

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680007056.3

[51] Int. Cl.

A61K 31/185 (2006.01)

A61K 31/197 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 33/20 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 2 月 27 日

[11] 公开号 CN 101132785A

[22] 申请日 2006.1.25

[21] 申请号 200680007056.3

[30] 优先权

[32] 2005.1.25 [33] US [31] 60/647,366

[86] 国际申请 PCT/US2006/002875 2006.1.25

[87] 国际公布 WO2006/081392 英 2006.8.3

[85] 进入国家阶段日期 2007.9.4

[71] 申请人 诺华贝制药公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 拉明·纳杰菲 曼苏尔·巴西里

王 露 贝赫扎德·霍斯罗维

[74] 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限责任
公司

代理人 章社杲 李丙林

权利要求书 15 页 说明书 67 页

[54] 发明名称

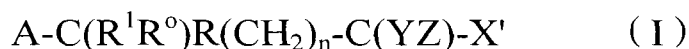
与次卤酸联用的 N-卤代氨基酸和 N,N-二卤
代氨基酸

[57] 摘要

本发明涉及活性杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒化合物和组合
物,以及这些组合物在治疗中的新用途。本发明还
描述了这些新化合物和组合物的使用方法。本发明
还进一步描述了这些化合物的制备方法。

1. 一种药物组合物, 包括

a) 化学式 (I) 的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸



或其衍生物;

其中, A 为氢、HalNH-或 Hal₂N-;

Hal 是选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素;

R 是碳-碳单键或具有 3 至 6 个碳原子的二价环亚烷基;

R¹ 为氢, 低级烷基或基团-COOH;R⁰ 为氢或低级烷基; 或R¹ 和 R⁰ 连同它们所连接的碳原子形成(C₃-C₆)环烷基环;

n 为 0 或 1 至 13 的整数;

Y 为氢、低级烷基、-NH₂、-NHHal 或-NHal₂;

Z 为氢或低级烷基; 以及

X'为氢、-COOH、-CONH₂、-SO₃H、-SO₂NH₂、-P(=O)(OH)₂或-B(OH)₂;

如果 R 为一个二价环亚烷基, n 为 0 或多达 11 且包括 11 的整数, 则二价基团 R 或者二价基团-(CH₂)_n-任选被-NHHal 或-NHal₂取代;

所述衍生物为药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、或-NH₂基团的低级烷酰衍生物, 其中所述-NH₂基团连接到其上连接着取代基 X'的碳原子上; 以及

b) 选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物。

2. 根据权利要求1所述的组合物，其中， R^0 为低级烷基。
3. 根据权利要求1所述的组合物，其中，R为碳-碳单键，且n为0或1至7的整数。
4. 根据权利要求3所述的组合物，其中，n为0或1至5的整数。
5. 根据权利要求4所述的组合物，其中，n为0或1至3的整数。
6. 根据权利要求1所述的组合物，其中，所述N-卤代或N,N-二卤代氨基酸包含1或2个-NHHal或-NHal₂基团。
7. 根据权利要求6所述的组合物，其中，所述N-卤代或N,N-二卤代氨基酸包含1个-NHHal或-NHal₂基团。
8. 根据权利要求7所述的组合物，其中，所述-NHHal或-NHal₂基团在所述基团X'的 α 位、 β 位或 γ 位。
9. 根据权利要求7所述的组合物，其中，A为-NHHal或-NHal₂。
10. 根据权利要求7所述的组合物，其中，所述-NHHal或-NHal₂基团连接至二价基团R或者-(CH₂)_n-。
11. 根据权利要求1所述的组合物，其中，Hal为氯，所述次卤酸为次氯酸。
12. 根据权利要求1所述的组合物，其中，所述衍生物为药学上可接受的盐，且所述次卤酸是以盐的形式存在。
13. 根据权利要求1所述的组合物，进一步包含溶剂，其中，所述组合物具有的所述N-卤代或N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的

浓度为 0.01mM 至 1M, 或 0.1 至 100mM 之间, 并且 pH 范围为约 2 至 7, 或约 3 至 4.8, 或 3.0 至 4.5, 或 3.5 至 4.5, 或约 3.5。

14. 一种具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒活性的组合物, 包括

(a) 化学式 (II) 的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸



或其衍生物;

其中, A'为-NHHal 或-NHal₂ 基团;

Hal 是选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素;

R¹ 为氢、低级烷基或基团-COOH;

R⁰ 为氢或低级烷基; 或

R¹ 和 R⁰ 连同它们所连接的碳原子一起形成 (C₃-C₆) 环烷基环;

n 为 0 或 1 至 3 的整数;

Y 为氢、低级烷基或-NH₂;

Z 为氢或低级烷基; 以及

X 为-COOH、-CONH₂、-SO₃H 或-SO₂NH₂;

所述衍生物选自药学上可接受的盐、低级链烷醇的酯、和 -NH₂ 基团的低级烷酰衍生物, 其中所述-NH₂ 基团连接到其上连接着取代基 X' 的碳原子上; 以及

(b) 选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物; 以及

(c) 药用载体;

所述组合物具有的所述N-卤代或N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度在0.01mM至1M,或0.1至100mM之间,且pH值范围在约2至7,或3至约4.8,或3.0至4.5,或3.5至4.5,或约3.5。

15. 一种具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒活性的稳定组合物,包括

(a) 化学式(II)的N-卤代或N,N-二卤代氨基酸



或其衍生物;

其中A'是-NHHal或-NHal₂基团;

Hal为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素;

R¹为氢、低级烷基或基团-COOH;

R⁰为氢或低级烷基;或

R¹和R⁰连同它们所连接的碳原子一起形成(C₃-C₆)环烷基环;

n为0或1至3的整数;

Y为氢、低级烷基、-NH₂;

Z为氢或低级烷基;以及

X为-COOH、-CONH₂、-SO₃H或-SO₂NH₂;

所述衍生物选自下列构成的组:药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、-NH₂基团的低级烷酰衍生物,其中所述-NH₂基团连接在其上连接着取代基X的碳原子上;以及

药用载体;以及

(b) 选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物;

所述组合物具有的所述 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M, 或 0.1 至 50mM 之间, 并且 pH 范围为约 2 至约 7, 3 至 6, 3 至 4.8, 3 至 4.5, 或 3.5 至 4.5, 或约 3.5。

16. 根据权利要求 14 所述的组合物, 其中, 所述组合物贮存在一个能保证其长期稳定性以及对其作为杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒剂的应用具有足够长储存期的容器中。
17. 一种组合物, 包括 (a) 化学式 (II) 的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸



或其衍生物;

其中 A' 是 -NHHal 或 -NHal₂ 基团;

Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素;

R¹ 为氢、低级烷基或基团 -COOH;

R⁰ 为氢或低级烷基; 或

R¹ 和 R⁰ 连同它们所连接的碳原子一起形成 (C₃-C₆) 环烷基环;

n 为 0 或 1 至 3 的整数;

Y 为氢、低级烷基、或 -NH₂;

Z 为氢或低级烷基; 以及

X 为 -COOH、-CONH₂、-SO₃H 或 -SO₂NH₂;

所述衍生物选自下列构成的组: 药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、-NH₂ 基团的低级烷酰衍生物, 其中所述 -NH₂

基团连接在其上连接着取代基 X 的碳原子上；以及 (b) 选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物；以及 (c) 药用载体；

所述组合物具有的 pH 范围为约 2 至约 7, 3 至 6, 3 至 5, 或约 3.5,

所述组合物具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒活性。

18. 根据权利要求 17 所述的组合物, 其中具有的所述 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度在 0.01mM 至约 1M, 或 0.1 至 100mM 之间。

19. 根据权利要求 18 所述的组合物, 其为稳定化的形式。

20. 根据权利要求 19 所述的组合物, 其中, 所述组合物贮存在一个能保证其长期稳定性以及对其作为杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒剂的应用具有足够储存期的容器中。

21. 一种如下的组合物在制备用于杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒用途的药剂中的应用, 所述组合物包含 (a) 化学式 (II) 的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸



或其衍生物；

其中 A' 为 -NHHal 或 -NHal₂ 基团；

Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素；

R¹ 为氢、低级烷基或基团 -COOH；

R⁰ 为氢或低级烷基；或

R^1 和 R^0 连同它们所连接的碳原子一起形成 (C_3-C_6) 环烷基环;

n 为 0 或 1 至 3 的整数;

Y 为氢、低级烷基、或 $-NH_2$;

Z 为氢或低级烷基; 以及

X 为 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SO_3H$ 或 $-SO_2NH_2$;

所述衍生物选自下列构成的组: 药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、 $-NH_2$ 基团的低级烷酰衍生物, 其中所述 $-NH_2$ 基团连接在其上连接着取代基 X 的碳原子上;

(b) 选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物; 以及

(c) 药用载体,

所述组合物具有的 pH 范围为约 2 至约 7, 3 至 6, 3 至 5, 或约 3.5。

22. 根据权利要求 21 所述的应用, 其中, 所述组合物具有的所述 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M, 或 0.1 至 100mM 之间, 或在 0.3 至 50mM 之间。
23. 根据权利要求 21 所述的应用, 其中, 所述药剂贮存在一个能保证其长期稳定性以及对其作为杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒剂的应用具有足够长储存期的容器中。
24. 一种用于预防或治疗哺乳动物中由细菌、微生物、孢子、真菌或病毒引起的感染的方法, 所述方法包括给予杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒量的 (a) 化学式 (II) 的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸



或其衍生物;

其中, A'为-NHHal 或-NHal₂ 基团;

Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素;

R¹ 为氢、低级烷基或基团-COOH;

R⁰ 为氢或低级烷基; 或

R¹ 和 R⁰ 连同它们所连接的碳原子一起形成 (C₃-C₆) 环烷基环;

n 为 0 或 1 至 3 的整数;

Y 为氢、低级烷基、或-NH₂;

Z 为氢或低级烷基; 以及

X 为-COOH、-CONH₂、-SO₃H 或-SO₂NH₂;

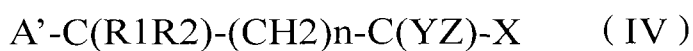
所述衍生物选自下列构成的组: 药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、-NH₂ 基团的低级烷酰衍生物, 其中所述-NH₂ 基团连接在其上连接着取代基 X 的碳原子上; 以及

(b) 选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物; 以及

(c) 药用载体。

25. 根据权利要求 24 所述的方法, 所述组合物具有的 pH 范围为约 2 至约 7, 3 至 6, 3 至 5, 或约 3.5。
26. 根据权利要求 24 所述的方法, 所述组合物具有的所述 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M, 0.1 至 100mM 之间, 或在 0.3 至 50mM 之间。

27. 根据权利要求 24 所述的方法, 其中, 所述组合物为稳定化形式。
28. 根据权利要求 24 所述的应用, 其中, 所述组合物被贮存在一个能保证其长期稳定性以及对其作为杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒剂的应用具有足够长储存期的容器中。
29. 根据权利要求 14 所述的组合物, 其中, 所述组合物为等渗的和生理平衡的。
30. 一种具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒活性的组合物, 包含 (a) 化学式 (IV) 的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸,



或者其衍生物,

其中 A' 为 -NHHal 或 -NHal₂ 基团;

Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素;

R¹ 为氢、低级烷基或基团 -COOH;

R² 为低级烷基, 或

R¹ 和 R² 连同它们所连接的碳原子形成 (C₃-C₆) 环烷基环;

n 为 0 或 1 至 3 的整数;

Y 为氢、低级烷基或 -NH₂;

Z 为氢或低级烷基; 而

X 为 -COOH, -CONH₂, -SO₃H 或 -SO₂NH₂;

所述衍生物选自由药学上可接受的盐, 低级链烷醇的酯, 连接到其上带有取代基 X 的碳原子上的 -NH₂ 基团的低级烷酰

衍生物所构成的组；以及（b）选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物。

31. 根据权利要求 30 所述的组合物，其中， R^1 为氢或低级烷基； n 为 0, 1 或 2； Y 为氢或低级烷基； Z 为氢或低级烷基；以及 X 为 $-SO_3H$ 或 $-SO_2NH_2$ ；或其衍生物；所述衍生物选自药学上可接受的盐或与低级链烷醇的酯。
32. 根据权利要求 31 所述的组合物，其中， Y 和 Z 都为氢， X 为 $-SO_3H$ ；所述衍生物选自药学上可接受的盐构成的组。
33. 根据权利要求 32 所述的组合物，其中，所述组合物含有药用载体。
34. 根据权利要求 30 所述的组合物，其 pH 范围为约 2 至约 7，3 至 6，3 至 5，或约 3.5。
35. 根据权利要求 30 所述的组合物，其中，所述组合物是等渗的和生理平衡的。
36. 根据权利要求 30 所述的组合物，其中，所述 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸选自由下列构成的组：N,N-二氯-2,2-二甲基牛磺酸；N-氯-2,2-二甲基牛磺酸；N,N-二氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；N-氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；N,N-二溴-2,2-二甲基牛磺酸；N-溴-2,2-二甲基牛磺酸；N,N-二溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；N-溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；N,N-二碘牛磺酸；N-碘牛磺酸；N,N-二氯-2-甲基牛磺酸；N-氯-2-甲基牛磺酸；N,N-二氯-2,2,3,3-四甲基-β-丙氨酸；N-氯-2,2,3,3-四甲基-β-丙氨酸；N,N-二氯-3,3-二甲基高牛磺酸；N-氯-3,3-二甲基高牛磺酸；N,N-二氯-2-甲基-2-氨基-乙磺酸；N-氯-2-甲基-2-氨基-乙磺酸；N,N-二氯-1-

甲基-乙磺酸; N-氯-氨基三亚甲基膦酸; N,N-二溴-2-氨基-5-膦酰戊酸; N-溴-2-氨基-5-膦酰戊酸; N,N-二氯-氨基乙基膦酸二酯; N-氯-氨基乙基膦酸二酯; N,N-二氯-1-氨基-1-甲基乙膦酸; N-氯-1-氨基-1-甲基乙膦酸; N,N-二氯-1-氨基-2-甲基乙膦酸; N-氯-1-氨基-2-甲基乙膦酸; N,N-二氯-1-氨基-2-甲基丙膦酸; N-氯-1-氨基-2-甲基丙膦酸; N,N-二氯亮氨酸膦酸; N-氯亮氨酸膦酸; N,N-二氯-4-氨基-4-膦酰丁酸; N-氯-4-氨基-4-膦酰丁酸; ($\pm$)N,N-二氯-2-氨基-5-膦酰戊酸; ($\pm$)N-氯-2-氨基-5-膦酰戊酸; N,N-二氯(+)-2-氨基-5-膦酰戊酸; N-二(+)-2-氨基-5-膦酰戊酸; N,N-二氯-d,l-2-氨基-3-膦酰丙酸; N-氯-d,l-2-氨基-3-膦酰丙酸; N,N-二氯-2-氨基-8-膦酰辛酸; N-氯-2-氨基-8-膦酰辛酸; N,N-二氯-亮氨酸硼酸; N-氯-亮氨酸硼酸; N,N-二氯- β -丙氨酸硼酸; N-氯- β -丙氨酸硼酸; 或药学上可接受的盐和其酯。

37. 一种用于控制或预防细菌、微生物、孢子、真菌或病毒的生长或者感染和感染源扩散的方法, 所述方法包括向需要控制或者预防该生长或扩散的区域、空间或材料施用有效量的权利要求 1 所述的组合物。
38. 根据权利要求 37 所述的方法, 其中, 所述组合物的 pH 在约 2 至约 7, 3 至 6.8, 3 至 6, 3 至 5, 或约 3.5。
39. 根据权利要求 24 所述的方法, 其中, 所述 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物是原位制备的。
40. 根据权利要求 37 所述的方法, 其中, 所述 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物是原位制备的。

41. 根据权利要求 37 所述的方法, 其中, 被处理的所述材料选自由食品、动物饲料、外科器械、外科装备、医疗设备和类似用途的装备构成的组。

42. 一种药物组合物, 包含 (a) 化学式 (IV) 的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸



或者其衍生物; 其中,

A' 为 -NHHal 或 -NHal₂ 基团;

Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素;

R¹ 为氢、低级烷基或基团 -COOH;

R² 为低级烷基, 或

R¹ 和 R² 连同它们所连接的碳原子形成 (C₃-C₆) 环烷基环;

n 为 0 或 1 至 3 的整数;

Y 为氢、低级烷基或 -NH₂;

Z 为氢或低级烷基; 而

X 为 -COOH, -CONH₂, -SO₃H 或 -SO₂NH₂;

所述衍生物选自由药学上可接受的盐, 与低级链烷醇的酯, 以及连接到其上带有取代基 X 的碳原子上的 -NH₂ 基团的低级烷酰衍生物所构成的组; 以及 b) 选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物。

43. 权利要求 42 所述的组合物, 其包含 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸, 其中

R¹ 为氢或低级烷基;

n 为 0, 1 或 2;

Y 为氢或低级烷基;

Z 为氢或低级烷基; 以及

X 为-SO₃H 或-SO₂NH₂;

或其衍生物; 所述衍生物选自由药学上可接受的盐或与低级链烷醇的酯构成的组。

44. 权利要求 43 所述的组合物, 包含 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸, 其中

Y 和 Z 都为氢;

X 为-SO₃H;

所述衍生物选自由药学上可接受的盐构成的组。

45. 权利要求 43 所述的组合物, 包含选自由下列构成的组中的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸:

N-氯-2,2-二甲基牛磺酸;

N,N-二氯-2,2-二甲基牛磺酸;

N-氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸;

N,N-二氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸;

N-溴-2,2-二甲基牛磺酸;

N,N-二溴-2,2-二甲基牛磺酸;

N-溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸;

N,N-二溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸;

N-氯-2-甲基牛磺酸;

N,N-二氯-2-甲基牛磺酸;

N-氯-2,2,3,3-四甲基-β-丙氨酸;

N,N-二氯-2,2,3,3-四甲基-β-丙氨酸;

N-氯-3,3-二甲基高牛磺酸;

N,N-二氯-3,3-二甲基高牛磺酸;

N-氯-1-甲基-乙磺酸; 和

N,N-二氯-1-甲基-乙磺酸;

或其药学上可接受的盐。

46. 根据权利要求 41 所述的组合物, 包含 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸, 其中, Hal 为氯, 或者其药学上可接受的盐。
47. 一种药物组合物, 包含 (a) 权利要求 42 中限定的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸, 或其衍生物, 以及 (b) 次卤酸或其盐。
48. 一种用于预防或治疗哺乳动物中由细菌、微生物、孢子、真菌或病毒引起的感染的方法, 所述方法包括给予杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒量的权利要求 42 所述的组合物。
49. 一种用于控制或预防细菌、微生物、孢子、真菌或病毒的生长或者感染和感染源扩散的方法, 所述方法包括向需要控制或者预防该生长或扩散的区域、地方或材料施用有效量的权利要求 42 所述的组合物。
50. 根据权利要求 47 所述的组合物, 其具有的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M, 0.1mM 至 100mM, 或在 0.3 至 50mM 之间, pH 范围为约 2 至约 7, 或 3 至约 4.8, 3.0 至 4.5, 或 3.5 至 4.5, 或约 3.5。

