

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7580815号
(P7580815)

(45)発行日 令和6年11月12日(2024.11.12)

(24)登録日 令和6年11月1日(2024.11.1)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	31/575 (2006.01)	A 6 1 K	31/575
A 6 1 P	19/08 (2006.01)	A 6 1 P	19/08
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
請求項の数 18 (全33頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2022-504548(P2022-504548)	(73)特許権者	592087647
(86)(22)出願日	令和2年7月24日(2020.7.24)		ブリガム・ヤング・ユニバーシティ
(65)公表番号	特表2022-541635(P2022-541635 A)		BRIGHAM YOUNG UNIVE RSITY
(43)公表日	令和4年9月26日(2022.9.26)		アメリカ合衆国ユタ州84602-68
(86)国際出願番号	PCT/US2020/043563		44, プロヴォ, エイチビーエルエル
(87)国際公開番号	WO2021/016583		3760, テクノロジー・トラアンスフ
(87)国際公開日	令和3年1月28日(2021.1.28)		ァー・オフィス
審査請求日	令和5年2月16日(2023.2.16)	(74)代理人	100118902
(31)優先権主張番号	62/878,199		弁理士 山本 修
(32)優先日	令和1年7月24日(2019.7.24)	(74)代理人	100106208
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 宮前 徹
		(74)代理人	100196508
			弁理士 松尾 淳一
		(74)代理人	100106080
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 骨結合化合物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の式（I）：

B-L-C （I）

（式中、

Bは、骨結合部分であり、前記骨結合部分が、ビスホスホネートであり；

Lは、リンカーであり；

Cは、カチオン性ステロイド抗菌薬（CSA）部分である）

を有する化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項2】

前記CSAが、CSA-8、CSA-13、CSA-44、CSA-90、CSA-91、CSA-124、CSA-131、CSA-133、CSA-138、CSA-142、CSA-190、CSA-191、およびCSA-192からなる群から選択される、請求項1に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項3】

前記CSAが、CSA-13、CSA-90、またはCSA-131である、請求項2に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項4】

前記ビスホスホネートが、エチドロネート、クロドロネート、チルドロネート、パミドロネート、メドロネート、エチドロネート、ネリドロネート、オルパドロネート、アレンド

ロネート、イバンドロネート、アミノメチレンジホスホネート、リセドロネート、およびゾレドロネートからなる群から選択される、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項 5】

前記ビスホスホネートが、アレンドロネート、パミドロネート、およびネリドロネートからなる群から選択される、請求項 4 に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項 6】

前記リンカーが、親水性である、及び／又は約 2 k D a 未満の分子量を有する、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

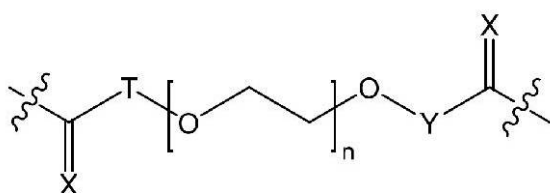
【請求項 7】

前記リンカーが、ポリエチレングリコール（P E G）を含む、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項 8】

前記リンカーが、以下の構造：

【化 1】



（式中、

X は、独立して、O および S から選択され；

T は、非存在であるか、または 1～15 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

Y は、非存在であるか、または 1～15 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

n は、1～30 の整数であり；

波線は、前記 C S A および骨結合部分への結合点を表す）

を有する、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項 9】

X は、O であり；

T は、1～6 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

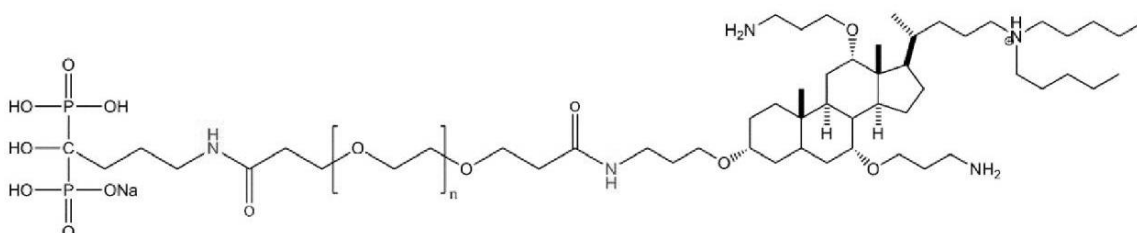
Y は、1～6 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

n は、10～20 の整数である、請求項 8 に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項 10】

以下の構造：

【化 2】



（式中、n は、1～50 であり、例えば、n は、1～30 である）

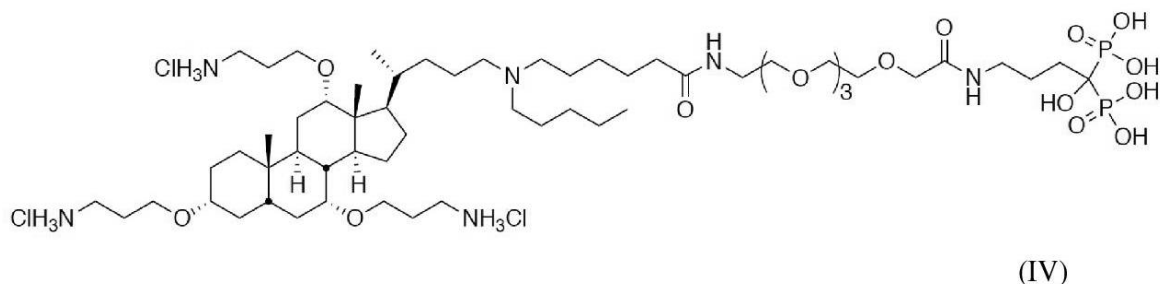
を有し、約 1.5 k D a～2.5 k D a の分子量を有する、請求項 1～9 のいずれか一項

に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項 1 1】

以下の構造：

【化 3】



10

を有する、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

【請求項 1 2】

請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態と薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物。

【請求項 1 3】

全身投与、例えば、経口投与、非経口投与または静脈内投与に好適である、請求項 1 2 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 1 4】

請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容できる塩形態を含む医薬。

【請求項 1 5】

対象における骨の感染の処置のために用いられる請求項 1 2 または 1 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 6】

対象における骨髓炎の処置のために用いられる請求項 1 2 または 1 3 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 1 7】

対象において骨形成を促進するために用いられる請求項 1 2 または 1 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 8】

対象における骨がんまたは転移性骨がんの処置のために用いられる請求項 1 2 または 1 3 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本開示は、抗生物質化合物、特に、骨に結合し、かつ骨感染の処置において有用な抗生物質化合物に関する。

40

【背景技術】

【0 0 0 2】

本明細書全体を通した先行技術のすべての説明は、そのような先行技術が広く公知であるか、または本分野の共通の一般知識の部分を形成するとの承認であるとは決して考えられるべきではない。

【0 0 0 3】

開放骨折の感染は、全世界の疾病率および死亡率の主要な原因である (Tayら Injury. 2014. 45:1653~1658; Wu. Orthop Res Rev. 2013. 5:21~33)。創傷が見かけ上は汚染されていない場合でさえも、開放骨

50

折は、概して、同等の閉鎖骨折と比較して感染する高いリスクを有する。また、骨感染は、骨折の非存在下でも生じ得る。例えば、骨髓炎では、細菌は、血流を介して、または近くの組織から、例えば糖尿病性足感染症から、広がることにより骨に達し得る。また、感染は、骨を細菌へ曝露する外傷後に、骨において発生し得る。加えて、インプラントは、骨感染を引き起こすことがある。

【0004】

骨感染を処置することは、それらの比較的低い血管新生、および身体内の軟組織の下というそれらの場所のために複雑である。高用量の全身薬および長期処置レジメンが、感染部位に有効濃度の薬物を提供するために必要とされ得る。しかしながら、これは、有害な副作用をもたらすことがあり、これにより、ある特定の抗生物質の使用を制限する。抗生物質の手術部位への局所送達が探索されてきたが、このアプローチはまだ実験段階であり、開放手術部位を必要とする。さらに、長期間にわたる広範な抗生物質使用は、細菌の抗生物質抵抗性株の発達をもたらした。市中感染性抗生物質抵抗性株、例えば、メチシリン抵抗性 *Staphylococcus aureus*、メチシリン抵抗性 *Staphylococcus epidermidis*、バンコマイシン抵抗性 *Staphylococcus spp.*、およびトブラマイシン抵抗性 *Pseudomonas aeruginosa* の発生が拡大しており、最大25%の率が米国で報告されている (Chenら Clin Orthop Relat Res. 2013. 471:3135~3140; Stevens. Curr Opin Infect Dis. 2003. 16:189~191)。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

この関係において、新しい抗生物質および抗生物質治療、特に整形外科適用のための抗生物質および抗生物質治療についての要求が存在する。

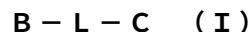
【課題を解決するための手段】

【0006】

本開示は、抗生物質化合物、特に、骨に結合し、かつ骨感染の処置において有用な抗生物質化合物に関する。本開示につながる研究において、本発明者らは、カチオン性ステロイド抗菌薬 (CSA) を、リンカーを介して骨結合部分にコンジュゲートした。存在している感染の処置、および後の感染に対する予防または高い感染リスクの場合の予防の両方のために、骨結合部分は、CSA部分を骨ヘターゲティングし、これにより、骨感染部位におけるその濃度を増加させる。

【0007】

以下の式 (I) :



(式中、Bは、骨結合部分であり；Lは、リンカーであり；Cは、カチオン性ステロイド抗菌薬 (CSA) 部分である)

を有する化合物またはその薬学的に許容できる塩形態が、本明細書で開示される。

【0008】

一部の実施形態では、CSAは、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、およびCSA-192からなる群から選択される。一部の実施形態では、CSAは、CSA-90である。

【0009】

一部の実施形態では、骨結合部分は、ビスホスホネート、例えば、エチドロネート、クロドロネート、チルドロネート、パミドロネート、メドロネート、エチドロネート、ネリドロネート、オルパドロネート、アレンドロネート、イバンドロネート、アミノメチレンジホスホネート、リセドロネート、およびゾレドロネートからなる群から選択されるビス

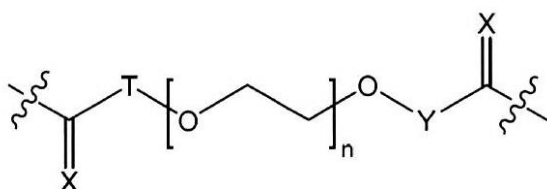
ホスホネートである。一部の実施形態では、ビスホスホネートは、アレンドロネート、パミドロネート、およびネリドロネートからなる群から選択される。一部の実施形態では、ビスホスホネートは、アレンドロネートである。

【0010】

一部の実施形態では、リンカーは、親水性である。一部の実施形態では、リンカーは、約2 kDa未満の分子量を有する。一部の実施形態では、リンカーは、ポリエチレングリコール（PEG）を含み、例えば、リンカーは、式（II）の構造：

【0011】

【化1】



(II)

10

【0012】

（式中、

Xは、独立して、OおよびSから選択され；

Tは、非存在であるか、または1～15個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

Yは、非存在であるか、または1～15個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

nは、1～30の整数であり；

波線は、CSAおよび骨結合部分への結合点を表す）

を有する。

【0013】

一部の実施形態では、Xは、Oである。一部の実施形態では、Tは、1～15個の炭素原子を有するアルカンジイル基である。一部の実施形態では、Yは、1～15個の炭素原子を有するアルカンジイル基である。一部の実施形態では、Tは、1～6個の炭素原子を有するアルカンジイル基である。一部の実施形態では、Yは、1～6個の炭素原子を有するアルカンジイル基である。一部の実施形態では、nは、10～20の整数である。

20

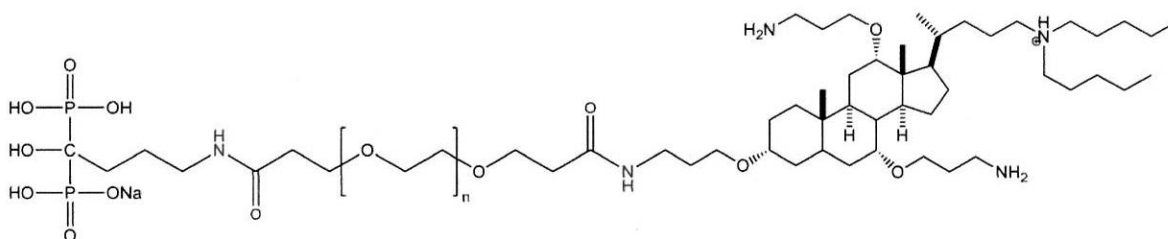
30

【0014】

一部の実施形態では、化合物は、式（III）の構造：

【0015】

【化2】



(III)

40

【0016】

（式中、nは、1～50である）

を有する。一部の実施形態では、nは、1～30である。一部の実施形態では、化合物は、約1.5 kDa～約2.5 kDaの分子量を有する。

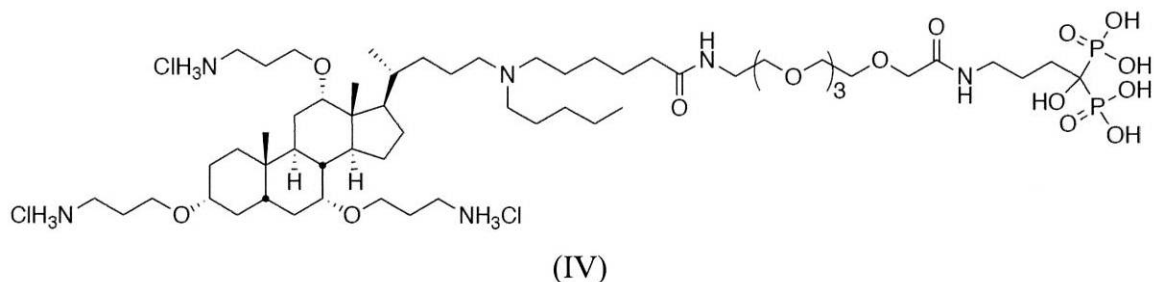
【0017】

一部の実施形態では、化合物は、式（IV）の構造：

【0018】

50

【化 3】



10

【0019】

を有する。

また、本明細書で開示される化合物と薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物が提供される。一部の実施形態では、組成物は、全身投与に好適である。一部の実施形態では、組成物は、経口投与または非経口投与に好適である。一部の実施形態では、組成物は、静脈内投与に好適である。

【0020】

また、対象において骨の感染を処置する方法であって、対象に、本明細書で開示される化合物または医薬組成物を投与するステップを含む方法が提供される。一部の実施形態では、感染は、細菌感染、例えば、*Staphylococcus aureus* 感染、*Staphylococcus epidermidis* 感染、または *Pseudomonas aeruginosa* 感染である。一部の実施形態では、骨は、骨折を含む。

20

【0021】

また、対象において骨髄炎を処置する方法であって、対象に、本明細書で開示される化合物または医薬組成物を投与するステップを含む方法が提供される。一部の実施形態では、骨髄炎は、*Staphylococcus aureus* 感染、*Staphylococcus epidermidis* 感染、または *Pseudomonas aeruginosa* 感染と関連付けられる。

【0022】

また、対象において骨形成を促進する方法であって、対象に、本明細書で開示される化合物または医薬組成物を投与するステップを含む方法が提供される。一部の実施形態では、対象は、骨折、脊髄損傷、椎間板変性症 (spinal disc degeneration)、パジェット病、骨がん、転移性骨がん、および骨粗鬆症からなる群から選択される骨障害に罹患している。一部の実施形態では、対象の骨は、1種または複数種の細菌、例えば、*Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis*、または *Pseudomonas aeruginosa* のうちの1種または複数種に感染している。

30

【0023】

一部の実施形態では、化合物または医薬組成物は、対象に全身投与される。一部の実施形態では、化合物または医薬組成物は、対象に経口投与または非経口投与される。一部の実施形態では、化合物または医薬組成物は、対象に静脈内投与される。一部の実施形態では、対象は、哺乳動物である。一部の実施形態では、対象は、ヒトである。

40

【0024】

また、対象における骨の感染の処置のための医薬の製造における、本明細書で開示される化合物または医薬組成物の使用が提供される。

また、対象における骨髄炎の処置のための医薬の製造における、本明細書で開示される化合物または医薬組成物の使用が提供される。

【0025】

また、対象において骨形成を促進するための医薬の製造における、本明細書で開示される化合物または医薬組成物の使用が提供される。

50

また、対象における骨がんまたは転移性骨がんの処置のための医薬の製造における、本明細書で開示される化合物または医薬組成物の使用が提供される。

本発明の態様

態様 1

以下の式 (I) :



(式中、

B は、骨結合部分であり；

L は、リンカーであり；

C は、カチオン性ステロイド抗菌薬 (CSA) 部分である)

を有する化合物またはその薬学的に許容できる塩形態。

10

態様 2

前記 CSA が、CSA-8、CSA-13、CSA-44、CSA-90、CSA-91、CSA-124、CSA-131、CSA-133、CSA-138、CSA-142、CSA-190、CSA-191、および CSA-192 からなる群から選択され、例えば、前記 CSA が、CSA-13、CSA-90、または CSA-131、好ましくは CSA-90 である、態様 1 に記載の化合物。

態様 3

前記骨結合部分が、ビスホスホネートであり、例えば、前記ビスホスホネートが、エチドロネート、クロドロネート、チルドロネート、パミドロネート、メドロネート、エチドロネート、ネリドロネート、オルパドロネート、アレンドロネート、イバンドロネート、アミノメチレンジホスホネート、リセドロネート、およびゾレドロネートからなる群から選択され、好ましくは、前記ビスホスホネートが、アレンドロネート、パミドロネート、およびネリドロネートからなる群から選択され、より好ましくは、前記ビスホスホネートが、アレンドロネートである、態様 1 または 2 に記載の化合物。

20

態様 4

前記リンカーが、親水性である、態様 1～3 のいずれかに記載の化合物。

態様 5

前記リンカーが、約 2 kDa 未満の分子量を有する、態様 1～4 のいずれかに記載の化合物。

30

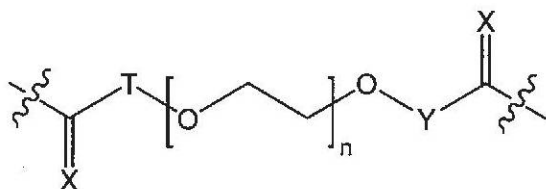
態様 6

前記リンカーが、ポリエチレングリコール (PEG) を含む、態様 1～5 のいずれかに記載の化合物。

態様 7

前記リンカーが、以下の構造：

【化 A】



40

(式中、

X は、独立して、O および S から選択され；

T は、非存在であるか、または 1～15 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

Y は、非存在であるか、または 1～15 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

n は、1～30 の整数であり；

波線は、前記 CSA および骨結合部分への結合点を表す)

50

を有する、態様 1 ～ 6 のいずれかに記載の化合物。

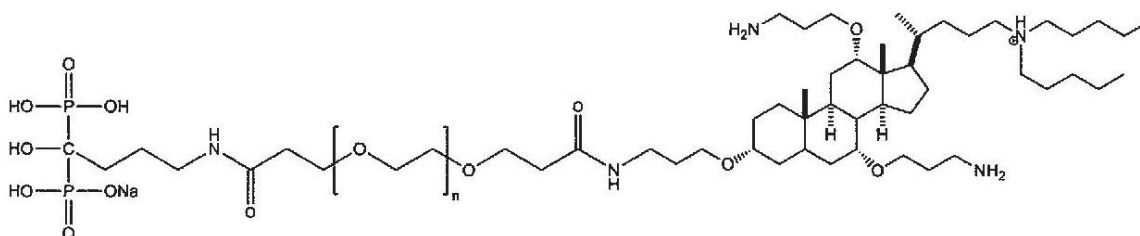
態様 8

X が、O であり、Y が、1 ～ 15 個の炭素原子を有するアルカンジイル基、例えば、1 ～ 6 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり、Z が、1 ～ 15 個の炭素原子を有するアルカンジイル基、例えば、1 ～ 6 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり、n が、10 ～ 20 の整数である、態様 7 に記載の化合物。

態様 9

以下の構造：

【化 B】



10

(式中、n は、1 ～ 50 であり、例えば、n は、1 ～ 30 である)

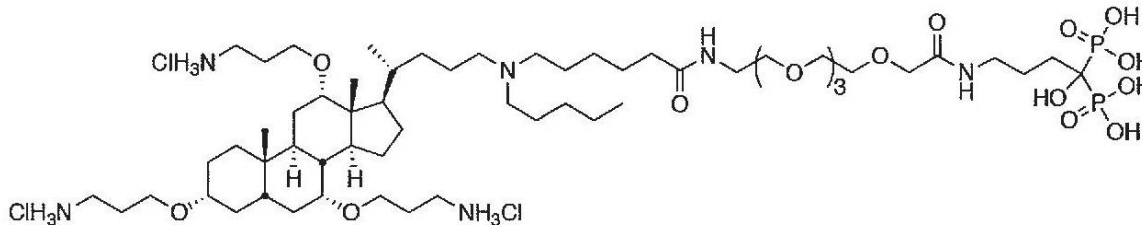
を有し、約 1.5 kDa ～ 2.5 kDa の分子量を有する、態様 1 ～ 8 のいずれかに記載の化合物。

20

態様 10

以下の構造：

【化 C】



30

(IV)

を有する、態様 1 ～ 8 のいずれかに記載の化合物。

態様 11

態様 1 ～ 10 のいずれかに記載の化合物と薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物。

態様 12

全身投与に好適である、態様 11 に記載の医薬組成物。

態様 13

経口投与または非経口投与に好適である、態様 11 または 12 に記載の医薬組成物。

40

態様 14

静脈内投与に好適である、態様 11 または 12 に記載の医薬組成物。

態様 15

対象において骨の感染を処置する方法であって、前記対象に、態様 1 ～ 10 のいずれかに記載の化合物または態様 11 ～ 14 のいずれかに記載の医薬組成物を投与するステップを含む方法。

態様 16

前記感染が、細菌感染であり、例えば、前記感染が、*Staphylococcus aureus* 感染、*Staphylococcus epidermidis* 感染、または

50

Pseudomonas aeruginosa感染である、態様15に記載の方法。

態様17

前記骨が、骨折を含む、態様15または16に記載の方法。

態様18

前記化合物または前記医薬組成物が、前記対象に全身投与される、態様15～17のいずれかに記載の方法。

態様19

前記化合物または前記医薬組成物が、前記対象に経口または非経口投与される、態様15～18のいずれかに記載の方法。

態様20

前記化合物または前記医薬組成物が、前記対象に静脈内投与される、態様15～18のいずれかに記載の方法。

態様21

前記対象が、哺乳動物であり、例えば、前記対象が、ヒトである、態様15～20のいずれかに記載の方法。

態様22

対象において骨髄炎を処置する方法であって、前記対象に、態様1～10のいずれかに記載の化合物または態様11～14のいずれかに記載の医薬組成物を投与するステップを含む方法。

態様23

前記骨髄炎が、Staphylococcus aureus感染、Staphylococcus epidermidis感染、またはPseudomonas aeruginosa感染と関連付けられる、態様22に記載の方法。

態様24

前記化合物または前記医薬組成物が、前記対象に経口または非経口投与される、態様22または23に記載の方法。

態様25

前記化合物または前記医薬組成物が、前記対象に静脈内投与される、態様22または23に記載の方法。

態様26

前記対象が、哺乳動物であり、例えば、前記対象が、ヒトである、態様23～25のいずれかに記載の方法。

態様27

対象において骨形成を促進する方法であって、前記対象に、態様1～10のいずれかに記載の化合物または態様11～14のいずれかに記載の医薬組成物を投与するステップを含む方法。

態様28

前記対象が、骨折、脊髄損傷、椎間板変性症、パジェット病、骨がん、転移性骨がん、および骨粗鬆症からなる群から選択される骨障害に罹患している、態様27に記載の方法。

態様29

前記対象の骨が、1種または複数種の細菌、例えば、Staphylococcus aureus、Staphylococcus epidermidis、またはPseudomonas aeruginosaのうちの1種または複数種に感染している、態様27または28に記載の方法。

態様30

前記化合物または前記医薬組成物が、前記対象に全身投与される、態様27～29のいずれかに記載の方法。

態様31

前記化合物または前記医薬組成物が、前記対象に経口または非経口投与される、態様27～30のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

態様 3 2

前記化合物または前記医薬組成物が、前記対象に静脈内投与される、態様 2 7 ～ 3 0 のいずれかに記載の方法。

態様 3 3

前記対象が、哺乳動物であり、例えば、前記対象が、ヒトである、態様 2 7 ～ 3 2 のいずれかに記載の方法。

態様 3 4

対象における骨の感染の処置のための医薬の製造における、態様 1 ～ 1 0 のいずれかに記載の化合物または態様 1 1 ～ 1 4 のいずれかに記載の医薬組成物の使用。

態様 3 5

対象における骨髄炎の処置のための医薬の製造における、態様 1 ～ 1 0 のいずれかに記載の化合物または態様 1 1 ～ 1 4 のいずれかに記載の医薬組成物の使用。

態様 3 6

対象において骨形成を促進するための医薬の製造における、態様 1 ～ 1 0 のいずれかに記載の化合物または態様 1 1 ～ 1 4 のいずれかに記載の医薬組成物の使用。

態様 3 7

対象における骨がんまたは転移性骨がんの処置のための医薬の製造における、態様 1 ～ 1 0 のいずれかに記載の化合物または態様 1 1 ～ 1 4 のいずれかに記載の医薬組成物の使用。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図 1】図 1 A は、B B A - 1 の H P L C プロファイルである。図 1 B は、純粋な N H S - P E G - C O O H リンカーの H P L C プロファイルである。図 1 C は、純粋な C S A - 9 0 の H P L C プロファイルである。

【図 2】図 2 A は、アレンドロネートの F T - I R スペクトルである。図 2 B は、C S A - 9 0 の F T - I R スペクトルである。図 2 C は、N H S - P E G - C O O H リンカーの F T - I R スペクトルである。図 2 D は、B B A - 1 の F T - I R スペクトルである。

【図 3 A】図 3 A は、B B A - 1、N H S - P E G - C O O H リンカー、C S A - 9 0、およびアレンドロネートの ^1H N M R スペクトルである。

【図 3 B】図 3 B は、B B A - 1 およびアレンドロネートの ^{31}P N M R スペクトルである。

【図 4】図 4 A は、S . aureus および M R S A に対する K i r b y B a u e r アッセイを示す（結果は、三重の各試料を含有する単一の実験からの結果である）。図 4 B は、阻止円の代表的な画像を示す（S . aureus および M R S A に対する K i r b y B a u e r アッセイ）。図 4 C は、C S A - 9 0 および B B A - 1 の M I C および M B C を示す。

【図 5】図 5 A は、H A 結合アッセイを示す。図 5 B は、H A 結合アッセイを示す。

【図 6】図 6 は、B B A - 1 の、培養した骨芽細胞に対する骨形成促進効果を試験するアルカリホスファターゼ活性アッセイ（p - ニトロフェニルホスフェート）を示す。

【図 7】図 7 は、B B A - 1 および C S A - 9 0 によるメバロン酸経路に対する効果の欠如を示すタンパク質プレニル化アッセイを示す。

【図 8】図 8 は、軟組織の拭き取り検体アッセイに関して感染を示すマウスに投与された B B A - 1 に関する毒性研究からのデータである。

【図 9】図 9 は、脚アッセイに関して感染を示すマウスに投与された B B A - 1 に関する毒性研究からのデータである。

【発明を実施するための形態】

【0027】

定義

「a」および「an」という冠詞は、本明細書で使用され、その冠詞の文法的目的物の 1 つまたは 2 つ以上（すなわち、少なくとも 1 つ）を指す。

10

20

30

40

50

【0028】

「約」という用語は、±10%、例えば、±5%、または±1%、または±0.1%の範囲を指すと理解される。

「同時投与」または「同時に投与すること」または「共投与すること」という用語などは、2つもしくはそれよりも多くの活性物質を含有する単一の組成物の投与、または有効な結果が、すべてのそのような活性物質が単一の組成物として投与された場合に得られる結果と同等であるほど十分に短い期間内の、各活性物質の、同時期のもしくは一斉のもしくは逐次的な、別々の組成物としての投与および／もしくは別々の経路により送達される投与を指す。「一斉に」により、活性剤が、実質的に同じ時間に、好ましくは一緒に同じ製剤中で、投与されることを意味する。

10

【0029】

本明細書および特許請求の範囲における「含む (comprise)」、「含む (comprises)」、「含まれる (comprised)」もしくは「含む (comprising)」、「含む (including)」、または「有する (having)」という用語などは、包括的な意味で、すなわち、指定された特色の存在を特定するが、追加のまたはさらなる特色の存在を除外しないために使用される。

【0030】

「薬学的に許容できる」という用語は、本明細書で使用される場合、対象に投与されたとき、実質的な、有害なアレルギー反応または免疫学的反応を引き起こさない物質を指す。「薬学的に許容できる担体」は、溶媒、コーティング、分散剤、湿潤剤、等張剤および吸収遅延剤、ならびに崩壊剤を含むが、これらに限定されない。

20

【0031】

「予防」とは、状態または障害のリスク、発生、および／または重症度の低減を含む。「処置」および「処置する」という用語は、予防処置または防止処置（ターゲティングされた病理学的状態または障害の発症を予防および／または遅延させる）、ならびに病理学的状態または障害の症状を治癒、減速、減少させ、および／またはその進行を停止させる治療手段を含む治癒処置、治療処置、または疾患改変処置の両方；ならびに疾患に罹患するリスクに晒されているかまたは疾患を罹患したことが疑われる患者、および病気であるかまたは疾患もしくは医学的状态に罹患していると診断された患者の処置を含む。「処置」および「処置する」という用語は、対象が、完全な回復まで処置されることを必ずしも意味しない。また、「処置」および「処置する」という用語は、疾患に罹患していないが、不健康な状態を発達しやすい場合がある個体の健康の維持および／または促進を指す。また、「処置」および「処置する」という用語は、1つまたは複数の主要な予防手段または治療手段の増強または別の方法の増進を含むと意図される。非限定的な例として、処置は、患者、介護者、医師、看護師、または別の医療専門家により行うことができる。

30

【0032】

「アルカンジイル」という用語は、式 C_nH_{2n} と一致する二価飽和分岐鎖または直鎖炭化水素基を指すと理解される。

【0033】

カチオン性ステロイド抗菌薬部分

40

カチオン性ステロイド抗菌薬 (CSA) またはセラゲニン (ceragenin) は、内因性抗細菌ペプチドの活性を模倣するように設計された合成化合物である。それらは、典型的に、カチオン性であり、細菌、真菌、およびウイルスに対する活性を含む広範な抗菌活性スペクトル、ならびに抗炎症活性および免疫調節活性を有する。100種類を超える CSA が合成されている。

【0034】

また、CSA-13、CSA-90、および CSA-131 のような CSA は、骨形成を促進または向上させることが報告されている (米国特許第 9,694,019 号; Schindeler ら J Bone Joint Surg Am. 2015. 97 (4) : 302~309)。骨は、動的組織であり、そのホメオスタシスは、骨形成と骨吸収と

50

の間の平衡を表す。骨形成において、成体幹細胞は、骨前駆細胞（すなわち、骨細胞前駆細胞）に分化し、骨前駆細胞は、骨芽細胞、骨細胞へと成熟し、成熟した骨および石灰化骨基質を形成する能力を有する。骨吸収において、破骨細胞（骨組織を吸収する細胞）は、石灰化骨基質を分解し、骨表面上に空洞を作出する。骨組織のそれ自体を若返らせる能力にもかかわらず、非癒合性骨折を修復することおよび骨欠損を再生させることは、大きな課題のままである。実際に、骨は、現在、最も移植されている組織として血液に次ぐものである。この関係において、本明細書で説明される化合物は、骨形成を促進するためおよび／または骨障害を処置するために有用であり得る。

【0035】

C S A - 9 0 は、ヒトカテリシジン L L - 3 7 などの内因性カチオン性抗細菌ペプチドに基づく合成小ペプチドミメティック化合物である。L L - 3 7 は、気道粘液に見出され、肺内の細菌増殖の制御において重要な役割を果たすと考えられる。C S A - 9 0 のステロイド様構造は、それが細胞膜を破壊することを可能にし、それゆえ、バンコマイシンおよびメチシリン抵抗性株を含むグラム陽性およびグラム陰性細菌に対する広範な活性を与える。

【0036】

本明細書で説明される化合物は、リンカーを介して骨結合部分にコンジュゲートされた C S A 部分を含む。C S A 部分は、任意の好適な C S A、例えば、C S A - 8、C S A - 1 3、C S A - 4 4、C S A - 9 0、C S A - 9 1、C S A - 1 2 4、C S A - 1 3 1、C S A - 1 3 3、C S A - 1 3 8、C S A - 1 4 2、C S A - 1 4 4、C S A - 1 9 0、C S A - 1 9 1、または C S A - 1 9 2 であり得る。一部の例では、C S A は、

【0037】

10

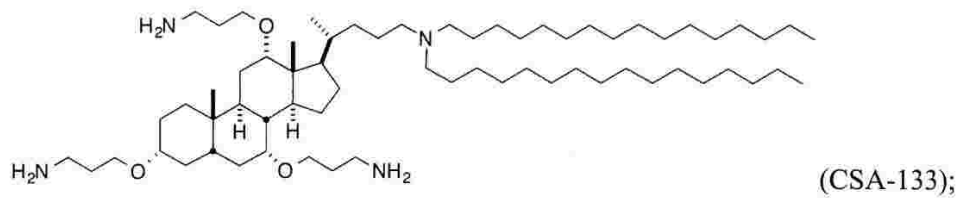
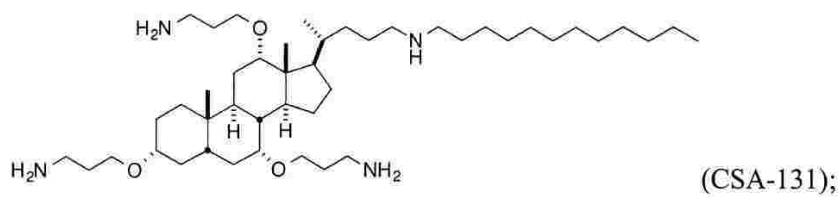
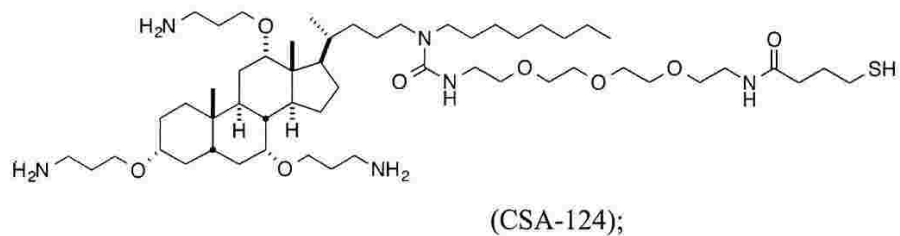
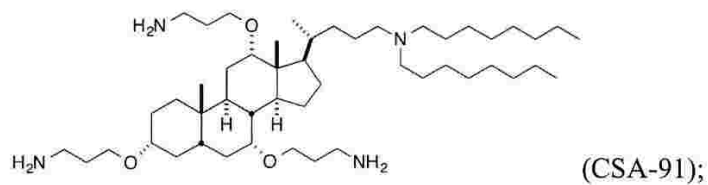
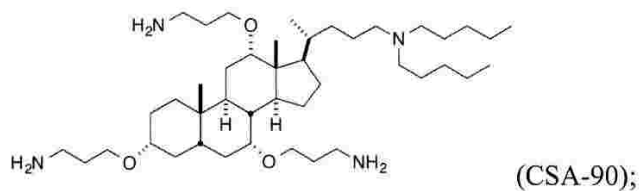
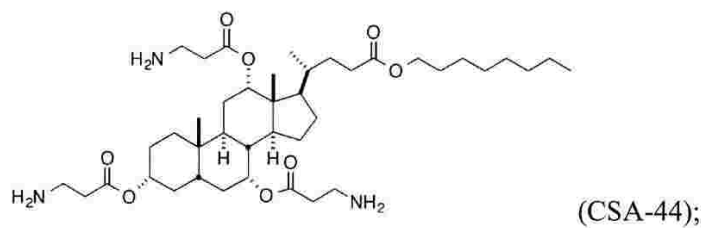
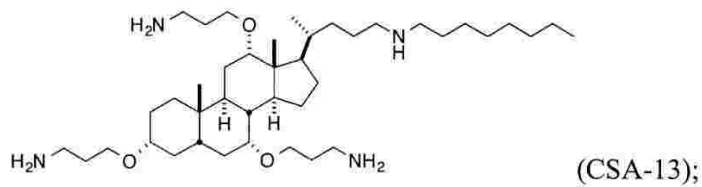
20

30

40

50

【化 4 - 1】



【 0 0 3 8】

10

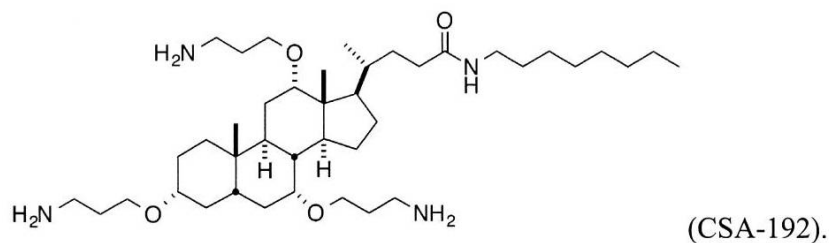
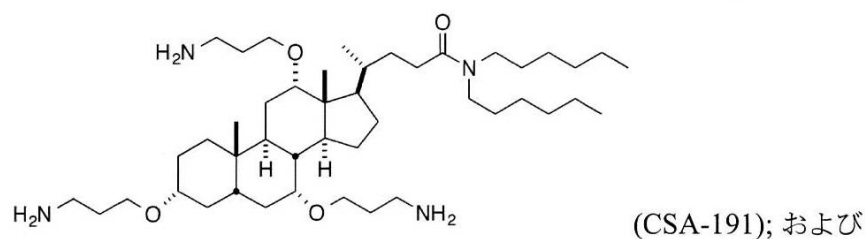
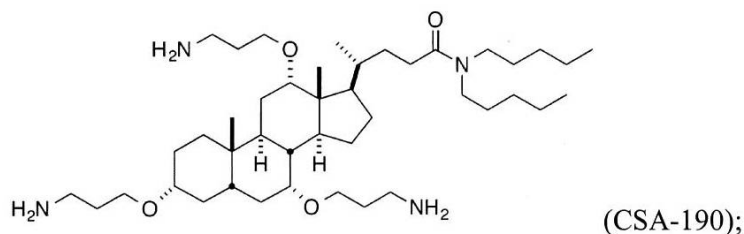
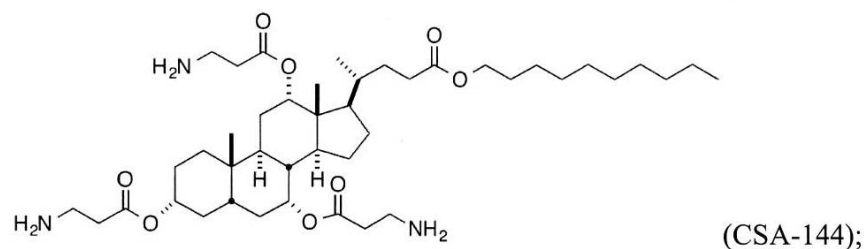
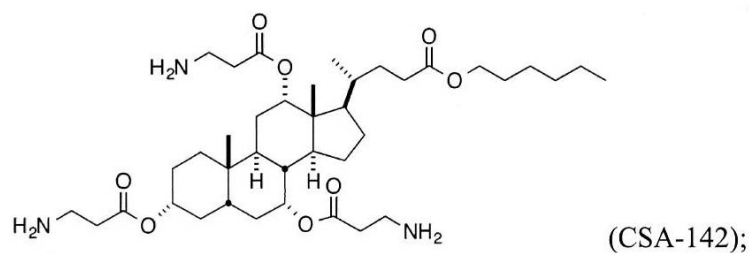
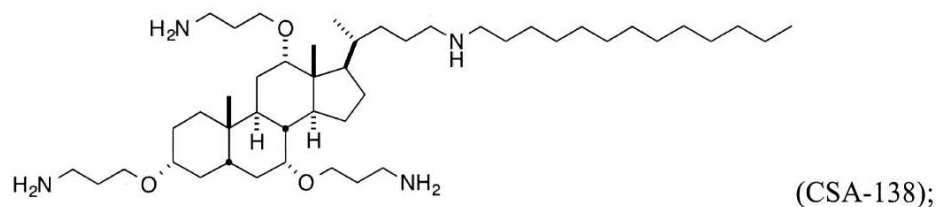
20

30

40

50

【化 4 - 2】



【 0 0 3 9】

からなる群から選択される。

一部の実施形態では、CSA 部分は、CSA-13、CSA-90、または CSA-131 である。ある特定の例では、CSA 部分は、CSA-90 である。

【 0 0 4 0】

CSA 部分は、CSA 部分のアミノ基を介してリンカーに結合されるか、または CSA 分子のアルキル側にコンジュゲートされたリンカーに結合され得る。

例の CSA およびそれらの製造方法は、米国特許第 6,350,738 号、同第 6,486,148 号、同第 6,767,904 号、同第 7,598,234 号、同第 7,75

4, 705号、同第8, 691, 252号、同第8, 975, 310号、同第9, 434, 759号、同第9, 527, 883号、同第9, 943, 614号、同第10, 155, 788号、同第10, 227, 376号、同第10, 370, 403号、および同第10, 626, 139号、米国特許公開公報第2016/0311850号および同第2017/0210776号、ならびに米国仮特許出願第63/025, 255号および同第63/028, 249号において説明されており、当該特許、公開公報、および特許出願は参照により本明細書に組み込まれる。

【0041】

骨結合部分

本明細書で説明される骨結合部分は、骨に結合し、これにより、本開示の化合物を骨にターゲティングする化学基である。特定の部分の骨結合能力は、いくつかの異なる方法でアッセイすることができる。例えば、骨結合は、骨の主要な無機構成要素である鉱物である、ヒドロキシアパタイト（HA）に結合させることによりアッセイすることができる。ヒドロキシアパタイト（HA）親和性アッセイは、部分にコンジュゲートされた化合物を、i) 水およびii) HAを含む水中でインキュベートすることにより行うことができる。部分が骨結合性である場合、HA溶液の水相において検出される化合物の量は、化合物がHA表面に結合または吸収するにつれて、減少すると予想される（例えば、実施例4を参照されたい）。対照として、骨結合部分を欠く化合物を同じ方法でアッセイしてもよい。当業者は、特定の部分の骨結合能力を評価することができる他の方法に精通しているであろう。

【0042】

本開示における使用のための好適な骨結合部分は、例えば、ポリヒドキシ（polyhydroxy）含有部分、テトラサイクリン誘導体、酸性アミノ酸またはペプチド、ヒドロキシル化複素環（hydroxylated heterocycle）、モノホスホネート、ビスホスホネート、抗体または抗原結合性断片を含み得る。一部の実施形態では、骨結合部分は、ビスホスホネートである。

【0043】

ビスホスホネートは、一般的に、ホスフェート-炭素-ホスフェート骨格を含み、骨中に見出される主要な鉱物成分であるヒドロキシアパタイト（HA）に、ビスホスホネートのリン酸基とHA中のカルシウムイオンとの間の配位により結合する。ビスホスホネートは、その末端官能基（アミノ-ビスホスホネート中のアミン基）、ジェミナル炭素を介して、またはそのリン酸基のいずれかを介してリンカーに結合され得る。一部の実施形態では、リンカーは、ビスホスホネートのジェミナル炭素に結合した末端官能基、例えばアミノ基もしくはヒドロキシ基、または他の反応基を介してビスホスホネートに結合される。本開示に従って使用され得るビスホスホネート骨結合部分の例は、エチドロネート、クロドロネート、チルドロネート、パミドロネート、メドロネート、エチドロネート、ネリドロネート、オルパドロネート、アレンドロネート、イバンドロネート、アミノメチレンジホスホネート、リセドロネート、およびゾレドロネートを含み得る。好ましくは、骨結合部分は、アレンドロネートである。

リンカーおよび化合物バリエーション

式（I）：

B-L-C（I）

（式中、Bは、骨結合部分であり、Lは、リンカーであり、Cは、CSAである）

で示される通り、本明細書で説明されるリンカーは、CSA部分を骨結合部分に共有結合する。式（I）は、方向性はなく、C-L-Bと等しく表すことができることが理解されよう。

【0044】

リンカーは単一の共有結合からなる小さいものであってもよく、またはリンカーは10 kDaに達するかもしくはそれよりも大きい、より大きな部分であってもよい。一部の実施形態では、リンカーは、約10 kDa未満、例えば、約9 kDa未満、または約8 kDa

a 未満、または約 7 kDa 未満、または約 6 kDa 未満、または約 5 kDa 未満、または約 4 kDa 未満、または約 3 kDa 未満、または約 2 kDa 未満、例えば約 1 kDa もしくはそれ未満の分子量を有する。ある特定の例では、リンカーは、約 0.2 kDa ~ 10 kDa、例えば、約 0.3 kDa ~ 9 kDa、または約 0.4 kDa ~ 8 kDa、または約 0.5 kDa ~ 7 kDa、または約 0.5 kDa ~ 6 kDa、または約 0.5 kDa ~ 5 kDa、または約 0.5 kDa ~ 4 kDa、または約 0.5 kDa ~ 3 kDa、または約 0.5 kDa ~ 2 kDa、または約 0.5 kDa ~ 1.5 kDa である。

【0045】

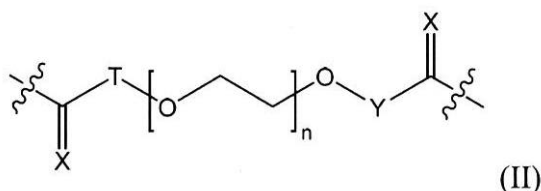
リンカーは、例えば、エーテル、エステル、チオエステル、ホスホエステル、アミド、ペプチド（例えば、ジペプチド）、ポリペプチド、多糖、疎水性リンカー（例えば、直鎖（straight）アルカン、脂肪酸など）、またはそれらの任意の組合せを含み得る。リンカーは、切断可能なリンカー、例えば、加水分解性リンカー（例えば、カルバメートリンカー）もしくはカテプシン感受性リンカー、または切断不能なリンカーであってもよい。リンカーは、好ましくは、化合物が骨に達することを可能にするのに十分な期間（例えば、1 時間超、例えば、6 時間超、または 12 時間超、または 18 時間超、または 24 時間超）、血流中で安定である。リンカーは、親水性であってもよい。一部の実施形態では、リンカーは、ポリエチレングリコール（PEG）であるか、またはそれを含む。PEG リンカーは、前の段落で定義される分子量を有し得る。

【0046】

一実施形態では、リンカーは、式（II）の構造：

【0047】

【化 5】



【0048】

（式中、

X は、独立して、O および S から選択され；

T は、非存在であるか、または 1 ~ 15 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

Y は、非存在であるか、または 1 ~ 15 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり；

n は、1 ~ 30 の整数であり；

波線は、CSA および骨結合部分への結合点を表す）を有する。

【0049】

T は、1 ~ 12 個の炭素原子、または 1 ~ 10 個の炭素原子、または 1 ~ 8 個の炭素原子、または 1 ~ 6 個の炭素原子、または 1 ~ 5 個の炭素原子、または 1 ~ 4 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり得る。

【0050】

Y は、1 ~ 12 個の炭素原子、または 1 ~ 10 個の炭素原子、または 1 ~ 8 個の炭素原子、または 1 ~ 6 個の炭素原子、または 1 ~ 5 個の炭素原子、または 1 ~ 4 個の炭素原子を有するアルカンジイル基であり得る。

【0051】

一部の実施形態では、T および Y は、-CH₂CH₂- である。

n は、約 2 ~ 約 25、または約 2 ~ 約 25、または約 3 ~ 約 25、または約 4 ~ 約 25、または約 5 ~ 約 25、または約 6 ~ 約 25、または約 2 ~ 約 20、または約 2 ~ 約 20、または約 3 ~ 約 20、または約 4 ~ 約 20、または約 5 ~ 約 20、または約 6 ~ 約 20、または約 10 ~ 約 30、または約 10 ~ 約 25、または約 10 ~ 約 20、または約 15

～約 25、または約 12～約 20 の整数であり得る。

【0052】

一部の実施形態では、リンカーは、CSAのアミノ基を介してCSA部分に結合され得る。同様に、リンカーは、骨結合部分のアミノ基を介して骨結合部分に結合され得る。

式(I)により表される化合物は、他の特色、例えば、さらなるコンジュゲートまたは部分を含んでもよい。例えば、化合物は、CSAに加えて第2の抗生物質部分を含んでもよい。そのような例では、CSAは、第2の抗生物質部分に直接的にコンジュゲートされていてもよく、例えば、 A_2 が第2の抗生物質部分である、 $B-L-C-A_2$ の形態で第2の抗生物質部分に直接的にコンジュゲートされていてもよい。あるいは、CSAおよび第2の抗生物質部分は、例えば、 $A_2-B-L-C$ の形態で、化合物の反対の末端に結合していてもよい。好適な第2の抗生物質は、シプロフロキサシン、ゲムシタピン、パクリタキセル、シタラピン、リファラジル、ノルフロキサシン、エノキサシン、ガチフロキサシン、モキシフロキサシン、フルオロキノロンエステル、ベンゾキサジノリファマイシン、アミノグリコシド、ポリエン、ニトロイミダゾール、リファマイシン、バシトラシン、ベータラクタム、セファロスポリン、クロラムフェニコール、グリコペプチド、マクロライド、リンコサミド、ペニシリン、キノロン、リファンピシン、テトラサイクリン、トリメトプリム、スルホンアミド、アモキシシリン、オーグメンチン、アモキシシリン、アンピシリン、アズロシリン、フルクロキサシリン、メズロシリン、メチシリン、セファレキシン、セファゼドン、セフロキシム、ロラカルベフ、セメタゾール (cemetazole)、セフォテタン、セフォキシチン、シプロフロキサシン、レバキン、フロキサシン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、ゲンタマイシン、アミカシン、トブラマイシン、クラリスロマイシン、アジスロマイシン、エリスロマイシン、ダブトマイシン、ネオマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン、ナイシン、エピデルミン、ガリデンニン (gallidenin)、シンナマイシン、デュラマイシン、ラクチシン481、アモキシシリン、アモキシシリン/クラブラン酸、メトロニダゾール、クリンダマイシン、クロルテトラサイクリン、ドクメクロサイクリン (dcmecclocycline)、オキシテトラサイクリン、アミカシン、ネチルマイシン、セファドロキシル、セファゾリン、セファレキシン、セファロチン、セファピリン、セフラジン、セファクロル、セファマンドール、セファメタゾール、セフォニシド、セフォテタン、セフォキシチン、セフポドキシム、セフプロジル、セフロキシム、セフジニル、セフィキシム、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフタジジム、セフチブテン、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフェピム、アジスロマイシン、クラフォラン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、リンコマイシン、トロレアンドマイシン、バカンピシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、メチシリン、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ピペラシリン、チカルシリン、シノキサシン、シプロフロキサシン、エノキサシン、グレパフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシン、スルフィソキサゾール、スルファシチン、スルファジアジン、スルファメトキサゾール、スルフィソキサゾール、ダプソン (dapson)、アズトレオナム、カプレオマイシン、クロファジミン、コリスチメテート、コリスチン、サイクロセリン、ホスホマイシン、フラゾリドン、メテナミン、ニトロフラントイン、ペンタミジン、リファブチン、スペクチノマイシン、チゲサイクリン、トリメトプリム、グルクロン酸トリメトレキセート、バンコマイシン、クロルヘキシジン、カルバペネム、またはエルタペネムを含み得る。

【0053】

化合物は、2つ以上の骨結合部分を含んでもよい。例えば、骨結合部分は、例えば、 B_1-B_2-L-C の形態で互いに直接的に結合していてもよく、または骨結合部分は、例えば、 $B_1-L-C-B_2$ の形態で化合物の反対の末端に結合していてもよく、 B_1 および B_2 は、同じまたは異なる骨結合部分である。抗生物質および骨結合部分のさらなる組合せおよび付加は、本開示により予想され、当業者に明らかであろう。

【0054】

10

20

30

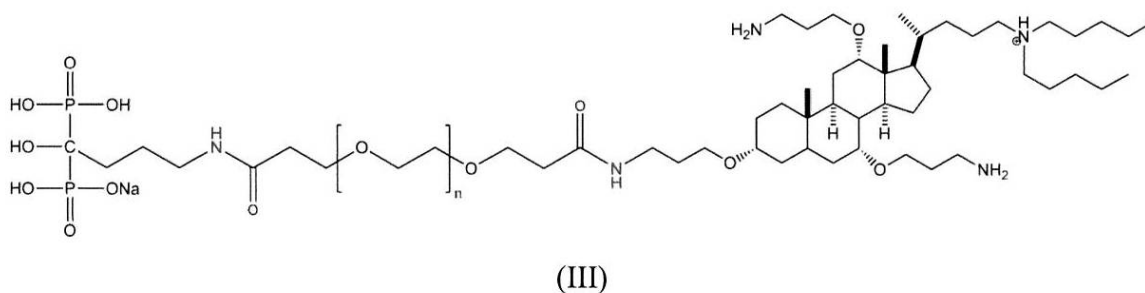
40

50

ある特定の例では、本開示は、式（Ⅲ）（BBA-1）：

【0055】

【化6】



10

【0056】

（式中、nは、1～100である）

として示される構造を有する化合物を提供する。ある特定の例では、nは、1～95、または1～90、または1～85、または1～80、または1～75、または1～70、または1～65、または1～60、または1～55、または1～50、または1～45、または1～40、または1～35、または1～30、または5～30、または5～25、または5～20、または10～20である。化合物は、約1kDa～10kDa、例えば、約1kDa～9kDa、または約1kDa～8kDa、または約1kDa～7kDa、または約1kDa～6kDa、または約1kDa～5kDa、または約1kDa～4kDa、または約1kDa～3kDa、または約1.5kDa～3kDa、または約1.5kDa～2.5kDa、または約1.75kDa～2.25kDa、例えば約2kDaの分子量を有し得る。

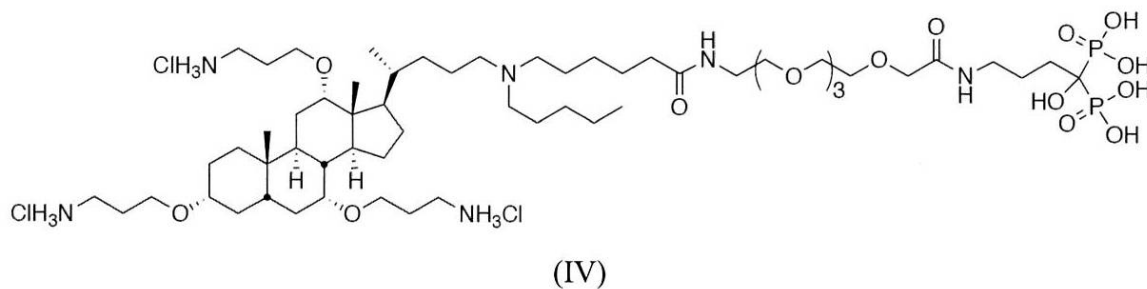
20

【0057】

ある特定の例では、本開示は、式（Ⅳ）（BBA-2）：

【0058】

【化7】



30

【0059】

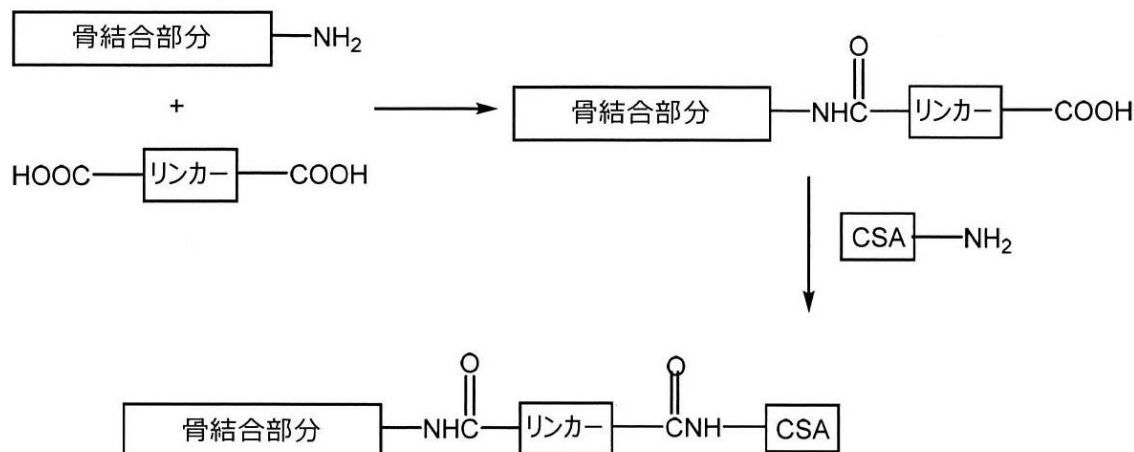
として示される構造を有する化合物を提供する。

例えば、式（Ⅰ）の化合物は、適切に官能基化されたリンカーをCSAおよび骨結合部分と反応させることにより調製することができる。1つのそのような例を、以下のスキーム1に示す。

40

【0060】

【化 8】



スキーム 1：式 (I) の化合物の合成例

【0061】

スキーム 1 において、アミノ基を有する骨結合部分は、2つの末端カルボン酸基で官能基化されたリンカー（1つのカルボン酸基は活性化され得る）と反応して、骨結合部分がアミド結合を介してリンカーに結合された中間体を提供する。その後、中間体に存在するカルボン酸は、CSAのアミノ基と反応して、別のアミド結合を生成し、これにより、式 (I) の化合物を提供する。当業者は、式 I の化合物を調製するために使用され得る代替の合成法に精通しているであろう。

【0062】

方法および組成物

本明細書で説明される化合物は、それらの骨結合部分により骨をターゲティングし、骨の感染を処置するために使用され得る。感染は、細菌感染、例えば、グラム陽性細菌感染またはグラム陰性細菌感染であり得る。一部の例では、細菌感染は、*staphylococcus* または *pseudomonas* 感染、例えば、*Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis*、または *Pseudomonas aeruginosa* 感染、例えば、メチシリン抵抗性 *Staphylococcus aureus*、メチシリン抵抗性 *Staphylococcus epidermidis*、または Tobramycin 抵抗性 *Pseudomonas aeruginosa* 感染である。一部の例では、細菌感染は、バンコマイシン抵抗性 *Staphylococcus aureus* である。*Staphylococcus epidermidis* は、ときには、*Staphylococcus aureus* よりも病原性の低い病原体と考えられるが、報告は、*Staphylococcus epidermidis* 株が、より侵襲的特性を得ることがあり、バイオフィルム、特に整形外科インプラント上にバイオフィルムを形成することにおいてまさに現実のものとなることを示す (Gill J Bacteriol. 2005. 187: 2426~2438)。一部の例では、細菌感染は、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 感染である。*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* は、一般に、顎骨骨髄炎の場合に観察される。

【0063】

他の実施形態では、骨感染は、真菌感染、例えば、*Candida* 属による感染である。

一部の実施形態では、感染は、整形外科インプラント、骨髄炎、または手術部位感染から生じる。一部の実施形態では、開示される化合物は、感染の処置のために有用であり、他の実施形態では、開示される化合物は、骨感染にかかりやすいかまたはそのリスクに晒されている対象における感染の予防のために有用である。

【0064】

また、CSA-13、CSA-90、およびCSA-131のようなCSAは、骨形成を促進または向上させることが報告されている（米国特許第9,694,019号；Schindelerら J Bone Joint Surg Am. 2015. 97（4）：302～309）。その点において、本明細書で説明される化合物は、対象における骨形成を促進するために使用され得る。本開示に従って処置され得る骨障害は、例えば、骨折、脊髄損傷、椎間板変性症、パジェット病、骨がん、および骨粗鬆症を含む。本開示の組成物および方法を使用して処置され得る骨折は、非癒合性骨折、単純骨折、若木骨折、複合骨折、粉碎（多破片の）骨折、嵌没骨折、複雑骨折、毛髪様骨折、圧迫骨折、疲労骨折、および／または病的骨折を含む。本明細書で説明される方法により有利に処置され得る骨折の例は、脊椎、下肢、および腕の骨折を含むが、これらに限定されない。本開示に従って有利に処置され得る骨折のさらなる例は、脊椎圧迫骨折である。そのような骨折は、脊柱の骨のうちの1つまたは複数が骨折または崩壊した場合、典型的には、椎骨が既に弱くなっていた場合、例えば、加齢または骨を弱くする疾患、例えば、骨粗鬆症、パジェット病、もしくは骨がんの結果として弱くなっていた場合に起こる。一部の例では、本開示に従って処置され得る骨疾患または状態は、骨吸収、骨関節炎、骨粗鬆症、骨軟化症、嚢胞性線維性骨炎、離断性骨軟骨炎、骨軟化症、骨髄炎、骨芽細胞形成、骨減少症、骨壊死、および海綿状骨増殖症（porotic hyperostosis）を含む。

【0065】

本開示の組成物および方法は、骨形成および吸収における不均衡を患う対象を処置するために使用され得る。骨形成および吸収の不均衡は、通常、骨量の喪失を引き起こし、骨関連疾患、例えば、骨粗鬆症、くる病、および骨軟化症を引き起こし得る。これらの骨疾患は、骨折のリスクの増加、骨折の重症度の増加、および治療のための遅延期間を伴う。加えて、年齢または傷害により、椎間板変性疾患または脊椎の変形の発生が増加し、脊椎すべり症を引き起こす。

【0066】

投与量は、処置されるべき状態の種類および重症度により変動することがあり、単一の用量または複数の用量を含み得る。特定の投与量レジメンは、個々の必要性および化合物を投与する実施者の専門的判断により経時的に調節され得る。ヒト対象に投与される場合、投与量レジメンは、感染または状態の種類および重症度；対象の年齢、性別、体重、または健康状態；ならびに投与経路を含む様々な因子に依存して変動し得る。その点において、投与されるべき化合物の正確な量は、実施者の判断に依存し得る。一部の実施形態では、対象は、哺乳動物であり得る。一部の実施形態では、対象は、ヒト、伴侶動物（例えば、イヌ、ネコ、フェレット、ハムスター、スナネズミなど）、家畜動物（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、家禽など）、または処置を必要とする他の任意の哺乳動物である。

【0067】

本明細書で説明される化合物は、処置される感染または状態の重症度、再発が予想されると考えられるかどうかを含むいくつかの因子に依存して、数時間、数日間、数週間、または数ヶ月間の期間にわたり投与され得る。投与は、数時間、数日間、数週間、数ヶ月間などの期間にわたり点滴により行われ得る。あるいは、投与は、間欠性、例えば、数日間の期間にわたり1日1回、数時間の期間にわたり1時間に1回、または好適であると考えられる他の任意のそのようなスケジュールであってもよい。一部の実施形態では、本開示の組成物は、1日1回少なくとも1週間、例えば、少なくとも1日1回少なくとも2週間、または1日1回少なくとも1ヶ月間もしくはそれよりも長く投与される。他の実施形態では、本開示の組成物は、感染病原体への曝露の直前もしくは後、または骨感染のリスクの開始に際して、提供される。

【0068】

一部の例では、本開示の化合物は、約0.01mg／体重kg～1000mg／体重kgの量で投与される。例えば、本開示の化合物は、約0.1mg／kg～900mg／kg、もしくは約0.5mg／kg～800mg／kg、もしくは約1mg／kg～750mg／kg、もしくは約1.5mg／kg～700mg／kg、もしくは約2mg／kg

～600mg/kg、もしくは約2mg/kg～500mg/kg、もしくは約2.5mg/kg～450mg/kg、もしくは約3mg/kg～350mg/kg、もしくは約3.5mg/kg～250mg/kg、もしくは約4mg/kg～200mg/kg、もしくは約4mg/kg～100mg/kg、もしくは約4mg/kg～50mg/kg、もしくは約4mg/kg～20mg/kgの量、またはこれらの範囲により境界を形成される任意の用量で投与され得る。一部の実施形態では、本開示の化合物は、約2mg/kg、約5mg/kg、約8mg/kg、約10mg/kg、約15mg/kg、約20mg/kg、約25mg/kg、約30mg/kg、約35mg/kg、約40mg/kg、約45mg/kg、もしくは約50mg/kg、または上記投与量により境界を形成される任意の範囲内で投与される。一部の例では、抗生物質化合物は、全身投与される。

10

【0069】

骨結合部分により与えられるターゲティングは、骨結合部分の非存在下で必要とされ得る投薬量と比較して、感染部位において有効な量の抗生物質（例えば、CSA）を提供するのに必要な投薬量を低減し得ることが理解されよう。また、骨結合抗生物質化合物は、体内の他の場所に非特異的に移動するのではなく、目的の組織に方向付けられているので、骨結合能を欠く抗生物質化合物の許容され得る用量と比較して、より高用量の骨結合化合物が、患者に許容され得ることが理解されよう。

【0070】

一部の例では、本開示は、約0.01mg～4000mgの活性成分、例えば、約0.05mg～3500mg、または約0.1mg～3000mg、約0.5mg～2500mg、約0.75mg～2000mg、または約1mg～1750mg、約1.25mg～1500mg、または約1.5mg～1250mg、または約2mg～1000mg、または約5mg～900mg、約7.5mg～800mg、または約10mg～700mg、または約15mg～600mg、または約20mg～550mg、または約25mg～500mg、または約30mg～500mg、または約35mg～450mg、または約40mg～450mg、または約45mg～450mg、または約50mg～400mgの活性成分の経口用量を提供する。

20

【0071】

製剤および投与についての技法は、「Remington's Pharmaceutical Sciences」、Mack Publishing Co.、Easton、Pa.、最新版において見出され得る。好適な経路は、例えば、経口、直腸、経粘膜、または腸投与；筋内、皮下、経皮（transcutaneous）、皮内、または髄内送達（例えば、注入）、およびくも膜下腔内、直接的脳室内、静脈内、腹腔内、鼻内、肺、経皮（transdermal）、または眼内送達（例えば、注入）を含む非経口送達を含み得る。

30

【0072】

成分は、長期間にわたり放出を可能にするように製剤化してもよい。放出系は、生分解性材料、または組み込まれた成分を拡散により放出する材料のマトリックスを含み得る。成分は、放出系内に均一にまたは不均一に分布され得る。様々な放出系が有用であり得るが、しかしながら、適切な系の選択は、特定の適用に必要とされる放出速度に依存する。非分解性放出系および分解性放出系の両方が使用され得る。好適な放出系は、ポリマーおよびポリマーマトリックス、非ポリマーマトリックス、または無機および有機賦形剤、ならびに希釈剤、例えば、非限定的に、炭酸カルシウムおよび糖（例えば、トレハロース）を含む。放出系材料は、異なる分子量を有する成分が拡散によりまたは材料の分解を通して放出されるように選択され得る。代表的な合成生分解性ポリマーは、例えば：ポリアミド、例えば、ポリ（アミノ酸）およびポリ（ペプチド）；ポリエステル、例えば、ポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、ポリ（乳酸-co-グリコール酸）、およびポリ（カプロラクトン）；ポリ（無水物）；ポリオルトエステル；ポリカーボネート；ならびにそれらの化学誘導体（化学基、例えば、アルキル、アルキレンの置換、付加；ヒドロキシル化；酸化；および当業者によりルーチンに行われる他の改変）、それらのコポリマーおよび

40

50

混合物を含む。代表的な合成非分解性ポリマーは、例えば：ポリエーテル、例えば、ポリ（エチレンオキシド）、ポリ（エチレングリコール）、およびポリ（テトラメチレンオキシド）；ビニルポリマー—ポリアクリレートおよびポリメタクリレート、例えば、メチル、エチル、他のアルキル、ヒドロキシエチルメタクリレート、アクリル酸およびメタクリル酸、ならびにその他、例えば、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（ビニルピロリドン）、およびポリ（ビニルアセテート）；ポリ（ウレタン）；セルロースおよびその誘導体、例えば、アルキル、ヒドロキシアリール、エーテル、エステル、ニトロセルロース、および様々なセルロースアセテート；ポリシロキサン；ならびにそれらの任意の化学誘導体（化学基、例えば、アルキル、アルキレンの置換、付加；ヒドロキシル化；酸化；および当業者によりルーチンに行われる他の改変）、それらのコポリマーおよび混合物を含む。ポリ（ラクチド—c o o—グリコリド）ミクロスフェアまたはナノスフェアが、使用され得る。

【0073】

本開示の化合物は、追加の抗生物質剤と組み合わせて投与され得る。好適な抗生物質剤は、例えば、シプロフロキサシン、ゲムシタビン、トリプトファン、パクリタキセル、シタラビン、リファラジル、ノルフロキサシン、エノキサシン、ガチフロキサシン、モキシフロキサシン、フルオロキノロンエステル、ベンゾキサジノリファマイシン、アミノグリコシド、ポリエン、ニトロイミダゾール、リファマイシン、バシトラシン、ベータラクタム、セファロスポリン、クロラムフェニコール、グリコペプチド、マクロライド、リンコサミド、ペニシリン、キノロン、リファンピシン、テトラサイクリン、トリメトプリム、スルホンアミド、アモキシシリン、オーグメンチン、アモキシシリン、アンピシリン、アズロシリン、フルクロキサシリン、メズロシリン、メチシリン、セファレキシン、セファゼドン、セフロキシム、ロラカルベフ、セメタゾール（c e m e t a z o l e）、セフォテタン、セフォキシチン、シプロフロキサシン、レバキン、フロキサシン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、ゲンタマイシン、アミカシン、トブラマイシン、クラリスロマイシン、アジスロマイシン、エリスロマイシン、ダブトマイシン、ネオマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン、ナイシン、エピデルミン、ガリデンニン（g a l l i d e n n i n）、シンナマイシン、デュラマイシン、ラクチシン481、アモキシシリン、アモキシシリン／クラブラン酸、メトロニダゾール、クリンダマイシン、クロルテトラサイクリン、ドクメクロサイクリン（d c m e c l o c y c l i n e）、オキシテトラサイクリン、アミカシン、ネチルマイシン、セファドキシシル、セファゾリン、セファレキシン、セファロチン、セファピリン、セフラジン、セファクロル、セファマンドール、セファメタゾール、セフォニシド、セフォテタン、セフォキシチン、セフポドキシム、セフプロジル、セフロキシム、セフジニル、セフィキシム、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフタジジム、セフチブテン、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフェピム、アジスロマイシン、クラフォラン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、リンコマイシン、トロレアンドマイシン、バカンピシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、メチシリン、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペペラシリン、チカルシリン、シノキサシン、シプロフロキサシン、エノキサシン、グレパフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシン、スルフィソキサゾール、スルファシチン、スルファジアジン、スルファメトキサゾール、スルフィソキサゾール、ダブソン（d a p s o n）、アズトレオナム、カプレオマイシン、クロファジミン、コリスチメテート、コリスチン、サイクロセリン、ホスホマイシン、フラゾリドン、メテナミン、ニトロフラントイン、ペンタミジン、リファブチン、スペクチノマイシン、チゲサイクリン、トリメトプリム、グルクロン酸トリメトレキセート、バンコマイシン、クロルヘキシジン、カルバペネム、またはエルタペネムを含み得る。

【0074】

本開示の化合物は、骨形成を促進させるためまたは骨吸収を減少させるために有用な追加の化合物と組み合わせて投与され得る。例えば、好適な化合物は、リセドロネート（A c t o n e l）、イバンドロネート（B o n i v a）、またはゾレドロン酸（R e c l a

10

20

30

40

50

s tまたはA c l a s t a)を含み得る。あるいはまたは加えて、他の化合物は、コルチコステロイド、例えば、プレドニゾンまたはコルチゾンであり得る。あるいはまたは加えて、他の化合物は、デノスマブ (P r o l i a)であり得る。あるいはまたは加えて、他の化合物は、ラネリック酸ストロンチウム (P r o t o s)であり得る。あるいはまたは加えて、他の化合物は、選択的エストロゲン受容体モジュレーター (S E R M S)、例えば、ラロキシフェン (E v i s t a)であり得る。あるいはまたは加えて、他の化合物は、ホルモン置換療法 (H R T)において使用される薬物、例えば、エストロゲンまたはプロゲステロンであり得る。あるいはまたは加えて、他の化合物は、テリパラチド (F o r t e o)であり得る。あるいはまたは加えて、他の化合物は、非ステロイド系抗炎症剤または鎮痛薬であり得る。例えば、好適な非ステロイド系抗炎症剤は、イブプロフェン、ナ

10

【0075】

本開示の化合物は、スキャフォールドを伴って対象に投与され得る。スキャフォールド材料は、参照により組み込まれる米国特許第5,681,872号、同第5,914,356号、同第5,939,039号、同第6,325,987号、同第6,383,519号、同第6,521,246号、同第6,736,799号、同第6,800,245号、同第6,969,501号、同第6,991,803号、同第7,052,517号、同第7,189,263号、同第7,534,451号、同第8,303,967号、同第8,460,686号、または同第8,647,614号で説明される通りであり得る。他の好適なスキャフォールド材料は、V I T O S S (登録商標)、C O R T O S S (登録商標)、生体高分子、骨、脱細胞化骨、細胞外マトリックスもしくはその成分、フィブロネクチン、ラミニンコラーゲン、キトサン、アルギネート、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、ポリ(アルファーヒドロキシ酸)、例えば、ポリ(乳酸-c o o -グリコール酸)およびポリグリコール酸、C U P E ポリマー、ポリエチレングリコール、またはそれらの任意の組合せを含み得る。スキャフォールド材料は、多孔性であってもよい。スキャフォールド材料は、天然材料、合成材料、またはそれらの組合せであってもよい。スキャフォールド材料は、生体適合性、非毒性、および／または非炎症性であり得る。スキャフォールド材料は、細胞結合、細胞増殖、細胞外マトリックスおよび／もしくは骨マトリックス産生、ならびに／または細胞転換を支持し得る。スキャフォールド材料は、生分解性であってもよい。スキャフォールド材料は、滅菌され得る。他のスキャフォールド材料および属性は、当業者により理解される。

20

30

【0076】

本開示の化合物は、様々な経路により投与され得る。一部の実施形態では、化合物は、全身的に、例えば、対象の血流への直接的送達により投与される。ある特定の実施形態では、化合物は、非経口送達される。例示的な非経口投与経路は、血管内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、経気管 (t r a n s t a c h e a l)、腹腔内、脳室内、側脳室内、くも膜下腔内、皮下、表皮下、嚢下、くも膜下、脊髄内、硬膜外、胸骨内、頭蓋内、筋内、関節内、動脈内、結節内、肺、鼻内、経皮、および静脈内を含むが、これらに限定されない。ある特定の例では、化合物は、腹腔内または静脈内投与される。

40

【0077】

あるいは、化合物は、当該技術分野で周知の薬学的に許容できる担体を使用して、経口投与に好適な剤形、例えば、錠剤、丸剤、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤などに製剤化され得る。好適な担体は、麦芽、ゼラチン、タルク、硫酸カルシウム、植物油、合成油、ポリオール、アルギン酸、リン酸緩衝液、乳化剤、等張食塩水、およびパイロジェンフリー水から選択され得る。ある特定の例では、化合物は、鼻内にもしくは吸入により(例えば、好適な高圧ガス、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、ヒドロフルオロアルカン、例えば、1,1,1,2-テトラフルオロエタン (H F A 134A3) もしくは1,1

50

、1, 2, 3, 3, 3-ヘptaフルオロプロpan (HFA 227EA3)、二酸化炭素、または他の好適な気体の使用による加圧容器、ポンプ、スプレー、または噴霧器からのエアゾール剤スプレーの外観の形態で)、または乾燥粉末吸入器により送達される固形微粒子化散剤として投与される。

【実施例】

【0078】

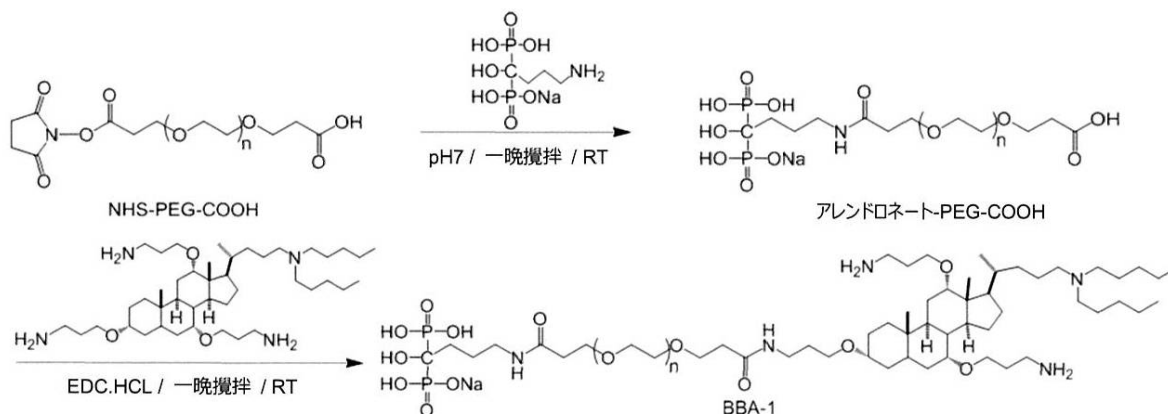
実施例1

合成

骨結合抗生物質-1 (BBA-1) と呼ばれる化合物を、2ステップ反応で合成した。第1のステップにおいて、NHS-PEG-COOHリンカー (1 kDa、33 mg) を1 mLのMilli-Q水に溶解した。別々に、アレンドロネート (ALN) ナトリウム (10.5 mg) を秤量し、1 mLのMilli-Q水に溶解した。アレンドロネート溶液を、連続攪拌下でNHS-PEG-COOHの溶液に1滴ずつ添加した。反応のpHをモニターし、NaOH溶液を使用してpH7に調節した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。一晩の反応後、3.5 mLの無水エタノールを添加することにより、コンジュゲートされていないアレンドロネートを沈殿させ、0.45 μm (ミクロン) ナイロンフィルターを使用した濾過により除去して、ALN-PEG-COOHを得た。第2のステップにおいて、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド (ヒドロクロリド EDC・HCL 30 mg) およびCSA-90 (25.5 mg) を、ALN-PEG-COOHを含む濾過した溶液に添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌して、最終コンジュゲート生成物 (ALN-PEG-CSA-90) を得た。反応溶液を、1 kDa 透析管に入れ、透析媒体として水を使用して24時間透析した。透析後、精製した反応生成物を凍結乾燥し、HPLC、NMR、およびFT-IR分光法を使用した同定および化学的特徴付けのために使用した。

【0079】

【化9】



スキーム2: BBA-1の合成経路

【0080】

BBA-1は、約2070.12 g/モルの分子量を有し、その構造は、

【0081】

10

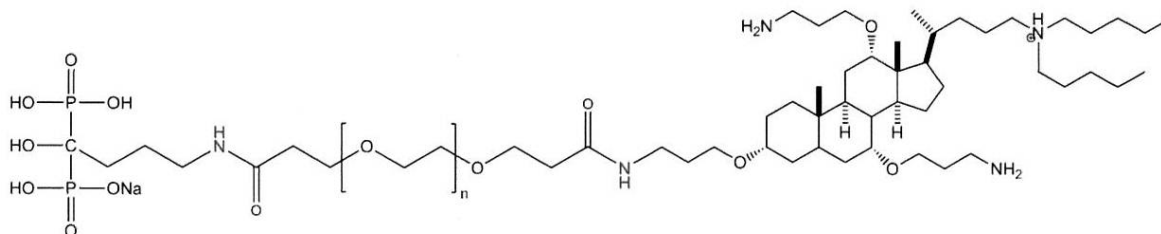
20

30

40

50

【化 10】



【0082】

(式中、 n は、約16である)

である。

実施例 2

特徴付け

BBA-1を、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を使用して特徴付けた。図1-Aを参照すると、8.2分および9.3分における幅広いピークは、ALN-PEG-COOHリンカーの、CSA-90の2つの主要なアミノ基へのコンジュゲーションの可能性に起因した。7.5分のピークは反応していないリンカーに起因し、一方で、2.5分のピークはEDC・HLCカルボジイミドによるものであった。同様の方法を使用した、時間5分における純粋なNHS-PEG-COOHリンカーおよび6.8分におけるCSA-90の対応する溶離および同定を、それぞれ、図1-Bおよび図1-Cに示す。BBA-1反応混合物のBBA-1スペクトル (図1-A) における、6.8分のCSA-90のかすかなピークまたはピークの欠如、および7.5分のNHS-PEG-COOHピークの有意な低減は、CSA-90の、リンカーへの最大コンジュゲーション効率を示す。

【0083】

図2は、それぞれ、アレンドロネート (図2-A)、CSA-90 (図2-B)、NHS-PEG-COOHリンカー (図2-C)、およびBBA-1 (図2-D) についてのFT-IRスペクトルを示す。BBA-1のスペクトル (図2-D) におけるCSA-90の存在は、 2867 cm^{-1} および 2925 cm^{-1} のピークの同定により確認された。すべてのスペクトルにおいて、 $1550\sim 1560\text{ cm}^{-1}$ の近辺および 3300 cm^{-1} 超のピークは、それぞれ、N-H屈曲および伸縮振動に対応する (図2-A~2-D)。CSA-90およびアレンドロネートの、NHS-PEG-COOHリンカーへのコンジュゲーション後、CSA-90およびアレンドロネートとのアミド結合の形成のためのC=O結合の伸縮振動は、BBA-1のスペクトルにおいて 1636 cm^{-1} で記録された (図2-D)。

【0084】

実施例1で説明される通り、アレンドロネートを、NHS-PEG-COOHリンカーのNHS末端にコンジュゲートした。第2のステップにおいて、CSA-90を、水溶性1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド (EDC・HCL) を使用してリンカーのCOOH末端にコンジュゲートした。過剰のEDC・HCL、CSA-90、およびアレンドロネートを、沈殿、濾過、および透析により除去した。図3-Aは、BBA-1、NHS-PEG-COOH、CSA-90、およびアレンドロネートナトリウムについての ^1H NMRスペクトルを示す。アレンドロネートコンジュゲーションの成功は、 ^1H NMRおよび ^{31}P NMR分光法により確認された。BBA-1についての ^1H NMRスペクトル (図3-A) において示される通り、 2.01 ppm および 3.14 ppm における対応するピーク (aおよびb) は、それぞれ、アレンドロネートからの CH_2C および CH_2CH_2 に起因し、アレンドロネートコンジュゲーションの成功を示した。NHS-PEG-COOHリンカーからのNHSの $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ に特徴的なピークの消失は、リンカーのNHS末端へのアレンドロネートコンジュゲーションを

さらに確認した（図3 A、B B A - 1およびN H S - P E G - C O O Hスペクトル）。同様に、0.93 ppm、1.76 ppm、2.82 ppm、および1.25 ppmにおけるC S A - 90の特徴的ピークの同定は、C S A - 90の、A L N - P E G - C O O Hのカルボン酸末端へのコンジュゲーションを確認した。N H S - P E G - C O O Hリンカーからのエチレンオキシドのための典型的なプロトンは、3.64 ppmにおいて同定された（図3 A、B B A - 1）。加えて、アレンドロネートコンジュゲーションは、 ^{31}P NMR分光法により定性的に確認された（図3 - B）。19.42 ppmにおけるアレンドロネートからのリン（P）の対応するピーク（図3 B、アレンドロネート）は、B B A - 1の ^{31}P NMRにおいて50.06 ppmにシフトし（図3 - B、B B A - 1）、これは、定性的コンジュゲーションシグナル陽性を示す。

【0085】

実施例3

抗細菌アッセイ

改変型K i r b y - B a u e rディスク拡散アッセイを行って、B B A - 1の、骨感染を引き起こす一般的細菌種に対する殺菌活性を試験した。標準200 μg ゲンタマイシンディスクと当モル濃度のB B A - 1またはC S A - 90を含有するW h a t m a nフィルターペーパーディスクN ϕ 1（6 mm）を調製し、比較した。簡潔に説明すると、0.5 mLのS t a p h y l o c o c c u s a u r e u sおよびメチシリン抵抗性S t a p h y l o c o c c u s a u r e u s（MRSA）（0.2のO D₆₀₀=細菌 1.6×10^8 個/mLまで希釈した）を、LB寒天プレート上に均等に広げた。抗生物質ディスクを、LB寒天プレート上に置き、一晚のインキュベーション後、各抗生物質ディスクの周囲の細菌増殖阻止円を測定した。さらに、B B A - 1の最小阻害濃度（MIC）および最小殺菌濃度（MBC）を、標準化ブロス微量希釈法により決定した。簡潔に説明すると、 1×10^5 CFU/mLのS. a u r e u sおよびMRSA接種菌液を、連続濃度のB B A - 1およびC S A - 90とインキュベートした。37°Cでの24時間のインキュベーション後に、595 nmでの光学密度/吸光度を、三重で記録した。

【0086】

図4 - Aおよび4 - Bで示される通り、B B A - 1で処理したディスクは、すべての実験にわたり細菌増殖を有意に阻害した。C S A - 90およびゲンタマイシンと当モル濃度のB B A - 1の抗細菌活性は、両方の細菌株に対して同等であった。S. a u r e u sおよびMRSAに対するB B A - 1のMICおよびMBC濃度は、それぞれ、1.5 μg / mLおよび3 μg / mLであった（図4 - C）。

【0087】

実施例4

骨結合アッセイ

B B A - 1およびC S A - 90のヒドロキシアパタイト（HA）結合親和性を、各化合物をm i l l i - Q水中でHAありおよびなしでインキュベートすることにより、半定量的に決定した。B B A - 1（2.42 mg）を秤量し、4 mLのm i l l i - Q水に溶解した。別々に、HA（20 mg）を秤量し、2 mLのB B A - 1溶液に懸濁し、懸濁液を室温でインキュベートした。HA結合のためのピーク高さの低減を分析するために、100 μL の上清を、所定の時点で採取し、HPLCにより分析した。同様に、純粋なC S A - 90の骨結合能力を、C S A - 90を、同様の濃度のHAありおよびなしでインキュベートすることにより試験した。

【0088】

相対的ピーク高さは、HAとの5分間のインキュベーションのうちに約40%まで減少したB B A - 1に起因することができる（図5 - B）。最も有意な低減は、60分間のインキュベーション後に観察され、ここでは、B B A - 1の相対的ピーク高さは、約20%まで減少した（図5 - A）。対照的に、C S A - 90は、60分間のインキュベーション後でさえもピーク高さの低減を示さないか、またはごくわずかな低減を示した（図5 A）。60分間のインキュベーション後、C S A - 90のための対応するピーク高さは、約85

%まで減少したのみであった（図5-A）。これらの発見は、有意な量のBBA-1がHAに結合したこと（ P 値 ≤ 0.0001 、対応のない t 検定）、およびアレンドロネート部分は、HAに高い親和性を与えたことを実証した。

【0089】

実施例5

骨形成活性に対する効果の測定

非経口化合物CSA-90は、骨形成促進活性を有し、培養細胞において組換えヒト骨形成タンパク質-2（rhBMP-2）を増強することが報告されている（Schindelerら、J Bone Joint Surg Am. 97（4）：302～9（2015））。これは、抗菌保護を超える追加の利点、特に、骨性損傷、骨欠陥、または整形外科インプラント骨結合に関する追加の利点をもたらす得る。

10

【0090】

BBA-1がCSA-90の骨形成促進作用のいずれかを保持したかどうかを試験するために、MC3T3-E1細胞を、骨形成培地中で、 $5\mu\text{M}$ CSA-90またはBBA-1のいずれかと共に、 50ng/ml rhBMP-2ありまたはなしにて分化させた。アルカリホスファターゼ活性についてp-ニトロフェニルホスフェートアッセイを行い（Sigma-Aldrich）、骨形成培地および α -MEM培地中で増殖させた3日目の細胞について正規化した。アッセイを2回の独立反復で三重に行った。

【0091】

以前の公開された発見と一致して、CSA-90およびrhBMP-2は、アルカリホスファターゼ発現を増加させた（図6）。BBA-1は、単独およびrhBMP-2との組合せの両方で、CSA-90と同様の骨形成潜在性を示した。

20

【0092】

実施例6

メバロン酸経路に対する影響の測定

非経口化合物アレンドロネートは、メバロン酸経路に機能的に影響を及ぼすことにより骨吸収に影響を与えるビスホスホネートである。側鎖アミン基によるコンジュゲーションにより、骨結合親和性は保持され得るが、骨吸収抑制活性は無効にされ得ることが仮定された。

【0093】

このことを、アレンドロネート、CSA-90、またはBBA-1の用量範囲により処理したJ774.2単球マクロファージ系統細胞に対して行ったin vitroタンパク質プレニル化アッセイを使用して確認した。使用したアッセイは、Ali Nら、Small GTPases 6（4）：202～11（2015）により説明される通りであった。簡潔に説明すると、これは、細胞の増加する用量の薬物における化合物との24時間のインキュベーション、およびその後タンパク質抽出物に対して行われたin vitroプレニル化アッセイを含んだ。イムノブロットティング（ウェスタンブロットティング）を行って、メバロン酸経路に影響を及ぼす薬物活性を示すバンドを有する、標本非プレニル化タンパク質を同定した。

30

【0094】

$25\mu\text{M}$ 濃度のアレンドロネートによる処理は、タンパク質プレニル化に対して強力な効果を生じた（図7）。CSA-90またはBBA-1処理は、アレンドロネート処理と同様の当モル濃度において、著しいまたは同等のタンパク質プレニル化効果を誘導しなかった。このことは、アレンドロネートの、CSA-90へのそのアミン基を介したコンジュゲーションは、その骨破壊抑制活性をかなり改善することを示す。

40

【0095】

実施例7

毒性研究

マウスにおける予備的毒性研究は、BBA-1は、 5mg/kg の用量で静脈内に与えた場合、有害事象を引き起こさないことを示した。

50

【0096】

概念実証研究において、マウスに、前臨床感染モデルを使用する手術の1時間前に5 mg/kgのBBA-1を事前投薬した(1群当たりN=10)。モデルは、手術時に生Staphylococcus aureus(株ATCC 12600)を接種した(1E5 CFU) C57BL6マウスの脛骨に作製したドリル孔を特徴とした。

【0097】

感染させなかった対照マウスは、軟組織または脚の拭き取り検体アッセイについての試験が陽性ではなかった。感染した試料の数、および局部感染について培養した場合の光学密度(OD595)により測定される感染レベル(図8および9)は、BBA-1を受容しなかった感染対照と比較して、BBA-1で処置した群において低減した。

10

【0098】

本明細書で説明される化合物および方法は、多くの他の形式で具体化され得ることが当業者により理解されよう。

別に示されない限り、本明細書および特許請求の範囲で使用される成分の量、特性、例えば分子量、反応条件などを表すすべての数は、すべての場合において「約」という用語により修飾されるものと理解されるべきである。本明細書で使用される場合、「約」および「およそ」という用語は、10~15%以内、好ましくは5~10%以内を意味する。したがって、逆に示されない限り、本明細書および附属の特許請求の範囲において示される数値パラメータは、本発明により得られることが求められる所望の特性に依存して変動し得る近似値である。最低でも、かつ特許請求の範囲の均等論の適用を限定しようとするものではなく、各数値パラメータは、少なくとも、報告された夥しい数字の数に照らして、かつ普通の丸め技法を適用することにより解釈されるべきである。本発明の広範囲を示す数値範囲およびパラメータが近似値であるにもかかわらず、特定の例において示される数値は、可能な限り正確に報告される。しかしながら、任意の数値は、それらの各々の試験測定において見出される標準偏差から必然的に生じるある特定の誤差を本質的に含有する。

20

【0099】

本発明の説明に関して(とりわけ、以下の特許請求の範囲に関して)使用される「a」、「an」、「the」という用語および同様の指示物は、本明細書で別に示されるかまたは文脈により明らかに否定されない限り、単数および複数の両方を包含すると解釈されるべきである。本明細書の値の範囲の列挙は、その範囲内に入る各別々の値を個々に言及することの省略表現方法として働くことが単に意図される。本明細書で別に示されない限り、各個々の値は、それが本明細書で個々に列挙されているのと同様に本明細書に組み込まれる。本明細書で説明されるすべての方法は、本明細書で別に示されるかまたはそうでなければ文脈により明らかに否定されない限り、任意の好適な順序で行うことができる。本明細書で提供される任意およびすべての例の使用、または例示的な言語(例えば、「例えば(such as)」)は、本発明を単により良く明らかにすることを単に意図し、別のように請求される本発明の範囲に対して限定を与えない。本明細書中のどの言語も、本発明の実施にとって本質的な任意の請求されない要素を示すものと解釈されるべきではない。

30

40

【0100】

本明細書で開示される本発明の代替の要素または実施形態のグループ化は、限定として解釈されるべきではない。各群のメンバーは、個々に、または群の他のメンバーもしくは本明細書で見出される他の要素との任意の組合せで、参照および請求されることがある。群の1つまたは複数のメンバーは、便利および/または特許性の理由のために、群に含まれるかまたはそれから削除してもよいことが予測される。任意のそのような包含または削除が起こった場合、本明細書は、改変された通りの群を含有し、したがって、附属の特許請求の範囲において使用されるすべてのマッシュ群の記載を満たすとみなされる。

【0101】

本発明を行うために本発明者らに公知の最も優れた様式を含む、本発明のある特定の实

50

施形態が、本明細書で説明される。もちろん、これらの説明される実施形態についての変動は、上記説明を読めば当業者に明らかになる。本発明者は、当業者がそのような変動を適宜使用することを期待し、本発明者は、本発明が、本明細書で具体的に説明されているのとは別のように実施されることを意図する。したがって、本発明は、準拠法により容認される、本明細書に附属する特許請求の範囲に列挙される主題のすべての改変および等価物を含む。さらに、上記に説明される要素のすべての可能な変動における、上記に説明される要素の任意の組合せは、本明細書で別に示されるかまたはそうでなければ文脈により明らかに否定されない限り、本発明に包含される。

【0102】

本明細書で開示される特定の実施形態は、言語からなることまたは言語から本質的になることを使用して特許請求の範囲においてさらに限定され得る。特許請求の範囲において使用される場合、出願されるかまたは補正につき付加されるかどうかにかかわらず、「～からなる」という移行句は、特許請求の範囲において指定されない任意の要素、ステップ、または成分を除外する。「～から本質的になる」という移行句は、特許請求の範囲を、特定の物質またはステップ、ならびに基本的特徴および新規特徴（複数可）に実質的に影響を及ぼさない物質またはステップに限定する。そのように請求される本発明の実施形態は、本明細書で固有にまたは明白に説明され、可能にされる。

【0103】

さらに、本明細書全体を通して特許および印刷刊行物について多くの参照がなされている。上記に引用される参考文献および印刷刊行物の各々は、個々にそれらを全体として参照により本明細書に組み込まれる。

【0104】

最後に、本明細書で開示される本発明の実施形態は、本発明の原理の例示であることが理解されるべきである。使用され得る他の改変は、本発明の範囲内である。したがって、例として、限定ではなく、本発明の代替の構成は、本明細書の教示に従って利用され得る。したがって、本発明は、まさに示され、かつ説明されているものに限定されない。

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1】

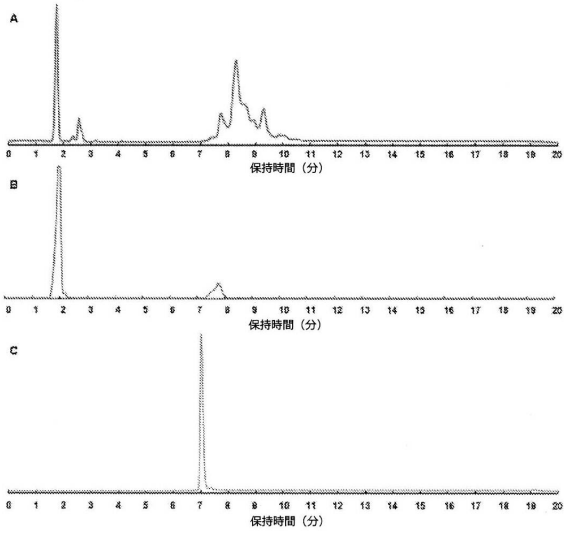


FIG. 1

【図 2】

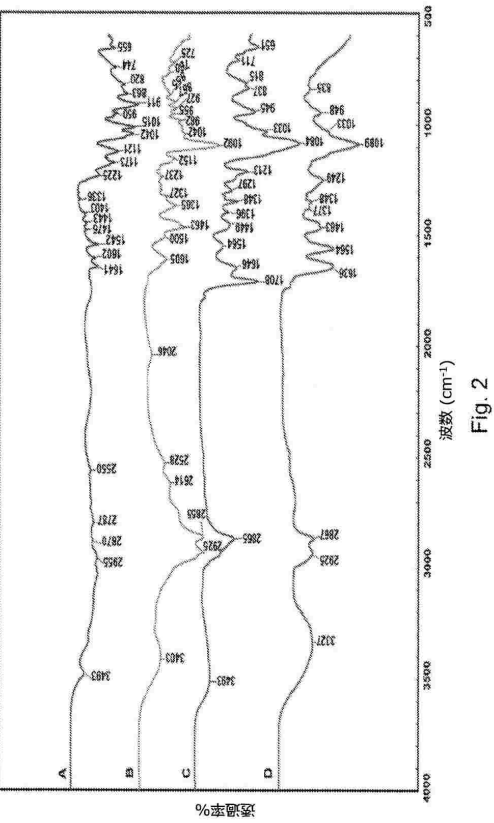
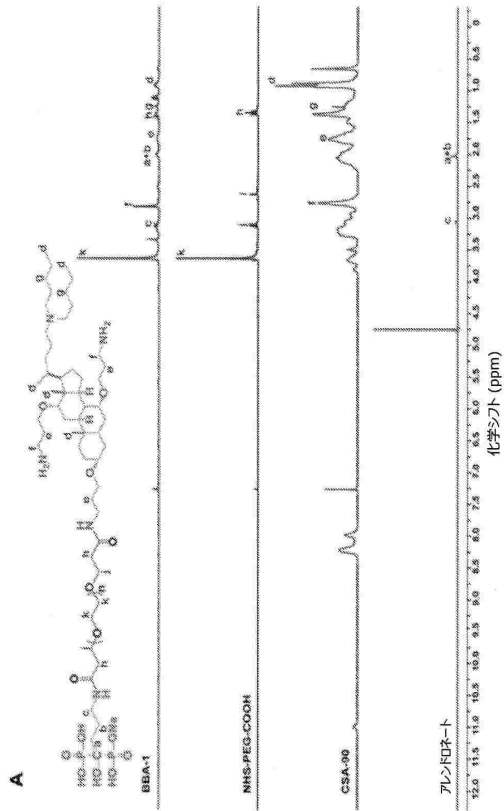


Fig. 2

【図 3 A】



【図 3 B】

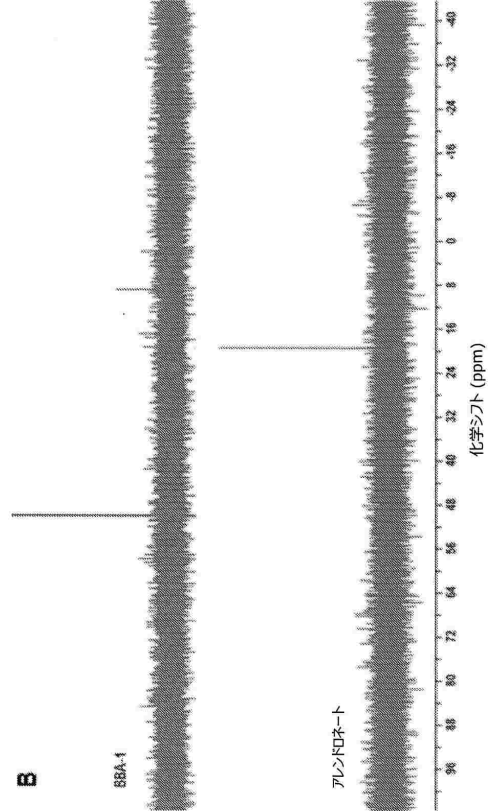


Fig. 3

Fig. 3

【図 4】

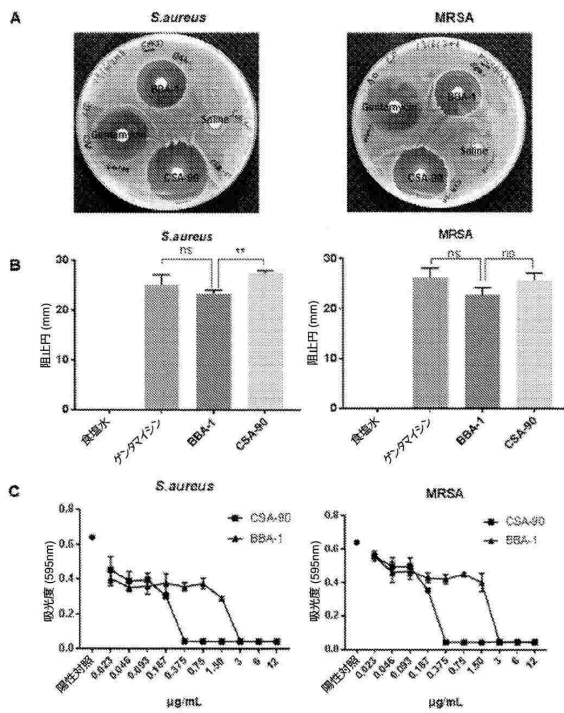


FIG. 4

【図 5】

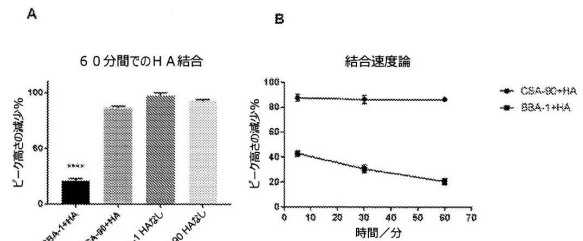


FIG. 5

10

20

30

40

50

【図 6】

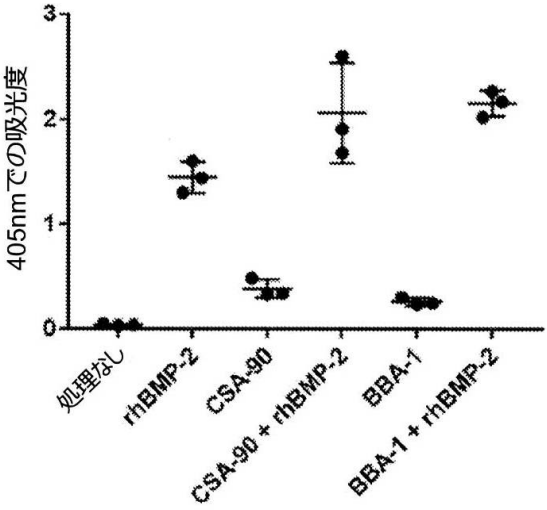


FIG. 6

【図 7】

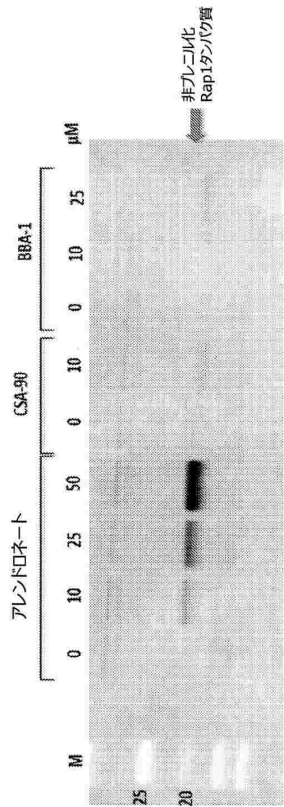


FIG. 7

【図 8】

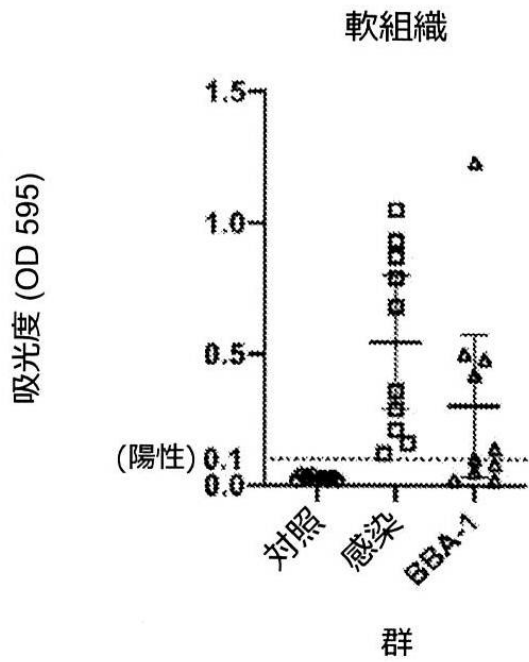


FIG. 8

【図 9】

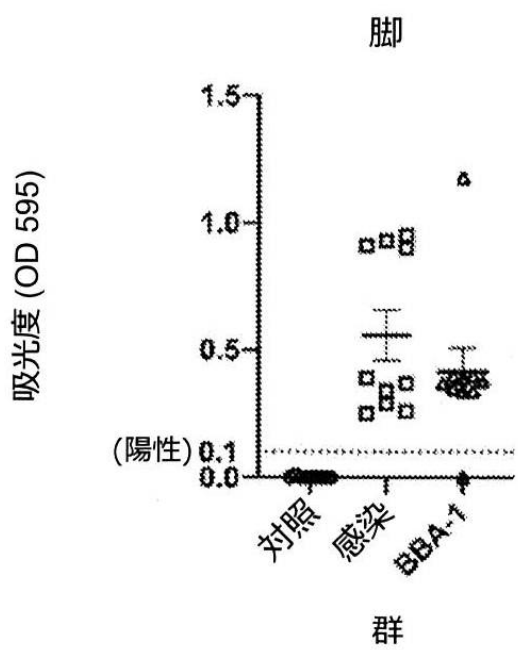


FIG. 9

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P 35/04 (2006.01)
 A 6 1 P 19/10 (2006.01)
 A 6 1 K 47/54 (2017.01)
 A 6 1 K 47/60 (2017.01)
 C 0 7 J 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/04
 A 6 1 P 19/10
 A 6 1 K 47/54
 A 6 1 K 47/60
 C 0 7 J 9/00

C S P

弁理士 山口 晶子

(72)発明者 サベージ, ポール・ビー

アメリカ合衆国ユタ州 8 4 6 6 4, メーブルトン, イースト・メーブル・ストリート 1 0 7 5

(72)発明者 シンデラー, アーロン

オーストラリア国ニューサウスウェールズ 2 7 4 5, グレンモア・パーク, グレンモア・パーク
ウェイ 2 6 / 3 8 0

(72)発明者 バルチェフ, ピーター

オーストラリア国ニューサウスウェールズ 2 0 7 7, ホーンズビー, ミルナー・アベニュー 2 7

(72)発明者 カンブル, スメド

オーストラリア国ニューサウスウェールズ 2 1 4 5, ウェストミード, ザ・シドニー・チルドレン
ズ・ホスピタル・ネットワーク

審査官 三上 晶子

(56)参考文献

国際公開第 2 0 1 3 / 0 2 9 0 5 9 (WO, A 1)

米国特許出願公開第 2 0 1 6 / 0 0 9 5 9 3 2 (US, A 1)

特表 2 0 1 7 - 5 1 4 9 1 0 (JP, A)

特表 2 0 1 4 - 5 1 4 2 8 8 (JP, A)

特表 2 0 1 1 - 5 0 8 7 5 7 (JP, A)

Tom J. HOUGHTON et al., " Linking Bisphosphonates to the Free Amino Groups in Fluoroquinolones: Preparation of Osteotropic Prodrugs for the Prevention of Osteomyelitis ", Journal of Medicinal Chemistry, 2008年10月04日, Vol. 51, No. 21, p.6955-6969, DOI: 10.1021/jm801007z

Rebecca MILLS et al., " CSA-90 Promotes Bone Formation and Mitigates Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Infection in a Rat Open Fracture Model ", Clinical Orthopaedics & Related Research, 2018年04月26日, Vol. 476, No. 6, p.1311-1323, DOI: 10.1097/01.blo.0000533624.79802.e1

V HENGST et al., " Bone targeting potential of bisphosphonate-targeted liposomes Preparation, characterization and hydroxyapatite binding in vitro ", International Journal of Pharmaceutics, 2007年03月01日, Vol. 331, No. 2, p.224-227, DOI: 10.1016/j.ijpharm.2006.11.024

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 6 1 K 3 1 / 3 3 - 3 3 / 4 4

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2

A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

C 0 7 J 9 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A P l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)