

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7514763号

(P7514763)

(45)発行日 令和6年7月11日(2024.7.11)

(24)登録日 令和6年7月3日(2024.7.3)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 31/47 (2006.01)

A 6 1 K 31/47

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00

1 2 1

請求項の数 13 (全71頁)

(21)出願番号 特願2020-541834(P2020-541834)

(86)(22)出願日 平成30年10月12日(2018.10.12)

(65)公表番号 特表2020-536966(P2020-536966

A)

(43)公表日 令和2年12月17日(2020.12.17)

(86)国際出願番号 PCT/AU2018/051116

(87)国際公開番号 WO2019/071325

(87)国際公開日 平成31年4月18日(2019.4.18)

審査請求日 令和3年10月8日(2021.10.8)

(31)優先権主張番号 2017904135

(32)優先日 平成29年10月13日(2017.10.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関

オーストラリア(AU)

前置審査

(73)特許権者 505167565

ザ ユニバーシティ オブ クイーンズ

ランド

オーストラリア クイーンズランド州 セ

ントルシア

(73)特許権者 504265042

ザ ユニバーシティ オブ アデレード

オーストラリア 5 0 0 0 サウス オー

ストラリア アデレード ノーステラス

(73)特許権者 520128716

グリフィス ユニバーシティ

オーストラリア連邦 4 1 1 1 クイーン

ズランド州 ネイサン ケッセルス ロード

1 7 0

(74)代理人 100102978

最終頁に続く

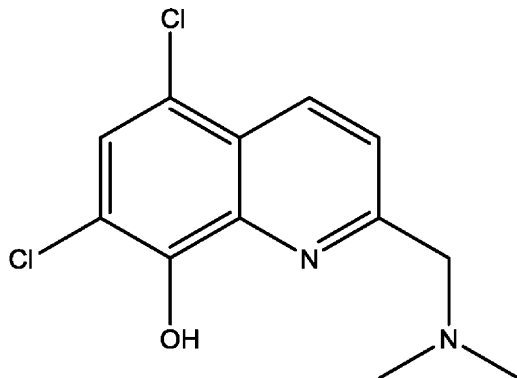
(54)【発明の名称】 亜鉛イオノフォアおよびその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

有効量の薬学的に許容される亜鉛イオノフォアを含む、対象における抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させるための薬学的組成物であって、

亜鉛イオノフォアが、5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール(PB T2)：



またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、薬学的組成物。

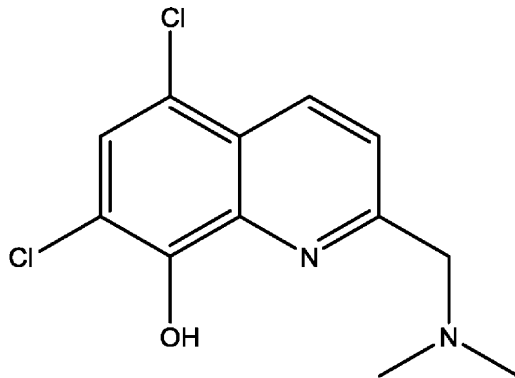
【請求項2】

有効量の薬学的に許容される亜鉛イオノフォアを含む、対象における抗生物質耐性病原

菌によって引き起こされる細菌感染症を処置するための薬学的組成物であって、

治療有効量の抗生物質の投与と同時におよび／またはこれに連続して、かつ任意の順序で対象へ投与され、

亜鉛イオノフォアが、5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール (PB T2)：



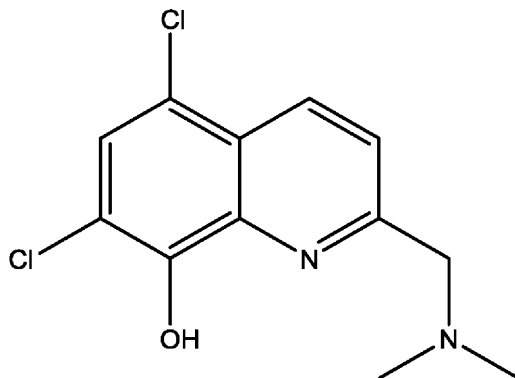
10

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、薬学的組成物。

【請求項 3】

薬学的に許容される亜鉛イオノフォアを含む、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させるための薬学的組成物であって、

亜鉛イオノフォアが、5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール (PB T2)：



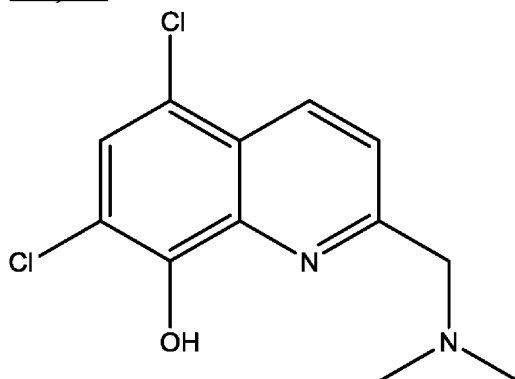
30

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、薬学的組成物。

【請求項 4】

薬学的に許容される亜鉛イオノフォアを含む、抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害するための薬学的組成物であって、

亜鉛イオノフォアが、5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール (PB T2)：



40

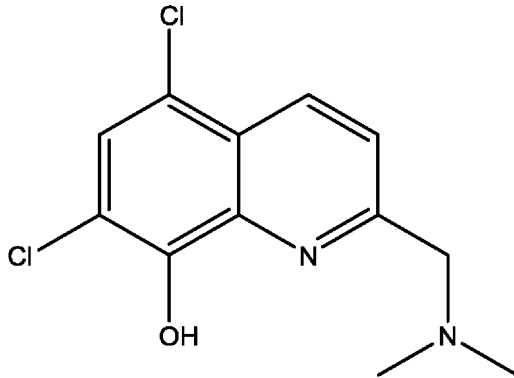
50

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、薬学的組成物。

【請求項 5】

薬学的に許容される亜鉛イオノフォアを含む、抗生物質増強剤として使用するための薬学的組成物であって、

亜鉛イオノフォアが、5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール (PB T2)：



10

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、薬学的組成物。

【請求項 6】

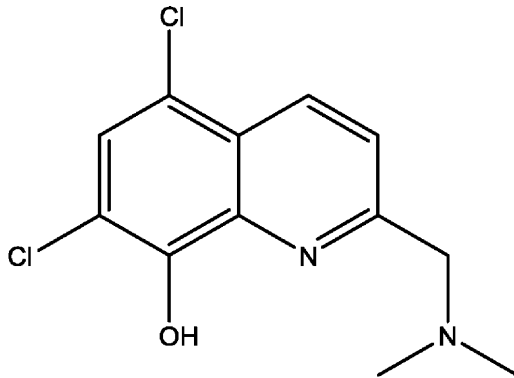
薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、抗生物質、および

20

薬学的に許容される担体

を含む、対象における抗生物質耐性病原菌によって引き起こされる細菌感染症を処置するための薬学的組成物であって、

亜鉛イオノフォアが、5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール (PB T2)：



30

またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、薬学的組成物。

【請求項 7】

病原菌がグラム陽性菌である、請求項 1～4 および 6 のいずれか一項記載の薬学的組成物。

40

【請求項 8】

病原菌がグラム陰性菌である、請求項 1～4 および 6 のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項 9】

病原菌が、クレブシエラ種 (Klebsiella spp.)、エリスロマイシン耐性 A 群連鎖球菌種 (Erythromycin-resistant Group A Streptococcus spp.)、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant Staphylococcus aureus) (MRSA)、バンコマイシン耐性腸球菌 (vancomycin-resistant Enterococcus) (VRE)、大腸菌 (Escherichia coli)、または肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae) である、請求項 1～4 および 6 のいずれか一項記載の薬学的組成物。

50

【請求項 10】

抗生物質が、カルバペネム、セファロsporin、グリコペプチド、リンコサミド、マクロライド、モノバクタム、ニトロフラン、オキサゾリジノン、ペニシリン、ポリペプチド、キノロン、スルホンアミド、もしくはテトラサイクリン；またはクロラムフェニコール、ホスホマイシン、フシジン酸、メトロニダゾール、ムピロシン、チアンフェニコール、チゲサイクリン、チニダゾール、もしくはトリメトプリム、またはそのいずれか1つの薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、請求項1～9のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項 11】

抗生物質が、コリスチン、ポリミキシンB、テトラサイクリン、チゲサイクリン、ドキシサイクリン、オキサシリン、エリスロマイシン、アンピシリン、バンコマイシン、ペニシリン、もしくはクロラムフェニコール、またはそのいずれか1つの薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、請求項1～9のいずれか一項記載の薬学的組成物。

10

【請求項 12】

抗生物質が、ポリペプチド系抗生物質、特にコリスチンまたはポリミキシンB、またはそのいずれか1つの薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物である、請求項1～9のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項 13】

(a) 抗生物質が、ポリペプチド系抗生物質であり、病原菌が、クレブシエラ種、大腸菌、エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、またはバンコマイシン耐性腸球菌であるか、

20

(b) 抗生物質がテトラサイクリンであり、病原菌が、クレブシエラ種、エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌、肺炎連鎖球菌、またはバンコマイシン耐性腸球菌であるか、

(c) 抗生物質がチゲサイクリンであり、病原菌がクレブシエラ種であるか、

(d) 抗生物質がドキシサイクリンであり、病原菌がクレブシエラ種であるか、

(e) 抗生物質がオキサシリンであり、病原菌がメチシリン耐性黄色ブドウ球菌であるか、

(f) 抗生物質がエリスロマイシンであり、病原菌がメチシリン耐性黄色ブドウ球菌であるか、

(g) 抗生物質がアンピシリンであり、病原菌がメチシリン耐性黄色ブドウ球菌または肺炎連鎖球菌であるか、

30

(h) 抗生物質がバンコマイシンであり、病原菌がバンコマイシン耐性腸球菌であるか、

(i) 抗生物質がペニシリンであり、病原菌が肺炎連鎖球菌であるか、または

(j) 抗生物質がクロラムフェニコールであり、病原菌が肺炎連鎖球菌である、

請求項1～4および6のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2017年10月13日に提出された「Compositions and their uses」という表題のオーストラリア仮出願第2017904135号の優先権を主張し、その内容は参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる。

40

【0002】

本発明は、抗生物質アジュバントまたは増強剤としての、亜鉛イオノフォア、または亜鉛イオノフォアと組み合わせた亜鉛(II)塩の使用に関する。1つまたは複数の抗生物質に対する1つまたは複数の耐性菌の感受性を回復させることにおけるそれらの使用も記載する。亜鉛イオノフォア、亜鉛(II)配位錯体、または亜鉛(II)イオノフォアと組み合わせた亜鉛(II)塩と組み合わせて、抗生物質を含む薬学的組成物もまた、細菌感染症を処置する方法と共に記載する。

【背景技術】

【0003】

先行技術の説明

50

細菌感染症と戦うために利用可能な抗生物質の範囲は、全てのクラスの抗生物質に対する細菌耐性の発現に起因して、縮小している。新しいクラスの抗生物質の数は減少しており、医薬品パイプラインは縮小している [例えば、Cooper, M. A. & Shlaes, D. Fix the antibiotics pipeline. *Nature* 472, 32, doi:10.1038/472032a (2011) (非特許文献1); Chakradhar, S. What's old is new: Reconfiguring known antibiotics to fight drug resistance. *Nat Med* 22, 1197-1199, doi:10.1038/nm1116-1197 (2016) (非特許文献2) を参照のこと]。

【0004】

世界的規模での耐性菌の出現があり、世界保健機関は、抗生物質耐性病原体は切迫した世界的な健康の脅威を示すことを報告している (World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014., <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/> (非特許文献3))。米国疾病管理予防センターは、エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌種 (erythromycin-resistant Group A *Streptococcus* spp.) (GAS)、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) (MRSA)、およびバンコマイシン耐性腸球菌 (vancomycin-resistant *Enterococcus*) (VRE) を、ヒトの健康に対する懸念的なまたは深刻な脅威と分類している。

【0005】

抗生物質耐性は、細菌感染症を処置するために使用される抗生物質薬剤に耐える細菌の能力である。細菌が抗生物質に対して内因的に耐性である場合に、または細菌が抗生物質の使用に応答して変化して、それらが抗生物質を不活性化する、抗生物質の作用に耐える、または細菌細胞から抗生物質を除去もしくは排除することを可能にする場合に、抗生物質耐性が生じる。肺炎、結核、および淋病のような、ますます増え続ける抗菌性感染症 (antibacterial infection) は処置するのがより困難となっており、何故ならば、それらを処置するために首尾よく以前使用された抗生物質が抗生物質耐性に起因してあまり有効ではなくなったためである。抗生物質耐性は、より長い入院、より高い医療費、および死亡率の上昇をもたらす。

【0006】

病原菌が耐性を発現するメカニズムは、抗生物質のクラスおよび構造、ならびに病原菌の性質を含み得る、いくつかの因子に依存する。

【0007】

最新世代の抗生物質に対する細菌耐性のレベルおよび頻度が増加しているため、代替療法を開発する必要性がより緊急となった。既存の抗生物質に対する細菌耐性の問題に取り組むために探究されている戦略は、新しい抗生物質の開発、既存の抗生物質に対する耐性メカニズムの遮断、バクテリオファージ療法、宿主免疫に対する細菌防御を弱めるビルレンスメカニズムのターゲティング、細菌クリアランスを改善するための宿主免疫の刺激、グラム陰性細胞外膜の不安定化、および非感染症適応症について使用される既存の薬物の目的外使用を含む [例えば、Ling, L. L. et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 520, 388, doi:10.1038/nature14303 (2015); Vaara, M. & Vaara, T. Sensitization of Gram-negative bacteria to antibiotics and complement by a nontoxic oligopeptide. *Nature* 303, 526-528 (1983); Fischbach, M. A. & Walsh, C. T. Antibiotics for emerging pathogens. *Science* 325, 1089-1093, doi:10.1126/science.1176667 (2009); Summers, W. C. Bacteriophage therapy. *Annu Rev Microbiol* 55, 437-451, doi:10.1146/annurev.micro.55.1.437 (2001); Zinkernagel, A. S., Peyssonnaud, C., Johnson, R. S. & Nizet, V. Pharmacologic augmentation of hypoxia-inducible factor-1alpha with mimosine boosts the bactericidal capacity of phagocytes. *J Infect Dis* 197, 214-217, doi:10.1086/524843 (2008); および Gill, E. E., Franco, O. L. & Hancock, R. E. Antibiotic adjuvants: diverse strategies for controlling drug-resistant pathogens. *Chem Biol Drug Des* 85, 56-78, doi:10.1111/cbdd.12478 (2015) (

10

20

30

40

50

非特許文献4～9)を参照のこと]。

【0008】

GAS、MRSAおよびVREのような細菌性病原体は、広範囲の院内感染症および市中感染症の原因である。これらの感染症は、確立した医療制度にさえ著しい圧力および経済的負担をかけ、世界的なヒトの罹病率および死亡率の大きな要因である [Woolhouse, M., Waugh, C., Perry, M. R. & Nair, H. Global disease burden due to antibiotic resistance - state of the evidence. J Glob Health 6, 010306, doi:10.7189/jogh.06.010306 (2016) (非特許文献10)を参照のこと]。

【0009】

抗生物質に対する耐性菌の感受性を回復させるためのさらなる実行可能な臨床的に有用なアジュバントを同定する必要性が存在する。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0010】

【文献】Cooper, M. A. & Shlaes, D. Fix the antibiotics pipeline. Nature 472, 32, doi:10.1038/472032a (2011)

【文献】Chakradhar, S. What's old is new: Reconfiguring known antibiotics to fight drug resistance. Nat Med 22, 1197-1199, doi:10.1038/nm1116-1197 (2016)

【文献】World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014., <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillance-report/en/>

20

【文献】Ling, L. L. et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. Nature 520, 388, doi:10.1038/nature14303 (2015)

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

【文献】Fischbach, M. A. & Walsh, C. T. Antibiotics for emerging pathogens. Science 325, 1089-1093, doi:10.1126/science.1176667 (2009)

【文献】Summers, W. C. Bacteriophage therapy. Annu Rev Microbiol 55, 437-451, doi:10.1146/annurev.micro.55.1.437 (2001)

30

【文献】Zinkernagel, A. S., Peyssonnaud, C., Johnson, R. S. & Nizet, V. Pharmacologic augmentation of hypoxia-inducible factor-1alpha with mimosine boosts the bactericidal capacity of phagocytes. J Infect Dis 197, 214-217, doi:10.1086/524843 (2008)

【文献】Gill, E. E., Franco, O. L. & Hancock, R. E. Antibiotic adjuvants: diverse strategies for controlling drug-resistant pathogens. Chem Biol Drug Des 85, 56-78, doi:10.1111/cbdd.12478 (2015)

【文献】Woolhouse, M., Waugh, C., Perry, M. R. & Nair, H. Global disease burden due to antibiotic resistance - state of the evidence. J Glob Health 6, 010306, doi:10.7189/jogh.06.010306 (2016)

40

【発明の概要】

【0011】

本発明の概要

本発明は、ある亜鉛イオノフォア、または亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアのある組み合わせが、1つまたは複数の抗生物質に対する1つまたは複数の抗生物質耐性病原菌の感受性を回復させる能力を有するという驚くべき発見に、少なくとも部分的に基づく。

【0012】

従って、一局面において、本発明は、有利なことに、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させるための、薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその溶媒和物と組み合わせた亜鉛イオノフォアの使用を提供する。ある態様において、亜鉛イオノフォアは薬学的

50

に許容される。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩は抗生物質と組み合わせて使用される。ある態様において、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。

【0013】

別の局面において、本発明は、抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害するための、薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその溶媒和物と組み合わせた亜鉛イオノフォアの使用を提供する。好ましくは、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。本発明はまた、抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤としての、薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその溶媒和物と組み合わせた亜鉛イオノフォアの使用を提供する。いくつかの態様において、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩は抗生物質と組み合わせて使用される。

10

【0014】

さらに別の局面において、本発明はまた、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させる方法を提供し、本方法は、有効量の薬学的に許容される亜鉛(II)塩と組み合わせて有効量の亜鉛イオノフォアをその必要がある対象へ投与する工程を含む。いくつかの態様において、本方法はまた抗生物質を投与する工程も含む。

【0015】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩は抗生物質と組み合わせて使用される。いくつかの態様において、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは薬学的に許容される。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは薬学的に許容される誘導体の形態である。

20

【0016】

なおさらなる局面において、本発明は、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその溶媒和物；および、任意で、抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体；ならびに薬学的に許容される担体を含む、薬学的製剤を提供する。いくつかの態様において、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。いくつかの態様において、薬学的組成物は、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させるためのものである。いくつかの態様において、薬学的製剤は、抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害するためのものである。いくつかの態様において、薬学的組成物は、細菌感染症の処置において使用するためのものである。

30

【0017】

本発明はまた、抗生物質に対して耐性病原菌を再度感受性にするための、または抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害するための、医薬の製造における、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物、または亜鉛(II)配位錯体もしくはその薬学的に許容される誘導体の使用を提供する。細菌感染症の処置用の抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体と分離した、連続したまたは同時の使用のための医薬の製造における、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物、または亜鉛(II)配位錯体もしくはその薬学的に許容される誘導体の使用をさらに提供する。細菌感染症の処置用の医薬の製造における、抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体と組み合わせた、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物、または亜鉛(II)配位錯体もしくはその薬学的に許容される誘導体の使用をさらに提供する。

40

【0018】

別の局面において、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させることにおける使用のための、または抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害することにおける使用のための、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物、または亜鉛(II)配位錯体もしくはその薬学的に許容される誘導体をさらに提供する。細菌感染症の処置用の抗生物質と分離した、連続したまたは同時の使用のための、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物、または亜鉛(II)配位錯体もしくはその薬学的に許容される誘導体をさらに提

50

供する。細菌感染症の処置用の抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体と組み合わせた、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物、または亜鉛(II)配位錯体もしくはその薬学的に許容される誘導体をさらに提供する。

【0019】

さらに別の局面において、本発明は、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させることにおける使用のための、または抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害することにおける使用のための；薬学的に許容される亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその溶媒和物；ならびに薬学的に許容される担体を含む薬学的製剤を提供し、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。

10

【0020】

今回、少なくとも1つの態様において、本発明に従う、亜鉛イオノフォアと組み合わせた亜鉛(II)塩、または亜鉛(II)配位錯体は、1つまたは複数の抗生物質に対する1つまたは複数の病原菌種の感受性を回復させることができ、または1つまたは複数の抗生物質に対する1つまたは複数の病原菌の耐性を阻害することができることが発見された。従って、任意で亜鉛配位錯体の形態の、亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアのある組み合わせが、ある抗生物質に対して以前は耐性を発現していた1つまたは複数の病原菌によって引き起こされる細菌感染症を処置するために、その抗生物質と組み合わせて使用され得る。いくつかの態様において、亜鉛(II)塩：亜鉛イオノフォアのモル比は、およそ1:2、またはおよそ1:1である。いくつかの態様において、亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアの組み合わせは、過剰量の亜鉛(II)塩、例えば化学量論過剰量の亜鉛(II)塩を含む。

20

【0021】

理論によって拘束されることを望まないが、亜鉛イオノフォアまたは亜鉛(II)配位錯体の配位子は、亜鉛(II)カチオン上の電子電荷を「マスク」することができ、亜鉛イオンが親油性細菌細胞膜を横切ってより容易に拡散することを可能にすると考えられる。亜鉛(II)イオン/イオノフォアが細菌細胞中へ輸送された後、組み合わせは、金属ホメオスタシスを不安定化させることによって抗菌効果を示すと考えられる。いくつかの態様において、重金属ホメオスタシス遺伝子の転写の変化に加えて、いくつかの必須のビルレンスおよび代謝系の転写もまた、サブ阻害濃度の亜鉛(II)イオン/イオノフォアによって混乱させられることが観察された。いくつかの態様において、これらの混乱は、そうでなければ耐性の細菌性病原体における抗生物質感受性を増強すると考えられる。

30

【0022】

本発明に従う1つまたは複数の亜鉛イオノフォアは、亜鉛(II)塩の非存在下で、1つまたは複数の抗生物質に対する1つまたは複数の抗生物質耐性病原菌の感受性を回復させる、または1つまたは複数の抗生物質に対する1つまたは複数の病原菌の耐性を阻害する能力を有することがまた発見された。

【0023】

従って、いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアが亜鉛(II)塩の非存在下で使用される、本発明に従う組成物、方法および使用を提供する。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、存在する唯一の抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤である。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、追加の亜鉛(II)塩の非存在下で使用される。いくつかの態様において、亜鉛(II)塩は、別の抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤の非存在下で使用される。

40

【0024】

いくつかの局面において、本発明はまた、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させるための、亜鉛イオノフォアの使用を提供する。別の局面において、抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害するための、亜鉛イオノフォアの使用を提供する。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、亜鉛(II)塩または亜鉛(II)イオンの非存在下で使用される。本発明はまた、抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤としての、亜鉛イオノフォアの使用を提供する。ある態様において、亜鉛イオノフォアは薬学的に許容される。いく

50

つかの態様において、亜鉛イオノフォアは抗生物質と組み合わせて使用される。いくつかの態様において、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。

【0025】

さらに別の局面において、本発明はまた、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させる、または抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害する方法であって、有効量の亜鉛イオノフォアをその必要がある対象へ投与する工程を含む、方法を提供する。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、亜鉛(II)イオンの追加の供給源の非存在下で投与される。いくつかの態様において、方法はまた抗生物質を投与する工程も含む。

【0026】

抗生物質耐性の阻害、または回復は、対象における細菌感染症、例えば、耐性菌によって引き起こされる細菌感染症の処置において有用である。従って、少なくとも1つの態様において、本発明に従う、亜鉛イオノフォア；亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物および亜鉛イオノフォアの組み合わせ；または亜鉛(II)配位錯体は、細菌感染症の処置用の抗生物質と組み合わせて投与される場合に有用と考えられる。

10

【0027】

従って、別の局面において、本発明はまた、対象における細菌感染症を処置する方法であって、治療有効量の抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体の投与と同時におよび/またはこれに連続して、有効量の薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、または有効量の薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物と組み合わせた薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、または薬学的に許容される亜鉛(II)配位錯体を、その必要がある対象へ投与する工程を含む、方法を提供する。いくつかの態様において、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。

20

【0028】

治療有効非毒性量の本発明に従う薬学的組成物の投与を含む、対象における細菌感染症を処置する方法をさらに提供する。

【0029】

さらなる局面において、本発明は、細菌感染症を処置するための医薬の製造における、薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、または薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物と組み合わせた薬学的に許容される亜鉛イオノフォア；または薬学的に許容される亜鉛(II)配位錯体の使用を提供し、医薬は、抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体と一緒に、これと同時に、これに連続してまたはこれと任意の順序で共投与するためのものであり、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。

30

【0030】

なおさらなる局面において、本発明は、細菌感染症を処置することにおける使用のための、薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、または薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物と組み合わせた薬学的に許容される亜鉛イオノフォア；または薬学的に許容される亜鉛(II)配位錯体を提供し、使用は抗生物質と組み合わせたものである。いくつかの態様において、使用は、抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体と一緒に、これと同時に、これに連続してまたはこれと任意の順序で共投与するためのものである。いくつかの態様において、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。

40

【0031】

別の局面において、本発明は、薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物および薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、または薬学的に許容される亜鉛(II)配位錯体；抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体；ならびに薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物をさらに提供する。いくつかの態様において、組成物は細菌感染症の処置用のものである。さらなる局面において、本発明は、治療有効非毒性量の本発明に従う薬学的組成物の投与を含む、対象における細菌感染症を処置する方法を提供する。

【0032】

対象における細菌感染症の処置にける活性治療物質としての使用のための、薬学的に許

50

容される亜鉛イオノフォア；薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物および薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、または薬学的に許容される亜鉛(II)配位錯体を含む、薬学的組成物をさらに提供する。いくつかの態様において、組成物は、1つまたは複数の治療活性物質をさらに含む。いくつかの態様において、さらなる治療活性物質は、抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体である。いくつかの態様において、さらなる治療活性物質は、別の抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤である。

【0033】

別の局面において、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアもしくはその薬学的に許容される誘導体、亜鉛(II)塩もしくはその薬学的に許容される溶媒和物および薬学的に許容される亜鉛イオノフォアもしくはその薬学的に許容される誘導体、または亜鉛(II)配位錯体もしくはその薬学的に許容される誘導体；抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体；ならびに薬学的に許容される賦形剤を含む、薬学的組成物を提供する。

10

【0034】

本発明は、対象における細菌感染症の処置のための、本発明に従う薬学的組成物の使用をさらに提供する。対象における細菌感染症を処置することにおける使用のための、本発明に従う薬学的組成物をさらに提供する。本発明はまた、抗菌剤としての本発明に従う薬学的組成物の使用を提供する。抗菌剤としての使用のための本発明に従う薬学的組成物をさらに提供する。

【0035】

本発明はまた、細菌感染症を処置するための医薬の製造における、薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物および薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、または薬学的に許容される亜鉛(II)配位錯体の使用を提供し、医薬は、抗生物質と一緒に、これと同時に、これと分離して、これに連続してまたはこれと任意の順序で共投与するためのものである。

20

【0036】

本発明は、活性成分として、薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、または薬学的に許容される亜鉛(II)塩もしくはその溶媒和物および薬学的に許容される亜鉛イオノフォア、または、代わりに、薬学的に許容される亜鉛(II)配位錯体もしくはその誘導体を含む薬学的組成物と；抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体を含む薬学的組成物との組み合わせを、細菌感染症の処置における使用のためのその必要がある患者への該組み合わせの同時投与、分離投与、または連続投与についての説明書と一緒に含む、キットまたはコマーシャルパッケージをさらに提供する。

30

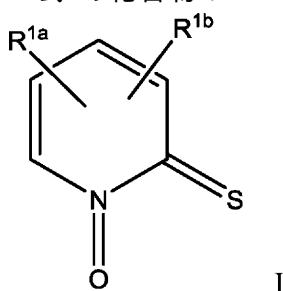
【0037】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、8-ヒドロキシキノリン化合物、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるWO 2004/007461に記載されるような8-ヒドロキシキノリン化合物である。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるWO 2007/147247に記載されるような化合物である。

【0038】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、
式Iの化合物：

40

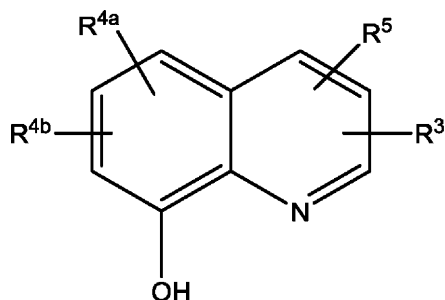


50

(式中、 R^{1a} および R^{1b} は、独立して、H、ハロゲン、 OR^{2a} 、 SR^{2a} 、 CF_3 、 C_{1-4} アルキル、または $NR^{2a}R^{2b}$ であり； R^{2a} および R^{2b} は、独立して、H、または置換されていてもよい C_{1-4} アルキルである)、

またはその薬学的に許容される誘導体；あるいは、

式IIの化合物：



II

10

(式中：

R^3 および R^5 は、独立して、H；置換されていてもよい C_{1-6} アルキル；置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル；置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル；置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル；置換されていてもよいアリール；置換されていてもよいヘテロシクリル；CN； OR^6 、 SR^6 、 COR^6 、 CSR^6 、 $HCNOR^6$ または $HCNNR^6$ 、式中、 R^6 は、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである； NR^8R^9 または $SO_2NR^8R^9$ 、式中、 R^8 および R^9 は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールおよび置換されていてもよいヘテロシクリルより選択される； $CONR^9R^{10}$ 、式中、 R^9 は上記に定義される通りであり、かつ、 R^{10} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである； $CH_2CONR^8R^9$ 、式中、 R^8 および R^9 は上記に定義される通りである；ならびに $(CH_2)_nNR^9R^{11}$ 、式中、 R^9 は上記に定義される通りであり、かつ、 R^{11} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよいアルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリルおよび SO_2R^{12} より選択され、式中、 R^{12} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルであり、かつ、 n は1～6である；であり、

20

30

R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-4} アルキルまたはハロゲンである)、

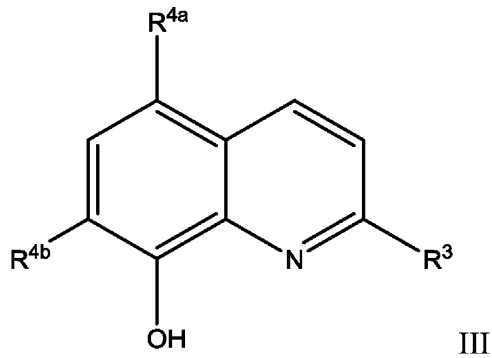
またはその薬学的に許容される誘導体である。

40

【0039】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、式IIIの化合物：

50



10

またはその薬学的に許容される誘導体であり、
式中、

R^3 は、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、 $CONH_2$ または $(CH_2)_nNR^9R^{11}$ であり、
式中、 n は0、1、2、または3であり；

R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-4} アルキルまたはハロゲンであり；

R^9 は、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、
置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルであり；かつ

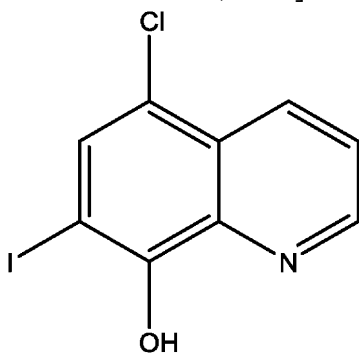
20

R^{11} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、
置換されていてもよいアルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリルまたは SO_2R^{12} であり、式中、 R^{12} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、
置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである。

【 0 0 4 0 】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、5-クロロ-7-ヨード-8-キノリノール [クリオキノール、CQ]：

30

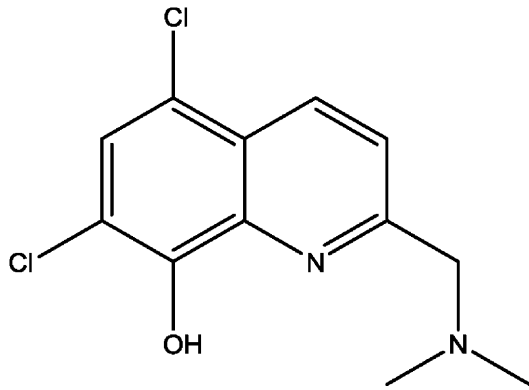


または

40

5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール [PBT2]：

50

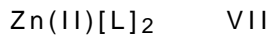


10

またはそのいずれか一方の薬学的に許容される誘導体である。

【 0 0 4 1 】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩は、亜鉛(II)配位錯体、好ましくは、薬学的に許容される亜鉛(II)配位錯体、またはその薬学的に許容される誘導体の形態である。いくつかの態様において、亜鉛(II)配位錯体は、式VIIの化合物：

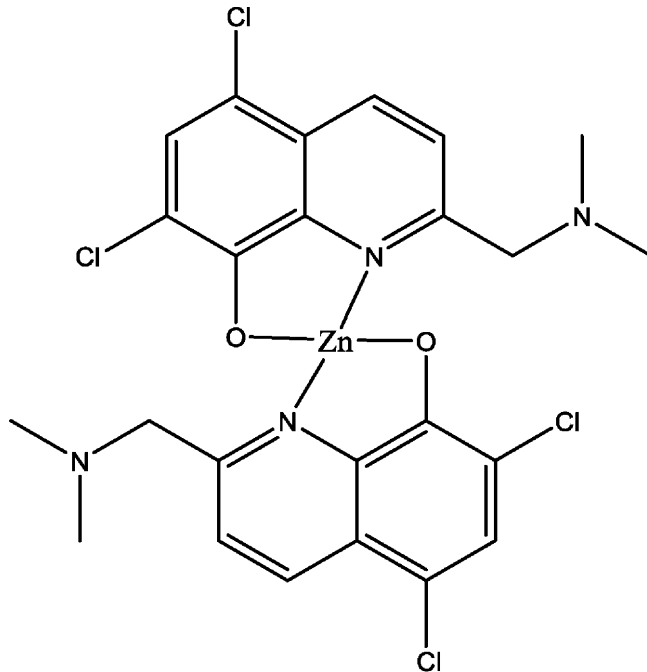


またはその薬学的に許容される誘導体であり、式中、各Lは同じであり、本明細書に定義されるような亜鉛イオノフォアのアニオンである。

【 0 0 4 2 】

20

いくつかの態様において、式VIIの化合物は：



30

またはその薬学的に許容される誘導体である。

【 0 0 4 3 】

いくつかの態様において、抗生物質は、テトラサイクリン、例えば、テトラサイクリン、ドキシサイクリンもしくはチゲサイクリン；またはポリペプチド系抗生物質、例えば、ポリミキシン、例えば、コリスチン（ポリミキシンE）もしくはポリミキシンBである。いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、コリスチン（ポリミキシンE）またはポリミキシンBである。

【 0 0 4 4 】

いくつかの態様において、亜鉛(II)塩はZnCl₂、Zn(CH₃CO₂)₂またはZnSO₄であり、亜鉛イオノフォアは、本明細書に定義されるような8-ヒドロキシキノリン化合物、例えば、

50

クリオキノール[CQ]またはPBT2である。あるいは、亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアは亜鉛(II)配位錯体 $Zn(II)[L]_2$ を形成し、式中、各Lは同じであり、本明細書に定義されるようなイオノフォアのアニオンである。ある態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、コリスチン（ポリミキシンE）またはポリミキシンBである。いくつかの態様において、病原菌は、クレブシエラ種（*Klebsiella* spp.）、例えば、肺炎桿菌（*Klebsiella pneumoniae*）；大腸菌（*Escherichia coli*）；エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌(GAS)；メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)；またはバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)である。

【0045】

本明細書に記載される方法、使用および組成物のいくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、亜鉛(II)塩の非存在下で使用される。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、本明細書に定義されるような8-ヒドロキシキノリン化合物、例えば、クリオキノール[CQ]またはPBT2である。ある態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、コリスチン（ポリミキシンE）またはポリミキシンBである。いくつかの態様において、病原菌は、クレブシエラ種、例えば、肺炎桿菌；または大腸菌、例えば、MCR1陽性大腸菌である。

[本発明1001]

抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させる方法であって、
有効量の薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその溶媒和物と組み合わせて有効量の薬学的に許容される亜鉛イオノフォアを、その必要がある対象へ投与する工程を含み、
抗生物質がアミノグリコシド系抗生物質ではない、方法。

[本発明1002]

対象における細菌感染症を処置する方法であって、
治療有効量の抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体の投与と同時におよび／またはこれに連続して、有効量の薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその薬学的に許容される溶媒和物と組み合わせて、有効量の薬学的に許容される亜鉛イオノフォアまたはその薬学的に許容される誘導体を、その必要がある対象へ投与する工程を含み、
抗生物質がアミノグリコシド系抗生物質ではない、方法。

[本発明1003]

有効量の薬学的に許容される亜鉛イオノフォアをその必要がある対象へ投与する工程を含む、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させる方法。

[本発明1004]

治療有効量の抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体の投与と同時におよび／またはこれに連続して、かつ任意の順序で、有効量の薬学的に許容される亜鉛イオノフォアまたはその薬学的に許容される誘導体を、その必要がある対象へ投与する工程を含む、対象における細菌感染症を処置する方法。

[本発明1005]

抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させるための、薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその溶媒和物と組み合わせた薬学的に許容される亜鉛イオノフォアの使用であって、
抗生物質がアミノグリコシド系抗生物質ではない、使用。

[本発明1006]

抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害するための、薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその溶媒和物と組み合わせた薬学的に許容される亜鉛イオノフォアの使用であって、
抗生物質がアミノグリコシド系抗生物質ではない、使用。

[本発明1007]

抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤としての、薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその溶媒和物と組み合わせた薬学的に許容される亜鉛イオノフォアの使用であって、
抗生物質がアミノグリコシド系抗生物質ではない、使用。

[本発明1008]

10

20

30

40

50

抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させるための、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアの使用。

[本発明1009]

抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害するための、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアの使用。

[本発明1010]

抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤としての、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアの使用。

[本発明1011]

薬学的に許容される亜鉛イオノフォアまたはその薬学的に許容される誘導体、および、薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその薬学的に許容される溶媒和物；ならびに抗生物質がアミノグリコシド系抗生物質ではない、抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体；ならびに

薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

[本発明1012]

薬学的に許容される亜鉛イオノフォアまたはその薬学的に許容される誘導体、および、抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体；ならびに

薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

[本発明1013]

治療有効非毒性量の本発明1011または本発明1012の薬学的組成物の投与を含む、対象における細菌感染症を処置する方法。

[本発明1014]

抗生物質に対して耐性病原菌を再度感受性にするための医薬の製造における、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアまたはその薬学的に許容される誘導体と、薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその薬学的に許容される溶媒和物との使用であって、

抗生物質がアミノグリコシド系抗生物質ではない、使用。

[本発明1015]

細菌感染症の処置用の抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体と分離した使用、連続した使用、または同時の使用のための、かつ任意の順序での、薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその薬学的に許容される溶媒和物と組み合わせた、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアまたはその薬学的に許容される誘導体であって、

抗生物質がアミノグリコシド系抗生物質ではない、

薬学的に許容される亜鉛イオノフォアまたはその薬学的に許容される誘導体。

[本発明1016]

細菌感染症を処置するための医薬の製造における、薬学的に許容される亜鉛イオノフォアまたはその薬学的に許容される誘導体と薬学的に許容される亜鉛(II)塩またはその薬学的に許容される溶媒和物との使用であって、

医薬が、非アミノグリコシド系抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体と一緒に、これと同時に、これに連続して、またはこれと任意の順序で共投与するためのものである、使用。

[本発明1017]

亜鉛イオノフォアが、WO2004/007461に定義されるような式(I)の8-ヒドロキシキノリン誘導体である、本発明1001~1016のいずれかの使用、方法、または組成物。

[本発明1018]

亜鉛イオノフォアが、式Iの化合物：

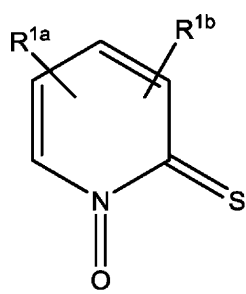
10

20

30

40

50

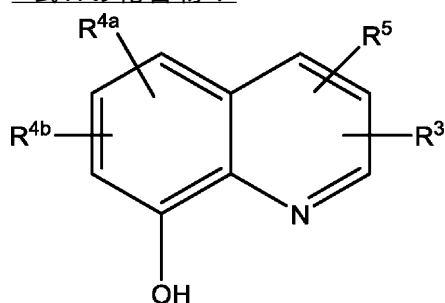


I

(式中、 R^{1a} および R^{1b} は、独立して、H、ハロゲン、 OR^{2a} 、 SR^{2a} 、 CF_3 、 C_{1-4} アルキル、または $NR^{2a}R^{2b}$ であり； R^{2a} および R^{2b} は、独立して、H、または置換されていてもよい C_{1-4} アルキルである)

10

またはその薬学的に許容される誘導体であるか；あるいは、
式IIの化合物：



II

20

(式中、
 R^3 および R^5 は、独立して、H；置換されていてもよい C_{1-6} アルキル；置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル；置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル；置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル；置換されていてもよいアリール；置換されていてもよいヘテロシクリル；CN； OR^6 、 SR^6 、 COR^6 、 CSR^6 、 $HCNOR^6$ または $HCNNR^6$ （式中、 R^6 は、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである）； NR^8R^9 または $SO_2NR^8R^9$ （式中、 R^8 および R^9 は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールおよび置換されていてもよいヘテロシクリルより選択される）； $CONR^9R^{10}$ （式中、 R^9 は上記に定義される通りであり、かつ、 R^{10} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである）； $CH_2CONR^8R^9$ （式中、 R^8 および R^9 は上記に定義される通りである）；ならびに $(CH_2)_nNR^9R^{11}$ （式中、 R^9 は上記に定義される通りであり、かつ、 R^{11} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよいアルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリルおよび SO_2R^{12} より選択され、式中、 R^{12} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルであり、かつ、 n は1～6である）であり、
 R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-4} アルキルまたはハロゲンである)

30

40

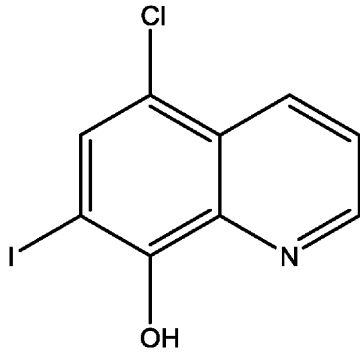
またはその薬学的に許容される誘導体である、

本発明1001～1016のいずれかの使用、方法、または組成物。

50

[本発明1019]

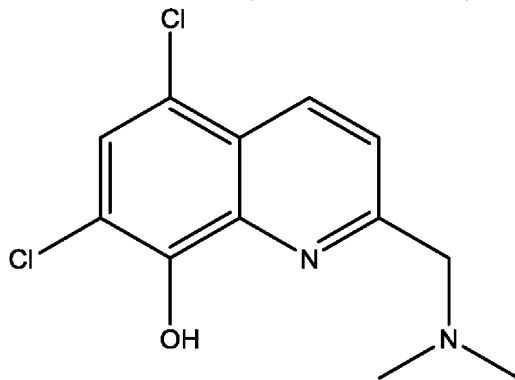
亜鉛イオノフォアが、5-クロロ-7-ヨード-8-キノリノール（クリオキノール）：



10

または

5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール（PBT2）：



20

またはそのいずれかの薬学的に許容される誘導体である、本発明1001～1016のいずれかの使用、方法、または組成物。

[本発明1020]

亜鉛(II)塩が、塩化亜鉛、酢酸亜鉛、または硫酸亜鉛、またはそのいずれか1つの溶媒和物である、本発明1001～1016のいずれかの使用、方法、または組成物。

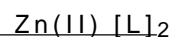
30

[本発明1021]

亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩またはその溶媒和物が、亜鉛(II)配位錯体の形態である、本発明1001、1002、1005～1007、1011、または1013～1015のいずれかの使用、方法、または組成物。

[本発明1022]

亜鉛(II)配位錯体が、式VIIの化合物：



またはその薬学的に許容される誘導体であり、

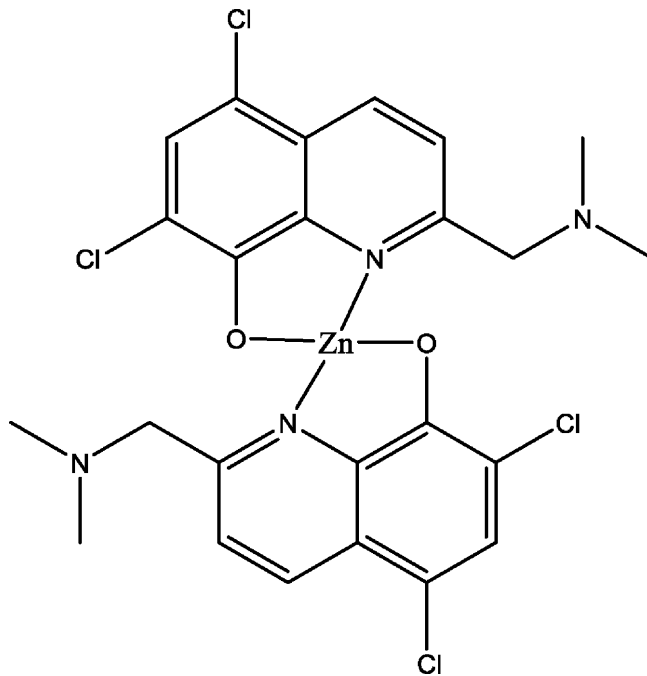
式中、両方のL基は同じであり、本発明1017～1019のいずれかの亜鉛イオノフォアのアニオンである、

40

本発明1021の使用、方法、または組成物。

[本発明1023]

亜鉛(II)配位錯体が、



10

またはその薬学的に許容される誘導体である、本発明1022の使用、方法、または組成物。
[本発明1024]

20

抗生物質が、カルバペネム、セファロスポリン、グリコペプチド、リンコサミド、マクロライド、モノバクタム、ニトロフラン、オキサゾリジノン、ペニシリン、ポリペプチド、キノロン、スルホンアミド、もしくはテトラサイクリン；またはクロラムフェニコール、ホスホマイシン、フシジン酸、メトロニダゾール、ムピロシン、チアンフェニコール、チゲサイクリン、チニダゾール、またはトリメトプリム、またはそのいずれか1つの薬学的に許容される誘導体である、本発明1001～1023のいずれかの使用、方法、または組成物。

[本発明1025]

抗生物質が、コリスチン、ポリミキシンB、テトラサイクリン、チゲサイクリン、ドキシサイクリン、オキサシリン、エリスロマイシン、アンピシリン、バンコマイシン、ペニシリン、またはクロラムフェニコール、またはそのいずれか1つの薬学的に許容される誘導体である、本発明1001～1023のいずれかの使用、方法、または組成物。

30

[本発明1026]

抗生物質が、ポリペプチド系抗生物質、特にコリスチンまたはポリミキシンB、またはそのいずれか1つの薬学的に許容される誘導体である、本発明1001～1023のいずれかの使用、方法、または組成物。

[本発明1027]

病原菌がグラム陽性菌である、本発明1001～1023のいずれかの使用、方法、または組成物。

40

[本発明1028]

病原菌がグラム陰性菌である、本発明1001～1023のいずれかの使用、方法、または組成物。

[本発明1029]

病原菌が、クレブシエラ種 (*Klebsiella* spp.)、エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌種 (*Erythromycin-resistant Group A Streptococcus* spp.)、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) (MRSA)、バンコマイシン耐性腸球菌 (*vancomycin-resistant Enterococcus*) (VRE)、大腸菌 (*Escherichia coli*)、または肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) である、本発明1001～1023のいずれかの使用、方法、または組成物。

50

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 6 】

【図 1 a】図 1：PBT2 および亜鉛による相乗的抗微生物活性。図 1a は、PBT2 (1.5 μ M) および亜鉛(II)イオン(400 μ M)の存在下または非存在下での THY 寒地培地上における GAS、MRSA および VRE の増殖を示す。

【図 1 b】図 1：PBT2 および亜鉛による相乗的抗微生物活性。図 1b は、PBT2 (GAS について 1.5 μ M または MRSA および VRE について 6 μ M) および ZnSO₄ (GAS 15 について 300 μ M ならびに MRSA および VRE について 600 μ M) 有りまたは無しでの THY プロス中の GAS、MRSA および VRE のタイムキル曲線を示す。エラーバーは、2つの生物学的レプリケートからの標準偏差を示す。

10

【図 1 c】図 1：PBT2 および亜鉛による相乗的抗微生物活性。図 1c は、CAMHB 中のサブ阻害濃度の抗微生物性化合物の存在下における連続継代中の耐性の発現のグラフ表示である。データは 3つの生物学的レプリケートの平均値を示す。

【図 1 d】図 1：PBT2 および亜鉛による相乗的抗微生物活性。図 1d は、GAS、または MRSA の負荷から 4 日後にマウス皮膚感染モデルから回収された CFU を示す。マウスを、軟膏剤のみで、または 5mM PBT2 および / または 50mM ZnSO₄ (MRSA) もしくは ZnCl₂ (GAS) を含む軟膏剤で、1日2回処置した。データは 2つの独立した実験を代表し、個々のマウスについての値がプロットされる (* = P 0.05、対応のない t 検定、ノンパラメトリック)。

【図 2 a】図 2：PBT2 および亜鉛は、重金属ホメオスタシス、代謝およびビルレンスに影響を与える。図 2a は、CAMHB 中の GAS (4.75 μ M PBT2 + 128 μ M ZnSO₄)、MRSA (2 μ M PBT2 + 50 μ M 28 ZnSO₄) および VRE (1.75 μ M PBT2 + 128 μ M ZnSO₄) について PBT2 および ZnSO₄ で処理された細菌の RNAseq トランスクリプトーム解析を示す。

20

1/ 1 の log2 変化倍率および P 0.05 を有する遺伝子を破線より上および下に表し、関心対象の遺伝子を示す。データを 3つの生物学的レプリケートから収集した。

【図 2 b】図 2：PBT2 および亜鉛は、重金属ホメオスタシス、代謝およびビルレンスに影響を与える。図 2b は、リアルタイム PCR によって測定された選択された遺伝子についての転写レベルをグラフによって示す。Log(2) 変化倍率を、未処理対照に対して計算し、Ct 法を使用して参照遺伝子に対して標準化した (参照遺伝子：GAS について proS、MRSA について rrsA、VRE について 23S)。エラーバーは 3つの生物学的レプリケートの標準偏差を示す。

30

【図 2 c】図 2：PBT2 および亜鉛は、重金属ホメオスタシス、代謝およびビルレンスに影響を与える。図 2c は、PBT2 および亜鉛(II)イオン (GAS: 0.3 μ M PBT2 + 50 μ M ZnSO₄); MRSA: 1 μ M PBT2 + 100 μ M ZnSO₄) 有りまたは無しで増殖させた GAS および MRSA について ICP MS によって決定された細胞内亜鉛(II)イオン濃度を示す。

【図 3】PBT2 および亜鉛はマウス創傷感染モデルにおける抗生物質耐性を逆転する。図は、GAS での創傷感染から 4 日後に回収された CFU をグラフによって示す。マウスを、軟膏剤のみで、または 2mM PBT2、25mM ZnSO₄ および / もしくは 1.5% テトラサイクリンを含む軟膏剤で、1日2回処置した。個々のマウスについての値がプロットされる。データは 2つの独立した実験を代表する (* = P 0.05, *** = P 0.001、対応のない t44 検定 (unpaired t44 test)、ノンパラメトリック)。

40

【図 4】0 時間時点で 1.4×10^5 CFU コリスチン耐性肺炎桿菌 (*K. pneumoniae*) 株 52.145 mgrB を使用する全身 (i.p.) 感染モデル。I.P. 処置用量：PBT2 1.67 mg/kg ; コリスチン 0.05 mg/kg。処置レジメンを矢印によって示す。

【図 5】陽イオン調整 Mueller Hinton プロス中のサブ阻害濃度の抗微生物性化合物の存在下における連続継代中の肺炎桿菌株 MS6671 における耐性の発現。データは 3つの生物学的レプリケートを代表する。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 4 7 】

好ましい態様の詳細な説明

定義

50

特に定義されない限り、本明細書において使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと同様または等価の任意の方法および材料が本発明の実施または試験において使用され得るが、好ましい方法および材料が記載される。本発明の目的について、以下の用語を下記に定義する。

【0048】

冠詞「1つの(a)」および「1つの(an)」は、冠詞の文法上の目的語の1つまたは1つを超える(即ち、少なくとも1つ)を指すために本明細書において使用される。例として、「1つの要素(an element)」は、1つの要素または1つを超える要素を意味する。

【0049】

本明細書および続く特許請求の範囲の全体にわたって、文脈において特に要求されない限り、単語「含む(comprise)」、ならびに「含む(comprises)」および「含む(comprising)」のような変形物は、記載される整数もしくは工程または一群の整数もしくは工程の包含を意味するが、いかなる他の整数もしくは工程または一群の整数の除外も意味しないことが理解される。

【0050】

用語「個体」、「患者」および「対象」は、ヒトまたは他の動物起源の個体を指すために本明細書において交換可能に使用され、本発明の方法を使用して検査または処置することが望まれる任意の個体を含む。しかし、これらの用語は症状が存在することを暗示しないことが理解されるだろう。本発明の範囲内にある好適な動物としては、ヒト、霊長動物、家畜動物(例えば、ヒツジ、ウシ、ウマ、ロバ、ブタ、家禽)、実験用試験動物(例えば、ウサギ、マウス、ラット、モルモット、ハムスター)、伴侶動物(例えば、ネコ、イヌ)、および捕獲野生動物(例えば、キツネ、シカ、ディンゴ、鳥類、爬虫類)が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの態様において、個体はヒトである。

【0051】

本明細書において使用される場合、用語「処置」、「処置する」などは、所望の薬理学的および/または生理学的効果を得るために薬剤を投与することを指す。効果は、疾患またはその症状を完全にまたは部分的に予防する点で予防的であり得、かつ/または、疾患および/または疾患の症状について部分的なまたは完全な治癒をもたらす点で治療的であり得る。効果は、疾患もしくは状態(例えば、細菌感染症によって媒介される疾患もしくは状態)および/または疾患もしくは状態に起因する有害効果についての部分的なまたは完全な治癒の点で治療的であり得る。これらの用語はまた、哺乳動物における、特にヒトにおける状態または疾患の任意の処置を包含し:(a)疾患もしくは状態の素因があり得るがそれを有するとはまだ診断されていない対象において疾患もしくは状態または疾患もしくは状態の症状が生じるのを予防すること(例えば、原疾患もしくは状態に関連し得るかまたは原疾患もしくは状態によって引き起こされ得る疾患もしくは状態を含む);(b)疾患もしくは状態を抑制すること、即ち、その発症を抑えること;(c)疾患もしくは状態を軽減すること、即ち、疾患もしくは状態の後退を引き起こすこと;(d)疾患もしくは状態の症状を軽減すること、ならびに/または、(e)疾患もしくは状態の症状の頻度を減少させることを含む。

【0052】

本明細書において使用される場合、用語「薬学的に許容される誘導体」は、薬学的に許容される塩または溶媒和物を含む。用語はまたインビボ加水分解性エステルを含み得る。

【0053】

薬学的に許容される塩は、例えば、Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use; Edited by P. Heinrich Stahl and Camile G. Wermuth. VHC, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, Switzerland, and Wiley-VCH, Weinheim, Germany. 2002に記載されている。それらの調製方法は当技術分野において周知である。

【0054】

薬学的に許容される酸付加塩は、無機酸および有機酸から調製され得る。無機酸の例としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などが挙げられる。有機酸の例としては、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などが挙げられる。例えば、本発明の化合物のアミン基は、酸、例えば、塩酸との反応を受けて、酸付加塩、例えば、塩酸塩または二塩酸塩を形成し得る。

【0055】

薬学的に許容される塩基付加塩は、無機塩基および有機塩基から調製され得る。無機塩基に由来する対応の対イオンは、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウムおよびマグネシウム塩を含む。有機塩基としては、第一級、第二級および第三級アミン、置換アミン、例えば天然の置換アミン、および環状アミン、例えば、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、エタノールアミン、2-ジメチルアミノエタノール、トロメタミン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、カフェイン、プロカイン、コリン、ベタイン、エチレンジアミン、グルコサミン、N-アルキルグルカミン、テオプロミン、プリン、ピペラジン、ピペリジンおよびN-エチルピペリジンが挙げられる。例えば、本発明の化合物がカルボン酸基またはフェノール基を有する場合、化合物は、塩基との反応を受けて塩基付加塩を形成し得る。

【0056】

用語「溶媒和物」は、溶質（本発明において、亜鉛(II)塩、亜鉛イオノフォア、または亜鉛(II)配位錯体）および溶媒によって形成される可変化学量論の複合体である。そのような溶媒は、好ましくは、溶質の生物学的活性に干渉するべきではない。溶媒は、例として、水、アセトン、エタノールまたは酢酸であり得る。溶媒和の方法は当技術分野において一般的に知られている。いくつかの態様において、溶媒和物は薬学的に許容される。いくつかの態様において、溶媒和物は、水和物、例えば、一水和物、二水和物または三水和物である。

【0057】

本明細書において使用される場合、用語「薬学的に許容される亜鉛(II)塩」は、 Zn^{2+} の塩を指す。薬学的に許容される亜鉛(II)塩の例としては、塩化亜鉛、酢酸亜鉛および硫酸亜鉛が挙げられる。他の薬学的に許容される亜鉛(II)塩アニオンとしては、臭化物、リン酸塩、トシル酸塩、メシル酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、コハク酸塩、リンゴ酸塩およびマレイン酸塩が挙げられる。亜鉛(II)塩は、薬学的に許容される溶媒和物、例えば、水和物、例えば、一水和物、二水和物または三水和物の形態であり得る。いくつかの態様において、亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアの組み合わせは、化学量論過剰量の亜鉛(II)塩を含む。

【0058】

本明細書において言及される場合、用語「薬学的に許容される誘導体」は、本明細書に記載される亜鉛(II)配位錯体または亜鉛イオノフォアに関して使用される場合、薬学的に許容される溶媒和物、例えば、水和物、例えば、一水和物、二水和物および三水和物；ならびに塩、例えば、薬学的に許容されるカチオン塩、アニオン塩または酸付加塩を含むが、これらに限定されない。塩誘導体もまた、溶媒和物、例えば、水和物を形成し得る。

【0059】

本明細書において言及される場合、用語「薬学的に許容される担体、賦形剤または希釈剤」は、全身投与において安全に使用することができる、固体または液体充填剤、希釈剤、またはカプセル化物質である。好適な薬学的に許容される担体、賦形剤および希釈剤は、当技術分野において周知である。

【0060】

本明細書において言及される場合、用語「アジュバント」は、別の薬理学的活性薬剤の効能を変更または改善する薬理学的薬剤を指す。アジュバントは、主要な薬理学的活性薬剤に加えて、その有効性を増強するために送達される。用語「抗生物質アジュバント」は

10

20

30

40

50

、抗生物質の効能を変更または改善する薬剤を指す。本明細書において使用される場合、用語「増強剤」は、抗生物質の効果を増強または増大させる試薬を指す。

【0061】

用語「抗生物質」などは、本明細書において使用される場合、感染症または感染性疾患を引き起こすある微生物（特に病原性細菌）を破壊するもしくは弱めるかまたはその増殖を阻害するもしくはその増殖を減少させることができる医薬中に使用される化学物質を指す。抗生物質は、細菌の1つまたは複数のクラス、例えば、グラム陽性およびグラム陰性病原菌の一方または両方に対して活性を有し得、広範囲の細菌感染症の処置に応用される。

【0062】

いくつかの態様において、本発明の抗生物質は、販売認可または規制当局の承認が得られているもの、およびその薬学的に許容される塩、溶媒和物またはインビボ加水分解性エステルを含むが、これらに限定されない。

10

【0063】

抗生物質は、一般に、それらの作用様式および/または化学薬品クラスおよび/またはそれらが処置する感染症のタイプに従って分類される。細菌感染症の処置についての抗生物質のクラスおよび例としては以下が挙げられる：

・アミノグリコシド類

例えば、カナマイシンA、アミカシン、トブラマイシン、ジベカシン、ゲンタマイシン、シソマイシン、ネチルマイシン、ネオマイシンB、C、Eおよびストレプトマイシン

・カルバペネム類

例えば、エルタペネム、ドリペネム、イミペネム、メロペネム

20

・セファロスポリン類（第一世代）

例えば、セファドロキシル、セファゾリン、セファロチン、セファレキシン

・セファロスポリン類（第二世代）

例えば、セファクロル、セファマンドール、セフォキシチン、セフプロジル、セフロキシム

・セファロスポリン類（第三世代）

例えば、セフィキシム、セフジニル、セフジトレン、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフポドキシム、セフタジジム、セフチブテン、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフェピム、セフトロリンフォサミル

30

・セファロスポリン類（第四世代）

例えば、セフェピム

・セファロスポリン類（第五世代）

例えば、セフトロリンフォサミル、セフトピプリオール (ceftobipriole)

・グリコペプチド類

例えば、テイコプラニン、バンコマイシン、テラバンシン、ダルババンシン、オリタバンシン

・リンコサミド類

例えば、クリンダマイシン、リンコマイシン

・リポペプチド類

例えば、ダプトマイシン

40

・マクロライド類

例えば、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、トロレアンドマイシン、テリスオマイシン (telithomycin)、スピラマイシン

・モノバクタム類

例えば、アズトレオナム

・ニトロフラン類

例えば、フラゾリジン (furazolidine)、ニトロフラントイン

・オキサゾリジノン類

50

例えば、リネゾリド、ポシゾリド (posizolid)、ラデゾリド (radezolid)、トレゾリド

・ペニシリン類

例えば、アモキシシリン、アンピシリン、アズロシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フルクロキサシリン、メズロシリン、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペニシリンG、ペニシリンV、ピペラシリン、テモシリン、チカルシリン

・ポリペプチド類

例えば、バシトラシン、コリスチン (ポリミキシンE)、ポリミキシンB

・キノロン類 / フルオロキノロン類

例えば、シプロフロキサシン、エノフロキサシン (enofloxacin)、ガチフロキサシン、ゲミフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、モキシフロキサシ、ナリジクス酸、ノルフロキサシ

・スルホンアミド類

例えば、マフェニド、シルファセタミンド (silfacetaminde)、スルファジアジン、スルファジアジン銀、スルファジメトキサジン (sulfadimethoxazine)、スルファメチゾール、スルファサラジン、スルフイソキサゾール

・テトラサイクリン類

例えば、デメコルロサイクリン (demecolcyclin)、ドキシサイクリン、ミニサイクリン (minicyclin)、オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン、チゲサイクリン

・他の抗生物質

例えば、クロラムフェニコール、ホスホマイシン、フシジン酸、メトロニダゾール、ムピロシン、チアンフェニコール、チゲサイクリン、チニダゾール、トリメトプリム、リファンピシン、リファベンチン、ピラジナミド、イソニアジド、エチオナミド、エタンブトール、サイクロセリン、ダブソン、クロファジミン。

【0064】

これらの抗生物質は、国際一般名(INN)に従って命名される。上述の各抗生物質はまた、その化学構造に従うIUPAC化学名を有し、1つまたは複数の専売品名または商標名も有し得ることが、認識されるだろう。抗生物質は、薬学的に許容される誘導体、例えば、塩、溶媒和物またはインビボ加水分解性エステル形態であり得る。

【0065】

本明細書において言及される場合、用語「薬学的に許容される誘導体」は、本明細書に記載される抗生物質に関して使用される場合、薬学的に許容される塩、例えば、カチオン塩、例えば、ナトリウムまたはカリウム；アニオン塩、例えば、塩化物、酢酸塩、硫酸塩、メタンスルホン酸塩、臭化物など；酸付加塩、例えば、塩酸塩；薬学的に許容される溶媒和物、例えば、水和物；およびエステル、例えば、インビボ加水分解性エステルを含むが、これらに限定されない。インビボ加水分解性エステルは、対象への投与後に加水分解して遊離カルボン酸基を提供するエステル、例えば、ピバロイルオキシメチルエステルである。抗生物質の好適な薬学的に許容される誘導体は、当技術分野において周知である。

【0066】

好ましくは、本発明の抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではなく、本発明の抗生物質は、本明細書において「非アミノグリコシド系」抗生物質と呼ばれ得る。いくつかの態様において、抗生物質は、カナマイシンA、アミカシン、トブラマイシン、ジベカシン、ゲンタマイシン、シソマイシン、ネチルマイシン、ネオマイシンB、C、Eまたはストレプトマイシンではない。いくつかの態様において、抗生物質はアミカシンではない。いくつかの態様において、抗生物質はテトラサイクリン系抗生物質ではない。

【0067】

いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、バシトラシン；またはポリミキシン、例えば、コリスチン (ポリミキシンE) もしくはポリミキシンBである。本発明の範囲は、他のポリミキシン系抗生物質を含む、他のポリペプチド系抗生

10

20

30

40

50

物質を含むことが、認識されるだろう。ポリミキシン系抗生物質は、当技術分野において周知のカチオン性ポリペプチド系抗生物質である。それらは、主に、グラム陰性菌感染症について使用される。本発明は、ポリミキシン系抗生物質の薬学的に許容される誘導体、例えば、塩および/または溶媒和物、例えば、アニオン付加塩、硫酸塩誘導体、またはメタンスルホン酸塩誘導体を含む。いくつかの態様において、コリスチンの誘導体は、コリスチンメタンスルホン酸塩の形態の、例えば、コリスチンメタンスルホン酸ナトリウム（コリスチンメタナトリウム[CMS]）の形態の、アニオン性誘導体である。いくつかの態様において、コリスチンは、コリスチン硫酸塩の形態のカチオン性誘導体である。いくつかの態様において、コリスチンまたはその薬学的に許容される誘導体は、経口、吸入もしくは局所経路によって、または非経口もしくは静脈内経路によって投与される。いくつかの態様において、ポリミキシンBの誘導体は、ポリミキシンB硫酸塩である。ポリミキシンB、またはその薬学的に許容される誘導体は、いくつかの態様において、局所、筋肉内、静脈内、髄腔内または眼経路によって投与される。

10

【0068】

いくつかの態様において、抗生物質は、テトラサイクリン系抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体である。テトラサイクリン系抗生物質としては、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン、またはミノサイクリン、またはチゲサイクリン、例えば、テトラサイクリンが挙げられる。テトラサイクリンは、グラム陽性およびグラム陰性菌に対する活性を有する、広域抗生物質である。いくつかの態様において、テトラサイクリンは経口または非経口投与される。

20

【0069】

本明細書において使用される場合、用語「イオノフォア」は、特に指定されない限り、イオン、例えば金属イオンへ可逆的に結合する化学部分、例えば有機化合物を指す。イオノフォアの例としては、細胞膜を横切って、イオン、例えば金属カチオンを輸送する、脂溶性部分が挙げられる。好ましくは、イオノフォアは薬学的に許容される。いくつかの態様において、イオノフォアは、薬学的に許容される誘導体またはプロドラッグの形態であり得る。

【0070】

本明細書において使用される場合、用語「亜鉛イオノフォア」または「亜鉛(II)イオノフォア」は、特に示されない限り、亜鉛(II)イオンへ可逆的に結合するイオノフォアを指す。好ましくは、亜鉛イオノフォアは有機化合物である。亜鉛イオノフォアとして作用する有機化合物は、当技術分野において周知であり、市販されており、または公知の経路に従って合成され得る。亜鉛イオノフォアは他の金属イオンと結合可能であり得ることが認識されるだろう。薬学的に許容される亜鉛(II)イオノフォアの例としては、ピリチオン[1-ヒドロキシ-2(1H)-ピリジンチオン]および置換1-ヒドロキシ-2(1H)-ピリジンチオンが挙げられる。別の態様において、薬学的に許容される亜鉛(II)イオノフォアとしては、8-ヒドロキシキノリン、例えば、WO 2004/007461およびUS 20080161353 A1に記載されるような、クリオキノール(5-クロロ-7-ヨード-キノリン-8-オールまたは5-クロロ-7-ヨード-8-キノリノール)およびPBT2(5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]キノリン-8-オールまたは5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール)が挙げられる。さらなる亜鉛(II)イオノフォアとしては、8-ヒドロキシキノリン類似体および誘導体、例えば、少なくとも1位に窒素および8位にヒドロキシ置換基を有する2つの縮合6員環を含む化合物が挙げられる。亜鉛(II)イオノフォアは薬学的に許容される誘導体の形態であり得ることが認識されるだろう。

30

40

【0071】

いくつかの態様において、本発明の組成物、方法および使用は、亜鉛(II)イオンまたは亜鉛(II)塩の非存在下での亜鉛イオノフォアの使用を伴う。当業者は、亜鉛イオンは、ヒトもしくは動物身体、または細菌のような、生物系中に天然に存在し得ることを理解するだろう。本明細書において使用される場合、亜鉛(II)イオンまたは亜鉛(II)塩の非存在への言及は、生物系中に既に存在し得るものに加えての、任意で亜鉛(II)塩の形態の、任意の

50

亜鉛(II)イオンの非存在を意味するように意図される。

【0072】

亜鉛イオノフォアの例は、例えば、WO 2017/053696、WO 2016/086261、WO 2014/163622; WO 2010/071944、WO 2007/147217; WO 2007/118276; WO 2005/095360; WO 2004/031161; およびWO 2004/007461に開示されており、合成が記載されており、これらの各々は参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。亜鉛イオノフォアは、薬学的に許容される誘導体の形態であり得る。

【0073】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアはクリオキノールまたはPBT2である。PBT2 (5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール) は、アルツハイマー病およびハンチントン病の処置について第II相臨床試験を受けた。12週間の最大250 mg/日(経口)のPBT2は、安全であり、ヒトにおいて十分に許容されることが分かった; 例えば、Lannfelt, L. et al. Safety, efficacy, and biomarker findings of PBT2 in targeting Abeta as a modifying therapy for Alzheimer's disease: a phase IIa, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 7, 779-786, doi:10.1016/S1474-4422(08)70167-4 (2008); Huntington Study Group Reach, H. D. I. Safety, tolerability, and efficacy of PBT2 in Huntington's disease: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 14, 39-47, doi:10.1016/S1474-4422(14)70262-5 (2015); Bush, A. I. The metal theory of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 33 Suppl 1, S277-281, doi:10.3233/JAD-2012-129011 (2013)を参照のこと。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、RA-HQ-12 (5,7-ジブromo-2[(4-フルオロフェニルアミノ)メチル]-8-キノリノール)である。

【0074】

本明細書において使用される場合、用語「病原菌 (pathogenic bacteria)」または「病原菌 (pathogenic bacterium)」は、感染症を引き起こし得る細菌を指す。いくつかの態様において、細菌は、ヒト病原菌であり、ヒトにおいて疾患を引き起こす。細菌は、細胞壁の構造に従ってグラム陽性菌またはグラム陰性菌と分類され得る。マイコバクテリウム属の細菌および関連する細菌は、抗酸菌群に組み入れられ得る。マイコプラスマ属のメンバーおよび関連する細菌は、細胞壁を含有せず、細菌性病原菌も含有する別の違った群を包含すると考えられる。

【0075】

グラム陽性菌としては、桿菌、例えば、アクチノミセス種 (*Actinomyces* spp.); バチルス種 (*Bacillus* spp.); コリネバクテリウム種 (*Corynebacterium* spp.); クロストリジウム種 (*Clostridium* spp.); ラクトバチルス種 (*Lactobacillus* spp.); リステリア種 (*Listeria* spp.); 球菌、例えば、ストレプトコッカス種 (*Streptococcus* spp.); 例えば、化膿連鎖球菌 (*S. pyogenes*)、肺炎連鎖球菌 (*S. pneumoniae*); エンテロコッカス種 (*Enterococcus* spp.); ストレプトミセス種 (*Streptomyces* spp.); およびスタフィロコッカス種 (*Staphylococcus* spp.); 例えば、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) が挙げられる。抗生物質耐性菌の例としては、A群連鎖球菌(GAS)、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)が挙げられる。

【0076】

グラム陰性菌としては、グラム陰性桿菌、例えば、これらに限定されないが、アシネトバクター・バウマンニ (*Acinetobacter baumannii*)、アシネトバクター・ルオフイ (*Acinetobacter lwoffii*)、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、シュードモナス・フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*)、百日咳菌 (*Bordetella pertussis*)、バークホルデルリア種 (*Burkholderia* spp.)、およびスフィンゴバクテリウム種 (*Sphingobacterium* spp.); 腸内細菌科 (*Enterobacteriaceae*)、例えば、シトロバクター種 (*Citrobacter* spp.)、エンテロバクター種 (*Enterobacter* spp.)、大腸菌、クレブシエラ種、モルガネラ種 (*Morganella* spp.)、プロテウス種 (*Proteus* spp.)、シ

10

20

30

40

50

ゲラ種 (*Shigella* spp.) および霊菌 (*Serratia marcescens*) ; ならびにグラム陰性球菌および球桿菌、例えば、ブルセラ種 (*Brucella* spp.)、ヘモフィルス種 (*Haemophilus* spp.) およびナイセリア種 (*Neisseria* spp.) が挙げられる。

【 0 0 7 7 】

いくつかの態様において、細菌は、テトラサイクリン-およびエリスロマイシン-耐性 GAS ; 多剤耐性 MRSA ; 多剤耐性 VRE ; ならびにコリスチン耐性クレブシエラおよび大腸菌 (*E. coli*) を含む。

【 0 0 7 8 】

細菌株の例としては、テトラサイクリン-およびエリスロマイシン-耐性 GAS 株 HKU16 ; 多剤耐性 MRSA USA300 ; 多剤耐性 VRE RBWH1 ; 肺炎桿菌 MS6771 ; ならびに MCR1 陽性大腸菌株 MS8345 が挙げられる。

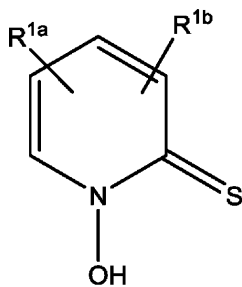
【 0 0 7 9 】

本発明の方法

一局面において、本発明は、抗生物質に対する耐性病原菌の少なくとも1つの株の感受性を回復させるための、亜鉛イオノフォアを組み合わせた亜鉛(II)塩の使用を提供し、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。

【 0 0 8 0 】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、式 I の化合物 :



またはその薬学的に許容される誘導体であり、
式中、

R^{1a} および R^{1b} は、独立して、H、ハロゲン、 OR^{2a} 、 SR^{2a} 、 CF_3 、置換されていてもよい C_{1-4} アルキル、または $NR^{2a}R^{2b}$ であり ;

R^{2a} および R^{2b} は、独立して、H、または置換されていてもよい C_{1-4} アルキルである。

【 0 0 8 1 】

いくつかの態様において、 R^{1a} および R^{1b} は両方とも H である。

【 0 0 8 2 】

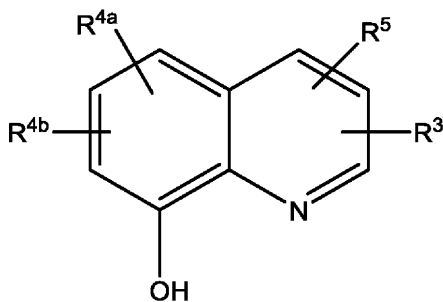
いくつかの態様において、 R^{2a} および R^{2b} は同じである。いくつかの態様において、 R^{2a} および R^{2b} は両方とも C_{1-4} アルキルである。

【 0 0 8 3 】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、少なくとも1位に窒素および8位にヒドロキシ置換基を有する2つの縮合6員環を含む化合物を含む。

【 0 0 8 4 】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、式 II の化合物 :



またはその薬学的に許容される誘導体であり、
式中、

R^3 および R^5 は、独立して、H；置換されていてもよい C_{1-6} アルキル；置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル；置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル；置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル；置換されていてもよいアリール；置換されていてもよいヘテロシクリル；CN； OR^6 、 SR^6 、 COR^6 、 CSR^6 、 $HCNOR^6$ または $HCNNR^6$ 、式中、 R^6 は、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである； NR^8R^9 または $SO_2NR^8R^9$ 、式中、 R^8 および R^9 は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールおよび置換されていてもよいヘテロシクリルより選択される； $CONR^9R^{10}$ 、式中、 R^9 は上記に定義される通りであり、かつ、 R^{10} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである； $CH_2CONR^8R^9$ 、式中、 R^8 および R^9 は上記に定義される通りである；ならびに $(CH_2)_nNR^9R^{11}$ 、式中、 R^9 は上記に定義される通りであり、かつ、 R^{11} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよいアルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリルおよび SO_2R^{12} より選択され、式中、 R^{12} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルであり、かつ、 n は1～6である；であり、

R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-4} アルキルまたはハロゲンである。

【0085】

いくつかの態様において、 R^3 および R^5 は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、 $CONH_2$ または $(CH_2)_nNR^9R^{11}$ であり、式中、 n は0、1、2、または3であり；

R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、 C_{1-4} アルキルまたはハロゲンであり；

R^9 は、H、または置換されていてもよい C_{1-4} アルキルであり；かつ

R^{11} は、置換されていてもよい C_{1-4} アルキルである。

【0086】

いくつかの態様において、 R^3 および R^5 は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、 $CONH_2$ または $(CH_2)_nNR^9R^{11}$ であり、式中、 n は0、1、2、または3であり；

R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、 C_{1-4} アルキルまたはハロゲンであり；

R^9 は、H、または置換されていてもよい C_{1-4} アルキルであり；かつ

R^{11} は、置換されていてもよい C_{1-4} アルキルである。

【0087】

いくつかの態様において、 R^3 および R^5 は、独立して、Hまたは $(CH_2)_nNR^9R^{11}$ であり、式中、 n は0、1または2、好ましくは0または1である。いくつかの態様において、 C_{1-4} アルキルは非置換である。

【0088】

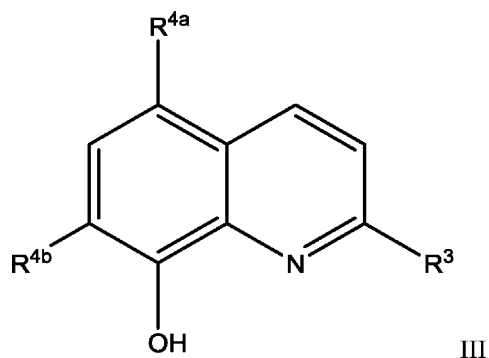
いくつかの態様において、 R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、 C_{1-4} アルキル、ClまたはIである。

【0089】

いくつかの態様において、 R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、Br、ClまたはIである。いくつかの態様において、 R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、ClまたはIである。

【0090】

いくつかの態様において、式IIの化合物は、式IIIの化合物：



10

またはその薬学的に許容される誘導体であり、
式中、

R^3 は、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、 $CONH_2$ または $(CH_2)_nNR^9R^{11}$ であり、
式中、 n は0、1、2、または3であり；

R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-4} アルキルまたはハロゲンであり；

R^9 は、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、
置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルであり；かつ

20

R^{11} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、
置換されていてもよいアルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリルまたは SO_2R^{12} であり、式中、 R^{12} は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、
置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである。

【0091】

いくつかの態様において、 R^3 は $CH_2N(C_{1-4}アルキル)_2$ である。いくつかの態様において、 R^3 は $CH_2N(CH_3)_2$ である。いくつかの態様において、 R^3 置換基は、環の2位に位置する。いくつかの態様において、 R^3 はHである。いくつかの態様において、 R^3 は $CH_2NH(4-F-C_6H_4)$ である。

30

【0092】

いくつかの態様において、 R^{4a} および R^{4b} は、独立して、Hおよびハロゲンより選択される。いくつかの態様において、 R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、Cl、BrまたはIである。いくつかの態様において、 R^{4a} および R^{4b} は、独立して、H、ClまたはIであり；かつ、 R^3 は、Hまたは $CH_2N(CH_3)_2$ である。いくつかの態様において、 R^{4a} および R^{4b} は両方ともBrである。

【0093】

式IIまたは式IIIの化合物について、変数 R^3 または R^5 についての任意選択の置換基は、 C_{1-6} アルキル、 C_{3-6} シクロアルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、アリール、ヘテロシクリル、ハロ、ハロ C_{1-6} アルキル、ハロ C_{3-6} シクロアルキル、ハロ C_{2-6} アルケニル、ハロ C_{2-6} アルキニル、ハロアリール、ハロヘテロシクリル、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{2-6} アルケニルオキシ、 C_{2-6} アルキニルオキシ、アリールオキシ、ヘテロシクリルオキシ、カルボキシ、ハロアルコキシ、ハロ C_{2-6} アルケニルオキシ、ハロ C_{2-6} アルキニルオキシ、ハロアリールオキシ、ニトロ、ニトロ C_{1-6} アルキル、ニトロ C_{2-6} アルケニル、ニトロアリール、ニトロヘテロシクリル、アジド、アミノ、 C_{1-6} アルキルアミノ、 C_{2-6} アルケニルアミノ、 C_{2-6} アルキニルアミノ、アリールアミノ、ヘテロシクリルアミノアシル、 C_{1-6} アルキルアシル、 C_{2-6} アルケニルアシル、 C_{2-6} アルキニルアシル、アリールアシル、ヘテロシクリルアシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アルデヒド、 C_{1-6} アルキルスルホニル、アリールスルホニル、 C_{1-6} アルキルスルホニルアミノ、アリールスルホニルアミ

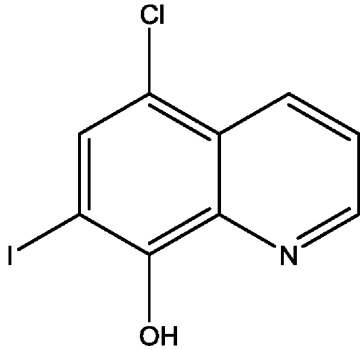
40

50

ノ、C₁₋₆アルキルスルホニルオキシ、アリールスルホニルオキシ、C₁₋₆アルキルスルフェニル、C₂₋₆アルキルスルフェニル、アリールスルフェニル、カルボアルコキシ、カルボアリールオキシ、メルカプト、C₁₋₆アルキルチオ、アリールチオ、アシルチオ、シアノなどより選択される1つまたは複数の基を指す。いくつかの態様において、任意選択の置換基は、C₁₋₄アルキル、ハロC₁₋₄アルキル、ヒドロキシ、ハロ、C₁₋₄アルコキシまたはC₁₋₄アルキルアシルである。

【0094】

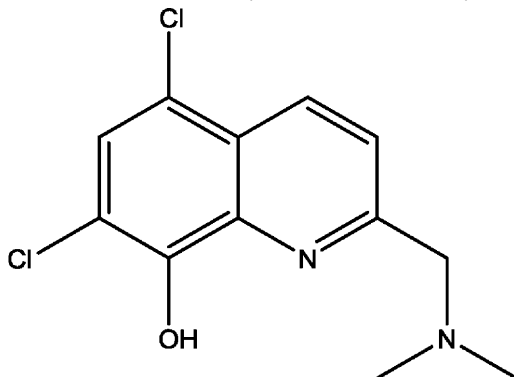
いくつかの態様において、式II、式III、または式IVの亜鉛イオノフォアは：
5-クロロ-7-ヨード-8-キノリノール（クリオキノール）：



10

または

5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール（PBT2）：



20

30

またはそのいずれか一方の薬学的に許容される誘導体である。

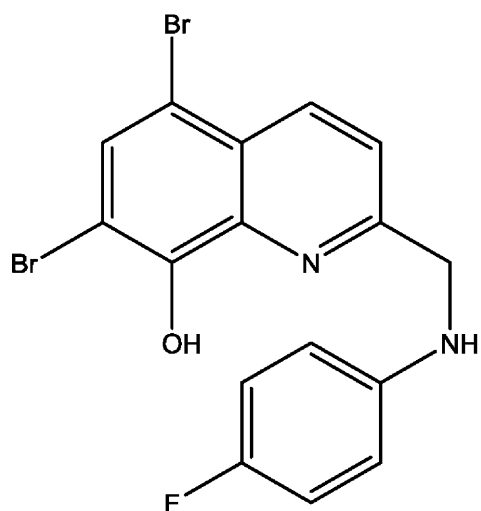
【0095】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、5,7-ジクロロ-2-[(ジメチルアミノ)メチル]-8-キノリノール(PBT2)またはその薬学的に許容される誘導体、例えば、ヒドロクロリド付加塩である。

【0096】

いくつかの例において、亜鉛イオノフォアは、5,7-ジクロロ-2-[(4-フルオロフェニルアミノ)メチル]-8-キノリノール(RA-HQ-12)：

40

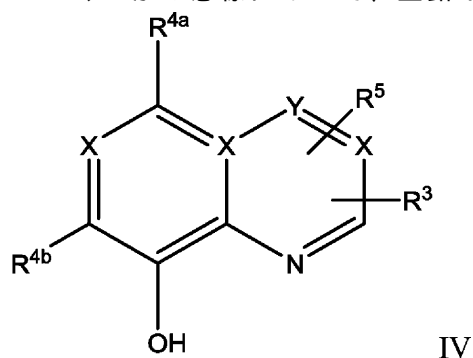


10

またはその薬学的塩もしくは溶媒和物である。

【 0 0 9 7 】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、式IVの化合物：



20

またはその薬学的に許容される誘導体であり、

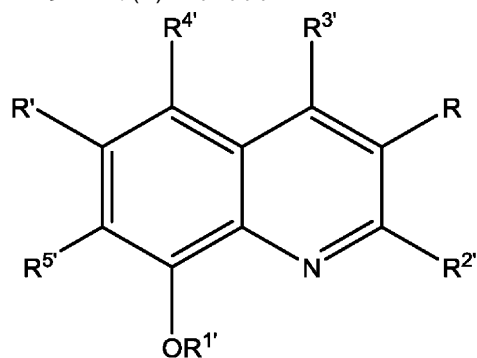
式中、 R^3 、 R^{4a} 、 R^{4b} 、 R^5 は、式IIまたはIIIの化合物について上記に定義される通りであり；

各Xは、CHまたはNであり；

各Yは、CH、CO、CSまたはNである。

【 0 0 9 8 】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは式Vの化合物であり、ここで、式Vの化合物は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるWO 2004/007461に定義されるような式(I)の化合物：



40

ならびにその塩、水和物、溶媒和物、誘導体、プロドラッグ、互変異性体および／または

50

異性体であり、

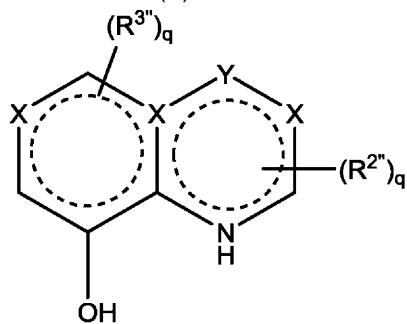
式中、 $R^{1'}$ は、H、置換されていてもよいアルキル、置換されていてもよいアルケニル、置換されていてもよいアシル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリル、抗酸化剤またはターゲッティング部分であり；

R は、H；置換されていてもよいアルキル；置換されていてもよいアルケニル；置換されていてもよいアリール；置換されていてもよいヘテロシクリル；置換されていてもよいアルコキシ；抗酸化剤；ターゲッティング部分； $COR^{6'}$ または $CSR^{6'}$ 、式中、 $R^{6'}$ は、H、置換されていてもよいアルキル、置換されていてもよいアルケニル、ヒドロキシ、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリル、抗酸化剤、ターゲッティング部分、 $OR^{7'}$ 、 $SR^{7'}$ または $NR^{7'}R^{8'}$ であり、式中、 $R^{7'}$ および $R^{8'}$ は、同じであるかまたは異なり、H、置換されていてもよいアルキル、置換されていてもよいアルケニル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルより選択される； CN ； $(CH_2)_nNR^{9'}R^{10'}$ 、 $HCNOR^{9'}$ または $HCNNR^{9'}R^{10'}$ 、式中、 $R^{9'}$ および $R^{10'}$ は、同じであるかまたは異なり、H、置換されていてもよいアルキル、置換されていてもよいアルケニル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルより選択され、 n は1～4である； $OR^{11'}$ 、 $SR^{11'}$ または $NR^{11'}R^{12'}$ 、式中、 $R^{11'}$ および $R^{12'}$ は、同じであるかまたは異なり、H、置換されていてもよいアルキル、置換されていてもよいアルケニル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルより選択されるか、または置換されていてもよいヘテロシクリルと一緒に形成する；あるいは $SONR^{13'}R^{14'}$ 、式中、 $R^{13'}$ および $R^{14'}$ は、同じであるかまたは異なり、H、置換されていてもよいアルキル、置換されていてもよいアルケニル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルより選択される；であり、かつ

$R^{3'}$ 、 $R^{4'}$ 、 $R^{5'}$ 、 R および R' は、同じであるかまたは異なり、H、置換されていてもよいアルキル、置換されていてもよいアルケニル、置換されていてもよいアルコキシ、置換されていてもよいアシル、ヒドロキシ、置換されていてもよいアミノ、置換されていてもよいチオ、置換されていてもよいスルホニル、置換されていてもよいスルフィニル、置換されていてもよいスルホニルアミノ、ハロ、 SO_3H 、アミノ、 CN 、 CF_3 、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリル、抗酸化剤またはターゲッティング部分より選択される。

【0099】

いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは式VIの化合物であり、ここで、式VIの化合物は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるWO 2007/147217に定義されるような式(I)の化合物：



VI

ならびにその塩、水和物、溶媒和物、誘導体、プロドラッグ、互変異性体および／または異性体であり、

式中、

$R^{2''}$ は、H；置換されていてもよい C_{1-6} アルキル；置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル；置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル；置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル；置換されていてもよいアリール；置換されていてもよいヘテロシクリル； CN ； $OR^{6''}$ 、 $SR^{6''}$ 、 $COR^{6''}$ 、 $CSR^{6''}$ 、 $HCNOR^{6''}$ または $HCNNR^{6''}$ 、式中、 $R^{6''}$ は、H、置換されていて

もよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである； $NR^{8''}R^{9''}$ または $SO_2NR^{8''}R^{9''}$ 、式中、 $R^{8''}$ および $R^{9''}$ は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールおよび置換されていてもよいヘテロシクリルより選択される； $CONR^{9''}R^{10''}$ 、式中、 $R^{9''}$ は上記に定義される通りであり、かつ、 $R^{10''}$ は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリルである； $CH_2CONR^{8''}R^{9''}$ 、式中、 $R^{8''}$ および $R^{9''}$ は上記に定義される通りである；ならびに $(CH_2)_nNR^{9''}R^{11''}$ 、式中、 $R^{9''}$ は上記に定義される通りであり、かつ、 $R^{11''}$ は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよいアルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリルおよび $SO_2R^{12''}$ より選択され、式中、 $R^{12''}$ は、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリールまたは置換されていてもよいヘテロシクリル (heterocycl) であり、かつ、 n は1～6である；であり、

10

R^x は、独立して、H、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル、置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル、置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル、置換されていてもよい C_{3-6} シクロアルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいヘテロシクリル；置換されていてもよい C_{1-6} アルコキシ、置換されていてもよいアシル、ヒドロキシ、置換されていてもよいアミノ、置換されていてもよいチオ、置換されていてもよいスルホニル、置換されていてもよいスルフィニル、置換されていてもよいスルホニルアミノ、ハロ、 SO_3H 、アミノ、CN、 CF_3 およびハロより選択され；

20

X' は、CHまたはNであり；

Y' は、CH、CO、CSまたはNであり；かつ

q は、1、2または3である。

【0100】

30

式VおよびVIの化合物に関して用語「置換されていてもよい」は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アルデヒド、ハロ、ハロアルキル、ハロアルケニル、ハロアルキニル、ハロアリール、ヒドロキシ、アルコキシ、アルケニルオキシ、アリールオキシ、ベンジルオキシ、ハロアルコキシ、ハロアルケニルオキシ、ハロアリールオキシ、ニトロ、ニトロアルキル、ニトロアルケニル、ニトロアルキニル、ニトロアリール、ニトロヘテロシクリル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルケニルアミノ、アルキニルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ベンジルアミノ、ジベンジルアミノ、アシル、アルケニルアシル、アルキニルアシル、アリールアシル、アシルアミノ、ジアシルアミノ、アシルオキシ、アルキルスルホニルオキシ、アリールスルフェニルオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロキシ (heterocycloxy)、ヘテロシクラミノ (heterocyclamino)、ハロヘテロシクリル、アルキルスルフェニル、アリールスルフェニル、カルボアルコキシ、カルボアリールオキシ、メルカプト、アルキルチオ、ベンジルチオ、アシルチオ、シアノ、リン含有基などより選択される1つまたは複数の基でさらに置換されても置換されなくてもよい基を指す。好ましくは、任意選択の置換基は、 C_{1-6} アルキル、より好ましくは、 C_{1-4} アルキル； CF_3 ；フッ素；塩素；ヨウ素；シアノ； C_{1-6} アルコキシ、より好ましくは C_{1-4} アルコキシ；アリール；ヘテロアリール；アミノ；またはアルキルアミノである。

40

【0101】

本明細書において使用される場合、特に定義されない限り、用語「置換されていてもよい」は、典型的に、下記に詳述されるような非水素部分での基上の水素原子の置換を指す

50

。任意の置換されていてもよい基は、1、2、3、またはそれ以上の任意選択の置換基を有し得る。

【0102】

いくつかの態様において、任意選択の置換基は以下より選択される：置換されていてもよい C_{1-6} アルキル；置換されていてもよい C_{6-10} アリール；ハロゲン；-OH；-NH₂；-NO₂；-SO₂NH₂；-CO₂H；-CO₂(C_{1-6} アルキル)；-NHCO₂(C_{1-6} アルキル)；-NH-COR^a（式中、R^aはHもしくは C_{1-6} アルキルである）；-NR^aR^b（式中、R^aはHもしくは C_{1-6} アルキルであり、R^bはHもしくは C_{1-6} アルキルである）；-C(O)NR^aR^b（式中、R^aはHもしくは C_{1-6} アルキルであり、R^bはH、 C_{1-6} アルキルである）；-C(O)R^a（式中、R^aはHもしくは C_{1-6} アルキルである）；または-Y-Q（式中、Yは、-O-、-S-、-NH-、-N(C_{1-6} アルキル)-、-NHSO₂-、-SO₂NH-、-NHCONH-、-NHCON(C_{1-6} アルキル)-、-S(O)_q-（式中、qは0、1もしくは2である）、-C(O)NH-、-C(O)N(CH₃)-、-NHC(O)-、-C(O)-、-NHC(NH)NH-、または非存在より選択され、かつQは、置換されていてもよい C_{6-10} アリール；置換されていてもよい5～10員の C_{1-9} ヘテロアリール；置換されていてもよい3～10員の C_{1-9} ヘテロシクリル；置換されていてもよい C_{3-10} シクロアルキル；置換されていてもよい C_{1-6} アルキル；置換されていてもよい C_{2-6} アルケニル；置換されていてもよい C_{2-6} アルキニル；および水素より選択される）。

【0103】

いくつかの態様において、アルキル基についての任意選択の置換基は、 C_{3-7} シクロアルキル、ヘテロシクリル、OR、SR、CF₃、CO₂Rおよびハロゲンより選択され；式中、Rは、H； C_{1-6} アルキル；置換されていてもよい C_{6-10} アリール；置換されていてもよい5～10員の C_{1-9} ヘテロアリール；置換されていてもよい3～10員の C_{1-9} ヘテロシクリル；および置換されていてもよい C_{3-10} シクロアルキルより選択される。

【0104】

いくつかの態様において、アリール基についての任意選択の置換基は、 C_{1-6} アルキル、 C_{3-7} シクロアルキル、ヘテロシクリル、OR、SR、CF₃、CO₂Rおよびハロゲンより選択され；式中、Rは、H； C_{1-6} アルキル；置換されていてもよい C_{6-10} アリール；置換されていてもよい5～10員の C_{1-9} ヘテロアリール；置換されていてもよい3～10員の C_{1-9} ヘテロシクリル；および置換されていてもよい C_{3-10} シクロアルキルより選択される。

【0105】

用語「アルキル」は、直鎖アルキル基（例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシルなど）、および分岐鎖アルキル基（イソプロピル、tert-ブチル、イソブチルなど）を含む、飽和脂肪族基を含む。表現「C_{x-y}アルキル」（式中、xは1～2であり、yは2～6である）は、指定された数の炭素原子を含有するアルキル基（直鎖または分岐鎖）を示す。例えば、 C_{1-4} アルキルという用語は、メチル、エチル、プロピル、ブチル、イソプロピル、tert-ブチル、sec-ブチルおよびイソブチルを含む。

【0106】

一態様において、直鎖または分岐鎖アルキルは6個以下の炭素原子（即ち、 C_{1-6} ）を有する。いくつかの態様において、直鎖または分岐鎖アルキルは4個以下の炭素原子（即ち、 C_{1-4} ）を有する。

【0107】

用語「シクロアルキル」は、飽和環状脂肪族基（シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル）を含む。 C_{3-6} シクロアルキルという用語は、シクロプロピル、シクロペンチル、およびシクロヘキシルを含むが、これらに限定されない。同様に、好ましいシクロアルキルは、環構造中に3～7個の炭素原子を有し、より好ましくは環構造中に5または6個の炭素を有する。本明細書において使用される場合、用語「ヘテロシクロアルキル」は、1つまたは複数の環内ヘテロ原子を含有するシクロアルキル基を指す。

【0108】

用語「アリール」は、芳香族単環式（例えば、フェニル）または多環式基、例えば、三

環式、二環式、例えば、ナフタレン、アントリル、フェナントリルを指す。アリール基はまた、芳香族ではない脂環式環または複素環と融合または架橋されて多環を形成することができる。いくつかの態様において、アリール基はフェニルである。

【0109】

用語「ヘテロアリール」は、本明細書において使用される場合、典型的には各環中に最大7個の原子の、単環式または二環式環を示し、ここで、少なくとも1つの環は芳香族であり、O、NおよびSからなる群より選択される1～4個のヘテロ原子を含有する。この定義の範囲内のヘテロアリール基としては、ベンゾイミダゾール、アクリジニル、カルバゾリル、シンノリニル、キノキサリニル、ピラゾリル、インドリル、ベンゾトリアゾリル、フラニル、チエニル、ベンゾチエニル、ベンゾフラニル、キノリニル、イソキノリニル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、インドイル(indoiyl)、ピラジニル、ピリダジニル、ピリジニル、ピリミジニル、ピロリル、テトラヒドロキノリンが挙げられるが、これらに限定されない。下記の複素環の定義と同様に、「ヘテロアリール」はまた、任意の窒素含有ヘテロアリールのNオキシド誘導体を含むように理解される。ヘテロアリール置換基が二環式であり、1つの環が非芳香族であるかまたはヘテロ原子を含有しない場合、連結は、それぞれ、芳香環を介するかまたはヘテロ原子含有環を介することが理解される。

【0110】

用語「複素環」または「ヘテロシクリル」は、本明細書において使用される場合、O、NおよびSからなる群より選択される1～4個のヘテロ原子を含有する5～10員の芳香族または非芳香族複素環を意味するように意図され、二環式基を含む。「ヘテロシクリル」は、従って、上述のヘテロアリール、ならびにそのジヒドロおよびテトラヒドロ類似体を含む。「ヘテロシクリル」のさらなる例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：ベンゾイミダゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾフラザニル、ベンゾピラゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾチオフェニル、ベンゾオキサゾリル、カルバゾリル、カルボリニル、シンノリニル、フラニル、イミダゾリル、インドリニル、インドリル、インドラジニル、インダゾリル、イソベンゾフラニル、イソインドリル、イソキノリル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、ナフトピリジニル、オキサジアゾリル、オキサゾリル、オキサゾリン、イソオキサゾリジニル、オキセタニル、ピラニル、ピラジニル、ピラゾリル、ピリダジニル、ピリドピリジニル、ピリダジニル、ピリジル、ピリミジル、ピロリル、キナゾリニル、キノリル、キノキサリニル、テトラヒドロピラニル、テトラゾリル、テトラゾロピリジル、チアジアゾリル、チアゾリル、チエニル、トリアゾリル、アゼチジニル、1,4-ジオキサニル、ヘキサヒドロアゼピニル、ピペラジニル、ピペリジニル、ピリジン-2-オニル、ピロリジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、ジヒドロベンゾイミダゾリル、ジヒドロベンゾフラニル、ジヒドロベンゾチオフェニル、ジヒドロベンゾオキサゾリル、ジヒドロフラニル、ジヒドロイミダゾリル、ジヒドロインドリル、ジヒドロイソオキサゾリル、ジヒドロイソチアゾリル、ジヒドロオキサジアゾリル、ジヒドロオキサゾリル、ジヒドロピラジニル、ジヒドロピラゾリル、ジヒドロピリジニル、ジヒドロピリミジニル、ジヒドロピロリル、ジヒドロキノリニル、ジヒドロテトラゾリル、ジヒドロチアジアゾリル、ジヒドロチアゾリル、ジヒドロチエニル、ジヒドロトリアゾリル、ジヒドロアゼチジニル、メチレンジオキシベンゾイル、テトラヒドロフラニル、およびテトラヒドロチエニル、ならびにそのN-オキシド。ヘテロシクリル置換基の連結は、炭素原子を介してまたはヘテロ原子を介して生じ得る。本明細書において言及される場合、「ヘテロシクロアルキル」は、飽和ヘテロシクリル基を指す。

【0111】

用語「エステル」は、カルボニル基の炭素へ結合されている酸素原子へ結合された炭素またはヘテロ原子を含有する化合物および部分を含む。用語「エステル」は、アルコキシカルボキシ基、例えば、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、ペントキシカルボニルなどを含む。アルキル、アルケニル、またはアルキニル基は、上記に定義される通りである。インビボ加水分解性エステルは、対象への投与後に加水分解して遊離カルボン酸基を提供するエステルである。プロドラッグ

は、インビボ加水分解性エステル形態であり得る。

【0112】

用語「ハロゲン」は、フッ素、臭素、塩素、およびヨウ素を含む。用語「過ハロゲン化」は、一般に、全ての水素がハロゲン原子によって置き換えられている部分、例えば CF_3 を指す。

【0113】

用語「ヘテロ原子」は、炭素または水素以外の任意の元素の原子を含む。好ましいヘテロ原子は窒素、酸素、および硫黄である。いくつかの態様において、ヘテロ原子は窒素、および酸素である。

【0114】

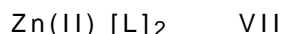
本明細書に記載される一般式の変数へ与えられる定義は、標準的な有機化学の定義および原子価に一致する分子構造をもたらすことがまた、理解される。

【0115】

本発明の化合物のうちのいくつかの構造は、不斉炭素原子を含む、不斉中心を含み得ることが、注意されるだろう。従って、そのような非対称から生じる異性体（例えば、全てのエナンチオマー、立体異性体、回転異性体、互変異性体、ジアステレオマー、またはラセミ体）は本発明の範囲内に含まれることが理解されるだろう。そのような異性体は、古典的な分離技術によってまたは立体化学的に制御された合成によって、実質的に純粋な形態で得ることができる。さらに、本出願に議論される構造体ならびに他の化合物および部分はまた、その全ての互変異性体を含む。本明細書に記載される化合物は、当技術分野において認められている合成戦略によって得てもよい。本発明の化合物のうちのいくつかの置換基は、異性体環状構造を含むこともまた注意されるだろう。従って、特定の置換基の構造異性体は、特に示されない限り、本発明の範囲内に含まれることが理解されるだろう。

【0116】

本発明の一局において、亜鉛(II)塩は、2モル当量の亜鉛イオノフォアと組み合わせさせて、式VIIの亜鉛(II)配位錯体：



を形成し、

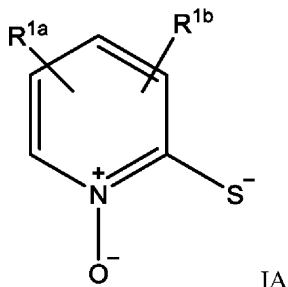
式中、各Lは同じであり、本明細書上記に定義されるような式I、式II、式III、式IV、式Vまたは式VIに従う亜鉛イオノフォアのアニオンである。

【0117】

式VIIの亜鉛(II)配位錯体は、Lの定義に従って、 VII^{I} 、 VII^{II} 、 VII^{III} 、 VII^{IV} 、 VII^{V} 、または VII^{VI} と呼ばれる。

【0118】

従って、式VII^Iとして定義されるいくつかの態様において、Lは式IAの配位子であり：



式中、 R^{1a} および R^{1b} は、式Iの化合物について上記に定義される通りである。

【0119】

式VII^{II}として定義されるいくつかの態様において、Lは式IIAの配位子であり：

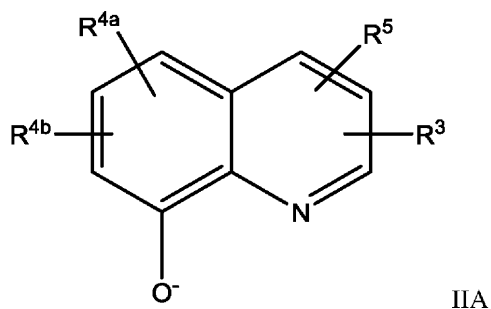
10

20

30

40

50

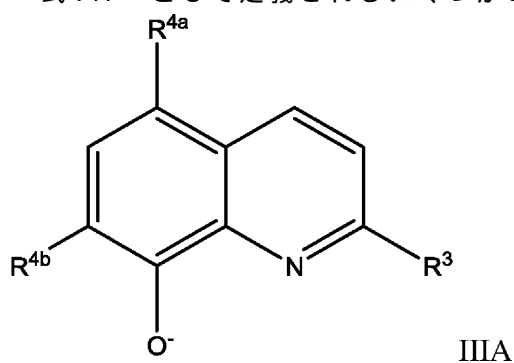


式中、 R^3 、 R^{4a} 、 R^{4b} および R^5 は、式IIの化合物について上記に定義される通りである。

10

【0120】

式VII^{III}として定義されるいくつかの態様において、Lは式IIIAの配位子であり：

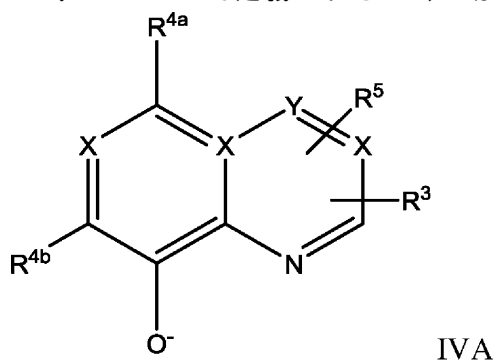


20

式中、 R^3 、 R^{4a} および R^{4b} は上記に定義される通りである。

【0121】

式VII^{IV}として定義されるいくつかの態様において、Lは式IVAの配位子であり：



30

式中、 R^3 、 R^{4a} 、 R^{4b} 、 R^5 、XおよびYは、式IVの化合物について上記に定義される通りである。

【0122】

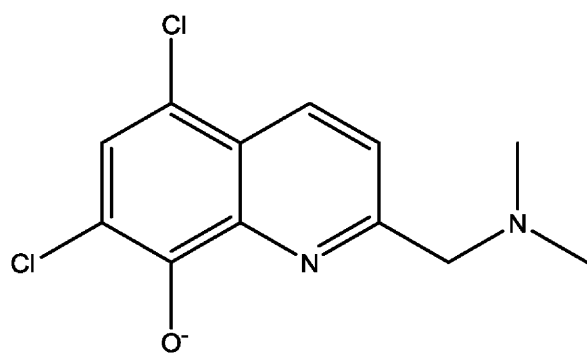
40

式VII^Vまたは式VII^{VI}として定義されるいくつかの態様において、Lは、本明細書上記に定義されるような式VまたはVIの化合物のアニオンである。

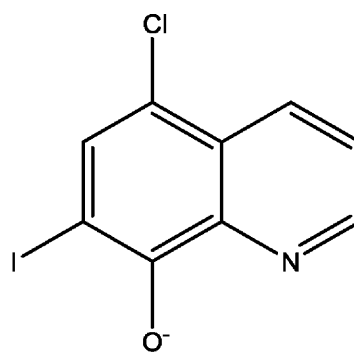
【0123】

いくつかの態様において、Lは[PBT2]または[CQ]である：

50



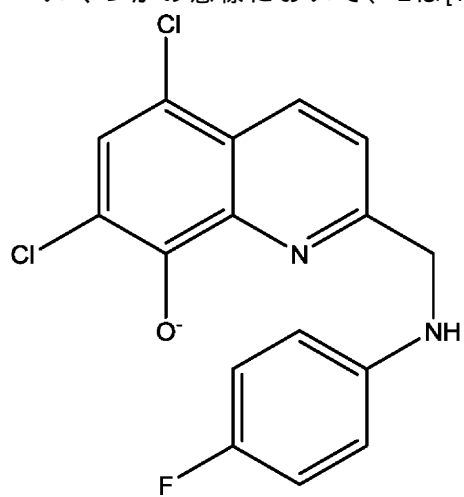
[PBT2]



[CQ]

10

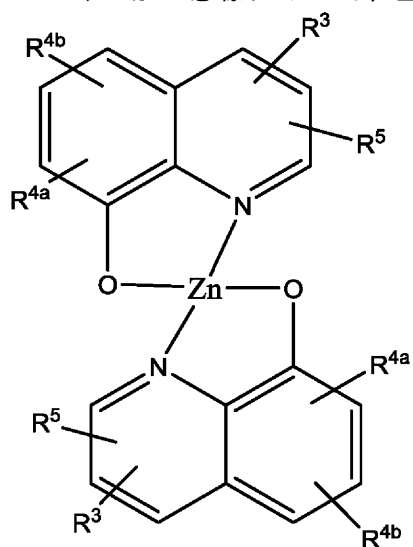
。【 0 1 2 4 】
いくつかの態様において、Lは[RA-HQ-12]である：



[RA-HQ-12]

20

。【 0 1 2 5 】
いくつかの態様において、亜鉛(II)錯体 Zn(II)[L]_2 は、以下の式を有する錯体：



40

またはその薬学的に許容される誘導体であり、

50

式中、 R^3 、 R^{4a} 、 R^{4b} 、および R^5 は、式II、III、またはVの化合物について本明細書上記に定義される通りである。

【0126】

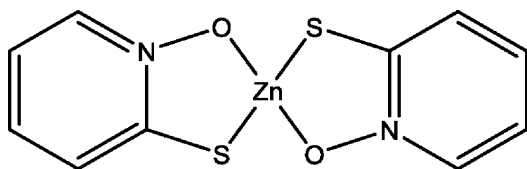
いくつかの態様において、式VIIの亜鉛(II)錯体の親油性 [Log P (オクタノール:水)] は5未満である。

【0127】

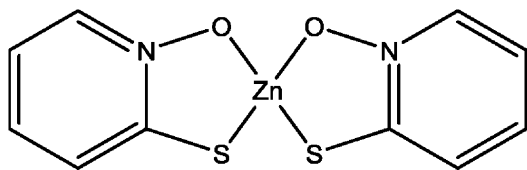
本発明の亜鉛(II)錯体のうちのいくつかは、幾何異性体、例えば、シスまたはトランス異性体として存在し得ることが注意されるだろう。本発明の亜鉛(II)錯体は、一方もしくは他方の幾何異性体、または両方の混合物の形態であり得る。幾何異性体は本発明の範囲に含まれることが理解されるだろう。

【0128】

いくつかの態様において、式VII¹の亜鉛(II)錯体は：



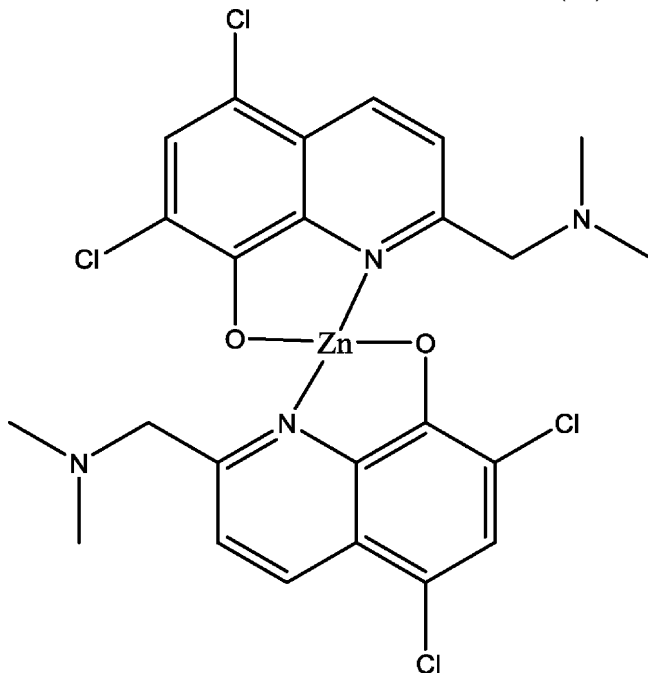
である。この錯体はまた幾何異性体：



として存在し得ることが認識されるだろう。両方の幾何異性体が本発明によって包含されることが理解されるだろう。異性体は、単独で、または任意の比率での両方の異性体の混合物として、存在し得る。

【0129】

いくつかの態様において、式VIIの亜鉛(II)配位錯体は、亜鉛(II)[PBT]₂：



またはその薬学的誘導体、例えば、酸付加塩、例えば、ヒドロクロリド付加塩である。

【0130】

以下の段落における亜鉛(II)錯体への言及はまた、好ましくはおよそ1:2もしくは1:1のモル比の、または1:4～1:400のイオノフォア:亜鉛のモル比を含む亜鉛の化学量論過剰量での、亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアの組み合わせを包含する。

【0131】

本発明の1つのもしくは複数の亜鉛(II)錯体、または本発明の亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアの組み合わせのうちの1つのもしくは複数は、病原菌の少なくとも1種における抗生物質耐性のインヒビターとしての活性を有すると考えられ、また、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させることができる。従って、それらは、細菌感染症の処置において、例えば、抗生物質耐性菌によって引き起こされる1つまたは複数の細菌感染症の処置において、有用と考えられる。本発明の亜鉛(II)錯体は、抗生物質と組み合わせて対象へ投与される場合に有用と考えられる。

10

【0132】

従って、本発明はまた、抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤としての、本発明の、亜鉛(II)錯体、または亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアの組み合わせの使用を提供する。式VIIの亜鉛(II)錯体は、細菌感染症の処置において抗生物質と組み合わせて抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤として使用され得る。

【0133】

対象における細菌感染症を処置する方法をさらに提供し、該方法は、治療有効量の抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体の投与と同時におよび/またはこれに連続して、本明細書上に定義されるような、阻害量の亜鉛(II)錯体、または亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアの組み合わせを、その必要がある患者へ投与することを含む。いくつかの態様において、細菌感染症は抗生物質耐性菌によって引き起こされる。

20

【0134】

いくつかの態様において、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /PBT2であり、または亜鉛(II)錯体は亜鉛(II)[PBT2]₂であり、かつ、以下のうちの1つまたは複数が当てはまる：

- ・抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、ポリミキシンBまたはコリスチンであり、細菌感染症は、クレブシエラ種、例えば、肺炎桿菌；大腸菌；エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌(GAS)；メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)；またはバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)によって引き起こされる；

30

- ・抗生物質はテトラサイクリンであり、細菌感染症は、クレブシエラ種、例えば、肺炎桿菌；エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌(GAS)；肺炎連鎖球菌(*Streptococcus pneumoniae*)；またはバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)によって引き起こされる；

- ・抗生物質はチゲサイクリンであり、細菌感染症はクレブシエラ種によって引き起こされる；

- ・抗生物質はドキシサイクリンであり、細菌感染症はクレブシエラ種によって引き起こされる；

- ・抗生物質はオキサシリンであり、細菌感染症はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)によって引き起こされる；

40

- ・抗生物質はエリスロマイシンであり、細菌感染症はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)によって引き起こされる；

- ・抗生物質はアンピシリンであり、細菌感染症はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)または肺炎連鎖球菌によって引き起こされる；

- ・抗生物質はバンコマイシンであり、細菌感染症はバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)によって引き起こされる；

- ・抗生物質はペニシリンであり、細菌感染症は肺炎連鎖球菌によって引き起こされる；

- ・抗生物質はクロラムフェニコールであり、細菌感染症は肺炎連鎖球菌によって引き起こされる。

【0135】

50

いくつかの態様において、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /PBT2であり、または亜鉛(II)錯体は亜鉛(II)[PBT2]₂であり、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、ポリミキシンBまたはコリスチンであり、細菌感染症は、コリスチン耐性病原体、例えば、シュードモナス種 (*Pseudomonas* spp.)、例えば、緑膿菌 (*P. aeruginosa*)、またはアシネトバクター種 (*Acinetobacter* spp.)、例えば、*A. バウマンニ* (*A. baumannii*) によって引き起こされる。

【0136】

いくつかの態様において、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /RA-HQ-12であり、または亜鉛(II)錯体は亜鉛(II)[RA-HQ-12]₂であり、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、ポリミキシンBまたはコリスチンであり、細菌感染症は、クレブシエラ種、例えば、肺炎桿菌；エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌(GAS)；メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)；またはバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)によって引き起こされる。いくつかの態様において、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /RA-HQ-12であり、または亜鉛(II)錯体は亜鉛(II)[RA-HQ-12]₂であり、抗生物質はテトラサイクリンであり、細菌感染症はエリスロマイシン耐性A群連鎖球菌(GAS)によって引き起こされる。

【0137】

いくつかの態様において、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /クリオキノールであり、または亜鉛(II)錯体は亜鉛(II)[CQ]₂であり、かつ、以下のうちの1つまたは複数当てはまる：

- ・抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、ポリミキシンBまたはコリスチンであり、細菌感染症は、クレブシエラ種、例えば、肺炎桿菌；大腸菌、例えば、MCR-1大腸菌；エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌(GAS)、例えば、化膿連鎖球菌 (*Streptococcus pyogenes*)；メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)；またはバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)によって引き起こされる；

- ・抗生物質はテトラサイクリンであり、細菌感染症は、クレブシエラ種、例えば、肺炎桿菌；またはバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)によって引き起こされる；

- ・抗生物質はオキサシリンであり、細菌感染症はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)によって引き起こされる；

- ・抗生物質はエリスロマイシンであり、細菌感染症はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)によって引き起こされる；

- ・抗生物質はアンピシリンであり、細菌感染症はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)によって引き起こされる；

- ・抗生物質はバンコマイシンであり、細菌感染症はバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)によって引き起こされる。

【0138】

いくつかの態様において、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /PBT2であり、または亜鉛(II)錯体は亜鉛(II)[PBT2]₂であり、かつ、以下のうちの1つまたは複数当てはまる：

- ・細菌感染症は、クレブシエラ種、例えば、肺炎桿菌によって引き起こされ、抗生物質は、ポリミキシンB、コリスチン、テトラサイクリン、チゲサイクリンまたはドキシサイクリンである；

- ・細菌感染症はMCR-1大腸菌によって引き起こされ、抗生物質はポリミキシンBまたはコリスチンである；

- ・細菌感染症はバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)によって引き起こされ、抗生物質は、コリスチン、ポリミキシンB、テトラサイクリン、またはバンコマイシンである；

- ・細菌感染症はエリスロマイシン耐性A群連鎖球菌(GAS)、例えば、化膿連鎖球菌によって引き起こされ、抗生物質は、コリスチン、ポリミキシンB、またはテトラサイクリンである；

- ・細菌感染症はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)によって引き起こされ、抗生物質は、コリスチン、ポリミキシンB、オキサシリン、アンピシリン、またはエリスロマイ

10

20

30

40

50

シンである；

・細菌感染症は肺炎連鎖球菌によって引き起こされ、抗生物質は、テトラサイクリン、ペニシリン、アンピシリン、またはクロラムフェニコールである。

【0139】

いくつかの態様において、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /クリオキノールであり、または亜鉛(II)錯体は亜鉛(II)[CQ]₂であり、かつ、以下のうちの1つまたは複数が当てはまる；

・細菌感染症は肺炎連鎖球菌によって引き起こされ、抗生物質は、テトラサイクリン、ペニシリン、アンピシリン、またはクロラムフェニコールである。

・細菌感染症は肺炎桿菌によって引き起こされ、抗生物質は、テトラサイクリン、ポリミキシンBまたはコリスチンである；

・細菌感染症はMCR-1大腸菌によって引き起こされ、抗生物質はポリミキシンBまたはコリスチンである；

・細菌感染症は、エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌(GAS)、例えば、化膿連鎖球菌によって引き起こされ、抗生物質はコリスチン、またはポリミキシンBである；

・細菌感染症はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)によって引き起こされ、抗生物質は、コリスチン、ポリミキシンB、オキサシリン、アンピシリン、またはエリスロマイシンである。

【0140】

いくつかの態様において、細菌感染症は、テトラサイクリン-およびエリスロマイシン-耐性GAS；多剤耐性MRSA；またはVREによって引き起こされる。

【0141】

いくつかの態様において、細菌感染症は、テトラサイクリン-およびエリスロマイシン-耐性GAS株HKU16；多剤耐性MRSA USA300；またはVRE RBWH1によって引き起こされる。

【0142】

いくつかの態様において、細菌感染症は、耐性グラム陰性肺炎桿菌MS6771またはMCR1陽性大腸菌株MS8345によって引き起こされる。

【0143】

いくつかの態様において、細菌感染症は、コリスチン耐性グラム陰性病原体、例えば、緑膿菌株253-43-Cおよびアシネトバクター・バウマンニ株42-Aによって引き起こされる。

【0144】

いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、コリスチンもしくはポリミキシンBまたはそのいずれか1つの薬学的に許容される誘導体であり、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /PBT2である。いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、コリスチンまたはポリミキシンBであり、亜鉛(II)配位錯体は、 $Zn(II)[PBT2]_2$ またはそのいずれか一方の薬学的に許容される誘導体である。

【0145】

いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、コリスチンもしくはポリミキシンBまたはそのいずれか1つの薬学的に許容される誘導体であり、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /RA-HQ-12である。いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、コリスチンまたはポリミキシンBであり、亜鉛(II)配位錯体は、 $Zn(II)[RA-HQ-12]_2$ またはそのいずれか一方の薬学的に許容される誘導体である。

【0146】

いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、コリスチンもしくはポリミキシンBまたはそのいずれか一方の薬学的に許容される誘導体であり、 Zn^{2+} /亜鉛イオノフォア組み合わせは Zn^{2+} /クリオキノールである。いくつかの態様において

10

20

30

40

50

、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、コリスチンもしくはポリミキシンB、またはそのいずれか一方の薬学的に許容される誘導体であり、亜鉛(II)配位錯体は $Zn(II)[CQ]_2$ またはその薬学的に許容される誘導体である。

【0147】

本発明の1つまたは複数の亜鉛イオノフォアは、亜鉛(II)塩または亜鉛イオン源の非存在下で、病原菌の少なくとも1種における抗生物質耐性のインヒビターとしての活性を有すると考えられ、また、抗生物質に対する耐性病原菌の感受性を回復させることができる。式I~VIの亜鉛イオノフォアは、従って、細菌感染症の処置用の抗生物質と組み合わせて、好ましくは、抗生物質耐性菌によって引き起こされる1つまたは複数の細菌感染症の処置において、有用と考えられる。

【0148】

さらなる局面において、本発明はまた、抗生物質に対する、耐性病原菌、好ましくは耐性病原性グラム陰性菌の感受性を回復させるための、亜鉛イオノフォアの使用を提供する。別の局面において、抗生物質に対する病原菌の耐性を阻害するための、亜鉛イオノフォアの使用を提供する。本発明はまた、抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤としての、亜鉛イオノフォアの使用を提供する。ある態様において、亜鉛イオノフォアは薬学的に許容される。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、細菌感染症(antibacterial infection)の処置用の抗生物質と組み合わせて使用される。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアは、本明細書上に定義されるような式I、II、III、IV、V、またはVIの化合物である。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアはクリオキノールまたはPBT2である。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアはRA-HQ-12である。本発明の亜鉛イオノフォアは、抗生物質と組み合わせて対象へ投与される場合に有用と考えられる。

【0149】

対象における細菌感染症を処置する方法をさらに提供し、該方法は、治療有効量の抗生物質またはその薬学的に許容される誘導体の投与と同時におよび/またはこれに連続して、本明細書上に定義されるような、阻害量の亜鉛イオノフォアを、その必要がある患者へ投与することを含む。いくつかの態様において、細菌感染症は抗生物質耐性菌によって引き起こされる。

【0150】

いくつかの態様において、抗生物質はアミノグリコシド系抗生物質ではない。いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、ポリミキシンBまたはコリスチンであり；亜鉛イオノフォアは、式I~VIのもの、例えば、式IIIのイオノフォア、例えば、クリオキノールまたはPBT2である。いくつかの態様において、耐性病原菌は、グラム陰性、例えば、クレブシエラ種、または大腸菌である。

【0151】

いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、ポリミキシンBもしくはコリスチンまたはそのいずれか一方の薬学的に許容される誘導体であり、アジュバントは、式I~VIの亜鉛イオノフォア、例えば、クリオキノールまたはPBT2であり、細菌感染症は、クレブシエラ種、例えば、MS6771を含む肺炎桿菌；または大腸菌、例えば、株MS8345を含むMCR1陽性大腸菌によって引き起こされる。

【0152】

いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、ポリミキシンBもしくはコリスチンまたはそのいずれか一方の薬学的に許容される誘導体であり、抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤は以下である：

- ・式I~VIの亜鉛イオノフォア、例えば、クリオキノールもしくはPBT2、またはその薬学的に許容される誘導体；

- ・式I~VIの亜鉛イオノフォア、例えば、クリオキノールもしくはPBT2、またはその薬学的に許容される誘導体と組み合わせた、亜鉛(II)塩またはその薬学的に許容される溶媒和物；あるいは

- ・式VIIの亜鉛(II)配位錯体、例えば、 $Zn(II)[CQ]_2$ または $Zn(II)[PBT2]_2$ 。

10

20

30

40

50

【 0 1 5 3 】

いくつかの態様において、抗生物質は、ポリペプチド系抗生物質、例えば、ポリミキシンBもしくはコリスチンまたはそのいずれか一方の薬学的に許容される誘導体であり、抗生物質アジュバントまたは抗生物質増強剤は、RA-HQ-12またはその薬学的に許容される誘導体；RA-HQ-12またはその薬学的に許容される誘導体と組み合わせた、亜鉛(II)塩またはその薬学的に許容される溶媒和物；あるいはZn(II)[RA-HQ-12]₂である。

【 0 1 5 4 】

本発明の組成物

本発明の亜鉛イオノフォアは、市販されており、または当技術分野において周知の合成経路によって調製され得る。

10

【 0 1 5 5 】

1-ヒドロキシピリジン-2-チオン (PYT、式Iの化合物、 $R^{1a} = R^{1b} = H$) は、例えば、Aldrich-Sigma Co LLCから市販されている。式Iの置換1-ヒドロキシピリジン-2-チオンは、公知の方法に従って調製され得る。例えば、6位上においてNHアルキル、O-アルキルまたはS-アルキルによって置換された1-ヒドロキシピリジン-2-チオン化合物は、WO 2000/067699およびUS 5675013に記載される方法に従って調製され得る。アルキルまたはCF₃によって置換された1-ヒドロキシピリジン-2-チオン化合物は、例えば、J. Med. Chem., 2014, 57, 16, 7126-7135およびJ. Amer. Chem. Soc., 1950, 72(10), 4362-4364に記載される経路に従って、3-クロロペルオキシ安息香酸と反応させ、続いて水硫化ナトリウムで処理することによって、対応する2-プロモジヒドロピリジンから調製することができる。4および/または5環位上においてOH、SH、O-アルキルまたはS-アルキルによって置換された1-ヒドロキシピリジン-2-チオン化合物の合成は、JP 47040057、JP 47040052およびPolish Journal of Chemistry, 2007, 81, 1869に記載されている。

20

【 0 1 5 6 】

クリオキノール (5-クロロ-7-ヨード-8-キノリノール、CQ) は、Sigma-Aldrich Co LLCのような商業的供給源から容易に入手可能である。

【 0 1 5 7 】

式II、III、およびVの8-ヒドロキシキノリンイオノフォアは、例えば、Sigma-Aldrich Co LLCから市販されており、または公知の方法に従って、もしくは本明細書に記載される通りに合成され得る。 R^{4a} および R^{4b} がH、アルキルまたはハロゲンである、ある亜鉛イオノフォアは、市販されており、または、例えば、J. Med. Chem., 1972, 987-989の方法に従って調製され得る。Skraup反応による、市販のアニリン誘導体からの、 R^{4a} および R^{4b} がHまたはアルキルである、8-ヒドロキシキノリンイオノフォアの合成は、Organic Synthesis, Coll. Vol. 1, 478 (1941)に記載されている。WO 2014/66506 A2は、テトラヒドロフラン中においてN-プロモスクシンイミドを使用しての対応の7-アルキル-8-ヒドロキシキノリン化合物からの5-プロモ-7-アルキル-8-ヒドロキシキノリンイオノフォアの合成を記載する。 R^{4a} および R^{4b} が両方ともHであり、かつ、 R^3 および/または R^5 置換基が環の2位にありかつNH₂、CH₃、CO₂HまたはCONH₂である、8-ヒドロキシキノリンイオノフォアは、市販されている。 R^3 および/または R^5 置換基が環の2位にありかつ-CH₂NR⁹R¹¹である、8-ヒドロキシキノリンイオノフォアは、例えば、WO 2017/053696、WO 2016/086261、WO 2010/071944、WO 2007/147217；WO 2007/118276；WO 2005/095360；WO 2004/031161およびWO 2004/007461、ならびにUS 2014/296251に記載される経路に従って調製され得る。

30

40

【 0 1 5 8 】

式IV、VまたはVIの亜鉛イオノフォアは、例えば、WO 2007/147217およびWO 2004/007461に記載される方法に従って調製され得る。

【 0 1 5 9 】

PBT2を、US 20080161353 A1 (Prana Biotechnology Limited)に記載される合成経路を使用して合成した。

【 0 1 6 0 】

50

RA-HQ-12を、WO 2017/053696 (University of Florida Research Foundation Incorporated)に記載される合成経路を使用して合成した。

【 0 1 6 1 】

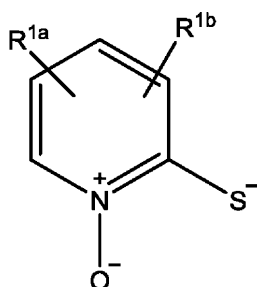
式Iの亜鉛(II)配位錯体は、当技術分野において公知の従来の方法を使用して、亜鉛(II)塩および所望の配位子(イオノフォア)から公知の経路によって調製され得る；例えば、Magda D. et al., Cancer Res. 2008 Jul 1; 68(13): 5318-5325. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0601, PMCID: PMC3033660, NIHMSID: NIHMS243995, Synthesis and Anticancer Properties of Water-Soluble Zinc Ionophoresを参照のこと。

【 0 1 6 2 】

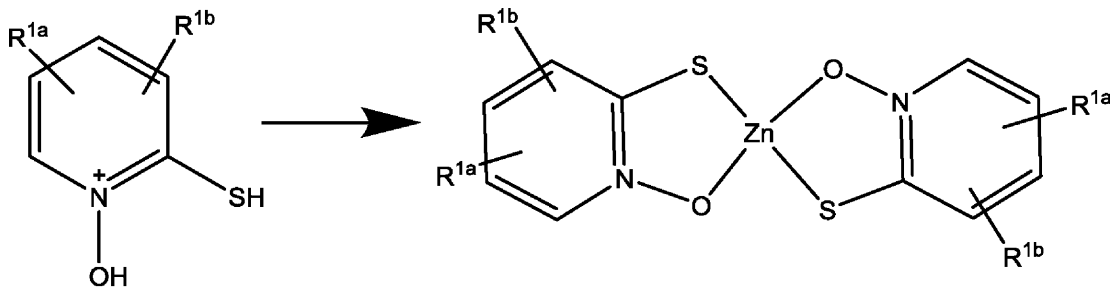
一般に、本発明の亜鉛(II)錯体は、好適な溶媒、例えば、アルコール、水、アセトン、N, N-ジメチルホルムアミドまたはジメチルスルホキシド中において、亜鉛(II)塩、例えば、塩化亜鉛(II)、酢酸亜鉛(II)または硫酸亜鉛(II)を、適切な量の所望の亜鉛イオノフォア(配位子)、一般に化学量論過剰量と反応させることによって、調製され得る。亜鉛(II)錯体は、沈殿、続いての濾過のような、公知の方法によって単離され得る。結果として生じたZn(II)錯体は、再結晶またはクロマトグラフィーのような従来の方法によって精製することができる。配位子は、例えば、Sigma Aldrich Co LLCから得てもよく、または公知の方法に従って作製されてもよい。

【 0 1 6 3 】

Lが1-ヒドロキシピリジン-2-チオン(ピリチオンまたはPYTとしても公知)：



であり、 R^{1a} および R^{1b} が式IまたはIAの化合物について本明細書上記に定義される通りである、式VII^Iの亜鉛(II)錯体は、塩化亜鉛(II)を2.5モル当量の所望のピリチオンと反応させることによって調製することができる。例えば、Zn[PYT]₂は、スキーム1に示されるように、ジメチルスルホキシド中において塩化Zn(II)を2.5モル当量のピリチオンと反応させることによって調製され得る。



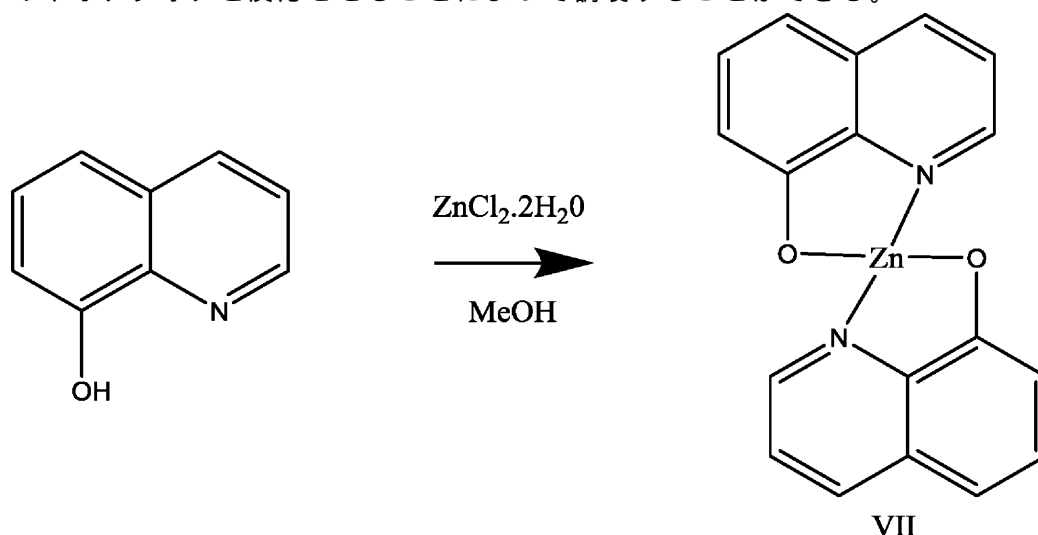
I

スキーム 1

【 0 1 6 4 】

式VII^{II-VI}の亜鉛(II)錯体は、スキーム2に示されるように、当技術分野において周知であり、例えば、Magda D. et al., Cancer Res. 2008 Jul 1; 68(13): 5318-5325. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0601, PMCID: PMC3033660, NIHMSID: NIHMS2

43995, Synthesis and Anticancer Properties of Water-Soluble Zinc Ionophores に記載される方法に従って、メタノールまたはアセトン中において、1当量の亜鉛(II)塩、例えば、塩化亜鉛(II)または酢酸亜鉛(II)を2当量の式II、III、IV、V、またはVIの所望のイオノフォアと反応させることによって調製することができる。



スキーム2

【0165】

本発明のある亜鉛(II)配位錯体は新規と考えられ、従って、別の局面において、本発明はまた、式VIIの亜鉛(II)錯体を提供する。

【0166】

本発明の亜鉛イオノフォアまたは亜鉛(II)錯体は結晶形態であり得る。結晶性亜鉛(II)錯体またはイオノフォアは、多形形態として存在し得る。亜鉛(II)錯体またはイオノフォアはまた、アモルファス形態で存在し得る。いくつかの態様において、亜鉛(II)錯体またはイオノフォアは溶媒和物（例えば、水和物）の形態であり得、これらの物理的形態は本発明の範囲内にあることが意図される。用語「溶媒和物」は、溶質（本発明において、本発明の亜鉛(II)錯体またはイオノフォア）および溶媒によって形成される可変化学量論の複合体である。そのような溶媒は、好ましくは、溶質の生物学的活性に干渉するべきではない。溶媒は、例として、水、アセトン、エタノールまたは酢酸であり得る。溶媒和の方法は当技術分野において一般的に知られている。

【0167】

本発明の亜鉛(II)錯体および亜鉛イオノフォアは、塩、特に、薬学的に許容される酸付加塩の形態であり得る。薬学的に許容される酸付加塩は無機酸および有機酸から調製され得る。無機酸の例としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などが挙げられる。有機酸の例としては、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などが挙げられる。

【0168】

本発明はまた、少なくとも1つの薬学的に許容される担体または希釈剤と一緒に、本明細書上記に定義されるような、有効量の亜鉛(II)錯体もしくはその薬学的に許容される誘導体、または有効量の亜鉛イオノフォアもしくはその薬学的に許容される誘導体および薬学的に許容される亜鉛(II)塩の組み合わせを含む、薬学的組成物を提供する。

【0169】

抗生物質は、Sigma-Aldrich Co LLCのような商業的供給源から容易に入手可能であり

、または発酵、半合成もしくは合成経路によって公知の方法を使用して合成してもよい。

【0170】

本明細書において言及される抗生物質は、薬学的に許容される誘導体、例えば、薬学的に許容される塩、例えば、ナトリウムもしくはカリウム塩、塩化物、硫酸塩、メタンスルフェートなど、またはインビボ加水分解性エステル形態であり得る。抗生物質はまた、溶媒和物、例えば水和物の形態であり得る。抗生物質は、好ましくは、実質的に純粋な形態であり、好ましくは、重量に基づいて少なくとも98%純粋である。

【0171】

抗生物質の薬学的に許容される塩基付加塩は、例えば、無機塩基または有機塩基から調製され得る。無機塩基に由来する対応の対イオンは、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウムおよびマグネシウム塩を含む。有機塩基としては、第一級、第二級および第三級アミン、置換アミン、例えば天然の置換アミン、および環状アミン、例えば、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、エタノールアミン、2-ジメチルアミノエタノール、トロメタミン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、コリン、ベタイン、エチレンジアミン、グルコサミン、N-アルキルグルカミン、テオプロミン、プリン、ピペラジン、ピペリジンおよびN-エチルピペリジンが挙げられる。カルボン酸基は、塩基との反応を受けて塩基付加塩を形成し得る。

10

【0172】

本発明の亜鉛(II)錯体、または亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩の組み合わせは、細菌細胞中の遷移金属ホメオスタシスを変化させることによって抗生物質に対する細菌の感受性を回復させると考えられる。

20

【0173】

従って、本発明の組成物、使用および方法は、抗生物質に対して感受性を示す病原性グラム陽性またはグラム陰性菌によって引き起こされる1つまたは複数の細菌感染症の処置において有用であると考えられる。

【0174】

本発明の組成物、使用および方法は、耐性菌に対して有効であると考えられる。いくつかの態様において、組成物、使用および方法は、クレブシエラ種、例えば、肺炎桿菌；大腸菌；エリスロマイシン耐性A群連鎖球菌(GAS)；メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)；またはバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)のうちの1つまたは複数によって引き起こされる細菌感染症の処置に応用される。

30

【0175】

本発明の組成物、使用および方法は、敗血症、肺炎、細気管支炎、気管支炎、心内膜炎、腹腔内感染症、関節感染症、髄膜炎、骨髄炎、骨盤内感染症、腹膜炎、腎盂腎炎、ならびに膀胱炎および尿道炎を含む尿路感染症を含むが、これらに限定されない、細菌感染症によって引き起こされる疾患または状態に対して有効であると考えられる。

【0176】

本発明の処置の方法において、亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩は、一緒に、同時に、連続してまたは任意の順序で投与され得る。いくつかの態様において、亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩は、同じ経路によって一緒に投与される。亜鉛イオノフォアおよび薬学的に許容される亜鉛(II)塩の組み合わせ、または亜鉛(II)錯体、および抗生物質は、一緒に、同時に、連続してまたは任意の順序で投与され得る。亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩、または亜鉛(II)錯体、および抗生物質の投与経路は、同じであっても異なってもよい。亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩、または亜鉛(II)錯体、および抗生物質についての用量投与レジメは、同じであっても異なってもよく、各々、連続的、逐次的または散発的であり得る。いくつかの態様において、成分は、共製剤として一緒に投与され得る。いくつかの態様において、それらは、同じまたは異なる投与経路によって、同時にまたは任意の順序で連続して投与され得る。

40

【0177】

50

療法における使用について、本発明の、亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩、または亜鉛(II)錯体は、非希釈形態で投与され得ることが可能であるが、しかし、式Iの亜鉛(II)錯体を薬学的組成物として提供することが好ましい。

【0178】

従って、本発明のさらなる局面において、本発明の、亜鉛イオノフォアおよび亜鉛(II)塩、または亜鉛(II)錯体、および少なくとも1つの薬学的に許容される担体、賦形剤または希釈剤を含む、薬学的組成物を提供する。

【0179】

担体は、組成物の他の成分と適合性でありかつそのレシピエントに有害でないという意味で「許容され」なければならない。

【0180】

本発明によれば、亜鉛(II)錯体または亜鉛(II)塩は、対象に無毒である治療レジメ下で投与される。亜鉛(II)錯体、または亜鉛(II)塩/亜鉛イオノフォア組み合わせは、単位用量形態で投与され得る。

【0181】

本発明の薬学的組成物または本発明の方法において使用される組成物は、当技術分野において公知の方法を使用して製剤化および投与され得る。製剤化および投与についての技術は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Loyd V. Allen, Jr (Ed), The Pharmaceutical Press, London, 22nd Edition, September 2012において見出され得る。

【0182】

本発明の組成物は、任意の経路による投与のために製剤化され得る。いくつかの態様において、組成物は経口投与用に製剤化される。経口製剤は、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、または液体調製物の形態であり得る。いくつかの態様において、組成物は局所投与用に製剤化される。局所製剤は、クリーム剤、ローション剤、軟膏剤、またはゲル剤の形態であり得る。いくつかの態様において、組成物は、例えば、筋肉内、髄腔内、腹腔内、膀胱内または静脈内経路による、非経口投与用に製剤化される。

【0183】

抗生物質は、薬学的組成物の形態で少なくとも1つの薬学的に許容される担体と共に適切に投与される。いくつかの態様において、抗生物質は、例えば、静脈内に、膀胱内にまたは筋肉内に、適切に非経口投与される。従って、投与用の好適な組成物は、注射用液体製剤、例えば、無菌非経口液剤または懸濁剤である。いくつかの態様において、抗生物質は、適切に経口投与される。

【0184】

本発明の亜鉛(II)組成物と組み合わせて使用される抗生物質の好適な単位投薬量および最大一日投薬量は、所与の抗生物質について通常使用される単位用量および最大一日用量に従って決定され得る。従って、抗生物質は、例えば、250 mg ~ 750 mg 静脈内(IV)もしくは経口6時間毎から500 mg ~ 1 g IVもしくは経口6 ~ 8時間毎までの一日投薬量で、およそ50 mg/Kg/日または4 g/日の最大用量で、患者へ投与され得る。

【0185】

投与される亜鉛イオノフォアに対する亜鉛(II)塩の量は変動し、状況および投与経路に従って決定することができる。いくつかの態様において、亜鉛(II)塩：イオノフォアのモル比はおよそ1:2である。投与される抗生物質に対する、亜鉛(II)錯体、または亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアの量は変動し、状況および投与経路に従って決定することができる。投与される、亜鉛(II)錯体、または亜鉛塩/亜鉛イオノフォアの量は、対象に無毒であるべきである。いくつかの態様において、投与される亜鉛の量は、2 ~ 100 mg/Kg/日、例えば：2.5 ~ 50 mg/Kg/日；2.5 ~ 30 mg/Kg/日；2.5 ~ 25 mg/Kg/日または2.5 ~ 10 mg/Kg/日（経口）である。いくつかの態様において、投与される亜鉛の量は、50 mg/Kg/日、例えば、20 mg/Kg/日、または10 mg/Kg/日（経口）を超えない。投与される抗生物質に対する、亜鉛(II)イオン：亜鉛イオノフォア、または亜鉛(II)錯体の比率は、変動

10

20

30

40

50

し、状況および投与経路に従って決定することができることが認識されるだろう。さらに、同じ経路による共投与についての比率は、分離した経路による投与についての比率と異なっているかもしれない。いくつかの態様において、抗生物質：亜鉛(II)イオンのモル比は25:1～1:10である。いくつかの態様において、抗生物質：亜鉛(II)イオンのモル比（亜鉛イオノフォアと組み合わせてまたは亜鉛配位錯体の一部としてにかかわらず）は、10:1～1:6；5:1～1:5または10:1～1:1である。投与される亜鉛(II)塩：亜鉛イオノフォアの比も変動し得る。いくつかの態様において、亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアは、およそ1:4～4:1、例えば、1:2～2:1、またはおよそ1:2もしくは1:1の比である。いくつかの態様において、亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアの組み合わせは、化学量論過剰量の亜鉛(II)塩、例えば、1:4～1:400のイオノフォア:亜鉛のモル比を含む。

10

【0186】

本明細書上に記載されるような、亜鉛(II)錯体もしくはその薬学的に許容される誘導体、または亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアもしくはその薬学的に許容される誘導体は、対象へ投与される唯一の活性成分であり得る。しかし、好ましい態様において、亜鉛(II)錯体または亜鉛(II)塩/亜鉛イオノフォア組み合わせは、他の治療剤と共に投与される。例えば、亜鉛組成物は、組み合わせて1つまたは複数の治療剤と共に投与され得る。組み合わせは、他の活性成分と分離した、連続したまたは同時の本明細書上に記載されるような化合物の投与を可能にし得る。組み合わせは薬学的組成物の形態で提供され得る。1つまたは複数の他の活性成分と共に投与は本発明の範囲内にある。

【0187】

20

一局面において、本発明の組み合わせは、細菌感染症の処置における使用のためのその必要がある患者への該組み合わせの同時投与、分離投与、または連続投与についての説明書と一緒に、活性成分として、亜鉛(II)塩、亜鉛イオノフォアを含む薬学的組成物と、薬学的活性成分（例えば、抗生物質）を含む1つまたは複数のさらなる薬学的製剤とを組み合わせる、キットまたはコマーシャルパッケージとして適切に提供される。

【0188】

別の局面において、本発明の組み合わせは、細菌感染症の処置における使用のためのその必要がある患者への該組み合わせの同時投与、分離投与、または連続投与についての説明書と一緒に、活性成分として、亜鉛(II)錯体を含む薬学的組成物と、薬学的活性成分（例えば、抗生物質）を含む1つまたは複数のさらなる薬学的製剤とを組み合わせる、キットまたはコマーシャルパッケージとして適切に提供される。

30

【0189】

いくつかの態様において、本発明の組み合わせは、組み合わせの成分が単一の实体または投薬形態の形態で、患者へ投与される単位用量または固定用量組み合わせである。

【0190】

いくつかの好ましい態様において、亜鉛(II)錯体、または亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォアは、抗生物質、および任意で、1つまたは複数の薬学的活性成分と共に投与される。いくつかの態様において、抗生物質は、コリスチン、ポリミキシンB、テトラサイクリン、チゲサイクリン、ドキシサイクリン、オキサシリン、エリスロマイシン、アンピシリン、バンコマイシン、ペニシリン、またはクロラムフェニコールである。いくつかの態様において、亜鉛(II)錯体、または亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォア、ならびに抗生物質は、例えば、細菌耐性の他のインヒビター、抗生物質増強剤、抗生物質もしくは抗生物質アジュバント、例えば、 β -ラクタマーゼ阻害薬、例えば、クラバン酸；または他の抗生物質アジュバント、例えば、シラスタチン、タゾバクタム、およびスルバクタムより選択される1つまたは複数のさらなる活性成分と共に投与される。いくつかの態様において、亜鉛(II)錯体、または亜鉛(II)塩および亜鉛イオノフォア組み合わせは、1つまたは複数の抗生物質、例えば、 β -ラクタム抗生物質、例えば、カルバペネム類、ペニシリン類またはセファロsporin類；マクロライド類、例えば、エリスロマイシン、クラリスロマイシン、またはアジスロマイシン；フルオロキノロン類、例えば、シプロフロキサシンまたはノルフロキサシン；スルホンアミド類、例えば、コトリモキサゾールまたはトリメトプリム；テトラサ

40

50

イクリン類、例えば、テトラサイクリンまたはドキシサイクリンと共に投与される。

【0191】

当業者によって容易に認識されるように、投与経路および薬学的に許容される担体の性質は、状態の性質および処置される哺乳動物に依存する。担体または送達システム、および投与経路の選択は、当業者によって容易に決定され得ると考えられる。化合物を含有する任意の製剤の調製において、化合物の活性がプロセスにおいて破壊されないこと、および化合物が破壊されることなくその作用部位に達することができることを確実にするために、注意が払われるべきである。いくつかの状況において、例えば、マイクロカプセル化またはコーティング（例えば、腸溶コーティングの使用）のような、当技術分野において公知の手段によって、化合物を保護することが必要であり得る。同様に、選択される投与経路は、化合物がその作用部位に達するようなものであるべきである。

10

【0192】

本発明はまた、外科的処置、静脈内注射、カテーテル挿入中などに細菌感染症に罹患することを減らすための予防薬としての、手術器具、注射針、カニューレ、縫合糸、ステープル、カテーテル、ステント、人工関節置換物などの上のコーティングとしての、本発明の組成物の使用を意図する。いくつかの態様において、カテーテルをコーティングするための本発明の組成物の使用を提供する。

【0193】

当業者は、従来のアプローチを使用して本発明の化合物について適切な製剤を容易に決定し得る。好ましいpH範囲および適切な賦形剤、例えば、抗酸化剤の特定は、当技術分野においてルーチンである。緩衝系は、所望の範囲のpH値を提供するためにルーチンに使用され、カルボン酸緩衝剤、例えば、酢酸塩、クエン酸塩、乳酸塩およびコハク酸塩を含む。フェノール化合物、例えば、BHTまたはビタミンEを含む、様々な抗酸化剤、および還元剤、例えば、メチオニンまたは亜硫酸塩が、そのような製剤について利用可能である。

20

【0194】

本明細書上に記載されるような化合物、またはその薬学的に許容される塩は、静脈内、髄腔内、および脳内または硬膜外送達に適したものを含む、非経口投薬形態で調製され得る。注射使用に適した医薬品形態としては、無菌注射液剤または分散剤、および無菌注射液剤の即時調製のための無菌散剤が挙げられる。それらは製造および貯蔵の条件下で安定であるべきであり、還元または酸化、および細菌または真菌のような微生物の汚染作用に対して保存され得る。

30

【0195】

注射液剤または分散剤のための溶媒または分散媒は、化合物についての従来の溶媒または担体系のいずれかを含有し得、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコールなど）、その好適な混合物、および植物油を含有し得る。適切な流動性は、例えば、レシチンのようなコーティングの使用によって、分散剤の場合は必要とされる粒度の維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持することができる。微生物の作用の防止は、必要に応じて、様々な抗細菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサルなどを含めることによってもたらされ得る。多くの場合、容量オスモル濃度を調節するための薬剤、例えば、糖類または塩化ナトリウムを含めることが好ましいであろう。好ましくは、注射用の製剤は血液と等張である。注射組成物の持続的吸収は、吸収を遅らせる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを組成物中に使用することによってもたらされ得る。注射使用に適した医薬品形態は、静脈内、筋肉内、脳内、髄腔内、硬膜外注射、膀胱内投与または注入を含む、任意の適切な経路によって送達され得る。いくつかの態様において、注射使用のための医薬品形態は、静脈内経路によって、または尿路カテーテルによる膀胱内投与によって、送達され得る。

40

【0196】

無菌注射液剤は、上に列挙されるもののような様々な他の成分と共に活性化化合物を必要量で適切な溶媒中に組み入れ、必要に応じて、濾過滅菌することによって、調製される

50

。一般に、分散剤は、様々な滅菌された活性成分を、基礎分散媒および上記に列挙されるものからの必要とされる他の成分を含有する無菌ビヒクル中へ組み入れることによって調製される。無菌注射液剤の調製についての無菌散剤の場合、好ましい調製方法は、活性成分 + 任意の追加の所望の成分の事前に滅菌濾過された溶液の真空乾燥または凍結乾燥である。

【 0 1 9 7 】

他の医薬品形態としては本発明の経口および経腸製剤が挙げられ、ここで、活性化合物は不活性希釈剤と共にもしくは食用担体と共に製剤化され得、またはそれは硬質もしくは軟質ゼラチンカプセル剤中に封入され得、またはそれは錠剤へ圧縮され得、またはそれは食事の食品と直接組み合わせられ得る。経口治療薬投与について、活性化合物は、賦形剤と組み合わせられ、摂取可能な錠剤、バツカル錠もしくは舌下錠、トローチ剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、カシェ剤などの形態で使用され得る。そのような治療的に有用な組成物中の活性化合物の量は、好適な投薬量が得られるようなものである。

10

【 0 1 9 8 】

錠剤、トローチ剤、丸剤、カプセル剤などはまた、以下に列挙されるような成分を含有し得る：結合剤、例えば、ゴム、アカシア、トウモロコシデンプンまたはゼラチン；賦形剤、例えば、リン酸二カルシウム；崩壊剤、例えば、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン、アルギン酸など；滑沢剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム；および甘味剤、例えば、スクロース、ラクトースもしくはサッカリンが添加され得る；または香味剤。投薬単位形態がカプセル剤である場合、それは、上記のタイプの材料に加えて、液体担体を含有し得る。様々な他の材料が、コーティングとして、またはそうでなければ投薬単位の物理的形態を改変するために、存在し得る。例えば、錠剤、丸剤、またはカプセル剤は、シェラック、砂糖または両方でコーティングされ得る。シロップ剤またはエリキシル剤は、活性化合物、および甘味剤、保存剤、色素または香味剤を含有し得る。

20

【 0 1 9 9 】

液体製剤はまた、胃または食道管を介して腸内に投与され得る。

【 0 2 0 0 】

任意の投薬単位形態の調製において使用される任意の成分は、薬学的に純粋であり、用いられる量で実質的に無毒であるべきである。

30

【 0 2 0 1 】

本発明はまた、投与に適した任意の他の形態、例えば、局所適用、例えば、クリーム剤、ローション剤およびゲル剤；経腸製剤、例えば、坐剤；または吸入もしくは鼻腔内送達に適した組成物、例えば、液剤、乾燥散剤、懸濁剤もしくは乳濁剤に及ぶ。

【 0 2 0 2 】

薬学的に許容されるビヒクルおよび/または希釈剤は、ありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含む。薬学的活性物質についてのそのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野において周知である。任意の従来の媒体または薬剤が活性成分と不適合性である場合を除いて、治療用組成物中のその使用が意図される。補足の活性成分もまた組成物中へ組み入れることができる。

40

【 0 2 0 3 】

投与の容易さおよび投薬量の均一性のために投薬単位形態で組成物を製剤化することが有利であり得る。投薬単位形態は、本明細書において使用される場合、処置される哺乳動物対象についての単位投薬量として適している物理的に分離した単位を指し；各単位は、必要とされる薬学的に許容されるビヒクルと協力して所望の治療効果をもたらすように計算された所定量の活性材料を含有する。本発明の新規の投薬単位形態についての仕様は、(a)活性材料の独自の特徴および達成される特定の治療効果、ならびに(b)身体の健康が損なわれる病的状態を有する生存対象における疾患の処置のために活性材料を調合する技術分野において固有の制限によって決定され、これらに直接依存する。

【 0 2 0 4 】

50

上述したように、主要活性成分は、投薬単位形態での好適な薬学的に許容されるピヒクルと共の治療有効量での便利で有効な投与のために調合され得る。単位投薬形態は、例えば、 $0.25\text{ }\mu\text{g}$ ～約200 mgの範囲の量で主要活性化合物を含有することができる。割合で表される場合、活性化合物は、約 $0.25\text{ }\mu\text{g}$ ～約200 mg/担体のmLで存在し得る。補足の活性成分を含有する組成物の場合、投薬量は、該成分の通常の用量および投与様式を参照することによって決定される。

【0205】

用語「治療有効量」および「有効量」は、動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはそのような処置の必要があるヒトへ投与されると、下記に定義されるような、処置をもたらすために十分である量を指す。治療有効量または有効量は、対象、および処置される症状、疾患または状態の性質、症状、疾患または状態の重症度、および投与の様式に依存して変動し、当業者によってルーチンに決定され得る。

10

【0206】

本発明を、次に、いくつかの具体例および図面を参照して記載する。しかし、下記の説明の特殊性は、本明細書上に記載されるような本発明の一般性にとって代わるものではないことが理解されるだろう。

【実施例】

【0207】

材料および方法

材料

20

硫酸亜鉛および塩化亜鉛をSigma-Aldrich (Castle Hill, NSW, Australia)から購入した。亜鉛イオノフォアであるクリオキノール(CQ)もSigma-Aldrichから購入した。亜鉛イオノフォアPBT2およびRA-HQ-12は、Mark von Itzstein教授のグループ(Glycomics Institute, Griffith University, Queensland, Australia)によって合成された。抗生物質をSigma-Aldrich (Castle Hill, NSW, Australia)から購入した。

【0208】

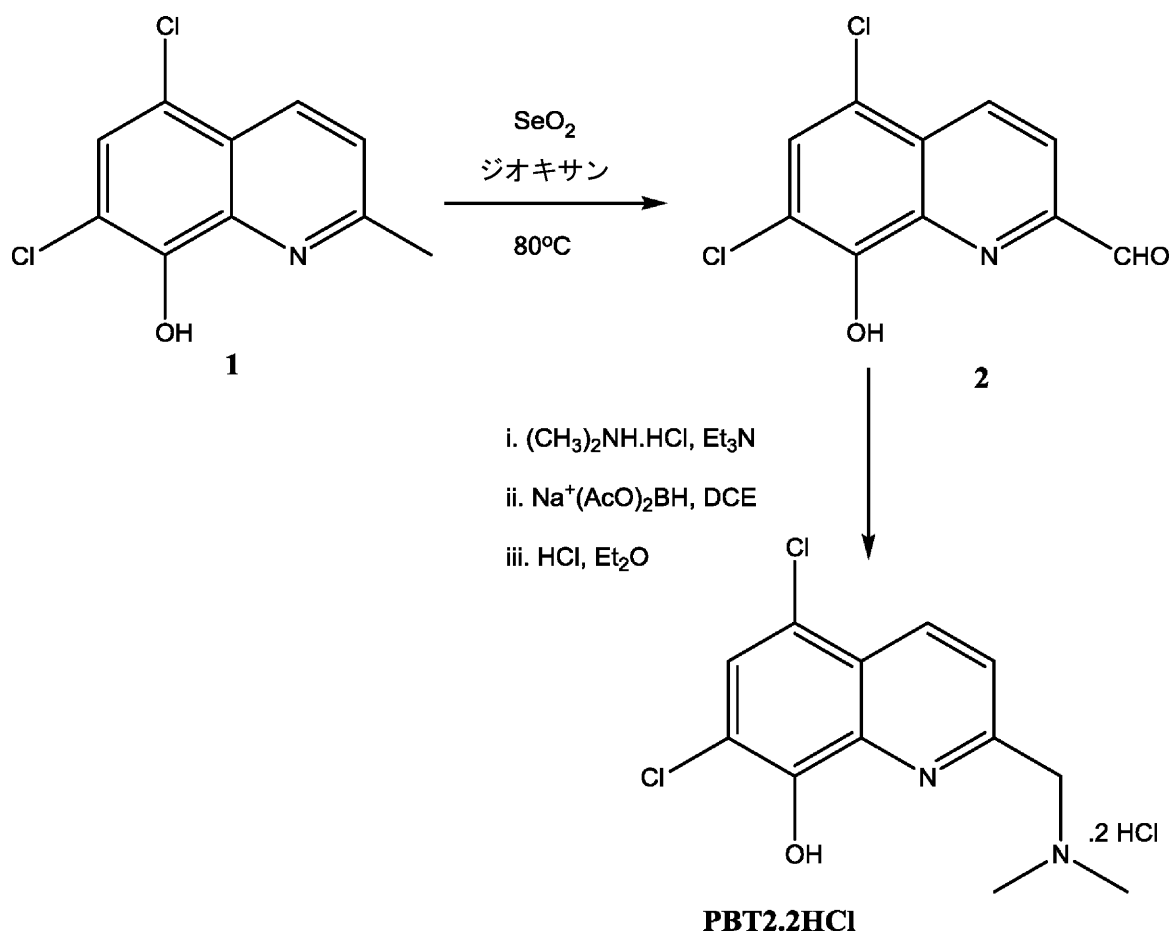
PBT2およびRA-HQ-12合成

PBT2はUS 20080161353 A1に従う下記の合成経路に従って合成した。

30

40

50



【 0 2 0 9 】

最初に、5,7-ジクロロ-2-メチル-8-オール(1)のメチル側鎖の酸化を、1,4-ジオキサン中において二酸化セレンと共に1を加熱することによって達成し、アルデヒド2が定量的収率で得られた。結果として得られた粗生成物を、次いで、1,2-ジクロロエタンおよびトリエチルアミン中においてジメチルアミン塩酸塩とさらに反応させ、生成物が得られ、これをナトリウムトリアセトキシボロヒドリドでの処理によってインサイチュで還元し、PBT2の遊離アミンがオイルとして得られた。HClでの遊離アミンの酸性化後、PBT2塩酸塩が収率81%で得られた。純度は 95%であった(^1H および ^{13}C NMR解析)。

【 0 2 1 0 】

RA-HQ-12は、WO 2017/053696 (University of Florida Research Foundation Incorporated)第114、115および121頁に記載される方法に従って調製した。

【 0 2 1 1 】

一般的な合成法

商業的供給源から購入した試薬および乾燥溶媒をさらに精製することなく使用した。無水反応を、オープン乾燥されたガラス製品を使用して、アルゴン雰囲気下で行った。Silica Gel 60 F254 (E. Merck)でプレコーティングされたアルミニウムプレート上で薄層クロマトグラフィー(TLC)を使用して、反応をモニタリングした。展開されたプレートを、254 nmでのUV光下で観察し、次いで、EtOH中の H_2SO_4 の溶液(5% v/v)の適用および加熱後に可視化した。フラッシュクロマトグラフィーを、蒸留された溶媒を使用してSilica Gel 60 (0.040-0.063 mm)において行った。 ^1H および ^{13}C NMRスペクトルを、Bruker Avance 400 MHz分光計において、それぞれ400および100 MHzで記録した。化学シフト()は、内部基準 $[\text{CDCl}_3]$: ^1H について7.26 (s)、 ^{13}C について77.0 (t)]としての残存溶媒ピークに対して、百万分率で報告される。低分解能質量スペクトル(LRMS)を、ポジティブイオン化モードを使用して、Bruker Daltonics Esquire 3000 ESI分光計において、

エレクトロスプレーイオン化モードで、記録した。最終生成物3の純度は、 ^1H および ^{13}C NMRによって 95%であると判断された。

【 0 2 1 2 】

5,7-ジクロロ-8-ヒドロキシ-2-キノリンカルボキシアルデヒド(2)

55 での1,4-ジオキサン(80 mL)中の二酸化セレン(1.75 g, 15.80 mmol)の攪拌懸濁液へ、3時間にわたって滴下様式で1,4-ジオキサン(20 mL)中の5,7-ジクロロ-2-メチルキノリン-8-オール(2.0 g, 8.77 mmol)の溶液を添加した。添加完了後、加熱温度を80へ上げ、加熱を一晩維持した。反応混合物を、次いで、室温へ冷却し、不溶性固体をセライトベッド上で濾別した。濾液を真空下で濃縮し、残渣をジエチルエーテル(10 mL x 3)で洗浄し、2.10 g(定量的収率)のアルデヒド2が黄色粉末として得られ、これをさらに精製することなく以下の工程において使用した。

10

【 0 2 1 3 】

5,7-ジクロロ-2-((N,N-ジメチルアミノ)メチル)キノリン-8-オールHCl塩(3, PBT2 HCl)

1,2-ジクロロエタン(100 mL)中の粗製アルデヒド2(2.0 g, 8.26 mmol)およびジメチルアミン塩酸塩(730 mg, 8.96 mmol)の攪拌溶液へ、滴下様式でトリエチルアミン(1.25 mL, 8.96 mmol)を添加した。混合物を室温(RT)で5分間攪拌し、次いでナトリウムトリアセトキシボロヒドリド(2.4 g, 11.32 mmol)を5分間にわたって少しずつ添加した。混合物を次いでRTで一晩攪拌した。反応完了後、反応混合物をジクロロメタン(200 mL)で希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム(100 mL x 3)で洗浄した。有機層を次いで無水 Na_2SO_4 で乾燥し、真空下で濃縮し、PBT2の遊離アミン塩基の油状生成物が得られた。油状生成物を水(100 mL)で粉砕し、ジエチルエーテル 100 mL x 4)で抽出した。エーテル抽出物を合わせ、鹹水で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し、真空下で濃縮した。得られた残渣へ10 mLの濃HCl (38% HCl)を添加し、混合物を真空中で濃縮した。結果として生じた残渣をジクロロメタン(50 mL x 3)で洗浄し、2.30 gのPBT-HCl塩が淡黄色粉末(81%収率)として得られた。

20

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.32 (s, 6H, 2NCH₃), 3.78

(s, 2H, CH₂), 7.51 (s, 1H, H-6), 7.61 (d, J = 8.7 Hz, 1H H-4), 8.39 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-3);

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): δ 45.64 (NCH₃), 45.64 (NCH₃), 65.46 (CH₂), 115.51 (C-7),

120.35(C-5), 122.26 (C-3), 124.07 (q 炭素), 127.76 (C-6), 133.83 (C-4), 138.16 (q 炭素),

30

147.98 (C-8), 158.93 (C-2); LRMS [$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$] (m/z): (ポジティブ(+ve)イオンモード) 272.0 [M+H]⁺.

【 0 2 1 4 】

方法

細菌株、培地および増殖条件

GAS HKU16、MRSA USA300、VRE RBWH1、肺炎桿菌株MS6771、大腸菌株MS83 45および肺炎連鎖球菌株23Fを、Todd-Hewittブロス(THB)もしくは1%酵母エキスを含む寒天培地(THY) [Todd, E. W. & Hewitt, L. F. A new culture medium for the production of antigenic streptococcal haemolysin. J. Path. Bact. 35, 973-974 (1932)] または陽イオン調整Mueller-Hintonブロス(MHB) [Mueller, J. H. & Hinton, J. A Protein-free Medium for Primary Isolation of the Gonococcus and Meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med 48, 330-333 (1941)] もしくは寒天培地 (HKU16および肺炎連鎖球菌について2.5%溶解ウマ血液(LHB)が補われた) 中で増殖させた。細菌を周囲空気中にて37 でルーチンに増殖させた。

40

【 0 2 1 5 】

肺炎桿菌株MS6771および肺炎連鎖球菌株23Fは以前記載された (Zowawi HM, Forde BM, Alfaresi M, Alzarouni A, Farahat Y, Chong TM, Yin WF, Chan KG, Li J, Schembri MA, Beatson SA, Paterson DL. Stepwise evolution of pandrug-resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Sci Rep. 2015 5:15082. doi: 10.1038/srep15082; B

50

arnes DM, Whittier S, Gilligan PH, Soares S, Tomasz A, Henderson FW. Transmission of multidrug-resistant serotype 23F *Streptococcus pneumoniae* in group day care: evidence suggesting capsular transformation of the resistant strain in vivo. *J Infect Dis.* 1995 171:890-6)。大腸菌株MS8345は、D.L. Paterson 教授、University of Queensland Centre for Clinical Researchによって提供された MCR-1 耐性臨床分離株である。

【0216】

緑膿菌株253-43-CおよびA.バウマンニ株42-Aは、コリスチン耐性臨床分離株である。それらは、Jan Bell, Australian Centre of Microbial Resistance Ecology (ACARE), University of Adelaide, Australiaから得られた。それらの生物を、Todd-Hewittブロス(THB)もしくは1%酵母エキスを含む寒天培地(THY)中においてまたは陽イオン調整 Mueller-Hintonブロス(MHB)中において、上述のように増殖させた。

10

【0217】

滴下試験アッセイ

細菌を一晚培養物から希釈し、THY中において0.01の出発OD₆₀₀を得た。いったん細菌が0.6のOD₆₀₀まで増殖したら、培養物をPBS中に連続希釈し、5 μ Lの各希釈物(非希釈、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5})を、亜鉛(400 μ M)および/またはPBT2(1 μ M)有りまたは無しでTHY寒天プレート上に平板培養した。プレートを37℃で一晩インキュベートした。滴下試験を生物学的トリプリケートで行った。

【0218】

誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)

細菌の一晚培養物を、45 mL MHB (+/-2.5% LHB)中において0.05のOD₆₀₀まで希釈し、中期対数期まで増殖させた。細胞を8 $\times 10^8$ にて7分間7,000 x gで採取した。ペレットを、5 mM EDTAを含有する20 mL PBS中に再懸濁し、8 $\times 10^8$ にて7分間7,000 x gで再びペレット化した。洗浄をさらに2回繰り返し、次いでペレットを、EDTAを含まない20 mL PBS中に再懸濁した。細胞を8 $\times 10^8$ にて7分間7,000 x gで再び採取し、次いで、ペレットをPBSで洗浄した。遠心分離後、ペレットを1 mL PBS中に再懸濁し、エッペンチューブ中へ移した。細胞を8 $\times 10^8$ にて7分間18,000 x gでペレット化し、上澄みを除去し、ペレットを96ウェルで一晩乾燥させた。乾燥ペレットを量り、乾燥細胞重量を決定し、1 mLの35% HNO₃中に再懸濁し、96ウェルへ60分間注意深く加熱した。ボルテックス後、サンプルを18,000 x gで25分間遠心分離し、細胞片をペレット化した。ICP分析のために、200 μ Lの上澄みを1.8 mLの再蒸留H₂O中へ希釈した。サンプルをAgilent 7500cx ICP-MS (Adelaide Microscopy, University of Adelaide)において分析した。生物学的トリプリケートを分析した。

20

30

【0219】

最小阻止濃度(MIC)決定

MICをCLSIガイドラインに従うブロス微量希釈によって決定した(「Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically」, Clinical and Laboratory Standards Institute) [Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27th Edition. (2017)]. MICアッセイを1ウェル当たり100 μ Lの総体積で96-ウェルプレート中において行った。MRSA、VRE、肺炎桿菌および大腸菌については、アッセイをMHB中において行い、GASおよび肺炎連鎖球菌についてはMHB + 2.5%溶解ウマ血液(LHB)を使用した。細菌接種材料を、1ウェル当たり2-8 $\times 10^5$ コロニー形成単位(CFU)/mL細菌を目指して直接コロニー懸濁によって調製した。抗生物質/化合物を96-ウェルプレートにわたって2倍連続希釈し、最後のカラムは抗生物質/化合物を含有しなかった。接種材料を、抗生物質/化合物を含有するプレートへ添加し、35 +/- 2℃で16~24時間インキュベートした。目に見える増殖を示さなかった抗生物質/化合物の最低濃度として、MICを決定した。MICアッセイを生物学的トリプリケートで行った。

40

【0220】

50

耐性発現研究

抗生物質/化合物に対する耐性の発現を、本質的に以前記載されたように行った [(Ling, L. L. et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 520, 388, doi:10.1038/nature14303 (2015)]。サブ阻害濃度のPBT2および亜鉛の存在下でのGAS、MRSAおよびVREについての耐性発現を調べるために、細菌を30日間にわたって連続継代した。対照として、抗生物質シプロフロキサシンをGASおよびMRSAについて使用し、クロラムフェニコールをVREについて使用した。最初に、PBT2-亜鉛または抗生物質についてのMICを、マイクロタイタープレート中においてCLSIガイドラインに従うプロス微量希釈によって決定した。一晚インキュベーション後に依然として増殖を示した最も高い抗生物質またはPBT2-亜鉛濃度を、抗生物質またはPBT2-亜鉛の2倍希釈物を含有する新しいマイクロタイタープレート中へ1/250希釈した。この手順を30日間繰り返した。アッセイを生物学的トリプリケートで行った。

10

【0221】

細菌タイムキルアッセイ

細菌をTHY中において中期対数期まで増殖させ、次いで、THYのみ、またはPBT2 (GASについては2 μ MまたはMRSAおよびVREについては6 μ M) および/もしくはZnSO₄ (GASについては400 μ MならびにMRSAおよびVREについては600 μ M) を含有するTHY中において、0.05の出発OD₆₀₀まで希釈した。細菌の生存数を決定するために、アリコート

を0、1、2、4、6および24時間で除去し、PBS中に連続希釈し、THY寒天プレート上へ平板培養した。37℃で一晩インキュベーション後、生存可能な細菌をカウントした。タイムキルアッセイを生物学的生物学的デュプリケートで行った。

20

【0222】

マウス創傷感染モデル

創傷感染について、4~7週齢雌性BALB/cマウスを使用し、個々のケージに収容した [Pandey, M. et al. A synthetic M protein peptide synergizes with a CXC chemokine protease to induce vaccine-mediated protection against virulent streptococcal pyoderma and bacteremia. *J Immunol* 194, 5915-5925, doi:10.4049/jimmunol.1500157 (2015)]。実験前に、マウスの頸部を剃り、Nair (Church & Dwight)を使用して残存している体毛を除去した。感染の日に、マウスをメトキシフルランの吸入によって麻酔し、金属やすりを使用して、剃られた皮膚上に小さな表面的な乱切を作った。感染のために、5x10⁶~2x10⁷ CFU GASまたは5x10⁵~2x10⁶ CFU MRSA/VREを乱切皮膚上へ適用した。接種材料が皮膚によって吸収された後(およそ10分間)、軟膏剤のみ(Pharmacy Choice水性クリーム)、またはPBT2および/もしくは亜鉛および/もしくは抗生物質(GASについてはテトラサイクリン; VREについてはバンコマイシン)を含有する軟膏剤で、マウスを処置した。マウスを軟膏剤で1日2回処置し、合計9回の処置を適用した。各処置は、およそ25~30 mg軟膏剤からなり、5 mM PBT2および/または50 mM ZnSO₄ (MRSAおよびVRE) もしくは50 mM ZnCl₂ (GAS) を含有した。抗生物質を含む実験について、軟膏剤は、2 mM PBT2および/または25 mM ZnSO₄ および/または1.5%テトラサイクリンもしくはバンコマイシンを含有した。4日間処置後、マウスを安楽死させ、乱切皮膚を切除し、30秒間ボルテックスすることによってPBS中において2回洗浄した。皮膚を、次いで、FastPrep機器(MP Biomedicals)を使用して溶解マトリクスFチューブ中にホモジナイズし、THYプレート上に平板培養し、生存可能な細菌を決定した(GASについてはホモジネートを10 μ g/mLネオマイシンを含むTHY上に、MRSAおよびVREについては10 μ g/mLアンピシリンを含むTHY上に平板培養した)。各処置群は6匹のマウスを含有し、対応のないt検定(ノンパラメトリック)を使用して統計的有意性を計算した。

30

40

【0223】

マウス全身感染モデル

全身感染について、雌性CD1マウスに1.4x10⁵ CFUの肺炎桿菌株52.145 mgrB (Kidd et al., A *Klebsiella pneumoniae* antibiotic resistance mechanism that subd

50

ues host defences and promotes virulence, EMBO Mol Med. 2017 Apr;9(4):430-447. doi: 10.15252/emmm.201607336) を腹腔内注射によって感染させた。感染4時間後、マウスコホート(n=10)を毎日の腹腔内注射で処置した(3日間に及ぶ)。各処置は、dH₂O中2% (v/v) DMSO 100 µL中に作られたPBT2(1.67 mg/kg)およびコリスチン硫酸塩(0.05 mg/kg)の組み合わせからなった。陰性対照マウスにdH₂O中2% (v/v) DMSO 100 µLを投与した。生存を5日間モニタリングした。

【0224】

RNA単離

FastRNA (登録商標) Pro Blue Kit (MP Biomedicals)およびSV Total RNA Isolation System (Promega)を使用して、RNAを単離した。簡潔には、細菌を、PBT2および/またはZnSO₄の存在下または非存在下でMHB (GASについては+2.5% LHB) 中において中期対数期 (OD₆₀₀ 0.4 ~ 0.5) まで増殖させた。2体積のRNAprotect (Qiagen)を培養物へ添加し、サンプルを次いで4にて5,000 x gで25分間遠心分離し、細胞をペレット化した。乾燥ペレットを-80で一晩保管し、次いで1 mL RNA pro溶液(FastRNA (登録商標) Pro Blue Kit)中に再懸濁した。サンプルを溶解マトリクスBへ移し、FastPrep機器(MP Biomedicals)中において処理した。4にて13,000 x gで15分間遠心分離後、上澄みを新鮮なチューブへ移し、室温で5分間インキュベートした。300 µlクロロホルムを添加し、混合物を10秒間ボルテックスした。室温で5分間インキュベーション後、上相を、200 µlの冷95% EtOHを含有する新鮮なチューブへ移動した。サンプルを氷上に少なくとも5分間置き、次いで、SV Total RNA Isolation Systemスピナラム中へ移した。サンプルを製造業者の説明書に従って処理し、110 µlのヌクレアーゼフリー水中に溶出した。DNAの完全な除去を保証するために、RNAを次いで製造業者の説明書に従ってTURBO DNAフリーキット(Thermo Fisher Scientific)を使用してさらに精製した。

【0225】

リアルタイムPCR

1 µgの単離RNAを、SuperScriptIII first-strand synthesis kit (Invitrogen)を使用してcDNAへ変換した。リアルタイムPCRを、製造業者の説明書に従ってSYBR Green Master Mix (Applied Biosystems)を用いて行った。測定を、以下の条件を使用してViiA7リアルタイムPCRシステム(Life Technologies)を使用して行った: 95 10分間、40 サイクルの95 15秒間、および60 1分間、ならびに最終解離サイクルの95 2分間、60 15秒間、および95 15秒間。参照遺伝子としてproS (GAS)、rrsA (MRSA)および23S (VRE)を使用して、CT法によって、相対的遺伝子発現を計算した。全ての実験を生物学的トリプリケートで行い、技術的トリプリケートで測定した。リアルタイムPCRのために使用されたプライマーを表A (下記)に与える。

【0226】

(表A) リアルタイムPCRのために使用されたプライマー

10

20

30

40

50

GAS		
<i>proS</i>	Fwd	AGCTGATCTCTGGCGTGAAT
<i>proS</i>	Rev	GGGTACGAAGCAAGCCATTA
<i>mtsA</i>	Fwd	CAATCGGTCAAGACCCTCAT
<i>mtsA</i>	Rev	CCATCAGACACGGCAAAGTA
<i>czcD</i>	Fwd	ATTGCACCTTGCACCATGAA
<i>czcD</i>	Rev	ACCATCCATCGACCAAACAT
<i>glnA</i>	Fwd	TGGATCAGGGATGCACTGTA
<i>glnA</i>	Rev	CCCAAGCGACATAAACAGGT
<i>copA</i>	Fwd	TCGAAGCTTTGCATCAACTG
<i>copA</i>	Rev	GAGCGGAGGTCTGCTATCAC
<i>dacC</i>	Fwd	AACACGCCAGCTTATGCTCT
<i>dacC</i>	Rev	CCTGATGCTGCCACAAGTAA
<i>AdcB</i>	Fwd	ATGGCGGTAGTTGCCATTAG
<i>AdcB</i>	Rev	CAAAATCGCCGTTGAAATCT
<i>mgA</i>	Fwd	CTGCCGTCTACGACAACAAA
<i>mgA</i>	Rev	CCCGTTGGTGAGTCTTGTTT
MRSA		
<i>rrsA</i>	Fwd	GAAAGCCACGGCTAACTACG
<i>rrsA</i>	Rev	CATTTCACCGCTACACATGG
<i>znuC</i>	Fwd	CCGTTTGTCGGAATTGATTT
<i>znuC</i>	Rev	TGCTCCTTTGACTAGGGTCAC
<i>zntA</i>	Fwd	CGGTGTAAATGATGCACCTG
<i>zntA</i>	Rev	TAGCCGAATGCCCAAAATAG
<i>copZ</i>	Fwd	GAGCTGTGGTCACTGCAAAA
<i>copZ</i>	Rev	CCTTGATCTTCAATTGCGTCT
<i>sek</i>	Fwd	CATTTATGGACATAACGGCACT
<i>sek</i>	Rev	TTGGTAACCCATCATCTCCTG
<i>glnA</i>	Fwd	AAAATGCACGCGGATTACT
<i>glnA</i>	Rev	GGGTTTGCAGCTGGATCTAC
<i>frmA</i>	Fwd	TTGGGGATATCAGGTTTTCG
<i>frmA</i>	Rev	TCCCGCTAGTTTAGCTCCAA
<i>czcD</i>	Fwd	GTTCAAGTTGGCGCCATTACT
<i>czcD</i>	Rev	ACATGGCAATCATGCACACT
VRE		
<i>23S</i>	Fwd	CTGCATTCCTTAGCCTCCTG
<i>23S</i>	Rev	CTAAGGTTTCCTGGGGAAGG
<i>glnA</i>	Fwd	CCGTTATTTGGGATCAATGG
<i>glnA</i>	Rev	TAGGCACGAGCATGTTTCAG
<i>mntB_2</i>	Fwd	CGACTGTCGCCGAAATAAAT

10

20

30

40

50

<i>mntB_2</i>	Rev	AAAAGCAATGGGGATGAATG
<i>copA</i>	Fwd	TCGGAACAAAAATCCCTGAG
<i>copA</i>	Rev	AAAAGAATCCGGATGACACG
<i>hyl</i>	Fwd	TGGGAAAGAGATGGAGATGG
<i>hyl</i>	Rev	AAATAGCTGGCATCGCTGTT
<i>ssaB_2</i>	Fwd	TCTTGGTATTAGCCGTTGC
<i>ssaB_2</i>	Rev	ATCGCTTGCCTTTTTGATGT
<i>zosA</i>	Fwd	ATTGTGCTTCCTTCGTGTCC
<i>zosA</i>	Rev	CAGCCGCTTCTTTAGGTGTC
<i>dps</i>	Fwd	CCTGCAACAAGTGTTTCCAA
<i>dps</i>	Rev	TACATTGCACCCAATGATGG

10

【 0 2 2 7 】

RNASeq解析

RNASeq解析はAustralian Genome Research Facilityで行った。Ribo-zero strand ed protocolを使用してライブラリーを調製した。簡潔には、rRNAをRibo Zeroで枯渇させ、RNAを断片化し（熱および二価カチオン）、第1鎖cDNA合成を、SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen)を用いて行った。第2鎖cDNA合成について、鎖をdUTPで「マーク」した。DNA断片の3'アデニル化を行い、続いてシーケンシングアダプターライゲーションを行った（アダプターおよびDNA断片のT-Aペアリングを利用）。ライブラリーをPCRによって増幅した（「マークされていない」第1鎖のみの増幅）。AgilentのBioanalyser DNA 1000チップまたはTapeStation D1K TapeScreenシステムのいずれかを使用して、ライブラリーを評価した。qPCRを使用して、個々のライブラリーを定量化し、その後、標準化し(2nM)、プールした。ライブラリーを、TruSeq PE Cluster Kit v3試薬を使用してIllumina cBotシステムによってプールおよびクラスター化し、続いて、110 (101リード1, 9サイクルインデックスリード)でTruSeq SBS Kit v3試薬でIllumina HiSeq 2500システムにおいて配列決定した。ライブラリーをHiSeq 2500 ultra-high-throughput sequencing system (Illumina)で配列決定し、100-塩基対末端リードをもたらした。1サンプル当たり平均4500万個のリードを作成し、デフォルトパラメーターを用いてSTAR Alignerの2-パス法を使用して、ブタ参照ゲノム(Sscrofa10.2)に対してマッピングした。これらのリードの80%が参照ゲノムヘユニークにヒットした。デュプリケートリードをPicardのMarkDuplicatesツールで表示した（<http://broadinstitute.github.io/picard>）。差次的遺伝子発現を、Degust（<http://victorian-bioinformatics-consortium.github.io/degest/>）を使用して解析し、R-Studio [RStudio Team. Integrated Development for R. . RStudio, Inc., Boston, MA (2015)] を使用して図を作成した。

20

30

40

【 0 2 2 8 】

VREの配列決定

RBWH1の完全なゲノム配列を決定するために、Pacific Biosciences RS IIプラットフォームを使用して、ロングリード分子リアルタイム(SMRT)シーケンシングを行った。HydroShear Plus (Digilab)を使用して、ゲノムDNAをせん断し、DNA Template Prep Kit 2.0 (Pacific Biosciences)を使用して、ライブラリーを調製した。シーケンシングを、XLポリメラーゼおよびSequencing Kit C2 (Pacific Biosciences)を用いて単一のSMRT細胞において行った。ロングリードのフィルタリングによって、4.8kbの平均ポリメラーゼリード長を有する147,593リードが同定された。ゲノムアセンブリ検証を助けるために、RBWH1をまたIllumina Next-seqにおいて配列決定し、150塩基のリード長を有

50

する対末端リードをもたらした。デノボアセンブリを、PacBio SMRT解析v2.3.0を使用して作製された修正PacBioロングリードを用いて、Unicycler v0.4.を使用して行った。アセンブリを手動で環状化し、染色体配列を作製した。

【 0 2 2 9 】

GAS株HKU16、MRSA株USA300、およびVRE臨床分離株RBWH1に対して抗菌剤として作用するPBT2の可能性

抗菌薬感受性試験についてのClinical and Laboratory Standards Instituteガイドライン [Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27th Edition. (2017)] を使用して、抗菌剤として作用するPBT2の可能性を、GAS株HKU16 (Tse, H. et al. Molecular characterization of the 2011 Hong Kong scarlet fever outbreak. J Infect Dis 206, 341-351, doi:10.1093/infdis/jis362 (2012)]、MRSA株USA300 [Diep, B. A. et al. Complete genome sequence of USA300, an epidemic clone of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Lancet 367, 731-739, doi:10.1016/S0140-6736(06)68231-7 (2006)]、およびVRE臨床分離株RBWH1に対して調べた。

【 0 2 3 0 】

使用した濃度で、PBT2も亜鉛(II)イオン (塩化亜鉛の形態) も抗菌活性を示さなかった。しかし、PBT2+塩化亜鉛の組み合わせは、各グラム陽性病原体に対して抗菌活性を示し (図1Aおよび表B)、作用様式は殺菌性であることがわかった (図1B)。

【 0 2 3 1 】

(表 B) PBT2および亜鉛はグラム陽性細菌性病原体に対して活性である

	GAS HKU 16	MRSA USA300	VRE RBWH1
PBT2	>30 μ M	3.75 μ M	1.9 μ M
亜鉛(II)イオン	2 mM	3 mM	3 mM
PBT2+Zn(II)イオン	4 μ M PBT2 + 800 μ M Zn	1 μ M PBT2 + 800 μ M Zn	1 μ M PBT2 + 800 μ M Zn
PBT2+Zn(II)イオン	8 μ M PBT2+ 25 μ M Zn	2 μ M PBT2 + 200 μ M Zn	2 μ M PBT2 + 200 μ M Zn

MIC値をCLSIガイドラインに従ってブロス微量希釈によって決定した ; n=3。

【 0 2 3 2 】

各病原体がPBT2+塩化亜鉛の組み合わせに対して耐性を発現する能力を調べた。グラム陽性病原体のいかなる耐性突然変異体も、サブ阻害濃度のPBT2+塩化亜鉛の存在下での30日間の連続継代後に同定されなかった (図1C)。創傷感染モデルを使用し、PBT2+亜鉛処置の効能を調べた [Pandey, M. et al. A synthetic M protein peptide synergizes with a CXC chemokine protease to induce vaccine-mediated protection against virulent streptococcal pyoderma and bacteremia. J Immunol 194, 5915-5925, doi:10.4049/jimmunol.1500157 (2015)]。PBT2+亜鉛(II)イオン (ZnCl₂またはZnSO₄のいずれかの形態) の適用は、感染部位での細菌負荷を有意に減少させた (図1D)。

【 0 2 3 3 】

サブ阻害濃度のPBT2+亜鉛(II)イオンに応答しての各グラム陽性病原体のトランスクリプトームの変化

PBT2+亜鉛(II)イオンでの処理の作用機序を、サブ阻害濃度のPBT2+亜鉛(II)イオンに
応答しての各グラム陽性病原体のトランスクリプトームの解析によって調べた。重金属ホ
メオスタシス遺伝子の転写の変化を、リアルタイムRT-PCRによって観察および確認した

(図2Aおよび2B)。

【0234】

PBT2+亜鉛(II)イオン処理に対する細菌転写応答は重金属流出系の誘導を含んだが、細菌細胞内亜鉛イオン濃度は、誘導結合プラズマ質量分析によって評価されたように、有意に上昇した(図2C)。さらに、いくつかの必須のビルレンスおよび代謝系の転写もまた、サブ阻害濃度のPBT2+亜鉛(II)イオンによって混乱させられた(図2Aおよび2B)。

【0235】

亜鉛(II)イオンは様々な抗生物質クラスに対して病原菌を再度感受性にする

PBT2+亜鉛(II)イオンの組み合わせによって誘導される細菌系に対する有意な転写変化を考慮して、そのような混乱が、そうでなければ耐性である細菌性病原体における抗生物質感受性を増強するかどうかを、テトラサイクリン耐性かつマクロライド耐性GAS株HKU16、ならびに多剤耐性株MRSA USA300およびVRE RBWH1ならびに肺炎連鎖球菌株23Fを使用して調べた。グラム陰性肺炎桿菌MS6771およびMCR1陽性大腸菌株MS8345の耐性も検査した。抗生物質のみの存在下で、MS6771、MS8345、23F、HKU16、USA300およびRBWH1は、いくつかの抗生物質クラスに対して耐性を示した。PBT2または亜鉛(II)イオンいずれか単独の添加は、通常、抗生物質耐性に影響を与えなかった。しかし、サブ阻害濃度のPBT2+亜鉛(II)イオンの添加は、以下の抗生物質に感受性となった耐性細菌株を生じさせた：肺炎桿菌MS6771は、コリスチン、ポリミキシンB、テトラサイクリン、チゲサイクリンおよびドキシサイクリンに対して感受性となったが、アミカシンに対して感受性にならなかった(表1)；MCR1陽性大腸菌株MS8345は、コリスチンおよびポリミキシンBに対して感受性となった(表2)；肺炎連鎖球菌株23Fは、ペニシリン、テトラサイクリンおよびクロラムフェニコールに対して感受性となった(表3)；GAS株HKU16は、テトラサイクリン、ポリミキシンBおよびコリスチンに対して感受性となった(表4)；VRE RBWH1は、バンコマイシン、テトラサイクリン、ポリミキシンBおよびコリスチンに対して感受性となった(表5)；ならびにMRSA USA300は、オキサシリン、エリスロマイシン、アンピシリン、ポリミキシンBおよびコリスチンに対して感受性となった(表6)。これらの実験においてPBT2の代わりにクリオキノールを使用した場合、同様の結果が観察された(表1～6)。さらに、グラム陰性病原体である肺炎桿菌MS6771およびMCR1陽性大腸菌株MS8345について、PBT2およびコリスチンまたはPBT2およびポリミキシンBの組み合わせもまた、コリスチンまたはポリミキシンBに対する感受性を生じさせた(表1～2)。これらの実験においてPBT2の代わりにクリオキノール(CQ)を使用した場合、同様の結果が観察された(表1～2)。

【0236】

(表1)肺炎桿菌についてのクリオキノール(CQ)またはPBT2および亜鉛イオンの存在下または非存在下での種々の抗生物質のMIC。

10

20

30

40

50

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	CQ: 0 μM 亜鉛: 0 μM	CQ: 64 μM 亜鉛: 256 μM	CQ: 64 μM	亜鉛: 256 μM
コリスチン	64	0.5	0.5	32-64
ポリミキシンB	64	2	2	32-64
クロラムフェニコール	128	64	64	128
ゲンタマイシン	>128	>128	>128	>128
テトラサイクリン	32-64	4-8	16	8
トリメトプリム	>128	>128	>128	>128
メロペネム	64	8-16	8-16	16-32
アンピシリン	>128	>128	>128	>128
アミカシン	>128	>128	>128	>128
セフトロリン	>128	>128	>128	>128
セフトジジム	32	16	16	32
セフォキシチン	128	64	64	128
シプロフロキサシン	>128	>128	>128	>128
チゲサイクリン	4	4	4	4
ドキシサイクリン	8-16	8	8	8-16

10

20

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	PBT2: 0 μM 亜鉛: 0 μM	PBT2: 64 μM 亜鉛: 256 μM	PBT2: 64 μM	亜鉛: 256 μM
コリスチン	32-64	0.125	0.125	32-64
ポリミキシンB	32-64	0.125	0.125	32-64
クロラムフェニコール	128	128	128	128
ゲンタマイシン	>128	>128	>128	>128
テトラサイクリン	16-32	4	8	8
トリメトプリム	>128	>128	>128	>128
メロペネム	64	16	32	16-32
アンピシリン	>128	>128	>128	>128
アミカシン	>128	>128	>128	>128
セフトロリン	>128	>128	>128	>128
セフトジジム	32	32	32	32
セフォキシチン	128	64	64	128
シプロフロキサシン	>128	>128	>128	>128
チゲサイクリン	4	2	2	4
ドキシサイクリン	8-16	4	4-8	8-16

30

40

MIC値をCLSIガイドラインに従ってプロス微量希釈によって決定した；n=3。PBT2+/-Znの存在下での耐性から感受性へのMIC変化が太字で強調される。

【 0 2 3 7 】

（表2）MCR-1大腸菌についてのクリオキノール(CQ)またはPBT2および亜鉛イオンの存在下または非存在下での種々の抗生物質のMIC。

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	CQ: 0 μM 亜鉛: 0 μM	CQ: 5 μM 亜鉛: 25 μM	CQ: 5 μM	亜鉛: 25 μM
ポリミキシンB	8	1	2-4	8
コリスチン	8	0.5-1	2	8

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	PBT2: 0 μM 亜鉛: 0 μM	PBT2: 7 μM 亜鉛: 200 μM	PBT2: 7 μM	亜鉛: 200 μM
ポリミキシンB	8	0.5	1	8
コリスチン	8	0.25	1	8

10

MIC値をCLSIガイドラインに従ってブロス微量希釈によって決定した；n=3。PBT2+/-Znの存在下での耐性から感受性へのMIC変化が太字で強調される。

【 0 2 3 8 】

（表3）肺炎連鎖球菌23FについてのPBT2および亜鉛イオンの存在下または非存在下での種々の抗生物質のMIC。

20

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	PBT2: 0 μM 亜鉛: 0 μM	PBT2: 8 μM 亜鉛: 32 μM	PBT2: 8 μM	亜鉛: 32 μM
ペニシリン	2	0.5	2	2
アンピシリン	8	1	8	8
テトラサイクリン	32	1	32	32
クロラムフェニコール	16	2	16	16
ゲンタマイシン*	64	1	4	64

30

MIC値をCLSIガイドラインに従ってブロス微量希釈によって決定した；n=3。PBT2+/-Znの存在下での耐性から感受性へのMIC変化が太字で強調される。*入手可能なブレイクポイント情報無し。

【 0 2 3 9 】

（表4）化膿連鎖球菌株HKU16についてのクリオキノール(CQ)またはPBT2および亜鉛イオンの存在下または非存在下での種々の抗生物質のMIC。

40

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	CQ: 0 μM 亜鉛: 0 μM	CQ: 6 μM 亜鉛: 80 μM	CQ: 6 μM	亜鉛: 80 μM
エリスロマイシン	>128	>128	>128	>128
テトラサイクリン	128	4	128	128
ポリミキシンB	64	1	32	64
コリスチン	>128	1	64	>128

10

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	PBT2: 0 μM 亜鉛: 0 μM	PBT2: 4.75 μM 亜鉛: 128 μM	PBT2: 4.75 μM	亜鉛: 128 μM
エリスロマイシン	>128	>128	>128	>128
テトラサイクリン	64-128	2-4	64	128
ポリミキシンB	64-128	1-2	32	64
コリスチン	>128	0.5-1	32	>128

20

MIC値をCLSIガイドラインに従ってプロス微量希釈によって決定した；n=3。PBT2+/-Znの存在下での耐性から感受性へのMIC変化が太字で強調される。

【 0 2 4 0 】

(表5) バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)臨床分離株RBWH1についてのクリオキノール(CQ)またはPBT2および亜鉛イオンの存在下または非存在下での種々の抗生物質のMIC。

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	CQ: 0 μM 亜鉛: 0 μM	CQ: 2.5 μM 亜鉛: 32 μM	CQ: 2.5 μM	亜鉛: 32 μM
バンコマイシン	>128	1	>128	>128
テトラサイクリン	>128	1-2	64	>128
ポリミキシンB	128	0.5-1	64	128
コリスチン	>128	0.5-1	>128	>128

30

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	PBT2: 0 μM 亜鉛: 0 μM	PBT2: 1.75 μM 亜鉛: 128 μM	PBT2: 1.75 μM	亜鉛: 128 μM
バンコマイシン	>128	1-2	>128	>128
テトラサイクリン	>128	2-4	128	>128
ポリミキシンB	128	0.5	64	128
コリスチン	>128	0.5	>128	>128

40

MIC値をCLSIガイドラインに従ってプロス微量希釈によって決定した；n=3。PBT2+/-Znの存在下での耐性から感受性へのMIC変化が太字で強調される。

50

【 0 2 4 1 】

(表6) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)株USA300についてのクリオキノール(CQ)またはPBT2および亜鉛イオンの存在下または非存在下での種々の抗生物質のMIC。

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	CQ: 0 μM 亜鉛: 0 μM	CQ: 0.75 μM 亜鉛: 16 μM	CQ: 0.75 μM 亜鉛: 16 μM	亜鉛: 16 μM
メチシリン*	>128	>128	>128	>128
オキサシリン*	128	0.5-1	128	128
	CQ: 0 μM 亜鉛: 0 μM	CQ: 1 μM 亜鉛: 32 μM	CQ: 1 μM 亜鉛: 32 μM	亜鉛: 32 μM
エリスロマイシン	64	1	64	64
アンピシリン	>128	1	>128	>128
ポリミキシンB	128	2	64	128
コリスチン	>128	2	>128	>128

10

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	PBT2: 0 μM 亜鉛: 0 μM	PBT2: 2 μM 亜鉛: 25 μM	PBT2: 2 μM 亜鉛: 25 μM	亜鉛: 25 μM
メチシリン*	>128	>128	>128	>128
オキサシリン*	128	1-2	128	128
	PBT2: 0 μM 亜鉛: 0 μM	PBT2: 2 μM 亜鉛: 50 μM	PBT2: 2 μM 亜鉛: 50 μM	亜鉛: 50 μM
エリスロマイシン	64	0.5	32	64
アンピシリン	>128	2	>128	>128
ポリミキシンB	64	2	64	64
コリスチン	>128	2	>128	>128

20

30

MIC値をCLSIガイドラインに従ってプロス微量希釈によって決定した；n=3。PBT2+/-Znの存在下での耐性から感受性へのMIC変化が太字で強調される。* CLSIガイドラインに従って+2 % NaCl。

【 0 2 4 2 】

(表7) PBT2の存在下または非存在下におけるポリミキシン系抗生物質コリスチンおよびポリミキシンBについてのMIC

40

A. バウマンニ		
抗生物質	MIC (μg/mL)	
	未処理	PBT2 (16 μL)
コリスチン	>64	<0.125
緑膿菌		
抗生物質	MIC (μg/mL)	
	未処理	PBT2 (16 μL)
ポリミキシンB	8	1
コリスチン	8	1

10

緑膿菌株253-43-CおよびA.バウマンニ株42-A MICアッセイを、PBT2の非存在（未処理）または存在下で行った。太字で強調されたMIC値は、CLSIガイドラインに従う抗生物質感受性ブレイクポイント（4 μg/mL）を示す。データは3つの生物学的レプリケートの平均値を示す。

【 0 2 4 3 】

感染症に対する抗生物質と組み合わせたRA-HQ-12+亜鉛(II)イオンの効能

20

RA-HQ-12+亜鉛(II)イオン(ZnSO₄)の組み合わせが、ポリミキシクラス抗生物質であるコリスチンおよびポリミキシンBに対して、GAS HKU16、MRSA USA 300、VRE RB WH1、および肺炎桿菌MS6671を、再度感受性にすることが観察された。テトラサイクリンに対してGAS HKU16の中間抗生物質が再度感受性となることが、RA-HQ-12およびZnSO₄の存在下で観察された（表8）。

【 0 2 4 4 】

（表8）RA-HQ-12および硫酸亜鉛の組み合わせは、ポリミキシクラスの抗生物質に対してグラム陽性およびグラム陰性病原体を再度感受性にする

30

40

50

抗生物質	MIC (μg/mL)			
	GAS			
	RA-HQ-12: 0μM Zn: 0μM	RA-HQ-12: 3.5μM Zn: 128μM	RA-HQ-12: 3.5μM	Zn: 128μM
エリスロマイシン	>128	>128	>128	>128
アジスロマイシン	>128	>128	>128	>128
テトラサイクリン	>128	8	128	>128
ポリミキシンB	128	4 [#]	128	128
コリスチン	>128	2-4 [#]	128	>128
アンピシリン	0.125	0.125	0.125	0.125
バンコマイシン	0.5	0.25	0.5	0.5
オキサシリン*	0.125	0.125	0.125	0.125
	MRSA*			
	RA-HQ-12: 0μM Zn: 0μM	RA-HQ-12: 3.5μM Zn: 128μM	RA-HQ-12: 3.5μM	Zn: 128μM
エリスロマイシン	128	16	64	128
アジスロマイシン	128	32	64	128
テトラサイクリン	0.5	0.125	0.125	0.5
ポリミキシンB	128	4 [#]	32	64
コリスチン	>128	8	64	>128
アンピシリン	>128	>128	>128	>128
バンコマイシン	1	1	1	1
オキサシリン*	>128	64	>128	>128
	VRE			
	RA-HQ-12: 0μM Zn: 0μM	RA-HQ-12: 3.5μM Zn: 128μM	RA-HQ-12: 3.5μM	Zn: 128μM
エリスロマイシン	>128	>128	>128	>128
アジスロマイシン	>128	>128	>128	>128
テトラサイクリン	128	128	128	128
ポリミキシンB	>128	4 [#]	16	>128
コリスチン	>128	2-4 [#]	32	>128
アンピシリン	>128	>128	>128	>128
バンコマイシン	>128	>128	>128	>128

10

20

30

40

50

オキサシリン*	>128	>128	>128	>128
	肺炎桿菌			
	RA-HQ-12: 0μM Zn: 0μM	RA-HQ-12: 16μM Zn: 64μM	RA-HQ-12: 16μM	Zn: 64μM
エリスロマイシン	>128	>128	>128	>128
アジスロマイシン	32	32	32	32
テトラサイクリン	32	32	32	32
ポリミキシンB	128	4 [#]	128	128
コリスチン	64	4 [#]	32	64
アンピシリン	>128	>128	>128	>128
バンコマイシン	>128	>128	>128	>128
オキサシリン*	>128	>128	>128	>128

10

* MRSAに対するオキサシリンについてのMICは、CLSIガイドラインに従って2 % NaClの存在下で決定された。GAS、MRSA、VREまたは肺炎桿菌MICがRA-HQ-12+亜鉛の存在下で耐性から感受性へ変化する抗生物質濃度は、太字[#]で強調される。RA-HQ-12+亜鉛の存在下での耐性から中間感受性へのMIC変化は太字で強調される。

20

【 0 2 4 5 】

感染症に対する抗生物質と組み合わせたPBT2+亜鉛(II)イオンの効能

感染症に対する抗生物質と組み合わせたPBT2+亜鉛(II)イオンの効能を、創傷感染モデルを使用して調べた。抗生物質またはサブ阻害濃度のPBT2+亜鉛(II)イオン単独のいずれも感染部位で細菌負荷を減少させなかった。しかし、組み合わせると、PBT2+亜鉛(II)イオンは、GASをテトラサイクリン処置に対して、VREをバンコマイシン処置に対して再度感受性にし、それによって感染症を有意に弱めた(図3)。

【 0 2 4 6 】

30

強毒性コリスチン耐性肺炎桿菌株52.145 mgrBに対するコリスチンと組み合わせたPBT2の効能を、CD1マウス中においてマウス全身(i.p.)感染モデルを使用して調べた。これは、PBT2+コリスチン処置がCD1マウス中においてコリスチン耐性肺炎桿菌株52.145 mgrB死を防ぐことを実証する(図4)。この観察は、ヒトにおける減少したコリスチン投薬への道を開き、この薬物の毒性を潜在的に回避する。サブ阻害濃度の各々それぞれの化合物の存在下での30日間の連続継代後にPBT2+コリスチンに対する肺炎桿菌MS6671耐性は検出されなかった(図5)。

【 0 2 4 7 】

PBT2は、亜鉛(II)イオンと組み合わせ、抗菌活性を有し、サブ阻害濃度で、多数の重要な抗生物質に対するグラム陽性細菌耐性を逆転する。この効果の基礎となる作用機序は、感染症を引き起こすこれらの細菌性病原体の能力を弱め得る、重金属ホメオスタシスの変化ならびに必須のビルレンスおよび代謝系の大規模な混乱であるようである。

40

【 0 2 4 8 】

この効果の基礎となる作用機序は、重金属ホメオスタシスの変化ならびに必須のビルレンスおよび代謝系の大規模な混乱と関連しているようであり、これらの全てが、感染症を引き起こすこれらの細菌性病原体の能力を弱め得る。抗生物質耐性に対する効果は普遍的ではなかった。例えば、エリスロマイシン耐性はMRSAにおいて逆転されたが、GASにおいては逆転されなかった。他方で、グラム陽性病原体は、ポリミキシンおよびコリスチンに対して内因的に耐性であるが(Li, J. et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. Lancet Infect Dis 6

50

, 589-601, doi:10.1016/S1473-3099(06)70580-1 (2006), Falagas, M. E. & Kasiakou, S. K. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis 40, 1333-1341, doi:10.1086/429323 (2005)を参照のこと]、PBT2+亜鉛処理はGAS、MRSAおよびVREにおける耐性を逆転させた。PBT2+亜鉛処理は、GAS、MRSAおよびVREにおける耐性を逆転させた。

【0249】

PBT2は、第2相ヒト臨床試験に進んだヒトの使用に安全な亜鉛イオノフォアである [例えば、Chakradhar, S. What's old is new: Reconfiguring known antibiotics to fight drug resistance. Nat Med 22, 1197-1199, doi:10.1038/nm1116-1197 (2016); Lannfelt, L. et al. Safety, efficacy, and biomarker findings of PBT2 in targeting Abeta as a modifying therapy for Alzheimer's disease: a phase IIa, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. Lancet Neurol 7, 779-786, doi:10.1016/S1474-4422(08)70167-4 (2008)を参照のこと]。亜鉛は栄養補助食品およびホメオパシー薬剤として使用されるが、高濃度では亜鉛は有毒であることが公知である。イオノフォアPBT2を使用する亜鉛の送達は、効能に必要な亜鉛濃度を、生理学的に許容され得るレベルへ低減させることができる [World Health Organization. Environmental Health Criteria 221: Zinc, http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_221/en/ (2001)]。細菌生理機能の不安定化は、細菌が耐性となった抗生物質の機能を救うことによって、抗生物質耐性を回避し得る。

【0250】

当業者は、多数の変形物および改変物が明らかとなることを認識するだろう。当業者に明らかとなる全てのそのような変形物および改変物は、前述の広く現れる本発明の精神および範囲内に入ると見なされるべきである。

【0251】

任意の先行の刊行物（もしくはそれに由来する情報）への、または公知である任意の事項への本明細書における参照は、その先行の刊行物（もしくはそれに由来する情報）または公知の事項が、本明細書が関係する努力の分野における共通の一般常識の一部を形成するという示唆の承認または容認または任意の形態ではなく、また、それとして見なされるべきではない。

10

20

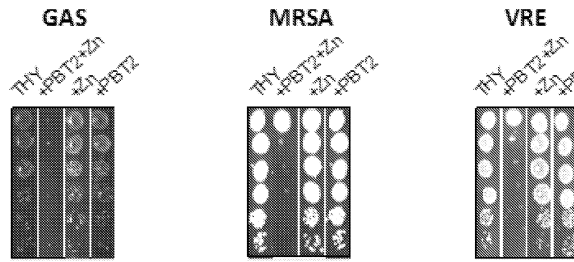
30

40

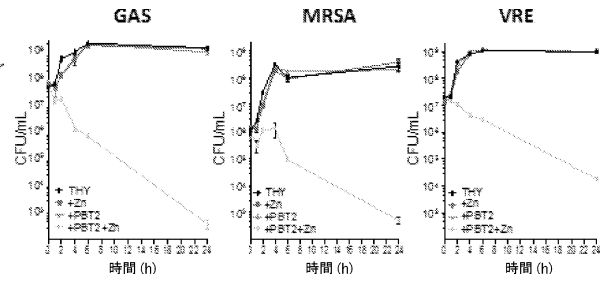
50

【図面】

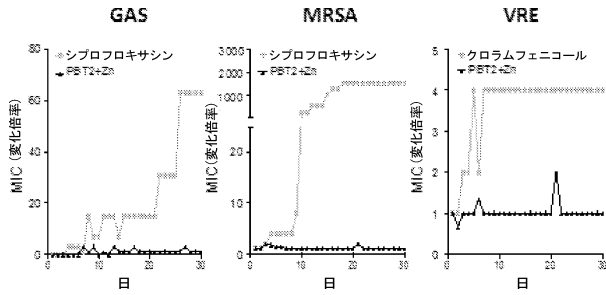
【図 1 a】



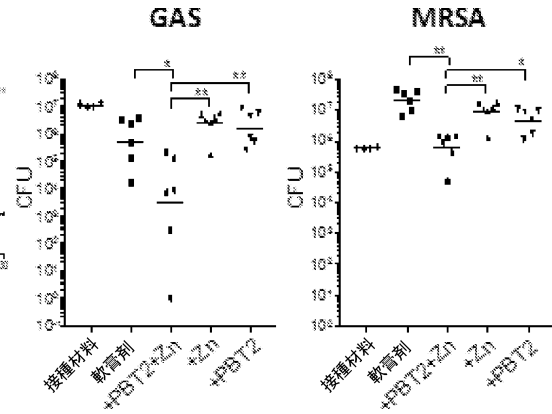
【図 1 b】



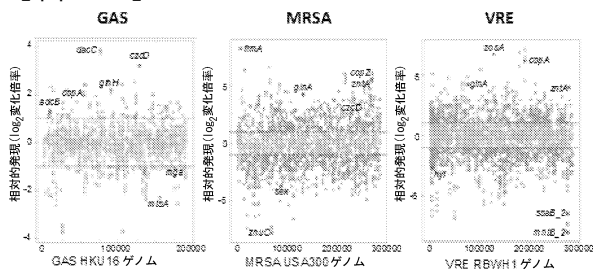
【図 1 c】



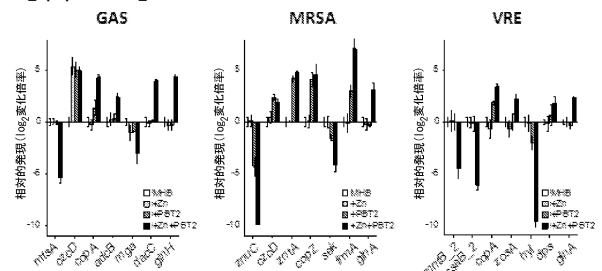
【図 1 d】



【図 2 a】



【図 2 b】



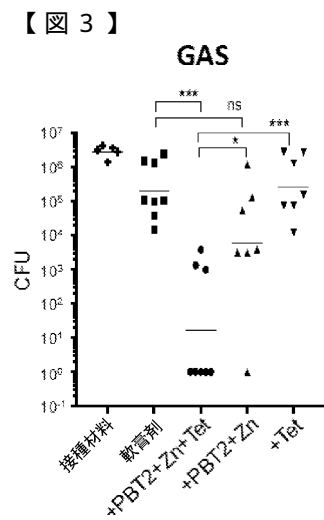
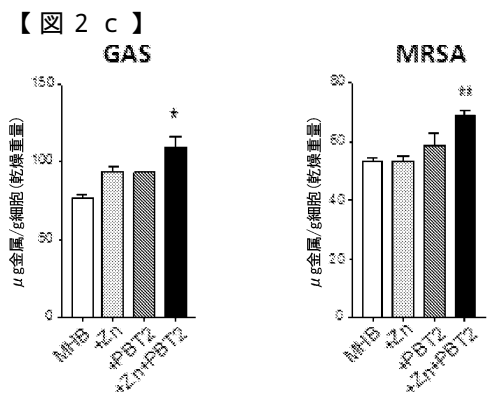
10

20

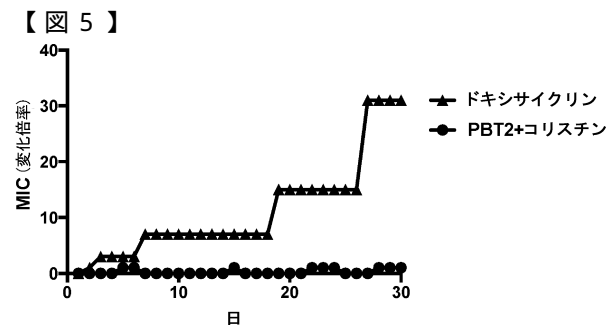
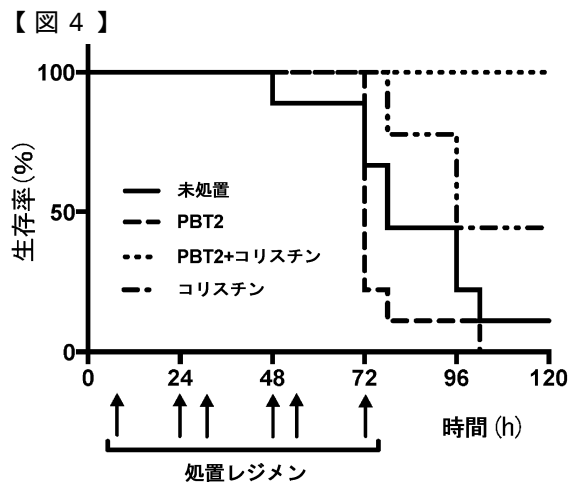
30

40

50



10



20

30

40

50

フロントページの続き

- 弁理士 清水 初志
(74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
(74)代理人 100160923
弁理士 山口 裕孝
(74)代理人 100119507
弁理士 刑部 俊
(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
(72)発明者 ウォーカー マーク
オーストラリア連邦 4 0 6 6 クイーンズランド州 トゥウォング オールド マウント クーサ ロード 7 5
(72)発明者 マクデビット クリストファー
オーストラリア連邦 3 0 0 0 ヴィクトリア州 メルボルン エリザベス ストリート 7 9 2 ケア
オブザピータードハーティ インスティテュート フォア インフェクション アンド イミューニティ
(72)発明者 フォン イツスタイン マーク
オーストラリア連邦 4 2 1 1 クイーンズランド州 ギルストン ブルー ガム コート 1 0
(72)発明者 マキュアン アラスデア
オーストラリア連邦 4 0 6 9 クイーンズランド州 フィグ ツリー ポケット ケンモア ロード 1 5 4
審査官 高橋 樹理
(56)参考文献 特表 2 0 0 6 - 5 0 4 6 4 6 (J P , A)
特表 2 0 1 6 - 5 3 8 2 4 4 (J P , A)
国際公開第 2 0 0 9 / 1 4 0 2 1 5 (W O , A 2)
国際公開第 2 0 1 7 / 0 5 3 6 9 6 (W O , A 2)
Antimicrobial Agents and Chemotherapy , 2015年 , Vol.59, No.9 , p.5851-5853
Microbiology Resource Announcements , 2018年 , Vol.7, No.4, e00886-18 , p.1-2
European Journal of Medicinal Chemistry , 2016年 , Vol.120 , p.252-274
(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)
A 6 1 K
C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)