(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112672787 A
(43)申请公布日 2021.04.16

(21)申请号 201980058610.8
(22)申请日 2019.07.09
(30)优先权数据
62/695,583 2018.07.09 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.03.08
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/041063 2019.07.09
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/014269 EN 2020.01.16
(71)申请人 百奥维骨有限责任公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 弗兰克·H·埃贝蒂诺 舒廷·孙 菲利普·T·谢里安
(74)专利代理机构 成都超凡明远知识产权代理有限公司 51258
代理人 王晖 刘书芝
(51)Int.Cl.
A61P 19/10(2006.01)
A61P 31/04(2006.01)

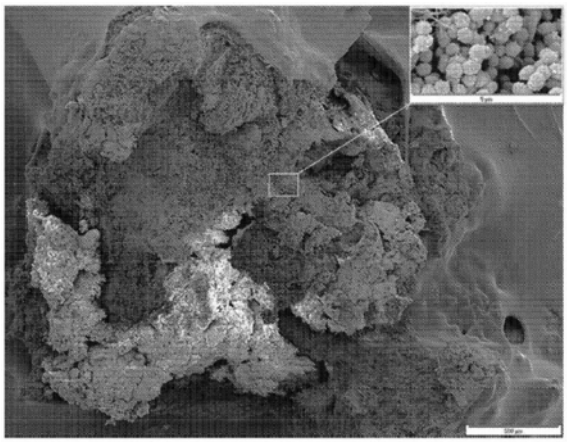
权利要求书5页 说明书75页 附图35页

(54)发明名称

双膦酸喹诺酮缀合物及其用途

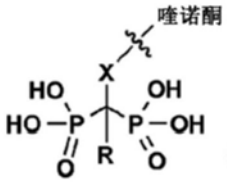
(57)摘要

本文描述了可以包括双膦酸(BP)和喹诺酮的双膦酸喹诺酮化合物、缀合物和其药物制剂，其中，所述BP具有α取代基且所述α取代基是羟基、氨基或硫醇基团，并且其中所述喹诺酮与所述BP在所述BP的偕碳α取代基(X)处直接或间接缀合。在一种或多种实施方式中，所述BP可以是含α-OH的BP且所述喹诺酮可以与所述BP在所述BP的偕OH处直接或间接可逆缀合。本文还提供了制造和使用双膦酸喹诺酮缀合物和其药物制剂的方法。



CN 112672787 A

1.一种包括双膦酸(BP)和喹诺酮的化合物,其中,所述BP具有α取代基且所述α取代基是羟基、氨基或硫醇基团,并且其中所述喹诺酮与所述BP在下式中的所述BP的偕碳α取代基(X)处直接或间接缀合



缀合物，在含α-X的BP与喹诺酮之间

X=O、NH、NR^1、S

R^1可以是烷基或取代的烷基、芳基或取代的芳基基团

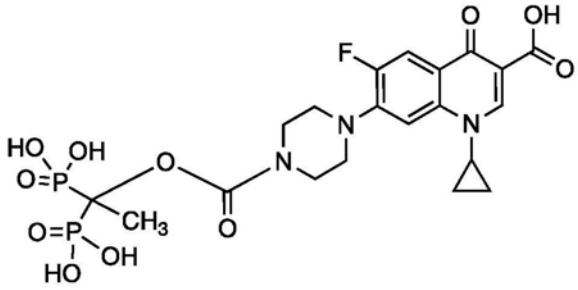
其中R可以是H、取代的和未取代的烷基、烷基氨基、烷基-芳基、芳基、烷基杂芳基或杂芳基。

2.根据权利要求1所述的化合物,其中,所述BP是含α-OH的BP且其中所述喹诺酮与所述BP在所述BP的偕OH处直接或间接缀合。

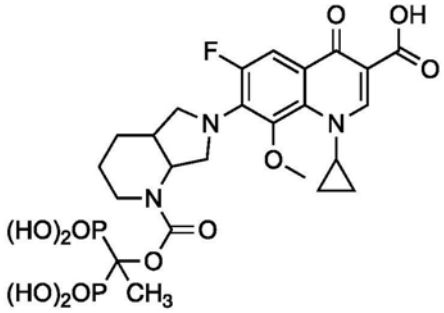
3.根据权利要求1或2所述的化合物,其中,所述喹诺酮是氟喹诺酮。

4.根据权利要求1或2中任一项所述的化合物,其中,所述喹诺酮选自由以下组成的组:阿拉沙星、氨氟沙星、巴洛沙星、贝西沙星、卡达唑利德、环丙沙星、克林沙星、达氟沙星、德拉沙星、二氟沙星、依诺沙星、恩氟沙星、非那沙星、氟罗沙星、氟甲喹、加替沙星、吉米沙星、格帕沙星、依巴沙星、JNJ-Q2、左氧氟沙星、洛美沙星、马波沙星、莫昔沙星、那氟沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、奥比沙星、帕珠沙星、培氟沙星、普拉沙星、普芦沙星、芦氟沙星、沙氟沙星、西他沙星、司帕沙星、替马沙星、托氟沙星、曲伐沙星、扎波沙星、奈诺沙星和其组合。

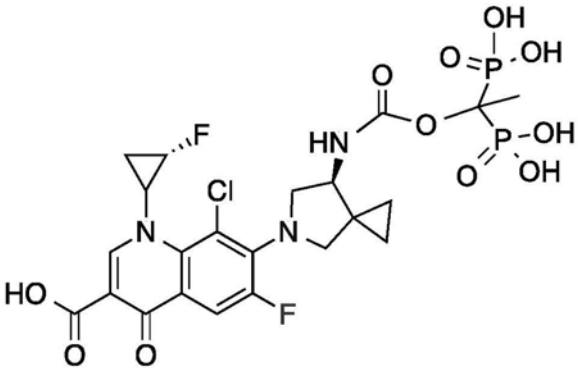
5.根据权利要求1或2所述的化合物,根据式(41)、式(43)、式(44)或式(45)



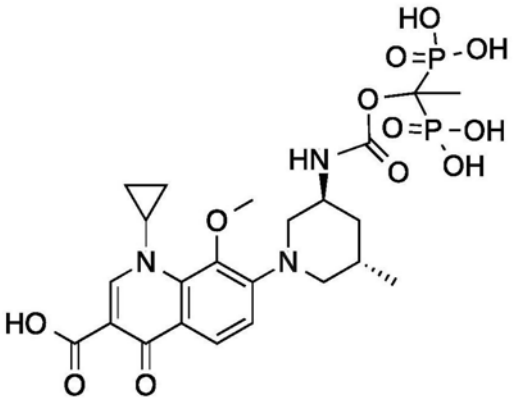
式(41)、



式(43)、

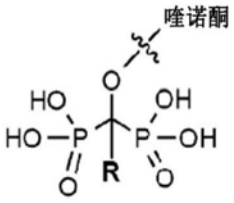


式(44)或

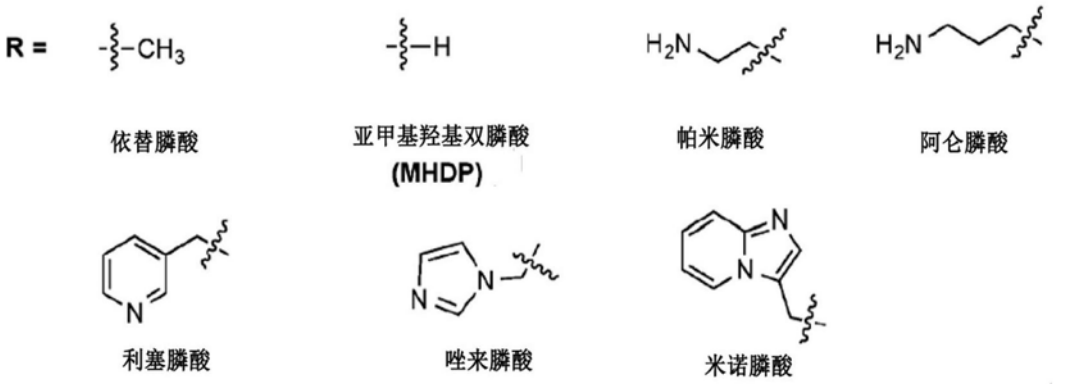


式(45)。

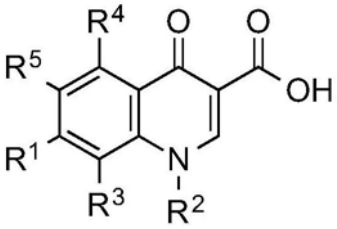
6.根据权利要求1所述的化合物,根据下式



缀合物，在含α- OH的BP与喹诺酮之间

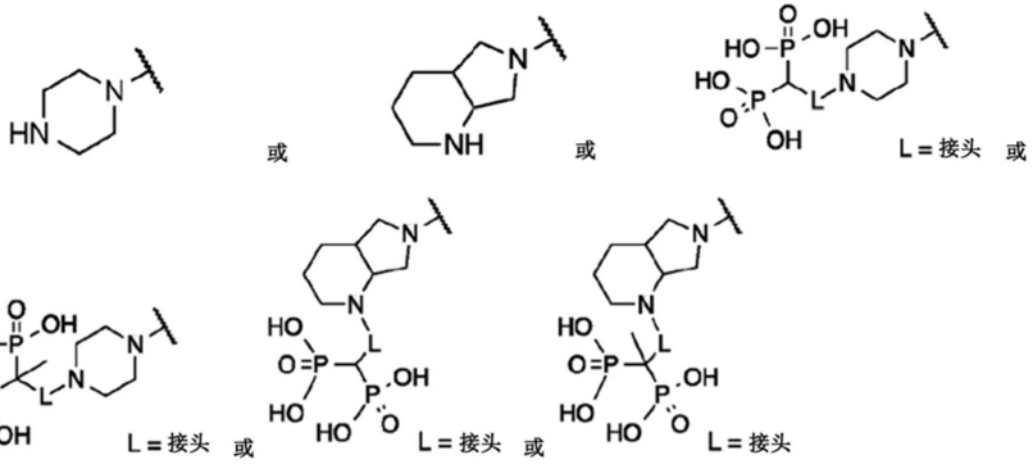


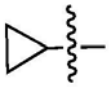
7.根据权利要求1所述的化合物，其中，所述喹诺酮或所述BP喹诺酮化合物由根据式(A)的喹诺酮抗生素类似物或取代基构成，



式(A)

其中R^1可以是



并且其中R^2可以是

并且其中R^3可以是H或OCH3，

并且其中R^4可以是H，

并且其中R^5可以是H或F。

8.根据权利要求1所述的化合物，其中，所述双膦酸选自由以下组成的组：修饰的或未修饰的依替膦酸、亚甲基羟基双膦酸(MHBP)、利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、奈立膦酸、帕米膦酸、阿仑膦酸和其组合。

9.根据权利要求7或权利要求8所述的化合物，其中，所述喹诺酮化合物是氟喹诺酮。

10.根据权利要求7或权利要求8所述的化合物，其中，所述喹诺酮化合物选自由以下组成的组：阿拉沙星、氨氟沙星、巴洛沙星、贝西沙星、卡达唑利德、环丙沙星、克林沙星、达氟沙星、德拉沙星、二氟沙星、依诺沙星、恩氟沙星、非那沙星、氟罗沙星、氟甲喹、加替沙星、吉米沙星、格帕沙星、依巴沙星、JNJ-Q2、左氧氟沙星、洛美沙星、马波沙星、莫昔沙星、那氟沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、奥比沙星、帕珠沙星、培氟沙星、普拉沙星、普芦沙星、芦氟沙星、沙氟沙星、西他沙星、司帕沙星、替马沙星、托氟沙星、曲伐沙星、扎波沙星、奈诺沙星和其组合。

11.根据权利要求7或权利要求8所述的化合物，其中，所述喹诺酮化合物是环丙沙星、莫昔沙星、西他沙星或奈诺沙星。

12.根据权利要求7-11中任一项所述的化合物，其中，所述接头是氨基甲酸酯、硫代氨基甲酸酯、肼或碳酸酯或酯或脲。

13.根据权利要求7-11中任一项所述的化合物，其中，所述接头是氨基甲酸酯接头或酯接头。

14.根据权利要求7-11中任一项所述的化合物，其中，所述接头是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯接头。

15.根据权利要求7-11中任一项所述的化合物，其中，所述接头是硫代氨基甲酸-O-芳酯或硫代氨基甲酸烷基酯接头。

16.根据权利要求7-11中任一项所述的化合物，其中，所述接头是硫代氨基甲酸-S-芳酯或硫代氨基甲酸烷基酯接头。

17.根据权利要求7-11中任一项所述的化合物，其中，所述接头是氨基甲酸苯酯接头。

18.根据权利要求7-11中任一项所述的化合物，其中，所述接头是硫代氨基甲酸酯接头。

19.根据权利要求7-11中任一项所述的化合物，其中，所述接头是O-硫代氨基甲酸酯接头。

20.根据权利要求7-11中任一项所述的化合物，其中，所述接头是S-硫代氨基甲酸酯接头。

21.一种药物制剂，包括：

一定量的根据权利要求1-20中任一项所述的化合物；以及

药学上可接受的载体。

22.根据权利要求21所述的药物制剂，其中，所述化合物的量是有效杀死或抑制细菌的量。

23.根据权利要求21所述的药物制剂，其中，所述化合物的量是有效治疗或预防具有以下的骨疾病的量：异常骨吸收、骨质疏松症、骨感染、骨髓炎、骨坏死、种植体周围炎和牙周炎。

24.一种治疗有此需要的受试者中的骨感染的方法,所述方法包括:

向所述有此需要的受试者给药一定量的根据权利要求1-20中任一项所述的化合物或其药物制剂。

25.一种治疗有此需要的受试者中的骨髓炎的方法,所述方法包括:

向所述有此需要的受试者给药一定量的根据权利要求1-20中任一项所述的化合物或其药物制剂。

26.一种治疗有此需要的受试者中的种植体周围炎或牙周炎的方法,所述方法包括向所述有此需要的受试者给药一定量的根据权利要求1-20中任一项所述的化合物或其药物制剂。

27.一种治疗有此需要的受试者中的糖尿病足的方法,所述方法包括向所述有此需要的受试者给药一定量的根据权利要求1-20中任一项所述的化合物或其药物制剂。

28.一种方法,包括:

向受试者给药一定量的根据权利要求1-20中任一项所述的化合物或其药物制剂。

29.一种骨移植组合物,包括:

骨移植材料和根据权利要求1-20中任一项所述的化合物或其药物制剂,其中所述化合物或药物制剂与所述骨移植材料相附连、结合、化学吸附或混合。

30.根据权利要求29所述的骨移植组合物,其中,所述骨移植材料是自体移植骨材料、同种异体移植骨材料、异种移植骨材料、合成骨移植材料或其任何组合。

31.一种方法,包括:

将根据权利要求29-30中任一项所述的骨移植组合物植入到有此需要的受试者中。

32.一种预防在骨或植入手术部位或在进行骨移植的手术部位的生物膜感染的方法,其中,所述方法包括:

向有此需要的受试者给药根据权利要求1-20中任一项所述的化合物或其药物制剂。

33.一种预防在骨或植入手术部位或在进行骨移植的手术部位的生物膜感染的方法,其中,所述方法包括:

将根据权利要求29-30中任一项所述的骨移植组合物植入到有此需要的受试者中。

34.根据权利要求1-20中任一项所述的组合物用于制造用于治疗有此需要的受试者中的骨感染的药物制剂的用途。

双膦酸喹诺酮缀合物及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2018年7月9日提交的题为“BISPHOSPHONATE QUINOLONE CONJUGATES AND USES THEREOF(双膦酸喹诺酮缀合物及其用途)”的共同未决的美国临时专利申请号62/695,583的权益和优先权,将其通过援引以其全文并入本文。

[0003] 关于联邦资助研究或开发的声明

[0004] 本发明是在由NIH/NIDCR颁发的授权号R41DE025789-01和授权号R42DE025789-02以及由NIH/NIAMS颁布的授权号R43AR073727的政府支持下进行的。美国政府在本发明中拥有某些权利。

背景技术

[0005] 骨和关节感染影响着全球数百万的成年人和儿童。在美国,总体发病率为3-6百万人,其中特定人群具有有不同的风险。对于糖尿病患者,足溃疡的年发病率为约30分之1,最多达三分之二的病例患有潜在的骨髓炎。在儿童中,最近报道的年发病率范围为1/4000至1/15000。然而,在美国儿科医院的管理数据的儿科健康信息系统(PHIS)数据库中,我们发现2009-2013这5年间,2,247,889中有10,245(0.5%)出院时被诊断为骨髓炎,粗略的年发病率为大约1/1100住院。

[0006] 许多革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌以及真菌和分枝杆菌均可引起骨和关节感染。到目前为止,与骨和关节感染有牵连的最常见的生物是金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)(S.aureus),既对甲氧西林敏感(MSSA)又耐甲氧西林(MRSA)。

[0007] 骨和关节感染的护理标准通常要求全身给药抗生素。对于急性感染,通常开出的处方为:静脉注射抗生素2-6周。对于慢性感染或与保留的植入硬件相关的感染,可遵循口服抗生素的延长的疗程。对于急性和慢性感染两者,这些延长的疗程都可能在显著百分数的患者中导致与药物相关的不良事件—在对于感染MSSA的处理的队列的一个估计中为15%。而且,已知最常见的MRSA感染治疗的万古霉素的肾毒性以高达43%的患者发生,并随着治疗的持续时间而增加。

[0008] 持续的骨感染,诸如颌骨骨髓炎、其他骨骼部位的骨髓炎和骨坏死最终会导致显著的骨吸收和骨以及羟基磷灰石(HA)矿物的破坏。骨和HA吸收被认为不仅由骨细胞(即破骨细胞)诱导和介导,而且由微生物生物膜病原体结合宿主炎症反应和破骨细胞生成活性诱导和介导。生物膜是由附连至基质并被自身产生的细胞外基质包围的一种或多种细菌物种构成的复杂的微生物群落。已知许多不同类型的微生物感染是由以生物膜状态生长的生物引起的。金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)(S.aureus)的细菌生物膜是卫生保健系统中生物膜相关感染的主导原因,并与严重感染诸如骨髓炎相关。

[0009] 骨髓炎与显著发病率和死亡率相关。手术和抗微生物治疗,通常是静脉内且长期抗生素的,是骨髓炎管理的支柱。手术可以包括保守去除受感染的骨或更具侵略性的方式,诸如切除术。因此,感染性骨疾病的治疗主要是根据临床病理因素在有或无手术干预的情况下进行抗微生物治疗。然而,抗生素在体内具有差的骨吸收和药代动力学。因此,治疗性

抗生素的骨生物利用度的任何改善将是治疗骨髓炎的显著进步。

[0010] 为了克服与治疗骨感染相关的许多挑战，使用局部递送系统来实现骨中更高的治疗性抗细菌浓度已成为临床医生的惯例。例如，聚甲基丙烯酸甲酯珠代表了用于将抗生素递送至骨科感染的大多数不可生物降解的载体系统，但它们需要在药物释放完成后手术去除。它们还倾向于以迅速从载体珠中消耗掉大部分药物的初始爆发模式释放抗生素，紧接着是以可能不足以控制感染并可能促进耐药性的发展的较低的浓度的缓慢释放。这些关注点限制了这种方法在大多数骨和关节感染中的有用性。

[0011] 牙科已使用抗微生物剂的局部递送来治疗与病症如牙周骨丧失、颌骨骨髓炎和骨坏死相关的受感染的颌骨以达到高局部浓度的药物，但在没有手术干预的情况下，这些方式通常无效，并且抗生素的骨生物利用度很差。主要在第一次清创被感染的植入物时使用以改善对感染的控制的抗生素浸渍的牙骨质通常不用于治疗没有植入的硬件的天然骨的骨和关节感染。关于延长的亚治疗性抗生素浓度和选择耐药菌的关注点也适用于牙骨质。

[0012] 向骨局部递送抗微生物剂可以是治疗感染性骨疾病的重要的进展，但仍具有渗透限制和潜在的真核细胞细胞毒性；因此，高度需要研究和开发更有效且具有生理学靶向的递送系统。理想的抗生素递送系统是一种在不需要手术植入或去除的情况下靶向骨组织的系统。这种靶向还使全身剂量和骨以外的组织暴露在抗生素下最小化，因此降低了不利影响或促进耐药菌的出现的选择性压力的风险。另一个潜在的主要益处是，通过实现感染部位的延长的抗生素浓度，使降低给药频率成为可能。

[0013] 当前的抗微生物治疗骨髓炎的功效不足已被归因于将抗生素全身性给药至其中致病细菌(包括如在骨表面，甚至是在骨细胞小管网络内的表面上的生物膜)可以驻留的部位的受限的通路，其中一类被称为双膦酸(BP)的药物容易获得。

发明内容

[0014] 本文在各个方面提供了BP喹诺酮抗生素化合物、缀合物和其制剂及各种使用方法，以解决上述需求。

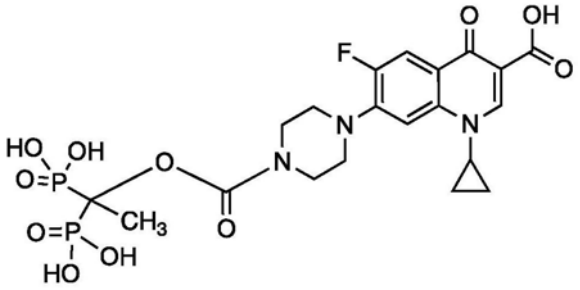
[0015] 在本文的任何一个或多个方面，为了利用BP对骨的亲和力，提供了“靶向和释放”化学方法，所述方法涉及通过BP缀合物将喹诺酮抗生素递送至骨或羟基磷灰石(HA)表面，特别是递送至其中已引发骨感染且升高的骨代谢已发生的部位。可以利用最优先地在骨表面代谢并释放母体喹诺酮抗生素的相对血清稳定的药物-BP接头。

[0016] 所述BP喹诺酮化合物、缀合物和制剂可以包含可以可释放地与喹诺酮化合物或类似物缀合的双膦酸(BP)。在本文的任何一种或多种实施方式中，所述BP具有α取代基，并且所述α取代基是羟基、氨基或硫醇基团。所述喹诺酮可以与所述BP在所述BP的偕碳α取代基处直接或间接缀合，本文的任何一个或多个方面所述。在任何一种或多种实施方式中，所述喹诺酮可逆地与所述BP的两个膦酸基团之间的碳上的偕羟基、氨基或硫醇基团偶联或缀合。当以这种方式缀合时，两个膦酸基团起作用以减弱所述喹诺酮与所述BP的连接，并且当从所述BP释放所述喹诺酮时，所述BP活化了将所述喹诺酮与所述BP可逆地偶联或缀合的接头。在特定的实施方式中，所述BP可以是依替膦酸、亚甲基羟基双膦酸(MHBP)或帕米膦酸，优选地为依替膦酸或MHBP。在特定的实施方式中，所述BP可以是非活性或低活性BP，如本文所述。

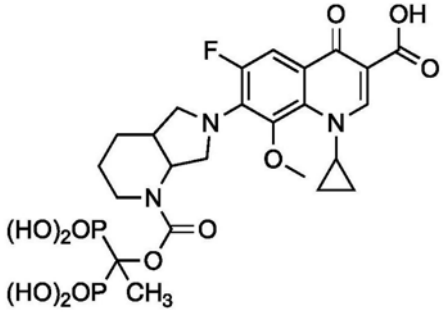
[0017] 在任何一种或多种实施方式中，所述BP喹诺酮化合物或缀合物可以向受试者全身给药以选择性地将喹诺酮递送至骨骼，以及特别地至受感染的骨部位，或者当与骨移植物或骨移植替代物组合时向受试者局部给药(即可以靶向骨、骨感染或其他高骨代谢部位)。在任何一种或多种实施方式中，所述BP喹诺酮化合物或缀合物可以释放所述喹诺酮，特别地喹诺酮化合物、其取代基或衍生物。本文还提供了合成BP喹诺酮化合物、缀合物的方法以及用本文提供的BP喹诺酮化合物、缀合物和/或制剂中的一种或多种治疗或预防骨髓炎或其他骨感染的方法。

[0018] 本文在各种方面提供了可以包含可以与喹诺酮可释放地缀合的双膦酸(BP)的BP喹诺酮化合物和缀合物。在实施方式中，所述BP喹诺酮化合物或缀合物可以选择性地将喹诺酮递送至受试者的骨、骨移植物和或骨移植替代物，特别地递送至其中已引发骨感染的较高骨代谢部位。在任何一种或多种实施方式中，所述BP喹诺酮化合物或缀合物可以释放喹诺酮。本文还提供了合成BP喹诺酮化合物和缀合物的方法以及用本文提供的BP喹诺酮化合物或缀合物中的一种或多种治疗或预防骨髓炎或其他骨感染的方法。

[0019] 在本文的特定的实施方式中，所述BP是与氟喹诺酮抗生素，诸如环丙沙星、莫昔沙星或西他沙星缀合的依替膦酸。在实施方式中，所述BP是与非氟喹诺酮，诸如奈诺沙星缀合的依替膦酸。例如，所述缀合物可以是根据式(41)、式(43)、式(44)或式(45)的化合物。

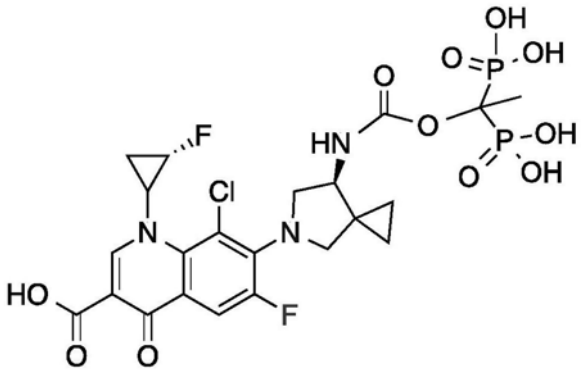


式(41)

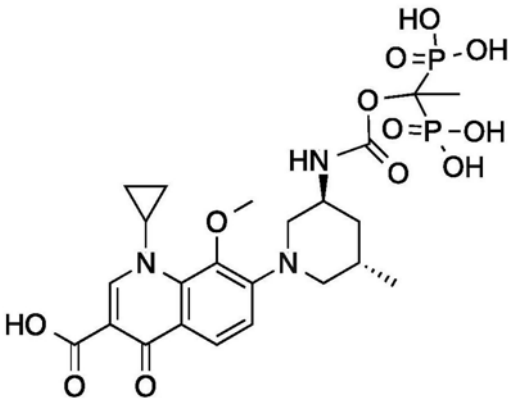


式(43)

[0020]



式(44)



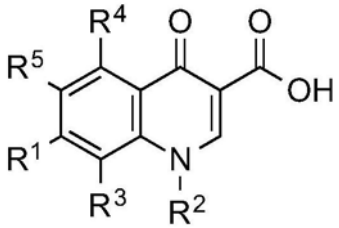
式(45)

[0021] 本文还提供了包含根据式(41)、式(43)、式(44)和/或式(45)的化合物以及药学上可接受的载体的药物组合物或制剂。

[0022] 本文还提供了治疗有此需要的受试者中的骨感染的方法，所述方法可以包括以下步骤：向有此需要的受试者给药一定量的根据式(41)、式(43)、式(44)和/或式(45)的化合物，或包含根据式(41)、式(43)、式(44)和/或式(45)的化合物的药物制剂。

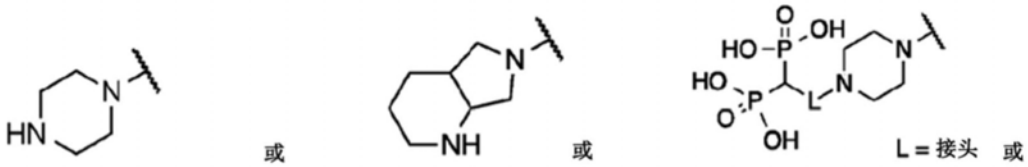
[0023] 本文还提供了包含双膦酸(BP)和喹诺酮化合物的化合物、缀合物以及抗微生物剂和抗生素剂，其中所述喹诺酮化合物通过接头可释放地或可逆地与所述双膦酸偶联，如本文所述。如本文所述的，优选的可释放接头在给药后不久在血流中或多或少地稳定，并且或多或少地在身体的骨/骨骼分区中缓慢裂解，以缓慢地局部释放喹诺酮抗生素化合物、取代基或衍生物。

[0024] 在任何一个或多个方面，所述BP喹诺酮化合物可以由根据以下结构或式(A)的喹诺酮抗生素类似物或取代基构成，

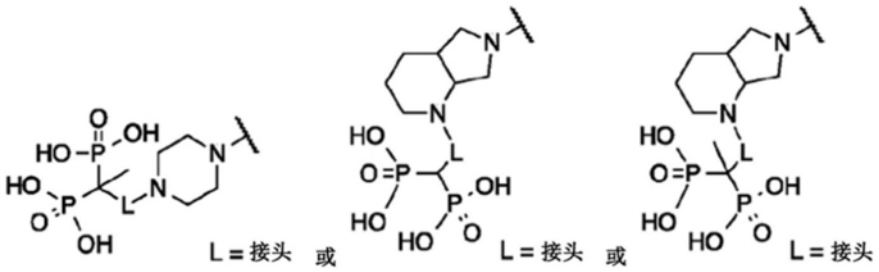
[0025] 

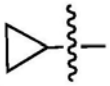
式(A)

[0026] 其中R^1可以是



[0027]



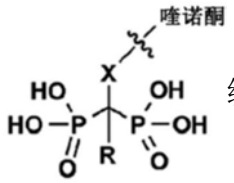
[0028] 并且其中R^2可以是

[0029] 并且其中R^3可以是H或OCH3，

[0030] 并且其中R^4可以是H，

[0031] 并且其中R^5可以是H或F。

[0032] 如所示，式(A)的喹诺酮可以与双膦酸(BP)连接。在本文的任何一个或多个方面或实施方式中，提供了包括双膦酸(BP)和喹诺酮化合物或类似物的化合物或缀合物，其中所述BP可以具有α取代基，且所述α取代基可以是羟基、氨基或硫醇基团。所述喹诺酮可以与所述BP在所述BP的偕碳α取代基(X)处直接或间接缀合，如下式所图示。

[0033] 

缀合物，在含a-X的BP与喹诺酮之间

[0034] X＝O、NH、NR^1、S

[0035] R^1可以是烷基或取代的烷基、芳基或取代的芳基基团

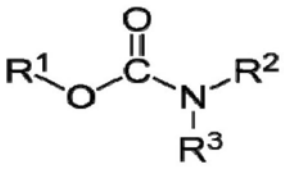
[0036] 其中R可以是H、取代的和未取代的烷基、烷基氨基、烷基-芳基、芳基、烷基杂芳基或杂芳基。

[0037] 优选的BP是在两个膦酸基团之间的碳上具有偕羟基基团的那些。这样的BP的通用类似物如图25所图示。所述BP是含α-OH的BP且其中所述喹诺酮与所述BP在所述BP的偕OH处直接或间接缀合。

[0038] 在任何一个或多个方面，所述双膦酸可以是可以被羟基(α-羟基)、氨基或硫醇取代的乙叉基双膦酸(ethylidenebisphosphonate)部分(依替膦酸)。在一些方面，双膦酸可以包括对羟基苯基乙叉基基团或其衍生物。在实施方式中，所述BP可以是临床上已知的BP，诸如帕米膦酸、阿仑膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、奈立膦酸和依替膦酸，其可以是如本文所述未修饰的或修饰的。

[0039] 在任何一种或多种优选的实施方式中，所述BP可以是依替膦酸。依替膦酸可以与喹诺酮连接以形成喹诺酮抗生素依替膦酸-环丙沙星(ECC)缀合物(诸如在式(41)中)，或以形成依替膦酸莫昔沙星(ECX)缀合物(诸如在本文的式(43)中)。

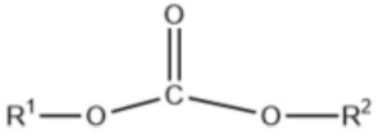
[0040] 所述接头(L)可以是可裂解的化合物，意指它可逆地将喹诺酮类似物或化合物，特别地喹诺酮抗微生物或抗生素类似物或其取代基与所述BP偶联。如本文所用，术语“可裂解”可以意指在生理条件下化学或生化地不稳定的基团。在任何一个或多个方面，所述接头可以是氨基甲酸酯，其具有以下结构或式(B)

[0041] 

式(**B**)

[0042] 用于将喹诺酮，R^2与BP，R^1偶联，如本文所述的，并且R^3可以是取代的和未取代的烷基、乙酰基、苯甲酰基或其他酰胺、苯基和取代的苯基，优选地H。

[0043] 在任何一个或多个方面，所述接头可以是碳酸酯，其具有以下结构或式(C)

[0044] 

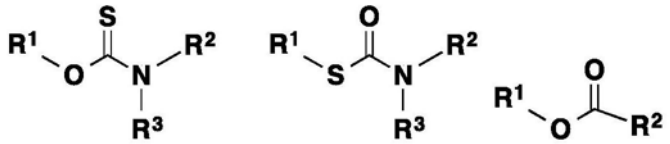
式(**C**)

[0045] 用于将喹诺酮，R^2与BP，R^1偶联，如本文所述的。

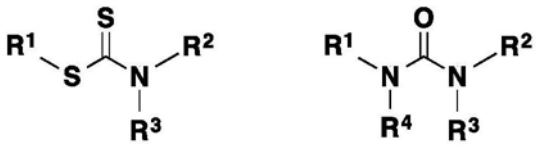
[0046] 在本文的任何一种或多种实施方式的任何一个或多个方面，所述接头可以是氨基

甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯接头。所述接头可以是硫代氨基甲酸-O-芳酯或硫代氨基甲酸烷基酯接头。所述接头可以是硫代氨基甲酸-S-芳酯或硫代氨基甲酸烷基酯接头。所述接头可以是氨基甲酸苯酯接头。所述接头可以是硫代氨基甲酸酯接头。所述接头可以是O-硫代氨基甲酸酯接头。所述接头可以是S-硫代氨基甲酸酯接头。所述接头可以是酯接头。所述接头可以是二硫代氨基甲酸酯。所述接头可以是脲接头。所述接头可以是与BP一起的式(A)的R^1基团的一部分，并且将所述BP与所述喹诺酮偶联，如本文所述。在任何一个或多个方面，所述接头可以由下面的式(D)-式(H)中的任何一个例示，其中：R^2可以是喹诺酮或喹诺酮取代基或衍生物并且R^1可以是BP，两者均如本文所述；并且R^3可以是取代的和未取代的烷基、乙酰基、苯甲酰基或其他酰胺、苯基和取代的苯基，优选地H。

[0047]



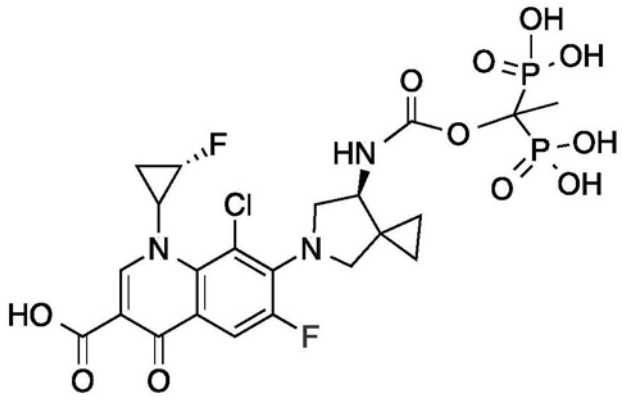
式(D) 式(E) 式(F)



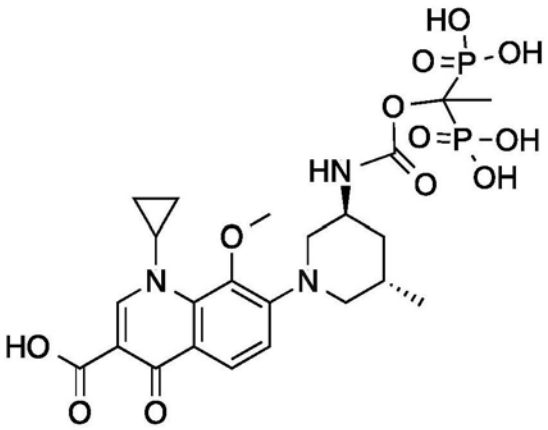
式(G) 式(H)

[0048] 在一些方面，所述BP是依替膦酸。在一些方面，所述喹诺酮是环丙沙星或莫昔沙星。在一些方面，所述BP是依替膦酸，所述喹诺酮是环丙沙星，且所述接头是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯或式(F)的接头，提供式(41)的化合物。在一些方面，所述BP是依替膦酸，所述喹诺酮是莫昔沙星，且所述接头是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯或式(F)的接头，提供式(43)的化合物。在一些方面，所述BP是依替膦酸，所述喹诺酮是西他沙星或奈诺沙星，且所述接头是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯或式(F)的接头，提供下面式(44)或式(45)的化合物。

[0049]



式(44)

[0050] 

式(45)

[0051] 在其他方面，所述BP可以是本文所述的其他BP，诸如帕米膦酸、奈立膦酸、奥帕膦酸、阿仑膦酸、伊班膦酸、米诺膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、羟基亚甲基双膦酸和其组合。

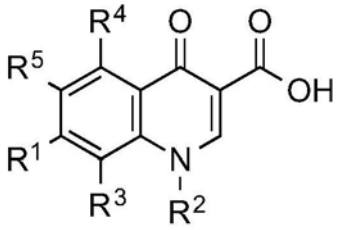
[0052] 本文还提供了可以包含双膦酸(BP)和式(A)的喹诺酮化合物以及药学上可接受的载体的药物制剂，其中所述喹诺酮化合物通过接头(L)与双膦酸可释放地偶联。在任何一个或多个方面，所述双膦酸(BP)和接头(L)可以如本文所述。

[0053] 在本文的任何一种或多种实施方式的任何一个或多个方面，还提供了包含双膦酸(BP)和喹诺酮化合物的化合物和缀合物，其中所述喹诺酮化合物通过接头与所述双膦酸可释放地偶联。所述BP可以选自以下的组：羟基苯基烷基或芳基双膦酸、羟基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、羟基烷基双膦酸、羟基烷基羟基双膦酸、羟基烷基苯基(或芳基)烷基双膦酸、羟基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、羟基烷基双膦酸、羟基烷基羟基双膦酸、羟基吡啶基烷基双膦酸、吡啶基烷基双膦酸、羟基咪唑基烷基双膦酸、咪唑基烷基双膦酸、依替膦酸、帕米膦酸、奈立膦酸、奥帕膦酸、阿仑膦酸、伊班膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、羟基亚甲基双膦酸和其组合，其中所有化合物可以是任选地进一步取代的或未取代的。

[0054] 在本文的任何一种或多种实施方式的任何一个或多个方面，所述喹诺酮化合物可以是氟喹诺酮或非氟喹诺酮。所述喹诺酮化合物可以选自以下的组：阿拉沙星、氨氟沙星、巴洛沙星、贝西沙星(besifloxacin)、卡达唑利德、环丙沙星、克林沙星、达氟沙星、德拉沙星(delafloxacin)、二氟沙星、依诺沙星、恩氟沙星、非那沙星、氟罗沙星(flerofloxacin)、氟甲喹、加替沙星、吉米沙星、格帕沙星、依巴沙星、JNJ-Q2、左氧氟沙星、洛美沙星、马波沙星、莫昔沙星、那氟沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、奥比沙星、帕珠沙星、培氟沙星、普拉沙星、普芦沙星、芦氟沙星、沙氟沙星、西他沙星、司帕沙星、替马沙星、托氟沙星、曲伐沙星(trvafloxacin)、扎波沙星、奈诺沙星和其组合。

[0055] 在一些方面，所述BP是依替膦酸。在一些方面，所述喹诺酮是环丙沙星或莫昔沙星。在其他方面，所述BP可以是本文所述的其他BP，诸如帕米膦酸、奈立膦酸、奥帕膦酸、阿仑膦酸、伊班膦酸、米诺膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、羟基亚甲基双膦酸和其组合。

[0056] 所述喹诺酮化合物可以具有根据式(A)的结构，

[0057] 

式(A)，

[0058] 其中R^1可以是取代基，其包括：烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团，

[0059] 其中R^2可以是取代基，其包括：烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团，

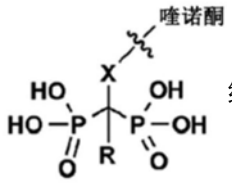
[0060] 其中R^3可以是取代基，其包括：烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团，

[0061] 其中R^4可以是取代基，其包括：烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团，并且

[0062] 并且其中R^5可以是H或F。

[0063] 在任何一个或多个方面，所述接头可以如本文别处的任何一个或多个方面所述。所述接头可以与式(A)的R^1基团相附连。

[0064] 在本文的任何一个或多个方面或实施方式中，所述BP可以具有α取代基，并且所述α取代基是羟基、氨基或硫醇基团。所述喹诺酮可以与所述BP在所述BP的偕碳α取代基(X)处直接或间接缀合，如下式所图示。

[0065] 

缀合物，在含α-X的BP与喹诺酮之间

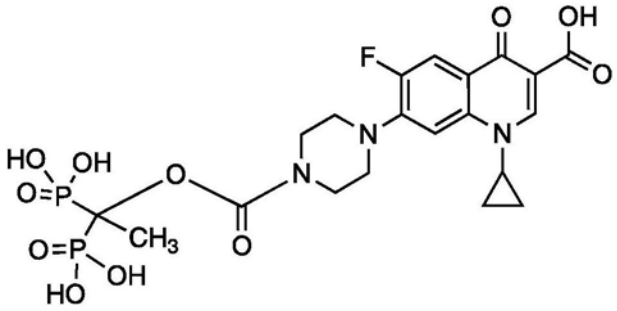
[0066] X＝O、NH、NR^1、S

[0067] R^1可以是烷基或取代的烷基、芳基或取代的芳基基团

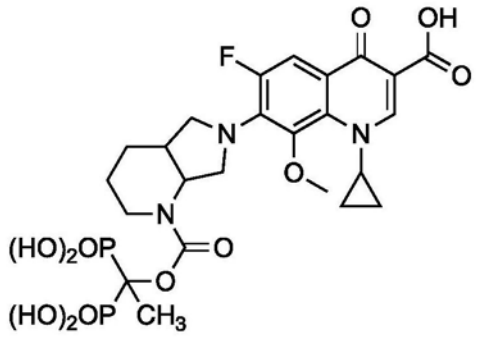
[0068] 其中R可以是H、取代的和未取代的烷基、烷基氨基、烷基-芳基、芳基、烷基杂芳基或杂芳基。优选的BP是在两个膦酸基团之间的碳上具有偕羟基基团的那些。

[0069] 在本文的任何一个或多个方面或实施方式中，所述双膦酸可以是可以被羟基(α-羟基)、氨基或硫醇取代的乙叉基双膦酸部分(依替膦酸)。在一些方面，双膦酸可以包括对羟基苯基乙叉基基团或其衍生物。在实施方式中，所述BP可以是临床上已知的BP，诸如帕米膦酸、阿仑膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、奈立膦酸和依替膦酸，其可以是如本文所述未修饰的或修饰的。

[0070] 在一些方面，所述化合物具有根据式(41)、式(43)、式(44)或式(45)的式。

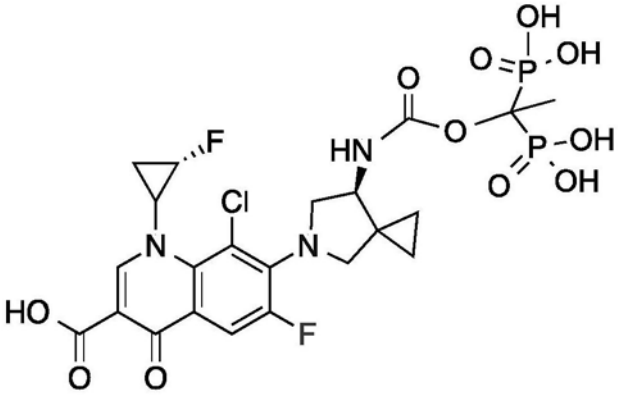
[0071] 

式(41)

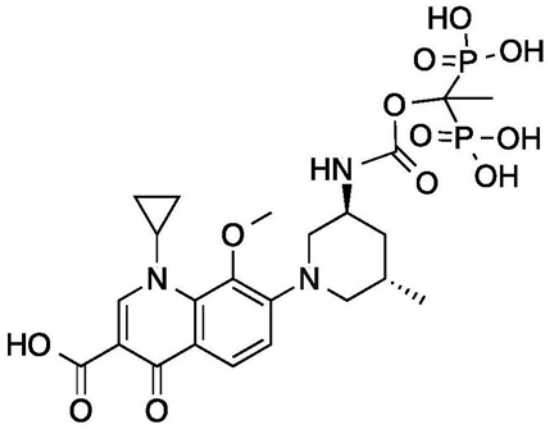


式(43)

[0072]



式(44)



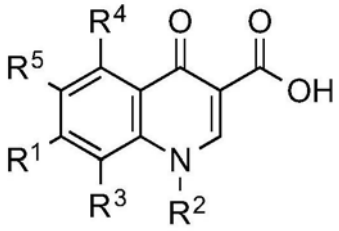
式(45)

[0073] 本文还提供了可以包含双膦酸和喹诺酮化合物以及药学上可接受的载体的药物制剂，其中所述喹诺酮化合物通过接头与所述双膦酸可释放地偶联。所述双膦酸可以选自以下的组：羟基苯基烷基或芳基双膦酸、羟基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、羟基烷基双膦酸、羟基烷基羟基双膦酸、羟基烷基苯基(或芳基)烷基双膦酸、羟基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、羟基烷基双膦酸、羟基烷基羟基双膦酸、羟基吡啶基烷基双膦酸、吡啶基烷基双膦酸、羟基咪唑基烷基双膦酸、咪唑基烷基双膦酸、依替膦酸、帕米膦酸、奈立膦酸、奥帕膦酸、阿仑膦酸、伊班膦酸、利塞膦酸、唑来膦

酸、米诺膦酸、羟基亚甲基双膦酸和其组合，其中所有化合物可以是任选地进一步取代的或未取代的。

[0074] 所述喹诺酮化合物可以是氟喹诺酮或非氟喹诺酮。所述喹诺酮化合物可以选自以下的组：阿拉沙星、氨氟沙星、巴洛沙星、贝西沙星、卡达唑利德、环丙沙星、克林沙星、达氟沙星、德拉沙星、二氟沙星、依诺沙星、恩氟沙星、非那沙星、氟罗沙星、氟甲喹、加替沙星、吉米沙星、格帕沙星、依巴沙星、JNJ-Q2、左氧氟沙星、洛美沙星、马波沙星、莫昔沙星、那氟沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、奥比沙星、帕珠沙星、培氟沙星、普拉沙星、普芦沙星、芦氟沙星、沙氟沙星、西他沙星、司帕沙星、替马沙星、托氟沙星、曲伐沙星、扎波沙星、奈诺沙星和其组合。

[0075] 所述喹诺酮化合物可以具有根据式(A)的结构，

[0076] 

式(A)，

[0077] 其中R^1可以是取代基，其包括：烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团，

[0078] 其中R^2可以是取代基，其包括：烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团，

[0079] 其中R^3可以是取代基，其包括：烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团，

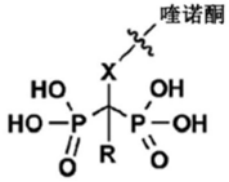
[0080] 其中R^4可以是取代基，其包括：烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的

炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团，并且

[0081] 并且其中R^5可以是H或F。

[0082] 在任何一个或多个方面，所述接头可以如本文别处的任何一个或多个方面所述。所述接头可以与式(A)的R^1基团相附连。

[0083] 在任何一个或多个方面，所述BP可以具有α取代基，并且所述α取代基是羟基、氨基或硫醇基团。所述喹诺酮可以与所述BP在所述BP的偕碳α取代基(X)处直接或间接缀合，如下式所图示。

[0084] 

缀合物，在含a-X的BP与喹诺酮之间

[0085] X＝O、NH、NR^1、S

[0086] R^1可以是烷基或取代的烷基、芳基或取代的芳基基团

[0087] 其中R可以是H、取代的和未取代的烷基、烷基氨基、烷基-芳基、芳基、烷基杂芳基或杂芳基。优选的BP是在两个膦酸基团之间的碳上具有偕羟基基团的那些。

[0088] 在任何一个或多个方面，所述双膦酸可以是可以被羟基(α-羟基)、氨基或硫醇取代的乙叉基双膦酸部分(依替膦酸)。在一些方面，双膦酸可以包括对羟基苯基乙叉基基团或其衍生物。在实施方式中，所述BP可以是临床上已知的BP，诸如帕米膦酸、阿仑膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、奈立膦酸和依替膦酸，其可以是如本文所述未修饰的或修饰的。

[0089] 在一些方面，所述制剂包括具有根据本文的式(41)、式(43)、式(44)和/或式(45)的式的化合物。

[0090] 所述药物制剂中的所述化合物或缀合物的量可以是有效杀死或抑制细菌的量。所述药物制剂中的所述化合物或缀合物的量可以是有效治疗、抑制或预防骨疾病的量。所述药物制剂中的所述化合物或缀合物的量可以是有效治疗、抑制或预防骨髓炎、骨坏死、种植体周围炎和/或牙周炎的量。所述药物制剂中的所述化合物或缀合物的量可以是用于前述的任何一种的预防性治疗的有效量。

[0091] 进一步地，在一种或多种实施方式中，提供了制备双膦酸-喹诺酮化合物、缀合物或其制剂的方法，所述方法包括将双膦酸与喹诺酮化合物或取代基连接，如在本文的任何一个或多个方面所述。还提供了在制备用于治疗本文所提及的疾病中的任何一种或多种的药物或药剂中使用任何一种或多种双膦酸-喹诺酮化合物或缀合物的方法。

[0092] 本文还提供了治疗有此需要的受试者中的骨疾病或感染，诸如骨髓炎的方法，所述方法可以包括以下步骤：向所述有此需要的受试者给药一定量，特别是有效量的如本文所提供的化合物或其药物制剂。本文还提供了治疗有此需要的受试者中的骨疾病，诸如包括青少年骨髓炎的血源性或局部骨髓炎以及与假体关节置换或骨坏死相关的感染的方法，

所述方法可以包括以下步骤:向所述有此需要的受试者给药一定量,特别是有效量的如本文所提供的化合物或其药物制剂。

[0093] 本文还提供了治疗有此需要的受试者中的种植体周围炎或牙周炎的方法,所述方法包括向所述有此需要的受试者给药一定量,特别是有效量的如本文所提供的化合物或其药物制剂。

[0094] 本文还提供了治疗有此需要的受试者中的糖尿病足病的方法,所述方法包括向所述有此需要的受试者给药一定量,特别是有效量的如本文所提供的化合物或其药物制剂。本文还提供了治疗有此需要的受试者中的糖尿病患者的骨感染(包括糖尿病足病)的方法,所述方法包括向所述有此需要的受试者给药一定量,特别是有效量的如本文所提供的化合物或其药物制剂。四肢和受感染的骨骼部位的相关的截肢、清创的减少可以由这些更强大的局部抗生素治疗模式造成。

[0095] 本文还提供了可以包括骨移植材料和如本文所述的化合物或其药物制剂的骨移植组合物,其中所述化合物或其药物制剂与所述骨移植材料相附连、结合、化学吸附或混合。所述骨移植材料可以是自体移植骨材料、同种异体移植骨材料、异种移植骨材料、合成骨移植材料或其任何组合。

[0096] 本文还提供了可以包括将如本文所述的骨移植组合物植入有此需要的受试者中的步骤的方法。

[0097] 本文还提供了预防或预防性治疗在骨或植入手术部位或在进行骨移植的手术部位的生物膜感染的方法,其中所述方法可以包括向有此需要的受试者给药如本文所述的化合物的步骤。