-
51. 根据权利要求 47 所述的组合物，其为稳定化形式，所述组合物具有的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M，0.1mM 至 100mM，或在 0.1 至 50mM 之间，pH 范围为约 2 至约 7，3 至 6，3 至 4.8，3 至 4.5，或 3.5 至 4.5，或约 3.5。
52. 根据权利要求 47 所述的组合物，其中，所述组合物贮存在一个能保证其长期稳定性以及对其作为杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒剂的应用具有足够储存期的容器中。
53. (a) 权利要求 42 中的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸和 (b) 次卤酸或其盐在制备杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒的活性组合物中的应用。

与次卤酸联用的 N-卤代氨基酸和 N,N-二卤代氨基酸

技术领域

本发明涉及基于有释放卤素能力的氨基酸及其衍生物的具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒活性的化合物和组合物，还涉及这些组合物在治疗中的新用途。在另一变化形式中，本发明涉及活性杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、杀菌消毒、抗真菌和抗病毒化合物和组合物以及这些组合物在杀灭微生物和治疗中的新用途。由于它们的重要性质，本发明的这些新产物和组合物还可广泛应用于包括畜牧业和农业在内的动物保健中，例如珍贵种子的储存。

本说明书还描述了这些新化合物和组合物的使用方法。该说明书进一步描述了制备这些化合物的方法。更具体而言，这些卤代氨基酸及其衍生物在本文中也称为氨基酸。天然氨基酸的实例有牛磺酸、高牛磺酸、丙氨酸、 β -丙氨酸、鸟氨酸和 γ -谷氨酸、或 γ -氨基丁酸(GABA)。用于制备卤代氨基酸的非天然氨基酸起始原料的非排他性实例包括 1-氨基-1-甲基乙磺酸、1-氨基-1,1-二甲基乙磺酸、1,1-二甲基-2-氨基-2-羧基-乙磺酸、氨基三甲叉膦酸、2-氨基-5-膦酰基戊酸、氨基乙基膦酸二酯，例如二乙酯、1-氨基-1-甲基乙膦酸、1-氨基-2-甲基乙膦酸、1-氨基-2-甲基丙膦酸、亮氨酸膦酸、4-氨基-4-膦酰基丁酸、 $(\pm)$ 2-氨基-5-膦酰基戊酸、 $(+)$ 2-氨基-5-膦酰基戊酸、dl-2-氨基-3-膦酰基丙酸、2-氨基-8-膦酰基辛酸、丙氨酸硼酸、 β -丙氨酸硼酸或亮氨酸硼酸及其盐。

这些起始原料可以以其酯或盐的形式使用。磷酸的低级烷基酯是优选的用于制备本发明的二卤代氨基酸磷酸及其衍生物的酯。本文使用的卤素包括氟、氯、溴和碘。

N-卤代氨基酸或 N,N-二卤代氨基酸的起始原料一般是已知的化合物或可以通过已知方法制备。这些原料描述于 *Tetrahedron: Asymmetry* 1997, 8 (13), *FEMS Microbiol. Lett.*, 70, 23-28 (1990), *Synth. Commun.* 2725-2731(1994), *FEMS Microbiol. Lett.* 108, 225-230(1993), *Neurosci. Lett.* 21: 77-92(1981), *Br. J. Pharmacol.* 75, 65, 以及例如, 在 2001 年 12 月 8 日 R. Noyori Nobel 教授的报告 “Asymmetric Catalysis: Science and Opportunities” 中 (www.nobel.se/chemistry/laureates/2001/noyori-lecture.pdf)。

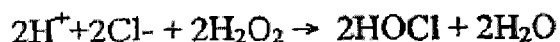
许多 N-卤代氨基酸和 N,N-二卤代氨基酸是已知的。关于这些氨基酸, 我们提供了具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、抗真菌和抗病毒性能的新的组合物。

本发明还涉及多种具有杀菌、抗菌、抗感染、杀孢、抗微生物、抗真菌和抗病毒性能的新的 N,N-二卤代氨基酸及其衍生物。

背景技术

因其消除感染的能力而被人们所知的人体免疫细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞, 能够产生活性氧代谢物, 这些氧代谢物破坏微生物和异常或肿瘤(癌)细胞, 并调整炎症反应。嗜中性粒细胞能够作为对发炎性刺激、细菌感染和/或其它细胞膜变化的应答而被激活。因此, 他们产生超氧化物自由基如: $\text{HOO}\cdot$, $\text{O}_2\cdot$ 和 $\text{OH}\cdot$ 。在酸性状态下, 在 100-150mM 生理浓度的氯离子 (Cl^-) 被 H_2O_2 氧化, 该反应被髓过氧化物酶(嗜中性粒细胞中的一种酶)催化, 按照下面

的反应式形成次氯酸 (HOCl) (Weiss S. J., Klein R., Slivka A., Wei M. J. *Clin. Invest.* 1982, Sept.; 70(3): 598-607) :



HOCl 的生理产生是由一个复杂的生物化学信号网络通过反馈抑制作用而紧密调控的。HOCl 以 $2 \times 10^{-7}\text{M}/10^6$ 活化嗜中性粒细胞的浓度产生 (Lapenna D., Cuccurullo F. *Gen. Pharmacol.* 1996 Oct.; 27(7): 1145-7)。这个数量的 HOCl 据估计能够杀死约 150×10^6 大肠杆菌。HOCl 一旦产生, 就会通过与复杂的细胞体系内的多倍可氧化底物反应而快速降解。这样, 反应性氧代谢物的浓度预计在几小时内就降到检测不到的水平。然而, 已经证明, 嗜中性粒细能够使用其 HOCl 来产生大量的寿命相当长的氧化剂, 如 N-氯胺。这些长时间成活的氧化剂取决于细胞环境的 pH 值, 而产生为牛磺酸的单氯胺 (NCT, 或 N-氯牛磺酸) 和牛磺酸的二氯胺 (NNDCT, 或 N,N-二氯牛磺酸)。这些氧化剂是强力的抗微生物剂, 在生物体免疫系统中起着关键作用, 并调节宿主体内的细胞因子和生长因子。

相关领域的描述

德国专利申请 4041703 中 W. Gottardi 描述了 N-氯代牛磺酸的碱金属盐。该申请提到, 在原位合成时, 不可能分离出纯的 N-氯代牛磺酸, 而只能以稀溶液的形式得到。后期工作证实, N-氯代牛磺酸能够如下所述那样制备。该德国专利申请也描述了晶体形式的 N-氯代牛磺酸的纯碱金属盐的制备。它还公开了这些盐作为消毒剂和杀菌剂在人类医学应用中的用途。该德国专利申请描述的碱金属盐的制备方法是通过牛磺酸与碱金属氯醛甲酰胺如 N-氯苯磺酰胺钠 (氯胺-B) 或 N-氯-4-甲基-苯磺酰胺钠 (氯胺-T)。氯胺-B 和氯胺-T 列于 Merck 索引的 2001 年第 13 版, 356 页的 2084 和 2085 项。

W. Gottardi 等的专利 WO0222118 描述了 N-氯代牛磺酸, 特别是以其钠盐的形式用于治疗真菌感染如急性或慢性鼻窦炎 (*Rhinosinusitis*), 或其它真菌感染如耳炎、皮炎、支气管炎, 各种肺炎如肺孢子虫感染, 性器官真菌感染如阴道炎、子宫内膜炎、*Balinitis*, 胃肠道真菌感染如口腔炎、食道炎、肠炎, 或尿道真菌感染如肾盂肾炎 (*Pyelonephritis*), 输尿管炎、膀胱炎或尿道炎。

近来, Gelder 等合成并分离出粉末状的 N,N-二氯牛磺酸(Gelder, N. M.; Bowers, R. Synthesis and characterization of N,N-dichlorinated amino acids: Taurine, Homotaurine, GABA and L-Leucine *J. Neurochemical Research*. 2001; 26:575-578)。他们的专利 (Gelder 和 Bowers 的美国专利 6,451,761B1, 2002 年 9 月 17 日, “N', N'-dichlorinated omega-amino acid and uses thereof”) 描述了作为调节氨基酸以穿过血脑屏障到达 CNS 方面的内容。N-氯代牛磺酸 (NCT) 和 N,N-二氯牛磺酸 (NNDCT) 能够通过其紫外光谱而被鉴定。NNDCT 在 302nm 处具有最大吸收, 摩尔吸光系数为 $332.9 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。该数据来自于 Gottardi, W.; Nagl, M. *Arch. Pharm. Med. Chem.* 2002, 9, 411-421。NCT 在 252nm 处具有最大吸收, 摩尔吸光系数为 $415 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。

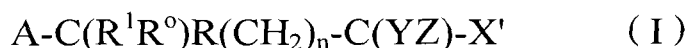
Juan M. Antelo 等人在 *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2000, 2109-2114 中描述了在 N-氯牛磺酸可逆歧化反应中的一般的酸-碱催化。作者也描述了在 pH=2-2.5 下由 N-氯牛磺酸的歧化反应制备 N,N-二氯牛磺酸溶液的方法, 以及 N,N-二氯牛磺酸在 pH=1.88 时的稳定性。在 100h 之后, N,N-二氯牛磺酸损失量不到 5%。

公开于 2004 年 2 月 5 日的 Mainemare 的美国专利公开 2004/0022871 披露了药物组合物, 该组合物包括 (i) 至少一种卤素化合物和 (ii) 至少一种选自两性离子化合物和/或氨基酸的化合物的至少一种 N-卤代衍生物。该卤素化合物为碱金属次氯酸盐, 优选

次氯酸钠，而该 N-卤代化合物为牛磺酸的 N-卤代衍生物。该美国公开申请中包括的氨基酸可以是天然氨基酸、衍生物以及后者的类似物。美国专利公开 2004/0022871 的披露内容通过引用形式合并在此。该美国专利公开的药物组合物已被披露具有抗炎、免疫调节作用和组织愈合促进作用，而没有表现出明显的对哺乳动物中髓过氧化物酶活性的刺激。这些药物组合物的次氯酸盐滴定度为，可用氯，特别是碱金属的次氯酸盐、尤其是次氯酸钠小于或等于 1mol/L。其最小滴定度大于或等于约 1picmole/L (picmole, 皮可摩尔, 百亿分之一摩尔)。这些组合物的 N-氯胺滴定度小于或等于约 5mol/L, 最小为 0.01 femtomole/L (femtomole, 毫微微摩尔, 千万亿分之一摩尔)。

发明内容

应该理解，本发明的任何方面或特点，无论是否作为优选特征，都能够与本发明的任何其它方面或特点组合，不论这些其它方面或特点也是否作为优选特征。例如，被描述为优选的特征，例如 pH 范围，或者对于特定组分（例如具有某个具体化学式的某些 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸）的特定 pH 范围，可以与另一种组分（另一特定化学式的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸）组合，而不会偏离本发明。该声明也适用于取代基的任何组合。例如，一个被说明为优选的取代基可以与任何其它并未指明为优选的取代基组合。术语“包括”或“具有”或“包含”在本发明书中作为开放式词语被互换地使用。因此，在其最广泛的方面，本发明提供的药物组合物包括化学式 (I) 的 N-卤代或 N,N-二卤氨基酸或其衍生物，以及在所附权利要求中指定的卤素化合物。



A 为氢、HalNH-或 Hal₂N-, 其中 Hal 是选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素; R 是碳-碳单键或含 3 至 6 个碳原子的二价环亚烷基, R¹ 为氢, 低级烷基或羧基-COOH; R⁰ 为氢或低级烷基; n 为 0 或 1 至 13 的整数, 或 R¹ 和 R⁰ 连同它们所连接的碳原子形成(C₃-C₆) 环烷基环; Y 为氢、低级烷基或-NH₂ 或-NHal₂; Z 为氢或低级烷基; 而 X' 为氢、-COOH、-CONH₂、-SO₃H、-SO₂NH₂、-P(=O)(OH)₂ 或 -B(OH)₂。如果 R 为一个二价环亚烷基, n 将不会超过整数 11。也就是说, n 可以为 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 或 11。换句话说, 包括酸性基团 X' 的氨基酸将具有多达 16 个链原子。在二价环亚烷基或在二价基团-(CH₂)_n-中, 一个氢可以用-NHHal 或-NHal₂ 基团取代。尽管本发明的 N-卤代或 N,N-二卤氨基酸可以包含多达 3 个-NHHal 或-NHal₂ 基团, 具有 1 或 2 个-NHHal 或-NHal₂ 基团的 N,N-二卤氨基酸是优选的。最优选的是具有一个-NHal₂ 基团的 N,N-二卤氨基酸。该基团可以位于酸性基团 R¹ (如果 R¹ 为-COOH) 或 X' 的 α 位, β 位, γ 位, δ 位, ε 位等直至 ω 位。

化学式 I 化合物的衍生物包括药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、连接到碳原子(上面连接着取代基 X') 的-NH₂ 基团的低级烷酰衍生物。术语“低级”在这方面包括具有 1 至 6 个, 优选 1 至 4 个碳原子的残基。

在一个优选实施方案中, R 为一个碳-碳单键, n 为 0 或 1 至 7 的整数, 更优选为 0 或 1 至 5 的整数, 最优选为 0 或 1 至 3 的整数, 也就是 1、2 或 3。其中 n=4 或 n=5 或 n=6 或 n=7 或 n=8 或 n=9 的 N,N-二卤代氨基酸也是有益的。

本发明的组合物可以以液体形式使用, 例如以溶液形式。如果这样, N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或者其衍生物浓度将达到 1M, 或达到 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或者其衍生物的饱和浓度。正如本文使用的, 进一步包括溶剂的这些组合物可以含有水以形成含水

组合物，该溶剂可以包括水和有机溶剂以及它们的混合物。本发明优选的组合物包括这样一种组合物，其 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.1 至 100mM，并且 pH 范围为约 2.0，3 至约 4.8，3.0 至 4.5，或 3.5 至 4.5，或约 3.5。该 pH 可以通过现有技术中的各种缓冲系统容易地调节。在每一个上述组合物的一个具体方面，Hal 为溴、氯或碘。在另一方面，Hal 为溴或氯。

另一个组合物的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.1 至 50mM，且 pH 范围为约 2 至约 7，约 3 至约 6，3 至约 4.8，约 3 至 4.5，或 3.5 至 4.5，或约 3.5。可以用缓冲系统将 pH 值调节至希望的值。

本发明还提供新的杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗病毒和抗真菌组合物，其包括化学式 (II) 的 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物以及根据所附权利要求的卤素化合物。



在该化学式中，Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素； R^1 为氢、低级烷基或基团 $-\text{COOH}$ ； R^0 为氢或低级烷基，或 R^1 和 R^0 连同它们所连接其上的碳原子一起形成 (C_3 - C_6) 环烷基环；n 为 0 或 1 至 3 的整数；Y 为氢、低级烷基、 $-\text{NH}_2$ 或 $-\text{NHal}_2$ ；Z 为氢或低级烷基；以及 X 为 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 。在每一个上述组合物的一个具体方面，Hal 为溴、氯或碘。在另一方面，Hal 为溴或氯。

化学式 II 化合物的衍生物包括药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、 $-\text{NH}_2$ 基团的低级烷酰衍生物，其中该 $-\text{NH}_2$ 基团连接在上面连接着取代基 X 的碳原子上。术语“低级”在这方面包括具有 1 至 6 个，优选 1 至 4 个碳原子的残基。

化学式 (I)、(II)、(IIA)、(III)、(IIIA)、或 (IV) 的化合物的药学上可接受的盐, 或它们的衍生物包括具有药学上可接受的阳离子的盐。化学式 (IIA)、(III)、(IIIA)、和 (IV) 的化合物在下面给予说明。N-卤代或 N,N-二卤氨基酸的盐包括具有 $-\text{COOH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 基团的碱的盐。药学上可接受的盐也包括铵、碱金属、镁、或钙盐和任何有机胺盐。碱金属盐、镁、钙和铝盐是有益的。特别有益的是碱金属盐, 尤其是锂、钠或钾盐。

酸加成盐的实例包括但不限于碱性残基如胺的无机或有机酸盐; 酸性残基如羧酸的碱盐或有机盐等。药物学上可接受的盐包括但不限于氢卤化物、硫酸盐、硫酸甲酯、甲磺酸盐、甲苯磺酸盐、硝酸盐、磷酸盐、马来酸盐、乙酸盐、乳酸盐等。

在 Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p.1418 或 The Merck Index, Thirteenth Edition, 2001(由 Merck Research Laboratories Division of Merck & Co., Inc.出版)的 MISC-22 和 MISC-23 页中可以找到合适的盐的列表, 将其公开的全部内容以引用形式合并于此。

连接到上面连接着取代基 X 的碳原子上的 $-\text{NH}_2$ 基团的药物学上可接受的酸加成盐除了别的以外还包括盐酸、磺酸、磷酸、硝酸、苯磺酸、甲苯磺酸、甲磺酸、樟脑磺酸和其他酸的盐。

化学式 (I)、(II)、(IIA)、(III)、(IIIA)、和 (IV) 的化合物的其它衍生物包括 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{SO}_3\text{H}$ 基团的低级链烷醇酯, 以及 $-\text{NH}_2$ 基团的低级烷酰衍生物, 其中该 $-\text{NH}_2$ 基团连接在其上连接着取代基 X 的碳原子上。

化学式 (I)、(II)、(IIA)、(III)、(IIIA)、和 (IV) 的化合物的其它衍生物还包括其中氨基酸分子的某些基团由保护基保护的

N-卤代或 N,N-二卤氨基酸。“保护基”是指这样的化学基团，它 (a) 使反应活性基团不参与不需要的化学反应；以及 (b) 在不再需要保护反应活性基团之后能够很容易地除去。

“氨基保护基”是指保护反应活性氨基的保护基，没有它，氨基会被某些化学反应所改性。氨基保护基的非限制性的实例包括甲酰基或具有 2 至 4 个碳原子的低级烷酰基，特别是乙酰基或丙酰基，三苯甲基或取代的三苯甲基，如单甲氧基三苯甲基、二甲氧基三苯甲基如 4,4'-二甲氧基三苯甲基或 4,4'-二甲氧基三苯基甲基，三氟乙酰基，N-(9-芴基-甲氧基羰基) 或“FMOC”基，烯丙氧羰基或衍生自卤代碳酸酯的其他保护基，如 (C₆-C₁₂) 芳基低级烷基的碳酸酯 (如衍生自氯甲酸苄酯的 N-苄氧羰基)，如苄氧羰基 (CBZ 基)，或衍生自卤代碳酸联苯基烷基酯、或卤代碳酸叔烷基酯如卤代碳酸叔丁酯、特别是氯代碳酸叔丁酯的其他保护基，或二 (低级) 烷基的二碳酸酯，特别是二 (叔丁基) -二碳酸酯和邻苯二酰基。

