

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5247459号
(P5247459)

(45) 発行日 平成25年7月24日 (2013. 7. 24)

(24) 登録日 平成25年4月19日 (2013. 4. 19)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 207/14 (2006. 01)

C O 7 D 207/14 C S P

C O 7 D 211/58 (2006. 01)

C O 7 D 211/58

A 6 1 K 31/40 (2006. 01)

A 6 1 K 31/40

A 6 1 K 31/4468 (2006. 01)

A 6 1 K 31/4468

A 6 1 P 31/04 (2006. 01)

A 6 1 P 31/04

請求項の数 14 (全 32 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2008-541032 (P2008-541032)
 (86) (22) 出願日 平成19年10月26日 (2007. 10. 26)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2007/070899
 (87) 国際公開番号 W02008/050857
 (87) 国際公開日 平成20年5月2日 (2008. 5. 2)
 審査請求日 平成22年10月21日 (2010. 10. 21)
 (31) 優先権主張番号 特願2006-293348 (P2006-293348)
 (32) 優先日 平成18年10月27日 (2006. 10. 27)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(73) 特許権者 504137912
 国立大学法人 東京大学
 東京都文京区本郷七丁目3番1号
 (74) 代理人 100065215
 弁理士 三枝 英二
 (74) 代理人 100108084
 弁理士 中野 睦子
 (74) 代理人 100115484
 弁理士 林 雅仁
 (73) 特許権者 000206901
 大塚化学株式会社
 大阪府大阪市中央区大手通3丁目2番27号
 (74) 代理人 100065215
 弁理士 三枝 英二

最終頁に続く

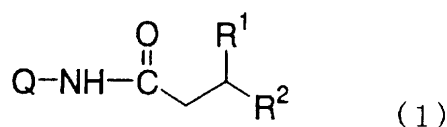
(54) 【発明の名称】 アミド化合物及びその塩、それを用いたバイオフィルム形成阻害剤、バイオフィルム剥離剤および殺菌剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

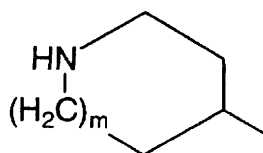
一般式(1)で表されるアミド化合物またはその塩：

【化1】

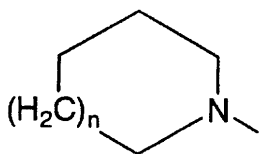


〔式中、 R^1 は水素原子又は水酸基、 R^2 は C_{5-12} アルキル基を示す。Q は、下式 (Q1) 又は (Q2) で表される置換基を表す。〕

【化 2】



(Q 1)



(Q 2)

10

〔式中、 n 及び m は 0 または 1 を示す。〕但し、 Q が式 (Q 1) で示される置換基であり、 m が 1 であり、 R^1 が水素原子であり、且つ R^2 が C_{1-2} アルキル基である場合を除く〕。

【請求項 2】

一般式 (1) 中、 Q が式 (Q 1) で示される置換基 (但し、 m は 0 を示す) である、請求項 1 記載のアミド化合物またはその塩。

【請求項 3】

一般式 (1) 中、 Q が式 (Q 1) で示される置換基 (但し、 m は 1 を示す) である、請求項 1 記載のアミド化合物またはその塩。

20

【請求項 4】

一般式 (1) 中、 Q が式 (Q 2) で示される置換基 (但し、 n は 0 を示す) である、請求項 1 記載のアミド化合物またはその塩。

【請求項 5】

一般式 (1) 中、 Q が式 (Q 2) で示される置換基 (但し、 n は 1 を示す) である、請求項 1 記載のアミド化合物またはその塩。

【請求項 6】

一般式 (1) で表されるアミド化合物が下記からなる群から選択されるいずれか少なくとも一つの化合物である、請求項 1 に記載するアミド化合物またはその塩：

30

N- (ピロリジン-3-イル) デカノイルアミド、

N- (ピロリジン-3-イル) ドデカノイルアミド、

N- (ピペリジン-4-イル) デカノイルアミド、

N- (ピペリジン-4-イル) ドデカノイルアミド、

N- (ピロリジン-1-イル) ドデカノイルアミド、

N- (ピロリジン-1-イル) -3-ヒドロキシドデカノイルアミド、

N- (ピペリジン-1-イル) ドデカノイルアミド。

【請求項 7】

請求項 1 乃至 6 のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩を有効成分とするバイオフィルム剥離剤。

40

【請求項 8】

バイオフィルムが緑膿菌または歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムである請求項 7 に記載するバイオフィルム剥離剤。

【請求項 9】

請求項 1 乃至 6 のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩を有効成分とするバイオフィルム形成阻害剤。

【請求項 10】

バイオフィルムが緑膿菌または歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムである請求項 9 に記載するバイオフィルム形成阻害剤。

【請求項 11】

50

請求項 1 乃至 6 のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩を有効成分とする殺菌剤。

【請求項 1 2】

アミド化合物が、一般式 (1) 中、Q が式 (Q 1) で示される置換基 (m は 0 または 1 を示す) を有するものである、請求項 1 1 記載の殺菌剤。

【請求項 1 3】

アミド化合物が下記からなる群から選択されるいずれか少なくとも一つの化合物である、請求項 1 1 に記載する殺菌剤：

N- (ピロリジン-3-イル) デカノイルアミド、
N- (ピロリジン-3-イル) ドデカノイルアミド、
N- (ピペリジン-4-イル) デカノイルアミド、および
N- (ピペリジン-4-イル) ドデカノイルアミド。

10

【請求項 1 4】

請求項 8 に記載する歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムに対するバイオフィルム剥離剤、請求項 1 0 に記載する歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムに対するバイオフィルム形成阻害剤、または請求項 1 1 に記載する殺菌剤を含有する、口腔用組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はバイオフィルムの形成阻害作用若しくは形成されたバイオフィルムを剥離除去する作用、または殺菌作用を有する新規アミド化合物及びその塩に関する。さらに本発明は当該アミド化合物またはその塩を有効成分とするバイオフィルムの形成阻害剤、バイオフィルム剥離剤、または殺菌剤、並びにその用途に関する。

20

【背景技術】

【0002】

細菌、真菌等のある種の微生物は、担体表面に付着してコロニーを形成し、一定の菌細胞数に達すると、多糖類や糖タンパク質等の有機物質を生成、分泌してバイオフィルム (生物膜) を形成するが、そのバイオフィルムに他の微生物が入り込んで複雑な微生物の集団を形成することが知られている。バイオフィルムはあらゆる自然界の環境や産業分野、更には人体の内外においてその形成が認められる。例えば、工場の排水管内等におけるレジオネラ属菌の発生問題の原因、並びに、ヒト皮膚上のニキビや炎症等の皮膚疾患、コンタクトレンズなどを介した細菌性角膜炎等の眼感染症、口腔内のう蝕や歯周病等の口腔内疾患、その他、中耳炎、細菌性前立腺炎、嚢胞性線維症肺炎などの人体への感染症の原因となっている。

30

【0003】

歯周病などを含む、これらのバイオフィルムを原因とする感染症 (バイオフィルム感染症) は難治性のものが多い。この理由として、バイオフィルム内の微生物がフィルム (細胞外マトリックス) によって覆われているため免疫細胞や抗菌物質などと直接的な接触が妨げられていることが挙げられる。また抗生物質の抗菌効果は細菌が活発に分裂しているときに発揮されて細菌の増殖を抑えるというものであるのに対して、バイオフィルム中の細菌は代謝が非常にゆっくりしており、これが抗生物質を効きにくくしている原因の一つと考えられている。このため、バイオフィルム感染症を完治させるには、微生物によるバイオフィルムの形成を阻害する予防的な処置に加え、既に形成されたバイオフィルムを除去する処置が必要である。

40

【0004】

バイオフィルムの除去は基本的にブラシ等でこするなどの物理的手段がとられるが、バイオフィルムは担体表面に強固に付着しており、多大な労力に対して期待するほどの効果が得られない。

【0005】

50

かかる実情を踏まえて、近年バイオフィルムの形成を制御する作用を有する化合物が注目されており、例えばある種のアミド構造を有する化合物がバイオフィルム形成を調整することが報告されている（特許文献1および2等参照）。

【特許文献1】W02004/016213

【特許文献2】W02002/088298

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、特許文献1および2に記載された化合物は、既に形成されたバイオフィルムを剥離除去する作用を有するものではない。バイオフィルムの形成を制御して阻害することによって、バイオフィルムの膜厚を薄くしたり、更に進んで崩壊させることは期待されるものの、依然としてバイオフィルム内部に存在する微生物は生き残っている。このため、抗菌剤の効力が弱まったり又は消失した時点で、再度バイオフィルムを形成する可能性があり、バイオフィルム感染症を含む種々の障害の根本的な解決方法にはならない。よって、これらバイオフィルムが原因とされる種々の障害の排除ならびにバイオフィルム感染症の徹底した治療には、バイオフィルム形成阻害作用を有する薬剤だけでは不十分であり、形成されたバイオフィルムを剥離し除去する作用を有する薬剤の開発が熱望されている。

【0007】

本発明は、既に形成されたバイオフィルムを剥離除去する作用を有する化合物、特に微生物のバイオフィルム形成を阻害する作用とともに、当該バイオフィルム剥離作用を有する新規な化合物を提供することを目的とする。また本発明は、かかる化合物を有効成分とするバイオフィルム剥離剤またはバイオフィルム形成阻害剤、特に緑膿菌や歯周病原性細菌等の細菌が形成するバイオフィルムに対して有効に作用するバイオフィルム剥離剤またはバイオフィルム形成阻害剤を提供することを目的とする。また本発明は、かかる化合物を有効成分とする殺菌剤を提供することを目的とする。さらに本発明は、これらのバイオフィルム剥離剤、バイオフィルム形成阻害剤または殺菌剤を含有する製品、例えば歯周病原性細菌に関連する歯周病などの口腔内疾患の予防または治療を目的とした口腔用組成物を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、鋭意検討を重ねた結果、ある種のアミド構造を有する特定の化合物に微生物のバイオフィルム形成阻害作用があることを見出すとともに、既に形成されたバイオフィルムを剥離除去する作用を有していること、ならびに既存の抗生物質とひけをとらない殺菌作用を有していることを見出し、本発明を完成した。

【0009】

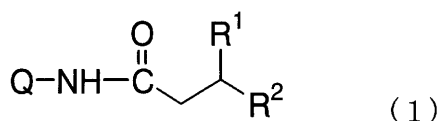
本発明には下記の態様を有するものが含まれる。

(I) 新規アミド化合物またはその塩

(I-1) . 一般式(1)で表されるアミド化合物またはその塩：

【0010】

【化1】



【0011】

〔式中、R¹は水素原子又は水酸基、R²はC₅₋₁₂アルキル基を示す。Qは、下式(Q1)又は(Q2)で表される置換基を表す。〕

【0012】

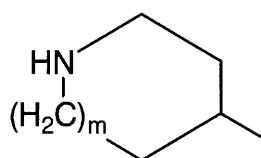
10

20

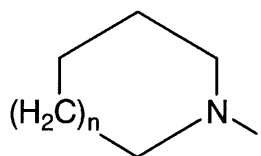
30

40

【化 2】



(Q 1)



(Q 2)

10

【0013】

[式中、n 及び m は 0 または 1 を示す。]]。

【0014】

(I-2)．一般式 (1) 中、Q が式 (Q 1) で示される置換基 (但し、m は 0 を示す) である、(I-1) 記載のアミド化合物またはその塩。

【0015】

(I-3)．一般式 (1) 中、Q が式 (Q 1) で示される置換基 (但し、m は 1 を示す) である、(I-1) 記載のアミド化合物またはその塩。

【0016】

20

(I-4)．一般式 (1) 中、Q が式 (Q 2) で示される置換基 (但し、n は 0 を示す) である、(I-1) 記載のアミド化合物またはその塩。

【0017】

(I-5)．一般式 (1) 中、Q が式 (Q 2) で示される置換基 (但し、n は 1 を示す) である、(I-1) 記載のアミド化合物またはその塩。

【0018】

(I-6)．一般式 (1) で表されるアミド化合物が下記からなる群から選択されるいずれか少なくとも 1 つである、(I-1) に記載するアミド化合物またはその塩：

N- (ピロリジン-3-イル) デカノイルアミド、

N- (ピロリジン-3-イル) ドデカノイルアミド、

30

N- (ピペリジン-4-イル) デカノイルアミド、

N- (ピペリジン-4-イル) ドデカノイルアミド、

N- (ピロリジン-1-イル) ドデカノイルアミド、

N- (ピロリジン-1-イル) -3-ヒドロキシドデカノイルアミド、および

N- (ピペリジン-1-イル) ドデカノイルアミド。

【0019】

(II) バイオフィルム剥離剤

(II-1)．(I-1) 乃至 (I-6) のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩を有効成分とするバイオフィルム剥離剤。

【0020】

40

(II-2)．バイオフィルムが緑膿菌または菌周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムである、(II-1) 記載のバイオフィルム剥離剤。

【0021】

(II-3)．(I-1) 乃至 (I-6) のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩の、バイオフィルム剥離剤としての使用。

【0022】

(II-4)．(I-1) 乃至 (I-6) のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩の、バイオフィルム剥離剤を調製するための使用。

【0023】

(II-5)．バイオフィルム剥離剤の有効成分として用いられる (I-1) 乃至 (I-6) のいづ

50

れかに記載するアミド化合物またはその塩。

【0024】

(III) バイオフィルム形成阻害剤

(III-1) . (I-1)乃至(I-6)のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩を有効成分とするバイオフィルム形成阻害剤。

【0025】

(III-2) . バイオフィルムが緑膿菌または歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムである、(III-1)記載のバイオフィルム形成阻害剤。

【0026】

(III-3) . (I-1)乃至(I-6)のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩の、バイオフィルム形成阻害剤としての使用。 10

【0027】

(III-4) . (I-1)乃至(I-6)のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩の、バイオフィルム形成阻害剤を調製するための使用。

【0028】

(III-5) . バイオフィルム形成阻害剤の有効成分として用いられる(I-1)乃至(I-6)のいずれかに記載するアミド化合物またはその塩。

【0029】

(IV) 殺菌剤

(IV-1) . (I-1)乃至(I-6)のいずれかに記載のアミド化合物またはその塩を有効成分とする殺菌剤。 20

【0030】

(IV-2) . (I-2)または(I-3)に記載のアミド化合物またはその塩を有効成分とする殺菌剤。

【0031】

(IV-3) . アミド化合物が下記からなる群から選択されるいずれか少なくとも一つである(IV-1)記載の殺菌剤：

N－(ピロリジン－3－イル)デカノイルアミド、

N－(ピロリジン－3－イル)ドデカノイルアミド、

N－(ピペリジン－4－イル)デカノイルアミド、

N－(ピペリジン－4－イル)ドデカノイルアミド。 30

【0032】

(IV-4) . (I-1)乃至(I-6)のいずれか、好ましくは(I-2)または(I-3)に記載のアミド化合物またはその塩の、殺菌剤としての使用。

【0033】

(IV-5) . (I-1)乃至(I-6)のいずれか、好ましくは(I-2)または(I-3)に記載のアミド化合物またはその塩の、殺菌剤を調製するための使用。

【0034】

(IV-6) . 殺菌剤の有効成分として用いられる(I-1)乃至(I-6)のいずれか、好ましくは(I-2)または(I-3)に記載するアミド化合物またはその塩。 40

【0035】

(V) バイオフィルム剥離剤、バイオフィルム形成阻害剤または殺菌剤の用途

(V-1) . (II-2)に記載する歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムに対するバイオフィルム剥離剤、(III-2)に記載する歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムに対するバイオフィルム形成阻害剤、または(IV-1)に記載する殺菌剤を含有する、口腔用組成物。

【0036】

(V-2) . 歯周病原性細菌を原因とした口腔内疾患または口臭を予防または改善するための口腔用組成物である、(V-1)に記載する口腔用組成物。

【0037】

(V-3). (II-2)に記載する歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムに対するバイオフィルム剥離剤、(III-2)に記載する歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムに対するバイオフィルム形成阻害剤、または(IV-1)に記載する殺菌剤の、口腔用組成物の調製のための使用。

【0038】

(V-4). 上記口腔用組成物が歯周病原性細菌を原因とした口腔内疾患または口臭を予防または改善するための口腔用組成物である、(V-3)に記載する使用。

【0039】

(V-5). 口腔用組成物の有効成分として用いられる、(II-2)に記載する歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムに対するバイオフィルム剥離剤、(III-2)に記載する歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィルムに対するバイオフィルム形成阻害剤、または(IV-1)に記載する殺菌剤。

10

【0040】

(V-6). 上記口腔用組成物が歯周病原性細菌を原因とした口腔内疾患または口臭を予防または改善するための口腔用組成物である、(V-5)に記載するバイオフィルム剥離剤、バイオフィルム形成阻害剤、または殺菌剤。
使用。

【発明の効果】

【0041】

本発明の化合物によれば、微生物が形成するバイオフィルムによって生じる様々な障害を、バイオフィルムの形成を阻害すること、更には形成されたバイオフィルムを除去することで解決することができる。

20

【0042】

特に本発明の化合物は、緑膿菌や歯周病原性細菌によるバイオフィルム形成を阻害し、更にはその形成されたバイオフィルムを剥離除去するという特有の作用を有している。このため本発明の化合物は広範囲に使用することができる。さらに本発明の化合物は、難治性のバイオフィルム感染症に対しても有効に使用することができ、これらの感染症の根本的治療に対して多大な貢献を期待することができる。

【0043】

例えば、緑膿菌は自然環境中に常に存在しており、わずかな有機物と水分があれば増殖してバイオフィルムを形成するため、院内感染や菌交代症、日和見感染を起こす原因となったり、水道管等の配管や貯水槽内等の衛生環境の悪化原因となっている。

30

【0044】

また、歯周病原性細菌が形成するプラークはバイオフィルムの形態をとり、歯周病や歯槽膿漏などの口腔内疾患および口臭などの病因となっている。かかるプラークを除去することが口腔衛生およびこれらの口腔内疾患の治療において重要であることは従来より周知である。

【0045】

しかしバイオフィルムは、前述するように殺菌剤などの薬剤が効きにくいという問題がある。

40

【0046】

本発明のバイオフィルム剥離剤またはバイオフィルム形成阻害剤によれば、病院施設又は家庭や工場等の配管や貯水槽内などで緑膿菌によるバイオフィルム形成を阻害し、また既に形成したバイオフィルムの除去を促進して、衛生環境を整え、院内感染や種々の障害を効果的に予防または改善することが可能となる。また本発明のバイオフィルム剥離剤またはバイオフィルム形成阻害剤によれば、歯、歯肉または口腔内の歯科材料などで、歯周病原性細菌によるバイオフィルム形成を阻害し、また表面に付着形成したバイオフィルムの除去を促進して、歯周炎や歯槽膿漏などの歯周疾患、口内炎などの口腔内疾患などを効果的に予防または治療し、また口臭を予防または改善することが可能となる。

【0047】

50

また本発明の化合物、特に一般式（１）中、Ｑとして式（Ｑ１）で示される置換基を有する化合物またはその塩は、緑膿菌、大腸菌、および黄色ブドウ球菌など、多くの細菌に対して優れた殺菌作用を有し、殺菌剤として好適に使用することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【００４８】

（Ｉ）新規アミド化合物またはその塩

本発明は、バイオフィルム剥離除去作用またはバイオフィルム形成阻害作用を有し、後述するバイオフィルム剥離剤またはバイオフィルム形成阻害剤の有効成分として有用な新規アミド化合物およびその塩を提供する。また、本発明は、殺菌作用を有し、後述する殺菌剤の有効成分として有用な新規アミド化合物およびその塩を提供する。

10

【００４９】

ここで「バイオフィルム」（「生物膜」とも呼ばれる）とは、微生物が分泌生成する粘液質のフィルムで、その中に複数種類の微生物が共存して複合体（群生）を形成し、固体の表面に付着した状態のものをいう。言い換えれば、「バイオフィルム」は、微生物が分泌排泄するスライムで囲まれた微生物の集合体である。かかるバイオフィルムが付着する固体としては、自動力または自浄力のないもの、例えばポリマー、プラスチック、セラミック、金属、ガラス、ヒドロキシアパタイトなどのほか、皮膚、骨、歯、歯肉または組織などの生体を制限なく挙げることができる。

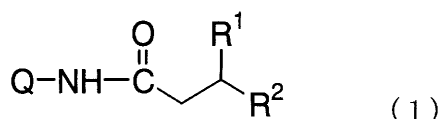
【００５０】

当該アミド化合物は、下記の一般式（１）で表すことができる：

20

【００５１】

【化３】



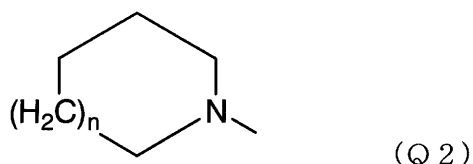
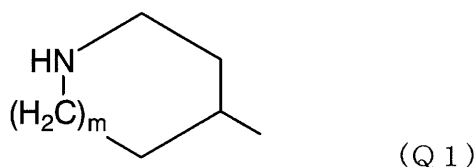
【００５２】

〔式中、 R^1 は水素原子又は水酸基、 R^2 は C_{5-12} アルキル基を示す。Ｑは、下式（Ｑ１）又は（Ｑ２）で表される置換基を表す。〕

【００５３】

30

【化４】



40

【００５４】

〔式中、 n 及び m は 0 または 1 を示す。〕。

【００５５】

一般式（１）中、 R^2 として表される C_{5-12} アルキル基としては、例えば n -ペンチル、1-メチル- n -ブチル、2-メチル- n -ブチル、3-メチル- n -ブチル、1, 1-ジメチル- n -プロピル、1, 2-ジメチル- n -プロピル、2, 2-ジメチル- n -プロピル、1-エチル- n -プロピル、 n -ヘキシル、1-メチル- n -ペンチル、2-メチル- n -ペンチル、3-メチル- n -ペンチル、4-メチル- n -ペンチル、1, 1-ジメチル- n -ブチル、1, 2-ジメチル- n -ブチル、1, 3-ジメチル- n -

50

ブチル、2, 2-ジメチル-n-ブチル、2, 3-ジメチル-n-ブチル、3, 3-ジメチル-n-ブチル、1-エチル-n-ブチル、2-エチル-n-ブチル、1, 1, 2-トリメチル-n-プロピル、1, 2, 2-トリメチル-n-プロピル、1-エチル-1-メチル-n-プロピル、1-エチル-2-メチル-n-プロピル、1-メチル-1-エチル-n-ペンチル、n-ヘプチル、2-ヘプチル、1-エチル-1, 2-ジメチル-n-プロピル、1-エチル-2, 2-ジメチル-n-プロピル、n-オクチル、3-オクチル、4-メチル-3-n-ヘプチル、6-メチル-2-n-ヘプチル、2-プロピル-1-n-ヘプチル、2, 4, 4-トリメチル-1-n-ペンチル、n-ノニル、2-ノニル、2, 6-ジメチル-4-n-ヘプチル、3-エチル-2, 2-ジメチル-3-n-ペンチル、3, 5, 5-トリメチル-1-n-ヘキシル、n-デシル、2-デシル、4-デシル、3, 7-ジメチル-1-n-オクチル、3, 7-ジメチル-3-n-オクチル、n-ウンデシル、n-ドデシル等の炭素数5~12の直鎖状又は分岐鎖状のアルキル基を挙げることができる。

10

【0056】

好ましくは炭素数7~11、より好ましくは炭素数7~10の直鎖状又は分岐鎖状のアルキル基であり、具体的には、n-ヘプチル基、n-オクチル基、n-ノニル基、n-デシル基、n-ウンデシル基等の直鎖状のアルキル基を好ましい基として挙げることができる。

【0057】

一般式(1)中、 R^2 は水素原子または水酸基のいずれでもよいが、好ましくは水素原子である。

20

【0058】

一般式(1)中、Qとして表される式(Q1)の置換基としては、mが0である置換基(3-ピロリジニル基)、mが1である置換基(4-ピペリジル基)を挙げることができる。またQとして表される式(Q2)の置換基としては、nが0である置換基(1-ピロリジニル基)、nが1である置換基(1-ピペリジル基)を挙げることができる。

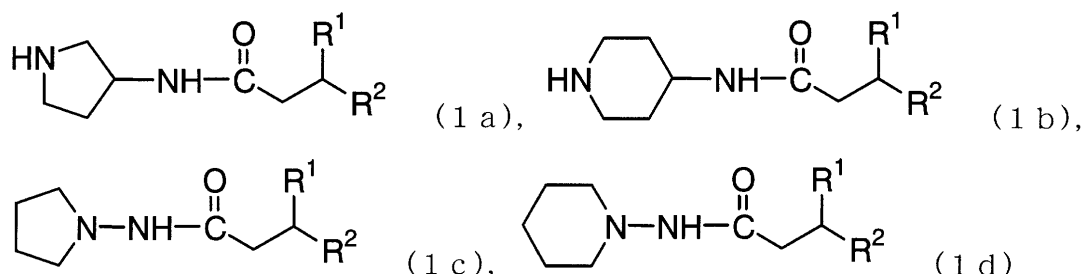
【0059】

具体的には、式(1)で表される本発明のアミド化合物は、具体的には以下の式(1a)~(1d)で表されるアミド化合物として表すことができる。

【0060】

30

【化5】



【0061】

40

(式中、 R^1 及び R^2 は前記に同じ。)

即ち、式(1a)で表される化合物は、一般式(1)中、置換基QがQ1であって、当該Q1におけるmが0である化合物に相当し、また式(1b)で表される化合物は、一般式(1)中、置換基QがQ1であって、当該Q1におけるmが1である化合物に相当する。同様に、式(1c)で表される化合物は、一般式(1)中、置換基QがQ2であって、当該Q2におけるnが0である化合物に相当し、また式(1d)で表される化合物は、一般式(1)中、置換基QがQ2であって、当該Q2におけるnが1である化合物に相当する。

【0062】

本発明が対象とするアミド化合物は、好適には、上記(1a)~(1d)で表されるア

50

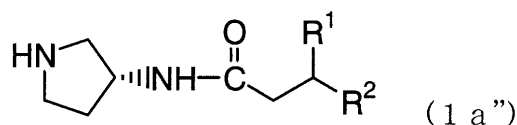
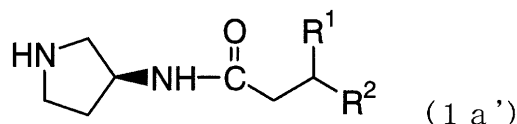
ミド化合物であって、 R^1 が水素原子、 R^2 が直鎖状の炭素数 5～12、好ましくは 7～11、より好ましくは炭素数 7～10 のアルキル基である化合物である。より好ましくは上記場合において、 R^2 が n -ヘプチル基、 n -オクチル基、 n -ノニル基、 n -デシル基等の直鎖状のアルキル基である化合物である。

【0063】

なお、式 (1a) で表されるアミド化合物には、下記の式 (1a') または (1a'') で表される異性体も含まれる。すなわち、これらの異性体〔(1a') または (1a'')〕は、何れか一方または両者を組み合わせて、バイオフィルム剥離剤、バイオフィルム形成阻害剤または殺菌剤の有効成分として用いることができる。

【0064】

【化 6】



【0065】

[式中、 R^1 及び R^2 は前記に同じ。]

本発明の式 (1) で表されるアミド化合物は、酸と塩を形成することができる。アミド化合物 (1) と塩を形成する酸としては、特に制限されず、例えば塩酸、硝酸、硫酸およびリン酸等の無機酸；ギ酸、酢酸、酒石酸、マレイン酸、リンゴ酸、クエン酸、サリチル酸、安息香酸およびアスコルビン酸等の有機酸を挙げることができる。好ましくは薬学的に使用可能な塩である。

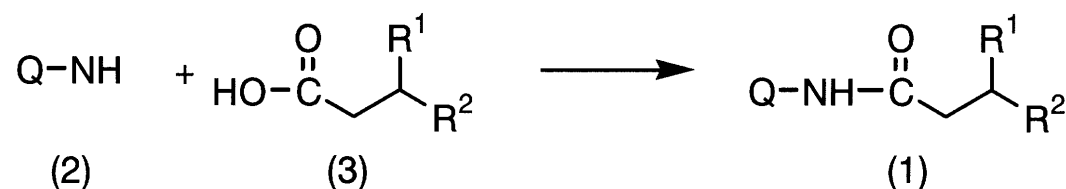
【0066】

本発明のアミド化合物 (1) は、例えば下記に説明する反応式-1 で表される方法に従って製造することができる。

【0067】

【化 7】

反応式-1



【0068】

[式中、Q、 R^1 又は R^2 は前記に同じ。]

反応式-1 によると、式 (2) で表されるアミン化合物と式 (3) で表されるカルボン酸化合物とを作用することで、本発明のアミド化合物 (1) が製造できる。

【0069】

この反応は適当な縮合剤の存在下、不活性溶媒中で行うことができる。使用する縮合剤としては、制限されないが、三塩化リン、三臭化リン、五塩化リン、オキシ塩化リン、塩化チオニル等の酸ハロゲン化物生成剤；クロロギ酸エチル、塩化メタンスルホニル等の混合酸無水物生成剤；N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、ジイソプロピルカルボジイミド、1-エチル-3-ジメチルアミノプロピルカルボジイミド等のカルボ

10

20

30

40

50

ジイミド類；あるいはその他の縮合剤、例えばN,N-カルボニルジイミダゾール、2-エトキシ-N-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン（EEDQ）、トリフェニルホスフィン-四塩化炭素（錯体）等を挙げることができる。

【0070】

使用される不活性溶媒としては、制限されないが、ベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素類；クロロベンゼン、ジクロロベンゼン等のハロゲン化芳香族炭化水素類；ヘキサン、シクロヘキサン、石油エーテル等の脂肪族炭化水素類；ジクロロメタン、1,2-クロロエタン、クロロホルム、四塩化炭素等の脂肪族ハロゲン化炭化水素類；ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフラン、エチレングリコールジメチルエーテル、エチレングリコールジエチルエーテル等のエーテル類；アセトン、2-ブタノン、メチルイソブチルケトン等のケトン類；アセトニトリル、プロピオニトリル、ベンゾニトリル等のニトリル類；N,N-ジメチルホルムアミド、ヘキサメチルホスホリックトリアミド（HMPA）等のアミド類；ジメチルスルホキシド等のスルホキシド類；またはこれらの混合溶媒を挙げることができる。

10

【0071】

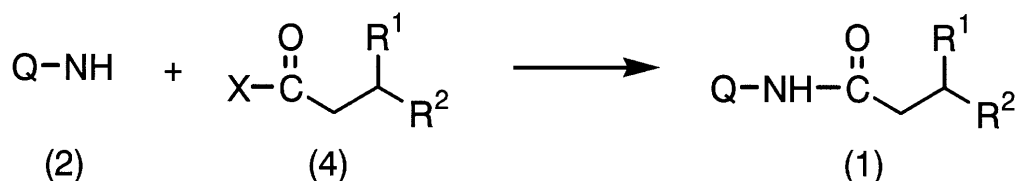
また、本発明のアミド化合物（1）は、下記の反応式-2に示すように、式（2）で表されるアミン化合物と式（4）で表されるカルボン酸ハロゲン化物とを適当な溶媒中、必要に応じて塩基の存在下で、反応させることによって製造することができる。

【0072】

【化8】

20

反応式-2



【0073】

[式中、Q、R¹及びR²は前記に同じ。Xはハロゲン原子を示す。]

この反応で使用される溶媒としては、上記反応式-1で使用できる不活性溶媒を同様に挙げることができる。

30

【0074】

上記反応は、前述するように、必要に応じて塩基の存在下で行うことができる。ここで使用される塩基としては、水酸化ナトリウムや水酸化カリウムまたは水酸化カルシウム等のアルカリ金属またはアルカリ土類金属の水酸化物；炭酸ナトリウムや炭酸カリウムまたは炭酸水素ナトリウムや炭酸水素カリウム等のアルカリ金属の炭酸塩または炭酸水素塩；酢酸ナトリウムや酢酸カリウムまたは酢酸カルシウム等のアルカリ金属あるいはアルカリ土類金属の酢酸塩；水素化ナトリウムや水素化カリウムまたは水素化カルシウム等のアルカリ金属またはアルカリ土類金属の水素化物；水酸化アンモニウム、炭酸アンモニウムまたは酢酸アンモニウムなどのアンモニウム塩；あるいはトリメチルアミン、トリエチルアミン、N,N-ジメチルアニリン、ピリジン、4-(ジメチルアミノ)ピリジン、ジアザビスクロオクタン（DABCO）、ジアザビスクロノネン（DBN）、ジアザビスクロウンデセン（DBU）等の第三級アミン類を挙げることができる。

40

【0075】

これらの反応に供される試薬の量は特に限定されないが、カルボン酸化合物（3）又はカルボン酸ハロゲン化物（4）1モルに対して、通常、アミン化合物（2）を0.8～5モル、好ましくは1～3モルの範囲で使用するのがよい。また反応式-1の場合、縮合剤の使用割合として、カルボン酸化合物（3）1モルに対して0.8～5モル、好ましくは1～3モルの範囲を挙げることができる。さらに反応式-2の場合、塩基を使用する場合、当該塩基の使用割合も同様に、カルボン酸ハロゲン化物（4）1モルに対して0.8～

50

5モル、好ましくは1～3モルの範囲を挙げることができる。

【0076】

反応温度は特に限定されないが、通常、－10℃から使用する溶媒の沸点温度以下の範囲内とすればよい。また、反応時間は、前記の濃度、温度等によって変化するが、通常5～10時間の範囲で適宜調整することができる。

【0077】

なお、上記反応に原料として使用するアミン化合物(2)、カルボン酸化合物(3)及びカルボン酸ハロゲン化物(4)はいずれも商業的に容易に入手できるか、公知の方法にしたがって製造することができるものである。

【0078】

斯くして得られるアミド化合物(1)は、通常分離手段、例えばカラムクロマトグラフィー、再結晶等により反応混合物から容易に単離精製することができる。

【0079】

(II) バイオフィルム剥離剤、バイオフィルム形成阻害剤、殺菌剤

上記本発明のアミド化合物(1)およびその塩は、後述する試験例で示すようにバイオフィルム除去作用、バイオフィルム形成阻害作用、または殺菌作用を有する。従って、上記本発明のアミド化合物(1)およびその塩は、バイオフィルムの剥離除去または形成阻害を目的に使用される組成物(バイオフィルム剥離剤またはバイオフィルム形成阻害剤)の有効成分として、また殺菌を目的に使用される組成物(殺菌剤)の有効成分として有用である。

【0080】

本発明のアミド化合物(1)及びその塩は、バイオフィルム剥離剤またはバイオフィルム形成阻害剤として、バイオフィルムを形成する能力を有する細菌及び当該細菌によって形成されたバイオフィルムに対して有効である。かかる細菌としては、緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、歯周病原性細菌、大腸菌、および黄色ブドウ球菌などの細菌を制限なく挙げることができるが、本発明のアミド化合物(1)及びその塩は、特に好ましくは緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)及び歯周病原性細菌、並びにこれらの細菌によって形成されるバイオフィルムに対して優れたバイオフィルム剥離効果及びバイオフィルム形成阻害効果を発揮する。

【0081】

また本発明のアミド化合物(1)及びその塩は、殺菌剤として、好ましくは緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、大腸菌、および黄色ブドウ球菌に対して優れた殺菌効果を発揮する。

【0082】

ゆえに本発明は、上記アミド化合物(1)またはその塩を有効成分とするバイオフィルム剥離剤、バイオフィルム形成阻害剤または殺菌剤を提供する(以下、これらのバイオフィルム剥離剤、バイオフィルム形成阻害剤または殺菌剤を総称して、「製剤」ともいう)。

【0083】

本発明の製剤は、上記アミド化合物(1)またはその塩だけからなるものであってもよいし、または、任意の担体や添加剤と組み合わせて、従来公知の方法で所望の用途に適した形態に調製した組成物であってもよい。本発明の製剤の形態としては、制限されないが、例えば錠剤、粉末剤、顆粒剤、丸剤、粉末シロップ剤およびカプセル剤(硬カプセルおよび軟カプセル)などの固体状の製剤；クリーム、軟膏およびジェルなどのペースト状またはゲル状の製剤；液剤、懸濁剤、乳液剤、シロップ、エリキシル剤、噴霧剤およびエアゾールなどの液体状の製剤、等とすることができる。

【0084】

本発明の製剤に配合する上記アミド化合物(1)またはその塩の割合としては、バイオフィルム剥離除去作用、バイオフィルム形成阻害作用または殺菌作用を発揮する割合であれば特に制限されず、例えば、製剤100重量%中、0.001～99重量%、好ましく

10

20

30

40

50

は0.01～50重量%、より好ましくは0.05～10重量%の範囲で適宜設定調製することができる。

【0085】

当該製剤は、上記アミド化合物(1)またはその塩を、バイオフィーム剥離除去効果、バイオフィーム形成阻害効果または殺菌効果を発揮する割合で含むものであればよく、この効果を妨げない範囲で他成分を配合することもできる。かかる他成分は、バイオフィーム剥離剤、バイオフィーム形成阻害剤または殺菌剤の使用目的や使用対象の種類に応じて適宜選択することができる。例えば、制限されないが、かかる他成分には、賦形剤、結合剤、分散剤、増粘剤、滑沢剤、pH調整剤、可溶化剤などの一般に製剤の製造に使用される担体のほか、抗生物質、抗菌剤、殺菌剤、防腐剤、ビルダー、漂白剤、酵素、キレート剤、消泡剤、着色料(染料、顔料など)、柔軟剤、保湿剤、界面活性剤、酸化防止剤、香料、矯味剤、矯臭剤、溶媒などが含まれる。

10

【0086】

本発明の製剤には、上記アミド化合物(1)またはその塩に加えて、例えば塩酸ミノサイクリン等のテトラサイクリン系殺菌剤；トリクロサン、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンゼトニウム等のカチオン性殺菌剤；マクロライド系抗生物質等の抗菌又は殺菌剤を配合することもできる。

【0087】

また本発明の製剤には、その殺菌作用や上記の抗菌又は殺菌剤の活性を向上させる化合物、例えば、アルギニン、リジン、ヒスチジン等の塩基性アミノ酸；ファルネソール、トランスグルコシダーゼ、CGTase等のデンプン改変酵素、 α -アミラーゼ等のデンプン加水分解酵素の酵素を併用して配合することもできる。

20

【0088】

本発明の製剤は、バイオフィームが形成され、当該バイオフィームの形成によって障害を生じる場所に対して、また殺菌を必要とする場所に対して広く適用することができる。

【0089】

使用方法としては、産業用設備や循環式浴槽等におけるバイオフィームに対しては、懸濁剤、水和剤、または水溶剤の形態で本発明の製剤を配管等に循環させたり、局所的にスプレーする方法や、タンクや浴槽等に本発明の製剤の高濃度液や錠剤、粉剤、粒剤等の固形剤を投入してタンク内等の水で希釈又は溶解して施用する方法等が考えられる。また本発明の製剤は、経口、非経口又は局所投与に適した医薬製剤の形態に調製して用いることができる。さらに後述するように、歯磨剤、口中清涼剤、洗口剤、歯肉用製剤、ガム、うがい薬、または義歯や歯科材料用の洗浄剤などの口腔用製剤の形態に調製して用いることができる。

30

【0090】

本発明の製剤の使用量は、使用する場所、剤形、特に徐放性剤の場合などによって異なるため、一概に規定することはできないが、例えば本発明の製剤をバイオフィーム感染症の予防または治療目的で使用する場合、適当な1日の投与量としては、上記本発明のアミド化合物(1)またはその塩の投与量に換算して、 $1\text{ ng/mL} \sim 100\text{ mg/mL}$ 、好ましくは $10\text{ ng/mL} \sim 10\text{ mg/mL}$ 程度の範囲、絶対量として通常 $1\text{ ng} \sim 500\text{ mg}$ の範囲で適宜設定調整することができる(例えば、ヒトの場合には総量およそ 300 mg)。

40

【0091】

(III) 口腔用組成物

本発明は、上記バイオフィーム剥離剤、バイオフィーム形成阻害剤、または殺菌剤を含む口腔用組成物を提供する。本発明は、上記本発明のアミド化合物(1)またはその塩を有効成分とするバイオフィーム剥離剤またはバイオフィーム形成阻害剤が、特に歯周病原性細菌によって形成されるバイオフィームに対して、優れたバイオフィーム剥離作用およびバイオフィーム形成阻害作用を有すること、また本発明のアミド化合物(1)またはその塩を有効成分とする殺菌剤が、特に各種の細菌に対して優れた殺菌作用を有するこ

50

とに基づくものである。

【0092】

なお、バイオフィルム形成性の歯周病原性細菌としては、制限されないが、例えば、Porphyromonas gingivalis、Tannerella forsythensis、Actinobacillus actinomycetemcomitans、Prevotella intermedia、Eikenella corrodens、Campyrobacter rectus、Fusobacterium necleatum、Treponema denticolaなどを挙げることができる。

【0093】

ここで本発明が対象とする口腔用組成物としては、歯周病原性細菌が関連する歯周病などの口腔内疾患の予防または治療を目的とした組成物であって専ら口腔内で用いられるものを挙げることができる。具体的には、練歯磨剤、粉歯磨剤、液状歯磨剤、潤製歯磨剤などの歯磨剤；トローチ状、錠剤状、液状、ガム状、グミ状、フィルム状等の口中清涼剤や洗口剤；クリーム状、軟膏状またはジェル状の形態を有する歯肉用の製剤などが含まれる。また本発明が対象とする口腔用組成物には、上記口腔内疾患の予防を目的とした組成物であって専ら口腔内で使用される義歯や歯科材料の処理に使用されるものも含まれる。かかる口腔用組成物としては義歯や歯科材料用の洗浄剤などを例示することができる。

10

【0094】

口腔用組成物に配合するバイオフィルム剥離剤、バイオフィルム形成阻害剤または殺菌剤の割合は、これらの有効成分である上記本発明のアミド化合物（1）またはその塩の含有量（総量）が、組成物100重量%中に0.001～99重量%、好ましくは0.01～50重量%、より好ましくは0.05～10重量%の範囲になるように適宜設定調製することができる。

20

【0095】

本発明の口腔用組成物には、その種類や形態に応じて、上記成分に加えて、必要により以下の成分を通常の使用量の範囲内で配合することができる。

【0096】

<研磨剤>

シリカゲル、沈降性シリカ、火成性シリカ、含水ケイ酸、無水ケイ酸、ケイ酸チタニウム、ゼオライト、アルミノシリケート、ジルコノシリケート等のシリカ系研磨剤；第一リン酸カルシウム、第二リン酸カルシウム二水和物、第二リン酸カルシウム無水和物、ピロリン酸カルシウム、第三リン酸マグネシウム、第三リン酸カルシウム、水酸化アルミニウム、アルミナ、軽質炭酸カルシウム、重質炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム、第三リン酸マグネシウム、ケイ酸ジルコニウム、不溶性メタリン酸ナトリウム、不溶性メタリン酸カルシウム、酸化チタン、および合成樹脂系研磨剤など。これらは1種または2種以上を併用して用いることができる。かかる研磨剤を配合する場合（例えば、歯磨剤など）、配合量は特に制限されないが、口腔用組成物100重量%中に3～80重量%、好ましくは10～50重量%の範囲を例示することができる。

30

【0097】

<湿潤剤または粘稠剤>

グリセリン、濃グリセリン、ジグリセリン、エチレングリコール、ジプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、ポリプロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール等の多価アルコール；キシリトール、マルチトール、ラクトール等の糖アルコール等。これらは1種または2種以上を併用して用いることができる。

40

【0098】

<粘結剤>

アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコールエステル、カルシウム含有アルギン酸ナトリウム、アルギン酸カリウム、アルギン酸カルシウム、アルギン酸アンモニウム等のアルギン酸塩及びその誘導体；カラギーナン（ι、λ、κ）、キサンタンガム、トラガントガム、カラヤガム、アラビアガム、ローカストビーンガム、グァーガム等のガム類；カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、エチルセルロース、酢酸セルロース、ヒドロキシエチルセルロースナトリウムなどのセルロース

50

類；ゼラチン、寒天、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸ナトリウム、カルボキシビニルポリマー、ポリビニルピロリドン、カーボポール、シリカゲル、アルミニウムシリカゲル、増粘性シリカなど。これらは1種または2種以上を併用して用いることができる。かかる粘結剤を配合する場合（例えば、歯磨剤など）、配合量は特に制限されないが、口腔用組成物100重量%中に0.1～10重量%程度の範囲を例示することができる。

【0099】

<発泡剤>

ラウリル硫酸ナトリウム、ラウロイルサルコシンナトリウム、アルキルスルホコハク酸ナトリウム、ヤシ油脂肪酸モノグリセリンスルホン酸ナトリウム、 α -オレフィンスルホン酸ナトリウム、N-アシルグルタメート等のN-アシルアミノ酸塩、2-アルキル-N-カルボキシメチル-N-ヒドロキシエチルイミダゾリニウムベタイン、マルチトール脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、脂肪酸ジエタノールアミド、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル等。これらは1種または2種以上を併用して用いることができる。

10

【0100】

<界面活性剤>

界面活性剤としては、アニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、非イオン性界面活性剤、両性イオン界面活性剤のいずれもが使用できる。

【0101】

アニオン界面活性剤としては、ラウリル硫酸ナトリウム、ミリスチル硫酸ナトリウム、N-ラウロイルザルコシン酸ナトリウム、N-ミリスチルザルコシン酸ナトリウム、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、水素添加ココナッツ脂肪酸モノグリセリドモノ硫酸ナトリウム、ラウリルスルホ酢酸ナトリウム、 α -オレフィンスルホン酸ナトリウム、N-パルミトイルグルタルミン酸ナトリウム等のN-アシルグルタメート、N-メチル-N-アシルタウリンナトリウム等のN-アシルタウレート等が挙げられる。ノニオン界面活性剤としては、ショ糖脂肪酸エステル、マルトース脂肪酸エステル等のショ糖脂肪酸エステル、マルチトール脂肪酸エステル、ラクトール脂肪酸エステル等の糖アルコール脂肪酸エステル、アルキロールアマイド、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート等のポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等のポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ラウリル酸モノ又はジエタノールアミド等の脂肪酸ジエタノールアミド、ソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン高級アルコールエーテル、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、プルロニック等が挙げられる。また、両性イオン界面活性剤としては、2-アルキル-N-カルボキシメチル-N-ヒドロキシエチルイミダゾリニウムベタイン、N-ラウリルジアミノエチルグリシン、N-ミリスチルジアミノエチルグリシン等のN-アルキルジアミノエチルグリシンあるいはN-アルキル-1-ヒドロキシエチルイミダゾリンベタインナトリウム等が挙げられる。これらの界面活性剤は単独で使用してもよく、また2種以上を併用してもよい。

20

30

【0102】

<甘味剤>

サッカリンナトリウム、アスパルテーム、ステビオサイド、ステビアエキス、パラメトキシシナミックアルデヒド、ネオヘスペリジルジヒドロカルコン、ペリラルチン、グリチルチリン、ソーマチン等。これらは1種または2種以上を併用して用いることができる。

40

【0103】

<防腐剤>

メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、ブチルパラベン等のパラベン類；安息香酸ナトリウム、フェノキシエタノール、塩酸アルキルジアミノエチルグリシン等。これらは1種または2種以上を併用して用いることができる。

50

【0104】

＜香料成分＞

l-メントール、アネトール、メントン、シネオール、リモネン、カルボン、メチルサリシレート、エチルブチレート、オイゲノール、チモール、n-デシルアルコール、シトロネロール、 α -テレピネオール、シトロネリルアセテート、リナロール、エチルリナロール、ワニリン、チモール、ペパーミント、シンナミックアルデヒド、トランス-2-ヘキセナール等。これらは1種または2種以上を併用して用いることができる。なお、これらの成分は純品（精製物）として用いることもできるが、これに限らず、これらを含む精油等の粗精製物の状態で配合することもできる（例えば、レモン油、オレンジ油、セージ油、ローズマリー油、桂皮油、ピメント油、桂葉油、シソ油、冬緑油、チョウジ油、ユーカリ油など）。

10

【0105】

また、上記香料成分に加え、脂肪族アルコールやそのエステル、テルペン系炭化水素、フェノールエーテル、アルデヒド、ケトン、ラクトン等の香料成分や精油を本発明の効果を妨げない範囲で配合してもよい。香料成分を配合する場合、その配合量としては、口腔用組成物全体100重量%中0.02～2重量%の範囲を例示することができる。

【0106】

＜抗菌成分＞

銀、銅および亜鉛等の抗菌性金属またはその水難溶性金属塩（例えば、酸化銀、塩化銀、炭酸銀、リン酸銀、水酸化銅、グルコン酸銅、酸化亜鉛、クエン酸亜鉛、ステアリン酸亜鉛、ウンデシレン酸亜鉛、水酸化亜鉛、シュウ酸亜鉛、リン酸亜鉛など）；銅クロロフィル、セチルピリジウムクロライド、塩化ベンザルコニウム、トリクロサン、ヒノキチオール、塩化リゾチーム等。

20

【0107】

＜防腐成分＞

各種パラベン、安息香酸ナトリウム、トリクロサン等の非イオン性抗菌剤；塩化ベンゼトニウム、塩化セチルピリジニウムなどのカチオン性抗菌剤など。

【0108】

＜口腔用有効成分＞

塩化リゾチーム、フッ化ナトリウム、フッ化カリウム、モノフルオロリン酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ヒノキチオール、アスコルビン酸、アスコルビン酸塩類、クロルヘキシジン塩類、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、ビスボロール、トリクロサン、イソプロピルメチルフェノール、酢酸トコフェロール、 ϵ -アミノカプロン酸、トラネキサム酸、アルミニウムヒドロキシアラントイン、乳酸アルミニウム、ジヒドロコレステロール、グリチルレチン酸、グリチルリチン酸塩類、銅クロロフィリン塩、塩化ナトリウム、グァイアズレンスルホン酸塩、デキストラナーゼ、塩酸ピリドキシン、トラネキサム酸、塩化ナトリウム、ビタミンCやE、各種酵素（例えば、デキストラナーゼ、アミラーゼ、プロテナーゼ、ムタナーゼ、ペクチナーゼなど）、アズレン、ポリリン酸塩などの歯石予防剤、ポリエチレングリコールやポリビニルピロリドンなどのタバコヤニ除去剤、乳酸アルミニウムや硝酸カリウムなどの近く過敏予防剤など。これらは1種または2種以上を併用して用いることができる。

30

40

【0109】

＜その他＞

青色1号等の色素、酸化チタン等の顔料、ジブチルヒドロキシルエン等の酸化防止剤、チャ乾留液、グルタミン酸ナトリウム等の矯味剤など。

【0110】

なお、本発明の口腔用組成物は、常法に従って製造することができ、その製造方法は特に限定されるものではない。また、得られた練歯磨剤等の口腔用組成物は、アルミニウムチューブ、ラミネートチューブ、ガラス蒸着チューブ、プラスチックチューブ、プラスチ

50

ックボトル、エアゾール容器等に充填された形で製造され、また販売され、使用時にそれから取りだして使用することができる。

【0111】

本発明の口腔用組成物によれば、歯周病原性細菌による口腔内でのバイオフィーム形成を抑制し、また形成されたバイオフィームを除去することができるため、細菌叢の生成を有効に防止することができる。また抗菌剤を同時に配合する場合には当該抗菌効果を高めることによって、プラーク形成抑制効果および抗菌効果により一層優れた口腔用組成物を提供することができる。従って、本発明の口腔用組成物は、歯周炎や歯周疾患（例えば、歯槽膿漏など）の口腔用疾患の予防または治療に有効に利用することができる。また本発明の口腔用組成物は、歯周炎や歯周疾患（例えば、歯槽膿漏など）の原因とする口臭の予防または除去に有効に利用することができる。

10

【実施例】

【0112】

以下に、本発明のアミド化合物（1）の製造例及び試験例を挙げて、本発明を一層明らかにするが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0113】

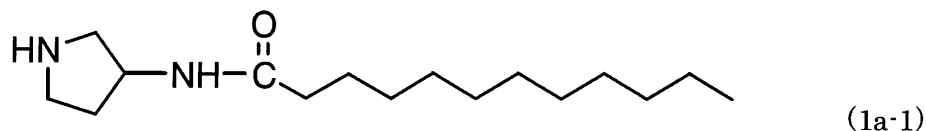
製造例 1 N-（ピロリジン-3-イル）ドデカノイルアミド（1a-1）の製造

ドデカン酸クロライド0.22g（1mmol）と3-アミノピロリジン0.18g（2.1mmol）をジクロロメタン10mlに溶解し、氷冷下約12時間撹拌した。反応液を減圧濃縮し、得られた残渣を酢酸エチルで抽出した。得られた酢酸エチル層を希塩酸及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクラマトグラフィー（展開溶媒：ヘキサン／酢酸エチル＝3／7）で精製して、下式で示されるN-（ピロリジン-3-イル）ドデカノイルアミド（化合物1a-1）を得た。

20

【0114】

【化9】



【0115】

収量：0.18g（0.69mmol）

収率：69%

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz) : 0.90ppm(t, 3H), 1.28ppm(m, 16H), 1.64ppm(t, 2H), 1.76ppm(m, 1H), 2.00ppm(br, 1H), 2.13ppm(m, 1H), 2.27ppm(t, 2H), 3.24ppm(m, 1H), 3.51ppm(m, 1H), 3.67ppm(m, 3H)。

30

【0116】

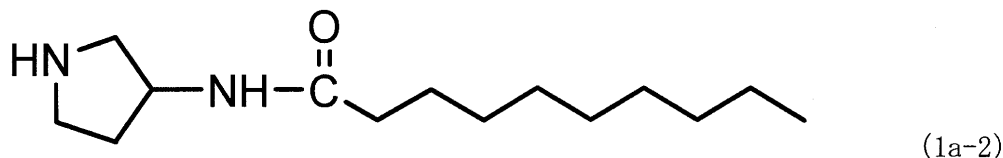
製造例 2 N-（ピロリジン-3-イル）デカノイルアミド（化合物1a-2）の製造

ドデカン酸クロライドに代えてデカン酸クロライドを用いて、製造例1と同様に操作して、下式に示されるN-（ピロリジン-3-イル）デカノイルアミド（化合物1a-2）を得た。

40

【0117】

【化10】



【0118】

収量：0.15g（0.62mmol）

収率：62%

50

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz) : 0.88ppm(t, 3H), 1.29ppm(m, 12H), 1.65ppm(m, 2H), 1.88ppm(m, 1H), 2.10ppm(m, 1H), 2.26ppm(m, 2H), 3.21ppm(m, 1H), 3.49ppm(m, 1H), 3.65ppm(m, 3H), 8.59ppm(br, 1H)。

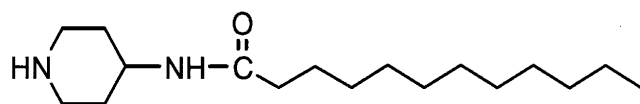
【0119】

製造例 3 N-(ピペリジン-4-イル)ドデカノイルアミド(1b-1)の製造

3-アミノピロリジンに代えて4-アミノピペリジンを用いて、製造例1と同様に操作して、下式で示されるN-(ピペリジン-4-イル)ドデカノイルアミド(1b-1)を得た。

【0120】

【化11】



(1b-1)

【0121】

収量 : 0.16g (0.56mmol)

収率 : 56%

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz) : 0.88ppm(t, 3H), 1.27ppm(m, 18H), 1.59ppm(m, 2H), 1.86ppm(m, 2H), 2.30ppm(t, 2H), 2.68ppm(t, 1H), 2.89ppm(m, 1H), 3.05ppm(t, 1H), 3.71ppm(d, 1H), 4.51ppm(d, 1H)。

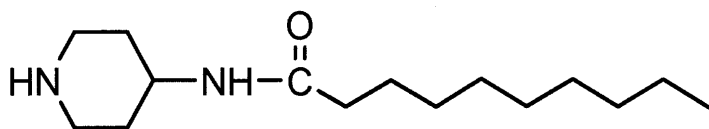
【0122】

製造例 4 N-(ピペリジン-4-イル)デカノイルアミド(1b-2)の製造

3-アミノピロリジンに代えて4-アミノピペリジンを、またドデカン酸クロライドに代えてデカン酸クロライドを用いて、製造例1と同様に操作して、下式で示されるN-(ピペリジン-4-イル)デカノイルアミド(1b-2)を得た。

【0123】

【化12】



(1b-2)

【0124】

収量 : 0.16g (0.64mmol)

収率 : 64%

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz) : 0.87ppm(t, 3H), 1.25ppm(m, 14H), 1.59ppm(m, 2H), 1.82ppm(m, 2H), 2.31ppm(m, 2H), 2.67ppm(t, 1H), 2.90ppm(m, 1H), 3.06ppm(m, 1H), 3.81ppm(m, 1H), 4.50ppm(m, 1H), 8.00ppm(br, 1H)。

【0125】

製造例 5 N-(ピロリジン-1-イル)ドデカノイルアミド(化合物1c-1)の製造

3-アミノピロリジンに代えて1-アミノピロリジンを用いて、製造例1と同様に操作して、下式に示されるN-(ピロリジン-1-イル)ドデカノイルアミド(化合物1c-1)を得た。

【0126】

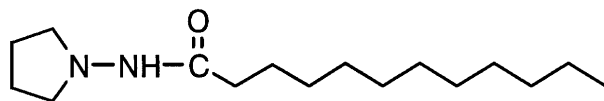
10

20

30

40

【化 1 3】



(1c-1)

【0 1 2 7】

収量：0.21g (0.78mmol)

収率：78%

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz)：0.88ppm(t, 3H), 1.28ppm(m, 16H), 1.62ppm(m, 2H), 1.88ppm(m, 5H), 2.06ppm(m, 1H), 2.47ppm(m, 2H), 2.91ppm(t, 2H), 6.11ppm(br, 1H)。 10

【0 1 2 8】

製造例 6 N-(ピロリジン-1-イル)-3-ヒドロキシデカノイルアミド (化合物 1 c-2) の製造

(1) 3-ヒドロキシデカン酸エチルエステルの合成

ディーンスターク装置を備えた還流装置に、塩酸で活性化処理を施した亜鉛7.8g (120mmol) とベンゼン25mlを入れて加熱環流した。そのままデカナール15.6g (100mmol) とブ 20
ロモ酢酸エチル18.4g (110mmol) の混合液を滴下して加え、約6時間後室温まで冷却し、50% (w/w) 硫酸を加えて分液した。有機層を採り、硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (展開溶媒：ヘキサン/酢酸エチル = 2/8) で精製して3-ヒドロキシデカン酸エチルエステルを得た。

【0 1 2 9】

収量：30.6g (93mmol)

収率：93%

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz)：0.91ppm(t, 3H), 1.28ppm(m, 17H), 1.44ppm(m, 2H), 2.43ppm(m, 2H), 4.02ppm(m, 1H), 4.18ppm(q, 2H)。

【0 1 3 0】

(2) 3-ヒドロキシデカン酸の製造

前記(1)で得られた3-ヒドロキシデカン酸エチルエステル16.5g (50mmol) と水酸化リチウム10.0g (250mmol) をテトラヒドロフラン50ml及び水100mlの混合液に溶解させ 30
、室温で約12時間攪拌した。反応液に希塩酸を加えて中和した後、減圧下で濃縮し、得られた残渣を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥して減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (展開溶媒：酢酸エチル/メタノール=4/6) で精製して3-ヒドロキシデカノイル酸 (収率=90%) を得た。

【0 1 3 1】

収量：12.2g (45mmol)

収率：90%

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz)：0.86ppm(t, 3H), 1.25ppm(m, 14H), 1.33ppm(m, 2H), 2.31ppm(m, 2H), 3.79ppm(m, 1H)。 40

【0 1 3 2】

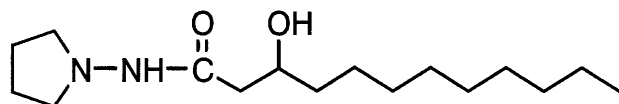
(3) N-(ピロリジン-1-イル)-3-ヒドロキシデカノイルアミドの製造

前記(2)で得られた3-ヒドロキシデカン酸0.24g (1.1mmol) と1-アミノピロリジン0.09g (1mmol) をジクロロメタン10mlに溶解させ、ジメチルアミノピリジン0.13g (1.1mmol) 及びジイソプロピルエチルアミン0.15g (1.2mmol) を加えた後、1-エチル-3-ジメチルアミノプロピルカルボジイミド0.21g (1.1mmol) を加えた。室温で約12時間攪拌後、減圧濃縮した後、得られた残渣を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (展開溶媒：酢酸エチル/メタノール=8/2) で精製して、下式で示される N-(ピロリジン-1-イル)-3-ヒドロキシデカノイルアミド (化合物 1 c-2 50

)を得た。

【0133】

【化14】



(1c-2)

【0134】

収量：0.01g (0.35mmol)

収率：35%

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz) : 0.88ppm(t, 3H), 1.26ppm(m, 14H), 1.43ppm(m, 2H), 1.58ppm(m, 1H), 2.24ppm(m, 3H), 2.55ppm(m, 2H), 3.81ppm(m, 2H), 3.86ppm(m, 2H), 4.04ppm(m, 1H)。

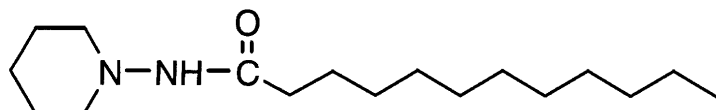
【0135】

製造例7 N-(ピペリジン-1-イル)ドデカノイルアミド(化合物1d-1)の製造

3-アミノピロリジンに代えて1-アミノピペリジンを用いて、製造例1と同様に操作して、下式で示されるN-(ピペリジン-1-イル)ドデカノイルアミド(化合物1d-1)を得た。

【0136】

【化15】



(1d-1)

【0137】

収量：0.24g (0.84mmol)

収率：84%

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz) : 0.87ppm(t, 3H), 1.31ppm(m, 17H), 1.55ppm(m, 7H), 2.06ppm(dt, d=440Hz, 2H), 2.48ppm(dm, d=440Hz, 2H), 2.67ppm(dm, d=400Hz, 2H), 6.32ppm(br, 1H)。

【0138】

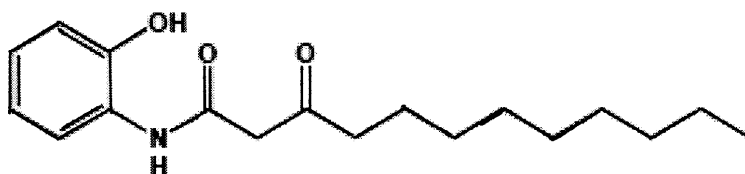
試験例1 緑膿菌に対するバイオフィルム形成阻害効果の評価試験

図1に示すフローセルシステムを用いて、上記製造例1、3および5～7で製造した各アミド化合物〔化合物1a-1、1b-1、1c-1、1c-2、1d-1〕、ならびに比較例として下式で示される比較化合物1～3について、緑膿菌に対するバイオフィルム形成阻害作用を評価した。

【0139】

【化16】

<比較化合物1>



【0140】

10

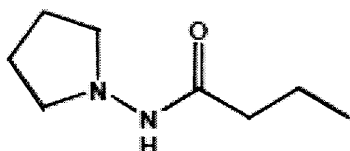
20

30

40

【化 17】

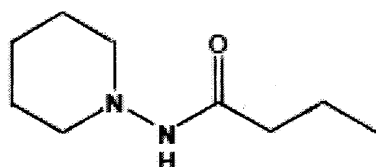
<比較化合物 2>



【0141】

【化 18】

<比較化合物 3>



【0142】

<フローセルシステム>

培地瓶 (1)、ペリスタポンプ (2)、ガラスセル (4) および廃液瓶 (5) をシリコンチューブ (6) で結び、培地瓶 (1) 中の培地 (9) をペリスタポンプ (2) によってガラスセル (4) 内に送ることができる。ペリスタポンプ (2) と活栓 (7a) との間には、混入する空気を除去する空気除去部 (3) を備えている。本フローセルシステムに用いる器具はあらかじめガンマ線滅菌またはオートクレーブ滅菌したものを用いた。

【0143】

後述するように、ガラスセル (4) 内で細菌を培養してセルの内壁にバイオフィルムを形成させ、そこに上記の各アミド化合物を含有する試験液を流したときのバイオフィルムの様子を観察することによって、当該化合物のバイオフィルム形成阻害作用を評価することができる。なお、バイオフィルムの様子は、蛍光共焦点顕微鏡 (Leica TCS SP2, ライカ社製) で観察することができる。

【0144】

<材料>

細菌：緑膿菌 PA01 株に、エレクトロポレーション法によって pTdk-LVAgfp プラスミドを導入して Green Fluorescent Protein を発現するように形質転換した緑膿菌 PA01 株 (以下、「gfp 発現 PA01 株」と称す。) を用いた (Teresa R. et al., Applied and Environmental Microbiology, Apr. 2001, p.1865-1873 参照)。

【0145】

培地：前培養には 30 mM グルコース含有 F A B 培地、本培養には 0.3 mM グルコース含有 F A B 培地を用いた。

【0146】

グルコース含有 F A B 培地：30mM グルコースあるいは 0.3mM グルコース、15mM 硫酸アンモニウム、33.7mM リン酸水素ナトリウム二水和物、22.1mM リン酸二水素カリウム、51.7mM 塩化ナトリウム、0.47mM 塩化マグネシウム、0.08mM 塩化カルシウムおよび下記 0.1% トレースメタルソリューションで構成される水溶液に、200 μg/mL のカルベシニリンを加えて調製した。

【0147】

トレースメタルソリューション：1.16mM 硫酸カルシウム二水和物、0.72mM 硫酸鉄七水和物、0.08mM 硫酸マンガン一水和物、0.08mM 硫酸銅五水和物、0.07mM 硫酸亜鉛七水和物、0.04mM 硫酸コバルト七水和物、0.04mM 過マンガン酸ナトリウム一水和物、および 0.08mM ホウ酸を含有する水溶液を用いた。

【0148】

菌液：30mM グルコース含有F A B培地に、gfp発現PA01株を植え付け、37℃恒温槽中で一晩振盪培養して得たオーバーナイトカルチャー液を、OD₅₉₀=0.1となるように30mMグルコース含有F A B培地で希釈して調製した。

【0149】

試験液および対照試験液：

試験液：製造例1、3および5～7で製造した化合物1a-1、1b-1、1c-1、1c-2又は1d-1、並びに比較化合物1～3を、おのおの100～250μMとなるようにジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解させてDMSO溶液とし、次いで各DMSO溶液を、各化合物の濃度が0.1%（v/v）となるように、0.3mM グルコース含有F A B培地に加えて試験液とした。

10

対照対象液：上記化合物を含まないDMSOを用いて試験液と同様に調製して対照試験液とした。

【0150】

<試験方法>

フローセルシステム系内を70容量%エタノールで満たし、12時間以上静置して系内を滅菌した。次いでフローセルシステム系内にペリスタポンプ（2）でメンブレンフィルター（8a）を通過した空気を送って、系内を乾燥させた後、0.3mM グルコース含有F A B培地で満たした。菌液500μLをガラスセル（4）内に上面から注射器を用いて注入し、3方活栓（7a, 7b）を閉めてガラスセルを密栓して室温で1時間静置培養した。

【0151】

20

静置培養後、2箇所の3方活栓（7a, 7b）を開き、各試験液または対照試験液を流速200μL/分で流して、ガラスセル内壁に付着した緑膿菌（gfp発現PA01株）がバイオフィルムを形成する様子を、ガラスセルの上方から蛍光共焦点顕微鏡で三次元的に経時観察した（1時間後、48時間後、60時間後、72時間後、84時間後）。なお、試験液及び対照試験液は、36時間ごとに新鮮なものに取り替えた。

【0152】

試験液（化合物1a-1、1b-1、1c-1、1c-2、1d-1、または比較化合物1～3）を用いた場合のバイオフィルムの形成状況を、対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの形成状況（control試験）と対比した結果を、図2～8に示す。なお、図2～8は、ガラスセル内壁に付着した緑膿菌（gfp発現PA01株）の状態を、ガラスセル内壁表面図と断面図（横断面と縦断面）から三次元的に示したものである。

30

【0153】

結果からわかるように、対照試験液を用いたcontrol試験では、緑膿菌（gfp発現PA01株）は厚みのある巨大なバイオフィルムを形成していたが、化合物1a-1、1b-1、1c-1、1c-2、または1d-1を含む試験液を用いた場合にはいずれもこうしたバイオフィルムの形成は認められなかった。一方、比較化合物1～3を含む試験液を用いた場合には、control試験と同様に巨大なバイオフィルムの形成が認められた。このことから、上記製造例1、3および5～7で調製した化合物1a-1、1b-1、1c-1、1c-2および1d-1に、緑膿菌によるバイオフィルム形成を阻害作用があるものと認められた。

【0154】

40

試験例2 歯周病原性細菌に対するバイオフィルム形成阻害効果の評価試験

試験例1と同様に、図1のフローセルシステムを用いて上記製造例1、3、5および6で製造した各アミド化合物〔化合物1a-1、1b-1、1c-1、1c-2〕の歯周病原性細菌に対するバイオフィルム形成阻害作用を評価した。

【0155】

<材料>

細菌：歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* 381株（臨床株）を用いた。

【0156】

培地：ヘミン5μg/L及びメナジオン1μg/Lを含むGAM培地を用いた。

【0157】

50

菌液：前記 G A M 培地に、当該菌株を植え付け、定常期（O D 550 = 1. 8）まで培養し、前記 G A M 培地で約 20 倍に希釈した。

【0158】

試験液および対照試験液：

試験液：実施例 1、3、5 および 6 で製造した化合物 1a-1、1b-1、1c-1 又は 1c-2、並びに比較例として比較化合物 1 および 2 を、おのおの 100 μM となるようにジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解させて DMSO 溶液とし、次いで各 DMSO 溶液を、各化合物の濃度が 0.1%（v/v）となるように、前記菌液に加えて試験液とした。

【0159】

対照対象液：上記化合物を含まない DMSO を用いて試験液と同様に調製して対照試験液とした。

10

【0160】

<試験方法>

フローセルシステム（図 1 参照）のガラスセル（4）をステンレスセル（3x7x120mm）に替え、当該セル内にハイドロキシアパタイト（H A）ディスク（直径 6 mm、厚さ 1mm）を 10 個設置した。H A ディスクは一晩唾液処理したものを用いた。各試験液または対照試験液を流速 8 mL/分 で 14 日間流した。なお、試験液及び対照試験液は、2 日ごとに新鮮なものに取り替えた。

【0161】

培養終了後、滅菌蒸留水 300 μL 中に H A ディスクを浸漬し、4℃で 30 分間超音波処理して、H A ディスクに形成したバイオフィルムを剥ぎとり、蒸留水中に懸濁させた。当該懸濁液 100 μL をとり、濁度を吸光度計（型式 C07500 colorimeter、フナコシ社製）で測定（測定波長：550 nm）した。

20

【0162】

得られた O D 値の中で、最大値と最小値を除外して平均 O D 値を求めた。また、対照試験液を用いた試験での濁度を対照 O D 値とし、同様に平均値（対照平均 O D 値）を求め、下記式よりバイオフィルム形成阻害率（阻害率）を求めた。

【0163】

【数 1】

$$\text{バイオフィルム形成阻害率 (\%)} = \{(\text{平均 O D 値}) / (\text{平均対照 O D 値})\} \times 100$$

30

【0164】

結果を表 1 に示す。

【0165】

【表 1】

化合物	平均 O D 値	平均対照 O D 値	阻害率 (%)
1 a - 1	0. 4 9	0. 7 9	3 7. 4
1 b - 1	0. 3 2	0. 3 9	1 9. 1
1 c - 1	0. 5 2 2	0. 5 8 5	1 1. 0
1 c - 2	0. 0 4 1	0. 3 4	8 7. 8
比較化合物 1	0. 6 2 9	0. 4 6 4	- 3 6. 0
比較化合物 2	0. 7 1 9	0. 4 8 3	- 4 9. 0

40

【0166】

この結果からわかるように、試験を行った化合物 1a-1、1b-1、1c-1、および 1c-2 に、歯周病原性細菌によるバイオフィルム形成を阻害する作用があると認められる。

【0167】

試験例 3 緑膿菌バイオフィルム剥離除去効果の評価試験

図 1 に示すフローセルシステムを用いて、上記製造例 1、3 および 5～6 で製造した各アミド化合物（化合物 1a-1、1b-1、1c-1 または 1c-2）、ならびに比較例として比較化合物

50

1～3について、バイオフィルム剥離除去作用を評価した。

【0168】

具体的には、フローセルシステムのガラスセル（4）内で細菌を培養してセルの内壁にバイオフィルムを形成させ、そこに上記の各アミド化合物を含有する試験液を流したときのバイオフィルムの様子を観察することによって、当該化合物のバイオフィルム剥離除去作用を評価した。なお、バイオフィルムの様子は、蛍光共焦点顕微鏡（Leica TCS SP2, ライカ社製）で観察した。

【0169】

<材料>

細菌：試験例1と同様に、gfp発現PA01株を用いた。

10

【0170】

培地、グルコース含有FAB培地、トレースメタルソリューション、及び菌液は、すべて試験例1に記載する方法で調製したものを使用した。

【0171】

試験液および対照試験液：

試験液：製造例1、3および5～6で製造した化合物1a-1、1b-1、1c-1または1c-2、ならびに比較化合物1～3を、100 μ Mとなるようにジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解させてDMSO溶液とし、次いで各DMSO溶液を、各化合物の濃度が0.1%（v/v）となるように、0.3mM グルコース含有FAB培地に加えて試験液とした。

【0172】

20

対照試験液：上記化合物を含まないDMSOを、対照試験液とした。

【0173】

<試験方法>

フローセルシステム系内を70容量%エタノールで満たし、12時間以上静置して系内を滅菌した。次いでフローセルシステム系内にペリスタポンプ（2）でメンブレンフィルター（8a）を通過した空気を送って、系内を乾燥させた後、0.3mM グルコース含有FAB培地で満たした。菌液500 μ Lをガラスセル（4）内に上面から注射器を用いて注入し、3方活栓（7a, 7b）を閉めてガラスセルを密栓して室温で1時間静置培養した。

【0174】

静置培養後、2箇所の3方活栓（7a, 7b）を開き、各試験液または対照試験液を流速200 μ L/分で流して、ガラスセル内壁に付着した緑膿菌（gfp発現PA01株）がバイオフィルムを形成する様子を、ガラスセルの上方から蛍光共焦点顕微鏡で三次元的に経時観察した（3日後、4日後、5日後、6日後、7日後、および10日後）。なお、試験液及び対照試験液は、36時間ごとに新鮮なものに取り替えた。

30

【0175】

対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの状況（control試験）を図9に示す。なお、図9中の各画像は、ガラスセル内壁に付着した緑膿菌（gfp発現PA01株）の状態を、ガラスセル内壁表面図と断面図（横断面と縦断面）から三次元的に示したものである。また、化合物1a-1、1b-1、1c-1または1c-2を含む試験液を用いた場合のバイオフィルムの状況を図10～13に、比較化合物1～3を含む試験液を用いた場合のバイオフィルムの状況を図14～16にそれぞれ示す。

40

【0176】

これらの結果からわかるように、対照試験液を用いたcontrol試験では、緑膿菌（gfp発現PA01株）は厚みのある巨大なバイオフィルムを形成され、それが培養10日目には巨大化していることがわかる。これに対して、化合物1a-1、1b-1、1c-1または1c-2を含む試験液を用いた場合には、こうしたバイオフィルムが時間の経過とともに消失していることがわかる（図10～13）。また、目視観察により、一旦形成されたバイオフィルムが徐々に剥がれ、セル内をバイオフィルム小片が流れていく様子が観察できた。なお、化合物1c-1または1c-2を含む試験液については、バイオフィルムが一旦減少した後、再び増加するように見えるが（培養6日後）、その後再び消失することから（図12および13）、剥

50

離と形成が繰り返されていると考えられた。一方、比較化合物 1～3 を含む試験液を用いた場合には、こうしたバイオフィルムの消失は認められなかった（図 1 4～1 6）

これらのことから、上記製造例 1、3 および 5～6 で調製した化合物 1a-1、1b-1、1c-1、および 1c-2 に、形成されたバイオフィルムを剥離除去する作用があるものと認められた。

【0 1 7 7】

試験例 4 殺菌効果の評価試験

緑膿菌、大腸菌および黄色ブドウ球菌に対する、後述する各被験化合物の殺菌作用を、「C L S I (M7-A7) 2006」(Clinical and Laboratory Standards Institute、M7-A7、Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Seven Edition, 2006) で定める液体希釈法に従って測定し、評価した。

【0 1 7 8】

被験化合物

(1) Carbenicillin (CBPC)、

(2) Ceftazidime (CAZ)、

(3) Tobramycin (TOB)、

(4) Azithromycin (AZM)、

(5) 化合物 1a-1 (製造例 1) の塩酸塩

(6) 化合物 1a-2 (製造例 2) の塩酸塩

(7) 化合物 1b-1 (製造例 3) の塩酸塩

(8) 化合物 1b-2 (製造例 4) の塩酸塩

なお、(1)～(4)は、公知の抗生物質である。

【0 1 7 9】

評価細菌 (日本国東京大学先端科学技術センター菅教授より分譲)

緑膿菌：Pseudomonas aeruginosa PA01

緑膿菌：Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

大腸菌：Escherichia coli ATCC 25922

黄色ブドウ球菌：Staphylococcus aureus ATCC 29213

黄色ブドウ球菌：Staphylococcus aureus Methicillin resistant (MRSA) ATCC 43300

<試験方法>

上記の各評価細菌を T S B 培地 (B D 社製: Bacto TSB Broth) に接種し 37℃ で一晚培養した。培養液を T S B 寒天プレートに塗布し、約 20 時間培養し、コロニーを形成させた。T S B 培地 4 mL に寒天プレートからコロニーを 3～5 個取って平均化したものを接種し、35℃ にて菌数が $1\sim 2\times 10^8$ CFU/mL になるまで培養した。ここでの菌数の算出には、培養液の 590nm における吸光度を経時的に測定し、標準液である 0.5 McFarland 液と同等の濁度になったことを以って菌数が $1\sim 2\times 10^8$ CFU/mL と判断した。

【0 1 8 0】

上記の方法で得られた菌培養液を 15 分以内に 10 倍希釈し、評価用 96 穴プレートに各 5 μ L ずつ接種した。ここで評価用 96 穴プレートとは、滅菌済 U 底 96 穴プレート (B D 社製: falcon 35-3918) を用いており、100 μ L ずつ MH 培地 (B D 社製: BBL MH Broth) を予め分注したものである。菌培養液を接種してから 15 分以内に被験化合物をそれぞれ 2 倍希釈系列となるように添加し、37℃ で 18 時間静地培養した。

【0 1 8 1】

M I C の判定は、被験化合物を加えなかった場合と比べて、目視で各穴の底に形成される沈殿凝集物の直径が 80% 以上減少した濃度を S (Susceptible) と判定した。一方、直径の減少が 80% 未満だったものは R (Resistant) と判定し、目視にて判定が難しい濃度は I (Intermediate) と判定した。

【0 1 8 2】

<試験結果>

殺菌剤として公知の化合物(1)～(4) (CBPC, CAZ, TOB, AZM) の結果を、表 2 に示す。表 2 中、右欄は「C L S I (M100-S16) 2006」(Clinical and Laboratory Standards Institute, M100-S16, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement, 2006)で定める液体希釈法に従って殺菌作用が測定された公知情報である。

【 0 1 8 3 】

【表 2】

<試験結果>

<i>P. aeruginosa</i> PAO1			
MIC (μg/mL)	R	I	S
CBPC	≤64	---	≥128
CAZ	≤0.5	1	≥2
TOB	≤0.25	0.5	≥1
AZM	≤32	64	≥128
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853			
MIC (μg/mL)	R	I	S
CBPC	≤64	128	≥256
CAZ	≤1	2	≥4
TOB	≤0.25	0.5	≥1
AZM	≤32	64	≥128
<i>E. coli</i> ATCC 25922			
MIC (μg/mL)	R	I	S
CBPC	≤8	16	≥32
CAZ	≤0.063	0.125	≥0.25
TOB	≤0.25	0.5	≥1
AZM	≤2	4	≥8
<i>S. aureus</i> ATCC 29213			
MIC (μg/mL)	R	I	S
CBPC	≤8	---	≥16
CAZ	≤2	4	≥8
TOB	≤0.125	0.25	≥0.5
AZM	≤0.5	1	≥2
MRSA ATCC 43300			
MIC (μg/mL)	R	I	S
CBPC	≤16	32	≥64
CAZ	≤4	8	≥16
TOB	≤64	128	≥256
AZM	≤1024	---	---

<公知情報>

<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	
MIC (μg/mL) from M100-S16	
CBPC	none
CAZ	1 - 4
TOB	0.25 - 1
AZM	none
<i>E. coli</i> ATCC 25922	
MIC (μg/mL) from M100-S16	
CBPC	none
CAZ	0.06 - 0.5
TOB	0.25 - 1
AZM	none
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	
MIC (μg/mL) from M100-S16	
CBPC	none
CAZ	4 - 16
TOB	0.12 - 1
AZM	0.5 - 2

10

20

30

【 0 1 8 4 】

この結果からわかるように、化合物(1)～(4)について、公知情報と同様の殺菌作用が示されたことから、本試験の方法により、被験化合物の殺菌作用が正しく評価できることが確認できた。

【 0 1 8 5 】

本発明の化合物1a-1、1a-2、1b-1および1b-2の各塩酸塩の結果を、表 3 に示す。

【 0 1 8 6 】

40

【表 3】

化合物 1a-1 の塩酸塩

MIC (μg/mL)	R	I	S
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	≤32	64	≥128
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	≤32	64	≥128
<i>E. coli</i> ATCC 25922	≤4	8	≥16
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	≤4	8	≥16
<i>MRSA</i> ATCC 43300	≤4	8	≥16

10

化合物 1a-2 の塩酸塩

MIC (μg/mL)	R	I	S
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	≤512	---	≥1024
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	≤512	---	≥1024
<i>E. coli</i> ATCC 25922	≤128	---	≥256
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	≤128	---	≥256
<i>MRSA</i> ATCC 43300	≤128	---	≥256

化合物 1b-1 の塩酸塩

MIC (μg/mL)	R	I	S
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	≤32	64	≥128
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	≤32	64	≥128
<i>E. coli</i> ATCC 25922	≤8	---	≥16
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	≤4	8	≥16
<i>MRSA</i> ATCC 43300	≤4	8	≥16

20

化合物 1b-2 の塩酸塩

MIC (μg/mL)	R	I	S
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	≤512	---	≥1024
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	≤512	---	≥1024
<i>E. coli</i> ATCC 25922	≤128	---	≥256
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	≤128	---	≥256
<i>MRSA</i> ATCC 43300	≤128	---	≥256

30

【0187】

その結果、これらの化合物はいずれも各細菌に対して既存の抗生物質と引けをとらない抗菌活性を持つことが明らかとなった。

【図面の簡単な説明】

40

【0188】

【図1】フローセルシステムを示す。

【図2】試験液（化合物1a-1、250 μM）を用いた場合のバイオフィルムの形成状況を、対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの形成状況（control）と対比した結果を示す（試験例1）。

【図3】試験液（化合物1b-1、250 μM）を用いた場合のバイオフィルムの形成状況を、対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの形成状況（control）と対比した結果を示す（試験例1）。

【図4】試験液（化合物1c-1、100 μM）を用いた場合のバイオフィルムの形成状況を、対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの形成状況（control）と対比した結果を示す（

50

試験例 1)。

【図 5】試験液（化合物 1c-2、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの形成状況を、対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの形成状況（control）と対比した結果を示す（試験例 1）。

【図 6】試験液（化合物 1d-1、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの形成状況を、対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの形成状況（control）と対比した結果を示す（試験例 1）。

【図 7】試験液（比較化合物 1 および 2、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの形成状況を、対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの形成状況（control）と対比した結果を示す（試験例 1）。

【図 8】試験液（比較化合物 3、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの形成状況を、対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの形成状況（control）と対比した結果を示す（試験例 1）。

【図 9】対照試験液を用いた場合のバイオフィルムの剥離除去状況を示す（試験例 3）。

【図 10】試験液（化合物 1a-1、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの剥離状況を示す（試験例 3）。

【図 11】試験液（化合物 1b-1、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの剥離状況を示す（試験例 3）。

【図 12】試験液（化合物 1c-1、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの剥離状況を示す（試験例 3）。

【図 13】試験液（化合物 1c-2、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの剥離状況を示す（試験例 3）。

【図 14】試験液（比較化合物 1、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの剥離状況を示す（試験例 3）。

【図 15】試験液（比較化合物 2、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの剥離状況を示す（試験例 3）。

【図 16】試験液（比較化合物 3、100 μ M）を用いた場合のバイオフィルムの剥離状況を示す（試験例 3）。

【符号の説明】

【0189】

1：培地瓶（Nunc 社製品）

2：ポンプ（4 チャンネルペリスタポンプ、ISMATEC 社製品 ISM935）

3：空気除去部（コック付きガラスカラムを転用）

4：ガラスセル（観察用ガラスキャピラリ 1 mm $\times$ 1 mm $\times$ 14 mm、BioSurface Technology 社製品 FC91）

5：廃液タンク（Nunc 社製品）

6：シリコンチューブ（ ϕ 1.5 mm）

7a、7b：三方活栓（テルモ社製品）

8a、8b：メンブレンフィルター（0.44 μ m、ミリポア社製品）

9：培地

10：廃液

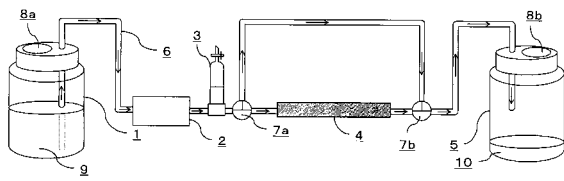
10

20

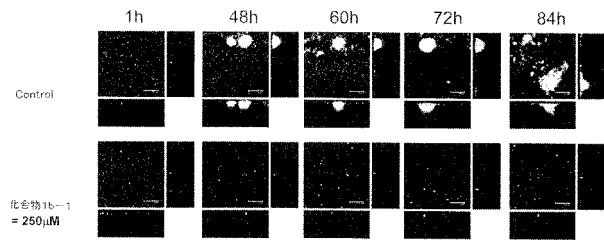
30

40

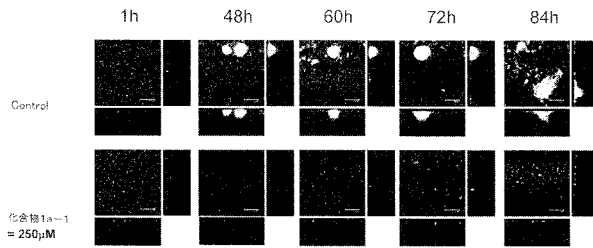
【図 1】



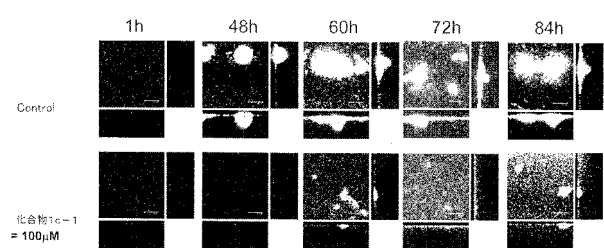
【図 3】



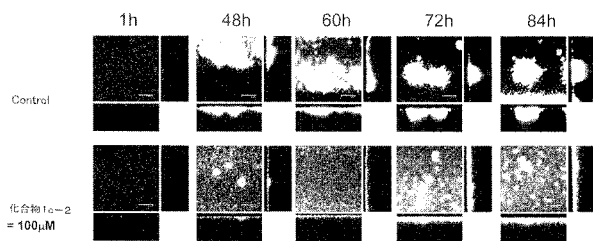
【図 2】



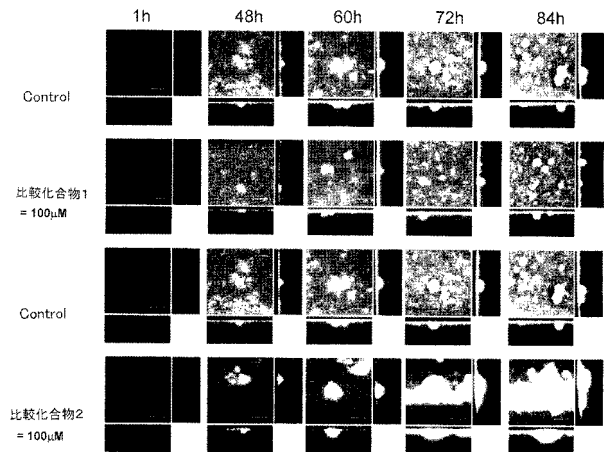
【図 4】



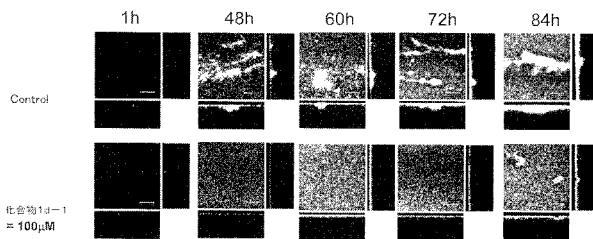
【図 5】



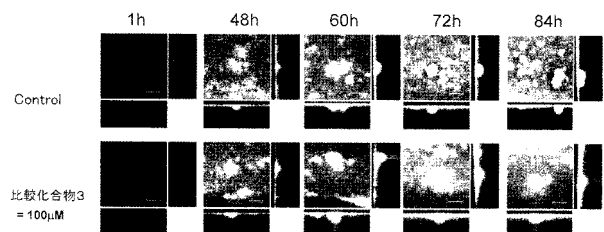
【図 7】



【図 6】

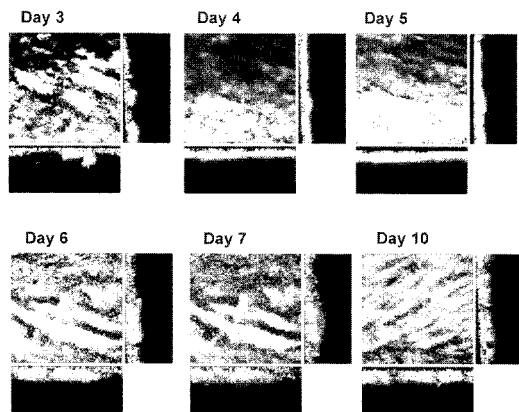


【図 8】



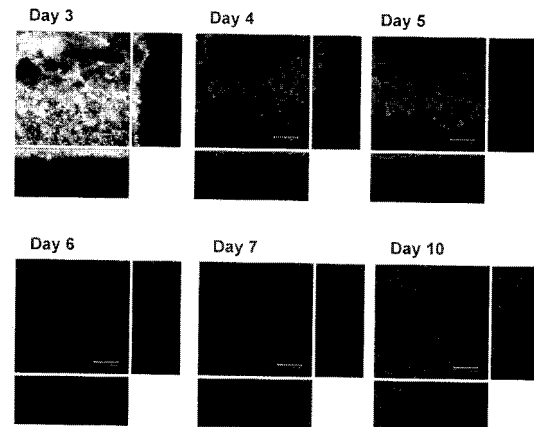
【図 9】

Control



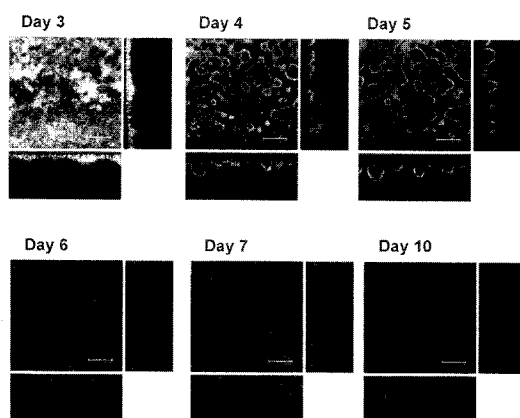
【図 10】

化合物1a-1



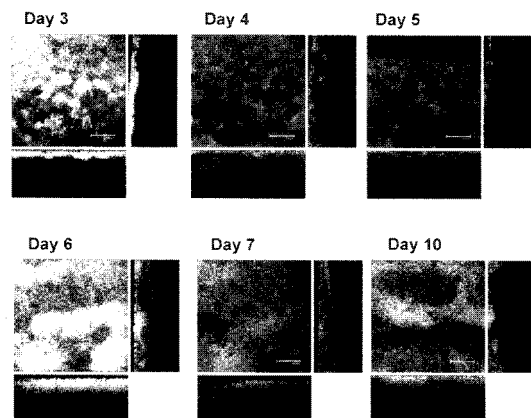
【図 11】

化合物1b-1



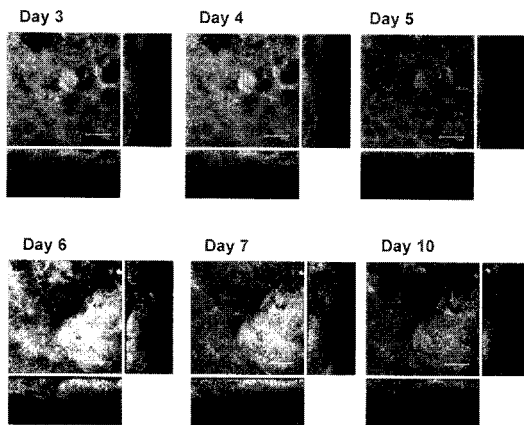
【図 12】

化合物1c-1



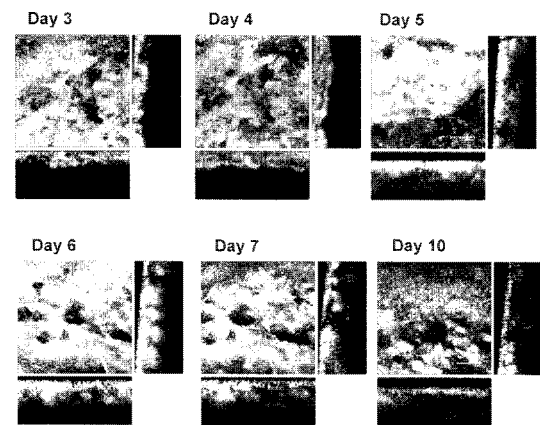
【図 1 3】

化合物1c-2



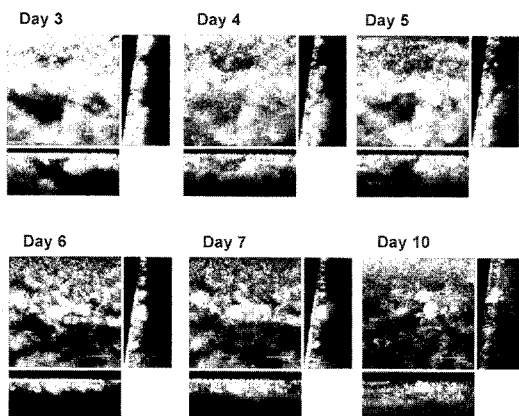
【図 1 4】

比較化合物1



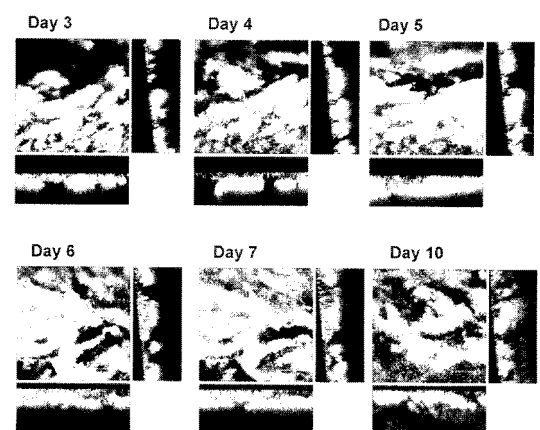
【図 1 5】

比較化合物2



【図 1 6】

比較化合物3



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P	1/02	(2006.01)	A 6 1 P 1/02
A 6 1 K	8/49	(2006.01)	A 6 1 K 8/49
A 6 1 Q	11/00	(2006.01)	A 6 1 Q 11/00
A 6 1 K	31/4453	(2006.01)	A 6 1 K 31/4453
C 0 7 D	295/22	(2006.01)	C 0 7 D 295/22 Z

(74)代理人 100108084
弁理士 中野 睦子

(74)代理人 100115484
弁理士 林 雅仁

(74)代理人 110000796
特許業務法人三枝国際特許事務所

(72)発明者 菅 裕明
東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内

(72)発明者 五十嵐 潤
徳島県徳島市川内町加賀須野463 大塚化学株式会社内

審査官 福井 悟

(56)参考文献 特表2001-512113 (JP, A)
特表2004-528356 (JP, A)
J.Med.Chem., 2005年, 48, 6491-6503

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C 0 7 D 2 0 3 / 0 0 - 2 0 9 / 9 6
A 6 1 K 3 1 / 3 3 - 3 3 / 4 4
CA/REGISTRY (STN)