

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7123074号

(P7123074)

(45)発行日 令和4年8月22日(2022.8.22)

(24)登録日 令和4年8月12日(2022.8.12)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/407 (2006.01)	A 6 1 K	31/407
A 6 1 K	31/424 (2006.01)	A 6 1 K	31/424
A 6 1 K	31/43 (2006.01)	A 6 1 K	31/43
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04
A 6 1 P	31/06 (2006.01)	A 6 1 P	31/06

請求項の数 15 (全37頁)

(21)出願番号 特願2019-561315(P2019-561315)

(86)(22)出願日 平成30年5月4日(2018.5.4)

(65)公表番号 特表2020-519592(P2020-519592 A)

(43)公表日 令和2年7月2日(2020.7.2)

(86)国際出願番号 PCT/EP2018/061615

(87)国際公開番号 WO2018/206466

(87)国際公開日 平成30年11月15日(2018.11.15)

審査請求日 令和3年4月26日(2021.4.26)

(31)優先権主張番号 17382255.2

(32)優先日 平成29年5月8日(2017.5.8)

(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)

(73)特許権者 513032275

グラクソスミスクライン、インテレクト
ユアル、プロパティ、ディベロップメ
ント、リミテッド
GLAXOSMITHKLINE IN
TELLECTUAL PROPERTY
DEVELOPMENT LIMITED
イギリス国ミドルセックス、ブレントフ
ォード、グレート、ウエスト、ロード、
9 8 0

(74)代理人 100091982

弁理士 永井 浩之

(74)代理人 100091487

弁理士 中村 行孝

(74)代理人 100105153

最終頁に続く

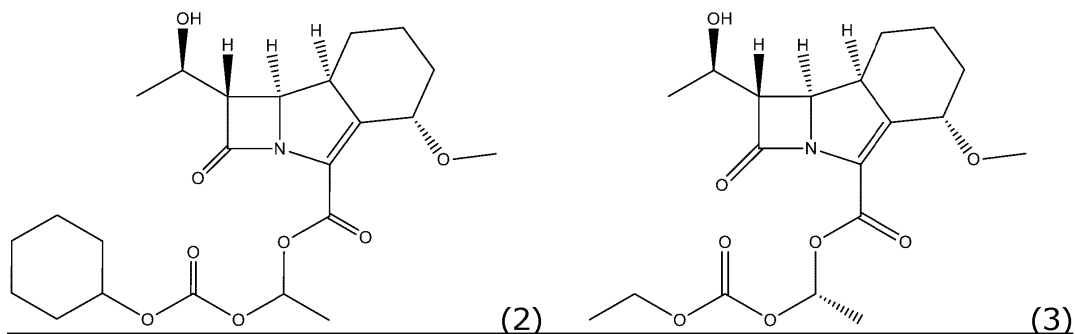
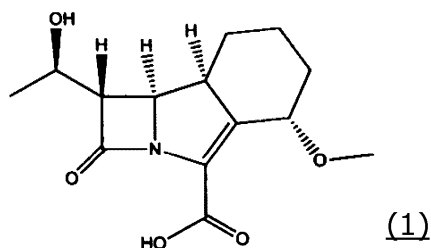
(54)【発明の名称】 マイコバクテリア感染の処置において使用するためのサンフェトリネム、その塩、またはそのエステル

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

マイコバクテリア感染に起因する疾患の処置において使用するための、下記式(1)の化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグを含み、前記エステルプロドラッグが、下記式(2)または(3)の化合物である、組成物：

【化 1】



10

【請求項 2】

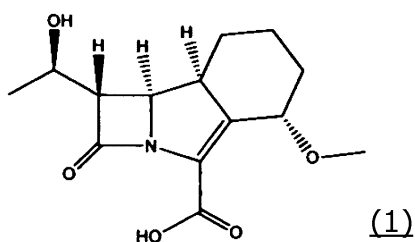
疾患が結核である、請求項 1 に記載の組成物。

20

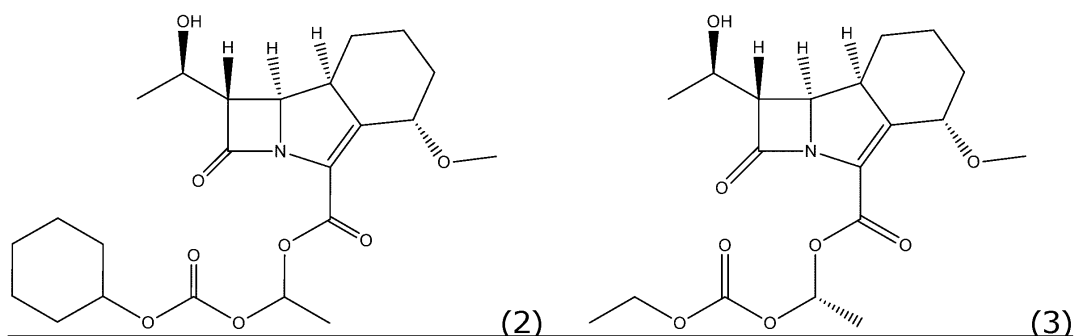
【請求項 3】

マイコバクテリア感染の処置において使用するための、下記式 (1) の化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグを含み、前記エステルプロドラッグが、下記式 (2) または (3) の化合物である、組成物：

【化 2】



30



40

【請求項 4】

マイコバクテリア感染が *Mycobacterium tuberculosis* 感染である、請求項 3 に記載の組成物。

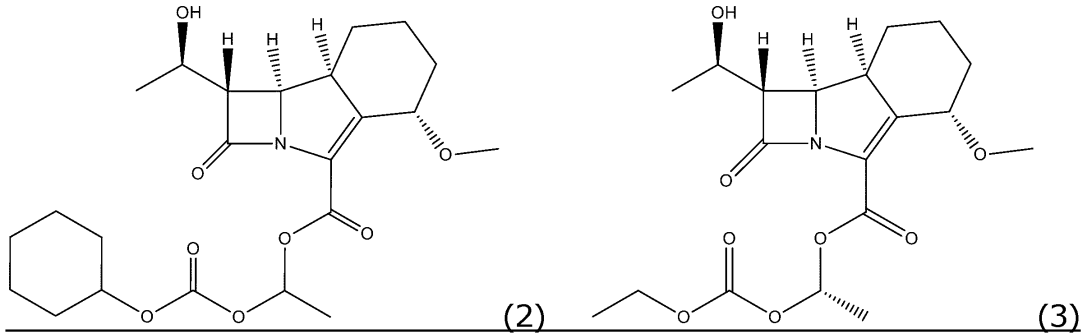
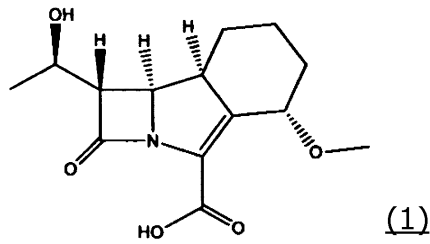
【請求項 5】

結核の処置において使用するための、下記式 (1) の化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグを含み、前記エステルプロドラッグが、下記式 (2

50

）または（３）の化合物である、組成物：

【化３】



【請求項 6】

前記組成物が、前記エステルプロドラッグを含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の組成物。

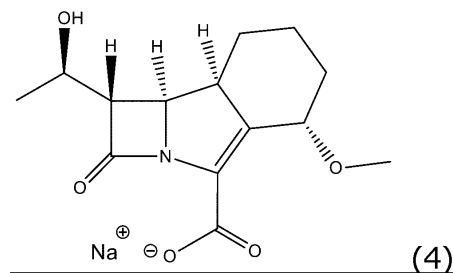
【請求項 7】

前記組成物が経口投与されるものである、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記薬学的に許容可能な塩が、下記式（４）の化合物である、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の組成物：

【化４】



【請求項 9】

結核、マイコバクテリア感染、またはマイコバクテリア感染に起因する疾患の処置における使用のための薬剤の製造における下記式（１）の化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはエステルプロドラッグの使用であり、前記エステルプロドラッグが、下記式（２）または（３）の化合物である、使用：

10

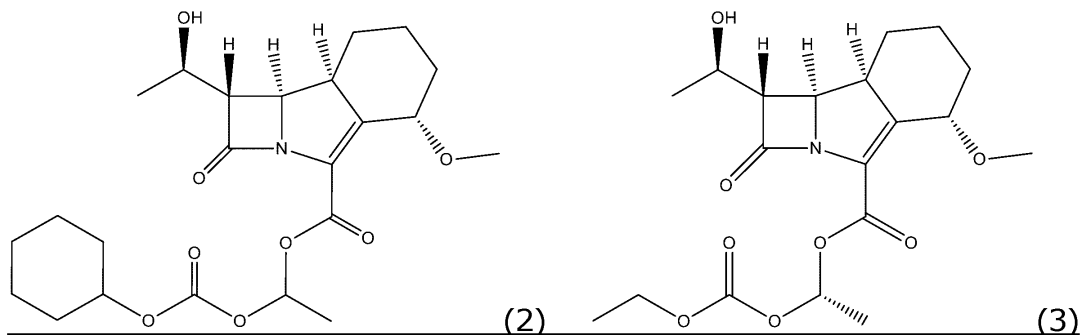
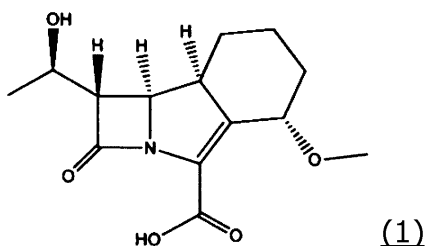
20

30

40

50

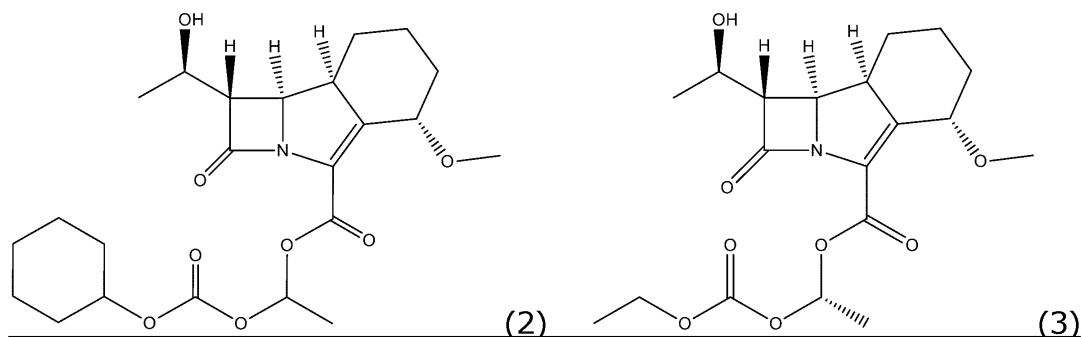
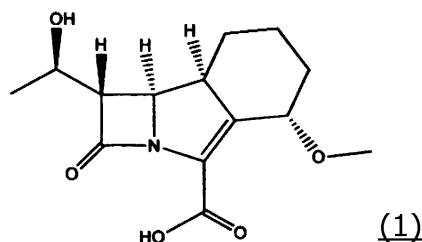
【化 5】



【請求項 10】

結核、マイコバクテリア感染、またはマイコバクテリア感染に起因する疾患の処置に使用するための、(a) 下記式(1)の化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはエステルプロドラッグと、(b) 薬学的に許容可能な賦形剤とを含み、前記エステルプロドラッグが、下記式(2)または(3)の化合物である、医薬組成物：

【化 6】



【請求項 11】

マイコバクテリア感染、マイコバクテリア感染に起因する疾患、または結核の処置における使用のための、(a) 下記式(1)の化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはエステルプロドラッグと、(b) 追加の抗結核薬との組合せ物であり、前記エステルプロドラッグが、下記式(2)または(3)の化合物である、組合せ物：