[0098] 本文还提供了预防或预防性治疗在骨或植入手术部位或在进行骨移植的手术部位的生物膜感染的方法,其中所述方法可以包括向有此需要的受试者植入如本文所述的骨移植组合物的步骤。

[0099] 对于本领域技术人员,本公开的用于纳米线模板合成的制造系统的其他化合物、组合物、制剂、方法、特征和优势将在审阅以下附图和详细描述之后显而易见或变得显而易见。旨在将所有这样的额外的系统、方法、特征和优点都包括在本说明书中,都在本公开的范围内,并由所附权利要求所保护。

附图说明

[0100] 当结合附图审阅下文所述的本公开的各种实施方式的详细描述之后,本公开的另外方面将更容易理解。

[0101] 图1示出了来自慢性骨髓炎患者的手术标本的扫描电镜图(SEM;放大倍率100×),示出骨内外表面定殖的特征性多层且基质封闭的生物膜;右上角的插图示出了致病的葡萄球菌生物膜病原体的高倍率视图(放大倍率5000×)。[处理样本以用于SEM,溅射涂覆铂并用以5kv在二次电子模式下操作的XL 30S SEM(FEG,FEI Co.,Hillsboro,OR)成像]。

[0102] 图2展示了一般性BP喹诺酮缀合物靶向策略。

[0103] 图3示出了BP-FQ缀合物的实施方式。

[0104] 图4示出了额外的BP-Ab缀合物设计。

[0105] 图5示出了用于合成有O-硫代氨基甲酸酯接头的BP-Ab缀合物的合成方案的实施

方式。

[0106] 图6示出了用于合成α-OH保护的BP酯的方案的实施方式。

[0107] 图7示出了用于合成BP 3-接头3-环丙沙星的方案的实施方式。

[0108] 图8示出了BP-氨基甲酸酯-莫昔沙星BP缀合物及合成方案。

[0109] 图9示出了BP-氨基甲酸酯-加替沙星BP缀合物及合成方案。

[0110] 图10示出了BP-对羟基苯基乙酸-环丙沙星BP缀合物及合成方案。

[0111] 图11示出了BP-OH-环丙沙星BP缀合物及合成方案。

[0112] 图12示出了BP-O-硫代氨基甲酸酯-环丙沙星BP缀合物及合成方案。

[0113] 图13示出了BP-S-硫代氨基甲酸酯-环丙沙星BP缀合物及合成方案。

[0114] 图14示出了BP-间苯二酚-环丙沙星BP缀合物及合成方案。

[0115] 图15示出了BP-对苯二酚-环丙沙星BP缀合物及合成方案。

[0116] 图16示出了BP-氟喹诺酮类的通用结构的一种实施方式。

[0117] 图17示出了各种BP-氟喹诺酮缀合物。

[0118] 图18示出了包含芳基基团的膦酸类的通用结构的一种实施方式。

[0119] 图19示出了各种BP,其中X可以是F、Cl、Br或I。

[0120] 图20示出了有末端伯胺的各种BP。

[0121] 图21示出了各种BP与包含末端羟基和胺官能团的接头偶联,其中R可以是利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、帕米膦酸或阿仑膦酸。

[0122] 图22示出了各种BP-帕米膦酸-环丙沙星缀合物。

[0123] 图23示出了各种BP-阿仑膦酸-环丙沙星缀合物。

[0124] 图24描绘了用于本发明缀合的药理惰性BP的实例:中等(A/E)、高(B/F)和低(C/G)亲和力BP以及更长的苯基烷基链BP(D/H)。

[0125] 图25描绘了可以在本发明缀合中使用的药理低活性BP的实例。

[0126] 图26描绘了动态监测在不同浓度的缀合物的存在下的生物膜生长的结果。培养物(-------),金黄色葡萄球菌与ECC 2μg/ml 1(-------)、ECC 5μg/ml 1(-------)、ECC 10μg/ml(-------)、ECX 2μg/ml 1(-------)、ECX 5μg/ml 1(-------)、ECX 10μg/ml(-------)。

[0127] 图27描绘了对于ECC和ECX的金黄色葡萄球菌MIC_{50}分析。ECC(-------)、ECX(-------)。

[0128] 图28描绘了动态监测在不同浓度的母体抗生素的存在下的生物膜生长的结果。培养物(-------),金黄色葡萄球菌与环丙沙星0.1μg/ml 1(-------)、环丙沙星0.25μg/ml(-------)、环丙沙星1μg/ml(-------)、环丙沙星2μg/ml(-------)、莫昔沙星0.05μg/ml(-------)、莫昔沙星0.1μg/ml(-------)、莫昔沙星0.2μg/ml(-------)、莫昔沙星0.5μg/ml(-------)。

[0129] 图29描绘了对于环丙沙星和莫昔沙星的金黄色葡萄球菌MIC_{50}分析。莫昔沙星(-------)、环丙沙星(-------)。

[0130] 图30描绘了动态监测在环丙沙星/莫昔沙星+HA(10μg/ml)的存在下的生物膜生长的结果。培养物(-------),金黄色葡萄球菌与环丙沙星0.01μg/ml(-------)、环丙沙星0.075μg/ml(-------)、环丙沙星0.1μg/ml(-------)、环丙沙星0.25μg/ml(-------)、环丙

沙星0.50μg/ml(-------)、莫昔沙星0.02μg/ml(-------)、莫昔沙星0.04μg/ml(-------)、莫昔沙星0.08μg/ml(-------)、莫昔沙星0.1μg/ml(-------)、莫昔沙星0.2μg/ml(-------)。

[0131] 图31描绘了对于环丙沙星/莫昔沙星+HA的金黄色葡萄球菌MIC_{50}分析。莫昔沙星(-------)、环丙沙星(-------)。

[0132] 图32描绘了动态监测在ECC/ECX+HA(10μg/ml)的存在下的生物膜生长的结果。培养物(-------),金黄色葡萄球菌与ECC 1μg/ml(-------)、ECC 5μg/ml(-------)、ECC 7.5μg/ml(-------)、ECC 10μg/ml(-------)、ECX 1μg/ml(-------)、ECX 2.5μg/ml(-------)、ECX 7.5μg/ml(-------)、ECX 10μg/ml(-------)。

[0133] 图33描绘了对于ECC/ECX+HA的金黄色葡萄球菌MIC_{50}分析。ECX(-------)、ECC(-------)。

具体实施方式

[0134] 在更详细地描述本公开之前,应当理解,本公开不限于所描述的特定实施方式,且因此当然是可以变化的。还应当理解,本文所用术语的目的仅是描述特定实施方式,而不旨在限制。

[0135] 在提供数值范围的情况下,应当理解,除非上下文另有明确指明,否则在该范围的上下限与在所述范围内的任何其他所述或插入值之间的每个插入值,至下限的单位的十分之一,都包含在本公开之内。这些较小范围的上下限可以独立地包括在该较小范围内,且也包含在本公开之内,受所述范围内任何明确地排除的限值的约束。当所述范围包括限值中的一个或两个时,排除所述包括的限值的任一或两者的范围也包括在本公开内。

[0136] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属的领域中普通技术人员所通常理解相同的含义。尽管类似或等同于本文所述的那些的任何方法和材料均也可以用于本公开的实践或测试,但现在描述优选的方法和材料。

[0137] 本说明书中引用的所有出版物和专利通过援引并入本文,就像每个单独的出版物或专利是具体地和单独地表示为通过援引并入的,且通过援引并入本文以公开并描述与出版物所引用的地方相关联的方法和/或材料。任何出版物的引用为其申请日之前的公开,且不应理解为承认由于先前公开而使本公开不享受早于这些出版物的权利。此外,所提供的出版日期可能不同于实际出版日期,其可能需要单独确认。

[0138] 对于本领域技术人员来说在阅读本公开之后显而易见的是,本文描述并说明的每个单独的实施方式具有分立的组成部分和特征,其可以容易地与任何其他数个实施方式的特征分离或与任何其他数个实施方式的特征组合,而不脱离本公开的范围或精神。任何所列方法都可以按照所列事件的顺序或逻辑上可能的任何其他顺序来进行。

[0139] 除非另外指明,否则本公开的实施方式将使用分子生物学、微生物学、纳米技术、药理学、有机化学、生物化学、植物学等本领域内的技术。这些技术在文献中有全面阐述。

[0140] 定义

[0141] 除非本文另有说明,否则提供了以下定义。

[0142] 如本文所用,“约”、“大约”等等,当与数值变量结合使用时,通常是指变量的值以及所有在实验误差(例如,在均值的95%置信区间之内)或在指定值的±10%之内(以较大

者为准)的变量的值。

[0143] 如本文可替换使用的,“受试者”、“个体”或“患者”是指脊椎动物,优选地是哺乳动物,更优选地是人类。哺乳动物包括但不限于鼠类、猿类、人类、家畜、竞技动物和宠物。术语“宠物”包括狗、猫、豚鼠、小鼠、大鼠、兔、雪貂等等。术语“家畜”包括马、绵羊、山羊、鸡、猪、牛、驴、美洲驼、羊驼、火鸡等等。

[0144] 如本文所用,“对照”可以是指出于比较目的而在实验中使用的可替代受试者或样本,并将其包括在内以最小化或区分除独立变量之外的变量的影响。

[0145] 如本文所用,“类似物(analog)”或“类似物(analogue)”,诸如本文所述的双膦酸的类似物,可以是指与母体分子结构相近的成员或附加的母体分子,诸如双膦酸。

[0146] 如本文所用,“缀合”可以指两个或更多个化合物通过一个或多个共价键或非共价键直接地相互附连。如本文所用的术语“缀合”也可以指两个或更多个化合物通过中间化合物(诸如接头)间接地相互附连。

[0147] 如本文所用,“药物制剂”是指活性剂、化合物或成分与药学上可接受的载体或赋形剂的组合,使该组合物适于在体外、体内或离体诊断、治疗性或预防使用。

[0148] 如本文所用,“药学上可接受的载体或赋形剂”是指通常安全、无毒且不是生物学上或其他不良的用于制备药物制剂的载体或赋形剂,并包括对于兽用及人类药物使用可接受的载体或赋形剂。如说明书和权利要求中所用的“药学上可接受的载体或赋形剂”包括一种和多于一种的这样的载体或赋形剂两者。

[0149] 如本文所用,“药学上可接受的盐”是指任何酸或碱加成盐,其反离子对于以该盐的药物剂量给药的受试者是无毒的。

[0150] 如本文所用,“活性剂”或“活性成分”是指组合物的一种或多种组分,组合物的全部或部分效果归因于该组分。

[0151] 如本文所用,“剂量”、“单位剂量”或“用量”是指适合用于受试者的身体上的离散单位,每个单位包含预定量的BP缀合物,诸如本文所述的BP喹诺酮缀合物、组合物或制剂,其经过计算以产生所需响应或与其给药相关联的响应。

[0152] 如本文所用,“衍生物”是指与该化合物具有相同或相似的核心结构但具有至少一种结构差异的任何化合物,包括取代、缺失和/或添加一种或多种原子或官能团。术语“衍生物”并不意味着该衍生物是由母体化合物作为起始材料或中间体合成的,尽管可能是这种情况。术语“衍生物”可以包括母体化合物的前药或代谢物。衍生物包括其中母体化合物中的游离氨基基团已被衍生化形成胺盐酸盐类、对甲苯磺酰胺类、苯甲氧基甲酰胺类、叔丁氧基甲酰胺类、硫代氨基甲酸乙酯类衍生物、三氟乙酰胺类、氯乙酰胺类或甲酰胺类的化合物。衍生物包括其中母体化合物中的羧基基团已被衍生化形成甲酯和乙酯或其他类型的酯、酰胺、异羟肟酸或酰肼的化合物。衍生物包括其中母体化合物中的羟基基团已被衍生化形成O-酰基、O-氨基甲酰基或O-烷基衍生物的化合物。衍生物包括其中母体化合物中的氢键供体基团被另一个氢键供体基团(诸如OH、NH或SH)替换的化合物。衍生物包括用另一氢键受体基团(诸如酯、醚、酮、碳酸盐/酯、叔胺、亚胺、硫酮、砜、叔酰胺和硫化物)替换母体化合物中的氢键受体基团。“衍生物”还包括例如用饱和或不饱和环己烷或其他更复杂的例如含氮环替换环戊烷环的扩展,以及具有各种基团的这些环的扩展。

[0153] 如本文所用,“给药”是指口服、局部、静脉内、皮下、经皮、透皮、肌肉内、关节内、肠

胃外、小动脉内、皮内、心室内、颅内、腹腔内、病灶内、鼻内、直肠、阴道、通过吸入或通过植入型药库给药。术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌肉内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。

[0154] 如本文所用的术语“取代”是指本文所述化合物的所有可允许的取代基。从广义上讲，可允许的取代基包括有机化合物的非环状和环状、支化和非支化、碳环和杂环、芳香族和非芳香族取代基。例示性取代基包括但不限于卤素、羟基基团或任何其他包含任意数目的碳原子(例如1-14个碳原子)的有机基团，并且还任选地包括一种或多种杂原子，诸如以线性、支化或环状结构格式分组的氧、硫或氮。代表性取代基包括烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团。

[0155] 如本文所用，“取代基”或“合适的取代基”意为化学上和药学上可接受的基团，即不会显著干扰本发明化合物的制备或使其功效失效的部分。这样的合适的取代基可以常规地由本领域技术人员选择。合适的取代基包括但不限于以下：卤素、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_1-C_6卤代烷基、C_1-C_6烷氧基、C_1-C_6卤代烷氧基、C_2-C_6炔基、C_3-C_8环烯基、(C_3-C_8环烷基)C_1-C_6烷基、(C_3-C_8环烷基)C_2-C_6烯基、(C_3-C_8环烷基)C_1-C_6烷氧基、C_3-C_7杂环烷基、(C_3-C_7杂环烷基)C_1-C_6烷基、(C_3-C_7杂环烷基)C_2-C_6烯基、(C_3-C_7杂环烷基)C_1-C_6烷氧基、羟基、羧基、氧代、磺酰基、C_1-C_6烷基磺酰基、芳基、杂芳基、芳氧基、杂芳氧基、芳烷基、杂芳烷基、芳烷氧基、杂芳烷氧基、硝基、氰基、氨基、C_1-C_6烷基氨基、二-(C_1-C_6烷基)氨基、氨基甲酰基、(C_1-C_6烷基)羰基、(C_1-C_6烷氧基)羰基、(C_1-C_6烷基)氨基羰基、二-(C_1-C_6烷基)氨基羰基、芳基羰基、芳氧基羰基、(C_1-C_6烷基)磺酰基和芳基磺酰基。除了合适的取代基可能不会被进一步任选地取代之外，以上所列作为合适的取代基的基团如下文中所定义。

[0156] 术语“烷基”是指饱和脂肪族基团的基团(即去除了一个氢原子的烷烃)，包括直链烷基基团、支链烷基基团、环烷基(脂环族)基团、烷基取代的环烷基基团和环烷基取代的烷基基团。

[0157] 在一些实施方式中，直链或支链烷基在其主链中可以具有30个或更少的碳原子(例如，对于直链为C_1-C_{30}，且对于支链为C_3-C_{30})。在其他实施方式中，直链或支链烷基在其主链中可以包含20个或更少、15个或更少或者10个或更少的碳原子。同样地，在一些实施方式中，环烷基在其环结构中可以具有3-10个碳原子。在这些实施方式的一些中，环烷基在环结构中可以具有5、6或7个碳。

[0158] 如本文所用的术语“烷基”(或“低级烷基”)旨在包括“未取代的烷基”和“取代的烷基”两者，其后者是指有替换了烃主链上的一个或多个碳上的氢的一个或多个取代基的烷基部分。这样的取代基包括但不限于卤素、羟基、羰基(诸如羧基、烷氧羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(诸如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸基、膦酸基、亚膦酸基、氨基、酰胺基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸基、磺酸基、氨磺酰基、磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳香族或杂芳香族部分。

[0159] 除非碳的数目另有规定，否则如本文所用的“低级烷基”意为如上所定义的烷基基团，但在其主链结构中具有一至十个碳。同样地，“低级烯基”和“低级炔基”具有相似的链长度。

[0160] 本领域技术人员将会理解，如果合适的话，在烃链上取代的部分本身可以被取代。例如，取代的烷基的取代基可以包括卤素、羟基、硝基、硫醇、氨基、叠氮基、亚氨基、酰胺基、磷酰基(包括膦酸基和亚膦酸基)、磺酰基(包括硫酸基、磺酰胺基、氨磺酰基和磺酸基)和甲硅烷基基团，以及醚、烷硫基、羰基(包括酮、醛、羧酸基和酯)、-CF_3、-CN等等。环烷基可以以同样的方式被取代。

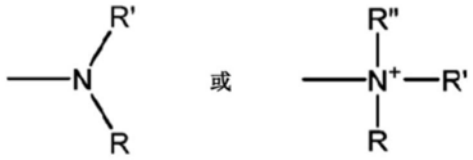
[0161] 如本文所用的术语“杂烷基”是指包含至少一个杂原子的直链或支链或环状含碳基团或其组合。合适的杂原子包括但不限于O、N、Si、P、Se、B和S，其中磷原子和硫原子任选地被氧化，且氮杂原子任选地被季铵化。杂烷基可以如上述对烷基基团限定的被取代。

[0162] 术语“烷硫基”是指具有与其附连的硫基的如上限定的烷基基团。在优选的实施方式中，“烷硫基”部分由-S-烷基、-S-烯基和-S-炔基之一来表示。代表性的烷硫基基团包括甲硫基、乙硫基等等。术语“烷硫基”还包括环烷基基团、烯烃和环烯烃基团，以及炔烃基团。“芳硫基”是指芳基或杂芳基基团。芳硫基基团可以如上述对烷基基团限定的被取代。

[0163] 术语“烯基”和“炔基”是指长度且与上述烷基可能取代类似，但各自包含至少一个双键或三键的不饱和脂肪族基团。

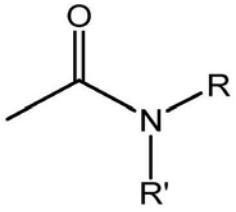
[0164] 如本文所用的术语“烷氧基”或“烷氧基”是指具有与其附连的氧基的如上限定的烷基基团。代表性烷氧基基团包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等等。“醚”是通过氧共价连接的两个烃。因此，使得烷基为醚或类似于烷氧基的烷基的取代基，诸如可以由-O-烷基、-O-烯基和-O-炔基之一来表示。如本文可替换使用的术语“芳氧基(aroxy)”和“芳氧基(aryloxy)”可以用-O-芳基或O-杂芳基来表示，其中芳基和杂芳基如以下定义。烷氧基和芳氧基基团可以如上文对于烷基描述被取代。

[0165] 术语“胺”和“氨基”(及其质子化形式)是本领域公知的，且是指未取代的和取代的胺两者，例如，可以用以下通式表示的部分：

[0166] 

[0167] 其中，R、R’和R”各自独立地表示氢、烷基、烯基、$(CH2)_m$-R_C，或R和R’与和它们附连的N原子一起构成环结构中有4至8个原子的杂环；R_C表示芳基、环烷基、环烯基、杂环或多环；且m是零或1至8范围内的整数。在一些实施方式中，R或R’中只有一个可以是羰基，例如，R、R’和氮一起不形成酰亚胺。在其他实施方式中，术语“胺”不包括酰胺，例如，其中R和R’中的一个代表羰基。在另外实施方式中，R和R’(和任选地R”)各自独立地表示氢、烷基或环烷基、烯基或环烯基或炔基。因此，如本文所用的术语“烷基胺”意为具有与其附连的取代的(如以上对于烷基所描述的)或未取代的烷基的如上限定的胺基团，即R和R’中至少一个是烷基基团。

[0168] 术语“酰胺基”在本领域公知为氨基取代的羰基，并包括可以用以下通式表示的部分：

[0169] 

[0170] 其中,R和R'如上文所限定。

[0171] 如本文所用,“芳基”是指C_5-C_{10}-元芳香族、杂环、稠合芳香族、稠杂环、双芳香族或双杂环体系。广义上定义的,如本文所用的“芳基”包括可以包括零至四个杂原子的5-、6-、7-、8-、9-和10-元单环芳香族基团,例如苯、吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、三唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪、嘧啶等等。那些环结构中具有杂原子的芳基基团也可以称为“芳基杂环”或“杂芳香族”。芳环可以在一个或多个环位置被一个或多个取代基取代,取代基包括但不限于卤素、叠氮化物、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、烷氧基、氨基(或季铵化氨基)、硝基、巯基、亚氨基、酰胺基、膦酸基、亚膦酸基、羰基、羧基、甲硅烷基、醚、烷硫基、磺酰基、磺酰胺基、酮、醛、酯、杂环基、芳香族或杂芳香族部分、-CF_3、-CN及其组合。术语“芳基”包括苯基。

[0172] 术语“芳基”还包括具有两个或更多个环的多环体系,其中两个相邻的环共用两个或更多个碳(即“稠环”),其中至少一个环是芳香族的,例如,其他一个或多个环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基和/或杂环。杂环的实例包括但不限于苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并硫代呋喃基、苯并硫代苯基、苯并噁唑基、苯并噁唑啉基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并异噁唑基、苯并异噻唑基、苯并咪唑啉基、咔唑基、4aH咔唑基、咔啉基、苯并二氢吡喃基、苯并吡喃基、噌啉基、十氢喹啉基、2H,6H-1,5,2-二噻嗪基、二氢呋喃并[2,3b]四氢呋喃、呋喃基、呋咱基、咪唑烷基、咪唑啉基、咪唑基、1H-吲唑基、假吲哚基(indolenyl)、二氢吲哚基、吲嗪基、吲哚基、3H-吲哚基、靛红酰基(isatinoyl)、异苯并呋喃基、异苯并二氢吡喃基、异吲唑基、异二氢吲哚基、异吲哚基、异喹啉基、异噻唑基、异噁唑基、亚甲基二氧苯基、吗啉基、萘啶基、八氢异喹啉基、噁二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、噁唑烷基、噁唑基、羟吲哚基、嘧啶基、菲啶基、菲咯啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁噻(phenoxathinyl)、吩噁嗪基、酞嗪基、哌嗪基、哌啶基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、胡椒基、蝶啶基、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并噁唑、吡啶并咪唑、吡啶并噻唑、吡啶基(pyridinyl)、吡啶基(pyridyl)、嘧啶基、吡咯烷基、吡咯啉基、2H-吡咯基、吡咯基、喹唑啉基、喹啉基、4H-喹嗪基、喹喔啉基、奎宁环基、四氢呋喃基、四氢异喹啉基、四氢喹啉基、四唑基、6H-1,2,5-噻二嗪基、1,2,3-噻二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,3,4-噻二唑基、噻蒽基、噻唑基、噻吩基、噻吩并噻唑基、噻吩并噁唑基、噻吩并咪唑基、噻吩基和呫吨基。一个或多个环可以如上述对“芳基”限定的被取代。

[0173] 如本文所用的术语“芳烷基”是指被芳基基团(例如芳香族或杂芳香族基团)取代的烷基基团。

[0174] 术语“芳烷基氧基”可由-O-芳烷基表示,其中芳烷基如上定义。

[0175] 如本文所用的术语“碳环”是指其中一个或多个环上的每个原子都是碳的一个或多个芳香族或非芳香族环。

[0176] 如本文所用，“杂环”或“杂环的”是指包含3-10个环原子(并在一些实施方式中包含5-6个环原子)的其中环原子是碳和一至四个各自选择以下组的杂原子的单环或双环结构：非过氧化的氧、硫和N(Y)，其中Y不存在或者是H、O、(C_1-C_{10})烷基、苯基或苄基，并任选地包含1-3个双键，以及任选地被一个或多个取代基取代。杂环的实例包括但不限于苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并硫代呋喃基、苯并硫代苯基、苯并噁唑基、苯并噁唑啉基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并异噁唑基、苯并异噻唑基、苯并咪唑啉基、咔唑基、4aH咔唑基、咔啉基、苯并二氢吡喃基、苯并吡喃基、噌啉基、十氢喹啉基、2H,6H-1,5,2-二噻嗪基、二氢呋喃并[2,3b]四氢呋喃、呋喃基、呋咱基、咪唑烷基、咪唑啉基、咪唑基、1H-吲唑基、假吲哚基、二氢吲哚基、吲嗪基、吲哚基、3H-吲哚基、靛红酰基、异苯并呋喃基、异苯并二氢吡喃基、异吲唑基、异二氢吲哚基、异吲哚基、异喹啉基、异噻唑基、异噁唑基、亚甲基二氧苯基、吗啉基、萘啶基、八氢异喹啉基、噁二唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、噁唑烷基、噁唑基、氧杂环庚烷基、氧杂环丁烷基、羟吲哚基、嘧啶基、菲啶基、菲咯啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁噻、吩噁嗪基、酞嗪基、哌嗪基、哌啶基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、胡椒基、蝶啶基、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并噁唑、吡啶并咪唑、吡啶并噻唑、吡啶基(pyridinyl)、吡啶基(pyridyl)、嘧啶基、吡咯烷基、吡咯啉基、2H-吡咯基、吡咯基、喹唑啉基、喹啉基、4H-喹嗪基、喹喔啉基、奎宁环基、四氢呋喃基、四氢异喹啉基、四氢吡喃基、四氢喹啉基、四唑基、6H-1,2,5-噻二嗪基、1,2,3-噻二唑基、1,2,4-噻二唑基、1,2,5-噻二唑基、1,3,4-噻二唑基、噻蒽基、噻唑基、噻吩基、噻吩并噻唑基、噻吩并噁唑基、噻吩并咪唑基、噻吩基和呫吨基。杂环基团可以任选地如上文对烷基和芳基限定的在一个或多个位置被一个或多个取代基取代，例如，卤素、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、氨基、硝基、巯基、亚氨基、酰胺基、磷酸基、膦酸基、亚膦酸基、羰基、羧基、甲硅烷基、醚、烷硫基、磺酰基、酮、醛、酯、杂环基、芳香族或杂芳香族部分、-CF_3、-CN等等。术语“杂环”或“杂环的”可以用于描述可包括杂环或杂环的环的化合物。

[0177] 术语“羰基”是本领域公知的，并包括如可以用以下通式表示的这样的部分：

[0178] 

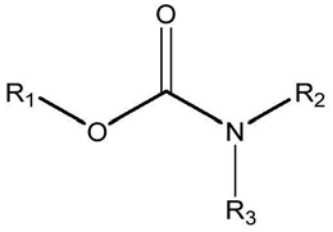
[0179] 其中，X为键或代表氧或硫，且R和R’如上所定义。当X是氧且R或R’不是氢时，该式表示“酯”。当X是氧且R如上所定义时，该部分在本文中被称为羧基基团，且特别地当R是氢时，该式表示“羧酸”。当X是氧且R’是氢时，该式表示“甲酸基”。通常，当上式中的氧原子被硫替换时，该式表示“硫代羰基”基团。当X是硫且R或R’不是氢时，该式表示“硫酯”。当X是硫且R是氢时，该式表示“硫代羧酸”。当X是硫且R’是氢时，该式表示“硫代甲酸基”。另一方面，当X是键且R不是氢时，上式表示“酮”基团。当X是键且R是氢时，上式表示“醛”基团。

[0180] 如本文所用的术语“杂原子”意为除碳或氢以外的任何元素的原子。示例性杂原子包括但不限于硼、氮、氧、磷、硫、硅、砷和硒。杂原子，诸如氮，可以具有氢取代基和/或满足杂原子价态的本文所述有机化合物的任何可允许的取代基。应理解的是，“取代”或“被取代”包括的隐含条件是这样的取代符合被取代的原子和取代基的允许价态，并且该取代产生的是稳定的化合物，即不会自发地进行诸如重排、环化、消除等转变的化合物。

[0181] 术语“羟基”是指“—OH”基团。

[0182] 如本文所用，术语“硝基”是指-NO_2；术语“卤素”指-F、-Cl、-Br或-I；术语“巯基”是指-SH；术语“羟基”是指-OH；并且术语“磺酰基”是指-SO_2-。

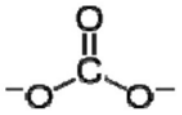
[0183] 如本文所用，“氨基甲酸酯”可用于指从氨基甲酸(NH_2COOH)衍生的化合物，并可以包括氨基甲酸酯类。“氨基甲酸酯”可具有以下的一般结构：

[0184] 

，

[0185] 其中R_1、R_2和R_3可以是任何可允许的取代基。

[0186] 如本文所用，“碳酸酯”可以用来指从碳酸(H_2CO_3)衍生的化合物，并且可以包括碳酸酯类。“碳酸酯”可具有以下的一般结构：

[0187] 

。

[0188] 如本文所用，“有效量”可以指本文所述的组合物或本文所述的药物制剂的量，其将引起研究者、兽医、医师或其他临床医生正在寻求的组织、系统、动物、植物、原生动物、细菌、酵母或人类的期望的生物学或医学响应。期望的生物学响应可以是对骨形成和/或重塑的调节，包括但不限于对骨吸收和/或BP缀合物(诸如本文所述的BP喹诺酮缀合物)的摄取的调节。有效量将取决于组合物或药物制剂的确切化学结构、正被治疗或预防的病原体和/或其感染、疾病、疾患、综合征或症状的严重程度、给药途径、给药时间、排泄率、药物组合、治疗医师的判断、剂型以及待治疗的受试者的年龄、体重、总体健康状况、性别和/或饮食而变化。“有效量”可以指有效抑制微生物(包括但不限于细菌或其种群)的生长或繁殖的本文所述的组合物的量。“有效量”可以指杀死微生物(包括但不限于细菌或其种群)的本文所述的组合物的量。“有效量”可以指有效治疗和/或预防有此需要的受试者中的骨髓炎的本文所述的组合物的量。

[0189] 术语“喹诺酮”、“喹诺酮抗微生物分子”和“噁唑烷酮抗微生物剂”或其“取代基”或“衍生物”及相关术语具有相同的含义，并且指是“喹诺酮”这一公知类别的部分的抗微生物剂，如本文更详细描述的。

[0190] 如本文所用，“治疗性”通常可以指治疗、治愈和/或改善疾病、疾患、病症或副作用，或降低疾病、疾患、病症或副作用的进展速率。该术语还包括在其范围内增强正常的生理功能、姑息治疗和对其疾病、疾患、病症、副作用或症状的部分补救。

[0191] 术语“抗细菌”包括抑制、阻止或逆转细菌生长的那些化合物，抑制、阻止或逆转细菌酶或生化途径的活性的那些化合物，杀死或损害细菌的那些化合物以及阻断或减慢细菌感染的发展的那些化合物。

[0192] 如本文所用，术语“治疗(treating)”和“治疗(treatment)”通常可以指获得期望的药理和/或生理效果。在预防或部分预防其疾病、症状或病症方面，该效果可以是预防性的。并且如本文所用，旨在意指至少与受试者(包括哺乳动物，诸如人类)中的细菌感染相关的疾病状况的缓解，所述疾病状况通过减少任何细菌，诸如革兰氏阳性生物的生长、复制

和/或繁殖而减轻，并且所述缓解包括完全或部分医治、治愈、抑制、缓解、改善和/或减轻疾病状况。

[0193] 术语“预防”旨在意指至少减少与细菌感染相关的疾病状况将在哺乳动物，优选人类中发展的可能性。术语“预防(prevent)”和“预防(prevention)”旨在意指阻断或停止与细菌感染相关的疾病状况在哺乳动物，优选人类中的发展。特别地，这些术语与哺乳动物的治疗有关，以降低可能性(“预防”)或预防细菌感染的发生，诸如在涉及骨修复或置换的手术期间或之后可能发生的细菌感染。这些术语还包括当发现哺乳动物易患疾病状况但尚未被诊断为患有疾病状况时，降低细菌感染的可能性(“预防”)或预防细菌感染。例如，通过在这样的感染发生之前给药式(1)和/或式(2)的化合物或其药学上可接受的前药、盐、活性代谢物或溶剂化物，可以降低细菌感染在哺乳动物中的可能性或预防细菌感染。

[0194] 如本文所用，“协同效应”、“协同作用”或“协同”是指两个或更多个分子、化合物、物质、因素或组合物之间产生的大于或不同于其各自效应加和的效应。

[0195] 如本文所用，“累加效应”是指两个或更多个分子、化合物、物质、因素或组合物之间产生的等于或等同于其各自效应加和的效应。

[0196] 如本文所用，术语“生物相容性”是指材料连同其任何代谢物或降解产物对接受者是通常无毒的，且不会对接受者造成任何显著不利的影响。一般来说，生物相容性材料是当向患者给药时不会引起显著的炎症或免疫响应的材料。

[0197] 如本文所用，术语“骨髓炎”可以指急性或慢性骨髓炎，和/或糖尿病足骨髓炎、糖尿病慢性骨髓炎、假体关节感染、牙周炎、种植体周围炎、骨坏死，和/或血源性骨髓炎和/或其他骨感染。

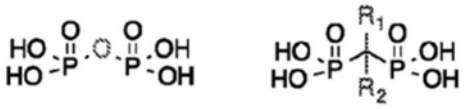
[0198] 讨论

[0199] 感染性骨疾病，或骨髓炎，是世界范围内人和兽医医学的主要问题，并由于潜在的威胁肢体的后遗症和死亡而可能是灾难性的。骨髓炎的治疗方法主要是抗微生物，且通常是长期的，并在许多情况下通过手术干预来控制感染。在大多数长骨骨髓炎病例中，致病病原体是金黄色葡萄球菌的感染和相应的生物膜，与它们的浮游(自由漂浮)对应物不同，其是与骨结合的。已知其他骨感染和相应的生物膜是由广泛的革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌引起的。

[0200] 骨髓炎的生物膜介导的性质在临床和实验环境中是重要的，因为许多生物膜病原体是无法培养的，并且在生长速度和抗微生物耐药性方面表现出改变的表型(与它们的浮游对应物相比)。用常规的抗生素难以消灭生物膜，这部分解释了为什么通常成功率较高的抗微生物治疗在骨科感染中却伴随着耐药生物膜病原体的发展、抗微生物剂在骨中差的渗透以及全身毒性相关的不良事件而无法成功。

[0201] 为了克服与骨髓炎治疗相关的许多挑战，人们对使用骨靶向缀合物的药物递送方法的兴趣日益增加，以实现在骨中的更高或更持久的局部抗生素治疗浓度，同时最小化全身暴露。

[0202] 亚甲基双膦酸或取代的甲叉基双膦酸部分，通常是指为治疗剂的“双膦酸”(BP)，其用于治疗许多骨疾患。双膦酸P-C-P基团模拟骨代谢的天然存在的介质无机焦磷酸的P-O-P键。以下示出酸形式的焦磷酸与亚甲基双膦酸的结构关系。各个BP可由共价附连的取代基R_1和R_2限定。

[0203] 

[0204] 双膦酸的桥连碳可以被修饰基团(R_1、R_2)取代以赋予衍生物特定的生物学特性。BP对HA(在骨,特别是在高骨转换的部位发现的主要的无机材料)展现出强大的结合亲和力,并且它们对化学和生物降解都异常稳定。通常不了解BP也会穿越身体的软和硬组织(例如内皮、骨膜、HA)以靶向骨以及骨中的小管网络和血管通道。BP的这些高度特异性的骨靶向特性使其成为将药物或大分子递送至骨表面的理想载体。

[0205] 与双膦酸(BP)(例如骨吸附的BP)缀合的喹诺酮并且特别是氟喹诺酮抗生素代表了一种有前景的方法,因为每种成分的安全性的临床追踪记录都很长,而且它们的生化特性也很优越。在此背景下的氟喹诺酮家族的早期研究中,环丙沙星在与BP结合时表现出最好的结合和微生物学特性。环丙沙星在此背景下的再利用有几个优点:它可以口服或静脉内给药,有相对生物等效性,它具有对包括最常见的骨髓炎病原体在内的广谱抗微生物活性,它在临床上可实现的剂量下显示有杀菌活性,且它是氟喹诺酮家族中最便宜的药物。

[0206] BP家族的特异性骨靶向特性使它们成为在骨髓炎药物治疗中将抗生素引入至骨的理想载体。BP与钙形成牢固的双齿和三齿键,并因此聚集在羟基磷灰石(HA)中,特别是在活跃的新陈代谢或感染和炎症部位。BP对化学和生物降解两者也表现出优异的稳定性。多年以来,通过与BP缀合将环丙沙星靶向骨的概念在许多报道中都有讨论。

[0207] 尽管BP和喹诺酮药物(诸如环丙沙星)具有这些正面特性,但目前对生成包含BP和喹诺酮的前体药物的尝试均尚未成功。大多数尝试导致全身性不稳定的前体药物或不可裂解的缀合物,发现其大部分由于干扰药效需求,使得缀合物的任一组分均失去活性。例如,Delorme et al.(WO 2007/138381)描述了使用酰氧基化学邻元素(chemical neighbor)来活化氨基甲酸烷基酯接头以从双膦酸上裂解噁唑烷酮,但是这似乎在血流中裂解得太活跃了。类似的发现已被Houghton et al 2008J.Medicinal Chemistry,51:6955-6969描述。并且已由Morioka et.al(“Design,synthesis,and biological evaluation of novel estradiol-bisphosphonate conjugates as bone-specific estrogens,”Bioorganic& Medicinal Chemistry 18(2010)1143-1148)和Arns et.al(“Design and synthesis of novel bone-targeting dual-action pro-drugs for the treatment and reversal of osteoporosis,”Bioorganic&Medicinal Chemistry 20(2012)2131-2140)示出氨基甲酸烷基酯太稳定而不能用作用于骨靶向的活性缀合物的“靶向和释放”连接。

[0208] 认识到目前BP喹诺酮缀合物的缺陷后,本文描述了可以包含可以与喹诺酮(诸如环丙沙星、莫昔沙星、西他沙星或奈诺沙星)可释放地缀合的BP的BP喹诺酮缀合物。在实施方式中,BP喹诺酮缀合物可以选择性地将喹诺酮递送至受试者的骨、骨移植物和或骨移植替代物(即可以靶向骨、骨移植物或骨移植替代物)。在一些实施方式中,BP喹诺酮缀合物可以释放喹诺酮。本文还提供了合成BP喹诺酮缀合物的方法以及用本文所提供的BP喹诺酮缀合物中的一种或多种治疗或预防骨髓炎或其他骨感染的方法。

[0209] 本文提供的组合物可以使用“靶向和释放接头”策略,其中可以通过将抗生素或抗微生物剂(例如喹诺酮)附连到BP来制成可释放的且骨特异性靶向的双膦酸-抗生素(BP-Ab)缀合物。在任何一个或多个方面,BP可以是使用可裂解或可逆的接头,诸如氨基甲酸酯、

硫代氨基甲酸酯、腙、或碳酸酯的药理非活性BP或药理低活性BP，使得通过降低的pH和/或酶促环境，使抗微生物剂可以在与骨表面结合后释放，其通常在骨吸收或感染的活性部位被发现。

[0210] 在任何一个或多个方面，喹诺酮可以附连至羟基BP，直接或间接附连至BP的两个膦酸基团之间的碳上的偕羟基基团。这与使用氨基甲酸芳酯将喹诺酮在除α羟基、α硫醇或α氨基位点以外的位点处以其他方式附连或连接至BP形成对比。为了足够地活化附连或接头以进行裂解(“靶向和释放”概念)，本公开利用其被双膦酸的α碳或取代基独特地活化以充足释放的氨基甲酸酯(和相关物)。在本文的任何一个或多个方面，已知的临床上使用的BP的所有类似物是优选的。依替膦酸和MHDP或亚甲基羟基BP可以是最优选的。

[0211] 本发明的化学和缀合物设计还允许裂解以释放两种已知的(临床上使用的)药物，喹诺酮和BP(特别是临床上使用的BP)。二氧化碳是来自接头的唯一的其他释放组分。因此，释放组分不存在新的安全问题。先前未知的是与双膦酸的偕羟基基团的连接是否将适当裂解以用于体内以实现这一(基于“靶向和释放”的功效)目标。先前，未知的BP(尚未在临床上使用)被用于在除了BP的α碳以外的位点上生成氨基甲酸芳酯连接。这些先前未在人受试者中进行过研究的BP允许创建基于氨基甲酸芳酯的缀合物，以允许对生物活性有用的释放速率/裂解速率。在此已在体外发现释放仍以有用的速率发生，因为通过与偕羟基基团的连接的氨基甲酸酯被相邻的膦酸基团充分活化以充足裂解。因为这现在已发现发生，本发明的化合物、缀合物和制剂提供了在缀合物内使用许多临床上已知的双膦酸的机会，因为大多数具有偕羟基基团。

[0212] 在图2中描绘了示例性BP-喹诺酮释放机理，使用环丙沙星作为示例性喹诺酮。然而，非氟喹诺酮也可以如本文所述与BP缀合。这种BP-Ab缀合物可以具有将抗微生物剂特异性地递送和释放到其中发生较高骨代谢的感染性溶骨部位的能力。使用非活性或低活性BP也可以通过在疾病部位提供与较高活性BP相比的更高浓度的抗微生物剂和相对较低的全身水平来提供独特的治疗选项。如本文所述的其他BP-喹诺酮化合物和缀合物可以具有相同或相似活性。

[0213] 本文还提供了可以包括一定量的本文所述的化合物、缀合物或组合物和额外的化合物(诸如但不限于载体、稀释剂或其他活性剂或成分)的制剂。制剂可以是可以包含药学上可接受的载体的药物制剂。可以向受试者给药组合物和/或制剂。受试者可患有骨感染。本文提供的组合物和制剂可以用于治疗和/或预防骨感染。在一些实施方式中，本文提供的组合物和制剂可以提供抗微生物剂的骨特异性递送。

[0214] 在许多报告中已经讨论了使用BP将活性药物物质靶向至骨分区的一般概念。然而，尚未开发出任何药物，因为早期尝试导致全身性不稳定的前药或不可裂解的缀合物，发现其大部分由于干扰药效需求，使得缀合物的任一组分均失去活性。这表明靶标和释放策略可能是化学类别依赖性的(考虑到每种组分的官能团的相容性)以及生化靶标依赖性的，并且任何具体化学类别的设计都必须针对其用途进行定制。因此，本文提供了开发具有连接的骨靶向抗生素或抗微生物剂的新颖方法的实施方式，该连接可以在血流中代谢稳定并且在骨上代谢不稳定以促进适当的释放。

[0215] 特别地，在本文的任何一个或多个方面，本文使用的连接被设计成允许在存在较高骨转换的感染部位的最大局部抗细菌功效，同时还限制了较低转换的骨骼部位、非骨骼

部位以及遍及身体的远侧分区的暴露，免于因抗生素或双膦酸组分或缀合物引起的任何不利影响。因此，例如，特别地选择了本文中的氨基甲酸α羟基酯接头和其他相关的α碳定向的接头以在血液中具有最大的稳定性，同时仍然对在细菌感染的骨骼部位化学裂解并释放喹诺酮抗生素具有敏感性，因为它们对那种环境的酶促过程和pH特性的敏感性。此外，在本公开中精选的但不是全部的实施方式包括使用对这些药物缀合物的靶向组分没有显著药理活性的双膦酸。这些“非抗吸收性”或弱抗吸收性双膦酸具有将抗生素仅靶向至所描述的骨分区的特征，并且不具有另外直接影响骨代谢的特性。实例包括衍生自取代和未取代的2-[4-氨基苯基]乙烷1,1双膦酸和2-[4-羟基苯基]乙烷1,1双膦酸的氨基甲酸芳酯和硫代氨基甲酸芳酯。还包括衍生自取代和未取代的2-[3-氨基苯基]乙烷1,1双膦酸和2-[3-羟基苯基]乙烷1,1双膦酸、取代和未取代的2-[2-氨基苯基]乙烷1,1双膦酸和2-[2-羟基苯基]乙烷1,1双膦酸的氨基甲酸酯。此外，衍生自取代和未取代的2-[4-硫代苯基]乙烷1,1双膦酸、2-[3-硫代苯基]乙烷1,1双膦酸和2-[2-硫代苯基]乙烷1,1双膦酸的二硫代氨基甲酸芳酯。

[0216] 在任何一个或多个方面，缀合物的BP可以是药理惰性或非活性BP。可以与如本文所述的喹诺酮缀合的药理惰性或非活性BP的实例在图24中示出。

[0217] 作为实例，用于缀合的惰性或非活性BP系列可以是具有中等矿物亲和力的4-羟基苯基乙叉基BP(图24A)或4-氨基苯基乙叉基BP(图24E)。另外的类似物，诸如羟基BP(图24B和24F)(更高的矿物亲和力)和甲基BP(图24C和24G)(较低的矿物亲和力)可以用于调节骨处的BP-Ab缀合物的浓度。具有不同链长的苯基烷基BP，诸如在图24D和24H中(丙基或丁基对比乙基苯基)也可以用于优化缀合化学产率和缀合物稳定性。

[0218] 在任何一个或多个方面，缀合物的BP可以是药理低活性BP。可以与如本文所述的喹诺酮缀合的药理低活性BP的实例在图25中示出。“低活性BP”意指双膦酸或双膦酸的剂量水平不会高到影响骨代谢。然而，在一些方面，在其中期望既影响骨代谢又递送喹诺酮抗生素以抑制和/或杀死/影响骨上的细菌的情况下，可能需要较高活性BP。

[0219] 本公开的其他组合物、化合物、方法、特征和优点，将在审阅以下附图、详细描述和实施例之后对本领域普通技术人员变得显而易见。旨在将所有这样的额外的组合物、化合物、方法、特征和优点都包括在本说明书中，且都在本公开的范围内。

[0220] 双膦酸(BP)喹诺酮缀合物及其制剂

[0221] BP喹诺酮缀合物

[0222] 本文提供了BP喹诺酮化合物、缀合物及其制剂。BP可以通过接头与喹诺酮缀合。在实施方式中，接头是可释放接头。喹诺酮可以通过接头可释放地附连至BP上。因此，在一些实施方式中，BP喹诺酮缀合物可以在骨、骨移植物或骨移植替代物处或附近选择性地递送并释放喹诺酮(图2)。换句话说，例如，BP氟喹诺酮缀合物可以提供将氟喹诺酮靶向至骨和/或接近骨的区域的靶向的递送。

[0223] 本文提供的BP喹诺酮缀合物的BP可以与任何BP缀合，包括但不限于，羟基苯基烷基或芳基双膦酸、羟基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、羟基烷基双膦酸、羟基烷基羟基双膦酸、羟基烷基苯基(或芳基)烷基双膦酸、羟基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基双膦酸、氨基苯基(或芳基)烷基羟基双膦酸、羟基烷基双膦酸、羟基烷基羟基双膦酸，所有前者被进一步取代或未取代。特别地，BP可以是依替膦酸、帕米膦酸、奈立膦酸、奥帕膦酸、阿仑膦酸、伊

班膦酸、米诺膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、羟基亚甲基双膦酸和其组合。双膦酸也可以被膦酰基次膦酸或膦酰基羧酸取代。在实施方式中，BP可以是帕米膦酸、阿仑膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、奈立膦酸、依替膦酸，其可以是如本文所述未修饰的或修饰的。在优选的实施方式中，BP是未修饰的或修饰的依替膦酸、MHBP或帕米膦酸。

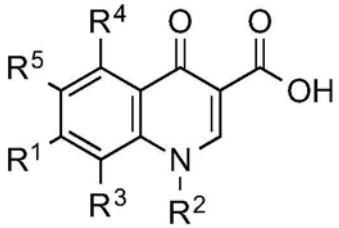
[0224] BP可以包含或被修饰为包含与α取代基的连接，并且α取代基可以是羟基、氨基或硫醇基团。可以将抗生素喹诺酮化合物或类似物与BP在BP的偕碳取代基处直接或间接缀合。喹诺酮和/或接头也可以与具有显著降低或消除的抗吸收作用的BP偶联。

[0225] 在包含芳基或苯基的BP中，芳基或苯基可以在环上的任何位置处被合适的取代基取代。在一些实施方式中，BP的芳基或苯基环被一个或多个给电子物质(例如F、N和Cl)取代。

[0226] 非药理活性的BP变体也可以用于无BP作用的递送喹诺酮的目的。

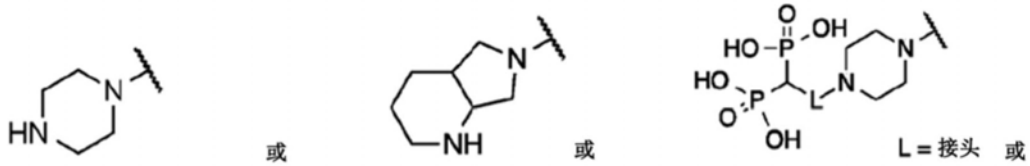
[0227] 喹诺酮可以是任何喹诺酮、氟喹诺酮或非氟喹诺酮，包括但不限于：阿拉沙星、氨氟沙星、巴洛沙星、贝西沙星、卡达唑利德、环丙沙星、克林沙星、达氟沙星、德拉沙星、二氟沙星、依诺沙星、恩氟沙星、非那沙星、氟罗沙星、氟甲喹、加替沙星、吉米沙星、格帕沙星、依巴沙星、JNJ-Q2、左氧氟沙星、洛美沙星、马波沙星、莫昔沙星、那氟沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、奥比沙星、帕珠沙星、培氟沙星、普拉沙星、普芦沙星、芦氟沙星、沙氟沙星、西他沙星、司帕沙星、替马沙星、托氟沙星、曲伐沙星、扎波沙星、奈诺沙星和其任何组合。特别地，喹诺酮可以是氟喹诺酮，优选地环丙沙星或莫昔沙星。

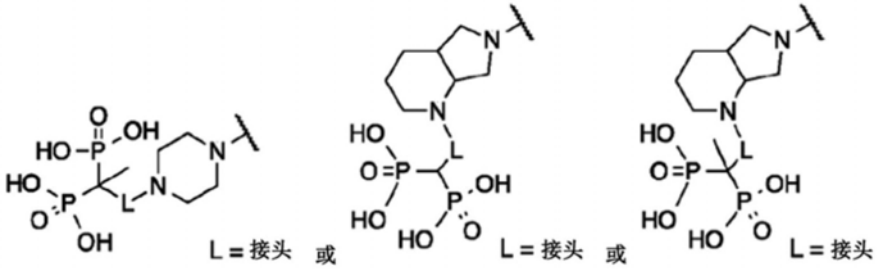
[0228] 在本文的任何一个或多个方面或实施方式中，BP喹诺酮化合物可以由根据以下结构或式(A)的喹诺酮类似物或取代基构成，

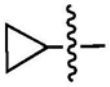
[0229] 

式(A)

[0230] 其中R^1可以是



[0231] 

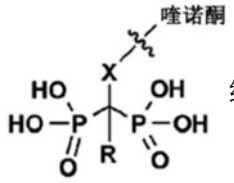
[0232] 并且其中R^2可以是

[0233] 并且其中R^3可以是H或OCH3，

[0234] 并且其中R^4可以是H，

[0235] 并且其中R^5可以是H或F。

[0236] 如所示，式(A)的喹诺酮可以与双膦酸(BP)连接。在本文的任何一个或多个方面或实施方式中，所述BP可以具有α取代基，并且所述α取代基是羟基、氨基或硫醇基团。所述喹诺酮可以与所述BP在所述BP的偕碳α取代基(X)处直接或间接缀合，如下式所图示。

[0237] 

