



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I421097 B

(45)公告日：中華民國 103 (2014) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：099144356

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 12 月 17 日

(51)Int. Cl. : A61K8/49 (2006.01)

A61K31/341 (2006.01)

A61K31/40 (2006.01)

(30)優先權：2009/12/18 世界智慧財產權組織 PCT/US09/68688

(71)申請人：美國棕欖公司 (美國) COLGATE-PALMOLIVE COMPANY (US)

美國

印度國立綜合醫藥研究所 (印度) INDIAN INSTITUTE OF INTEGRATIVE
MEDICINE (IN)

印度

(72)發明人：蘇布拉曼彥 拉維 SUBRAMANYAM, RAVI (US)；杜圖姆 勞倫斯 DU-THUMM,
LAURENCE (US)；卡齊 古拉姆 QAZI, GHULAM NABI (IN)；可汗 伊夏德
KHAN, INSHAD ALI (IN)；蘇里 克里山 SURI, KRISHAN AVTAR (IN)；薩蒂
納雷什 SATTI, NARESH KUMAR (IN)；阿里 福爾剛 ALI, FURQAN (IN)；卡利
亞 尼廷 KALIA, NITIN PAL (IN)

(74)代理人：黃慶源；陳彥希

(56)參考文獻：

TW 200637570

審查人員：黃文延

申請專利範圍項數：16 項 圖式數：0 共 0 頁

(54)名稱

用作抗微生物劑之增強劑的查耳酮

CHALCONES AS ENHANCER OF ANTIMICROBIAL AGENTS

(57)摘要

描述可有效增強抗微生物劑之效力的化合物。亦描述利用此類化合物的方法及含有此類化合物的組成物。該組成物含有一查耳酮化合物及，任選的一種抗微生物劑。

Compounds are described that are effective in enhancing the efficacy of antimicrobial agents. Also described are methods of using such compounds and compositions that include such compounds. The composition includes a chalcone compound and, optionally, an antimicrobial agent.

公告本

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 99144356

※ 申請日： 99.12.17

※IPC 分類：

A61K 8/49 (2006.01)

A61K 31/341 (2006.01)

A61K 31/40 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

用作抗微生物劑之增強劑的查耳酮

CHALCONES AS ENHANCER OF ANTIMICROBIAL AGENTS

二、中文發明摘要：

描述可有效增強抗微生物劑之效力的化合物。亦描述利用此類化合物的方法及含有此類化合物的組成物。該組成物含有一查耳酮化合物及，任選的一種抗微生物劑。

三、英文發明摘要：

Compounds are described that are effective in enhancing the efficacy of antimicrobial agents. Also described are methods of using such compounds and compositions that include such compounds. The composition includes a chalcone compound and, optionally, an antimicrobial agent.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 無 ）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於抗微生物劑之領域以及能增強抗微生物劑效力之化合物。此類增強劑可在各種領域被用於改善抗微生物劑的效力，包括例如改善抗微生物劑效力以治療病原微生物所導致的口腔疾病(如齒齦炎、牙菌斑等)。本發明亦提供製備此類化合物的方法、含此類化合物的組成物，以及使用該化合物和組成物於治療微生物感染和病原微生物導致之其他疾病的方法。

【先前技術】

各種的人類疾病均源自於病原微生物，其包括細菌、病毒和真菌。此類病原微生物之存在將導致敗血症、嚴重上和下呼吸道感染、CNS、腦膜炎、腹腔內組織包括腹膜、泌尿生殖道、皮膚和軟組織感染，以及各種其他感染如全身性黴菌病、念珠菌病包括導因皮癬菌的感染。在近 100 年期間，由於已可取得數不清的各種化學和生物學性治療劑進行短期和長期的治療，因而對抗此類微生物大家族所導致的疾病已有長足的進步。此類抗微生物劑包括胺基糖苷類、青黴素、頭孢菌素、巨環素、糖肽(glycopeptides)、氟喹諾酮(fluoroquinolones)、四環素、第一和第二線抗結核菌藥、抗麻風藥、抗病毒劑；多烯、三唑和咪唑類抗真菌劑；嘧啶(pyrimidine)衍生物、甲氧苄啶(trimethoprim)和磺胺甲噁唑(sulphamethoxazole)的組合。

醫院經常使用抗生素已篩選出對許多抗生素具有抗藥

性之特定細菌族群。這些族群包括無強毒力但對許多抗生素具固有抗性的機會性病原菌。此類細菌通常感染虛弱或免疫不全的病人。此類抗性族群亦出現於先前對抗生素敏感的習知病原菌株。新獲得的抗性通常歸因於 DNA 突變或抗性質體 (R 質粒)，或轉移自另一生物體的轉位子 (transposons)。目前的抗生素均不易治療自然抗藥機會性病原菌或抗生素抗藥性細菌之任一類型細菌族群的感染。亟需能超越此抗性機制的新型抗微生物分子。

這些年來細菌已發展出數種不同機制以克服抗生素的作用。這些抗性機制可為對分子或一群抗生素產生專一性，或可為非專一性及對無關聯抗生素產生抗性。專一性機制包括分解該藥物、藉由酵素的修飾不活化該藥物，以及改變該藥物的標的 (B.G. Spratt, *Science* 264 : 388(1994))。然而，藥物的抗性機制更通常為藉由阻止抗生素進入細胞或增加從細胞內流出至胞外基質而避免或減少抗生素與標的接觸。兩種機制均能降低標的部位的药物濃度而使細菌能存活於可抑制或殺死該細菌的一或多種抗生素之下。一些細菌利用結合降低細胞壁(包括細胞膜)的通透性及主動流出抗生素的上述兩種機制 (H. Nikaido, *Science* 264 : 382~388(1994))。

藉由減少孔蛋白 (porins) 或某些孔蛋白種類的數量以降低外膜通透性可因降低抗生素進入細胞內的速率而降低一株對許多抗生素的感受性。然而，由於抗生素的半平衡時間極短而除非存在其他機制其仍可能發揮其藥效。此類

其他機制的實例為外排泵。其若存在於細胞質或外周胞質內可將藥物輸送回外部基質。此輸送係利用由蛋白所組成的外排泵。不同外排泵可排出特定藥物或藥物群，例如 NorA 系統可輸送喹諾酮(quinolones)，或 Tet A 可輸送四環素，或例如某些綠膿桿菌的外排泵可排出大量的各種分子。一般而言，外排泵具有一胞質成分並且需要能將分子輸送出細胞的能量。一些外排泵具有延伸入外周胞質內的第二胞膜蛋白。

該多組分外排泵主要為最常見於革蘭氏陰性細菌的耐藥性調節分裂(RND)家族成員，包括來自大腸桿菌和綠膿桿菌的 MDR 泵 AcrAB-TolC 和 MexAB-OprM。外排泵間的相互作用對藥物抗性可產生附加或相乘的效應(A. Lee 等人, *J. of Bacteriology*, 2000, 182 : 3142)。已知存在於革蘭氏陰性細菌例如綠膿桿菌和大腸桿菌內的 MexAB-OprM、MexCD-OprJ、MexEF-OprN、MexXY-OprM、AcrAB-TolC、AcrEF、MarA、SoxS 及/或 Tet 泵已述於最近的刊物和文獻中，例如 Webber 和 Piddock, *J. of Antimicrob. Chemother.*, 2003, 51 : 39~11；Bambeke 等人, *J. of Antimicrob. Chemother.*, 2003, 51 : 1055~1056，74；Xian Zhi Li 等人, *J. of Antimicrob. Chemother.*, 2000, 45 : 433~436；O Lomovskaya 等人, *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 1999, 43 : 1340~1346。

生物膜係一種包覆於自形成細胞外基質內的微生物結構群。生物膜一般附著於活性或惰性表面。人或動物的生物膜可形成於身體的任何內或外表面。已發現生物膜與身

體內各式各樣的微生物感染有關及，因此導致許多病症包括尿道感染、中耳感染，形成牙斑和齒齦炎。生物膜內的微生物具有與同種獨立微生物明顯不同的性質。理由為聚合細胞外基質係保護微生物與外部環境隔離而容許微生物以獨立微生物所無的各種方式相互作用。由於傳統微生物控制法通常對這些微生物的複合群落無效而造成極大的挑戰。由於細胞的緻密細胞外基質和外層可保護生物膜內部不受抗生素的影響，因而生物膜內的細菌對抗生素具有抵抗性。所以，已知抗微生物劑對生物膜內的細菌無法達到預期的效果。

因此，影響抗生素(和抗菌劑)輸送(主動和被動運輸)入細菌細胞內的細胞因子為許多細菌菌種之抗生素抗性的重要成分。即使抗生素抗性對該抗微生物劑的藥效可能產生負面影響仍亟需提供能增強抗微生物劑藥效的化合物和組成物。

【發明內容】

發明之摘要

本發明之目的在於迴避此類問題以及利用本發明產品提供能產生相當於單獨藥物標準劑量之增強治療作用的低劑量療程。

本發明的特徵為提供含有本發明化合物的醫藥組成物。一具體實施例包括含有至少一式 1~4 的化合物之組成物此外亦可含有抗菌或抗微生物化合物。又本發明的另一特徵係關於利用本發明化合物或含其之組成物治療感染的

一種方法。治療的方法包括口服、腸道外及/或局部投與有效量的本發明化合物或其組成物，不論單獨或結合抗菌或抗微生物劑或本發明的二或多種化合物。

本發明係關於合成查耳酮作為抗微生物(和抗菌)劑之增強劑的用途。本發明更明確而言係關於查耳酮及含有選自由 3-(4"-羥基-3"-甲氧苯基)-1-(2'-羥基-5'-甲氧苯基)-丙-2-烯-1-酮(CK-1：式 2)；3-(4"-羥基-3"-甲氧苯基)-1-苯丙-2-烯-1-酮(CK-4：式 1)；3-(2",3"-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮(CK-14：式 3)；3-(2",5"-二甲氧苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙-2-烯-1-酮(CK-16：式 4)，及其混合物所構成群組之查耳酮的組成物。

較佳具體實施例的說明

必需瞭解本發明具體實施例的詳細說明和特定實(施)例僅供說明之目的而非擬限制本發明的範圍。

在審視本發明此處說明的描述時必需考慮下列的定義和非侷限性準則。此處的標題(例如"發明之領域"、"發明之背景"和"發明之摘要")僅擬用於本發明揭示內主題的一般結構，以及非擬用於限制本發明的揭示或其任何態樣。明確而言，揭示於"發明之背景"內的申請標的包括本發明範圍內的技術態樣，以及並非抄襲自先前的技藝。揭示於"發明之摘要"內的申請標的並非全面或完全地揭示本發明全部的範圍或其任何的具體實施例。為方便之計此專利說明書章節內材料的分類或討論具有一特定的效用(例如作為一"活性劑"或一"載劑"成分)，以及根據其於此處的分類當其被

用於任何已知組成物時不得因此推論該材料為必需或具有唯一的功能。

此處引證的參考文獻並非承認這些參考文獻為先前技術或與此處揭示之本發明的可專利性具有任何關聯性。發明之背景內所引證之參考文獻內容的任何討論僅擬提供該參考文獻作者所作主張的概述，而並非承認該參考文獻內容的準確性。

雖然以特定具體實施例敘述本發明，但是其描述和特定實例僅擬作為說明之目以及非擬限制本發明的範圍。此外，引證之多項具體實施例中所陳述的特性並不排除具有附加特性的其他具體實施例，或併入所述特性之不同組合的其他具體實施例。特定實例被提供用於說明如何製造和使用本發明組成物和方法之目的以及，除非已明確申明否則非擬代表該已或未經完成或測試之本發明的給定具體實施例。

此處"較佳的"和"較佳地"一詞意指本發明的具體實施例在某些情況下可提供某些效益。然而在相同或其他情況下亦可選擇其他具體實施例。再者，當敘述一或多件較佳具體實施例時並不意味著不得利用其他的具體實施例，以及本發明的範圍並非擬排除其他的具體實施例。此外，該組成物和方法可包含、基本上由，或由此處所述的元素所組成。

此處"包括"及其相關詞並非具有限制性，因而當表列項目時並不排除亦可被用於本發明之材料、組成物、裝置和

方法中的其他類似項目。

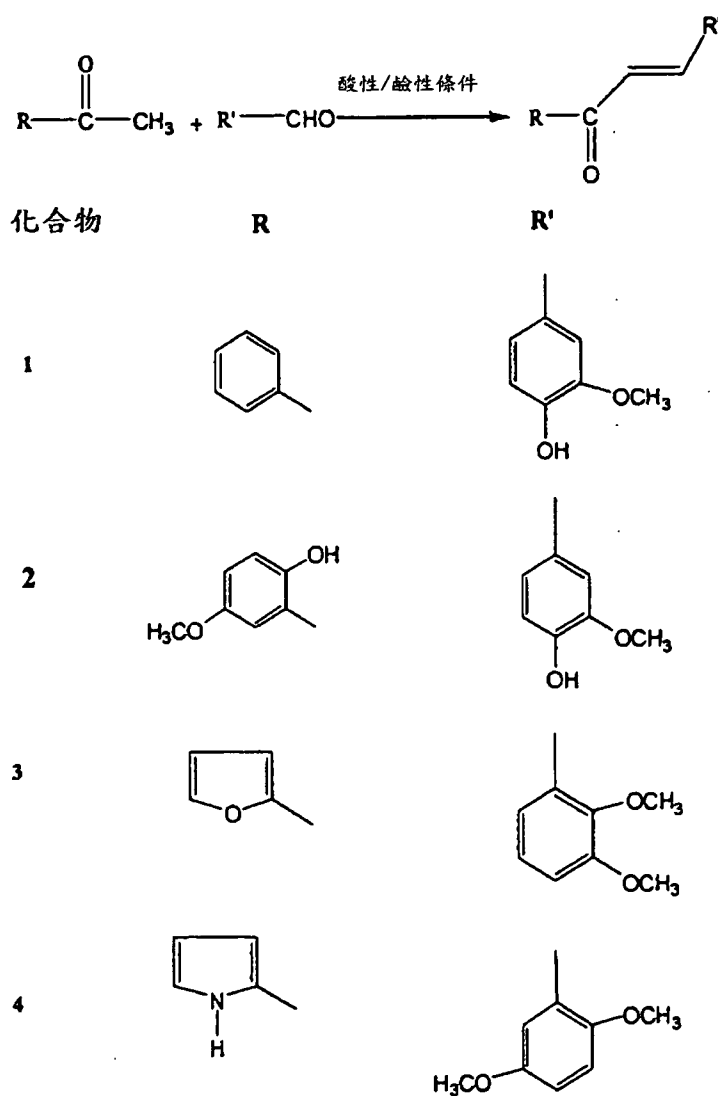
此處"大約"一詞當用於本發明組成物或方法的參數值時意指該值的計算或測量容許有少許些微的誤差而不實質上影響該組成物或方法的化學或物理性質。基於某些理由若本領域中無法瞭解該"大約"所造成不精確度的一般意義時，則此處的"大約"指至多 5% 的可能誤差值。

此處所述的全部組成百分比除非另有明述否則指總組成物的重量比。

本發明的具體實施例包括含有查耳酮、3-(4"-羥基-3"-甲氧苯基)-1-(2'-羥基-5'-甲氧苯基)-丙-2-烯-1-酮(CK-1：式 2)；3-(4"-羥基-3"-甲氧苯基)-1-苯丙-2-烯-1-酮(CK-4：式 1)；3-(2",3"-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮(CK-14：式 3)；3-(2",5"-二甲氧苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙-2-烯-1-酮(CK-16：式 4)，及其混合物的組成物。這些化合物和組成物當結合各種用於細菌、病毒和酵母的抗感染劑時被認為具有增強體外抗菌效力的性質。這些組成物和化合物當利用小白鼠和天竺鼠進行微生物感染試驗時亦具有其效力。於化合物合成圖解的下表中提供較佳具體實施例之查耳酮的構造。

報告中仍未曾述及本發明化合物用於增強藥物特別指例如述於本發明之抗感染藥劑的生物有效性。藉由結合技術中已知的各種化學合成法可合成該化合物。熟習本領域的技術者利用此處提供的方法能合成具體實施例中所述的化合物。

藉由鹼或酸性條件下苯乙酮衍生物與經取代芳香醛的縮合合成式 2 查耳酮衍生物，即 3-(4''-羥基-3''-甲氧苯基)-1-(2'-羥基-5'-甲氧苯基)-丙-2-烯-1-酮和 3-(4''-羥基-3''-甲氧苯基)-1-苯丙-2-烯-1-酮，同時藉由經取代芳香醛和 2-乙醯呋喃以及經取代芳香醛和 2-乙醯吡咯之間的縮合反應分別合成化合物 3 和 4。下列圖示中為式 1~4 的合成方法和構造。



查耳酮1至4的合成

下列為 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮

或抗真菌劑濃度之下使該細菌或真菌接觸本發明的查耳酮化合物。

本發明的另一特徵為提供利用足以降低抗生素抗性或足以抑制生物膜形成及/或分解生物膜之抗微生物劑和本發明查耳酮化合物於治療敏感和抗性微生物株導致之人和動物感染的方法，其中該查耳酮化合物可增加微生物對抗微生物劑的感受性。

本發明的另一特徵為提供一種預防性治療人或動物的方法，包含將本發明之查耳酮化合物投與至該處於微生物感染危險的人或動物，其中該化合物可降低微生物對人或動物的病原性。

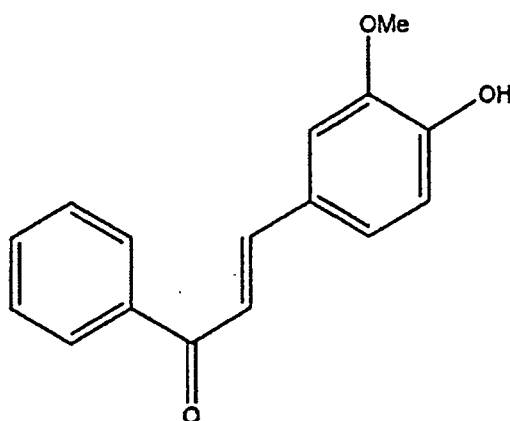
本發明的另一特徵為提供一種預防性治療人或動物的方法，包含將抗微生物劑和本發明之查耳酮化合物投與至該處於微生物感染危險的人或動物，其中該化合物可增加微生物對該抗微生物劑的感受性。

本發明的另一特徵為提供一種藉由全身或局部性投與本發明之查耳酮化合物至受感染人或動物的方法，從而避免伴隨本發明化合物之混合物的毒性效應。

本發明的另一特徵為藉由微生物與抗微生物劑和本發明查耳酮化合物的接觸以增強抗微生物劑對抗該微生物的抗微生物活性。

本文中"藥物"一詞指能影響生物體之病理生理學以及能被用於治療或預防疾病的一化學物質。藥物包括許多類的化合物，包括但不侷限於胺基糖苷類、青黴素、頭孢菌

(化合物 1)，亦稱為苯基-3-甲氧基-4-羥基二苯乙烯酮，之化學構造的說明例：



在不侷泥於任何理論或操作模式之下，這些化合物被認為可抑制細菌或其他微生物的細胞外排泵。此類外排泵可依能量依賴方式從胞質排出受質結合分子，以及該排出的受質結合分子包括抗菌劑或其他抗微生物劑和殺菌劑。此類外排泵抑制劑可藉由降低共同投與之抗微生物劑的排出或藉由預防微生物(如細菌)合成之化合物的排出而容許或改善其生長而用於治療微生物的感染。降低此類化合物排出的一實例為藉由減少螯鐵蛋白(siderophores)的排出以抑制微生物的可用鐵。在不侷泥於任何操作理論之下，本發明化合物亦可藉由抑制生物膜形成及/或分解該生物膜而增強某些抗菌劑的效力。因而該化合物和組成物被認為可用於預防生物膜形成導致的疾病。因此，本發明亦提供含有此類化合物的組成物，以及用於治療微生物感染、病原微生物導致之疾病和生物膜形成導致之疾病的方法。

因此本發明的特徵為提供一種抑制細菌或真菌生長的方法，包含在低於該細菌或真菌最低抑制濃度(MIC)的抗菌

素和其他 β -內醯胺、巨環素、糖肽、氟喹諾酮、四環素；第一和第二線抗結核菌藥；抗麻風藥、抗病毒劑；多烯、三唑和咪唑；以及如嘧啶、磺胺甲噁唑的組合；酚化合物如三氯沙；厚樸酚(magnolol)和其衍生物；何樸酚(honokiol)和其衍生物；季胺鹽化合物例如氯化鯨蠟基吡啶。藥物可為由帶或不帶電荷、親水性、疏水性或兩性離子而使其藉由通過離子及/或電壓閘門通道進行被動運輸、需依賴和不依賴能量之載體調節轉運的前藥、活化或代謝型。

從藉由實例中所述方法製備的下列一系列化合物選擇式 1~4 的最佳查耳酮衍生物。此處所述的具體實施例中可使用一或多種查耳酮衍生物。

1. 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮；
2. 3-(4"-羥基-3"-甲氧苯基)-1-(2'-羥基-5'-甲氧苯基)-丙-2-烯-1-酮；
3. 3-(2",3"-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮；
4. 3-(2",5"-二甲氧苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙-2-烯-1-酮；
5. 1-(2-呋喃基)-3-(3,4-二甲氧苯基)丙-2-烯-1-酮；
6. 1-(2-呋喃基)-3-苯丙-2-烯-1-酮；
7. 1-(2-呋喃基)-3-(3,4,5-亞甲二氧苯基)丙-2-烯-1-酮；
8. 1-(2-呋喃基)-3-(3-羥基,-甲氧苯基)丙-2-烯-1-酮；
9. 1-(2-呋喃基)-3-(3-硝苯基)丙-2-烯-1-酮；
10. 1-(2-呋喃基)-3-(3-羥苯基)丙-2-烯-1-酮；
11. 1-(2-呋喃基)-3-(4,5-硝苯基)丙-2-烯-1-酮；
12. 1-(2-呋喃基)-3-(3,6-二氯苯基)丙-2-烯-1-酮；

13. 1-(2-呋喃基)-3-(2,3-二甲氧苯基)丙-2-烯-1-酮；
14. 1-(2-呋喃基)-3-(2,5-二甲氧苯基)丙-2-烯-1-酮；
15. 3-(4-硝苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙烯酮；
16. 3-(3-硝苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙烯酮；
17. 3-(2,5-二氯苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙烯酮；
18. 3-(2,3-二甲氧苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙烯酮；
19. 3-(2,3-二氯苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙烯酮；
20. 3-(2,6-二氯苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙烯酮。

較佳具體實施例中適合使用查耳酮化合物之微生物的最適合實例為細菌病原株例如對一般用抗菌劑具有固有抗性的肺炎鏈球菌、產膿鏈球菌、綠膿桿菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、變異鏈球菌、黏性放線菌(*A. viscosus*)、核梭桿菌(*F. nucleatum*)、牙齦卟啉菌(*P. gingivalis*)。已認為細菌暴露於本發明的查耳酮化合物之下可明顯減緩細胞內抗菌劑或鐵載體的流出。例如，已曾報告金黃色葡萄球菌的氟喹諾酮抗性株在體外仍可過度表達 *norA* 多藥物轉運體(Kaatz 和 Seo, *Antim. Ag. and Chemoth.*, 1997, 41: 2733~2737)。因此，若另一抗菌劑與本發明之查耳酮化合物共同投與時，該藉由排出過程維持在極低細胞內濃度的抗菌劑將被積聚至可抑制細菌生長的濃度。此生長抑制作用視所使用的特定抗菌劑被歸類為抑菌或殺菌活性。雖然以綠膿桿菌作為適當的細菌實例，包括上述細菌的其他和微生物菌種亦含有類似主動運送各種抗微生物劑的各種受質結合泵，因而亦可作為適當的標的。

因此，本發明之查耳酮化合物的用途被認為能抑制肺炎鏈球菌、產膿鏈球菌、綠膿桿菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、變異鏈球菌、黏性放線菌、核梭桿菌、牙齦卟啉菌的外排泵而可獲得下列一或多種生物學效應：1. 使肺炎鏈球菌、產膿鏈球菌、綠膿桿菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、變異鏈球菌、黏性放線菌、核梭桿菌、牙齦卟啉菌菌株對無法用於治療各別細菌感染，或對可抑制各別細菌生長的抗生素產生感受性；2. 使肺炎鏈球菌、產膿鏈球菌、綠膿桿菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、變異鏈球菌、黏性放線菌、核梭桿菌、牙齦卟啉菌菌株對目前用於治療治療各別細菌感染的抗生素更具感受性；3. 由於主要含鐵載體元素受到妨礙而降低肺炎鏈球菌、產膿鏈球菌、綠膿桿菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、變異鏈球菌、黏性放線菌、核梭桿菌、牙齦卟啉菌的毒力；以及 4. 抑制該外排泵或外排泵的其一成分可致死或阻礙生長。

即使獲得其一的這些效應仍對這些細菌的感染具有治療潛力。以另外微生物亦可獲得一些或全部的上述效應，因而亦適合作為偵測或利用外排泵抑制劑的標的。因此，"微生物"一詞包括例如細菌、真菌、酵母和原蟲。

如所述，可使用本發明之查耳酮化合物的細菌可來自其他細菌群或種，例如包括但不侷限於下列其一的細菌群或種：綠膿桿菌、螢光假單胞菌(*P. fluorescens*)、食酸假單胞菌(*P. acidovorans*)、產鹼假單胞菌(*P. alcaligenes*)、惡臭假單胞菌(*P. putida*)、嗜麥芽窄食單胞菌(*S. maltophilia*)、洋

蔥伯克霍爾德氏菌 (*B. capacia*)、親水產氣單胞菌 (*A. hydrophilia*)、大腸桿菌、弗氏檸檬菌 (*C. freundii*)、鼠傷寒沙氏桿菌 (*S. typhimurium*)、傷寒沙氏桿菌 (*S. typhi*)、副傷寒沙門氏菌 (*S. paratyphi*)、腸炎沙門氏菌 (*S. enteritidis*)、赤痢桿菌 (*S. dysenteriae*)、福氏志賀桿菌 (*S. flexneri*)、陰溝腸桿菌 (*S. sonnei*)、陰溝腸桿菌 (*E. cloacae*)、產氣腸桿菌 (*E. aerogenes*)、肺炎克氏桿菌 (*K. pneumoniae*)、產酸克雷伯氏菌 (*K. oxytoca*)、沙雷氏黏質菌 (*S. marcescens*)、野兔熱桿菌 (*F. tularensis*)、摩氏摩根變形桿菌 (*M. morganii*)、奇異變形桿菌 (*P. mirabilis*)、普通變形桿菌 (*P. vulgaris*)、產鹼普羅威登斯菌 (*P. alcalifaciens*)、洋葱普羅威登斯菌 (*P. rettgeri*)、斯氏普羅威登斯菌 (*P. stuartii*)、牙齦卟啉單胞菌 (*P. gingivalis*)、中間普雷沃菌 (*P. intermedia*)、醋酸鈣不動桿菌 (*A. calcoaceticus*)、溶血不動桿菌 (*A. haemolyticus*)、黏性放線菌 (*A. viscosus*)、小腸結腸炎耶氏菌 (*Y. enterocolitica*)、鼠疫耶氏菌 (*Y. pestis*)、假結核耶氏菌 (*Y. pseudotuberculosis*)、中間耶氏桿菌 (*Y. intermedia*)、百日咳博氏菌 (*B. pertussis*)、副百日咳博氏桿菌 (*B. parapertussis*)、支氣管博氏桿菌 (*B. bronchiseptica*)、流感嗜血桿菌 (*H. influenzae*)、副流感嗜血桿菌、杜克嗜血桿菌 (*H. ducreyi*)、伴放線菌嗜血桿菌 (*A. actinomycetemcomitans*)、多殺性巴氏桿菌 (*H. multocida*)、溶血性巴氏桿菌 (*H. haemolytica*)、卡他布蘭漢氏球菌 (*B. catarrhalis*)、幽門螺旋桿菌 (*H. pylori*)、胎兒彎曲桿菌 (*C. fetus*)、空腸彎曲桿菌 (*C. jejuni*)、結腸彎曲桿菌 (*C. coli*)、

包柔氏疏螺旋菌(*B. burgdorferi*)、霍亂弧菌(*V. cholerae*)、副溶血性弧菌(*V. parahaemolyticus*)、嗜肺性退伍軍人桿菌(*L. pneumophila*)、單核球增生性李斯特菌(*L. monocytogenes*)、奈瑟氏淋病雙球菌(*N. gonorrhoeae*)、腦膜炎奈瑟氏球菌(*N. meningitidis*)、金氏菌(*Kingella*)、莫拉克斯菌(*Moraxella*)、陰道加德納氏菌(*G. vaginalis*)、脆弱擬桿菌(*B. fragilis*)、狄氏擬桿菌(*B. distasonis*)、擬桿菌 3452A 同源群(homology group)、狄氏擬桿菌、卵形擬桿菌(*B. ovalus*)、多形擬桿菌(*B. thetaiotaomicron*)、單形擬桿菌(*B. uniformis*)、埃氏擬桿菌(*B. eggerthii*)、內臟擬桿菌(*B. splanchnicus*)、困難梭狀桿菌(*C. diffile*)、結核分枝桿菌、鳥結核分枝桿菌、胞內分枝桿菌(*M. intracellulare*)、麻瘋分枝桿菌(*M. leprae*)、白喉棒狀桿菌(*C. diphtheriae*)、潰瘍棒狀桿菌(*C. ulcerans*)、肺炎鏈球菌、無乳鏈球菌、變異鏈球菌(*S. mutans*)、血鏈球菌(*S. sanguis*)、唾液鏈球菌(*S. salivarius*)、產膿鏈球菌(*S. pyogenes*)、糞腸球菌(*E. faecalis*)、屎腸球菌(*E. faecium*)、金黃色葡萄球菌、表皮葡萄球菌(*S. epidermidis*)、腐生葡萄球菌(*S. saprophyticus*)、中間葡萄球菌(*S. intermedius*)、豬葡萄球菌豬亞種(*Staphylococcus hyicus* subsp. *Hyicus*)、溶血葡萄球菌(*S. haemolyticus*)、人葡萄球菌(*S. hominis*)和解糖葡萄球菌(*S. saccharolyticus*)。

"外排泵"一詞指以能量依賴方式從細胞之胞質或外周胞質排出受質結合分子的跨膜蛋白組合。因此典型的一外排泵為位於細胞的胞體漿膜(跨越胞體漿膜)。在革蘭氏陰性

菌中該泵浦可跨越外周胞質的空間，以及其亦為跨越外膜的部分外排泵。

"外排泵抑制劑"係可明顯干擾外排泵排出其正常受質，或其他化合物如抗生素的一種化合物。該抑制劑具有本身的固有抗微生物(如抗菌)活性，但是至少一重要部分的相關活性係導因於外排泵的抑制活性。本具體實施例最重要的是具有廣泛受質結合範圍包括抗菌劑之抑制排出或外排泵活性的化合物。

另一態樣中，本發明提供一種藉由投與有效降低外排泵活性或有效抑制生物膜形成及/或分解該生物膜之上述一或多種查耳酮化合物量至罹患該感染之動物用以治療動物之微生物感染如細菌感染的方法。

在一較佳具體實施例中，該查耳酮化合物係可降低微生物的病原性者。藉由抑制螯鐵蛋白的運輸，或藉由抑制或分解生物膜的形成功而干擾重要細菌元素的取得可獲得此類病原性的降低。藉由減少或清除導致宿主組織損傷效應的微生物產物亦可降低該病原性。然而，可降低病原性的其他方法亦在此態樣中。

某些較佳具體實施例中，該微生物感染或疾病可導因於上述任何細菌菌種的細菌，但是其特別指肺炎鏈球菌、綠膿桿菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌。存在於口腔內的此類病症包括例如齒齦炎、蛀牙、牙斑形成等。

在一相關態樣中，本發明提供一種藉由投與可增強與查耳酮共同投藥之抗微生物劑活性的本發明有效量查耳酮

化合物至動物以治療該罹患微生物感染動物的方法。此態樣中，該查耳酮化合物可降低感染微生物在體內的存活率。藉由降低體內的存活率，該被感染動物可更易清除其體內感染，或甚至殺死該微生物。在特定具體實施例中，該動物為哺乳動物。又在一特定具體實施例中，該微生物可為上述所列舉的各種病原菌菌種中之一。

在一相關態樣中，本發明提供一種藉由可增強微生物對抗微生物劑感受性之抗微生物劑和本發明查耳酮化合物治療罹患該感染之動物以用於治療特別指哺乳類動物之微生物感染的方法。此方法中，當存在查耳酮化合物時可利用較低劑量或無治療效應的抗微生物劑治療該被感染動物。因此，此治療方法特別適用於治療需要較高單獨抗微生物劑治療劑量(將造成不良副作用)，或無任何臨床治療效應的感染。然而，其亦適用於治療需降低感受性微生物之特定抗微生物劑量的感染。此不但可降低副作用所造成的危險，亦可避免由於持續性地使用高濃度的特定抗微生物劑而產生高抗性微生物。在特定具體實施例中，該微生物可為例如上述任何菌群或菌種的細菌。又在特定具體實施例中，可使用各種的抗菌劑。這些抗菌劑包括喹諾酮、四環素、糖肽、胺基酸苷、 β -內醯胺、立汎黴素(rifamycins)、香豆黴素(coumermycins)、巨環素和氯黴素。

在特定具體實施例中，上述抗生素可為例如下列的其中一類：

β -內醯胺抗生素

亞胺培南(imipenem)、美羅培南(meropenem)、比阿培南(biapenem)、頭孢克洛(cefaclor)、頭孢羥胺(cefadroxil)、頭孢孟多(cefamandole)、頭孢曲嗪(cefatrizine)、頭孢西酮(cefazedone)、頭孢唑啉(cefazolin)、頭孢克肟(cefixime)、頭孢甲肟(cefmenoxime)、頭孢地嗪(cefodizime)、頭孢尼西(cefonicid)、頭孢哌酮(cefoperazone)、頭孢雷特(ceforanide)、頭孢噻肟(cefotaxime)、頭孢替安(cefotiam)、頭孢咪唑(cefpimizole)、頭孢匹胺(cefpiramide)、頭孢泊肟(cefpodoxime)、頭孢磺啉(cefsulodin)、頭孢他啉(ceftazidime)、頭孢特侖(cefteram)、頭孢替唑(ceftezole)、頭孢布烯(ceftibuten)、頭孢唑肟(ceftizoxime)、頭孢曲松(ceftriazone)、頭孢呋辛(cefurozime)、頭孢唑喃(cefuzonam)、氟甲頭孢菌素(cephaaceterile)、頭孢氨苄(cephalexin)、頭孢來星(cephaloglycin)、頭孢噻啉(cephaloridine)、頭孢噻吩(cephalothin)、頭孢匹林(cephapirin)、頭孢拉定(cephradine)、頭孢美唑(cefmetazole)、頭孢西汀(cefoxitin)、頭孢替坦(cefotetan)、胺曲南(azthreonam)、卡蘆莫南(carumonam)、氟氧頭孢(flomoxef)、拉氧頭孢(moxalactam)、美西林(amidinocillin)、阿莫西林、氨苄西林(amicillin)、阿洛西林(azlocillin)、羧苄基青黴素(carbenicillin)、苄星青黴素、卡非西林(carfecillin)、氯唑西林(cloxacillin)、雙氯西林(dicloxacillin)、新青黴素(methicillin)、美洛西林(mezlocillin)、萘夫西林(nafcillin)、苯唑青黴素(oxacillin)、青黴素 G、哌拉西林(piperacillin)、磺苄西林(sulbenicillin)、替莫西林(temocillin)、替卡

西林(ticarcillin)、頭孢托侖(cefditoren)、SC004、KY-020、頭孢地尼(cefdinir)、頭孢布烯、FK-312、S-1090、CP-0467、BK-218、FK-037、DQ-2556、FK-518、頭孢唑蘭(cefazopran)、ME1228、KP-736、CP-6232、Ro 09-1227、OPC-20000、LY206763、巨環素、阿齊黴素(azithromycin)、克拉黴素(clarithromycin)、紅黴素、夾竹桃黴素、羅他黴素(roxithromycin)、羅沙米星(rosaramicin)、羅紅黴素(roxithromycin)、醋竹桃黴素(troleandomycin)、泰利黴素(telithromycin)和其他酮內酯、喹諾酮、氨氟沙星(amifloxacin)、西諾沙星(cinoxacin)、環丙沙星(ciprofloxacin)、依諾沙星(enoxacin)、氟羅沙星(fleroxacin)、氟甲喹(flumequine)、洛美沙星(lomefloxacin)、萘啶酮酸(nalidixic)、諾氟沙星(norfloxacin)、氧氟沙星(ofloxacin)、左氟沙星(levofloxacin)、歐索林酸(oxolinic)、培氟沙星(pefloxacin)、二氟沙星(difloxacin)、馬波沙星(marbofloxacin)、羅索沙星(rosoxacin)、替馬沙星(temafloxacin)、托氟沙星(tosufloxacin)、司氟沙星(sparfloxacin)、克林沙星(clinafloxacin)、曲伐沙星(trovafloxacin)、阿拉曲沙星(alatrofloxacin)、格帕沙星(grepafloxacin)、莫昔沙星(moxifloxacin)、加替沙星(gatifloxacin)、吉米沙星(gemifloxacin)、那氟沙星(nadifloxacin)、PD131628、PD140248、Q-35、AM-1155、NM394、T-3761、蘆氟沙星(rufloxacin)、OPC-17116、DU-6859a(經 Sato, K. 等人, 1992, *Antim. Agents Chemother.* 37: 1491~98 鑑定)、DV-7751a(經 Tanaka, M. 等人, 1992, *Antim. Agents Chemother.* 37: 2212~

18 鑑定)。

四環素

氯四環素、去甲環素(demeclocycline)、多西環素(doxycycline)、賴甲環素(lymecycline)、美他環素(methacycline)、米諾環素(minocycline)、氧四環素、四環素、胺基酸苷、阿米卡星(amikacin)、阿貝卡星(arbekacin)、丁醯甘菌毒(butirosin)、地貝卡星(dibekacin)、福提黴素(fortimicins)、健大黴素(gentamicin)、卡那黴素、奈替米星(netilmicin)、核糖黴素(ribostamycin)、西索米星(sisomicin)、壯觀黴素(spectinomycin)、鏈黴素、妥布黴素(tobramycin)、克林黴素(clindamycin)、林可黴素(lincomycin)。

呋唑二酮

利奈唑烷(linezolid)、依哌唑胺(eperezolid)。

上述化合物已分別被記載於各種的文獻中。其他已經鑑定的抗生素亦可與本發明的查耳酮化合物共用。

本文一微生物如細菌對一抗微生物劑的反應中，"感受性"一詞指該微生物對該抗微生物劑的敏感程度。所以，增加感受性意指以圍繞該微生物細胞之介質內的低濃度抗微生物劑即可抑制該微生物。亦即該微生物對該抗微生物劑更為敏感。在大部分的情況之下其將可降低該抗微生物劑的最低抑制濃度(MIC)。

本發明的特徵為一種增強抗微生物劑之抗微生物活性的方法，其中該微生物係接觸本發明的查耳酮化合物如非四環素特異性查耳酮化合物及一抗菌劑。因此，當以抗微

生物劑和查耳酮化合物之組合治療時此方法可使一抗微生物劑更有效地對抗具有外排泵或與生物膜形成有關的細胞。在一特定具體實施例中，該微生物為細菌或真菌如上述所列舉者；該抗菌劑可選自許多以構造分類的抗生素包括，例如 β -內醯胺、糖肽、胺基糖苷、喹諾酮、四環素、立汎黴素、香豆黴素、巨環素和氯黴素。在一特定具體實施例中，該抗生素可為上述種類的抗生素。

在進一步態樣中，本發明提供有效用於治療被微生物如細菌或真菌感染之動物如哺乳動物的醫藥組成物。該組成物包含一醫藥上可接受載劑及上述的查耳酮化合物。在較佳具體實施例中，此類組成物含有即使無另一種抗微生物劑之下本身仍為有效抗微生物劑(即，具固有的抗微生物活性)的查耳酮化合物。因此，可單獨使用含有此類查耳酮化合物的醫藥組成物，或結合另一抗微生物劑。

在另一較佳具體實施例中，本發明醫藥組成物內的查耳酮化合物可增強抗微生物劑的有效性，因而此類組成物通常可結合其他的抗微生物劑。本發明亦提供同樣有效用於治療一感染動物的醫藥組成物，其中該組成物含有查耳酮化合物和一抗微生物劑。同樣，本發明提供含有一抗微生物劑、本發明之查耳酮化合物，及一載劑的抗微生物配製物。在較佳具體實施例中，該抗微生物劑係一種抗菌劑。

一"載劑"或"賦形劑"係一種便於投與該化合物例如增加該化合物之溶解度的化合物或材料。固體載劑包括，例如澱粉、乳糖、磷酸二鈣、蔗糖和白陶土。液體載劑包括，

例如滅菌水、生理鹽水、非離子表面活性劑，及食用油如花生油和芝麻油。此外，亦可含有例如技術中常用的佐劑。諸如此類的化合物已述於文獻中，例如於紐澤西州 Rahway 市默克公司的默克藥典。醫藥組成物內併入各種成分的考慮因素已述於，例如 Gilman 等人(編輯)(1990)；Goodman 和 Gilman's：治療劑的藥理基礎，第八版，Pergamon 出版社。

進一步態樣中，本發明提供一種製造含有上表中式 1~4 之類的已鑑定查耳酮化合物；合成該化合物，以及製備含有該化合物之醫藥組成物的方法。該查耳酮化合物具有如上所述的化學構造。該醫藥組成物亦可含有一或多種例如上述經鑑定的抗微生物劑，以及一或多種載劑、稀釋劑和賦形劑。此外，在較佳具體實施例中，該查耳酮化合物可有效對抗一微生物，例如上述經鑑定的細菌。

查耳酮化合物的鑑定

利用生物學技術中已知的篩檢法鑑定具有上述本發明之構造的查耳酮化合物，並且詳述如下。然而，亦可利用其他用於偵測外排泵抑制劑的篩檢方法。發明者已篩檢出許多合成藥物及已鑑出數種可有效分別抑制金黃色葡萄球菌 1199B(過度表達 NorA)、金黃色葡萄球菌 SA-K2192(過度表達 TetK)和金黃色葡萄球菌 SA-K2191(過度表達 MsrA)之外排泵的化合物。

棋盤法：

棋盤法為最常用於測定體外抗微生物組合的方法。該"

棋盤"一詞指利用兩種藥物之多重稀釋的模式進行測定 (Eliopoulos GM, Moellering RC；抗微生物組合，於：美國實驗室藥物的抗生素：Williams 和 Wilkins)。本試驗中該棋盤由各試管(或孔洞)含有沿 x-軸稀釋之等量標準藥物(抗菌劑/抗真菌劑/抗結核劑/抗病毒劑)的欄以及各試管(或孔洞)含有沿 y-軸稀釋之等量增強劑的列所構成。因此，棋盤的各方塊(代表一試管/孔洞或平板)中含有標準藥物和增強劑的一獨特組合。本試驗之標準藥物的濃度範圍為 64 ug/ml 至 0.03 ug/ml，同時受測增強劑的濃度範圍為 500 ug/ml 至 0.2 ug/ml。此棋盤式技術可利用液體或半固體(瓊脂)介質。

瓊脂法：

此瓊脂法中該瓊脂(Mueller Hinton 瓊脂，Middlebrook 7H10 瓊脂)被高壓滅菌並且冷卻至 55°C 至 50°C。將標準藥物和增強劑的組合加至該瓊脂。在適當溶劑內製備各標準藥物和增強劑的兩倍稀釋序列。為維持瓊脂和藥物的所欲濃度以及排除溶劑的影響，儘量使加至瓊脂的溶劑容積(含標準藥物或增強劑)保持最少(即 $\leq 5\%$ 的總容積)。在已倒入瓊脂平板並且乾燥之後，將受測細菌以攜帶標準接種物(約 10^4 cfu/spot)的塗佈器塗抹於瓊脂表面。將該平板在 37°C 培養 24 小時(結核分枝桿菌時為 3 週)。

肉汁法：

亦可在微滴定盤格式內以液體介質進行上述棋盤法。此方法被用於研究抗菌劑/抗真菌劑/抗病毒劑與增強劑的組合。

體內查耳酮化合物的篩檢

細菌外排泵的抑制劑通常在體內進行初步的定性。可有效抑制外排泵及與抗生素具有加乘活性者被選擇進行體內評估。利用標準程序進行藥效試驗。利用鼠敗血症模式(Yun 等人, *J. of Antimic. Chemother.*, 2002, 46: 3071~3074)進行主要藥效評估。此模式中使用細菌的超致死劑量挑戰齧齒類動物。開始以其一或兩者不同的抗生素治療劑量進行治療。這些試驗中使用不同劑量的抗生素和外排泵抑制劑。增強劑(外排泵抑制劑)和抗生素組合與單獨抗生素比較對致死性感染具有明顯加強保護作用者為陽性結果。

醫藥組成物及投藥模式

可單獨將上述經鑑定的特定化合物投與至病人，或結合抗微生物劑如抗菌劑或混合適當載劑、賦形劑或稀釋劑的醫藥組成物。一查耳酮化合物與一抗微生物劑的組合可為至少兩種不同的類型。其一為混合物、溶液或粉末混合物內一定量的查耳酮化合物結合一定量的抗微生物劑。此類混合物中，該查耳酮化合物和該抗微生物劑的相對量視特定組合及預期治療而不同。在第二類組合中查耳酮化合物可共價連接抗微生物劑而該連接分子可在細胞內被切斷。然而，該"組合"一詞亦可指其他可能方式，包括依序投與該查耳酮化合物和其他抗微生物劑。此外，查耳酮化合物及/或另一抗微生物劑可以前藥形式被投藥，亦即該化合物能在細胞內被修飾成具有功能的藥物。治療呈現標的疾病的人時，投與治療有效量的上述藥物。治療有效劑量

指可減輕症狀或延長病人存活率，並且可消除一微生物感染的化合物數量。

藉由標準藥理程序可在細胞培養基或實驗動物內測定此類化合物的毒性和治療效果，例如測定 LD_{50} (50%族群致死的劑量) 和 ED_{50} (50%族群產生治療效果的劑量)。毒性和治療效果之間的劑量比 (dose ratio) 為治療指數，並且其可被表示為 LD_{50}/ED_{50} 比。化合物以具有較大治療指數者較佳。獲得自這些細胞培養檢測和動物試驗的資料可配製用於人類的一劑量範圍。此類化合物的劑量較佳為在包括 ED_{50} 之低或無毒性之血液循環濃度的劑量範圍內。視所使用的劑量和劑型以及投藥途徑該劑量可在範圍內變動。查耳酮化合物的治療血清濃度較佳為在 0.1 至 100 mcg/ml 的範圍內。

就潔齒劑或口腔保健組成物而言，此處所述化合物可共同投與適當抗菌劑、抗牙斑劑、抗牙石劑、抗牙垢劑和其他口腔保健活性劑，及這些活性劑的組合。該組成物係牙膏、牙粉、牙膠、漱口液、舌錠、口香糖、牙片型等的潔齒劑。可使用任何適當抗菌劑，包括天然、合成抗菌劑等。該潔齒劑組成物通常含有抗菌劑、查耳酮化合物、磨料、濕潤劑，及口腔可接受載劑。各種成分可有不同的用量，以及熟習本領域技術者能利用此處所述的原則配製適當的潔齒劑組成物。

根據本發明組成物所使用的抗微生物劑並無特殊限制，並且可選自鹵化二苯醚(三氯沙)、植物浸液或精油(如迷迭香、瑞香酚、薄荷醇、桉葉醇、冬青油)、雙胍抗菌劑

(如沙威隆、阿立西定(alexidine)或奧替尼啉(octenidine))、酚類抗菌劑、海克西定(hexetidine)、優碘(povidone iodine)、地莫匹醇(delmopinol)、正辛醯-3'-三氟甲基苯基水楊醯胺(salifluor)、金屬離子及其鹽(如氯化鋅、乳酸鋅、檸檬酸鋅、氧化鋅、氟化亞錫和氯化亞錫)、血根鹼(sanguinarine)、蜂膠、氧化劑(如過氧化氫、緩衝過硼酸鈉或過氧碳酸鈉)、氯化鯨蠟基吡啶、玉蘭萃取物、厚樸酚、何厚樸酚、5,5'-二丁基-2,2'-二醇、丙基何厚樸酚、硼酸酯，及其混合物。亦可含有抗附著劑例如 Solrol，以及牙斑裂解劑例如酵素(木瓜酶、葡糖澱粉酶等)。

發明者已發現利用本發明的查耳酮化合物結合抗微生物劑可明顯增強該抗微生物劑的效力。增強效力的結果可減少抗微生物劑的濃度而達到與單獨使用抗微生物劑相同或類似的效果。抗微生物劑的數量可從無查耳酮化合物的單獨使用濃度降低 10 至 50%，較佳為從 10 至 75%，更佳為從約 10 至約 50%。

在一具體實施例中，如此處所述較佳為 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮之查耳酮化合物與抗微生物劑的組合對生物膜形成及/或生物膜分解的抑制作用具有加乘效應。發明者已驚奇地發現可降低 50%的生物膜清除濃度(BEC₅₀)，與對照組比較其為生質量降低大於 50%的最低濃度。對生物膜的抑制作用而言，查耳酮化合物和抗微生物劑組合與各別受測藥物比較具有極低的 BEC₅₀。

因此，在一較佳具體實施例中，與不存在抗微生物劑

之查耳酮化合物的 BEC_{50} 比較，該存在抗微生物劑之查耳酮化合物具有 50% 或更低，更佳為 30% 或更低，最佳為 25% 或更低的 BEC_{50} 。該存在抗微生物劑之查耳酮化合物較佳為具有 0.1 ppm 至 40 ppm，更佳為 0.2 ppm 至 30 ppm，最佳為 0.2 ppm 至 30 ppm 的 BEC_{50} 。

在一較佳具體實施例中，與不存在查耳酮化合物之抗微生物劑的 BEC_{50} 比較，該存在查耳酮化合物之抗微生物劑具有 75% 或更低，更佳為 50% 或更低的 BEC_{50} 。該存在查耳酮化合物之抗微生物劑的 BEC_{50} 視組成物內所使用特定抗微生物劑而定。存在查耳酮化合物之下該抗微生物劑通常具有 30 ppm 或更低的 BEC_{50} 。存在查耳酮化合物之下該抗微生物劑較佳為具有 20 ppm 或更低，更佳為 6 ppm 或更低，最佳為 2 ppm 或更低的 BEC_{50} 。在一具體實施例中，其中該抗微生物劑為三氯沙，三氯沙於存在查耳酮化合物之下具有從 0.5 ppm 至 3 ppm 的 BEC_{50} ，更佳為 0.75 ppm 至 1.5 ppm 的 BEC_{50} ，同時單獨三氯沙為從約 1.5 ppm 至約 2.5 ppm 的範圍。

本發明的各種具體實施例中，該口腔保健組成物的載劑為固體或膏狀，該口腔組成物較佳為含有作為牙齒琺瑯質拋光或潔白的牙齒可接受磨料。非限制性實例包括氧化矽磨料例如矽膠和沈澱矽。市售具體實施例包括美國新澤西州 Edison 市 J.M. Huber 公司所販售的 ZEODENT[®] 115、紐約州紐約市 W.R. Grace 公司之 Davison 化學分公司所販售的 SYLODENT[®] XWA、SYLODENT[®] 783 或 SYLODENT[®]

650 XWA，以及美國賓州 Malvern 市 PQ 公司所販售的矽磨料 SORBOSIL[®]。其他有用的潔齒劑磨料包括，但不侷限於偏磷酸鈉、偏磷酸鉀、磷酸三鈣、二水磷酸二鈣、矽酸鋁、燒結氧化鋁、膨潤土或其他矽質材料，或其組合。

存在有效量的磨料。當口腔組成物為固體或膏狀的具體實施例中，該磨料的含量通常為約 10%至約 99%的口腔組成物。在某些具體實施例中，該磨料於牙膏內的含量為從約 10%至約 75%(例如約 10%至約 40%或約 15%至約 30%)，以及於牙粉內的含量為從約 70%至約 99%。

又進一步具體實施例中，本發明的組成物含有用於例如避免牙膏暴露於空氣中被硬化的至少一種濕潤劑。可使用任何口腔可接受濕潤劑，包括但不侷限於多元醇如甘油、山梨糖醇、木糖醇和低分子量聚乙二醇(PEGs)。大部分的濕潤劑亦可被作為甜味劑。任選的一或多種濕潤劑的總含量為約 1%至約 70%，例如約 1%至約 50%、約 2%至約 25%，或約 5%至約 15%重量比的該組成物。

又進一步具體實施例中，本發明的組成物含有用於例如增加與組成物其他成分之相容性而提高安定性以助於經由去污力清潔牙齒表面及在例如以本發明潔齒劑組成物刷牙的攪動時產生泡沫的至少一種表面活性劑。可使用其大部分為陰離子、非離子或兩性離子的任何口腔可接受表面活性劑。適當陰離子表面活性劑包括，但不侷限於 C_{8~20} 烷基硫酸鹽的水溶性鹽、C_{8~20} 脂肪酸的磺酸化單酸甘油酯、肌胺酸鹽、牛磺酸鹽等。諸如此類的說明例包括月桂基硫

酸鈉、月桂基羧酸鈉和十二烷基苯磺酸鈉。適當非離子活性劑包括，但不侷限於泊洛沙姆(poloxamers)、山梨糖醇聚氧乙烯酯、乙氧基脂肪醇、乙氧基烷基酚、三級氧化胺、三級氧化磷、二烷基亞碲等。適當兩性離子表面活性劑包括，但不侷限於具有如羧酸、硫酸、磺酸、磷酸或亞磷酸之陰離子基團的 C_{8-20} 脂族二級和三級胺衍生物。適當實例為椰油醯胺丙基甜菜鹼。任選的一或多種表面活性劑的總含量為約 0.01% 至約 10%，例如約 0.05% 至約 5% 或約 0.1% 至約 2% 重量比的組成物。

在另一具體實施例中，該組成物含有口腔可接受抗牙石劑。可存在一或多種此類的物質。適當抗牙石劑包括，但不侷限於磷酸鹽和聚磷酸鹽(如焦磷酸鹽)、聚胺基丙磺酸(AMPS)、三水檸檬酸鋅；多肽例如聚天冬胺酸和聚麩胺酸、聚烯羧磺酸鹽、聚烯羧磷酸鹽；雙磷酸鹽例如氮雜環戊烷-2,2-雙磷酸鹽(如氮雜環庚烷-2,2-雙磷酸)、N-甲基氮雜環戊烷-2,3-雙磷酸、乙烷-1-羥基-1,1-雙磷酸(EHDP)和乙烷-1-胺基-1,1-雙磷酸鹽；磷醯烷基羧酸，及任何上述的鹽例如鹼金屬鹽和銨鹽。有用之無機磷酸鹽和焦磷酸鹽例示性包括單鹼式、雙鹼式和三鹼式磷酸鈉、三聚磷酸鈉(STPP)、四聚磷酸鹽、焦磷酸單、雙、三和四鈉、焦磷酸二氫二鈉、三偏磷酸鈉、六偏磷酸鈉等，其中鈉可選擇性地被鉀或銨所取代。其他有用抗牙石劑包括聚羧酸鹽聚合物。這些包括含有羧酸基例如丙烯酸、甲基丙烯酸和馬來酸或酐之單體的聚合物或共聚物。非限制實例包括聚乙烯甲基醚/馬來

酸酐(PVME/MA)共聚物，例如供應自美國新澤西州 Wayne 市 ISP 公司的商品 GANTREZ[®]。又其他有用抗牙石劑包括羧基羧酸例如檸檬酸、富馬酸、戊二酸和草酸及其鹽的螯合劑，以及胺基聚羧酸例如四醋酸乙二胺(EDTA)。組成物內任選一或多種抗牙石劑的有效總含量通常為約 0.01%至約 50%，例如約 0.05%至約 25%或約 0.1%至約 15%重量比。

在各種具體實施例中，該抗牙石系統含有三聚磷酸鈉(STPP)和焦磷酸四鈉(TSPP)的混合物。在各種具體實施例中，該 TSPP 對 STPP 的比例為從約 1：2 至約 1：4。在一較佳具體實施例中，該第一抗牙石活性成分 TSPP 的含量為約 1%至約 2.5%以及該第二抗牙石活性成分 STPP 的含量為約 1%至約 10%。

在各種具體實施例中，該抗牙石系統進一步含有合成陰離子聚羧酸鹽聚合物。在一具體實施例中，該合成陰離子聚羧酸鹽的含量為從約 0.1%至約 5%。在另一具體實施例中，該合成陰離子聚羧酸鹽的含量為從約 0.5%至約 1.5%，最佳為約 1%的口腔保健組成物。根據本發明的一具體實施例中，該抗牙石系統含有馬來酸酐和甲基乙烯醚的共聚物，舉例如上述的 GANTREZ[®] S-97 產品。

在各種具體實施例中，TSPP、STPP 與合成陰離子聚羧酸鹽的比例為從約 5：10：1 至約 5：20：10(或 1：4：2)。在一具體實施例中，該口腔保健組成物的抗牙石系統含有 TSPP、STPP 和聚羧酸鹽例如馬來酸酐和甲基乙烯醚之共聚物的比例為約 1：7：1。在一非限制性具體實施例中，該抗

牙石系統基本上由約 0.5%至約 2.5%之 TSP、約 1%至約 10%之 STPP，和約 0.5%至約 1.5%之馬來酸酐和甲基乙烯醚的共聚物所組成。

在又進一步具體實施例中，本發明的組成物含有至少一種用於例如賦與組成物所需稠度及/或口感的增稠劑。可使用任何口腔可接受增稠劑，包括但不侷限於亦稱為羧乙烯聚合物的卡波姆(carbomers)；亦稱為愛爾蘭苔及更特別指鹿角菜膠(iota-carrageenan)的卡拉膠；纖維質聚合物例如羥乙基纖維素、羧甲基纖維素(CMC)和其鹽如 CMC 鈉；天然膠例如卡拉膠、三仙膠、阿拉伯膠和黃蓍樹膠；鋁矽酸鎂膠體、矽膠等。任選一或多種增稠劑的總含量為約 0.01%至約 15%，例如約 0.1%至約 10%或約 0.2%至約 5%重量比的組成物。

在又進一步具體實施例中，本發明組成物含有至少一種用於例如抑制成分之沈澱或分離或液態組成物攪拌後促進再分散的黏度調節劑。可使用任何口腔可接受黏度調節劑，包括但不侷限於礦物油、石油、黏土和有機改性黏土、氧化矽等。任選一或多種黏度調節劑的總含量為約 0.01%至約 10%，例如約 0.1%至約 5%重量比的組成物。

在另一具體實施例中，該組成物含有一口腔可接受氟離子源。可存在一或多種此類的離子源。適當氟離子源包括氟化物、單氟磷酸鹽和氟矽酸鹽；以及氟化胺包括奧拉氟(olafur)(N'-十八烷基三亞甲基二胺-N,N,N'-三(2-乙醇)二氫氟酸鹽)。可使用任何口腔可接受的此類鹽，包括但不侷

限於鹼金屬(如鉀、鈉)鹽、銨鹽、亞錫鹽及銻鹽等。通常為使用水溶性釋氟鹽類。任選一或多種釋氟鹽的含量可提供總量約 100 ppm 至約 20,000 ppm、約 200 ppm 至約 5,000 ppm，或約 500 ppm 至約 2,500 ppm 的氟離子。若氟化鈉為唯一的釋氟鹽時其含量為約 0.01%至約 5%、約 0.05%至約 1%或約 0.1%至約 0.5%重量比氟化鈉的組成物。

其他成分包括，但不侷限於調味劑、著色劑，及其他活性成分例如抗氧化劑和抗炎劑。該成分可根據已知程序被配製入口腔組成物內。

牙膏和牙膠主要含有濕潤劑以及通常用於清潔牙齒的磨料。其除了抗菌劑和外排泵抑制劑之外通常與各種活性劑如抗牙石劑、抗牙斑劑、抗炎劑等共同被配製。

漱口液和漱口水含有外排泵抑制劑及於液態載劑如水或水/乙醇內的抗菌劑。通常，該組成物內主要為溶劑，其含量可高至 98%或 99%重量比。該活性化合物(I)可選擇性地與表面活性劑、著色劑、調味劑及其他活性成分被共同配製。

於舌錠或錠劑內的口腔可接受賦形劑或載劑係非致齲齒、固體水溶性多元醇(polyol)，例如甘露糖醇、木糖醇、山梨糖醇、麥芽糖醇、氫化澱粉水解物、氫化葡萄糖、氫化雙糖、氫化多糖等，其含量為約 85%至約 95%的總組成物。錠劑、藥丸或糖錠配製物內可併入約 0.1%至 5%少量的乳化劑如甘油，及製錠潤滑劑以便於製備該錠劑、藥丸和舌錠。適當潤滑劑包括植物油例如椰子油、硬脂酸鎂、