10

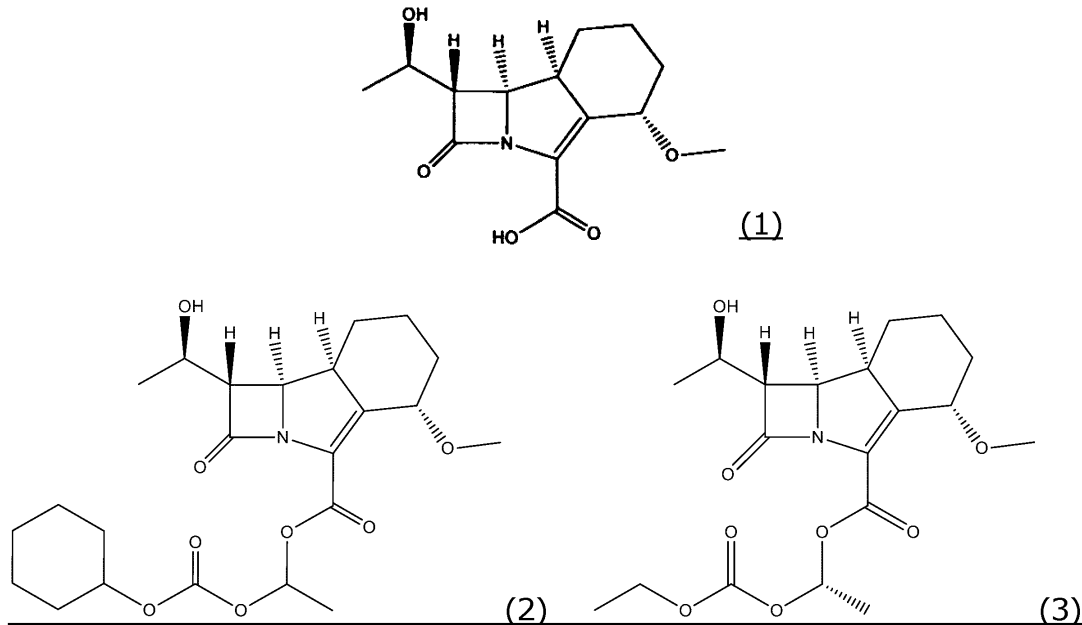
20

30

40

50

【化 7】



【請求項 1 2】

前記組合せ物におけるさらに追加の抗結核薬 (b) が、イソニアジド、リファンピン、ピラジナミド、エタンブトール、モキシフロキサシン、リファペンチン、クロファジミン、エチオナミド、プロチオンアミド、チオカルリド、チオアセタゾン、リファブチン、ベダキリン (TMC 207) または TBAJ-587 等のジアリルキノリン、ニトロイミダゾーオキサジン PA-824、デラマニド (OPC-67683)、リネゾリド、テジゾリド、ラデゾリド、ステゾリド (PNU-100480)、ポジゾリド (AZD-5847) または TBI-223 等のオキサゾリジノン、EMB アナログ SQ109、OPC-167832、GSK3036656 (GSK070 としてもまた知られる)、GSK2556286、GSK3211830、BTZ043 または PBTZ169 等のベンゾチアジノン、TBA-7371 等のアザインドール、ジニトロベンズアミド、またはメロペネム、ファロペネム、エルタペネム、テビペネム等の β -ラクタム、または AUGMENTIN (アモキシシリン／クラブラン酸塩) 等の β -ラクタムの組合せから選択される、請求項 1 1 に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 1 3】

追加の抗結核薬 (b) が、AUGMENTIN (アモキシシリン／クラブラン酸塩) である、請求項 1 1 または 1 2 に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 1 4】

抗レトロウイルス薬を含む抗ウイルス薬をさらに含む、請求項 1 1 または 1 2 に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 1 5】

前記組合せ物における抗レトロウイルス薬が、ジドブジン、ジダノシン、ラミブジン、ザルシタビン、アバカビル、スタブジン、アデフォビル、アデフォビル ジピボキシル、フォジブジン、トドキシル、エントリシタビン、アロブジン、アムドキシビル、エルブシタビン、ネビラピン、デラビルジン、エファビレンツ、ロビリド、イムノカル、オルチプラズ、カプラビリン、レルシビリン、GSK2248761、TMC-278、TMC-125、エトラビリン、サキナビル、リトナビル、インジナビル、ネルフィナビル、アンプレナビル、ホサンプレナビル、ブレカナビル、ダルナビル、アタザナビル、チプラナビル、パリナビル、ラシナビル、エンフビルチド、T-20、T-1249、PRO-542、PRO-140、TNX-355、BMS-806、BMS-663068 及び BMS-626529、5-ヘリックス、ラルテグラビル、エルビテグラビル、GSK134

9572、GSK1265744、ビクリビロク（Sch-C）、Sch-D、TAK779、マラビロク、TAK449、ジダノシン、テノホビル、ロピナビル、またはダルナビルから選択される、請求項14に記載の使用のための組合せ物。

【発明の詳細な説明】

【発明の背景】

【0001】

本発明に至った研究は、REA助成合意書no. 291799の下、第七次EUフレームワーク計画（FP7／2007－2013）の人材計画（マリー・キュリー・アクション）より財政的支援を受けた。

【0002】

発明の分野

本発明は、サンフェトリネム、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ、およびマイコバクテリア感染またはマイコバクテリア感染に起因する疾患の処置におけるその使用に関する。さらに具体的には、本発明は、結核の処置における、サンフェトリネム、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ（ester prodrug）の使用に関する。特に、本発明は、プロドラッグ、サンフェトリネムシレキセチル及び結核の処置におけるその使用に関する。

【0003】

発明の背景

2014年に世界保健機関が公表した報告書によると、年間、1,000万人に近い人が結核に罹患し、年間150万人の死亡原因になっている。結核への有効な処置にもかかわらず、結核の原因菌である *Mycobacterium tuberculosis* が多くの処置に対して抵抗性を示すようになってきていることが原因であり、世界的な疾病負荷は主要な問題のままである。

【0004】

結核は細菌感染により引き起こされるが、最も有名な抗生物質の類であるβ-ラクタムの使用は広く無視されている。多数の承認されているβ-ラクタム薬は世界の抗生物質市場の推定3分の2を構成しているという事実にもかかわらず、臨床試験の早期の失敗及び親油性のマイクロバクテリウム細菌の細胞壁は極性の高い分子を透過させないという予測により、それらの結核に対する評価は限られる。

【0005】

サンフェトリネムシレキセチルは、1990年代から、マイクロバクテリウム細菌以外の様々な細菌種により引き起こされる感染と連動する試験的な抗生物質である。

【0006】

増え続ける多剤耐性 *Mycobacterium tuberculosis* 菌の出現及び持続している結核の高い発生率のために、結核の処置のためのさらなる薬剤化合物の提供に対する緊急の必要性が存在する。

【発明の概要】

【0007】

本発明の第一の態様において、マイコバクテリア感染に起因する疾患の処置において使用するための、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグが提供される。

10

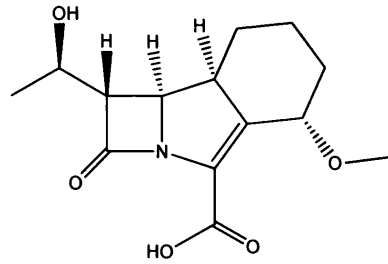
20

30

40

50

【化 1】

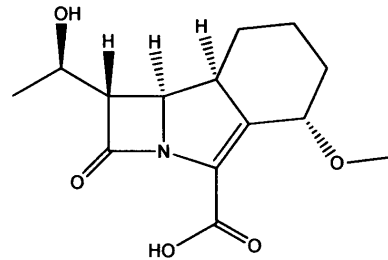


10

【0008】

本発明の第二の態様において、マイコバクテリア感染の処置において使用するための、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグが提供される。

【化 2】



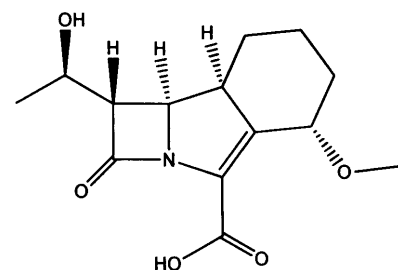
20

【0009】

本発明の第三の態様において、結核の処置において使用するための、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグが提供される。

30

【化 3】



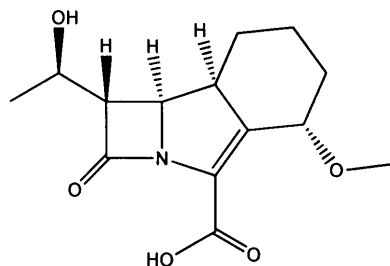
40

【0010】

本発明の第四の態様において、それを必要としている患者におけるマイコバクテリア感染に起因する疾患の処置のための方法が提供され、前記方法は、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの前記患者への治療上有効量の投与を含む。

50

【化 4】

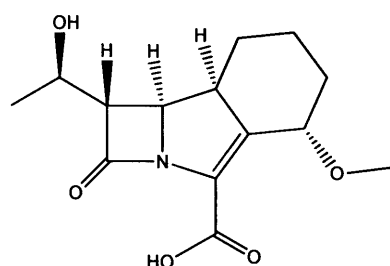


10

【 0 0 1 1】

本発明の第五の態様において、それを必要としている患者におけるマイコバクテリア感染の処置のための方法が提供され、前記方法は、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの前記患者への治療上有効量の投与を含む。

【化 5】



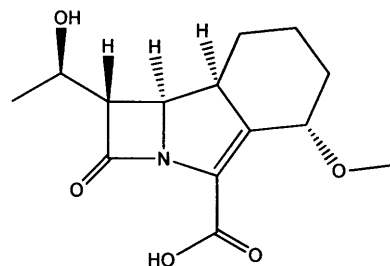
20

【 0 0 1 2】

本発明の第六の態様において、それを必要としている患者における結核の処置のための方法が提供され、前記方法は、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの前記患者への治療上有効量の投与を含む。

30

【化 6】



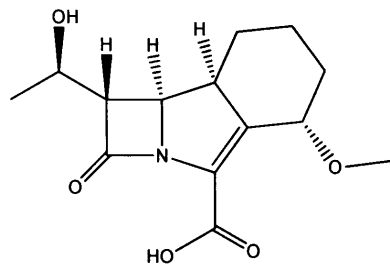
40

【 0 0 1 3】

本発明の第七の態様において、結核、マイコバクテリア感染またはマイコバクテリア感染に起因する疾患の処置において使用するための薬剤の製造における、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの使用、が提供される。

50

【化 7】

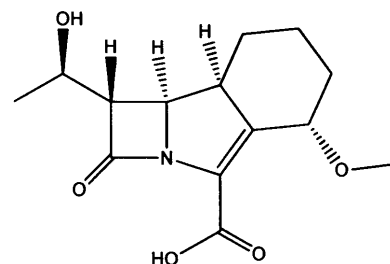


10

【 0 0 1 4】

本発明の第八の態様において、医薬組成物が提供され、前記医薬組成物は、結核、マイコバクテリア感染またはマイコバクテリア感染に起因する疾患の処置において使用するための、(a) (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ、(b) 薬学的に許容可能な賦形剤を含む。

【化 8】



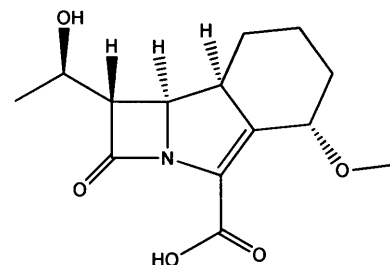
20

【 0 0 1 5】

本発明の第九の態様において、結核、マイコバクテリア感染またはマイコバクテリア感染に起因する疾患の処置において使用するための、(a) (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ、(b) 追加の抗結核薬の組合せが提供される。

30

【化 9】



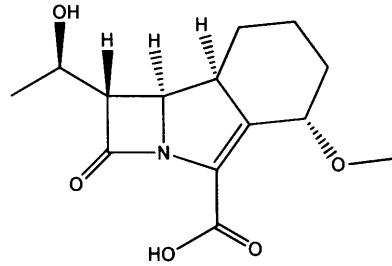
40

【 0 0 1 6】

本発明の第十の態様において、(a) (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸と命名された化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ、(b) β -ラクタマーゼ阻害薬の組合せが提供される。

50

【化 10】



【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】サンフェトリネム及びサンフェトリネムシレキセチルの生体内の抗結核活性を評価するために使用されたモデルマウスの結果を示す。

【図2】実験室株及び臨床分離株パネルに対するサンフェトリネム（ナトリウム塩）のMIC分布のプロットである。

【図3】サンフェトリネム単独、及びアモキシシリンとの併用、及びアモキシシリン／クラブラン酸塩（アモキシシリンの濃度値は $\mu\text{g}/\text{mL}$ である）併用時の用量反応曲線、濃度に対する生育率%を示す。

【図4】アモキシシリン単独、及びアモキシシリン／クラブラン酸塩併用時の用量反応曲線、濃度に対する生育率%を示す。

【図5】サンフェトリネム単独、及びデラマニド併用時の用量反応曲線を示す。

【図6】サンフェトリネム単独、及びリファンピシン併用時の用量反応曲線を示す。

【図7】サンフェトリネム単独、及びエタンブトール併用時の用量反応曲線を示す。

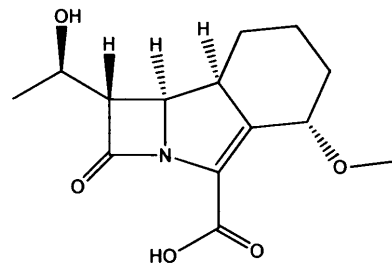
【図8】サンフェトリネム単独、及びアモキシシリン併用時の用量反応曲線を示す。

【発明の具体的説明】

【0018】

本発明は、マイコバクテリア感染に起因する疾患の処置において使用するための、下記の構造を有する化合物（以後、化合物Aとも呼ばれる）、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグに関連する。マイコバクテリア感染とは、マイコバクテリウム属の感染に起因する感染症の一種である。