本文披露的本发明还包括具有化学式 (IIA) 的 N-单卤代氨基酸的组合物以及它们的衍生物，



其中，Hal、R¹、R⁰、n、Y、Z 和 X 的含义如前所述；优选化学式 IIA 的化合物，其中，R¹ 为低级烷基或基团-COOH；R⁰ 为低级烷基，或 R¹ 和 R⁰ 连同与它们连接的碳原子一起形成 (C₃-C₆) 环烷基环；以及它们的衍生物和根据所附权利要求的卤素化合物。在每一个上述组合物的一个具体方面，Hal 为溴、氯或碘。在另一方面，Hal 为溴或氯。

化学式 IIA 化合物的衍生物包括药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、-NH₂ 基团的低级烷酰衍生物，其中该-NH₂ 基团连接在

上面连接着取代基 X 的碳原子上。术语“低级”在这方面包括具有 1 至 6 个，优选 1 至 4 个碳原子的残基。

化学式 (IIA) 的化合物的药学上可接受的盐包括具有药学上可接受的阳离子的盐。N-卤代氨基酸的盐包括具有 -COOH 和 -SO₃H 基团的碱的盐。在一个变体中，N-卤代氨基酸的盐包括具有 -CONH₂ 和 -SO₂NH₂ 基团的化合物的盐。药学上可接受的盐也包括铵、碱金属、镁、或钙盐和任何有机胺盐。碱金属盐、镁、钙和铝盐是有益的。特别有益的是碱金属盐，尤其是锂、钠或钾盐。

酸加成盐的实例包括但不限于碱性残基如胺的无机或有机酸盐；酸性残基如羧酸的碱或有机盐等。药物学上可接受的盐包括但不限于氢卤化物、硫酸盐、硫酸甲酯、甲磺酸盐、甲苯磺酸盐、硝酸盐、磷酸盐、马来酸盐、乙酸盐、乳酸盐等。

在 Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p.1418 或 The Merck Index, Thirteenth Edition, 2001(由 Merck Research Laboratories Division of Merck & Co., Inc.出版)的 MISC-22 和 MISC-23 页中可以找到合适的盐的列表，将其公开的全部内容以引用形式合并于此。

连接到上面带有取代基 X 的碳原子上的 -NH₂ 基团的药物学上可接受的酸加成盐除了别的以外还包括盐酸、磺酸、磷酸、硝酸、苯磺酸、甲苯磺酸、甲磺酸、樟脑磺酸和其他酸的盐。

化学式 (IIA) 的化合物的其它衍生物包括 -COOH 或 -SO₃H 基团的低级链烷醇酯，以及 -NH₂ 基团的低级烷酰衍生物，其中该 -NH₂ 基团连接在上面连接着取代基 X 的碳原子上。

化学式 (IIA) 化合物的其它衍生物还包括其中氨基酸分子的某些基团由保护基保护的 N-卤代氨基酸。“保护基”是指这样的化学基团，它 (a) 使反应活性基团不参与不需要的化学反应；以及 (b) 在不再需要保护反应活性基团之后能够很容易地除去。适宜的保护基团前面已有陈述。例如 N-氟氨基酸的 N-卤代氨基酸可以用现有技术中用于氟化受保护或未保护氨基及其衍生物的各种方法进行制备。类似地，N,N-二氟氨基酸也可以使用现有技术的方法进行制备。例如参见 R.P.Singh 和 K.M.Shreeve 的 *Chem. Commun.*, 2001, 1196-1197 (2001), and V. V. Rozhkov, K. N. Makarov, R. G. Kostyanovsky, “N-Fluorination of aziridinecarboxylates via fluorolysis of their N-aminomethyl derivatives”, *Mendeleev Commun.*, 1998, 66-67, 以及在其中引用的文献。

本文所使用的术语“组合物”是指本发明各种形式的化合物或组合物，包括固体，诸如粉末、粉末混合物等，乳液，悬浊液以及溶液。

在一个方面，组合物和其用途包括已知的 N,N-二卤代氨基酸或 N-卤代氨基酸或其衍生物。在另一方面，组合物和其用途包括新的 N,N-二卤代氨基酸或 N-卤代氨基酸或其衍生物。在任一种情况下，优选将组合物保持为酸的形式，也就是 pH 低于 7，例如 6.8，也就是 pH 为约 2 至约 7，也就是 pH 范围为 2.0 至 6.8，或 2.5 至 6.5，或 2.5 至 6.0，或 2.5 至 5.0，或 3.0 至 5.0，或 pH 为约 3.5。在不同的环境下，pH 可以保持低于 5，也就是 pH 范围为约 3 至 4.5，或 3.5 至 4.5，或 pH 为约 3.5。尽管优选的是其 pH 为酸性的组合物，pH 的选择将取决于许多因素，包括 N,N-二卤或 N-卤代氨基酸的具体用途（无论是体外或体内），所治疗的感染的类型（例如，感染是由细菌、酵母、真菌还是由病毒导致的），感染的部位（例如，是眼睛、喉或尿道还是任何目标组织或器官的感染），感染的严重程度，病人的敏感性等。前面已经提到，通过适当选择本领域普通技术人员所熟知的缓冲系统可以容易地达到所希望的 pH 值。

在一些情况下,对于本发明的组合物来说,pH在7和9之间是适合的。在一些变体中,组合物可以保持中性、微碱性或者碱性形式;也就是说pH约为7,例如7.2,或者pH在约7至约9之间,即pH在7.2至7.2之间,pH在约7.2至约7.5之间,pH在约7.5至约8之间,或pH在约8至约8.5之间,或pH在约8.5至约9之间,或pH约为8。此外,可以使用适宜的本领域普通技术人员已知的缓冲系统获得需要的pH值。该需要的pH值部分取决于化合物和组合物的稳定性以及它们的预计用途。

在另一方面,本发明的组合物、溶液包含浓度范围为0.1至100毫摩尔(mM)的N,N-二卤或N-卤代氨基酸。

在再一方面,该组合物将是等渗的和生理平衡的。

N,N-二卤代和N-卤代氨基酸与HOCl有显著的不同,因为他们既能保持具有显著的杀菌活性的氧化潜能,又比HOCl的毒性低。N,N-二卤或N-卤代氨基酸在氧化敏感目标分子之前也足够稳定以扩散一定距离。本发明的 $n=0$ 或小于等于5的低分子量N,N-二卤或N-卤代氨基酸是更亲水的分子。

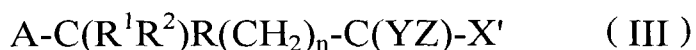
令人惊奇的是,我们发现,尽管本发明的N,N-二卤或N-卤代氨基酸具有很强的杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒作用,他们的细胞毒性却较低。当组合物是酸性的时候尤其如此。因此,通过将N,N-二卤氨基酸或N-卤代氨基酸与诸如次卤酸(HOCl,HOBr或HOI)或其盐的卤素化合物相结合,可以保持所得二元组合物的低水平的毒性。

在另一方面,本发明的组合物被稳定化,以满足用作治疗和预防细菌、微生物、孢子、真菌和病毒感染或污染的组合物的要求。一方面,本文披露的组合物可以被制备得足够稳定,或者该组合物

具有长期稳定性和适于预计用途的至少两周的储存期、优选至少一个月、优选至少三个月、更优选至少六个月、更优选至少 12 个月、最优选至少约 24 个月。取决于本发明披露的组合物的预计用途，该组合物可以储存在室温或者 25℃，或者低于室温、如约 20℃、15℃、或约 10℃。

在另一方面，通过将组合物贮存于一个能保证足够稳定性以控制细菌、微生物、孢子、真菌和病毒感染或污染的容器中来使组合物稳定。

本发明提供的药物组合物包括化学式 (III) 的 N,N-二卤氨基酸或其衍生物：



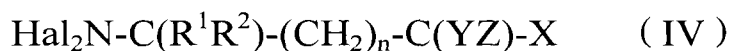
A 为氢或 Hal₂N-基团，其中 Hal 是选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素；R 是碳-碳单键或含 3 至 6 个碳原子的二价 (C₃-C₆) 环亚烷基，R¹ 为氢、低级烷基和基团-COOH；R² 为低级烷基，或者 R¹ 和 R² 连同它们所连接的碳原子一起形成 (C₃-C₆) 环烷基环；n 为 0 或 1 至 13 的整数；Y 为氢、低级烷基、-NH₂ 或 -NHal₂；Z 为氢或低级烷基；以及 X' 为氢，-COOH、-CONH₂、-SO₃H、-SO₂NH₂、-P(=O)(OH)₂ 或 -B(OH)₂ 以及权利要求中的卤素化合物。如果 R 为一个二价 (C₃-C₆) 环亚烷基，则 n 将不超过整数 11。换句话说，带有酸性基团 X' 的氨基酸将具有多达 16 个链原子。可选地，在二价 (C₃-C₆) 环亚烷基或在二价基团 -(CH₂)_n- 中，一个氢可以被 -NHal₂ 基团取代。尽管本发明的 N,N-二卤氨基酸可以包含多达 3 个 -NHal₂ 基团，具有 1 或 2 个 -NHal₂ 基团的 N,N-二卤氨基酸是优选的。最优选的是具有一个 -NHal₂ 基团的 N,N-二卤氨基酸。该基团可以位于酸性基团 R¹ (如果 R¹ 为 -COOH) 或 X' 的 α 位、β 位、γ 位、δ 位、ε 位等，直至 ω 位。还包括 N-氨基酸、特别是 N-一氯氨基酸以及

它们的其中化学式 III 的-NHal₂ 基团被-NHHal 取代[化学式 (IIIA)] 的衍生物。

化学式 III 或 IV (以下描述) 的化合物的衍生物包括药物学上可接受的盐, 低级链烷醇的酯, 连接到上面带有取代基 X 或 X' 的碳原子上的-NH₂ 基团的低级烷酰衍生物。术语“低级”在这方面包括具有 1 至 6 个, 优选 1 至 4 个碳原子的残基。

在一个优选实施方案中, R 为碳-碳单键, n 为 0 或 1 至 7 的整数, 更优选为 0 或 1 至 5 的整数, 最优选为 0 或 1 至 3 的整数。

在另一方面, 提供具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒活性的组合物, 其含有化学式 (IV) 的 N,N-二卤氨基酸,



或者包括其 N-单卤代衍生物的衍生物, 以及卤素化合物; 其中, Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素; R¹ 为氢、低级烷基或基团-COOH; R² 为低级烷基, 或 R¹ 和 R² 连同它们所连接的碳原子形成 (C₃-C₆) 环烷基环, n 为 0 或 1 至 3 的整数; Y 为氢、低级烷基或-NH₂; Z 为氢或低级烷基; 而 X 为-COOH, -CONH₂, -SO₃H 或-SO₂NH₂; 所述衍生物选自由药物学上可接受的盐, 与低级链烷醇的酯, 以及连接到上面带有取代基 X 的碳原子上的-NH₂ 基团的低级烷酰衍生物构成的组。

在另一方面, 包括化学式 (IV) 的新 N, N-二卤氨基酸的上述组合物是这样的组合物, 其中 R¹ 为氢或低级烷基; n 为 0, 1 或 2; Y 为氢或低级烷基; Z 为氢或低级烷基; 以及 X 为-SO₃H 或-SO₂NH₂;

或其衍生物，所述衍生物选自药物学上可接受的盐或与低级链烷醇的酯。

在另一方面，包括化学式(IV)的新N，N-二卤氨基酸的上述组合物是这样的组合物，其中Y和Z为氢，X为-SO₃H；所述衍生物选自由药物学上可接受的盐构成的组。在另一方面，Hal为氯。

优选的衍生物是药物学上可接受的盐。

在另一方面，上述组合物包括以下化合物或其衍生物，所述衍生物选自由药物学上可接受的盐或与低级链烷醇的酯构成的组：

N,N-二氯-2,2-二甲基牛磺酸；
N-氯-2,2-二甲基牛磺酸；
N,N-二氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；
N-氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；
N,N-二溴-2,2-二甲基牛磺酸；
N-溴-2,2-二甲基牛磺酸；
N,N-二溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；
N-溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；
N,N-二碘牛磺酸；
N-碘牛磺酸；
N,N-二氯-2-甲基牛磺酸；
N-氯-2-甲基牛磺酸；
N,N-二氯-2,2,3,3-四甲基-β-丙氨酸；
N-氯-2,2,3,3-四甲基-β-丙氨酸；
N,N-二氯-3,3-二甲基高牛磺酸；
N-氯-3,3-二甲基高牛磺酸；
N,N-二氯-2-甲基-2-氨基-乙磺酸；
N-氯-2-甲基-2-氨基-乙磺酸；

N,N-二氯-1-甲基-乙磺酸;
N-氯氨基三亚甲基膦酸;
N,N-二溴-2-氨基-5-膦酰戊酸 (pantanoic acid);
N-溴-2-氨基-5-膦酰戊酸;
N,N-二氯 氨基乙基膦酸二酯, 如二乙酯;
N-氯 氨基乙基膦酸二酯, 如二乙酯;
N,N-二氯-1-氨基-1-甲基乙膦酸;
N-氯-1-氨基-1-甲基乙膦酸;
N,N-二氯-1-氨基-2-甲基乙膦酸;
N-氯-1-氨基-2-甲基乙膦酸;
N,N-二氯-1-氨基-2-甲基丙膦酸;
N-氯-1-氨基-2-甲基丙膦酸;
N,N-二氯亮氨酸膦酸;
N-氯亮氨酸膦酸 (leucine phosphonic acid);
N,N-二氯-4-氨基-4-膦酰丁酸;
N-氯 4-氨基-4-膦酰丁酸;
(±)N,N-二氯-2-氨基-5-膦酰戊酸;
(±)N-氯-2-氨基-5-膦酰戊酸;
N,N-二氯(+)-2-氨基-5-膦酰戊酸;
N-氯(+)-2-氨基-5-膦酰戊酸;
N,N-二氯-d,l-2-氨基-3-膦酰丙酸;
N-氯-d,l-2-氨基-3-膦酰丙酸;
N,N-二氯-2-氨基-8-膦酰辛酸;
N-氯-2-氨基-8-膦酰辛酸;
N,N-二氯-亮氨酸硼酸;
N-氯-亮氨酸硼酸;
N,N-二氯-β-丙氨酸硼酸; 或
N-氯-β-丙氨酸硼酸

或其药物学上可接受的盐或酯。

在另一方面，本文描述的包括化学式为(I)，(II)，(IIA)，(III)，(IIIA)或(IV)的单或二卤代氨基酸或其衍生物的组合物是其中Hal为氯的组合物，并且在该卤化物中卤素为氯。在另一方面，本文描述的包括化学式为(I)，(II)，(IIA)，(III)，(IIIA)或(IV)的单或二卤氨基酸或其衍生物的组合物是其中Hal为溴或氯的组合物，并且在该卤化物中卤素为溴或氯。

在另一方面，本发明的组合物进一步包括药物学上可接受的载体。

本发明的磷酸或硼酸可以与含多达10个碳原子的二羟基化合物化合，该二羟基化合物可以是非环状或环状的，其具有至少两个羟基，该羟基连接在两个不同的碳原子上，如乙二醇、2-氨基-2-(羟甲基)-1,3-丙二醇、甘露醇、二乙二醇、1,2-己二醇、甘油、二乙醇胺、频哪醇或其他类似二羟基化合物。在某些情况下，该化合增强了本发明的硼酸或磷酸的稳定性。

而且，本发明所描述的所有特点、特征和范围，在任何方面，无论是否描述为有益的还是特定的，都可以相互组合。例如，本文描述的化学式中的有益取代基可以与另一定义更广的本文描述的未被强调的取代基化合。例如，X为-SO₃H的取代基可以与除氢外的取代基Y或Z化合。

因此，本发明包括这样的组合物，其中化学式(I)，(II)，(IIA)，(III)，(IIIA)或(IV)的卤代氨基酸或其衍生物与衍生自次卤酸或者次卤酸衍生物源的卤素化合物发生了化合。这些次卤酸衍生物包括次卤酸或者次卤酸源或者次卤酸的盐，特别是次氯酸钠或钾。

这些药物组合物具有抗炎、免疫调节、杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒效果和组织愈合促进作用，而没有表现出明显的对哺乳动物中髓过氧化物酶活性的刺激。这些药物组合物的次氯酸盐滴定度为，可用氯，特别是碱金属的次氯酸盐、尤其是次氯酸钠小于或等于 1mol/L。其最小滴定度大于或等于约 1picmole/L。这些组合物的 N-氯胺滴定度小于或等于约 5mol/L，最小为 0.01femtomole/L。此外，在这些次卤酸衍生物中，优选氯、溴、碘衍生物。更优选的化合物为氯和溴衍生物。最优选氯衍生物。

N-卤代氨基酸、N,N-二卤代氨基酸及其衍生物的制备方法

N-卤代氨基酸和 N,N-二卤代氨基酸及其衍生物的制备是通过产生卤代氨基酸的氨基酸或其衍生物与卤素源在反应条件下反应，该反应条件导致在氨基酸的氨基上的两个氢原子被两个卤素原子，即氟、氯、溴或碘原子取代。这种方法对本领域化学技术人员是熟知的。

在本发明的一个方面，用作起始原料的氨基酸包括牛磺酸、高牛磺酸、 β -丙氨酸、鸟氨酸和 γ -谷氨酸，以及 γ -氨基丁酸（GABA）、1-氨基-1-甲基乙磺酸、1-氨基-1,1-二甲基乙磺酸或 1,1-二甲基-2-氨基-2-羧基-乙磺酸，和其他物质。例如，可以使用氨基三甲叉膦酸或其盐、2-氨基-5-膦酰基戊酸或其盐、胺化的（1R,2S）-（1,2-环氧丙基）膦酸（或胺化磷霉素）、氨基乙基膦酸二酯如二乙酯、1-氨基-1-甲基乙膦酸、1-氨基-2-甲基乙膦酸、1-氨基-2-甲基丙膦酸、亮氨酸膦酸、4-氨基-4-膦酰丁酸、（ $\pm$ ）2-氨基-5-膦酰戊酸、（+）2-氨基-5-膦酰戊酸、d,l-2-氨基-3-膦酰丙酸或 2-氨基-8-膦酰辛酸。在另一方面，这些起始原料可以以其酯或盐的形式使用。在另一方面，膦酸的低级烷基酯是优选的用于制备本发明卤代膦酸及其衍生物的酯。所有的这些起始原料要么是熟知的、可商购的，或是可以通过已知的制备方法制备。例如许多起始原料可以从 Sigma-Aldrich 商购获得。

以下非排他的卤素源可以用于制备 N-卤氨基酸及其衍生物：HOCl 及其盐（例如，NaOCl 或 KOCl），N-卤代芳磺酰胺盐，其中芳基含有 6 至 15 个碳原子并带有 1 个或 2 个芳环，6 至 10 或 6 至 8 个碳原子和一个芳环，例如 N-卤代苯磺酰胺，或 N-卤代-4-烷基苯磺酰胺，其中烷基是 1 至 4 个碳原子的低级烷基如甲基或乙基。N-卤代苯磺酰胺或 N-卤代-4-烷基苯磺酰胺经常是以其盐的形式使用，例如，碱金属盐，如其钠盐或钾盐。最经常使用的试剂是其钠盐形式的 N-氯代苯磺酰胺和 N-氯-4-甲基-苯磺酰胺，因为其易于商购获得。其他非限制性的卤素释放试剂或卤素源可以是 HClO_2 ，N-氯-琥珀酰亚胺或 N-溴代琥珀酰亚胺，N-碘代琥珀酰亚胺， Cl_2 ， Br_2 ， I_2 ，亚硫酸二氯，光气， PCl_3 ， PCl_5 和氯化试剂，如那些用于游泳池的物质，或者这些试剂的组合。

其他氨基酸起始原料包括 2,2-二甲基亚牛磺酸，1,1,2,2-四甲基亚牛磺酸，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 -丙氨酸，和 3,3-二甲基高牛磺酸。

如果 1 分子的卤素源释放一个卤原子，那么很明显对于每个氨基酸或衍生物分子的起始胺，至少要使用 1 或 2 分子的卤素源来实现需要的卤化。N-卤代氨基酸及其衍生物的更为详细的制备方法在实施例中进行阐述。

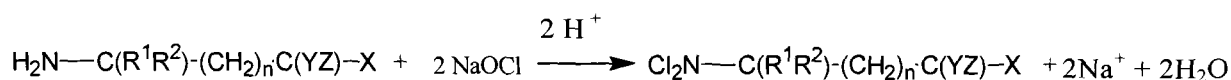
如果不能商购获得，用于制备本发明化合物的膦酸起始原料可以使用本领域技术人员所熟知的操作程序来制备。例如参见，Yuan, C. et al, New Strategy for the Synthesis of Functionalized Phosphonic Acids, Heteroatom Chem. 1997, 8 (2) 102-122; Yuan, C., et al., New strategy for the Synthesis of Functionalized Phosphonic Acids, Pure Appl. Chem. 1996, 68(4), 907-12; A Versatile Route to Substituted Organophosphonic Acids, J. Am. Chem. Soc., 1990, 112, 2933; G. M.