硬脂酸鋁、滑石粉、澱粉和卡波蠟(carbowax)。適當非致齲齒性膠包括卡拉膠、羧甲基纖維素、羥乙基纖維素等。

該舌錠、藥丸或錠劑可選擇性地被塗佈以包膜材料例如蠟、蟲膠、羧甲基纖維素、聚乙烯/馬來酸酐共聚物或卡拉膠以延長錠劑或舌錠於口內的溶解時間。經塗佈錠劑或舌錠被緩慢溶解，而使活性成分的緩釋速率約為3分鐘至5分鐘。因此，本具體實施例的固態劑型錠劑、藥丸和舌錠組成物能使抗菌劑和本發明的外排泵抑制劑與口腔內牙齒有相對較長的接觸時間。

口香糖配製物除了抗菌劑和外排泵抑制劑之外通常含有口香糖基質、一或多種增塑劑、至少一種甜味劑和至少一種調味劑。其較佳為無糖膠。

膠基質材料已為技術中所習知以及包括其天然或合成膠基質。代表性天然膠或彈性體包括奇科膠(chicle)、天然橡膠、傑路頓膠(jelutong)、巴拉塔膠(balata)、馬來乳膠、萊開歐膠(lechi caspi)、索馬膠(sorva)、杜仲膠(guttakay)、奇克力膠(crown gum)和香豆樹膠(perillo)，或其混合物。代表性合成膠或彈性體包括丁二烯-苯乙烯共聚物、聚異丁烯和異丁烯-異戊二烯共聚物。併入口香糖內之膠基的濃度為約10%至約40%，及較佳為約20%至約35%。

增塑劑/軟化劑包括但不侷限於含量約0.1%至約5%的凝膠、石蠟，及其混合物。用於本發明實務的甜味劑可選自廣泛的材料，及包括用於製備錠劑、藥丸和舌錠的相同人工和多元醇甜味劑。本發明口香糖組成物內之多元醇甜

味劑如山梨糖醇和麥芽糖醇的含量為約 40%至約 80%，以及較佳為約 50%至約 75%。在一非限制性具體實施例中，本發明口香糖組成物內之人工甜味劑的含量為約 0.1%至約 2%，及較佳為約 0.3%至約 1%。

現在將參考下列非限制性實例更詳細地說明該較佳具體實施例。

【實施方式】

實例 1

製備 3-(4''-羥基-3''-甲氧苯基)-1-(2'-羥基-5'-甲氧苯基)-丙-2-烯-1-酮(CK-1)

在 0°C 的 250ml 圓底燒瓶內將 2-羥基-5-甲氧基苯乙酮 (10gm, 0.06mol) 和 3-甲氧基-4-羥基苯甲醛 (10gm, 0.06mol) 加入 30ml 蒸餾水內的 6gm 氫氧化鈉溶液內。使反應溫度維持低於 15°C 並且不定時振盪 200 小時。以冰冷狀態的 5% 鹽酸水溶液中和該反應混合物。以氯仿萃取經中和混合物及利用矽膠的管柱層析法進行純化而獲得 2，熔點 121.5°C，¹HNMR：δ 3.84(s, 3H), δ 3.97(s, 3H), δ 6.96(m, 2H), δ 7.14 (m, 2H), δ 7.24(d, 1H), δ 7.39(bs, 1H), δ 7.44(d, 1H, J=15.31 Hz)

實例 2

製備 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮 (CK-4)

在圓底燒瓶內於持續攪拌之下將 3-甲氧基-4-羥基苯甲醛 (20gm, 0.132mol) 加入溶解於醋酸 (20ml) 內的苯乙酮溶液

(20gm, 0.125mol)。使反應溫度維持低於 15°C 並且不定時振盪 200 小時。將反應混合物倒入冰水中及以氯仿萃取產物。在減壓下蒸餾氯仿萃取物及於矽膠上層析殘留物而獲得 1，熔點 91°C。

$^1\text{HNMR}$: δ 3.94(s, 3H), δ 6.96(d, 1H, $J=8.11\text{Hz}$), δ 7.13(d, 1H, $J=1.78\text{Hz}$), δ 7.22(dd, 1H, $J=8.11\text{Hz}$ 和 1.78Hz), δ 7.37(d, 1H, $J=15.30\text{Hz}$), δ 7.50(m, 2H), δ 7.57(m, 1H), δ 7.75(d, 1H, $J=15.30\text{Hz}$), δ 8.01(m, 2H)

實例 3

製備 3-(2",3"-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮 (CK-14)

在圓底燒瓶內將 2,3-二甲氧基苯甲醛(4.69gm, 0.018 mol)加入甲醇(10ml)內的 2-乙醯基呋喃溶液(2gm, 0.018 mol)。在攪拌下將 10%氫氧化鈉水溶液(4ml)加入該溶液內。使反應溫度維持低於 15°C 並且持續攪拌 24 小時。然後在激烈攪拌下將該反應混合物倒入冰水中然後過濾產物。以乙醇再結晶該產物而獲得溶點 109.8°C 的物質。

$^1\text{HNMR}$: δ 3.80(s, 3H), δ 3.88(s, 3H), δ 6.69(dd, 1H, $J=3.56$ 和 1.99Hz), δ 7.00(bs, 3H), δ 7.54(bs, 1H), δ 7.60(d, 1H, $J=15.80\text{Hz}$), δ 7.84(bs, 1H), δ 8.14(d, 1H, $J=15.80\text{Hz}$)

實例 4

製備 3-(2",5"-二甲氧苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙-2-烯-1-酮 (CK-16)

在 100ml 圓底燒瓶內將 2,5-二甲氧基苯甲醛(0.76gm,

0.004mol)加入甲醇(10ml)內的 2-乙醯基吡咯溶液(0.5gm, 0.004mol)。在攪拌下將 10%氫氧化鈉水溶液(2ml)加入該溶液內。使反應溫度維持低於 15°C 並且持續攪拌 15 小時。然後在激烈攪拌下將該反應混合物倒入冰水中然後過濾產物。以醋酸乙酯再結晶該產物而獲得溶點 122.6°C 的物質。
¹HNMR: δ 3.86(s, 6H), δ 6.35(bs, 1H), δ 6.96(d, 1H, J=6.35 Hz), δ 7.17(m, 3H), δ 7.28(bs, 1H), δ 7.42(d, 1H, J=15.90Hz), δ 8.11(d, 1H, J= 15.90Hz)

實例 5

當組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮(CK-4)使用時可降低對抗金黃色葡萄球菌 1199B(過度表達 NorA)之環丙沙星的 MIC。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨環丙沙星及組合上述查耳酮化合物之對抗金黃色葡萄球菌 1199B 的最低抑制濃度(MIC)。組合 50 ug/ml 的查耳酮化合物可使環丙沙星的 MIC 降低高達 16 倍(表 1)。

表 1：單獨環丙沙星及組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮(CK-4)之對抗金黃色葡萄球菌 1199B(過度表達 NorA)的 MIC

(CK-4)濃度(ug/ml)	對抗金黃色葡萄球菌 1199B 之環丙沙星的 MIC(ug/ml)
-	8.0
6.25	4.0
12.5	2.0
25.0	1.0
50.0	0.5

實例 6

當組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮 (CK-4) 使用時可降低對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2192(過度表達 TetK) 之四環素的 MIC。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨四環素及組合上述查耳酮化合物之對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2192 的最低抑制濃度(MIC)。組合 50 ug/ml 的查耳酮化合物可使四環素的 MIC 降低高達 8 倍(表 2)。

表 2：單獨四環素及組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯丙-2-烯-1-酮(CK-4)之對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2192(過度表達 TetK) 的 MIC

(CK-4)濃度(ug/ml)	對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2192 之四環素的 MIC(ug/ml)
-	32
6.25	32
12.5	16
25.0	8.0
50.0	4.0

實例 7

當組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮 (CK-4) 時可降低對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2191(過度表達 MsrA) 之紅黴素的 MIC。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨紅黴素及結合上述查耳酮化合物之對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2191 的最低

抑制濃度(MIC)。組合 50 ug/ml 的查耳酮化合物可使紅黴素的 MIC 降低高達 8 倍(表 3)。

表 3：單獨紅黴素及組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮(CK-4)之對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2191(過度表達 MsrA)的 MIC

(CK-4)濃度(ug/ml)	對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2191 之紅黴素的 MIC(ug/ml)
-	64
6.25	64
12.5	32
25.0	16
50.0	8.0

實例 8

當組合 3-(2'',3''-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮(CK-14)使用時可降低對抗金黃色葡萄球菌 1199B(過度表達 NorA)之環丙沙星的 MIC。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨環丙沙星及組合上述查耳酮化合物之對抗金黃色葡萄球菌 1199B 的最低抑制濃度(MIC)。組合 50 ug/ml 的查耳酮化合物可使環丙沙星的 MIC 降低高達 8 倍(表 4)。

表 4：單獨環丙沙星及結合 3-(2'',3''-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮(CK-14)之對抗金黃色葡萄球菌 1199B(過度表達 NorA)的 MIC

(CK-4)濃度(ug/ml)	對抗金黃色葡萄球菌 1199B 之環丙沙星的 MIC(ug/ml)
-	8.0
6.25	8.0
12.5	4.0
25.0	2.0
50.0	1.0

實例 9

當組合 3-(2'',3''-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮 (CK-14)使用時可降低對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2192(過度表達 TetK)之四環素的 MIC。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨四環素及組合上述查耳酮化合物之對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2192 的最低抑制濃度(MIC)。組合 50 ug/ml 的查耳酮化合物可使四環素的 MIC 降低高達 4 倍(表 5)。

表 5：單獨四環素及組合 3-(2'',3''-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮(CK-14)之對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2192(過度表達 TetK)的 MIC

(CK-4)濃度(ug/ml)	對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2192 之四環素的 MIC(ug/ml)
-	32
6.25	32
12.5	16
25.0	16
50.0	8.0

實例 10

當組合 3-(2'',3''-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮 (CK-14)使用時可降低對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2191(過度表達 MsrA)之紅黴素的 MIC。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨紅黴素及組合上述查耳酮化合物之對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2191 的最低抑制濃度(MIC)。組合 50 ug/ml 的查耳酮化合物可使紅黴素的 MIC 降低高達 4 倍(表 6)。

表 6：單獨紅黴素及組合 3-(2'',3''-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基丙-2-烯-1-酮(CK-14)之對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2191(過度表達 MsrA)的 MIC

(CK-4)濃度(ug/ml)	對抗金黃色葡萄球菌 SA-K2191 之紅黴素的 MIC(ug/ml)
-	64
6.25	64
12.5	32
25.0	32
50.0	16