【化 11】



【0019】

化合物Aの名称は、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸である。

【0020】

マイコバクテリウム属は、以下の群のマイコバクテリウム属の1つのメンバーであってもよい：Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)（マイコバクテリウム・チューベルクロシス・コンプレックス）、Mycobacterium avium complex (MAC)（マイコバクテリウム・アビウム・コンプレックス）、Mycobacterium gordonae clade（マイコバクテリウム・ゴルドネ分岐群）、Mycobacterium kansasii clade（マイコバクテリウム・カンザスII分岐群）。

ム・カンサシ分岐群)、Mycobacterium chelonae clade (マイコバクテリウム・ケロネー分岐群)、Mycobacterium fortuitum clade (マイコバクテリウム・フォーチュイタム分岐群)、Mycobacterium parafortuitum clade (マイコバクテリウム・パラフォーチュイタム分岐群) または Mycobacterium vaccae clade (マイコバクテリウム・ヴァッカエ分岐群)。マイコバクテリウム属はまた、Mycobacterium ulcerans (マイコバクテリウム・ウルセランス) または Mycobacterium leprae (マイコバクテリウム・レブラエ) であってもよい。

【0021】

Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)のメンバーには、Mycobacterium tuberculosis (マイコバクテリウム・チュベルクロシス)、Mycobacterium africanum (マイコバクテリウム・アフリカナム)、Mycobacterium bovis (マイコバクテリウム・ボビス)、Mycobacterium bovis BCG (マイコバクテリウム・ボビス・BCG)、Mycobacterium canetti (マイコバクテリウム・カネッティ)、Mycobacterium caprae (マイコバクテリウム・カプラエ)、Mycobacterium microti (マイコバクテリウム・ミクロティ) 及び Mycobacterium pinnipedii (マイコバクテリウム・ピンニペディ) が含まれる。これらのマイコバクテリウム属はヒト及び動物の結核の原因菌である。Mycobacterium tuberculosisはヒトの結核の主要な原因となっている。

【0022】

一つの実施態様において、感染症はマイコバクテリウム属が Mycobacterium tuberculosis complex (MTC) の一つのメンバーの感染によって引き起こされる感染症である。

【0023】

一つの実施態様において、感染症が Mycobacterium tuberculosis 感染症である。言い換えると、マイコバクテリア感染症が Mycobacterium tuberculosis の感染により引き起こされる。

【0024】

Mycobacterium avium complex (MAC)のメンバーには、Mycobacterium avium (マイコバクテリウム・アビウム)、Mycobacterium avium paratuberculosis (マイコバクテリウム・アビウム・パラチュベルクロシス)、Mycobacterium avium silaticum (マイコバクテリウム・アビウム・シラティウム)、Mycobacterium avium hominissuis (マイコバクテリウム・アビウム・ホミニススイス)、Mycobacterium colombiense (マイコバクテリウム・コロムビエンセ) 及び Mycobacterium indicus pranii (マイコバクテリウム・インディクスプラニイ) が含まれる。

【0025】

Mycobacterium gordonae cladeのメンバーには、Mycobacterium asiaticum (マイコバクテリウム・アジアティカム) 及び Mycobacterium gordonae (マイコバクテリウム・ゴルドネ) が含まれる。

【0026】

Mycobacterium kansasii cladeのメンバーには Mycobacterium gastri (マイコバクテリウム・ガストリ) 及び Mycobacterium kansasii (マイコバクテリウム・カンサシ) が含まれる。

【0027】

Mycobacterium chelonae cladeのメンバーには Mycobacterium abscessus (マイコバクテリウム・アブスセッスス)、Mycobacterium bolletii (マイコバクテリウム・ボルレティイ) 及び Mycobacterium chelonae (マイコバクテリウム・ケロネー) が含まれる。

【0028】

Mycobacterium fortuitum cladeのメンバーには、Mycobacterium boenickei (マイコバクテリウム・ボエニケイ)、Mycobacterium brisbanense (マイコバクテリウム・ブリスバネンセ)、Mycobacterium cosmeticum (マイコバクテリウム・コスメチウム)、Mycobacterium fortuitum (マイコバクテリウム・フォーチュイタム)、Mycobac

10

20

30

40

50

terium fortuitum subspecies acetamidolyticum (マイコバクテリウム・フォーチュイタム、マイコバクテリウム・ホルイツム亜種アセタミドリチウム)、Mycobacterium houstonense (マイコバクテリウム・ホウストネンセ)、Mycobacterium mageritense (マイコバクテリウム・マゲリテンセ)、Mycobacterium neworleansense (マイコバクテリウム・ネウォルレアンセンセ)、Mycobacterium peregrinum (マイコバクテリウム・ペレグリナム)、Mycobacterium porcinum (マイコバクテリウム・ポルクヌム)、Mycobacterium senegalense (マイコバクテリウム・セネガレンセ) 及び Mycobacterium septicum (マイコバクテリウム・セプチウム) が含まれる。

【0029】

Mycobacterium parafortuitum cladeのメンバーには、Mycobacterium austroafricanum (マイコバクテリウム・アウストロアフリカヌム)、Mycobacterium diernhoferi (マイコバクテリウム・ディエルンホフェリ)、Mycobacterium frederiksbergense (マイコバクテリウム・フレデリキスベルゲンセ)、Mycobacterium hodleri (マイコバクテリウム・ホドレリ)、Mycobacterium neoaurum (マイコバクテリウム・ネオアウルム) 及び Mycobacterium parafortuitum (マイコバクテリウム・パラフォーチュイタム) が含まれる。

【0030】

結果として、マイコバクテリア感染は以下から選択されるマイコバクテリウム属による感染に引き起こされるものであってもよい。：Mycobacterium tuberculosis、Mycobacterium africanum、Mycobacterium bovis、Mycobacterium bovis BCG、Mycobacterium canetti、Mycobacterium caprae、Mycobacterium microti、Mycobacterium pinnipedii、Mycobacterium avium、Mycobacterium avium paratuberculosis、Mycobacterium avium silaticum、Mycobacterium avium hominissuis、Mycobacterium columbiense、Mycobacterium indicus pranii、Mycobacterium asiaticum、Mycobacterium gordonae、Mycobacterium gastri、Mycobacterium kansasii、Mycobacterium abscessus、Mycobacterium bolletii、Mycobacterium chelonae、Mycobacterium boenickei、Mycobacterium brisbanense、Mycobacterium cosmeticum、Mycobacterium fortuitum、Mycobacterium fortuitum subspecies acetamidolyticum、Mycobacterium houstonense、Mycobacterium mageritense、Mycobacterium neworleansense、Mycobacterium peregrinum、Mycobacterium porcinum、Mycobacterium senegalense、Mycobacterium septicum、Mycobacterium austroafricanum、Mycobacterium diernhoferi、Mycobacterium frederiksbergense、Mycobacterium hodleri、Mycobacterium neoaurum、Mycobacterium parafortuitum、Mycobacterium ulcerans 及び Mycobacterium lepra。

【0031】

マイコバクテリウム属の感染により引き起こされる疾病には、限定されるわけではないが、結核(例えば、Mycobacterium tuberculosis由来)、ハンセン病(例えば、Mycobacterium leprae由来)、ヨーネ病(例えば、Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis由来)、ブルーリ潰瘍(例えば、Mycobacterium ulcerans由来)、クローン病(例えば、Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis由来)、嚢胞性線維症(例えば、Mycobacterium avium-intracellulare complex (マイコバクテリウム・アビウム-イントラセルラー・コンプレックス) 及び Mycobacterium abscessus のような非結核菌由来)、肺疾患、または肺感染症、肺炎、嚢、滑膜、腱鞘、局地的腫瘍、リンパ節炎、皮膚及び軟組織の感染、ウィンダミア夫人症候群(例えば、Mycobacterium avium complex(MAC)由来)、MAC肺疾患、播種性 Mycobacterium avium complex(DMAC)、播種性 Mycobacterium avium intracellulare complex(DMAIC)、ホットタブ(hot-tub)肺(例えば、Mycobacterium avium complex由来)、MAC乳腺炎、MAC化膿性筋炎、または肉芽腫症が含まれる。

【0032】

一つの実施態様において、マイコバクテリア感染に起因する疾患は結核であり、そのよ

10

20

30

40

50

うな実施態様において、本発明は、結核の処置において使用するための化合物 A、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグに関する。

【0033】

本発明はまた、マイコバクテリア感染の処置における使用のための、化合物 A、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグに関する。特定の実施態様において、マイコバクテリア感染は *Mycobacterium tuberculosis* の感染である。

【0034】

より具体的には、本発明は、結核の処置において使用するための、化合物 A、その薬学的に許容可能な塩、またはそれらのエステルプロドラッグに関する。一つの実施態様において、結核の処置は、多剤耐性結核、広範囲の薬剤耐性または薬剤感受性結核の処置を対象としてもよい。

10

【0035】

一つの実施形態において、結核の処置は多剤耐性、または広範囲の薬剤耐性結核を対象とする。

【0036】

さらに、前記処置は肺及び／または肺外結核を対象としてもよい。前記処置はまた、潜在性結核の処置を対象としてもよい。

【0037】

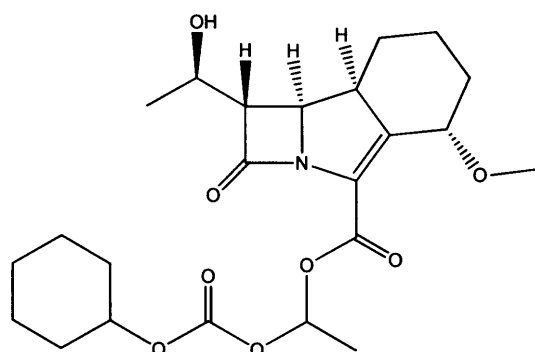
化合物 A はまた、サンフェトリネムまたは G V 1 0 4 3 2 6 として知られる。サンフェトリネムのナトリウム塩はサンフェトリネムナトリウムとして知られている。サンフェトリネムのカリウム塩はサンフェトリネムカリウムとして知られ、その他もそのように知られている。

20

【0038】

さらに具体的には、本発明は、マイコバクテリア感染またはマイコバクテリア感染に起因する疾患の処置において使用するための化合物 A のエステルプロドラッグに関し、ここで前記プロドラッグは以下の構造を有する。

【化 1 2】



30

【0039】

このエステルプロドラッグの名称は (1S,5S,8aS,8bR)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル 1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸エステルである。このプロドラッグはまた、サンフェトリネム シレキセチルまたは G V 1 1 8 8 1 9 X として知られる。

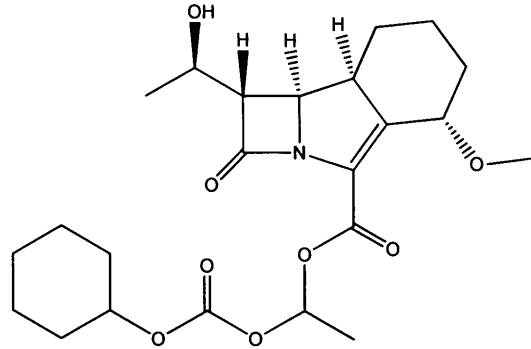
40

【0040】

従って、本発明はまた、結核の処置において使用するための、(1S,5S,8aS,8bR)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル 1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸エステル、つまり下記の化合物に関する。

50

【化 1 3】



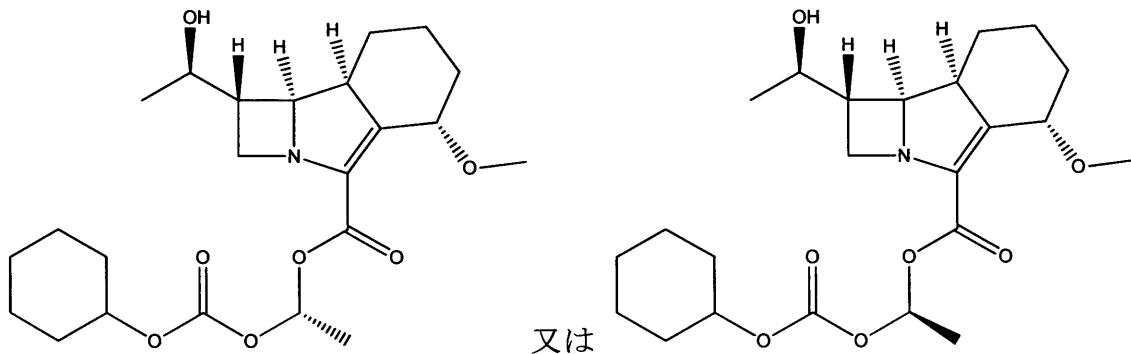
10

【0 0 4 1】

前記エステルプロドラッグ(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル 1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸エステル（上記に描かれている）は、エピマーとしても知られるジアステレオマーの混合物であると理解される。前記ジアステレオマーは、等量（1：1の混合物）または等量でない混合物で存在していてもよい。あるいは、化合物は1つのジアステレオマーとして存在していてもよい。それぞれのジアステレオマーを以下に記載している。