Kosolapoff, The Synthesis of Phosphonic and Phosphinic Acids, Organic Reactions, Vol. 6 (1951), 以及在其中引用的文献。

硼酸起始原料及其酯可以从例如 Acros Organics (Fischer Scientific) 或 Ryscor Science, Inc. (Raleigh, North Carolina) 商购获得, 也可以从其他公司获得, 或者可以使用本领域技术人员熟知的操作程序制备。例如参见: Webb, K. S. and Levy D. *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 5117; Suzuki, A. *Pure Appl. Chem.* 1994, 66, 213; Miyaura, N. and Suzuki, A. *Chem. Rev.* 1995, 95, 2457-2483; Suzuki, A. *J. Organometallic Chem.* 1999, 576, 147-168; Kamatani, A. and Overman, L. E. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 8743-8744; Yang, W.; Gao, S.; Wang, B. "Boronic Acid Compounds as Potential Pharmaceutical Agents" *Med. Res. Rev.* **2003**, 23, 346-368, 以及在其中引用的文献和 Brown, H.C.; Midland, M. M.; Levy, A.B.; Kramer, G.W., "Organic Synthesis via Boranes" Wiley-Interscience: New York, 1975。

根据本发明的化合物也可以包括其单一的立体异构体 (对映体和非对映异构体) 以及这些化合物的外消旋混合物。这些单独的异构体如纯的 R、S、RR、SS、RS、SR 等可选通过使用旋光活性拆分试剂处理异构体混合物, 以生成一对非对映异构体化合物而制备。这些非对映异构化合物可以进行分离, 光学纯的对映体或非对映体可以使用本领域公知的方法分离得到。因为非对映异构体具有截然不同的物理性质 (如熔点, 沸点, 溶解性, 反应活性等), 通过利用这些差异很容易将它们分离。这些非对映异构体通过色谱法也能够分离, 或优选利用基于溶解性差异的分离或拆分技术进行分离。对从其外消旋混合物拆分立体异构体的适用技术的更为详细的描述参见 Jean Jacques Andre Collet, Samuel H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons, Inc. (1981) 以及在其中引用的文献。

以下描述一个制备 N, N-二卤代氨基酸的典型反应方案, 其作为制备 N, N-二卤代氨基酸的范例:



其中 R^1 、 R^2 、 n 、 X 、 Y 和 Z 的意义上面已有描述。

如果需要制备不同的 N-卤代氨基酸, 可以通过在中性或碱性条件下用 1 当量的 NaOCl 代替 2 当量来对上述反应加以简单的调整。

将氨基酸起始原料溶解于低级链烷醇 (例如甲醇或乙醇) 中, 并配制成酸性。向该溶液中加入 NaOCl 水溶液。反应导致氨基被氯化并生成氯化钠沉淀。在低温 (例如低于 30°C) 下蒸发溶剂, 获得残余物。用一种溶剂溶解残余物, 用与低级链烷醇水溶液不混溶的溶剂萃取, 分离出 N-卤代或 N, N-二卤代氨基酸。类似地, N-卤代或 N, N-二卤-氨基酸也可以通过氨基酸起始原料与 HOCl 反应来制备。

相应地, 溴代类似物也可以用 NaOBr 作为卤化试剂进行制备。

根据 J Marcinkiewicz 等人 2000 (*J of Inflammatory Research* 49, 280-289) 的教导, NNDCT (N, N-二氯牛磺酸) 可以在 pH 值为 5 时, 用 HOCl 与牛磺酸反应而在溶液中制备。NNDCT 也可以在 Bunte 盐 ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{S}-\text{SO}_3\text{H}$) 的氧化 (Chinake et al. *Oxyhalogen-sulfur chemistry: kinetics and mechanism of the oxidation of a Bunte salt 2-aminoethanethiolsulfuric acid by chlorite*. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2001; 3:4957-4964) 中, 以及用亚氯酸盐 (ClO_2^-) 氧化亚牛磺酸 ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{H}$) (Martincigh, B. S.; Mundoma, C.; Simoyi, R. H.; *Antioxidant chemistry: Hypotaurine-taurine oxidation by chlorite*. *J. Phys. Chem. A.* 1998; 102:9838-9846) 而产生。

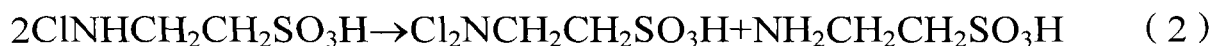
这些反应如方程式 1-6 所示:



Bunte 盐

N-氯代牛磺酸

N-氯代牛磺酸在酸性溶液中发生歧化生成 N,N-二氯代牛磺酸和牛磺酸:



N,N-二氯牛磺酸

牛磺酸



亚牛磺酸

牛磺酸

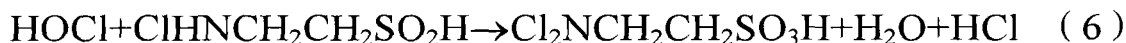
HOCl 能够很迅速地把剩余的亚牛磺酸氧化成牛磺酸:



或把亚牛磺酸氧化成 N-氯代亚牛磺酸:



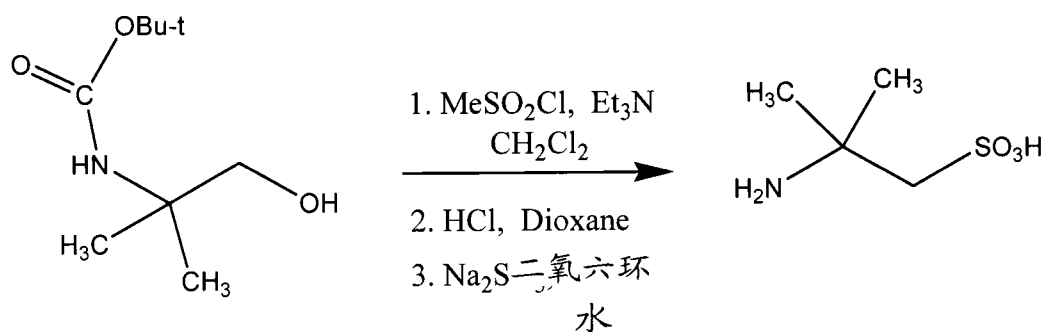
在强酸性条件下, HOCl 把 N-氯代亚牛磺酸氧化成 N,N-二氯代牛磺酸:



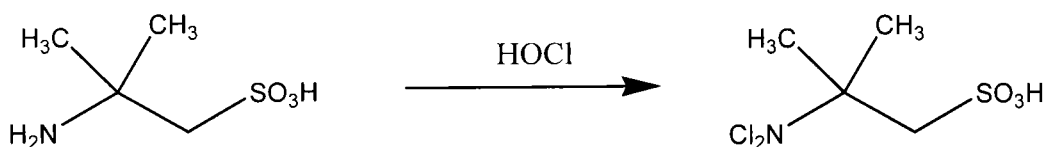
在酸性较弱的条件下, 该反应可以停止在 N-氯代亚牛磺酸阶段。

在氨基所连接的碳原子上连接至少一个低级烷基, 则该化合物是更稳定的单卤代和二卤代氨基酸。

这些化合物可以如下制备:



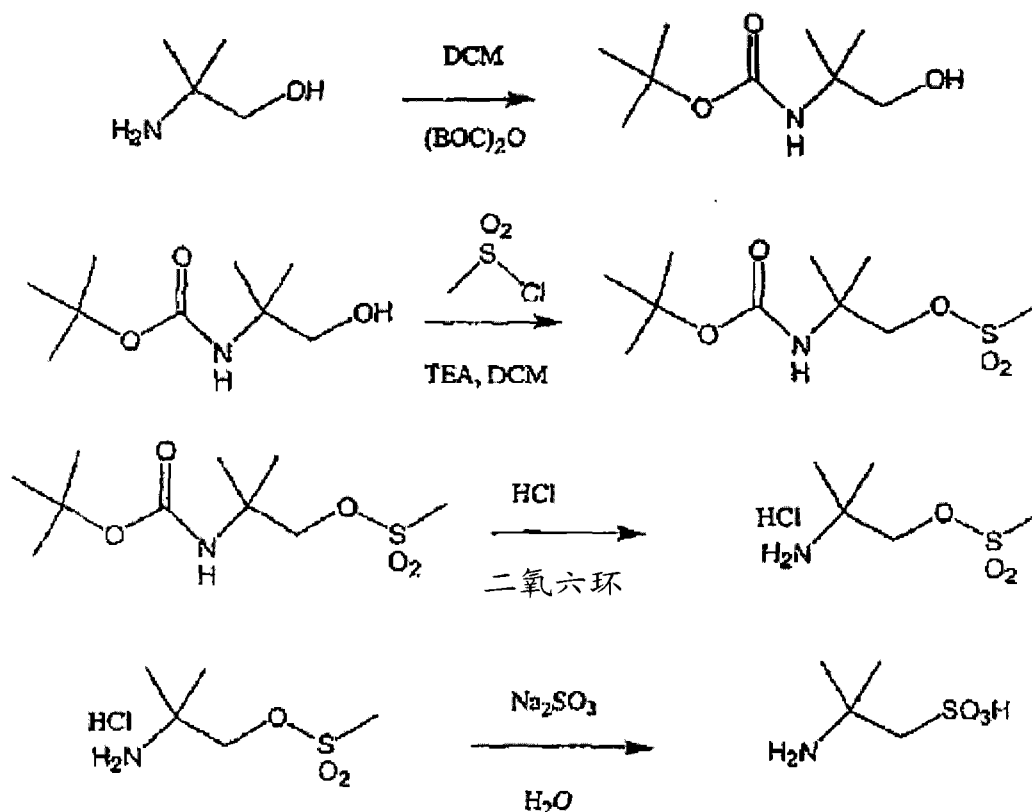
Tet. Let. 1996, 37(40), 7319-7322



所需分子

N,N-二卤-氨基酸的衍生物可以通过用本文公开的氨基保护剂把氨基保护起来制备，例如，通过形成苄氧羰基（CBZ）衍生物，接着形成磺酰氯，磺酰氯可以例如用低级烷胺诸如甲胺转化成磺酰胺。类似地，磺酰氯可以与苄胺反应，生成的苄基磺酰胺又可以转化成基团 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 。此后，可以通过本领域化学技术人员本身已知的方法除去保护基。可以使用的合适的保护基的全面列表参见 T.W. Greene, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons, Inc. 1999。

下面的反应方案示出了制备 2-氨基-2 甲基丙磺酸的一个方法的代表例：



制备 2-氨基-2 甲基丙磺酸化合物的一个代表性操作程序在实验部分给出。

本发明化合物的药理学可接受的盐可以通过以下方法制备，在水中，或在有机溶剂中，或在二者的混合物中，通常是在例如非水介质中，如在醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇中，用化学计量的或更大量的合适碱或酸与游离酸或碱形式的这些化合物反应。例如，本发明的盐也可以通过离子交换进行制备。

盐也可以用其它已知方式包括类似于德国专利申请 4041703 中 W. Gottardi 所描述的方法，通过 N-卤代或 N, N-二卤氨基酸的反应制备。

N-卤代或 N,N-二卤氨基酸的钠盐可以与低级二烷基硫酸酯如硫酸二甲酯或硫酸二乙酯在碳酸氢钠存在下反应，而转化成低级烷基酯。

取代基 X 或 X'为 $-\text{CO}_2-\text{NH}_2$ 的酰胺可以通过本领域化学技术人员公知的方法制备。

包括 N-卤代或 N,N-二卤氨基酸及其衍生物的组合物的使用方法

N-卤代或 N,N-二卤氨基酸及其衍生物是抗微生物剂，其在相当低的浓度下就能够杀死微生物，同时它们即使在很高的浓度下，真核细胞也能耐受。在优选的 N-卤代或 N,N-二卤氨基酸中，卤素为氯、溴或碘。考虑到氯胺在活的生物体内对病原体破坏的生理作用，其治疗活性和有利的治疗指数的范围是绝对苛刻的。对于施用于组织如眼睛、皮肤或任何其它敏感部位的抗菌产品，其安全性和功效是不能折中的。因此，在人身上使用这类产品用于治疗感染的应用被我们的正性结果所支持。

本文披露的包括化学式 (I), (II), (IIA), (III), (IIIA) 或 (IV) 的化合物以及卤素化合物的组合物具有以下潜在的应用范围：隐形眼镜清洁剂，细菌灭活，眼药，普通外科手术准备（包括肿瘤学，外科工具消毒，医疗设备或器件消毒，牙科工具消毒以及包括表面消毒的食品卫生方面的应用）。这些化合物在疫苗制剂方面也是有用的（作为防腐剂 and 潜在佐剂），作为具有杀病毒效能的化合物，可用于包括 HIV、甲型肝炎、呼吸道合胞病毒、腺病毒、West Nile 病毒、HSV-1、HSV-2、SARS、流感病毒、副流感病毒、小核糖核酸病毒、牛痘病毒（作为痘病毒的一个模型）的 DNA 和 RNA 类的病毒灭活。另外，这些化合物也可以用于治疗真菌感染，例如急慢性鼻窦炎（*Rhinosinusitis*），或其他真菌感染如耳炎、皮炎、支气管炎，肺炎如卡氏肺囊虫，性器官真菌感染如阴道炎、子宫内膜炎、

*Balnit*is, 胃肠道真菌感染如口腔炎、食道炎、肠炎, 或尿道真菌感染如肾盂肾炎 (*Pyelonephritis*), 输尿管炎、膀胱炎或尿道炎。而且, 本文披露的组合物对许多其它微生物具有抗菌活性, 包括对大肠杆菌、单核细胞性李斯特菌、金黄色葡萄球菌、抗甲氧苯青霉素金黄色葡萄球菌 (MRSA)、绿脓杆菌、乳酸菌、酵母菌、抗万古霉素肠道球菌、霉菌和包括炭疽孢子的孢子等。具体而言, 本发明的溶液可用于治疗几种不同的炭疽杆菌。抗万古霉素细菌、MRSA 和其他易于被本发明组合物所破坏。与牙周疾病有关并被本发明组合物破坏的细菌的例子有龈拟杆菌 (*Bacteriodes gingivalis*)、中间型拟杆菌 (*B. intermedius*)、伴放线放线杆菌 (*Actinomyces actinomycetemcomitans*) 和福赛斯拟杆菌。与乳腺炎 (cow udder 的感染) 有关并被这些组合物杀死的细菌的例子有 *agalacitae* 链球菌和婴儿链球菌。这些组合物破坏生物膜并因此对生长在浮游体中和生物膜中的微生物有效。

在本发明另一方面, 提供了一种用于治疗各种医学疾病的方法, 这些治疗选自下列构成的组: 促进伤口愈合, 减少开放伤口的病原体, 伤口去污染, 伤口冲洗/准备、眼睛消毒或去污染, 口腔消毒, 鼻咽治疗、抗真菌治疗, 眼科和口腔外科和牙科, 耳科应用, 减少肺部感染的病原体, 减少烧伤病原体, 洗胃、减少移植器官中的感染性侵入, 减少自体或人工器官移植中的细菌侵入, 口腔消毒抗菌疗法, 治疗囊性纤维化生物膜或其它产生生物膜的疾病, 治疗病毒感染, 治疗皮肤病, 以及组织修复和再生, 这些方法包括通过将溶液涂敷于需要治疗的部位而使用本发明的溶液, 例如在手术前和手术后、心血管疾病和实性肿瘤的治疗中。

作为举例, 对于活性成分是 NNDCT 的情况, 在大约 25cm² 的慢性伤口上的施药剂量可以为每天施用 30ml 含 2 至 200mg 活性成分的溶液, 每天施药 1 至 10 次, 或认为有效治疗伤口所需的量。在

某些情况下，组合物可以含有 0.1 至 100mM 的活性成分。在其他应用中的使用剂量要随表面积不同加以调节，并且取决于需要抗菌活性的部位和感染的严重程度

本发明的组合物

在一个方面，溶液形式的组合物是渗透平衡的，具有最低的细胞毒性。在另一个方面，该组合物是非渗透平衡的，具有最低的细胞毒性。

在另一方面，本文描述的组合物治疗指数为约 1000 至约 5,000，其定义为：其在 1 小时对 L929 小鼠肺上皮细胞和原代人纤维母细胞的 50%抑制浓度细胞毒性指数 (IC_{50})，与其在 37°C 和 1 小时对大肠杆菌 ATCC 11229 的最小杀菌浓度之比。

