

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7458706号
(P7458706)

(45)発行日 令和6年4月1日(2024.4.1)

(24)登録日 令和6年3月22日(2024.3.22)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/65 (2006.01)	A 6 1 K	31/65
A 6 1 K	31/4164(2006.01)	A 6 1 K	31/4164
A 6 1 K	35/741 (2015.01)	A 6 1 K	35/741
A 6 1 K	36/06 (2006.01)	A 6 1 K	36/06
A 6 1 K	38/14 (2006.01)	A 6 1 K	38/14

請求項の数 17 (全36頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-549896(P2018-549896)
 (86)(22)出願日 平成29年3月24日(2017.3.24)
 (65)公表番号 特表2019-509318(P2019-509318 A)
 (43)公表日 平成31年4月4日(2019.4.4)
 (86)国際出願番号 PCT/US2017/023958
 (87)国際公開番号 WO2017/165729
 (87)国際公開日 平成29年9月28日(2017.9.28)
 審査請求日 令和2年3月23日(2020.3.23)
 審判番号 不服2022-6784(P2022-6784/J1)
 審判請求日 令和4年5月6日(2022.5.6)
 (31)優先権主張番号 62/320,053
 (32)優先日 平成28年4月8日(2016.4.8)
 (33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)

(73)特許権者 517334296
 パラテック ファーマシューティカルズ
 , インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 0 2 1 1 6 マサチュー
 セッツ州, ボストン, 3 アールディー
 フロア, パーク プラザ 7 5
 (74)代理人 110002572
 弁理士法人平木国際特許事務所
 (72)発明者 タナカ, エス., ケン
 アメリカ合衆国 0 2 4 9 2 マサチュー
 セッツ州, ニーダム, ノイズ ストリート
 1 0
 (72)発明者 ドレイパー, マイケル, ビー.
 アメリカ合衆国 0 3 0 8 7 ニューハン
 プシャー州, ウィンダム, ベア ヒル ロ
 最終頁に続く

最終頁に続く

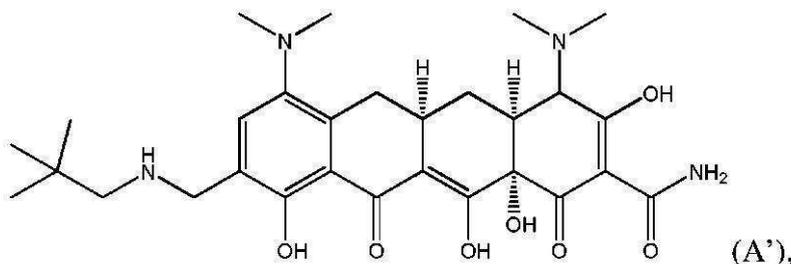
(54)【発明の名称】 クロストリジウム・ディフィシル感染を処置及び予防するための方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

クロストリジウム・ディフィシル感染の処置を必要とする被験体におけるクロストリジウム・ディフィシル感染を処置するための組成物であって、有効量の化合物、又はその塩を含み、該化合物が、以下の構造式：

【化1】



を有する化合物A'である、前記組成物。

【請求項2】

前記クロストリジウム・ディフィシル感染が、再発性クロストリジウム・ディフィシル感染である、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記組成物が、クロストリジウム・ディフィシル感染を処置するために用いられる少なくとも1種以上のさらなる療法と組み合わせて投与されるためのものである、請求項1に記載の組成物。

【請求項4】

前記さらなる療法が、抗生物質を投与することを含む、請求項3に記載の組成物。

【請求項5】

前記抗生物質が、メトロニダゾール又はバンコマイシンである、請求項4に記載の組成物。

【請求項6】

前記さらなる療法が、プロバイオティックを投与することを含む、請求項3に記載の組成物。

10

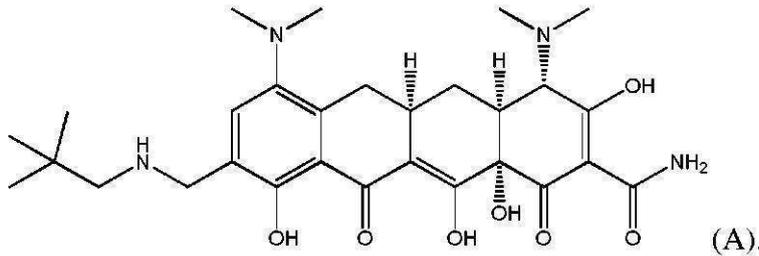
【請求項7】

前記さらなる療法が、糞便移植を投与することを含む、請求項3に記載の組成物。

【請求項8】

前記化合物が、以下の構造式：

【化6】



20

を有する化合物Aである、請求項1～7のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項9】

前記化合物が経口投与される、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項10】

前記化合物が静脈内投与される、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項11】

前記化合物が少なくとも1回の静脈内用量、次いで、少なくとも1回の経口用量として投与される、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項12】

前記少なくとも1回の経口用量が、前記少なくとも1回の静脈内用量の24時間後に投与される、請求項11に記載の組成物。

【請求項13】

前記化合物が1日1回又は1日2回投与される、請求項1～12のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項14】

前記化合物が1回当たり、100mg、200mg、300mg、600mg又は900mgの用量で投与される、請求項1～13のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項15】

前記被験体が、最大で14日間まで(14日間を含む)、最大で10日間まで(10日間を含む)、最大で9日間まで(9日間を含む)、最大で8日間まで(8日間を含む)、又は最大で7日間まで(7日間を含む)、処置される、請求項1～14のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項16】

前記塩が塩酸塩である、請求項1～15のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項17】

前記塩がトシル酸塩である、請求項1～15のいずれか一項に記載の組成物。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2016年3月24日に出願された米国特許仮出願第62/312,996号及び2016年4月8日に出願された米国特許仮出願第62/320,053号の利益を主張する。前記出願のそれぞれの全内容は、参照により本明細書に組み込まれるものとする。

【背景技術】

【0002】

クロストリジウム・ディフィシル(*C.difficile*)は、自然に遍在し、特に、土壌中によく見られるグラム陽性孢子形成細菌種である。病原性クロストリジウム・ディフィシル株は、複数の毒素を産生し、最もよく特徴付けられたものは、腸毒素(*C.difficile*毒素A)及び細胞毒素(*C.difficile*毒素B)であり、両方とも感染した患者において下痢及び炎症をもたらし得る。毒素A及びBは、GTPaseのRhoファミリーを標的化し、不活化するグルコシルトランスフェラーゼである。毒素B(細胞毒素)は、低分子量GTP結合Rhoタンパク質のADPリボシル化の減少と相関する機構によってアクチン脱重合を誘導する。別の毒素、バイナリー毒素もまた以前に記載されているが、クロストリジウム・ディフィシル感染と関連する病状を引き起こす際のその役割は完全には理解されていない。

10

【0003】

クロストリジウム・ディフィシルは、糞口経路によってヒトからヒトへ伝播する。しかしながら、この生物は、アルコール系ハンドソープ又は日常的な表面洗浄によって殺傷されない熱耐性孢子を形成する。かくして、これらの孢子は、長期間にわたって臨床環境中で生存する。このため、この細菌は、ほぼ全ての表面から培養され得る。一度、孢子が摂取されたら、その酸耐性により、それらは胃を無傷のまま通過することができる。

20

【0004】

クロストリジウム・ディフィシルによる腸の感染は、この細菌が通常は関連しない感染のための抗生物質処置後に、損なわれた正常な腸内生物叢(gut flora)を置き換える場合に起こると考えられる。正常で健康な細菌の混乱は、クロストリジウム・ディフィシルに、腸管内微生物叢(intestinal microbiome)を圧倒する機会を提供し得る。かくして、クロストリジウム・ディフィシル関連下痢症(CDAD)は、抗生物質関連下痢症の1つの型であり、CDADの軽度の症例は、不快な抗生物質を中止することによって処置することができることが多い。皮肉なことに、より重篤な症例では、バンコマイシン又はメトロニダゾールを用いる処置などの、標的抗生物質処置が必要であり、CDADの再発は、最大20%の症例で報告されている。

30

【0005】

クロストリジウム・ディフィシルによる感染は、偽膜性大腸炎、又は腸の炎症をもたらす、感染性下痢症であるCDADにおいては、医療制度における胃腸炎と関連する最も多い死因である(Johanesenら、Genes (Basel), 6, 1347-60, 2015; Cohenら、Infect. Control Hosp. Epidemiol., 31(5), 431-55, 2010)。最近の調査研究により、2011年に米国でクロストリジウム・ディフィシル感染の結果、推定450,000人が感染し、29,000人が死亡したと報告された(Lessaら、N. Engl. J. Med. 372(9):825-34, 2015)。クロストリジウム・ディフィシル感染と関連する年間費用は、約48億ドルと見積もられた(Lessaら、N. Engl. J. Med. 372(9):825-34, 2015)。

40

【0006】

クロストリジウム・ディフィシル感染の抗生物質処置は、抗生物質耐性と、細菌の生理学的因子(孢子形成及び偽膜の保護効果)の両方のため困難であり得る。北米において地理学的に分散された大流行を引き起こすと言われる、シプロフロキサシン及びレボフロキサシンなどの、フルオロキノロン系抗生物質に耐性の、クロストリジウム・ディフィシルの新しい高毒性株の出現が、2005年に報告された。アトランタの米疾病対策センター(CDC)は、ビルレンス、抗生物質耐性、又はその両方が増大した流行株の出現を警告した。

50

【0007】

したがって、クロストリジウム・ディフィシル感染及びCDADを処置及び予防するためのより有効な方法が必要である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【文献】Johanesenら、Genes (Basel), 6, 1347-60, 2015;

【文献】Cohenら、Infect. Control Hosp. Epidemiol., 31(5), 431-55, 2010

【文献】Lessaら、N. Engl. J. Med. 372(9):825-34, 2015

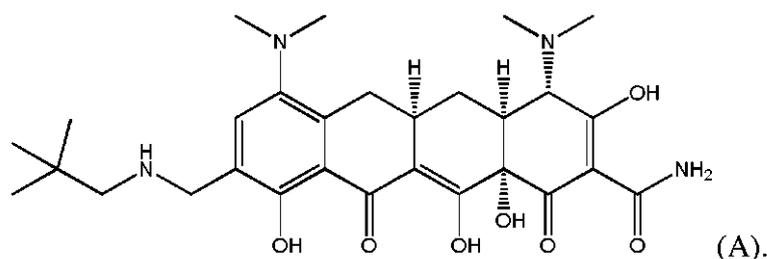
【発明の概要】

10

【0009】

化合物Aとも呼ばれる、オマダサイクリンは、以下に示される構造を有するファースト・イン・クラス(画期的医薬品)のアミノメチルサイクリンである(Honeymanら、Antimicrob. Agents Chemother. 59(11), 7044-53, 2015)。

【化1】



20

【0010】

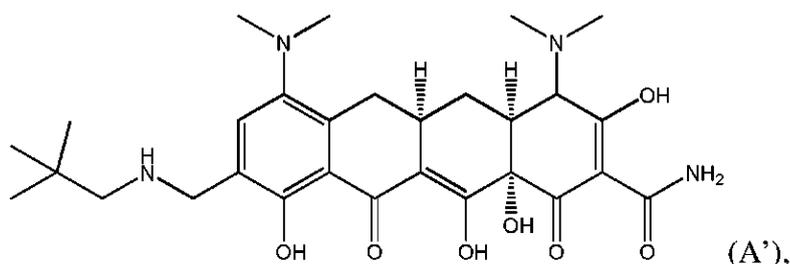
驚くべきことに、オマダサイクリンが、クロストリジウム・ディフィシルに対する非常に高い活性を示すことが発見された。また、驚くべきことに、他の抗生物質と違って、オマダサイクリンがクロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクの増大と関連しないことも観察された。

【0011】

30

したがって、いくつかの実施形態においては、本発明は、少なくとも部分的には、それを必要とする被験体におけるクロストリジウム・ディフィシル感染を処置する方法であって、被験体に、有効量の化合物、又はその塩を投与することを含み、該化合物が、以下の構造式:

【化2】



40

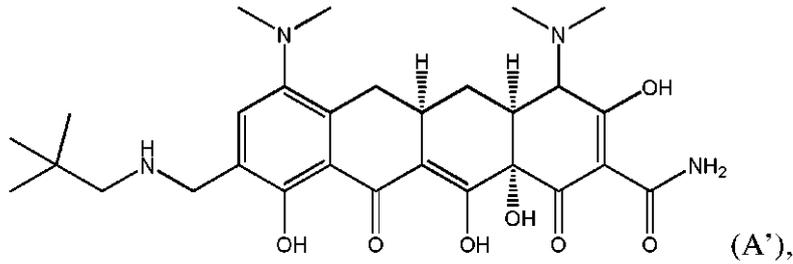
を有する化合物A'であり、被験体におけるクロストリジウム・ディフィシル感染が処置される、前記方法に関する。

【0012】

いくつかの実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染は、再発性クロストリジウム・ディフィシル感染である。いくつかの実施形態においては、化合物は、クロストリジウム・ディフィシル感染を処置するために用いられる少なくとも1つ以上のさらなる療法と組み合わせて投与される。一実施形態においては、療法は、抗生物質、例え

50

【化5】



10

を有する化合物A'であり、被験体における細菌感染が処置される、前記方法を提供する。

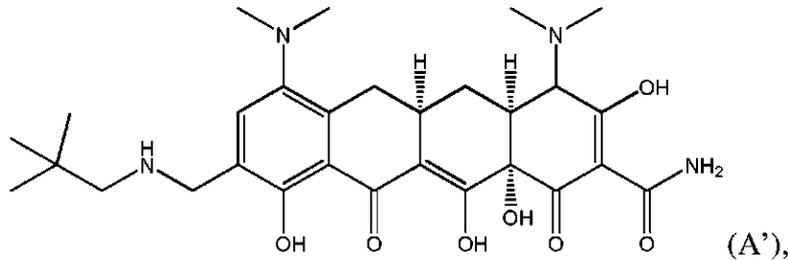
【0017】

ある特定の態様においては、本発明はまた、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体における細菌感染を処置する方法であって、

クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体を選択するステップと、

化合物が、以下の構造式：

【化6】



20

を有する化合物A'、又はその塩である、有効量の前記化合物を被験体に投与するステップと

を含み、被験体における細菌感染が処置される、前記方法も提供する。

30

【0018】

いくつかの態様においては、細菌感染は、皮膚又は皮膚構造感染、市中感染型（地域感染型）細菌性肺炎(CABP)及び尿路感染(UTI)からなる群から選択される。

【0019】

いくつかの態様においては、細菌感染は、グラム陽性細菌(例えば、グラム陽性嫌気性菌)によって引き起こされる。他の態様においては、細菌感染は、グラム陰性細菌(例えば、グラム陰性桿菌(GNR))によって引き起こされる。さらなる実施形態においては、細菌感染は、大腸菌(*E. coli*)、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)、エンテロコッカス・フェカーリス(*E. faecalis*)、肺炎桿菌(*K. pneumoniae*)、エンテロコッカス・ヒラエ(*E. hirae*)、アシネトバクター・バウマニー(*A. baumannii*)、ブランハメラ・カタラーリス(*B. catarrhalis*)、インフルエンザ菌(*H. influenza*)、緑膿菌(*P. aeruginosa*)、及びエンテロコッカス・フェシウム(*E. faecium*)からなる群から選択される種に属する細菌によって引き起こされる。

40

【0020】

さらなる態様においては、黄色ブドウ球菌は、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)又はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)であり、両方とも院内型及び市中型MRSAを含む。一実施形態においては、感染は、院内型MRSA感染である。別の実施形態においては、感染は、市中型MRSA感染である。

【0021】

一態様においては、細菌感染は、連鎖球菌(例えば、ストレプトコッカス・ニューモニエ

50

(Streptococcus pneumoniae)、ペニシリン耐性ストレプトコッカス・ニューモニエ(PR SP)、ストレプトコッカス・ピオゲネス(Streptococcus pyogenes)、及びストレプトコッカス・アガラクチエ(Streptococcus agalactiae))、緑色連鎖球菌、腸球菌、又はその組合せによって引き起こされる。

【0022】

さらに別の態様においては、細菌感染は、サルモネラ(Salmonella)及びストレプトコッカス(Streptococcus)からなる群から選択される属に属する細菌によって引き起こされる。

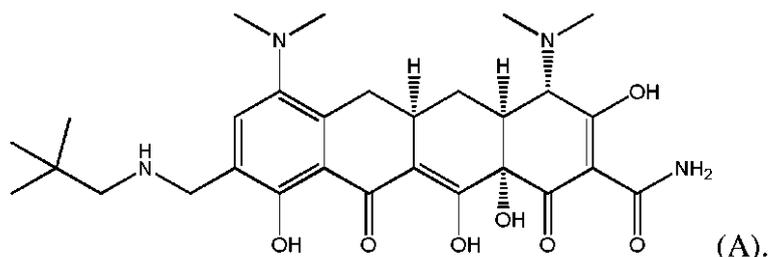
【0023】

実施形態においては、細菌感染は、ペニシリン又はテトラサイクリンなどの他の抗生物質に対して耐性であり得る。

【0024】

いくつかの実施形態においては、本発明の方法において用いられる化合物は、以下の構造式：

【化7】



を有する化合物Aである。

【0025】

ある特定の態様においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、1種以上の抗生物質、例えば、広域抗生物質で最近処置された被験体である。一態様においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、消化管の外科手術を受けたことがある被験体である。別の態様においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、結腸の疾患、例えば、炎症性腸疾患又は結腸直腸がんを有する被験体である。一態様においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、免疫系が弱っている被験体である。別の実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、化学療法を受けている被験体である。さらに別の態様においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、以前にクロストリジウム・ディフィシル感染を有していた被験体である。さらに別の態様においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、高齢、例えば、65歳以上の年齢の被験体である。さらに別の態様においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、腎臓病を有する被験体である。一実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、プロトンポンプ阻害剤を摂取している被験体である。

【0026】

一実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体は、被験体にクロストリジウム・ディフィシル感染を生じやすくさせる環境で生活している被験体である。さらなる態様においては、被験体にクロストリジウム・ディフィシル感染を生じやすくさせる環境は、病院、養護施設又は介護施設を含む。

【0027】

一実施形態においては、化合物は、経口投与される。別の実施形態においては、化合物は、静脈内投与される。さらなる実施形態においては、化合物は、少なくとも1回の静脈

内用量、次いで、少なくとも1回の経口用量として投与される。さらなる態様においては、少なくとも1回の経口用量は、少なくとも1回の静脈内用量の約24時間後に投与される。

【0028】

一実施形態においては、化合物は、1日1回又は1日2回投与される。

【0029】

いくつかの実施形態においては、化合物は、約100mg、約200mg、約300mg、約600mg又は約900mgの用量で投与される。

【0030】

いくつかの実施形態においては、被験体は、最大で約14日間まで(約14日間を含む)、最大で約10日間まで(約10日間を含む)、最大で約9日間まで(約9日間を含む)、最大で約8日間まで(約8日間を含む)、又は最大で約7日間まで(約7日間を含む)、処置される。

10

【0031】

一態様においては、本発明の化合物の製薬上許容し得る塩は、塩酸塩である。別の態様においては、本発明の化合物の製薬上許容し得る塩は、トシル酸塩である。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】オマダサイクリン及び比較用抗生物質で処置した後にクロストリジウム・ディフィシルに感染したハムスターの生存率のカプラン-マイヤープロットである。

【図2】実施例3に記載の腸モデル実験に関する実験時間枠を示す図である。

20

【図3】実施例3に記載のオマダサイクリン曝露腸モデルの容器2における腸内微生物叢(gut microflora)集団($\log_{10}\text{cfu/mL}$)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に示される通りである。

【図4】実施例3に記載のオマダサイクリン曝露腸モデルの容器3における腸内微生物叢集団($\log_{10}\text{cfu/mL}$)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に示される通りである。

【図5】実施例3に記載のオマダサイクリン曝露モデルの容器1におけるクロストリジウム・ディフィシル計数($\log_{10}\text{cfu/mL}$)、毒素力価(相対単位RU)及び活性オマダサイクリン(OMA)濃度(mg/L)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に示される通りである。

【図6】実施例3に記載のオマダサイクリン曝露モデルの容器2におけるクロストリジウム・ディフィシル計数($\log_{10}\text{cfu/mL}$)、毒素力価(相対単位RU)及び活性オマダサイクリン(OMA)濃度(mg/L)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に示される通りである。

30

【図7】実施例3に記載のオマダサイクリン曝露モデルの容器3におけるクロストリジウム・ディフィシル計数($\log_{10}\text{cfu/mL}$)、毒素力価(相対単位RU)及び活性オマダサイクリン(OMA)濃度(mg/L)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に示される通りである。

【図8】実施例4に記載のオマダサイクリン曝露腸モデルの容器2における腸内微生物叢集団を示すグラフ($\log_{10}\text{cfu/mL}$)である。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

【図9】実施例4に記載のオマダサイクリン曝露腸モデルの容器3における腸内微生物叢集団($\log_{10}\text{cfu/mL}$)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

40

【図10】実施例4に記載のオマダサイクリン曝露モデルの容器1におけるクロストリジウム・ディフィシル計数($\log_{10}\text{cfu/mL}$)、毒素力価(相対単位RU)及び活性オマダサイクリン(OMA)濃度(mg/L)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

【図11】実施例4に記載のオマダサイクリン曝露モデルの容器2におけるクロストリジウム・ディフィシル計数($\log_{10}\text{cfu/mL}$)、毒素力価(相対単位RU)及び活性オマダサイクリン(OMA)濃度(mg/L)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

【図12】実施例4に記載のオマダサイクリン曝露モデルの容器3におけるクロストリジウム・ディフィシル計数($\log_{10}\text{cfu/mL}$)、毒素力価(相対単位RU)及び活性オマダサイクリン

50

(OMA)濃度(mg/L)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

【図13】実施例4に記載のモキシフロキサシン曝露腸モデルの容器2における腸内微生物叢集団(log₁₀cfu/mL)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

【図14】実施例4に記載のモキシフロキサシン曝露腸モデルの容器3における腸内微生物叢集団(log₁₀cfu/mL)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

【図15】実施例4に記載のモキシフロキサシン曝露モデルの容器1におけるクロストリジウム・ディフィシル計数(log₁₀cfu/mL)、毒素力価(相対単位RU)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

10

【図16】実施例4に記載のモキシフロキサシン曝露モデルの容器2におけるクロストリジウム・ディフィシル計数(log₁₀cfu/mL)、毒素力価(相対単位RU)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

【図17】実施例4に記載のモキシフロキサシン曝露モデルの容器3におけるクロストリジウム・ディフィシル計数(log₁₀cfu/mL)、毒素力価(相対単位RU)を示すグラフである。期間A~Dは、図2に定義される通りである。水平の点線は、生菌数に関する検出限界を示す。

20

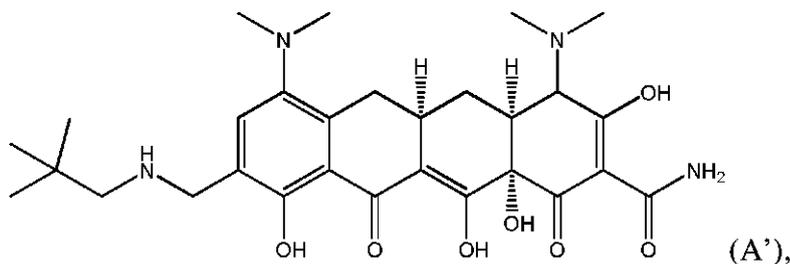
【発明を実施するための形態】

【0033】

クロストリジウム・ディフィシル感染の処置

本発明は、オマダサイクリンがクロストリジウム・ディフィシルに対して予想外に高い活性を示すという驚くべき発見に基づくものである。したがって、いくつかの実施形態においては、本発明は、少なくとも部分的には、それを必要とする被験体、例えば、ヒト被験者におけるクロストリジウム・ディフィシル感染を処置する方法であって、被験体に、有効量の化合物、又はその塩を投与することを含み、該化合物が、以下の構造式:

【化8】



30

を有する化合物A'であり、被験体におけるクロストリジウム・ディフィシル感染が処置される、前記方法に関する。

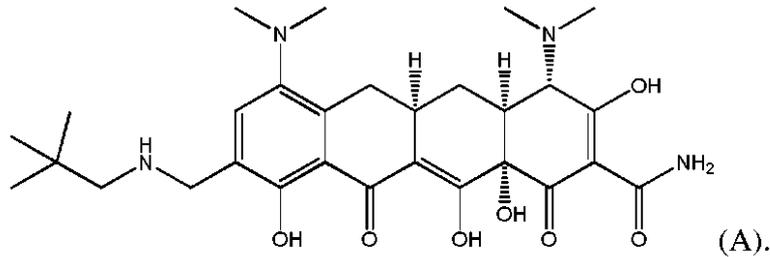
【0034】

いくつかの実施形態においては、本発明の方法において用いられる化合物は、以下の構造式:

40

50

【化9】



を有する化合物Aである。

【0035】

いくつかの実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染は、再発性クロストリジウム・ディフィシル感染であってもよい。クロストリジウム・ディフィシル感染の再発は、メトロニダゾール又はバンコマイシンを用いる初期のクロストリジウム・ディフィシル感染(CDI)の処置後に20~30%の被験体において起こり得る。より低確率のさらに別の再発をもたらす認可された代替処置がないため、そのような再発は苛立たしい。2回目の再発の後、その後のエピソードは、40%~60%もの被験体において起こる。再発性CDIは、内在する孢子又は局所環境汚染に由来する感染の結果であり得る。再発と再感染は、したがって、識別するのが困難である。メトロニダゾールとバンコマイシンは両方とも、正常な微生物叢の増殖を抑制し、それによって、天然の定着耐性を打ち負かす。

【0036】

いくつかの実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染は、重複感染である。

【0037】

いくつかの実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染、例えば、再発性クロストリジウム・ディフィシル感染又はクロストリジウム・ディフィシル重複感染を生じる被験体は、被験体にクロストリジウム・ディフィシル感染を生じやすくさせる環境で生活する被験体である。そのような環境は、病院、養護施設又は介護施設を含む、医療ケア設定における任意の環境を含んでもよい。医療ケア設定における環境は、クロストリジウム・ディフィシル孢子で汚染するようになり、汚染の程度は、CDADを有する患者の数に比例する。無症候性の定着患者も、汚染の供給源として働き得る。

【0038】

本発明の化合物、例えば、化合物(A')又は化合物(A)を、クロストリジウム・ディフィシル感染を処置するために用いられる少なくとも1つ以上のさらなる療法と組み合わせて投与してもよい。例えば、療法は、クロストリジウム・ディフィシル感染を処置するために用いられる抗生物質、例えば、メトロニダゾール又はバンコマイシンを投与することを含んでもよい。さらなる療法はまた、プロバイオティック、例えば、ラクトバチルス・ラムノサス(*L.rhamnosus*)又はサッカロミセス・ブラウディ(*Saccharomyces boulardii*)を含む製剤を投与することを含んでもよい。さらに別の実施形態においては、さらなる療法は、糞便移植物を投与することを含む。特定の理論によって束縛されることを望むものではないが、糞便移植物の投与はクロストリジウム・ディフィシル感染が根付くのを可能にする腸内微生物叢の破壊を減少させると考えられる。

【0039】

クロストリジウム・ディフィシル感染を有する被験体の同定を、当業界で一般に公知の方法を用いて行うことができる。そのような方法としては、限定されるものではないが、クロストリジウム・ディフィシルのための糞便培養;例えば、PCRに基づくアッセイ、組織培養細胞毒性アッセイ又は酵素免疫アッセイによる、クロストリジウム・ディフィシルにより産生される毒素A及び/又はBを検出するための分子試験;並びに例えば、ラテックス凝集又は免疫クロマトグラフィーアッセイを用いるクロストリジウム・ディフィシル抗原の

10

20

30

40

50

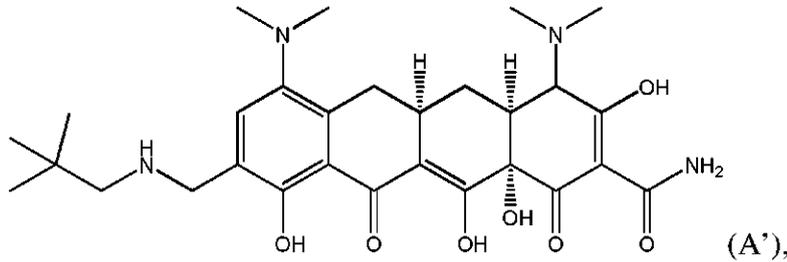
存在の検出が挙げられる。

【0040】

細菌感染の処置

本発明はまた、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体、例えば、ヒト被験者においてクロストリジウム・ディフィシル感染を引き起こすことなく細菌感染を処置する方法であって、被験体に、有効量の化合物、又はその塩を投与することを含み、該化合物が、以下の構造式:

【化10】



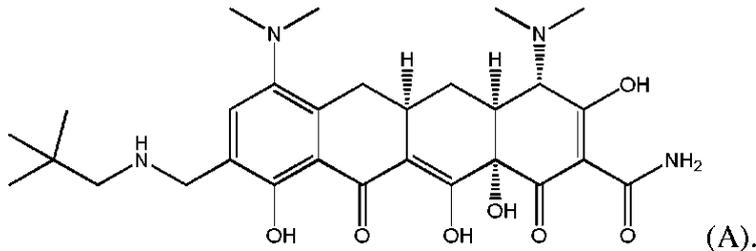
10

を有する化合物A'であり、被験体における細菌感染が、クロストリジウム・ディフィシル感染を引き起こすことなく処置される、前記方法も提供する。

【0041】

いくつかの実施形態においては、本発明の方法において用いられる化合物は、以下の構造式:

【化11】



30

を有する化合物Aである。

【0042】

オマダサイクリンを用いる細菌感染の処置が、クロストリジウム・ディフィシル感染の発生のリスクを増加させないことが本発明において発見された。これは、クロストリジウム・ディフィシル感染及び関連するCDADの発生のリスクを増加させる他の一般的な抗生物質を用いる細菌感染の処置とは対照的である。具体的には、後の実施例3に記載のように、in vitroでの腸モデルにおけるオマダサイクリン曝露の増加は、シミュレートされたクロストリジウム・ディフィシル感染のいかなる兆候ももたらさなかった。具体的には、クロストリジウム・ディフィシルの全生菌数(TVC)は、実験を通して孢子数と大まかに等しいままであったが、これは、全てのクロストリジウム・ディフィシルが孢子として残存し、栄養細胞増殖が観察されなかったことを示している。さらに、クロストリジウム・ディフィシル毒素は、実験を通して検出されなかった(図5、図6及び図7も参照されたい)。

40

【0043】

いくつかの実施形態においては、被験体へのオマダサイクリン曝露又はオマダサイクリンの投与は、in vivoでクロストリジウム・ディフィシルの増殖を促進しない。

【0044】

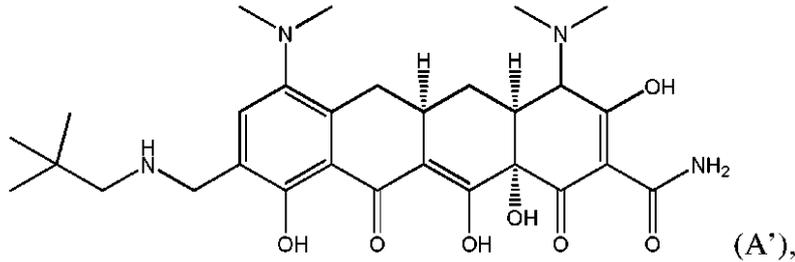
いくつかの実施形態においては、被験体へのオマダサイクリン曝露又はオマダサイクリンの投与は、クロストリジウム・ディフィシル感染を誘導する潜在的リスクが低い。

50

【0045】

いくつかの実施形態においては、本発明はまた、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体、例えば、ヒト被験者において腸内微生物叢を実質的に破壊することなく細菌感染を処置する方法であって、被験体に、有効量の化合物、又はその塩を投与することを含み、該化合物が、以下の構造式：

【化12】



10

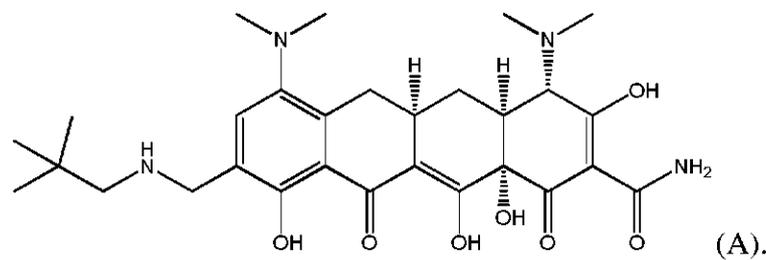
を有する化合物A'であり、被験体における細菌感染が、腸内微生物叢を実質的に破壊することなく処置される、前記方法も提供する。

【0046】

いくつかの実施形態においては、本発明の方法において用いられる化合物は、以下の構造式：

20

【化13】



を有する化合物Aである。

30

【0047】

用語「腸内微生物叢を実質的に破壊することなく」とは、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクの増大と関連しない、化合物(A)又は化合物(A')などの抗生物質、例えば、オマダサイクリンによる処置後の、腸内の細菌集団の調節レベルを指す。この用語は、本発明の化合物、例えば、オマダサイクリンを用いる細菌感染の処置が、腸内微生物叢のいくつかの破壊をもたらし得るが、破壊の程度が、被験体におけるクロストリジウム・ディフィシル感染又はクロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクの増大をもたらさない実施形態を含む。例えば、いくつかの破壊は起こってもよいが、クロストリジウム・ディフィシル感染は、オマダサイクリンの存在によって阻害又は防止される。少なくとも1つの実施形態において、オマダサイクリンは、消化管における微生物叢又は腸内微生物叢を広範囲に破壊しながら、被験体に投与した場合にクロストリジウム・ディフィシル感染を誘導する傾向が低い。

40

【0048】

経口用量のオマダサイクリン、例えば、化合物(A)又は化合物(A')が被験体に投与される場合、経口用量の大部分、例えば、吸収されたオマダサイクリンの約60%が、腸内で、すなわち、胆管/糞便除去経路によって除去される。オマダサイクリンの経口用量の大部分が腸内で除去されるため、オマダサイクリンを、腸内微生物叢を実質的に破壊することなく被験体に投与することができるという知見は、驚くべきことであり、予想外でもあった。クロストリジウム・ディフィシルによる感染は、腸内微生物叢が実質的に破壊される場合に起こるため、オマダサイクリンが、細菌感染を処置するために被験体に投与された場合

50

に、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じる被験体のリスクを増大させないという知見も、驚くべきことであり、予想外であった。

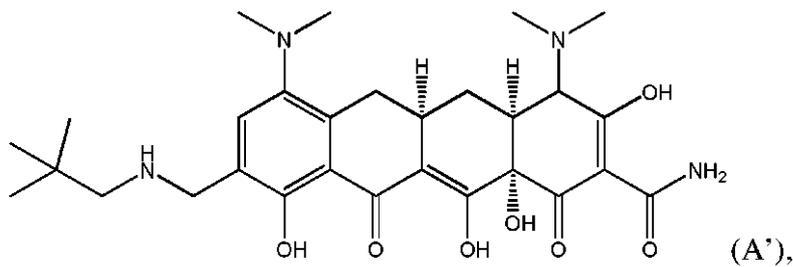
【0049】

いくつかの実施形態においては、腸内微生物叢を実質的に破壊することなく細菌感染を処置することは、被験体におけるクロストリジウム・ディフィシル感染をもたらさない。いくつかの態様においては、本発明の方法は、投与する前に、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがあるか、又はクロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体を選択することをさらに含む。

【0050】

いくつかの実施形態においては、本発明はまた、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体、例えば、ヒト被験者における細菌感染を処置する方法であって、被験体に、有効量の化合物、又はその塩を投与することを含み、該化合物が、以下の構造式：

【化14】



を有する化合物A'であり、被験体における細菌感染が処置される、前記方法も提供する。

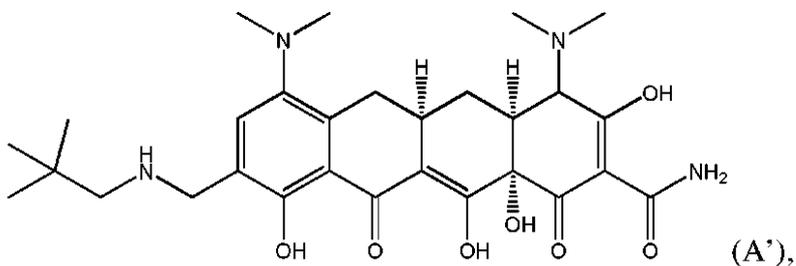
【0051】

ある特定の態様においては、本発明はまた、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体における細菌感染を処置する方法であって、

クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体を選択するステップと、

該被験体に、以下の構造式：

【化15】



を有する化合物A'、又はその塩である有効量の化合物を投与するステップとを含み、被験体における細菌感染が処置される、前記方法も提供する。

【0052】

いくつかの実施形態においては、本発明の方法において用いられる化合物は、以下の構造式：

10

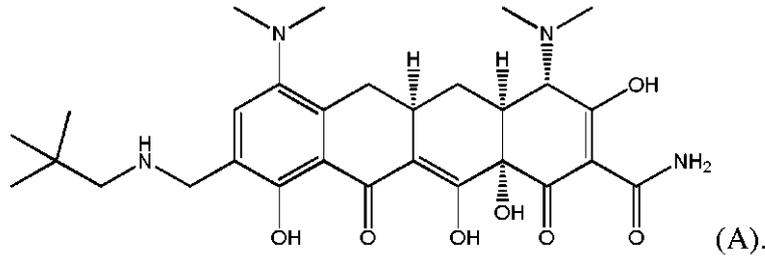
20

30

40

50

【化16】



を有する化合物Aである。

10

【0053】

用語「クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体」又は「クロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体」とは、健康な被験体と比較してクロストリジウム・ディフィシル感染を生じる可能性が高い被験体を指す。用語「クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体」又は「クロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体」とは、被験体にクロストリジウム・ディフィシル感染を生じやすさせる環境で生活する被験体も指す。被験体にクロストリジウム・ディフィシル感染を生じやすくさせる因子としては、限定されるものではないが、以下のもの：

- (a) 抗生物質、例えば、広域抗生物質による最近の処置；
- (b) 最近の外科的処置、特に、消化管に関する外科的処置を受けていること；
- (c) 結腸の疾患、例えば、炎症性腸疾患又は結腸直腸がんを有すること；
- (d) 例えば、疾患の結果として、又は化学療法による処置の結果として、免疫系が弱っていること；
- (e) 少なくとも1回のクロストリジウム・ディフィシル感染を以前に有していたこと；
- (f) 高齢、例えば、65歳以上の年齢であること；
- (g) 腎臓病を有すること；
- (h) プロトンポンプ阻害剤を摂取していること；及び
- (i) 被験体にクロストリジウム・ディフィシル感染を生じやすくさせる環境で生活していること

20

30

が挙げられる。そのような環境は、病院、養護施設又は介護施設を含む医療ケア設定における任意の環境を含んでもよい。医療ケア設定における環境は、クロストリジウム・ディフィシルの孢子で汚染するようになり、汚染の程度はCDADを有する患者の数に比例する。無症候性であるが、定着患者も、汚染の供給源として働き得る。

【0054】

したがって、いくつかの実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体又はクロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体は、以下の被験体のカテゴリー：

- (a) 抗生物質、例えば、広域抗生物質による最近の処置を受けた被験体；
- (b) 最近の外科的処置、特に、消化管に関する外科的処置を受けた被験体；
- (c) 結腸の疾患、例えば、炎症性腸疾患又は結腸直腸がんを有する被験体；
- (d) 例えば、疾患の結果として、又は化学療法による処置の結果として、免疫系が弱っている被験体；
- (e) 少なくとも1回のクロストリジウム・ディフィシル感染を以前に有していた被験体；
- (f) 高齢、例えば、65歳以上の年齢である被験体；
- (g) 腎臓病を有する被験体；
- (h) プロトンポンプ阻害剤を摂取している被験体；及び
- (i) 被験体にクロストリジウム・ディフィシル感染を生じやすくさせる環境で生活している被験体

40

の少なくとも1つに属してもよい。そのような環境は、病院、養護施設又は介護施設を含

50

む医療ケア設定における任意の環境を含んでもよい。医療ケア設定における環境は、クロストリジウム・ディフィシルの孢子で汚染するようになり、汚染の程度はCDADを有する患者の数に比例する。無症候性であるが、定着患者も、汚染の供給源となり得る。

【0055】

少なくとも1つの実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体又はクロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体は、上に列挙されたカテゴリー(f)に属さない、すなわち、被験体は、高齢、例えば、65歳以上の年齢ではない。

【0056】

いくつかの実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体又はクロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体は、81歳を超える年齢である。さらなる実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体又はクロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体は、85歳を超える年齢、90歳を超える年齢又は95歳を超える年齢である。

【0057】

いくつかの実施形態においては、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体又はクロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体は、上の(a)~(i)に列挙された被験体の少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ又は9つ全部のカテゴリーに属する。

【0058】

クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクを増大させずにオマダサイクリンで処置することができる細菌感染は、皮膚又は皮膚構造感染(ABSSSI)、市中型細菌性肺炎(CABP)及び尿路感染(UTI)を含んでもよい。

【0059】

細菌感染は、グラム陽性細菌又はグラム陰性細菌によって引き起こされ得る。細菌感染は、大腸菌(*E. coli*)、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)、例えば、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)又はメチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)、エンテロコッカス・フェカリス(*E. faecalis*)、肺炎桿菌(*K. pneumoniae*)、エンテロコッカス・ヒラエ(*E. hirae*)、アシネトバクター・バウマニー(*A. baumannii*)、ブランハメラ・カタラーリス(*B. catarrhalis*)、インフルエンザ菌(*H. influenza*)、緑膿菌(*P. aeruginosa*)、及びエンテロコッカス・フェシウム(*E. faecium*)からなる群から選択される種に属する細菌によって引き起こされ得る。細菌感染はまた、サルモネラ及びストレプトコッカスからなる群から選択される属に属する細菌によって引き起こされ得る。本発明の化合物、例えば、オマダサイクリンによる細菌感染の処置は、例えば、米国特許第7,553,828号及び第9,265,740号に記載されており、それぞれの全内容は参照により本明細書に組み込まれるものとする。

【0060】

一実施形態においては、化合物は経口投与される。別の実施形態においては、化合物は静脈内投与される。さらなる実施形態においては、化合物は少なくとも1回の静脈内用量、次いで、少なくとも1回の経口用量として投与される。さらなる態様において、少なくとも1回の経口用量は、少なくとも1回の静脈内用量の約24時間後に投与される。

【0061】

一実施形態においては、化合物を、1日1回又は1日2回投与することができる。

【0062】

被験体を、最大で約60日間まで(約60日間を含む)、最大で約30日間まで(約30日間を含む)、最大で約21日間まで(約21日間を含む)、最大で約14日間まで(約14日間を含む)、最大で約10日間まで(約10日間を含む)、最大で約9日間まで(約9日間を含む)、最大で約8日間まで(約8日間を含む)、又は最大で約7日間まで(約7日間を含む)、処置することができる。

【0063】

10

20

30

40

50

本発明の化合物の製薬上許容し得る塩は、塩酸塩又はトシル酸塩であってもよい。

【0064】

本発明の化合物の投与

本発明の化合物、例えば、化合物(A')若しくは化合物(A)などのオマダサイクリン、又はその塩を、必要に応じて、製薬上許容し得る担体を含む医薬組成物の一部として投与することができる。

【0065】

用語「製薬上許容し得る担体（製薬上許容される担体）」は、本発明の化合物、例えば、オマダサイクリンと同時に投与することができ、本発明の化合物が、その意図される機能を実行する、例えば、細菌感染、例えば、クロストリジウム・ディフィシル感染を処置する、又は予防することができるようにする物質を含む。好適な製薬上許容し得る担体としては、限定されるものではないが、水、塩溶液、アルコール、植物油、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、香油、脂肪酸モノグリセリド及びジグリセリド、ペトロエトラル脂肪酸エステル、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。医薬組成物を滅菌し、必要に応じて、補助剤、例えば、本発明の活性化合物と有害に反応しない潤滑剤、保存剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響を及ぼすための塩、バッファ、着色料、香料及び/又は芳香物質などと混合することができる。

【0066】

本発明のテトラサイクリン化合物、例えば、オマダサイクリンは、様々な無機及び有機酸と様々な塩を形成することができる。本発明の化合物の製薬上許容し得る酸付加塩を調製するために用いることができる酸は、非毒性酸付加塩、すなわち、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、過リン酸塩、イソニコチン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、クエン酸塩、酸クエン酸塩、酒石酸塩、パントテン酸塩、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカロン酸塩、サッカレート、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンシルホン酸塩、エタンシルホン酸塩、ベンゼンシルホン酸塩、p-トルエンシルホン酸塩及びパルモエート[すなわち、1,1'-メチレン-ビス-(2-ヒドロキシ-3-ナフトエート)]などの、製薬上許容し得る陰イオンを含有する塩を形成するものである。そのような塩は、被験体、例えば、ヒトなどの哺乳動物への投与にとって製薬上許容し得るものでなければならないが、実際には、製薬上許容されない塩として反応混合物から本発明の化合物を最初に単離した後、アルカリ試薬を用いる処理によって単純に後者を遊離塩基化合物に変換し、次いで、後者の遊離塩基を、製薬上許容し得る酸付加塩に変換することが望ましいことが多い。本発明の塩基化合物の酸付加塩は、水性溶媒媒体又は好適な有機溶媒、例えば、メタノール若しくはエタノール中で、塩基化合物を、実質的に等価量の選択された鉱酸又は有機酸で処理することによって容易に調製される。溶媒の慎重な蒸発時に、所望の固形塩が容易に得られる。好ましくは、本発明の化合物は、トシル酸(例えば、p-トルエンシルホン酸)塩として、又は遊離塩基として、経口的に、又は塩酸塩として静脈内的に投与される。

【0067】

本発明の化合物、例えば、オマダサイクリンの塩は、例えば、米国特許第8,383,610号及び第9,227,921号に記載されており、その全内容は参照により本明細書に組み込まれるものとする。

【0068】

さらに別の実施形態においては、本発明の化合物を、約110～約490mg、約120～約480mg、約130～約470mg、約140～約460mg、約150～約450mg、約160～約440mg、約170mg～約430mg、約180mg～約420mg、約190mg～約410mg、約200mg～約400mg、約210mg～約390mg、約220mg～約380mg、約230mg～約370mg、約240mg～約360mg、約250mg～約350mg、約260mg～約340mg、約270mg～約330mg、約280mg～約320mg、約290mg～約310mg、又は約300mgの用量の本発明の化

10

20

30

40

50

合物、例えば、オマダサイクリンで投与することができる。

【0069】

いくつかの実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aを、約10～約1000mg、約20～約750mg、約50～約500mg、約75～約400mg、約100～約300mg、約110～約290mg、約120～約280mg、約130～約270mg、約140～約260mg、約150～約250mg、約160～約240mg、約170mg～約230mg、約180mg～約220mg、約190mg～約210mg、又は約200mgの用量で投与することができる。別の実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aを、約5～約500mg、約10～約400mg、約25～約300mg、約50～約200mg、約50～約150mg、約60～約140mg、約70mg～約130mg、約80mg～約120mg、約90mg～約110mg、又は約100mgの用量で静脈内投与することができる。一実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aを、約5～約800mg、約10～約700mg、約25～約600mg、約50～約500mg、約100～約400mg、約150～約350mg、約200mg～約340mg、約250mg～約330mg、約270mg～約320mg、約280～約310mg、又は約300mgの用量で経口投与することができる。

10

【0070】

いくつかの実施形態においては、本発明の化合物は、約1 mg、約5 mg、約10 mg、約15 mg、約20 mg、約25 mg、約30 mg、約35 mg、約40 mg、約45 mg、約50 mg、約55 mg、約60 mg、約65 mg、約70 mg、約75 mg、約80 mg、約85 mg、約90 mg、約95 mg、約100 mg、約105 mg、約110 mg、約115 mg、約120 mg、約125 mg、約130 mg、約135 mg、約140 mg、約145 mg、約150 mg、約155 mg、約160 mg、約165 mg、約170 mg、約175 mg、約180 mg、約185 mg、約190 mg、約195 mg、約200 mg、約205 mg、約210 mg、約215 mg、約220 mg、約225 mg、約230 mg、約235 mg、約240 mg、約245 mg、約250 mg、約255 mg、約260 mg、約265 mg、約270 mg、約275 mg、約280 mg、約285 mg、約290 mg、約295 mg、約300 mg、約305 mg、約310 mg、約315 mg、約320 mg、約325 mg、約330 mg、約335 mg、約340 mg、約345 mg、約350 mg、約355 mg、約360 mg、約365 mg、約370 mg、約375 mg、約380 mg、約385 mg、約390 mg、約395 mg、約400 mg、約405 mg、約410 mg、約415 mg、約420 mg、約425 mg、約430 mg、約435 mg、約440 mg、約445 mg、約450 mg、約455 mg、約460 mg、約465 mg、約470 mg、約475 mg、約480 mg、約485 mg、約490 mg、約495 mg、約500 mg、約505 mg、約510 mg、約515 mg、約520 mg、約525 mg、約530 mg、約535 mg、約540 mg、約545 mg、約550 mg、約555 mg、約560 mg、約565 mg、約570 mg、約575 mg、約580 mg、約585 mg、約590 mg、約595 mg又は約600 mgの用量で投与される。さらなる実施形態においては、用量は、静脈内用量である。別のさらなる実施形態においては、用量は、経口用量である。

20

30

【0071】

上に列挙された用量を含む用量範囲もまた本発明に含まれることが理解されるべきである。例えば、上記用量はいずれも、本発明に含まれる用量範囲の下側部分又は上側部分であってもよい。さらに、本出願を通して用いられる数値の全一覧又は集合も、列挙された数値のいずれかが範囲の下側部分又は上側部分であってもよい数値の範囲を含むことが意図されることが理解されるべきである。これらの範囲は、本発明に含まれることが意図される。

40

【0072】

実施形態において、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aを、約100mg、約200mg、又は約300mgの用量で静脈内投与することができる。別の実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aを、約300mg、約600mg、又は約900mgの用量で経口投与することができる。

【0073】

一実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aの経口用量は

50

、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aの静脈内用量より3倍大きい。

【0074】

全ての列挙された実施形態について、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aの用量は、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aの有効量でもあることが理解されるであろう。

【0075】

一実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aの有効量は、経口投与される場合、約10～約1000mg、約20～約750mg、約50～約500mg、約75～約400mg、約100～約300mg、約110～約290mg、約120～約280mg、約130～約270mg、約140～約260mg、約150～約250mg、約160～約240mg、約170～約230mg、約180mg～約220mg、約190mg～約210mg、又は約200mgである。別の実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A'又は化合物Aの有効量は、静脈内投与される場合、約5～約500mg、約10～約400mg、約25～約300mg、約50～約200mg、約50～約150mg、約60～約140mg、約70mg～約130mg、約80mg～約120mg、約90mg～約110mg、又は約100mgである。

10

【0076】

本発明の化合物、例えば、オマダサイクリン、及びその製薬上許容し得る塩を、経口、非経口又は局所経路により投与することができる。一般に、本発明の化合物は、最も望ましくは、処置される被験体の体重及び状態並びに選択される特定の投与経路に応じて、有効用量で投与される。処置される被験体の種及び前記薬剤に対するその個々の応答、並びに選択される医薬剤の型及びそのような投与が実行される期間及び間隔に応じて、変更を行ってもよい。

20

【0077】

本発明の医薬組成物を、単独で、又は被験体、例えば、哺乳動物における細菌感染を処置するための他の公知の組成物と組み合わせて投与することができる。哺乳動物としては、ペット(例えば、ネコ、イヌ、フェレットなど)、家畜(ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、ヤギなど)、実験動物(ラット、マウス、サルなど)、及び霊長類(チンパンジー、ヒト、ゴリラ)が挙げられる。公知の組成物「と組み合わせて」という用語は、本発明の化合物と、公知の組成物との同時的投与、最初に本発明の化合物の投与、次いで、公知の組成物の投与、及び最初に公知の組成物の投与、次いで、本発明の化合物の投与を含むことが意図される。細菌感染、例えば、クロストリジウム・ディフィシル感染を処置するための当業界で公知の任意の治療用組成物を、本発明の方法において用いることができる。

30

【0078】

本発明の化合物を、以前に記載された経路のいずれかにより、単独で、又は製薬上許容し得る担体若しくは希釈剤と組み合わせて投与することができる。その投与を、単回又は複数回用量で実行することができる。例えば、本発明の化合物を、様々な異なる剤形で有利に投与することができる、すなわち、それを、錠剤、カプセル剤、ロゼンジ剤、トローチ剤、ハードキャンディ、粉末、スプレー、クリーム、軟膏、坐剤、ゼリー剤、ゲル、ペースト、ローション、軟膏剤、水性懸濁液、注射溶液、エリキシル剤、シロップなどの形態で様々な製薬上許容し得る不活性担体と組み合わせることができる。そのような担体としては、固体希釈剤又は充填剤、滅菌水性媒体及び様々な非毒性有機溶媒などが挙げられる。さらに、経口医薬組成物を、好適に甘味及び/又は香味付けることができる。一般に、本発明の化合物は、そのような剤形中に、約5.0重量%～約70重量%の濃度レベルで存在する。

40

【0079】

経口投与のために、微結晶性セルロース、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウム、リン酸ジカルシウム及びグリシンなどの様々な賦形剤を含有する錠剤を、スターチ(好ましくは、コーン、ジャガイモ又はタピオカスターチ)、アルギン酸及びある特定のケイ酸複合体などの様々な崩壊剤と共に、ポリビニルピロリドン、スクロース、ゼラチン及びアカシアのような顆粒結合剤と一緒に用いることができる。さらに、ステアリン酸マグネシウム、ラ

50

ウリル硫酸ナトリウム及びタルクなどの潤滑剤が、打錠目的で非常に有用であることが多い。同様の型の固体組成物を、ゼラチンカプセル中の充填剤として用いることもできる;これに関連して好ましい材料として、ラクトース又は乳糖並びに高分子量ポリエチレングリコールも挙げられる。

【0080】

経口投与のために水性懸濁液及び/又はエリキシル剤が望ましい場合、活性成分、すなわち、オマダサイクリンを、水、エタノール、プロピレングリコール、グリセリン及び様々な同様の組合せなどの希釈剤と一緒に、様々な甘味料又は香料、着色材料又は染料、及び必要に応じて、乳化剤及び/又は懸濁剤と組み合わせることができる。

【0081】

非経口投与(腹腔内、皮下、静脈内、皮内又は筋肉内注射を含む)のために、ゴマ油若しくはピーナツ油又は水性プロピレングリコール中の、本発明の化合物、例えば、オマダサイクリンの溶液を用いることができる。必要に応じて、水性溶液を好適に緩衝化し(例えば、8より高いpHを有する)、最初に液体希釈剤を等張性にするべきである。

【0082】

これらの水性溶液は、静脈内注射にとって好適である。油性溶液は、関節内、筋肉内及び皮下注射にとって好適である。滅菌条件下でのこれら全ての溶液の調製は、当業者には周知の標準的な製薬技術によって容易に達成される。非経口適用にとって、好適な調製物の例としては、溶液、好ましくは、油性又は水性溶液並びに懸濁剤、エマルジョン、又は坐剤を含む埋込み体が挙げられる。注射剤と共に一般的に用いられる滅菌生理食塩水又は5%塩水デキストロス溶液などの液体担体中に分散されるものなどの複数回又は単回用量形式の滅菌形態でオマダサイクリンを製剤化することができる。

【0083】

経腸適用にとって、特に好適なものは、タルク及び/又は炭水化物担体結合剤などを有する、錠剤、糖衣錠又はカプセルであり、担体は、好ましくは、ラクトース及び/又はコーンスターチ及び/又はジャガイモスターチである。甘味付けられたビヒクルが用いられるシロップ、エリキシル剤などを用いることができる。活性化合物が例えば、マイクロカプセル化、複数のコーティングなどによって、示差的に分解されるコーティングで保護されるものなどの持続放出組成物を製剤化することができる。

【0084】

ヒト被験者の処置に加えて、本発明の治療方法はまた、例えば、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ブタなどの家畜;ニワトリ、アヒル、ガチョウ、シチメンチョウなどの家禽;ウマ;並びにイヌ及びネコなどのペットの処置のための、有意な獣医学的適用も有する。

【0085】

いくつかの実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A又は化合物A'を、少なくとも3日、少なくとも7日、少なくとも14日、少なくとも21日、少なくとも30日、又は少なくとも60日にわたって投与することができる。例えば、本発明の化合物の投与は、3日~7日、3日~14日、3日~21日、3日~30日、3日~60日、7日~14日、7日~21日、7日~30日、7日~60日、14日~21日、14日~30日、14日~60日、21日~30日、21日~60日、又は30日~60日にわたって続いてよい。

【0086】

例えば、本発明の化合物、例えば、化合物A又は化合物A'を、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日、10日、11日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日、22日、23日、24日、25日、26日、27日、28日、29日、30日、31日、32日、33日、34日、35日、36日、37日、38日、39日、40日、41日、42日、43日、44日、45日、46日、47日、48日、49日、50日、51日、52日、53日、54日、55日、56日、57日、58日、59日又は60日にわたって投与することができる。

【0087】

いくつかの実施形態においては、前記方法は、被験体に、前記化合物の1つ以上の負荷用量、次いで、前記化合物の1つ以上の維持用量を投与することを含む。一実施形態にお

10

20

30

40

50

いては、1つ以上の負荷用量は、1つ以上の維持用量より大きくてもよい。

【0088】

いくつかの実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A又は化合物A'の被験体への投与は、前記化合物の1つ以上の負荷用量、次いで、前記化合物の1つ以上の維持用量を投与することを含んでもよい。いくつかの実施形態においては、前記化合物の1つ以上の負荷用量は、前記化合物の1つ以上の維持用量よりも大きくてもよい。例えば、負荷用量は約200mgであってよいが、維持用量は約150mg、100mg若しくは50mgであってよい;又は、負荷用量は約400mgであってよいが、維持用量は約300mg、250mg、200mg、150mg、100mg若しくは50mgであってよい;又は負荷用量は約100mgであってよいが、維持用量は約75mg、約50mg若しくは約25mgであってよい。

10

【0089】

本発明の化合物の負荷用量及び本発明の化合物の維持用量を、同じ経路又は異なる経路によって投与することができる。例えば、負荷用量を静脈内投与し、維持用量を経口投与してもよい。他の実施形態においては、負荷用量と維持用量の両方を経口投与するか、又は負荷用量と維持用量の両方を静脈内投与することができる。

【0090】

いくつかの実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A又は化合物A'の負荷用量は、1日2回投与される経口用量又は静脈内用量であってもよく、維持用量は1日1回投与される経口用量又は静脈内用量であってもよい。例えば、本発明の化合物、例えば、化合物A又は化合物A'を、1日2回、100mgの静脈内負荷用量として、次いで、1日1回、100mgの静脈内維持用量として投与してもよい。別の例においては、本発明の化合物、例えば、化合物A又は化合物A'を、1日2回、100mgの静脈内負荷用量として、次いで、1日1回、300mgの経口維持用量として投与してもよい。さらに別の例においては、本発明の化合物、例えば、化合物A又は化合物A'を、1日2回、300mgの経口負荷用量として、次いで、1日1回、300mgの経口維持用量として投与してもよい。

20

【0091】

別の実施形態においては、本発明の化合物、例えば、化合物A又は化合物A'を、静脈内又は経口的に、1日1回又は1日2回投与することができる。

【0092】

用語「処置(治療)すること」又は「処置(治療)」とは、処置される障害、例えば、細菌感染の1つ以上の症状の改善又は減少を指す。

30

【0093】

用語「予防」、「防止する」又は「防止」は、細菌感染のリスクを防止する、又は軽減することを意味する。

【0094】

用語「耐性」又は「耐性である」とは、Clinical and Laboratories Standards Institute(CLSI)及び/又はFood and Drug Administration(FDA)によって定義された抗生物質/生物標準を指す。

【0095】

用語「被験体」は、細菌感染を受ける動物を含む。被験体の例としては、家畜(例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ヤギ、ウサギ、ヒツジ、ニワトリなど)、実験動物(マウス、ラット、サル、チンパンジーなど)、ペット(例えば、イヌ、ネコ、フェレット、ハムスターなど)、鳥類(例えば、ニワトリ、シチメンチョウ、アヒル、ガチョウ、カラス、ワタリガラス、スズメなど)、霊長類(例えば、サル、ゴリラ、チンパンジー、ボノボ、及びヒト)、並びに他の動物(例えば、リス、アライグマ、マウス、ラットなど)などの動物が挙げられる。一実施形態においては、被験体は、マウス又はラットである。一実施形態においては、被験体は、ウシ、ブタ、又はニワトリである。一実施形態においては、被験体はヒトである。

40

【0096】

用語「有効量」は、細菌感染を処置又は予防するのに必要とされる本発明の化合物の量を含む。例えば、有効量は、細菌の殺傷及び/又は細菌増殖の阻害によって所望の治療効果

50

を達成するのに十分な有効レベルを記載する。一実施形態においては、有効量は、感染を引き起こす細菌又は複数の細菌を根絶するのに十分なものである。

【0097】

用語「約」とは、特定の値より15%、10%、8%、5%、3%、2%、1%、又は0.5%多いか、又は少ないものであってよい値の範囲を指す。例えば、「約10%」は、8.5%~11.5%であってもよい。一実施形態においては、用語「約」は、特定の値よりも5%多い、又は少ない値の範囲を指す。別の実施形態においては、用語「約」とは、特定の値よりも2%多い、又は少ない値の範囲を指す。別の実施形態においては、用語「約」とは、特定の値よりも1%多い、又は少ない値の範囲を指す。

【0098】

本発明の化合物の構造は、二重結合又は非対称炭素原子を含む。そのような化合物は、ラセミ体、ラセミ混合物、単一のエナンチオマー、個々のジアステレオマー、ジアステレオマー混合物、及びcis-若しくはtrans-又はE-若しくはZ-二重結合異性形態として存在してもよい。そのような異性体を、古典的な分離技術によって、及び立体化学的に制御された合成によって、実質的に純粋な形態で取得することができる。さらに、本発明で考察される構造及び他の化合物及び部分はまた、その全ての互変異性体を含む。

【0099】

例えば、被験体集団の年齢、用量、及び時間などにおいて、値及び範囲が本明細書に提供される場合はいつでも、これらの値及び範囲によって包含される全ての値及び範囲が、本発明の範囲内に包含されることを意味することが理解されるべきである。さらに、これらの値及び範囲の中の全ての値はまた、範囲の上限又は下限であってもよい。

【0100】

本発明の化合物を、以下に示され、US2008/0287401(その全内容は参照により本明細書に組み込まれるものとする)に記載された合成スキームに従って合成及び精製することができる。

【0101】

細菌感染の処置又は予防における本発明の化合物の効能を、当業界で公知の一般的な方法を用いることによって評価することができる。一実施形態においては、効能を、最小阻害濃度(MIC)アッセイによって決定することができる。例えば、本発明の化合物を連続希釈した後、細菌培養の増殖培地、例えば、陽イオン調整Mueller Hintonブロス(CAMHB)に添加することができる。細菌増殖を50%又は90%阻害する本発明の化合物の最低濃度(すなわち、MIC₅₀又はMIC₉₀)を決定し、必要に応じて、他の抗生物質のMIC₅₀又はMIC₉₀と比較する。別の実施形態においては、効能を、当業界で公知のin vivoアッセイ(例えば、動物実験)によって決定することができる。例えば、本発明の化合物を、減少する量で実験動物(例えば、マウス及びラット)に投与する。実験動物を処置する(例えば、細菌感染の症状を改善する、動物の生存時間を延長する、及び動物に細菌感染を生き延びさせる)、又は実験動物が細菌により感染しないようにする、若しくは感染の任意の症状を生じないようにする本発明の化合物の最低量を決定し、必要に応じて、同じ結果を達成する他の抗生物質の最低量と比較する。

(実施例)

【0102】

実施例1. クロストリジウム・ディフィシル株に対するオマダサイクリン(化合物A)のin vitroでの活性

材料及び方法

オマダサイクリンの活性を、クロストリジウム・ディフィシルの27の臨床単離物に対してin vitroで試験した。この活性を、セフォタキシム、ドキシサイクリン、アモキシシリンクラブラネート、メトロニダゾール、イミペネム及びクリンダマイシンを含む他の比較用抗生物質のクロストリジウム・ディフィシルに対する活性と比較した。Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)指針に記載のブロス及び寒天マイクロ希釈法を用いて、実験を行った。0.016mg/mL~16mg/mLの最終濃度の各試験抗生物質を含有す

10

20

30

40

50

るWilins-Chalgrenプロスを96ウェルプレートに添加し、嫌氣的条件下で48時間インキュベートした。各試験を2回行った。

【0103】

結果

オマダサイクリン及び他の抗生物質の最小阻害濃度(MIC₅₀及びMIC₉₀)を、表1に示す。具体的には、クロストリジウム・ディフィシルに対するオマダサイクリンのMIC₉₀は、プロス希釈によって0.06mg/L及び寒天希釈により0.12mg/Lであった。オマダサイクリンは、ドキシサイクリンよりも活性が高かった(プロスによる0.5mg/L及び寒天希釈による1mg/LのMIC₉₀)。

【0104】

【表1】

表1:プロスおよび寒天希釈法による C.difficile 株(N=27)に対するオマダサイクリンおよび比較用抗生物質に関する最小阻害濃度

薬物	最小阻害濃度 (mg/L)					
	プロス微小希釈			寒天微小希釈		
	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀
オマダサイクリン	0.06-0.12	0.06	0.06	0.06-0.12	0.12	0.12
セフトキシム	4->128	64	128	4->128	>64	>128
ドキシサイクリン	0.015-0.5	0.03	0.5	0.03-2	0.03	1
アモキシシリンクラブラネート	0.12-0.5	0.25	0.5	0.25-1	0.05	1
メロニダゾール	0.12-1	0.12	0.5	0.06-0.5	0.12	0.25
イミペネム	0.5-8	4	8	0.5-8	4	8
クリンダマイシン	0.12->16	4	>16	0.12->16	8	>16

【0105】

表1に示された結果は、オマダサイクリンがクロストリジウム・ディフィシルに対してin vitroで強力な活性を示し、比較用抗生物質の活性と類似することを示している。

【0106】

実施例2 . クロストリジウム・ディフィシル関連下痢症のハムスターモデルにおけるクロストリジウム・ディフィシルに対するオマダサイクリンのin vitro及びin vivoでの活性材料及び方法

オマダサイクリンの活性を、クロストリジウム・ディフィシル関連下痢症のハムスターモデル(ViviSource Laboratories, Inc., Waltham MA)において決定した。80 ~ 100gの体重のオスのLGV-Golden Syrianハムスター(Charles River Laboratories Inc., Wilmington, MA)を用いた。ハムスターを40% ~ 70%の湿度に設定して64 ~ 76 °F(17.8 ~ 24.4)に維持した部屋で保持し、標準的なげっ歯類用の餌及び水を自由に利用させた。ハムスターを、注射の24時間前に10mg/kgのクリンダマイシンの皮下(SC)用量で予備処置した。

【0107】

クロストリジウム・ディフィシル株ATCC43596を、American Type Culture Collection(Manassas, VA)から取得し、5%ヒツジ血液を含むBrucella寒天上、嫌氣的条件下で、凍結保存液から培養した。クリンダマイシンによる予備処置の24時間後に、経口強制摂取により投与される10mL/kgの用量を用いて、ハムスターを、クロストリジウム・ディフィシル ATCC43596の48時間培養物の懸濁液に感染させた。これにより、約1.3x10⁷CFU/ハムスターの接種材料が得られた。感染後24時間で、動物群(N=10)は、50mg/kg/日のオマダサイクリンの経口用量; 50mg/kg/日のバンコマイシン又はビヒクル(滅菌水)を5日間受けた。動物を毎日観察して、一般的な健康を評価し、少なくとも週3回、体重を記

10

20

30

40

50

録した。また、in vitroでの活性を、クリンダマイシン、チゲサイクリン、バンコマイシン、及びメトロニダゾールについて決定した。

【0108】

各群の生存率を、感染後、最大で21日間にわたって決定した。カプラン - マイヤー (Kaplan-Meier) 生存分析を、階段プロットを用いて実施した。P値、曲線中の有意差、及び中央生存を、データのLog Rank分析を用いて決定した。

【0109】

結果

オマダサイクリンは、感染モデルクロストリジウム・ディフィシル株ATCC 43596に対してチゲサイクリン、メトロニダゾール、及びバンコマイシン(全ての薬物についてMIC₉₀=0.06mg/L)と同程度にin vitroで活性であったが、クリンダマイシンは活性を示さなかった。感染モデル株ATCC 43596に対するin vitro試験の結果を、表2に提示する。

【0110】

【表2】

表2: C.difficile 株 ATCC 43596 に対するオマダサイクリンおよび比較用抗生物質に関する最小阻害濃度(MIC₉₀)。プレートAとプレートBは複製物である。

化合物	MIC ₉₀ (mg/L)	
	プレートA	プレートB
オマダサイクリン	0.06	0.06
チゲサイクリン	0.06	0.06
メトロニダゾール	0.06	0.06
クリンダマイシン	>32	>32
バンコマイシン	0.06	0.06

【0111】

図1に示されるのは、オマダサイクリン及び比較用抗生物質を用いる処置後のクロストリジウム・ディフィシル感染ハムスターの生存率のカプラン - マイヤー分析である。具体的には、感染後2日目で、バンコマイシンを受けた動物の40%及びビヒクル対照を受けた動物の0%と比較して、オマダサイクリンで処置された動物の100%が生存していた。クリンダマイシンのみの予備処置を受けたハムスターは、感染後2日目で10%の生存率を示した。オマダサイクリンで処置された動物について、生存率は3日目までに60%に低下し、13日目の40%に減少するまで60%のままであり、16日目には0%になった。感染後最初の2日間を生存した、バンコマイシンで処置された動物は、11日目までに30%の生存率を示し、全ての動物が14日目までに感染に屈した。全体として、オマダサイクリンで処置された動物の中央生存は、以下の表3に示されるように、バンコマイシン予備処置の2日及びクリンダマイシン予備処置の4日と比較して、12日であった。

【0112】

【表3】

表3: オマダサイクリンおよび比較用抗生物質による処置後のハムスターに関する中央生存

試験化合物	中央生存(日数)	p値*
オマダサイクリン	12	0.0004
バンコマイシン	2	0.0293
クリンダマイシン	4	<0.0001

*ログランク検定を用いるカプラン - マイヤー分析

10

20

30

40

50

【0113】

図1並びに表2及び表3に提示されたデータは、オマダサイクリンがクロストリジウム・ディフィシル関連下痢症のハムスターモデルにおいてクロストリジウム・ディフィシルに対する強力な*in vitro*及び*in vivo*活性を示すことを証明する。*in vivo*では、この活性は、バンコマイシンの活性よりも優れている。

【0114】

実施例3 . ヒト腸の*in vitro*モデルにおける腸内微生物叢並びにクロストリジウム・ディフィシルの発芽、増殖及び毒素産生に対するオマダサイクリンの効果

目的

クロストリジウム・ディフィシル感染(CDI)の*in vitro*モデルを用いて、正常な腸内微生物叢に対するオマダサイクリン点滴の効果を決し、クロストリジウム・ディフィシルの発芽、増殖及び毒素産生を誘導するオマダサイクリンの傾向を調査すること。

【0115】

はじめに

*in vitro*腸モデルを用いて、正常微生物叢集団とクロストリジウム・ディフィシルとの両方に対するオマダサイクリン点滴の効果を試験した。この腸モデルは、突然死の犠牲者に由来する腸内容物に対して検証されたものであり、後腸の異なる領域における細菌活性及び組成物の非常に密接なシミュレーションを提供する(Macfarlaneら、*Microb. Ecol.* 35, 180-7, 1998)。このモデルは、複合増殖培地を供給された、直列に整列された3個の容器と、フタとからなる。3個の容器全てを連続的に攪拌し、37℃で嫌氣的に維持し、近位から遠位結腸まで、pHを含む*in vivo*での差異を反映するように調節する。3個の嫌氣的発酵容器を、アルカリ性を増大させて維持する(容器1についてはpH5.5 ± 0.2; 容器2についてはpH6.2 ± 0.2; 及び容器3についてはpH6.8 ± 0.2)。栄養制限条件と組み合わせたアルカリ性の増大を設計して、近位から遠位結腸までヒト腸をシミュレートする。プールされたヒト糞便(健康な高齢ボランティアに由来する)の接種を行った後、平衡期間の間に、細菌集団はその環境条件にตอบสนองし、安定状態に達する。この段階で、食事成分、プレバイオティック、病原体及び/又は抗生物質を添加し、細菌集団をモニタリングすることができる。腸内生物叢(gut flora)の特定成分及び関連する病原体を密接にモニタリングし、その挙動を分析することができる。

【0116】

腸モデルは、エピデミックビルレント株を用いてCDIをシミュレートするために以前に用いられていた(Freemanら、*J. Antimicrob. Chemother.* 52, 96-102, 2003)。被験体をCDIに罹りやすくするその能力について周知の抗生物質であるセフォタキシムは、腸モデルにおいてクロストリジウム・ディフィシルの発芽及び毒素産生を促進する。逆に、CDIを誘導する傾向が低いと考えられる抗生物質であるピペラシリン-タゾバクタム及びチゲサイクリンは、クロストリジウム・ディフィシルの発芽及び毒素産生を促進しない(Bainesら、*J. Antimicrob. Chemother.* 55, 974-82, 2005; Bainesら、*J. Antimicrob. Chemother.*, 58, 1062-5, 2006)。クリンダマイシンも、腸モデルにおいて顕著な毒素産生を引き起こすが、これは、モデルに、治療剤を投薬することによって逆転させることができる(Freemanら、*J. Antimicrob. Chemother.*, 56, 717-25, 2005)。

【0117】

腸モデルは、糞便標本に由来するデータの変動性、及び動物試験と関連する倫理的問題などの*in vivo*試験の間に遭遇する多くの問題を回避することができると考えられる。さらに、より多い実験コントロールは、実質的な数の被験体/動物なしには*in vivo*で達成することが難しい、再現性のレベルを調査者に提供する。まとめると、腸モデルはCDI誘導を予測的に反映すると考えられる。CDIを誘導する新規抗微生物剤の傾向の理解は、処方実務を情報提供するための重要性の鍵を握る。

【0118】

方法

ケモスタット腸モデルを、図2に示されるように設定した。腸モデルに、プールされた

糞便スラリー(以前の3ヶ月に抗生物質療法の履歴がない60歳以上の年齢の5人のボランティア)を接種し、2週間放置して、細菌集団に安定状態を達成させた。クロストリジウム・ディフィシル孢子(PCRリボタイプ027株210)の単一接種物(約 10^7 cfu/mL)を、14日目に腸モデルの容器1に添加した。1週間後、21日目に、第2のアリコートのクロストリジウム・ディフィシル孢子を添加し、抗生物質点滴を開始した。オマダサイクリン点滴(430mg/L、1日1回、7日間)は21日目に開始した。

【0119】

腸内細菌叢(gut microbiota)の細菌集団及びクロストリジウム・ディフィシル全生菌数及び孢子数を、選択的及び非選択的寒天上での培養によって毎日計数した。クロストリジウム・ディフィシル集団を、3個全ての容器中でモニタリングし、他の全ての細菌群(全偏性嫌気性菌、全通性嫌気性菌、ラクトース発酵腸内細菌、腸球菌、全クロストリジウム、乳酸菌、ピフィズ菌、B.fragilis群)を、容器2及び容器3中でのみモニタリングした。容器3は、CDIを誘導する傾向に関して最も生理学的に関連する。クロストリジウム・ディフィシル全生菌数及び孢子数を、選択寒天上での生菌計数及び示差的アルコールショック生菌計数を用いてモニタリングした。

10

【0120】

14日目から、クロストリジウム・ディフィシル細胞毒素を、定量的VERO細胞細胞傷害性アッセイを用いて測定した。1mLの試料を $16,000\times g$ で15分間遠心分離し、上清を除去した。腸モデルからの培養上清を、滅菌PBS中で 10^{-6} に1:10希釈した。20 μ lの適切な希釈液をペロ細胞単層に添加し、さらに20 μ Lアリコートのクロストリジウム・ソルデリ(C.sordellii)抗毒素(滅菌蒸留水中で1:10に希釈)を対応する抗毒素行に入れた。単層を、5%CO₂中で24及び48時間インキュベートした後に検査し、C.sordellii抗毒素による効果が同時に中和された細胞円形化の存在によって陽性の結果が示された。細胞毒素力価(相対単位、RU)は、任意のlog₁₀スケールであり、細胞毒素力価を、70%を超える細胞円形化を示す最も高い希釈率で報告した、すなわち、 $10^0=1$ RU、 $10^{-1}=2$ RU、 $10^{-2}=3$ RU。試料を、21日目から毎日採取して、バイオアッセイによって腸モデル容器中の抗微生物剤濃度を決定した。オマダサイクリンの濃度を、指標生物としてKocuria rhizophilaを用いるWilkins Chalgren寒天を使用して、ラージプレートバイオアッセイによって測定した。

20

【0121】

結果

30

オマダサイクリン曝露モデル

生物活性オマダサイクリン濃度は、それぞれ、オマダサイクリン曝露モデルの容器1、2及び3中、約370mg/L、約150mg/L及び約150mg/Lでピークになった(図5、6及び7)。

【0122】

腸内微生物叢集団の変化は、容器2及び3中で類似していた(図3及び4)。オマダサイクリン点滴は、クロストリジウム(約 $6\log_{10}$ cfu/mL)及びピフィドバクテリウム(約 $6\log_{10}$ cfu/mL)集団の顕著な減少を引き起こし、検出限界以下に低下した。B.fragilis群(約 $3\log_{10}$ cfu/mL)、ラクトバチルス種(約 $2\log_{10}$ cfu/mL)及びエンテロコッカス種(約 $4\log_{10}$ cfu/mL)の減少も観察された。全体として、腸内細菌集団は平静なままであった。全集団は、オマダサイクリン投薬が終わった後に回復し、抗微生物剤曝露の約1週間後に安定状態に戻った。

40

【0123】

腸内微生物叢集団の広範囲の破壊にも拘わらず、オマダサイクリン曝露は、シミュレートされたクロストリジウム・ディフィシル感染のいかなる兆候ももたらさなかった。クロストリジウム・ディフィシル全生菌数(TVC)は、3個全部の容器中で実験を通して孢子数とほぼ等しいままであったが、これは、全てのクロストリジウム・ディフィシルが孢子として残存することを示している。栄養細胞増殖は観察されなかった。任意の容器中で実験を通して毒素は検出されなかった(図5、6及び7)。

【0124】

考察

50

腸内微生物叢に対して広範囲の破壊を引き起こすにも拘わらず、オマダサイクリン曝露はin vitroでのヒト腸モデル内でシミュレートされたCDIのいかなる兆候も誘導しなかった。このモデルは臨床的に反映することが示された。CDIを臨床的に誘導する高い傾向を有することが知られる抗生物質、例えば、クリンダマイシン、セファロスポリン及びコアマキシクラブは、このモデルにおいてCDIを誘導したが、CDIについて「低リスク」と記載された抗生物質、例えば、チゲサイクリン、及びピペラシリン-タゾバクタムは、腸モデルにおいてシミュレートされたCDIを臨床的に誘導しなかった。Saxtonら、Antimicrob. Agents and Chemother., 53, 412-420, 2009; Freemanら、J. Antimicrob. Chemother. 52, 96-102, 2003; Chiltonら、J. Antimicrob. Chemother., 67(4), 951-4, 2012; Bainesら、J. Antimicrob. Chemother., 58, 1062-5, 2006; Bainesら、J. Antimicrob. Chemother., 55, 974-82, 2005を参照されたい。現在のデータは、オマダサイクリンが、腸内微生物叢に対する破壊的效果にも拘わらず、CDI誘導の低リスクと関連することを示している。

10

【0125】

実施例4 . ヒト腸のin vitroモデルにおける腸内微生物叢に対する並びにクロストリジウム・ディフィシルの発芽、増殖及び毒素産生に対するオマダサイクリンの効果

目的

クロストリジウム・ディフィシル感染(CDI)のin vitroモデルを用いて、正常な腸内微生物叢集団に対するオマダサイクリン点滴の効果を決し、クロストリジウム・ディフィシルの発芽、増殖及び毒素産生を誘導するオマダサイクリンの傾向を調査すること。

20

【0126】

方法

ケモスタット腸モデルを、図2に示されるように設定した。腸モデルに、プールされた糞便スラリー(以前の3ヶ月に抗生物質療法の履歴がない60歳以上の年齢の5人のボランティア)を接種し、2週間放置して、細菌集団に安定状態を達成させた。クロストリジウム・ディフィシル孢子(PCRリボタイプ027株210)の単一接種物(約 10^7 cfu/mL)を、14日目に腸モデルの容器1に添加した。1週間後、21日目に、第2のアリコート(クロストリジウム・ディフィシル孢子を添加し、抗生物質点滴を開始した。モデルA(LHS)をモキシフロキサシン(43mg/L、1日1回、7日間)に曝露し、モデルB(RHS)を、21日目に開始してオマダサイクリン(430mg/L、1日1回、7日間)に曝露した。

30

【0127】

腸モデルにおける細菌集団を、選択寒天を用いてモニタリングして、生菌コロニーを計測した。安定状態に達するまで、最初の2週間については1日おきに、その後は毎日、集団をモニタリングした。クロストリジウム・ディフィシル集団を、3個全ての容器中でモニタリングし、他の全ての細菌群(全偏性嫌気性菌、全通性嫌気性菌、ラクトース発酵腸内細菌、腸球菌、全クロストリジウム、乳酸菌、ピフィズ菌、B.fragilis群)を、容器2及び容器3中でのみモニタリングした。容器3は、遠位結腸を代表するものであり、CDIを誘導する傾向に関して最も生理学的に関連する。クロストリジウム・ディフィシル全生菌数及び孢子数を、選択寒天上での生菌計数及び示差的アルコールショック生菌計数を用いてモニタリングした。14日目から、クロストリジウム・ディフィシル細胞毒素を、定量的VERO細胞細胞傷害性アッセイを用いて測定した。1mLの試料を16,000xgで15分間遠心分離し、上清を除去した。腸モデルからの培養上清の6つの1:10連続希釈液(10^{-6})を調製した。20 μ lの適切な希釈液をVERO細胞単層に添加し、さらに20 μ lのC.sordellii抗毒素(滅菌蒸留水中で1:10に希釈)を対応する抗毒素行に入れた。単層を、5%CO₂中で24及び48時間インキュベートした後に検査し、C.sordellii抗毒素による効果が同時に中和された細胞円形化の存在によって陽性の結果が示された。細胞毒素力価(相対単位、RU)は、任意のlog₁₀スケールであり、細胞毒素力価を、70%を超える細胞円形化を示す最も高い希釈率で報告した、すなわち、 $10^0=1RU$ 、 $10^{-1}=2RU$ 、 $10^{-2}=3RU$ 。試料を、21日目から毎日採取して、バイオアッセイによって腸モデル容器中の抗微生物剤濃度を決定した。モキシフロキサシンの濃度を、指標生物としてEscherichia coliを用いるIsosensitest寒天を

40

50

使用して決定した。オマダサイクリンの濃度を、指標生物として *Kocuria rhizophila* を用いる Wilkins Chalgren 寒天を使用して決定した。

【0128】

結果

オマダサイクリン曝露モデル

腸内細菌叢 (gut microbiota) 集団の変化は、容器2及び3中で類似していた(図8及び9)。オマダサイクリン点滴は、*Bifidobacterium* (約 $8 \log_{10} \text{cfu/mL}$)、*B. fragilis* 群 (約 $8 \log_{10} \text{cfu/mL}$)、*Lactobacillus* 種 (約 $6 \log_{10} \text{cfu/mL}$) 及び *Enterococcus* 種 (約 $6 \log_{10} \text{cfu/mL}$) 集団の顕著な減少を引き起こし、検出限界以下に低下した。クロストリジウム (約 $5 \log_{10} \text{cfu/mL}$)、及びラクトース発酵腸内細菌 (約 $5 \log_{10} \text{cfu/mL}$) の減少も観察された。腸内細菌集団は、特に、容器2中で、オマダサイクリン曝露中に増加した。これらの観察は、約 $5 \log_{10} \text{cfu/mL}$ の全嫌気性菌集団中での全体的な減少と一致していた。しかしながら、全通性嫌気性菌は、かなり安定なままであった。全集団は、オマダサイクリン投薬が終わった後に回復し、実験の終わりまでに抗生物質曝露前のレベルに戻った。

10

【0129】

腸内微生物叢集団の広範囲の破壊にも拘わらず、オマダサイクリン曝露は、シミュレートされた CDI のいかなる兆候ももたらさなかった。クロストリジウム・ディフィシル全生菌数 (TVC) は、3個全部の容器中で実験を通して孢子数とほぼ等しいままであったが、これは、全てのクロストリジウム・ディフィシルが孢子として残存することを示している。栄養細胞増殖は観察されなかった。任意の容器中でこの腸モデル実験を通して毒素は検出されなかった(図10、11及び12)。

20

【0130】

モキシフロキサシン曝露モデル

腸内微生物叢集団の変化は、容器2及び3中で類似していた(図13及び14)。モキシフロキサシン点滴は、*B. fragilis* 群 (容器2中では約 $8 \log_{10} \text{cfu/mL}$ 及び容器3中では約 $4 \log_{10} \text{cfu/mL}$)、腸球菌 (容器2と容器3の両方において約 $4 \log_{10} \text{cfu/mL}$)、及び乳酸菌 (容器2と容器3の両方において約 $3 \log_{10} \text{cfu/mL}$) の顕著な減少を引き起こした。全集団は、抗生物質曝露が終わった後、約1週間までに抗生物質前のレベルに戻った。

【0131】

3個全ての容器中で、クロストリジウム・ディフィシルは、内部対照期間(B)に孢子として残存したが、モキシフロキサシン点滴中に、孢子数と比較した全生菌数の増加が観察され、これは、孢子の発芽及び栄養細胞増殖を示している。全生菌数は、容器1中では約 $4.5 \log_{10} \text{cfu/mL}$ で、容器2及び容器3中では約 $6 \log_{10} \text{cfu/mL}$ でピークになった。全生菌数の増加は、クロストリジウム・ディフィシル細胞毒素の検出と同時的であり、容器1中では2相対単位、並びに容器2及び容器3中では3相対単位のピーク力価に達した。全生菌数と毒素力価は両方とも、実験の終わりに向かって減少し、42日目までに全ての容器中で毒素は検出不可能になった。

30

【0132】

考察

モキシフロキサシン点滴は、この試験の腸モデルにおいてシミュレートされた CDI を誘導し、毒素は3個全部の容器中で検出された。これは、モキシフロキサシン点滴が実質的な腸内微生物叢 (gut microflora) 破壊を引き起こし、クロストリジウム・ディフィシルの発芽、増殖及び毒素産生を誘導することを示す以前のデータと一致する (Saxton Kら、*Antimicrob. Agents Chemother.*; 53: 412-420, 2009)。モキシフロキサシンは、検出限界以下への *Bacteroides* 種 ($6 \log_{10} \text{cfu/mL}$ の減少)、ラクトース発酵腸内細菌 ($6 \log_{10} \text{cfu/mL}$ の減少)、及び腸球菌 ($4 \log_{10} \text{cfu/mL}$ の減少) を含む腸内細菌叢 (gut microbiota) の多くの成分に対する顕著な効果を有しており (Saxtonら、*Antimicrob. Agents Chemother.*; 53: 412-420, 2009)、ここで観察された効果と同様であった。腸内微生物叢集団のこの破壊の後、クロストリジウム・ディフィシル孢子の発芽、栄養細胞増殖及び検出可能な毒素があった。

40

50

【0133】

腸内微生物叢に対する広範囲の破壊を引き起こすにも拘わらず、オマダサイクリン曝露は、*in vitro*でのヒト腸モデル内でシミュレートされたCDIの任意の兆候を誘導しなかった。このモデルは、臨床を反映するものであることが示されている。CDIを臨床的に誘導する高い傾向を有することが知られる抗生物質は、このモデルにおいてCDIを誘導してきた(例えば、クリンダマイシン、セファロスポリン、コ-アモキシクラブ)が、CDIについて臨床的に「低リスク」と考えられる抗生物質(例えば、チゲサイクリン及びピペラシリン-タゾバクタム)は、腸モデルにおいてシミュレートされたCDIを誘導してこなかった。今回の試験は、オマダサイクリンが、「定着耐性」を破壊する腸内微生物叢効果にも拘わらず、CDI誘導について低リスクであり得ることを示すデータを提供する。注目すべきことに、顕著な腸内微生物叢破壊にも拘わらず、チゲサイクリン及びピペラシリン-タゾバクタムによる腸モデルにおけるCDIの誘導も欠如していた(Bainesら、*J. Antimicrob. Chemother.* 55, 974-982, 2005; Bainesら、*J. Antimicrob. Chemother.*, 58, 1062-1065, 2006)。クロストリジウム・ディフィシルに対するオマダサイクリン、チゲサイクリン及びピペラシリン-タゾバクタムの高い固有の活性はおそらく、抗生物質曝露によって潜在的な生態的地位(ニッチ)が作出された場合であっても、その増殖を防止する。さらに、抗生物質の停止後の腸内微生物叢集団の相対的に迅速な再構成は、CDIに対するさらなる保護を提供するであろう。

10

【0134】

臨床的に関連する濃度のモキシフロキサシンが腸モデルにおいてシミュレートされたCDIを誘導することを示す、公開された試験及び非公開の試験の結果と比較した場合、実施例4に提示されたデータは、オマダサイクリンがモキシフロキサシン及び他のフルオロキノロンよりもCDIを誘導する可能性が低いことを示している。

20

【0135】

実施例3との比較

実施例4における嫌気性腸内細菌叢(*gut microbiota*)集団に対するオマダサイクリンの効果は、実施例3で観察された効果と類似しており、全ての測定された嫌気性集団が影響を受けた。実施例3と実施例4に提示されたデータ間の主な相違は、通性嫌気性集団において観察され、オマダサイクリン曝露後のより大きい減少は、実施例3と比較して実施例4において観察された。実施例3に記載のように、クロストリジウム・ディフィシルの発芽、栄養細胞増殖又は毒素産生の兆候は観察されなかったが、これは、オマダサイクリンが他の一般的に用いられる抗生物質よりもCDIを誘導する可能性が低いことを示している。実施例4では、比較用抗生物質であるモキシフロキサシンも試験した。実施例4のデータは、オマダサイクリンがモキシフロキサシンよりもCDIを誘導する可能性が低いことを示す。

30

【0136】

等価物

当業者であれば、慣用的なものを超えない実験を用いて、本明細書に記載の特定の実施形態及び方法に対する多くの等価物を認識するか、又は確認することができるであろう。そのような等価物は、本発明の範囲によって包含されることが意図される。本明細書で引用される全ての特許、特許出願、及び参考文献は、参照により本明細書に明示的に組み込まれるものとする。

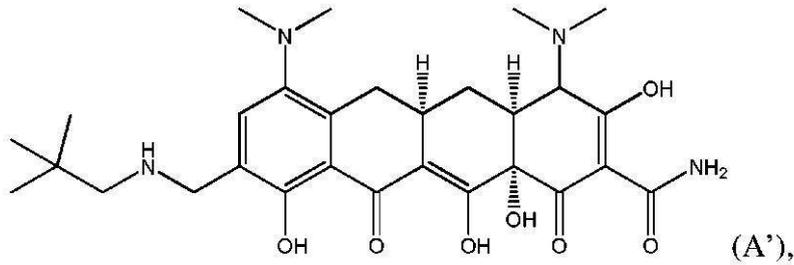
40

本開示は以下の実施形態を包含する。_____

[1] クロストリジウム・ディフィシル感染の処置を必要とする被験体におけるクロストリジウム・ディフィシル感染を処置する方法であって、前記被験体に、有効量の化合物、又はその塩を投与することを含み、該化合物が、以下の構造式：

—[化1]

50



を有する化合物A'であり、それにより前記被験体における前記クロストリジウム・ディフィシル感染が処置される、前記方法。

10

[2] 前記クロストリジウム・ディフィシル感染が、再発性クロストリジウム・ディフィシル感染である、実施形態1に記載の方法。

[3] 前記化合物が、クロストリジウム・ディフィシル感染を処置するために用いられる少なくとも1種以上のさらなる療法と組み合わせて投与される、実施形態1に記載の方法。

[4] 前記さらなる療法が、抗生物質を投与することを含む、実施形態3に記載の方法。

[5] 前記抗生物質が、メトロニダゾール又はバンコマイシンである、実施形態4に記載の方法。

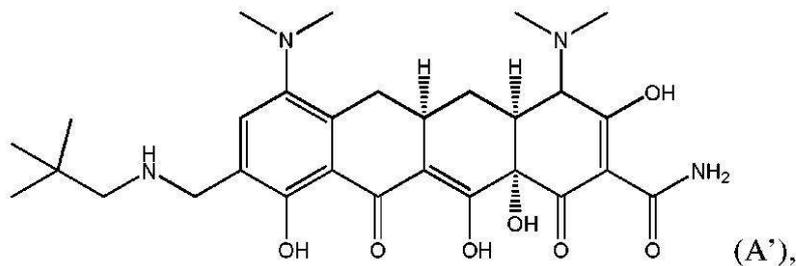
[6] 前記さらなる療法が、プロバイオティックを投与することを含む、実施形態3に記載の方法。

20

[7] 前記さらなる療法が、糞便移植を投与することを含む、実施形態3に記載の方法。

[8] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体においてクロストリジウム・ディフィシル感染を引き起こすことなく細菌感染を処置する方法であって、前記被験体に、有効量の化合物、又はその塩を投与することを含み、前記化合物が、以下の構造式：

—[化2]



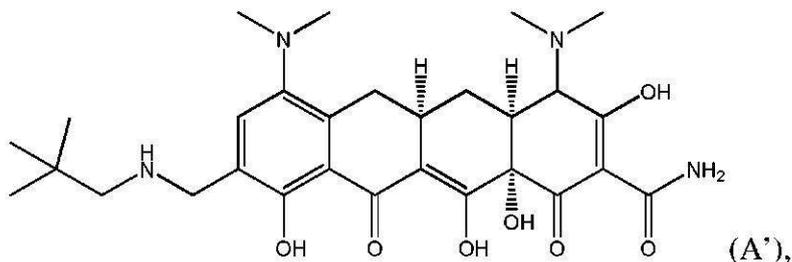
30

を有する化合物A'であり、前記被験体における前記細菌感染が、クロストリジウム・ディフィシル感染を引き起こすことなく処置される、前記方法。

[9] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体における腸内微生物叢を実質的に破壊することなく細菌感染を処置する方法であって、前記被験体に有効量の化合物、又はその塩を投与することを含み、前記化合物が、以下の構造式：

40

—[化3]



50

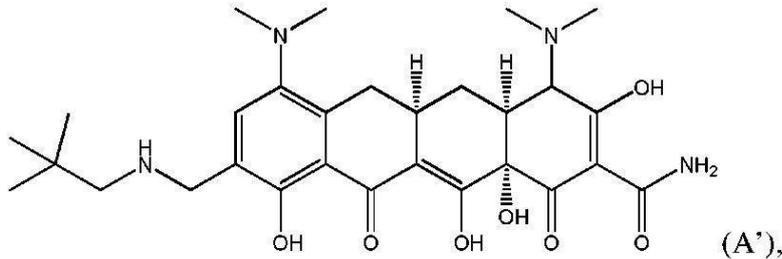
を有する化合物A'であり、それにより前記被験体における前記細菌感染が、腸内微生物叢を実質的に破壊することなく処置される、前記方法。――

[10] 腸内微生物叢を実質的に破壊することなく細菌感染を処置することが、前記被験体においてクロストリジウム・ディフィシル感染をもたらさない、実施形態9に記載の方法。――

[11] 投与前に、クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体を選択することをさらに含む、実施形態1～10のいずれかに記載の方法。――

[12] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じる素因がある被験体における細菌感染を処置する方法であって、前記被験体に、有効量の化合物、又はその塩を投与することを、前記化合物が、以下の構造式：

――[化4]



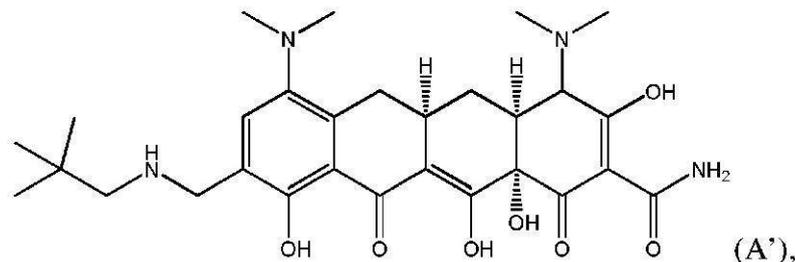
を有する化合物A'であり、それにより前記被験体における前記細菌感染が処置される、前記方法。――

[13] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体における細菌感染を処置する方法であって、――

――クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体を選択するステップと、――

――前記被験体に、有効量の化合物を投与するステップとを含み、前記化合物が、以下の構造式：

――[化5]



を有する化合物A'、又はその塩であり、それにより前記被験体における前記細菌感染が処置される、前記方法。――

[14] 前記細菌感染が、皮膚又は皮膚構造感染、市中感染型細菌性肺炎(CABP)及び尿路感染(UTI)からなる群から選択される、実施形態8～13のいずれかに記載の方法。――

[15] 前記細菌感染がグラム陽性細菌によって引き起こされる、実施形態8～13のいずれかに記載の方法。――

[16] 前記細菌感染がグラム陰性細菌によって引き起こされる、実施形態8～13のいずれかに記載の方法。――

[17] 前記細菌感染が、大腸菌(E.coli)、黄色ブドウ球菌(S. aureus)、エンテロコッカス・フェカーリス(E. faecalis)、肺炎桿菌(K. pneumoniae)、エンテロコッカス・ヒラエ(E. hirae)、アシネトバクター・バウマニー(A. baumannii)、ブランハメラ・カタラーリス(B. catarrhalis)、インフルエンザ菌(H. influenza)、緑膿菌(P. aeruginosa)、及び

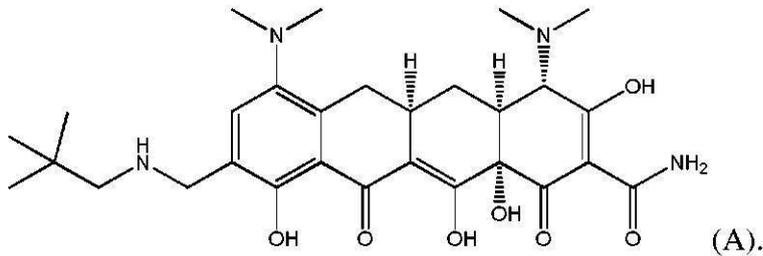
エンテロコッカス・フェシウム(*E. faecium*)からなる群から選択される種に属する細菌によって引き起こされる、実施形態 8 ~ 14 のいずれかに記載の方法。――

[18] 前記黄色ブドウ球菌が、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)又はメチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)である、実施形態 17 に記載の方法。――

[19] 前記細菌感染が、サルモネラ属(*Salmonella*)及びストレプトコッカス属(*Streptococcus*)からなる群から選択される属に属する細菌によって引き起こされる、実施形態 8 ~ 14 のいずれかに記載の方法。――

[20] 前記化合物が、以下の構造式：

――[化6]



10

を有する化合物Aである、実施形態 1 ~ 19 のいずれかに記載の方法。――

[21] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、1種以上の抗生物質で最近処置された被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

20

[22] 前記抗生物質が広域抗生物質であった、実施形態 21 に記載の方法。――

[23] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、消化管の外科手術を受けたことがある被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

[24] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、結腸の疾患を有する被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

[25] 前記結腸の疾患が、炎症性腸疾患又は結腸直腸がんである、実施形態 24 に記載の方法。――

[26] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、弱体化した免疫系を有する被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

30

[27] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、化学療法を受けている被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

[28] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、クロストリジウム・ディフィシル感染を以前に有していた被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

[29] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、65歳以上である被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

[30] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、腎臓病を有する被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

[31] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、プロトンポンプ阻害剤を摂取する被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

40

[32] クロストリジウム・ディフィシル感染を生じるリスクがある被験体が、前記被験体にクロストリジウム・ディフィシル感染を生じやすくさせる環境で生活している被験体である、実施形態 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。――

[33] 前記環境が病院を含む、実施形態 26 に記載の方法。――

[34] 前記環境が養護施設を含む、実施形態 26 に記載の方法。――

[35] 前記環境が介護施設を含む、実施形態 26 に記載の方法。――

[36] 前記化合物が経口投与される、実施形態 1 ~ 35 のいずれかに記載の方法。――

[37] 前記化合物が静脈内投与される、実施形態 1 ~ 35 のいずれかに記載の方法。――

[38] 前記化合物が少なくとも1回の静脈内用量、次いで、少なくとも1回の経口用量と

50

して投与される、実施形態 1 ~ 3 5 のいずれかに記載の方法。

[3 9] 前記少なくとも1回の経口用量が、前記少なくとも1回の静脈内用量の約24時間後に投与される、実施形態 3 8 に記載の方法。

[4 0] 前記化合物が1日1回又は1日2回投与される、実施形態 1 ~ 3 9 のいずれかに記載の方法。

[4 1] 前記化合物が約100mg、約200mg、約300mg、約600mg又は約600mgの用量で投与される、実施形態 1 ~ 4 0 のいずれかに記載の方法。

[4 2] 前記被験体が、約14日まで、約10日まで、約9日まで、約8日まで、又は約7日まで処置される、実施形態 1 ~ 4 0 のいずれかに記載の方法。

[4 3] 前記化合物、実施形態 1 ~ 4 0 のいずれかに記載の方法。

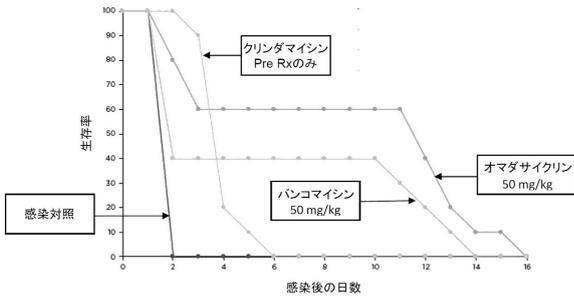
10

[4 4] 前記塩が塩酸塩である、実施形態 1、 8、 9、 1 2 又は 1 3 のいずれかに記載の方法。

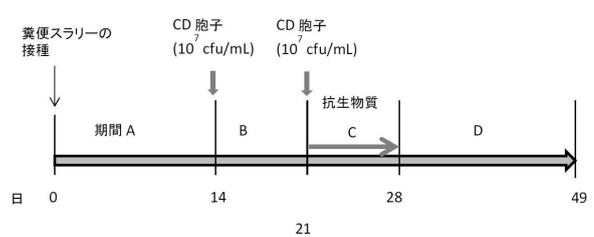
[4 5] 前記塩がトシル酸塩である、実施形態 1、 8、 9、 1 2 又は 1 3 のいずれかに記載の方法。

【 図 面 】

【 図 1 】

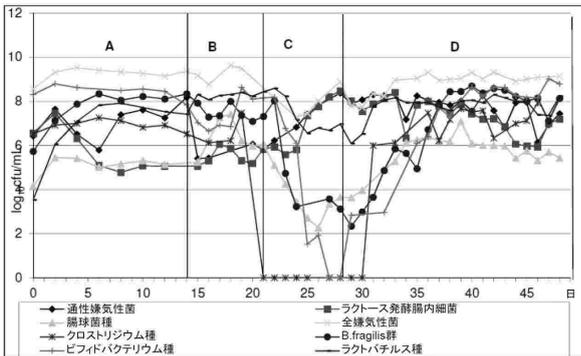


【 図 2 】

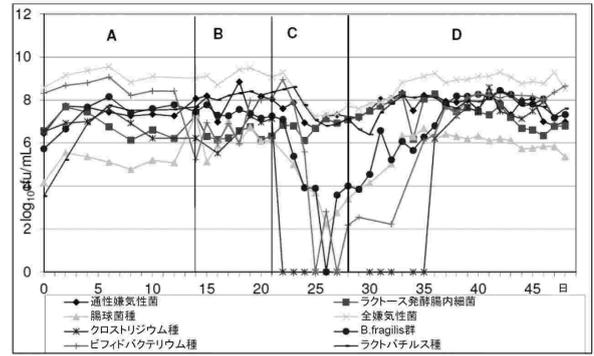


20

【 図 3 】



【 図 4 】

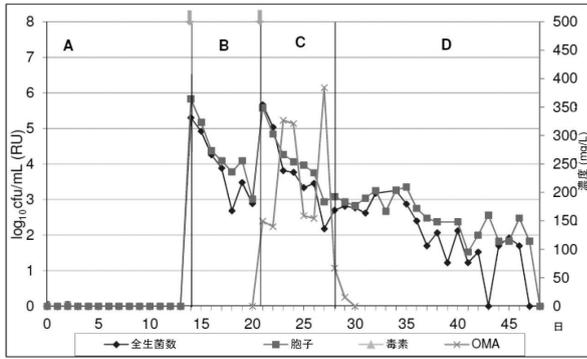


30

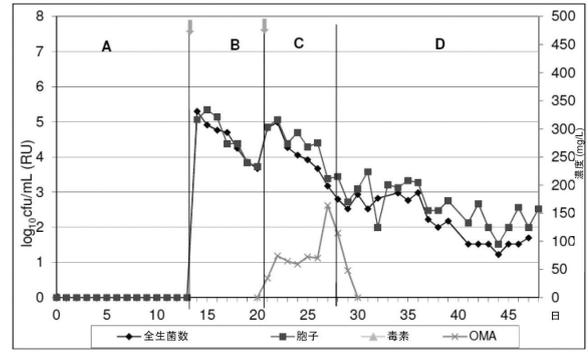
40

50

【 図 5 】

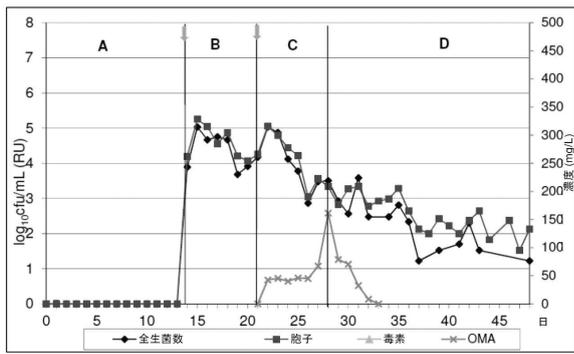


【 図 6 】

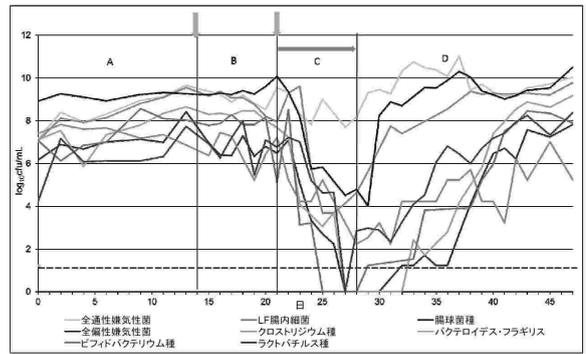


10

【 図 7 】

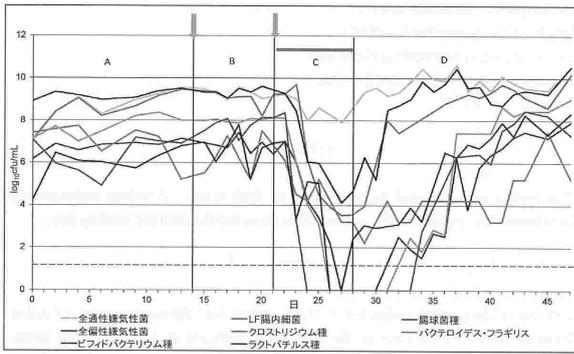


【 図 8 】

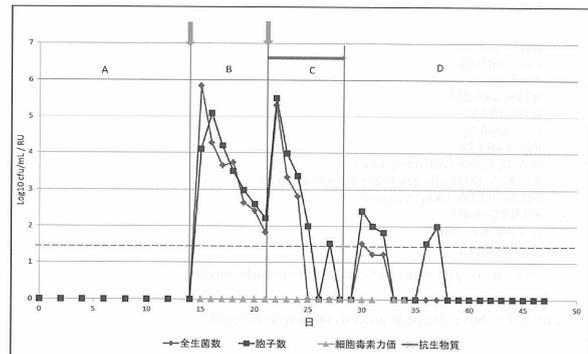


20

【 図 9 】



【 図 10 】

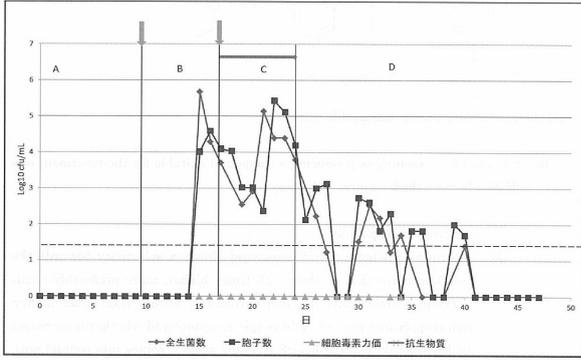


30

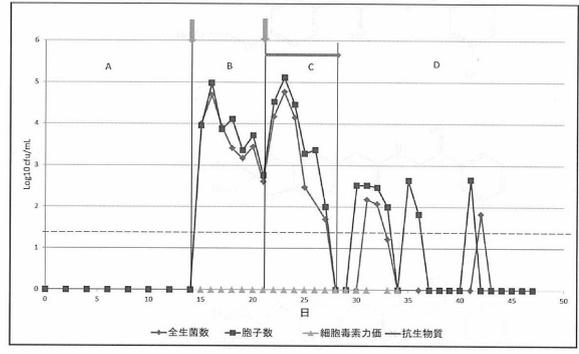
40

50

【図 1 1】

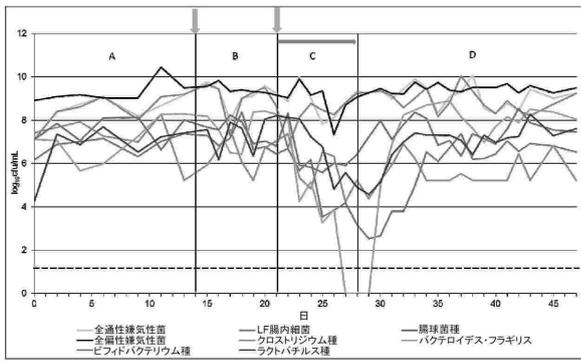


【図 1 2】

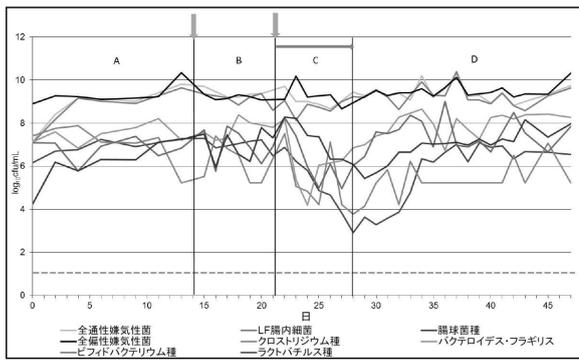


10

【図 1 3】

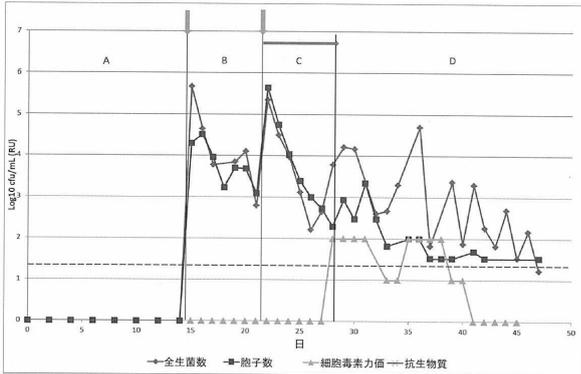


【図 1 4】

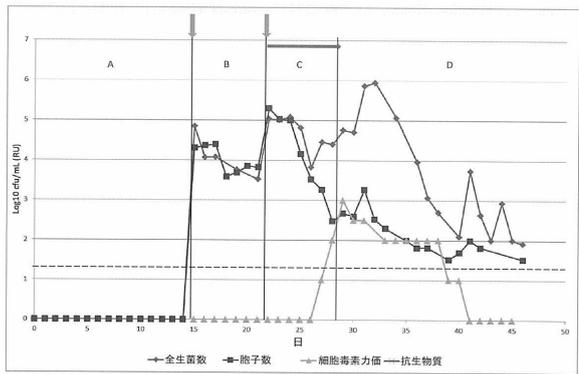


20

【図 1 5】



【図 1 6】

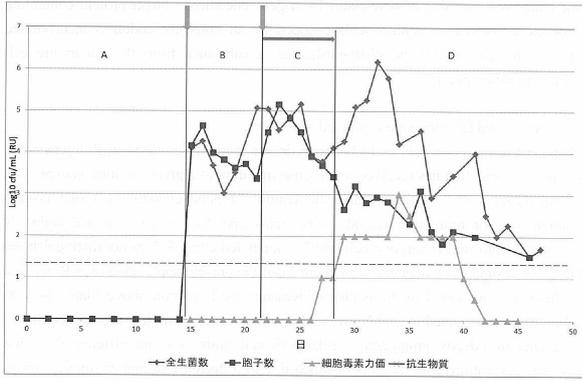


30

40

50

【 17 】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類 F I
A 6 1 P 31/04 (2006.01) A 6 1 P 31/04

(31)優先権主張番号 62/312,996

(32)優先日 平成28年3月24日(2016.3.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

ード 1 4

合議体

審判長 前田 佳与子

審判官 淵野 留香

審判官 吉田 佳代子

(56)参考文献 特表2009-521456(JP,A)

Med. J. Aust., 2011年, 194(7), p. 374 - 375

Antimicrob. Agents Chemother., 2015年, 59(11)
, p. 7044 - 7053

Antimicrob. Agents Chemother., 2014年, 58(2),
p. 1127 - 1137

Antimicrob. Agents Chemother., 2012年, 56(11)
, p. 5650 - 5654

Int. J. Antimicrob. Agents, 2010年, 35, p. 311 - 3
12

ICAAC meeting, 2015年, 296, D - 194

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A61K31/00-31/80

JMEDPlus / JST7580 / JSTPlus (JDreamIII)

CA / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)