20

【化 1 4】



30

【0 0 4 2】

単一のジアステレオマーは、ジアステレオマーの混合物からの単離により得られたものであってもよい。

【0 0 4 3】

上述したプロドラッグは、経口で患者に投与することが可能なため、有利には結核の処置において使用されてもよい。

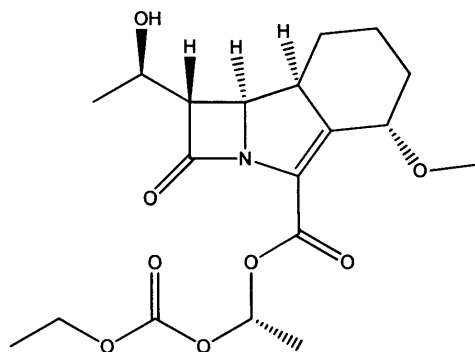
【0 0 4 4】

他のプロドラッグは、(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-(*S*)-1-((エトキシカルボニル)オキシ)エチル 1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸エステルで、以下の構造を有する。

40

50

【化 15】



10

【0045】

このプロドラッグは、例えば、WO 94 / 2 1 6 3 7 に記載されている手順または同様の方法により製造されていてもよい。

【0046】

全ての化学構造は、ChemBioDraw Ultra version 12.0 を使用して（構造の名前への変換により）、命名されている。

【0047】

本明細書において、化合物 A またはその塩には、遊離酸としての、またはその薬学的に許容可能な塩としての化合物 A が含まれると理解される。したがって、一つの実施態様において、本発明は化合物 A を対象としている。他の実施態様において、本発明は化合物 A の薬学的に許容可能な塩を対象としている。他の実施態様において、本発明は化合物 A のエステルプロドラッグを対象としている。

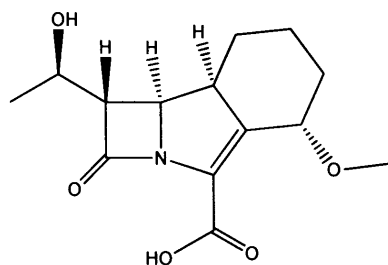
20

【0048】

用語「エステルプロドラッグ」は化合物 A を示し、化合物中、エステルは存在する遊離カルボン酸部分を用いて／存在する遊離カルボン酸部分上に、形成される。言い換えると、「エステルプロドラッグ」は以下の構造式において、エステルが利用可能な遊離酸を用いて形成されていることを意味している。

30

【化 16】



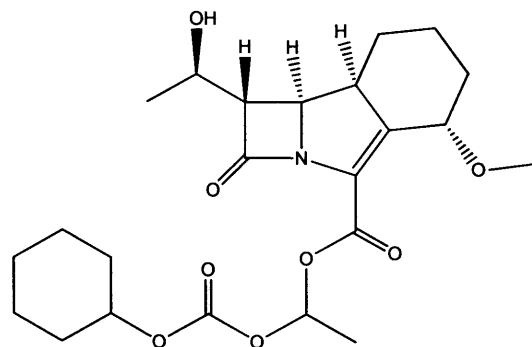
40

【0049】

前記エステルプロドラッグの例として、以下の構造を有する化合物がある。

50

【化 17】



10

【0050】

「薬学的に許容可能な」との用語は、医療上健全な判断の範囲において、ヒト及び動物の組織との接触において、過度の毒性、刺激または他の問題または合併症もなく、合理的なリスク・ベネフィット比に見合った使用のために適している、それらの化合物（塩を含む）、原料、組成物、剤形を示す。

【0051】

薬学的に許容可能な塩には、とりわけ、Berge, J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19, or those listed in P H Stahl and C G Wermuth, editors, Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection and Use, Second Edition Stahl/Wermuth: Wiley-VCH/VHCA, 2011 (<http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-3906390519.html>参照)に記載されているものが含まれる。

20

【0052】

薬学的に許容可能な塩に適したものには、塩基付加塩を含むことができる。

【0053】

前記塩基付加塩は、晶析及び濾過を含む多様な方法により単離できる塩を与えるために、任意に有機溶媒のような適切な溶媒において、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸と、適切な塩基との反応により形成される。

30

【0054】

代表的な薬学的に許容可能な塩基付加塩には、限定されるわけではないが、アルミニウム、2-アミノ-2-(ヒドロキシメチル)-1,3-プロパンジオール (TRIS、トロメタミン)、アルギニン、ベネタミン (N-ベンゾイルフェネチルアミン)、ベンザシン (N, N'-ジベンジルエチレンジアミン)、ビス-(2-ヒドロキシエチル)アミン、ビスマス、カルシウム、クロロプロカイン、コリン、クレミゾール (1-pクロロベンジル-2-ピロリジン-1'-イルメチルベンゾイミダゾール)、シクロヘキシルアミン、ジベンジルエチレンジアミン、ジエチルアミン、ジエチルトリアミン、ジメチルアミン、ジメチルエタノールアミン、ドパミン、エタノールアミン、エチレンジアミン、L-ヒスチジン、鉄、イソキノリン、レピジン、リチウム、リジン、マグネシウム、メグルミン (N-メチルグルカミン)、ピペラジン、ピペリジン、カリウム、プロカイン、キニーネ、キノリン、ナトリウム、ストロンチウム、t-ブチルアミン及び亜鉛が含まれる。

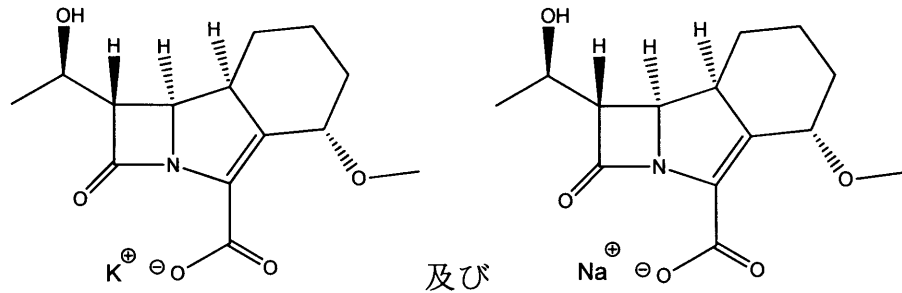
40

【0055】

本発明によれば、薬学的に許容可能な塩は、特に化合物Aのナトリウム塩及びカリウム塩であり、処置のために患者に投与する化合物は、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸カリウムまたは(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸ナトリウムであって、それぞれ以下のように記載される。

50

【化 18】



10

【0056】

一つの実施態様において、化合物Aの薬学的に許容可能な塩はナトリウム塩である。

【0057】

化合物(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのプロドラッグ (1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸エステルは、そのいかなる適切なその溶媒和形態（例えば、水和形態）及び／またはその多形体において存在できると理解される。

20

【0058】

化合物(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのプロドラッグ(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸エステルは、E P O 4 1 6 9 5 3 及び W O 9 4 / 2 1 6 3 7 に記載されている手順または同様の方法により製造されていてもよい。

【0059】

具体的には、(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸またはその塩は、W O 9 4 / 2 1 6 3 7 の例 4 及び 5 に記載されている手順により製造されていてもよい。

30

【0060】

具体的には、プロドラッグ(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸エステルは、W O 9 2 / 0 3 4 3 7 の例 1 に記載されている手順により製造されていてもよい。他のエステルプロドラッグは同様の方法及び当業者に知られている方法により製造されていてもよい。

【0061】

本発明のさらに別の態様において、それを必要としている患者におけるマイコバクテリア感染に起因する疾患の処置のための方法が提供され、前記方法は、(1*S*,5*S*,8*aS*,8*bR*)-1-((*R*)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8*a*,8*b*-オクタヒドロアゼト[2,1-*a*]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの前記患者への治療上有効量の投与を含む。

40

【0062】

マイコバクテリア感染は、*Mycobacterium tuberculosis*のように、上に記載しているリストから選択されるマイコバクテリウム属の1つにより引き起こされてもよい。

【0063】

一つの実施態様において、処置される疾患は結核である。したがって、一つの実施態様

50

において、本発明はまた、それを必要としている患者における結核の処置の方法に関連し、前記方法は、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの前記患者への治療上有効量の投与を含む。

【0064】

別の態様において、それを必要としている患者におけるマイコバクテリア感染の処置のための方法が提供され、前記方法は、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの前記患者への治療上有効量の投与を含む。

10

【0065】

マイコバクテリア感染は、上記のリストから選択されるマイコバクテリウム属の1つにより引き起こされてもよい。一つの実施態様において、マイコバクテリア感染は、Mycobacterium tuberculosis感染であり、本発明はMycobacterium tuberculosis感染の処置の方法に関する。

【0066】

別の態様において、それを必要としている患者における結核の処置のための方法が提供され、前記方法は、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの前記患者への治療上有効量の投与を含む。

20

【0067】

一つの実施態様において、それを必要としている患者における結核の処置のための方法が提供され、前記方法は、化合物Aのエステルプロドラッグの前記患者への治療上有効量の投与を含む。具体的には、エステルプロドラッグは、(1S,5S,8aS,8bR)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸エステルであり、上記の構造を有する。

【0068】

他の実施態様において、それを必要としている患者における結核の処置のための方法が提供され、前記方法は、化合物Aの薬学的に許容可能な塩の前記患者への治療上有効量の投与を含む。具体的には、薬学的に許容可能な塩はナトリウム塩であり、患者に投与される薬剤は(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸ナトリウムである。

30

【0069】

一つの実施態様において、それを必要としている患者とはヒト患者である。「患者」との用語は、マイコバクテリア感染、マイコバクテリア感染に起因する疾患または結核を患っている、またはそれらに感染しているヒトを示すことを意図する。

【0070】

さらに、マイコバクテリア感染を原因とする疾患の処置、またはマイコバクテリア感染の処置において使用するための薬剤の製造における、化合物(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの使用、が提供される。具体的には、本発明は、結核の処置において使用するための薬剤の製造における、化合物(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの使用、に関する。

40

【0071】

具体的には、結核の処置において使用するための薬剤の製造における、(1S,5S,8aS,8b

50

R)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸ナトリウム、または(1S,5S,8aS,8bR)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸エステルの使用もまた提供される。

【0072】

ここで使用されるように、用語「治療上有効量」とは、そのような量を受けていない対照となる対象と比較して、改善された処置、治療、予防、または疾患、不調、または副作用の改善、疾患または不調の進行速度を遅らせる、という結果をもたらすいかなる量も意味している。

【0073】

適切な「治療上有効量」は、例えば、対象の年齢及び体重、必要な処置の正確な条件及びその厳格性、製剤の性質、及び投与経路、を含む多くの要因に依存し、最終的には主治医の判断基準となるだろう。

【0074】

当業者にとって、ここで処置が参照しているものは、例えば、マイコバクテリア感染、マイコバクテリア感染に起因する疾患及び／または結核を含んでいる、規定の条件の処置を示すと理解されるだろう。しかし、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸は、その薬学的に許容可能な塩またはそのエステルプロドラッグも同様に、条件に依存して、マイコバクテリア感染、マイコバクテリア感染に起因する疾患及び／または結核の予防においても有用であってもよい。したがって、一つの実施態様において、疾患の処置または予防が提供される。他の実施態様において、疾患の処置が提供される。別の実施態様において、疾患の予防が提供される。

【0075】

マイコバクテリア感染、マイコバクテリア感染に起因する疾患及び／または結核の処置において使用するために、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸は、その薬学的に許容可能な塩またはそのエステルプロドラッグも同様に、単独で投与することも可能だが、有効成分を、一つ以上の薬学的に許容可能な賦形剤を含む医薬組成物として提示することが通常である。

【0076】

したがって、一つの実施態様において、また、医薬組成物が提供され、前記医薬組成物はマイコバクテリア感染、マイコバクテリア感染に起因する疾患または結核の処置において使用するための、(a) (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸ナトリウムまたはプロドラッグ(1S,5S,8aS,8bR)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸エステル、及び(b)薬学的に許容可能な賦形剤を含む。