因为本发明的组合物是非毒性的，且具有抗菌性能，因此它们在任何需要抗菌性能的应用中都是有用的。这些应用包括，而不限于，外伤、烧伤和口疮的治疗；冲洗；治疗各种真菌感染如甲真菌病（手指或脚趾的指甲真菌感染）、组织部位（例如手术前和手术后）的清洗；眼科应用（例如在隐形眼镜清洗溶液中或眼科手术之前、期间或之后的眼睛冲洗）；对于皮肤病学应用，微生物感染的面部清洗，感冒疮、丘疹、牛皮癣；和对本领域技术人员很明显的许多应用，诸如牙科应用，包括治疗齿龈炎或牙周炎，以及动物保健应用（包括治疗乳腺炎）。应用也包括消除或减少各类表面的病原体，这些表面包括医疗设备、仪器、器官保存、移植消毒、器械或食物（并不仅限于肉、水果、蔬菜）和包括消除或减少细菌生物膜的食物接触表面。与类似应用中所使用的许多抗感染组合物不一样的是，本发明组合物的副作用最低，或没有副作用。

包括化学式 (I), (II), (IIA), (III), (IIIA) 或 (IV) 的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸及其衍生物以及卤素化合物的本发明组合物可以引入到许多应用之中, 包括绷带或伤口敷料。该组合物以生理平衡的酸性溶液形式, 可以与外伤治疗方案中专门设计的绷带结合使用。这些专用绷带可以包括一个开口或“窗口”, 通过该开口, 可以施用如本发明的组合物的局部治疗物质。该组合物还可以用在那些希望保持湿度和无菌环境又不影响敷料的时候。在一个这样的例子中, 将一个刺有孔的管置于敷料和外部绷带或包扎物之间。该组合物定时地通过该管向该敷料补充新鲜的抗微生物溶液。

本文还公开一种制成品, 其包含包装在容器内的本发明的组合物。接触本发明组合物的容器表面是由不与氧化剂反应的材料制成。

N-卤代和 N,N-二卤代氨基酸及其衍生物的溶液稳定性允许在给病人实际使用时采用不同的包装形式。溶液可以包装在几个单次使用的 20 至 40ml 或 30ml 的带有特氟隆衬里螺帽的透明或琥珀色玻璃瓶中, 并用带子密封以确保气密性。一方面, 同样的溶液可以包装于 250ml 的琥珀色玻璃瓶中或 250ml 非反应性塑料瓶中。不过, 也可以使用高达 5L 的瓶子, 因为这么大体积对治疗烧伤是实用的。在这些容器中的贮存确保在本文详细描述的组合物的使用所需的长期稳定性。例如, 在本文描述浓度范围内的用小瓶包装储存于冷藏箱内的 N,N-二氯代牛磺酸溶液, 从 $t=0$ 计时, 在三个月后其损失不超过 N,N-二氯牛磺酸的 13%。另外, 包装可以包括一个双室系统, 其中组分 A 与组分 B 混合形成最终产品, 混有卤素化合物的 N,N-二卤氨基酸或其衍生物。该组合物可以以适宜的浓度在非刺激性并适于递送该活性化合物到目标作用位置的递送介质或载体中使用, 例如, 洗剂、溶液、霜剂、乳剂、膏剂、止痛膏、糊剂、喷剂、气雾剂、凝胶剂、贴剂、固体剂、抹剂、水剂、有机溶剂或其他基础配方。通常, 这些载体系统可以分为溶液、霜剂、乳剂、凝胶剂、

固体剂和气雾剂。递送还可以包括特殊的方法，例如阴道栓剂或栓剂。这些化合物还可以以活性剂或者非活性前体结合到医疗器械上，如导管、支架、心房脉冲产生器、针或管上。

在一方面，本发明的溶液可以储存在单次使用的容器中。另一方面，本发明溶液可以储存在各种尺寸的、各种构造的、并具有适用于本文公开的所需用途的不同体积单次使用的容器中。在一些应用中，例如，本发明的溶液可以储存于单次使用的 30ml 容器，可选一次性容器。在一方面，本发明组合物可以以粉末形式在室温下和惰性气氛中与药学上可接受的赋形剂一起储存。

本发明组合物可以包括以下药学上可接受的载体：用来获得等渗性的氯化钠，缓冲剂，稳定剂，溶剂，芳香剂（用于口腔或鼻咽给药和食品工业的情况），防腐剂，稀释剂，膨胀剂和其他辅助性物质或赋形剂。可使用的药学上可接受的载体和赋形剂的特定实例描述于 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Gennaro, ed., 20th edition, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA; Advances in Pharmaceutical Sciences (David Ganderton, Trevor Jones, Eds., 1992); Advances in Pharmaceutical Sciences Vol 7. (David Ganderton, Trevor Jones, James McGinity, Eds., 1995)，在此引入其全部内容。一般来说，水、合适的油、盐水、低级醇和二元醇如丙二醇或聚乙二醇都适合作溶液载体。在一方面，溶液含有在水中可溶或在含水介质中可溶形式的活性成分，例如，作为一种盐，与合适的稳定剂一起，如果必要，还有缓冲物质。另外，溶液可以含有防腐剂如苯扎氯铵、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯以及氯丁醇。合适的药用载体描述于 Remington: The Science and Practice of Pharmacy，以上指出的本领域的标准参考文献。

该组合物可以另外含有其他活性组分，如其他抗菌剂，只要其不干扰本发明的 N-卤代氨基酸或 N,N-二卤代氨基酸的稳定性或功效即可。

本发明组合物中 N-卤代或 N,N-二卤氨基酸的含量或浓度可以在很宽的范围内变化。例如，组合物可以含有组合物重量 0.001 至 100% 的 N-卤代或 N,N-二卤氨基酸。如果是 100%，组合物可以以粉末的形式施用，而不需要任何载体物质。组合物的典型范围包括占组合物重量 0.1 至 95% 的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸，例如 0.1 至 50%，或 0.1 至 10%，例如 0.5 至 5%。在溶液中，通常施用更低浓度的 N-卤代或 N,N-二卤氨基酸。例如冲洗和喷洒的情况，1 至 2% 的浓度是合适的。在另一方面，本文所述的化合物和组合物的浓度可以在组合物重量的约 0.01 % 至 20 % 之间。

如果是应用于鼻咽，可以几个星期使用用于鼻腔施药的含有 0.5 至 5 %，例如 1% 的 pH 为 2-8，优选 3.5 至 5 的 N-卤代或 N,N-二卤氨基酸或其盐以及卤素化合物的导液管，每次治疗使用约 5 至 50ml，例如 10 至 15ml 的溶液。在每次治疗后，将清洗溶液吸走。

本发明包括药物组合物，该组合物包括 (i) 至少一种卤素化合物和 (ii) 至少一种选自本文所述氨基酸的化合物的至少一种 N-卤代或 N,N-二卤代衍生物。更具体地，该组合物包括化学式 (I)、(II)、(IIA)、(III)、(IIIA)、(IV) 或其衍生物的 N-卤代或 N,N-二卤代衍生物。在一个方面，该卤素化合物是碱金属的次卤酸盐，如次氯酸钠，但是更优选次卤酸，最优选次氯酸。这些二元药物组合物具有抗炎、免疫调节、杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒效果和组织愈合促进作用，而没有表现出明显的对哺乳动物中髓过氧化物酶活性的刺激。这些药物组合物的次氯酸盐滴定度为，可用氯，特别是碱金属的次氯酸盐、尤其是次氯酸钠或次氯酸小于或等于 1mol/L。其最小滴定度大于或等于约 1picmole/L。

这些组合物的N-氯胺或N,N-二氯胺的滴定度小于或等于约5mol/L，最小为0.01femtomole/L。

本发明的二元组合物可以与适于特定用途的赋形剂或载体结合。适宜的赋形剂或载体披露在本申请中，但也可以通过参考书如Remington 而找到。对于液体组合物，水是优选的赋形剂或载体，尽管也可以使用其他相容的不可氧化的载体。一些含水组合物可以含有渗透的（等渗透的）纯化水。其他组合物不需要渗透平衡。该含水组合物还可以含有多种与这些卤素化合物和选自本文所披露氨基酸的至少一种化合物的N-卤代或N,N-二卤代衍生物相容、并且与该组合物的应用相容的试剂。如果这些组合物用来作医药用途并给予人或动物，赋形剂和载体必须是药理学可接受的，诸如基本无毒并不干扰该药物组合物的目标用途。本领域技术人员会知晓，该组合物的性质参数是可以变化或调整的。这些调整可以是针对稳定性，例如通过引入稳定剂而进行；针对pH值通过引入pH调节剂，例如缓冲剂、碱或酸而进行；针对密度，通过影响密度的试剂，例如减小密度的稀释剂或者密度大于水的增大密度的试剂而进行；针对溶解性，通过加入增溶剂而进行；针对黏度，通过加入影响黏度的试剂而进行，或者例如通过加入生物相容聚合物而增大，或者通过加入具有低黏度性质的试剂而减小黏度；针对颜色，通过加入相容的不被该二元卤化成分氧化的染料或着色剂；针对湿润性，通过加入适宜的表面活性剂；针对二元组合物的嗅觉和味觉感受，通过加入具有诱人气味的试剂，例如促进组合物在某些用途或针对某些人的使用。

该二元组合物的制备依赖于其状态，无论是固体、液体或气体形式。固态组合物可以是粉末或凝胶形式。半固态组合物可以是膏状或霜剂形式。液态组合物可以是溶液、乳状液、悬浮液或油的形式。气态组合物可以是气雾剂形式。这些药物用途的制剂的详细内

容可以在 Remington 中找到；关于消费产品制剂的详细内容可以在 “The Chemical Formulary”, H. Bennett Ed, Chemical Publishing Company(1988), vol. XXXIV 中找到。

使用本发明组合物的具体方法

在一个方面，本发明的组合物被局部给药或使用。

本发明的酸性溶液可用于治疗许多不会对通常的药物治疗和局部施用治疗有反应的具有较深伤口的病人。在一方面，本发明提供了一种方法，用于治疗各种医学疾病，例如促进伤口愈合，减少开放伤口的病原体，伤口去污染，眼科消毒或去污染，口腔消毒，抗真菌疗法，眼科方面应用，减少肺部感染的病原体，减少烧伤病原体，洗胃、减少移植器官中的感染性侵入，减少自体或人造组织移植中的细菌侵入，口腔消毒抗菌疗法，治疗囊性纤维化生物膜和相关疾病，治疗病毒感染，治疗皮肤病，以及组织修复和再生，这些方法包括通过施用本发明溶液到需要治疗的部位来使用本发明的溶液。使用本发明溶液可以治疗的生物膜的非限制性实例包括在综述性论文 "*Is there a role for quorum signals in bacterial biofilms?*" by S. Kjelleberg, and S. Molin, PMID: 12057677 (PubMed-indexed for MEDLINE) 中引用的那些例子。

本发明溶液在可以有效地减少细菌侵入而增进伤口愈合。同现有技术的溶液相比，该溶液被很好地耐受，且溶液能够增进伤口组织的肉芽形成、降低清创的需要，同时病人反映在治疗期间痛苦减轻，能够通过细胞因子调节而有效地消除炎症应答。参见 Mainemare A, Megarbane B, Soueidan A, Daniel A, Chapple IL. Hypochlorous acid and taurine-N-monochloramine in periodontal diseases. J Dent Res. 2004 Nov; 83(11): 823-31。评论。

口腔护理

本发明的酸性溶液可以通过清洗感染区域用于治疗口疮（口腔溃疡）或感冒疮。例如，每天使用溶液浸湿感冒疮 3 至 4 次，每次浸湿涂药 2 至 3 次，并使溶液与疮接触 20 至 30 秒。溶液可以用作口腔清洗液用于牙齿和口腔卫生以控制感染。在这种情况下，溶液可以用作漱口液以治疗喉部感染。溶液可以借助于棉签用于更多的特定部位。根据病人的需要和病症，每天可以使用溶液一次或几次。

牙科器械护理

本发明的具体清洁剂或者消毒剂的选择很大程度上要遵循产品标签声明和说明以及政府规定来判断。一个单独的液体化学品组合物可能在给定的牙科操作或器械中不能满足全部消毒需要。含有 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸以及无机次卤酸(盐)化合物的液体组合物的实际应用依赖于对多种因素的考虑，包括需要杀灭微生物的程度；要处理的表面、物品或者器械的性质和成分；以及成本、安全性、以及可用试剂的使用便利性。选择一个具有高度有效性以适用于所有场合的合适的产品可能更方便。

在美国，液体化学杀菌剂（消毒剂）由 EPA 和 FDA 管理。在保健装备（或器械）方面，EPA 管理用于环境表面（家居和临床的接触表面）方面的消毒剂，而 FDA 管理用于关键或半关键的病人护理的器械或装备方面的液体化学品灭菌剂/高水平消毒剂。用于临床的接触表面（例如，灯具、X 光辐照灯头或者拉手）或者家居表面（例如，地板、墙壁、或水池）的消毒剂由美国环保局农药项目办公室的抗微生物处（Antimicrobials Division, Office of Pesticide Programs, EPA）根据 1947 年（1996 年修订）的联邦杀虫剂、杀菌剂和灭鼠剂法（FIFRA）在州际贸易中予以管理。在 FIFRA 的规定下，用于预防、破坏、驱逐或减轻任何有害物（包括微生物，但排

除在活人或动物体内或表面的有害物)的任何物质或物质的混合物在出售或推广之前必须注册。为获得注册,生产商必须提交有关每种产品安全性和有效性方面的详细数据。

可以采用本认可的方法对本发明的制剂在抗微生物活性、稳定性和对动物和人的毒性方面进行测试。这些数据连同拟采用的标签必须提交到 EPA。如果 EPA 得出结论,认为该产品可以使用,不会导致不合理的副作用,则该产品及其标签会被给予 EPA 注册号,然后生产商就可以在美国销售和推广该产品。FIFRA 要求产品的使用者遵循具体对每一产品的标签上的使用说明。下面的声明会出现在所有 EPA 注册的产品标签的使用说明部分:“不按照标签说明使用该产品违反联邦法律。”这意味着,牙科护理场所必须按照每一注册产品标签上的安全警告和使用说明加以使用。不遵循具体指明的稀释、接触时间、施用方法,或者任何其他的使用条件被认为是对产品的不当使用。

如果化学杀菌剂被广告声称和销售用于专门的医疗器械(例如牙科治疗台吃水线(waterline)或者柔性内窥镜),FDA 会按照《1976 年食品、药片和化妆品修订法》对化学杀菌剂进行管理。被销售用于一个专门器械的本发明的液体化学组合物,从规定的角度,当用于消毒该专门器械时,可看作是医疗器械本身。同样,管理具体仪器或器械的 FEA 管理部门规定,生产商必须提供给使用者足够的关于该器械的安全和有效使用的指导,这些指导说明必须包括清洁、消毒或者对该器械灭菌的方法,如果它是以可重复利用的医疗器械出售的。

疾病控制中心(CDC)推荐消毒环境表面或对医疗装备进行灭菌和消毒,而且 DHCP 应该使用得到 EPA 批准的产品,除非对某些微生物或场所得不到这些产品。然而,如果没有注册的或批准的产品可以用于某一特定病原体或者应用场所,DHCP 会为各种化学杀

虫剂在未注册或未获准的（例如，off-label）应用方面被建议按照专门的指导。例如，没有抗微生物产品被注册用于专门针对某出现的病原体（例如，Norwalk 病毒）、潜在的恐怖毒剂（例如，variola major 或 yersinia pestis）、或者 Creutzfeldt-Jakob 病剂。

要说明一点的是在 EPA 和 FDA 如何对消毒剂进行分类的区别。作为疾病控制中心的 FDA 采用与 CDC 相同的基本术语和分类方法对医疗卫生器材进行分类（也就是重要的、部分重要的和不重要的），并对用于处理表面的杀菌剂的性能进行界定（也就是杀菌、高水平消毒、中等水平和低水平消毒）。EPA 在给生产商的消毒剂注册时，根据其微生物产品的活性对环境表面消毒剂进行注册。该区别已经导致用户的混淆，因为 EPA 并没有象 CDC 准则所运用的那样使用中等水平和低水平消毒剂的术语。

对结核分枝杆菌的效力已被看作是主要基准。然而，该杀结核菌的要求仅用作测量杀菌效力的基准。结核病不是通过环境表面传播，而是通过空气途径传播。因此，在环境表面上使用这种产品起不到防止结核病扩散的作用。然而，因为在无性繁殖细菌、病毒和真菌中，分枝杆菌具有最固有（intrinsic）水平的抗力，本发明的组合物当用标签上的杀结核菌声明指明时，可被认为能够灭活广谱的病原体，包括如血液传播病原体（例如 HBV, HCV 和 HIV）的抗性较差的有机体。正是该广谱性能，而不是该产品对分枝杆菌的特异效能成为指定将杀结核菌化学品用于表面消毒的协议和规定的根据。

EPA 还列出以下消毒剂产品，其根据它们对于受关注生物体的标明用途：

B 类 对分枝杆菌类有效的杀结核菌产品。

C 类 对人 HIV-1 病毒有效的产品。

D 类 对人 HIV-1 病毒和 HBV 有效的产品。

E 类 对分枝杆菌类、人 HIV-1 病毒和 HBV 有效的产品。

F 类 对 HCV 有效的产品。

微生物在对消毒剂 and 灭菌剂的抗性方面有所不同，使得 CDC 将消毒剂与 EPA 指定的生物体谱比较分为高、中和低水平。然而，存在着该通行规定的例外，生产商的标签声明和使用说明总是要遵循。

牙齿护理和保健

牙周疾病是用来描述影响牙龈和与颌中骨和牙齿有联系的支持组织的疾病的通用词。参见“Periodontal Disease”, Ray Williams, New England Journal of Medicine 322: 373-382, 1990。牙龈炎（该疾病的早期阶段）和牙周炎由专门的细菌引起，是宿主对该疾病的反应。例如，放线菌的增加，还有聚核梭杆菌的出现，乳酸菌类、韦荣氏球菌和密螺旋体皆与牙龈炎有关。成人的牙周炎与龈拟杆菌、中间型拟杆菌、伴放线放线杆菌、和福赛斯拟杆菌有关。许多其他物种也与活性的牙周疾病有关。

通常认为，抗微生物疗法是用抗生素帮助对抗由某些口腔细菌引起的牙周（牙龈）疾病。典型地，抗生素与龈下刮治术相结合。一些牙医仅将抗生素疗法作为最后的办法，而有些则使用得更频繁些。在一些情况下，抗微生物疗法可以消除牙周疾病。在有些情况下，仍需要牙周手术。然而，使用本发明配制用于牙科应用的组合物（本文称为“牙科组合物”）比使用抗生素具有重要优势，它不会导致抗生素抗性，胃肠道不适或者过敏效果。

大多数患有牙周疾病的人不接受抗微生物疗法。这种形式的疗法一般用于特定场合，包括：

- 坏死性溃疡性齿龈炎 (NUG), 一种罕见的侵袭形式的牙周疾病, 绝大多数发生在 15 至 35 岁的人群
- 迅速加重的牙周疾病
- 对其他种类的治疗无应答的牙周疾病
- 免疫系统削弱或患有其他严重内科疾病的病人。