缀合物，在含a-X的BP与喹诺酮之间

[0238] X＝O、NH、NR^1、S

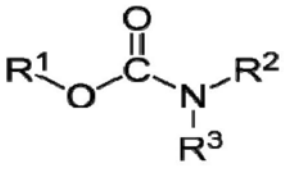
[0239] R^1可以是烷基或取代的烷基、芳基或取代的芳基基团

[0240] 其中R可以是H、取代的和未取代的烷基、烷基氨基、烷基-芳基、芳基、烷基杂芳基或杂芳基。

[0241] 优选的BP是在两个膦酸基团之间的碳上具有偕羟基基团的那些。这样的BP的通用类似物如图25所图示。_在任何一个或多个方面，所述双膦酸可以是可以被羟基(α-羟基)、氨基或硫醇取代的乙叉基双膦酸部分(依替膦酸)。在一些方面，双膦酸可以包括对羟基苯基乙叉基基团或其衍生物。在实施方式中，所述BP可以是临床上已知的BP，诸如帕米膦酸、阿仑膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、奈立膦酸和依替膦酸，其可以是如本文所述未修饰的或修饰的。

[0242] 在任何一种或多种实施方式中，BP可以是依替膦酸。依替膦酸可以与喹诺酮连接以形成喹诺酮抗生素依替膦酸-环丙沙星(ECC)缀合物(诸如在式(41)中)，或以形成依替膦酸莫昔沙星(ECX)缀合物(诸如在本文的式(43)中)。

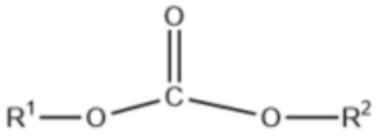
[0243] 所述接头(L)可以是可裂解的化合物，意指它可逆地将喹诺酮类似物或化合物，特别地喹诺酮抗微生物或抗生素类似物或其取代基与所述BP偶联。如本文所用，术语“可裂解”可以意指在生理条件下化学或生化地不稳定的基团。在任何一个或多个方面，所述接头可以是氨基甲酸酯，其具有以下结构或式(B)

[0244] 

式(**B**)

[0245] 用于将喹诺酮，R^2与BP，R^1偶联，如本文所述的，并且R^3可以是取代的和未取代的烷基、乙酰基、苯甲酰基或其他酰胺、苯基和取代的苯基，优选地H。

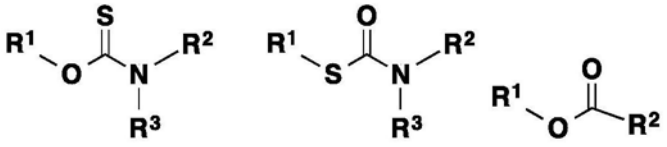
[0246] 在任何一个或多个方面，所述接头可以是碳酸酯，其具有以下结构或式(C)

[0247] 

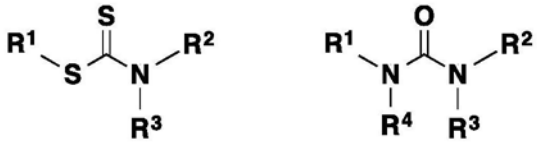
式(C)

[0248] 用于将喹诺酮，R^2与BP，R^1偶联，如本文所述的。

[0249] 在任何一个或多个方面，所述接头可以是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯接头。所述接头可以是硫代氨基甲酸-O-芳酯或硫代氨基甲酸烷基酯接头。所述接头可以是硫代氨基甲酸-S-芳酯或硫代氨基甲酸烷基酯接头。所述接头可以是氨基甲酸苯酯接头。所述接头可以是硫代氨基甲酸酯接头。所述接头可以是O-硫代氨基甲酸酯接头。所述接头可以是S-硫代氨基甲酸酯接头。所述接头可以是酯接头。所述接头可以是二硫代氨基甲酸酯。所述接头可以是脲接头。所述接头可以是与BP一起的式(A)的R^1基团的一部分，并且将所述BP与所述喹诺酮偶联，如本文所述。在任何一个或多个方面，所述接头可以由下面的式(D)-式(H)中的任何一个例示，其中：R^2可以是喹诺酮或喹诺酮取代基或衍生物并且R^1可以是BP，两者均如本文所述；并且R^3可以是取代的和未取代的烷基、乙酰基、苯甲酰基或其他酰胺、苯基和取代的苯基，优选地H。

[0250] 

式(D) 式(E) 式(F)



式(G) 式(H)

[0251] 在一些方面，所述BP是依替膦酸。在一些方面，所述喹诺酮是环丙沙星或莫昔沙星。在一些方面，所述BP是依替膦酸，所述喹诺酮是环丙沙星，且所述接头是氨基甲酸芳酯或氨基甲酸烷基酯或式(F)的接头，提供式(41)的化合物。在一些方面，所述BP是依替膦酸，所述喹诺酮是莫昔沙星，且所述接头是氨基甲酸芳酯或氨基甲酸烷基酯或式(F)的接头，提供式(43)的化合物。在一些方面，所述BP是依替膦酸，所述喹诺酮是西他沙星或奈诺沙星，且所述接头是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯或式(F)的接头，提供本文式(44)或式(45)的化合物。

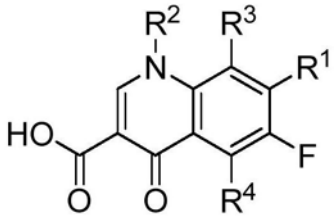
[0252] 在其他方面，所述BP可以是本文所述的其他BP，诸如帕米膦酸、奈立膦酸、奥帕膦酸、阿仑膦酸、伊班膦酸、米诺膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、羟基亚甲基双膦酸(HMBP)和其组合。

[0253] 在任何一个或多个方面，所述双膦酸可以具有被羟基(α-羟基)、氨基或硫醇取代的α取代基。在任何一个或多个方面，所述双膦酸可以是可以被羟基(α-羟基)、氨基或硫醇

取代的乙叉基双膦酸部分(依替膦酸)。在一些方面,双膦酸可以包括对羟基苯基乙叉基基团或其衍生物。在实施方式中,所述BP可以是临床上已知的BP,诸如帕米膦酸、阿仑膦酸、利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、奈立膦酸和依替膦酸,其可以是如本文所述未修饰的或修饰的。

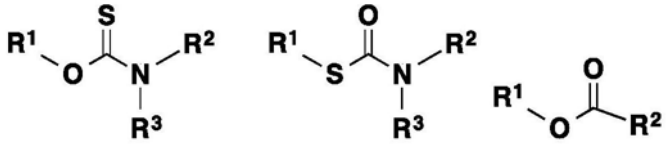
[0254] 本文还提供了可以包含双膦酸(BP)和式(A)的喹诺酮化合物以及药学上可接受的载体的药物制剂,其中所述喹诺酮化合物通过接头(L)与双膦酸可释放地偶联。在任何一个或多个方面,所述双膦酸(BP)和接头(L)可以如本文所述。

[0255] 在本文的任何一种或多种实施方式和方面中,喹诺酮可以具有根据式(A)的通用结构,其中R^1可以是取代基,其包括:烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团,其中R^2可以是取代基,其包括:烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团,其中R^3可以是取代基,其包括:烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团,并且其中R4可以是取代基,其包括:烷基、取代的烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、苯基、取代的苯基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、卤素、羟基、烷氧基、取代的烷氧基、苯氧基、取代的苯氧基、芳氧基、取代的芳氧基、烷硫基、取代的烷硫基、苯硫基、取代的苯硫基、芳硫基、取代的芳硫基、氰基、异氰基、取代的异氰基、羰基、取代的羰基、羧基、取代的羧基、氨基、取代的氨基、酰胺基、取代的酰胺基、磺酰基、取代的磺酰基、磺酸、磷酰基、取代的磷酰基、膦酰基、取代的膦酰基、聚芳基、取代的聚芳基、C_3-C_{20}环、取代的C_3-C_{20}环、杂环、取代的杂环、氨基酸、肽和多肽基团,并且其中R^5可以是H或F。

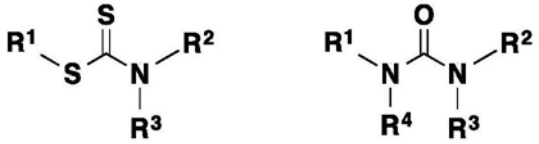
[0256] 

式(A)

[0257] BP可以通过可释放的接头与喹诺酮(氟喹诺酮或非氟喹诺酮,优选地氟喹诺酮)缀合。在任何一个或多个方面,所述接头可以是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯接头。所述接头可以是硫代氨基甲酸-O-芳酯或硫代氨基甲酸烷基酯接头。所述接头可以是硫代氨基甲酸-S-芳酯或硫代氨基甲酸烷基酯接头。所述接头可以是氨基甲酸苯酯接头。所述接头可以是硫代氨基甲酸酯接头。所述接头可以是O-硫代氨基甲酸酯接头。所述接头可以是S-硫代氨基甲酸酯接头。所述接头可以是酯接头。所述接头可以是二硫代氨基甲酸酯。所述接头可以是脲接头。所述接头可以是与BP一起的式(A)的R^1基团的一部分,并且将所述BP与所述喹诺酮偶联,如本文所述。在任何一个或多个方面,所述接头可以由下面的式(D)-式(H)中的任何一个例示,其中:R^2可以是喹诺酮或喹诺酮取代基或衍生物并且R^1可以是BP,两者均如本文所述;并且R^3可以是取代的和未取代的烷基、乙酰基、苯甲酰基或其他酰胺、苯基和取代的苯基,优选地H。

[0258] 

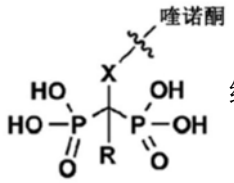
式(D) 式(E) 式(F)

[0259] 

式(G) 式(H)

[0260] 在一些方面,所述BP是依替膦酸。在一些方面,所述喹诺酮是环丙沙星或莫昔沙星。在一些方面,所述BP是依替膦酸,所述喹诺酮是环丙沙星,且所述接头是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯或式(F)的接头,提供本文式(41)的化合物。在一些方面,所述BP是依替膦酸,所述喹诺酮是莫昔沙星,且所述接头是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯或式(F)的接头,提供本文式(43)的化合物。在一些方面,所述BP是依替膦酸,所述喹诺酮是西他沙星或奈诺沙星,且所述接头是氨基甲酸烷基酯或氨基甲酸芳酯或式(F)的接头,提供本文式(44)或式(45)的化合物。

[0261] 在本文的任何一个或多个方面或实施方式中,所述BP具有α取代基且所述α取代基是羟基、氨基或硫醇基团,并且所述喹诺酮与所述BP在所述BP的偕碳α取代基(X)处直接或间接缀合,如在下式中所图示的。

[0262] 

缀合物，在含a-X的BP与喹诺酮之间

[0263] X＝O、NH、NR^1、S

[0264] R^1可以是烷基或取代的烷基、芳基或取代的芳基基团

[0265] 其中R可以是H、取代的和未取代的烷基、烷基氨基、烷基-芳基、芳基、烷基杂芳基或杂芳基。

[0266] 在任何一个或多个方面，BP是含α-OH的BP，其可以与喹诺酮诸如氟喹诺酮在BP上的偕OH基团处缀合，如下所示。在各个方面，喹诺酮诸如氟喹诺酮可以直接(例如，在不使用C＝O以外的接头的情况下)与BP的偕OH基团缀合。在各个方面，喹诺酮可以通过接头在BP的偕OH基团处间接缀合。

[0267] 在一些方面，化合物可以具有根据本文式(41)、式(43)、式(44)或式(45)的式。

[0268] BP喹诺酮缀合物药物制剂

[0269] 本文还描述了制剂，包括药物制剂，其可以包含一定量的本文别处在任何一个或多个方面或实施方式中所述的BP喹诺酮化合物或缀合物。该量可以是有效量。该量可以有效抑制细菌的生长和/或繁殖。该量可以有效地杀死细菌。制剂，包括药物制剂，可以配制成通过各种途径用于递送，并可以包含药学上可接受的载体。技术和制剂通常可以在Remmington's Pharmaceutical Sciences,Meade Publishing Co.,Easton,Pa.(20^{th} Ed., 2000)中找到，其全部公开通过援引并入本文。对于全身给药，注射是可用的，包括肌肉内注射、静脉注射、腹腔内注射和皮下注射。对于注射，本发明的治疗性组合物可以配制在液体溶液中，例如在生理学相容的缓冲液中，诸如汉克氏(Hank's)溶液或林格氏(Ringer's)溶液。此外，BP喹诺酮缀合物和/或其组分可以配制以固体形式，并在使用前立即被再溶解或悬浮。冻干形式也包括在内。BP喹诺酮缀合物的制剂，包括药物制剂，可以特征为是至少无菌且无热原的。这些制剂包括供人类使用和兽用的制剂。

[0270] 合适的药学上可接受的载体包括但不限于水、盐溶液、醇、阿拉伯胶、植物油、苄醇、聚乙二醇、明胶、碳水化合物诸如乳糖、直链淀粉或淀粉、硬脂酸镁、滑石粉、硅酸、粘性石蜡、芳香油、脂肪酸酯、羟甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮，其不与BP喹诺酮缀合物发生有害反应。

[0271] 药物制剂可以是已灭菌的，且如果需要，可以与助剂诸如润滑剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、影响渗透压的盐、缓冲液、着色剂、调味剂和/或芳香族物质等等混合，其不与BP喹诺酮缀合物发生有害反应。

[0272] 另一制剂包括向骨移植材料或骨隙填充物中添加BP喹诺酮缀合物，用于预防或治疗骨髓炎、种植体周围炎或假体周围感染，以及用于拔牙后的牙槽保护。

[0273] 药物制剂可以配制为与其预期的给药途径相容。给药途径的实例包括肠胃外例如静脉内、皮内、皮下、口服(例如吸入)、透皮(局部)、经粘膜和直肠给药。用于肠胃外、皮内或皮下施用的溶液或悬浮液可以包括以下组分：无菌稀释剂，诸如注射用水、盐水溶液、固定油、聚乙二醇类、甘油、丙二醇或其他合成溶剂；抗细菌剂，诸如苄醇或对羟基苯甲酸甲酯；抗氧化剂，诸如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂，诸如乙二胺四乙酸；缓冲液，诸如乙酸盐、

柠檬酸盐或磷酸盐,以及用于调节张力的试剂,诸如氯化钠或葡萄糖。pH的调节可以用酸或碱,诸如盐酸或氢氧化钠。肠胃外制剂可以封装在玻璃或塑料制成的安瓿瓶、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0274] 适合可注射用的制剂,包括药物制剂,可以包括无菌水性溶液(在为水溶性的情况下)或分散体以及用于即时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。对于静脉内给药,合适的载体可以包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EMTM(BASF,Parsippany,N.J.)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。在实现容易注射的程度上,可注射药物制剂可以是无菌的且可以是流体。可注射药物制剂在制造和储存条件下可以是稳定的,且必须在防止诸如细菌和真菌的微生物的污染作用下保存。载体可以是溶剂或分散介质,包含例如水,乙醇,如甘油、丙二醇、液态聚乙二醇的药学上可接受的多元醇以及其合适的混合物。可以例如,通过使用诸如卵磷脂的包衣,通过在分散情况下维持所需的粒度,以及通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。对微生物作用的预防可以通过各种抗细菌和抗真菌剂来实现,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等等。在一些实施方式中,在组合物中包括等渗剂(例如糖、多元醇诸如甘露醇、山梨醇和氯化钠)可能是有用的。

[0275] 无菌可注射溶液的制备可以通过将一定量的本文所述的BP喹诺酮缀合物中的任何一种掺入到根据需要具有本文列举的一种或几种成分的组合的合适的溶剂中,然后过滤灭菌来进行。一般来说,分散体的制备可以通过将BP喹诺酮缀合物掺入包含基础分散介质和本文列举的那些中的所需的其他成分的无菌媒介物中来进行。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,可用的制备方法的实例为真空干燥和冷冻干燥,其产生活性成分以及其先前经过无菌过滤的溶液中的任何额外的所需成分的粉末。

[0276] 全身给药也可以通过经粘膜或透皮的方式。对于经粘膜或透皮给药,可以在制剂中使用适合待渗透屏障的渗透剂。这样的渗透剂在本领域中是通常已知的,并包括,例如对于经粘膜给药的表面活性剂(detergents)、胆盐和夫西地酸衍生物。经粘膜给药可以通过使用鼻用喷雾或栓剂来完成。对于透皮给药,BP喹诺酮缀合物可以配制成如本领域通常已知的软膏剂、软膏、凝胶或霜剂。在一些实施方式中,BP喹诺酮缀合物可以通过透皮递送系统施用,其可以缓慢释放BP喹诺酮缀合物用于经皮吸收。渗透促进剂可以用于促进条件培养基中的活性因子的透皮渗透。透皮贴剂在例如美国专利No.5,407,713;美国专利No.5,352,456;美国专利No.5,332,213;美国专利No.5,336,168;美国专利No.5,290,561;美国专利No.5,254,346;美国专利No.5,164,189;美国专利No.5,163,899;美国专利No.5,088,977;美国专利No.5,087,240;美国专利No.5,008,110;和美国专利No.4,921,475中有描述。

[0277] 对于口服给药,如本文所述的制剂可以作为胶囊剂、片剂、散剂、颗粒剂或作为混悬剂或溶液呈现。制剂可以包含常规的添加剂,诸如乳糖、甘露醇、玉米淀粉或马铃薯淀粉、粘结剂、结晶纤维素、纤维素衍生物、阿拉伯胶、玉米淀粉、明胶、崩解剂、马铃薯淀粉、羧甲基纤维素钠、磷酸氢钙、无水或淀粉甘醇酸钠、润滑剂和/或硬脂酸镁。

[0278] 对于肠胃外给药(即通过消化道以外的途径给药),本文所述的制剂可以和与受试者血液等渗的无菌水性溶液结合。这样的制剂可以通过将活性成分(例如BP喹诺酮缀合物)溶解在包含诸如氯化钠、甘氨酸等的生理学相容的物质并具有与生理条件相容的缓冲pH的水中以便产生水性溶液,然后使溶液无菌来制备。制剂可以呈现在单位或多剂量容器中,诸如密封的安瓿瓶或小瓶。制剂可以通过本领域已知的注射、输注或其他方式来递送。

[0279] 对于透皮给药，本文所述的制剂可以与皮肤渗透促进剂组合，诸如丙二醇、聚乙二醇、异丙醇、乙醇、油酸、N-甲基吡咯烷酮等等，其增加了皮肤对本发明的核酸载体(vectors)的渗透性，并允许核酸载体通过皮肤渗透进血流中。本文所述的制剂和/或组合物可以进一步与高分子物质结合，诸如乙基纤维素、羟丙基纤维素、乙烯/乙酸乙烯酯、聚乙烯吡咯烷酮等等，以提供凝胶形式的组合物，其可以溶解于诸如二氯甲烷的溶剂中，蒸发至所需的粘度并然后施加至基底材料以提供贴剂。

[0280] 为了包括在骨移植替代物或骨隙填充物中以预防局部术后感染或手术后移植失败，并提供抗生素在移植部位持续局部释放，本文所述的制剂可以与任何异种移植(牛)、自体移植(自身)或同种异体移植(尸体)材料或合成骨替代物组合。例如，治疗外科医生或临床医生可以在床边/诊疗椅边将粉末制剂与任何市场上现有的骨移植替代物或与自体移植物预混合。此制剂可以进一步与任何先前描述的制剂组合，并且可以与包含羟基磷灰石类、磷酸三钙类、胶原、脂肪族聚酯、聚乳酸类(PLA)、聚羟基乙酸类(PGA)、以及聚己酸内酯(PCL)、聚羟基丁酸酯(PHB)、甲基丙烯酸酯类、聚甲基丙烯酸甲酯类、树脂、单体、聚合物、松质骨同种异体移植物、人纤维蛋白、富血小板血浆、富血小板纤维蛋白、熟石膏、磷灰石、合成羟基磷灰石、珊瑚羟基磷灰石、硅灰石(硅酸钙)、硫酸钙、生物活性玻璃、陶瓷、钛、灭活骨基质、非胶原蛋白、胶原和自溶性去抗原同种异体骨的产品组合。在此实施方式中，与BP喹诺酮缀合物组合的骨移植材料可以在糊、散剂、胶泥、凝胶、水凝胶、基质、颗粒剂、颗粒、冷冻干燥粉、冷冻干燥骨、脱矿物质的冷冻干燥骨、新鲜或新鲜冷冻骨、皮髓质混合物、丸粒、条、栓塞剂(plugs)、膜、重构以形成湿糊的冻干粉、小球、海绵、块、小块(morsels)、棒、楔、水泥(cements)或无定形颗粒的制剂中；这些之中，许多也可以在可注射制剂中或作为两种或更多种上述制剂的组合(例如海绵的可注射糊)。

[0281] 在另一实施方式中，BP-喹诺酮缀合物可以与包含天然或重组生长因子诸如转化生长因子-β(TGF-β)、血小板衍生生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)和/或骨形态生成蛋白(BMP)的基于因子的骨移植物组合。在另一实施方式中，BP喹诺酮缀合物可以与包括胚胎干细胞和/或成体干细胞、组织特异性干细胞、造血干细胞、表皮干细胞、上皮干细胞、牙龈干细胞、牙周膜干细胞、脂肪干细胞、骨髓干细胞和血干细胞的用于再生医学和牙医学的基于细胞的骨移植物组合。因此，具有骨传导、骨诱导、骨促进、骨生成或其任意组合的特性的骨移植物可以与BP喹诺酮缀合物组合用于临床或治疗性用途。

[0282] 剂型

[0283] 本文在任何一个或多个方面或实施方式中所述的BP喹诺酮化合物、缀合物和其制剂可以以单位剂量形式提供，诸如片剂、胶囊剂、单剂量注射或输注小瓶，或作为如上述制剂中的预定剂量用于与骨移植材料混合。在适当的情况下，可以将本文所述的剂型微囊化。剂型还可以制备成延长或维持任何成分的释放。在一些实施方式中，复合活性剂可以是被延迟释放的成分。在其他实施方式中，辅助成分的释放被延迟。用于延迟释放成分的合适的方法包括但不限于将成分包衣或包埋在聚合物、蜡、凝胶等材料中。延迟释放剂量制剂可以按标准参考文献中所述来制备，诸如“Pharmaceutical dosage form tablets,” eds.Liberman et.al.(New York,Marcel Dekker,Inc.,1989),“Remington-The science and practice of pharmacy”,20th ed.,Lippincott Williams&Wilkins,Baltimore,MD, 2000,和“Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems”,6th Edition,

Ansel et al.,(Media,PA:Williams and Wilkins,1995)。这些参考文献提供了用于制备片剂和胶囊剂以及片剂和丸粒、胶囊剂和颗粒剂的延迟释放剂型的赋形剂、材料、设备和工艺。延迟释放可为从约一小时至约3个月或更长的任何时间。

[0284] 包衣可以由不同比率的水溶性聚合物、不溶于水的聚合物和/或pH依赖性聚合物、有或没有不溶于水的/水溶性非聚合赋形剂来形成,以产生所需的释放曲线。包衣可以应用于剂型(基质或简单)上,其包括但不限于片剂(压缩有或没有包被后的珠)、胶囊剂(有或没有包被后的珠)、珠、颗粒组合物,配制为(但不限于)混悬剂形式或喷撒剂型的成分本身。

[0285] 合适的包衣材料的实例包括但不限于纤维素聚合物,诸如乙酸邻苯二甲酸纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素和乙酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素;聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯、丙烯酸聚合物和共聚物,以及可商购的商品名为EUDRAGIT®(Roth Pharma,Westerstadt,德国)的甲基丙酸烯树脂、玉米醇溶蛋白、虫胶和多糖。

[0286] 有效量

[0287] 制剂可以包含有效量的本文在任何一个或多个方面或实施方式中所述的BP喹诺酮化合物或缀合物(有效抑制和/或杀死细菌)。在一些实施方式中,本文所述的BP喹诺酮缀合物的有效量的范围为从约0.001pg至约1,000g或更多。在一些实施方式中,本文所述的BP喹诺酮缀合物的有效量的范围可以为从约0.001mg/kg体重至约1,000mg/kg体重。在又其他实施方式中,BP喹诺酮缀合物的有效量的范围可以为从总制剂的约1%w/w至约99%或更多w/w、w/v或v/v。在一些实施方式中,BP喹诺酮缀合物的有效量可有效杀死作为骨髓炎及其全部亚型(例如糖尿病足骨髓炎)、颌骨坏死和牙周炎的致病物的细菌,包括但不限于葡萄球菌属(Staphylococcus)、假单胞菌属(Pseudomonas)、凝聚杆菌属(Aggregatibacter)、放线菌属(Actinomyces)、链球菌属(Streptococcus)、嗜血杆菌属(Haemophilus)、沙门氏菌属(Salmonella)、沙雷氏菌属(Serratia)、肠杆菌属(Enterobacter)、梭杆菌属(Fusobacterium)、拟杆菌属(Bacteroides)、卟啉单胞菌属(Porphyromonas)、普氏菌属(Prevotella)、韦永氏球菌属(Veillonella)、弯曲杆菌属(Campylobacter)、消化链球菌属(Peptostreptococcus)、艾肯菌属(Eikenella)、密螺旋体属(Treponema)、戴阿利斯特杆菌属(Dialister)、微单胞菌属(Micromonas)、耶尔森氏菌属(Yersinia)、坦纳菌属(Tannerella)和埃希氏杆菌属(Escherichia)的任何菌株或菌种。

[0288] 使用BP喹诺酮缀合物的方法

[0289] 可以向有此需要的受试者给药一定量(包括有效量)的本文在任何一个或多个方面或实施方式中所述的BP喹诺酮化合物、缀合物及其制剂。在一些实施方式中,有此需要的受试者可患有骨感染、疾病、疾患或其症状。在一些实施方式中,有此需要的受试者可能疑似患有或另外容易患上骨感染、疾病、疾患或其症状。在一些实施方式中,有此需要的受试者可能有发展为骨髓炎、骨坏死、假体周围感染和/或种植体周围炎的风险。在实施方式中,疾病或疾患可以为骨髓炎及其所有亚型、骨坏死、种植体周围炎或牙周炎。在一些实施方式中,有此需要的受试者具有被微生物(诸如细菌)感染的骨。在一些实施方式中,细菌可以是葡萄球菌属、假单胞菌属、凝聚杆菌属、放线菌属、链球菌属、嗜血杆菌属、沙门氏菌属、沙雷氏菌属、肠杆菌属、梭杆菌属、拟杆菌属、卟啉单胞菌属、普氏菌属、韦永氏球菌属、弯曲杆菌属、消化链球菌属、艾肯菌属、密螺旋体属、戴阿利斯特杆菌属、微单胞菌属、耶尔森氏菌属、

坦纳菌属和埃希氏杆菌属的任何菌株或菌种。在一些实施方式中，细菌可以形成生物膜。在一些实施方式中，可以通过向有此需要的受试者给药一定量(诸如有效量)的本文所述的BP喹诺酮缀合物或其制剂来治疗有此需要的受试者中的骨髓炎。在一些实施方式中，本文所提供的组合物和化合物可以用于骨坏死治疗和/或预防、牵张成骨、裂隙修复、关键性上牙槽缺损的修复、颌骨重建以及骨和/或关节的任何其他重建或修复。

[0290] BP喹诺酮化合物或缀合物的给药不限于单一途径，而可以包括通过多种途径给药。例如，除其他之外，示例性通过多种途径的给药包括皮内和肌肉内给药的组合，或皮内和皮下给药的组合。多种给药可以是顺序的或同时的。通过多种途径施用的其他模式对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0291] 药物制剂可以通过允许药剂在体内对受试者发挥其作用的任何合适的方法向受试者给药。例如，本文所述的制剂和其他组合物可以通过已知的程序向受试者给药，包括但不限于通过口服给药、舌下或口含给药、肠胃外给药、透皮给药、通过吸入、通过鼻腔递送、经阴道、经直肠和肌肉内。本文所述的制剂或其他组合物可以经肠胃外给药，通过筋膜外、囊内、皮内(intracutaneous)、皮下、皮内、鞘内、肌肉内、腹腔内、胸骨内、血管内、静脉内、薄壁组织和/或舌下递送。递送可以为通过注射、输注、导管递送或其他一些方式，诸如通过片剂或喷雾。在手术部位处抗感染骨移植材料的情况下，也可以通过诸如羟基磷灰石或骨的载体进行递送。可以通过与骨移植材料附连或其他结合进行递送。

[0292] 实施例

[0293] 现已描述了本公开的实施方式，一般来说，以下实施例描述了本公开的一些额外的实施方式。虽然结合以下实施例和相应的文本及附图对本公开的实施方式进行了描述，但不旨在将本公开的实施方式限制于此说明。相反，意图是覆盖包括在本公开的实施方式的精神和范围内的所有可替代方案、修改和等同物。

[0294] 引言

[0295] 感染性骨疾病，或骨髓炎，是世界范围内人和兽医医学的主要问题，并由于潜在的威胁肢体的后遗症和死亡而可能是灾难性的(Lew,et al.,Osteomyelitis.Lancet 2004;364:369-79;Desrochers,et al,Limb amputation and prosthesis.Vet Clin North Am Food Anim Pract 2014;30:143-55;Stoodley,et al.,Orthopaedic biofilm infections.Curr Orthop Pract 2011;22:558-63;Huang,et al.,Chronic osteomyelitis increases long-term mortality risk in the elderly:a nationwide population-based cohort study.BMC Geriatr 2016;16:72)。骨髓炎的治疗方法主要是抗微生物，且通常是长期的，并在许多情况下通过手术干预来控制感染。在大多数长骨骨髓炎病例中，致病病原体是金黄色葡萄球菌的生物膜;与它们的浮游(自由漂浮)对应物不同，按照定义这些微生物是与骨结合的(图1)(Wolcott,et al.,Biofilms and chronic infections.J Am Med Assoc 2008;299:2682-2684)。

[0296] 骨髓炎的生物膜介导的性质在临床和实验环境中是重要的，因为许多生物膜病原体是无法培养的，并且在生长速度和抗微生物耐药性方面表现出改变的表型(与它们的浮游对应物相比)(Junka,et al.,Microbial biofilms are able to destroy hydroxyapatite in the absence of host immunity in vitro.J Oral Maxillofac Surg 2015;73:451-64;Herczegh,et al.,Osteoadsorptive bisphosphonate

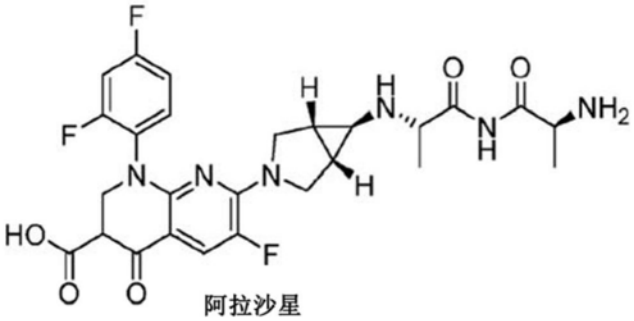
derivatives of fluoroquinolone antibacterials.J Med Chem 2002;45:2338-41)。用常规的抗生素难以消灭生物膜,这部分解释了为什么通常成功率较高的抗微生物治疗在骨科感染中却伴随着耐药生物膜病原体的发展、抗微生物剂在骨中差的渗透以及全身毒性相关的不良事件而无法成功(Buxton,et al.,Bisphosphonate-ciprofloxacin bound to Skelite is a prototype for enhancing experimental local antibiotic delivery to injured bone.Br J Surg2004;91:1192-6)。

[0297] 为了克服与骨髓炎治疗相关的许多挑战,人们对使用骨靶向缀合物的药物递送方法的兴趣日益增加,以实现在骨中的更高或更持久的局部抗生素治疗浓度,同时最小化全身暴露(Panagopoulos,et al.,Local Antibiotic Delivery Systems in Diabetic Foot Osteomyelitis:Time for One Step Beyond?Int J Low Extrem Wounds 2015;14:87-91;Puga,et al.,Hot melt poly-epsilon-caprolactone/poloxamine implantable matrices for sustained delivery of ciprofloxacin.Acta biomaterialia 2012;8:1507-18)。与骨吸附的双膦酸(BP)缀合的氟喹诺酮抗生素代表了一种有前景的方法,因为每种成分的安全性的临床追踪记录都很长,而且它们的生化特性也很优越(Buxton,et al.,Bisphosphonate-ciprofloxacin bound to Skelite is a prototype for enhancing experimental local antibiotic delivery to injured bone.Br J Surg2004;91:1192-6)。在此背景下的氟喹诺酮家族的早期研究中,环丙沙星在与BP结合时表现出最好的结合和微生物学特性(Herczegh,et al.,Osteoadsorptive bisphosphonate derivatives of fluoroquinolone antibacterials.J Med Chem 2002;45:2338-41)。环丙沙星在此背景下的再利用有几个优点:它可以口服或静脉内给药,有相对生物等效性,它具有对包括最常见的骨髓炎病原体在内的广谱抗微生物活性,它在临床上可实现的剂量下显示有杀菌活性,且它是氟喹诺酮家族中最便宜的药物(Houghton,et al.,Linking bisphosphonates to the free amino groups in fluoroquinolones:preparation of osteotropic prodrugs for the prevention of osteomyelitis.J Med Chem2008;51:6955-69)。

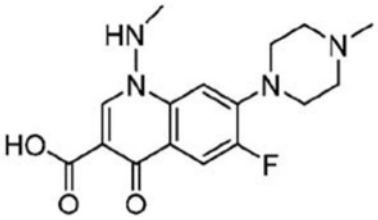
[0298] 实施例1:

[0299] 可以包括在本文的BP缀合物中的喹诺酮的非限制性实例包括以下喹诺酮。

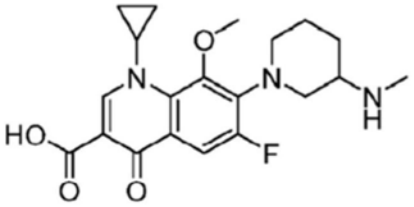
[0300] 氟化的喹诺酮



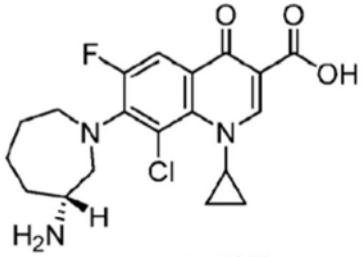
阿拉沙星



氨氟沙星

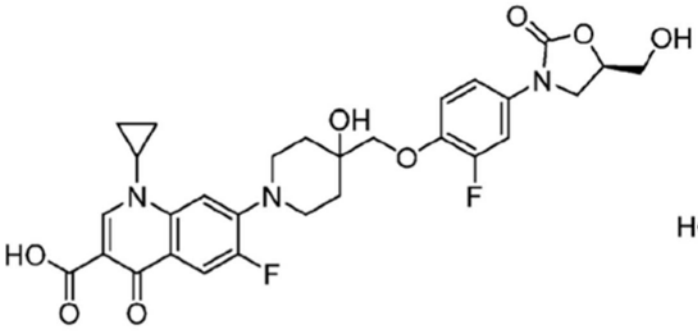


巴洛沙星

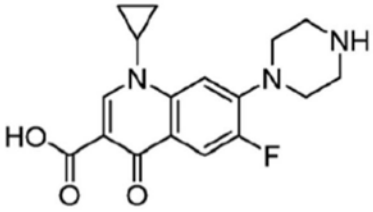


贝西沙星

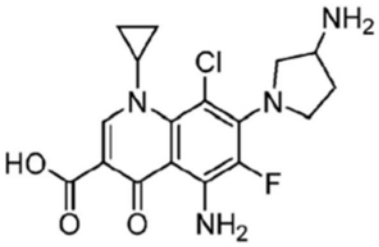
[0301]



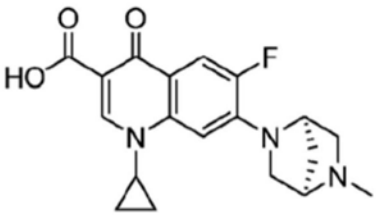
卡达唑利德



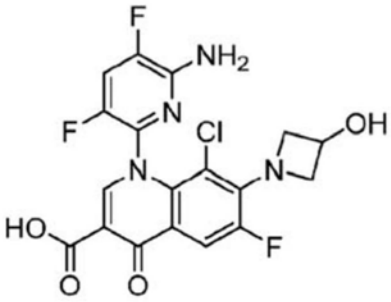
环丙沙星



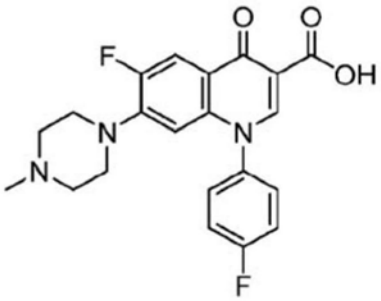
克林沙星



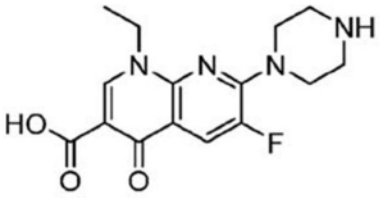
达氟沙星



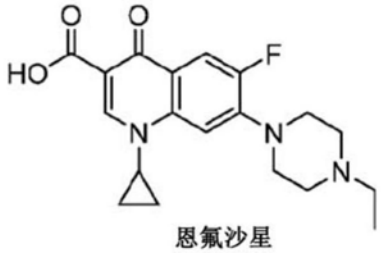
德拉沙星



二氟沙星

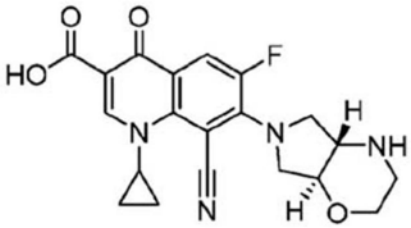


依诺沙星



恩氟沙星

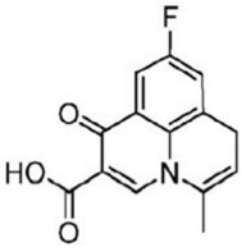
[0302]



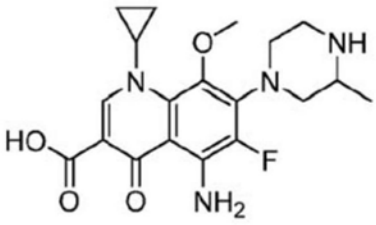
非那沙星



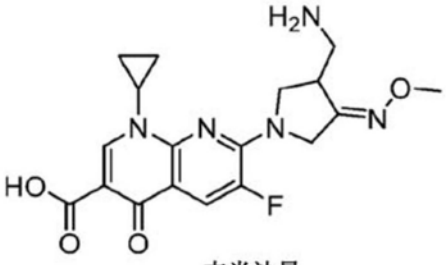
氟罗沙星



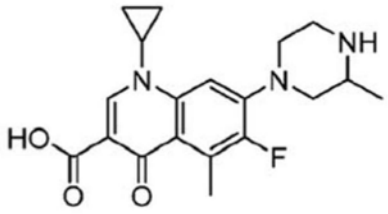
氟甲喹



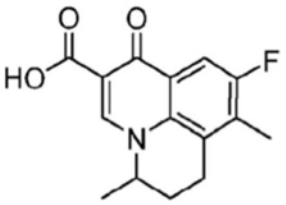
加替沙星



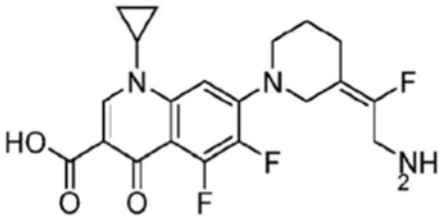
吉米沙星



格帕沙星

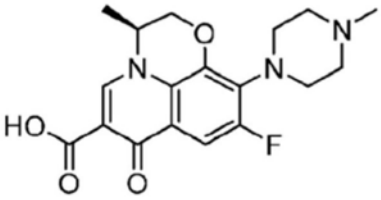


依巴沙星

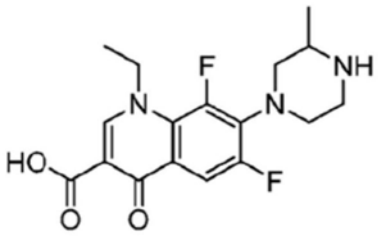


JNJ-Q2

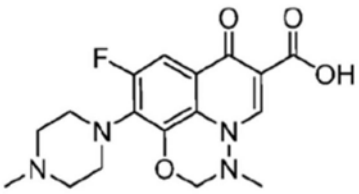
[0303]



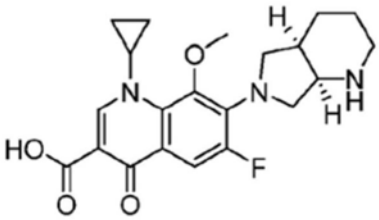
左氧氟沙星



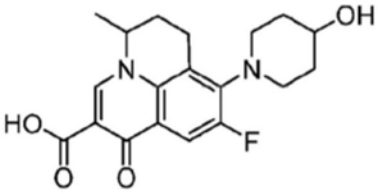
洛美沙星



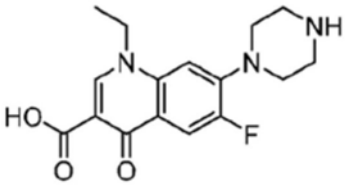
马波沙星



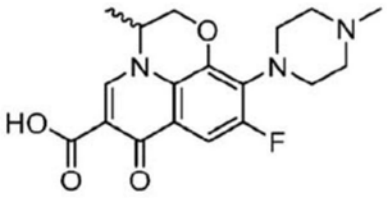
莫昔沙星



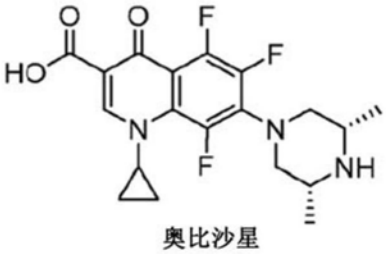
那氟沙星



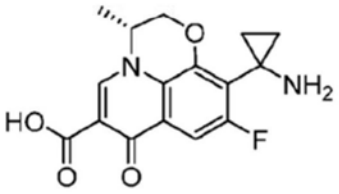
诺氟沙星



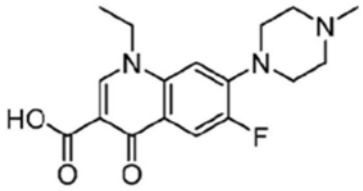
氧氟沙星



奥比沙星

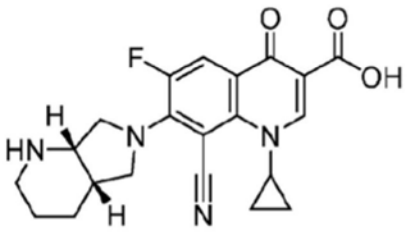


帕珠沙星

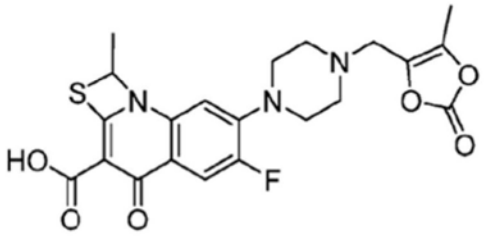


培氟沙星

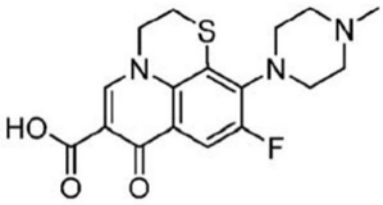
[0304]



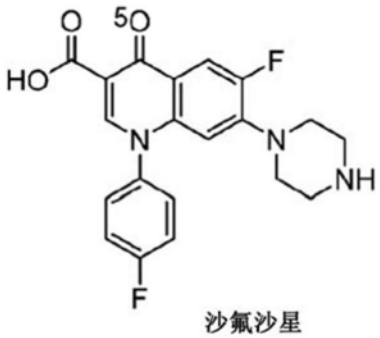
普拉沙星



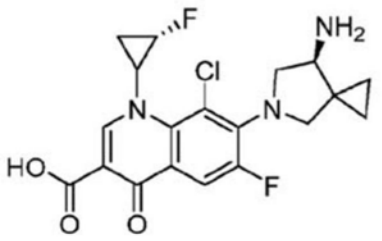
普芦沙星



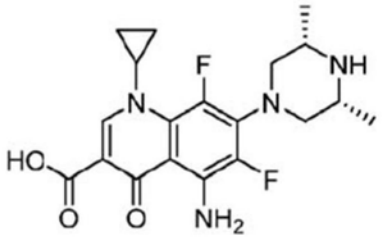
芦氟沙星



沙氟沙星

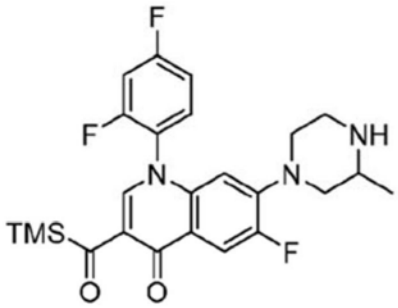


西他沙星

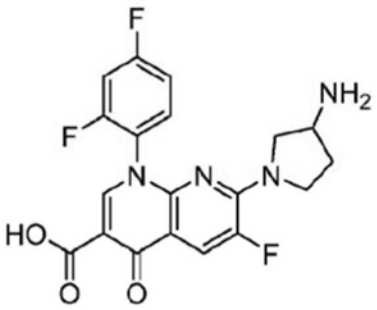


司帕沙星

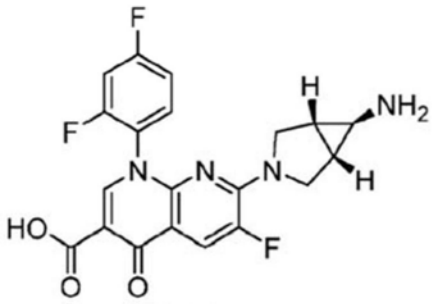
[0305]



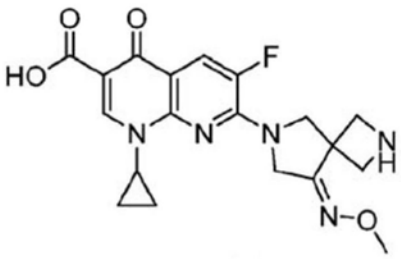
替马沙星



托氟沙星



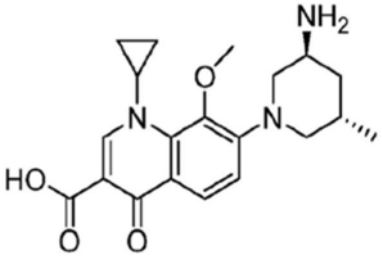
曲伐沙星



扎波沙星

[0306] 以下是非氟化的喹诺酮的实例。

[0307]



奈诺沙星

[0308] 实施例2：

[0309] 牙科种植体是现代牙科实践的重要部分，据估计有多达3500万美国人在单颌或双颌缺失了全部牙齿。到2022年，用于替换和重建牙齿的这些种植体的总市场有望达到42亿美元。虽然大多数种植体会成功，但这些假体中有一些会由于种植体周围炎而失败，导致支撑骨破坏。种植体周围炎有双峰型发病率，包括早期(＜12个月)和晚期(＞5年)失败；这两种关键失败点在很大程度上都是种植体上和其周围细菌生物膜感染的结果。种植体周围炎是种植体失败的常见原因。牙科种植体失败通常是由生物力学或生物/微生物原因导致的。

从目前的文献中很难确定种植体周围炎——导致支撑骨破坏的微生物相关种植体疾病的最严重形式——的患病率。然而，最近的研究表明种植体周围炎是患病率越来越高的日益严重的问题[4]。最近一项对150位患者随访5至10年的研究示出，种植体周围炎的发生率分别为大约17％和30％，表明这是一个重大的问题[5]。早期种植体失败或缺乏骨性结合是单独的问题，并在大约9％的植入颌骨中发生[6]。这在上颌骨中更常见[6]，并与手术期间或附近部位的细菌感染(例如牙周炎)以及其他公认且可改变的风险因素(诸如吸烟、糖尿病、过量的水门汀和口腔卫生不良)有关[2]。

[0310] 生物膜感染可能与种植体周围炎的发病机理有关。生物膜感染代表了独特的治疗问题，且通常难以诊断，对标准抗生素治疗有耐药性，对宿主免疫响应有抵抗性，并导致持续的顽固性感染[7]。自早期阐明细菌生长在基质支撑的群落中以来，感染的生物膜假说已经不断扩大[8,9]。现已证实，超过65％的慢性感染是由生长在生物膜中的细菌引起的[7]。这意指，在美国每年大约有1200万人受到这些感染，且有近50万人死于这些感染。种植体周围炎和牙周炎是最常遇到的生物膜感染。已发现与牙周炎感染相比，种植体周围炎是相对简单的感染，且群落多样性(和重点病原体)较少[10]。典型地，革兰氏阴性菌种占主导地位[11]。其他骨科或骨感染，包括颌骨感染，也都是由细菌生物膜群落引起的[12]，使得此处开发的技术同样适用于这些疾病。

[0311] 目前治疗种植体周围炎的方法有其局限性。虽然种植体周围炎有多种成因，但主要的病因是细菌生物膜。目前尚无普遍接受的用于种植体周围炎治疗的指南或方案，许多用于细菌性种植体周围炎治疗的临床方案包括局部和全身性抗生素递送[13]和病变的外科清创，包括使用骨移植替代物的恢复性植骨[14,15]。然而，临床经验已经表明，很难将即使是局部抗生素递送装置推进到深的种植体周围袋的底部以及感染的颌骨，或使全身性抗生素充分渗透到感染的颌骨中以杀死生物膜病原体[16]，这主要是由于抗生素的内在的差的骨(和种植体周围)生物分布或药代动力学[17]。在以往的长期研究中，即使当用杀菌剂局部清理感染的种植体并给药全身性抗生素时，仍然在超过晚期种植体周围炎病变的40％中有额外的支撑骨损失[15]。

[0312] 此外，长期的全身性抗生素治疗可能导致全身毒性或不良反应以及耐药性。因此，使用局部递送系统来在骨中达到更高的治疗性抗菌浓度已成为临床医生的普遍做法。例如，牙医使用米诺环素(minocycline)或多西环素粉末(例如Arestin®)或氯己定溶液(例如PerioChip®)与骨移植材料的诊疗椅边混合用于局部递送[18]。这样的方法仅仅是浆液，且不形成如BioVinc方法中的抗生素和骨替代物之间的强结合，并因此如之前所述遭受相对早的清除和较低效的药代动力学。此外，研究人员还使用了几种可生物降解和不可生物降解的局部抗生素递送系统[19]。然而，这些方法有一些局限性，例如，不可生物降解的方法(例如聚甲基丙烯酸甲酯水门汀)需要第二次手术来去除抗生素负载装置，与某些抗生素不相容，且遭受低效的释放动力学；在一些情况下，＜10％的总递送抗生素被释放[17]。包括纤维、凝胶和珠的可生物降解的材料正受到越来越多的关注，然而，其治疗种植体周围炎的临床有效性尚未得到很好的证实[3]。即使当使用有效的抗微生物剂/杀菌剂治疗颌中的种植体周围炎时，诸如局部氯己定递送，对于治疗效果的影响也很小，如在前瞻性动物和人类研究中所证实[15,17]。这些数据综合起来进一步支持了前面提到的抗生素在骨中差的药代动力学，并突出了对骨结合/骨靶向和持续的抗生素释放策略的需要。

[0313] BP-缀合物

[0314] 考虑到目前治疗方法的局限性,开发靶向骨/生物膜的抗微生物剂是该领域中的重大进展。本文提供的BP-抗生素(BP-Ab)缀合物可以克服与骨中以及骨结合的生物膜内差的抗生素药代动力学或生物利用度相关的许多挑战。这些化合物可以通过"靶向和释放方法"减少感染,其可以降低对全身毒性和/或在其他(例如非感染)组织中的药物暴露的担忧。可以将BP-Ab缀合物结合到骨移植替代物中。BP-Ab可以是BP-氟喹诺酮缀合物。在一些情况下,BP-Ab可以是双膦酸-氨基甲酸酯-环丙沙星(BCC,化合物6),如图3所示。图3的示例性结构在本文也称为BCC(化合物6)。当结合到骨移植物中时,BP-Ab骨移植材料也可以称为BP-Ab-骨移植物。例如,当抗生素是氟喹诺酮时,可以称它为BP-FQ-骨移植物。这些化合物能有效地吸附在羟基磷灰石(HA)/骨上,且随时间推移能够实现持续的释放以及对生物膜病原体的抗微生物有效性。本文所提供的化合物以及结合了化合物的移植材料可以用作抗感染骨移植替代物用于种植体周围炎的辅助治疗或预防。缀合物将从移植材料中以缓释动力学局部地释放,并在细菌活性或破骨细胞活性存在的情况下裂解,正如我们之前在本文其他地方所提供的其他结果中在体外和体内已经证明的那样。与目前的递送途径相比,以这种方式移植物可以提供更大的FQ(诸如环丙沙星)局部浓度。总之,本文提供的化合物和骨移植材料可以包含与安全的或无药理学活性的(非抑制吸收的)BP部分缀合的抗生素,其通过强多齿静电相互作用与移植材料中的钙/HA结合,且抗生素随时间推移释放;它不简单地代表仅以浆液的形式与现有骨移植材混合的局部抗生素,如在此背景下一些目前的临床方法那样。因此,这种附着在磷酸钙矿物(HA)上的化学吸附的药物是该领域中的重要进展,并克服了在向种植体周围骨递送抗生素以实现对生物膜病原体有效的杀菌活性方面的许多限制。

[0315] 通过将活性药物分子连接至BP来靶向骨的总体概念已经在一篇综述[30]中讨论。然而,由于早期尝试的结果为全身性不稳定的前体药物或不可裂解的缀合物,发现其大部分由于干扰药效基团需求而使缀合物的任一组分均失去活性,所以在此时期尚未开发出FDA批准的药物。在喹诺酮领域,Herczegh描述了一个突出的实例,其中氟喹诺酮的抗菌特性在稳定的BP连接的同源物的情况下由于缀合被减弱[31-32]。因此,需要靶向和释放接头策略。

[0316] 近年来,利用较不稳定连接技术的药物化学策略开始出现。其他一些具有通过羧酸基团与几种不同的BP部分连接的氟喹诺酮。他们发现当在大鼠骨髓炎模型中预防性地使用抗生素莫昔沙星和加替沙星的羟乙酰胺酯前体药物时减少了感染[33]。此同一小组使用了基于酰氧基氨基甲酸酯和苯丙酮的接头通过胺功能性将相同的抗生素系链到简单的BP系统上[34]。他们示出,使用相同的预防性大鼠模型,这些缀合物在抑制感染建立方面也优于母体抗生素。Targanta团队[33]已经在与糖肽类抗生素奥古霉素[35]一起使用上进行了几种这些前体药物策略。这种双重功能药物似乎在预防感染方面有一定程度的效果。然而,到目前为止,他们还没有发表示出它们能够治疗已建立的感染的研究,且他们也没有发表该前体药物的药代动力学。据信,由于他们的药物候选选择部分地基于血浆不稳定性,而这些类似物在血液中太不稳定,以至于无法用此治疗性方法完全实现成功。因此,认为这些小组开发的这些化合物不能实现抗生素的有效局部浓度。

[0317] BCC化合物(图3)可以将氨基甲酸苯酯接头的苯基部分直接并入分子的BP部分。可以通过用吸电子或供电子基团对苯环进行修饰来修改或调整释放动力学,其可以改变接头

的可靠性。此外,BP核心缺乏作为抗吸收剂的效力,并因此不像更有效的含氮BP药物(例如唑来膦酸)那样带有药物相关的颌骨坏死的风险[39,40]。这里和本文其他实施例中都证明了这种使用氨基甲酸苯酯接头的靶向和释放策略很可能直接将活性药物释放到骨环境中的细菌生物膜中。骨靶向是如此有效以至于它比环丙沙星对抗生长在HA骨基质替代物上的生物膜的效果更好,且在对抗在塑料容器中生长的浮游培养物的效果上也更好。研究发现,用不可裂解的酰胺连接制成的类似缀合物(双膦酸-酰胺-环丙沙星),其舍弃氨基甲酸酯的酚氧,在任何情况下对细菌生长均几乎没有作用,表明抗微生物活性需要缀合物的活跃裂解。

[0318] 实施例3

[0319] 额外的BP-Ab缀合物的设计与合成(图4)。额外的BP-Ab缀合物可以使用例如环丙沙星和莫昔沙星通过基于氨基甲酸酯的接头(例如氨基甲酸酯、S-硫代氨基甲酸酯和O-硫代氨基甲酸酯)与BP(例如,4-羟基苯基乙叉基BP(BP 1,图4)、它的含羟基的类似物(BP 2,图4,具有较高的骨亲和力)和帕米膦酸(BP 3,图4)缀合来设计。图5示出了用于合成有O-硫代氨基甲酸酯接头的BP-Ab缀合物的示例性合成方案。具有S-硫代氨基甲酸酯连接的缀合物(略微更不稳定)可以由通过Newman-Kwart重排对具有O-硫代氨基甲酸酯连接的缀合物进行异构化来获得(参考文献47,48)。已经进行了初步的化学实验,以证明快速合成这些目标的可行性。因此使用含α-OH的BP很好地证明了添加骨亲和性(49)。添加骨亲和性将增强骨表面缀合物的浓度,并促进更高的短期和长期局部药物浓度。对于有含α-OH的BP(BP 2和帕米膦酸,图4)的缀合物的合成,由于α-OH双膦酸酯很容易重排成膦酰基磷酸,因此可以用叔丁基二甲基甲硅烷基(TBS)基团保护α-OH(方案2,图6)(50)。然后将α-O-TBS BP 2酯通过氯甲酸4-硝基苯酯活化,并类似地如图5与环丙沙星或莫昔沙星反应。对于α-O-TBS BP 3酯,使用有苯酚基团的接头(例如,接头1(间苯二酚)、接头2(对苯二酚)、接头3(4-羟基苯基乙酸),图20)将BP和抗微生物剂系连,且以使用接头3的合成路线作为实例在此说明(方案3,图7)。所有BP-Ab缀合物均通过1H、31P、13C NMR、MS、HPLC和元素分析来表征以保证一致性/身份(identity)。

[0320] 可以确定BP-Ab缀合物的矿物质结合亲和性。简单地说,可以精确称重(1.4-1.6mg)大粒度(均匀地1-2mm)无机牛骨并悬浮于包含适当体积的测定缓冲液[0.05%(wt/vol)Tween20,10μM EDTA和100mM HEPES pH=7.4]的4mL透明小瓶中3hr。然后,可将此骨材料与逐渐增加的量的BP-Ab(0、25、50、100、200和300μM)一起温育。可以将测定缓冲液中的样本于37℃下轻轻振动3h。平衡期之后,可将小瓶以10,000rpm离心5min以分离固体和上清液。可收集上清液(0.3mL)并使用Shimadzu UV-VIS光谱仪(275nm波长)测量平衡溶液的浓度。荧光发射也可以用于计算结合参数。在不存在HA的情况下,作为对照,可用类似的程序测量非特异性结合。由输入量与结合之后上清液中回收的量的差值推导出与HA结合的母体药物/BP-Ab缀合物量。结合参数(K_d和Bmax,分别表示平衡解离常数和结合位点的最大数目)可以使用PRISM程序(Graphpad,美国)计算,并在5个独立的实验中测量。平衡解离常数(K_d)低于20μM(~2×母体BP的K_d)的化合物可以是优选的。可使用双样本t-检验评估BP-Ab的结合参数。每组中的样本量(n=5)可以用于检测到此假设的效应量为1.72,功效80%,且单侧I型误差0.05。

[0321] 可以确定BP-Ab缀合物的连接稳定性。简单地说,可以在有不同pH(pH=1、4、7.4、10)和人或犬血清的PBS缓冲液中测试每种BP-Ab缀合物的连接稳定性。可以将BP-Ab悬浮于

400μL的上述PBS中或400μL的50％(v/v在PBS中)人或犬血清中。可以将悬浮液/溶液在37℃下温育24h并以13000rpm离心2min,并可回收上清液。可以向每种上清液中加入甲醇(相对于上清液5×体积),并可将混合物涡旋15min以提取所释放的氟喹诺酮。然后,可以将混合物以10000rpm离心15min以沉淀不溶物质。可将包含所提取的氟喹诺酮的上清液回收并蒸发至干。可将干燥的球粒重新悬浮于PBS中,并如之前所述通过UV-VIS测量来确定所释放的氟喹诺酮的量。然后,可基于输入量和所测量的药物释放量计算释放的氟喹诺酮药物的百分比。如果浓度足够,可通过LC-MS分析和/或NMR确认所释放药物的一致性/身份(identity)。

[0322] 可以确定在体外HA盘上生物膜生长的抑制。简单地说,可使用可商购的HA粉末用于定制盘的制造。可在没有粘结剂的情况下压制直径为9.6mm的粉末球粒。可在900℃下进行烧结。可使用用于静态拉伸、压缩和弯曲测试的通用测试系统(Instron model 3384;Instron,Norwood,MA)对片剂进行压缩。可分别使用LEXT OLS4000显微镜(Olympus,Center Valley,PA)和Metrotom 1500显微断层摄影仪(Carl Zeiss,Oberkochen,德国)通过共聚焦显微术和微计算机断层成像术(显微CT)检查所制造的HA盘的质量。然后,可以将HA盘引入以下浓度[mg/mL]的每种BP-Ab缀合物和环丙沙星/莫昔沙星中:800、400、200、100、50、25、10、5、1,并放置24h/37°C。温育之后,可将HA盘移除并引入1mL的PBS中,并放置在柔和摇动振动器中5min;随后以这种方式进行3次冲洗。冲洗之后,可将1mL的Aa悬浮液引到盘上并放置24h/37℃。然后,可以冲洗盘以去除未结合的细菌并进行涡旋振动。然后,可将获得的悬浮液的连续稀释液涂布在改良TSB琼脂板上进行培养,并在24h后对菌落生长进行计数。

[0323] 可以在用于骨移植的上牙槽种植体周围缺损模型中评估BP-FQ-骨移植物在临界尺寸上的骨融合作用。简单地说,在这种分开的口腔设计中,对6只比格犬(3只雄性,3只雌性)双侧拔除下颌PM2-PM4,并允许愈合12周。在翻粘骨膜瓣之后进行嵴切开。进行截骨术以生成6mm的上牙槽缺损。在每个前磨牙区通过用以直径渐变的内部冲洗钻(internally irrigated drills)在充分冲洗下连续切割来进行种植体部位截骨术准备。以这样的方式将种植体(Astra Tech Osseospeed Tx®3×11mm)放置在每侧PM2-PM4的位置,使得种植体被定位在相对于生成的缺损的嵴上4mm处并距颊皮质骨板相同的距离。将狗随机分成3个不同的组(每组2只狗):

[0324] 1.右侧使用化学吸附有BP-氟喹诺酮的无机牛骨(1g大粒度1-2mm),且左侧使用胶原蛋白填塞物(阴性对照)。

[0325] 2.右侧使用无机牛骨(1g大粒度1-2mm,阳性对照),且左侧使用胶原蛋白填塞物(阴性对照)。

[0326] 3.右侧使用化学吸附有BP-氟喹诺酮的Bio-Oss®(1g大粒度1-2mm),且左侧使用Bio-Oss®(1g大粒度1-2mm,阳性对照)。

[0327] 从上述实验得到的化学过程和抗微生物测定结果可以告知用于吸附至移植材料的缀合物的理想标准化数量的计算,以在这里所述的所有体内实验中使用。基于初步结果预计的早期计算表明,5mg或更少的缀合物吸附到1g的移植材料上将提供比所测病原体的MIC高2-3个数量级的杀菌活性。我们的BP-氟喹诺酮缀合物可应用于一系列骨移植材料,包括可商购的骨移植材料,例如Bio-Oss®;因此,我们在研究中选择自制的无机牛骨和

BioOss作为阳性对照，用于证明缀合物的广泛应用。所有缺损(根据以上分组)均用标准化量的生物材料填充直至两侧上每个种植体的平台，并使用Bio-Gide®膜来覆盖移植物和种植体以提高稳定性。借助于骨膜释放切口、内部垫以及最后地边缘单间断缝合(PTFE 4.0，Cytoplast，美国)使膜瓣以无张力的方式闭合。此时获取显微CT，并临床监测动物的炎症和不良事件。此外，正如接下来的实验中所描述，对这些动物进行PK研究以评估对移植材料内的成分(例如完整的缀合物、BP、抗生素或接头)的任何全身暴露。12周之后处死动物并切除下颌骨，并通过显微CT然后通过组织学制备进行检查。将对颌骨的基线显微CT扫描与实验后的扫描进行比较。进行定量化3D容积显微CT和组织形态计量学分析以检查种植体周围部位出现的新骨的体积，以及第一骨-至-种植体接触率/面积、总缺损面积、再生面积、总缺损面积内的再生面积、再生骨、残留骨替代材料、矿化组织的百分比、软组织和空隙。最后，进行尸体剖检以获得对器官和系统的验尸评估，获得局部口腔治疗引起的耐受性问题的大体和显微镜下的迹象。

[0328] BP-FQ-骨移植物的抗微生物有效性可以在犬种植体周围炎模型中进行评估。简单地说，在这种分开的口腔设计中，使用微创技术对8只比格犬(4只雄性，4只雌性；总共48颗牙齿)双侧拔除下颌PM2-PM4。经过3个月的愈合后，在颌两侧提起粘骨膜瓣，并在每个前磨牙区通过用以直径渐变的内部冲洗钻在充分外部冲洗下连续切割来进行种植体部位截骨术准备。使用非埋藏式技术，将种植体(Astra Tech Osseospeed Tx® 3×11mm)安装在每个部位。种植体放置的顺序在两侧是相同的，但计算机生成的狗之间的随机化方案是随机化的。愈合的基台与种植体和膜瓣相连，使用可吸收的缝合线近似。菌斑控制方案包括每周用牙膏刷牙四次。在种植体放置十二周之后，就在实验性种植体周围炎开始之前，用无菌纸捻(paper points)(Dentsply，Maillefer，size 35，Ballaigues，瑞士)从所有种植体周围部位获取微生物学样本，并立即放置在Eppendorf管(Starlab，Ahrensburg，德国)中用于微生物学分析。如我们之前详述的，通过DNA提取和16S rRNA PCR扩增进行微生物学分析(55)。使用Roche 454GS FLX平台对PCR扩增子进行测序，并用定量洞察微生物生态学(QIIME)软件包分析数据(56)。如前期在我们I阶段研究中所述确定样本中的菌落形成单位计数(CFU/mL)。此时，如下开始实验性种植体周围炎。如我们之前在大鼠动物模型上的实验以及我们之前的动物种植体周围炎研究中所进行的那样，使关键的牙周病原体伴放线凝聚杆菌(Aa)生物膜在体外愈合的基台上开始形成，其对犬类菌群不是内源性的。将温育了生物膜的愈合的基台放置在种植体上，并将棉结扎线置于种植体颈部周围的靠近边缘位置。在细菌感染10周后，像之前一样再次进行微生物取样和分析，并采取显微CT扫描作为种植体周围炎缺损的基线。通过由提起全厚度颊舌瓣对所有种植体部位进行手术清创，使用气粉磨损装置从种植体表面去除任何现存的结石，并用葡萄糖酸氯己定0.12％中浸泡的纱布擦拭种植体表面来开始对此实验性种植体周围炎模型的治疗。如下将动物分成4组(每组2只狗)：

[0329] 1.右侧使用有化学吸附的BP-氟喹诺酮的无机牛骨(1g大粒度1-2mm)，且左侧使用胶原蛋白填塞物(阴性对照)。

[0330] 2.右侧使用无机牛骨(1g大粒度1-2mm，阳性对照)，且左侧使用胶原蛋白填塞物(阴性对照)。

[0331] 3.右侧使用有化学吸附的BP-氟喹诺酮的无机牛骨(1g大粒度1-2mm)，且左侧使用抗微生物剂释放装置(100mg局部米诺环素，阳性对照)。

[0332] 4.右侧使用有化学吸附的BP-氟喹诺酮的Bio-Oss®(1g大粒度1-2mm)(阳性对照),且左侧使用抗微生物剂释放装置(100mg局部米诺环素,阳性对照)。

[0333] 未来进行数据分析的研究者对治疗组分配是不知情的。在治疗组中使用标准化且相当的量的抗微生物剂。治疗之后,将膜瓣重新定位并缝合(PTFE 4,0,Cytoplast,美国),拆线后1周之后重新建立口腔卫生措施。手术后3个月,再次进行临床和显微CT扫描检查,且同样如上所述在此时获取微生物样本用于分析。种植体周围炎手术后六个月,将动物安乐死并进行显微CT扫描,并切除颌骨用于评估组织病理学参数,如在部分"临界尺寸上牙槽种植体周围缺损模型"中所详述。如先前所详述从组织学切片确定炎症评分(参考文献57),用于与临床和放射学结果关联。

[0334] 统计分析:统计计算用SPSS 22.0(IBM,Armonk,NY)和Excel2016(Microsoft Corporation,Redmond,WA)进行。进行功效分析以确定用于使用G Power 3软件的所有动物研究的样本量估计[58]。在从这些动物研究中收集数据之后,首先用描述统计学对定量结果进行分析,以了解数据(参数或非参数)的分布情况并生成平均值、标准误差、标准偏差、峰度和偏度以及95%置信水平。适用时使用Kruskall-Wallis测试、ANOVA或混合线性模型分析数据,且当比较多个组时统计学意义以α=0.05水平进行。还使用未配对t-检验和用于多次比较的Dunnett's检验进行事后分析以进一步证实结果。所有的动物实验都使用用于报告动物研究的ARRIVE指南来描述,以确保结果的质量、信度、效度和重现性[59]。

[0335] 可对BCC(6)的药物化合物和成分稳定性以及体外ADME进行评估。这些数据可以帮助确定人类新陈代谢与实验的动物之间是否很可能存在任何大的差异。与人类、大鼠和狗肝微粒体和肝细胞一起温育6,然后对代谢物混合物进行LC/MS分析。环丙沙星的代谢谱是已知的[62,63],并因此我们的关注点是分子的BP部分的任何代谢物和母体的任何代谢物(例如,对于环丙沙星已知的哌嗪环裂解)。一旦在体外确定了代谢物,就使用上述其他体内实验中的血浆样本在体内以稳态确定这些化合物。

[0336] 可以在大鼠和狗中评估BCC(6)的毒理学以确定NOAEL。为了在大鼠和狗中确定NOAEL和最大耐受剂剂量(MTD),我们首先进行了剂量范围研究。向6只大鼠(3只雄性,3只雌性)的组给予静脉注射单剂量10mg/kg的6,或者基于我们此时的最佳评估。通过加倍逐渐提高剂量直到发现急性毒性(MTD),然后将此剂量依次降低20%直到无作用,这将是化合物的NOAEL。毒性被评估为轻度、中度或大量,且由在≥2只动物中为中度毒性或在≥1只动物中为大量毒性定义MTD[64]。对动物进行为期5天的体重和临床观察。5天后,将动物安乐死并进行尸体剖检以评估器官重量和组织学(15个切片包括肝和肾脏,基于临床BP毒理学)。对狗也进行了类似的剂量范围研究(1只/性别,从等量剂量开始,如由异速比例法(allometric scaling)4mg/kg所确定的,假设大鼠250g和狗10kg),且除了与大鼠中相同的终点研究之外还包括血液学和临床化学。这可以使用总共4-6个队列。

[0337] 可以在动物组中以NOAEL和MTD进行扩大的急性毒性测试,包括毒代动力学和恢复性测试。包括10只/性别的48只大鼠的组可用于每种剂量以评估毒性,且9只/性别用于毒代动力学,以及5只/性别用于恢复性。在每种剂量的给药之后,于6个时间点(从雄性或雌性中随机选择3只大鼠/时间点)确定毒代动力学。时间点为给药后5、30、60、120min、12hr和24hr。观察恢复动物14天,然后如上述研究评估器官重量和组织学。从毒代动力学研究来看,PK参数是通过包括Cmax、AUC和半衰期的非房室分析(NCA)确定的。在犬类中进行了相同

的实验,但包括总共10只动物(3只/性别用于给药,以及2只/性别用于恢复),并在与对于大鼠相同的时间点从每只动物抽取多次血液。使用犬类在NOAEL的AUC计算来自骨移植物/BP-氟喹诺酮缀合物的最大允许暴露,如目标2中所述,并使用犬类中的PK实验确定是否有超过此水平的1/100的全身暴露。

[0338] 对于群体模型,BP药代动力学的独特的3-室(血/尿/骨)数学模型已经临床验证并应用于当前项目[65]。犬类研究中,在安乐死时,我们在每只动物中取样骨(颌骨和股骨)、肌腱(腓肠肌)用于测定BP和氟喹诺酮浓度。我们将这些数据与我们的模型结合来描述狗中的时间过程。根据此模型,我们可以用可替代的给药或重复的给药来模拟骨和软骨对BP和氟喹诺酮两者的预期暴露。这可以为后续的人类给药提供信息。在R的Pmetrics程序包(Laboratory of Applied Pharmacokinetics and Bioinformatics,Los Angeles,CA)内执行的自适应γ的非参数自适应网格(NPAG)算法被用于如先前所述的所有PK模型-拟合程序[66-68]。使用误差多项式作为测量浓度的函数来考虑分析误差(SD),且比较性能评估使用Akaike's信息准则、观察到的对比预测的浓度的回归、PK参数-协变量回归的可视化图和简约性的规则来完成。

[0339] 实施例4

[0340] 可以将BP-Ab缀合物结合到移植物和移植装置中。在实施方式中,可以将一种或多种BP-Ab缀合物结合到已批准的骨移植产品中,诸如BioOss®(Geistlich Pharma AG,瑞士)或MinerOss®(BioHorizons,Birmingham,AL)的牛骨材料,等等。一种或多种BP-Ab缀合物可以与支撑材料混合作为牙科骨移植替代物使用。该产品将包括吸附在无机牛骨材料上的缀合物。这种材料将允许抗生素局部递送至骨移植物植入的区域,以降低细菌感染率和相关的牙科病理,诸如种植体周围炎和其他感染。我们的产品的牙科应用不仅可包括种植体周围炎治疗,还包括拔牙后的牙槽保护、嵴或窦提升、牙周炎预防或治疗、骨髓炎或骨坏死治疗或预防,或其他在其中这样的骨移植物有益的口腔和牙周手术应用。BP-氟喹诺酮缀合物材料将紧密地吸附在骨移植替代物上,且我们的初步数据示出了在感染情况下其被持续释放至骨破坏的区域,这允许我们的产品更有效地递送抗生素至感染的部位,同时对缀合化合物的任一组分的全身暴露为可忽略不计至没有。

[0341] 该移植材料也可有益于非牙科移植术,诸如窦移植术。

[0342] 实施例2-4的参考文献.

[0343] 1.http://www.aaid.com/about/press_room/dental_implants_faq.html

[0344] 2.Quirynen M,De Soete M,van Steenberghe D.Infectious risks for oralimplants:a review of the literature.Clinical Oral ImplantsResearch.2002;13(1):1-19.doi:10.1034/j.1600-0501.2002.130101.x.PubMedPMID:12005139.

[0345] 3.Norowski PA,Jr.,Bumgardner JD.Biomaterial and antibiotic strategiesfor peri-implantitis:a review.J Biomed Mater Res B ApplBiomater.2009;88(2):530-43.doi:10.1002/jbm.b.31152.PubMed PMID:18698626.

[0346] 4.Salvi GE,Cosgarea R,Sculean A.Prevalence and Mechanisms ofPeri-implant Diseases.J Dent Res.2016.doi:10.1177/0022034516667484.PubMed PMID:27680028.

[0347] 5.Meijer HJA,Raghoebar GM,de Waal YCM,Vissink A.Incidence ofperi-implant mucositis and peri-implantitis in edentulous patients with animplant-retained mandibular overdenture during a 10-year follow-upperiod.Journal of Clinical Periodontology.2014;41(12):1178-83.doi:10.1111/jcpe.12311.PubMed PMID:25229397.

[0348] 6.Jemt T,Olsson M,Stenport VF.Incidence of First Implant Failure: ARetroprospective Study of 27 Years of Implant Operations at One SpecialistClinic.Clinical Implant Dentistry and Related Research.2015;17: E501-E10.doi:10.1111/cid.12277.PubMed PMID:25536273.

[0349] 7.Wolcott RD,Ehrlich GD.Biofilms and chronic infections.Jama-Journalof the American Medical Association.2008;299(22):2682-4.doi:10.1001/jama.299.22.2682.PubMed PMID:18544729.

[0350] 8.Costerton JW,Cheng KJ,Geesey GG,Ladd TI,Nickel JC,Dasgupta M,Marrie TJ.Bacterial biofilms in nature and disesae.Annual Review ofMicrobiology.1987;41:435-64.PubMed PMID:3318676.

[0351] 9.Costerton JW,Geesey GG,Cheng KJ.How bacteria stick.ScientificAmerican.1978;238(1):86-95.PubMed PMID:635520.

[0352] 10.Kumar PS,Mason MR,Brooker MR,O'Brien K.Pyrosequencingreveals unique microbial signatures associated with healthy and failing dentalimplants.J Clin Periodontol 2012;39(5):425-33.doi:10.1111/j.1600-051X.2012.01856.x.PubMed PMID:22417294;PubMed CentralPMCID:PMC3323747.

[0353] 11.Shibli JA,Melo L,Ferrari DS,Figueiredo LC,Faveri M,Feres M.Composition of supra and subgingival biofilm of subjects with healthy anddiseased implants.Clin Oral Implants Res.2008;19(10):975-82.doi:10.1111/j.1600-0501.2008.01566.x.PubMed PMID:18828812.

[0354] 12.Stoodley P,Ehrlich GD,Sedghizadeh PP,Hall-Stoodley L,BaratzME,Altman DT,Sotereanos NG,Costerton JW,DeMeo P.Orthopaedic BiofilmInfections.Curr Orthop Pract.2011;22(6):558-63.PubMed PMID:22323927;PubMed Central PMCID:PMC3272669.

[0355] 13.Javed F,AlGhamdi AST,Ahmed A,Mikami T,Ahmed HB,Tenenbaum HC.Clinical efficacy of antibiotics in the treatment ofperi-implantitis.International Dental Journal.2013;63(4):169-76.doi:10.1111/idj.12034.PubMed PMID:23879251.

[0356] 14.Smeets R,Henningsen A,Jung O,Heiland M,Hammacher C,SteinJM.Definition,etiology,prevention and treatment of peri-implantitis-areview.Head Face Med.2014;10.doi:10.1186/1746-160x-10-34.PubMed PMID:25185675;PubMed Central PMCID:PMC4164121.

[0357] 15.Leonhardt A,Dahlen G,Renvert S.Five-year clinical,microbiological,and radiological outcome following treatment ofperi-implantitis in man.J

Periodontol.2003;74(10):1415-22.doi:10.1902/jop.2003.74.10.1415.PubMed PMID:14653386.

[0358] 16.Mombelli A.Microbiology and antimicrobial therapy ofperi-implantitis.Periodontol 2000.2002;28:177-89.PubMed PMID:12013341.

[0359] 17.Levison ME,Levison JH.Pharmacokinetics and Pharmacodynamicsof Antibacterial Agents.Infect Dis Clin North Am.2009;23(4):75-89.doi:10.1016/j.idc.2009.06.008.PubMed PMID:24484576;PubMed Central PMCID:PMC4079031

[0360] 18.Kaur K,Sikri P.Evaluation of the effect of allograft with doxycyclineversus the allograft alone in the treatment of infrabony defects:A controlledclinical and radiographical study.Dent Res J(Isfahan).2013;10(2):238-46.PubMed PMID:23946743;PubMed CentralPMCID:PMC3731967.

[0361] 19.Inzana JA,Schwarz EM,Kates SL,Awad HA.Biomaterialsapproaches to treating implant-associatedosteomyelitis.Biomaterials.2016;81:58-71.doi:10.1016/j.biomaterials.2015.12.012.PubMed PMID:26724454.

[0362] 20.Schmitt CM,Moest T,Lutz R,Neukam FW,Schlegel KA.Anorganicbovine bone(ABB)vs.autologous bone(AB)plus ABB in maxillary sinusgrafting.A prospective non-randomized clinical and histomorphometricaltrial.Clin Oral Implants Res.2015;26(9):1043-50.doi:10.1111/clr.12396.PubMed PMID:24730602.

[0363] 21.Kluin OS,van der Mei HC,Busscher HJ,Neut D.Biodegradable vsnon-biodegradable antibiotic delivery devices in the treatment ofosteomyelitis.Expert Opin Drug Deliv.2013;10(3):341-51.doi:10.1517/17425247.2013.751371.PubMed PMID:23289645.

[0364] 22.

[0365] https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/019537s073,020780s030lbl.pdf

[0366] 23.Nancollas GH,Tang R,Phipps RJ,Henneman Z,Gulde S,Wu W,Mangood A,Russell RGG,Ebetino FH.Novel insights into actions ofbisphosphonates on bone:Differences in interactions withhydroxyapatite.Bone.2006;38(5):617-27.doi:10.1016/j.bone.2005.05.003.PubMed PMID:16046206.

[0367] 24.Russell RGG,Watts NB,Ebetino FH,Rogers MJ.Mechanisms ofaction of bisphosphonates:similarities and differences and their potentialinfluence on clinical efficacy.Osteoporos Int 2008;19(6):733-59.doi:10.1007/s00198-007-0540-8.PubMed PMID:18214569.

[0368] 25.Kavanagh KL,Guo KD,Dunford JE,Wu XQ,Knapp S,Ebetino FH,Rogers MJ,Russell RGG,Oppermann U.The molecular mechanism ofnitrogen-containing bisphosphonates as anti osteoporosis drugs.Proc Natl AcadSci U S A.2006;103(20):7829-34.doi:10.1073/pnas.0601643103.PubMedPMID:16684881;PubMed Central PMCID:PMC1472530.

[0369] 26.Kashemirov BA,Bala JLF,Chen X,Ebetino FH,Xia Z,Russell RGG,Coxon

FP,Roelofs AJ,Rogers MJ,McKenna CE.Fluorescently labeledrisedronate and related analogues:"magic linker"synthesis.BioconjugChem.2008;19(12):2308-10.doi:10.1021/bc800369c.PubMed PMID:19032080.

[0370] 27.Junka AF,Szymczyk P,Smutnicka D,Kos M,Smolina I,Bartoszewicz M,Chlebus E,Turniak M,Sedghizadeh PP.Microbial biofilms areable to destroy hydroxyapatite in the absence of host immunity in vitro.J OralMaxillofac Surg.2015;73(3):451-64.doi:10.1016/j.joms.2014.09.019.PubMedPMID:25544303.

[0371] 28.Sedghizadeh PP,Kumar SKS,Gorur A,Schaudinn C,Shuler CF,Costerton JW.Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jawssecondary to bisphosphonate therapy.J Oral Maxillofac Surg 2008;66(4):767-75.doi:10.1016/j.joms.2007.11.035.PubMed PMID:18355603.

[0372] 29.Sedghizadeh PP,Kumar SKS,Gorur A,Schaudinn C,Shuler CF,Costerton JW.Microbial biofilms in osteomyelitis of the jaw and osteonecrosisof the jaw secondary to bisphosphonate therapy.J Am DentAssoc.2009;140(10):1259-65.PubMed PMID:19797556.

[0373] 30.Zhang SF,Gangal G,Uludag H.'Magic bullets'for bone diseases:progress in rational design of bone-seeking medicinal agents.Chem Soc Rev2007;36(3):507-31.doi:10.1039/b512310k.PubMed PMID:17325789.

[0374] 31.Herczegh P,Buxton TB,McPherson JC,Kovacs-Kulyassa A,BrewerPD,Sztaricskai F,Stroebel GG,Plowman KM,Farcasiu D,HartmannJF.Osteoadsorptive bisphosphonate derivatives of fluoroquinoloneantibacterials.J Med Chem.2002;45(11):2338-41.doi:10.1021/jm0105326.PubMed PMID:12014972.

[0375] 32.Buxton TB,Walsh DS,Harvey SB,McPherson JC,Hartmann JF,Plowman KM.Bisphosphonate-ciprofloxacin bound to Skelite(TM)is aprototype for enhancing experimental local antibiotic delivery to injuredbone.British Journal of Surgery.2004;91(9):1192-6.doi:10.1002/bjs.4644.PubMed PMID:15449273.

[0376] 33.Tanaka KSE,Houghton TJ,Kang T,Dietrich E,Delorme D,FerreiraSS,Caron L,Viens F,Arhin FF,Sarmiento I,Lehoux D,Fadhil I,Laquerre K,Liu J,Ostiguy V,Poirier H,Moeck G,Parr TR,Far AR.Bisphosphonatedfluoroquinolone esters as osteotropic prodrugs for the prevention ofosteomyelitis.Bioorg Med Chem.2008;16(20):9217-29.doi:10.1016/j.bmc.2008.09.010.PubMed PMID:18815051.

[0377] 34.Houghton TJ,Tanaka KSE,Kang T,Dietrich E,Lafontaine Y,Delorme D,Ferreira SS,Viens F,Arhin FF,Sarmiento I,Lehoux D,Fadhil I,Laquerre K,Liu J,Ostiguy V,Poirier H,Moeck G,Parr TR,Far AR.LinkingBisphosphonates to the Free Amino Groups in Fluoroquinolones:Preparation ofOsteotropic Prodrugs for the Prevention of Osteomyelitis.J MedChem.2008;51(21):6955-69.doi:10.1021/jm801007z.PubMed PMID:18834106.

[0378] 35.Tanaka KSE,Dietrich E,Ciblat S,Metayer C,Arhin FF,Sarmiento I,

Moeck G,Parr TR,Far AR.Synthesis and in vitro evaluation of bisphosphonatedglycopeptide prodrugs for the treatment of osteomyelitis.Bioorg Med ChemLett.2010;20(4):1355-9.doi:10.1016/j.bmcl.2010.01.006.PubMed PMID:20097069.

[0379] 36.Arns S,Gibe R,Moreau A,Morshed MM,Young RN.Design andsynthesis of novel bone-targeting dual-action pro-drugs for the treatment andreversal of osteoporosis.Bioorganic&Medicinal Chemistry.2012;20(6):2131-40.doi:10.1016/j.bmc.2012.01.024.PubMed PMID:22341574.

[0380] 37.Liu CC,Hu S,Chen G,Georgiou J,Arns S,Kumar NS,Young RN,Grynpas MD.Novel EP4 Receptor Agonist-Bisphosphonate Conjugate Drug(C1)Promotes Bone Formation and Improves Vertebral Mechanical Properties in theOvariectomized Rat Model of Postmenopausal Bone Loss.J Bone MinerRes.2015;30(4):670-80.doi:10.1002/jbmr.2382.PubMed PMID:25284325.

[0381] 38.Morioka M,Kamizono A,Takikawa H,Mori A,Ueno H,KadowakiSI,Nakao Y,Kato K,Umezawa K.Design,synthesis,and biological evaluationof novel estradiol-bisphosphonate conjugates as bone-specific estrogens.BioorgMed Chem.2010;18(3):1143-8.doi:10.1016/j.bmc.2009.12.041.PubMed PMID:20071185

[0382] 39.Katsarelis H,Shah NP,Dhariwal DK,Pazianas M.Infection andMedication-related Osteonecrosis of the Jaw.J Dent Res.2015;94(4):534-9.doi:10.1177/0022034515572021.PubMed PMID:25710950.

[0383] 40.Lee SH,Chan RC,Chang SS,Tan YL,Chang KH,Lee MC,ChangHE,Lee CC.Use of bisphosphonates and the risk of osteonecrosis among cancerpatients:a systemic review and meta-analysis of the observationalstudies.Support Care Cancer.2014;22(2):553-60.doi:10.1007/s00520-013-2017-y.PubMed PMID:24203085.

[0384] 41.Moura LA,Ribeiro FV,Aiello TB,Duek EAD,Sallum EA,NocitiFH,Casati MZ,Sallum AW.Characterization of the release profile ofdoxycycline by PLGA microspheres adjunct to non-surgical periodontaltherapy.J Biomater Sci Polym Ed 2015;26(10):573-84.doi:10.1080/09205063.2015.1045249.PubMed PMID:25917501

[0385] 42.https://www.govtrack.us/congress/bills/114/hr34/text

[0386] 43.EUCAST breakpoint tables for interpretation of MICs and zonediameters.2015.http://www.eucast.org/

[0387] 44.McPherson JC,Runner R,Buxton TB,Hartmann JF,Farcasiu D,Bereczki I,Roth E,Tollas S,Ostorhazi E,Rozgonyi F,Herczegh P.Synthesis ofosteotropic hydroxybisphosphonate derivatives of fluoroquinoloneantibacterials.Eur J Med Chem.2012;47:615-8.doi:10.1016/j.ejmech.2011.10.049.PubMed PMID:22093760.

[0388] 45.Freire MO,Sedghizadeh PP,Schaudinn C,Gorur A,Downey JS,Choi JH,Chen W,Kook JK,Chen C,Goodman SD,Zadeh HH.Development ofan Animal Model for Aggregatibacter ActinomycetemcomitansBiofilm-Mediated Oral Osteolytic Infection:A Preliminary Study.JPeriodontol.2011;82(5):778-89.doi:10.1902/

jop.2010.100263.PubMed PMID:21222546.

[0389] 46.Vacondio F,Silva C,Lodola A,Fioni A,Rivara S,Duranti A,TontiniA,Sanchini S,Clapper JR,Piomelli D,Mor M,Tarzia G.Structure-propertyrelationships of a class of carbamate-based fatty acid amide hydrolase(FAAH)inhibitors:chemical and biologicalstability.ChemMedChem.2009;4(9):1495-504.doi:10.1002/cmdc.200900120.PubMed PMID:19554599;PubMed Central PMCID:PMCPMC3517974.

[0390] 47.Lloyd-Jones GC,Moseley JD,Renny JS.Mechanism and applicationof the Newman-Kwart O->S rearrangement of O-arylthiocarbamates.Synthesis-Stuttgart.2008(5):661-89.doi:10.1055/s-2008-1032179.

[0391] 48.Moseley JD,Sankey RF,Tang ON,Gilday JP.The Newman-Kwartrearrangement re-evaluated by microwavesynthesis.Tetrahedron.2006;62(19):4685-9.doi:10.1016/j.tet.2005.12.063.

[0392] 49.Ebetino FH,Hogan AM,Sun S,Tsoumpra MK,Duan X,Triffitt JT,Kwaasi AA,Dunford JE,Barnett BL,Oppermann U,Lundy MW,Boyde A,Kashemirov BA,McKenna CE,Russell RG.The relationship between thechemistry and biological activity of the bisphosphonates.Bone.2011;49(1):20-33.doi:10.1016/j.bone.2011.03.774.PubMed PMID:21497677.

[0393] 50.Vachal P,Hale JJ,Lu Z,Streckfuss EC,Mills SG,MacCoss M,YinDH,Algayer K,Manser K,Kesisoglou F,Ghosh S,Alani LL.Synthesis andstudy of alendronate derivatives as potential prodrugs of alendronate sodium forthe treatment of low bone density and osteoporosis.J MedChem.2006;49(11):3060-3.doi:10.1021/jm060398v.PubMed PMID:16722624.

[0394] 51.Lopez-Piriz R,Sola-Linares E,Rodriguez-Portugal M,Malpica B,Diaz-Gumes I,Enciso S,Esteban-Tejeda L,Cabal B,Granizo JJ,Moya JS,Torrecillas R.Evaluation in a Dog Model of Three Antimicrobial GlassyCoatings:Prevention of Bone Loss around Implants and MicrobialAssessments.Plos One.2015;10(10).doi:10.1371/journal.pone.0140374.PubMed PMID:26489088;PubMed CentralPMCID:PMC4619200

[0395] 52.Orti V,Bousquet P,Tramini P,Gaitan C,Mertens B,Cuisinier F.Benefits of mineralized bone cortical allograft for immediate implant placementin extraction sites:an in vivo study in dogs.J Periodontal ImplantSci.2016;46(5):291-302.doi:10.5051/jpis.2016.46.5.291.PubMed PMID:27800212;PubMed Central PMCID:PMC5083813.

[0396] 53.Reizner W,Hunter JG,O'Malley NT,Southgate RD,Schwarz EM,Kates SL.A systematic review of animal models for Staphylococcus aureusosteomyelitis.European Cells&Materials.2014;27:196-212.PubMed PMID:24668594;PubMed Central PMCID:PMC4322679.

[0397] 54.Wancket LM.Animal Models for Evaluation of Bone Implants

andDevices:Comparative Bone Structure and Common Model Uses.Vet Pathol2015;52(5):842-50.doi:10.1177/0300985815593124.PubMed PMID:26163303.

[0398] 55.Saber MH,Schwarzberg K,Alonaizan FA,Kelley ST,SedghizadehPP,Furlan M,Levy TA,Simon JH,Slots J.Bacterial Flora of DentalPeriradicular Lesions Analyzed by the 454-Pyrosequencing Technology.JEndod.2012;38(11):1484-8.doi:10.1016/j.joen.2012.06.037.PubMed PMID:23063222.

[0399] 56.Caporaso JG,Kuczynski J,Stombaugh J,Bittinger K,Bushman FD,Costello EK,Fierer N,Pena AG,Goodrich JK,Gordon JI,Huttley GA,KelleyST,Knights D,Koenig JE,Ley RE,Lozupone CA,McDonald D,Muegge BD,Pirrung M,Reeder J,Sevinsky JR,Tumbaugh PJ,Walters WA,Widmann J,Yatsunenko T,Zaneveld J,Knight R.QIIME allows analysis of high-throughputcommunity sequencing data.Nature Methods.2010;7(5):335-6.doi:10.1038/nmeth.f.303.PubMed PMID:20383131.

[0400] 57.Battula S,Lee JW,Wen HB,Papanicolaou S,Collins M,RomanosGE.Evaluation of Different Implant Designs in a Ligature-InducedPeri-implantitis Model:A Canine Study.International Journal of Oral&Maxillofacial Implants.2015;30(3):534-45.doi:10.11607/jomi.3737.PubMedPMID:26009904.

[0401] 58.Faul F,Erdfelder E,Buchner A,Lang AG.Statistical power analysesusing G*Power 3.1:Tests for correlation and regression analyses.Behav ResMethods.2009;41(4):1149-60.doi:10.3758/brm.41.4.1149.PubMed PMID:19897823.

[0402] 59.Kilkenny C,Browne W,Cuthill IC,Emerson M,Altman DG.Animalresearch:Reporting in vivo experiments:The ARRIVE guidelines.Br JPharmacol.2010;160(7):1577-9.doi:10.1111/j.1476-5381.2010.00872.x.PubMed PMID:20649561;PubMed CentralPMCID:PMC2936830.

[0403] 60.Salvi GE,Lang NP.Diagnostic parameters for monitoringperi-implant conditions.Int J Oral Maxillofac Implants.2004;19:116-27.PubMedPMID:15635952.

[0404] 61.

[0405] http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM072193.pdf

[0406] 62.Jaehde U,Zurcher J,Sorgel F,Naber K,Schunack W.Metabolism ofCiprofloxacin in Humans following Oral and IntravenousAdministration.Reviews of Infectious Diseases.1989;11:S1135.

[0407] 63.Vancebryan K,Guay DRP,Rotschafer JC.Clinical pharmacokineticsof ciprofloxacin.Clin Pharmacokinet 1990;19(6):434-61.PubMed PMID:2292168.

[0408] 64.Baumans V,Brain PF,Brugere H,Clausing P,Jeneskog T,Perretta G.Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs.Report of the Federationof European Laboratory Animal Science Associations(FELASA)WorkingGroup on Pain and Distress accepted by the FELASA Board of ManagementNovember 1992.Laboratory Animals.1994;28(2):97-112.doi:10.1258/002367794780745308.PubMed PMID:8035572.

[0409] 65.Sedghizadeh PP,Jones AC,LaVallee C,Jelliffe RW,Le AD,Lee P,Kiss A,Neely M.Population pharmacokinetic and pharmacodynamic modelingfor assessing risk of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw.Oral SurgOral Med Oral Pathol Oral Radiol 2013;115(2):224-32.doi:10.1016/j.oooo.2012.08.455.PubMed PMID:23246224;PubMed CentralPMCID:PMC3545087.

[0410] 66.O'Donnell JN,Gulati A,Lavhale MS,Sharma SS,Patel AJ,Rhodes NJ,Scheetz MH.Pharmacokinetics of centhaquin citrate in a rat model.J Pharm Pharmacol.2016;68(1):56-62.doi:10.1111/jphp.12498.PubMed PMID:26725913.

[0411] 67.Neely MN,van Guilder MG,Yamada WM,Schumitzky A,Jelliffe RW.Accurate Detection of Outliers and Subpopulations With Pmetrics,a Nonparametric and Parametric Pharmacometric Modeling and Simulation Package for R.Ther Drug Monit.2012;34(4):467-76.doi:10.1097/FTD.0b013e31825c4ba6.PubMed PMID:22722776PubMed Central PMCID:PMC3394880

[0412] 68.Tatarinova T,Neely M,Bartroff J,van Guilder M,Yamada W,Bayard D,Jelliffe R,Leary R,Chubatiuk A,Schumitzky A.Two general methods for population pharmacokinetic modeling:non-parametric adaptive grid and non-parametric Bayesian.J Pharmacokinet Pharmacodyn.2013;40(2):189-99.doi:10.1007/s10928-013-9302-8.PubMed PMID:23404393;PubMed Central PMCID:PMC3630269.

[0413] 69.Wacha H,Wagner D,Schafer V,Knothe H.Concentration of ciprofloxacin in bone tissue after single parenteral administration to patients older than 70years.Infection.1990;18(3):173-6.PubMed PMID:2365470.

[0414] 实施例5：

[0415] 本实施例展示了各种BP缀合化合物和合成方案。BP-氨基甲酸酯-莫昔沙星BP缀合物及合成方案在图8中示出。图9示出了BP-氨基甲酸酯-加替沙星BP缀合物及合成方案。图10示出了BP-对羟基苯基乙酸-环丙沙星BP缀合物及合成方案。图11示出了BP-OH-环丙沙星BP缀合物及合成方案。图12示出了BP-O-硫代氨基甲酸酯-环丙沙星BP缀合物及合成方案。图13示出了BP-S-硫代氨基甲酸酯-环丙沙星BP缀合物及合成方案。图14示出了BP-间苯二酚-环丙沙星BP缀合物及合成方案。图15示出了BP-对苯二酚-环丙沙星BP缀合物及合成方案。

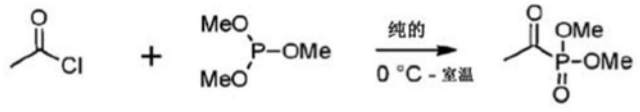
[0416] 图16示出了BP-氟喹诺酮缀合物的通式结构的一种实施方式，其中W可以是O或S或N，X可以是O、S、N、CH_2O、CH_2N或CH_2S，Y可以是H、CH_3、NO_2、F、Cl、Br、I或CO_2H，Z可以是H、CH_3、OH、NH_2、SH、F、Cl、Br或I，且n可以是1-5。图17示出了各种BP-氟喹诺酮缀合物。

[0417] 图18示出了包含芳基基团的膦酸类的通式结构的一种实施方式，其中X可以是H、CH_3、OH、NH_2、SH、F、Cl、Br或I，Y可以是PO_3H_2或CO_2H。Z可以是OH、NH_2、SH或N_3，且n可以是1或2。图19示出了各种BP，其中X可以是F、Cl、Br或I，且n可以是1或2。

[0418] 图20示出了有末端伯胺的各种BP。图21示出了各种BP与包含末端羟基和胺官能团的接头偶联，其中R可以是利塞膦酸、唑来膦酸、米诺膦酸、帕米膦酸或阿仑膦酸。图22示出了各种BP-帕米膦酸-环丙沙星缀合物。图23示出了各种BP-阿仑膦酸-环丙沙星缀合物。

[0419] 实施例6.

[0420] 1.乙酰基膦酸二甲基酯(37)



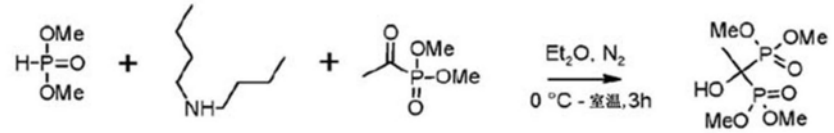
[0421] C_2H_3ClO 78.49 g/mol; $C_3H_9O_3P$ 124.07 g/mol; $C_4H_9O_4P$ 152.08 g/mol

(37)

[0422] 在N_2下在20min的时间段内,将亚磷酸三甲基酯(2.36mL,20mmol)添加到冰冷的乙酰氯(1.44mL,20.2mmol)中。将无色溶液温热至室温,搅拌30min,并在真空下浓缩,以得到2.89g(94%)的产物,为无色油,将其原样用于下一反应。^{1}HNMR(300MHz,CDCl3):δ3.84(d,J=12Hz,6H),2.46(d,J=5.4Hz,3H)。^{31}PNMR(121MHz,$CDCl_3$):δ-1.10。

[0423] 2.四甲基(1-羟基乙叉基)双膦酸(38)

[0424]



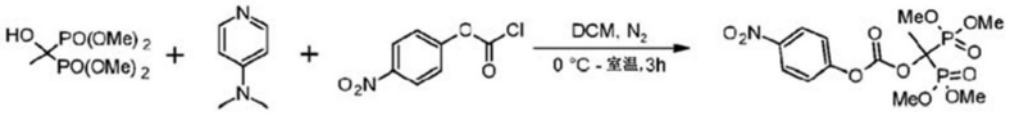
$C_2H_7O_3P$ 110.04 g/mol; $C_6H_{13}N$ 129.24 g/mol; $C_4H_9O_4P$ 152.08 g/mol; $C_6H_{18}O_7P_2$ 262.13 g/mol

[0425] **(37)** **(38)**

[0426] 在N_2下,将乙酰基磷酸二甲基酯(37)(2.2g,14.44mmol)逐滴添加至亚磷酸二甲基酯(1.63mL,15.91mmol)和二丁胺(0.767mL,1.44mmol)在干醚(30mL)中的冰冷溶液中。移除冰浴,并将混合物在室温下搅拌3h。将得到的沉淀物过滤,用醚洗涤,并在真空下干燥过夜,以得到3.24g(85%)的产物,为白色固体。^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ3.94-3.82(m,12H),3.44(t,J=8.4Hz,1H),1.68(t,J=16.2Hz,3H)。^{31}PNMR(121MHz,$CDCl_3$):δ22.21。MS-ESI:263.1[M+H]+。

[0427] 3.四甲基(1-{[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}乙-1,1-二基)双(膦酸)(39)

[0428]



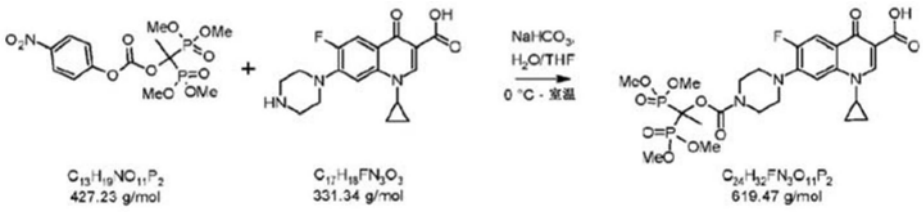
$C_6H_{16}O_7P_2$ 262.13 g/mol; $C_7H_{10}N_2$ 122.16 g/mol; $C_7H_4ClNO_4$ 201.56 g/mol; $C_{13}H_{19}NO_{11}P_2$ 427.23 g/mol

(39)

[0429] 在N_2下,将氯甲酸对硝基苯酯(768mg,3.81mmol)添加至DMAP(466mg,3.81mmol)在DCM(20mL)中的冰冷溶液中。搅拌10min后,一次性添加四甲基(1-羟基乙叉基)-双膦酸(1g,3.81mmol)。移除冰浴,并将混合物在室温下搅拌3h。接下来,将反应混合物各自用20mL冷的0.1N HCl水溶液(2x)、水、盐水萃取,经$MgSO_4$干燥并浓缩。通过使用EtOAc/MeOH(1-3%)的柱色谱法分离粗混合物,以得到1.16g(71%)浅黄色油。^{1}HNMR(300MHz,CDCl3):δ8.27(d,J=9Hz,2H),7.40(d,J=9Hz,2H),3.97-3.87(m,12H),2.02(t,J=15.6Hz,3H)。^{31}PNMR

(121MHz,$CDCl_3$):δ17.98。MS-ESI:445.3[M+NH4]+。

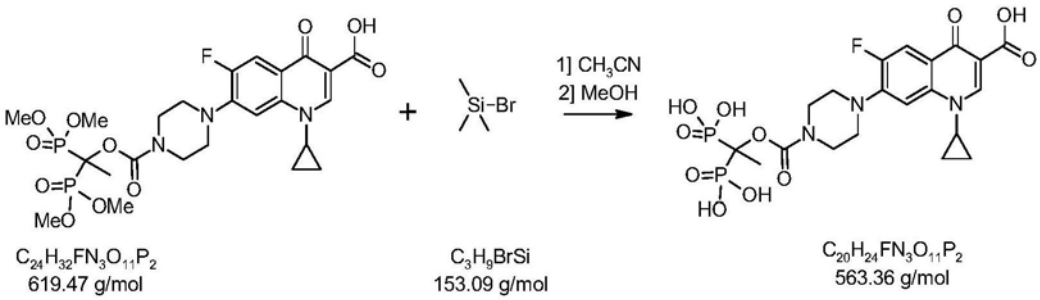
[0430] 4:环丙沙星氨基甲酰基依替膦酸四甲基酯(40)

[0431] 

(40)

[0432] 向$NaHCO_3$(239.5mg,2.85mmol)在H_2O(20mL)中的溶液中添加环丙沙星(899.6mg,2.71mmol),并将悬浮液在冰浴中冷却。接下来,在20min的时间段内逐滴添加溶解在THF(20mL)中的四甲基(1-{[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}乙-1,1-二基)双(膦酸)。将黄色悬浮液在室温下搅拌过夜(14h)。将反应混合物浓缩,并通过使用DCM/MeOH(1-5%)的柱色谱法分离粗混合物,以得到832mg(49%)的浅黄色固体。^{1}HNMR(300MHz,$CDCl_3$):δ8.77(s,1H),8.03(d,J=12.6Hz,1H),7.36(d,J=6.9Hz,1H)3.98-3.80(m,12H),3.79-3.68(br s,4H),3.58-3.50(m,1H),3.30(t,J=9.6Hz,4H),1.95(t,J=15.6Hz,3H),1.40(q,J=6.8Hz,2H),1.23-1.16(m,2H)。^{31}PNMR(121MHz,CDCl3):δ20.19。MS-ESI:620.3[M+H]+。

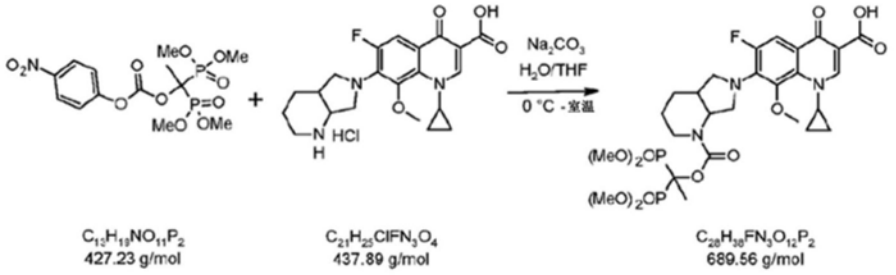
[0433] 5.依替膦酸-氨基甲酸酯-环丙沙星(41)

[0434] 

(41)

[0435] 将在ACN(28mL)中的四甲基依替膦酸-氨基甲酸酯-环丙沙星(775mg,1.25mmol)和溴三甲基硅烷(1.53g,10mmol)的混合物搅拌2h。在真空下蒸发挥发物,并将MeOH(28mL)添加到残余物中。搅拌30min后,将得到的悬浮液过滤,用MeOH(10mL x 2)洗涤,并在真空下干燥过夜,以得到662mg(93%)的灰白色固体。^{1}H NMR(300MHz,20%CD_3CN,DMSO-d6中)δ8.66(s,1H),7.92(d,J=13.2Hz,1H),7.57(d,J=7.4Hz,1H),3.78(p,J=3.1Hz,1H),3.64(br d,J=32.1Hz,4H),3.32(br s,4H),1.82(t,J=15.1Hz,3H),1.32(d,J=6.5Hz,2H),1.16(s,2H)。^{31}PNMR(121MHz,20%CD3CN,DMSO-d6中):δ15.57。MS-ESI:564.2[M+H]+。

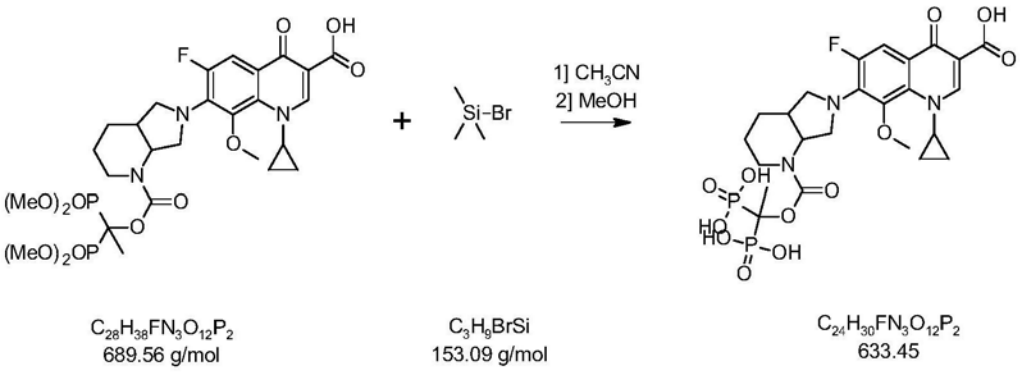
[0436] 6.莫昔沙星氨基甲酰基依替膦酸四甲基酯(42)

[0437] 

(42)

[0438] 将HCl莫昔沙星添加到Na2CO3在H2O(20mL)中的溶液中,并将该溶液在冰浴中冷却。接下来,在30min内逐滴添加溶解在THF(20mL)中的四甲基(1-{[(4-硝基苯氧基)羰基]氧基}乙-1,1-二基)双(膦酸)。移除冰浴,将烧瓶用铝箔覆盖,并将反应在室温下搅拌20h。接下来,将反应混合物浓缩,并将粗品通过使用DCM/MeOH(1-5%)的柱色谱法纯化,以得到624mg(29%)的产物,为灰白色泡沫。^{1}H NMR(300MHz,氯仿-d)δ8.78(s,1H),7.81(d,J=13.8Hz,1H),4.82(br s,1H),4.16-4.04(m,2H),4.02-3.92(m,2H),3.92-3.80(m,12H),3.56(s,3H),3.48(t,J=10.5Hz,1H),3.24(d,J=10.5Hz,1H),3.00(br s,1H),2.40-2.24(m,1H),1.94(t,J=15.9Hz,3H),1.87-1.74(m,2H),1.60-1.44(m,2H),1.35-1.21(m,1H),1.17-1.01(m,2H),0.88-0.75(m,1H)。^{31}PNMR(121MHz,CDCl3):δ20.36。MS-ESI:690.4[M+H]+

[0439] 7.依替膦酸-氨基甲酸酯-莫昔沙星(43)

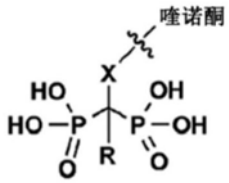
[0440] 

[0441] **(43)**

[0442] 将在ACN(25mL)中的四甲基依替膦酸-氨基甲酸酯-莫昔沙星四甲基酯(764mg,1.10mmol)和溴三甲基硅烷(1.35g,8.86mmol)的混合物搅拌2h。在真空下蒸发挥发物,并将MeOH(25mL)添加到残余物中。搅拌30min后,将溶剂蒸发,并将残余物与最小体积的DCM一起研磨30min。将固体过滤,并在高真空下干燥,以得到757mg的产物(定量产率)。^{1}H NMR(300MHz,甲醇-d4)δ8.98(s,1H),7.79(d,J=14.5Hz,1H),4.39-4.25(m,1H),4.24-4.07(m,2H),4.01(t,J=10.3Hz,1H),3.65(s,3H),3.61-3.51(m,2H),3.41(d,J=10.7Hz,1H),3.04(br s,1H),2.43-2.27(m,1H),1.90(t,J=15.2Hz,3H),1.83-1.71(m,2H),1.55(q,J=10.8Hz,2H),1.43-1.32(m,1H),1.30-1.18(m,1H),1.17-1.03(m,1H),1.01-0.83(m,1H)。^{31}PNMR(121MHz,甲醇-d4):δ16.60。MS-ESI:634.2[M+H]+。

[0443] 实施例7.

[0444] 以下是如可以在本文的一个或多个方面所述的BP-喹诺酮的通用结构。

[0445] 

缀合物，在含α-X的BP与喹诺酮之间

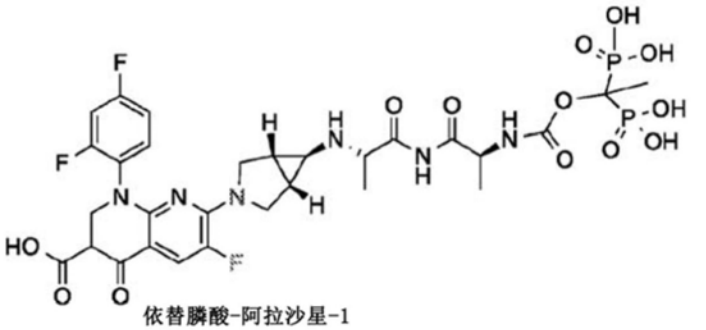
[0446] X＝O、NH、NR^1、S

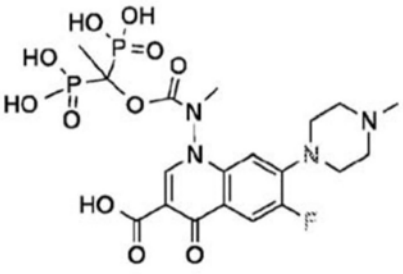
[0447] R^1可以是烷基或取代的烷基、芳基或取代的芳基基团

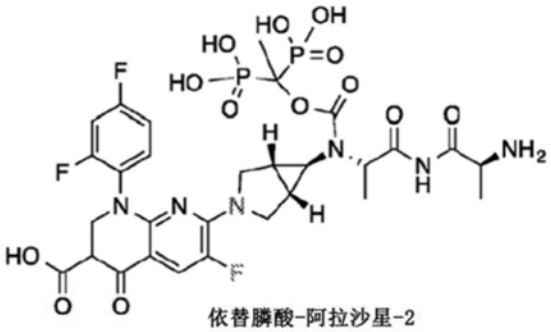
[0448] 其中R可以是H、取代的和未取代的烷基、烷基氨基、烷基-芳基、芳基、烷基杂芳基或杂芳基。

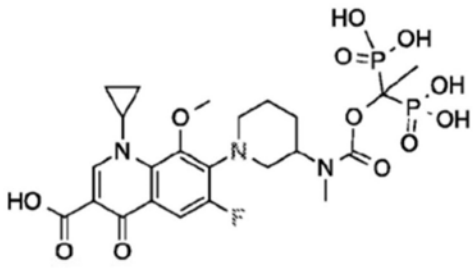
[0449] 实施例8.

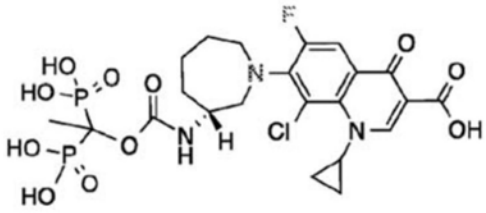
[0450] 以下是如在本文的一个或多个方面所述的BP-喹诺酮缀合物的非限制性实例。

[0451] 
依替膦酸-阿拉沙星-1

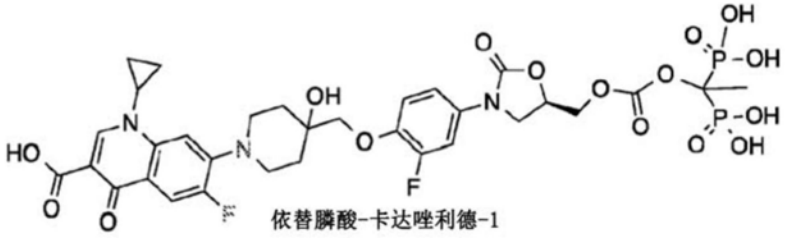

依替膦酸-氨氟沙星

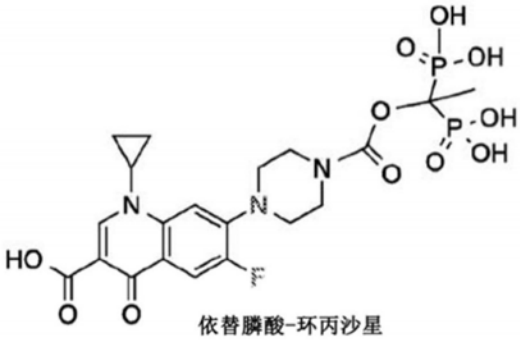

依替膦酸-阿拉沙星-2


依替膦酸-巴洛沙星

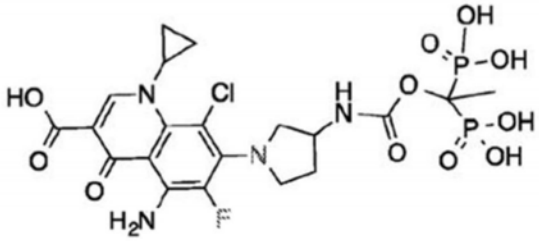

依替膦酸-贝西沙星


依替膦酸-卡达唑利德-2

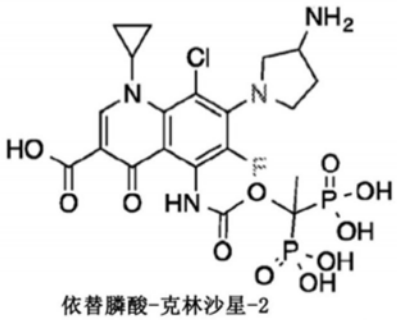

依替膦酸-卡达唑利德-1



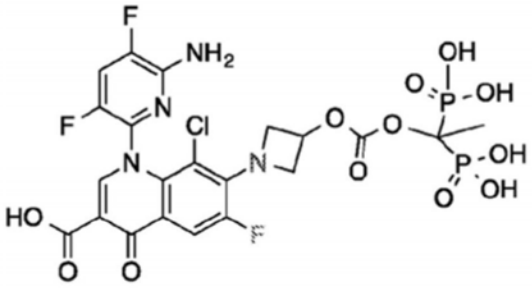
依替膦酸-环丙沙星



依替膦酸-克林沙星-1

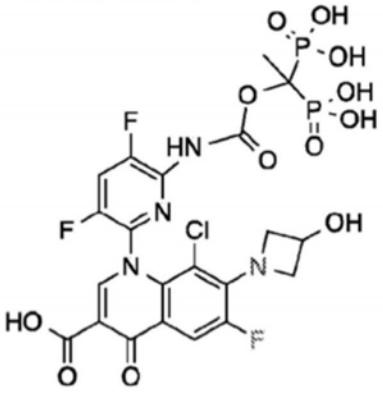


依替膦酸-克林沙星-2

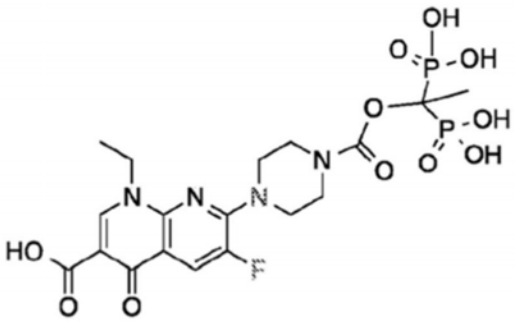


依替膦酸-德拉沙星-1

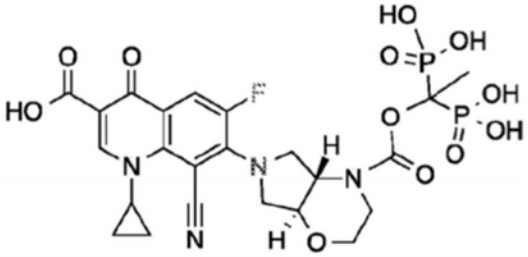
[0452]



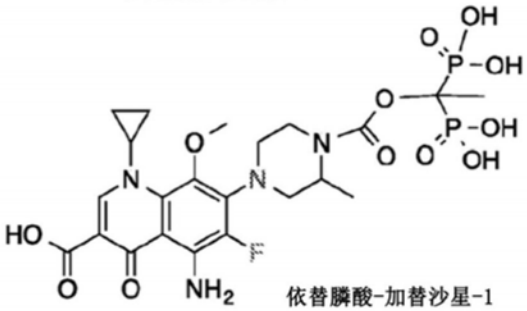
依替膦酸-德拉沙星-2



依替膦酸-依诺沙星



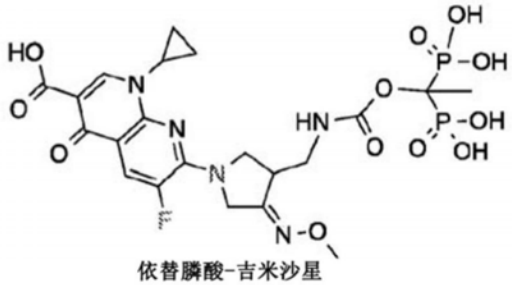
依替膦酸-非那沙星



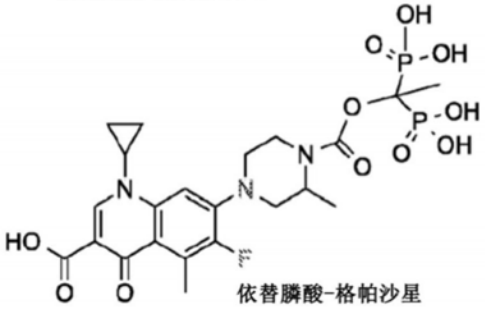
依替膦酸-加替沙星-1



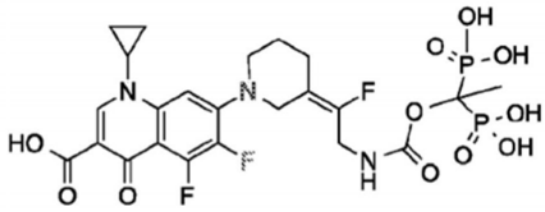
依替膦酸-加替沙星-2



依替膦酸-吉米沙星

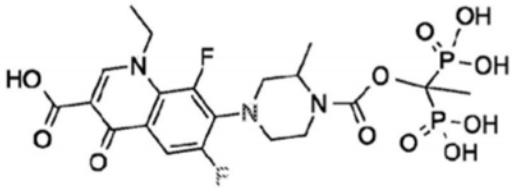


依替膦酸-格帕沙星

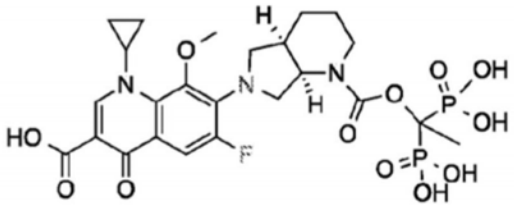


依替膦酸-JNJ-Q2

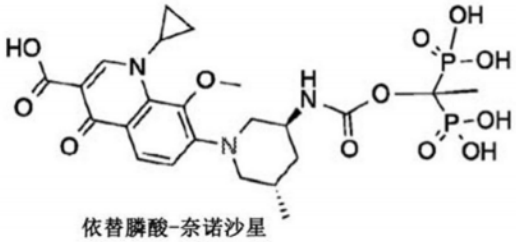
[0453]



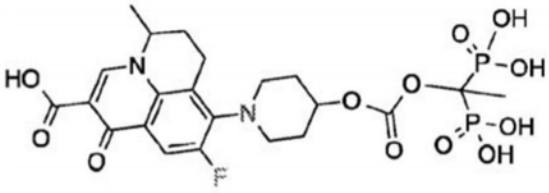
依替膦酸-洛美沙星



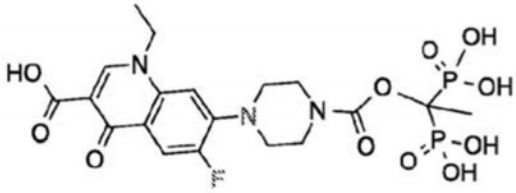
依替膦酸-莫昔沙星



依替膦酸-奈诺沙星



依替膦酸-那氟沙星

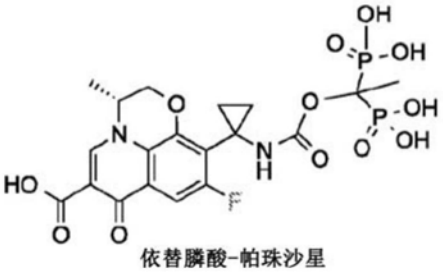


依替膦酸-诺氟沙星

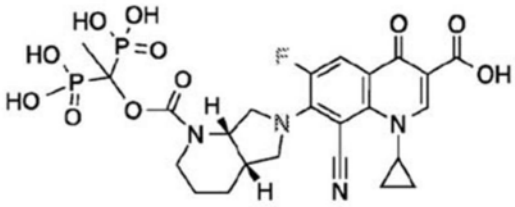


依替膦酸-奥比沙星

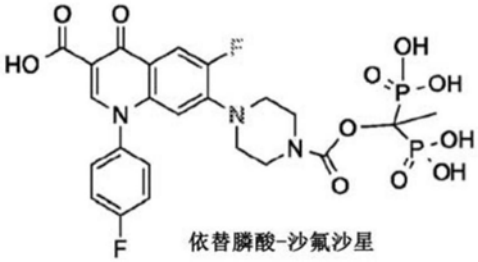
[0454]



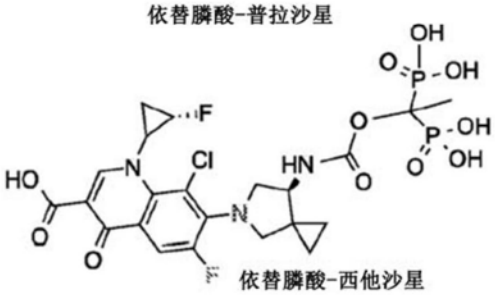
依替膦酸-帕珠沙星



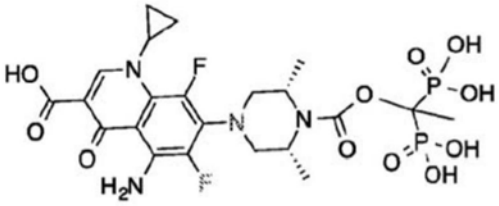
依替膦酸-普拉沙星



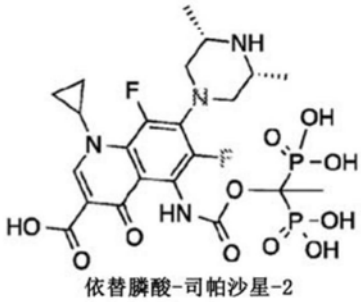
依替膦酸-沙氟沙星



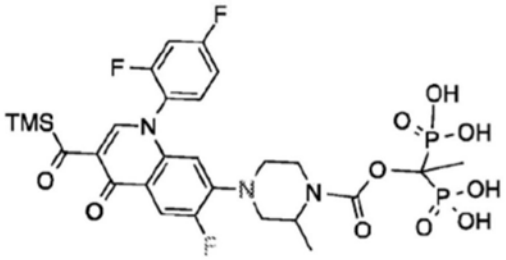
依替膦酸-西他沙星



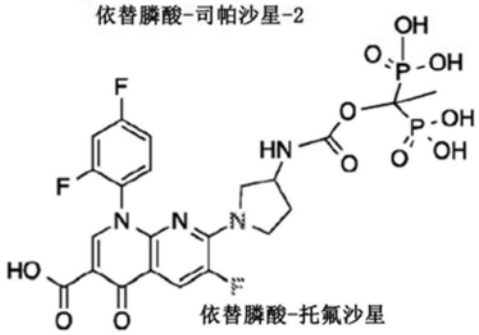
依替膦酸-司帕沙星-1



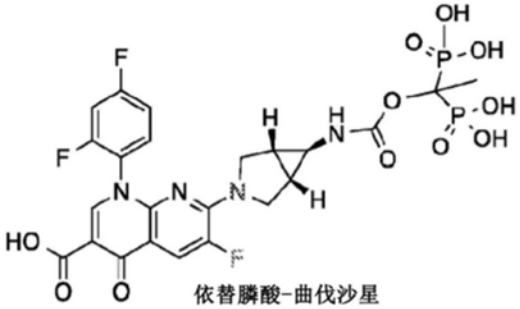
依替膦酸-司帕沙星-2



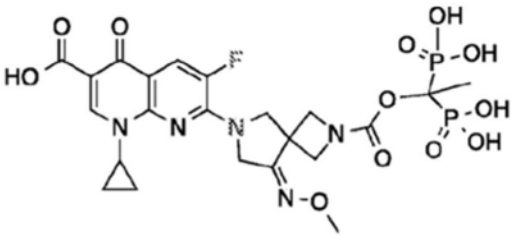
依替膦酸-替马沙星



依替膦酸-托氟沙星

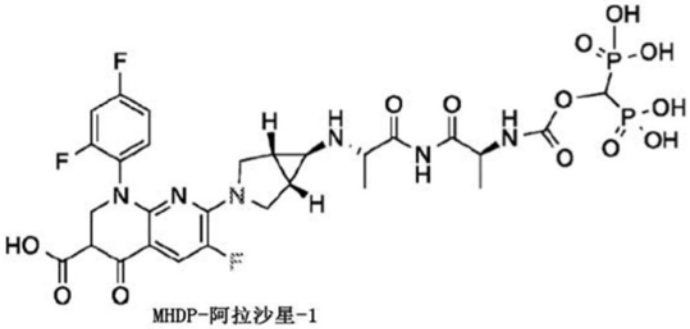


依替膦酸-曲伐沙星

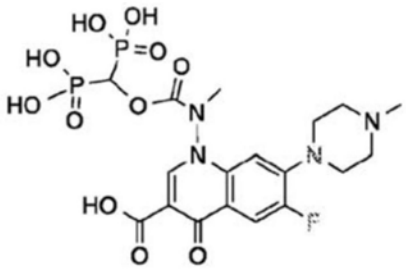


依替膦酸-扎波沙星

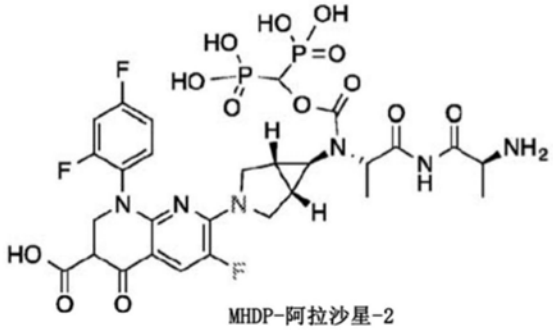
[0455]



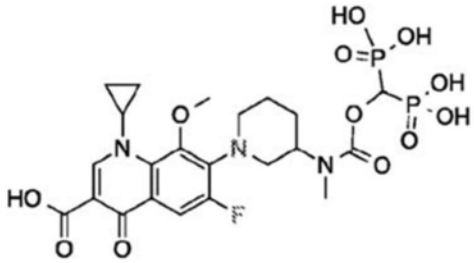
MHDP-阿拉沙星-1



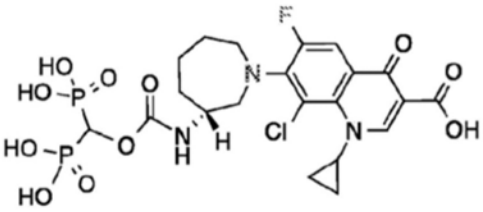
MHDP-氨氟沙星



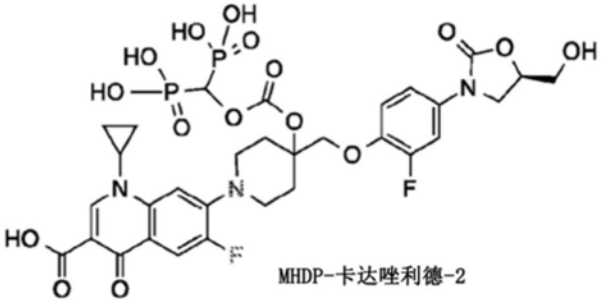
MHDP-阿拉沙星-2



MHDP-巴洛沙星



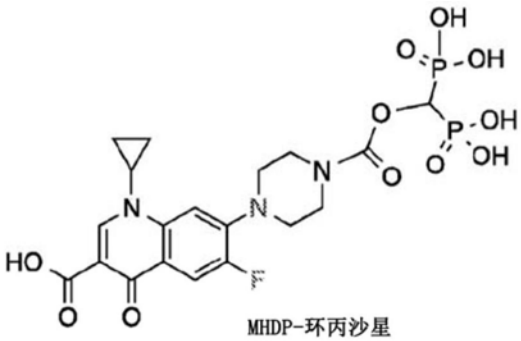
MHDP-贝西沙星



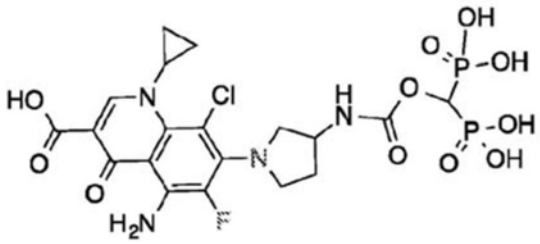
MHDP-卡达唑利德-2



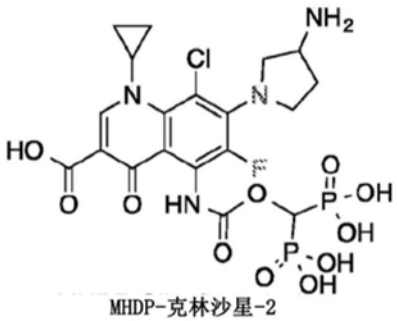
MHDP-卡达唑利德-1



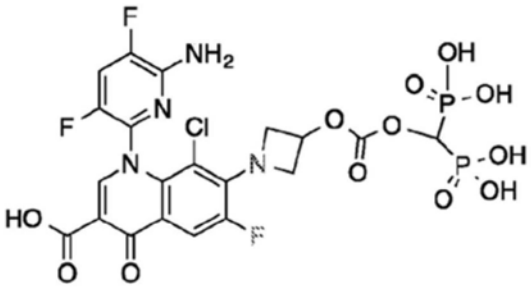
MHDP-环丙沙星



MHDP-克林沙星-1

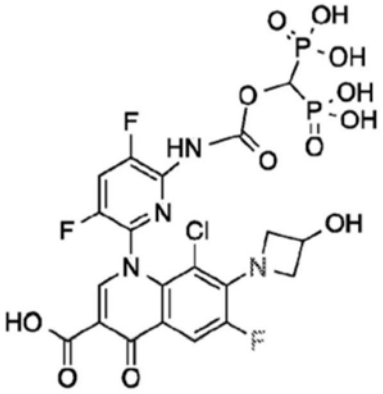


MHDP-克林沙星-2

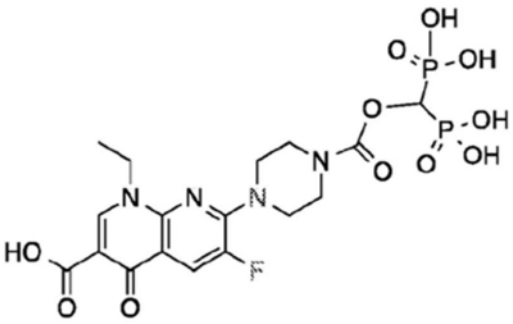


MHDP-德拉沙星-1

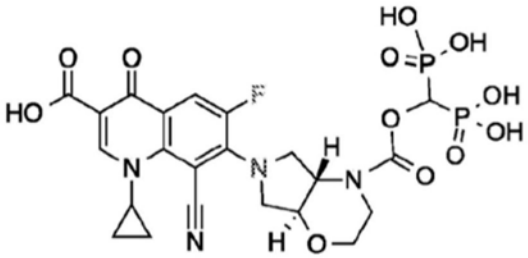
[0456]



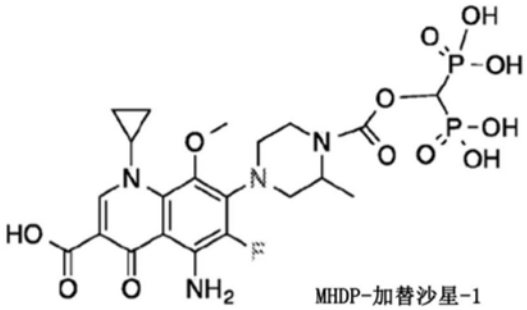
MHDP-德拉沙星-2



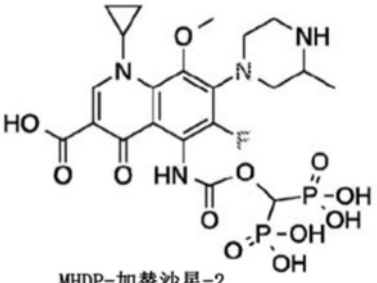
MHDP-依诺沙星



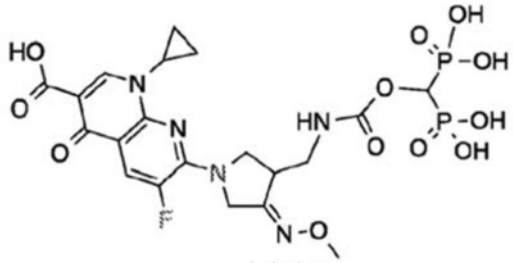
MHDP-非那沙星



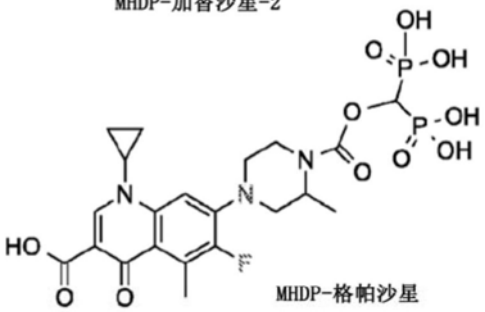
MHDP-加替沙星-1



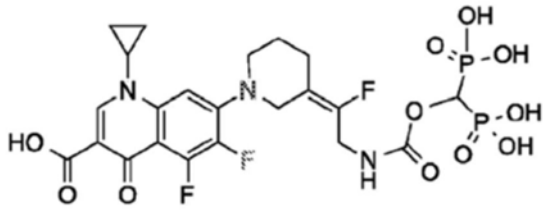
MHDP-加替沙星-2



MHDP-吉米沙星

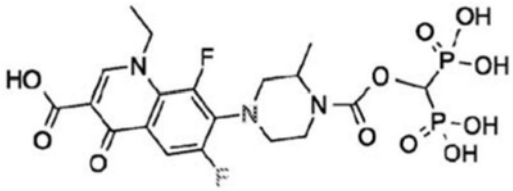


MHDP-格帕沙星

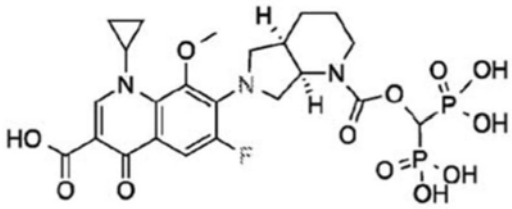


MHDP-JNJ-Q2

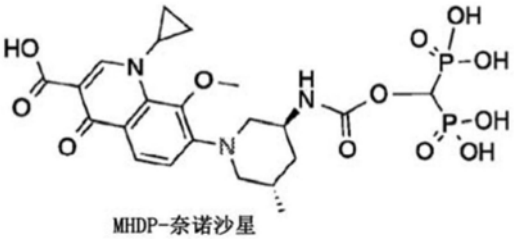
[0457]



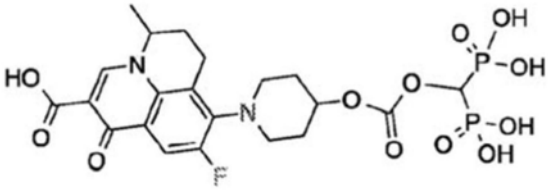
MHDP-洛美沙星



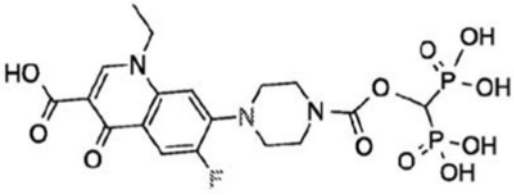
MHDP-莫昔沙星



MHDP-奈诺沙星



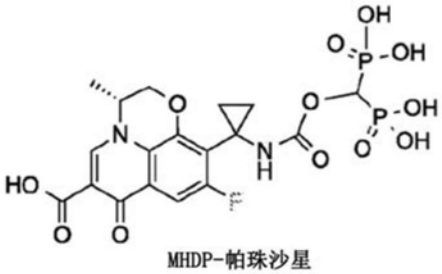
MHDP-那氟沙星



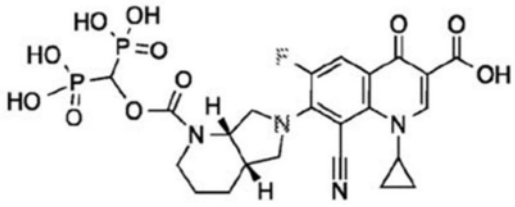
MHDP-诺氟沙星



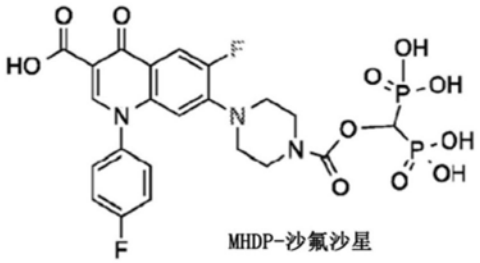
MHDP-奥比沙星



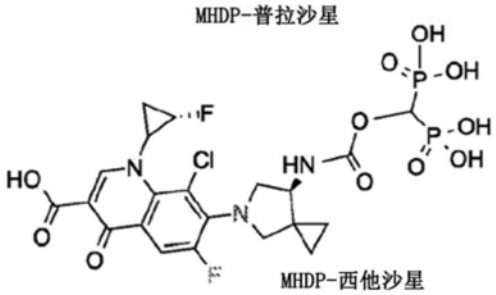
MHDP-帕珠沙星



MHDP-普拉沙星

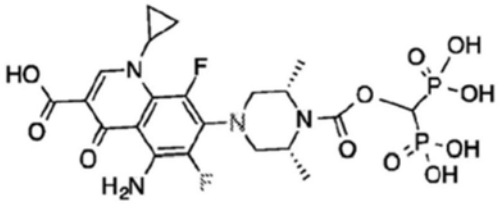


MHDP-沙氟沙星

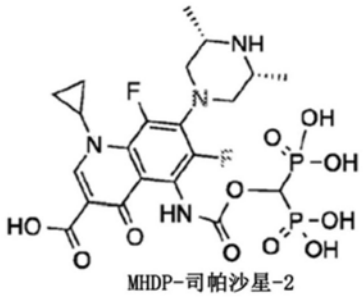


MHDP-西他沙星

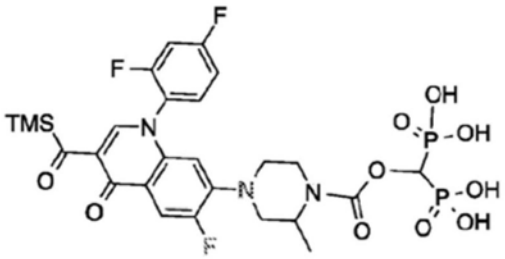
[0458]



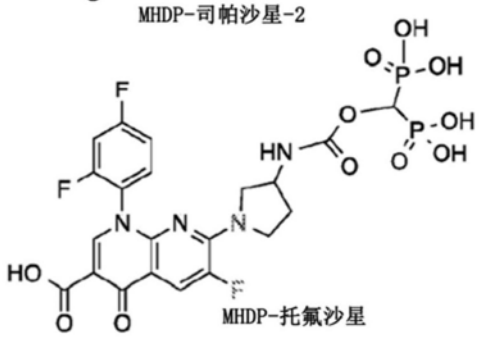
MHDP-司帕沙星-1



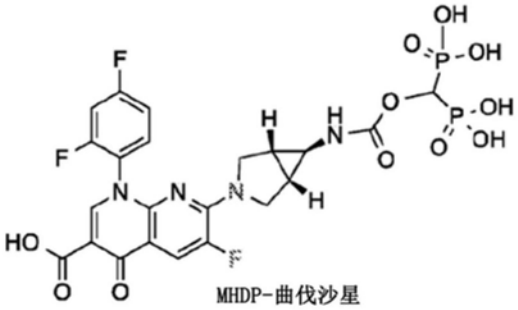
MHDP-司帕沙星-2



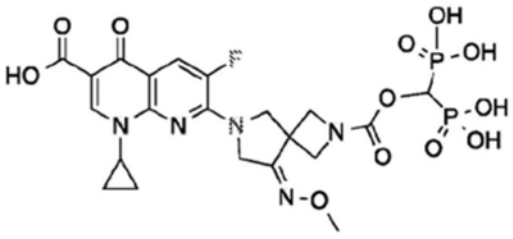
MHDP-替马沙星



MHDP-托氟沙星

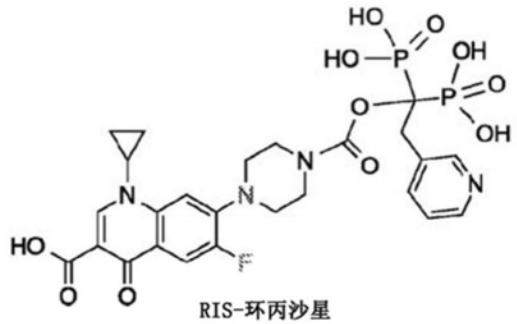


MHDP-曲伐沙星

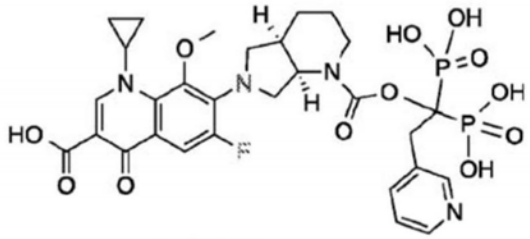


MHDP-扎波沙星

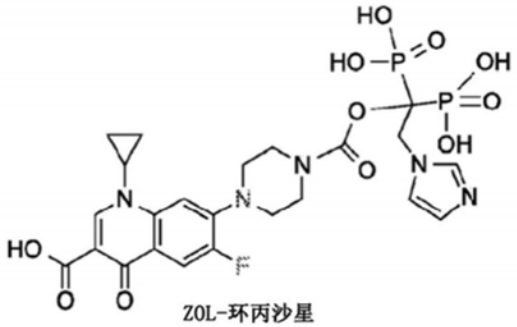
[0459]



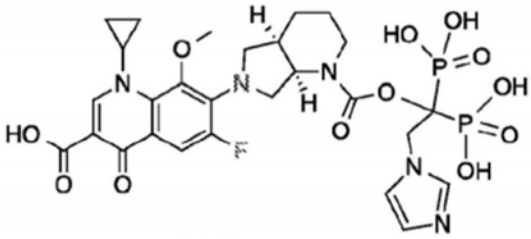
RIS-环丙沙星



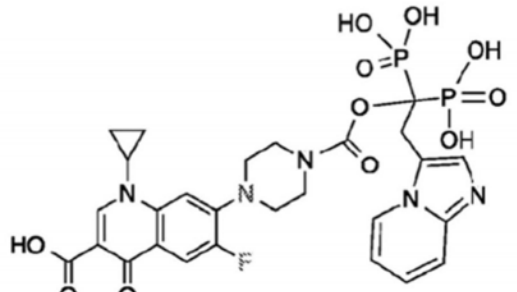
RIS-莫昔沙星



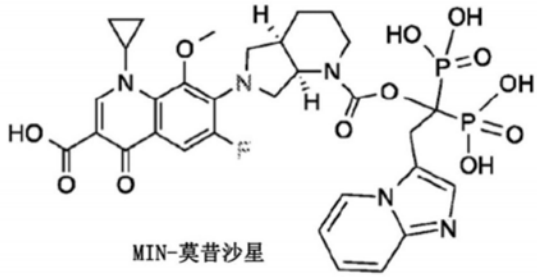
ZOL-环丙沙星



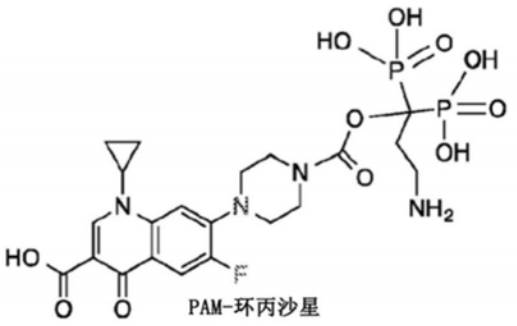
ZOL-莫昔沙星



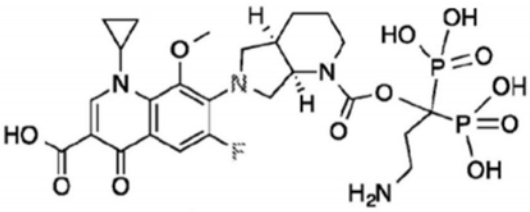
MIN-环丙沙星



MIN-莫昔沙星

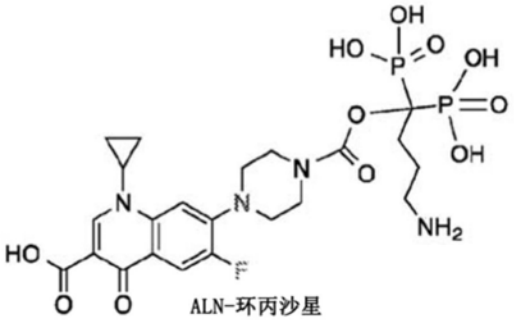


PAM-环丙沙星

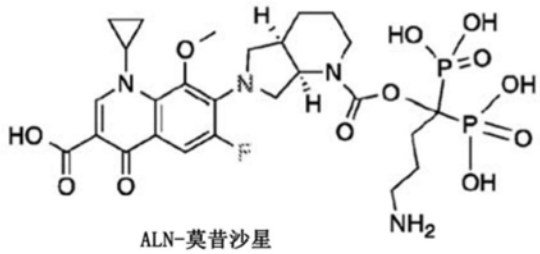


PAM-莫昔沙星

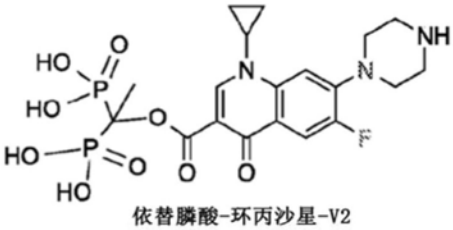
[0460]



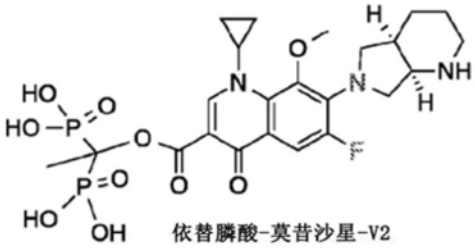
ALN-环丙沙星



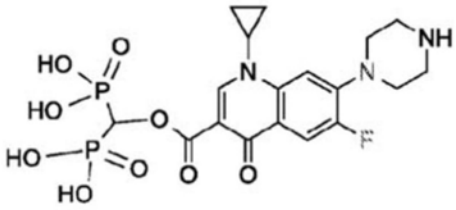
ALN-莫昔沙星



依替膦酸-环丙沙星-V2



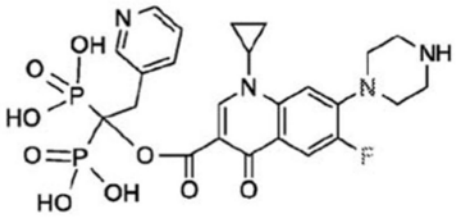
依替膦酸-莫昔沙星-V2



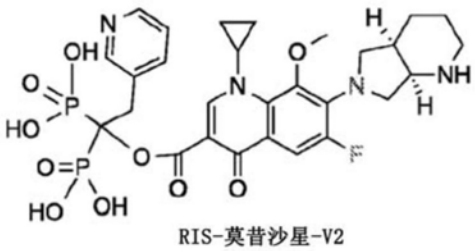
MHDP-环丙沙星-V2



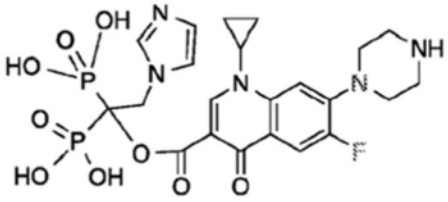
MHDP-莫昔沙星-V2



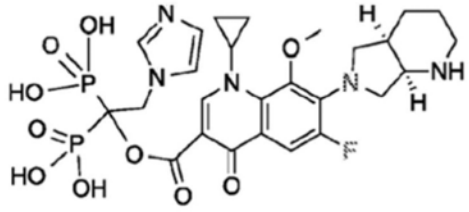
RIS-环丙沙星-V2



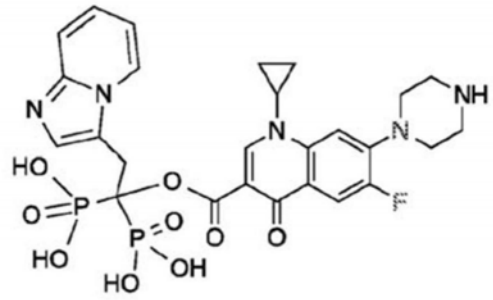
RIS-莫昔沙星-V2



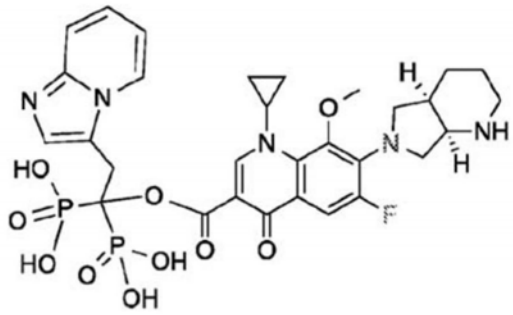
ZOL-环丙沙星-V2



ZOL-莫昔沙星-V2

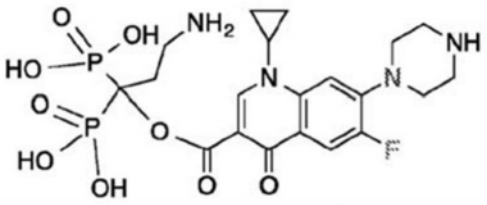


MIN-环丙沙星-V2



MIN-莫昔沙星-V2

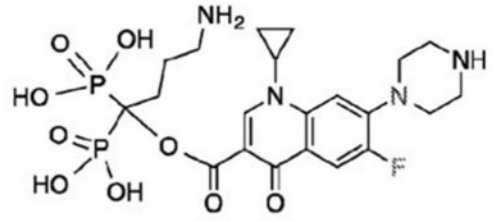
[0461]



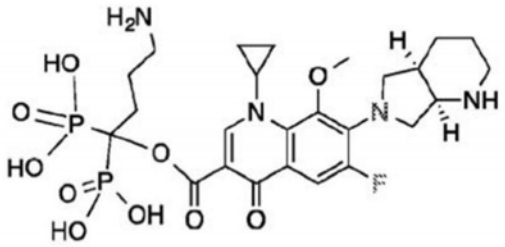
PAM-环丙沙星-V2



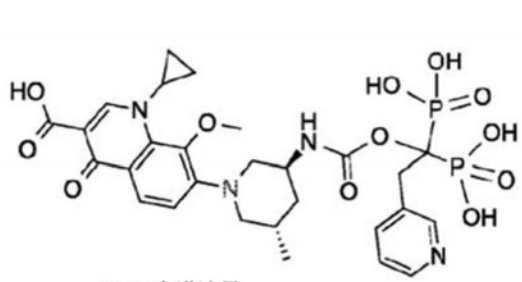
PAM-莫昔沙星-V2



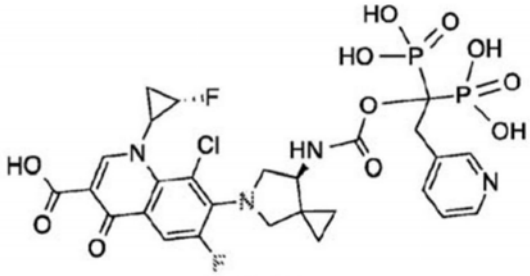
ALN-环丙沙星-V2



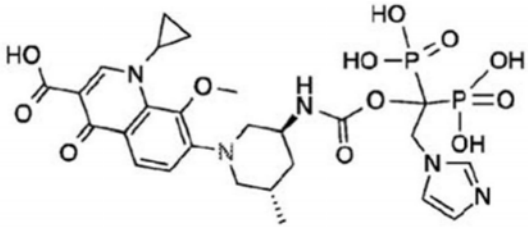
ALN-莫昔沙星-V2



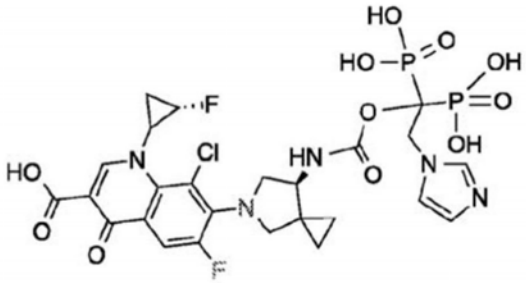
RIS-奈诺沙星



RIS-西他沙星

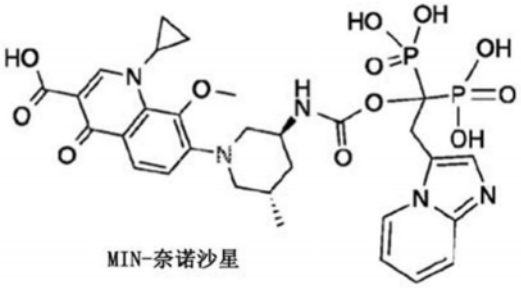


ZOL-奈诺沙星

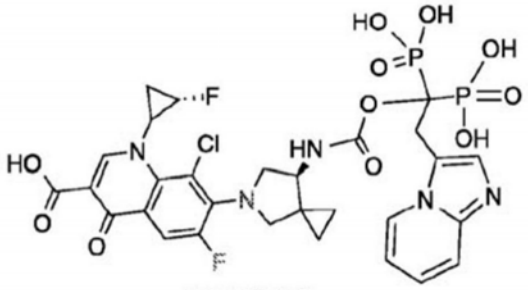


ZOL-西他沙星

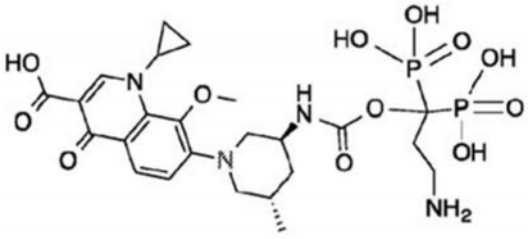
[0462]



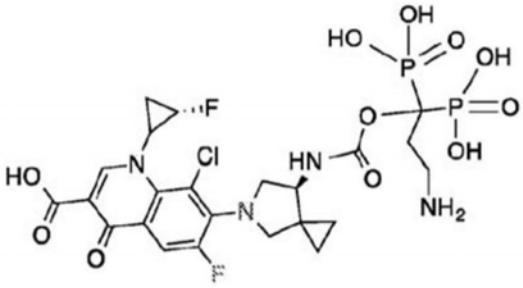
MIN-奈诺沙星



MIN-西他沙星

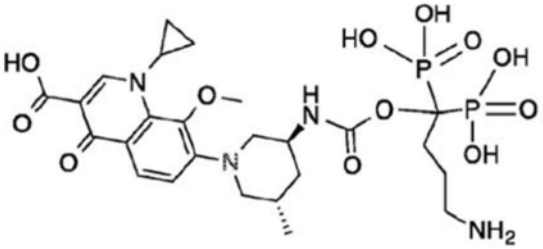


PAM-奈诺沙星

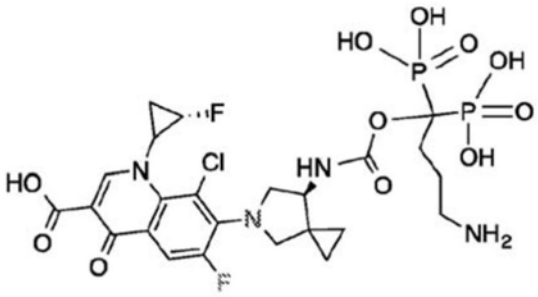


PAM-西他沙星

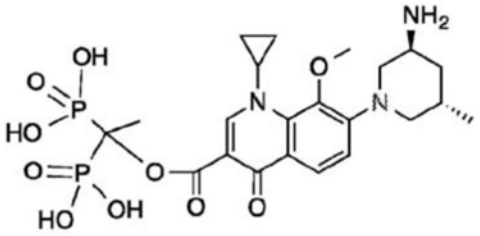
[0463]



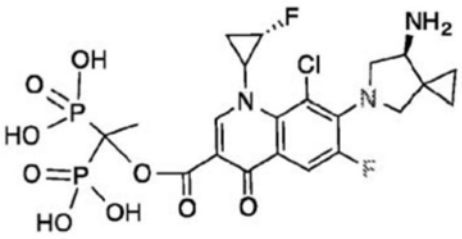
ALN-奈诺沙星



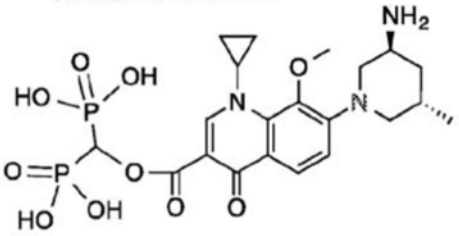
ALN-西他沙星



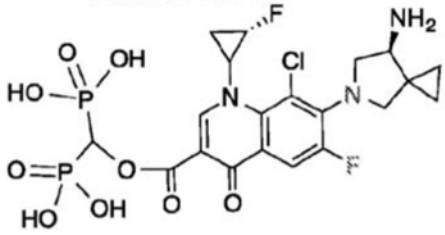
依替膦酸-奈诺沙星-V2



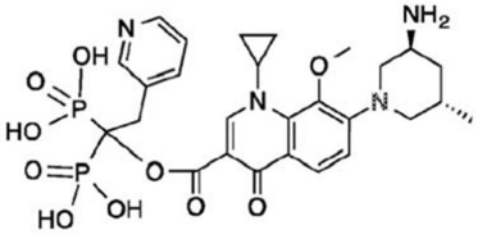
依替膦酸-西他沙星-V2



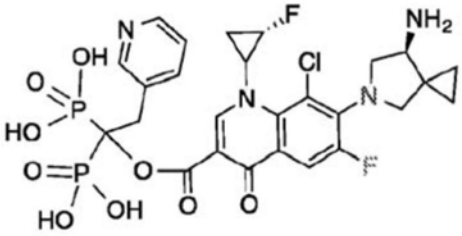
MHDP-奈诺沙星-V2



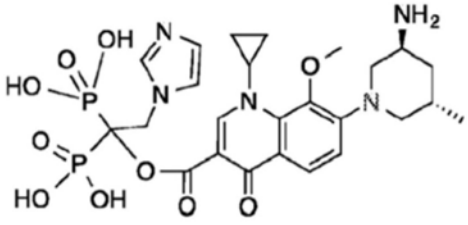
MHDP-西他沙星-V2



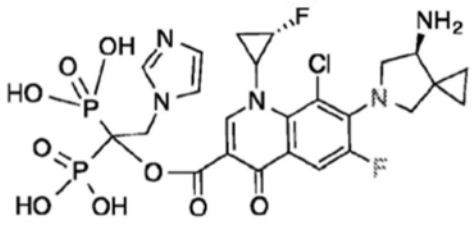
RIS-奈诺沙星-V2



RIS-西他沙星-V2

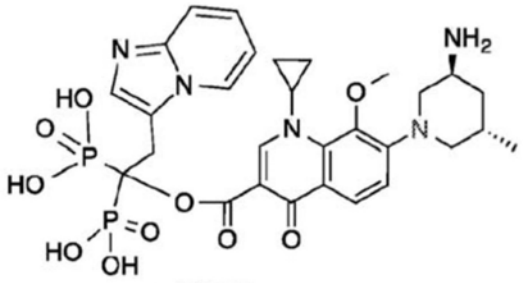


ZOL-奈诺沙星-V2

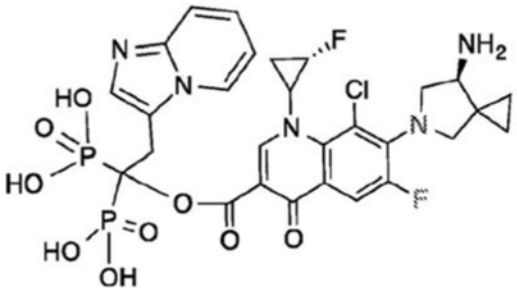


ZOL-西他沙星-V2

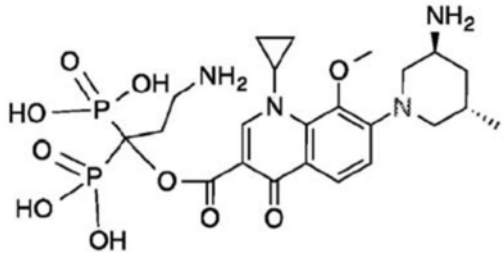
[0464]



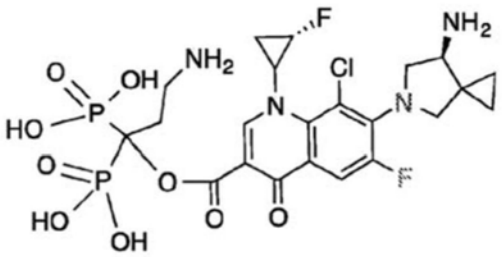
MIN-奈诺沙星-V2



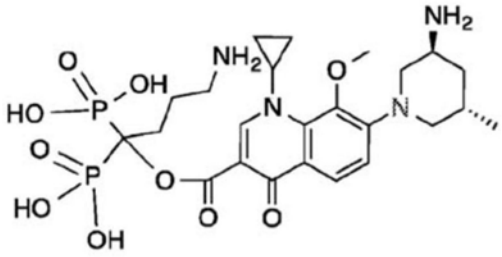
MIN-西他沙星-V2



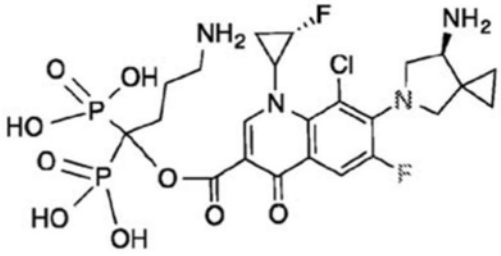
PAM-奈诺沙星-V2



PAM-西他沙星-V2



ALN-奈诺沙星-V2



ALN-西他沙星-V2

[0465] 实施例9：

[0466] 为了利用BP对骨的亲和力，研究了“靶向和释放”化学方法，该方法涉及通过BP缀合物将抗生素递送至骨或羟基磷灰石(HA)。利用在骨表面代谢并释放母体抗生素的血清稳定的药物-BP接头。设计、合成并测试了新颖的喹诺酮抗生素依替膦酸-环丙沙星(ECC)缀合物BV81022和依替膦酸-莫昔沙星(ECX)缀合物BV81051对金黄色葡萄球菌生物膜的活性，其在大多数骨髓炎病例中都是致病的。

[0467] 已强调由细菌生物膜引起的公共卫生问题如骨髓炎缺乏与生物膜发展有关的信息。若干方法可用于体外或离体研究生物膜，包括对在通过刮擦、涡旋或超声处理从表面分离之后的固着菌定量，以及通过显微镜技术观察以监测生物膜进展。然而，这些应用受到高劳动强度、侵入性采样和/或从采样到获得结果的长时间滞后的限制[1]。因此，改善的生物膜监测测定对于生物膜行为研究和生物医学应用至关重要。因此，灵敏、精确、可重现且快速的方法对于实时监测生物膜是所希望的。在这方面，近年来在基于当用金电极附接于MTP时细胞阻止电流的能力的阻抗技术上已开发有希望的进步。

[0468] 在本研究中，电极阻抗测量被应用以测试针对金黄色葡萄球菌的与环丙沙星和莫昔沙星相比的我们的新颖ECC和ECX缀合物的治疗功效以及对生物膜形成和生长的影响。实时测量能够检测出这些生物膜在抗微生物治疗期间是否是不受影响的、被抑制的或被诱导的[2]。

[0469] 微生物学：出于实验目的，使用了稳健的生物膜形成和经过充分研究的金黄色葡

葡球菌菌株ATCC 6538。测试了以下母体抗生素:环丙沙星(C)、莫昔沙星(X);测试了以下实验缀合物:依替膦酸-环丙沙星(ECC)和依替膦酸-莫昔沙星(ECX)。根据制造商的说明,用xCELLigence RTCA SP仪器进行了实时生物膜测定[4]。为监测生物膜形成和RTCA灵敏度测定,向不可再用的16X微量滴定E板(ACEA Biosciences)的每个孔中添加80μl的TSBYE,以使用由软件提供的标准方案进行阻抗背景测量。然后将在总共120μl的TSBYE中的1μl的细菌悬浮液添加到16个E板孔中。每个样本一式两份地运行。将E板定位在xCELLigence实时细胞分析仪MP中,在37℃下温育并在RTCA系统上以15min的时间间隔监测24h。根据制造商的说明,细胞传感器阻抗以称为细胞指数(CI)的单位表示。每个时间点处的CI定义为(ZnZb)/15,其中Zn是当孔包含细胞时的孔的细胞电极阻抗,并且Zb是仅具有生长介质的背景阻抗。用RTCA软件分析孔的一式两份或一式三份的标准偏差

[0470] 抗生素对HA的亲和力.将1μg/mL的每种化合物添加到包含10μg/mL的HA粉末的溶液中,并在磁力搅拌下温育4h/37℃。接下来,使HA粉末沉降1h/4℃。此后,使用HPLC(Shimadzu Prominence)评估上清液中的抗生素含量。为了评估与HA结合的缀合物的数量,我们使用了在我们先前工作中更详细描述的方法[3]。化合物对HA粉末的亲和力估算如下:100%-检测到的被测化合物的峰面积/对照样本的峰面积*100%。

[0471] 感染预防性实验.向每个孔中添加80-μl的TSBYE以测量背景阻抗。然后将在包含各种浓度的抗生素的总共120μl的TSBYE中的1μl的细菌悬浮液添加到16个E板孔中。每个抗生素浓度的两个重复和没有抗生素的阴性对照也包括在内。监测细胞持续24h,并进行分析以计算MIC_{50}值。

[0472] 具有HA的感染预防性实验.将不同浓度的每种化合物添加到包含10μg/mL的HA粉末的溶液中,并在磁力搅拌下温育2h/37℃。然后向每个孔中添加80-μl的TSBYE以测量背景阻抗。然后将在包含梯度浓度的抗生素加HA的总共120μl的TSBYE中的1μl的细菌悬浮液添加到16个E板孔中。每个抗生素浓度的两个重复和没有抗生素的阴性对照也包括在内。监测细胞持续24hr,并进行分析以计算MIC_{50}值。

[0473] 结果:评估被测化合物对HA的结合亲和力的HPLC结果表明,缀合物具有与未缀合的抗生素相比的高的结合亲和力和对HA的保留。电极阻抗测量被应用以测试针对金黄色葡萄球菌的与环丙沙星和莫昔沙星相比的新颖ECC和ECX缀合物的治疗功效以及对生物膜形成和生长的影响。实时测量能够检测出这些生物膜在抗微生物治疗期间是否是不受影响的、被抑制的或被诱导的(参见,图26、28、30、32)。

[0474] 在使用实时监测的感染预防性实验中,已经针对每种缀合物和母体抗生素计算了MIC_{50},如图27和29所示。环丙沙星、莫昔沙星、ECC和ECX的金黄色葡萄球菌MIC_{50}分别为:0.09、0.11、4.88和5.10μg/ml。

[0475] 在存在HA下使用实时监测的感染预防性实验中,已经针对每种缀合物和母体抗生素计算了MIC_{50},如图31和33所示。环丙沙星、莫昔沙星、ECC和ECX的金黄色葡萄球菌MIC_{50}分别为:0.24、0.09、9.60和28μg/ml。

[0476] 结论:因此,通过使用具有金电极的微量滴定板的阻抗测量,实时评估对金黄色葡萄球菌细菌生物膜生长的抗生素影响。实时生物膜分析允许检测抗微生物治疗期间微生物质量随时间推移的减少或增加,其可以用于在临床上评估抗生素在生物膜介导的感染中的敏感性和功效。在这项研究中设计和测试的新颖的依替膦酸-氟喹诺酮缀合物(ECC、ECX)保

留了母体BP药物的骨结合特性,以及还在存在或不存在HA的情况下母体抗生素的抗微生物活性,尽管由于测试条件下化学修饰的性质和可能的部分裂解而处于较低水平。使用BP药物作为生化载体(vectors)将抗生素剂递送至骨(骨髓炎生物膜病原体驻留在那里)的此类缀合物通过提供改善的骨药代动力学,同时将这些药物的全身暴露(毒性)最小化而代表了一种治疗骨髓炎的有利方法。

[0477] 实施例9的参考文献:

[0478] 1)Coenye T,Nelis H.J.In vitro and in vivo model systems to study microbial biofilm formation.J Microbiol Methods 2010;83,89-105.

[0479] 2)Saginur R,Stdenis M,Ferris W,Aaron,S.D,Chan F,Lee C,Ramotar K.Multiple combination bactericidal testing of staphylococcal biofilms from implant-associated infections.Antimicrob Agents Chemother 2006;50,55-61.

[0480] 3)Sedghizadeh PP and Ebetino FH et al.Design,synthesis,and antimicrobial evaluation of a novel bone-targeting bisphosphonate-ciprofloxacin conjugate for the treatment of osteomyelitis biofilms.J Med Chem 2017;60,2326-43.

[0481] 4)Atienza J.M,Zhu J,Wang X,Xu X,Abassi Y.Dynamic monitoring of cell adhesion and spreading on microelectronic sensor arrays.J Biomol Screen2005;10,795-805.

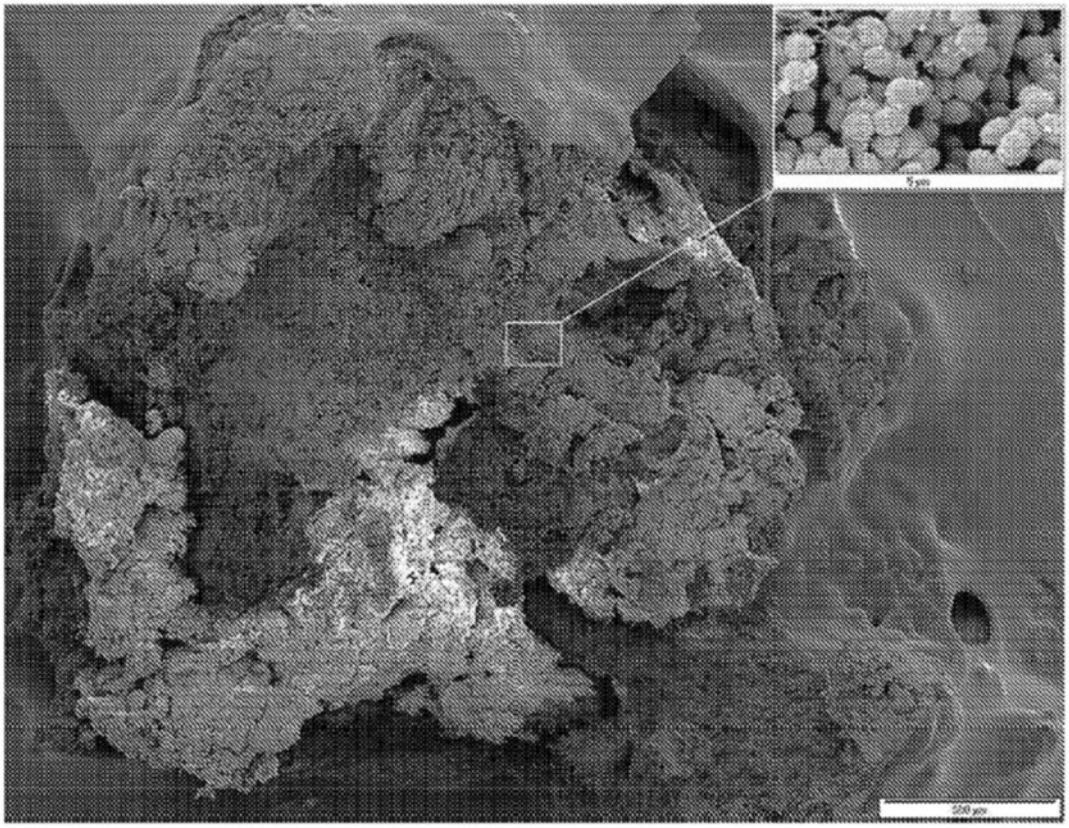


图1

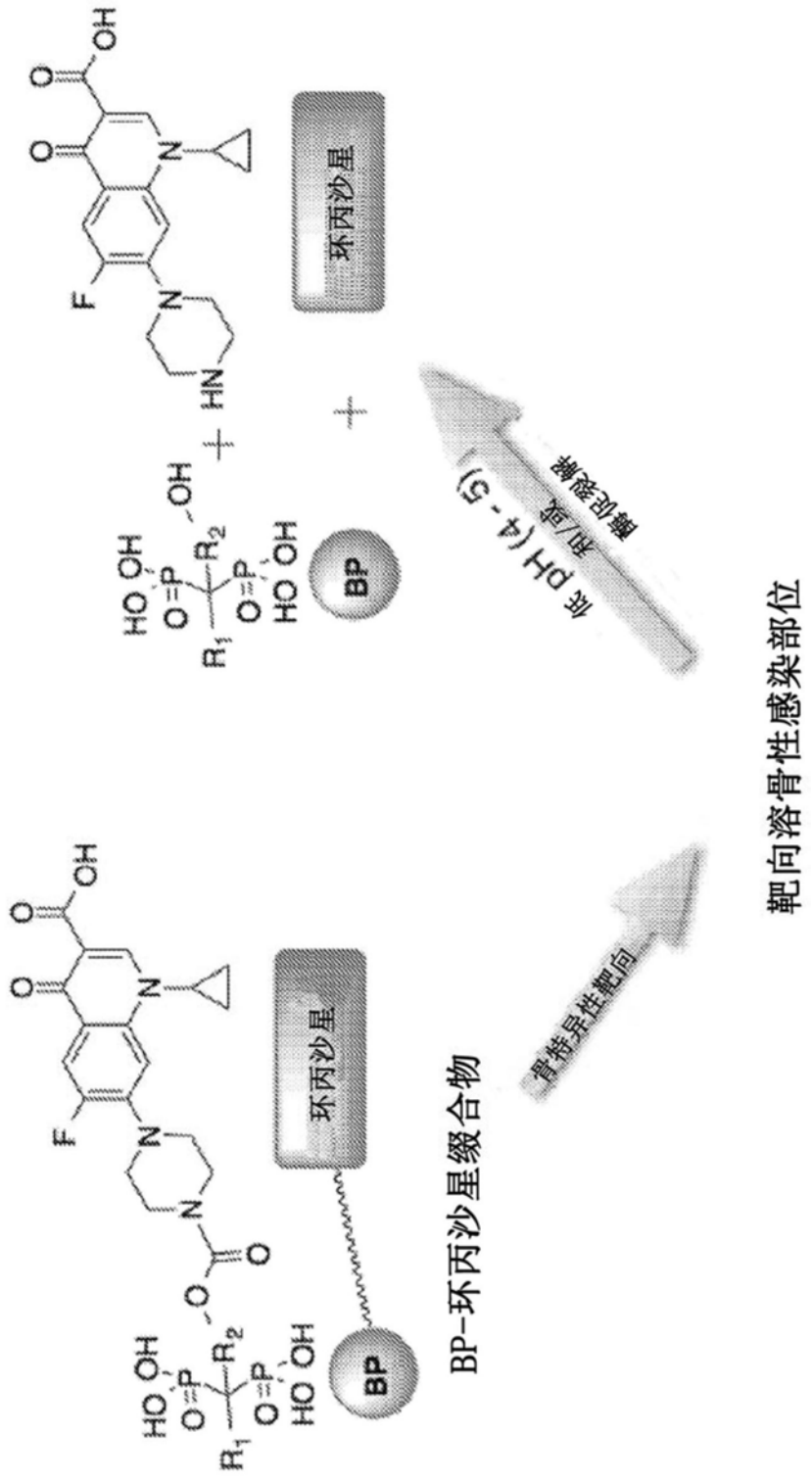


图2

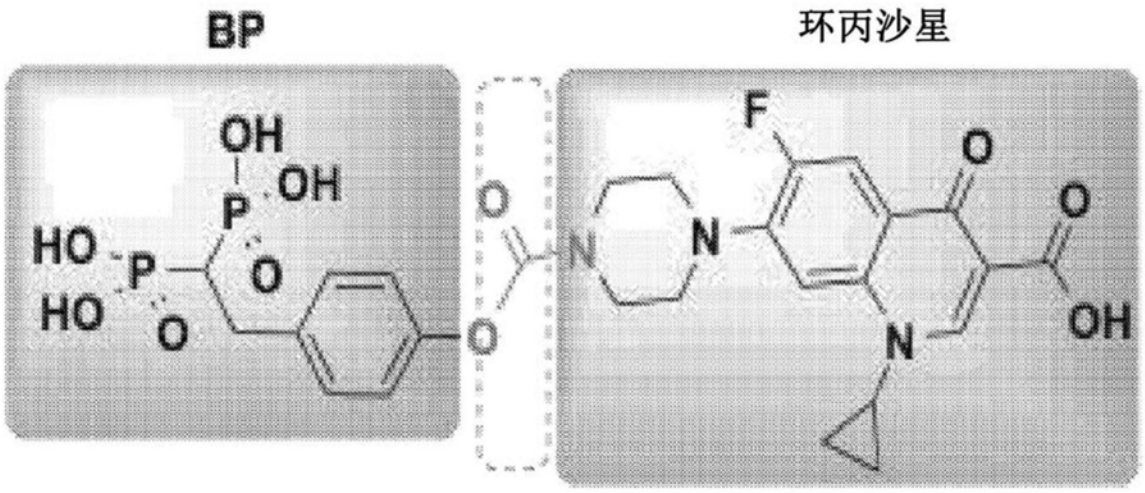


图3

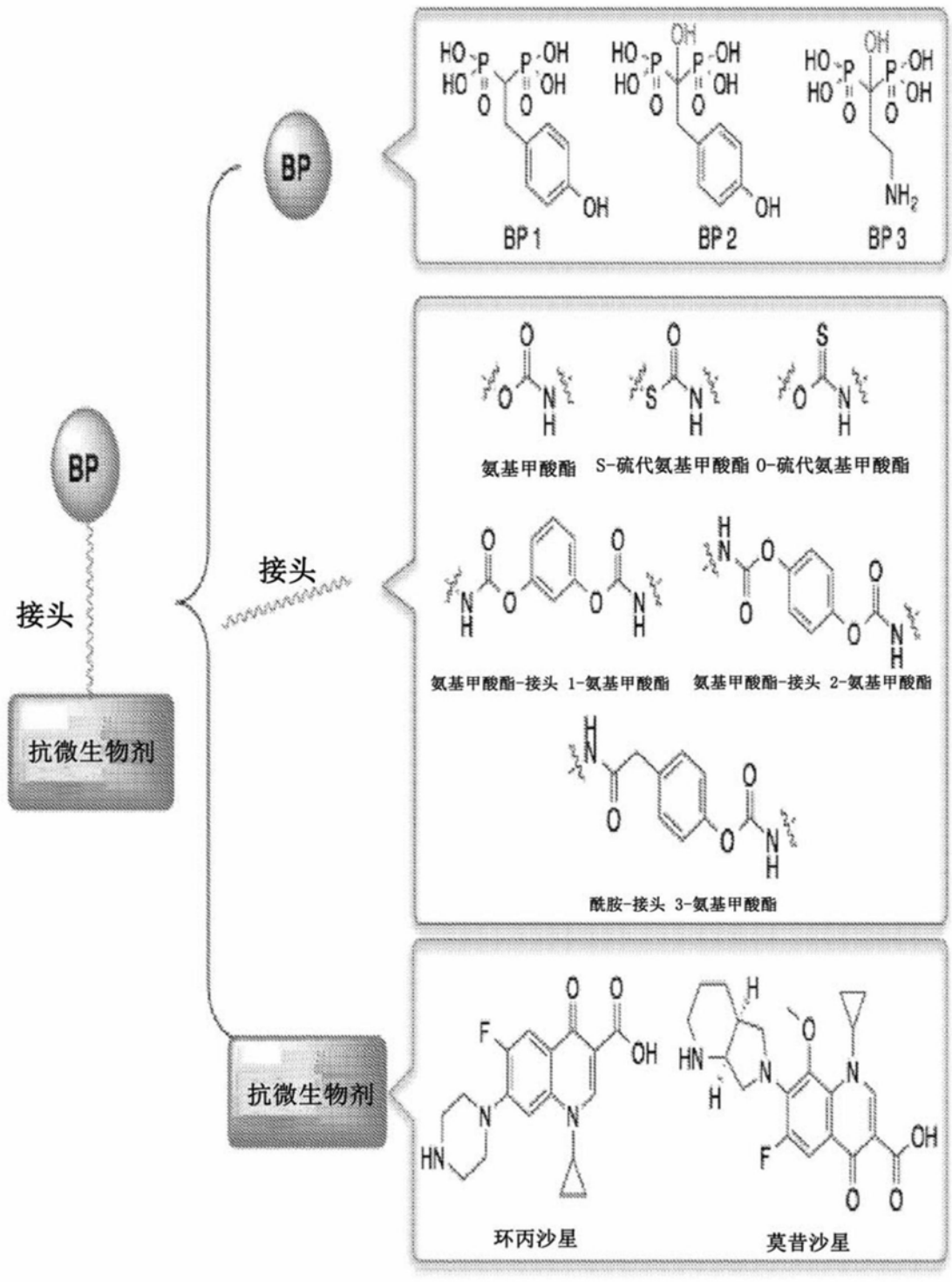

BP
接头
抗微生物剂
BP
接头
抗微生物剂
BP1
BP2
BP3
氨基甲酸酯
S-硫代氨基甲酸酯
O-硫代氨基甲酸酯
氨基甲酸酯-接头 1-氨基甲酸酯
氨基甲酸酯-接头 2-氨基甲酸酯
酰胺-接头 3-氨基甲酸酯
环丙沙星
莫昔沙星

图4

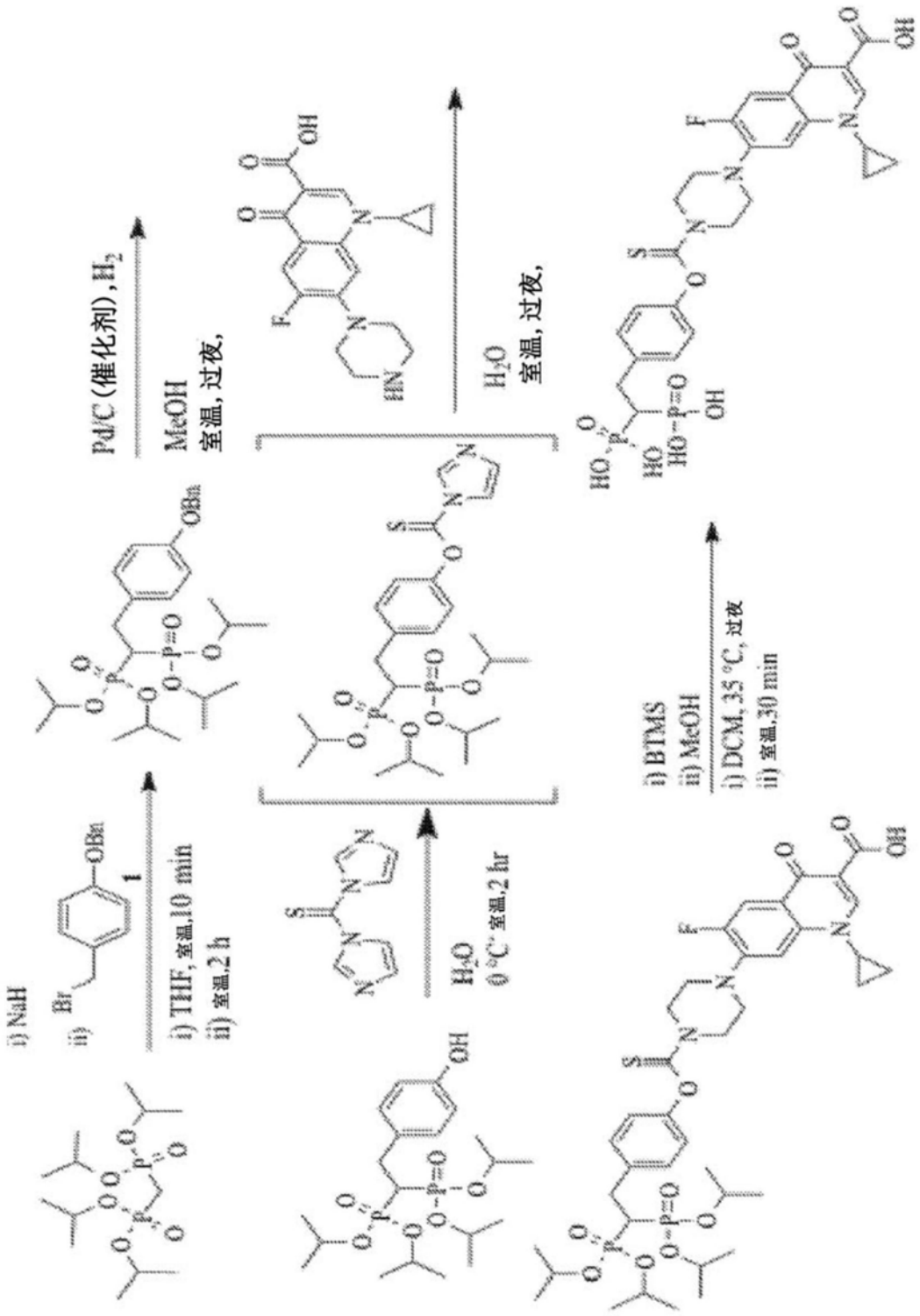


图5

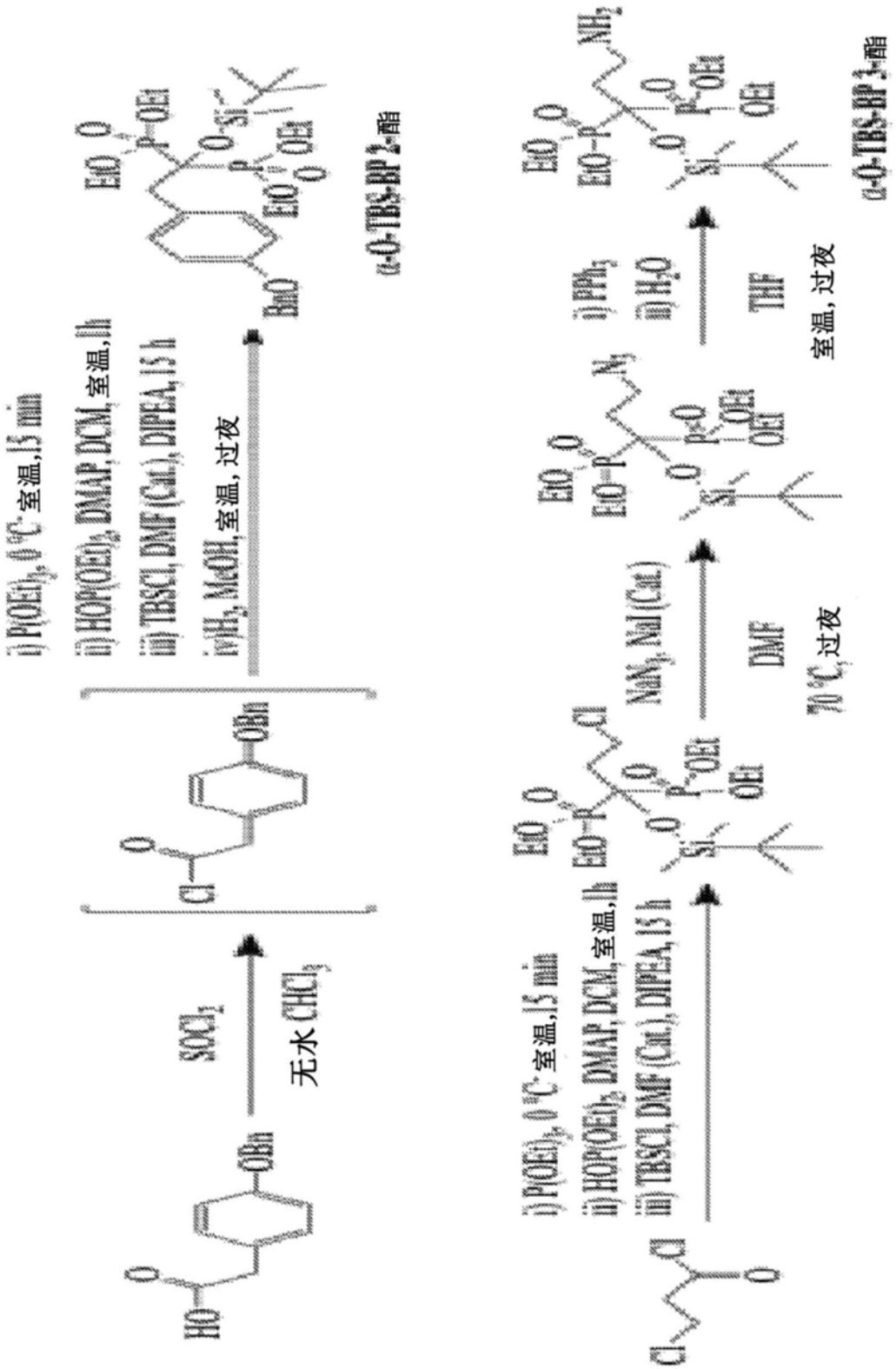

无水 $CHCl_3$
$SOCl_3$
i) $P(OEt)_3$, 0 °C, 室温, 15 min
ii) $HOP(OEt)_2$, DMAP, DCM, 室温, 1h
iii) TBSCl, DMF (CuI_2), DIPEA, 15 h
iv) PPh_3, MeOH, 室温, 过夜
α-O-TBS-BP 2-酯
NaN_3, NaI (CuI)
DMF
70 °C, 过夜
i) PPh_3
ii) H_2O
THF
室温, 过夜
α-O-TBS-BP 3-酯

图6

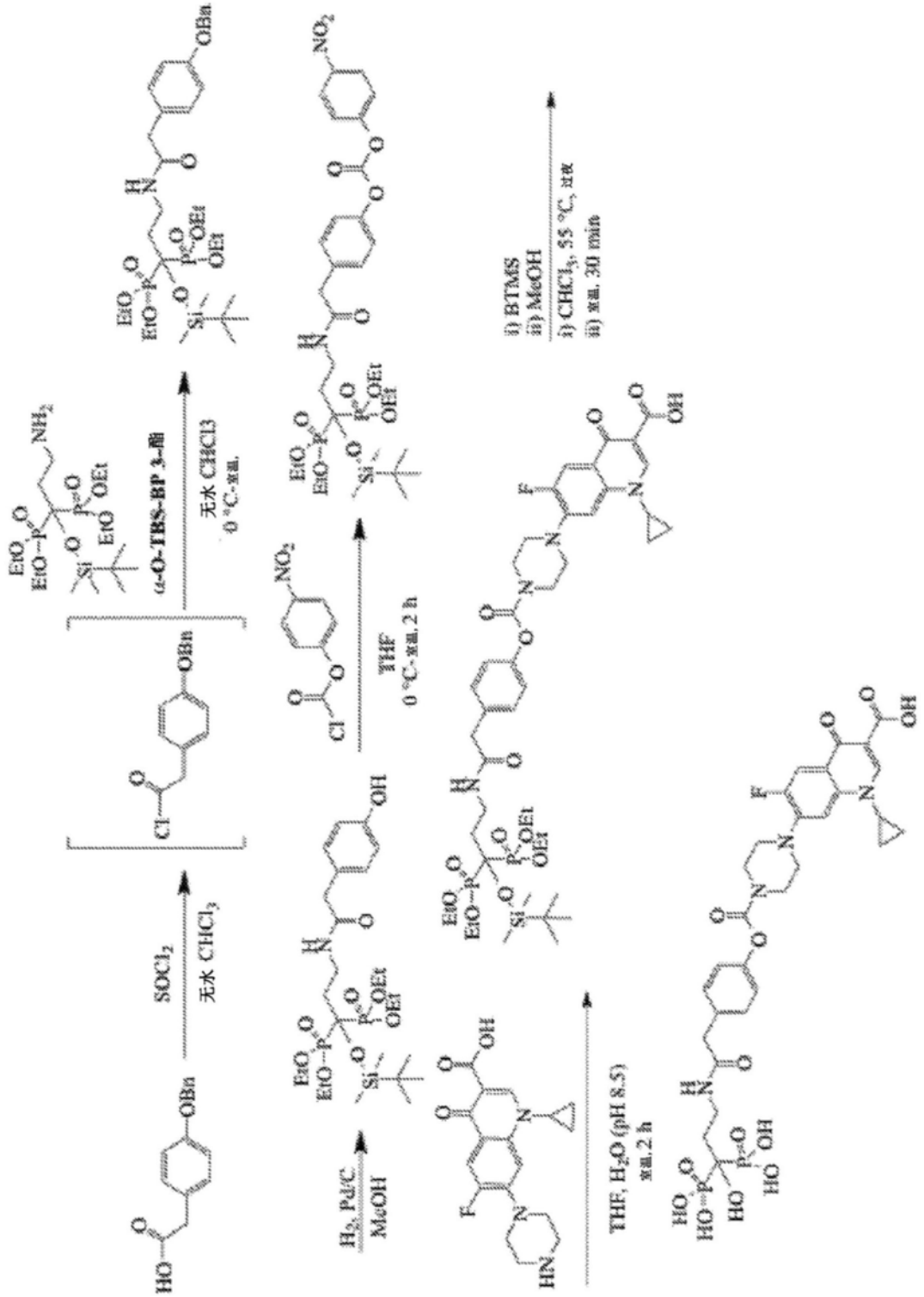


图7

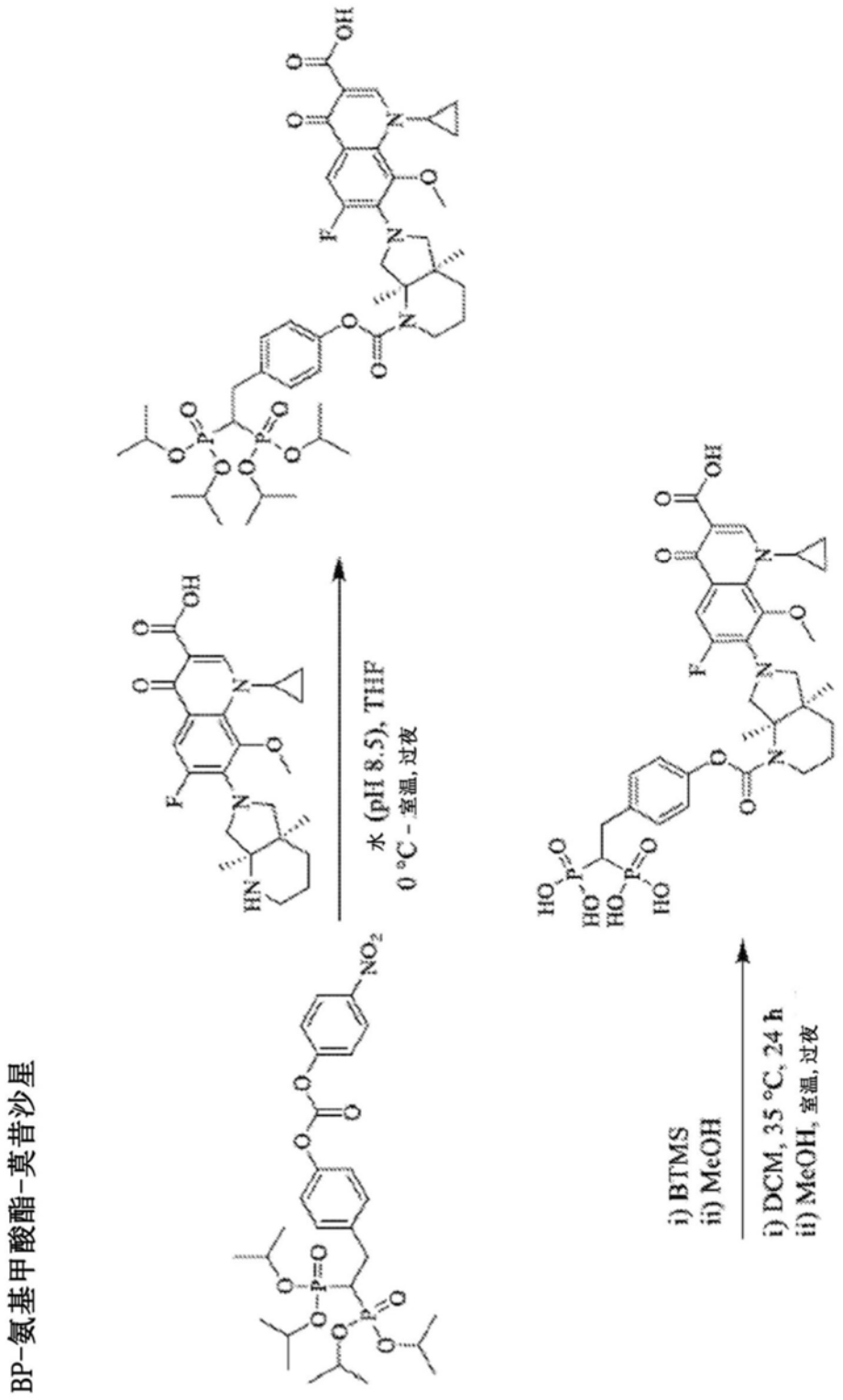

BP-氨基甲酸酯-莫昔沙星
水 (pH 8.5), THF
0 °C - 室温, 过夜
i) BTMS
ii) MeOH
i) DCM, 35 °C, 24 h
ii) MeOH, 室温, 过夜

图8

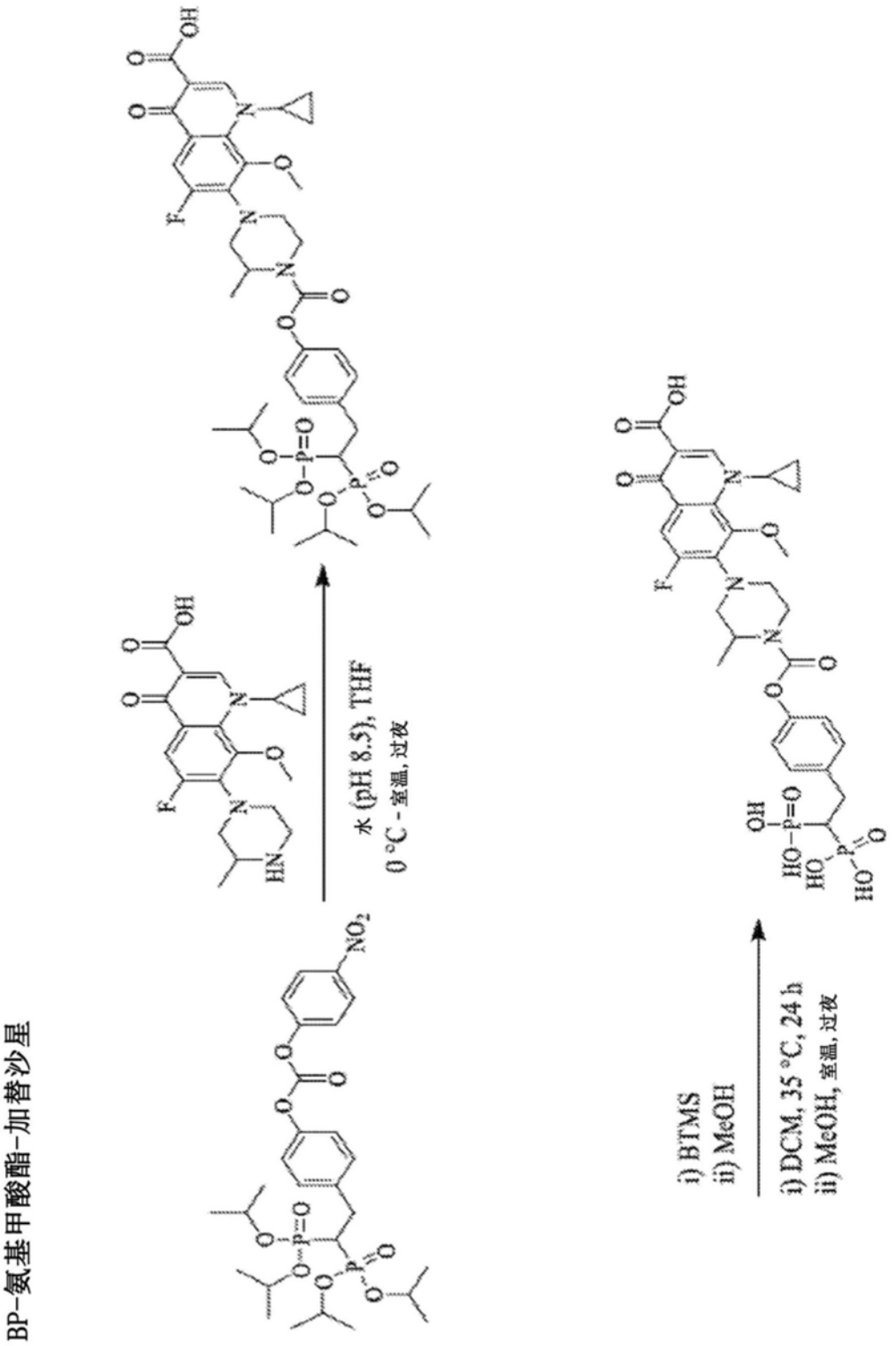

BP-氨基甲酸酯-加替沙星
水 (pH 8.5), THF
0 °C - 室温, 过夜
i) BTMS
ii) MeOH
i) DCM, 35 °C, 24 h
ii) MeOH, 室温, 过夜

图9

BP-对羟基苯基乙酸-环丙沙星

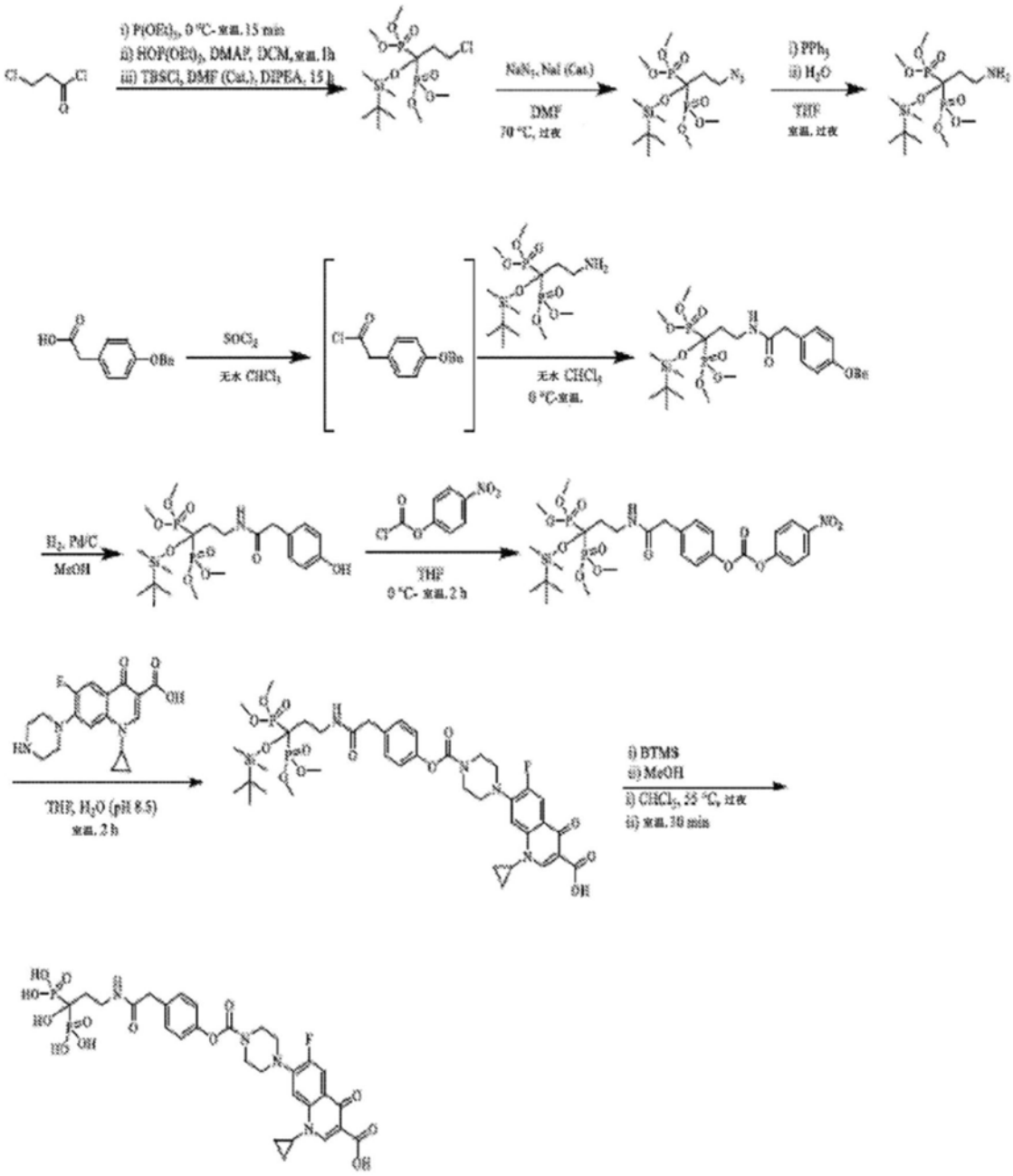


图10

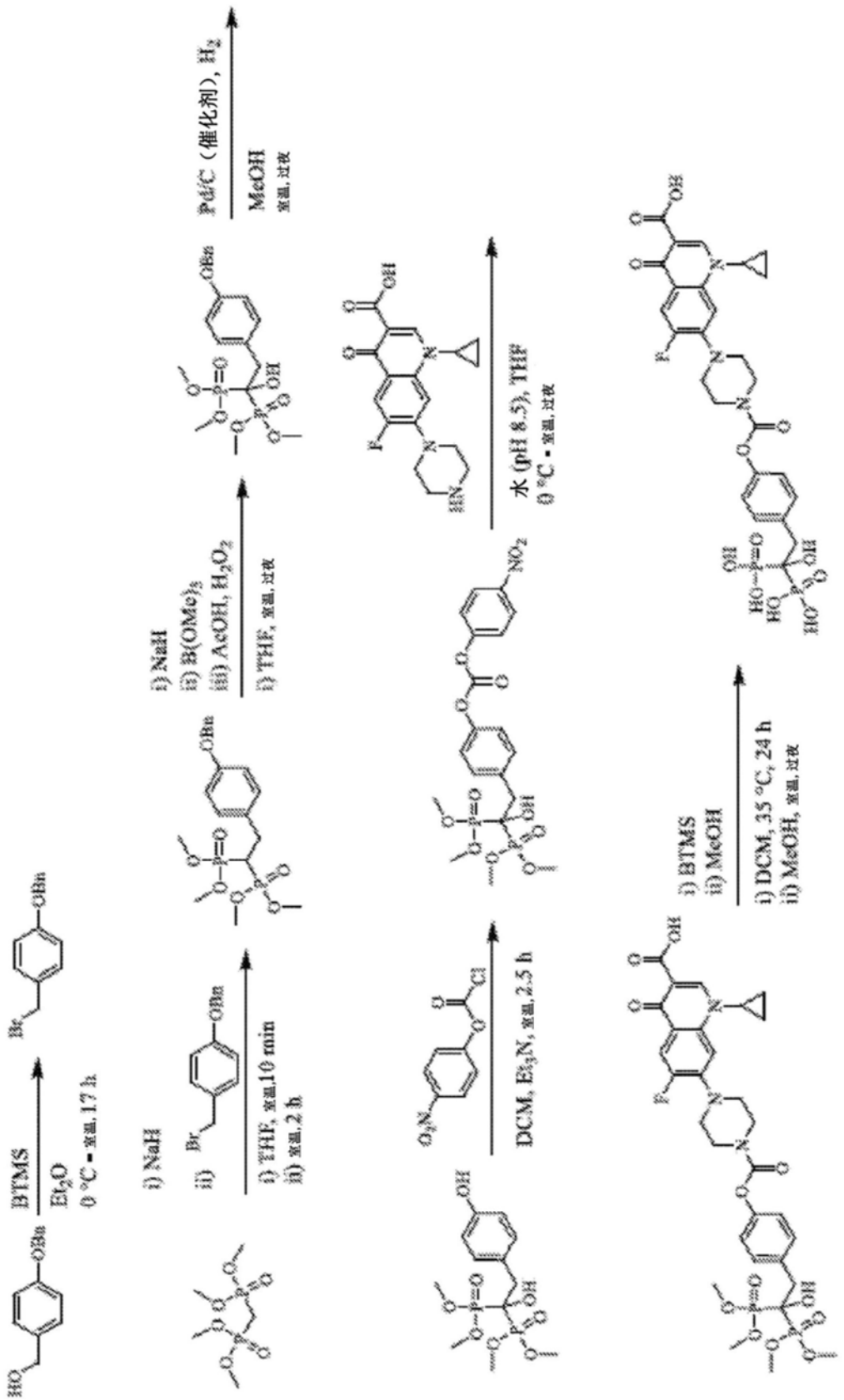


图11

BP-O-硫代氨基甲酸酯-环丙沙星

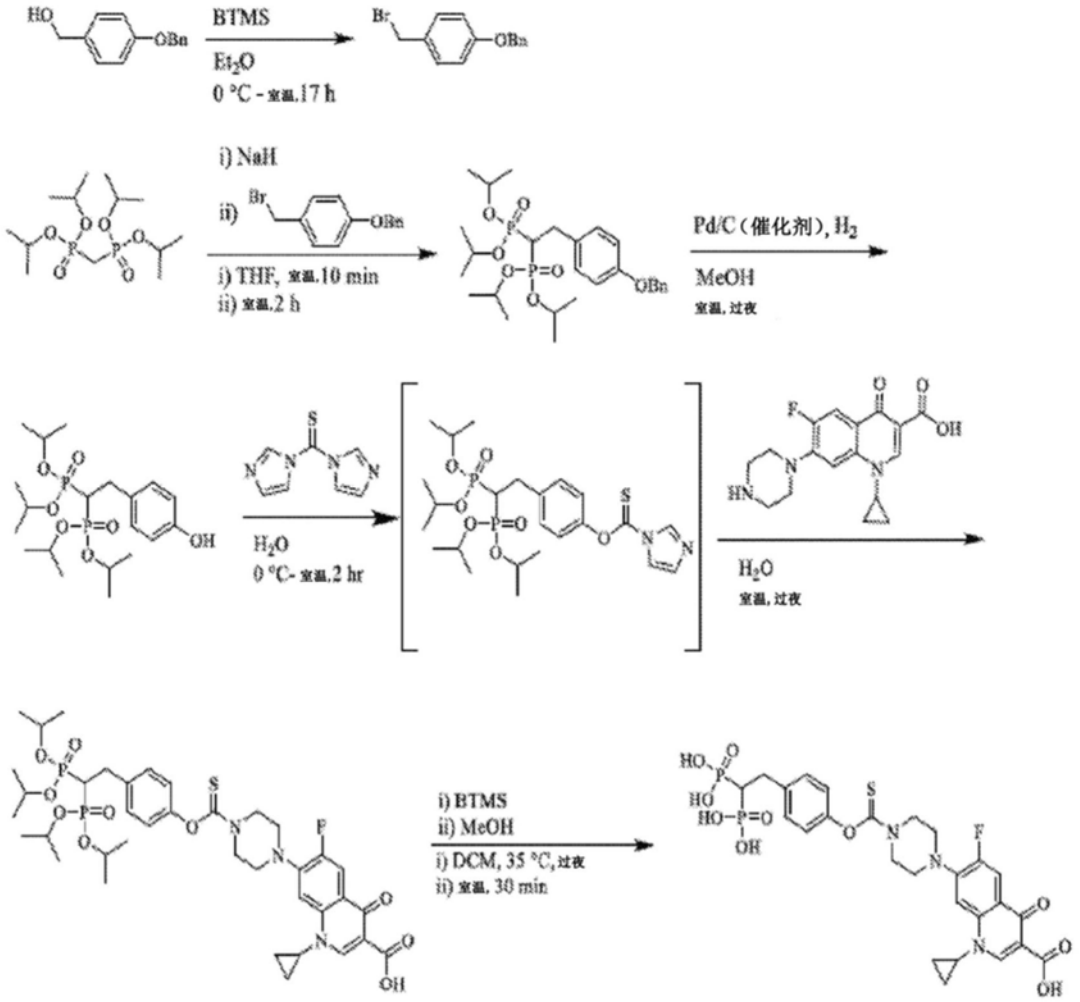
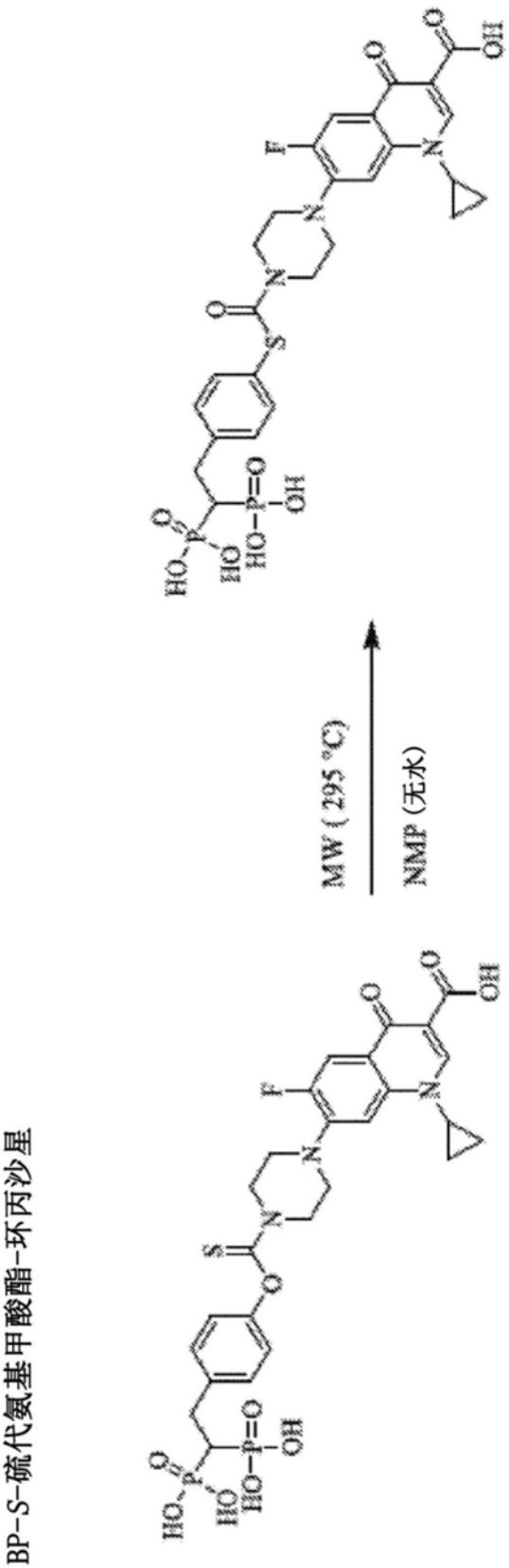


图12



BP-S-硫代氨基甲酸酯-环丙沙星

图13

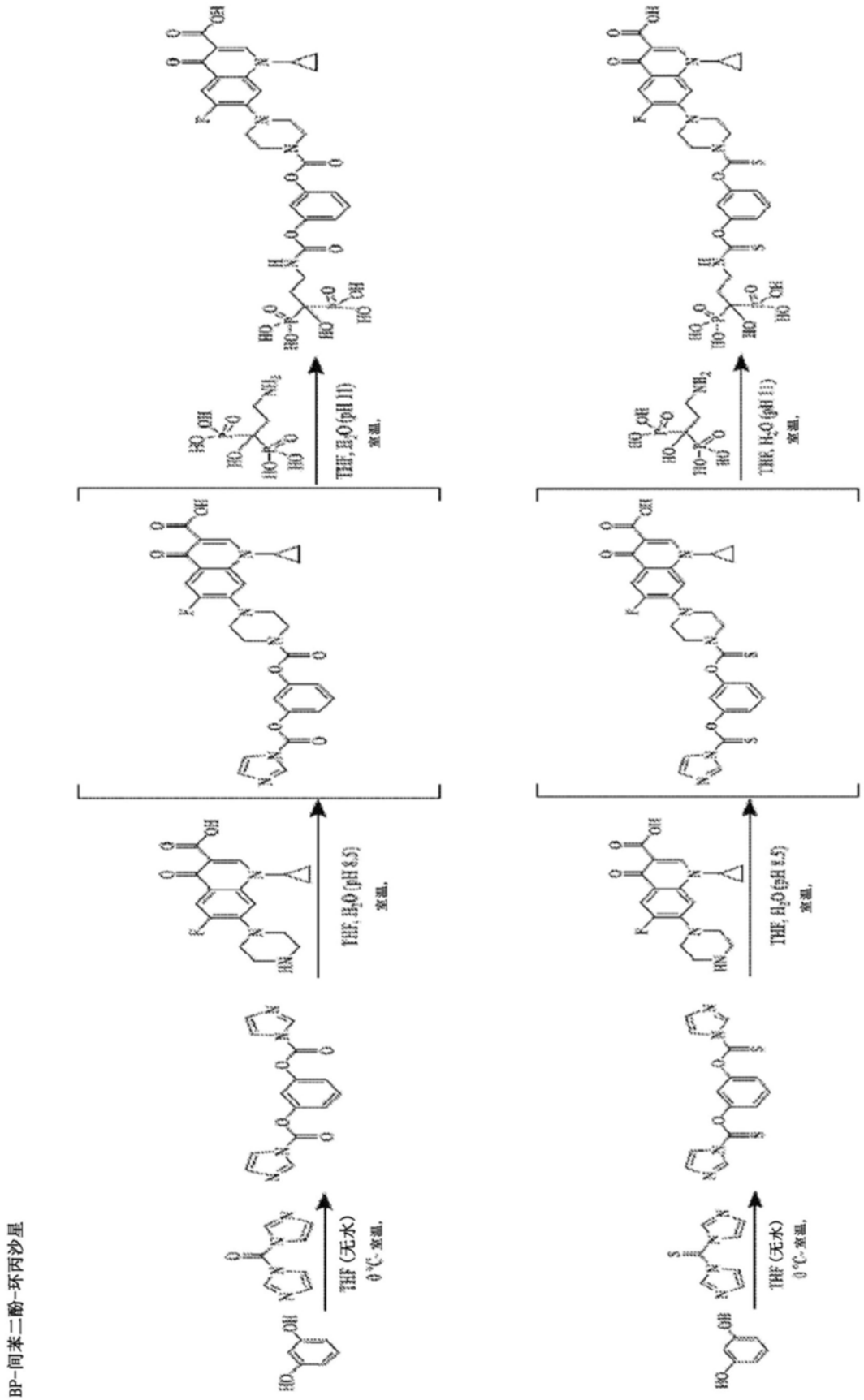


图14

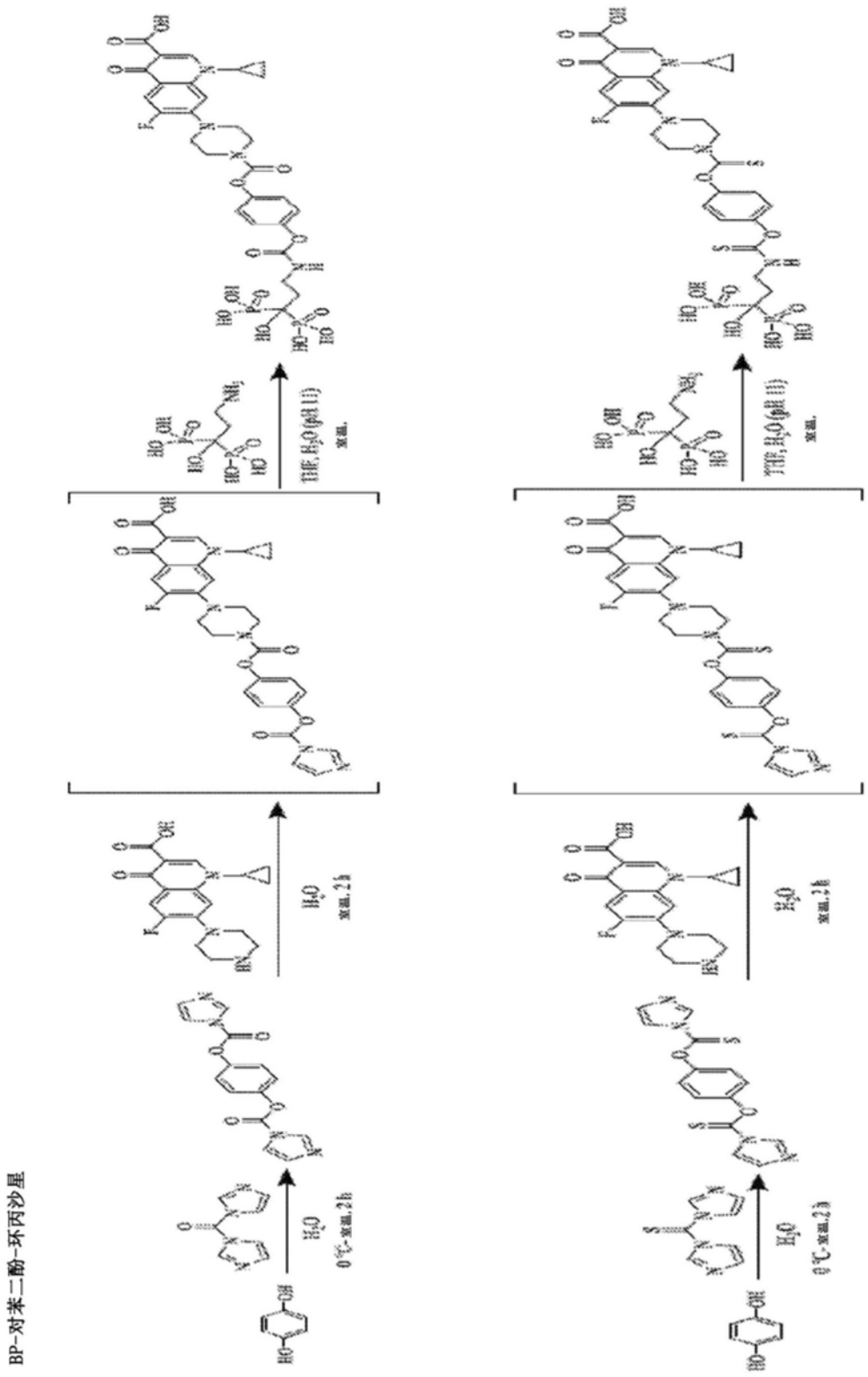


图15

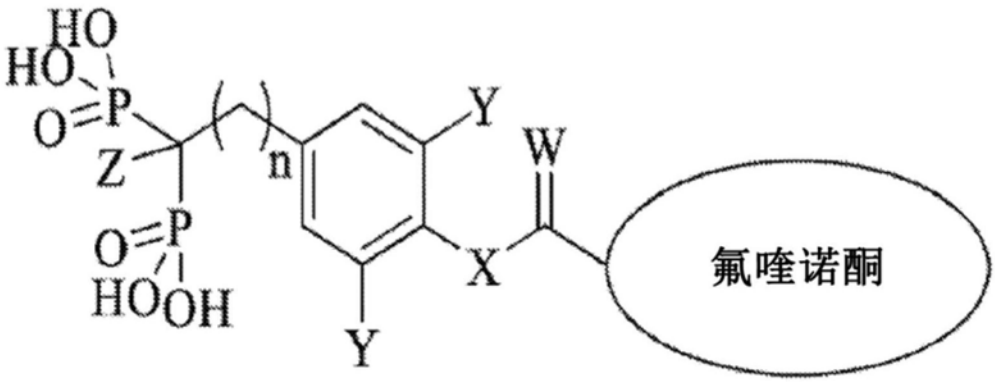

HO
HO
O=P
Z
n
Y
W
X
O=P
HO OH
Y
氟喹诺酮

图16

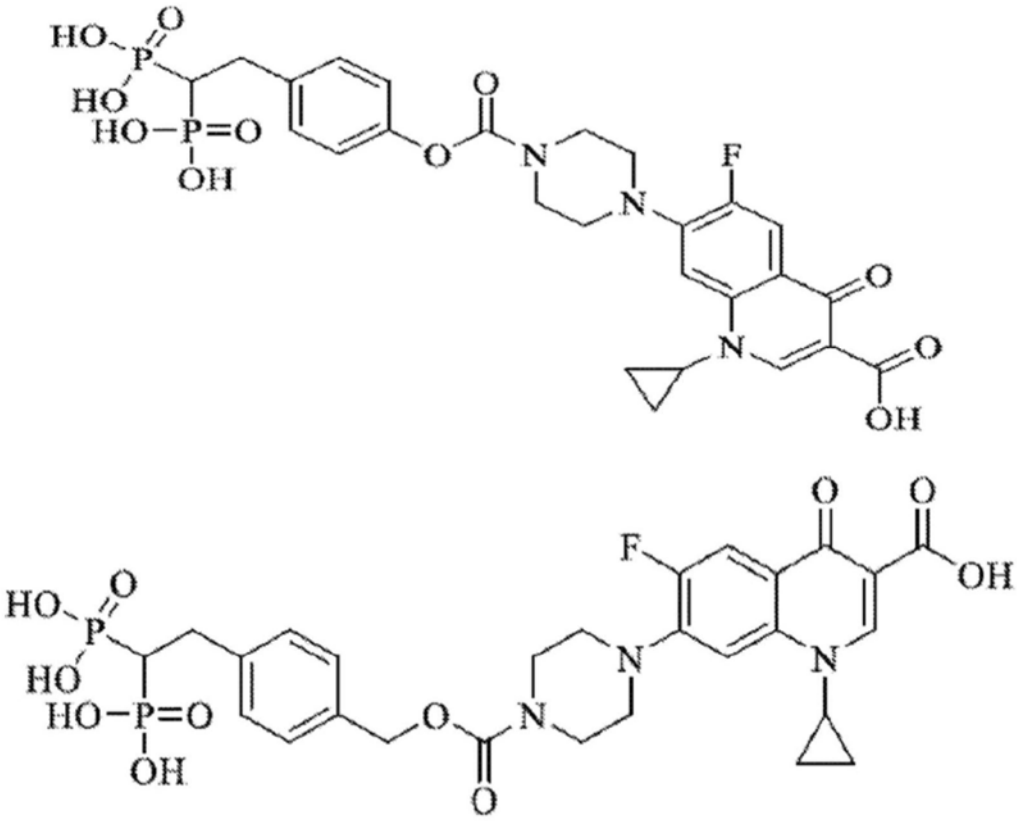

HO
O
P
HO
HO—P=O
OH
O
O
N
N
F
O
N
O
OH
HO
O
P
HO
HO—P=O
OH
F
O
O
OH
N
N
O
N
O

图17

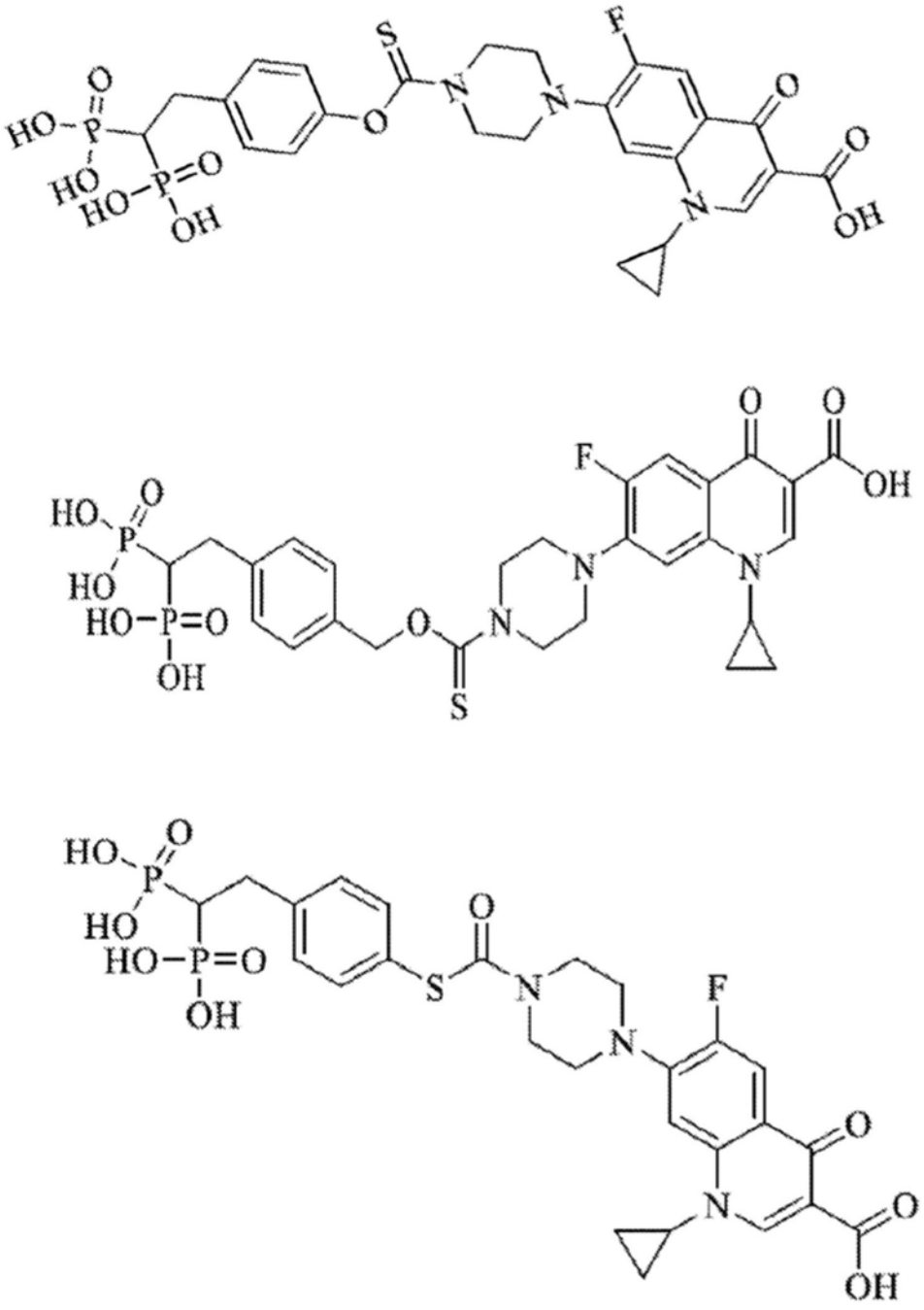


图17续

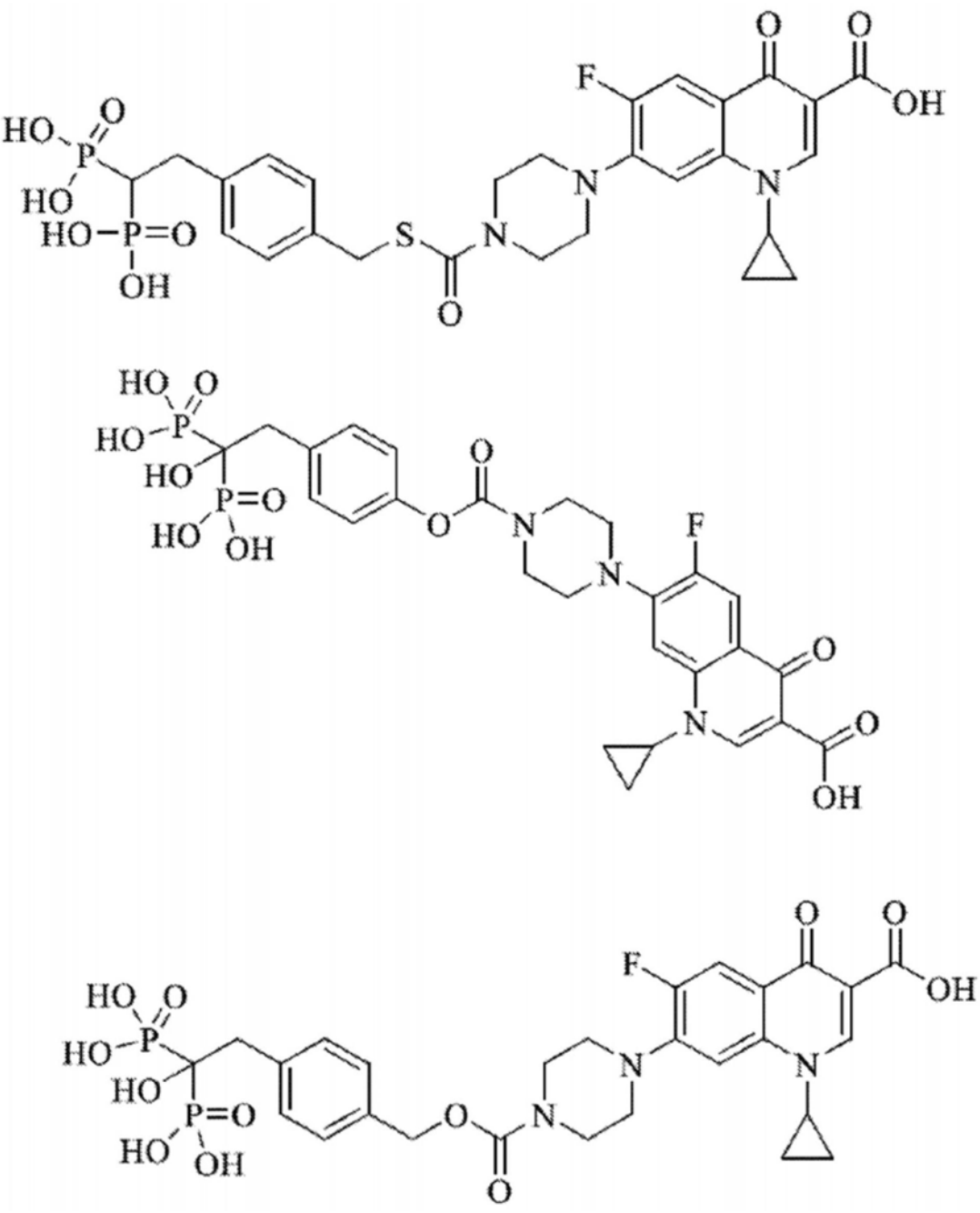


图17续

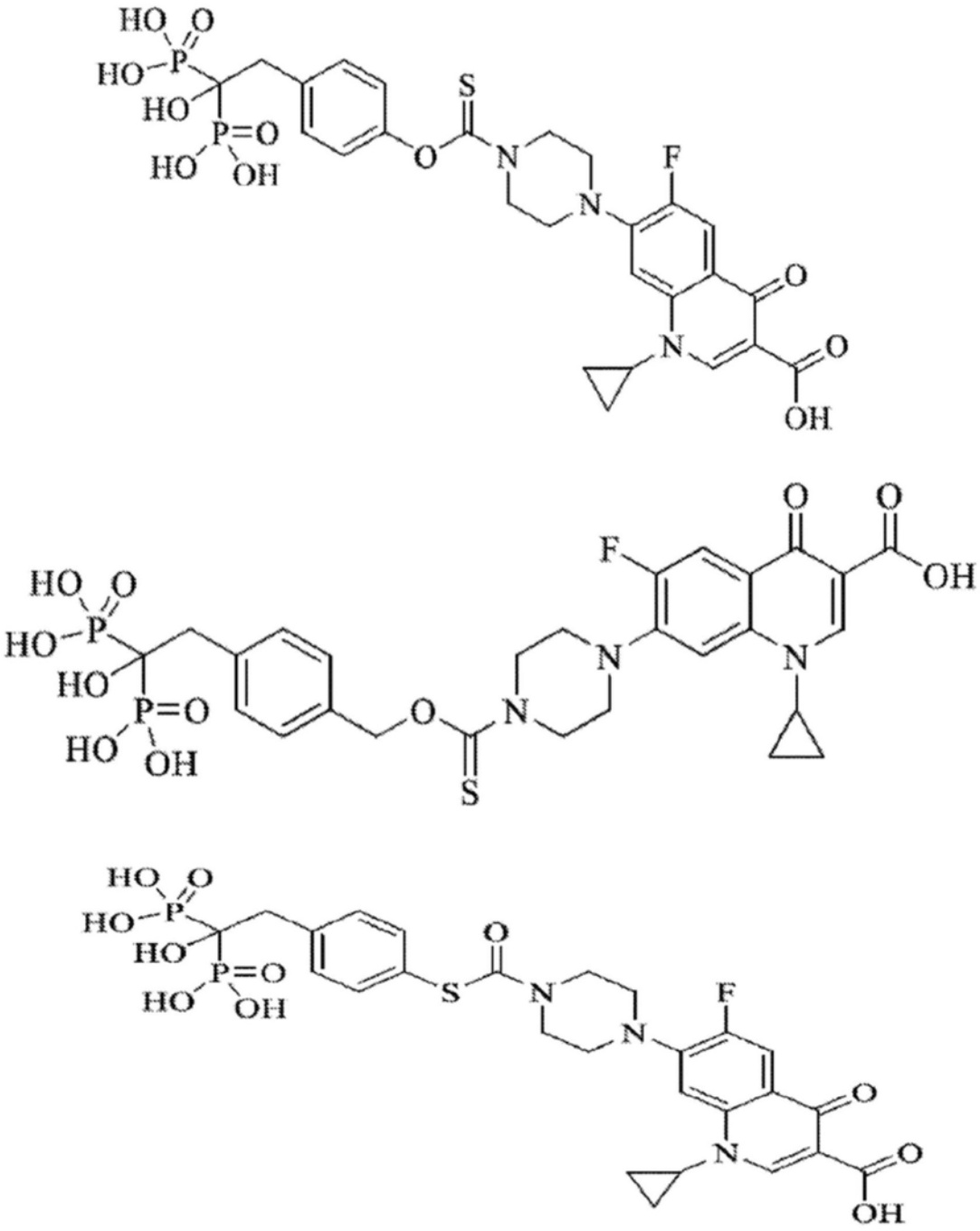


图17续

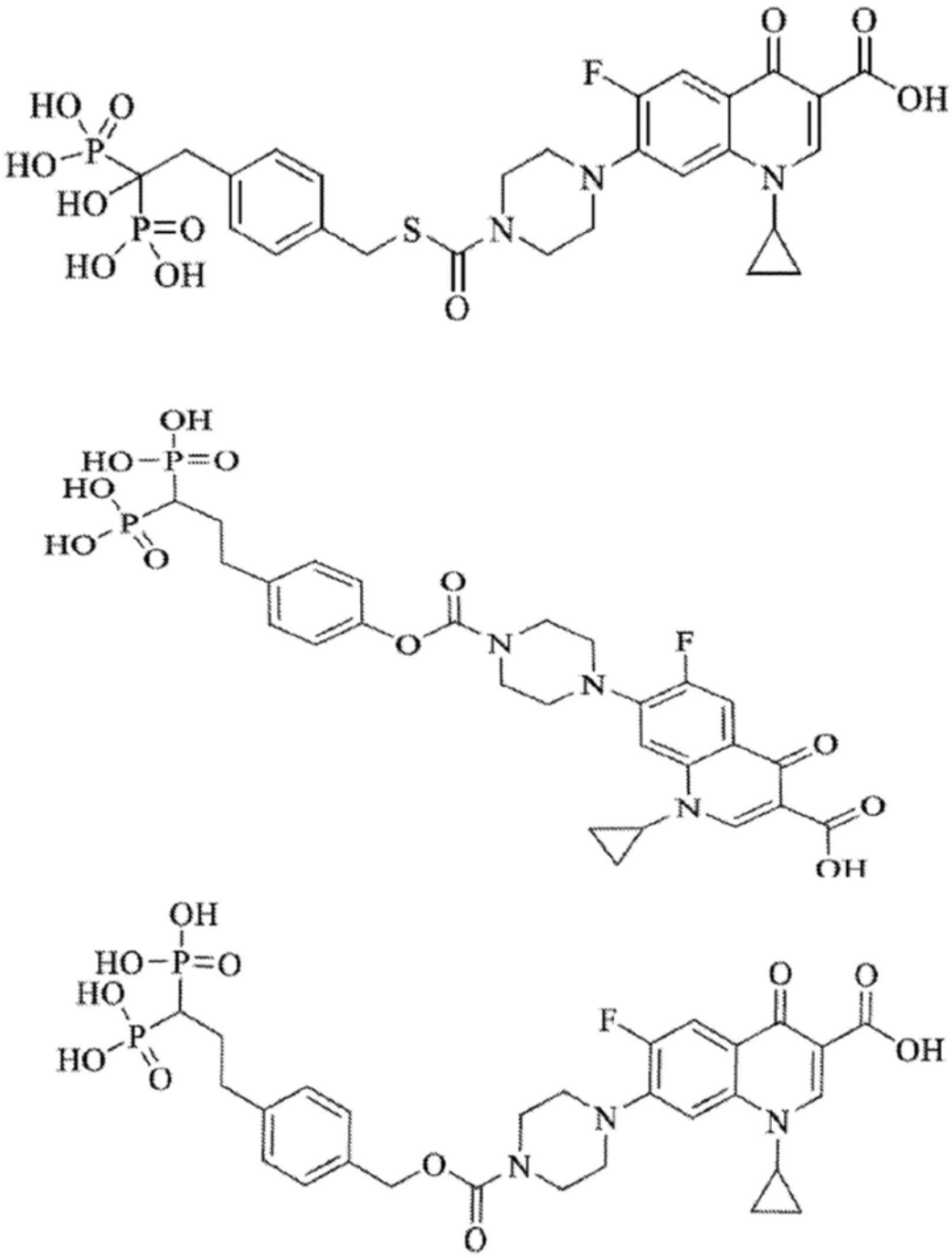


图17续

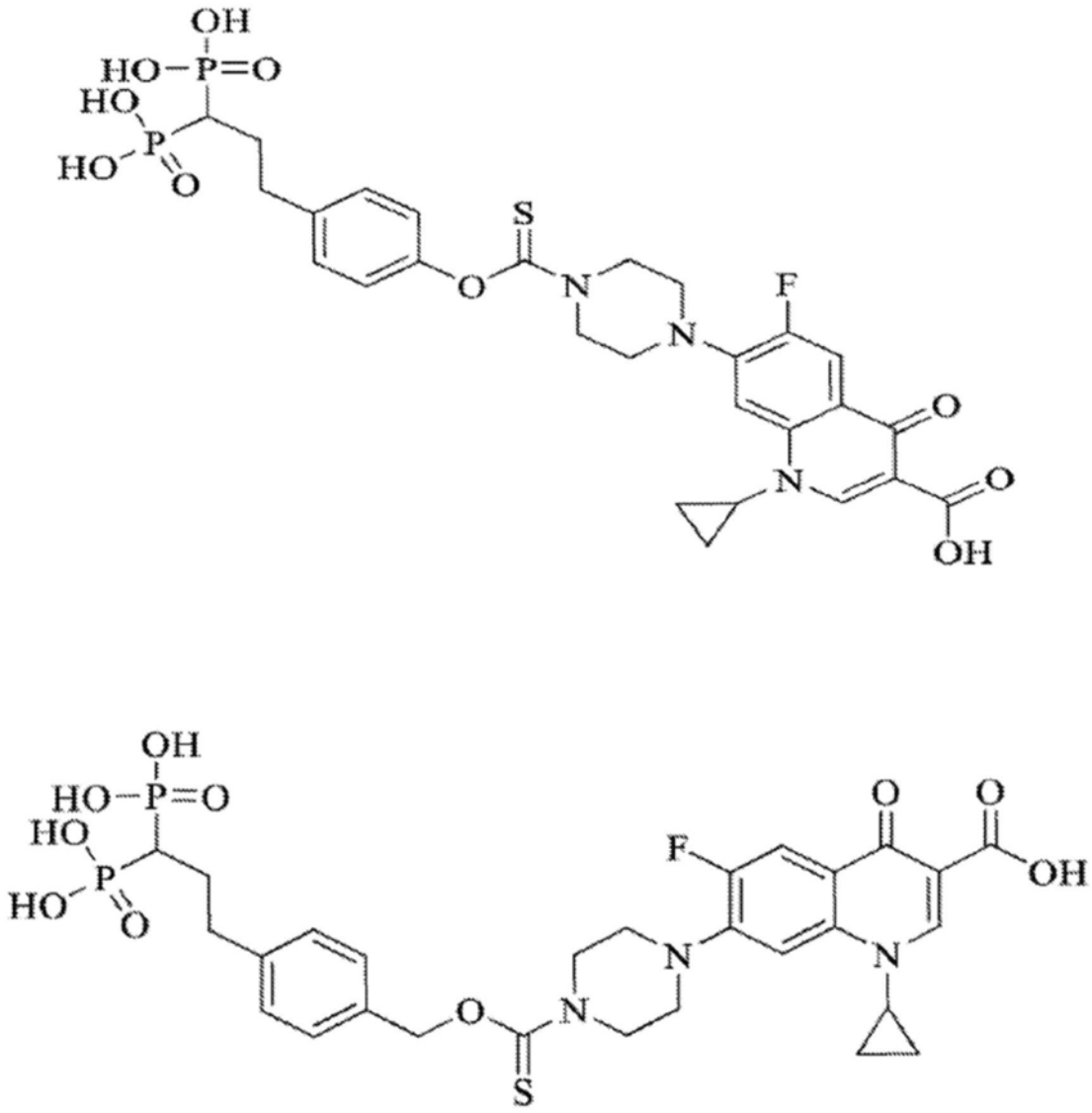


图17续

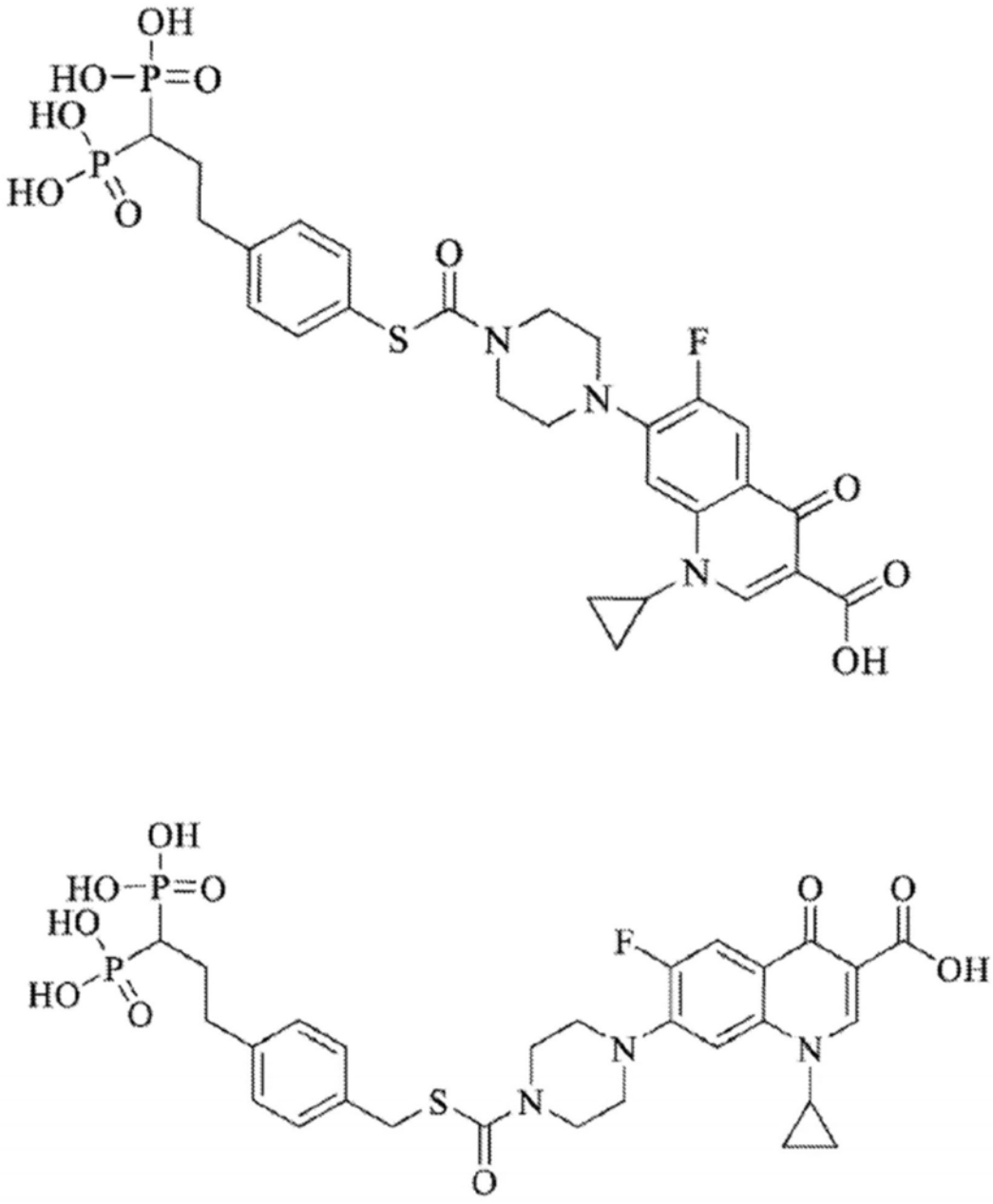


图17续

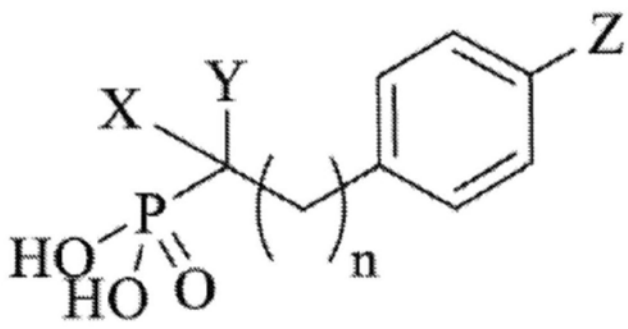


图18

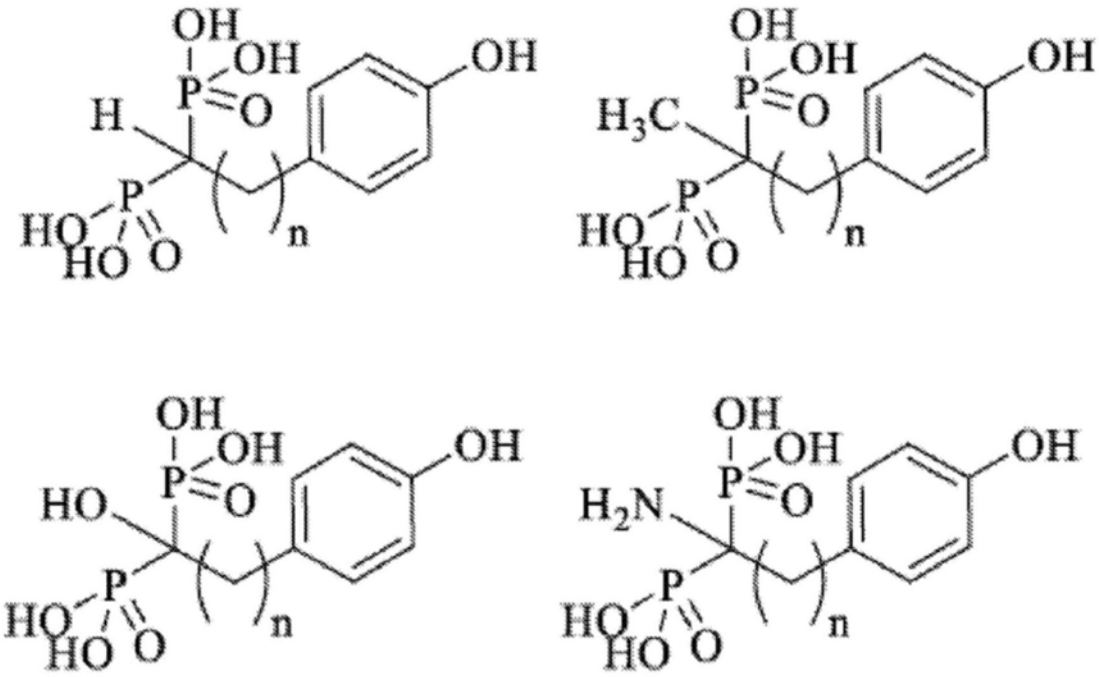

OH
OH
P
O
H
HO
HO
O
n
OH
OH
P
O
H3C
HO
HO
O
n
OH
OH
P
O
HO
HO
HO
O
n
OH
OH
P
O
H2N
HO
HO
O
n

图19

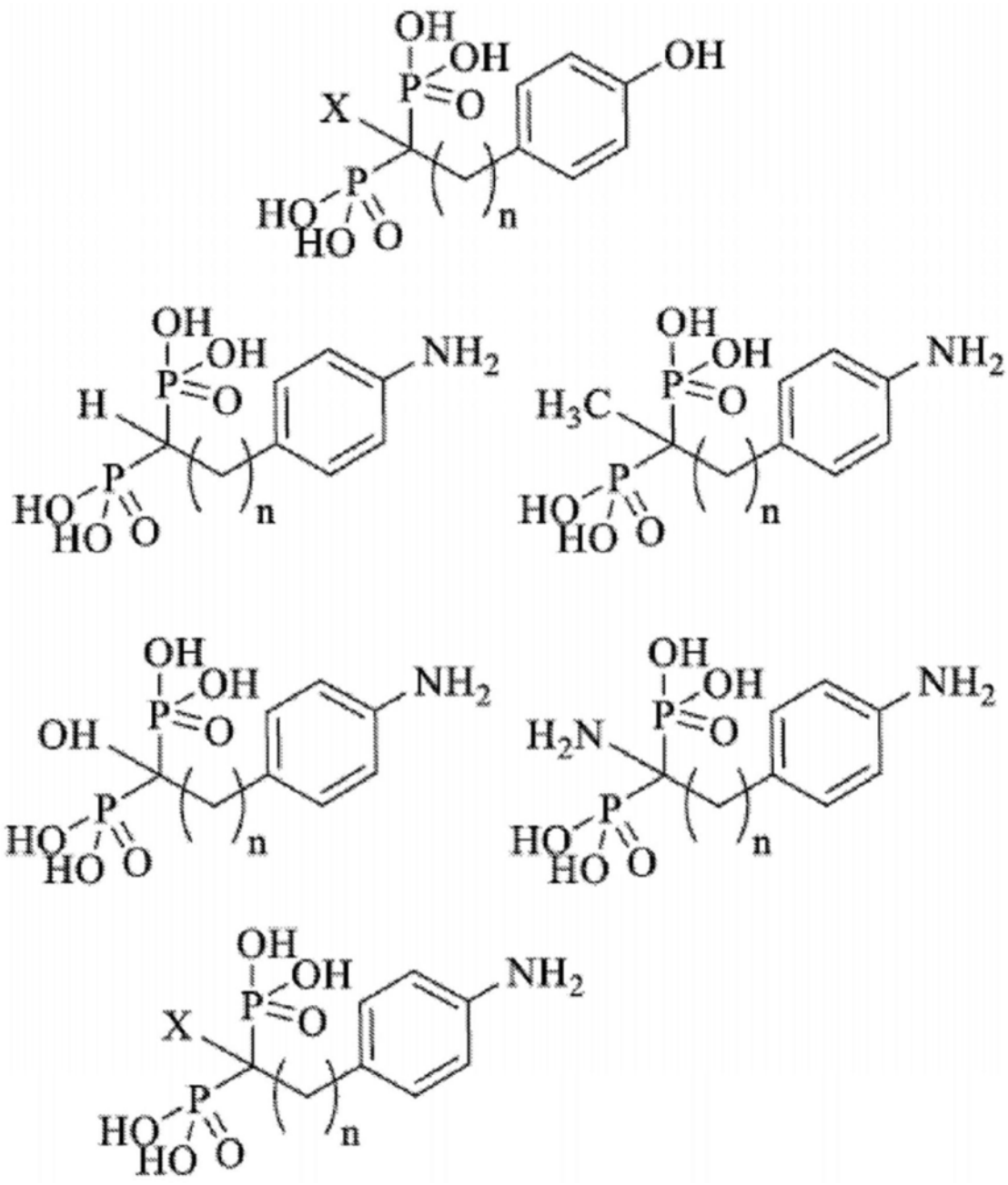


图19续

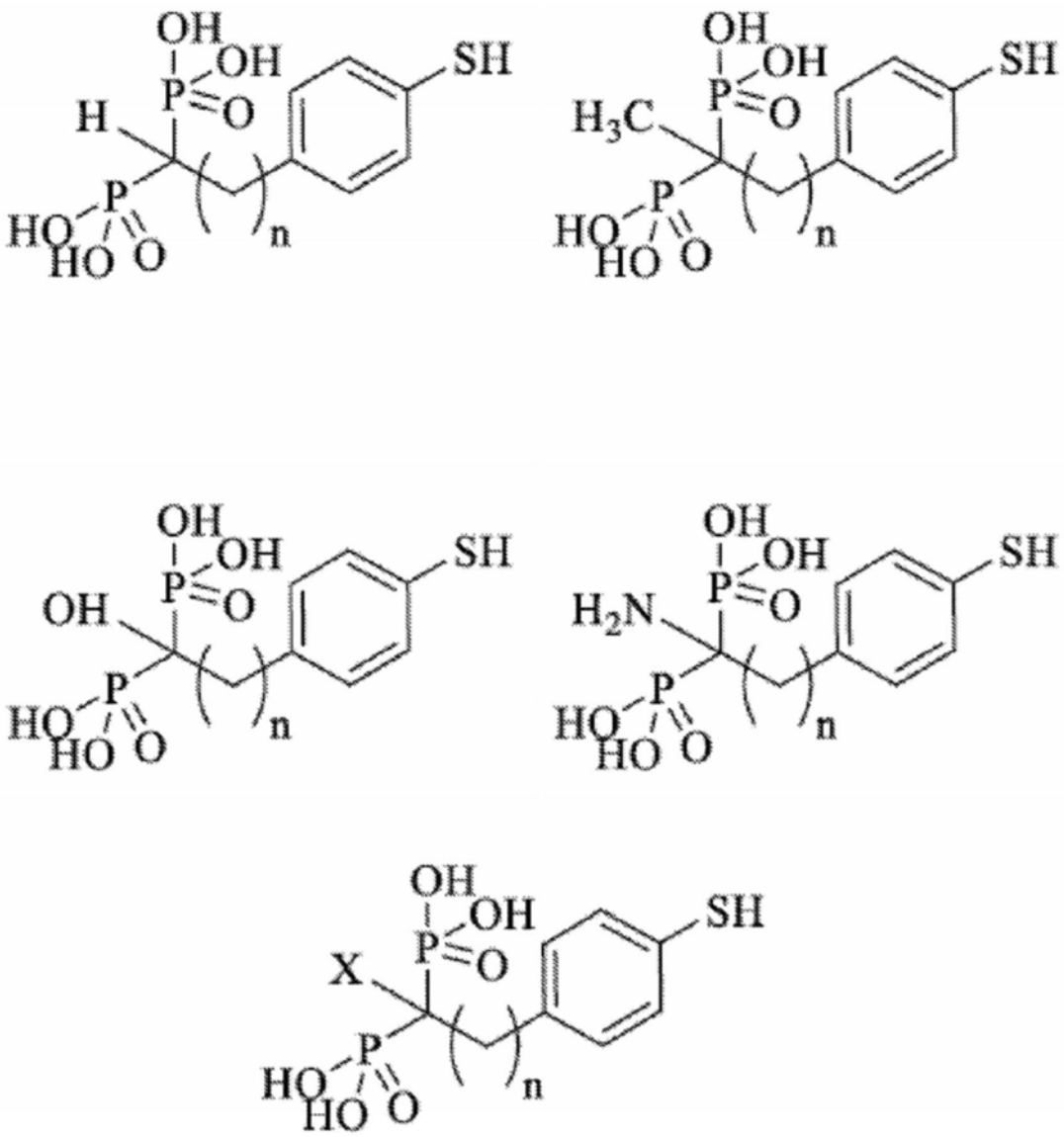
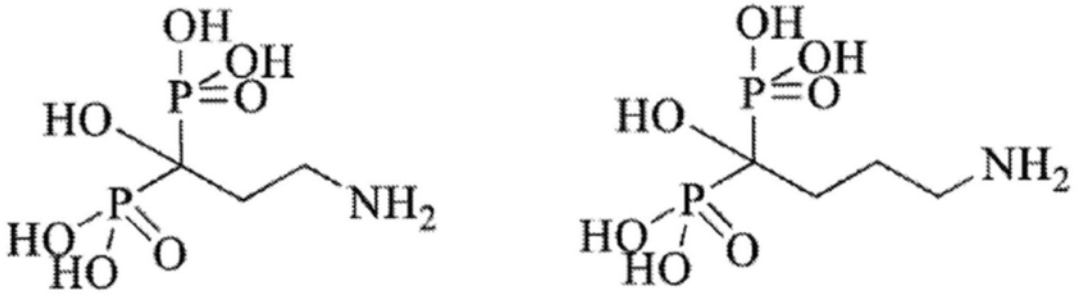


图19续



帕米膦酸 阿仑膦酸

图20

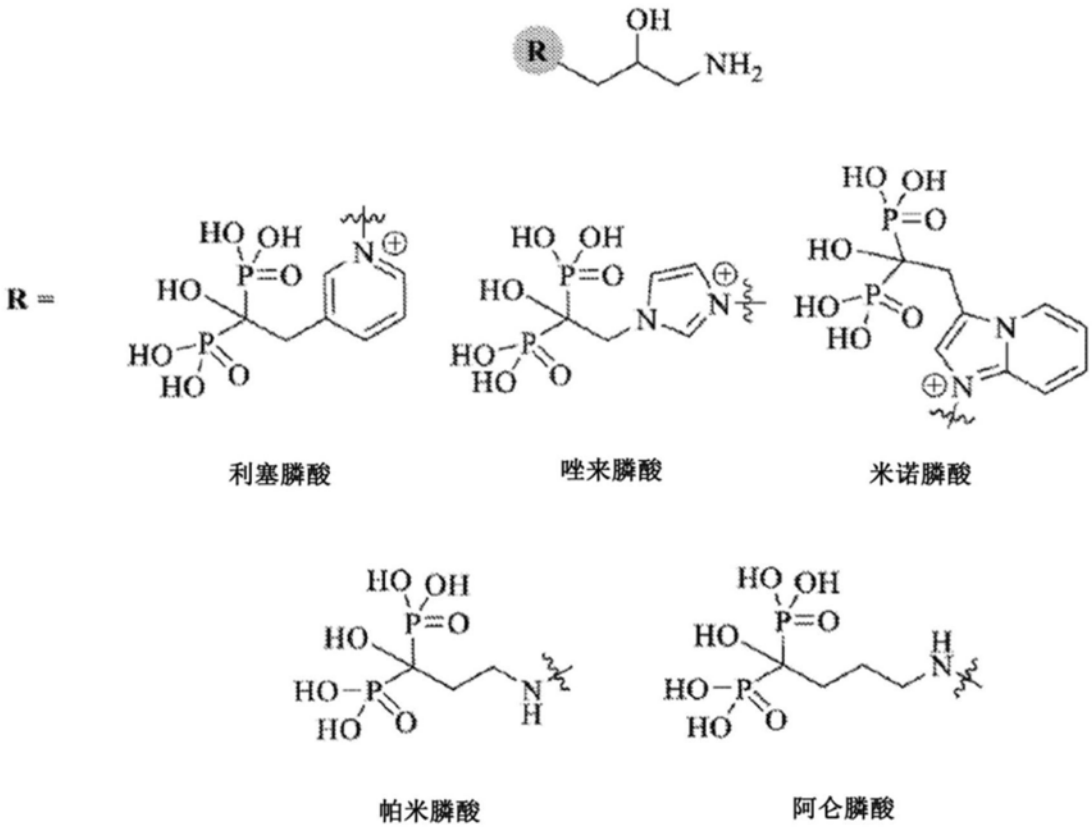


图21

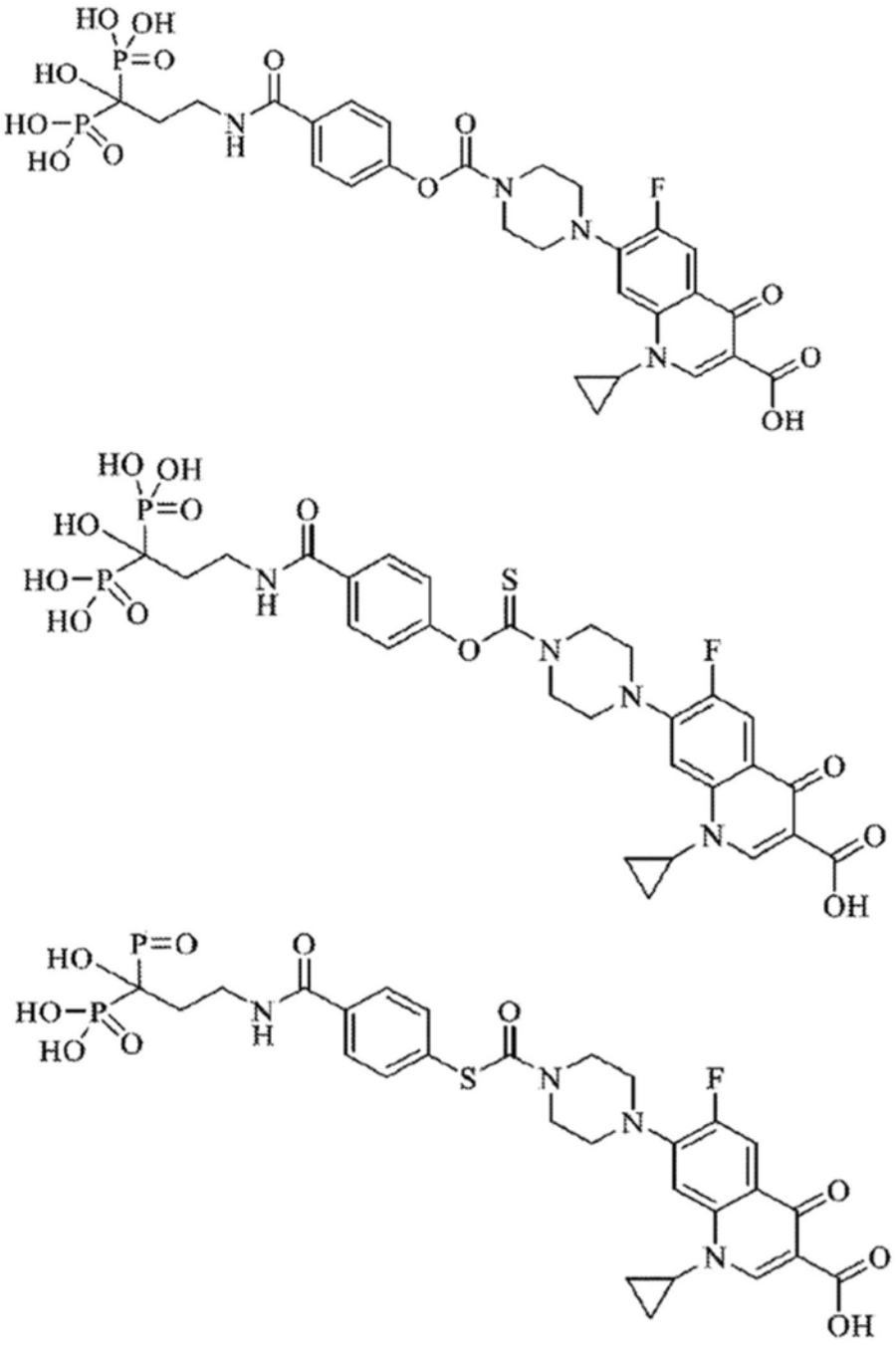


图22

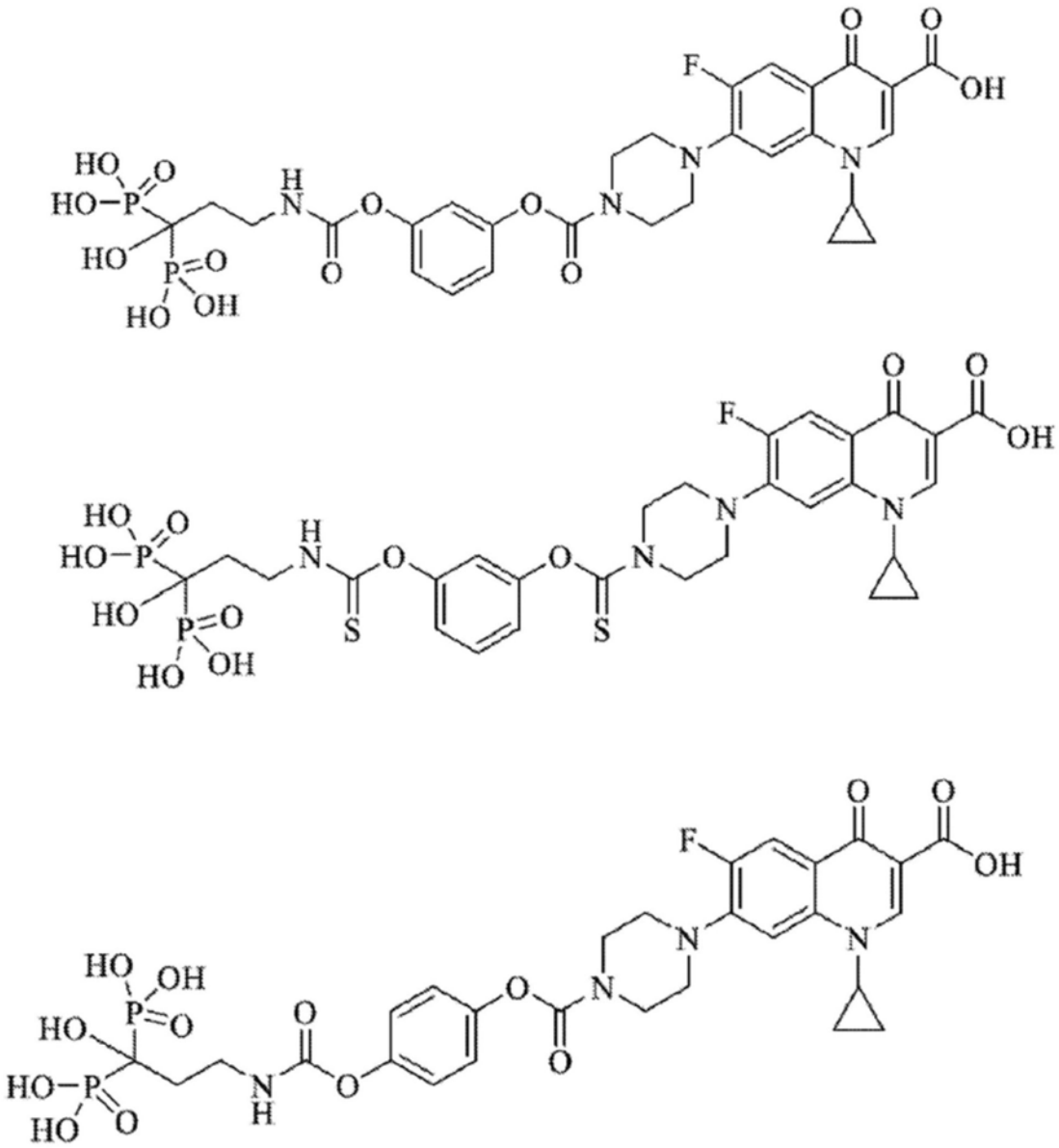


图22续

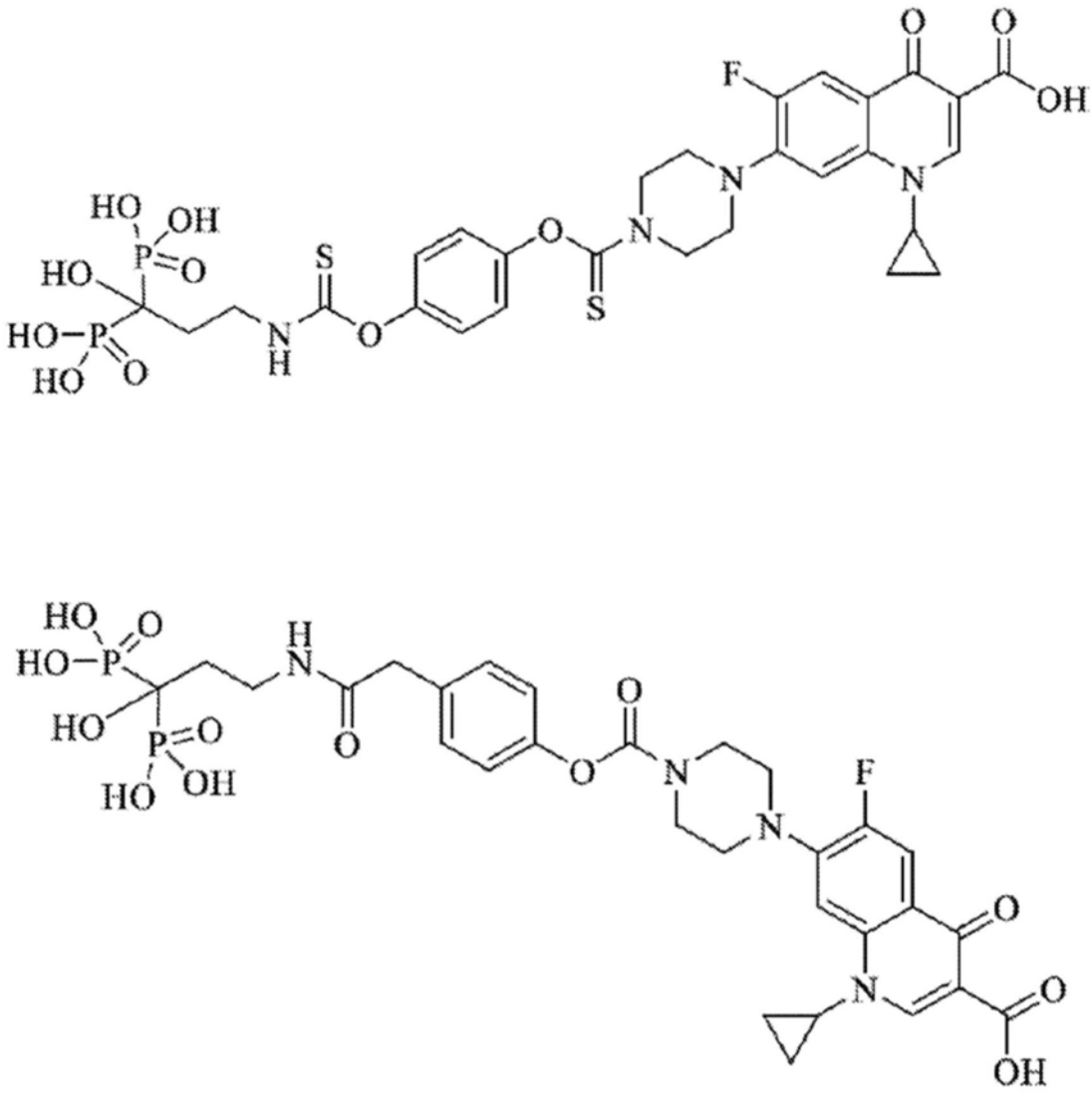


图22续

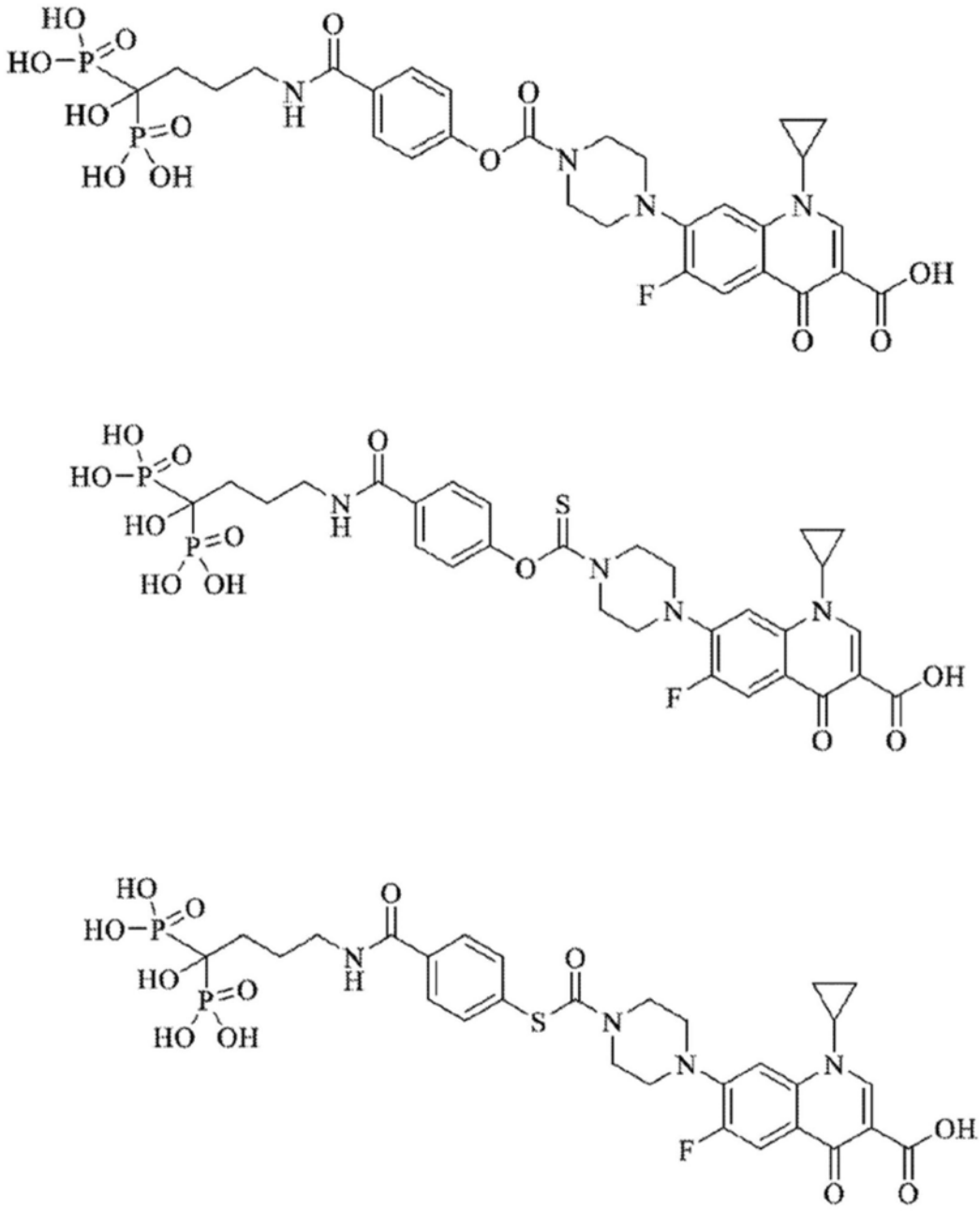


图23

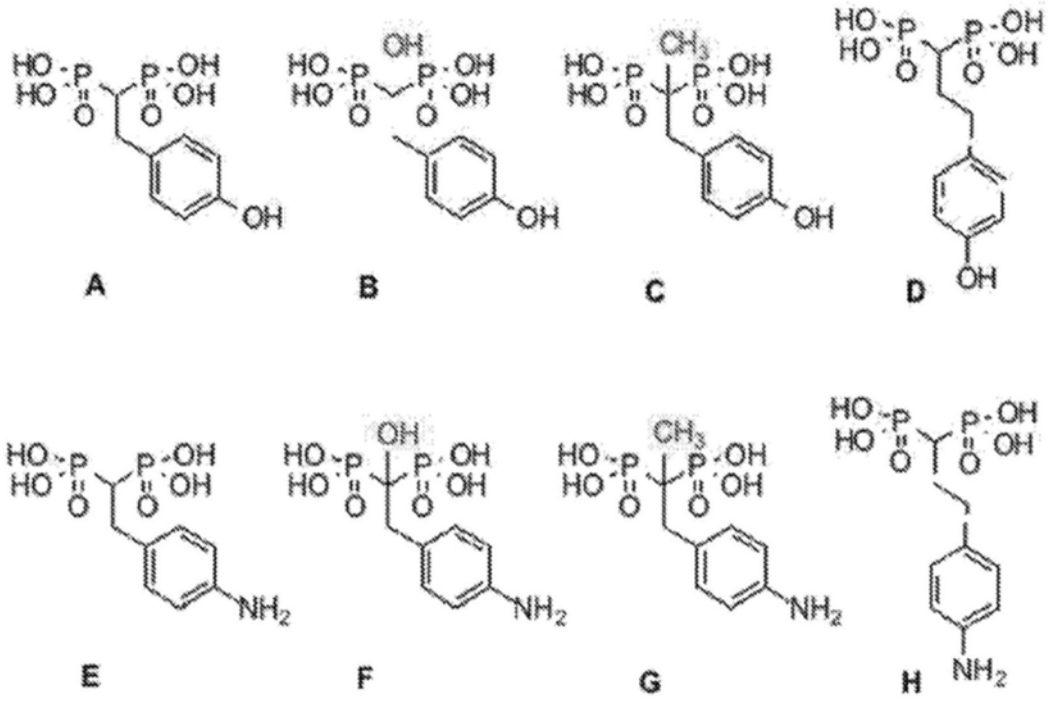

A
B
C
D
E
F
G
H

图24

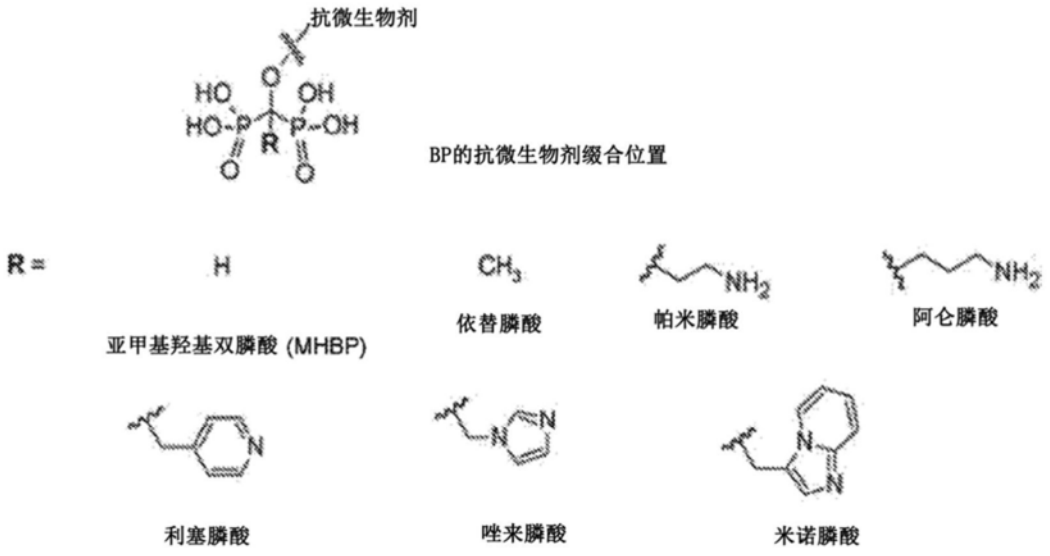

抗微生物剂
BP的抗微生物剂缀合位置
R =
H
亚甲基羟基双膦酸 (MHBP)
CH3
依替膦酸
帕米膦酸
阿仑膦酸
利塞膦酸
唑来膦酸
米诺膦酸

图25

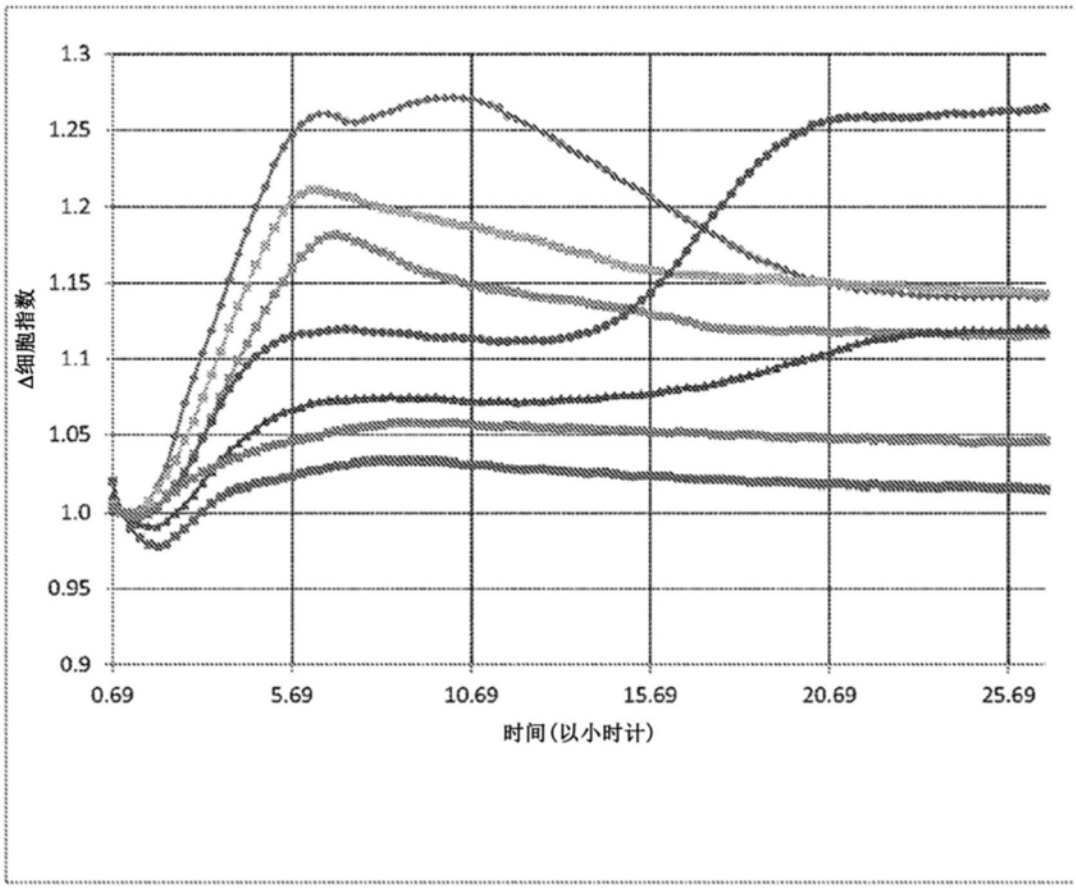

1.3
1.25
1.2
1.15
1.1
1.05
1.0
0.95
0.9
Δ细胞指数
0.69
5.69
10.69
15.69
20.69
25.69
时间(以小时计)

图26

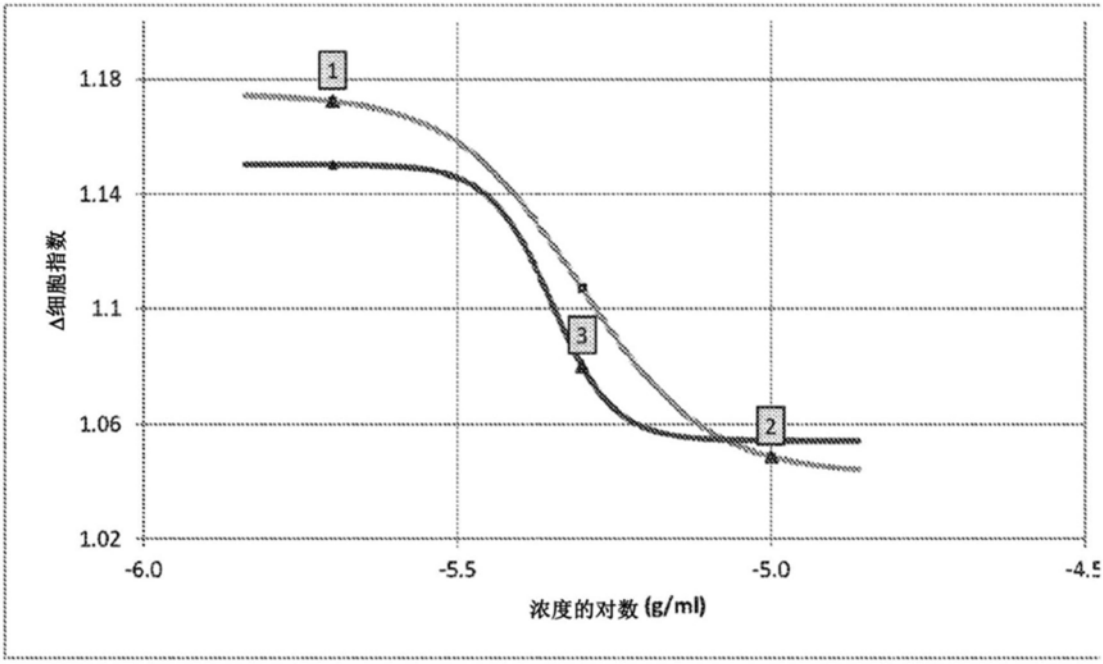

1.18
1.14
1.1
1.06
1.02
Δ细胞指数
1
2
3
-6.0
-5.5
-5.0
浓度的对数(g/ml)

图27

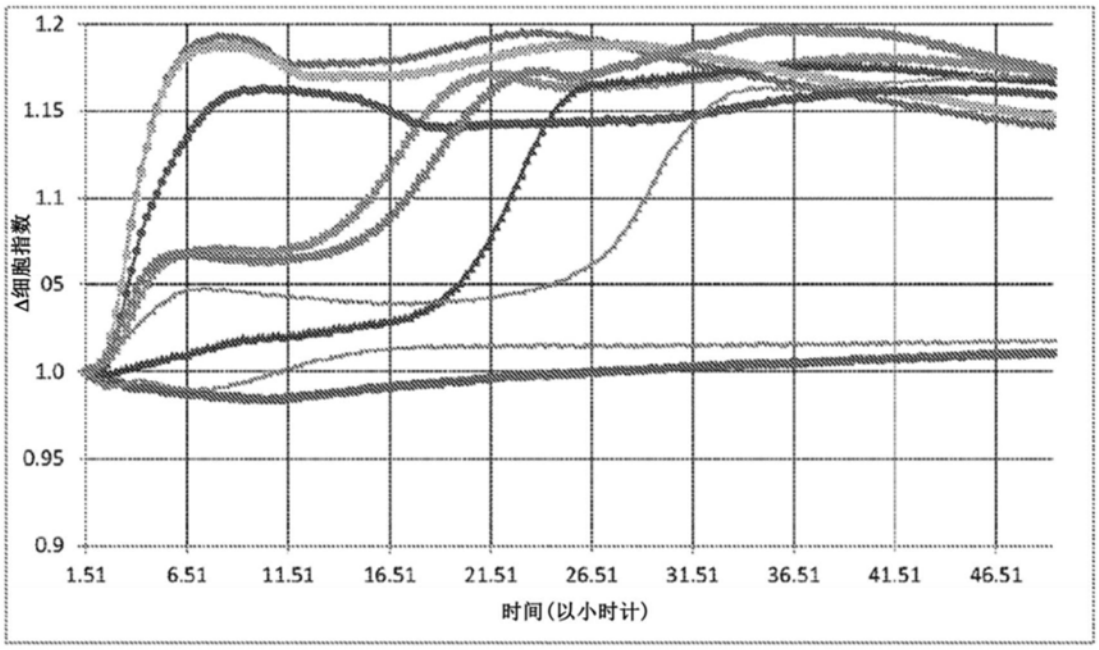

1.2
1.15
1.1
05
1.0
0.95
0.9
Δ细胞指数
1.51
6.51
11.51
16.51
21.51
26.51
31.51
36.51
41.51
46.51
时间(以小时计)

图28

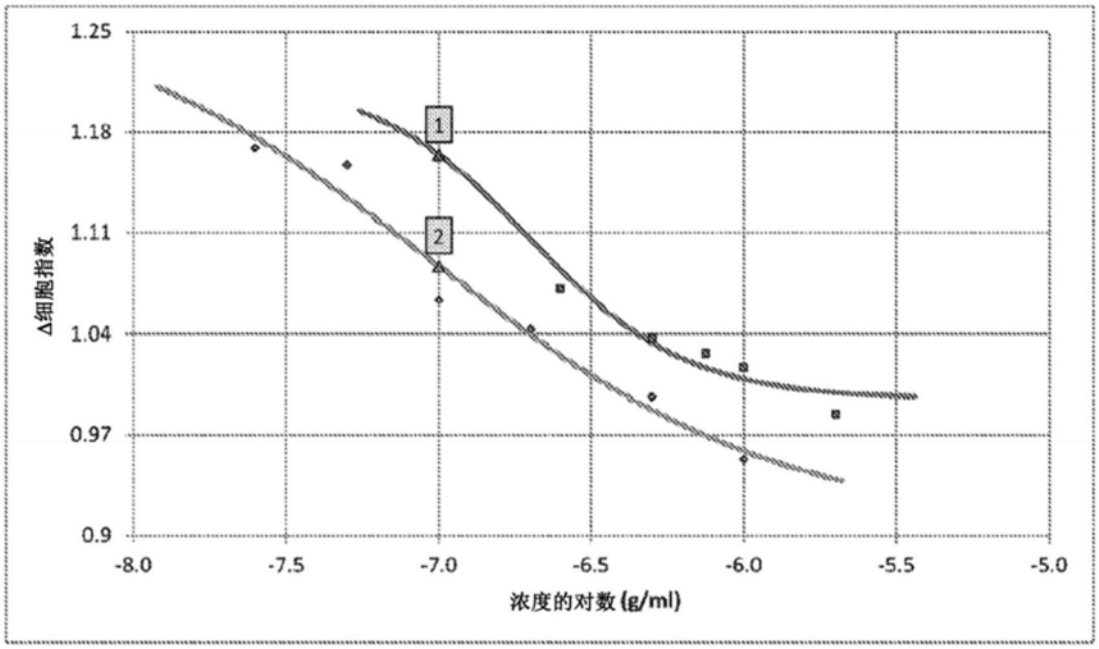

1.25
1.18
1.11
1.04
0.97
0.9
Δ细胞指数
1
2
-8.0
-7.5
-7.0
-6.5
-6.0
-5.5
-5.0
浓度的对数(g/ml)

图29

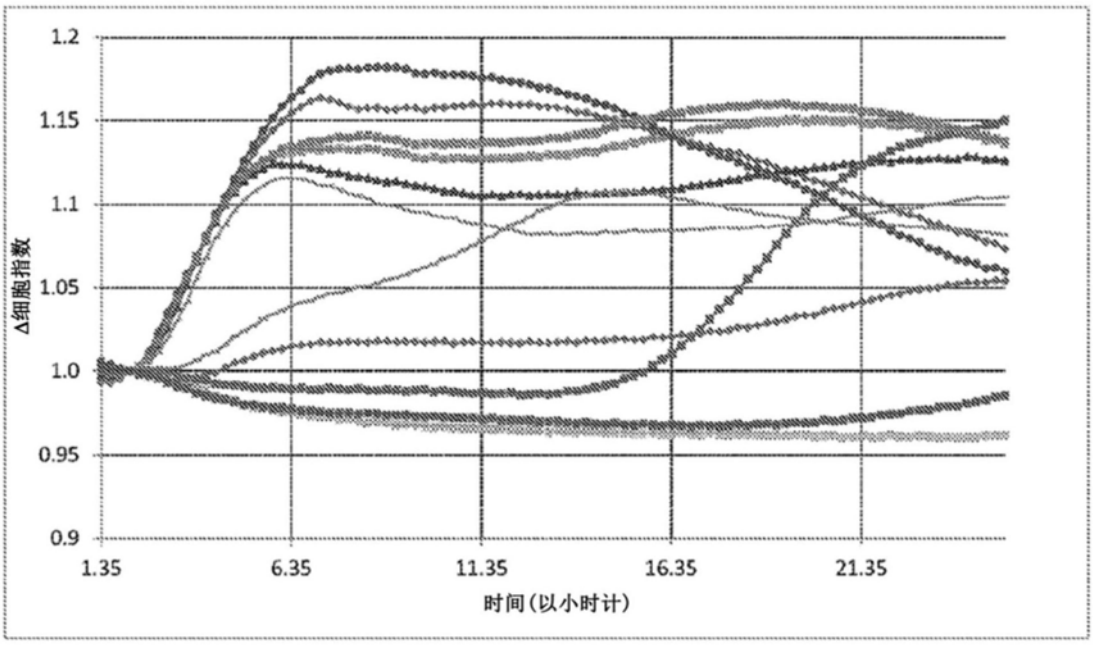

1.2
1.15
1.1
1.05
1.0
0.95
0.9
Δ细胞指数
1.35
6.35
11.35
16.35
21.35
时间(以小时计)

图30

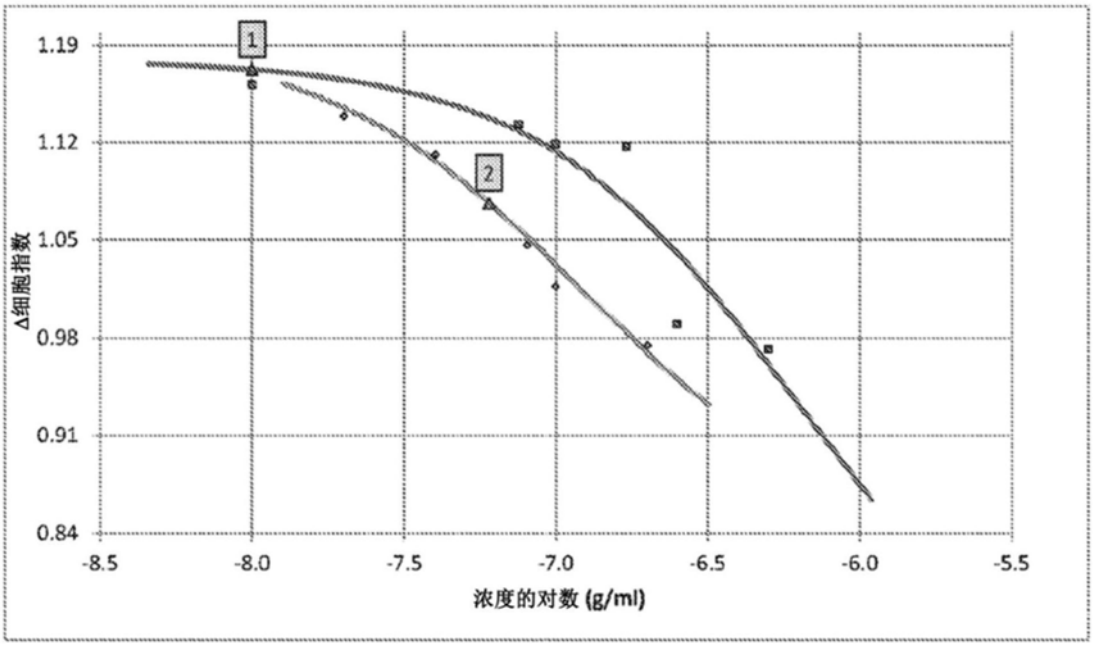

1.19
1.12
1.05
0.98
0.91
0.84
Δ细胞指数
1
2
-8.5
-8.0
-7.5
-7.0
-6.5
-6.0
-5.5
浓度的对数 (g/ml)

图31

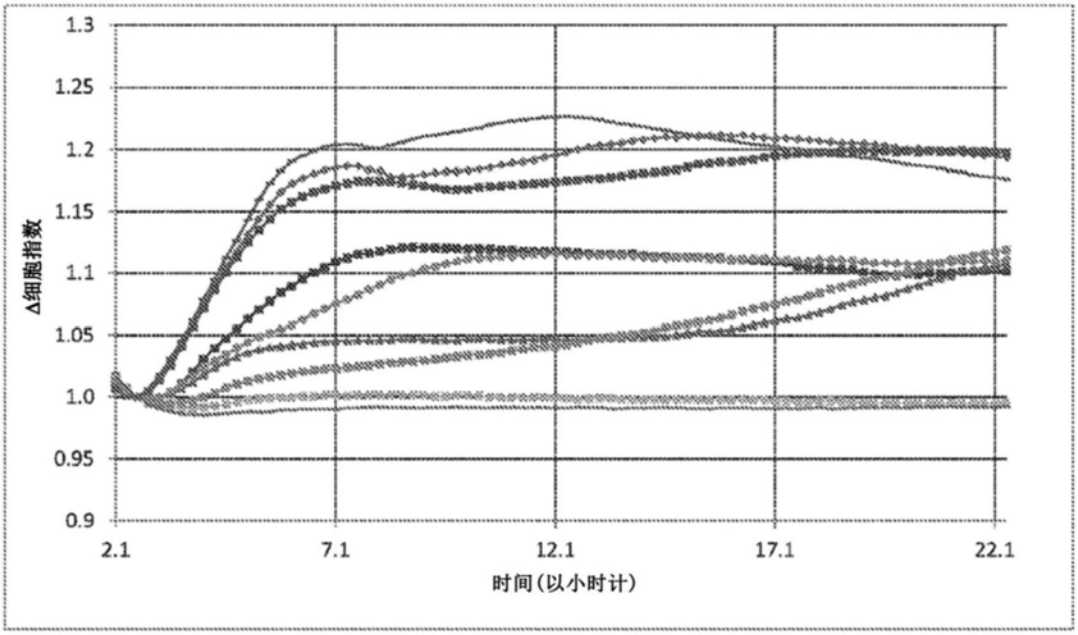

1.3
1.25
1.2
1.15
1.1
1.05
1.0
0.95
0.9
Δ细胞指数
2.1
7.1
12.1
17.1
22.1
时间(以小时计)

图32

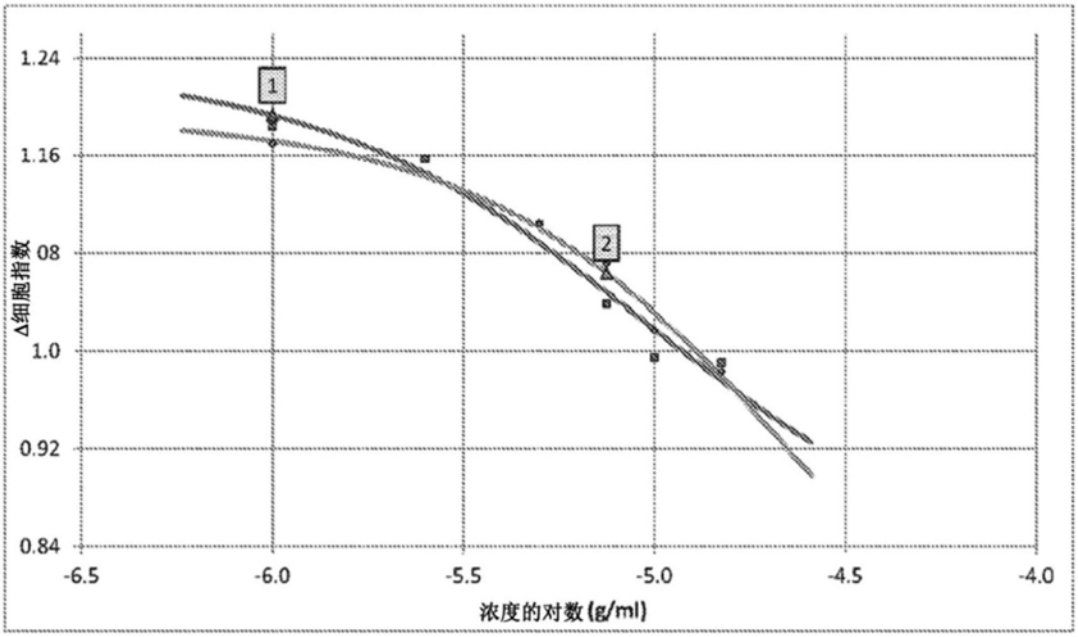

1.24
1.16
08
1.0
0.92
0.84
Δ细胞指数
1
2
-6.5
-6.0
-5.5
-5.0
-4.5
-4.0
浓度的对数(g/ml)

图33