【0077】

医薬組成物はいかなる適切な経路、例えば、経口（バツカルもしくは舌下を含む）、吸入、鼻腔、局所（バツカル、舌下もしくは経皮を含む）または非経口（皮下、筋肉内、静脈内もしくは皮内）経路で投与されてもよい。

【0078】

一つの実施態様において、医薬組成物は経口投与経路により投与される。経口投与のための医薬組成物であるときは、具体的には、エステルプロドラッグ(1S,5S,8aS,8bR)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸エステルが医薬有効成分として使用される。

10

20

30

40

50

【0079】

一つの実施態様において、医薬組成物は静脈内投与経路により投与される。静脈内投与のための医薬組成物であるときは、具体的には、化合物Aのナトリウム塩またはカリウム塩が医薬有効成分として使用される。

【0080】

薬学的に許容可能な賦形剤として適したものには以下の賦形剤の種類が含まれる：担体(carriers)、希釈剤(diluents)、充填剤(fillers)、結合剤(binders)、崩壊剤(disintegrants)、滑沢剤(lubricants)、流動化剤(glidants)、造粒剤(granulating agents)、コーティング剤(coating agents)、湿潤剤(wetting agents)、溶解剤(solvents)、助溶剤(co-solvents)、懸濁化剤(suspending agents)、乳化剤(emulsifiers)、甘味料(sweeteners)、香味料(flavouring agents)、香味マスキング料(flavour-masking agents)、着色剤(colouring agents)、固化防止剤(anti-caking agents)、保湿剤(humectants)、キレート化剤(chelating agents)、可塑剤(plasticisers)、増粘剤(viscosity increasing agents)、抗酸化剤(antioxidants)、保存剤(preservatives)、安定化剤(stabilisers)、界面活性剤(surfactants)及び緩衝剤(buffering agents)。

10

【0081】

(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグの製剤化のために適した方法には、当業者に公知の方法、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版 2006に記載されているものが含まれる。

20

【0082】

医薬組成物は、単位用量あたりあらかじめ決められた量の有効成分を含んでいる単位剤形で提示されてもよい。好ましい単位用量組成物は、有効成分を1日量または1日量より少ない量、またはその適切な分数含んでいる組成物である。前記単位用量は、したがって、1日1回以上投与されてもよい。好ましい単位用量組成物は、有効成分を1日量または1日量より少ない量（1日1回以上の投与のための）、ここで上に記載されているように、またはその適切な分数含んでいる組成物である。

【0083】

有効成分、例えば、エステルプロドラッグ(1S,5S,8aS,8bR)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸エステルの投与のために、投薬量は100mgから2000mgまたは100mgから1000mgであってもよい。例えば、投薬量は250mgから500mgであってもよい。具体的には、経口の投薬量は250mgから1000mgを1日2回投与してもよく、したがって、500mgから2000mgの1日の合計投薬量が提供される。経口の投薬頻度は1日1回の投薬でもよい。1日に投与される有効成分の合計量は500、1000または2000mgであってもよい。

30

【0084】

(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸またはその薬学的に許容可能な塩の静脈内投与のために、投薬量は1日あたり1gを3回まででもよく、1日合計3gの投与量が提供される。あるいは、1日合計投与量は1.5gまたは2gでもよい。

40

【0085】

化合物は1日あたりの投与量を1回で、または1日量より少ない量を1日の合計量が同じになるように複数回（2、3、4、5または6のような）で与えられてもよい。その薬学的に許容可能な塩またはそのエステルプロドラッグの有効量は、化合物(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸またはその薬学的に許容可能な塩それ自体の有効量との比率で決定されてもよい。

50

【0086】

使用されていてもよい経口用錠剤の処方例がEP502465に記載されており、以下の通りである。

【表1】

	m g / 錠
有効成分、例えば、 (1S, 5S, 8aS, 8bR)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル 1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メト キシ-2-オキソ-1, 2, 5, 6, 7, 8, 8a, 8b- オクタヒドロアゼト[2, 1-a]イソイン ドール-4-カルボン酸エステル	320
乳糖	150
エチルセルロース	20
ラウリル硫酸ナトリウム	7
ステアリン酸マグネシウム	3
錠剤コア	500 m g

10

【0087】

有効成分と乳糖と一緒に混合してもよく、それから、造粒液として水を使用して造粒してもよい。乾燥させた顆粒は、それからエチルセルロース、ラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウムと混合してもよく、適切な金型を使用して錠剤コアが形成される。錠剤は、それから、従来技術及びコーティング剤を使用して、（例えば、腸溶コーティングとして）コーティングされていてもよい。

【0088】

本発明における使用のため、化合物(1S, 5S, 8aS, 8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1, 2, 5, 6, 7, 8, 8a, 8b-オクタヒドロアゼト[2, 1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグは単独で、または追加の治療薬と組合せて使用してもよい。具体的には、化合物(1S, 5S, 8aS, 8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1, 2, 5, 6, 7, 8, 8a, 8b-オクタヒドロアゼト[2, 1-a]イソインドール-4-カルボン酸またはその薬学的に許容可能な塩またはそのエステルプロドラッグは、追加の抗結核薬及び／または抗レトロウィルス薬を含む抗ウィルス薬と組合せて使用してもよい。

30

【0089】

例えば、本明細書において、(a)化合物Aまたはその薬学的に許容可能な塩またはそのエステルプロドラッグと、(b)追加の抗結核薬との組合せも開示される。

【0090】

したがって、本発明はまた、マイコバクテリア感染またはマイコバクテリア感染に起因する疾患または結核の処置において使用するための、(a)化合物Aまたはその薬学的に許容可能な塩またはそのエステルプロドラッグと、(b)追加の抗結核薬との組合せを含む。一つの実施態様において、組合せは結核の処置において使用するためである。

40

【0091】

一つの実施態様において、組合せには、2、3、4、5、6または7つの追加の抗結核薬が含まれていてもよい。例えば、多剤耐性結核の処置において、4つまたはそれ以上の数の薬剤を組合せて患者に投与することが通常である。例えば、薬剤感受性結核の処置において、3または4つの薬剤を組合せて患者に通常投与される。

【0092】

追加の抗結核薬は、開発中、承認済または結核の処置のために推奨される薬剤であって

50

もよい。

【0093】

一つの実施態様において、抗結核薬は、イソニアジド、リファンピン、ピラジナミド、エタンブトール、モキシフロキサシン、リファペンチン、クロファジミン、エチオナミド、プロチオンアミド、チオカルリド (isoxyl)、チオアセタゾン、リファブチン、ベダキリン (TMC207) または TBAJ-587 等のジアリルキノリン、ニトロイミダゾーオキサジン PA-824 (プレトマニド)、デラマニド (OPC-67683)、リネゾリド、テジゾリド、ラデゾリド、ステゾリド (PNU-100480)、ポジゾリド (AZD-5847) または TBI-223 等のオキサゾリジノン、EMB アナログ SQ109、OPC-167832、GSK3036656A (GSK070 としてもまた知られる)、GSK2556286、GSK3211830、BTZ043 または PBTZ169 等のベンゾチアジノン、TBA-7371 等のアザインドール、ジニトロベンズアミド、またはメロペネム、ファロペネム、エルタペネム、テビペネム等のβ-ラクタム、または AUGMENTIN (アモキシシリン／クラブラン酸塩) 等のβ-ラクタムの組合せから選択されてもよい。

10

【0094】

一つの実施態様において、抗結核薬は AUGMENTIN、つまりアモキシシリン／クラブラン酸塩であってもよい。したがって、本明細書において、化合物 A、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ及び AUGMENTIN の組合せも開示される。

20

【0095】

他の実施形態において、抗結核薬は、デラマニド、リファンピシン及びエタンブトールから選択されてもよい。したがって、本明細書において、化合物 A、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ及び、少なくともデラマニド、リファンピシン及びエタンブトールの1つの組合せも開示される。

【0096】

本発明による使用のための組合せには、抗レトロウィルス薬を含む抗ウィルス薬がさらに含まれていてもよい。

【0097】

前記抗レトロウィルス薬は、ジドブジン、ジダノシン、ラミブジン、ザルシタビン、アバカビル、スタブジン、アデフォビル、アデフォビル ジピボキシル、フォジブジン、トドキシル、エントリシタビン、アロブジン、アムドキシビル、エルブシタビン、ネビラピン、デラビルジン、エファビレンツ、ロビリド、イムノカル、オルチプラズ、カブラビリリン、レルシビル、GSK2248761、TMC-278、TMC-125、エトラビリリン、サキナビル、リトナビル、インジナビル、ネルフィナビル、アンブレナビル、ホサンプレナビル、ブレカナビル、ダルナビル、アタザナビル、チプラナビル、パリナビル、ラシナビル、エンフビルチド、T-20、T-1249、PRO-542、PRO-140、TNX-355、BMS-806、BMS-663068 及び BMS-626529、5-ヘリックス、ラルテグラビル、エルビテグラビル、GSK1349572、GSK1265744、ビクリビロク (Sch-C)、Sch-D、TAK779、マラビロク、TAK449、ジダノシン、テノホビル、ロピナビル、またはダルナビルから選択されてもよい。

30

40

【0098】

組合せは、好都合には、医薬組成物または製剤の型において使用するために、提供されてもよい。したがって、本明細書において、(a) 化合物 A、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ、ここで記載されているように、(b) 追加の他の抗結核薬、及び (c) 場合により、抗レトロウィルス薬を含む抗ウィルス薬、及び (d) 1 つまたは 2 以上の薬学的に許容可能な賦形剤と一緒に含む医薬組成物が意図されている

【0099】

化合物 (1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7

50

,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ及び追加の治療上の活性薬剤（抗結核薬及び抗ウィルス薬のような）は同時に、または別々に投与されてもよく、別々に投与するときは、別々に、または任意の順で（同じもしくは異なる投与経路により）順次生じてよい。

【0100】

一つの実施態様において、化合物A、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグは、追加の抗結核薬と同時投与される。用語「同時投与」は、化合物A、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグとマイコバクテリア感染マイコバクテリア感染に起因する疾患、または結核、特に結核の処置において有用であると知られている追加の抗結核薬との同時の投与または別々の投与の任意の様式も意味する。

10

【0101】

組合せの要求される治療効果を達成するために、化合物(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩、またはそのエステルプロドラッグ及び追加の治療上の活性薬剤の量、及び投与の相対的なタイミングが選択される。

【0102】

化合物(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸、その薬学的に許容可能な塩またはそのエステルプロドラッグは、β-ラクタマーゼ阻害薬と組合せて投与されてもよい。

20

【0103】

したがって、本発明はまた、サンフェトリネムのエステルプロドラッグ(1S,5S,8aS,8bR)-1-(((シクロヘキシルオキシ)カルボニル)オキシ)エチル1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸エステル及びβ-ラクタマーゼ阻害薬の組合せに関する。

【0104】

本発明は、さらに、サンフェトリネムのナトリウム塩、(1S,5S,8aS,8bR)-1-((R)-1-ヒドロキシエチル)-5-メトキシ-2-オキソ-1,2,5,6,7,8,8a,8b-オクタヒドロアゼト[2,1-a]イソインドール-4-カルボン酸ナトリウム及びβ-ラクタマーゼ阻害薬の組合せに関する。

【0105】

一つの実施態様において、β-ラクタマーゼ阻害薬は、クラブラン酸またはその水溶性塩（クラブラン酸カリウム等）、タゾバクタム、アビバクタム及びスルバクタムから選択される。

30

【0106】

一つの実施態様において、β-ラクタマーゼ阻害薬は、クラブラン酸またはクラブラン酸カリウム等のその水溶性塩である。

【0107】

一つの実施態様において、β-ラクタマーゼ阻害薬は、コアモキシクラブとしても知られる（例えば、AUGMENTINとしても知られる）アモキシシリンとクラブラン酸カリウムの組合せとして提供されてもよい。コアモキシクラブは375mgまたは625mgの錠剤として投与されてもよく、錠剤中、クラブラン酸カリウムは125mgのクラブラン酸に相当する量が存在している。さらに、コアモキシクラブは1000mgの錠剤として投与されてもよく、錠剤中、クラブラン酸カリウムは125mgのクラブラン酸に相当する量が存在している。あるいは、コアモキシクラブは、アモキシシリンの1日あたりの合計量が4000mgになるように投与されてもよく、ここで、クラブラン酸カリウムは250mgのクラブラン酸に相当する量が存在している、すなわち、1000mgの錠剤の投与であって、錠剤中、クラブラン酸カリウム62.5mgの量が存在しており、1日あたり2錠が2回投与される。