然而, 由于使用本发明牙科组合物并不牵涉到用抗生素治疗, 本发明的牙科组合物可以更频繁地用于控制微生物感染或者能引起龋齿的噬菌斑(聚集在牙齿上的细菌聚集体)。尽管口腔含有很多不同的细菌株, 只有某些菌株看起来能引起牙齿腐蚀。本发明的牙科组合物对口腔中发现的大量的细菌有效, 特别是对导致牙齿腐蚀的产生酸的细菌(例如变形链球菌)有效。本发明的牙科组合物有效地控制或者预防牙齿表面腐蚀、牙坑和溃疡(fissure decay)以及在牙釉质中的腐蚀。如果病人在口腔中具有异常活跃的导致腐蚀的细菌, 牙医可以开出漱口剂, 其包含本发明的牙科组合物, 可以在数周杀灭导致牙齿腐蚀的细菌。

本发明的牙科组合物还用于辅助治疗牙髓炎、牙髓的疼痛发炎, 用于治疗根尖周脓肿, 其是从细菌感染产生的脓或蜂窝织炎的聚集体。本发明的牙科组合物可以与抗生素联合使用。

本发明的牙科组合物还适于治疗由细菌聚集引起的牙周疾病, 例如牙龈炎、由病毒感染引起的疱疹性龈口炎、由激素变化引起的妊娠期牙龈炎、牙龈隆起超出尚没有完全出现的牙齿时的冠周炎或者白血病牙龈炎、或者牙周炎, 一种延伸至牙齿支撑结构的牙龈炎。

本发明的牙科组合物可以和牙科卫生专业人员对病人进行的专业口腔卫生相结合, 即, 或者在采用刮牙术清洁牙齿或牙坑的过程中, 或者在专业的护理之后。

在选择本发明的牙科组合物之前，牙医可以决定取一个细菌样品并送往实验室。该实验室培养该细菌、确认它们并确定本发明的牙科组合物的何种浓度或何种制剂将对该细菌作用最佳。该牙医或牙周病专家将利用该信息开出对该感染最有效的牙科组合物。然而，因为本发明的牙科组合物在杀灭引起牙科疾病的细菌方面如此有效，所以这一步骤经常可省去。

对牙周疾病的治疗可以是全身给药或者局部给药。局部治疗是在牙医的椅子上进行，包括将牙科组合物直接置于口腔的受感染部位。有几种类型的局部疗法，包括：

- 凝胶—牙医将含有本发明的牙科组合物的凝胶注入牙龈下面。密封该区域并用专门的包扎物覆盖以防泄漏。在 7 至 10 天后，牙医将包扎物和任何剩下的凝胶除去。
- 小片—牙医将含有牙科组合物（含有 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸）的小片置于你的牙龈下面。该小片在 7 至 10 天后溶解。
- 粉末—牙医将含有本发明的牙科组合物的粉末喷到牙龈下面。该粉末在三周期间溶解。
- 带子—牙医将线状纤维置于牙龈下面，其慢慢释放 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸。在约 10 天后除去带子。
- 微球—将本发明的组合物配制在相容的载体材料中，制成可生物浸蚀的或者可生物降解的微球、微颗粒或者微囊，其被置于牙龈坑中并缓慢释放该组合物。该载体聚合物对 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸和卤素化合物有充分耐受性并随时间而溶解。这类聚合物的例子可以在 J.C. Middleton, A. J. Tipton in Medical Plastics and Biomaterials Magazine, March 1998, p.30 中找到。

抗微生物疗法通常持续 1 至 2 周。一旦医生决定采用含有 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸和卤素化合物的组合物,例如,病人将首先经过龈下刮治术。该程序从牙龈线下除去噬斑和结石(牙垢),弄平任何肿块或者牙根上不平整区域(噬斑可能容易聚集的地方)。在龈下刮治术后,医生可以开出某种类型的局部抗微生物疗法。

后护理

牙医在 2 或 3 个月后将复查,看看治疗是否有效。如果该疾病对使用含有 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸和卤素化合物的组合物的治疗没有应答,下一步将取决于几个因素,包括疾病的严重程度。该牙医可以开出抗生素或者制订牙周外科时间表。一些病人在疾病给出应答之前要接受数个轮回的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸和卤素化合物的治疗。其他人需要长期的抗生素治疗以控制病情。一旦病人经历过成功的牙周疾病治疗,帮助预防复发很重要。在看过牙医之后,还可以使用牙医提供的浸渍的牙线,以便能够用含 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸和卤素化合物的组合物连续接触受感染区域。维持治疗需要定期拜访牙医或者牙周专家;对于治疗牙周病的病人通常是每 2 到 4 个月一次,对于治疗牙龈炎的病人通常是每 6 个月一次。

本发明的牙科组合物的益处在于,它们避免了抗生素治疗的危险,如抗生素抗性或者对抗生素药剂的过敏反应或者副反应(例如皮疹、麻疹或者胃肠不适)。对于其他类型的感染,不适当的使用抗生素可能导致微生物变得对这些药剂的效果产生抗性。作为部分的预防疗法,病人可以使用该溶液形式的组合物进行漱口或者用一个施药器直接施用到牙龈。

眼科护理

本发明生理平衡的酸性溶液可以代替生理盐水溶液使用，以从眼睛中清除杂物，清洗或冲洗眼睛。也能够手术前或之后局部施用，用于眼睛及其周围组织的消毒。根据病人的需要和病症，每天可以施用溶液一次或多次。如果必要，可以把溶液直接滴进眼中。也能够通过将纱布浸泡、并把被浸液浸透的的纱布敷在有病的眼上一分钟或几分钟，也能用被浸液浸透的的纱布轻轻地拭擦眼睛以将其清洗。也能把溶液倾倒入小洗眼器，然后把洗眼器翻扣在眼上，把眼皮开合几次即可。

本发明生理平衡的酸性溶液能够用于治疗眼部感染或去污染。另外，可以作为硝酸银的替代品，用于新生儿眼睛消毒。

本发明的溶液可以用于成人和儿科的眼睛清洗。例如，各种病毒感染、细菌或真菌感染、或病原体都可以使用本发明的溶液进行有效治疗。使用本发明的溶液能够成功治疗的病原体的非限制性实例包括衣原体沙眼，淋病，以及其它细菌、真菌和病毒感染。本发明的组合物可以尤其用于术前和术后消毒。

读者将会理解，本发明的溶液能够用于治疗许多不同类型的创伤，包括但不限于糖尿病性溃疡、坏疽、静脉曲张性溃疡、褥疮、压迫性溃疡、咬伤、急性外伤、手术创口和烧伤。本发明的组合物也可用作冲洗溶液，例如在牙齿、牙周和眼科手术过程中使用。本发明组合物也可用于组织部位在手术前、后的清洗，以及作为口疮治疗的漱口水溶液。

使用溶液进行皮肤消毒的方法

本发明的溶液也可以用于治疗皮肤感染。在病人出现感染病征的皮肤上，可以把本发明的溶液直接施用到皮肤感染处。按照本

域已知的标准施用方法在感染皮肤上施用本溶液至少一次后，就可以观察到本溶液的消毒性能。

减少肺部感染中的病原体

本发明的溶液可以用于减少肺部感染中的病原体。例如，各种病毒或细菌和真菌感染都能够使用本发明溶液进行有效治疗。使用本发明溶液能够有效治疗的非限制性感染实例包括存在于肺部的炭疽孢子，以及减少肺部中导致肺炎的细菌，包括链球菌等。

本发明溶液在妇科中的使用方法

本发明组合物可用于治疗妇科感染，如尿道感染等。例如，各种微生物、酵母菌（例如念珠菌、白色念珠菌等）、细菌感染、HSV-2、HIV 或其它病原体都可以使用本发明溶液进行有效治疗。任选地，本发明溶液可以与其他治疗妇科感染的药物一起施用。例如，用于对怀疑患有性病的孕妇产道的冲洗，并且有可能作为医院产房婴儿出生后的沐浴和清洗液或作为透析室的导液管和分流器消毒液。

用于治疗局部感染的使用方法

通过把本发明的化合物加入到用于局部感染的乳油、软膏或洗剂中，其可以用于治疗局部感染。这些乳油、软膏或洗剂可用于多种多样的皮肤病症，还可以加入穿透增强剂以向皮肤表皮层下的微生物传递该化合物的抗菌活性。

预防外科手术部位感染的使用方法

本发明的等渗溶液可以用作手术期间防止手术部位发生感染的冲洗液，那些感染经常会导致住院时间延长，甚至偶尔会导致死亡。

使用本发明溶液代替生理盐水，可以显著减少这些感染危险，特别是胃手术和延长手术时间的情况，感染的比率可能高达 10%。

用于消毒的医疗设备和手术器械的使用方法

本发明的溶液可用于减少医疗设备和外科器械表面的病原体，以预防使用该设备或器械，或被植入该器械的病人受感染。该溶液也可用于减少和消除发生在导液管和分流器进口的感染，该导液管和分流器进口特别容易发生这类感染。

用于表面消毒的使用方法

本发明的溶液可以直接施用或通过雾化工具施用到房间、车辆内部或其它那些很大程度上受限制的空间的表面，以消除或减少那些被怀疑存在的感染病原体。在这个用途中，它可以用于已经检测到感染病原体的工作影院或散有生物战试剂的房间、交通工具和其他表面的净化（消毒）。

用于提高食品安全的使用方法

本发明的溶液能够用于减少食物（包括但不限于肉、水果和蔬菜）上的病原体。可以把该溶液作为冲洗液或喷雾剂施用于食物上，或把食物浸泡于溶液中。牛磺酸是这些用途的主要残留物，而牛磺酸是一种在人类食品中被认为是安全的重要营养物质。

本发明溶液也可以应用在用于制作食物的表面和工具上，以预防病原体从这些表面和工具上转移到食物中。

作为抗菌防腐剂的用法

通过在生产时向溶液中加入适量的这种本发明的化合物，本发明的化合物可以作为一种介质，确保微生物不能存在于需要用于注射、浸渍或施用于眼睛的该溶液中。

作为抗菌剂的用法

本发明的溶液可以作为一种安全快捷地对外科医生和护士之手进行消毒的手段，以减少向手术室带入传染物的风险。另外，本发明的溶液可用于消除病人外科手术切口之处皮肤上的传染物（手术前和手术后）。

伤口护理方法

遭受久治不愈伤口痛苦的病人应该使用本发明的酸性组合物按日治疗，通常每天大约一次或两次。

本发明的溶液可以如下使用：用足够的溶液预浸泡纱布材料或纱布垫以至饱和，然后挤压除去多余溶液。这就去除了存在于纱布中的将会与本发明溶液发生反应而降低其效用的物种。该步骤之后，纱布是湿的，但未浸透。然后另外用溶液完全浸湿棉纱，并立即施用于伤口。可替换地，可将纱布敷于伤口，再另外施加溶液。通常，伤口部位用这种浸透溶液的纱布包扎起来，可选地，在包扎伤口的顶部使用一层凡士林纱布以保持其水分和隔绝污染性微生物。然后，伤口用本领域的标准伤口绷带包扎。也可以通过把溶液直接倾倒在伤口位置而清洗伤口，通过机械步骤除去坏死组织，并且也可以作为清洗剂或冲洗剂。

病人也可以利用 NovaCal 提供的“伤口护理包”，其容许病人定期把本发明的溶液倾倒在受伤部位，而无需除去敷料。这个护理包提供了易用性和轻便性，极大地降低了伤口再感染的暴露。这个

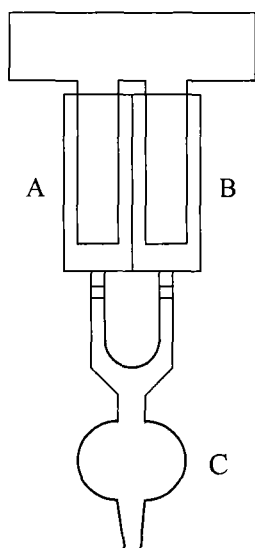
伤口护理包包括含有本发明溶液的包装和包扎材料。这种包经常包括含有本发明溶液的包装和与本溶液组合使用的专用绷带。这些专用绷带在治疗伤口时使伤口周围的皮肤保持干燥。另外，这种绷带也可以在医生办公室或在医院包扎，让病人在家继续护理；可以在医生的指导下在家包扎和使用；或对于小伤，该伤口护理包可以用作病人独立使用的“自行”治疗。

某些用途的包装

在本发明的另一方面，本发明的溶液可以包装成在单个的单次使用容器中装有该溶液。例如，单次使用容器可以在单次更换敷料或其等同物中使用。本发明的单次使用容器可与通常使用的绷带联合使用。在本发明的另一方面，伤口护理包可以包括单次使用的本发明溶液的容器，以及用于各种用途的专用绷带。

在本发明的另一方面，本发明的溶液可以通过使用如图所示的双室装置或包装当场产生，装置或包装可具有第三混合室，也可以没有。

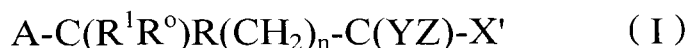
用于当场制备NNDCT的双室装置



该双室装置可以包括两个注射管或囊。例如,为了制备 pH=3.5、浓度为 3.2mM 的 NNDCT 溶液, A 室装入 12.8mM NaOCl 溶液, B 室装入 3.3mM 溶解在 1.8%的酸化生理盐水溶液中的牛磺酸。B 室溶液的酸性可以用 1M HCl 调节, 以便当两室中的溶液在共同输送管或在混合室 C 混合时, 反应将给出所需要的 NNDCT 浓度和 pH 值。既然牛磺酸在酸性溶液中是稳定的, NaOCl 在室温下也是稳定的, 则上述当场制备法的使用可以避免 NNDCT 溶液的稳定性问题。

本发明的几个方面:

在本发明的一个方面, 提供一种药物组合物, 其包括化学式(I)的 N,N-二卤氨基酸或其衍生物, 以及卤素化合物;



其中, A 为氢、HalNH-或 Hal₂N-; Hal 是选自由氟、氯、溴和碘构成的组的卤素; 但是优选氯、溴和碘; R 是碳-碳单键或含 3 至 6 个碳原子的二价环亚烷基, R¹ 为氢, 低级烷基或羧基-COOH; R⁰ 为氢或低级烷基; 或 R¹ 和 R⁰ 连同与它们连接的碳原子形成 (C₃-C₆) 环烷基环; n 为 0 或 1 至 13 的整数; Y 为氢、低级烷基、-NH₂ 或 -NHal₂; Z 为氢或低级烷基; 而 X' 为氢、-COOH、-CONH₂、-SO₃H、-SO₂NH₂、-P(=O)(OH)₂ 或 -B(OH)₂; 如果 R 为一个二价环亚烷基, n 为 0 或多达 11 (包括 11) 的整数, 二价基团 R 或者二价基团 -(CH₂)_n- 任选被 -NHHal 或 -NHal₂ 取代; 该衍生物为药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、连接到碳原子 (上面连接着取代基 X') 的 -NH₂ 基团的低级烷酰衍生物。

在另一方面, R⁰ 为低级烷基。在另一方面, R 为一个碳-碳单键, n 为 0 或 1 至 7 的整数。在再一方面, n 为 0 或 1 至 5 的整数, 在上述方案的一个变体中, n 为 0 或 1 至 3 的整数。

在另一方面，提供了这样的组合物，其中，所述 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸包含 1 或 2 个 -NHHal 或 -NHal₂ 基团，或所述 N-卤代或 N,N-二卤代氨基包含 1 个 -NHHal 或 -NHal₂ 基团。在上述的一个变体中，该 -NHHal 或 -NHal₂ 基团在 X' 的 α 位，β 位，γ 位。在另一方面，A 为 -NHHal 或 -NHal₂。在另一方面，该 -NHHal 或 -NHal₂ 基团连接至二价基团 R 或者 -(CH₂)_n-。在上述另一方面，Hal 为氯。

在本发明的一个方面，该衍生物为药学上可接受的盐。

在另一方面，提供一种组合物，其 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M，或 0.1 至 100mM 之间，并且 pH 范围为约 3 至约 4.8，3.0 至 4.5，或 3.5 至 4.5，或约 3.5。

在本发明的另一方面，提供一种具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗病毒和抗真菌活性的组合物，其包括化学式 (II) 的 N,N-二卤代氨基酸



或其中 Hal₂N-基团被 HalHN-取代 [式 (IIA)]，

或其衍生物以及卤素化合物；其中，Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素；R¹ 为氢、低级烷基或基团 -COOH；R⁰ 为氢或低级烷基，或 R¹ 和 R⁰ 连同与它们连接的碳原子一起形成 (C₃-C₆) 环烷基环；n 为 0 或 1 至 3 的整数；Y 为氢、低级烷基、或 -NH₂；

Z 为氢或低级烷基；以及 X 为 -COOH、-CONH₂、-SO₃H 或 -SO₂NH₂；该衍生物选自下列构成的组：药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、-NH₂ 基团的低级烷酰衍生物，其中该 -NH₂ 基团连接在上面连接着取代基 X 的碳原子上；以及一药用载体；该组合物具有的 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M，或

0.1 至 100mM 之间, 并且 pH 范围为约 3 至约 4.8, 3.0 至 4.5, 或 3.5 至 4.5, 或约 3.5。

在另一方面, 提供一种具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗病毒和抗真菌活性的稳定的组合物, 其包括化学式 (II) 的 N,N-二卤代氨基酸



或其中 Hal_2N -基团被 HalHN -取代 [式 (IIA)],

或其衍生物以及卤素化合物; 其中, Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素; R^1 为氢、低级烷基或基团 $-\text{COOH}$; R^0 为氢或低级烷基; 或 R^1 和 R^0 连同它们所连接的碳原子一起形成 (C_3 - C_6) 环烷基环; n 为 0 或 1 至 3 的整数; Y 为氢、低级烷基、 $-\text{NH}_2$; Z 为氢或低级烷基; 以及 X 为 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$; 该衍生物选自下列构成的组: 药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、 $-\text{NH}_2$ 基团的低级烷酰衍生物, 其中该 $-\text{NH}_2$ 基团连接在上面连接着取代基 X 的碳原子上; 以及一药用载体; 该组合物具有的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物浓度为 0.01mM 至 1M, 或 0.1 至 50mM 之间, 并且 pH 范围为约 2 至约 7, 3 至 6, 3 至 4.8, 3 至 4.5, 或 3.5 至 4.5, 或约 3.5。

在上述另一方面, 该组合物在一个能保证其杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒用途所需的长期稳定性的容器中。

在另一方面, 提供一种组合物, 其包括化学式 (II) 的 N,N-二卤代氨基酸



或其中 Hal_2N -基团被 HalHN -取代 [式 (IIA)],

或其衍生物以及卤素化合物; 其中, Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素; R^1 为氢、低级烷基或基团- COOH ; R^0 为氢或低级烷基; 或 R^1 和 R^0 连同它们所连接的碳原子一起形成 ($\text{C}_3\text{-C}_6$) 环烷基环; n 为 0 或 1 至 3 的整数; Y 为氢、低级烷基、或- NH_2 ; Z 为氢或低级烷基; 以及 X 为- COOH 、- CONH_2 、- SO_3H 或- SO_2NH_2 ; 该衍生物选自下列构成的组: 药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、- NH_2 基团的低级烷酰衍生物, 其中该- NH_2 基团连接在上面连接着取代基 X 的碳原子上; 以及一药用载体; 该组合物具有的 pH 范围为约 2 至约 7, 3 至 6, 3 至 5, 或约 3.5。该组合物具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒活性。在一个变体中, N -卤代或 N,N -二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M, 或 0.1 至 100mM 之间, 或优选在 0.3 至 50mM 之间。在另一方面, 该组合物以稳定化的形式。在另一方面, 该组合物贮存在一个能保证其作为杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒用途所需的长期稳定性的容器中。

在本发明的另一方面, 提供一种组合物, 其包括化学式 (II) 的 N,N -二卤代氨基酸



或其中 Hal_2N -基团被 HalHN -取代 [式 (IIA)],

或其衍生物以及卤素化合物; 其中, Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素; R^1 为氢、低级烷基或基团- COOH ; R^0 为氢或低级烷基; 或 R^1 和 R^0 连同它们所连接的碳原子一起形成 ($\text{C}_3\text{-C}_6$) 环烷基环; n 为 0 或 1 至 3 的整数; Y 为氢、低级烷基、或- NH_2 ; Z 为氢或低级烷基; 以及 X 为- COOH 、- CONH_2 、- SO_3H 或- SO_2NH_2 ;

该衍生物选自下列构成的组：药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、 $-\text{NH}_2$ 基团的低级烷酰衍生物，其中该 $-\text{NH}_2$ 基团连接在上面连接着取代基 X 的碳原子上；以及一药用载体；该组合物在用于杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒的药剂的制备中具有 pH 范围为约 2 至约 7，3 至 6，3 至 5，或约 3.5。

在一个变体中，该组合物具有的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M，或 0.1 至 100mM 之间，或在 0.3 至 50mM 之间。在另一个变体中，该药剂贮存在一个能保证其作为杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒的应用所需要的长期稳定性的容器中。

在一个变体中，提供了一种用于预防或治疗哺乳动物中由细菌、微生物、孢子、真菌或病毒引起的感染的方法，该方法包括给予杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒量的化学式 (II) 的 N,N-二卤代氨基酸



或其中 Hal_2N -基团被 HalHN -取代 [式 (IIA)]，

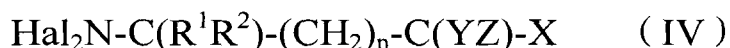
或其衍生物以及卤素化合物；其中，Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素； R^1 为氢、低级烷基或基团 $-\text{COOH}$ ； R^0 为氢或低级烷基；或 R^1 和 R^0 连同与它们连接的碳原子一起形成 ($\text{C}_3\text{-C}_6$) 环烷基环；n 为 0 或 1 至 3 的整数；Y 为氢、低级烷基、或 $-\text{NH}_2$ ；Z 为氢或低级烷基；以及 X 为 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ；该衍生物选自下列构成的组：药学上可接受的盐、与低级链烷醇的酯、 $-\text{NH}_2$ 基团的低级烷酰衍生物，其中该 $-\text{NH}_2$ 基团连接在上面连接着取代基 X 的碳原子上；以及一药用载体。在一个变体中，该组合物具有 pH 范围为约 2 至约 7，3 至 6，3 至 5，或约 3.5。在另一

方面, 该组合物具有的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.1 至 100mM, 或在 0.3 至 50mM 之间。在本发明的另一变体中, 该组合物为稳定化形式。

在本发明的另一方面, 该组合物在一个能保证其作为杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒的应用所需要的长期稳定性的容器中。在一个方面, 该组合物为等渗的和生理平衡的。

在另一方面, 该组合物的治疗指数为约 1000 至约 5,000, 其定义为: 其在 1 小时时对 L929 小鼠肺上皮细胞和原代人纤维母细胞的 IC_{50} 与其在 1 小时时对大肠杆菌 ATCC 11229 的最小杀菌浓度之比。

在另一方面, 提供一种具有杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒活性的组合物, 其包含化学式 (IV) 的 N,N-二卤氨基酸,



或者其衍生物, 以及卤素化合物; 其中, Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素; R^1 为氢、低级烷基或基团 $-\text{COOH}$; R^2 为低级烷基, 或 R^1 和 R^2 连同它们所连接的碳原子形成 (C_3 - C_6) 环烷基环, n 为 0 或 1 至 3 的整数; Y 为氢、低级烷基或 $-\text{NH}_2$; Z 为氢或低级烷基; 而 X 为 $-\text{COOH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$; 所述衍生物选自由药物学上可接受的盐, 低级链烷醇的酯, 连接到上面带有取代基 X 的碳原子上的 $-\text{NH}_2$ 基团的低级烷酰衍生物构成的组。在化学式 IV 的一个变体中, Hal_2N -基团被 HalHN -取代。在一个变体中, R^1 为氢或低级烷基; n 为 0, 1 或 2; Y 为氢或低级烷基; Z 为氢或低级烷基; 以及 X 为 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$; 或其衍生物; 所述

衍生物选自药物学上可接受的盐或与低级链烷醇的酯。在一个变体中，Y和Z皆为氢，X为-SO₃H；所述衍生物选自由药物学上可接受的盐构成的组。在上述另一方面，该组合物含有药用载体。

在上述组合物的一个方面，pH范围为约2至约7，3至6，3至5，或约3.5。在上述一个方面，该组合物是等渗的和生理平衡的。

在本发明的一个方面，N,N-二卤代氨基酸选自由下列构成的组：

N,N-二氯-2,2-二甲基牛磺酸；
N-氯-2,2-二甲基牛磺酸；
N,N-二氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；
N-氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；
N,N-二溴-2,2-二甲基牛磺酸；
N-溴-2,2-二甲基牛磺酸；
N,N-二溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；
N-溴-1,1,2,2-四甲基牛磺酸；
N,N-二碘牛磺酸；
N-碘牛磺酸；
N,N-二氯-2-甲基牛磺酸；
N-氯-2-甲基牛磺酸；
N,N-二氯-2,2,3,3-四甲基-β-丙氨酸；
N-氯-2,2,3,3-四甲基-β-丙氨酸；
N,N-二氯-3,3-二甲基高牛磺酸；
N-氯-3,3-二甲基高牛磺酸；
N,N-二氯-2-甲基-2-氨基-乙磺酸；
N-氯-2-甲基-2-氨基-乙磺酸；
N,N-二氯-1-甲基-乙磺酸；

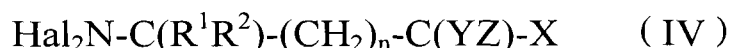
N-氯氨基三亚甲基膦酸;
N,N-二溴-2-氨基-5-膦酰戊酸 (pantanoic acid);
N-溴-2-氨基-5-膦酰戊酸;
N,N-二氯 氨基乙基膦酸二酯, 如二乙酯;
N-氯 氨基乙基膦酸二酯, 如二乙酯;
N,N-二氯-1-氨基-1-甲基乙膦酸;
N-氯-1-氨基-1-甲基乙膦酸;
N,N-二氯-1-氨基-2-甲基乙膦酸;
N-氯-1-氨基-2-甲基乙膦酸;
N,N-二氯-1-氨基-2-甲基丙膦酸;
N-氯-1-氨基-2-甲基丙膦酸;
N,N-二氯亮氨酸膦酸;
N-氯亮氨酸膦酸;
N,N-二氯-4-氨基-4-膦酰丁酸;
N-氯 4-氨基-4-膦酰丁酸;
(±)N,N-二氯-2-氨基-5-膦酰戊酸;
(±)N-氯-2-氨基-5-膦酰戊酸;
N,N-二氯(+)-2-氨基-5-膦酰戊酸;
N-二(+)-2-氨基-5-膦酰戊酸;
N,N-二氯-d,l-2-氨基-3-膦酰丙酸;
N-氯-d,l-2-氨基-3-膦酰丙酸;
N,N-二氯-2-氨基-8-膦酰辛酸;
N-氯-2-氨基-8-膦酰辛酸;
N,N-二氯-亮氨酸硼酸;
N-氯-亮氨酸硼酸;
N,N-二氯-β-丙氨酸硼酸;

N-氯-β-丙氨酸硼酸; 或其衍生物; 该衍生物选自由药学上可接受的盐和与低级烷醇的酯构成的组。

在本发明的另一方面，提供了一种用于控制或预防细菌、微生物、孢子、真菌或病毒的生长或者感染和感染源扩散的方法，该方法包括向需要控制或者预防该生长或扩散的区域、空间或材料施用有效量的本发明组合物。一个变体中，该组合物具有 pH 范围为约 2 至约 7，3 至 6.8，3 至 6，3 至 5，或约 3.5。

在上述方法的一个方面，N,N-二卤代氨基酸或其衍生物是原位制备的。在上述方法的一个变体中，被处理的对象选自由食品、动物饲料、外科器械、外科装备、医疗设备和类似用途的装备构成的组。

在另一方面，本发明提供化学式 (IV) 的 N,N-二卤氨基酸，



或者其衍生物，以及卤素化合物；其中，Hal 为选自由氟、氯、溴和碘构成的组中的卤素； R^1 为氢、低级烷基或基团 $-\text{COOH}$ ； R^2 为低级烷基，或 R^1 和 R^2 连同它们所连接的碳原子形成 (C_3-C_6) 环烷基环， n 为 0 或 1 至 3 的整数；Y 为氢、低级烷基或 $-\text{NH}_2$ ；Z 为氢或低级烷基；而 X 为 $-\text{COOH}$ ， $-\text{CONH}_2$ ， $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ；所述衍生物选自由药物学上可接受的盐，低级链烷醇的酯，连接到上面带有取代基 X 的碳原子上的 $-\text{NH}_2$ 基团的低级烷酰衍生物构成的组。在 N,N-二卤代氨基酸的一个变体中， R^1 为氢或低级烷基； n 为 0，1 或 2；Y 为氢或低级烷基；Z 为氢或低级烷基；以及 X 为 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ；或其衍生物；所述衍生物选自由药物学上可接受的盐或与低级链烷醇的酯构成的组。在一个变体中，Y 和 Z 皆为氢，X 为 $-\text{SO}_3\text{H}$ ；所述衍生物选自由药物学上可接受的盐构成的组。

在上述另一方面，该成分选自下列构成的组：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-2,2,3,3-四甲基-β-丙氨酸; N,N-二氯-3,3-二甲基高牛磺酸; 和 N,N-二氯-1-甲基-乙磺酸; 或其药学上可接受的盐。

在 N,N-二卤代氨基酸的一个变体中, Hal 为氯, 或者其药学上可接受的盐。

在另一方面, 提供一种包含本发明 N,N-二卤代氨基酸的药物组合物, 或其衍生物。

在另一方面, 提供了一种用于预防或治疗哺乳动物中由细菌、微生物、孢子、真菌或病毒引起的感染的方法, 该方法包括给予杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒量的本发明的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸。

在另一方面, 提供了一种用于控制或预防细菌、微生物、孢子、真菌或病毒的生长或者感染和感染源扩散的方法, 该方法包括向需要控制或者预防该生长或扩散的区域、地方或材料施用有效量的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸。

在一个变体中, 该组合物具有的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.01mM 至 1M, 0.1mM 至 100mM, 或在 0.3 至 50mM 之间, pH 范围为约 3 至约 4.8, 3.0 至 4.5, 或 3.5 至 4.5, 或约 3.5。

在另一方面, 该组合物为稳定化形式, 该组合物具有的 N-卤代或 N,N-二卤代氨基酸或其衍生物的浓度为 0.1mM 至 100mM, 或在 0.1 至 50mM 之间, pH 范围为约 2 至约 7, 3 至 6, 3 至 4.8, 3 至 4.5, 或 3.5 至 4.5, 或约 3.5。该 pH 可以用适宜的本领域技术人员熟知的缓冲系统调节。在一个变体中, 该组合物贮存在一个能保证

其作为杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒的应用所需要的长期稳定性的容器中。

在本发明的一个方面，提供了 N -卤代或 N,N-二卤代氨基酸与卤素化合物相结合在制备用于杀菌、抗菌、抗感染、抗微生物、杀孢、消毒、抗真菌和抗病毒活性的组合物中的用途。在另一方面，提供一种上述组合物，包含选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物。在上述的一个变体中，该组合物为酸性。

在上述方法的一个变体中，该方法还包括选自由次卤酸或其盐构成的组中的卤素化合物的用途。在上述的一个变体中，给予的组合物为酸性。

可以开发出多种方法来制备本发明的化合物。制备这些化合物的代表性的方法提供在实施例中。但是，本发明的化合物还可以用合成化学领域技术人员所熟悉的其他合成路线合成得到。部分本发明的化合物具有手性中心。制备本发明的这些化合物可能导致形成不同立体异构体（对映异构体、非对映异构体）的混合物。除非指明某一特定立体结构，在提及某一化合物时皆涵盖所有不同的可能异构体。本发明的化合物还可以通过使游离碱形式的该化合物与药学可接受的无机酸或有机酸反应而制成药学可接受的酸加成盐。还可以通过使酸形式的该化合物与药学可接收的无机或有机碱反应而制得碱加成盐。

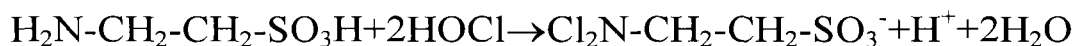
实施例 1

制备方法

试剂：所有溶液用去离子水或 Millipore 水制备。NaOCl（6%）溶液是从 VWR 商购获得。牛磺酸是从 Sigma 购买获得。NaCl 和 HCl 是试剂级的。

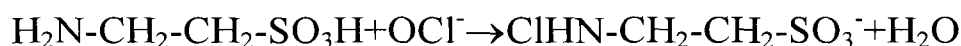
N,N-二氯牛磺酸 (NNDCT) 的合成与表征

在该研究中，NNDCT 的制备是通过把牛磺酸粉末按 HOCl/牛磺酸之比为 2 的比例溶解于 HOCl 溶液 (pH=3.5) 中而进行的。



为制备 1 升在 0.9%NaCl 溶液中 pH 为 3.5 及 NNDCT 浓度为 1.6mM 的溶液，向 1000ml 容量瓶中加入 8.6g 的 NaCl，然后加入 500mlMillipore 水，以溶解这些盐。向该 NaCl 溶液中加入 2ml 的 1M 盐酸，并随后加入 22ml 0.158M 的 NaOCl。混匀该溶液。然后向瓶中加入 0.267g 牛磺酸并添加 Millipore 水至容量瓶的刻度。摇晃溶液 5 分钟。

NNDCT 在 300nm 处具有一个最大吸收，摩尔吸光系数为 $370\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。当向牛磺酸溶液中加入 OCl⁻溶液 (pH9.5)时，仅仅生成 N-氯代牛磺酸 (NCT) (ClHN-CH₂-CH₂-SO₃⁻)。



NNDCT 和 NCT 可通过分光光度法鉴别。NCT 在 252nm 处具有最大吸收。NNDCT 产率是从它在 300nm 处的最大吸收计算而来。采用这种制备方法，NNDCT 的产率为 91%。碘量滴定显示 I₂/NNDCT 之比为 2。这说明 NNDCT 保持着两个氧化当量的 HOCl，NNDCT 中的两个氯基团都能够把 I⁻氧化成 I₂。NNDCT 在溶液中分解，但是它在低温下更稳定。在温度为 4°C、室温和 40°C 三个温度下研究了 NNDCT 溶液 (pH 3.5) 的稳定性。溶液被密封在安瓿瓶中。在三个温度下 NNDCT 的稳定性顺序如下：4°C>室温>40°C。在 4 星期内，储存在冷藏箱(4°C)中的 NNDCT 损失了 5.4%([NNDCT]_{初始}=1.47mM)。

N,N-二氯牛磺酸在 pH 为 1 至 10 时是极易溶于水的。N,N-二氯牛磺酸可以通过紫外光谱鉴别和定量测定。N,N-二氯牛磺酸在 300nm 处具有最大紫外吸收，摩尔吸光系数为 $370\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。

NNDCT 是不挥发的。把在 pH 为 3.5、0.9% 盐水中的 1.47mM 溶液装于两个玻璃瓶中。一个瓶用盖紧紧盖住，而另一瓶松松地盖住。在室温下 4 个星期后两瓶中 NNDCT 浓度没有差异。

分离出纯粉末状的 NNDCT 并在惰性气氛下储存提供了更稳定的 NNDCT 源。另外，以丸剂形式复配 NNDCT 的固体基质有助于 NNDCT 的稳定化。这种丸剂化配方的选用防止了其分解，同时所需的药用中使用起来更为方便（隐形眼镜消毒，其他应用）。

实施例 2

抗菌活性

杀菌活性:

为了测定杀菌活性，我们使用了大肠杆菌（ATCC 11229）。细菌培养物用无菌盐溶液稀释制成培菌液。各个测试样品转移至含 1.0×10^5 至 2.0×10^5 菌落形成单位（CFU）/ml 个细菌的单个试管中，并通过轻微的涡流混合，然后在 37°C 下培养 1 或 24h。为了尽可能地模仿活生物体内可以产生的条件（如果测试样品用作抗菌剂），在一个不添加中和剂而另一个添加中和剂（作为参照）的情况下在指定的暴露时间之后，立即在皮氏培养皿中进行细菌平板接种。这样，经过 1 或 24h 暴露时间后移出 0.1ml，并进行平板接种。培养皿在 37°C 下培养。通过直接菌落计数来对细菌计数，以便以 CFU/ml 计算出存活细菌。用 0.9% 的无菌盐溶液制成正生长对照。所有测试样品测试 3 次。结果列表表示，以显示 HOCl、OCl⁻、NNDCT 和 0.9% 盐水溶液在各个 pH 水平下的抗微生物效能范围的对比。pH 为 3.5

时，NNDCT 显示在 60min 时有有效的抗微生物浓度范围为 0.0149 至 1.49mM, 在 24h 的有效抗微生物浓度范围为约 0.000149 至 1.49mM, 而 HOCl 在 60min 的有效抗微生物浓度起始浓度为 0.016mM, 在 24h 时为 0.0016mM。pH 为 3.5 时 NNDCT 对抗大肠杆菌比 HOCl 更有效或与 HOCl 一样有效。

在这些研究中，同各种测试样品比较，我们首次展示了（平行地）N-氯胺的杀菌和细胞毒性特征。按照上述步骤在控制 pH 下于 0.9%生理浓度的 NaCl 溶液中合成了 N-氯代牛磺酸（NCT）和 N,N-二氯牛磺酸（NNDCT）。在分析其生理活性之前，测试这些溶液的物化性质。NCT 和 NNDCT 稀溶液是无色的和等渗的，并且表现出异常快速的抗菌活性。这些氧化剂的产生显示出 pH 依赖性。NCT 专门在碱性 pH 下生成，而 NNDCT 在酸性 pH 下生成。