實例 11

當組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮 (CK-4)使用時可增強三氯沙對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的活性。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨三氯沙及組合上述查耳酮化合物之對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的最低抑制濃度(MIC)。組合查耳酮化合物可使三氯沙的 MIC 降低 4 至 8 倍(表 7)。

表 7：單獨三氯沙及組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮(CK-4)之對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的 MIC

菌名	三氯沙的 MIC(ug/ml)			
	單獨	與 CK-4(ug/ml)		
		6.25	12.5	25
變異鏈球菌	4.0	2.0	1.0	0.5
黏性放線菌	4.0	2.0	1.0	0.5
核梭桿菌	2.0	1.0	1.0	0.5

實例 12

當組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮 (CK-4)使用時可增強厚樸酚對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的活性。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨厚樸酚及組合上述查耳酮化合物之對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的最低抑制濃度(MIC)。組合查耳酮化合物可使厚樸酚的 MIC 降低高至 16 倍(表 8)。

表 8：單獨厚樸酚及組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮(CK-4)之對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的 MIC

菌名	厚樸酚的 MIC(ug/ml)			
	單獨	與 CK-4(ug/ml)		
		6.25	12.5	25
變異鏈球菌	4.0	2.0	1.0	0.5
黏性放線菌	4.0	1.0	0.5	0.25

核梭桿菌	2.0	1.0	1.0	0.5
------	-----	-----	-----	-----

實例 13

當組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮 (CK-4)使用時可增強 5,5'-二丁基雙苯基-2,2'-二醇對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的活性。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨 5,5'-二丁基雙苯基-2,2'-二醇及組合上述查耳酮化合物之對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的最低抑制濃度(MIC)。組合查耳酮化合物可使 5,5'-二丁基雙苯基-2,2'-二醇的 MIC 降低 2 至 4 倍(表 9)。

表 9：單獨 5,5'-二丁基雙苯基-2,2'-二醇及組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮(CK-4)之對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的 MIC

菌名	丁基厚樸酚的 MIC(ug/ml)			
	單獨	與 CK-4(ug/ml)		
		6.25	12.5	25
變異鏈球菌	4.0	4.0	2.0	1.0
黏性放線菌	4.0	4.0	2.0	1.0
核梭桿菌	2.0	2.0	2.0	1.0

實例 14

當組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮 (CK-4)使用時可增強何樸酚對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的活性。

利用試驗設計中所述的方法測定單獨何樸酚及組合上

述查耳酮化合物之對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的最低抑制濃度(MIC)。組合查耳酮化合物可使何樸酚的 MIC 降低 4 至 8 倍(表 10)。

表 10: 單獨何樸酚及組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮(CK-4)之對抗變異鏈球菌、黏性放線菌和核梭桿菌的 MIC

菌名	何樸酚的 MIC(ug/ml)			
	單獨	與 CK-4(ug/ml)		
		6.25	12.5	25
變異鏈球菌	4.0	2.0	1.0	0.5
黏性放線菌	4.0	2.0	1.0	0.5
核梭桿菌	2.0	1.0	1.0	0.5

實例 15

當組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮(CK-4)使用時可於小鼠全身感染模式中降低環丙沙星的所需劑量。

此試驗係觀察環丙沙星組合上述外排泵抑制劑的體內反應。以金黃色葡萄球菌 ATCC29213(10^7 CFU/隻)靜脈內感染瑞士白化小鼠(Swiss albino)。將受感染小白鼠分成每組 6 隻的數組。治療方法為感染後立刻給予一劑量接著間隔 6 小時給予次一劑量。以每天的存活數記錄其結果。觀察小白鼠 7 天，及在 7 天的觀察後測定其 ED_{50} 。單獨環丙沙星的 ED_{50} 為 9.2 mg/kg 及結合 CK-4 之環丙沙星的 ED_{50} 則降低至 5.86 mg/kg。

實例 16

當組合 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮 (CK-4)時可降低抗菌劑的生物膜清除濃度(BEC₅₀)。

先測定 CK-4 化合物本身是否具有抗菌效力。利用黏性放線菌作為參考細菌，以兩種已知抗菌劑及 CK-4 進行 MIC 測定。其結果示於下表 11：

表 11

化合物	MIC(黏性放線菌)
CK-4	>100 ppm
三氯沙	3.5 ppm
CPC	<1 ppm

從上表可清楚看出 CK-4 與兩種常用的抗菌劑(三氯沙和氯化鯨蠟基吡啶(CPC))比較具有極高的 MIC。此證明單獨 CK-4 非為強效抗菌劑以及在用於該配製物內的濃度對整體抗菌效力僅具有極低的貢獻。

使黏性放線菌(ATCC#43146)在 37°C 之下生長於補充 0.6%酵母萃取物(TSB-YE)之靜止培養的胰化酪蛋白大豆肉羹內。就混合菌種檢測而言，其細菌來源為來自接種黏性放線菌、酪乳酸桿菌(ATCC#334)、口腔鏈球菌(ATCC#35037)、核梭桿菌(ATCC#10953)和小韋榮菌(ATCC#17745)的連續培養恒化器。在 37°C 連續培養恒化器的特殊複合基質內維持該混合培養物。

利用黏性放線菌作為參考細菌進行 MIC 測定。將受測化合物塗佈於 96-孔滅菌培養盤之第一欄的重複列內。以

0.5xTSB 進行跨盤的兩倍序列稀釋。使黏性放線菌在靜止培養的 TSB-YE 內於 37°C 培養隔夜。將隔夜培養後的細菌於 0.5xTSB 內稀釋至 $OD_{610} \sim 0.4$ 。將受測溶液的等量細菌加至 96-孔平板的各孔內。在 37°C 將平板培養隔夜以利細菌生長。在 Perkin Ellner EnVision 微滴定板判讀儀上讀取全部平板的 OD_{610} 。平均重複孔的吸光度值及與含單獨介質內細菌之孔的值相比較。測定相對對照介質細菌生長受抑制之最後孔內活性濃度的 MIC 值。全部平板含有兩列三氯沙作為陽性對照。

為測定 CK-4 的生物增強能力，進行單一菌種生物膜形成試驗的抑制作用。將標的活性劑置入 384-孔滅菌培養盤的第一欄內，然後以 0.5xTSB 進行跨盤的兩倍序列稀釋。將第一代培養的黏性放線菌於 TSB-YE 內生長隔夜。將培養物於 0.5xTSB 內稀釋至 $OD_{610} \sim 0.2$ ，然後接種於含序列稀釋之活性劑的孔內。將平板於 37°C 培養 24 小時以利其生長及形成生物膜。

培養之後，從平板移除上清液及以 0.03% 格蘭氏結晶紫染色留下的生物膜。在 Perkin Elmer EnVision 微滴定板判讀儀上於 590nm 吸光度讀取經染色平板。將其吸光度與經介質單獨處理之孔的吸光度比較，其結果以相對介質對照之生物膜形成的減少百分比表示。該 BEC_{50} 被定義為相對一單獨介質對照其降低生物膜密度(讀取經染色生物膜之染料的吸光度)大於 50% 的最低濃度。具有較低 BEC_{50} 的化合物被視為比較高濃度者更具效力。各種已知抗菌劑的結

果示於下表 12。

表 12：單獨抗菌劑及與 CK-4 的 BEC_{50}

抗菌劑	單獨的 BEC_{50}	與 CK-4 的 BEC_{50}
檸檬酸鋅	41.67	20.83
三氯沙	1.95	0.98
THC	31.25	26.04
兒茶酚	26.04	26.04
CPC	1.95	0.49
厚樸	3.91	1.95
厚樸酚	3.91	1.95
何樸酚	5.21	2.60
丁基厚樸酚	0.65	0.24
丙基何樸酚	0.49	0.65

此試驗的結果顯示添加 CK-4，即使其本身不具有任何強力的抗菌活性，仍具有戲劇性和意外地增強數種抗微生物化合物藥效的潛力。此效應對氯化鯨蠟基吡啶(CPC)而言更為強烈，其當與單獨 CPC 比較時幾乎可降低約 4 倍的 BEC_{50} ，因此即使用更低濃度的抗微生物劑仍可達到相同的抗微生物效力(當與 CK-4 共用時可減少至高達 75%的較少量 CPC)。

【圖式簡單說明】

無

【主要元件符號說明】

無

七、申請專利範圍：

1. 一種組成物，其含有一載劑、一抗微生物劑及一選自由 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-(2'-羥基-5'-甲氧苯基)-丙-2-烯-1-酮、3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮、3-(2'',3''-二甲氧苯基)-1-呋喃-2-基-丙-2-烯-1-酮、3-(2'',5''-二甲氧苯基)-1-(1H-吡咯-2-基)丙-2-烯-1-酮，及其混合物所構成群組之化合物；其中該抗微生物劑包含一抗菌劑；且該抗菌劑係選自由喹諾酮、 β -內醯胺、氯黴素、糖肽、胺基酸甘、巨環素、立汎黴素、噁唑啉酮、香豆黴素、多酚化合物、三氯沙、季銨化合物、鋅化合物、硼酸酯，及其混合物所構成的群組。
2. 如申請專利範圍第 1 項之組成物，其係一種口腔保健組成物。
3. 如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該多酚化合物係三氯沙。
4. 如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該多酚化合物包含厚樸酚或其衍生物。
5. 如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該多酚化合物包含何樸酚或其衍生物。
6. 如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該季銨化合物係氯化鯨蠟基吡啶。
7. 如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該化合物係 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮。
8. 如申請專利範圍第 2 項之組成物，其中該組成物係牙

膏、牙粉、凝膠、漱口液、錠、口香糖、膜及其混合物的牙劑。

9. 一種如申請專利範圍第 1 項之組成物用於製造治療哺乳動物微生物感染之牙劑的用途。
10. 如申請專利範圍第 9 項之用途，其中該微生物感染係導因於細菌。
11. 如申請專利範圍第 10 項之用途，其中該組成物係選自由牙膏、牙粉、凝膠、漱口液、錠、口香糖、膜及其混合物所構成群組的牙劑。
12. 如申請專利範圍第 9 項之用途，其中該多酚化合物係三氯沙。
13. 如申請專利範圍第 9 項之用途，其中該多酚化合物包含厚樸酚或其衍生物。
14. 如申請專利範圍第 9 項之用途，其中該多酚化合物包含何樸酚或其衍生物。
15. 如申請專利範圍第 9 項之用途，其中該化合物係 3-(4'-羥基-3'-甲氧苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮。
16. 如申請專利範圍第 9 項之用途，其中該微生物計數被降低。