40

【0108】

本発明は以下の実施例が参照される。

50

【実施例】

【0109】

サンフェトリネムのナトリウム塩は、以下の細胞外及び細胞内生存率評価法において試験された。いくつかの他のβ-ラクタム薬、メロペネム、テビペネム、エルタペネム及びファロペネムもまた同じ試験法において試験された。

【0110】

サンフェトリネムはEP0416953及びWO94/21637（例えば、例4及び5参照）に記載された方法の一つにより製造された。以下に記載された評価法においては、サンフェトリネムのナトリウム塩が使用された。

【0111】

ファロペネムナトリウムはAOKChem-中国（A6030参照）から購入した。

【0112】

メロペネムはCombi Blocks, 米国（ST-9229参照）から購入した。

【0113】

テビペネムはChemexpress (Shanghai Haoyuan) 株式会社（HY-A0076参照）から購入した。

【0114】

エルタペネムはAmatek（DM-0004参照）から購入した。

【0115】

クラブラン酸カリウムはクラブラン酸源として使用され、以下表において「clav」として表される。

【0116】

略語表

DMSO：ジメチルスルホキシド

ADC：アルブミン／デキストロース／カタラーゼ

CFU：コロニー形成単位

FBS：ウシ胎児血清

Mtb：マイコバクテリウム ツベルクロシス

RPMI：ロズウェルパーク記念研究所

PBS：リン酸緩衝生理食塩水

【0117】

MIC定量

それぞれの試験化合物のM. tuberculosis H37Rvに対する最小発育阻止濃度（MIC）測定を、96ウェルの平底ポリスチレンマイクロタイタープレートで、最終容量200μLで実施した。

【0118】

適切なDMSOで80μMのスタート濃度とした試験化合物の2倍希釈を10回、カラム1～10で実施した。モキシフロキサシン（MX）が、用量反応化合物対照として、カラム11で1μg/mLのスタート濃度としたMXの2倍希釈液で使用された。G-12及びH-12において、非生育対照として、リファンピシンが1μg/mL分注された。A12～F12には、生育対照としてDMSOが分注された。

【0119】

同じ設計の追加のプレートもまた、β-ラクタマーゼ阻害薬の存在下でのMICの推移を試験するため、4μg/mLのクラブラン酸カリウム（Fluka 33454参照）を全てのプレートに添加して、製造された。

【0120】

菌液は約 1×10^7 cfu/mLに標準化され、ADC（Difco）を補完したミドルブルック 7H9ブロスで200倍に希釈された。この菌液（200μL及び 10^4 cfu/ウェル）はプレート全体に添加された。

【0121】

10

20

30

40

50

全てのプレートは、周辺のウェルが乾燥するのを防ぐために、密封された容器の中に静置され、振とうすることなく6日間37℃でインキュベートされた。

【0122】

レサズリン液はレサズリン錠（牛乳試験のためのレサズリン錠；330884Y' VW R インターナショナルリミテッド参照）を1錠、無菌のPBS（リン酸緩衝生理食塩水）30mLで溶解することにより製造された。この溶液中、25μLがそれぞれのウェルに添加された。

【0123】

48時間後にMIC値を決定するために、蛍光（Spectramax M5 モレキュラーデバイス励起波長530nm、蛍光波長590nm、カットオフ570nm）が測定された。

10

【0124】

サンフェトリネムシレキセチルを含むサンフェトリネム並びに他の代表的なβ-ラクタム（メロペネム、テビペネム、ファロペネム及びエルタペネム）の細胞外MIC値を以下の表1に報告する。表で確認できるように、生データはMIC値の平均値とともに報告されている。2回のMIC値の違いは誤差の範囲内であると考えられる。報告されているそれぞれの値は、カンマにより区切られており、MIC値を独立して読み取った代表的な値である。

【0125】

【表2】

20

表1：

化合物	MIC μM (clavあり)	MIC μM (clavなし)	MIC μM (clavありの平均値)	MIC μM (clavなしの平均値)
サンフェトリネム (ナトリウム塩)	1.25, 2.5, 5	2.5, 5, 7.5	2.9	5
サンフェトリネムシレキセチル	5, 5, 10, 10, 5, 5, 20	10, 7.5, 10, 10, 7.5, 10, 10, 20	8.6	10.6
ファロペネム	10, 5, 5, 5, 7.5, 20, 10	20, 10, 5, 5, 20, 30, 20	8.9	15.7
メロペネム	2.5, 5, 15, 5	15, 40, 40	6.9	31.7
テビペネム	1.25	7.5	1.25	7.5
エルタペネム	10, 20, 20	80, >80, >80	16.7	>80

30

40

【0126】

細胞内生存率評価法

化合物の、ヒトTHP-1単球内で生育するMycobacterium tuberculosisに対する抗結核活性は、ホタルルシフェラーゼ遺伝子を含むM. tuberculosis H37Rvを使用して、決定された。

【0127】

50

THP-1単球は、10%FBS、1mMのピルベート、2mMのL-グルタミンを含むRPMI-1640培地に懸濁されて維持され、5%CO₂の存在下、37℃でインキュベートされた。

【0128】

単球はサブコンフルエント（ 5×10^5 cell/ml）まで生育させ、0.05%Tween 80を含むRPMI-1640で懸濁させた細菌液が播種され、細菌ローラーボトルで、MOI（multiplicity of infection）が1となるように、無菌ガラスビーズと共に4時間感染させた。過剰な細菌はRPMI培地で5回洗浄することにより（1500rpm、5min）取り除いた。

【0129】

感染細胞は、化合物の1：2の段階希釈を含んでいる96ウェルの白プレートに播種された（50,000細胞/1ウェル）。DMSOの割合は0.5%以下でなければならない。

【0130】

ルミネセンスは5日後に、Steady-GloプロメガキットをVictor 1420システムの中で使用して、測定された。

【0131】

結果はGrafitソフトウェアを使用して解析された。MIC₉₀値は非線形回帰分析による用量反応曲線より計算された。

【0132】

サンフェトリネムシレキセチルを含むサンフェトリネム並びに他の代表的なβ-ラクタム（メロペネム、ファロペネム、テビペネム及びエルタペネム）の細胞内MIC₅₀値は以下の表2に報告されている。同じ化合物の細胞内MIC₉₀値は表3に報告されている。表で確認できるように、生データはMIC₅₀値の平均値及びMIC₉₀値の平均値とともに報告されている。2回のMIC値の違いは誤差の範囲内であると考えられる。報告されているそれぞれの値は、カンマにより区切られており、MIC値を独立して読み取った代表的な値である。

【0133】

【表3】

表2：

化合物	MIC ₅₀ μM (clavあり)	MIC ₅₀ μM (clavなし)	MIC ₅₀ μM (clav ありの平均値)	MIC ₅₀ μM (clav なしの平均値)
サンフェトリ ネム(ナトリ ウム塩)	0.7, 2.06, 2.15	1.32, 1.64, 2	1.64	1.65
サンフェトリ ネムシレキセ チル	0.3, 0.9	0.49, 1.2	0.6	0.85
ファロペネム	1.0, 1.2	2.2, 1.5	1.1	1.85
メロペネム	2.03, 1.85	8.97, 4.6	1.94	6.78
テビペネム	—	—	0.49	4.51
エルタペネム	—	—	3.84	29.56

【0134】

【表 4】

表 3 :

化合物	MIC90 μ M (clavあり)	MIC90 μ M (clavなし)	MIC90 μ M (clav ありの平均値)	MIC90 μ M (clav なしの平均値)
サンフェトリネム(ナトリウム塩)	6.13, 6.8, 8.82	2.13, 6.9, 7.69	7.25	5.57
サンフェトリネムシレキセチル	4.6, 5.3	3.4, 7	5	5.2
ファロペネム	6.8, 4.7	14.7, 10.0	5.75	12.35
メロペネム	5.39, 5.71	19.62, 14.41	5.55	17.01
デビペネム	—	—	3.61	46.48
エルタペネム	—	—	21.02	>50

【0135】

生体内(in vivo)実験

生体内のサンフェトリネムの抗結核活性を評価するため、前に、Antimicrob Agents C hemother. 2015 Aug;59(8):4997-9に記載されている実験デザインが使用された。しかし、DHP-1ノックアウトマウスとは異なるバックグラウンド系統が使用されていた：論文にはC57BI/6バックグラウンドの代わりに129svバックグラウンドが記載されていた。

【0136】

簡潔に、特定病原体除去で、8-10週齢のメスの129svのDHP-1ノックアウトマウスが購入され、1週間で馴化させられた。マウスは気管内に約 10^5 CFU/1匹の *M. tuberculosis* H37Rvが感染された。化合物サンフェトリネムナトリウム塩(SNF)、サンフェトリネムシレキセチル(SNFC)、メロペネム(MRP)、及びクラブラン酸塩(CLV)は、感染後、9日目~14日目の間1日2回投与された。MRP及びSFNは皮下に投与された。SNFC及びCLVは経口経路により投与された。肺は、9日目または15日目で回収した。全ての肺葉は無菌で除去され、ホモジナイズされ、かつ凍結された。ホモジネートは凍結せず、18日間37℃で10%のOADC-7H11培地+0.4%の活性炭中に播種した。

【0137】

9日時の無処置マウスにおける肺CFUは7.4であり、15日時では9.0 CFUであった。SFNの皮下投与処置、SNFCの経口投与処置、及びMRP-CLV処置マウスの肺CFUはそれぞれ、7.3、7.6及び7.3であった(図1参照)。図1において、それぞれの点は1匹のマウスからのデータを表している。肺CFU平均値は、それぞれの群の点の上方に示されている。

【0138】

SFN及びSNFCはこの評価法において、MRP-CLVに対して等しく有効であり、3つ全てが細菌の生育を阻害した。

【0139】

正味の致死効果は観察されなかったが、この実験はサンフェトリネム及びサンフェトリネムシレキセチルの両方が生体内においてどちらも効果を持つという証拠を提供した。

【0140】

全ての動物実験は倫理的に審査され、欧州指令 2 0 1 0 / 6 3 / E U 及び動物の世話、福祉及び処置に関する G S K の方針にしたがって実施された。

【 0 1 4 1 】

結論

表 1 ～ 3 で明らかなように、細胞内及び細胞外評価法の両方において、サンフェトリネムは抗細菌、具体的には *Mycobacterium tuberculosis* に対する活性を有する。サンフェトリネム及びサンフェトリネムシレキセチルはまた、生体内の抗結核活性を有する。

【 0 1 4 2 】

M.TUBERCULOSIS 臨床(clinical)分離株に対するサンフェトリネムの生体外(in vitro)活性

サンフェトリネム（ナトリウム塩）は、薬物感受性及び薬物耐性の両方を含む実験室株及び臨床分離株のパネルに対して試験がなされた。以下の表 4 は使用された株の耐性パターンの詳細な説明が提供される。

【 0 1 4 3 】

【表 5】

名称	背景	耐性プロファイル
H37Rv	H37Rv	DS
dH37Rv H526D	H37Rv	RIF
clinical strain S531L	Clinical	RIF
2A	Clinical	INH
21	Clinical	INH
70	Clinical	INH
223	Clinical	INH
250	Clinical	INH
276	Clinical	INH
280	Clinical	INH
291	Clinical	INH
389R	Clinical	INH
Beijing 1137	Clinical	DS
52 S (car1)	Clinical	DS
215 (car3)	Clinical	DS
275 (car5)	Clinical	DS
2020 S (car6)	Clinical	DS
2166S (car8)	Clinical	DS
Clinical Moxi R 488	Clinical	MOX
Clinical Strep R	Clinical	STR
Line R	H37Rv	LZD
CDC 1551	CDC 1551	DS
Erdman	Erdman	DS

DS, 薬物感受性; RIF, リファンピシン; INH, イソニアジド; MOX,

モキシフロキサシン; STR, ストレプトマイシン; LZD, リネゾリド

【 0 1 4 4 】

細菌株、一般生育条件及び MGIT 感受性評価法

株は、37℃で、10%のミドルブルック アルブミン-デキストロース-カタラーゼ (ADC) (Difco)、0.2%のグリセロール、0.05%の(vol/vol)を添加したミドルブルック 7H9ブロスにて増殖させた。感受性評価法は、BD BL MGIT OADCとともに供給されるBD BL MGITチューブを使用して、ベクトン・ディッキンソン (BD) メディカル・テクノロジーからのMGIT 960システムを使用して実施された。簡潔に、7mL MGITチューブに、0.8mLのOADCサプリメント、0.1mLのサンフェトリネムDMSOストック溶液、チューブ1本当たり10⁵の細胞数になるような最終細胞濃度である細胞溶液0.1mL (MGITチューブの最終容量は8mL) が添加される。この標準菌液は、4～5日のタイムトゥポジティブ (TTP) を生み出す。TTPは、MGIT生育指標 (GI) が75より高くに到達するための細胞培養に必要な時間だと定義された。サンフェトリネムは、4つの異なる濃度、すなわち0.5、1.25、5および20 μMにおいて評価された。各単離株のため、少なくとも7日間の細菌生育阻止が可能 (GI < 75) な最小濃度として厳しいMICカットオフが規定された。リファンピシン、イソニアジド、モキシフロキサシン、リネゾリド、及びストレプトマイシンもまた臨床分離株に対する活性の内対照として使用された。