使用本发明 pH 为 5.0 和 3.5 的 NNDCT 溶液和 pH 为 9.5 的 NCT 溶液进行对照抗菌分析，结果显示，在 37℃ 60min 暴露时间内，pH 为 3.5 的 NNDCT 溶液的细菌（大肠杆菌）杀灭效率比 pH 为 5.0 的 NNDCT 溶液高 300 倍，同时比 pH 为 9.5 的 NCT 溶液高 1000 倍（表-1）。

表-1:产品总结:

产品	颜色	pH	张力	物理状态	MBC (μg/ml)
NCT	澄清	9.5	等渗的	溶液	142.5
NNDCT	澄清	5.0	等渗的	溶液	38.0
NNDCT	澄清	3.5	等渗的	溶液	0.136

MBC 为最小杀菌浓度

抗微生物活性和杀灭时间不仅是浓度依赖性的，而且随 pH 的降低而显著提高。基于相同的浓度，NCT 抗菌性低于 NNDCT 1000 倍。

实施例 3

细胞毒性分析:

通过比色分析系统评价细胞毒性,最初是由 Scudiero 等描述,使用 3'- (苯基氨基-羰基) -3,4-四唑-二 (4-甲氧基-6-硝基) 苯磺酸水合物 (XTT), ProCheck™ 细胞存活率分析 (由 Scudiero DA, Shoemaker RAH, Paul KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D, Boyd MR 描述的 Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines, Cancer Res. 1988 Sep 1;48(17):4827-33)。其他研究人员也使用相似的方法测定细胞存活率。使用了三种细胞,小鼠肺上皮细胞 (L929), 原代人皮肤纤维母细胞和原代人角质化细胞,其培养于加入了相应的生长因子和抗生素的 DMEM(Dulbecco Modified Eagle's Medium)培养基和角质化细胞培养基 (Keratinocyte defined medium) 中。细胞被胰蛋白酶化,并在显微镜下计数,并在平底 96 孔板中以每孔 1000 至 2000 个细胞接种。细胞在 37℃ 下过夜生长。次日,除去组织培养介质,细胞用新鲜的 1X 介质漂洗,然后存于 50μL 组织培养介质中。将测试样品制成 2 倍的稀溶液,向每组 4-孔板加入 200μL (每孔总体积=250μL)。在室温下细胞暴露于测试样品中 60min。在经历暴露时间后立即从每孔去除测试样品,并供给细胞 250μL 的新鲜介质。平皿在 37℃ 下培养 18 至 20h。次日再次除去介质,每孔换以 100μL 含 10/100μL XTT-试剂的新鲜介质。在生长条件下 (5% CO₂, 37℃ 下,湿润的培养箱中) 避光培养,直到显色。以仅有介质的分析空白孔为空白对照,使用 Molecular Device ThermoMax Plate 读数器以 750nm 为参照波长在 450nm 处读取吸光度。将仅接受 XTT 试剂的未处理细胞用作阳性细胞增殖对照。

当测定细胞抑制浓度毒性指数 (CCI_{50}) (在还有 50% 的细胞存活时测定值) 时, NNDCT 的 CCI_{50} 为 7mM, 结果表明在 XTT 分析中原代人皮肤纤维母细胞的细胞存活率相对于 HOCl ($IC_{50}=0.8\text{mM}$)、聚烯吡酮碘 ($IC_{50}=0.01\text{mM}$) 或 OCI^- ($IC_{50}=0.66\text{mM}$) 的 CI_{50} 显著地高。对小鼠肺上皮细胞 (L929) 进行 XTT 分析, 获得了相似的结果, 其中在浓度为 7mM 时观察到 NNDCT 的存活率大于 90%, 而对于 OCI^- 在浓度为 0.6mM 时和聚烯吡酮碘在浓度为 0.02mM 时存活率基本低于 50%。

细胞毒性和治疗指数

采用美国药典标准细胞分析 (小鼠肺上皮细胞, L929), 以及原代人皮肤细胞, NNDCT 已经经过了严格的体外安全测试。我们发现, 与其它杀菌剂对照测试样品 (HOCl 和聚烯吡酮碘) 相比较, NNDCT 对于两种细胞类型具有很低的细胞毒性指数: 原代人纤维母细胞和 L929 细胞 (见下面)。与聚烯吡酮碘 (其细胞毒性是主要问题) 不同, NNDCT 被证实是细胞相容的, 具有更安全的毒性特点。事实上, NNDCT 的治疗指数 (TI) (被定义为所分析的细胞 (体外细胞毒性或 ICI_{50}) 能承受的浓度与 NNDCT 的最小杀菌浓度 (MBC) 之比) 约为 5000 (表 2), 而对于 HOCl 和聚烯吡酮碘的治疗指数分别约为 300 和 7。

表-2 最小杀菌浓度 (MBC) 和治疗指数数据总结

产品	pH	MBC ^a (µg/ml)	ICI_{50} (µg/ml)	T.I. ^b on HF ^c
NNDCT	3.5	0.29	1442	4972
HOCl	3.5	0.16	47	297
聚烯吡酮碘	4.2	0.38	2.5	7

^a 对大肠杆菌 (ATCC11229) 最小杀菌浓度 (MBC)

^b 治疗指数和 ^c 原代人皮肤纤维母细胞。

因为卫生保健机构非常不鼓励使用具有较大毒副作用的其他消毒剂，NNDCT 作为更安全的局部消毒剂，特别是用于眼科、久治不愈创伤和烧伤病人，其应用可能具有很大的优势。因为食品安全也是一个重要的健康问题，NNDCT 作为一种广泛的消毒剂的应用能够扩展到食品工业。

实施例 4

2-氨基-2-甲基丙磺酸的制备:

2-氨基-2-甲基-1-丙醇 (Aldrich, 5.0g, 56mmol, 1.0 当量) 溶于 DCM (100ml), 在 0℃ 下分批加入 BOC 酐 (14.6g, 67mmol, 1.2 当量), 在室温下搅拌该混合物过夜。不撤去冰浴, 让溶液在夜间缓慢升温。旋转蒸发除去溶剂。加入 EtOAc (50ml), 然后加入水 (50ml)。分出有机层, 并用水和盐水洗涤一次以上, 然后用硫酸钠干燥, 浓缩得到 12g 粗产物。

将三乙胺 (TEA, 11ml, 7.5mmol, 1.5 当量) 加入到 BOC 保护的在 DCM (100ml) 中的氨基醇 (10.0g, 52.5mmol, 1.0 当量) 溶液中。将反应混合物冷至 0℃, 并逐滴加入溶在 DCM (40ml) 中的甲磺酰氯 (4.4ml, 56.8mmol, 1.1 当量) 溶液。允许混合物升至室温并搅拌 30min。至用 TLC 观察不到起始原料时, 加入水并分出 DCM。有机层用水、饱和碳酸氢钠溶液、和盐水洗; 然后干燥 (MgSO₄) 并浓缩得到 12.6g 粗产品, 用快速层析柱纯化得到 6.35g 净产品。

将上述得到的 BOC-氨基磺酸酯 (6.35g, 23.7mmol, 1.0 当量) 加到一个 RB 烧瓶中, 并加入 30ml 的 HCl 浓度为 4N 的二氧六环溶液 (30ml, 118.5mmol, 5.0 当量) 中。在室温下搅拌过夜, TLC 检测不到起始产品。旋转蒸发除去溶剂, 加入 10ml DCM, 然后蒸发。将白色固体置于真空下 30min, 不用进一步纯化, 直接用于下一步。

将亚硫酸钠 (4.25g, 33.7mmol, 1.5 当量) 溶于 33ml 水中 (1M 溶液), 并在室温下加到该起始的胺盐酸盐中间物 (4.6g, 22.5mmol, 1.0 当量) 中。在搅拌过夜后, 收集沉淀并用甲醇洗涤数次, 得到 4.2g 白色固体。将该物质溶于水中, 加入乙醇并在室温下放置 6 小时。收集沉淀, 蒸发母液, 得到 2.2g 白色固体, 用水 (2 × 5ml) 洗涤该固体, 在真空下放置, 得到 1.2g 所需的钠盐纯产品。该所需产品由元素分析确证。

本发明的 N-单卤代氨基酸还可以用以下文献所披露的方法制备:

X. L. Armesto, M. Canle L., M. V. García and J. A. Santaballa *Chemical Society Reviews*, 1998, volume 27, 453; Juan M. Antelo, Florencio Arce, Paula Calvo, Juan Crueiras and Ana Ríos *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2000, (10), 2109-2114; J. M. Antelo; F. Arce, J. Crueiras, M. Parajó *Journal of Physical Organic Chemistry*, Volume 10, Issue 8, Pages 631 - 636.

实施例 5:

作为一个实施例, 制备 N,N-二氯-1,1-二甲基乙磺酸的工艺过程如下所述:

步骤 1: 1,1-二甲基乙磺酸的合成 (Braghiroli, D.; Bella, M. D. *Tetrahedron Letters*, **1996**, 37, 7319-7322)。

1,1-二甲基乙磺酸是通过以下方法制备的: 将 2-羟基异丁腈 (丙酮氰醇) 还原成 1-氨基-2-甲基-2-丙醇, 接着用 (Boc)₂O 进行保护, 在甲磺硫化和去除保护基后, 所获得的盐酸盐与亚硫酸钠反应就得到 1,1-二甲基乙磺酸。

步骤 2: 1,1-二甲基乙磺酸的氯化。

为了制备 1L 的 pH 为 3.5 的 1.6mM N,N-二氯-1,1-二甲基乙磺酸 (NNDC-DMESA) 的 0.9% NaCl 溶液, 向 1000-ml 容量瓶中加

入 8.6g NaCl, 然后向瓶中加入 500ml Millipore 水以溶解该盐。向 NaCl 溶液中加入 2ml 1M 的 HCl, 随后加入 22ml 0.158M 的 NaOCl。混合溶液。然后向瓶中加入 0.355g 1,1-二甲基乙磺酸, 并加入 Millipore 水直到容量瓶刻度。搅拌溶液, 直至反应完全(例如, 用紫外或 NMR 指示)。我们制备了 N,N-氯化鸟氨酸, N,N-二氯高牛磺酸和 N,N-二氯丙氨酸。所有这些二氯化合物都具有很相似的紫外光谱 ($\lambda_{\max} \approx 300\text{nm}$) 和摩尔吸光系数。

制备二氯氨基酸化合物的操作

向酸性 HOCl 溶液中加入化学计量的氨基酸或其盐(粉末)(HOCl/氨基酸的摩尔比=2:1)。然后搅拌混合溶液约 15min。所得溶液的 pH 低于起始 HOCl 溶液的 pH。通过紫外分光光度计鉴定产物, 并跟踪反应至完成。用 HCl 或 NaOH 溶液调节溶液 pH 至所需值。通过采用在 $\lambda_{\max}$ 处的相应摩尔吸光系数, 在紫外分光光度计上测定溶液浓度。更为详细的过程描述于以下实施例。

实施例 6: 制备 1L 0.05M 的二氯高牛磺酸溶液

步骤 1: 制备 1L pH<5 的 0.1M HOCl 溶液。

步骤 2: 向步骤 1 中的 HOCl 溶液中加入 8.06g 高牛磺酸钠(3-氨基-1-丙磺酸钠, MW=161.13)。搅拌溶液约 15min。

步骤 3: 取步骤 2 的等分溶液并稀释 100 倍。用稀溶液的紫外光谱鉴定产物, 其 $\lambda_{\max}$ 为 303nm (见附表)

步骤 4: 用 NaOH 或 HCl 调节步骤 2 中所得溶液的 pH 至所需的 pH。

步骤 5: 重复步骤 3 的过程以测定二氯高牛磺酸的浓度(摩尔吸光系数为 $329.0 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, 见下表)。

表 N,N-二氯-和 N,N-二溴-氨基酸化合物的摩尔吸光系数

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 -丙氨酸	301	327.6 ^c
N,N,N',N'-四氯鸟氨酸	300 ^{c,d}	241 ^{c,d}
N,N-二溴牛磺酸	241	2713 ^b ,2708 ^c

^aGottardi, W.; Nagl, M. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2002**, 9, 411-421.

^b Thomas, E.; Bozeman, P.; Jefferson, M.; King, C. *J. Bio. Chem.* **1995**, 7, 2906-2913.

^c 本研究中的测定值

^d 基于氯化剂与鸟氨酸 4:1 的摩尔比。

实施例 7

我们发现的结果对 pH 为 3.5 在 0.9% 盐溶液中的 NNDCT 的抗菌活性提供了支持。所测定的这些抗菌活性在 μM 的范围中都是相当可观的，且如果增加浓度或暴露时间还会显著提高。相反，可以看到，细胞毒性在 mM 范围中处于 1000 倍高的范围。我们证明了 NNDCT 处理的细胞能够耐受这种处理，与我们 XTT 分析中未经处理的对照细胞相比较，其也能够完成正常的细胞增殖循环。

实施例 8

制备 pH 为 3.0、3.5、4.0 和 5.0、浓度为 1.49mM 的 NNDCT 溶液。在紫外-可见分光光度计上测定溶液的光谱和浓度。结果表明，在 pH 为 3.0 至 5.0 的范围内 NNDCT 溶液的光谱和浓度没有变化。

制备

向 1000ml 容量瓶中加入 8.8g NaCl、2ml 1.0M 的 HCl 和 0.278g 牛磺酸，随后向瓶中加入约 800ml 去离子水。摇晃容量瓶以溶解 NaCl 和牛磺酸粉末。然后，向瓶中加入 22ml 0.15M 的 NaOCl 溶液。用

去离子水补充至刻度线。用磁力搅拌子搅拌溶液 5min。在紫外-可见分光光度计和新校准的贝克曼 pH 计上测定所得溶液的浓度和 pH 值。该溶液具有 1.49mM 的浓度和 3.85 的 pH 值。用移液管向 250mL 烧杯中移取 100ml 上述 NNDCT 溶液 (pH=3.85), 并向该溶液中加入 0.09ml 1.0M HCl 溶液并搅拌。该溶液的最终 pH 值为 3.0。用移液管向 250mL 烧杯中移取 100ml 上述 NNDCT 溶液 (pH=3.85), 并向该溶液中加入 0.003ml 5.0M NaOH 溶液并搅拌。该溶液的最终 pH 为 4.85。

通过调节 pH 以类似的方式制备 pH 值范围为 3 至 5 的溶液。通过紫外光谱证实, 如果正确地储存, 所有的溶液都表现出良好的稳定性。

制备单卤代氨基酸化合物的一般操作

向碱性 OX^- ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}$) 溶液 (pH 大于 8) 或者在磷酸盐缓冲液中的 OX^- ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}$) 溶液 (如 pH 为 7.4) 中, 以 OX^- /氨基酸的摩尔比为 1:1 的量加入氨基酸或其盐 (粉末)。然后搅拌混合溶液约 15min。通过紫外-可见光分光光度计鉴定产物, 并跟踪反应至完成。用 HCl 或 NaOH 溶液调节溶液 pH 至所需值。通过采用在 λ_{max} 处的相应摩尔吸光系数, 在紫外分光光度计上测定溶液浓度。更为详细的过程描述于以下实施例。

实施例 9: 制备 1L 0.05M 的单氯高牛磺酸溶液

步骤 1: 制备 1L pH > 8 的 0.05M NaOCl 溶液。

步骤 2: 向步骤 1 中的 NaOCl 溶液中加入 8.06g 高牛磺酸钠 (3-氨基-1-丙磺酸钠, MW=161.13)。搅拌溶液约 15min。

步骤 3: 取步骤 2 的等分溶液并稀释 100 倍。用稀溶液的紫外光谱鉴定产物, 其 λ_{max} 为 252nm (见下表)

步骤 4: 用 NaOH 或 HCl 调节步骤 2 中所得溶液的 pH 至所需的 pH。

步骤 5: 重复步骤 3 的过程以测定单氯高牛磺酸的浓度 (摩尔吸光系数为 $386 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, 见下表)。

表: 单氯氨基酸化合物的摩尔吸光系数

化合物	λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
N-单氯牛磺酸	252	415 ^a
N-单氯高牛磺酸	252	386 ^b
N-单氯- β -丙氨酸	251	385 ^b

^a Thomas EL.; Grisham MB, Jefferson MM. *Meth. Enzymol.* **1986**, *132*, 669-71.

^b Determined in this study.

按照上述步骤并选择合适的氨基酸起始原料, 可以制得下面的 N-卤代氨基酸: N-氯-2,2-二甲基牛磺酸, N-氯-1,1,2,2-四甲基牛磺酸等。(参见第[0054 段]列出的非排他性的代表性化合物)

实施例 10: 等渗次氯酸和 N_2N -二氯-1,1-二甲基乙磺酸的 1:1 混合物的协同抗病毒效果。

将等体积的人体腺病毒 5 型 (Ad5, McEwen 菌株) 与下面列出的三个样品中每一个混合。在 37°C 下培育 1 小时, 然后稀释在组织培养介质 (含有热灭活的 2% 胎牛血清的 D-MEM 高糖培养基 (Dulbecco's Modified Eagle Medium)) 中。然后用上述同样的稀释剂将这些混合物稀释成 10 倍系列稀释物。将 0.1ml 的每个稀释混合物培育至生长于 12 孔板中的 A549 细胞单层 (细胞源, ATTC) 中, 并允许吸收 1 小时。除去接种物, 该单层用稀释剂冲洗并加上琼脂/DMEM 覆盖物。将该板在 37°C 和含 5% CO_2 的空气中培育 6 天。然后固定该单层, 染色并对蚀斑计数。

样品	溶液	对单层的影响						
		未稀释的 10 ⁻⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
Ad5	腺病毒对照	DESTR	DESTR	DESTR	DESTR	TNTC	37	7
1	37.5mM NNDCEMES pH3.5 等渗	对接种植物的 早毒性反应	28	17	3	3	3	9
2	19mMHOCI pH3.5 等渗	14	9	3	1	4	4	1
3	37.5mM NNDCEMES 与 9.5mMHOCI 的 1 : 1 等渗混合物	差或糟的 单层	0	0	0	1	1	0
盐水对照	0.9% 无菌盐水	DESTR	DESTR	DESTR	DESTR	TNTC	21	6

缩略语: NNDCEMES: N₂N-二氯-1,1-二甲基乙磺酸

DESTR: 单层被破坏

TNTC 蚀斑太多无法计数

在稀释后, 样品 3 的结果表明, 与单独的次氯酸 (样品 2) 或者 N₂N-二氯-1,1-二甲基乙磺酸 (样品 1) 抗病毒效果相比, N₂N-二氯-1,1-二甲基乙磺酸和次氯酸的 1 : 1 等渗混合物对腺病毒具有协同的抗病毒效果。

实施例 11: 用于伤口处理的溶液

- HOCl (2mM)
- N₂N-二氯-2,2-二甲基牛磺酸(20mM)
- NaCl (0.9 %)
- 水 (100ml)