr. mirabilis*)、プロテウス・レットゲリ(*Pr. rettgeri*)およびプロテウス・バルガリス(*Pr. vulgaris*))、プロビデンシア属(例えば、プロビデンシア・アルカリファシエンス(*Providencia alcalifaciens*)、プロビデンシア・レットゲリ(*Providencia rettgeri*)およびプロビデンシア・スツアルティ(*Providencia stuartii*))、セラチア属(例えば、セラチア・マルセセンス(*Serratia marcescens*)およびセラチア・リキファシエンス(*Serratia liquifaciens*))ならびにエルシニア属(例えば、エルシニア・エンテロコリティカ(*Yersinia enterocolitica*)、エルシニア・ペスティス(*Yersinia pestis*)およびエルシニア・シュードツベルクロシス(*Yersinia pseudotuberculosis*)) ;

10

20

腸球菌(例えば、エンテロコッカス・アビウム(*Enterococcus avium*)、エンテロコッカス・カセリフラバス(*Enterococcus casseliflavus*)、エンテロコッカス・セコラム(*Enterococcus cecorum*)、エンテロコッカス・ジスパル(*Enterococcus dispar*)、エンテロコッカス・デュランス(*Enterococcus durans*)、エンテロコッカス・ファカリス(*Enterococcus faecalis*)、エンテロコッカス・ファシウム(*Enterococcus faecium*)、エンテロコッカス・フラベセンス(*Enterococcus flavescens*)、エンテロコッカス・ガリナルム(*Enterococcus gallinarum*)、エンテロコッカス・ヒラエ(*Enterococcus hirae*)、エンテロコッカス・マロドラタス(*Enterococcus malodoratus*)、エンテロコッカス・ムンドチ(*Enterococcus mundtii*)、エンテロコッカス・シュードアビウム(*Enterococcus pseudoavium*)、エンテロコッカス・ラフィノサス(*Enterococcus raffinosus*)およびエンテロコッカス・ソリタリウス(*Enterococcus solitarius*)) ;

30

ヘリコバクター属(例えば、ヘリコバクター・ピロリ(*Helicobacter pylori*)、ヘリコバクター・シナエジ(*Helicobacter cinaedi*)およびヘリコバクター・フェネリア(*Helicobacter fennelliae*)) ;

アシネトバクター属(例えば、アシネトバクター・バウマニ(*A. baumanii*)、アシネトバクター・カルコアセチカス(*A. calcoaceticus*)、アシネトバクター・ヘモリティカス(*A. haemolyticus*)、アシネトバクター・ジョンソニ(*A. johnsonii*)、アシネトバクター・ジュニ(*A. junii*)、アシネトバクター・ルウォフィ(*A. lwoffii*)およびアシネトバクター・ラジオレシステンズ(*A. radioresistens*)) ;

シュードモナス属(例えば、シュードモナス・エルギノーサ(*Ps. aeruginosa*)、シュードモナス・マルトフィリア(*Ps. maltophilia*) (ステノトロフォモナス・マルトフィリア(*Stenotrophomonas maltophilia*))、シュードモナス・アルカリジェネズ(*Ps. alcaligenes*)、シュードモナス・クロロラフィス(*Ps. chlororaphis*)、シュードモナス・フルオレセンス(*Ps. fluorescens*)、シュードモナス・ルテオラ(*Ps. luteola*)、シュードモナス・メンドシナ(*Ps. mendocina*)、シュードモナス・モンテイリ(*Ps. monteilii*)、シュードモナス・オリジハピタンス(*Ps. oryzihabitans*)、シュードモナス・ペルトシノゲナ(*Ps. pertucinogena*)、シュードモナス・シュードアルカリジェネズ(*Ps. pseudalcaligenes*)、シュードモナス・プチダ(*Ps. putida*)およびシュードモナス・スツゼリ(*Ps. stutzeri*)) ;

40

バクテリオイデス・フラギリス(*Bacterioides fragilis*) ;

ペプトコッカス属(例えば、ペプトコッカス・ニガー (*Peptococcus niger*)) ;

50

ペプトストレプトコッカス属；

クロストリジウム属（例えば、クロストリジウム・ペルFRINGENS(C. perfringens)、クロストリジウム・ジフィシレ(C. difficile)、クロストリジウム・ボツリナム(C. botulinum)、クロストリジウム・テタニ(C. tetani)、クロストリジウム・アブソナム(C. abscessum)、クロストリジウム・アルゲンチネンセ(C. argentinense)、クロストリジウム・バラチ(C. baratii)、クロストリジウム・ピフェルメンタンス(C. bifementans)、クロストリジウム・ベイジェリンキ(C. beijerinckii)、クロストリジウム・ブチリカム(C. butyricum)、クロストリジウム・カダベリス(C. cadaveris)、クロストリジウム・カルニス(C. carnis)、クロストリジウム・セラタム(C. celatum)、クロストリジウム・クロストリジオフォルム(C. clostridioforme)、クロストリジウム・コクレアリウム(C. cochlearium)、クロストリジウム・コクレアタム(C. cocleatum)、クロストリジウム・ファラックス(C. fallax)、クロストリジウム・ゴニ(C. ghonii)、クロストリジウム・グリコリカム(C. glycolicum)、クロストリジウム・ヘモリティカム(C. haemolyticum)、クロストリジウム・ハスチフォルム(C. hastiforme)、クロストリジウム・ヒストリティカム(C. histolyticum)、クロストリジウム・インドリス(C. indolis)、クロストリジウム・イノカム(C. innocuum)、クロストリジウム・イレグラレ(C. irregulare)、クロストリジウム・レプタム(C. leptum)、クロストリジウム・リモサム(C. limosum)、クロストリジウム・マレノミナタム(C. malenominatum)、クロストリジウム・ノビ(C. novyi)、クロストリジウム・オロチカム(C. oroticum)、クロストリジウム・パラプトリフィカム(C. paraputrificum)、クロストリジウム・ピリフォルム(C. piliforme)、クロストリジウム・プトレファシエンス(C. putrefasciens)、クロストリジウム・ラモサム(C. ramosum)、クロストリジウム・セプチカム(C. septicum)、クロストリジウム・ソルデリ(C. sordelii)、クロストリジウム・スフェノイデス(C. sphenoides)、クロストリジウム・スポロゲネス(C. sporogenes)、クロストリジウム・サブテルミナレ(C. subterminale)、クロストリジウム・シンビオサム(C. symbiosum)およびクロストリジウム・テルチウム(C. tertium)）；

10

20

マイコプラズマ属（例えば、マイコプラズマ・ニューモニエ(M. pneumoniae)、マイコプラズマ・ホミニス(M. hominis)、マイコプラズマ・ゲニタリウム(M. genitalium)およびマイコプラズマ・ウレアリティカム(M. urealyticum)）；

マイコバクテリア属（例えば、マイコバクテリウム・ツベルクロシス(Mycobacterium tuberculosis)、マイコバクテリウム・アビウム(Mycobacterium avium)、マイコバクテリウム・フォルツイタム(Mycobacterium fortuitum)、マイコバクテリウム・マリナム(Mycobacterium marinum)、マイコバクテリウム・カンサシ(Mycobacterium kansasii)、マイコバクテリウム・シェロナエ(Mycobacterium chelonae)、マイコバクテリウム・アブセサス(Mycobacterium abscessus)、マイコバクテリウム・レブラエ(Mycobacterium leprae)、マイコバクテリウム・スメグミティス(Mycobacterium smegmitis)、マイコバクテリウム・アフリカナム(Mycobacterium africanum)、マイコバクテリウム・アルベイ(Mycobacterium alvei)、マイコバクテリウム・アジアチカム(Mycobacterium asiaticum)、マイコバクテリウム・オーラム(Mycobacterium aurum)、マイコバクテリウム・ボヘミカム(Mycobacterium bohemicum)、マイコバクテリウム・ボビス(Mycobacterium bovis)、マイコバクテリウム・ブランデリ(Mycobacterium branderi)、マイコバクテリウム・ブルマエ(Mycobacterium brumae)、マイコバクテリウム・セラタム(Mycobacterium celatum)、マイコバクテリウム・チュベンセ(Mycobacterium chubense)、マイコバクテリウム・コンフルエンティス(Mycobacterium confluentis)、マイコバクテリウム・コンスピカム(Mycobacterium conspicuum)、マイコバクテリウム・クッキ(Mycobacterium cookii)、マイコバクテリウム・フラベセンス(Mycobacterium flavescens)、マイコバクテリウム・ガディウム(Mycobacterium gadium)、マイコバクテリウム・ガストリ(Mycobacterium gastri)、マイコバクテリウム・ゲナベンス(Mycobacterium genavense)、マイコバクテリウム・ゴルドナ(Mycobacterium gordonae)、マイコバクテリウム・ゴージ(Mycobacterium goodii)、マイコバクテリウム・ヘモフィルム(Mycobacterium haemophilum)、マイコバクテリウム・ハシカム(Mycobacterium hassicum)、マイコバクテリウム・イントラセルラレ(Mycobacterium

30

40

50

intracellulare)、マイコバクテリウム・インタージェクタム(*Mycobacterium interjectum*)、マイコバクテリウム・ヘイデルベレンス(*Mycobacterium heidelbergense*)、マイコバクテリウム・レンチフラバム(*Mycobacterium lentiflavum*)、マイコバクテリウム・マルモエンス(*Mycobacterium malmoense*)、マイコバクテリウム・ミクロゲニカム(*Mycobacterium microgenicum*)、マイコバクテリウム・ミクロチ(*Mycobacterium microti*)、マイコバクテリウム・ムコゲニカム(*Mycobacterium mucogenicum*)、マイコバクテリウム・ネオオーラム(*Mycobacterium neoaurum*)、マイコバクテリウム・ノンクロモゲニカム(*Mycobacterium nonchromogenicum*)、マイコバクテリウム・ペレグリナム(*Mycobacterium peregrinum*)、マイコバクテリウム・フレイ(*Mycobacterium phlei*)、マイコバクテリウム・スクロフラセウム(*Mycobacterium scrofulaceum*)、マイコバクテリウム・シモイデイ(*Mycobacterium shimoidei*)、マイコバクテリウム・シミアエ(*Mycobacterium simiae*)、マイコバクテリウム・スズルガイ(*Mycobacterium szulgai*)、マイコバクテリウム・テラエ(*Mycobacterium terrae*)、マイコバクテリウム・サーモレジスタビル(*Mycobacterium thermoresistabile*)、マイコバクテリウム・トリプレックス(*Mycobacterium triplex*)、マイコバクテリウム・トリビアレ(*Mycobacterium triviale*)、マイコバクテリウム・ツシアエ(*Mycobacterium tusciae*)、マイコバクテリウム・ウルセランス(*Mycobacterium ulcerans*)、マイコバクテリウム・バッカエ(*Mycobacterium vaccae*)、マイコバクテリウム・ウォリンスキ(*Mycobacterium wolinskyi*)およびマイコバクテリウム・キセノピ(*Mycobacterium xenopi*) );

10

ヘモフィルス属 (例えば、ヘモフィルス・インフルエンザ(*Haemophilus influenzae*)、ヘモフィルス・デュクレイ(*Haemophilus ducreyi*)、ヘモフィルス・エジプトチウス(*Haemophilus aegyptius*)、ヘモフィルス・パラインフルエンザ(*Haemophilus parainfluenzae*)、ヘモフィルス・ヘモリティカス(*Haemophilus haemolyticus*)およびヘモフィルス・パラヘモリティカス(*Haemophilus parahaemolyticus*) );

20

アクチノバチルス属 (例えば、アクチノバチルス・アクチノミセテムコミタンス(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、アクチノバチルス・エクリ(*Actinobacillus equuli*)、アクチノバチルス・ホミニス(*Actinobacillus hominis*)、アクチノバチルス・リグニエレシ(*Actinobacillus lignieresii*)、アクチノバチルス・スイス(*Actinobacillus suis*)およびアクチノバチルス・ウレア(*Actinobacillus ureae*) );

アクチノミセス属 (例えば、アクチノミセス・イスラエリ(*Actinomyces israelii*) );

30

ブルセラ菌 (例えば、ブルセラ・アボルトス(*Brucella abortus*)、ブルセラ・カニス(*Brucella canis*)、ブルセラ・メリンテンシス(*Brucella melintensis*)およびブルセラ・スイス(*Brucella suis*) );

カンピロバクター属 (例えば、カンピロバクター・ジェジュニ(*Campylobacter jejuni*)、カンピロバクター・コリ(*Campylobacter coli*)、カンピロバクター・ラリ(*Campylobacter lari*)およびカンピロバクター・フェタス(*Campylobacter fetus*) );

リステリア・モノサイトジェネス(*Listeria monocytogenes*) );

ビブリオ属 (例えば、ビブリオ・コレラ(*Vibrio cholerae*)およびビブリオ・パラヘモリティカス(*Vibrio parahaemolyticus*)、ビブリオ・アルギノリティカス(*Vibrio alginolyticus*)、ビブリオ・カルチャリア(*Vibrio carchariae*)、ビブリオ・フルビアリス(*Vibrio fluvialis*)、ビブリオ・フルニシ(*Vibrio furnissii*)、ビブリオ・ホリサエ(*Vibrio hollisae*)、ビブリオ・メトシュニコビ(*Vibrio metschnikovii*)、ビブリオ・ミミカス(*Vibrio mimicus*)およびビブリオ・バルニフィカス(*Vibrio vulnificus*) );

40

エリシペロトリックス・ルゾパシア(*Erysipelothrix rhusopathiae*) );

コリネバクテリウム属 (例えば、コリネバクテリウム・ジフテリア(*Corynebacterium diphtheriae*)、コリネバクテリウム・ジェイケウム(*Corynebacterium jeikeum*)およびコリネバクテリウム・ウレアリティカム(*Corynebacterium urealyticum*) );

スピロヘータ科、例えば、ボレリア属 (例えば、ボレリア・レクレンティス(*Borrelia recurrentis*)、ボレリア・ブルグドルフェリ(*Borrelia burgdorferi*)、ボレリア・アフゼリ(*Borrelia afzelii*)、ボレリア・アンダーソニ(*Borrelia andersonii*)、ボレリア・ピ

50

セツティ(*Borrelia bissettii*)、ボレリア・ガリニ(*Borrelia garinii*)、ボレリア・ジャポニカ(*Borrelia japonica*)、ボレリア・ルシタニエ(*Borrelia lusitaniae*)、ボレリア・タヌキ(*Borrelia tanukii*)、ボレリア・タルジ(*Borrelia turdi*)、ボレリア・バライシアナ(*Borrelia valaisiana*)、ボレリア・カウカシカ(*Borrelia caucasica*)、ボレリア・クロシデュラエ(*Borrelia crocidurae*)、ボレリア・デュトニ(*Borrelia duttoni*)、ボレリア・グラインゲリ(*Borrelia graingeri*)、ボレリア・ヘルムシ(*Borrelia hermsii*)、ボレリア・ヒスパニカ(*Borrelia hispanica*)、ボレリア・ラチシェウイ(*Borrelia latyschewi*)、ボレリア・マゾッティ(*Borrelia mazzottii*)、ボレリア・パルケリ(*Borrelia parkeri*)、ボレリア・ペルシカ(*Borrelia persica*)、ボレリア・ツリカタエ(*Borrelia turicata*)およびボレリア・ベネズエレンシス(*Borrelia venezuelensis*) ) ならびにトレポネマ属 (トレポネマ・パリダム種パリダム(*Treponema pallidum* ssp. *pallidum*)、トレポネマ・パリダム種エンデミカム(*Treponema pallidum* ssp. *endemicum*)、トレポネマ・パリダム種ペルテヌ(*Treponema pallidum* ssp. *pertenue*)およびトリポネマ・カラテウム(*Treponema carateum*) ) ;

パストツレラ属 (例えば、パストツレラ・アエロジェネス(*Pasteurella aerogenes*)、パストツレラ・ベチアエ(*Pasteurella bettyae*)、パストツレラ・カニス(*Pasteurella canis*)、パストツレラ・ダグマティス(*Pasteurella dagmatis*)、パストツレラ・ガリナルム(*Pasteurella gallinarum*)、パストツレラ・ヘモリティカ(*Pasteurella haemolytica*)、パストツレラ・マルトシダ・マルトシダ(*Pasteurella multocida multocida*)、パストツレラ・マルトシダ・ガリシダ(*Pasteurella multocida gallicida*)、パストツレラ・マルトシダ・セプティカ(*Pasteurella multocida septica*)、パストツレラ・ニューモトロピカ(*Pasteurella pneumotropica*)およびパストツレラ・ストマティス(*Pasteurella stomatis*) ) ;

ボルデテラ属 (例えば、ボルデテラ・ブロンキセプティカ(*Bordetella bronchiseptica*)、ボルデテラ・ヒンジ(*Bordetella hinzii*)、ボルデテラ・ホルムセイ(*Bordetella holmsei*)、ボルデテラ・パラペルツシス(*Bordetella parapertussis*)、ボルデテラ・ペルツシス(*Bordetella pertussis*)およびボルデテラ・トレマタム(*Bordetella trematum*) ) ;

ノカルジア科、例えば、ノカルジア属 (例えば、ノカルジア・アステロイデス(*Nocardia asteroides*)およびノカルジア・ブラジリエンシス(*Nocardia brasiliensis*) ) ;

リケッチア属 (例えば、リクセトシ(*Rickettsia*)もしくはコキシエラ・ブルネチ(*Coxiella burnetii*) ) ;

レジオネラ属 (例えば、レジオネラ・アニサ(*Legionella anisa*)、レジオネラ・ビルミンガメンシス(*Legionella birminghamensis*)、レジオネラ・ボゼマニ(*Legionella bozemanii*)、レジオネラ・シンシナチエンシス(*Legionella cincinnatiensis*)、レジオネラ・デュモフィ(*Legionella dumoffii*)、レジオネラ・フィーレイ(*Legionella feeleyi*)、レジオネラ・ゴルマニ(*Legionella gormanii*)、レジオネラ・ハケリア(*Legionella hackeliae*)、レジオネラ・イスラエレンシス(*Legionella israelensis*)、レジオネラ・ジョルダニス(*Legionella jordanis*)、レジオネラ・ランシンジェンシス(*Legionella lansingensis*)、レジオネラ・ロングビーチ(*Legionella longbeachae*)、レジオネラ・マセアチェルニ(*Legionella maceachernii*)、レジオネラ・ミクダデイ(*Legionella micdadei*)、レジオネラ・オークリッジエンシス(*Legionella oakridgensis*)、レジオネラ・ニューモフィラ(*Legionella pneumophila*)、レジオネラ・サインテレンシ(*Legionella saintelensis*)、レジオネラ・タクソネンシス(*Legionella tucsonensis*)およびレジオネラ・ワドワース(*Legionella wadsworthii*) ) ;

モラクセラ・カタラリス(*Moraxella catarrhalis*) ;

シクロスポラ・カイエタネンシス(*Cyclospora cayetanensis*) ;

赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*) ;

ジアルジア・ランブリア(*Giardia lamblia*) ;

膾トリコモナス(*Trichomonas vaginalis*) ;

トキソプラズマ原虫(*Toxoplasma gondii*) ;

ステノトロフォモナス・マルトフィリア(*Stenotrophomonas maltophilia*) ;

ブルクホルデリア・セパシア(*Burkholderia cepacia*) ;ブルクホルデリア・マレイ(*Burkholderia mallei*)およびブルクホルデリア・シュードマレイ(*Burkholderia pseudomallei*) ;

フランシセラ・ツラレンシス(*Francisella tularensis*) ;

カルドネレラ属 (例えば、ガルドネレラ・バギナリス(*Gardnerella vaginalis*)およびガルドネレラ・モビルンカス(*Gardnerella mobiluncus*)) ;

ストレプトバチルス・モニリフォルミス(*Streptobacillus moniliformis*) ;

フラボバクテリア科、例えば、カプノサイトファガ属 (例えば、カプノサイトファガ・カニモルサス(*Capnocytophaga canimorsus*)、カプノサイトファガ・シノデグミ(*Capnocytophaga cynodegmi*)、カプノサイトファガ・ギンギバリス(*Capnocytophaga gingivalis*)、カプノサイトファガ・グラヌロサ(*Capnocytophaga granulosa*)、カプノサイトファガ・ヘモリティカ(*Capnocytophaga haemolytica*)、カプノサイトファガ・オクラセア(*Capnocytophaga ochracea*)およびカプノサイトファガ・スプチゲナ(*Capnocytophaga sputigena*)) ;

バルトネラ属 (バルトネラ・バシリフォルミス(*Bartonella bacilliformis*)、バルトネラ・クラリッジア(*Bartonella clarridgeiae*)、バルトネラ・エリザベータ(*Bartonella elizabethae*)、バルトネラ・ヘンセラ(*Bartonella henselae*)、バルトネラ・キンタナ(*Bartonella quintana*)およびバルトネラ・ビンソニ・アルペンシス(*Bartonella vinsonii arupensis*)) ;

レプトスピラ属 (例えば、レプトスピラ・ビフレキサ(*Leptospira biflexa*)、レプトスピラ・ボルグペテルセニ(*Leptospira borgpetersenii*)、レプトスピラ・イナダイ(*Leptospira inadai*)、レプトスピラ・インテロガンズ(*Leptospira interrogans*)、レプトスピラ・キルシュネリ(*Leptospira kirschneri*)、レプトスピラ・ノグチ(*Leptospira noguchii*)、レプトスピラ・サンタロサイ(*Leptospira santarosai*)およびレプトスピラ・ウェイリ(*Leptospira weilii*)) ;

スピリリウム (例えば、スピリリウム・ミヌス(*Spirillum minus*)) ;

バクテロイデス属 (例えば、バクテロイデス・カッカエ(*Bacteroides caccae*)、バクテロイデス・カピロサス(*Bacteroides capillosus*)、バクテロイデス・コアグランス(*Bacteroides coagulans*)、バクテロイデス・ジスタソニス(*Bacteroides distasonis*)、バクテロイデス・エゲルチ(*Bacteroides eggerthii*)、バクテロイデス・フォルシタス(*Bacteroides forsythus*)、バクテロイデス・フラギリス(*Bacteroides fragilis*)、バクテロイデス・メルダエ(*Bacteroides merdae*)、バクテロイデス・オパタス(*Bacteroides ovatus*)、バクテロイデス・プトレジニス(*Bacteroides putredinis*)、バクテロイデス・ピオジェネス(*Bacteroides pyogenes*)、バクテロイデス・スプランチニカス(*Bacteroides splanchnicus*)、バクテロイデス・ステルコリス(*Bacteroides stercoris*)、バクテロイデス・テクタス(*Bacteroides tectus*)、バクテロイデス・タイオタオミクロン(*Bacteroides thetaio taomicron*)、バクテロイデス・ユニフォルミス(*Bacteroides uniformis*)、バクテロイデス・ウレオリティカス(*Bacteroides ureolyticus*)およびバクテロイデス・バルガタス(*Bacteroides vulgatus*)) ;

プレボテラ属 (例えば、プレボテラ・ビビア(*Prevotella bivia*)、プレボテラ・ブッカエ(*Prevotella buccae*)、プレボテラ・コルポリス(*Prevotella corporis*)、プレボテラ・デンタリス(*Prevotella dentalis*) (ミツオケラ・デンタリス(*Mitsuokella dentalis*))、プレボテラ・デンチコラ(*Prevotella denticola*)、プレボテラ・ディシエンス(*Prevotella disiens*)、プレボテラ・エノエカ(*Prevotella enoeca*)、プレボテラ・ヘパリノリティカ(*Prevotella heparinolytica*)、プレボテラ・インターメディア(*Prevotella intermedia*)、プレボテラ・ロエシ(*Prevotella loeschii*)、プレボテラ・メラニノゲニカ(*Prevotella melaninogenica*)、プレボテラ・ニグレセンス(*Prevotella nigrescens*)、プレボテラ・オラリス(*Prevotella oralis*)、プレボテラ・オリス(*Prevotella oris*)、プレボテラ・オーロラ(*Prevotella oulora*)、プレボテラ・タネラエ(*Prevotella tanneriae*)、プレボテラ・ベノラリス(*Prevotella venoralis*)およびプレボテラ・ズーグレオフォルミス(*P*

10

20

30

40

50

revotella zoogloformans) ) ;

ポルフィロモナス属 (例えば、ポルフィロモナス・アサカロリティカ(Porphyrmonas a saccharolytica)、ポルフィロモナス・カンギンギバリス(Porphyrmonas cangingivalis)、ポルフィロモナス・カノリス(Porphyrmonas canoris)、ポルフィロモナス・カンサルシ(Porphyrmonas cansulci)、ポルフィロモナス・カトニエ(Porphyrmonas cationiae)、ポルフィロモナス・サーカムデンタリア(Porphyrmonas circumdentaria)、ポルフィロモナス・クレビオリカニス(Porphyrmonas crevioricanis)、ポルフィロモナス・エンドドントリス(Porphyrmonas endodontalis)、ポルフィロモナス・ギンギバリス(Porphyrmonas gingivalis)、ポルフィロモナス・ギンギピカニス(Porphyrmonas gingivicanis)、ポルフィロモナス・レビ(Porphyrmonas levii)およびポルフィロモナス・マカカエ(Porphyrmonas macacae) ) ;

フソバクテリウム属 (例えば、フソバクテリウム・ゴナディアフォルマンズ(F. gonadi aformans)、フソバクテリウム・モルチフェラム(F. mortiferum)、フソバクテリウム・ナビフォルム(F. naviforme)、フソバクテリウム・ネクロジェネズ(F. necrogenes)、フソバクテリウム・ネクロフォラム・ネクロフォラム(F. necrophorum necrophorum)、フソバクテリウム・ネクロフォラム・ファンジリフォルム(F. necrophorum fundiliforme)、フソバクテリウム・ヌクレアタム・ヌクレアタム(F. nucleatum nucleatum)、フソバクテリウム・ヌクレアタム・フシフォルム(F. nucleatum fusiforme)、フソバクテリウム・ヌクレアタム・ポリモルファム(F. nucleatum polymorphum)、フソバクテリウム・ヌクレアタム・ビンセンチ(F. nucleatum vincentii)、フソバクテリウム・ペリオドンチカム(F. pe riodonticum)、フソバクテリウム・ルシ(F. russii)、フソバクテリウム・ウルセランス(F. ulcerans)およびフソバクテリウム・バリウム(F. varium) ) ;

クラミジア属 (例えば、クラミジア・トラコマティス(Chlamydia trachomatis) ) ;

クリプトスポリジウム属 (例えば、クリプトスポリジウム・バルバム(C. parvum)、クリプトスポリジウム・ホミニス(C. hominis)、クリプトスポリジウム・カニス(C. canis)、クリプトスポリジウム・フェリス(C. felis)、クリプトスポリジウム・メレアグリディス(C. meleagridis)およびクリプトスポリジウム・ムリス(C. muris) ) ;

クラミドフィラ属 (例えば、クラミドフィラ・アボルトゥス(Chlamydophila abortus) (クラミジア・プシタシ(Chlamydia psittaci) )、クラミドフィラ・ニューモニエ(Chlamydophila pneumoniae)、(クラミジア・ニューモニエ(Chlamydia pneumoniae) )およびクラミドフィラ・プシタシ(Chlamydophila psittaci) (クラミジア・プシタシ(Chlamydia psittaci) ) ) ;

ロイコノストク属 (例えば、ロイコノストク・シトレウム(Leuconostoc citreum)、ロイコノストク・クレモリス(Leuconostoc cremoris)、ロイコノストク・デキストラニカム(Leuconostoc dextranicum)、ロイコノストク・ラクティス(Leuconostoc lactis)、ロイコノストク・メセンテロイデス(Leuconostoc mesenteroides)およびロイコノストク・シユードメセンテロイデス(Leuconostoc pseudomesenteroides) ) ;

ゲメラ属 (例えば、ゲメラ・ベルゲリ(Gemella bergeri)、ゲメラ・ヘモリサンス(Gemella haemolysans)、ゲメラ・モルビロラム(Gemella morbillorum)およびゲメラ・サンギニス(Gemella sanguinis) ) ; ならびに

ウレアプラズマ属 (例えば、ウレアプラズマ・バルバム(Ureaplasma parvum)およびウレアプラズマ・ウレアリティカム(Ureaplasma urealyticum) ) 。

【 0 0 3 9 】

好ましくは、本明細書に記載の組み合わせによって治療される細菌感染は、グラム陰性感染である。本発明の組み合わせを用いて治療可能な特定の細菌には、下記のものなどがある。

【 0 0 4 0 】

グラム陽性菌 ;

スタフィロコッカス・オーレウス(Staph. aureus) (メチシリン感受性 (すなわち、M S S A ) もしくはメチシリン耐性 (すなわち、M R S A ) ) およびスタフィロコッカス・

10

20

30

40

50

エピデルミディス(*Staph. epidermidis*)などのブドウ球菌；

ストレプトコッカス・アガラクチア(*Strept. agalactiae*)およびストレプトコッカス・ピオジェネス(*Strept. pyogenes*)などの連鎖球菌；

バチルス・アントラシス(*Bacillus anthracis*)などのバチルス属；

エンテロコッカス・フェーカリス(*Enterococcus faecalis*)およびエンテロコッカス・フェシウム(*Enterococcus faecium*)などの腸球菌；ならびに

グラム陰性菌；

大腸菌(*Escherichia coli*)、クレブシエラ属(*Klebsiella*) (例えば、クレブシエラ・ニューモニエ(*Klebs. pneumoniae*)およびクレブシエラ・オキシトカ(*Klebs. oxytoca*)) ならびにプロテウス(*Proteus*) (例えば、プロテウス・ミラビリス(*Pr. mirabilis*)、プロテウス・レットゲリ(*Pr. rettgeri*)およびプロテウス・バルガリス(*Pr. vulgaris*)) などの腸内細菌；

インフルエンザ菌(*Haemophilis influenzae*)；

マイコバクテリウム・ツベルクロシス(*Mycobacterium tuberculosis*)などのマイコバクテリウム。

#### 【0041】

好ましくは、その細菌は、大腸菌(*Escherichia coli*)、クレブシエラ属 (例えばクレブシエラ・ニューモニエ(*Klebs. pneumoniae*)およびクレブシエラ・オキシトカ(*Klebs. oxytoca*)) およびプロテウス属 (例えばプロテウス・ミラビリス(*Pr. mirabilis*)、プロテウス・レットゲリ(*Pr. rettgeri*)およびプロテウス・バルガリス(*Pr. vulgaris*)) などの腸内細菌科である。本発明の組み合わせは、(多)薬剤耐性((M)DR)細菌の治療において特に有用である。腸内細菌科に関しては、薬剤耐性は最も多くの場合、カルバペネマーゼに対して高められる。すなわちカルバペネマーゼ耐性株および「拡張スペクトル - ラクタマーゼ」(ESBL)株、例えばニューデリー・メタロ - - ラクタマーゼ - 1 (NDM - 1) 耐性クレブシエラ・ニューモニエ(*Klebs. Pneumonia*)である。

#### 【0042】

留意すべき点として、特許請求の範囲に記載されたような組み合わせは最初に、(M)DR株の治療において機能的であることを示すことができるが、それらは次に非耐性株の治療でも用いることが可能である。これは、大腸菌(*Escherichia coli*)、クレブシエラ (例えばクレブシエラ・ニューモニエ(*Klebs. pneumoniae*)およびクレブシエラ・オキシトカ(*Klebs. oxytoca*)) およびプロテウス (例えばプロテウス・ミラビリス(*Pr. mirabilis*))、プロテウス・レットゲリ(*Pr. rettgeri*)およびプロテウス・バルガリス(*Pr. vulgaris*) ) などの腸内細菌科の一次療法が、有力な(prevaling)特許保護のために高価である抗微生物薬である本願で特許請求の組み合わせの文脈で特に有益である。そのような「処方」薬を「ジェネリック」抗生物質の組み合わせに代えることは、治療的観点から、ならびに政府が医療費削減を求めている時には財政的/経済的観点から有用であると考えられる。

#### 【0043】

本発明の組み合わせを用いて、上記細菌生物のいずれかに関連する感染を治療することができ、特にそれらを、そのような感染に関連する増殖性および/または臨床的に潜伏性の微生物を死滅させるのに用いることができる。

#### 【0044】

本発明の組み合わせを用いて治療可能な特定の疾患には、結核(例えば、肺結核、非肺結核(リンパ腺結核、泌尿生殖器結核、骨および関節の結核、結核性髄膜炎)および粟粒結核症)、炭疽病、膿瘍、尋常性座瘡、放線菌症、喘息、細菌性赤痢、細菌性結膜炎、細菌性角膜炎、細菌性膣炎、ボツリヌス中毒症、ブルーリ潰瘍、骨および関節の感染症、気管支炎(急性もしくは慢性)、ブルセラ症、火傷、猫引っ掻き熱、蜂巣炎(*cellulitis*)、軟性下疳、胆管炎、胆嚢炎、皮膚ジフテリア、嚢胞性線維症、膀胱炎、腎炎、びまん性汎細気管支炎、ジフテリア、虫歯、上気道疾患、湿疹、蓄膿症、心内膜炎、子宮内膜炎、腸チフス、腸炎、精巣上体炎、喉頭蓋炎、エリシペリス(*erysipelis*)、丹毒、類丹毒、紅色陰癬、眼感染症、フルンケル、ガルドネラ菌性膣炎、胃腸管感染(胃腸炎)、生殖器感

10

20

30

40

50

染、歯肉炎、淋病、鼠径部肉芽腫、ハーバーヒル熱、感染熱傷、歯科手術後の感染、口腔領域の感染、人工器官に関連する感染、腹腔内膿瘍、レジオネラ症、ハンセン病、レプトスピラ症、リステリア症、肝臓膿瘍、ライム病、鼠径リンパ肉芽腫、乳腺炎、乳様突起炎、髄膜炎および神経系の感染、菌腫、ノカルジア症（例えば、マズラ足）、非特異的尿道炎、眼炎（例えば、新生児眼炎）、骨髄炎、耳炎（例えば、外耳炎および中耳炎）、精巢炎、腓炎、爪周囲炎、骨盤腹膜炎、腹膜炎、虫垂炎に伴う腹膜炎、咽頭炎、蜂巣炎(Pharyngitis)、ピント、伝染病、胸水、肺炎、術後創傷感染、術後ガス壊疽、前立腺炎、偽膜性大腸炎、オウム病、肺気腫、腎盂腎炎、膿皮症（例えば、膿痂疹）、Q熱、ネズミ咬熱、細網症、リシン中毒、リッター病、サルモネラ症、卵管炎、敗血症性関節炎、敗血症性感染、敗血症、副鼻腔炎、皮膚感染（例えば、皮膚肉芽腫、膿痂疹、毛嚢炎およびせつ腫症）、梅毒、全身感染、へんとう炎、毒素性ショック症候群、トラコーマ、野兔病、腸チフス、発疹チフス（例えば、流行性発疹チフス、発疹熱、草原熱および紅斑熱）、尿道炎、尿道感染、創傷感染、イチゴ腫、アスペルギルス症、カンジダ症（例えば、口腔咽頭カンジダ症、膣カンジダ症もしくは亀頭炎）、クリプトコッカス症、黄癬、ヒストプラズマ症、間擦疹、ムコール菌症、白癬（例えば、体部白癬、頭部白癬、頑癬、足白癬および爪白癬）、爪甲真菌症、虹色粧糠疹、輪癬（ringworm）ならびにスポロトリウム症；またはMSSA、MRSA、スタフィロコッカス・エピデルミディス(Staph. epidermidis)、ストレプトコッカス・アガラクチア(Strept. agalactiae)、ストレプトコッカス・ピオジェネス(Strept. pyogenes)、大腸菌(Escherichia coli)、クレブシエラ・ニューモニエ(Klebs. pneumoniae)、クレブシエラ・オキシトカ(Klebs. oxytoca)、プロテウス・ミラビリス(Pr. mirabilis)、プロテウス・レットゲリ(Pr. rettgeri)、プロテウス・バルガリス(Pr. vulgaris)、インフルエンザ菌(Haemophilus influenzae)、エンテロコッカス・フェーカリス(Enterococcus faecalis)またはエンテロコッカス・ファシウム(Enterococcus faecium)による感染などがある。特に、記載の細菌のいずれかに起因する腎臓結石関連の感染およびカテーテル関連の感染における当該組み合わせがある。

10

20

30

40

50

【0045】

特定の実施形態において、感染は、尿道感染（膀胱炎、腎炎、腎臓結石関連感染およびカテーテル関連感染）から選択される。

【0046】

本明細書において「治療」に言及する場合、それは既存の疾患もしくは症状の治療だけでなく、予防にも拡大して適用されることは明らかであろう。

【0047】

本発明で用いることができるさらに別の好ましい抗微生物化合物には、臨床的に潜伏性の微生物を死滅させる能力を有する化合物が含まれる。臨床的に潜伏性の細菌に対する活性を測定する方法には、当業者には公知の条件下での(Nature Reviews, Drug Discovery, 1, 895-910(2002)(この開示内容は参照によって本明細書に組み込まれる)に記載のものなど)、試験化合物についての最小静止期殺菌濃度(Minimum Stationary-cidal Concentration)(「MSC」)または最小休眠期殺菌濃度(Minimum Dormicidal Concentration)(「MDC」)の測定などがある。臨床的に潜伏性の微生物に対する好適な化合物スクリーニング方法はWO2000028074に記載されており、その内容はあたかもその刊行物が具体的かつ完全に本明細書で明記されているかのように、参照によって本明細書に組み込まれる。

【0048】

本明細書で使用される場合、「製薬上許容し得る誘導体」という用語は、

- (a) 酸または塩基との製薬上許容し得る塩(例えば、酸付加塩)および/または
- (b) 溶媒和物(水和物など)

を意味する。

【0049】

言及することができる酸付加塩としては、カルボン酸塩(例えば、ギ酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、プロピオン酸塩、イソ酪酸塩、ヘプタン酸塩、デカン酸塩、カプリン酸塩、カプリル酸塩、ステアリン酸塩、アクリル酸塩、カブロン酸塩、プロピオール酸塩

、アスコルビン酸塩、クエン酸塩、グルクロン酸塩、グルタミン酸塩、グリコール酸塩、  
-ヒドロキシ酪酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、フェニル酢酸塩、マンデル酸塩、フェニルプロピオン酸塩、フェニル酪酸塩、安息香酸塩、クロロ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、ヒドロキシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、*o*-アセトキシ安息香酸塩、サリチル酸塩、ニコチン酸塩、イソニコチン酸塩、桂皮酸塩、シュウ酸塩、マロン酸塩、コハク酸塩、スベリン酸塩、セバシン酸塩、フマル酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、馬尿酸塩、フタル酸塩もしくはテレフタル酸塩)、ハロゲン化物塩(例えば、塩化物塩、臭化物塩もしくはヨウ化物塩)、スルホン酸塩(例えば、ベンゼンスルホン酸塩、メチル-、プロモ-もしくはクロロ-ベンゼンスルホン酸塩、キシレンスルホン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、プロパンスルホン酸塩、ヒドロキシエタンスルホン酸塩、1-もしくは2-ナフタレン-スルホン酸塩または1,5-ナフタレンジスルホン酸塩)または硫酸塩、ピロ硫酸塩、重硫酸塩、亜硫酸塩、亜硫酸水素塩、リン酸塩、リン酸一水素塩、リン酸二水素塩、メタリン酸塩、ピロリン酸塩もしくは硝酸塩などが挙げられる。

10

20

30

40

50

**【0050】**

本発明による使用のための化合物は、原体として投与することが可能であるが、有効成分は好ましくは医薬組成物の形態で提供される。

**【0051】**

有効成分は、別個の製剤としてまたは単一の組み合わせ製剤として用いることができる。同一製剤中で組み合わせる場合、これら2つの化合物が安定であって、互いに適合するとともに、製剤の他の成分とも適合しなければならないことは明らかであろう。

**【0052】**

本発明の製剤には、経口、非経口(例えば注射もしくはデポー錠剤による皮下、皮内、髄腔内(intrathecal)、例えばデポーによる筋肉および静脈投与など)、直腸および局所(経皮、口腔および舌下投与など)投与に好適なもの、または吸入投与もしくは吹送投与に好適な形態のものなどがある。最も好適な投与経路は、患者の状態および症状によって決まり得るものである。好ましい実施形態において、当該組成物(単独でまたは別個に投与される)は、例えば静脈内、筋肉内、カテーテルを介して、または吸入により全身的に投与される。

**【0053】**

好ましくは、本発明の組成物は経口投与または局所投与用に製剤される。好ましい実施形態において、当該組成物は、経鼻投与用に、特に前鼻孔への投与用に作られたクリームまたは軟膏である。

**【0054】**

当該製剤は簡便には、単位剤形で提供することができ、例えば Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams and Wilkins, 21<sup>st</sup> Edition, (2005)に記載のような製薬業界で公知のいずれかの方法によって調製することができる。好適な方法は、1以上の賦形剤を構成する担体と有効成分を組み合わせる段階を含む。一般に、製剤は、液体担体もしくは微粉碎固体担体またはその両方と有効成分を均一かつ十分に混和し、次に取得物を必要に応じて成形して所望の製剤とすることで調製される。これら二つの有効成分を独立に投与する場合、それぞれを異なる手段によって投与可能であることは明らかであろう。

**【0055】**

賦形剤とともに製剤する場合、有効成分は混合物全体の0.1から99.5重量%(0.5から95重量%など)の濃度で存在させることができ、簡便には錠剤およびカプセルの場合で30から95%、液体製剤の場合で0.01から50%(例えば、3から50%)である。

**【0056】**

経口投与に好適な製剤は、それぞれが所定量の有効成分を含むカプセル、カシェ剤または錠剤(例えば、特に小児投与用の咀嚼錠など)などの個別の単位として;粉剤もしくは

粒剤として；水系液体もしくは非水系液体中の液剤もしくは懸濁液として；または水中油型乳濁液もしくは油中水型乳濁液として提供することができる。有効成分は、ボラス剤、砥剤またはペーストとして提供しても良い。

【0057】

錠剤は、適宜に1以上の賦形剤とともに圧縮もしくは成形することで製造可能である。圧縮錠は、好適な機械で、粉末もしくは顆粒などの自由流動な形態の有効成分を、適宜に結合剤（例えばシロップ、アカシア、ゼラチン、ソルビトール、トラガカント、デンプンのり、ポリビニルピロリドンおよび/またはヒドロキシメチルセルロース）、充填剤（例えば乳糖、砂糖、微結晶セルロース、トウモロコシデンプン、リン酸カルシウムおよび/またはソルビトール）、潤滑剤（例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク、ポリエチレングリコールおよび/またはシリカ）、崩壊剤（例えばジャガイモデンプン、クロスカルメロースナトリウムおよび/またはデンプングリコール酸ナトリウム）および湿展剤（例えばラウリル硫酸ナトリウム）などの他の従来の賦形剤と混合して圧縮することで製造することができる。成形錠は、好適な機械で、粉末の有効成分と不活性液体希釈剤との混合物を成形することで作ることができる。錠剤にはコーティングを施したり、刻印を付けても良く、有効成分の徐放（例えば遅延、持続もしくはパルス放出または即時放出と徐放の組み合わせ）が行われるように製剤することができる。

10

【0058】

あるいは、有効成分は、水系もしくは油系の懸濁液、液剤、乳濁液、シロップまたはエリキシル剤などの経口液体製剤に組み込むことができる。有効成分を含む製剤は、使用前に水または別の好適な媒体で再生させる乾燥品として提供することもできる。そのような液体製剤は、懸濁剤（例えばソルビトールシロップ、メチルセルロース、グルコース/シュガーシロップ、ゼラチン、ヒドロキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ステアリン酸アルミニウムゲルおよび/または硬化食用油脂）、乳化剤（例えばレシチン、モノオレイン酸ソルビタンおよび/またはアカシア）、非水系媒体（例えば扁桃油などの食用油、ヤシ油、油状エステル類、プロピレングリコールおよび/またはエチルアルコール）および保存剤（例えばp-ヒドロキシ安息香酸メチルまたはプロピルおよび/またはソルビン酸）のような従来の添加剤を含むことができる。

20

【0059】

皮膚または指状突起が届く膜（口、膣、頸部(cervix)、肛門および直腸の膜など）の疾患を治療する上で有用な局所組成物には、クリーム、軟膏、ローション、噴霧剤、ゲルおよび無菌水溶液または懸濁液などがある。従って、局所組成物には、有効成分を当業界で公知の皮膚用媒体（例えば、水系もしくは非水系ゲル、軟膏、油中水もしくは水中油型の乳濁液）中に溶解または分散させたものなどがある。そのような媒体の構成要素は、水、緩衝水溶液、非水系溶媒（エタノール、イソプロパノール、ベンジルアルコール、2-(2-エトキシエトキシ)エタノール、プロピレングリコール、モノラウリン酸プロピレングリコール、グリコフロールもしくはグリセロールなど）、油（例えば、液体パラフィンなどの鉱物油、Miglyol（商標名）などの天然もしくは合成トリグリセリド、またはジメチコンなどのシリコン油）を含んでもよい。特に、製剤の性質ならびにその所期の用途および使用部位に応じて、用いられる皮膚用媒体は、以下のリストから選択される1以上の成分を含んでもよい。局所製剤は、経皮貼付剤として製剤することもできる。

30

40

【0060】

可溶化剤または溶媒（例えば、ヒドロキシプロピル-シクロデキストリンなどの-シクロデキストリン、またはエタノール、プロピレングリコールもしくはグリセロールなどのアルコールもしくは多価アルコール）；増粘剤（例えば、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースもしくはカルボマー）；ゲル化剤（例えば、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンコポリマー）；保存剤（例えば、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウム、クロルヘキシジン、クロルブトール、安息香酸、ソルビン酸カリウムまたはEDTAもしくはその塩）；ならびにpH緩衝剤（リン酸二水素とリン酸水素塩の混合物、またはクエン酸とリン酸水素塩の混合物など

50

）。

【0061】

クリーム、軟膏、ローション、噴霧剤および無菌水溶液または懸濁液などの局所医薬組成物を製造する方法は当業界で公知である。局所医薬組成物を調製する好適な方法は、例えば、WO9510999、米国特許第6974585号、WO2006048747ならびにこれらの参考文献のいずれかに引用の文書に記載されている。

【0062】

本発明による局所医薬組成物を用いて、上記いずれかの細菌、真菌（例えば、本明細書で前記のブドウ球菌、連鎖球菌、マイコバクテリウムまたはシュードモナス菌のいずれか、例えば黄色ブドウ球菌（例えば、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA））による皮膚または膜の感染（例えば、鼻粘膜、腋窩、鼠径部、会陰、直腸、皮膚炎皮膚、皮膚潰瘍、ならびに静脈注射針、カテーテルおよび気管切開チューブもしくは栄養管などの医療機器の挿入部位）などの様々な皮膚または膜の症状を治療することができる。

10

【0063】

本発明による局所医薬組成物により治療することができる特定の細菌疾患としては、本明細書において前記で開示された皮膚および膜関連疾患、ならびに尋常性座瘡；酒さ（紅斑性毛細血管拡張性酒さ、丘疹膿疱性酒さ、瘤腫性酒さおよび眼性酒さなど）；丹毒；紅色陰癬；膿瘡；壊疽性膿瘡；膿痂疹；爪周囲炎；蜂巣炎；毛囊炎（温水浴槽毛囊炎など）、せつ腫症、カルブンケル症、ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群；外科的猩紅熱；連鎖球菌肛門周囲疾患；連鎖球菌毒素性ショック症候群；陥凹性角質溶解；黄菌毛症；外耳道感染；緑爪症候群；スピロヘータ症；壊疽性筋膜炎；マイコバクテリウム皮膚感染（尋常性狼瘡、皮膚腺病、いぼ状結核、結核疹、結節性紅斑、硬結性紅斑、結核型ハンセン病もしくは癩腫癩の皮膚症状、癩性結節性紅斑、皮膚のマイコバクテリウム・カンサシ(*M. kansasii*)、マイコバクテリウム・マルモエンス(*M. malmoense*)、マイコバクテリウム・スズルガイ(*M. szulgai*)、マイコバクテリウム・シミアエ(*M. simiae*)、マイコバクテリウム・ゴルドナ(*M. gordonae*)、マイコバクテリウム・ヘモフィルム(*M. haemophilum*)、マイコバクテリウム・アビウム(*M. avium*)、マイコバクテリウム・イントラセルラレ(*M. intracellulare*)、マイコバクテリウム・シェロナエ(*M. chelonae*)（マイコバクテリウム・アブセサス(*M. abscessus*)など）またはマイコバクテリウム・フォルツイタム(*M. fortuitum*)感染、スイミングプール（もしくは魚槽）肉芽腫、リンパ節炎およびブルーリ潰瘍（ベアンズデイル潰瘍、サールズ潰瘍、カケリフ潰瘍もしくはトロ潰瘍））；ならびに感染性湿疹、感染熱傷、感染擦過傷および感染皮膚創傷などもある。

20

30

【0064】

本発明による使用のための組成物は、有効成分を含む1以上の単位剤形を含むことができるパックまたはディスペンサー装置に入れて提供することができる。パックは例えば、ブリスタパックなどの金属もしくはプラスチック箔を含むことができる。組成物を二つの別個の組成物として投与したい場合、それらはツインパックの形態で提供することができる。

【0065】

医薬組成物は、単一の包装、通常はブリスタパックで、治療の全過程を含む「患者パック」で患者に処方することもできる。従来の処方では通常は紛失してしまう患者パックに入った添付書類を患者が常に手に取るという点で、薬剤師が原薬供給品から患者の薬剤供給分を小分けする従来の処方と比較して、患者パックは有利である。添付文書を入れることで、医師の指示に対する患者の服用遵守が改善されることが明らかになっている。

40

【0066】

コリスチンの投与に好適な用量および製剤は、コロマイシン（登録商標）の製品ラベルに記載されている（「<http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/6301/SPC/Colomycin+Tablets/>」参照）。

【0067】

リファンピシン投与のための好適な用量および製剤については、Rifadin（登録

50

商標)カプセル(「<http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/21223/SPC/Rifadin+300mg+Capsules/>」参照)または輸液用Rifadin(登録商標)(「<http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/6435/SPC/Rifadin+For+Infusion+600mg/>」参照)の製品ラベルに記載されている。

【0068】

リファペンチン投与に好適な用量および製剤は、Priftin(登録商標)の製品ラベルに記載されている。2ヶ月の初期段階とそれに続く4ヶ月の継続段階からなる投与方法の一部としての、薬物感受性微生物によって引き起こされる結核の治療に用いられる投与方法が好ましい。初期段階(2ヶ月)では、他の抗結核薬と組み合わせた、治療法の直接観察による2ヶ月間にわたる週2回600mgの投与を行い、投与間の間隔は3連続日(72時間)以上とする。継続段階(4ヶ月)では、イソニアジドまたは他の適切な抗結核薬とともに、直接観察療法により4ヶ月にわたり週1回600mgの投与を行う。

10

【0069】

ジドブジンの投与に好適な用量および製剤は、レトロビル(登録商標)経口服液剤またはカプセルの製品ラベルに記載されている(「<http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/12444/SPC/Retrovir+250mg+Capsules/>」参照)。

【0070】

本発明の正しい使用を患者に説明する添付文書を含む、単一の患者パックまたは各組成物の患者パックによる本発明の組み合わせの投与が、本発明の望ましい特徴である。

【0071】

本発明の組み合わせの個々の成分は、同時、別個または順次使用で投与することができる。投与を行う医師が、既知の投与方法を用いるか否か、そして同時投与を維持するか否かを決定することができる。例えば、ジドブジンの1日1回投与および8時間ごとのコリスチンを、リファペンチンまたはリファンピシン、特にリファンピシン投与法に重ねることができる。

20

【0072】

本発明の別の実施形態によれば、本発明による組み合わせの少なくとも1種類の有効成分および本発明の組み合わせの使用に関する説明が記載された説明文書を含む患者パックが提供される。

【0073】

本発明の別の実施形態では、別個の投与に関連して、好ましくは臨床的に潜伏性の微生物に対して生理活性を有する抗微生物剤および好ましくは臨床的に潜伏性の微生物に対して生理活性を有する麻酔薬を含むダブルパックが提供される。

30

【0074】

治療で使用する上で必要な有効成分の量は、治療される状態の性質ならびに患者の年齢および状態によって変動するものであり、最終的には担当の医師もしくは獣医の裁量で決まるものである。しかしながら一般には、成人の治療に用いられる用量は、代表的には0.02から5000mg/日、好ましくは1から1500mg/日の範囲である。望ましい用量は、単回投与で、または適切な間隔で投与される分割投与として、例えば1日当たり2回、3回、4回またはそれ以上の部分用量(sub-dose)として提供され得る。

40

【0075】

生物試験

有効成分の生理活性(例えば、殺菌活性もしくは抗微生物活性)を求めるのに用いることができる試験手順としては、

(a)臨床的に潜伏性の細菌に対する殺菌活性;および

(b)対数期の細菌に対する抗微生物活性

の測定について当業者に公知のものなどがある。

【0076】

上記の(a)に関して、臨床的に潜伏性の細菌に対する活性を測定する方法には、当業者に公知の条件(Nature Reviews, Drug Discovery 1, 895-910 (2002)(この開示内容

50

により本明細書に組み入れられるものとする)に記載のものなど)下での試験化合物に関する最小静止期殺菌濃度(「MSC」)または最小休眠期殺菌濃度(「MDC」)の測定などがある。

【0077】

例を挙げると、WO2000028074には、臨床的に潜伏性の微生物を死滅させる能力を測定するための好適な化合物スクリーニング方法が記載されている。代表的な方法には、下記の段階：

(1)細菌培養物を静止(stationery)期まで増殖させる段階；

(2)静止(stationery)期培養物を、増殖細菌を死滅させるのに十分な濃度および/または時間で1以上の抗微生物剤で処理することで、表現型的に耐性の下位個体群を選択する段階；

(3)表現型的に耐性の下位個体群のサンプルを1以上の試験化合物または薬剤とともにインキュベートする段階；および

(4)表現型的に耐性の下位個体群に対する抗微生物効果を評価する段階を含むことができる。

【0078】

この方法によれば、表現型的に耐性の下位個体群は、in vivoで代謝的に活性のままであって、疾患を再発もしくは発症させ得る臨床的に潜伏性の細菌を代表するものと見ることができる。

【0079】

上記の(b)に関して、対数期の細菌に対する活性を測定する方法は、標準的な条件(すなわち、WO2005014585(その開示内容は参照により本明細書に組み込まれるものとする)に記載のものなどの当業者には公知の条件)下での試験化合物に関する最小阻害濃度(「MIC」)または最小殺菌濃度(「MBC」)の測定などがある。そのような方法の具体例について下記で説明する。

【実施例】

【0080】

チェッカーボードおよび時間死滅実験について下記で説明するが、これはAntimicrob Chem (2013) 68, 374-384に記載されている。

【0081】

実施例1；三次元チェッカーボード法による対数期NDM-1クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumonia) BAA2471に対するコリスチン、リファンピシンおよびHT0120663(ジドブジン)のin vitro相乗効果

目的

チェッカーボード法によって対数期NDM-1クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumonia) BAA2472に対するコリスチン、リファンピシンおよびHT0120663(ジドブジン)の相乗効果を調べること。

【0082】

材料および方法

1. 使用した細菌株：NDM-1 BAA-2472 TM、クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumoniae)を、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから入手した。

2. 細菌の増殖：BAA2472の対数期増殖を、SOPR-005-00細菌の対数期増殖に従って行った。

3. 抗生物質および調製

RMPをSigmaから入手し、DMSOに溶かして、原液濃度10mg/mLとした。

コリスチンは、Sigmaから入手した(10mg/mL)。

HT0120663はSigmaから入手し、DMSOに溶かして原液とした(10mg/mL)。

10

20

30

40

50

4. チェッカーボード法

リファンピシンについては 8 μg / mL および コリスチンについては 4 μg / mL の各薬剤濃度から開始される 2 倍希釈による 2 次元チェッカーボードを用いて、リファンピシンおよび コリスチンを組み合わせた。3 剤組み合わせ ( コリスチン / リファンピシン / HT0120663 ) については、HT0120663 を各プレートにそれぞれ 0.5、1、2、4、8、16 μg / mL の単一濃度で加える 3 次元チェッカーボード法を用いることで試験を行った。

終夜培養物を栄養ブロス ( Oxoid ) で希釈して 10<sup>5</sup> CFU / mL とし、培地懸濁液 280 μL を各ウェルに加えて、最終容量を 300 μL とした。

5. 化合物の細菌懸濁液とのインキュベーションを 24 時間行った。

6. ( 薬剤 A の MIC、組み合わせで試験 ) / ( 薬剤 A の MIC、単独で試験 ) + ( 薬剤 B の MIC、組み合わせで試験 ) / ( 薬剤 B の MIC、単独で試験 ) のように、2 剤組み合わせの部分阻害濃度指数 ( fractional inhibitory concentration index ) ( FICI ) を計算することで、組み合わせの効果を調べた。組み合わせの相互作用は、FICI が 0.5 である場合は相乗効果を示し、FICI が > 0.5 であって < 4.0 である場合は相互作用がないことを示し、FICI が > 4.0 の場合は拮抗作用があることを示すと定義した。

【0083】

結果

HT0120663 を加えないリファンピシンおよび コリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【0084】

【表 1】

2剤併用		リファンピシン												HT0120663 (μg/ml)	
	μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813	0		
コリスチン	4	0.34	0.32	0.31	0.29	0.28	0.28	0.28	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	0.27	0
	2	0.33	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	0.27	0.27	
	1	0.31	0.30	0.28	0.27	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	
	0.5	0.31	0.29	0.28	0.28	0.27	0.27	0.76	0.86	0.90	0.89	0.85	0.72		
	0.25	0.31	0.29	0.28	0.28	0.92	0.93	0.98	0.97	0.98	0.94	0.95	0.80		
	0.125	0.32	0.29	0.28	0.91	0.97	0.92	0.93	1.02	0.93	0.93	0.96	0.87		
	0.0625	0.31	0.38	0.62	0.82	0.84	0.86	0.85	0.85	0.92	0.87	0.98	0.80		
	0	0.32	0.37	0.56	0.73	0.78	0.75	0.77	0.75	0.81	0.78	0.78	0.80		

【0085】

リファンピシンの MIC は 4 μg / mL であった。0.5 μg / mL の コリスチン と組み合わせると、MIC は 0.25 μg / mL に低下した。コリスチン MIC は 1 μg / mL であった。2 μg / mL のリファンピシンと組み合わせると、MIC は 0.125 μg / mL に低下した。FICI 指数は 0.188 である。

【0086】

0.5 μg / mL の HT0120663 を加えたリファンピシンおよび コリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【0087】

【表 2】

3剤併用		リファンピシン												HT0120663 (μg/ml)
	μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813	0	
コリスチン	4	0.32	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.26	0.27	0.5
	2	0.32	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.26	0.27	
	1	0.32	0.29	0.28	0.30	0.31	0.31	0.30	0.30	0.28	0.27	0.28	0.27	
	0.5	0.31	0.29	0.30	0.32	0.34	0.35	0.35	0.34	0.35	0.39	0.44	0.43	
	0.25	0.32	0.29	0.30	0.33	0.34	0.76	0.41	0.52	0.58	0.47	0.59	0.43	
	0.125	0.32	0.29	0.29	0.33	0.43	0.48	0.49	0.57	0.61	0.56	0.46	0.42	
	0.0625	0.32	0.29	0.28	0.30	0.49	0.46	0.48	0.48	0.48	0.47	0.48	0.50	
	0	0.32	0.31	0.34	0.31	0.52	0.47	0.48	0.60	0.42	0.41	0.47	0.40	

10

20

30

40

50

【 0 0 8 8 】

リファンピシンおよびコリスチンの組み合わせに 0 . 5 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えることで、リファンピシンの M I C は 4 μ g / m L から 1 μ g / m L に低下し、増殖阻害が増大した。

【 0 0 8 9 】

1 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【 0 0 9 0 】

【表 3】

3剤併用		リファンピシン												HT0120663 (μg/ml)
μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813	0		
コリスチン	4	0.31	0.29	0.28	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	1
	2	0.32	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	
	1	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.31	0.31	0.31	0.27	0.27	0.31	0.28	
	0.5	0.31	0.29	0.28	0.27	0.28	0.31	0.31	0.35	0.28	0.38	0.38	0.34	
	0.25	0.31	0.29	0.28	0.28	0.28	0.31	0.31	0.35	0.28	0.36	0.38	0.36	
	0.125	0.31	0.29	0.28	0.28	0.29	0.31	0.31	0.35	0.28	0.37	0.38	0.36	
	0.0625	0.31	0.29	0.30	0.28	0.29	0.31	0.31	0.38	0.29	0.39	0.33	0.35	
	0	0.31	0.29	0.50	0.28	0.29	0.31	0.31	0.36	0.36	0.36	0.35	0.50	

10

【 0 0 9 1 】

2 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

20

【 0 0 9 2 】

【表 4】

3剤併用		リファンピシン												HT0120663 (μg/ml)
μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813	0		
コリスチン	4	0.32	0.29	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	2
	2	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.24	
	1	0.31	0.29	0.28	0.27	0.29	0.29	0.29	0.29	0.27	0.27	0.27	0.26	
	0.5	0.31	0.29	0.28	0.31	0.33	0.34	0.34	0.32	0.27	0.28	0.27	0.30	
	0.25	0.31	0.29	0.28	0.27	0.34	0.35	0.37	0.36	0.27	0.28	0.28	0.30	
	0.125	0.31	0.29	0.28	0.29	0.34	0.32	0.39	0.35	0.27	0.28	0.28	0.30	
	0.0625	0.31	0.29	0.28	0.28	0.34	0.30	0.32	0.32	0.27	0.28	0.28	0.30	
	0	0.31	0.29	0.28	0.30	0.33	0.28	0.33	0.33	0.27	0.28	0.29	0.53	

30

【 0 0 9 3 】

4 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【 0 0 9 4 】

【表 5】

3剤併用		リファンピシン												HT0120663 (μg/ml)
μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813	0		
コリスチン	4	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	4
	2	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	0.27	0.27	0.27	0.26	
	1	0.31	0.29	0.28	0.30	0.33	0.32	0.32	0.31	0.28	0.27	0.27	0.27	
	0.5	0.31	0.29	0.29	0.31	0.33	0.34	0.34	0.32	0.30	0.28	0.75	0.27	
	0.25	0.31	0.29	0.30	0.32	0.36	0.36	0.34	0.36	0.35	0.28	0.27	0.27	
	0.125	0.31	0.29	0.56	0.31	0.34	0.35	0.36	0.35	0.32	0.28	0.27	0.27	
	0.0625	0.32	0.29	0.28	0.29	0.30	0.31	0.34	0.30	0.29	0.29	0.27	0.28	
	0	0.32	0.29	0.28	0.57	0.31	0.30	0.35	0.30	0.27	0.29	0.28	0.66	

40

【 0 0 9 5 】

リファンピシンおよびコリスチンの組み合わせと比較して、1、2および4 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えることで、薬剤が存在しない最後のウェル以外全てで増殖が阻害され、3剤組み合わせの相乗効果が示された。

50

【 0 0 9 6 】

8 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【 0 0 9 7 】

【 表 6 】

	3剤併用		リファンピシン										HT0120663 (μg/ml)	
	μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813		0
コリスチン	4	0.33	0.30	0.29	0.28	0.28	0.28	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	8
	2	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	8
	1	0.31	0.29	0.28	0.28	0.29	0.29	0.30	0.30	0.27	0.27	0.27	0.27	8
	0.5	0.31	0.29	0.28	0.30	0.32	0.31	0.32	0.31	0.30	0.27	0.27	0.27	8
	0.25	0.31	0.29	0.28	0.30	0.33	0.33	0.35	0.33	0.31	0.29	0.28	0.28	8
	0.125	0.31	0.29	0.28	0.30	0.31	0.33	0.32	0.34	0.32	0.28	0.29	0.27	8
	0.0625	0.32	0.29	0.28	0.30	0.36	0.28	0.28	0.29	0.28	0.27	0.29	0.28	8
	0	0.32	0.29	0.28	0.28	0.29	0.23	0.29	0.29	0.31	0.28	0.28	0.28	8

10

【 0 0 9 8 】

16 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【 0 0 9 9 】

【 表 7 】

	3剤併用		リファンピシン										HT0120663 (μg/ml)	
	μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813		0
コリスチン	4	0.32	0.29	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.26	0.26	0.27	16
	2	0.32	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.26	0.27	0.26	0.26	16
	1	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	16
	0.5	0.30	0.29	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	16
	0.25	0.31	0.29	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	16
	0.125	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28	16
	0.0625	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.42	0.28	0.29	0.28	0.28	0.28	0.28	16
	0	0.31	0.28	0.29	0.43	0.28	0.28	0.28	0.29	0.30	0.28	0.28	0.28	16

20

【 0 1 0 0 】

H T 0 1 2 0 6 6 3 を 8 μ g / m L 以上に増やすと、増殖の完全阻害が認められた。これは、単独で細菌増殖を阻害した H T 0 1 2 0 6 6 3 の M I C ( 8 μ g / m L ) によるものであった。

30

【 0 1 0 1 】

要約および結論

このデータは、3薬剤組み合わせによって、MIC低下により各薬剤の効力が高くなったことを示している。H T 0 1 2 0 6 6 3 を 8 μ g / m L 以上で加えた場合に、完全な増殖阻害が認められた。

【 0 1 0 2 】

実施例 2 : チェッカーボード法による対数期 N D M - 1 クレブシエラ・ニューモニエ ( Klebsiella pneumonia ) B A A 2 4 7 3 に対するコリスチン、リファンピシンおよび H T 0 1 2 0 6 6 3 ( ジドブジン ) の in vitro 相乗効果

目的

チェッカーボード法によって対数期 N D M - 1 クレブシエラ・ニューモニエ ( Klebsiella pneumonia ) B A A 2 4 7 3 に対するコリスチン、リファンピシンおよび H T 0 1 2 0 6 6 3 ( ジドブジン ) の相乗効果を調べることである。

40

【 0 1 0 3 】

材料および方法

1 . 使用した細菌株 : N D M - 1 B A A - 2 4 7 3 T M 、 クレブシエラ・ニューモニエ ( Klebsiella pneumoniae ) をアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから入手した。

2 . 細菌の増殖 : B A A 2 4 7 3 の対数期増殖を、S O P R - 0 0 5 - 0 0 細菌の対数期増殖に従って実施した。

50

### 3. 抗生物質および調製

RMPをSigmaから入手し、DMSOに溶解させて原液濃度10mg/mLとした。

コリスチンは、Sigmaから入手した(10mg/mL)。

HT0120663をSigmaから入手し、DMSOに溶かして原液とした(10mg/mL)。

4. チェッカーボード法 - 実施例1に記載の通り。(コリスチン/リファンピシン/HT0120663)を、HT0120663を各プレートに単一の濃度で加える3次元チェッカーボード法によって調べた。

終夜培養物を栄養プラス(Oxoid)で希釈して $10^5$ CFU/mLとし、培養物懸濁液280 $\mu$ Lを各ウェルに加えて、最終容量300 $\mu$ Lとした。

5. 化合物の細菌懸濁液とのインキュベーションを24時間行った。

6. (薬剤AのMIC、組み合わせで試験) / (薬剤AのMIC、単独で試験) + (薬剤BのMIC、組み合わせで試験) / (薬剤BのMIC、単独で試験)のように、各組み合わせの部分阻害濃度指数(FICI)を計算することで、組み合わせの効果を調べた。組み合わせの相互作用は、FICIが0.5である場合は相乗効果を示し、FICIが>0.5であって<4.0である場合は相互作用がないことを示し、FICIが>4.0の場合は拮抗作用があることを示すと定義した。

【0104】

結果

HT0120663を加えないリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【0105】

【表8】

	$\mu$ g/ml	リファンピシン												HT0120663	
		1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0		
コリスチン	32	0.36	0.18	0.15	0.13	0.11	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0
	16	0.23	0.16	0.14	0.13	0.12	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04		
	8	0.19	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.12		
	4	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.39		
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.09	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.46		
	1	0.17	0.14	0.14	0.14	0.11	0.09	0.23	0.30	0.28	0.42	0.43	0.61		
	0.5	0.17	0.15	0.29	0.41	0.40	0.45	0.51	0.46	0.49	0.55	0.52	0.68		
	0	0.18	0.40	0.43	0.65	0.70	0.73	0.73	0.73	0.74	0.59	0.66	0.72		

【0106】

0.125 $\mu$ g/mLのHT0120663を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【0107】

【表9】

	3薬剤併用		リファンピシン												HT0120663
	$\mu$ g/ml		1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
コリスチン	32		0.34	0.18	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.125
	16		0.21	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.05	0.16	
	8		0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.13	
	4		0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.06	0.05	0.05	0.04	0.16	
	2		0.17	0.14	0.13	0.13	0.11	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.19	
	1		0.17	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.13	0.22	0.23	0.22	0.24	0.31	
	0.5		0.17	0.15	0.17	0.22	0.26	0.24	0.29	0.32	0.24	0.24	0.30	0.34	
	0		0.18	0.28	0.28	0.42	0.44	0.41	0.36	0.38	0.37	0.36	0.39	0.43	

【0108】

リファンピシンおよびコリスチンの組み合わせに0.125 $\mu$ g/mLのHT0120663を加えても、増殖阻害に差は示されなかった。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 0 9 】

0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

## 【 0 1 1 0 】

## 【 表 1 0 】

	3薬剤併用		リファンピシン											HT0120663
	$\mu\text{g}/\text{ml}$	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
	32	0.33	0.18	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	<b>0.25</b>
	16	0.22	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.09	
	8	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	
コリスチン	4	0.17	0.15	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.13	
	1	0.16	0.15	0.14	0.13	0.10	0.18	0.19	0.15	0.12	0.14	0.17	0.28	
	0.5	0.17	0.15	0.17	0.17	0.17	0.16	0.20	0.15	0.15	0.17	0.15	0.23	
	0	0.18	0.26	0.23	0.34	0.31	0.28	0.32	0.34	0.33	0.33	0.31	0.38	

10

## 【 0 1 1 1 】

リファンピシンおよびコリスチンのみの組み合わせと比較すると、0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 添加によって、コリスチンの MIC が 4 倍低下した。

## 【 0 1 1 2 】

0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

20

## 【 0 1 1 3 】

## 【 表 1 1 】

	3薬剤併用		リファンピシン											HT0120663
	$\mu\text{g}/\text{ml}$	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
	32	0.37	0.22	0.17	0.16	0.13	0.10	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	<b>0.5</b>
	16	0.28	0.16	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05	
	8	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
コリスチン	4	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05	
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.08	
	1	0.17	0.15	0.14	0.13	0.12	0.11	0.09	0.12	0.10	0.12	0.09	0.32	
	0.5	0.17	0.15	0.16	0.13	0.12	0.12	0.10	0.10	0.10	0.12	0.16	0.17	
	0	0.17	0.21	0.20	0.26	0.21	0.20	0.27	0.30	0.22	0.34	0.27	0.37	

30

## 【 0 1 1 4 】

リファンピシンおよびコリスチンの組み合わせと比較すると、0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 添加によって、コリスチンの MIC が 8 倍低下した。

## 【 0 1 1 5 】

1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

40

## 【 0 1 1 6 】

【表 1 2】

	3薬剤併用			リファンピシ										HT0120663
	$\mu\text{g/ml}$	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
コリスチン	32	0.32	0.18	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	1
	16	0.21	0.16	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	8	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	4	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	1	0.17	0.16	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.10	0.15	0.13	0.11	0.12	
	0.5	0.17	0.15	0.14	0.16	0.12	0.11	0.09	0.13	0.21	0.09	0.27	0.39	
	0	0.17	0.16	0.20	0.18	0.17	0.36	0.14	0.13	0.35	0.35	0.37	0.13	

10

## 【0 1 1 7】

リファンピシおよびコリスチンの組み合わせと比較すると、 $1 \mu\text{g/mL}$ のHT0120663添加によって、リファンピシのMICの低下により相乗効果が高まった。

## 【0 1 1 8】

$2 \mu\text{g/mL}$ のHT0120663を加えたリファンピシおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

## 【0 1 1 9】

【表 1 3】

	3薬剤併用			リファンピシ										HT0120663
	$\mu\text{g/ml}$	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
コリスチン	32	0.35	0.18	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	2
	16	0.23	0.16	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.04	0.04	0.04	
	8	0.19	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	4	0.17	0.14	0.13	0.13	0.11	0.08	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	1	0.17	0.15	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.24	0.24	0.24	
	0.5	0.17	0.15	0.15	0.13	0.15	0.12	0.10	0.23	0.26	0.28	0.24	0.24	
	0	0.18	0.16	0.29	0.18	0.20	0.13	0.14	0.46	0.47	0.49	0.15	0.41	

20

## 【0 1 2 0】

リファンピシおよびコリスチンの組み合わせと比較すると、 $2 \mu\text{g/mL}$ のHT0120663添加によって、リファンピシのMICの低下により相乗効果が高まった。

## 【0 1 2 1】

$4 \mu\text{g/mL}$ のHT0120663を加えたリファンピシおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

## 【0 1 2 2】

【表 1 4】

	3薬剤併用			リファンピシ										HT0120663
	$\mu\text{g/ml}$	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
コリスチン	32	0.36	0.19	0.15	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	4
	16	0.23	0.16	0.14	0.14	0.12	0.08	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	
	8	0.19	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.05	
	4	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05	
	2	0.18	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05	
	1	0.18	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.07	0.45	
	0.5	0.18	0.15	0.15	0.14	0.15	0.30	0.11	0.32	0.25	0.36	0.38	0.52	
	0	0.19	0.16	0.22	0.46	0.45	0.51	0.43	0.10	0.14	0.36	0.38	0.56	

40

## 【0 1 2 3】

リファンピシおよびコリスチンの組み合わせと比較すると、 $4 \mu\text{g/mL}$ のHT0120663添加によって、リファンピシのMICの低下により相乗効果が高まった。

## 【0 1 2 4】

50

8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【0125】

【表15】

	3薬剤併用		リファンピシン											HT0120663
	$\mu\text{g}/\text{ml}$	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
	32	0.17	0.18	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	8
	16	0.17	0.16	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	8	0.19	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	
コリスチン	4	0.17	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	
	2	0.17	0.15	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
	1	0.17	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	
	0.5	0.17	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.09	0.08	0.07	0.05	
	0	0.19	0.16	0.15	0.13	0.12	0.09	0.09	0.07	0.06	0.07	0.07	0.07	

10

【0126】

16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【0127】

【表16】

	3薬剤併用		リファンピシン											HT0120663
	$\mu\text{g}/\text{ml}$	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
	32	0.34	0.19	0.14	0.14	0.11	0.08	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	16
	16	0.23	0.16	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	
	8	0.20	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	
コリスチン	4	0.18	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	
	2	0.18	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.05	
	1	0.17	0.16	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	
	0.5	0.18	0.16	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	
	0	0.18	0.16	0.16	0.15	0.12	0.09	0.07	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	

20

【0128】

32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【0129】

【表17】

	3薬剤併用		リファンピシン											HT0120663
	$\mu\text{g}/\text{ml}$	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
	32	0.32	0.19	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	32.00
	16	0.23	0.16	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	
	8	0.19	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	
コリスチン	4	0.17	0.15	0.14	0.14	0.11	0.09	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	
	2	0.18	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	
	1	0.17	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	
	0.5	0.18	0.15	0.15	0.14	0.12	0.09	0.37	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	
	0	0.18	0.16	0.16	0.14	0.12	0.09	0.50	0.07	0.06	0.05	0.05	0.06	

40

【0130】

HT0120663 を 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  に増やすと、増殖の完全阻害が認められた。これは、単独で細菌増殖を阻害した HT0120663 の MIC (8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) によるものであった。

【0131】

要約および結論

このデータは、3薬剤組み合わせによって、MIC 低下により各薬剤の効力が高くなったことを示している。HT0120663 を 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上で加えた場合に、完全な増殖阻害が認められた。

【0132】

50

実施例 3 ; 三次元チェッカーボード法による対数期 NDM - 1 大腸菌 (Escherichia coli) B A A 2 4 7 1 に対するコリスチン、リファンピシンおよび HT 0 1 2 0 6 6 3 (ジドブジン) の in vitro 相乗効果

目的

チェッカーボード法によって対数期 NDM - 1 大腸菌 (E. coli) B A A 2 4 7 1 に対するコリスチン、リファンピシンおよび HT 0 1 2 0 6 6 3 (ジドブジン) の相乗効果を調べることである。

【 0 1 3 3 】

材料および方法

1 . 使用した細菌株 : NDM - 1 B A A - 2 4 7 1 T M、大腸菌 (E. coli) はアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから入手した。

2 . 細菌の増殖 : B A 2 4 7 1 の対数期増殖を、S O P R - 0 0 5 - 0 0 細菌の対数期増殖に従って実施した。

3 . 抗生物質および調製

R M P を S i g m a から入手し、D M S O に溶解させて原液濃度 1 0 m g / m L とした。

コリスチンは、S i g m a から入手した ( 1 0 m g / m L ) 。

H T 0 1 2 0 6 6 3 を S i g m a から入手し、D M S O に溶かして原液 ( 1 0 m g / m L ) とした。

4 . チェッカーボード法 - 実施例 1 に記載の通り。

3 剤組み合わせ (コリスチン / リファンピシン / H T 0 1 2 0 6 6 3 ) について、H T 0 1 2 0 6 6 3 を各プレートにそれぞれ 0 . 5、1、2、4、8、1 6 μ g / m L の単一濃度で加える 3 次元チェッカーボード法によって試験を行った。

終夜培養物を栄養ブロス (O x o i d) で希釈して 1 0 <sup>5</sup> C F U / m L とし、培養物懸濁液 2 8 0 μ L を各ウェルに加えて、最終容量 3 0 0 μ L とした。

5 . 化合物の細菌懸濁液とのインキュベーションを 2 4 時間行った。

6 . ( 薬剤 A の M I C、組み合わせで試験 ) / ( 薬剤 A の M I C、単独で試験 ) + ( 薬剤 B の M I C、組み合わせで試験 ) / ( 薬剤 B の M I C、単独で試験 ) のように、2 剤組み合わせの部分阻害濃度指数 ( F I C I ) を計算することで、組み合わせの効果を調べた。組み合わせの相互作用は、F I C I が 0 . 5 である場合は相乗効果を示し、F I C I が > 0 . 5 であって < 4 . 0 である場合は相互作用がないことを示し、F I C I が > 4 . 0 の場合は拮抗作用があることを示すと定義した。

【 0 1 3 4 】

結果

大腸菌 (E. coli) NDM - 1 2 4 7 1 に対する H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えないリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【 0 1 3 5 】

【 表 1 8 】

2剤処方		リファンピシン												HT0120663 (μg/ml)
	μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813	0	
コリスチン	4	0.34	0.32	0.31	0.29	0.28	0.28	0.28	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	0
	2	0.33	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	0.27	0.27	
	1	0.31	0.30	0.28	0.27	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	
	0.5	0.31	0.29	0.28	0.28	0.27	0.27	0.76	0.86	0.90	0.89	0.85	0.72	
	0.25	0.31	0.29	0.28	0.28	0.92	0.93	0.98	0.97	0.98	0.94	0.95	0.80	
	0.125	0.32	0.29	0.28	0.91	0.97	0.92	0.93	1.02	0.93	0.93	0.96	0.87	
	0.0625	0.31	0.38	0.62	0.82	0.84	0.86	0.85	0.85	0.92	0.87	0.98	0.80	
	0	0.32	0.37	0.56	0.73	0.78	0.75	0.77	0.75	0.81	0.78	0.78	0.80	

【 0 1 3 6 】

リファンピシンの M I C は 4 μ g / m L であった。0 . 5 μ g / m L のコリスチンと組み合わせると、M I C は 0 . 2 5 μ g / m L に低下した。コリスチンの M I C は 1 μ g / m L であった。2 μ g / m L のリファンピシンと組み合わせると、M I C は 0 . 1 2 5 μ

10

20

30

40

50

g / m L に低下した。F I C 指数は 0 . 1 8 8 である。

【 0 1 3 7 】

大腸菌 ( E . coli ) N D M - 1 2 4 7 1 に対する 0 . 5 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【 0 1 3 8 】

【 表 1 9 】

	3剤処方		リファンピシン											HT0120663 (μg/ml)
	μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813	0	
コリスチン	4	0.32	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.26	0.27	0.5
	2	0.32	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.26	0.27	
	1	0.32	0.29	0.28	0.30	0.31	0.31	0.27	0.30	0.28	0.27	0.28	0.27	
	0.5	0.31	0.29	0.30	0.32	0.34	0.35	0.27	0.34	0.35	0.39	0.44	0.43	
	0.25	0.32	0.29	0.30	0.33	0.34	0.46	0.41	0.52	0.58	0.47	0.59	0.53	
	0.125	0.32	0.29	0.29	0.33	0.43	0.56	0.49	0.57	0.61	0.56	0.59	0.53	
	0.0625	0.32	0.29	0.28	0.30	0.49	0.56	0.48	0.57	0.61	0.56	0.59	0.50	
	0	0.32	0.31	0.34	0.31	0.52	0.58	0.48	0.60	0.61	0.56	0.59	0.50	

10

【 0 1 3 9 】

リファンピシンおよびコリスチンの組み合わせに 0 . 5 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えることで、リファンピシンの M I C が 4 μ g / m L から 1 μ g / m L に低下し、増殖阻害が増大した。

【 0 1 4 0 】

大腸菌 ( E . coli ) N D M - 1 2 4 7 1 に対する 1 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

20

【 0 1 4 1 】

【 表 2 0 】

	3剤処方		リファンピシン											HT0120663 (μg/ml)
	μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813	0	
コリスチン	4	0.31	0.29	0.28	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	1
	2	0.32	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	
	1	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.31	0.31	0.31	0.27	0.27	0.31	0.28	
	0.5	0.31	0.29	0.28	0.30	0.27	0.31	0.31	0.31	0.31	0.27	0.38	0.31	0.28
	0.25	0.31	0.29	0.28	0.30	0.27	0.31	0.31	0.31	0.27	0.36	0.31	0.28	
	0.125	0.31	0.29	0.28	0.30	0.27	0.31	0.31	0.31	0.27	0.37	0.31	0.28	
	0.0625	0.31	0.29	0.30	0.30	0.27	0.31	0.31	0.31	0.27	0.37	0.31	0.50	
	0	0.31	0.29	0.30	0.30	0.27	0.37	0.31	0.36	0.36	0.36	0.31	0.53	

30

【 0 1 4 2 】

大腸菌 ( E . coli ) N D M - 1 2 4 7 1 に対する 2 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【 0 1 4 3 】

【 表 2 1 】

	3剤処方		リファンピシン											HT0120663 (μg/ml)
	μg/ml	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813	0	
コリスチン	4	0.32	0.29	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	2
	2	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.24	
	1	0.31	0.29	0.28	0.27	0.29	0.29	0.29	0.29	0.27	0.27	0.27	0.26	
	0.5	0.31	0.29	0.28	0.31	0.33	0.29	0.29	0.29	0.27	0.28	0.27	0.30	
	0.25	0.31	0.29	0.28	0.27	0.33	0.29	0.29	0.29	0.27	0.28	0.28	0.42	
	0.125	0.31	0.29	0.28	0.29	0.33	0.29	0.29	0.29	0.27	0.28	0.28	0.28	
	0.0625	0.31	0.29	0.28	0.28	0.33	0.29	0.29	0.29	0.27	0.28	0.28	0.56	
	0	0.31	0.29	0.28	0.30	0.33	0.29	0.33	0.33	0.27	0.28	0.29	0.53	

40

【 0 1 4 4 】

リファンピシンおよびコリスチンの組み合わせと比較して、1 および 2 μ g / m L の H T 0 1 2 0 6 6 3 を加えることで、最後の二つのウェル以外全てで増殖が阻害され、3 剤組み合わせの相乗効果が示された。

【 0 1 4 5 】

50

大腸菌 (E. coli) NDM - 1 2471 に対する  $4 \mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【0146】

【表22】

3剤処方		リファンピシン											HT0120663 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
	$\mu\text{g}/\text{ml}$	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813		0
コリスチン	4	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	4
	2	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	0.27	0.27	0.27	0.26	
	1	0.31	0.29	0.28	0.30	0.33	0.32	0.32	0.31	0.28	0.27	0.27	0.27	
	0.5	0.31	0.29	0.29	0.31	0.33	0.34	0.32	0.32	0.30	0.28	0.27	0.27	
	0.25	0.31	0.29	0.30	0.32	0.36	0.36	0.32	0.36	0.30	0.28	0.27	0.27	
	0.125	0.31	0.29	0.30	0.31	0.34	0.35	0.32	0.35	0.30	0.28	0.27	0.27	
	0.0625	0.32	0.29	0.28	0.29	0.30	0.31	0.32	0.30	0.30	0.28	0.27	0.28	
0	0.32	0.29	0.28	0.29	0.31	0.30	0.32	0.30	0.30	0.28	0.27	0.69		

10

【0147】

リファンピシンおよびコリスチンの組み合わせと比較して、 $4 \mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えることで、薬剤が存在しない最後のウェル以外全てで増殖が阻害され、3剤組み合わせの相乗効果が示された。

【0148】

$8 \mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

20

【0149】

【表23】

3剤処方		リファンピシン											HT0120663 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
	$\mu\text{g}/\text{ml}$	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813		0
コリスチン	4	0.33	0.30	0.29	0.28	0.28	0.28	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	8
	2	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	
	1	0.31	0.29	0.28	0.28	0.29	0.29	0.30	0.30	0.27	0.27	0.27	0.27	
	0.5	0.31	0.29	0.28	0.30	0.32	0.31	0.32	0.31	0.30	0.27	0.27	0.28	
	0.25	0.31	0.29	0.28	0.30	0.33	0.33	0.35	0.31	0.31	0.29	0.27	0.28	
	0.125	0.31	0.29	0.28	0.30	0.31	0.33	0.32	0.31	0.31	0.28	0.27	0.28	
	0.0625	0.32	0.29	0.28	0.30	0.36	0.28	0.28	0.29	0.28	0.28	0.27	0.28	
0	0.32	0.29	0.28	0.28	0.29	0.28	0.29	0.29	0.31	0.28	0.28	0.28		

30

【0150】

$16 \mu\text{g}/\text{mL}$  の HT0120663 を加えたリファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ。黄色を付けたウェルは増殖を示す。色のないウェルは、増殖阻害または増殖なしを示す。

【0151】

【表24】

3剤処方		リファンピシン											HT0120663 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
	$\mu\text{g}/\text{ml}$	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625	0.007813		0
コリスチン	4	0.32	0.29	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.26	0.26	0.27	16
	2	0.32	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.26	0.27	0.26	0.26	
	1	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	
	0.5	0.30	0.29	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	
	0.25	0.31	0.29	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	
	0.125	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.28	0.27	0.27	0.28	0.28	
	0.0625	0.31	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28	
0	0.31	0.28	0.29	0.43	0.28	0.28	0.28	0.29	0.30	0.28	0.28	0.28		

40

【0152】

HT0120663 を  $8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以上に増やすと、増殖の完全阻害が認められた。これは、単独で細菌増殖を阻害した HT0120663 の MIC ( $8 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) によるものであった。

【0153】

要約および結論

このデータは、3薬剤組み合わせによって、MIC 低下により各薬剤の効力が高くなっ

50

たことを示している。HT0120663を8µg/mL以上で加えた場合に、完全な増殖阻害が認められた。

【0154】

実施例4

実施例4.1:NDM-1クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumonia)に対するコリスチンおよびリファンピシン

1.1 NDM-1クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumonia)に対するコリスチンとリファンピシンの間の相乗作用を示すチェッカーボード

【0155】

【表25】

10

リファンピシン

	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0	FIC 指数	
コリスチン	128	0.15	0.12	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.0175781
	64	0.13	0.11	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.05	0.16	0.26	
	32	0.13	0.12	0.10	0.08	0.09	0.06	0.05	0.05	0.04	0.08	0.21	0.34	
	16	0.12	0.12	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.10	0.13	0.32	
	8	0.12	0.11	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.24	0.28	0.17	
	4	0.12	0.12	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.14	0.26	0.27	0.27	0.32	
	2	0.13	0.21	0.20	0.26	0.22	0.24	0.23	0.23	0.24	0.25	0.26	0.48	
	0	0.56	0.54	0.53	0.52	0.49	0.50	0.52	0.51	0.51	0.51	0.50	0.57	

20

【0156】

1.2 図1は、コリスチンおよびリファンピシン単独の場合と比較した、NDM-1クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumonia)に対するコリスチンおよびリファンピシンの組み合わせの効果を示す時間殺菌曲線(time kill curves)(a)、(b)および(c)を含む。

【0157】

実施例4.2:NDM-1大腸菌(Escherichia coli)に対するコリスチンおよびリファンピシン

30

2.1 NDM-1大腸菌(E. coli)に対するコリスチンとリファンピシンの間の相乗作用を示すチェッカーボード

【0158】

【表26】

リファンピシン

	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0	FIC 指数	
コリスチン	32	0.60	0.50	0.45	0.42	0.41	0.40	0.40	0.39	0.39	0.40	0.39	0.38	0.0644531
	16	0.58	0.50	0.45	0.43	0.41	0.41	0.40	0.40	0.40	0.41	0.40	0.40	
	8	0.59	0.51	0.45	0.43	0.42	0.41	0.41	0.41	0.40	0.42	0.40	1.26	
	4	0.59	0.51	0.45	0.43	0.42	0.42	0.41	0.41	0.40	0.40	0.40	1.27	
	2	0.60	0.50	0.46	0.44	0.43	0.59	0.41	0.41	0.41	0.41	0.92	1.35	
	1	0.59	0.52	0.47	0.44	0.43	0.42	0.42	1.35	0.41	1.42	1.33	1.47	
	0.5	0.60	0.50	1.29	1.33	1.31	1.29	1.32	1.29	1.32	1.39	1.45	1.57	
	0	0.71	0.82	0.88	1.28	1.40	1.46	1.40	1.45	1.51	1.48	1.48	1.57	

40

【0159】

2.2 図2は、コリスチンおよびリファンピシン単独の場合と比較した、NDM-1大腸菌(E. coli)に対するコリスチンおよびリファンピシンの組み合わせの効果を示す

50

時間死滅曲線 ( a )、( b )、( c ) および ( d ) を含む。

【 0 1 6 0 】

実施例 4 . 3 : 3 剤組み合わせ ( リファンピシン + コリスチン + H T 0 1 2 0 6 6 3 ( ジドブジン ) )

H T 0 1 3 0 0 0 1 = リファンピシン

H T 0 1 3 0 0 0 2 = コリスチン

H T 0 1 2 0 6 6 3 = ジドブジン

【 0 1 6 1 】

3 . 1 実施例 1 に記載の N D M - 1 クレブシエラ・ニューモニエ ( Klebsiella pneumonia ) に対する コリスチン、リファンピシン および H T 0 1 2 0 6 6 3 間の相乗作用を示す チェッカーボード

10

【 0 1 6 2 】

【 表 2 7 】

		HT0130001											HT0120663	
		1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
HT0130002	32	0.19	0.18	0.15	0.13	0.11	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0
	16	0.18	0.16	0.14	0.13	0.12	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	
	8	0.19	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.12	
	4	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.39	
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.09	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.46	
	1	0.17	0.14	0.14	0.14	0.11	0.09	0.23	0.30	0.28	0.42	0.43	0.61	
	0.5	0.17	0.15	0.29	0.41	0.40	0.45	0.51	0.46	0.49	0.55	0.52	0.68	
	0	0.18	0.40	0.43	0.65	0.70	0.73	0.73	0.73	0.74	0.59	0.66	0.72	

20

【 0 1 6 3 】

【 表 2 8 】

		HT0130001											HT0120663	
		1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
HT0130002	32	0.17	0.18	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.25
	16	0.17	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.09	
	8	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	
	4	0.17	0.15	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.13	
	1	0.16	0.15	0.14	0.13	0.10	0.18	0.19	0.15	0.12	0.14	0.17	0.28	
	0.5	0.17	0.15	0.17	0.17	0.17	0.16	0.20	0.15	0.15	0.17	0.15	0.23	
	0	0.18	0.26	0.23	0.34	0.31	0.28	0.32	0.34	0.33	0.33	0.31	0.38	

30

【 0 1 6 4 】

【 表 2 9 】

		HT0130001											HT0120663	
		1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
HT0130002	32	0.17	0.22	0.17	0.16	0.13	0.10	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.5
	16	0.17	0.16	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05	
	8	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	4	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05	
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.08	
	1	0.17	0.15	0.14	0.13	0.12	0.11	0.09	0.12	0.10	0.12	0.09	0.32	
	0.5	0.17	0.15	0.16	0.13	0.12	0.12	0.10	0.10	0.10	0.12	0.16	0.17	
	0	0.17	0.21	0.20	0.26	0.21	0.20	0.27	0.30	0.22	0.34	0.27	0.37	

40

【 0 1 6 5 】

【 表 3 0 】

		HT0130001											HT0120663	
		1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0	
HT0130002	32	0.32	0.18	0.14	0.13	0.11	0.08	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	1
	16	0.21	0.16	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	8	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	4	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	1	0.17	0.16	0.14	0.13	0.11	0.08	0.06	0.10	0.15	0.13	0.11	0.12	
	0.5	0.17	0.15	0.14	0.16	0.12	0.11	0.09	0.13	0.21	0.09	0.27	0.39	
	0	0.17	0.16	0.20	0.18	0.17	0.36	0.14	0.13	0.35	0.35	0.37	0.13	

50

【 0 1 6 6 】

【表 3 1】

3薬剤併用		HT0130001											HT0120663	
μg/ml	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0		
HT0130002	32	0.35	0.18	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	2
	16	0.23	0.16	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.04	0.04	0.04	
	8	0.19	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	4	0.17	0.14	0.13	0.13	0.11	0.08	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	2	0.17	0.14	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	1	0.17	0.15	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.24	0.24	0.24	
	0.5	0.17	0.15	0.15	0.13	0.15	0.12	0.10	0.23	0.26	0.28	0.24	0.24	
	0	0.18	0.16	0.29	0.18	0.20	0.13	0.14	0.46	0.47	0.49	0.15	0.41	

【 0 1 6 7】

10

【表 3 2】

3薬剤併用		HT0130001											HT0120663	
μg/ml	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0		
HT0130002	32	0.36	0.19	0.15	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	4
	16	0.23	0.16	0.14	0.14	0.12	0.08	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	
	8	0.19	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.05	
	4	0.18	0.15	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05	
	2	0.18	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05	
	1	0.18	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.07	0.45	
	0.5	0.18	0.15	0.15	0.14	0.15	0.30	0.11	0.32	0.25	0.36	0.38	0.52	
	0	0.19	0.16	0.22	0.46	0.45	0.51	0.43	0.10	0.14	0.36	0.38	0.56	

【 0 1 6 8】

20

【表 3 3】

3薬剤併用		HT0130001											HT0120663	
μg/ml	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0		
HT0130002	32	0.17	0.18	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	8
	16	0.17	0.16	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	
	8	0.19	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	
	4	0.17	0.15	0.14	0.14	0.12	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	
	2	0.17	0.15	0.14	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
	1	0.17	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	
	0.5	0.17	0.15	0.14	0.13	0.12	0.09	0.07	0.06	0.09	0.08	0.07	0.05	
	0	0.19	0.16	0.15	0.13	0.12	0.09	0.09	0.07	0.06	0.07	0.07	0.07	

【 0 1 6 9】

30

実施例 5

コリスチンおよびリファンピシンの組み合わせへのジドブジンの添加の効果を示したが、下記の実施例は各種薬剤耐性細菌に対する後者の組み合わせの相乗作用を示すものである。実施例 1 から 4 に基づくと、ジドブジンを加えることで、やはりコリスチンおよびリファンピシンの 2 剤組み合わせが増強されるものと考えられる。

【 0 1 7 0】

実験 5 . 1 : チェッカーボード法による対数期グラム陰性細菌に対するコリスチンおよびリファンピシンの in vitro 相乗効果

目的

チェッカーボード法による大腸菌(Escherichia coli)およびクレブシエラ(Klebsiella) - エンテロバクター(Enterobacter) - セラチア(Serratia)群 ( K E S 群 ) などの対数期グラム陰性細菌に対するコリスチンおよびリファンピシンの相乗効果を調べること。

40

【 0 1 7 1】

材料および方法

1 . 使用した細菌株 : St George s Hospital からの臨床抗生物質耐性グラム陰性単離株。NDM - 1 株として、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから B A A - 2 4 6 8 T M エンテロバクター・クロアカ(Enterobacter cloacae)、B A A - 2 4 6 9 T M 大腸菌(Escherichia coli)、B A A - 2 4 7 0 T M クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumoniae)亜種ニューモニエ(Pneumonia)、B A A - 2 4 7 1 T M 大腸菌(Escherichia coli)、B A A - 2 4 7 2 T M クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pn

50

eumoniae) 亜種ニューモニエ (Pneumonia)、および B A A - 2 4 7 3 T M クレブシエラ・ニューモニエ (Klebsiella pneumoniae) 入手し、ナショナル・コレクション・オブ・タイプ・カルチャーズ (National Collection of Type Cultures) から N C T C 1 3 4 4 3 クレブシエラ・ニューモニエ (Klebsiella pneumonia) を入手した。

2. 細菌の増殖: B A 2 4 7 3 の対数期増殖を、S O P R - 0 0 5 - 0 0 細菌の対数期増殖に従って実施した。

3. 抗生物質および調製

i. R M P を Sigma から入手し、D M S O に溶解させて原液濃度 1 0 m g / m L とした。

i i. コリスチンは、Sigma から入手した ( 1 0 m g / m L ) 。

対数期細菌培養物を、チェッカーボード法を用いて組み合わせたリファンピシンおよびコリスチンとともにインキュベートした。

終夜培養物を栄養ブロス ( O x o i d ) で希釈して 1 0 <sup>5</sup> C F U / m L とし、培養物 2 8 0 μ L を各ウェルに加えて、最終容量 3 0 0 μ L とした。

4. 細菌懸濁液と化合物のインキュベーションを 2 4 時間行った。

5. ( 薬剤 A の M I C、組み合わせで試験 ) / ( 薬剤 A の M I C、単独で試験 ) + ( 薬剤 B の M I C、組み合わせで試験 ) / ( 薬剤 B の M I C、単独で試験 ) のように、各組み合わせの部分阻害濃度指数 (fractional inhibitory concentration index) ( F I C I ) を計算することで、組み合わせの効果を調べた。組み合わせの相互作用は、F I C I が 0 . 5 である場合は相乗効果を示し、F I C I が > 0 . 5 であって < 4 . 0 である場合は相互作用がないことを示し、F I C I が > 4 . 0 の場合は拮抗作用があることを示すと定義した。

【 0 1 7 2 】

結果

【表 3 4】

細菌株	株数	FIC 指数			相乗効果が確認された株 (%)
		< 0.5	> 0.5 < 2	> 2	
大腸菌 (E. coli)	56	55	1	0	98.2
クレブシエラ (Klebsiella) - エンテロバクター (Enterobacter) - セラチア (Serratia) 群 (KES group)	32	31	1	0	96.9

【 0 1 7 3 】

要約および結論

1. 大腸菌 (E. coli) の 9 8 . 2 % で コリスチン および リファンピシンの相乗的組み合わせが示され、F I C 指数は 0 . 5 未満であった。

2. K E S 群の細菌の 9 6 . 9 % で コリスチン および リファンピシンの相乗的組み合わせが示され、F I C 指数は 0 . 5 未満であった。

3. 全ての N D M - 1 株で コリスチン および リファンピシンの相乗活性が示された。

【 0 1 7 4 】

実験 5 . 2 : チェッカーボード法による対数期 N D M - 1 株に対する コリスチン および リファンピシンの in vitro 相乗効果

目的

チェッカーボード法によって、対数期 N D M - 1 株に対する コリスチン および リファンピシンの相乗効果を調べること。

【 0 1 7 5 】

材料および方法

1. 使用した細菌株: N D M - 1 株として、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから B A A - 2 4 6 8 T M エンテロバクター・クロアカ (Enterobacter cloacae)

10

20

30

40

50

、 B A A - 2 4 6 9 T M 大腸菌(Escherichia coli)、 B A A - 2 4 7 0 T M クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumoniae)亜種ニューモニエ(Pneumonia)、 B A A - 2 4 7 1 T M 大腸菌(Escherichia coli)、 B A A - 2 4 7 2 T M クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumoniae)亜種ニューモニエ(Pneumonia)、および B A A - 2 4 7 3 T M クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumoniae)入手し、ナショナル・コレクション・オブ・タイプ・カルチャーズ(National Collection of Type Cultures)から N C T C 1 3 4 4 3 クレブシエラ・ニューモニエ(Klebsiella pneumonia)を入手した。

2 . 細菌の増殖： B A 2 4 7 3 の対数期増殖を、 S O P R - 0 0 5 - 0 0 細菌の対数期増殖に従って実施した。

3 . 抗生物質および調製

i . R M P を S i g m a から入手し、 D M S O に溶解させて原液濃度 1 0 m g / m L とした。

i i . コリスチンは、 S i g m a から入手した ( 1 0 m g / m L ) 。

対数期細菌培養物を、チェッカーボード法を用いて組み合わせたりファンピシンおよびコリスチンとともにインキュベートした。

終夜培養物を栄養ブロス ( O x o i d ) で希釈して 1 0 <sup>5</sup> C F U / m L とし、培養物 2 8 0 μ L を各ウェルに加えて、最終容量 3 0 0 μ L とした。

4 . 細菌懸濁液と化合物のインキュベーションを 2 4 時間行った。

5 . ( 薬剤 A の M I C 、組み合わせで試験 ) / ( 薬剤 A の M I C 、単独で試験 ) + ( 薬剤 B の M I C 、組み合わせで試験 ) / ( 薬剤 B の M I C 、単独で試験 ) のように、各組み合わせの部分阻害濃度指数 (fractional inhibitory concentration index) ( F I C I ) を計算することで、組み合わせの効果を調べた。組み合わせの相互作用は、 F I C I が 0 . 5 である場合は相乗効果を示し、 F I C I が > 0 . 5 であって < 4 . 0 である場合は相互作用がないことを示し、 F I C I が > 4 . 0 の場合は拮抗作用があることを示すと定義した。

【 0 1 7 6 】

結果

【表 3 5】

NCTC1433/NDM-1	RMP													FIC 指数
	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0		
128	0.15	0.12	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.017578
64	0.13	0.11	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	0.16	0.26	
32	0.13	0.12	0.10	0.08	0.09	0.06	0.05	0.05	0.04	0.08	0.21	0.34		
16	0.12	0.12	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.10	0.13	0.32		
8	0.12	0.11	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.24	0.28	0.17		
4	0.12	0.12	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.14	0.26	0.27	0.27	0.32		
2	0.13	0.21	0.20	0.26	0.22	0.24	0.23	0.23	0.24	0.25	0.26	0.48		
0	0.56	0.54	0.53	0.52	0.49	0.50	0.52	0.51	0.51	0.51	0.50	0.57		

【 0 1 7 7 】

【表 3 6】

BAA2468	RMP													FIC 指数
	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0		
32	0.60	0.50	0.45	0.42	0.41	0.40	0.40	0.39	0.39	0.40	0.39	0.38	0.0644531	
16	0.58	0.50	0.45	0.43	0.41	0.41	0.40	0.40	0.40	0.41	0.40	0.40		
8	0.59	0.51	0.45	0.43	0.42	0.41	0.41	0.41	0.40	0.42	0.40	1.26		
4	0.59	0.51	0.45	0.43	0.42	0.42	0.41	0.41	0.40	0.40	0.40	1.27		
2	0.60	0.50	0.46	0.44	0.43	0.59	0.41	0.41	0.41	0.41	0.92	1.35		
1	0.59	0.52	0.47	0.44	0.43	0.42	0.42	1.35	0.41	1.42	1.33	1.47		
0.5	0.60	0.50	1.29	1.33	1.31	1.29	1.32	1.29	1.32	1.39	1.45	1.57		
0	0.71	0.82	0.88	1.28	1.40	1.46	1.40	1.45	1.51	1.48	1.48	1.57		

【 0 1 7 8 】

10

20

30

40

【表 37】

BAA2470						RMP								FIC 指数		
		256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0			
	16	0.13	0.11	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.39	0.05	0.05	0.05	0.04	0.0703125		
	8	0.12	0.11	0.09	0.08	0.07	0.14	0.35	0.29	0.33	0.30	0.05	0.05			
	4	0.12	0.11	0.09	0.08	0.07	0.13	0.05	0.05	0.35	0.40	0.05	0.47			
コリスチン	2	0.13	0.11	0.10	0.22	0.07	0.16	0.05	0.35	0.37	0.10	0.37	0.55			
	1	0.14	0.30	0.29	0.08	0.07	0.06	0.39	0.42	0.38	0.37	0.48	0.64			
	0.5	0.16	0.15	0.55	0.39	0.52	0.55	0.49	0.85	0.47	0.54	0.55	0.68			
	0.25	0.55	0.53	0.56	0.61	0.60	0.60	0.62	0.62	0.65	0.73	0.70	0.71			
	0	0.65	0.68	0.72	0.74	0.70	0.72	0.65	0.67	0.64	0.61	0.60	0.74			

【0179】

【表 38】

BAA2472						RMP								FIC 指数		
		256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0			
	16	0.12	0.10	0.09	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	0.34	0.04	0.0390625		
	8	0.12	0.10	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.26	0.04			
	4	0.12	0.10	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.36	0.33	0.38	0.37			
コリスチン	2	0.12	0.10	0.09	0.07	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.10	0.37	0.45			
	1	0.12	0.10	0.09	0.07	0.06	0.06	0.05	0.05	0.42	0.34	0.41	0.57			
	0.5	0.12	0.12	0.10	0.37	0.45	0.37	0.37	0.41	0.43	0.41	0.55	0.61			
	0.25	0.14	0.40	0.41	0.39	0.40	0.39	0.40	0.45	0.43	0.42	0.47	0.63			
	0	0.52	0.58	0.53	0.51	0.49	0.47	0.42	0.48	0.49	0.57	0.54	0.63			

10

【0180】

【表 39】

BAA2473						RMP								FIC 指数		
		256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0			
	64	0.15	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.24	0.04	0.04	0.04	0.0664063		
	32	0.13	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04			
	16	0.13	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04			
コリスチン	8	0.12	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.33	0.36	0.04			
	4	0.12	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.35	0.34	0.39			
	2	0.13	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.06	0.19	0.23	0.43			
	1	0.15	0.13	0.11	0.08	0.07	0.06	0.36	0.05	0.37	0.40	0.41	0.63			
	0	0.65	0.65	0.66	0.66	0.61	0.62	0.61	0.62	0.60	0.64	0.57	0.74			

20

【0181】

【表 40】

NCTC 13443						RMP								FIC 指数		
		256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0			
	64	0.17	0.12	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.10	0.0166016		
	32	0.14	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	0.23			
	16	0.13	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.23	0.35	0.04			
コリスチン	8	0.13	0.11	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.30	0.33	0.34	0.04	0.29			
	4	0.13	0.11	0.10	0.08	0.07	0.06	0.05	0.34	0.34	0.29	0.34	0.29			
	2	0.13	0.12	0.17	0.08	0.07	0.06	0.24	0.17	0.34	0.35	0.36	0.53			
	1	0.14	0.13	0.11	0.36	0.34	0.36	0.34	0.35	0.34	0.27	0.37	0.58			
	0	0.75	0.62	0.58	0.61	0.58	0.56	0.55	0.55	0.57	0.58	0.58	0.69			

30

【0182】

## 要約および結論

リファンピシンと組み合わせたコリスチンが、BAA2468、BAA2469、BAA2470、BAA2471、BAA2472、BAA2473およびNCTC13443 NDM-1株について0.5未満のFIC指数を示し、有意な相乗活性を示した。

40

【0183】

実施例6：マウス腹膜感染モデル180314でのNDM-1大腸菌(E. coli)に対するコリスチン、リファンピシンおよびHT0120663(ジドブジン)のin vivo相乗効果

## 目的

マウス腹膜感染モデルでのNDM-1大腸菌(E. coli)に対する組み合わせたリファンピシン、コリスチンおよびHT0120663(ジドブジン)の活性を調べる。

【0184】

## 材料および方法

1. 使用したマウス：6から8週齢のインプリンティング制御領域(Imprinting Contr

50

ol Region, I C R ) による雌のマウスを、Harlan UKから入手した。

2 . 使用した細菌培養物：NDM - 1 B A A 2 4 6 9 大腸菌 ( E . coli ) をアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから入手した。

3 . 薬剤調製物：

HT0120663 (ジドブジン) 溶液を、濃度 10 mg / mL で薬局から入手した。

使用したコリスチンは、水に溶かして 20 mg / mL とした Colomycin (登録商標) (Forest Laboratories UK Ltd) であった。

使用したリファンピシンは、Rifadin (登録商標) (Sanofi-Aventis) 60 mg / mL であった。

4 . マウス腹膜感染モデル

NDM - 1 B A A 2 4 6 9 大腸菌 ( E . coli ) の終夜培養物 ( 200  $\mu$  L ) を、マウスの腹腔に注射した。

5 . 薬剤投与

感染から 1 . 5 時間後、感染マウスに、10 mg / kg のリファンピシン、20 mg / kg のコリスチンおよび / または 5 mg / kg の HT0120663 を単独でもしくは組み合わせて静脈投与することで、3 剤組み合わせ ( コリスチン / リファンピシン / HT0120663 ) の試験を行った。処方組み合わせを下記の表 4 1 に示してある。

【 0 1 8 5 】

【表 4 1】

		mg/kg		
		コリスチン	リファンピシン	HT0120663
(i)	コリスチン	20	0	0
(ii)	リファンピシン	10	0	0
(iii)	HT0120663	0	0	5
(iv)	コリスチン+リファンピシン	20	10	0
(v)	コリスチン+リファンピシン + HT0120663	20	10	5
(vi)	コントロール	0	0	0

【 0 1 8 6 】

6 . 臓器 CFU カウンティング：

上記処方 ( i ) から ( v i ) の投与後 0 時間、2 時間および 6 時間で、リン酸緩衝生理食塩水 ( P B S ) 1 mL を、マウスの腹腔に注射し、次に腹部をやさしくマッサージした。次に、腹水を無菌的にサンプリングした。サンプリングした液を希釈し、CFU カウンティングを行って、3 剤組み合わせ ( コリスチン / リファンピシン / HT0120663 ) の効果を判定した。

結果を図 3 に示す。

【 0 1 8 7 】

結果

図 3 には、各処方 ( i ) から ( v i ) についての log CFU / mL のプロットがある。各処方は、個々の処方投与から 0 時間後 ( 左の棒線 )、2 時間後 ( 中央の棒線 ) および 6 時間後 ( 右の棒線 ) に試験した。

【 0 1 8 8 】

要約および結論

1 . リファンピシン、コリスチンまたは HT0120663 単独の投与では、NDM -

1 大腸菌 (E. coli) に対する *in vivo* 活性は示されなかった。

2 . 処置 2 時間後、リファンピシン、コリスチンもしくは HT 0 1 2 0 6 6 3 単独と組み合わせの間で有意差はなかった。

3 . 処置 6 時間後、リファンピシンおよびコリスチンの組み合わせ ( R M P / C o l ) が、単剤と比較して 4 . 5 l o g 多い細菌を死滅させた。

4 . 処置 6 時間後、リファンピシン / コリスチン / HT 0 1 2 0 6 6 3 ( R M P / C o l / 6 6 3 ) の 3 剤組み合わせが、リファンピシンもしくはコリスチン単独と比較して 4 . 5 l o g 多い細菌を死滅させ、HT 0 1 2 0 6 6 3 と比較して 3 l o g 多い細菌を死滅させた。3 剤組み合わせはさらに、R M P / C o l の 2 剤組み合わせより多くの細菌を死滅させた。

10

#### 【 0 1 8 9 】

実施例 7 : マウス腹膜感染モデル 1 8 0 3 1 4 での N D M - 1 クレブシエラ・ニューモニエ (Klebsiella pneumonia) に対するコリスチン、リファンピシンおよび HT 0 1 2 0 6 6 3 (ジドブジン) の *in vivo* 相乗効果

#### 【 0 1 9 0 】

##### 目的

マウス腹膜感染モデルでの N D M - 1 クレブシエラ・ニューモニエ (Klebsiella pneumonia) に対する組み合わせたリファンピシン、コリスチンおよび HT 0 1 2 0 6 6 3 (ジドブジン) の活性を調べること。

#### 【 0 1 9 1 】

##### 材料および方法

1 . 使用したマウス : 6 から 8 週齢の雌 I C R マウスを、Harlan UK から入手した。

2 . 使用した細菌培養物 : アメリカン・カルチャー・コレクションから入手した N D M - 1 B A A 2 4 7 0 K . ニューモニエ (K. pneumoniae)。

3 . 薬剤調製物 :

HT 0 1 2 0 6 6 3 溶液を、濃度 1 0 m g / m L で薬局から入手した。

使用したコリスチンは、水に溶かして 2 0 m g / m L とした Colomycin (登録商標) (Forest Laboratories UK Ltd) であった。

使用したリファンピシンは、R i f a d i n (登録商標) (Sanofi-Aventis) 6 0 m g / m L であった。

20

30

4 . マウス腹膜感染モデル

N D M - 1 B A A 2 4 7 0 K . ニューモニエ (K. pneumoniae) の終夜培養物 ( 2 0 0 μ L ) を、マウスの腹腔に注射した。

5 . 薬剤投与

表 4 2 に示したように、感染から 1 . 5 時間後、感染マウスに、1 0 m g / k g のリファンピシン、2 0 m g / k g のコリスチンおよび / または 5 m g / k g の HT 0 1 2 0 6 6 3 を単独でもしくは組み合わせで静脈投与することで、3 剤組み合わせ (コリスチン / リファンピシン / HT 0 1 2 0 6 6 3 ) の試験を行った。

#### 【 0 1 9 2 】

【表 4 2】

		mg/kg		
		コリスチン	リファンピシン	HT0120663
(i)	コリスチン	20	0	0
(ii)	リファンピシン	10	0	0
(iii)	HT0120663	0	0	5
(iv)	コリスチン+リファンピシン	20	10	0
(v)	コリスチン+リファンピシン + HT0120663	20	10	5
(vi)	コントロール	0	0	0

10

## 【 0 1 9 3 】

## 6. 臓器 C F U カウンティング :

上記処方 ( i ) から ( v i ) の投与後 0 時間、 2 時間および 6 時間で、リン酸緩衝生理食塩水 ( P B S ) 1 m L を、マウスの腹腔に注射し、次に腹部をやさしくマッサージした。次に、腹水を無菌的にサンプリングした。サンプリングした液を希釈し、C F U カウンティングを行って、3 剤組み合わせ ( コリスチン / リファンピシン / H T 0 1 2 0 6 6 3 ) の効果を求めた。

20

結果を図 4 に示してある。

## 【 0 1 9 4 】

## 結果

図 4 には、処方 ( i ) から ( v i ) について、個々の処方投与後 0 時間 ( 左の棒線 ) 、 2 時間後 ( 中央の棒線 ) および 6 時間後 ( 右の棒線 ) における各  $1 \text{ log C F U / m L}$  を表示している。

30

## 【 0 1 9 5 】

## 要約および結論

1. リファンピシン、コリスチンまたは H T 0 1 2 0 6 6 3 単独の投与では、N D M - 1 K . ニューモニエ ( K . pneumoniae ) に対する *in vivo* 活性は示されなかった。
2. 処置 2 時間後、コリスチンとリファンピシンの組み合わせまたはコリスチンおよび H T 0 1 2 0 6 6 3 、単独または組み合わせの間で有意差はなかった。しかしながら、3 剤組み合わせ ( リファンピシン / コリスチン / H T 0 1 2 0 6 6 3 ) は、初期接種物の  $1 \text{ log}$  を低減した。
3. 処置 6 時間後、リファンピシンおよびコリスチンの組み合わせが、単剤と比較して  $3 . 1 \text{ log}$  多い細菌を死滅させた。
4. 処置 6 時間後、コリスチンおよび H T 0 1 2 0 6 6 3 の組み合わせが、各単剤と比較して  $4 . 1 \text{ log}$  多い細菌を死滅させた。
5. 処置 6 時間後、リファンピシン / コリスチン / H T 0 1 2 0 6 6 3 の 3 剤組み合わせが、リファンピシン、コリスチンまたは H T 0 1 2 0 6 6 3 単独と比較して  $4 . 6 \text{ log}$  多い細菌を死滅させ、さらにはリファンピシン / コリスチンおよびコリスチン / H T 0 1 2 0 6 6 3 の 2 剤組み合わせより多い細菌を死滅させた。

40

## 【 0 1 9 6 】

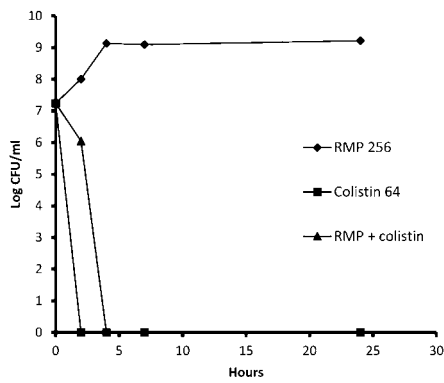
多剤耐性株の増加を考慮した抗微生物療法の改善という挑戦に直面して、上記実施例は、コリスチンおよびリファンピシンまたはリファペンチンまたはリファブチンなどの抗結核抗生物質からなる治療法に対するジドブジン添加の有意な効果を示している。初めて、ジドブジンの添加がこの投与法に相乗効果を有することが示された。従って、この 3 剤組

50

み合わせは、実施例で使用したもの以外に広範囲の細菌に起因する抗微生物感染の治療に大きな改善をもたらし得るものである。

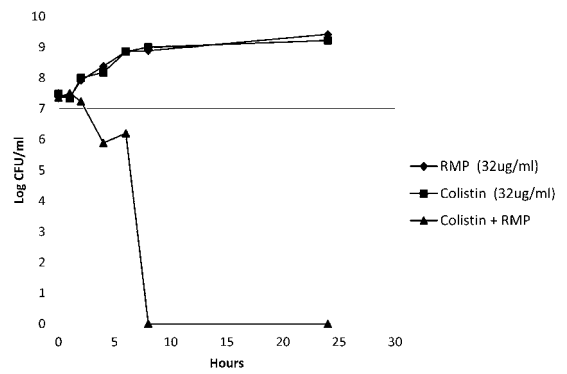
【 図 1 a 】

Figure 1a



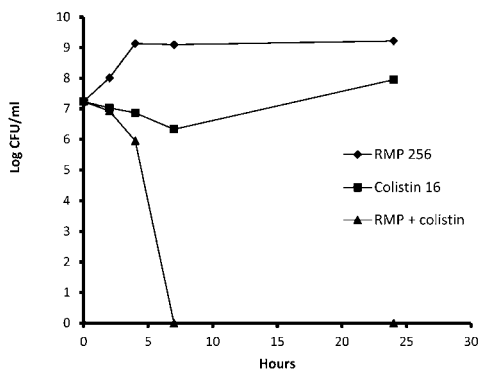
【 図 1 c 】

Figure 1c



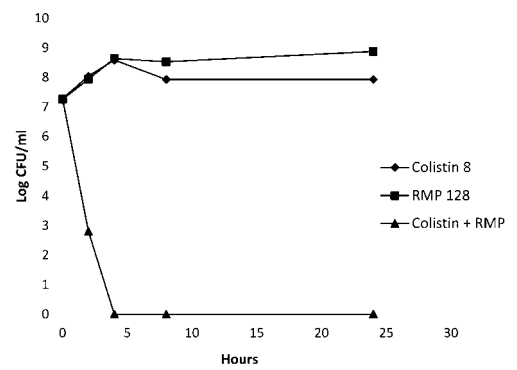
【 図 1 b 】

Figure 1b



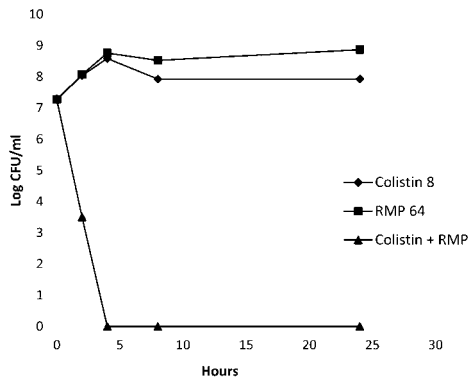
【 図 2 b 】

Figure 2b



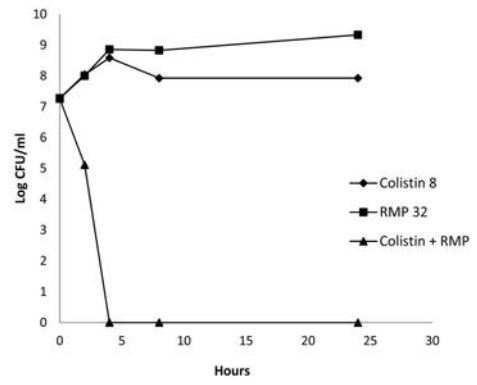
【 2 c 】

Figure 2c



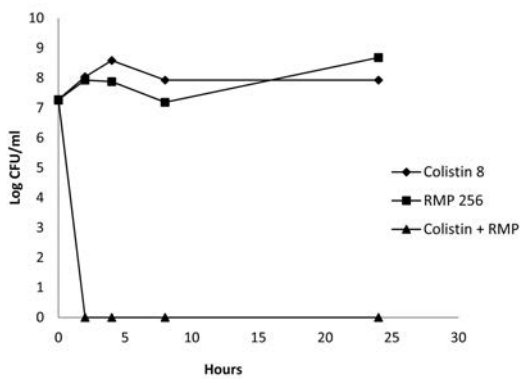
【 2 d 】

Figure 2d

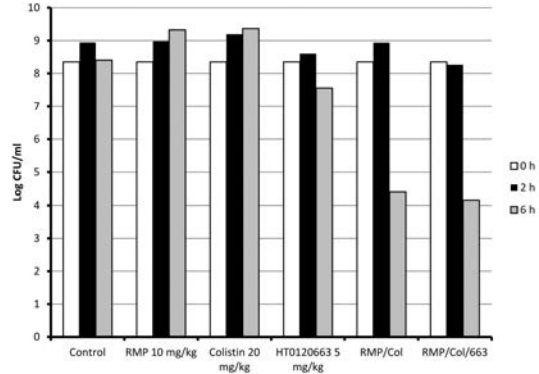


【 2 a 】

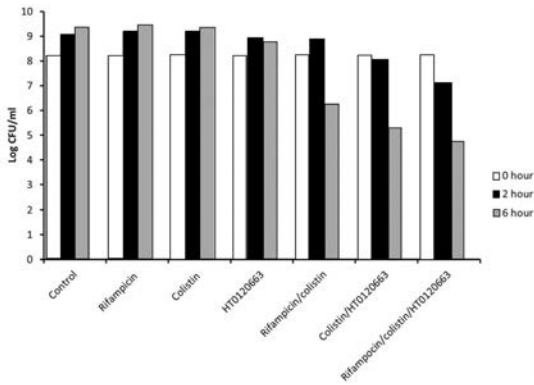
Figure 2a



【 3 】



【 4 】



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2015/050209

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
INV. A61K31/435 A61K31/4525 A61K31/496 A61K31/7072 A61K38/12 A61P31/04 A61P31/10		
ADD. According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
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 practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, PASCAL, SCISEARCH, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	PANTOPOULOU ET AL: "Colistin offers prolonged survival in experimental infection by multidrug-resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> : the significance of co-administration of rifampicin", INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS, ELSEVIER SCIENCE, AMSTERDAM, NL, vol. 29, no. 1, 22 December 2006 (2006-12-22), pages 51-55, XP005812322, ISSN: 0924-8579, DOI: 10.1016/J.IJANTIMICAG.2006.09.009 the whole document, in particular page 54 ----- -/--	1-15
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> 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		"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"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
"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)		"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 30 March 2015		Date of mailing of the international search report 08/04/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Albrecht, Silke

2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2015/050209
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	B R KEITH ET AL: "In vivo efficacy of zidovudine (3'-azido-3'-deoxythymidine) in experimental gram-negative-bacterial infections.", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 33, no. 4, April 1989 (1989-04), pages 479-483, XP055179911, ISSN: 0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.33.4.479 the whole document, in particular pages 481 - 482 -----	1-15
Y	DOLÉANS-JORDHEIM A ET AL: "Zidovudine (AZT) has a bactericidal effect on enterobacteria and induces genetic modifications in resistant strains", EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY & INFECTIOUS DISEASES, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 30, no. 10, 15 April 2011 (2011-04-15), pages 1249-1256, XP019951616, ISSN: 1435-4373, DOI: 10.1007/s10096-011-1220-3 cited in the application the whole document -----	1-15
Y	MASCELLINO M T ET AL: "In vitro activity of zidovudine alone and in combination with ciprofloxacin against Salmonella and Escherichia coli", FEMS IMMUNOLOGY AND MEDICAL MICROBIOLOGY, ELSEVIER SCIENCE B.V., AMSTERDAM, NL, vol. 7, no. 1, June 1993 (1993-06), pages 23-28, XP023924467, ISSN: 0928-8244, DOI: 10.1111/J.1574-695X.1993.TB00377.X [retrieved on 1993-06-01] the whole document, in particular pages 25 - 26 -----	1-15
Y	WO 2007/054599 A1 (COMBINO PHARM SL [ES]; LLORET PEREZ SERGI [ES]) 18 May 2007 (2007-05-18) page 2, line 17 - line 19 -----	1-15
Y	E TAGLIAFERRI ET AL: "Synergistic Activity of Colistin (COL) plus Rifampin (RIF) Against COL-Resistant (R) and Susceptible (S) KPC-producing Klebsiella pneumoniae (KPC-KP) clinical isolates", ABSTRACTS OF THE INTERSCIENCE CONFERENCE ON ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 52, September 2012 (2012-09), page E796, XP055151648, the whole document -----	1-15
	----- -/--	

2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2015/050209
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>CHITNIS S ET AL: "In vitro synergistic activity of colistin with aminoglycosides, beta-lactams and rifampin against multidrug-resistant gram-negative bacteria",            JOURNAL OF CHEMOTHERAPY, SCRIT, IT, vol. 19, no. 2, April 2007 (2007-04), pages 226-229, XP009169446,            ISSN: 1120-009X            the whole document, in particular figure 2            -----</p>	1-15
Y	<p>R. K. BHARDWAJ: "Piperine, a Major Constituent of Black Pepper, Inhibits Human P-glycoprotein and CYP3A4",            JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS,            vol. 302, no. 2, August 2002 (2002-08), pages 645-650, XP055180107,            ISSN: 0022-3565, DOI:            10.1124/jpet.102.034728            cited in the application            the whole document            -----</p>	10

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No  
PCT/GB2015/050209

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007054599 A1	18-05-2007	ES 2279707 A1	16-08-2007
		WO 2007054599 A1	18-05-2007
		ZA 200803553 A	29-04-2009
-----			

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 31/08	(2006.01)	A 6 1 P 31/08	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/02	(2006.01)	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 11/06	(2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 15/02	(2006.01)	A 6 1 P 15/02	
A 6 1 P 1/04	(2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 13/08	(2006.01)	A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 1/02	(2006.01)	A 6 1 P 1/02	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, 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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 コーツ, プロフェッサー アンソニー  
イギリス国 SW17 0RE ロンドン, クランマー テラス, セント ジョージズ ユニバー  
シティ オブ ロンドン, デパートメント オブ クリニカル サイエンシズ

(72)発明者 フー, ヤンミン  
イギリス国 SW17 0RE ロンドン, クランマー テラス, セント ジョージズ ユニバー  
シティ オブ ロンドン, デパートメント オブ クリニカル サイエンシズ

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA03 BA01 DA43 MA02 NA05 ZA011 ZA331 ZA591 ZA661  
ZA671 ZA681 ZA821 ZA891 ZB351 ZB352  
4C086 AA01 AA02 CB25 EA17 MA03 MA04 NA05 ZA01 ZA33 ZA59  
ZA66 ZA67 ZA68 ZA82 ZA89 ZB35