【0145】

感受性の単耐性パターンの臨床分離株を含む、23の*M. tuberculosis*株のパネルに対するサンフェトリネムの活性を試験した。サンフェトリネムの4つの異なる濃度が評価された (0.5、1.25、5及び20 μM)。同じMIC値を共有する株の数を図2に示した。最もありふれたMIC値は5 μMであった (23株中15株)。4株が5 μMよりも低いMIC値を示した、一方で、他の4株の場合では、この値は高くなった。全ての株は、試験された濃度範囲内において、サンフェトリネムへの感受性を示した。

【0146】

組合せ実験

サンフェトリネム (ナトリウム塩) とアモキシシリン (及びクラブラン酸)、リファンピシン、エタンブトール及びデラマニドのような他の薬剤の組合せについて、さらなる実験が実施された。

【0147】

実験材料及び方法—アモキシシリン及び／またはクラブラン酸塩の組合せ チェッカーボードプレート

実験は96ウェルプレートで実施した。サンフェトリネム (ナトリウム塩) とアモキシシリンのチェッカーボードプレートが準備された。アモキシシリンはカラム1～9まで横軸に沿って希釈され (80 μM～0.3 μM)、サンフェトリネムは列A～Gまで縦軸に沿って希釈された (5 μM～0.08 μM)。

【0148】

1:2の段階希釈が使用され、結果のチェッカーボードには、カラム1においてアモキシシリンが最高濃度になっており、列Aにおいてサンフェトリネムが最高濃度になっているサンフェトリネムとアモキシシリンを含有させた。

【0149】

それらの個別のMICを確認するために、カラム10にサンフェトリネムを単独で含有させ、列Hにアモキシシリンを単独で含有させた。

【0150】

陽性生育対照としてDMSOを用いた菌液がA12～D12に分注され、阻止対照として1 μg/mLのリファンピシン (R3501—Sigma) を加えた菌液がE12～H12に分注された。これらの対照とともに、評価法におけるプレートの品質管理としてZ'値及びバックグラウンドへの信号を設定することが可能であった。

【0151】

カラム11において、用量反応曲線を提供するために、モキシフロキサシンがA11 (1 μg/mL) ～H11 (0.008 μg/mL) に評価法の対照として分注された。

【0152】

10

20

30

40

50

4つの同一のプレートが生成され、これらの2つにおいて、クラブラン酸カリウム（3454-100MG SIGMA）が、 $4\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で、チェッカーボードに加えられた。実験は、クラブラン酸塩あり及びなしで進められた。

【0153】

同じデザインだが、アモキシシリン濃度がより低い（カラム1～9において、 $5\mu\text{M}$ ～ $0.02\mu\text{M}$ ）4つのプレートの第二のセットもまた、全ての関連薬濃度が探索されたことを保証するために準備された。

【0154】

菌液

使用された培地は7H9-ADC-シロキサポールであった。4.7gのミドルブルック7H9ブラスベースを900mLのイオン交換水に溶解させた。5mLの10%w/vのシロキサポール及び10%のアルブミン-デキストロス/カタラーゼ（ADC）エンリッチメント（ベクトン・ディッキンソン）が、その後添加された。使用された菌株は *M.tuberculosis* H37Rvであり、培養が対数増殖期になった時、培養液は約 $1 \times 10^7 \text{ CFU}/\text{mL}$ （ $\text{OD}_{600} = 0.125$ ）に標準化された。培養液は、その後、菌液は7H9-ADC-シロキサポールで200倍に希釈され、この菌液はそれぞれのウェルに $5 \times 10^4 \text{ CFUs}/\text{mL}$ で添加された。そのプレートは、 37°C で6日間、インキュベートされた。

【0155】

リードアウト

レサズリンがリードアウトとして使用された。レサズリン1錠（R/0040/79 __フィッシャーサイエンティフィック参照）が、30mLのPBSに溶解された。この溶液は濾過（ $0.22\mu\text{m}$ ）により無菌化された。この無菌液 $25\mu\text{L}$ がそれぞれのウェルに追加され、そのプレートは追加で48時間、 37°C でインキュベートされた。インキュベート後、SpectraMax M5（モレキュラーデバイス）で蛍光を決定した。設定は、励起波長530nm、蛍光波長590nm（カットオフ波長570nm）であった。

【0156】

データ解析

各評価プレートには、DMSOを含む一連の陰性対照が含まれ、それは、100%の細菌生育に相当し、一連の陽性対照（ $1\mu\text{g}/\text{mL}$ のリファンピシン）が含まれ、そこでは、100%の細菌生育阻止が達成される。これらの対照は、Z'の決定を通して評価法の品質を観察するために、またプレートごとの基準値によるデータ（生育%）の標準化のために、使用された。

【0157】

異なる場合における、サンフェトリネムのそれぞれ一連の用量反応測定（サンフェトリネムに対する生育%）、すなわち単独療法及びアモキシシリン（異なる濃度における）及び／またはクラブラン酸との組合せは、4つのパラメータ（最大値、最小値、XC50及びHill Slope）とともに以下のヒルの式に適合された。

【0158】

【数1】

$$\text{生育\%} = \text{最低値} + (\text{最高値} - \text{最低値}) / (1 + 10^{-(\log \text{XC50} - \log [\text{サンフェトリネム濃度}]) * \text{Hill Slope}})$$

【0159】

ソフトウェアGraphPad Prism 6において利用可能な方法に適合した非線形回帰曲線が、それぞれの場合のパラメータを計算するために使用された。

【0160】

この方程式において、XC50は最高値及び最低値の間で生育%の半値に達する濃度を

表していることに注意する。重要なパラメータは90%阻止（つまり、10%の生育）に達するサンフェトリネムの濃度であり、ここでIC90により示される。上で示した方程式を使用して、このパラメータは、以下のように、推定パラメータから直接に計算されることができる。

【0161】

【数2】

$$IC90 = XC50 * ((10\% - \text{最低値}) / (\text{最高値} - 10\%))^{(1 / HillSlope)}$$

10

【0162】

単独療法におけるアモキシシリン特性評価のため、それが90%阻止に達しなかったため、その代わりに、IC80が計算された。このパラメータは、類似的に、相当する用量反応測定、つまりアモキシシリンに対する生育%に適合する非線形により推定されるパラメータより計算された。

【0163】

結果

データは表5、図3及び4において報告される。

【0164】

20

【表6】

表5：

化合物	IC90 ($\mu\text{g/ml}$)
サンフェトリネム	1.22
サンフェトリネム + クラブラン酸	0.55
サンフェトリネム + アモキシシリン ($5\mu\text{g/ml}$)	0.91
サンフェトリネム + アモキシシリン ($5\mu\text{g/ml}$) + クラブラン酸	0.1
サンフェトリネム + アモキシシリン ($10\mu\text{g/ml}$)	0.33
サンフェトリネム + アモキシシリン ($10\mu\text{g/ml}$) + クラブラン酸	0.1

30

【0165】

40

アモキシシリン単独で試験され、IC80値 ($\mu\text{g/mL}$) は42が観察されたことは注意されるべきである。アモキシシリン及びクラブラン酸カリウムはまた、組合せで試験され、IC80値 ($\mu\text{g/mL}$) は3.9が観察された。

【0166】

分画阻止濃度係数 (FICI) (Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. Odds, F.C. 1, s.l., Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003, Vol. 52)には、Loewe相加法モデルに基づくものであるが、(What is synergy? The Saariselka agreement revisited. Tang J., Wennerberg K. and Aittokallio T. 181, s.l., Frontiers in Pharmacology, 2015, Vol. 6)90%生育阻止 (FICI90により示される) のため、ここで、生体外評価法における、この細胞外活性における組

50

合せの相乗効果の評価が考慮される。0.5以下のFICIは相乗効果を表すと考えられる。この相乗効果の特性評価／定量化は探索的であり、実際の相乗効果または拮抗作用機構を説明するものではない（Tang J., Wennerberg K及びAittokallio Tにより述べられている）。

【0167】

FICI₉₀の計算は、サンフェトリネム単独のIC₉₀、1.22 μg/ml、クラブラン酸塩との組合せにおける0.55 μg/ml、アモキシシリン（10 μg/ml）との組合せにおける0.33 μg/ml、及びアモキシシリン（5 μg/ml）とクラブラン酸塩との組合せにおける0.1 μg/mlを伴う。クラブラン酸塩単独では活性でなく、アモキシシリン単独もクラブラン酸塩との組合せも90%生育阻害に達しない（図7：アモキシシリン用量反応）ため、FICI₉₀の計算において相当する分画項は0である。

10

【0168】

【数3】

- サンフェトリネム＋クラブラン酸：

$$FICI_{90} = 0.55 / 1.22 = 0.45$$

これはほとんど1つの希釈液であり、大きな相乗効果を表しているとは考えられない。

20

【0169】

【数4】

- サンフェトリネム＋アモキシシリン（10 μg/ml）：

$$FICI_{90} = 0.33 / 1.22 = 0.27$$

この組合せは相乗効果を表していると考えられる。

【0170】

30

【数5】

- サンフェトリネム＋アモキシシリン（5 μg/ml）＋クラブラン酸：

$$FICI_{90} = 0.1 / 1.22 = 0.1$$

この組合せは相乗効果を表していると考えられる。

【0171】

40

実験材料及び方法－サンフェトリネム（ナトリウム塩）とリファンピシン（RIF）、エタンブトール（EMB）、デラマニド（DLID）及びアモキシシリン（AMX）の組み合わせ

菌株及び一般的な生育条件

Mtb H37Rv株は、規定通りに、37℃で、10%のミドルブルック アルブミン－デキストロース－カタラーゼ（ADC）（Difco）、0.2%のグリセロール及び0.05%（vol/vol）のを添加したミドルブルック 7H9 ブロス（Difco）において増殖させた。

【0172】

薬物感受性評価法

50

この研究において使用される化合物のストック溶液は、プレートの培養の同じ日に、常に新たに製造された。384ウェルプレート形式における使用のため、化合物をDMSOに溶解させ、HP D3000デジタルディスペンサー及びHP T8ディスペンサーヘッドカセット (CV081A参照) を使用し、2倍希釈液で分注した。

【0173】

最小阻止濃度 (MIC) は、7H9が基礎とされたブロス培地において決定された。これには、0.2%のグリセロール及びシロキサポールを含まない10%のADCが添加されていた。細菌数がOD₆₀₀=0.5~0.8になるまで生育させ、-80℃でストック液は凍結された。解凍したらずぐに、細胞は、評価培地において、10⁵ cells/mLの最終濃度になるように希釈され、50 µL/1ウェルになるようプレートに分注された。MTT [3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロマイド] (5 mg/mLストック Acros Organics 15224654参照) 及びBactiter-Gloルシフェラーゼ評価システム (Promega, Madison, WI) が、Mtb H37Rv株の細胞生育指標として使用された。ルミネセンスは、白い不透明な384-プレート (781075 Greiner) の超高感度モードを使用して、Bactiter-Glo システムのため1ウェル当たり0.05秒の測定時間で、Envisionマルチモードプレートリーダー (PerkinElmer) において測定され、OD580 nmが、Spectramax M5 (モレキュラーデバイス) リーダーにおいて、MTTリードアウトのための黒い384-マイクロクリアプレート (781091 Greiner) を使用して測定された。

【0174】

それぞれ、ATP産生の測定 (メーカーの指標にしたがった) またはMTTのホルマザンへの変換 (6日目にストックから25 µL/1ウェル、及び7日目に10%のSDSの25 µL/1ウェル) の測定前に、プレートは7日間インキュベートされた。薬物未添加 (DMSO対照) である内対照ウェルと比較してMTT変換またはATP産生の90%が抑制される薬の最小濃度が、MIC値 (IC₉₀) を定義するために使用された。

【0175】

チェッカーボード評価法

薬物活性は、上で説明したように、MTTまたはATP評価法を使用して、384ウェルプレート型において決定された。それぞれの化合物のための分画阻止濃度 (FIC) は次のように計算された: $FICA = (\text{化合物B存在下における化合物AのMIC}) / (\text{化合物A単独のMIC})$ 。同様に、化合物BのFICが計算された。FIC係数 (FICI) は次のように計算された: $FICI = [FICA + FICB]$ 、0.5以下のFICIは相乗効果を表すと考えられた。

