

這些起始原料可以其酯類或鹽類的形式使用。膦酸的低碳烷基酯類是製備本發明之二鹵代胺基膦酸及其衍生物的較佳酯類。本說明書所使用的鹵素一詞包括氯、溴和碘。

N,N-二鹵代胺基酸之起始原料是一般已知的化合物或可用已知的方法製備。這些原料說明於《四面體》：不對稱性，1997年，第8期(13)；《FEMS微生物通信》，第70期，第23-28頁(1990年)；《合成通信》，第2725-2731頁(1994年)，《FEMS微生物通信》，第108期，第225-230頁(1993年)；《神經科學通信》，第21期，第77-92頁(1981年)；《英國藥理學期刊》，第75期，第65頁和例如在 R. Noyori 在 2001 年 12 月 8 日所給的諾貝爾演講《不對稱催化作用：科學與機會》(www.nobel.se/chemistry/laureates/2001/noypri-lecture.pdf)。

許多 N,N-二鹵代胺基酸是已知的。關於這些胺基酸及其衍生物，我們提供具有殺細菌、抗細菌、抗感染、抗微生物、抗真菌和抗病毒性質的新穎組成物。

本發明亦關於許多種具有殺細菌、抗細菌、抗感染、殺孢子、抗微生物、抗真菌和抗病毒性質的新穎 N,N-二鹵代胺基酸及其衍生物。

【先前技術】

2.發明背景

身體的免疫細胞—嗜中性細胞與巨噬細胞已知具有清

除感染的能力，可產生破壞微生物和正常或贅瘤(癌)細胞之具反應性的氧代謝物，並且調節免疫的反應。

嗜中性細胞可由於對炎性刺激、細菌感染及/或其他膜病變之反應而被活化。結果是，他們會產生超氧自由基，如： HOO^- 、 O_2^- 及 OH^- 。氯離子(Cl^-)在 100-150 mM 的生理濃度會被 H_2O_2 氧化，其被髓過氧化物酶(在嗜中性細胞內之酶)催化，而形成次氯酸(HOCl)和 HCl 。

生理的 HOCl 的產生係緊密地經由生物化學訊號之複雜網路的迴饋抑制而調節。 HOCl 被產生的濃度是每 10^6 個活化的嗜中性細胞為 2×10^{-7} M。此 HOCl 的量估計可殺死約 150×10^6 E. coli 細菌。 HOCl 一旦被產生出來，其經由與在複雜的細胞系統內之多種可氧化的受質反應而快速裂解。因此，反應性氧-代謝物的濃度預期在數小時內會降到偵測不到的程度。然而，已證明嗜中性細胞能利用他們的 HOCl 來產生大量的較長久(long-lived)的氧化劑，如 N-氯胺。這些較長久的氧化劑是以牛磺酸(NCT，或 N-氯牛磺酸)之單氯胺及牛磺酸(NNDCT，或 N,N-二氯牛磺酸)之二氯胺產生，其係取決於細胞環境之 pH 值。這些氧化劑是強力的抗微生物劑，且在宿主身體之防禦系統及調控細胞介素和生長因子上扮演關鍵角色。

3. 相關技藝的說明

德國專利申請案 4041703 W.Gottardi 係說明 N-氯牛磺酸的鹼金屬鹽。該申請案提到當以原位(in situ)方式製備時

尚不可能分離出純物質的 N-氯牛磺酸，只能分離出稀釋溶液的形式。較晚的研究則建立 N-氯牛磺酸能用以下的說明方法製備。德國專利申請案也說明呈結晶形式的 N-氯牛磺酸之純的鹼金屬鹽類。該專利亦揭示使用這些鹽作為人之醫藥應用上的消毒劑和殺細菌劑，該德國專利案說明藉著將牛磺酸與鹼金屬的氯鹽胺，如 N-氯苯磺鹽胺鈉(氯胺-B)或 N-氯-4-甲基苯磺鹽胺鈉(氯胺-T)反應來製備鹼金屬鹽類。氯胺-B 和氯胺-T 登錄在默克藥廠索引(Merck Index)，第 13 版，2001 年，第 356 頁的第 2084 和 2085 項。

WO0222118 W.Gottardi 等人說明 N-氯牛磺酸，尤其是呈其鈉鹽形式者有用於治療真菌感染，如急性的或慢性的鼻竇炎或其他真菌感染如耳炎、皮膚炎、支氣管炎、分歧形式的肺炎，如卡氏肺囊蟲症(*Pneumocystis carinii*)，性器官之真菌感染，如陰道炎、子宮內膜炎、陰莖頭炎、腸胃道之真菌感染，如胃炎、食道炎、腸炎、或尿道之真菌感染，如腎盂腎炎、輸尿管炎、膀胱炎、或尿道炎。

最近 Gelder 等人已經合成並且分離出呈粉末狀的 N,N-二氯牛磺酸(Gelder, N.M.; Bowers, R. 〈N,N-二氯化胺基酸的合成與特徵鑑定：牛磺酸、高牛磺酸、GABA 和 L-亮胺酸〉，《神經化學研究雜誌》，2001 年；第 26 期：第 575-578 頁)。N-氯牛磺酸(NCT)和 N,N-二氯牛磺酸(NNDCT)可藉尤其 UV 光譜來鑑認。NNDCT 在 302nm 具有最大吸光值而其莫耳吸光係數為 $332.9\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。這些數值係得自 Gottardi, W ; Nagl, M. 《藥物醫學化學雜誌》

(*Arch. Pharm. Med. Chem.*), 2002 年, 第 9 期, 第 411-421 頁。
NCT 在 252nm 具有最大吸光值而其莫耳吸光係數為 $415\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。

Juan M. Antelo 等人在《化學學會雜誌, *Perkin Trans.*》, 第 2 期, 2000 年, 第 2109-2114 頁說明在 N-氯牛磺酸之可逆歧化反應中的一般酸鹼催化作用。該作者亦說明藉著在 pH2-2.5 將 N-氯牛磺酸歧化反應以製備 N,N-二氯牛磺酸溶液以及 N,N-二氯牛磺酸在 pH=1.88 的穩定性。在 100 小時之後 N,N-二氯牛磺酸的損失少於 5%。

【發明內容】

發明概要

吾人應瞭解本發明的任何方面或特性無論是被鑑認為較佳的或不被鑑認為較佳者可與本發明之任何其他方面或特性結合, 無論這些其他特性被鑑認為較佳的或不被鑑認為較佳者。例如, 一種被說明為較佳的特徵例如 pH 範圍, 或一種特別組成物(例如一種特定調配物中的特別 N,N-二鹵代胺基酸)的特定 pH 值可與其他組成物(另一種特定調配物中的 N,N-二鹵代胺基酸)合併而不會偏離本發明。這項申明也適用於任何取代物的組合。例如, 一種被鑑認為較佳的取代物可與任何不被鑑認為較佳的其他取代物結合, 因此, 本發明之最廣的方面提供包含式(I)之 N,N-二鹵代胺基酸



或其衍生物的醫藥組成物。A 是氫或 $\text{Hal}_2\text{N}-$ ；其中 Hal 是選自由氯、溴和碘組成之組群的鹵基；R 是碳-碳單鍵或具有三到六個碳原子的二價伸環烷基； R^1 是氫、低級烷基和基團 $-\text{COOH}$ ； R^0 是氫或低級烷基；n 是 0 或一個 1 到 13 的整數；或 R^1 和 R^0 與它們所連接的碳原子一起形成一個 ($\text{C}_3\text{-C}_6$) 環烷基的環；Y 是氫、低級烷基，或 $-\text{NH}_2$ 或 $-\text{NHal}_2$ ；且 Z 是氫及低級烷基；且 X' 是氫、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2$ 或 $-\text{B}(\text{OH})_2$ 。若 R 是二價伸環烷基，n 是不超過 11 的整數，亦即 n 可為 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 或 11。換句話說，包含酸性基團 X 的胺基酸具有高達 16 個鏈上的原子。在二價伸環烷基或二價基 $-(\text{CH}_2)_n-$ 中，一個氫可被 $-\text{NHal}_2$ 取代。雖然本發明的 N,N-二鹵代胺基酸可包含高達 3 個 $-\text{NHal}_2$ 基團，但是以具有一個或兩個 $-\text{NHal}_2$ 基團的 N,N-二鹵代胺基酸為較佳。最佳的是具有一個 $-\text{NHal}_2$ 基團的 N,N-二鹵代胺基酸。這個基團可在酸性基團 R_1 (若是 $\text{R}_1\text{-COOH}$) 之 α -、 β -、 γ -、 δ -、 ε - 等等到 Ω -位置或在 X' 。

式 I 化合物的衍生物包括醫藥上可接受的鹽類、與低級烷醇所成之酯類、 $-\text{NH}_2$ 基連接到取代基 X 或 X' 所連接的碳原子上之低級烷醯基衍生物。「低級」一詞在此方面包括具有 1 到 6 個，較佳是 1 到 4 個碳原子的殘基。

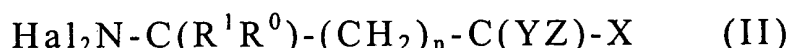
在一項較佳的具體實例中，R 是碳-碳單鍵且 n 是 0 或從 1 到 7 的整數，更佳是 0 或從 1 到 5 的整數，最佳是 0 或從 1 到 3 的整數，亦即 1、2 或 3。同樣感興趣的是 $n=4$

或 $n=5$ 或 $n=6$ 或 $n=7$ 或 $n=8$ 或 $n=9$ 的 N,N -二鹵代胺基酸。

本發明之一項較佳的組成物包含 N,N -二鹵代胺基酸或其衍生物的濃度介於 0.1 至 100mM 且 pH 範圍在大約 3 到大約 4.8 、 3.0 至 4.5 ，或 3.5 至 4.5 之間或大約 3.5 的組成物。

另一項組成物具有濃度介於 0.1 至 50mM 的 N,N -二鹵代胺基酸或其衍生物且 pH 範圍在大約 2 到大約 7 、約 3 至約 6 、 3 至約 4.8 ，約 3 至 4.5 ，或 3.5 至 4.5 之間或大約 3.5 。

本發明亦提供新穎殺細菌、抗細菌、抗感染、微生物、殺孢子、消毒、抗病毒和抗真菌之組成物，其包含式(II)的 N,N -二鹵代胺基酸。



或其衍生物。

式中 Hal 是選自由氯、溴和碘組成之組群的鹵基； R^1 是氫、低級烷基和基團 $-\text{COOH}$ ； R^0 是氫、低級烷基；或 R^1 和 R^0 與它們所連接的碳原子一起形成一個 (C_3-C_6) 環烷基的環； n 是 0 或一個 1 到 3 的整數； Y 是氫、低級烷基、 $-\text{NH}_2$ 或 $-\text{NHal}_2$ ；且 Z 是氫及低級烷基； X 是 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 。

式 II 化合物的衍生物包括醫藥上可接受的鹽類、與低級烷醇所成之酯類、 $-\text{NH}_2$ 基連接到取代基 X 所連接的碳原子上之低級烷醯基衍生物。「低級」一詞在此方面包括具有 1 到 6 個，較佳是 1 到 4 個碳原子的殘基。

式(I)、(II)、(III)或(IV)之化合物的醫藥上可接受之鹽

類包含具有醫藥上可接受之陽離子的鹽類。式(III)和(IV)的化合物說明於以下。N,N-二鹵代胺基酸的鹽類包括具有 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 基團之鹼的鹽類。醫藥上可接受的鹽類亦包括銨鹽、鹼金屬鹽、鎂鹽、或鈣鹽和任何有機胺鹽。鹼金屬鹽、Mg、Ca 和 Al 鹽是吾人有興趣的。吾人對鹼金屬鹽尤其有興趣，尤其是鋰鹽、鈉鹽或鉀鹽。

酸加成鹽的實例包括但不限於鹼性殘基如胺的礦物酸或有機酸鹽；酸性殘基如羧酸的鹼性或有機鹽，以及類似者。醫藥上可接受的鹽包括但不限於鹵化氫、硫酸鹽、甲氧基硫酸鹽、甲基硫酸鹽、甲基苯磺酸鹽、硝酸鹽、磷酸鹽、順丁烯二酸鹽、乙酸鹽、乳酸鹽及類似者。

適當鹽類的列表可在《雷明頓氏醫藥科學》(Remington's Pharmaceutical Sciences)，第 17 版，Mack 出版公司，位於賓州的 Easton 市，1985 年，第 1418 頁或《莫克藥典》(Merck Index)，第 13 版，2001 年，由莫克藥廠的莫克研究實驗室部門出版，在第 MISC-22 和 MISC-23 頁中，其揭示的內容完整的以參考文獻的方式併於本說明書中。

$-\text{NH}_2$ 基連接到取代基 X 所連接的碳原子上之醫藥上可接受的酸加成鹽尤其包括具有鹽酸、磺酸、磷酸、硝酸、苯磺酸、甲苯磺酸、甲磺酸、樟腦磺酸及其他酸的鹽。

更進一步式(I)、(II)、(III)或(IV)之化合物的衍生物包括 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{SO}_3\text{H}$ 與低級烷醇類之酯類，及胺基連接至取代基 X 所連接的碳原子上之低級烷醯基衍生物。

更進一步式(I)、(II)、(III)或(IV)之化合物的衍生物也包括 N,N-二鹵代胺基酸，其中胺基酸分子的某個基團被保護基所保護者。「保護基」意指(a)保留反應基使不參與不被希望之化學反應；及(b)可以很容易的在不再需要保護反應基之後將之移除掉之化學基。

「胺基保護基」意指保留反應基否則該反應基會被某些化學反應修改的保護基。胺基酸保護基之非限制實例包括甲醯基或具有 2 到 4 個碳原子之低級烷醯基，尤其是乙醯基或丙醯基，三苯甲基或經取代的三苯甲基，如單甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基如 4,4'-二甲氧基三苯基甲基(dimethoxytrityl or dimethoxytriphenyl methyl group)、三氟乙基、和 N-(9-芴基甲氧基羰基)或「Fmoc」基、烯丙基氧基羰基或其他衍生自鹵基碳酸鹽如(C₆-C₁₂)芳基低級烷基碳酸鹽(如衍生自苄基氯碳酸鹽的 N-苄氧基羰基)的保護基，如苄氧基羰基(CBZ 基團)、或衍生自二苯基烷基鹵基碳酸鹽或三級烷基鹵基碳酸鹽的保護基，如三級丁基鹵基碳酸鹽，尤其是三級丁基氯碳酸鹽、或二(低級)烷基二碳酸鹽，尤其是二-(三級丁基)-二碳酸鹽，以及酞基。

「組成物」一詞用於本說明書係指本發明之各種形式的化合物或組成物，包括固體如粉末、粉末的混合物及類似者、乳液、懸浮液以及溶液。

在一方面，該組成物及其用途包括已知的 N,N-二鹵代胺基酸及其衍生物。在另一方面，該組成物及其用途包括新穎的 N,N-二鹵代胺基酸及其衍生物。在任一情形中，該

組成物可維持在酸性的形式，亦即 pH 低於 7，例如 6.8，也就是 pH 介於大約 2 到大約 7 之間，也就是 pH 範圍介於 2.0 至 6.8、2.5 至 6.5、2.5 至 6.0、或 2.5 至 5.0，或 3.0 至 5.0 之間，或 pH 大約 3.5。在不同情況下，該 pH 可維持在低於 5，也就是 pH 範圍在約 3 至 4.5，或 3.5 至 4.5，或 pH 在大約 3.5。要項是該組成物的 pH 是酸性的。PH 的挑選視許多因素而定，包括 N,N-二鹵代胺基酸的特定用途(是在體外或體內)、所治療的感染形式(例如，是否該感染是由細菌、酵母菌、真菌或病毒引起)、感染的部位(例如，其為眼睛、咽喉或尿道或任何標靶組織或器官受感染)、感染的嚴重程度、病患的敏感度等等。

在另一方面，該組成物，本發明的溶液含有濃度範圍在 0.1 至 100 毫莫耳濃度(mM)之 N,N-二鹵代胺基酸。

在還有一方面，該組成物為等張且生理性平衡的。

N,N-二鹵代胺基酸與 HOCl 顯著不同，因為它們保持具有顯著殺細菌活性的氧化潛勢，而且它們比 HOCl 較不具毒性。N,N-二鹵代胺基酸在氧化易受作用的標靶分子之前亦有足夠的穩定性能擴散到某個距離。其 $n=0$ 或高達 5 之整數的本發明之低分子量 N,N-二鹵代胺基酸是較為親水的分子。

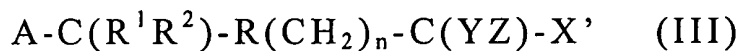
令人驚奇的是吾人發現當本發明的 N,N-二鹵代胺基酸具有強的殺細菌、抗細菌、抗感染、微生物、殺孢子、消毒、抗真菌和抗病毒活性時，其具有低的細胞毒性。

在還有一方面，本發明的組成物穩定而能符合可用在

治療或預防細菌、微生物、孢子、真菌和病毒感染或污染之組成物的需求。

在另一方面，該組成物的穩定性是由貯存該組成物在能確保其充分穩定性以控制細菌、微生物、孢子、真菌和病毒感染或污染的貯藏器中來提供的。

本發明提供包含式(III)之 N,N-二鹵代胺基酸或其衍生物的醫藥組成物

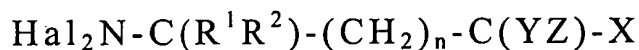


A 是氫或 Hal_2N- ，其中 Hal 是選自由氯、溴和碘組成之組群中的鹵基；R 是碳-碳單鍵或具有三至六個碳原子之二價 (C_3-C_6) 伸環烷基， R^1 是氫、低級烷基和基團 $-COOH$ ； R^2 是低級烷基；或 R^1 和 R^2 與它們所連接的碳原子一起形成一個 (C_3-C_6) 環烷基的環；n 是 0 或從 1 到 13 的整數；Y 是氫、低級烷基或 $-NH_2$ 或 $-NHal_2$ ；且 Z 是氫及低級烷基；且 X' 是氫、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-P(=O)(OH)_2$ 或 $-B(OH)_2$ 。若 R 是二價 (C_3-C_6) 伸環烷基，n 是不超過 11 的整數。換句話說，包含酸性基團 X' 的胺基酸具有高達 16 個鏈原子。視需要在二價 (C_3-C_6) 伸環烷基或二價基 $-(CH_2)_n-$ 中，一個氫可被 $-NHal_2$ 取代。雖然本發明的 N,N-二鹵代胺基酸可包含高達三個 $-NHal_2$ 基團，但以具有一個或兩個 $-NHal_2$ 基團的 N,N-二鹵代胺基酸為較佳。最佳的是具有一個 $-NHal_2$ 基團的 N,N-二鹵代胺基酸。這個基團可在酸性基團 R_1 (若是 R_1-COOH) 之 α -、 β -、 γ -、 δ -、 ϵ -等等到 Ω -位置或在 X' 。

式 III 或 IV 化合物之衍生物(說明於下)包括醫藥上可接受的鹽類、與低級烷醇所成之酯類， $-\text{NH}_2$ 基連接到取代基 X 或 X' 所連接的碳原子上之低級烷醯基衍生物。「低級」一詞在此方面包括具有 1 到 6 個，較佳是 1 到 4 個碳原子的殘基。

在一項較佳的具體實例中，R 是碳-碳單鍵且 n 是 0 或 1 到 7 的整數，更佳是 0 或 1 到 5 的整數，最佳是 0 或 1 到 3 的整數。

在另一方面，提供具有殺細菌、抗細菌、抗感染、抗微生物、殺孢子、消毒、抗真菌和抗病毒活性之組成物，其包含式 (IV)



之 N,N-二鹵代胺基酸或其衍生物；

其中 Hal 是選自由氯、溴和碘組成之組群中的鹵基； R^1 是氫、低級烷基和基團 $-\text{COOH}$ ； R^2 是低級烷基；或 R^1 和 R^2 與它們所連接的碳原子一起形成一個 (C_3-C_6) 環烷基的環；n 是 0 或一個 1 到 3 的整數；Y 是氫、低級烷基或 $-\text{NH}_2$ ；且 Z 是氫及低級烷基；且 X 是 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ；該衍生物係選自由醫藥上可接受的鹽類、與低級烷醇所成之酯類，及 $-\text{NH}_2$ 基連接到取代基 X 所連接的碳原子上之低級烷醯基衍生物組成之組群。

另一方面，以上說明之包含式 (IV) 之新穎 N,N-二鹵代胺基酸的組成物是 R^1 為氫或低級烷基；n 是 0, 1 或 2；Y 是氫或低級烷基；Z 是氫及低級烷基；且 X 是 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或

細節陳示在實施例中。

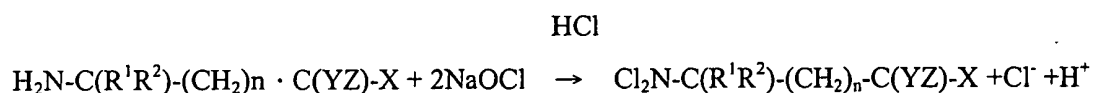
當用於製備本發明之化合物的膦酸起始物質無法購得時，可以根據熟習本技藝者已經詳知的方法製備之。請參考例如：Yuan,C 等人，〈合成官能化膦酸之新穎策略〉，《雜原子化學》，1997 年，第 8 期(2)102-122 頁；Yuan,C. 等人，〈合成官能化膦酸之新穎策略〉，《純粹應用化學》，1996 年，第 68 期(4)907-12 頁；〈達成經取代有機膦酸之多方面途徑〉，《美國化學會誌》，1990 年，第 31 期，第 2933 頁；G.M.Kosolapoff，〈膦酸與次膦酸(phosphinic)的合成〉，《有機反應》，第 6 卷(1951 年)，及其中所引用的參考資料。

硼酸起始物質及其酯類可購自例如尤其是 Acros Organics(Fischer Scientific)公司或 Ryscor Science 公司(位於北卡羅萊納州的 Raleigh 市)，或可根據熟習本技藝者既知的步驟去製備。請參考例如 Webb,K.S.和 Levy D.《四面體通信》，(1995 年)，第 36 期，第 5117 頁；Suzuki,A.《純粹應用化學》，1994 年，第 66 期，第 213 頁；Miyaura,N.和 Suzuki,A.，《化學評論》，1995 年，第 95 期，第 2457-2483 頁；Suzuki,A.，《有機金屬化學》，1999 年，第 576 期，第 147-168 頁；Kamatani,A 和 Overman,L.E.《有機化學雜誌》，1999 年，第 64 期，第 8743-8744 頁，Yang,W.; Gao,S.; Wang,B.〈硼酸化合物作為有潛力的醫藥用劑〉，《醫學研究評論》，2003 年，第 23 期；第 346-368 頁，以及其中所引用的參考資料和 Brown,H.C.; Midland,M.M.; Levy,A.B.;

Kramer, G.W., 《經硼烷的有機合成》, 紐約的 Wiley-Interscience 公司出版, 1975 年。

根據本發明的化合物亦可包括其個別的立體異構物(鏡像異構物和非鏡像異構物)以及該化合物的消旋混合物。個別的異構物如純的 R、S、RR、SS、RS、SR 等可以藉著以光學活性的解析劑處理該異構物的混合物以形成一對非鏡像異構的化合物來製備。該非鏡像異構的化合物可以分離並且可利用本技藝中已知的方法單離出光學上純粹的鏡像異構物或非鏡像異構物。因為非鏡像異構物具有獨特的物理性質(如熔點、沸點、溶解度、反應活性等), 因此其可以很容易的藉著利用這些不相似性來做分離。該非鏡像異構物可以用色層分析術或較佳是藉由根據溶解度差異的分離或解析技術予以分離。可應用於將化合物的立體異構物從其消旋混合物中解析出來之技術上的更詳細說明可以在 Jean Jacques Andre Collet, Samuel H. Wilen 等人的《鏡像異構物、消旋體和解析》, John Wiley & Sons 公司(1981 年)和其中所引用的參考資料中找到。

製備 N,N-二鹵代胺基酸的典型的反應流程圖可描述如下：



其中 R^1 、 R^2 、 n 、 X 、 Y 和 Z 具有以上說明的意義。

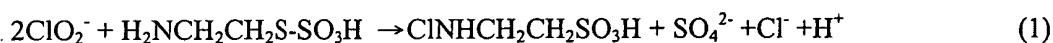
將胺基酸起始物質溶解在低級烷醇中(例如甲醇或乙醇)並使其變酸性。對此溶液添加 NaOCl 水溶液。該反應造成胺基被氯化且將氯化鈉沉澱出來。在例如低於 30°C 的低溫

下將溶劑蒸發，並獲得殘留物。把殘留物溶解在溶劑中，並且使用不與低級烷醇相水溶液混合的溶劑萃取以分離出 N,N-二鹵代胺基酸。相似的，可以藉著將胺基酸起始物質與 HOCl 反應來製備 N,N-二鹵代胺基酸。

因此，亦可用 NaOBr 做為鹵化劑以製備溴代類似物。

根據 J. Marcinkiewicz 等人在 2000 年(《發炎研究雜誌》，第 49 期，第 280-289 頁)，NNDCT(N,N-二氯牛磺酸)可以在溶液中藉著將 HOCl 和牛磺酸在 pH5 反應來合成。NNDCT 亦可藉由在以次氯酸鹽(ClO_2^-)氧化班特氏鹽(Bunte salt, $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{S}-\text{SO}_3\text{H}$)(Chinake 等人，〈氧基鹵素-硫化學：用次氯酸鹽氧化班特氏鹽 2-胺基乙烷硫代硫酸的動力學和機制〉，《物理化學與化學物理》，2001 年；第 3 期：4957-4964 頁)和次牛磺酸($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{H}$)來產生(Martincigh, B. S.; Mundoma, C; Simoyi, R. H. 〈抗氧化物化學：用次氯酸鹽氧化次牛磺酸-牛磺酸〉《物理化學雜誌》A.1988 年；第 102 期：9838-9846 頁)。

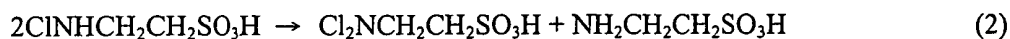
該反應顯示於反應式 1-6：



班特鹽

N-氯化牛磺酸

N-氯牛磺酸在酸性溶液中歧化形成 N,N-二氯牛磺酸和牛磺酸：



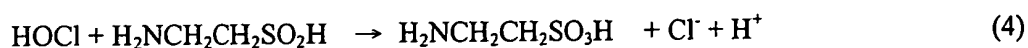
N,N-二氯牛磺酸 牛磺酸



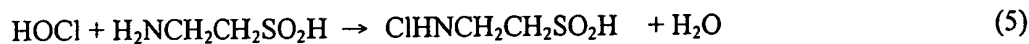
次牛磺酸

牛磺酸

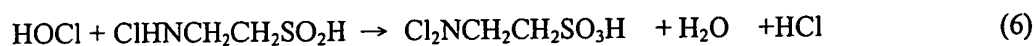
HOCl 可以迅速的把剩下的次牛磺酸氧化成牛磺酸：



或把次牛磺酸氧化成 N-氯次牛磺酸：

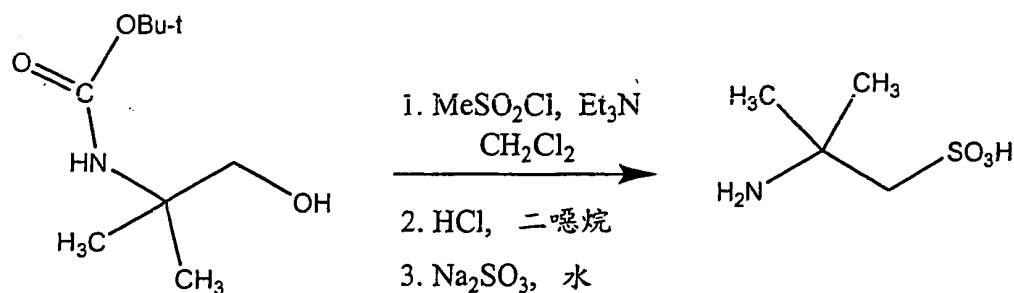


在高度酸性的條件下，HOCl 把 N-氯次牛磺酸氧化成 N,N-二氯牛磺酸。

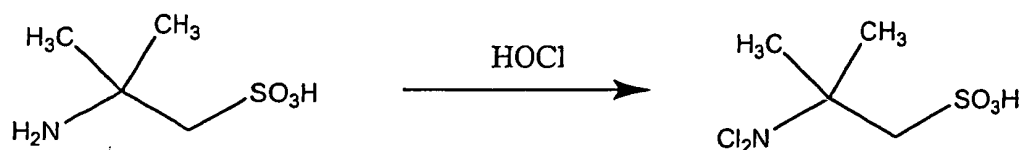


具有至少一個低級烷基連接在胺基所連接的碳原子上之化合物是較為穩定的二鹵代胺基酸。

這些化合物可以用如下方法製備：



Tet. Let. 1996, 37(40), 7319-7322



所希望的分_子

N,N-二鹵基胺基酸的衍生物可以藉著用如本說明書所揭示的胺基保護劑保護胺基，例如藉著形成苄氧基羰基 (CBZ) 衍生物，接著形成可能轉變成磺醯胺類的磺醯氯，例如與低級烷基胺，如甲胺而製備。相似的，該磺醯氯可與苄基胺反應，且所得到的苄基磺醯氯可以轉變成 SO_2NH_2 基

團。而後保護基可以藉由熟習本技藝的化學家而言本身已知的方法予以移除。可使用之適當保護基的詳細列表可以在 T.W. Greene, 《有機合成中的保護基》, 第三版, John Wiley & Sons 公司於 1999 年出版。

本發明之化合物的醫藥上可接受之鹽類可以藉著將這些化合物之自由酸或鹼的形式與化學計量或較大量之適當的鹼或酸在水中或有機溶劑中, 或二者的混合物中反應來製備; 一般而言例如是在非水的介質中像乙醚、乙酸乙酯、乙醇、異丙醇。本發明的鹽類可以藉由例如離子交換來製備。

鹽類也可以藉著將 N,N-二鹵代胺基酸以其他本身已知的方式包括相似於德國專利申請案第 4041703 W.Gottardi 所說明的方法反應來製備。

N,N-二鹵代胺基酸的鈉鹽可以藉著將鈉鹽與低級硫酸二烷基酯(如硫酸二甲酯或硫酸二乙酯)在碳酸氫鈉存在下反應轉變成低級烷基酯類。

取代基 X 或 X' 為 $-\text{CO}_2\text{-NH}_2$ 的醯胺類以熟習本技藝的化學家所詳知的方式產生。

N,N-二鹵基胺基酸及衍生物的使用方法

N,N-二鹵基胺基酸及其衍生物是抗微生物劑, 其能以較低的濃度殺死微生物並且在顯著的高濃度下能被真核細胞忍受。考慮到氯化胺類在體內破壞病原體的生理角色, 這項治療活性的範圍和適當的治療指數是絕對重要的。對

於一種施用於組織如眼睛、皮膚或任何其他敏感區域的抗微生物產品而言，它的安全性和效力無法折衷互讓。因此，吾人的正面結果支持了此種(等)產品於人體治療感染的用途。

式(I)、(II)、(III)或(IV)之化合物具有以下具潛力的應用領域：隱形眼鏡的清潔劑、使細菌失活、眼科、一般手術準備、手術儀器消毒、醫學器具和儀器消毒、牙科的儀器消毒和應用於食品衛生包括表面區域的消毒。它們亦有用於疫苗調配物(作為防腐劑和可能的佐劑)，做為具有殺病毒作用的化合物，用於DNA和RNA兩類病毒的病毒去活性，該病毒包括HIV、肝炎A、呼吸融合病毒、西尼羅病毒、HSV-1、HSV-2、SARS、流行性感冒病毒、副流行性感冒病毒、picornaviruses和牛痘病毒(作為痘病毒的模型)。此外，這些化合物亦有用於治療真菌感染如急性或慢性的鼻竇炎或其他真菌感染如或其他真菌感染如耳炎、皮膚炎、支氣管炎、肺炎如卡氏肺囊蟲症(*Pneumocystis carinii*)，性器官之真菌感染，如陰道炎、子宮內膜炎、陰莖頭炎、腸胃道之真菌感染，如胃炎、食道炎、腸炎、或尿道之真菌感染，如腎盂腎炎、輸尿管炎、膀胱炎、或尿道炎。而且，說明於本說明書的組成物具有對抗許多其他微生物的抗微生物活性，包括大腸桿菌、單核細胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、金黃葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、對甲氧苯青黴素有抗藥性的金黃葡萄球菌(MRSA)、綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、乳酸桿菌(*Lactobacillus*)、酵母

菌、對萬古黴素有抗藥性的腸球菌、霉和孢子，包括炭疽菌的孢子。尤其，本發明的溶液有用於治療數種不同的炭疽桿菌菌株。對萬古黴素有抗藥性的細菌、MRSA 及其他者很容易被本發明的組成物破壞。

在本發明的還有一方面，其提供治療各種醫學上狀況的方法，其挑選自由下列所組成之組群：促進創傷痊癒、降低在開放性創傷的病原體、創傷的去污染、眼球消毒或去污染、口腔消毒、抗真菌療法、眼科、口腔手術和牙科學、耳科學的應用，降低肺部不感染中的病原體、降低燒傷、灌洗中的病原體、降低移植器官中的感染負荷、降低自體或人工組織移植的細菌負荷、口服消毒抗真菌療法、囊腫纖維化或其他會產生生物膜的疾病之生物膜治療、病毒感染之治療、皮膚病之治療、以及組織修補和再生，該方法包括使用本發明的溶液，把該溶液施加到需要治療的部位。

使用於大約 25 平方公分大小的慢性創傷之劑量在含有 2 到 200 毫克活性成分之 30 毫升溶液的範圍，其中該活性成分是 NNDCT，每天施用 1 到 10 次。在某些情況之中，該組成物可包含 0.1 至 100mM 活性成分。其他應用的劑量可被調整到該表面積，視何處需要抗微生物活性以及感染的嚴重性而定。

本發明的組成物

在一方面，溶液形式的組成物是經滲透壓平衡過的，

並且具有最小的細胞毒性。

在另一方面，本說明書所說明的組成物具有大約 1000 至大約 5000 的治療指數，該指數的定義係藉由其在一小時中對抗 L929 鼠肺上皮細胞與初級人類纖維母細胞二者的 50% 抑制濃度細胞毒性指數 (IC₅₀) 相對於其在 37°C 對抗大腸桿菌 ATCC 11229 一小時的最小殺細菌濃度之比值。

因為本發明的組成物是非毒性的並且具有抗細菌的性質，它們有用於任何希望有抗微生物性質的應用。此種應用包括但不限於治療創傷、燒傷、以及口瘡；沖洗；組織部位的清理（例如：手術前和手術後）；眼科學的應用（例如，在隱形眼鏡的清潔液中或在眼科手術之前、期間或之後的眼睛沖洗）；用於皮膚學的應用，牛皮蘚；以及許多對於熟習本技藝者立即顯見之應用。應用也包括消除或降低包括醫學設備、儀器、裝置或食物（不限於肉、水果、蔬菜）的表面病原體，以及食物的接觸面包括消除或降低細菌的生物膜。不同於許多用於相似應用之抗感染組成物，本發明的組成物具有最小至無的副作用。

包含式 (I)、(II)、(III) 或 (IV) 的 N,N-二鹵代胺基酸及其衍生物之本發明的組成物可併入許多應用之中，包括繃帶或創傷敷裹料之中。生理性平衡的酸性溶液形式之組成物可與特定設計的繃帶一併用於創傷治療方法之中。專門的繃帶可包括一個開口或「窗口」，經由該開口或窗口可施用局部治療物質如本發明的溶液。

本說明書亦揭示的是一種包含被包裝在容器中之本發

明組成物之製造物件。與本發明的組成物接觸的容器表面是用不與氧化劑反應的材料製作的。

N,N-二鹵代胺基酸及其衍生物之溶液的穩定性容許使用對病患使用而言為實用的不同之包裝形式。該溶液可包裝在數個單次使用之 30 毫升具有鐵福龍內襯栓蓋的琥珀色玻璃瓶中並且用膠帶密封以確保氣密。在一方面，同樣的溶液可以包裝在 250 毫升琥珀色玻璃瓶中或 250 毫升不具反應性的塑膠瓶裡。然而，可使用高達 5 公升的瓶子，因為此種較大的體積對於治療燒傷是實用的。貯存在這些貯藏器中確保了本說明書所詳細說明的組成物之用途所需的長期穩定性。例如，貯存在冰箱中的小瓶裡之本說明書所說明的濃度範圍內之 N,N-二氯牛磺酸溶液在三個月的期間之後於 $t=0$ 時損失不超過 13% 的 N,N-二氯牛磺酸。此外，包裝可包含一個雙槽系統，其中成分 A 與成分 B 混合以形成最終的產物—N,N-二鹵代胺基酸或其衍生物。

在一方面，本發明的溶液可以者貯存在單次使用的容器中。另一方面，本發明的溶液可貯存在各種不同大小、構型並且具有適用於如本說明所揭示的所需之應用上的不同體積之單次使用容器內。在某些應用之中，例如本發明的溶液可以貯存在單次使用的 30 毫升，視需要為可丟棄的容器中。在一方面本發明的組成物可與醫藥上可接受的賦形劑在室溫下於惰性的氣體中以粉末貯存。

本發明的組成物可包括以下醫藥上可接受的載劑：氯化鈉以達到等張性、緩衝劑、穩定劑、溶劑、風味劑(在口

服或鼻咽施用及食品工業的情形中)、防腐劑、稀釋劑、延展劑和其他輔助的物質或賦形劑。可使用之醫藥上可接受的載劑和賦形劑的特定實例說明在《雷明頓氏：製藥科學與實務》，A.Gennaro 編著，第 20 版，Lippincott，Williams&Wilkins 公司出版，位於賓州費城市；《高等藥物科學》(David Ganderton，Trevor Jones 編著，1992 年)；《高等藥物科學》，第 7 版，(David Ganderton、Trevor Jones、James McGinity 編著，1995 年)；其等所揭示的內容完整的併入本說明書之中。一般而言，水、適當的油、生理食鹽水、低級醇類以及二醇類如丙二醇或聚乙二醇可為溶液的適當載劑。在一方面，溶液包含呈水溶形式或水溶液介質可溶形式之活性成分，例如鹽與適當的穩定劑一起，且若需要包含緩衝物質。此外，溶液可含有防腐劑，如氯化苯二甲羥胺、對羥苯甲酸甲酯或丙酯、和氯丁醇。適當的醫藥載劑說明於《雷明頓氏：製藥科學與實務》，其為以上鑑認之本領域的標準參考書。

該組成物可進一步包含其他的活性成分，如 HOCl 或其他抗細菌劑，只要他們不會干擾本發明之 N,N-二鹵代胺基酸之穩定性或功能。

本發明之組成物中的 N,N-二鹵代胺基酸之量或濃度可在廣的範圍之中變化。例如，組成物可以含有該組成物之從 0.001 到 100 重量%之 N,N-二鹵代胺基酸。在 100%的情形下，該組成物可以粉末的形式施用而不需任何載劑物質。該組成物的典型範圍包含該組成物之 0.1 至 95 重量%

的 N,N-二鹵代胺基酸，例如 0.1 至 50%，或 0.1 至 10%，例如 0.5 至 5%。在溶液中，通常施用較低濃度的 N,N-二鹵代胺基酸。例如，1 到 2% 的濃度適用於潤洗或噴灑的情形。

在鼻咽施用的情形中，可使用含有 1% N,N-二鹵代胺基酸或其鹽之溶液，pH 3.5 到 5 之鼻用的導管，對每一次治療使用大約 10 到 15 毫升的溶液經數週之久。在每次治療之後，把潤洗液抽吸掉。

使用本發明組成物的特定方法

在一方面，本發明的組成物是局部施用或使用的。

本發明的酸性溶液可用於治療一些有深度創傷的病患，該病患是對於常見的醫藥品和局部施用的治療沒有反應者。在一方面，本發明提供治療各種醫學狀況的方法，如促進創傷癒合、降低在開放性創傷的病原體、創傷去污染、眼睛消毒或去污染、口腔消毒、抗真菌療法、眼科學的施用、降低肺部感染的病原體、降低燒傷、灌洗的病原體、降低移植器官的感染負荷、降低自體或人工組織移植的細菌負荷、口服消毒抗真菌療法、囊腫纖維化和相關疾病的生物膜治療、病毒感染之治療、皮膚病之治療、以及組織修補和再生，該方法包括使用本發明的溶液，把該溶液施加到需要治療的部位。可用本發明溶液處理生物膜之非限制性的實例包括引用 S. Kjelleberg 和 Molin 於 PMID: 12057677 (MEDLINE 之 PubMed 索引)，標題為〈在細菌生物膜中特選隊員 (quorum) 信號是否扮演著一項角色？〉之評

論文章。

本發明的溶液對於降低細菌負荷可能有效，因此會增進創傷痊癒。該溶液較諸於先前技藝的溶液可以良好耐受、增進創傷組織長成肉芽、降低清創術的需求，且病患在其治療期間報告較無疼痛。

口腔護理

本發明的酸性溶液可藉由潤洗受感染區而用於治療口瘡(口部潰瘍)或單純疱疹(cold sores)。例如，可使用該溶液將單純疱疹泡浸 3-4 次/天，每次施用 2-3 次，並將該溶液接觸瘡處經 20-30 秒來使用該溶液。該溶液亦可用作為口腔漱洗以俾牙齒和口腔的衛生並且控制感染。在此情況之中，該溶液可以用作為漱口液以對抗喉嚨的感染。該溶液可以借助棉花擦拭以對更多特定區域施用。該溶液可以根據病患的需求與狀況一天使用一次或數次。

眼科的護理

本發明之生理性平衡的酸性溶液可用於替代生理食鹽水將外來物從眼睛上移除、潤洗或灌洗眼部。其可在手術前或後局部施用以消毒眼睛和週圍的組織。該溶液可以根據病患的需求和狀況一天施用一次或數次。該溶液可依需要藉由直接滴加到眼睛來施用。其亦可藉著浸泡紗布並將飽和的紗布施用到眼部 1 分鐘或數分鐘來施用。其亦可藉由輕輕的用飽和的紗布擦適眼睛來使用於眼部清潔。該溶

液亦可倒入小的眼用洗濯器，然後將該洗濯器倒轉至眼睛上並使眼皮打開和關閉數次。

本發明之生理性平衡的酸性溶液可用於處理眼部的消毒或去污染。此外，其可用作代替硝酸銀消毒新生兒眼睛。

本發明的溶液可以用於清潔成人與小兒的眼睛。例如，各種病毒感染、細菌或真菌的感染、或病原體可以用本發明的溶液有效的治療。可以成功的用本發明的溶液處理之病原體的非限制性實例包括砂眼小體 (*Chlamydia trachomatis*)、淋病以及其他細菌的、真菌的和病毒的感染。

讀者會發現本發明的溶液具有治療許多不同形式創傷的應用性，包括但不限於糖尿病的潰瘍、壞疽、靜脈潰瘍、褥瘡潰瘍、壓力潰瘍，咬傷、急性傷口的創傷、手術創傷和燒傷。本發明的組成物也有用於做為灌洗溶液，例如在牙科、牙周的和眼科的程序當中。本發明的組成物亦可用於手術前和手術後清潔組織部位，並做為漱口液以治療口瘡。

利用溶液進行皮膚消毒的方法

本發明的溶液亦可用於治療受感染的皮膚。在病患顯示感染的醫學徵狀之皮膚上，本發明的溶液可以直接施用到受感染的皮膚部位。在使用本技藝已知的標準施用方法至少將溶液施用一次到受感染的皮膚上之後，該溶液的消毒性質即可被注意到。

降低肺部感染的病原體

本發明的溶液可以用於降低肺部感染的病原體。例如，各種病毒的或細菌的和真菌的感染可用本發明的溶液有效地治療。可用本發明溶液有效治療的非限制性之實例包括在肺部出現的炭疽孢子，以及降低細菌包括鏈狀細菌及類似者在肺部所引起的肺炎。

本發明的溶液用於婦科學的方法

本發明的組成物可用於治療婦科的感染，如尿道感染及類似者。例如，各種微生物、酵母菌(例如念珠菌屬 *Monilia*、白色念珠菌 *Candida albicans* 等等)、細菌感染、HSV-2、HIV 或其他病原體可被本發明的溶液有效的處理。視需要本發明的溶液之施用可以與其他醫藥品一起使用以治療婦科的感染。例如，用做為疑有花柳病之懷孕女病患產道的清洗，並且可作為嬰兒在醫院產間剛出生的洗浴和清潔溶液，或做為透析室中導管和分流器的消毒劑。

治療局部感染的使用方法

本發明的化合物可藉著將其併入用於局部感染狀況的乳霜、軟膏或洗液以用於治療局部感染。此種乳霜、軟膏或洗液可使用於廣泛種類的皮膚狀況並可併入穿透促進劑已將該化合物的抗微生物活性運輸到存在於皮膚之外層(上皮)以下的微生物。

預防手術部位感染的使用方法

本發明的等張溶液可在手術中用作為灌洗劑以預防手術部位感染的產生，該感染經常會導致延長住院並且偶而會導致死亡。使用本發明的溶液替代鹽水實質上可以降低此種感染的風險，尤其是在胃部手術和延長的手術，其感染比例可高達 10%。

消毒醫療裝置和手術器材的使用方法

本發明的溶液可用於降低醫療裝置和手術用器材表面的病原體，以預防使用該器材和裝置或被植入的病患受到感染。

該溶液亦可用於降低或消除發生在尤其易於受到感染之導管和分流器入口之感染。

表面消毒的使用方法

本發明的溶液可以直接施用或經由能產生噴霧(霧化)的裝置輸送到一個房間、運輸工具內部或其他此等大型的受限制的空間以減少或消除懷疑可能存在之具感染力的病原體。在此種應用當中，其可用於使已被偵測到有具感染力病原體的手術房、或是生物武器用劑已經被散佈的房間、運輸工具和其他表面除去污染。

增進食品安全的使用方法

本發明的溶液可以用於降低食品(包括但不限於肉、水果和蔬菜)上的病原體。該溶液可以沖洗液或噴霧的形式施

加到食品上，或可將食品沾浸到溶液中。牛磺酸可能是這種施用法的主要殘留產物，並且牛磺酸是一種被認為在人類食品上是安全的必需營養素。

本發明的溶液亦可施用於製備食品的表面和器材以防止病原體從此種表面和器材轉移到食品上。

用作抗微生物防腐劑的方法

本發明的化合物可用作為確保微生物無法存活在意圖使用於注射、灌流或意圖使用於眼睛的溶液中之工具，其係藉由將適當量的此種化合物在製造之時併入到溶液中。

用作抗微生物劑的方法

本發明的溶液可用做為安全和迅速消毒外科醫師和護士的手部以降低感染劑輸送到手術房之風險的方法。此外，本發明的溶液可用於消除來自病患(手術前及後)皮膚在手術傷口區域之感染劑。

創傷護理的方法

有長久不癒之創傷的病患應以本發明之生理性平衡的酸性組成物每天處理，典型上是一天一次或兩次。

本發明的溶液可以如下方法使用：將一塊紗布材料或紗布墊用足夠的溶液預先浸泡以使其飽和，然後擠壓以除去過量的溶液。這樣移除掉紗布中會與本發明的溶液反應並降低其效果的物種。在此程序之後紗布已經濕潤，但卻

非浸泡。然後施加更多的溶液使紗布完全濕潤，立即施用到創傷上。或者，可將紗布施用於創傷上然後施用更多溶液。典型上該創傷部位用溶液浸泡的紗布包紮，並且視需要可在包紮的創傷上方施用一塊凡士林紗布以保持其濕潤且無污染的微生物。然後如本技藝之標準將創傷部位用創傷敷裹料包裹起來。該溶液亦可用於清潔創傷，藉著直接將它倒在創傷的部位以便藉由機械程序移除掉任何壞死的組織，並且也用作為清潔劑或灌洗劑。

病患亦可利用 NovaCal 公司提供的「創傷護理套組」，其容許病患週期性的將本發明的溶液倒到創傷部位而不需要移除掉敷裹料。該套組提供容易使用、可攜帶性和顯著降低創傷曝露和再感染。該創傷護理套組包括含有本發明的溶液以及繃帶材料的包裝物。經常該套組含有本發明溶液和用於和該溶液合併的專門的繃帶之包裝物。當創傷經治療時。該專門的繃帶保持創傷周圍的皮膚乾燥。而且，該繃帶可以在醫師的診所或醫院中施用；對在家持續護理的病患而言，可在醫師的指示下在家施用和使用；或者對於小傷，該創傷護理套組可由病患本身使用作為「櫃檯銷售 (over the counter)」的治療。

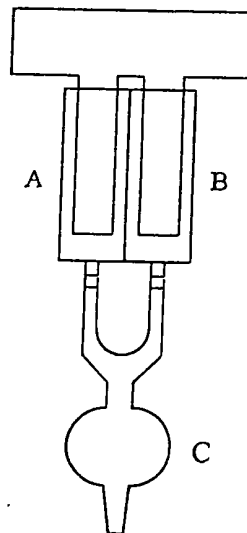
用於某些用途的包裝

在本發明的另一方面，本發明的溶液可以經過包裝以使溶液包含於個別的單次使用的容器中。該單次使用的容器可以使用於例如施用於單次更換敷裹料或其相等物。本

發明之單次用途的容器可與常用的繃帶聯合使用。在本發明的另一方面，創傷護理套組可包含本發明溶液的單次使用容器與用於許多次施用的專門的繃帶。

在本發明的另一方面，本發明的溶液可以原位的方式製造，藉由一個雙槽的裝置或包裝物，如下圖所示具有或不具有第三個混合用容器。

就地製備 NNDCT 的雙槽容器



該雙槽可包含兩個針筒或貯囊。為了製造例如濃度為 3.2mM，pH3.5 的 NNDCT 的溶液，A 槽裝滿 12.8mM NaOCl 溶液，B 槽裝滿溶解在酸化的 1.8%生理食鹽水之 3.3mM 牛磺酸。B 槽溶液的酸性經以 1M HCl 調整，使得兩槽的溶液在共同的輸送管中或在 C 混合槽中相混時，其反應會產生所需的 NNDCT 濃度和 pH 值。由於牛磺酸在酸性溶液中是穩定的，並且 NaOCl 在室溫下是穩定的，所以使用以上說

明的就地(on-site)製備法可避免掉 NNDCT 的穩定性問題。

【實施方式】

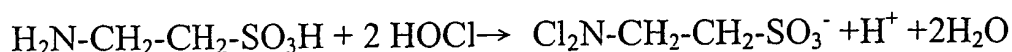
實施例 1

製備方法

試劑：所有的溶液均以去離子水或 Millipore 水製備。
NaOCl(6%)溶液購自 VWR 公司。牛磺酸係購自 Sigma 公司。
NaCl 和 HCl 是試藥級的。

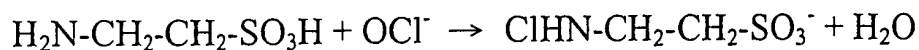
N,N-二氯牛磺酸(NNDCT)的合成與鑑定

在本研究中，NNDCT 是藉著將牛磺酸粉末溶在 HOCl 溶液(pH 3.5)中以 HOCl/牛磺酸比例為 2 製備的。



為了製造 1 公升 1.6mM NNDCT 於 0.9%NaCl, pH 3.5 溶液，將 8.6 公克 NaCl 添加到 1000 毫升的定量瓶中，然後把 500 毫升 Millipore 水添加到瓶中以使鹽溶解。把 2 毫升 1M HCl 加入 NaCl 溶液中，接著添加 22 毫升 0.158M 的 NaOCl。將溶液混合。然後添加 0.267 公克牛磺酸到瓶中並且在定量瓶中裝入 Millipore 水至標線。將溶液攪拌 5 分鐘。

NNDCT 在 300nm 下具有最大吸光值，其莫耳吸光係數為 $370\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。當 OCl⁻溶液(pH 9.5)添加到牛磺酸溶液中時，N-氯牛磺酸(NCT)(ClHN-CH₂-CH₂-SO₃⁻)是唯一形成的產物。



NNDCT 和 NCT 在光譜分析術上是可區辨的。NCT 在

252nm 有最大吸光值。NNDCT 的產率是從其在 300nm 的吸光值計算而得。這種製備法產生產率為 91% 的 NNDCT。碘滴定得到的 I_2 /NNDCT 比率為 2。這提示了 NNDCT 保留了 HOCl 的兩個氧化當量。NNDCT 中兩個氯分子部分都能使 I^- 氧化成 I_2 。NNDCT 在溶液中會分解，但是在低溫則較為穩定。NNDCT 溶液 (pH3.5) 的穩定性研究是在三種溫度下進行的：4°C、室溫和 40°C。該溶液被封裝在安瓿中。NNDCT 在三種溫度下的穩定性順序如下：4°C > 室溫 > 40°C。在 4 週裡，當貯存在冰箱中 (4°C) 時，損失 5.4% 的 NNDCT ($[NNDCT]_{\text{初始}} = 1.47\text{mM}$)。

N,N-二氯牛磺酸在 pH 1 到 10 的範圍裡非常能溶於水中。N,N-二氯牛磺酸可用 UV 光譜分析術來鑑認和定量測定。N,N-二氯牛磺酸在 300nm 有最大的 UV 吸光值且其莫耳吸光係數為 $370\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。

NNDCT 不會揮發。把 1.47mM 於 0.9% 生理食鹽水，pH3.5 的溶液裝入兩個玻璃瓶內。把一個瓶子蓋緊，而另一瓶則鬆鬆的蓋上。於室溫下 4 週以後兩瓶中 NNDCT 的濃度並無差異。

分離出純的粉末形式之 NNDCT 並貯存在鈍氣之中，這樣提供較穩定的 NNDCT 來源。此外，將固體基質的 NNDCT 重新調配成藥片的形式有助於 NNDCT 的穩定化。這種藥片調配物被挑選以防止分解，而其在意欲的醫藥施用 (隱形眼鏡消毒、其他應用) 也提供了使用的方便性。

實施例 2

抗微生物活性

殺細菌的活性：

為了測定殺細菌活性，吾人使用大腸桿菌(ATCC11229)。將細菌培養物稀釋在無菌生理食鹽水裡以製備接種物。把各種試驗物質倒入含有 1.0×10^5 到 2.0×10^5 菌落形成單位(CFU)/毫升細菌的個別試管中並且以溫和的振動混合，然後在 37°C 培養 1 或 24 小時。若試驗物質被用做為防腐劑，為了儘可能模仿該狀況，則可在體內生產，在指定的接觸時間之後於不加中和劑的狀況下立即將細菌在培養皿中平板培養，並且在添加中和劑的狀況下獨立平板培養(做為對照組)。從而在 1 小時或 24 小時的接觸時間之後將 0.1 毫升移出並予平板培養。把平板培育在 37°C ，並且用直接菌落計數器來計算細菌的數量以便將存活的細菌數量化為 CFU/毫升。用無菌 0.9% 生理食鹽水做正的生長對照組。所有的試驗物件均測試三次。將結果表格化以顯示 HOCl 、 OCl^- 、NNDCT 和 0.9% 生理食鹽水在各種 pH 程度的抗微生物效果之範圍比較。在 pH 3.5，NNDCT 顯示於 60 分鐘其有效的抗微生物濃度範圍介於 0.0149 至 1.49mM，並且於 24 小時其有效的抗微生物濃度範圍介於 0.000149 至 1.49mM，然而 HOCl 的有效抗微生物濃度範圍於 60 分鐘是從 0.016 開始而在 24 小時是從 0.0016mM 開始。在 pH3.5，NNDCT 係優於 HOCl 或如 HOCl 一樣有效於對抗 *E coli*。

在這些第一次的研究當中，吾人已經(平行)展示了 N-氯胺類與各種試驗物件之殺細菌與細胞毒性輪廓圖。N-氯

牛磺酸(NCT)與 N,N-二氯牛磺酸(NNDCT)係根據以上說明的方法以控制的 pH 在 0.9%生理濃度的 NaCl 中合成的。這些溶液在分析其生物活性以前先測試其生理化學的性質。稀釋的 NCT 和 NNDCT 溶液是無色並且等張的且展現極為快速的抗微生物活性。這些抗氧化劑的生產似乎是 pH 依賴性。NCT 唯獨在鹼性的 pH 中形成，而 NNDCT 是在酸性的 pH 中形成。

利用 NNDCT 在 pH5.0 和 3.5 之本發明溶液中和 NCT 在 pH9.5 之比較性的抗微生物檢驗顯示在 37°C 60 分鐘之接觸時間內，NNDCT 在 pH3.5 時大約超過 NNDCT 在 pH5.0 時殺細菌(大腸桿菌)效率的 300 倍，且 NNDCT 在 pH3.5 時之殺菌效率與 NCT 在 pH9.5 相較高出 1000 倍 (表 1)。

表 1：產物的總結：

產物	顏色	pH	張力	物理狀態	MBC (微克/毫升)
NCT	澄清	9.5	等張	溶液	142.5
NNDCT	澄清	5.0	等滲	溶液	38.0
NNDCT	澄清	3.5	等張	溶液	0.136

MBC 是最小殺細菌濃度。

抗微生物活性和殺死的時間不僅是濃度依賴性的並且經由降低 pH 而顯著地增加。在相等的濃度基礎下，NCT 要比 NNDCT 較不抗微生物 1000 倍。

實施例 3

細胞毒性檢驗：

細胞毒性的研究是用最初由 Scudiero 等人描述，利用 3-(苯胺基羰基)-3,4-四唑鎢-雙(4-甲氧基-6-硝基)苯磺酸水合物(XTT)的比色分析檢驗系統、ProCheck™ 細胞存活率檢驗(可溶性四唑鎢/甲潛(formazane)檢驗對於用人或其他腫瘤細胞系之中細胞生長與藥物敏感性的評估，由 Scudiero DA、Shoemaker RAH、Paul KD、Monks K、Tierney S、Nofziger TH、Currens MJ、Seniff D、Boyd MR.在《癌症研究》，1988年9月1日發表；第48期(17):4827-33頁)。其他研究者使用相似的方法測定細胞的存活率。三種細胞形式被使用：老鼠的肺部上皮細胞(L929)、培養在 Dulbecco 氏修改的 Eagle 氏培養基和以角質形成細胞定義之具有對應生長因子加上抗體的培養基中之初級人類皮膚纖維母細胞和初級人類角質形成細胞。將細胞用胰蛋白酶處理並且在顯微鏡下計算數目，且以 1000-2000 細胞/每孔播種到 96 孔平盤的平坦盤底。容許細胞在 37°C 隔夜生長。隔天，將組織細胞培養基去除並將細胞用新鮮的培養基 1X 潤洗然後留置在 50 微升的組織培養基中。把試驗物件製備成兩倍的稀釋物並且對每組 4 孔(每孔總體積=250 微升)添加入 200 微升。在室溫下使細胞接觸於試驗物件 60 分鐘。在接觸時間後立即將試驗物件從每孔中移除並對細胞餵以 250 微升的新鮮培養基。將平盤培育在 37°C 下經過 18-20 小時。以下日數的培養基再次被移出並且置換上含有 10/100 微升 XTT 試劑的 100 微升/孔新鮮培養基。在生長條件下(在 37°C，5%CO₂ 的溼氣化培育箱中)培育細胞，避免照光，

直到顏色產生。用 Molecular Device ThermoMax Plate reader(分子設計公司出品的最大溫度平盤讀取機)在 450nm 下讀取吸光值並且用 750nm 做為參考波長，在只有培養基的檢驗用空白孔中使平盤歸零。用僅接受 XTT 試劑的未經處理細胞做為陽性的細胞增殖對照組。

當細胞抑制濃度毒性指數(CCI_{50})經測定時(以 50%細胞仍存活來測定)，在 XTT 檢驗，NNDCT 的 CCI_{50} 是在 7mM，並且顯示出實質上較高的初級人類皮膚纖維母細胞之細胞存活率，其高於 $HOCl$ ($IC_{50}=0.8mM$)、優碘 ($IC_{50}=0.01mM$) 或 OCl^- ($IC_{50}=0.66mM$) 的 CI_{50} 。在老鼠肺部上皮細胞(L929)上進行的 XTT 檢驗得到相似的結果，其中對 NNDCT 而言在濃度 7mM 觀察到高於 90%存活率，相對地對 OCl^- 而言在濃度 0.6mM 和優碘而言在濃度 0.02mM 觀察到實質上少於 50%的存活率。

細胞毒性與治療指數

利用美國藥典之標準細胞檢驗(老鼠肺部上皮細胞，L929)以及初級人類皮膚細胞對 NNDCT 進行嚴密的體外安全性檢驗。吾人發現與其他消毒試驗的物件： $HOCl$ 和普威隆碘相比，NNDCT 在兩種細胞型式：初級人類纖維母細胞和 L929 細胞之中均具有非常低的細胞毒性指數(請見下方)。不像普威隆碘，其細胞毒性是主要的考量，NNDCT 顯示其為細胞可相容者，具有更為安全的毒性輪廓圖。事實上，NNDCT 之治療指數(其定義為受檢驗細胞可容忍之濃度

五、中文發明摘要：

本發明係關於具活性之殺細菌、抗細菌、抗感染、抗微生物、殺孢子、消毒、抗真菌和抗病毒的化合物及組成物，並關於這些組成物在治療上的新用途。本說明書亦說明使用該新化合物和組成物的方法。本說明書進一步說明製備這些化合物的方法。

六、英文發明摘要：

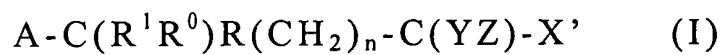
The present invention relates to active bactericidal, antibacterial, anti-infective, antimicrobial, sporicidal, disinfectant, antifungal and antiviral compounds and compositions and to new uses of these compositions in therapy. This specification also describes methods of use for the new compounds and compositions. The specification further describes methods for preparing these compounds.

七、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)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：93124772

※ 申請日期：93.8.18.

※ IPC 分類：C07C 229/00
A61K 31/95

一、發明名稱：(中文/英文)

包含 N,N-二鹵代胺基酸或其衍生物之醫藥組成物以及使用該醫藥組成物之方法

A PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING AN
N,N-DIHALOGENATED AMINO ACID OR A DERIVATIVE
THEREOF, AND METHODS FOR USE OF THE PHARMACEUTICAL
COMPOSITION

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

諾瓦灣製藥公司 / NovaBay Pharmaceuticals, Inc.

代表人：(中文/英文)

羅倫斯 F. 羅茲斯尼 / ROZSNYAI, LAWRENCE F.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國加州 94608 艾默瑞村霍頓街 5980 號 550 室

5980 Horton Street, Suite 550, Emeryville, CA 94608, U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 / U.S.A.

三、發明人：(共 4 人)

姓名：(中文/英文)

1. 曼索爾 巴希利 / BASSIRI, MANSOUR

2. 瑞米 納加菲 / NAJAFI, RAMIN

3. 王露 / WANG, LU

4. 珍 楊 / YANG, JANE

國籍：(中文/英文)

1. 美國 / U.S.A.
2. 美國 / U.S.A.
3. 中國大陸 / CHINA
4. 美國 / U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

美國；2003.08.18；60/496,207

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

1. 美國 / U.S.A.
2. 美國 / U.S.A.
3. 中國大陸 / CHINA
4. 美國 / U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

美國；2003.08.18；60/496,207

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

1. 發明領域

本發明係關於以具有釋放鹵素能力的胺基酸及其衍生物為基礎之殺細菌、抗細菌、抗感染、抗微生物、殺孢子、消毒、抗真菌和抗病毒之化合物和組成物，以及關於這些組成物在治療上的新用途。在另一種改變的方面，本發明係關於具活性之殺細菌、對抗細菌、對抗感染、抗微生物、殺孢子、消毒劑、抗真菌和抗病毒的化合物及其組成物，並關於這些組成物在治療上的新用途。

本說明書亦說明使用該新化合物和組成物的方法。本說明書進一步說明製備這些化合物的方法。更特定而言，這些鹵代胺基酸及其衍生物在本說明書中亦稱之為胺基酸。天然胺基酸的實例為牛磺酸、高牛磺酸(homotaurine)、丙胺酸、 β -丙胺酸、鳥胺酸和 γ -羧胺酸，或 γ -胺基丁酸(GABA)。用於製備該鹵代胺基酸之非限制性的非天然胺基酸起始原料的實例包括 1-胺基-1-甲基乙磺酸、2-胺基-2-甲基丙烷磺酸、1,1-二甲基-2-胺基-2-羧基乙磺酸、胺基三亞甲基膦酸、2-胺基-5-膦醯基戊酸、胺基乙基膦酸二酯，如二乙酯、1-胺基-1-甲基乙烷膦酸、1-胺基-2-甲基乙烷膦酸、1-胺基-2-甲基丙烷膦酸、白胺酸膦酸、4-胺基-4-膦醯基丁酸、(±)2-胺基-5-膦醯基纈草酸、(+)-2-胺基-5-膦醯基纈草酸、dl-2-胺基-3-膦醯基丙酸、2-胺基-8-膦醯基辛酸、丙胺酸硼酸、 β -丙胺酸硼酸、或白胺酸硼酸及其鹽類。

-SO₂NH₂；或其衍生物；該衍生物係選自醫藥上可接受的鹽類或與低級烷醇所成之酯類之組群。

還有一方面，以上說明之包含式(IV)之新穎 N,N-二鹵代胺基酸的組成物是那些其中 Y 和 Z 為氫者；X 是 -SO₃H；該衍生物係選自醫藥上可接受的鹽類之組群。

另一方面，Hal 是氯。

較佳的衍生物是醫藥上可接受的鹽類。

另一方面，以上說明的組成物包括以下化合物或其衍生物；該衍生物係選自醫藥上可接受的鹽類及低級醇類之酯類所組成的組群：

N,N-二氯-2,2-二甲基牛磺酸；

N,N-二氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；

N,N-二溴-2,2-二甲基牛磺酸；

N,N-二溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；

N,N-二碘牛磺酸；

N,N-二氯-2-甲基牛磺酸；

N,N-二氯-2,2,3,3-四甲基-β-丙胺酸；

N,N-二氯-3,3-二甲基高牛磺酸；

N,N-二氯-2-甲基-2-胺基乙磺酸；和

N,N-二氯-2-胺基-1-甲基乙烷磺酸；

N,N-二氯-胺基三亞甲基膦酸；

N,N-二溴-2-胺基-5-膦醯基戊酸；

N,N-二氯-胺基乙基膦酸二酯，如二乙酯；

N,N-二氯-1-胺基-1-甲基乙烷膦酸；

N,N-二氯-1-胺基-丙烷膦酸；
N,N-二氯-1-胺基-2-甲基丙烷膦酸；
N,N-二氯-亮胺酸膦酸；
N,N-二氯-4-胺基-4-膦醯基丁酸；
(±) N,N-二氯-2-胺基-5-膦醯基戊酸；
N,N-二氯-(+)-2-胺基-5-膦醯基戊酸；
N,N-二氯-2-胺基-8-膦醯基辛酸；
N,N-二氯-亮胺酸硼酸或
N,N-二氯-β-丙胺酸硼酸；
或其醫藥上接受的鹽或酯。

另一方面，包含式(I)、(II)、(III)或(IV)的 N,N-二鹵代胺基酸或其衍生物之說明於本說明書中的組成物是 Hal 為氯者。

在另一方面，本發明的組成物更包含醫藥上接受的載劑。

本發明的膦酸或硼酸可與具有高達 10 個碳原子的二羥基化合物合併，該二羥基化合物可為非環狀或環狀的，而有至少兩個羥基連接在兩個不同的碳原子上，如乙二醇、2-胺基-2-(羥基甲基)-1,3-丙二醇、甘露糖醇、二乙二醇、1,2-己二醇、甘油、二乙醇胺、頻哪醇(pinacol)或其他類似的二羥基化合物。在某些情形之中，這種合併會增進本發明之硼酸或膦酸的穩定性。

再次說明，所有對本發明做說明的特性、特徵和範圍，

在任一方面，無論被說明為吾人有興趣的或特別與否，均可與另一者合併。例如，一種本說明書描述其化學式之吾人有興趣的取代基可與另一種更為廣泛定義並未被強調之本說明書所說明的取代基合併。例如，身為 $-\text{SO}_3\text{H}$ 的取代基X可與除了氫以外的取代基Y或Z合併。

N,N-二鹵代胺基酸與衍生物的製備方法

N,N-二鹵代胺基酸及其衍生物可藉由產生鹵代胺基酸的胺基酸或其衍生物與鹵素來源在導致兩個位在胺基酸的胺基上之氫原子被兩個鹵素原子(亦即氯、溴或碘原子)置換的反應條件下反應來製備。這些方法對於熟習本技藝的化學家而言是已知的。

在本發明的一方面，被用作為起始物質的胺基酸包括牛磺酸、高牛磺酸、 β -丙胺酸、鳥胺酸和 γ -麩胺酸，以及 γ -胺基丁酸(GABA)、1-胺基-1-甲基乙磺酸、2-胺基-2-甲基丙烷磺酸或1,1-二甲基-2-胺基-2-羧基乙磺酸及其他。例如，可使用胺基三亞甲基膦酸或其鹽類，2-胺基-5-膦醯基戊酸或其鹽類、胺基化的(1R,2S)-(1,2-環氧丙基)膦酸(或經過胺基化的磷黴素)、胺基乙基膦酸二酯，如二乙酯、1-胺基-1-甲基乙烷膦酸、1-胺基-丙烷膦酸、1-胺基-2-甲基丙烷膦酸、亮胺酸膦酸、4-胺基-4-膦醯基丁酸、 $(\pm)$ 2-胺基-5-膦醯基戊酸、 $(+)$ 2-胺基-5-膦醯基戊酸、或2-胺基-8-膦醯基辛酸。另一方面，這些起始物質可以其酯類或鹽類的形式使用。另一方面，膦酸之低級烷基酯類是製備本發明之二鹵

代膾酸及其衍生物的較佳酯類。所有這些起始物質或為已經詳知的、可以購得的、或可藉由已經詳知的製備方法製備。許多起始物質是可以購得的，例如從 Sigma-Aldrich 公司購得。

以下非限制的鹵素來源可用於製備 N,N-二鹵代胺基酸及其衍生物：HOCl 或其鹽類(例如 NaOCl 或 KOCl)、N-鹵基芳基磺醯胺鹽類，其中芳基含有 6 到 15 個碳原子與 1 或 2 個芳香環，6 到 10 個，或 6 到 8 個碳原子和一個芳香環，如 N-鹵基苯磺醯胺或 N-鹵基-4-烷基苯磺醯胺，其中烷基是 1 到 4 個碳原子之低級烷基、甲基或乙基。N-鹵基苯磺醯胺或 N-鹵基-4-烷基苯磺醯胺經常以其鹽類的形式被使用，例如鹼性鹽、例如其鈉鹽或鉀鹽，最常被使用的試劑是 N-氯苯磺醯胺及 N-氯-4-甲基-苯磺醯胺，呈其鈉鹽的形式，因為它們很容易購得，其他非限制性的鹵素釋出劑或來源可為 HClO₂、N-氯-琥珀醯胺或 N-溴-琥珀醯胺、或 N-碘-琥珀醯胺、Cl₂、Br₂、I₂、硫醯氯、光氣、PCl₃、PCl₅ 和氯化劑，如在游泳池中使用者或該等劑的組合。

其他胺基酸起始物質包括 2,2-二甲基次牛磺酸(hypotaaurine)、1,1,2,2-四甲基次牛磺酸、2,2-二甲基牛磺酸、1,1,2,2-四甲基牛磺酸、2,2,3,3-四甲基-β-丙胺酸和 3,3-二甲基高牛磺酸。

如果一個鹵素源分子釋放出一個鹵素，則顯然對於每一個胺基酸或其衍生物分子的起始胺至少有兩個鹵素源的分子會被使用。製備 N,N-二鹵代胺基酸及其衍生物之更多

(體外細胞毒性或 IC_{50})對最小殺細菌濃度(MBC)之比率)大約是 5000, 相較於 HOCl 和 普威隆碘分別大約是 300 和 7(表 2)。

表 2 最小殺細菌濃度(MBC)和治療指數的數據總結

產物	pH	MBC ^a (微克/毫升)	ICI ₅₀ (微克/毫升)	對HF ^c 的T.I ^b
NNDCT	3.5	0.29	1442	4972
HOCl	3.5	0.16	47	297
普威隆碘	4.2	0.38	2.5	7

^a 最小殺細菌濃度(MBC)

^b 治療指數和 ^c 初級人類皮膚纖維母細胞

施用 NNDCT 做為更安全的局部消毒劑對眼科、慢性不癒創傷和燒傷的病患尤其可能是一項大優點，因為使用其他具有主要毒性副作用的消毒劑是保健管理機構所高度阻止的。因為食品安全也是一項重要的健康議題，因此應用 NNDCT 做為廣泛的消毒劑可以延伸到食品工業上。

實施例 4

做為一項實施例，2-(二氯胺基)-2-甲基丙烷磺酸(在此也稱作 N,N-二氯-2,2-二甲基牛磺酸)的製備方法說明如下：

步驟 1. 2-胺基-2-甲基丙烷磺酸的合成(Braghiroli, D.; Bella, M.D.《四面體通信》，1996 年，第 37 期，第 7319-7322 頁)

2-胺基-2-甲基丙烷磺酸的的製備是藉由將 2-羥基異丁腈(丙酮氰基醇)還原成 1-胺基-2-甲基-2-丙醇，接著用

(Boc)₂O 保護起來。在甲磺酸化和除去保護基之後，使所得到的氯化氫與亞硫酸鈉反應產生 2-胺基-2-甲基丙烷磺酸。

步驟 2.2-胺基-2-甲基丙烷磺酸的氯化

為了製造 1 公升 1.6mM 2-(二氯胺基)-2-甲基丙烷磺酸於 0.9% NaCl 的溶液，pH3.5，將 8.6 公克 NaCl 添加到 1000 毫升的定量瓶中，然後添加 500 毫升 Millipore 水到瓶中以使鹽溶解。把 2 毫升 1M 的鹽酸加到 NaCl 溶液中，接著添加 22 毫升 0.158M 的 NaOCl。將溶液混合。然後添加 0.355 公克 2-胺基-2-甲基丙烷磺酸到瓶中並且把 Millipore 水裝到定量瓶中達其標線。攪拌溶液直到反應完成，如例如 UV 或 NMR 所指示者。

吾人已經製備 N,N-氯化鳥胺酸、N,N-二氯高牛磺酸和 N,N-二氯丙胺酸。所有這些二氯化合物具有非常相似的 UV 光譜 ($\lambda_{\max} \sim 300\text{nm}$) 和莫耳吸光係數。

製備二氯胺基磺化化合物的方法

把化學計量的胺基酸或其鹽(粉末)添加到酸性的 HOCl 溶液中(HOCl:胺基酸之莫耳比=2:1)。然後將該混合物溶液攪拌大約 15 分鐘。所得溶液的 pH 係低於起始 HOCl 溶液的 pH。接著用 UV 分光光度計鑑認產物並且完成反應。用鹽酸或氫氧化鈉溶液把溶液的 pH 調整到所希望的 pH 值。利用在 $\lambda_{\max}$ 系的對應莫耳吸光係數在 UV 分光光度計上測定出溶液的濃度。更為詳細的步驟說明在以下的實施例中。

實施例 5

製備 1 公升 0.05M 的二氯高牛磺酸溶液

步驟 1

製備 1 公升 pH<5 之 0.1M 的 HOCl 溶液；

步驟 2

將 8.06 公克高牛磺酸鈉(3-胺基-1-丙烷磺酸鈉，MW=161.13)添加到步驟 1 的 HOCl 溶液中。將溶液攪拌大約 15 分鐘。

步驟 3

取一小部份步驟 2 的溶液並且製作成 100 倍的稀釋液。採稀釋溶液的 UV 光譜以鑑認該產物，其 $\lambda_{\max}$ 是在 303nm(請參考所附的表)。

步驟 4

用 NaOH 或 HCl 把步驟 2 所得溶液的 pH 調整到所需的 pH。

步驟 5

重複步驟 3 中的步驟以測量二氯高牛磺酸的濃度(該莫耳吸光係數為 $329.0\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ，請參考所附的表)。

表

N,N-二氯-和 N,N-二溴-胺基酸化合物的莫耳吸光係數

化合物	$\lambda_{\max}$ (nm)	ϵ (M ⁻¹ cm ⁻¹)
N,N-二氯牛磺酸	302	332.9 ^a
N,N-二氯高牛磺酸	303	329.0 ^c
N,N-二氯 β -丙胺酸	301	327.6 ^c
N,N,N',N'-四氯鳥胺酸	300 ^{c,d}	241 ^{c,d}
N,N-二溴牛磺酸	241	2713 ^b ,2708 ^c

^a Gottardi, W ; Nagl, M. 《藥學與醫藥化學期刊》(*Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*), 2002 年, 第 9 期, 第 411-421 頁。

^b Thomas, E.; Bozeman, P.; Jefferson, M.; King, C.; 《生物化學期刊》(*J. Bio. Chem*), 1995 年, 第 7 期, 第 2906-2913 頁。

^c 本研究中測得者。

^d 根據氯化劑對鳥胺酸 4:1 的莫耳比率

實施例 6

吾人的發現結果提供了 NNDCT 在 0.9%生理食鹽水, pH3.5 中之抗微生物活性的支持。這些抗微生物活性經測定在 μ M 的範圍內即相當大並且隨著濃度增加和/或接觸的時間而有顯著的增加。相反的, 細胞毒性則是在高於 1000 倍的 mM 範圍被觀察到的。吾人顯示: 吾人之 XTT 檢驗中未經過處理的對照組細胞相較, 經過 NNDCT 處理的細胞能夠容忍該處理並且能進行正常細胞的增殖循環。

實施例 7

製備濃度 1.49M 之 pH 為 3.0、3.5、4.0 和 5.0 的 NNDCT 溶液。用 UV—vis 分光光度計測量溶液的光譜和濃度。結果顯示 NNDCT 溶液的光譜和濃度在 pH3.0 到 5.0 的範圍裡不會改變。

製備

把 8.8 公克 NaCl、2 毫升 1.0M HCl 和 0.278 公克牛磺酸添加到一個 1000 毫升的定量瓶中，接著添加大約 800 毫升去離子水到瓶中。搖動瓶子使 NaCl 和牛磺酸粉末溶解。然後添加 22 毫升 0.15M 的 NaOCl 溶液到瓶中。把去離子水充入瓶中至標線。用磁鐵攪拌子攪拌溶液 5 分鐘。用 UV-vis 分光光度計和新校準的 Beckman pH 計測量所得溶液的濃度與 pH。此溶液具有 1.49mM 的濃度和 3.85 的 pH 值。

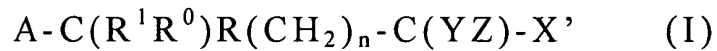
用移液吸管把 100 毫升上述 NNDCT 溶液 (pH=3.85) 加入 250 毫升燒杯中，添加 0.09 毫升 1.0M 的 HCl 溶液到此溶液中並予攪拌。此溶液的最終 pH 是 3.0。

把 100 毫升 pH 3.85 的 NNDCT 溶液用移液吸管加到 250 毫升燒杯中，添加 0.003 毫升 5.0M 的 NaOH 溶液到此溶液中並予攪拌。此溶液的最終 pH 是 4.85。

用相似的方式準備具有 pH 範圍在 3 到 5 以內之不同 pH 值的溶液。所有溶液均顯示若正確貯存之穩定性，如其 UV 光譜所示。

十、申請專利範圍：

1. 一種用於控制或預防細菌、微生物、孢子、真菌或病毒之生長或感染物及感染源增生之醫藥組成物，其包含式(I)的 N,N-二鹵代胺基酸或其衍生物，



其中 A 是 Hal_2N- ；

Hal 是選自由氯、溴和碘組成之組群中的鹵基；

R 是碳-碳單鍵或具有三到六個碳原子的二價伸環烷基；

R^1 是氫、 C_{1-6} 烷基和基團 $-COOH$ ；

R^0 是 C_{1-6} 烷基；或

R^1 和 R^0 與它們所連接的碳原子一起形成 (C_3-C_6) 環烷基環；

n 是 0 或 1 到 13 的整數；

Y 是氫、 C_{1-6} 烷基， $-NH_2$ 或 $-NHal_2$ ；

Z 是氫及 C_{1-6} 烷基；且

X' 是 $-SO_3H$ 、 $-P(=O)(OH)_2$ 或 $-B(OH)_2$ ；

若 R 是二價伸環烷基，n 是 0 或高達且包含 11 的整數，該二價基 R 或 $-(CH_2)_n$ -視需要經 $-NHal_2$ 取代；

該衍生物為醫藥上可接受的鹽、與 C_{1-6} 烷醇所成之酯，或 $-NH_2$ 基連接到取代基 X' 所連接的碳原子上之 C_{1-6} 烷鹽基衍生物。

2. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中 R 是碳-碳單鍵且 n 是 0 或 1 到 7 的整數。

3.根據申請專利範圍第 2 項之醫藥組成物，其中 n 是 0 或 1 到 5 的整數。

4.根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中 N,N -二鹵代胺基酸包含 1 個或 2 個 $-N\text{Hal}_2$ 基。

5.根據申請專利範圍第 4 項之醫藥組成物，其中 N,N -二鹵代胺基酸包含 1 個 $-N\text{Hal}_2$ 基。

6.根據申請專利範圍第 5 項之醫藥組成物，其中 A 是 $-N\text{Hal}_2$ 。

7.根據申請專利範圍第 5 項之醫藥組成物，其中 $-N\text{Hal}_2$ 基係連接到二價基 R 或 $-(\text{CH}_2)_n$ -基。

8.根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中 Hal 是氯基。

9.根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中該衍生物是醫藥上可接受的鹽。

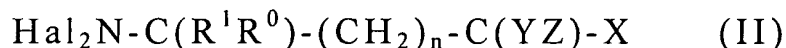
10.根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，該組成物具有 N,N -二鹵代胺基酸或其衍生物之濃度在 0.1 至 100mM 之間且 pH 範圍在大約 2 至大約 7 之間。

11. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中 R 是碳-碳單鍵且 n 是 0 或 1 到 5 的整數。

12.根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中該醫藥組成物是含在貯藏器中確保其殺細菌、抗細菌、抗感染、抗微生物、殺孢子、消毒、抗真菌或抗病毒用途所需之長期穩定性。

13.一種包含式(II)的 N,N -二鹵代胺基酸或其衍生物之

組成物的用途，



其中 Hal 是選自由氯、溴和碘組成之組群的鹵基；

R^1 是氫、 C_{1-6} 烷基和基團 $-\text{COOH}$ ；

R^0 是 C_{1-6} 烷基；或

R^1 和 R^0 與它們所連接的碳原子一起形成一個 (C_3-C_6)

環烷基的環；

n 是 0 或 1 到 3 的整數；

Y 是氫、 C_{1-6} 烷基或 $-\text{NH}_2$ ；

Z 是氫和 C_{1-6} 烷基；且

X 是 $-\text{SO}_3\text{H}$ ；

該衍生物係選自由醫藥上可接受的鹽類、與 C_{1-6} 烷醇所成之酯類，及 $-\text{NH}_2$ 基連接到取代基 X 所連接的碳原子上之 C_{1-6} 烷鹽基衍生物組成之組群；和一種醫藥上可接受的載劑；

該組成物具有 pH 範圍在大約 2 至大約 7 之間，於製備用於殺細菌、抗細菌、抗感染、抗微生物、殺孢子、消毒、抗真菌和抗病毒用途的醫藥品之用途。

14. 根據申請專利範圍第 13 項的用途，其中該組成物具有 N,N -二鹵代胺基酸或其衍生物之濃度在介於 0.1 至 100mM 之間的濃度。

15. 根據申請專利範圍第 13 項的用途，其中該醫藥品是在貯藏器中確保其殺細菌、抗細菌、抗感染、抗微生物、殺孢子、消毒、抗真菌或抗病毒用途所需之長期穩定性。

16. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其為等張且為生理性平衡的。

17. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其具有大約 1000 至大約 5000 的治療指數，此係以其對 L929 鼠肺上皮細胞和初級人類纖維母細胞二者於一小時之 IC_{50} 相對於其對大腸桿菌於一小時的最小殺細菌濃度之比值所定義的。

18. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中 R^1 是氫或 C_{1-6} 烷基； n 是 0、1 或 2； Y 是氫或 C_{1-6} 烷基； Z 是氫及 C_{1-6} 烷基；且 X' 是 $-SO_3H$ ；或其衍生物；該衍生物係選自由醫藥上可接受的鹽類或與 C_{1-6} 烷醇所成之酯類組成之組群。

19. 根據申請專利範圍第 18 項之醫藥組成物，其中 Y 和 Z 每一個係氫， X' 是 $-SO_3H$ ；該衍生物係選自由醫藥上可接受之鹽類所成的組群。

20. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中 N,N -二鹵代胺基酸是選自由 N,N -二氯-2,2-二甲基牛磺酸、 N,N -二氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸、 N,N -二溴-2,2-二甲基牛磺酸、 N,N -二溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸、 N,N -二氯-2-甲基牛磺酸、 N,N -二氯-3,3-二甲基高牛磺酸、或其衍生物組成之組群的一員；該衍生物係選自由醫藥上可接受的鹽類和與 C_{1-6} 烷醇所成之酯類組成之組群。

21. 一種根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物的用途，其係用於控制或預防細菌、微生物、孢子、真菌或病

毒之生長或感染物及感染源增生的方法，其包括施用有效量之組成物到需要該控制或預防生長或增生的排除人體或動物之區域、空間或物質上。

22. 根據申請專利範圍第 21 項的用途，其中待處理的物質係選自由食品、動物飼料、手術儀器、手術設備、醫療裝置和用於此等目的之設備所組成的類別。

十一、圖式：

(無)