(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0041152
(43) 공개일자 2022년03월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/54 (2017.01) *A61K 31/575* (2006.01)
A61K 47/55 (2017.01) *A61P 19/08* (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/548 (2017.08)
A61K 31/575 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7006236
(22) 출원일자(국제) 2020년07월24일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년02월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/043563
(87) 국제공개번호 WO 2021/016583
국제공개일자 2021년01월28일
(30) 우선권주장
62/878,199 2019년07월24일 미국(US)

(71) 출원인
브라이엄 영 유니버시티
미국 84602 유타주 프로보 3760 에이치비엘엘 테크놀로지 트랜스퍼 오피스
(72) 발명자
세비지, 폴 비.
미국 84664 유타 메이플톤 1075 이스트 메이플 스트리트
쉰들러, 아론
호주 2745 뉴사우스웨일즈 엔에스더블유 글렌모어 파크 26/380 글렌모어 파크웨이
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
임상엽

전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 **뼈-결합 화합물**

(57) 요 약

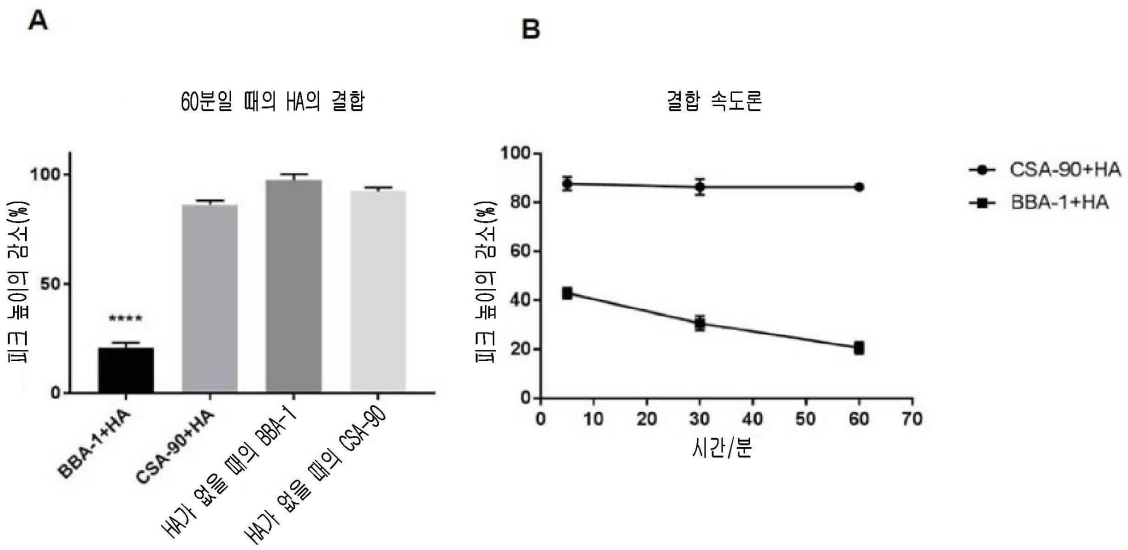
이하의 화학식 (I)을 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 형태가 본원에 개시되는데:

B-L-C(I)

상기 화학식에서,

(뒷면에 계속)

대 표 도



B는 뼈-결합 모이어티이고;

L은 링커이고;

C는 양이온성 스테로이드 항미생물(CSA) 모이어티이고,

상기 화합물을 포함한 약학적 조성물, 및 대상체의 뼈에서 감염 또는 골수염을 치료하거나, 대상체에서 뼈 형성을 촉진하거나, 대상체에서 골암 또는 전이성 골암을 치료하기 위하여 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물을 사용하는 방법도 본원에 개시된다.

(52) CPC특허분류
A61K 47/552 (2017.08)
A61P 19/08 (2018.01)
A61P 31/04 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(72) 발명자
발체프, 피터
호주 2077 뉴사우스웨일즈 엔에스더블유 혼스비 27 밀너 에비뉴
캄블, 수메드
호주 2145 뉴사우스웨일즈 엔에스더블유 웨스트미드 더 시드니 칠드런스 하스피탈 네트워크

명 세 서

청구범위

청구항 1

이하의 화학식 (I)을 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 형태에 있어서:

B-L-C(I)

상기 화학식에서:

B는 뼈-결합 모이어티이고;

L은 링커이고; 그리고

C는 양이온성 스테로이드 항미생물(CSA) 모이어티인, 화합물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 CSA는 CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-90, CSA-91, CSA-124, CSA-131, CSA-133, CSA-138, CSA-142, CSA-190, CSA-191 및 CSA-192로 이루어진 군으로부터 선택되고, 예컨대 상기 CSA는 CSA-13, CSA-90 또는 CSA-131이고, 바람직하게는 CSA-90인, 화합물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 뼈-결합 모이어티는 비포스포네이트이되, 예컨대 상기 비스포스포네이트는 에티드로네이트, 클로드로네이트, 틸루드로네이트, 파미드로네이트, 메드로네이트, 에티드로네이트, 네리드로네이트, 올파드로네이트, 알렌드로네이트, 이반드로네이트, 아미노메틸렌 디포스포네이트, 리세드로네이트 및 졸레드로네이트로 이루어진 군으로부터 선택되고, 바람직하게는 상기 비스포스포네이트는 알렌드로네이트, 파미드로네이트 및 네리드로네이트로 이루어진 군으로부터 선택되며, 더욱 바람직하게는 상기 비스포스포네이트는 알렌드로네이트인, 화합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 친수성인, 화합물.

청구항 5

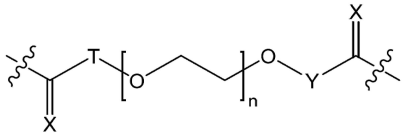
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 약 2 kDa 미만의 분자량을 갖는, 화합물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함하는, 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 이하의 구조를 갖되:



상기 구조에서:

X는 O 및 S로부터 독립적으로 선택되고;

T는 존재하지 않거나, 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이고;

Y는 존재하지 않거나, 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이고;

n은 1 내지 30의 정수이고, 그리고

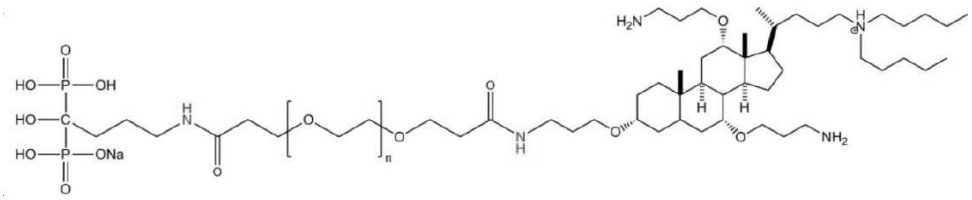
물결선은 CSA 및 뼈-결합 모이어티에 대한 부착 지점을 나타내는, 화합물.

청구항 8

제7항에 있어서, X는 O이고, T는 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기, 예컨대 1개 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이고, Y는 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기, 예컨대 1개 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이고, n은 10 내지 20의 정수인, 화합물.

청구항 9

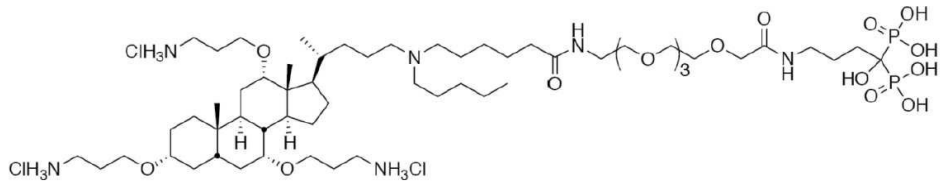
제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 이하의 구조를 갖되:



상기 화학식에서, n은 1 내지 50이고, 예컨대 n은 1 내지 30이고, 상기 화합물은 약 1.5 kDa 내지 2.5 kDa의 분자량을 갖는, 화합물.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 이하의 구조를 갖는, 화합물:



(IV).

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물과 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 조성물은 전신 투여에 적합한, 약학적 조성물.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서, 상기 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여에 적합한, 약학적 조성물.

청구항 14

제11항 또는 제12항에 있어서, 상기 조성물은 정맥 내 투여에 적합한, 약학적 조성물.

청구항 15

대상체에서 뼈 감염을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 감염은 박테리아 감염이고, 예컨대 상기 감염은 *스타필로코쿠스 아우레우스* 감염, *스타필로코쿠스 에피더미디스* 감염, 또는 *슈도모나스 애루기노사* 감염인, 방법.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, 상기 뼈는 골절을 포함하는, 방법.

청구항 18

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에게 전신 투여되는, 방법.

청구항 19

제15항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에게 경구적으로 또는 비경구적으로 투여되는, 방법.

청구항 20

제15항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에게 정맥 내 투여되는, 방법.

청구항 21

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 포유류이고, 예컨대 상기 대상체는 인간인, 방법.

청구항 22

대상체에서 골수염을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 골수염은 *스타필로코쿠스 아우레우스* 감염, *스타필로코쿠스 에피더미디스* 감염, 또는 *슈도모나스 애루기노사* 감염과 관련되는, 방법.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에게 경구적으로 또는 비경구적으로 투여되는, 방법.

청구항 25

제22항 또는 제23항에 있어서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에게 정맥 내 투여되는, 방법.

청구항 26

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 포유류이고, 예컨대 상기 대상체는 인간인, 방법.

청구항 27

대상체에서 뼈 형성을 촉진시키는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 대상체는 뼈 골절, 척추 부상, 추간판 퇴행, 파제트병, 골암, 전이성 골암 및 골다공증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 뼈 장애를 앓고 있는, 방법.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 상기 대상체의 뼈는 한 종 이상의 박테리아, 예컨대 *스타필로코쿠스 아우레우스*, *스타필로코쿠스 에피더미디스*, 또는 *슈도모나스 애루기노사* 중 하나 이상으로 감염된, 방법.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에 전신 투여되는, 방법.

청구항 31

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에 경구적으로 또는 비경구적으로 투여되는, 방법.

청구항 32

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에게 정맥 내 투여되는, 방법.

청구항 33

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 포유류이고, 예컨대 상기 대상체는 인간인, 방법.

청구항 34

대상체에서 뼈 감염 치료용 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 의한 화합물 또는 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 용도.

청구항 35

대상체에서 골수염 치료용 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 의한 화합물 또는 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 용도.

청구항 36

대상체에서 뼈 형성 촉진용 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 의한 화합물 또는 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 용도.

청구항 37

대상체에서 골암 또는 전이성 골암 치료용 약제의 제조를 위한, 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 의한 화합물 또는 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시 내용은 항생제 화합물, 특히, 뼈에 결합하여 뼈 감염의 치료에 유용한 항생제 화합물에 관한 것이다.

[0002] 본 명세서 전반의 선행 기술에 대한 논의는 결코 이러한 선행 기술이 널리 알려져 있다거나, 그 분야의 통상의 일반 상식의 일부를 형성한다는 것을 인정하는 것으로 간주되어서는 안된다.

배 경 기 술

[0003] 개방 골절의 감염은 전세계 질병발생률 및 사망률의 주요 원인이다(문헌[Tay 외 *Injury*. 2014. 45: 1653-1658]; 문헌[Wu. *Othrop Res Rev*. 2013. 5: 21-33]). 심지어 상처가 눈에 띄게 오염되지 않은 경우에도, 개방 골절은 일반적으로 동등한 폐쇄 골절에 비해 감염의 위험이 높아진다. 뼈 감염은 또한 골절이 없을 때에도 발생할 수 있다. 골수염(osteomyelitis)에서, 예를 들어, 박테리아는 혈류를 통해, 또는 당뇨성 족부 감염과 같은 주변 조직에서 퍼짐으로써 뼈에 도달할 수 있다. 감염은 또한 뼈가 박테리아에 노출되는 부상을 당한 후에 뼈에서 유래될 수도 있다. 또한, 이식(임플란트)이 뼈 감염으로 이어질 수 있다.

[0004] 뼈 감염을 치료하는 것은 이들이 상대적으로 혈관화가 적고 신체의 연질 조직 하부에 위치하기 때문에 복잡하다. 고용량의 전신 약물과 장기 치료 요법에서는, 감염 부위에 유효 농도의 약물을 제공할 필요가 있을 수 있다. 그러나, 이것은 해로운 부작용을 유발할 수 있어서, 특정 항생제의 사용이 제한된다. 항생제를 수술

부위로 국소 전달시키는 것을 연구했었지만, 이러한 접근법은 여전히 실험 단계에 있으며, 개방된 수술 부위를 요한다. 게다가, 장기간에 걸친 광범위한 항생제 사용으로 인해, 항생제 저항성 박테리아 균주를 발달시켰다. 군집-획득된 항생제-저항성 균주, 예컨대 메티실린(methicillin)-저항성 *스타필로코쿠스 아우레우스*(*Staphylococcus aureus*), 메티실린-저항성 *스타필로코쿠스 에피더미디스*(*Staphylococcus epidermidis*), 반코마이신(vancomycin)-저항성 *스타필로코쿠스 종*, 및 토브라마이신(tobramycin)-저항성 *슈도모나스 애루기노사*(*Pseudomonas aeruginosa*)의 발생이 증가하고 있으며, 미국에서는 최대 25%의 발생률이 보고되었다(문헌[Chen 외. *Clin Orthop Relat Res*. 2013. 471: 3135- 3140]; 문헌[Stevens. *Curr Opin Infect Dis*. 2003. 16: 189-191]).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 이와 관련하여, 특히 정형 외과적 응용을 위한 새로운 항생제 및 항생제 치료법에 대한 필요성이 있다.

과제의 해결 수단

[0006] **본 발명의 개요**

[0007] 본 개시 내용은 항생제 화합물, 특히, 뼈에 결합하여 뼈 감염의 치료에 유용한 항생제 화합물에 관한 것이다. 본 개시 내용에 관한 작업에서, 본 발명자들은 양이온성 스테로이드 항미생물제(CSA)를 링커를 통해 뼈-결합 모이어티에 접합시켰다. 뼈-결합 모이어티는 CSA 모이어티를 뼈로 표적화시킴으로써, 기존의 감염에 대한 치료와 추후 감염 또는 감염 위험성이 증가한 경우에 대비한 예방 둘 다를 위해 뼈 감염 부위에서의 이의 농도를 증가시킨다.

[0008] 이하의 화학식 (I)을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 형태가 본원에 개시되어 있는데:

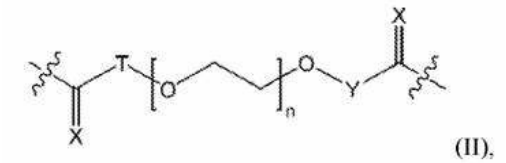
[0009] B-L-C (I)

[0010] 상기 화학식에서: B는 뼈-결합 모이어티이고; L은 링커이고; C는 양이온성 스테로이드 항미생물(CSA) 모이어티이다.

[0011] 일부 구현예에서, CSA는 CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-90, CSA-91, CSA-124, CSA-131, CSA-133, CSA-138, CSA-142, CSA-144, CSA-190, CSA-191, 및 CSA-192로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, CSA는 CSA-90이다.

[0012] 일부 구현예에서, 뼈-결합 모이어티는 비스포스포네이트(bisphosphonate), 예컨대 에티드로네이트(etidronate), 클로드로네이트(clodronate), 틸루드로네이트(tiludronate), 파미드로네이트(pamidronate), 메드로네이트(medronate), 에티드로네이트, 네리드로네이트(neridronate), 올파드로네이트(olpadronate), 알렌드로네이트(alendronate), 이반드로네이트(ibandronate), 아미노메틸렌 디포스포네이트, 리세드로네이트(risedronate) 및 졸레드로네이트(zoledronate)로 이루어진 군으로부터 선택된 비스포스포네이트이다. 일부 구현예에서, 비스포스포네이트는 알렌드로네이트, 파미드로네이트 및 네리드로네이트로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 비스포스포네이트는 알렌드로네이트이다.

[0013] 일부 구현예에서, 링커는 친수성이다. 일부 구현예에서, 링커는 약 2 kDa 미만의 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)를 포함하는데, 예컨대 상기 링커는 화학식 (II)의 구조를 갖되:

[0014] 
(II),

[0015] 상기 화학식에서,

[0016] X는 O 및 S로부터 독립적으로 선택되고;

[0017] T는 존재하지 않거나, 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이고;

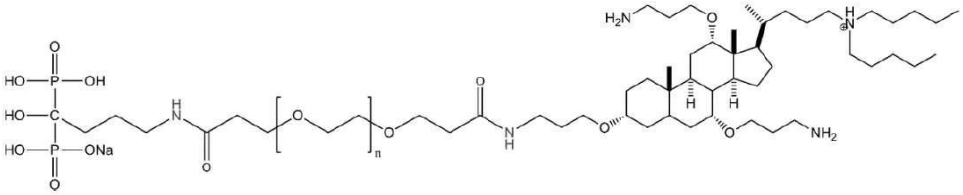
[0018] Y는 존재하지 않거나, 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이고;

[0019] n은 1 내지 30의 정수이고, 그리고

[0020] 물결선은 CSA와 뼈-결합 모이어티에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0021] 일부 구현예에서, X는 O이다. 일부 구현예에서, T는 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이다. 일부 구현예에서, Y는 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이다. 일부 구현예에서, T는 1개 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이다. 일부 구현예에서, Y는 1개 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이다. 일부 구현예에서, n은 10 내지 20의 정수이다.

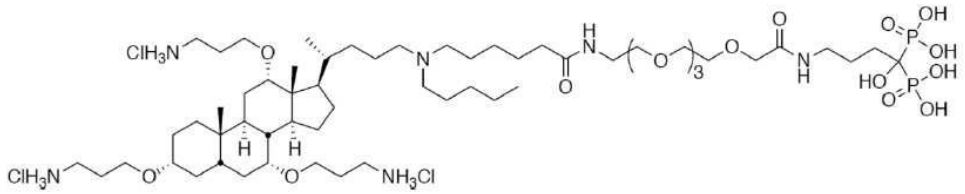
[0022] 일부 구현예에서, 화합물은 화학식 (III)의 구조를 갖되:



[0023] (III),

[0024] 상기 화학식에서, n은 1 내지 50이다. 일부 구현예에서, n은 1 내지 30이다. 일부 구현예에서, 화합물은 약 1.5 kDa 내지 약 2.5 kDa의 분자량을 갖는다.

[0025] 일부 구현예에서, 화합물은 화학식 (IV)의 구조를 갖되:



[0026] (IV).

[0027] 또한, 본원에 개시된 화합물과 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한 약학적 조성물도 제공된다. 일부 구현예에서, 조성물은 전신 투여에 적합하다. 일부 구현예에서, 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여에 적합하다. 일부 구현예에서, 조성물은 정맥 내 투여에 적합하다.

[0028] 또한, 대상체에게 본원에 개시된 화합물 또는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 뼈 감염을 치료하는 방법도 제공된다. 일부 구현예에서, 감염은 박테리아 감염, 예컨대 *스타필로코쿠스 아우레우스* 감염, *스타필로코쿠스 에피더미디스* 감염, 또는 *슈도모나스 애루기노사* 감염이다. 일부 구현예에서, 뼈는 골절을 포함한다.

[0029] 또한, 본원에 개시된 화합물 또는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 골수염을 치료하는 방법도 제공된다. 일부 구현예에서, 골수염은 *스타필로코쿠스 아우레우스* 감염, *스타필로코쿠스 에피더미디스* 감염, 또는 *슈도모나스 애루기노사* 감염과 관련된다.

[0030] 또한, 대상체에게 본원에 개시된 화합물 또는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 뼈 형성을 촉진하는 방법도 제공된다. 일부 구현예에서, 대상체는 뼈 골절, 척추 부상, 추간판 퇴행, 파제트병, 골암, 전이성 골암, 및 골다공증으로 이루어진 군으로부터 선택된 뼈 장애를 앓고 있다. 일부 구현예에서, 대상체의 뼈는 한 종 이상의 박테리아, 예컨대 *스타필로코쿠스 아우레우스*, *스타필로코쿠스 에피더미디스*, 또는 *슈도모나스 애루기노사* 중 하나 이상으로 감염된다.

[0031] 일부 구현예에서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에 전신 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에 경구적으로 또는 비경구적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 화합물 또는 상기 약학적 조성물은 대상체에게 정맥 내 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 포유류이다. 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다.

[0032] 또한, 대상체에서 뼈 감염 치료용 의약의 제조를 위한, 본원에 개시된 화합물 또는 약학적 조성물의 용도도 제

공된다.

[0033] 또한, 대상체에서 골수염 치료용 의약의 제조를 위한, 본원에 개시된 화합물 또는 약학적 조성물의 용도도 제공된다.

[0034] 또한, 대상체에서 뼈 형성 촉진용 의약의 제조를 위한, 본원에 개시된 화합물 또는 약학적 조성물의 용도도 제공된다.

[0035] 또한, 대상체에서 골암 또는 전이성 골암 치료용 의약의 제조를 위한, 본원에 개시된 화합물 또는 약학적 조성물의 용도도 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 **1a-1c**. BBA-1(도 1a), 순수한 NHS-PEG-COOH 링커(도 1b) 및 순수한 CSA-90(도 1c)의 HPLC 특성.

도 **2a-2d**. 알렌드로네이트(도 2a), CSA-90(도 2b), NHS-PEG-COOH 링커(도 2c) 및 BBA-1(도 2d)의 FT-IR 스펙트럼.

도 **3a**. BBA-1, NHS-PEG-COOH 링커, CSA-90 및 알렌드로네이트의 ^{1}H NMR 스펙트럼.

도 **3b**. BBA-1 및 알렌드로네이트의 ^{31}P NMR 스펙트럼.

도 **4a-4c**. 도 4a는 *S. 아우레우스(aureus)* 및 MRSA에 대한 커비 바우어(Kirby Bauer) 검정을 나타낸다(결과는 동일한 3개의 각 샘플을 함유한 단독 실험에서 나온 것이다). 도 4b는 억제 구역의 대표적인 이미지(*S. 아우레우스 및* MRSA에 대한 커비 바우어검정(Kirby Bauer assay))를 나타낸다. 도 4c는 CSA-90 및 BBA-1의 MIC 및 MBC를 나타낸다.

도 5a-b. HA 결합 검정.

도 6. 배양된 골아세포에 대한 BBA-1의 골생성-전 효과를 시험하는 알칼라인 포스파타제(Alkaline phosphatase) 활성 검정(p-니트로페닐 포스페이트).

도 7. BBA-1 및 CSA-90이 메발로네이트 경로에 대해 효과가 없음을 나타내는, 단백질 프레닐화 검정.

도 **8**. 연질 조직의 스왑 검정(swab assay)과 관련된, 감염을 나타내는 마우스에 투여된 BBA-1에 관한 독성 연구의 데이터.

도 **9**. 핀 검정(pin assay)에 관련된, 감염을 나타내는 마우스에 투여된 BBA-1에 관한 독성 연구의 데이터.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 본 발명의 상세한 설명

[0038] *정의*

[0039] 관사 "a" 및 "an"은 본원에서 하나 또는 하나 초과(즉, 적어도 하나)의 관사의 문법적 대상을 지칭하는데 사용된다.

[0040] "약"이라는 용어는, ±10%의 범위, 예컨대 ±5%, 또는 ±1%, 또는 ±0.1%를 말하는 것으로 이해된다.

[0041] "동시에 투여(administration concurrently)" 또는 "동시에 투여하는(administering concurrently)" 또는 "공동-투여하는(co-administering)" 등의 용어는, 2개 이상의 활성제를 함유한 단일 조성물의 투여, 또는 별개 조성물로서의 각각의 활성제의 투여, 및/또는 이러한 모든 활성제가 단일 조성물로서 투여될 때와 동등한 유효 결과를 얻는 충분히 짧은 기간 내에 별개의 경로로 같은 시기에(contemporaneously) 또는 동시에 또는 순차적으로 전달된 것을 말한다. "동시에(simultaneously)"라는 것은, 활성제들이 실질적으로 동시에, 바람직하게는 동일한 제제 내에서 함께 투여된 것을 의미한다.

[0042] 본 명세서와 청구 범위 내의 "포함하다(comprise)", "포함하다(comprises)", "포함된(comprised)" 또는 "포함하는(comprising)", "포함하는(including)" 또는 "갖는(having)" 등의 용어는 포함적인 의미로 사용되는데, 즉, 기술된 특징들의 존재를 명시하나, 추가적인 또는 부가적인 특징들의 존재도 배제하지 않는다.

[0043] 본원에 사용된 "약학적으로 허용 가능한"이라는 용어는, 대상체에 투여될 때 실질적인 유해 알레르기 또는 면역

반응을 유발하지 않는 물질을 말한다. "약학적으로 허용 가능한 담체"는, 용매, 코팅제, 분산제, 습윤제, 등장성 흡수 지연제 및 붕해제를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0044] "예방"은 질환 또는 장애의 위험, 발생률 및/또는 심각성의 감소를 포함한다. "치료" 및 "치료하다"라는 용어는, (대상 병원성 질환 또는 장애의 발달을 예방하고/거나 늦추는) 예방적(prophylactic 또는 preventive) 치료와, 병원성 질환 또는 장애의 증상을 치유하거나, 늦추거나, 약화시키고/거나, 병원성 질환 또는 장애의 진행을 중단시키는 치료 수단을 포함한 치유성, 치료성 또는 질병-조절 치료; 및 질병에 걸릴 위험이 있거나 질병에 걸렸다고 의심되는 환자, 뿐만 아니라 병에 결렸거나, 질병 또는 의학적 질환을 앓는 것으로 진단받은 환자의 치료를 모두 포함한다. "치료" 및 "치료하다"라는 용어는, 반드시 대상체가 전체적으로 회복될 때까지 치료된다는 것을 암시하지는 않는다. "치료" 및 "치료하다"라는 용어는, 또한 건강하지 않은 질환의 발생에 취약할 수 있지만 질병을 앓고 있지 않은 개체의 건강의 유지 및/또는 촉진을 말하기도 한다. "치료" 및 "치료하다"라는 용어는, 하나 이상의 1차적인 예방 또는 치료 수단의 강화 내지 향상을 포함한 것으로도 의도된다. 비-제한적인 예로서, 치료는 환자, 간병인, 의사, 간호사 또는 다른 건강 관리 전문가가 실시할 수 있다.

[0045] "알칸디일"이라는 용어는, 화학식 C_nH_{2n}에 맞는 포화된 분지형 또는 직쇄형 2가 탄화수소기를 말하는 것으로 이해된다.

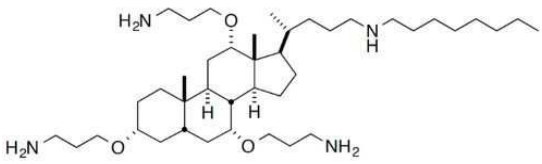
[0046] *양이온성 스테로이드 항미생물 모이어티*

[0047] 양이온성 스테로이드 항미생물제(CSA) 또는 세라게닌(ceragenin)은, 내인성 항박테리아 펩티드의 활성을 모방하도록 디자인된 합성 화합물이다. 이들은 전형적으로 양이온성이며, 박테리아, 진균 및 바이러스에 대한 활성뿐만 아니라 항-염증성 및 면역조절성 활성을 포함한 넓은 범위의 항미생물성 활성을 갖는다. 100개가 넘는 CSA가 합성되었다.

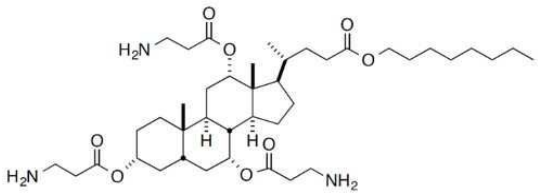
[0048] CSA-13, CSA-90 및 CSA-131과 같은 CSA도 또한 골생성(osteogenesis)을 촉진시키거나 향상시킨다고 보고되었다(미국 특허 제9,694,019호; 문헌[Schindeler 외 *J Bone Joint Surg Am*. 2015. 97(4): 302-309]). 뼈는 동적 조직이며, 이의 항상성은 뼈 형성과 뼈의 재흡수 사이의 균형을 나타낸다. 뼈 형성에서, 성체 줄기 세포는 골아세포, 골세포로 성숙될 능력을 갖는 뼈의 전구체 세포(즉, 골전구체 세포)로 분화하고, 성숙한 뼈를 형성하고, 기질을 광물화한다. 뼈의 재흡수에서, 파골세포(osteoclast)(뼈 조직을 재흡수하는 세포)는 광물화된 기질을 용해시켜, 뼈 표면에 구멍을 생성한다. 뼈 조직이 자체로 회복하는(rejuvenate) 능력이 있음에도 불구하고, 비-유합(non-union) 뼈 골절의 수선과 뼈 결함의 재생은 주요 난제로 남아있다. 정말로, 뼈는 가장 많이 이식되는 조직으로 혈액에 이어 두번째이다. 이와 ㄱ관련하여, 본원에 기재된 화합물은 뼈 형성을 촉진시키고/거나, 뼈 장애를 치료하는데 유용할 수 있다.

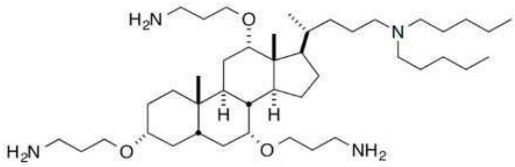
[0049] CSA-90은 내인성 양이온성 항박테리아 펩티드, 예컨대 인간 카텔리시딘(cathelicidin) LL-37에 기초한 작은 합성 펩티드 모사체(peptidomimetic) 화합물이다. LL-37은 기도 점액에서 발견되는데, 폐에서 박테리아 성장을 통제하는데 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. CSA-90의 스테로이드-유사 구조로 인해 세포막이 붕괴되고, 따라서 반코마이신-저항성 균주와 메티실린-저항성 균주를 포함한 그램-양성 및 그램-음성 박테리아에 대한 광범위한 활성이 생긴다.

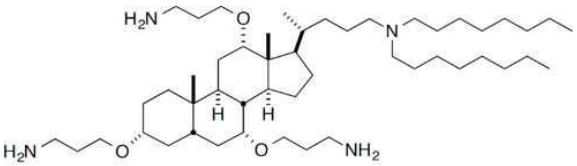
[0050] 본원에 기재된 화합물은 링커를 통해 뼈-결합 모이어티에 접합된 CSA 모이어티를 포함한다. CSA 모이어티는 임의의 적합한 CSA, 예컨대 CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-90, CSA-91, CSA-124, CSA-131, CSA-133, CSA-138, CSA-142, CSA-144, CSA-190, CSA-191 또는 CSA-192일 수 있다. 일부 예에서, CSA는 이하의 것들로 이루어진 군으로부터 선택된다:

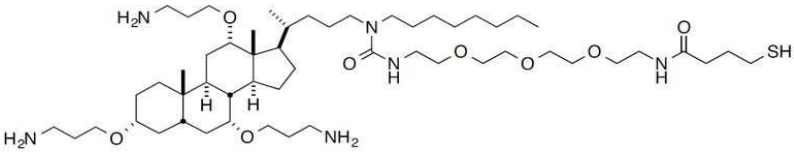
[0051] 

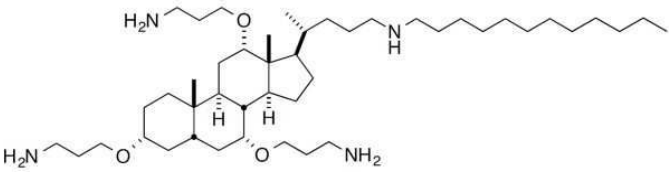
(CSA-13);

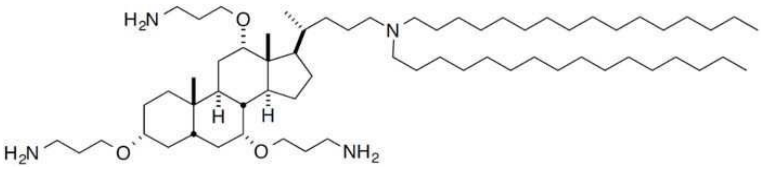
[0052]  (CSA-44);

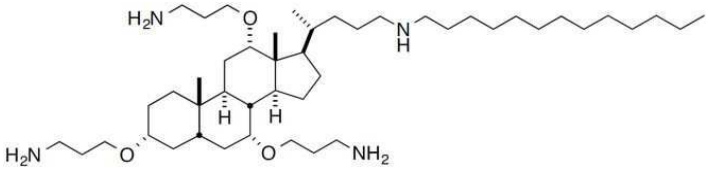
[0053]  (CSA-90);

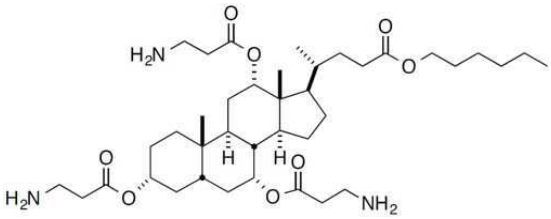
[0054]  (CSA-91);

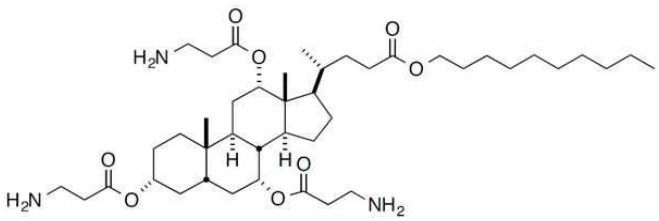
[0055]  (CSA-124);

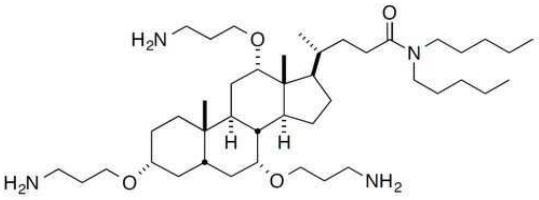
[0056]  (CSA-131);

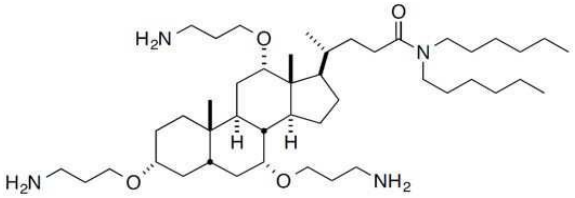
[0057]  (CSA-133);

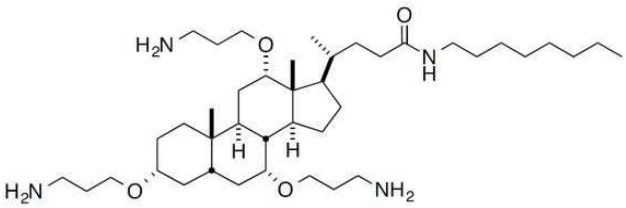
[0058]  (CSA-138);

[0059]  (CSA-142);

[0060]  (CSA-144);

[0061]  (CSA-190);

[0062]  (CSA-191); 및

[0063]  (CSA-192).

[0064] 일부 구현예에서, CSA 모이어티는 CSA-13, CSA-90 또는 CSA-131이다. 특정 예에서, CSA 모이어티는 CSA-90이다.

[0065] CSA 모이어티는 CSA 모이어티의 아미노기를 통해 링커에 부착되거나, 또는 CSA 분자의 알킬 측에 접합될 수 있다.

[0066] 예시적인 CSA 및 이의 제조 방법은, 본원에 참조로서 포함된 미국 특허 제6,350,738호, 제6,486,148호, 제6,767,904호, 제7,598,234호, 제7,754,705호, 제8,691,252호, 제8,975,310, 제9,434,759호, 제9,527,883호, 제9,943,614호, 제10,155,788, 제10,227,376호, 제10,370,403호 및 제10,626,139호, 미국 특허 공개 제2016/0311850호 및 제2017/0210776호, 및 미국 임시 특허 출원 제63/025,255호 및 제63/028,249호에 기재되어 있다.

[0067] *뼈-결합 모이어티*

[0068] 본원에 기재된 뼈-결합 모이어티는, 뼈에 결합함으로써 본 개시 내용의 화합물을 뼈로 표적화하는 화학기이다. 특정 모이어티의 뼈-결합 능력은 다수의 상이한 방식으로 검정될 수 있다. 예를 들어, 뼈 결합은 뼈의 주된 무기 구성 성분 광물인 하이드록시아파타이트(HA)에 대한 결합에 의해 검정될 수 있다. 하이드록시아파타이트(HA) 친화성 검정은 모이어티에 접합된 화합물을: i) 물; 및 ii) HA를 포함한 물 중에 항온 처리함으로써 실시될 수 있다. 모이어티가 뼈-결합성인 경우, HA 용액의 수상에서 검출된 화합물의 양은 그 화합물이 HA 표면에 결합하거나 흡수됨에 따라 감소할 것으로 예상된다(예를 들어, 실시예 4 참고). 대조군으로서, 뼈-결합 모이어티가 없는 화합물도 동일한 방식으로 검정될 수 있다. 당업계의 숙련자들은 특정 모이어티의 뼈-결합 능력을 평가할 수 있는 다른 방법들에도 익숙할 것이다.

[0069] 본 개시 내용에 사용하기 위한 적합한 뼈-결합 모이어티는, 예를 들어, 폴리하이드록시-함유 모이어티, 테트라사이클린 유도체, 산성 아미노산 또는 펩티드, 히드록실화 헤테로사이클로(hetercycleo), 모노포스포네이트, 비스포스포네이트, 항체, 또는 항원-결합 절편을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 뼈-결합 모이어티는 비스포스포네이트이다.

[0070] 비스포스포네이트는 일반적으로 포스페이트-탄소-포스페이트 골격을 포함하며, 비스포스포네이트의 포스페이트기와 HA 내 칼슘 이온 사이의 배위에 의해, 뼈에서 발견된 주요 광물 요소인 하이드록시아파타이트(HA)에 결합한다. 비스포스포네이트는 이의 말단 관능기(아미노-비스포스포네이트 내의 아민기), 저미날 탄소(germinal carbon) 또는 이의 포스페이트기들 중 하나를 통해 링커에 부착될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 비스포스포네이트의 저미날 탄소에 부착된 말단 관능기, 예를 들어 아미노기 또는 하이드록시기, 또는 다른 반응기를 통해 비스포스포네이트에 부착된다. 본 개시 내용을 따라 사용될 수 있는 비스포스포네이트 뼈-결합 모이어티의 예는, 에티드로네이트, 클로드로네이트, 틸루드로네이트, 파미드로네이트, 메드로네이트, 에티드로네이트, 네리드로네이트, 올파드로네이트, 알렌드로네이트, 이반드로네이트, 아미노메틸렌 디포스포네이트, 리세드로네이트

및 졸레드로네이트를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 뼈-결합 모이어티는 알렌드로네이트이다.

[0071] *링커 및 화합물 변형체*

[0072] 본원에 기재된 링커는 CSA 모이어티를 화학식 (I)로 제시된 뼈-결합 모이어티에 공유적으로 부착시키는데:

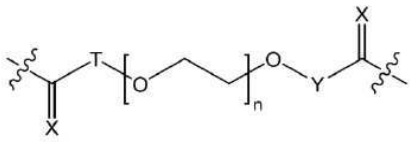
[0073] B-L-C(I)

[0074] 상기 화학식에서, B는 뼈-결합 모이어티이고, L은 링커이고, C는 CSA이다. 화학식 (I)는 방향성이 없어서, C-L-B로도 동등하게 나타낼 수 있다고 이해될 것이다.

[0075] 링커는 작아서 단일 공유 결합으로 이루어질 수 있거나, 또는 이는 10 kDa 이상에 달하는 더 큰 모이어티일 수도 있다. 일부 구현예에서, 링커는 약 10 kDa 미만, 예컨대 약 9 kDa 미만, 또는 약 8 kDa 미만, 또는 약 7 kDa 미만, 또는 약 6 kDa 미만, 또는 약 5 kDa 미만, 또는 약 4 kDa 미만, 또는 약 3 kDa 미만, 또는 약 2 kDa 미만, 예컨대 약 1 kDa 이하의 분자량을 갖는다. 특정 예에서, 링커는 약 0.2 kDa 내지 10 kDa, 예컨대 약 0.3 kDa 내지 9 kDa, 또는 약 0.4 kDa 내지 8 kDa, 또는 약 0.5 kDa 내지 7 kDa, 또는 약 0.5 kDa 내지 6 kDa, 또는 약 0.5 kDa 내지 5 kDa, 또는 약 0.5 kDa 내지 4 kDa, 또는 약 0.5 kDa 내지 3 kDa, 또는 약 0.5 kDa 내지 2 kDa, 또는 약 0.5 kDa 내지 1.5 kDa이다.

[0076] 링커는 예를 들어, 에테르, 에스테르, 티오에스테르, 포스포에스테르, 아미드, 펩티드(예를 들어, 디펩티드), 폴리펩티드, 다당류, 소수성 링커(예를 들어, 직쇄형 알칸, 지방산 등), 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 링커는 절단성 링커, 예컨대 가수분해성 링커(예를 들어, 카르바메이트 링커) 또는 카텝신-민감성 링커, 또는 비-절단성 링커일 수 있다. 링커는 바람직하게는 혈류에서 충분한 기간 동안(예를 들어, 1시간 초과, 예컨대 6시간 초과, 또는 12시간 초과, 또는 18시간 초과, 또는 24시간 초과) 안정하여, 화합물이 뼈에 도달할 수 있게 한다. 링커는 친수성일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이거나, 이를 포함한다. PEG 링커는 선행 단락에서 정의된 바와 같은 분자량을 가질 수 있다.

[0077] 일 구현예에서, 링커는 화학식 (II)의 구조를 갖는데:

[0078]  (II),

[0079] 상기 화학식에서:

[0080] X는 O 및 S로부터 독립적으로 선택되고;

[0081] T는 존재하지 않거나, 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이고;

[0082] Y는 존재하지 않거나, 1개 내지 15개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기이고;

[0083] n은 1 내지 30의 정수이고;

[0084] 물결선은 CSA와 뼈-결합 모이어티에 대한 부착 지점을 나타낸다.

[0085] T는 1개 내지 12개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 8개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 5개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기일 수 있다.

[0086] Y는 1개 내지 12개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 8개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 5개의 탄소 원자, 또는 1개 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 알칸디일기일 수 있다.

[0087] 일부 구현예에서, T 및 Y는 $-CH_2CH_2-$이다.

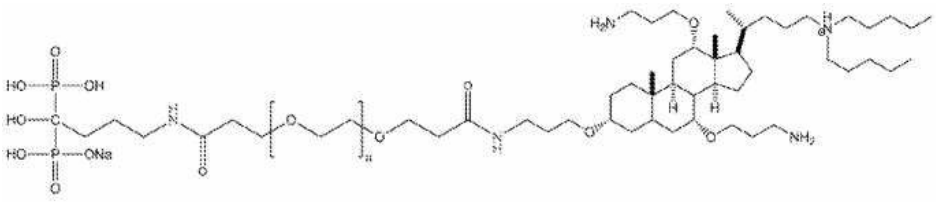
[0088] n은 약 2 내지 약 25, 또는 약 2 내지 약 25, 또는 약 3 내지 약 25, 또는 약 4 내지 약 25, 또는 약 5 내지 약 25, 또는 약 6 내지 약 25, 또는 약 2 내지 약 20, 또는 약 2 내지 약 20, 또는 약 3 내지 약 20, 또는 약 4 내지 약 20, 또는 약 5 내지 약 20, 또는 약 6 내지 약 20, 또는 약 10 내지 약 30, 또는 약 10 내지 약 25, 또는 약 10 내지 약 20, 또는 약 15 내지 약 25, 또는 약 12 내지 약 20인 정수일 수 있다.

[0089] 일부 구현예에서, 링커는 CSA의 아미노기를 통해 CSA 모이어티에 부착될 수 있다. 마찬가지로, 링커는 뼈-결합 모이어티의 아미노기를 통해 뼈-결합 모이어티에 부착될 수 있다

[0090] 화학식 (I)로 표시되는 화합물은 다른 특징들, 예컨대 추가적인 접합물 또는 모이어티를 포함할 수 있다. 예를 들어, 화합물은 CSA 외에 제2 항생제 모이어티를 포함할 수 있다. 이러한 예에서, CSA는 예를 들어, B-L-C-A_2 형태로 제2 항생제 모이어티에 직접 접합될 수 있는데, 상기 화학식에서 A_2는 제2 항생제 모이어티이다. 대안적으로, CSA와 제2 항생제 모이어티는 화합물의 양쪽 반대 말단에, 예를 들어, A_2-B-L-C의 형태로 부착될 수 있다. 적합한 제2 항생제는 시프로플록사신(ciprofloxacin), 겜시타빈(gemcitabine), 파클리탁셀(paclitaxel), 사이타라빈(cytarabine), 리팔라질(rifalazil), 노르플록사신(norfloxacin), 에녹사신(enoxacin), 게티플록사신(gatifloxacin), 목시플록사신(moxifloxacin), 플루오로퀴놀론(fluoroquinolone) 에스테르, 벤족사지노리파마이신(benzoxazinorifamycine), 아미노글리코시드(aminoglycoside), 폴리엔(polyene), 니트로이미다졸(nitroimidazole), 리파마이신(rifamycin), 바시트라신(bacitracin), 베타-락탐(beta-lactam), 세팔로스포린(cephalosporin), 클로람페니콜(chloramphenicol), 당펩티드(glycopeptide), 마크롤리드(macrolide), 린코사미드(lincosamide), 페니실린, 퀴놀론(quinolone), 리팜피신(rifampicin), 테트라사이클린(tetracycline), 트리메토프림(trimethoprim) 술폰아미드(sulfonamide), 아목시실린(amoxicillin), 오그멘틴(augmentin), 아목시실린, 암피실린(ampicillin), 아즐로실린(azlocillin), 플루클록사실린(flucloxacillin), 메즐로실린(mezlocillin), 메티실린, 세팔렉신(cephalexin), 세파제돈(cefazedone), 세푸록심(cefuroxime), 로라카베프(loracarbef), 세메타졸(cemetazole), 세포테탄(cefotetan), 세폭시틴(cefoxitin), 시프로플록사신, 레바퀸(levaquin), 플록사신(floxacin), 독시사이클린(doxycycline), 미노사이클린(minocycline), 젠타마이신(gentamycin), 아미카신(amikacin), 토브라마이신, 클라리트로마이신(clarithromycin), 아지트로마이신(azithromycin), 에리트로마이신(erythromycin), 답토마이신(daptomycin), 네오마이신(neomycin), 카나마이신(kanamycin), 스트렙토마이신(streptomycin), 니신(nisin), 에피더민(epidermin), 갈리덴닌(gallidennin), 신나마이신(cinnamycin), 두라마이신(duramycin), 락티신(lacticin) 481, 아목시실린, 아목시실린/클라불란산(clavulanic acid), 메트로니다졸(metronidazole), 클린다마이신(clindamycine), 클로르테트라사이클린, 디시메클로사이클린(dcmeclocycline), 옥시테트라사이클린, 아미카신, 네틸미신(netilmicin), 세파드록실(cefadroxil), 세파졸린(cefazolin), 세팔렉신, 세파로틴(cephalothin), 세파피린(cephapirin), 세프라딘(cephradine), 세파클로르(cefaclor), 세파만돌(cefamandole), 세파메타졸(cefametazole), 세포니시드(cefonicid), 세포테탄, 세폭시틴, 셉포독심(cefpodoxime), 셉프로질(cefprozil), 세푸록심, 셉디니르(cefdinir), 세픽심(cefixime), 세포페라존(cefoperazone), 세포탁심(cefotaxime), 셉타지딤(ceftazidime), 셉티부텐(ceftibuten), 셉티족심(ceftizoxime), 셉트리악손(ceftriaxone), 세페핌(cefepime), 아지트로마이신, 클라포란(claforan), 클라리트로마이신, 디리트로마이신(dirithromycin), 에리트로마이신, 린코마이신(lincomycin), 트롤레안도마이신(troleandomycin), 바캄피실린(bacampicillin), 카베니실린(carbenicillin), 클록사실린(cloxacillin), 디클록사실린, 메티실린, 메즐로실린, 나프실린(nafcillin), 옥사실린(oxacillin), 피페라실린(piperacillin), 티카르실린(ticarcillin), 시녹사신(cinoxacin), 시프로플록사신, 에녹사신, 그레파플록사신(grepafloxacin), 레보플록사신(levofloxacin), 로메플록사신(lomefloxacin), 날리딕스산(nalidixic acid), 노르플록사신, 오플록사신(ofloxacin), 스파르플록사신(sparfloxacin), 술피속사졸(sulfisoxazole), 술파사이틴(sulfacytine), 술파디아진(sulfadiazine), 술파메톡사졸(sulfamethoxazole), 술피속사졸, 답손(dapson), 아즈트레오남(aztreonam), 카프레오마이신(capreomycin), 클로파지민(clofazimine), 콜리스티메테이트(colistimethate), 콜리스틴(colistin), 사이클로세린(cycloserine), 포스포마이신(fosfomycin), 푸라졸리돈(furazolidone), 메테나민(methenamine), 니트로푸란토인(nitrofurantoin), 펜타미딘(pentamidine), 리파부틴(rifabutin), 스펙티노마이신(spectinomycin), 티게사이클린(tigecycline), 트리메토프림, 트리메트렉세이트 글루쿠로네이트(trimetrexate glucuronate), 반코마이신, 클로르헥시딘(chlorhexidine), 카르바페넴(carbapenem) 또는 에르타페넴(ertapenem)을 포함할 수 있다.

[0091] 화합물은 하나 초과의 뼈-결합 모이어티를 포함할 수 있다. 예를 들어, 뼈-결합 모이어티는 서로 직접 예컨대 B_1-B_2-L-C의 형태로 부착될 수 있거나, 또는 이들은 화합물의 양쪽 반대 말단에 예컨대 B_1-L-C-B_2의 형태로 부착될 수 있는데, 여기에서, B_1 및 B_2는 동일하거나 상이한 뼈-결합 모이어티이다. 본 개시 내용에서 항생제와 뼈-결합 모이어티의 추가적인 조합 및 첨가도 구상되었으며, 이는 당업계의 숙련자들에게 명백할 것이다.

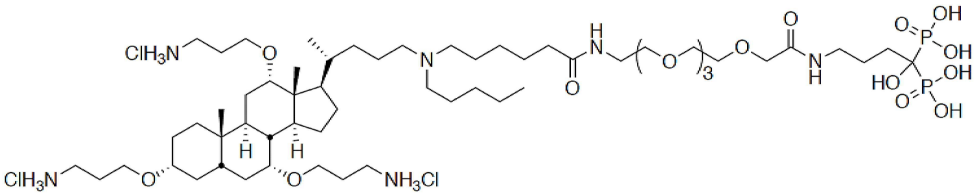
[0092] 특정 예에서, 본 개시 내용은 화학식 (III)으로 제시된 구조(BBA-1)를 갖는 화합물을 제공하는데:



[0093] (III),

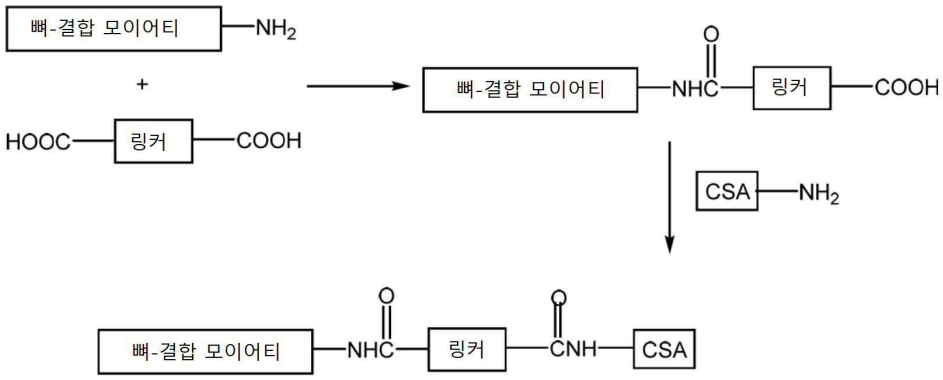
[0094] 상기 화학식에서, n은 1 내지 100이다. 특정 예에서, n은 1 내지 95, 또는 1 내지 90, 또는 1 내지 85, 또는 1 내지 80, 또는 1 내지 75, 또는 1 내지 70, 또는 1 내지 65, 또는 1 내지 60, 또는 1 내지 55, 또는 1 내지 50, 또는 1 내지 45, 또는 1 내지 40, 또는 1 내지 35, 또는 1 내지 30, 또는 5 내지 30, 또는 5 내지 25, 또는 5 내지 20, 또는 10 내지 20이다. 화합물은 약 1 kDa 내지 10 kDa, 예컨대 약 1 kDa 내지 9 kDa, 또는 약 1 kDa 내지 8 kDa, 또는 약 1 kDa 내지 7 kDa, 또는 약 1 kDa 내지 6 kDa, 또는 약 1 kDa 내지 5 kDa, 또는 약 1 kDa 내지 4 kDa, 또는 약 1 kDa 내지 3 kDa, 또는 약 1.5 kDa 내지 3 kDa, 또는 약 1.5 kDa 내지 2.5 kDa, 또는 약 1.75 kDa 내지 2.25 kDa, 예컨대 약 2 kDa의 분자량을 가질 수 있다.

[0095] 특정 예에서, 본 개시 내용은 화학식 (IV)으로 제시된 구조(BBA-2)를 갖는 화합물을 제공한다:



[0096] (IV).

[0097] 화학식 (I)의 화합물은 예를 들어, 적절히 관능화된 링커를 CSA 및 뼈-결합 모이어티와 적절히 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 이러한 하나의 예는 이하의 계획 1에 나타나 있다.



[0098]

[0099] **계획 1**: 화학식 (I)의 화합물의 예시적인 합성

[0100] 계획 1에서, 아미노기를 갖는 뼈-결합 모이어티는 2개의 말단 카르복실산기(그 중 하나의 카르복실산기가 활성화될 수 있음)를 갖도록 관능화된 링커와 반응하여, 아미드 결합을 통해 뼈-결합 모이어티가 링커에 부착되는 중간 물질을 제공한다. 이후, 상기 중간 물질 내에 존재하는 카르복실산은 CSA의 아미노기와 반응하여 다른 아미드 결합을 생성함으로써, 화학식 (I)의 화합물을 제공한다. 당업계의 숙련자들은 화학식 I의 화합물을 제조하는데 사용될 수 있는 대안적인 합성 방법론에 익숙할 것이다.

[0101] *방법 및 조성물*

[0102] 본원에 기재된 화합물은 이들의 뼈-결합 모이어티를 통해 뼈를 표적화하며, 뼈 감염을 치료하는 데 사용될 수 있다. 감염은 박테리아 감염, 예컨대 그램-양성 박테리아 감염 또는 그램-음성 박테리아 감염일 수 있다. 일부 예에서, 박테리아 감염은 *스타필로코쿠스 또는 슈도모나스* 감염, 예컨대 *스타필로코쿠스 아우레우스*, *스타필로코쿠스 에피더미디스*, 또는 *슈도모나스 애루기노사* 감염, 예컨대 메티실린-저항성 *스타필로코쿠스 아우레우스*, 메티실린-저항성 *스타필로코쿠스 에피더미디스*, 또는 토브라마이신-저항성 *슈도모나스 애루기노사* 감염이다. 일부 예에서, 박테리아 감염체는 반코마이신-저항성 *스타필로코쿠스 아우레우스*이다. 비록 *스타필로코쿠스 에피더*

*미디스*가 때때로 *스타필로코쿠스 아우레우스*보다 독성이 덜한 병원체라고 간주되기는 하지만, *스타필로코쿠스 에피더미디스* 균주는 더 높은 침투 특성을 획득 중일 수 있고, 특히 정형 외과적 이식체에 생체막을 형성할 만큼 매우 유효하다는 보고가 있다(Gill 외. *J Bacteriol*. 2005. 187: 2426-2438). 일부 예에서, 박테리아 감염은 *아그레가티박터 악티노마이세템코미탄스(Aggregatibacter actinomycetemcomitans)* 감염이다. *아그레가티박터 악티노마이세템코미탄스*는 턱뼈 골수염의 경우에 통상 관찰된다.

[0103] 다른 구현예에서, 뼈 감염은 진균 감염, 예컨대 *칸디다(Candida)* 종에 의한 감염이다.

[0104] 일부 구현예에서, 감염은 정형외과적 이식, 골수염 또는 수술 부위 감염으로부터 발생한다. 일부 구현예에서, 개시된 화합물은 감염의 치료에 유용하며, 다른 구현예에서, 개시된 화합물은 뼈 감염에 취약하거나 이의 위험이 있는 대상체에서 감염을 예방하는데 유용하다.

[0105] CSA-13, CSA-90 및 CSA-131과 같은 CSA도 또한 골생성을 촉진시키거나, 향상시킨다고 보고되었다(미국 특허 제9,694,019호; 문헌[Schindeler 외 *J Bone Joint Surg Am*. 2015. 97(4): 302-309]). 이에 대해, 본원에 기재된 화합물은 대상체에서 뼈 형성을 촉진시키는데 사용될 수 있다. 본 개시 내용에 따라 치료할 수 있는 뼈 장애는, 예를 들어, 뼈 골절, 척추 부상, 추간판 퇴행, 파제트병, 골암 및 골다공증을 포함한다. 본 개시 내용의 조성물과 방법을 사용하여 치료할 수 있는 뼈 골절은, 비-유합성 골절(non-union fracture), 단순 골절, 부전 골절(greenstick fracture), 복합 골절(compound fracture), 분쇄(comminuted)(다-절편) 골절, 충격 골절, 합병 골절(complicated fracture), 실금 골절(hairline fracture), 압박 골절, 피로 골절 및/또는 병원성 골절을 포함한다. 본원에 기재된 방법에 의해 유리하게 치료될 수 있는 뼈 골절의 예는, 척추, 다리 및 팔의 골절을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 본 개시 내용에 따라 유리하게 치료될 수 있는 골절의 추가적인 예는, 척추의 압박 골절이다. 이러한 골절은 척추(vertebral column)의 뼈 중 하나 이상이 골절되거나 붕괴될 때, 전형적으로 척추가 예를 들어 노화 또는 뼈를 약화시키는 질병, 예컨대 골다공증, 파제트병, 또는 골암의 결과로 이미 쇠약해졌을 때 일어난다. 일부 예에서, 본 개시 내용에 따라 치료될 수 있는 뼈 질병 또는 질환은, 뼈 재흡수, 골관절염(osteoarthritis), 골다공증, 골연화증(osteomalacia), 낭종섬유성골염(osteitis fibrosa cystica), 이단성골연화염(osteochondritis dissecans), 골연화증, 골수염, 골아세포생성(osteoblastogenesis), 골감소증(osteopenia), 골괴사(osteonecrosis), 및 다공성 골과형성증(porotic hyperostosis)을 포함한다.

[0106] 본 개시 내용의 조성물과 방법은 뼈 형성과 재흡수에 불균형을 겪고 있는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다. 뼈 형성과 재흡수의 불균형은 통상 뼈 질량의 손실을 유발하여, 뼈 관련 질병, 예컨대 골다공증, 구루병(rickets), 및 골연화증으로 이어질 수 있다. 이러한 뼈 질병은 뼈 골절의 위험 증가, 골절의 심각성 증가 및 치유 기간의 장기화와 관련된다. 추가로, 노화 또는 부상에 의해 추간판 퇴행성 질병 또는 척추 변형의 발생이 증가하여, 척추전방전위증(spondylolisthesis)을 유발한다.

[0107] 투여량은 치료될 질환의 유형과 심각성에 따라 달라질 수 있고, 단일 용량 또는 다용량을 포함할 수 있다. 특정 투여 요법은 개별적인 필요성과 화합물을 투여하는 의료진의 전문적인 판단에 의해 시간의 경과에 따라 조절될 수 있다. 인간 대상체에 투여될 때, 투여 요법은 감염 또는 질환의 유형과 심각성, 대상체의 나이, 성별, 체중 또는 의학적 질환 및 투여의 경로를 포함한 다수의 요인들에 따라 달라질 수 있다. 이에 대해, 투여될 화합물의 정확한 양은 의료진의 판단에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 포유류일 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 치료가 필요한 인간, 반려 동물(예를 들어, 개, 고양이, 페럿, 햄스터, 저빌 등), 가축 동물(예를 들어, 소, 돼지, 말, 가금류 등), 또는 임의의 다른 포유류이다.

[0108] 본원에 기재된 화합물은 치료되는 감염 또는 질환의 심각성, 재발 가능성이 높은 지 여부를 포함한 몇몇 요인에 따라 수 시간, 수 일, 수 주 또는 수 개월에 걸쳐 투여될 수 있다. 투여는 수 시간, 수 일, 수 주, 수 개월 등의 기간에 걸쳐 주입을 통해 실시될 수 있다. 대안적으로, 투여는 간헐적일 수 있는데, 예를 들어, 수 일의 기간 동안 하루에 1회, 수 시간의 기간 동안 시간당 1회, 또는 적합하다고 간주되는 임의의 다른 일정일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시 내용의 조성물은 적어도 1주 동안 매일 1회, 예를 들어, 적어도 2주 동안 매일 적어도 1회, 또는 적어도 1개월 또는 더 긴 기간 동안 매일 1회 투여된다. 다른 구현예에서, 본 개시 내용의 조성물은 감염 제제에 노출되기 직전이나 직후, 또는 뼈 감염의 위험이 발생할 때 제공된다.

[0109] 일부 예에서, 본 개시 내용의 화합물은 약 0.01 mg/체중 kg 내지 1000 mg/체중 kg의 양으로 투여된다. 예를 들어, 본 개시 내용의 화합물은 약 0.1 mg/kg 내지 900 mg/kg, 또는 약 0.5 mg/kg 내지 800 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 750 mg/kg, 또는 약 1.5 mg/kg 내지 700 mg/kg, 또는 약 2 mg/kg 내지 600 mg/kg, 또는 약 2 mg/kg 내지 500 mg/kg, 또는 약 2.5 mg/kg 내지 450 mg/kg, 또는 약 3 mg/kg 내지 350 mg/kg, 또는 약 3.5 mg/kg 내지 250 mg/kg, 또는 약 4 mg/kg 내지 200 mg/kg, 또는 약 4 mg/kg 내지 100 mg/kg, 또는 약 4 mg/kg 내지 50

mg/kg, 또는 약 4 mg/kg 내지 20 mg/kg의 양으로, 또는 이들 범위에 속하는 임의의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시 내용의 화합물은 약 2 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 45 mg/kg, 또는 약 50 mg/kg, 또는 상기 투여량에 속하는 범위 내로 투여된다. 일부 예에서, 항생제 화합물은 전신 투여된다.

[0110] 뼈-결합 모이어티에 의한 표적화로 인해, 감염 부위에 유효량의 항생제(예를 들어, CSA)를 제공할 때 요구되는 용량이 뼈-결합 모이어티가 없을 때 요구될 용량에 비해 감소될 수 있다고 이해될 것이다. 또한, 환자에서 뼈-결합 능력이 없는 항생제 화합물에 대해 수인될 수 있는 용량에 비해 더 높은 용량의 뼈-결합 화합물이 수인될 수 있다고 이해될 것인데, 그 이유는 뼈-결합 항생제 화합물이 신체의 다른 위치로 비-특이적으로 이동하기보다는 오히려 관심있는 조직으로 향하기 때문이다.

[0111] 일부 예에서, 본 개시 내용은 약 0.01 mg 내지 4000 mg, 예컨대 약 0.05 mg 내지 3500 mg, 또는 약 0.1 mg 내지 3000 mg, 약 0.5 mg 내지 2500 mg, 약 0.75 mg 내지 2000 mg, 또는 약 1 mg 내지 1750 mg, 약 1.25 mg 내지 1500 mg, 또는 약 1.5 mg 내지 1250 mg, 또는 약 2 mg 내지 1000 mg, 또는 약 5 mg 내지 900 mg, 약 7.5 mg 내지 800 mg, 또는 약 10 mg 내지 700 mg, 또는 약 15 mg 내지 600 mg, 또는 약 20 mg 내지 550 mg, 또는 약 25 mg 내지 500 mg, 또는 약 30 mg 내지 500 mg, 또는 약 35 mg 내지 450 mg, 또는 약 40 mg 내지 450 mg, 또는 약 45 mg 내지 450 mg, 또는 약 50 mg 내지 400 mg의 활성 성분의 경구 용량을 제공한다.

[0112] 제제화 기술 및 투여는 문헌["Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Publishing Co., Easton, Pa., 최종판]에서 찾을 수 있다. 적합한 경로는 예를 들어, 경구, 직장, 점막 경유, 또는 장 투여; 근육 내, 피 하, 피부 경유, 피 내, 또는 골수 내 전달(예를 들어, 주사), 뿐만 아니라 경막 내, 직접적인 심실 내, 정맥 내, 복강 내, 비강 내, 폐, 경피, 또는 안구 내 전달(예를 들어, 주사)을 포함한 비경구 전달을 포함할 수 있다.

[0113] 성분들은 장시간에 걸쳐 방출되도록 제제화될 수 있다. 방출 시스템은 생분해성 물질 또는 확산에 의해 혼입된 성분들을 방출하는 물질의 기질(matrix)을 포함할 수 있다. 성분들은 방출 시스템 내에서 균일하게 또는 이질적으로 분포할 수 있다. 다수의 방출 시스템들이 유용하지만, 적절한 시스템의 선택은 특정한 적용 시 요구되는 방출 속도에 따라 달라질 것이다. 비-분해성 및 분해성 방출 시스템을 둘 다 사용할 수 있다. 적합한 방출 시스템은 중합체 및 중합성 기질, 비-중합성 기질, 또는 무기 및 유기 부형제, 그리고 탄산칼슘 및 당(예를 들어, 트레할로스)을 포함하나 이에 제한되지 않는 희석제를 포함한다. 방출 시스템 물질은 상이한 분자량을 갖는 요소들이 확산에 의해 방출되거나, 또는 상기 물질의 분해를 통해 방출되도록 선택될 수 있다. 대표적인 합성 생분해성 중합체는, 예를 들어: 폴리아미드, 예컨대 폴리(아미노산) 및 폴리(펩티드); 폴리에스테르, 예컨대 폴리(락트산), 폴리(글리콜산), 폴리(락트산-코-글리콜산), 및 폴리(카프로락톤); 폴리(무수물); 폴리오르토에스테르; 폴리카보네이트; 및 이의 화학적 유도체(치환체, 알킬, 알킬렌과 같은 화학기의 첨가, 수산화물, 산화물, 및 당업계의 숙련자들이 통상 제조한 다른 변형체), 공중합체 및 이들의 혼합물을 포함한다. 대표적인 합성 비-분해성 중합체는, 예를 들어: 폴리에테르, 예컨대 폴리(에틸렌 옥사이드), 폴리(에틸렌 글리콜), 및 폴리(테트라메틸렌 옥사이드); 비닐 중합체-폴리아크릴레이트 및 폴리메타크릴레이트, 예컨대 메틸, 에틸, 다른 알킬, 하이드록시에틸 메타크릴레이트, 아크릴산과 메타크릴산, 및 기타, 예컨대 폴리(비닐 알콜), 폴리(비닐 피롤리돈), 및 폴리(비닐 아세테이트); 폴리(우레탄); 셀룰로스 및 이의 유도체, 예컨대 알킬, 하이드록시알킬, 에테르, 에스테르, 니트로셀룰로스, 및 다양한 셀룰로스 아세테이트; 폴리실록산; 및 이의 임의의 화학적 유도체(치환체, 알킬, 알킬렌과 같은 화학기의 첨가, 수산화물, 산화물, 및 당업계의 숙련자들이 통상 제조한 다른 변형체), 공중합체 및 이들의 혼합물을 포함한다. 폴리(락티드-코-글리콜리드) 미소구체 또는 나노구체가 사용될 수도 있다.

[0114] 본 개시 내용의 화합물은 추가적인 항생제와 조합하여 투여될 수 있다. 적합한 항생제는 예를 들어, 시프로플록사신, 겜시타빈, 트립토판, 파클리탁셀, 사이타라빈, 리팔라질, 노르플록사신, 에녹사신, 게티플록사신, 목시플록사신, 플루오로퀴놀론 에스테르, 벤족사지노리파마이신, 아미글리코시드, 폴리엔, 니트로이미다졸, 리파마이신, 바시트라신, 베타-락탐, 세팔로스포린, 클로람페니콜, 당펩티드, 마크롤리드, 린코사미드, 페니실린, 퀴놀론, 리팜피신, 테트라사이클린, 트리메토프림 술폰아미드, 아목시실린, 오그멘틴, 아목시실린, 암피실린, 아즐로실린, 플루클록사실린, 메즐로실린, 메티실린, 세팔렉신, 세파제돈, 세푸록심, 로라카베프, 세메타졸, 세포테탄, 세폭시틴, 시프로플록사신, 레바퀸, 플록사신, 독시사이클린, 미노사이클린, 젠타마이신, 아미카신, 토브라마이신, 클라리트로마이신, 아지트로마이신, 에리트로마이신, 답토마이신, 네오마이신, 카나마이신, 스트렙토마이신, 니신, 에피더민, 갈리덴닌, 신나마이신, 두라마이신, 락티신 481, 아목시실린, 아목시실린/클라불란산, 메트로니다졸, 클린다마이신, 클로르테트라사이클린, 디시메클로사이클린, 옥시테트라사이클린, 아미카신, 네틸미신, 세파드록실, 세파졸린, 세팔렉신, 세파로틴, 세파피린, 세프라딘, 세파클로르, 세파만돌, 세파메타졸, 세

포니시드, 세포테탄, 세폭시틴, 셉포독심, 셉프로질, 세푸록심, 셉디니르, 세픽심, 세포페라존, 세포탁심, 셉타지딤, 셉티부텐, 셉티족심, 셉트리악손, 세페핌, 아지트로마이신, 클라포란, 클라리트로마이신, 디리트로마이신, 에리트로마이신, 린코마이신, 트롤레안도마이신, 바캄피실린, 카베니실린, 클록사실린, 디클록사실린, 메티실린,메즐로실린, 나프실린, 옥사실린, 피페라실린, 티카르실린, 시녹사신, 시프로플록사신, 에녹사신, 그레파플록사신, 레보플록사신, 로메플록사신, 날리딕스산, 노르플록사신, 오플록사신, 스파르플록사신, 술피속사졸, 술파사이틴, 술파디아진, 술파메톡사졸, 술피속사졸, 답손, 아즈트레오남, 카프레오마이신, 클로파지민, 콜리스티메테이트, 콜리스틴, 사이클로세린, 포스포마이신, 푸라졸리돈, 메테나민, 니트로푸란토인, 펜타미딘, 리파부틴, 스펙티노마이신, 티게사이클린, 트리메토프림, 트리메트렉세이트 글루쿠로네이트, 반코마이신, 클로르헥시딘, 카르바페넴, 또는 에르타페넴을 포함할 수 있다.

[0115] 본 개시 내용의 화합물은 뼈 형성을 촉진하거나 뼈 재흡수를 감소시키는데 유용한 추가적인 화합물과 조합하여 투여될 수 있다. 예를 들어, 적합한 화합물은 리세드로네이트(Actonel), 이반드로네이트(Boniva), 또는 졸레드론산(zoledronic acid)(Reclast 또는 Aclasta)을 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 다른 화합물은 코르티코스테로이드, 예를 들어, 프레드니손(prednisone) 또는 코르티손일 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 다른 화합물은 데노수맙(denosumab)(Prolia)일 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 다른 화합물은 스트론튬 라넬레이트(strontium ranelate)(Protos)일 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 다른 화합물은 선택적인 에스트로겐 수용체 조절자(SERMS), 예컨대 랄록시펜(raloxifene)(Evista)일 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 다른 화합물은 호르몬 대체 치료(HRT)에 사용되는 약물, 예컨대 에스트로겐 또는 프로게스테론일 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 다른 화합물은 테리파라티드(teriparatide)(Forteo)일 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 다른 화합물은 비-스테로이드성 항-염증제 또는 진통제일 수 있다. 예를 들어, 적합한 비-스테로이드성 항-염증제는 이부프로펜(ibuprofen), 나프록센(naproxen), 아스피린, 또는 케토프로펜(ketoprofen), 인도메타신(indomethacin)(Indocin 또는 Tivorbex), 및 페노프로펜(fenoprofen)(Nalfon)으로부터 선택된 COX-1 및/또는 COX-2 저해제일 수 있다.

[0116] 본 개시 내용의 화합물은 골격(scaffold)과 관련하여 대상체에 투여될 수 있다. 골격 물질은 본원에 참고로서 포함된 미국 특허 제5,681,872호; 제5,914,356호; 제5,939,039호; 제6,325,987호; 제6,383,519호; 제6,521,246호; 제6,736,799호; 제6,800,245호; 제6,969,501호; 제6,991,803호; 제7,052,517호; 제7,189,263호; 제7,534,451호; 제8,303,967호; 제8,460,686호; 또는 제8,647,614호에 기재된 것과 같을 수 있다. 다른 적합한 골격 물질은 VITOSS®, CORTOSS®, 생체 중합체, 뼈, 무세포(decellularized) 뼈, 세포 외 기질 또는 이의 구성 요소, 피브로넥틴, 라미닌 콜라겐, 키토산, 알기네이트, 인산칼슘, 황산칼슘, 폴리(알파-하이드록시산), 예컨대 폴리(락트산-코-글리콜산) 및 폴리글리콜산, CUPE 중합체, 폴리에틸렌 글리콜, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 골격 물질은 다공성일 수 있다. 골격 물질은 천연 물질, 합성 물질, 또는 이들의 조합일 수 있다. 골격 물질은 생체적합성, 무독성 및/또는 비-염증성일 수 있다. 골격 물질은 세포 부착, 세포 증식, 세포 외 및/또는 뼈 기질 생산, 및/또는 세포 전환을 뒷받침할 수 있다. 골격 물질은 생분해성일 수 있다. 골격 물질은 멸균될 수 있다. 다른 골격 물질과 속성은 당업계의 숙련자들이 알고 있을 것이다.

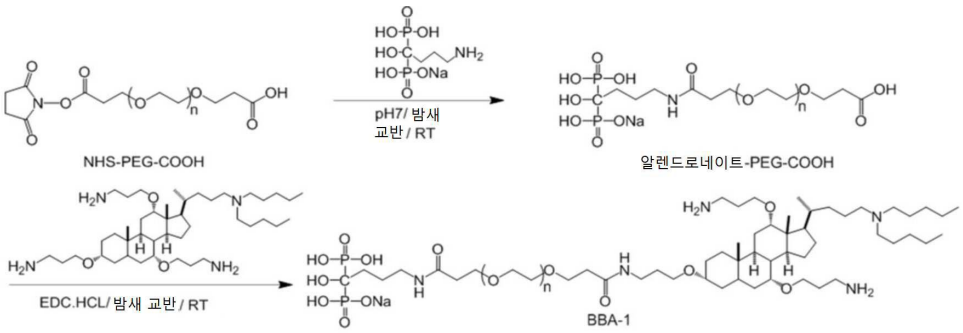
[0117] 본 개시 내용의 화합물은 다수의 경로에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 화합물은 예컨대 대상체의 혈류로 직접 전달됨으로써 전신 투여된다. 특정 구현예에서, 화합물은 비경구적으로 전달된다. 비경구 투여의 예시적인 경로는 혈관 내, 피막 내, 안구 내, 심장 내, 피 내, 기관 통과(transtracheal), 복강 내, 심실 내, 뇌실 내, 경막 내, 피 하, 표피 하, 피막 하, 지주막 하, 척추 내, 경막 외, 흉골 내, 두개 내, 근육 내, 관절 내, 동맥-내, 결절 내, 폐, 비강 내, 경피 및 정맥 내를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 특정 예에서, 화합물은 복강내로 또는 정맥 내로 투여된다.

[0118] 대안적으로, 화합물은 당업계에 잘 알려진 약학적으로 허용 가능한 담체를 사용하여, 경구 투여에 적합한 제형, 예컨대 정제, 필, 캡슐, 액체, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁제 등으로 제제화할 수 있다. 적합한 담체는 맥아, 젤라틴, 탈크, 황산칼슘, 식물유, 합성유, 폴리올, 알긴산, 인산염 완충 용액, 유화제, 등장성 식염수, 및 발열원-불포함 물(pyrogen-free water)로부터 선택될 수 있다. 특정 예에서, 화합물은 비강내로 또는 흡입에 의해(예를 들어, 적합한 추진제, 예컨대 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로-메탄, 디클로로테트라-플루오로-에탄, 하이드로플루오로알칸, 예컨대 1,1,1,2-테트라플루오로에탄(HFA 134A3 또는 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판(HFA 227EA3), 이산화탄소, 또는 다른 적합한 기체)를 사용하여 압축 용기, 펌프, 스프레이 또는 네뷸라이저로부터 분출된 에어로졸 스프레이의 형태로), 또는 건조 분말 흡입기에 의해 전달된 고체 미세 분말로서 투여된다.

[0119] **실시예**

[0120] ***실시예 1: 합성***

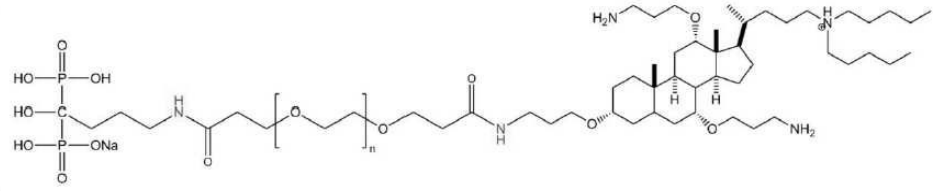
[0121] 뼈-결합 항생제-1(BBA-1)이라고 지칭되는 화합물을, 2-단계 반응에 의해 합성하였다. 제1 단계에서, NHS-PEG-COOH 링커(1 kDa, 33 mg)를 1 mL의 Milli-Q 수에 용해시켰다. 별도로, 알렌드로네이트(ALN) 소듐(10.5 mg)을 칭량하여, 1 mL의 Milli-Q 수에 용해시켰다. 알렌드로네이트 용액을 연속 교반 하에 NHS-PEG-COOH의 용액에 적가하였다. 반응의 pH를 모니터링하고, NaOH 용액을 사용하여 pH 7로 조절하였다. 반응 혼합물을 밤새 실온에서 교반하였다. 밤새 반응시킨 후, 3.5 mL의 절대 에탄올을 첨가함으로써 비접합된 알렌드로네이트를 침전시키고, 0.45 마이크론의 나일론 필터를 사용한 여과에 의해 이를 제거하여, ALN-PEG-COOH를 얻었다. 제2 단계에서, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필) 카르보디이미드(하이드로클로라이드 EDC.HCL 30 mg)과 CSA-90(25.5 mg)을, ALN-PEG-COOH를 포함한 여과된 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새 실온에서 교반하여, 최종 접합 생성물(ALN-PEG-CSA-90)을 얻었다. 반응 용액을 1 kDa 투석관에 넣고, 투석 매체로서 물을 사용하여 24시간 동안 투석하였다. 투석한 후, 정제된 반응 생성물을 동결 건조시키고, 이를 HPLC, NMR 및 FT-IR 분광분석법을 사용한 확인(identification) 및 화학적 특징화에 사용하였다.

[0122] 

[0123]

[0124] **계획 2**: BBA-1의 합성 경로

[0125] BBA-1은 약 2070.12 g/몰의 분자량을 갖고, 이의 구조는 이하와 같으며:

[0126] 

[0127] 상기 화학식에서, n은 약 16이다.

[0128] ***실시예 2: 특징화***

[0129] BBA-1은 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 사용하여 특성화하였다. 도 1-a를 참고하면, 8.2분과 9.3분에서의 넓은 피크는 CSA-90의 2개의 1차 아미노기에 대한 ALN-PEG-COOH 링커의 가능한 접합에 기인한다. 7.5분의 피크는 비반응된 링커에 기인하는 반면, 2.5분의 피크는 EDC.HLC 카르보디이미드에 기인하였다. 유사한 방법을 사용한 5분 시점의 순수한 NHS-PEG-COOH 링커와 6.8분에서의 CSA-90의 상응하는 용출과 동정은, 도 1-b와 도 1-c에 각각 나타나 있다. BBA-1 반응 혼합물의 BBA-1 스펙트럼(도 1-a)에서 6.8분에서의 CSA-90 피크가 찾기 힘들거나 없어지고, 7.5분에서의 NHS-PEG-COOH 피크가 유의하게 감소했다는 것은, 링커에 대한 CSA-90의 접합 효율이 최대라는 것을 나타낸다.

[0130] 도 2는 각각 알렌드로네이트(도 2-a), CSA-90(도 2-b), NHS-PEG-COOH 링커(도 2-c) 및 BBA-1(도 2-d)에 대한 FT-IR 스펙트럼을 나타낸다. BBA-1의 스펙트럼 내의 CSA-90의 존재(도 2-d)는, 2867 cm^{-1} 및 2925 cm^{-1}에서의 피크를 확인하여 확고히 하였다. 모든 스펙트럼에서, 1550 내지 1560 cm^{-1} 근처 및 3300 cm^{-1} 너머의 피크는, 각각 N-H 굽힘(bending)과 신축 진동에 해당한다(도 2-a 내지 2-d). CSA-90과 알렌드로네이트를 NHS-PEG-COOH 링커에 접합시킨 후의 C=O 결합의 신축 진동은 CSA-90과의 아미드 연결기의 형성에 기인하며, 알렌드로네이트는

BBA-1의 스펙트럼의 1636 cm^{-1}에서 보고되었다(도 2-d).

[0131] 실시예 1에 기재한 바와 같이, 알렌드로네이트는 NHS-PEG-COOH 링커의 NHS 말단에 접합되었다. 제2 단계에서, CSA-90을 수용성 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드(EDC.HCL)를 사용하여 상기 링커의 COOH 말단에 접합시켰다. 과다 EDC.HCL, CSA-90 및 알렌드로네이트는 침전, 여과 및 투석에 의해 제거하였다. 도 3-a는 BBA-1, NHS-PEG-COOH, CSA-90 및 알렌드로네이트 소듐에 대한 ^{1}H NMR 스펙트럼을 나타낸다. 알렌드로네이트 접합의 성공은 ^{1}H NMR 및 ^{31}P NMR 분광분석법에 의해 확인하였다. BBA-1에 대한 ^{1}H NMR 스펙트럼(도 3-a)에 나타난 바와 같이, 2.01 ppm 및 3.14 ppm(a 및 b)의 상응하는 피크들은 각각 알렌드로네이트 유래의 CH_2C 및 CH_2CH_2에 기인하며, 이는 알렌드로네이트 접합이 성공적이라는 것을 나타낸다. NHS-PEG-COOH 링커 유래의 NHS의 CH_2-CH_2의 특징인 피크가 없어진 것으로, 링커의 NHS 말단에 알렌드로네이트가 접합되었다는 것을 추가로 확인하였다(도 3a, BBA-1 및 NHS- PEG-COOH 스펙트럼). 유사하게, 0.93 ppm, 1.76 ppm, 2.82 ppm 및 1.25 ppm에서의 CSA-90의 특징적인 피크를 확인하여, ALN-PEG-COOH의 카르복실 말단에 CSA-90이 접합된 것을 확고히 하였다. NHS-PEG-COOH 링커 유래의 에틸렌옥사이드에 기인한 전형적인 양성자는 3.64 ppm에서 확인하였다(도 3a, BBA-1). 추가로, 알렌드로네이트 접합은 ^{31}P NMR 분광분석법에 의해 정성적으로 확인하였다(도 3-b). 19.42 ppm에서의 알렌드로네이트 유래 인(P)에 상응하는 피크(도 3b, 알렌드로네이트)는 BBA-1의 ^{31}P NMR에서는 50.06 ppm으로 이동하였는데(도 3-b, BBA-1), 이는 양의 정성적인 접합 신호를 나타낸다.

[0132] ***실시예 3: 항박테리아 검정***

[0133] 변형된 커비-바우어 디스크 확산 검정을 실시하여, 뼈 감염을 유발하는 박테리아의 공통적인 종에 대한 BBA-1의 살박테리아(bactericidal) 활성을 시험하였다. 표준 200 μg 젠타마이신(gentamicin) 디스크와 등몰 농도의 BBA-1 또는 CSA-90를 함유한 와트만 여과지 디스크 $^{N^{\varnothing}1}$(6 mm)를 제조하여, 이들을 비교하였다. 간략히, 0.5 mL의 *스타필로코쿠스 아우레우스*와 메티실린-저항성 *스타필로코쿠스 아우레우스*(MRSA)(0.2 = 1.6×10^{8} 박테리아/mL의 OD_{600}까지 희석됨)를 LB 아가 플레이트에 고르게 도말하였다. 항생제 디스크를 LB 아가 플레이트에 놓고, 밤새 배양한 후, 각각의 항생제 디스크 주위의 박테리아 성장 억제 구역을 측정하였다. 또한, BBA-1의 최소 억제 농도(MIC)와 최소 살박테리아 농도(MBC)는 표준화 배지 미세희석법에 의해 결정하였다. 간략히, 1×10^{5} CFU/mL의 *S. 아우레우스* 및 MRSA의 접종원을 일련의 농도의 BBA-1 및 CSA-90과 함께 배양하였다. 37℃에서 24시간 동안 배양한 후, 595 nm에서 광학 밀도/흡광도를 3회 기록하였다.

[0134] 도 4-a 및 4-b에 나타난 바와 같이, BBA-1-처리된 디스크는 모든 실험에서 박테리아 성장을 유의하게 억제하였다. 등몰 농도의 CSA-90 및 젠타마이신에서, 두 균주의 박테리아에 대한 BBA-1의 항박테리아 활성은 비슷하였다. *S. 아우레우스* 및 MRSA에 대한 BBA-1의 MIC 및 MBC 농도는, 각각 1.5 μg/mL 및 3 μg/mL였다(도 4-c).

[0135] ***실시예 4: 뼈-결합 검정***

[0136] BBA-1 및 CSA-90의 하이드록시아파타이트(HA) 결합 친화성은, 각 화합물을 milli-Q 수 중의 HA와 함께 그리고 이의 부재 하에 배양함으로써 반-정량적으로(semi-quantitatively) 결정하였다. BBA-1(2.42 mg)을 칭량하고, 4 mL의 milli-Q 수에 용해시켰다. 별도로, HA(20 mg)를 칭량하고, 2 mL의 BBA-1 용액에 현탁하여, 현탁체를 실온에서 배양하였다. HA 결합에 기인한 피크 높이의 감소를 분석하기 위해, 사전 결정된 시점에서 100 μL의 상청액을 빼내어, HPLC에 의해 분석하였다. 유사하게, 순수한 CSA-90의 뼈 결합 능력은 CSA-90을 유사한 농도의 HA와 함께 그리고 이의 부재 하에 배양함으로써 시험하였다.

[0137] 상대적인 피크 높이는, BBA-1에 기인하여, HA와 함께 5분 이내로 배양할 때 약 40%로 감소하였다(도 5-b). 60분 간 배양한 후 가장 유의한 감소를 관찰하였는데, 여기에서 BBA-1의 상대적인 피크 높이는 약 20%로 감소하였다(도 5-a). 반대로, CSA-90은 심지어 60분 간 배양한 후에도 피크 높이를 전혀 감소시키지 않거나, 매우 적게 감소시키는 것으로 나타났다(도 5a). 60분 간 배양한 후, 상응하는 피크 높이는 CSA-9에 기인하여 단지 약 85%로만 감소하였다(도 5-a). 이러한 발견은 유의한 양의 BBA-1이 HA에 결합하였고(P 값≤0.0001, 독립(unpaired) t-시험), 알렌드로네이트 모이어티가 HA에 대해 높은 친화성을 부여했다는 것을 입증하였다.

[0138] ***실시예 5: 골생성 활성에 대한 효과의 측정***

[0139] 모 화합물 CSA-90은 골생성-전 활성을 갖고, 배양된 세포에서 재조합 인간 뼈 형태발생 단백질-2(rhBMP-2)를 강화시키는 것으로 보고되었다(Shchindeler 외, *J Bone Joint Surg Am.* 97(4):302-9(2015)). 이것은 특히 뼈 부상 수선, 뼈 결함 또는 정형외과적 이식 시 골유착능의 복구와 관련하여 항미생물성 보호 이상의 추가적인 이점으로 이어질 수 있다.

[0140] BBA-1이 CSA-90의 임의의 골생성-전 작용을 보유하는지 시험하기 위해, MC3T3-E1 세포를 5 μM CSA-90 또는 BBA-1 중 하나와 함께, 50 ng/ml rhBMP-2를 포함하거나 포함하지 않는 골생성 배지에서 분화시켰다. p-니트로페닐 포스페이트 검정을 알칼라인 포스파타제 활성(Sigma-Aldrich)에 대해 실시하고, 골생성 배지와 α-MEM 배지에서 자란 3-일차 세포에 대해 정규화하였다. 상기 검정은 3회씩 실시하되, 2회는 독립적으로 반복하였다.

[0141] 이전에 공개된 발견과 일관되게, CSA-90과 rhBMP-2는 알칼라인 포스파타제 발현을 증가시켰다(도 6). BBA-1은 단독일 때와 rhBMP-2와 조합할 때 둘 다 CSA-90와 유사한 골생성 가능성을 나타내었다.

[0142] ***실시예 6: 메발로네이트 경로에 대한 영향력의 측정***

[0143] 모 화합물인 알렌드로네이트는 메발로네이트 경로에 기능적으로 작용하여 뼈의 재흡수에 영향을 미치는 비스포스포네이트이다. 측쇄 아민기에 의한 접합으로, 뼈 결합 친화성은 보유되겠지만 항-재흡수 활성은 없어질 것이라는 가설을 세웠다.

[0144] 이것은 일정한 용량 범위의 알렌드로네이트, CSA-90 또는 BBA-1를 처리한 J774.2 단핵구 대식세포 계열의 세포에서 실시된 시험관내 단백질 프레닐화 검정을 사용하여 검증되었다. 사용된 검정은 문헌[Ali N 외, Small GTPases 6(4):202-11(2015)]에 기재되어 있다. 간략히, 이것은 증가하는 약물 용량에서 상기 화합물을 상기 세포와 함께 24시간 동안 배양한 후, 단백질 추출물에 대해 *시험관내* 페닐화 검정을 실시하는 것과 관련된다. 면역블롯팅(Immunoblotting)(웨스턴 블로팅(western blotting))을 실시하여 메발로네이트 경로에 작용하는 약물 활성을 나타내는 밴드로 예시적인 비프레닐화 단백질을 확인하였다.

[0145] 25 μM 농도의 알렌드로네이트에 의한 치료는, 단백질 프레닐화에 대해 강력한 효과를 생성하였다(도 7). CSA-90 또는 BBA-1 치료는, 유사한 등몰 농도의 알렌드로네이트로 처리할 때에는, 현저하거나 비슷한 단백질 프레닐화 효과를 유발하지 않았다. 이것은, 알렌드로네이트를 이의 아민기를 통해 CSA-90에 접합하게 되면 항-파골세포성 활성이 상당히 개선된다는 것을 나타낸다.

[0146] ***실시예 7: 독성 연구***

[0147] 마우스의 예비 독성 연구에서, BBA-1를 5 mg/kg의 용량으로 정맥 내로 주었을 때 유해 사례를 유발하지 않는다고 나타났다.

[0148] 개념 증명(proof-of-concept) 연구에서, 전임상적 감염 모델을 사용하여 수술 1 시간 전에 마우스에 5 mg/kg BBA-1을 사전-투여하였다(그룹당 N=10). 상기 모델은 수술 시 살아있는 *스타필로코쿠스 아우레우스*(균주 ATCC 12600)(1E5 CFU)를 접종한 C57BL6 마우스의 경골(tibia)에 드릴 구멍이 나 있는 것을 특징으로 한다.

[0149] 감염체를 받지 않은 대조군 마우스는, 연질 조직 또는 핀의 스왑 검정에서 양성이 나오지 않았다. 국소 감염을 위해 배양할 때, 광학 밀도(OD595)에 의해 측정된 감염된 샘플의 수와 감염 수준은(도 8 및 도 9), BBA-1를 처리한 그룹에서 BBA-1을 받지 않은 감염 대조군에 비해 감소하였다.

[0150] 당업계의 숙련자들은 본원에 기재된 화합물과 방법이 많은 다른 형태들로 구현될 수 있다는 것을 알 것이다.

[0151] 달리 명시하지 않은 경우, 명세서와 청구 범위에 사용된 성분들의 양을 표현한 모든 수, 분자량과 같은 특성들, 반응 조건 등은, 모든 경우 "약"이라는 용어로 수식된다고 이해될 것이다. 본원에 사용된 "약" 및 "대략"이라는 용어는, 10% 내지 15% 내, 바람직하게는 5% 내지 10% 내를 의미한다. 따라서, 반대로 명시하지 않은 경우, 명세서와 첨부된 청구 범위에 제시된 수치 변수들은 근사값이지만, 본 발명에서 얻고 싶어하는 원하는 특성들에 따라 달라질 수 있다. 최소한 청구 범위의 범주에 균등론을 적용하는 것을 제한하지 않으려는 시도로서, 각각의 수치 변수는 적어도 보고된 유효 숫자의 수를 고려하고 통상의 반올림 기술을 적용하여 해석되어야 한다. 비록 본 발명의 넓은 범주에 제시된 수치 범위 및 변수들이 근사값이기는 하지만, 특정 실시예에 제시된 수치값들은 가능한한 정확하게 보고되어 있다. 그러나, 모든 수치값은 이들 각각의 시험 측정에서 발견되는 표준 편차로부터 반드시 발생하는 특정 오차를 본질적으로 포함한다.

[0152] "a", "an", "the"와 같은 용어 및 (특히 이하의 청구 범위와 관련하여) 본 발명을 기재한 문맥에 사용된 유사한 지시 대상은, 본원에서 달리 명시하지 않은 경우 또는 문맥상 명백히 모순되지 않는 경우, 단수형과 복수형을

둘 다 포함한다고 해석될 것이다. 본원에서 값의 범위에 대한 설명은 단지 그 범위에만 속하는 각각의 별개 값을 따로 지칭하는 축약적 방법으로 작용하려는 의도를 갖는다. 본원에서 달리 명시하지 않은 경우, 각각의 개별 값은 이들이 개별적으로 본원에 나열된 것처럼 본 명세서에 포함된다. 본원에 기재된 모든 방법들은 본원에서 달리 지정된 바 없는 경우 또는 문맥상 명백히 모순되지 않는 경우 임의의 적합한 순서로 실시될 수 있다. 본원에 제공된 임의의 모든 예, 또는 예시적인 말(예를 들어, "예컨대")은, 단지 본 발명을 더욱 잘 설명하려는 의도로만 사용되며, 청구되어야 할 본 발명의 범주에 대한 제한이 되지 않는다. 명세서에 있는 어떠한 말도 본 발명의 실행에 필수적인 임의의 비-청구된 요소를 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0153] 본원에 개시된 본 발명의 대체 요소 또는 구현예의 그룹화는, 제한으로 해석되지 않을 것이다. 각 그룹의 일원은 본원에 나오는 그룹의 다른 일원들 또는 다른 요소들과 개별적으로 또는 임의로 조합하여 참조되고, 청구될 수 있다. 편의성 및/또는 특허성을 이유로 그룹의 하나 이상의 일원은 그 그룹에 포함되거나, 이로부터 삭제될 수 있을 것으로 예상된다. 임의의 이러한 포함 또는 삭제가 일어날 때, 명세서는 첨부된 청구 범위에 사용된 모든 마쿠쉬(Markush) 그룹의 서면 기재를 충족하도록 수정된 그룹을 포함하는 것으로 간주된다.

[0154] 본 발명자들에게 알려진 최선의 모드를 포함하는 본 발명의 특정 구현예가, 본 발명을 실행하기 위해 본원에 기재되어 있다. 물론, 상기 기재 사항을 읽어볼 때 이러한 기재된 구현예에 대한 변형은 당업계의 통상의 숙련자들에게 자명할 것이다. 본 발명자들은 숙련 기술자들이 적절한 경우 이러한 변형들을 이용할 것으로 예상하며, 본 발명자들은 본 발명이 본원에 구체적으로 기재된 것 이상으로(otherwise than) 실행되기를 의도한다. 따라서, 본 발명은 적용 가능한 법률이 허용하는 경우, 본원에 첨부된 청구범위에 나열된 대상의 모든 변형물과 균등물을 포함한다. 게다가, 본 발명 본원에 달리 명시하지 않은 경우 또는 문맥상 명백히 모순되지 않는 경우, 모든 가능한 변형에서의 상기-기재된 요소들의 임의의 조합도 포함된다.

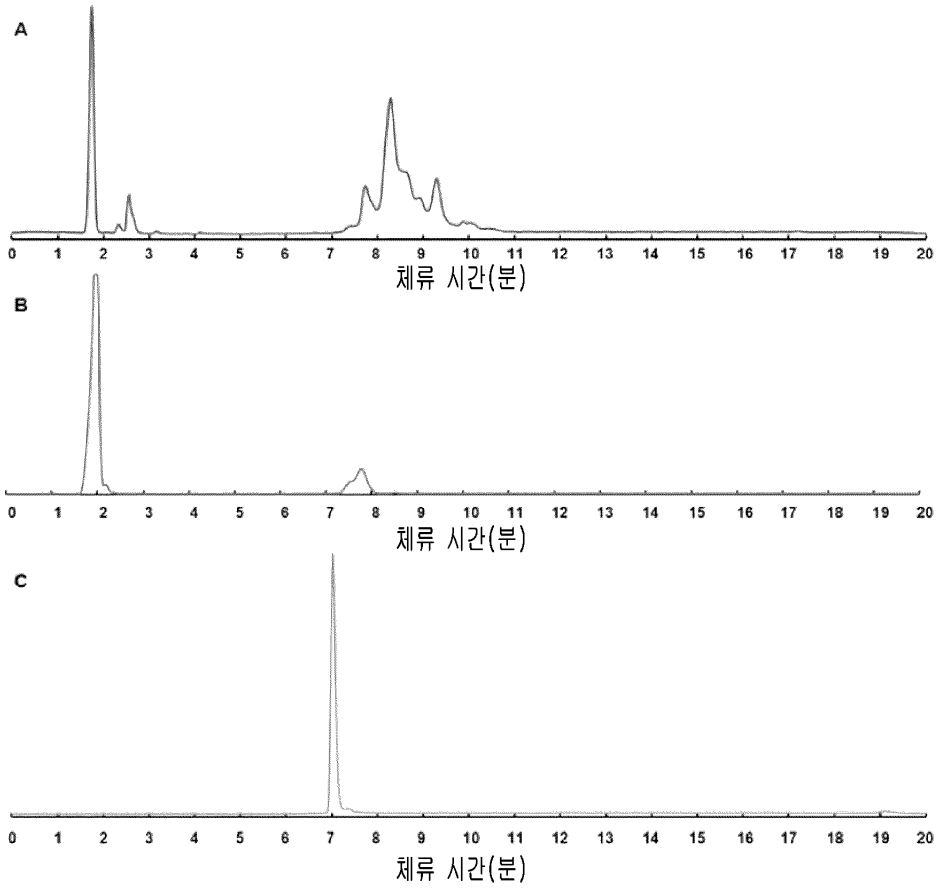
[0155] 본원에 개시된 특정 구현예는 청구 범위에서 [~으로 이루어지는] 또는 [~로 필수적으로 이루어지는]이라는 말을 사용하여 추가로 제한될 수 있다. 청구 범위에서 사용될 때, 처음에 제출되었는지 보정 시에 부가되었는지와 무관하게, "~로 이루어지는(consisting of)"이라는 전환 용어는, 청구항에 특정되지 않은 임의의 요소, 단계 또는 성분은 배제한다. "~로 필수적으로 이루어지는(consisting essentially of)"이라는 전환 용어는, 청구 범위의 범주를 특정 물질들 또는 단계들, 및 기본적이고 신규한 특징(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것들로 제한한다. 이렇게 청구된 본 발명의 구현예들은 본원에 본질적으로 또는 명확히 기재된 것이며, 이용 가능한 것이다.

[0156] 나아가, 본 명세서 전반에 걸친 특허 및 발간된 간행물을 다수 참조하였다. 상기-언급된 참고물 및 발간된 간행물은 각각 본원에 전문이 참조로서 개별적으로 포함된다.

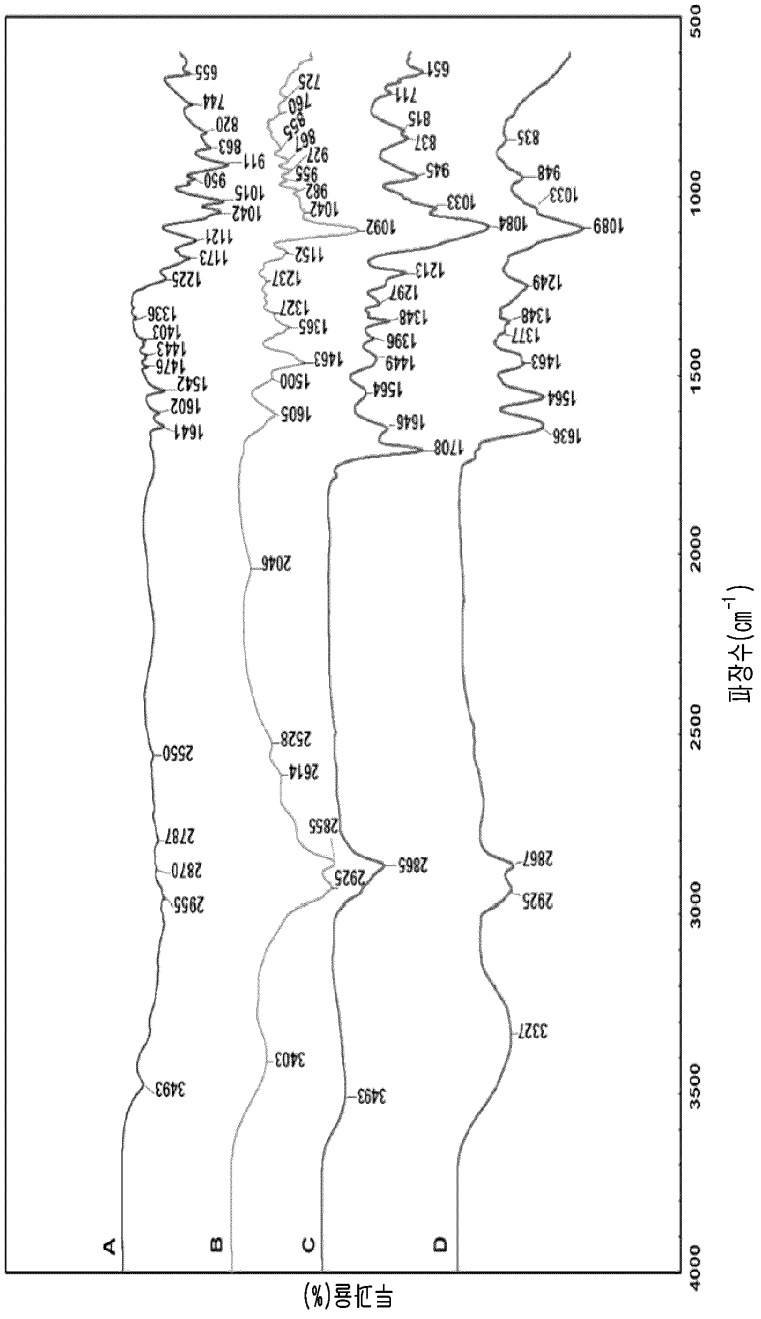
[0157] 끝으로, 본원에 개시된 본 발명의 구현예들은 본 발명의 원칙의 실례인 것으로 이해될 것이다. 이용될 수 있는 다른 변형예들도 본 발명의 범주 내에 속한다. 따라서, 본 발명의 대안적인 구성(configuration)은 제한이 아니라 예시로서 본원의 교시에 따라 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 도시되거나 기재된 바와 정확히 같은 것에 제한되지 않는다.

도면

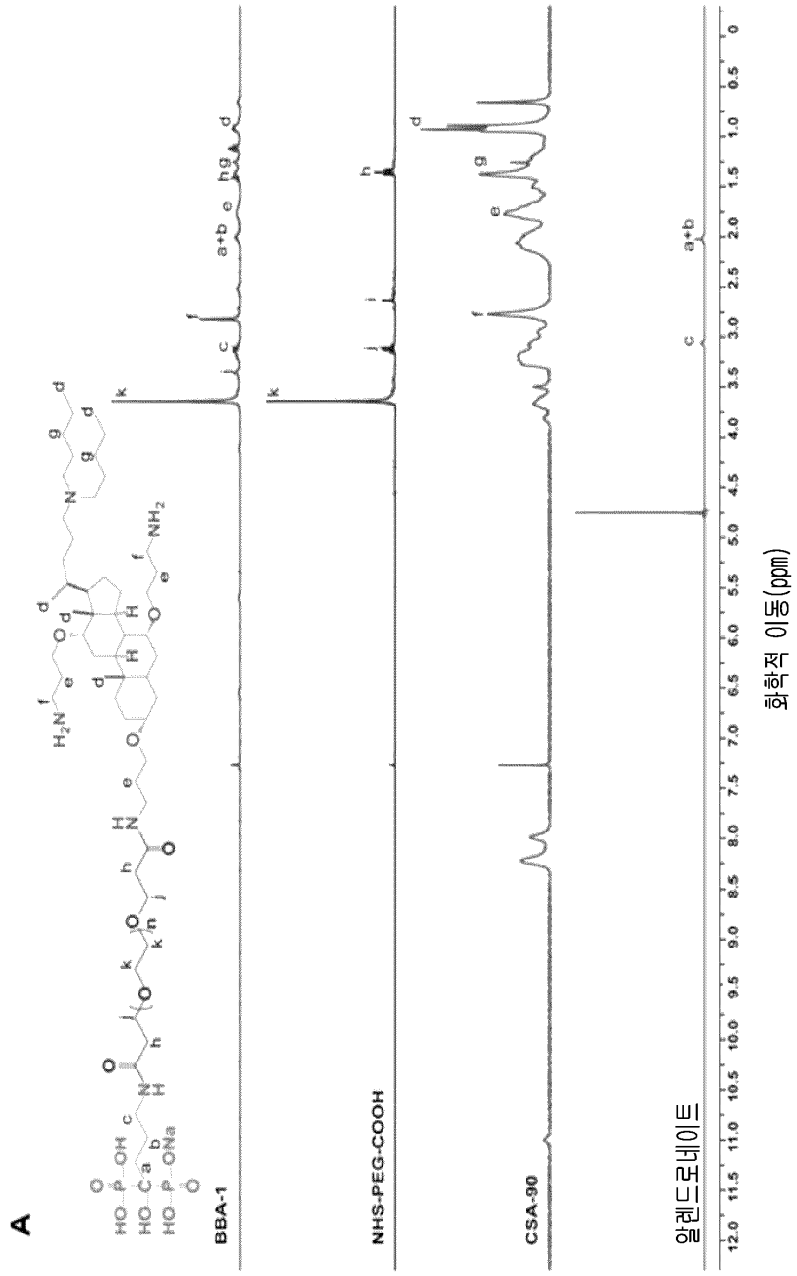
도면1


A
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
체류 시간(분)
B
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
체류 시간(분)
C
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
체류 시간(분)

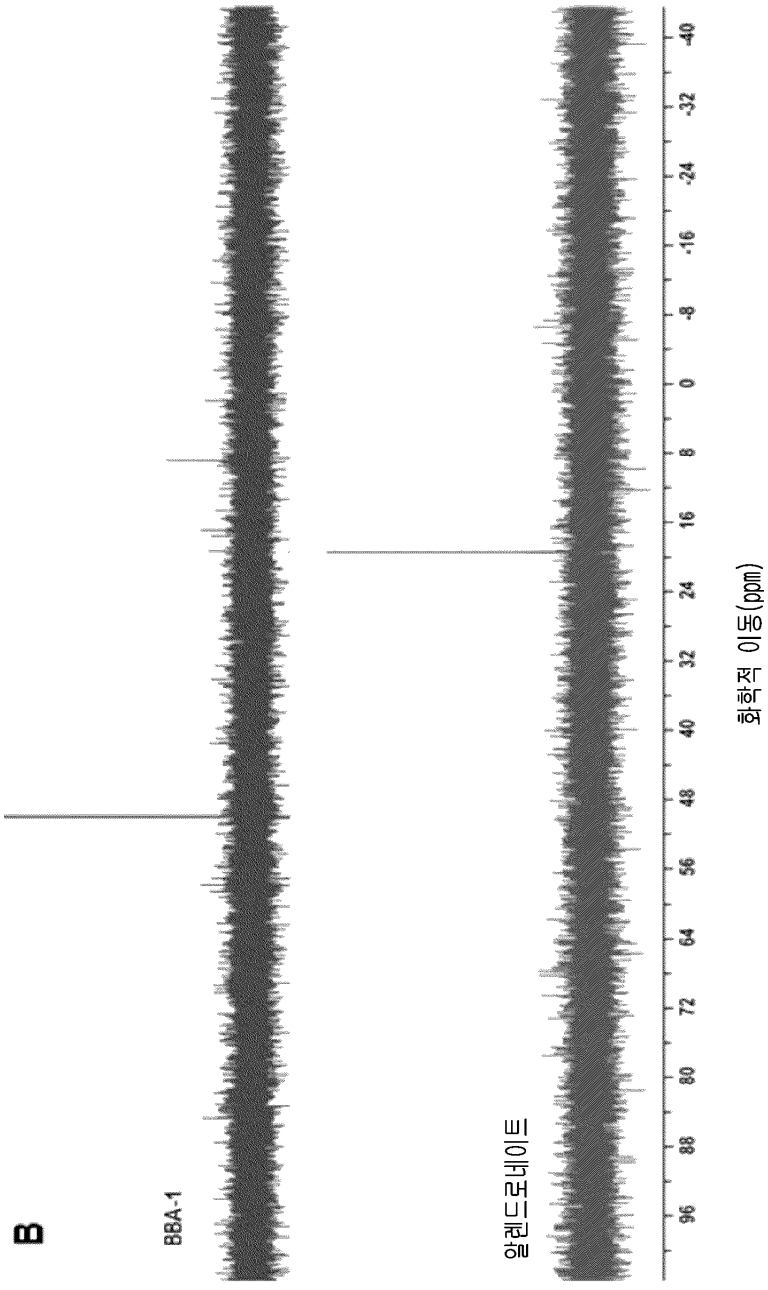
도면2


A
B
C
D
651
711
725
760
815
837
855
861
927
945
955
982
1033
1042
1084
1089
1092
1121
1152
1173
1213
1225
1237
1297
1327
1348
1365
1377
1396
1449
1463
1500
1564
1605
1636
1646
1708
2046
2528
2550
2614
2855
2865
2867
2870
2925
2955
3327
3403
3493
500
1000
1500
2000
2500
3000
3500
4000
파장수(㎝-1)
투과율(%)

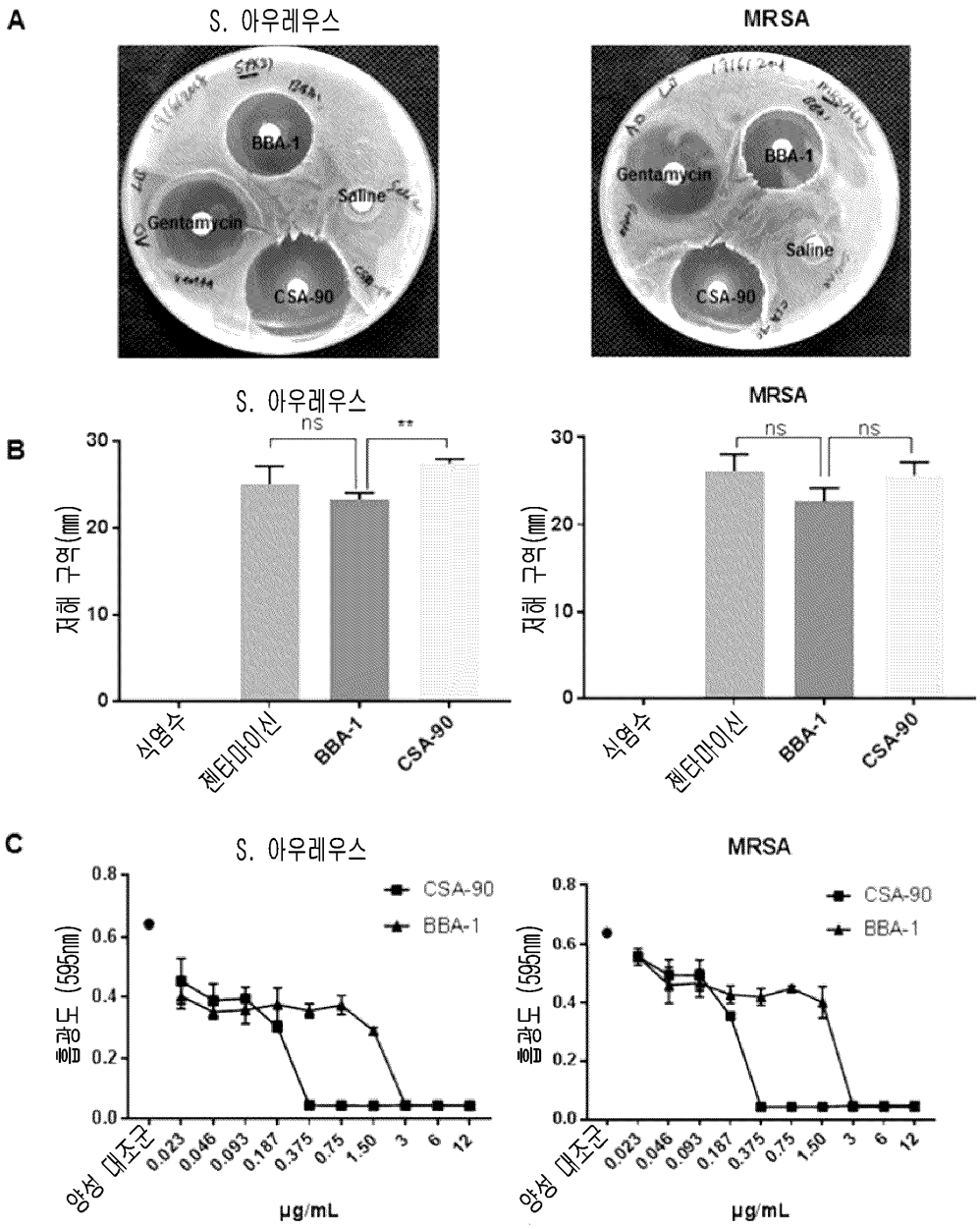
도면3a



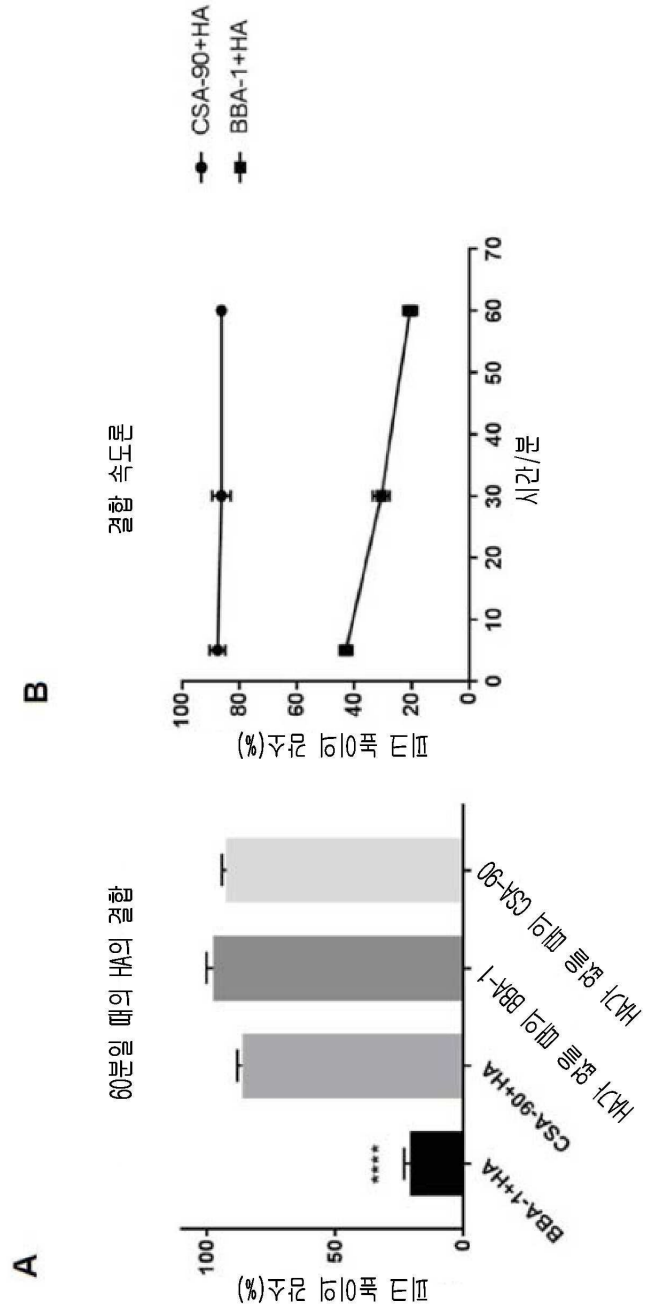
도면3b


B
BBA-1
알렌드로네이트
96
88
80
72
64
56
48
40
32
24
16
8
0
-8
-16
-24
-32
-40
화학적 이동(ppm)

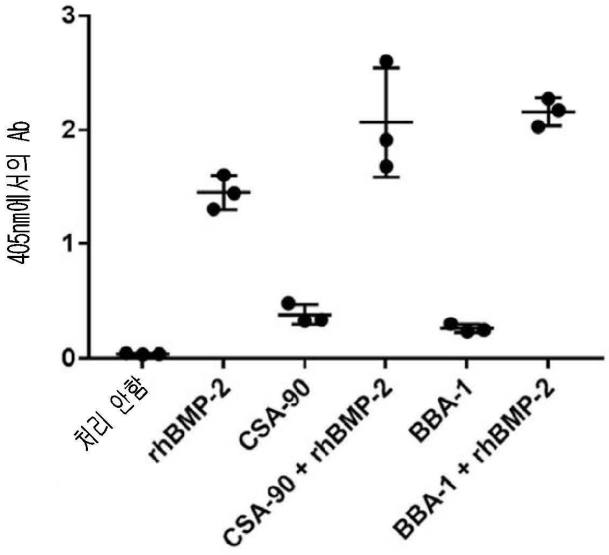
도면4


A
S. 아우레우스
MRSA
BBA-1
Gentamycin
Saline
CSA-90
B
S. 아우레우스
MRSA
ns
**
저해 구역(mm)
식염수
젠타마이신
BBA-1
CSA-90
C
S. 흡광도 (595nm)
CSA-90
BBA-1
양성 대조군
0.023
0.046
0.093
0.187
0.375
0.75
1.50
3
6
12
μg/mL

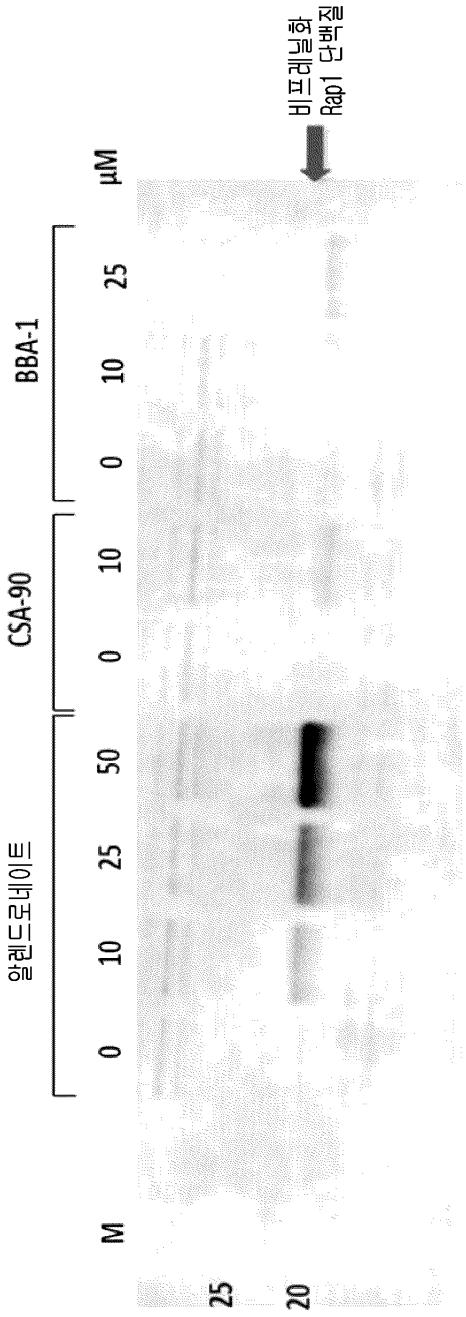
도면5


A
60분일 때의 바닥 결합
피크 높이의 감소(%)
100
50
0
****
BBA-1+HA
CSA-90+HA
바닥 결합 때의 BBA-1
바닥 결합 때의 CSA-90
B
결합 속도론
CSA-90+HA
BBA-1+HA
피크 높이의 감소(%)
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
50
60
70
시간/분

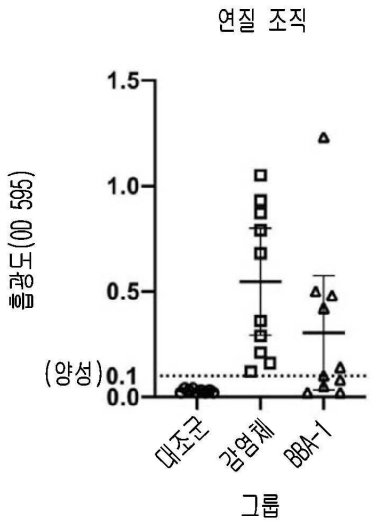
도면6


405nm에서의 Ab
3
2
1
0
처리 안함
rhBMP-2
CSA-90
CSA-90 + rhBMP-2
BBA-1
BBA-1 + rhBMP-2

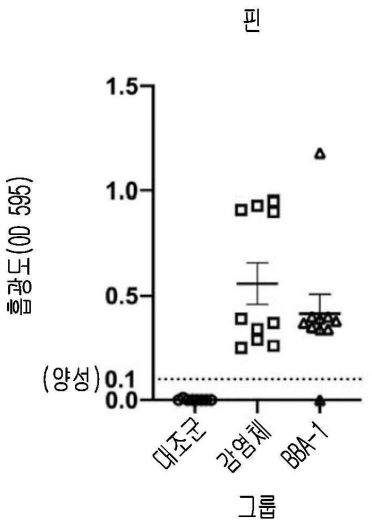
도면7


비프레닐화
Rap1 단백질
μM
BBA-1
25
10
0
CSA-90
10
0
알렌드로네이트
50
25
10
0
M
25
20

도면8


연질 조직
흡광도(OD 595)
1.5
1.0
0.5
(양성) 0.1
0.0
대조군
감염체
BBA-1
그룹

도면9


핀
흡광도(OD 595)
1.5
1.0
0.5
(양성) 0.1
0.0
대조군
감염체
BBA-1
그룹