【0176】

サンフェトリネム (ナトリウム塩) とリファンピシンのチェッカーボードプレートが準備された。リファンピシンはカラム12~3 (0.08 µM~0.00015625 µM) の横軸に沿って希釈された、一方で、サンフェトリネムは列A~G (12.8 µM~0.4 µM) の縦軸に沿って希釈された。

【0177】

カラム2及び列Hは個のMIC (それぞれサンフェトリネム及びリファンピシン) を計算するために使用された。四分円の同等の位置2、3及び4は、エタンブトール及びデラマニド及びアモキシシリンのために使用された。

【0178】

デラマニドは40 nM~0.078 nMに希釈され、エタンブトールは32 µM~0.06 µMに希釈された。アモキシシリンは128 µM~0.25 µMに希釈された。それらの各々は、それぞれ、四分円の同等の位置2及び3に分注された。

【0179】

結果

データは表6及び図5~8において報告されている。表6の全てのMIC値はµMで報

告されている。

【0180】

【表7】

表6：

CompA	CompB	AのMIC	BのMIC	MICsyn_A	MICsyn_B	Fold_A	Fold_B	FIC_A	FIC_B	FICI
SFT	RIF	3.2	0.04	0.4	0.005	8	8	0.125	0.125	0.25
SFT	EMB	1.6	8	0.4	2	4	4	0.25	0.25	0.5
SFT	DLD	1.6	0.01	0.4	0.0025	4	4	0.25	0.25	0.5
SFT	AMX	4	128	0.5	8	8	16	0.125	0.0625	0.1875

10

【0181】

表6では次の用語が使用されている。

Comp	化合物
MIC	μMでの最小阻止濃度
MICsyn	他化合物（それぞれBまたはAのどちらか）の存在下における、試験される化合物（AまたはBのどちらか）の相乗的MIC
Fold	MIC/MICsyn
FIC	分画阻止濃度、それぞれBまたはA存在下におけるAまたはBのMIC/AまたはB単独のMIC
FICI	分画阻止濃度係数FIC_A + FIC_B、0.5以下の値は相乗的な相互作用の指標になると考えられる。

20

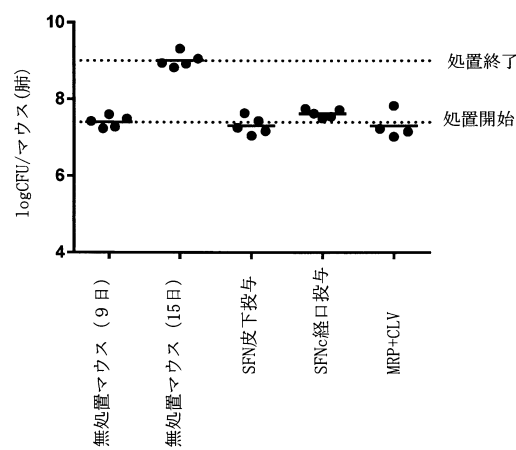
30

40

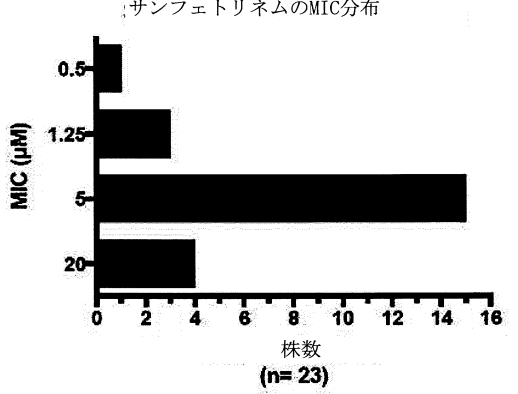
50

【図面】

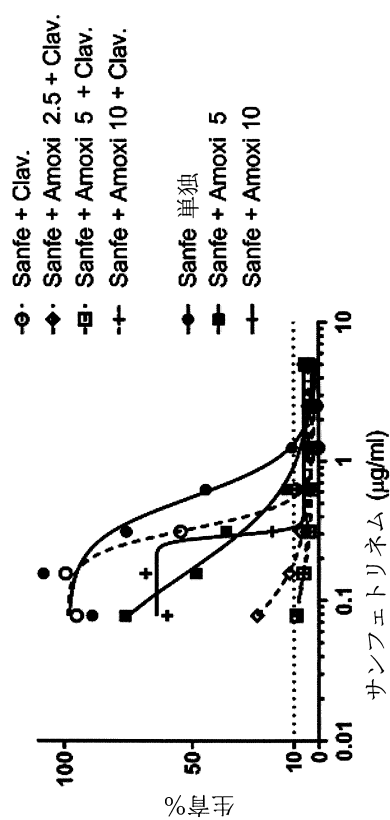
【図 1】



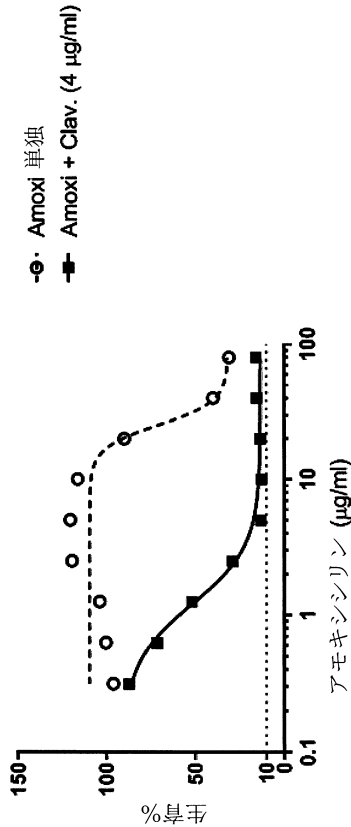
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

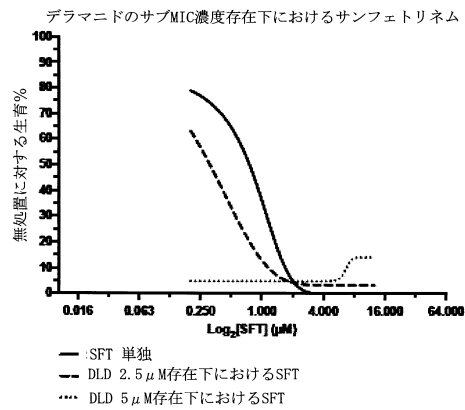
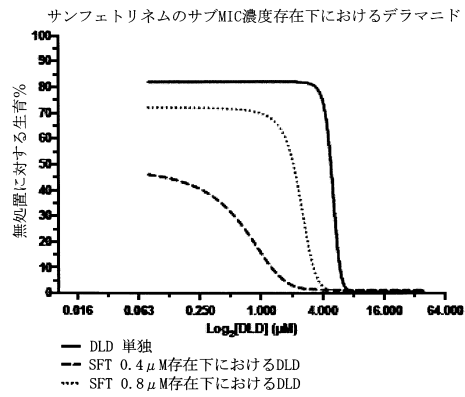
20

30

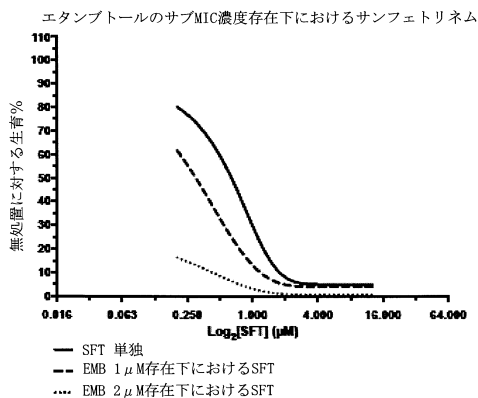
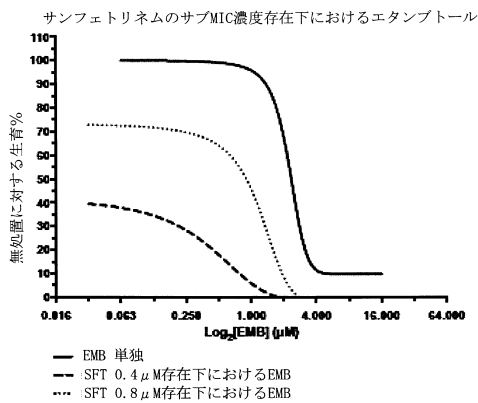
40

50

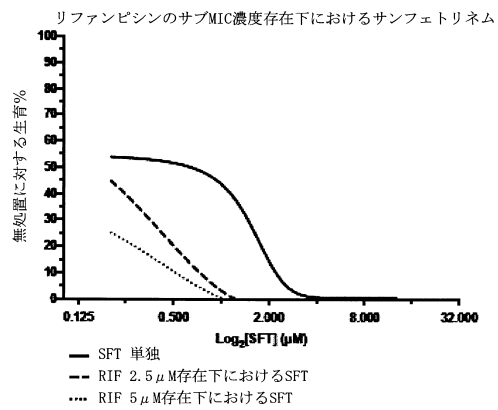
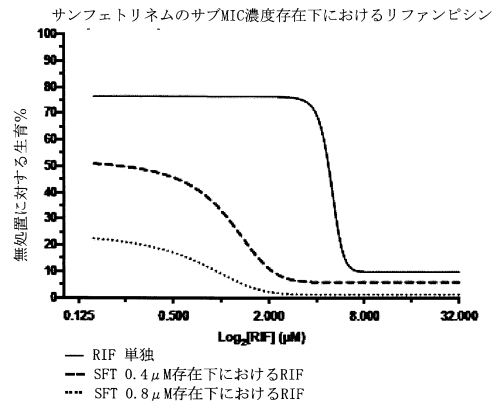
【図 5】



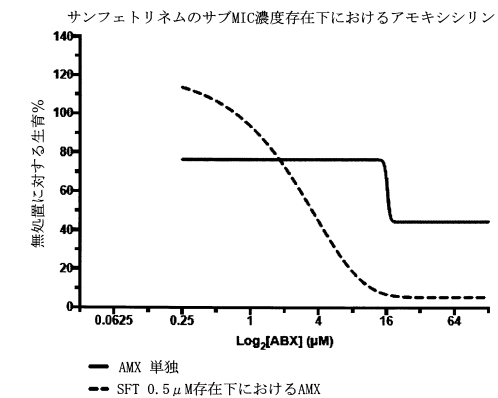
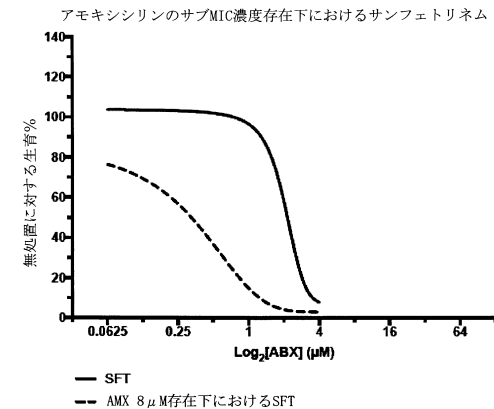
【図 7】



【図 6】



【図 8】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- 弁理士 朝倉 悟
- (74)代理人 100143971
藤井 宏行
- (72)発明者 ダビド、バロス、アギーレ
スペイン国マドリッド、トレス、カントス、セベロ、オチョア、2、パルケ、テクノロヒコ、デ、マドリッド、グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ロバート、エイチ、ベーツ
スペイン国マドリッド、トレス、カントス、セベロ、オチョア、2、パルケ、テクノロヒコ、デ、マドリッド、グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ルーベン、ゴンザレス、デル、リオ
スペイン国マドリッド、トレス、カントス、セベロ、オチョア、2、パルケ、テクノロヒコ、デ、マドリッド、グラクソスミスクライン
- (72)発明者 アルフォンソ、メンドーサ、ロサーナ
スペイン国マドリッド、トレス、カントス、セベロ、オチョア、2、パルケ、テクノロヒコ、デ、マドリッド、グラクソスミスクライン
- (72)発明者 サンティアゴ、ラモン、ガルシア
スペイン国サラゴサ、アンダドール、ルイス、プンテス、10、クアトロベ
- 審査官 新留 素子
- (56)参考文献 国際公開第2016/046845 (WO, A1)
Clinical Microbiology and Infection, 1997年, Vol.3, Supplement 2, p.169, P706
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1996年, Vol.40, No.9, pp.2142-2146
Kekkaku, 1982年, Vol.57, No.8, pp.409-417
International Journal of Systematic Bacteriology, 1995年, Vol.45, No.4, pp.724-728
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
A61K
A61P
CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)
JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamII)