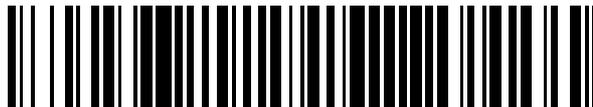


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 421 157**

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)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2006 E 06733945 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2013 EP 1896001**

54 Título: **Aminoácidos N-halogenados y aminoácidos N,N-dihalogenados en combinación con ácidos hipohalogenosos**

30 Prioridad:

**25.01.2005 US 647366 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**29.08.2013**

73 Titular/es:

**NOVABAY PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)  
5980 Horton Street, Suite 550  
Emeryville, CA 94608, US**

72 Inventor/es:

**NAJAFI, RAMIN;  
BASSIRI, MANSOUR;  
WANG, LU y  
KHOSROVI, BEHZAD**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 421 157 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Aminoácidos N-halogenados y aminoácidos N,N-dihalogenados en combinación con ácidos hipohalogenosos

## Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos y composiciones bactericidas, antibacterianas, antiinfecciosas, antimicrobianas, esporicidas, desinfectantes, antifúngicas, germicidas y antivíricas, basadas en aminoácidos y sus derivados que tienen la capacidad de liberar halógeno, y a nuevos usos de estas composiciones en terapia. En otra variación, la presente invención se refiere a compuestos y composiciones bactericidas, antibacterianas, antiinfecciosas, antimicrobianas, esporicidas, desinfectantes germicidas, antifúngicas y antivíricas activas, y a nuevos usos de estas composiciones para destruir microbios, y en terapia. Debido a sus valiosas propiedades, los nuevos productos y composiciones de la invención también tienen amplias aplicaciones en salud animal, incluyendo la cría de animales y agricultura, por ejemplo en la conservación de reservas de semillas valiosas.

Esta memoria descriptiva también describe métodos para usar los nuevos compuestos y composiciones. La memoria descriptiva además describe métodos para preparar estos compuestos. Más específicamente, estos aminoácidos halogenados y sus derivados también se denominan en la presente memoria aminoácidos. Los ejemplos de aminoácidos naturales son taurina, homotaurina, alanina, β-alanina, ornitina y ácido γ-glutámico o ácido γ-aminobutírico (GABA). Los ejemplos no exclusivos de materiales de partida aminoácidos no naturales para preparar los aminoácidos halogenados incluyen ácido 1-amino-1-metiletanosulfónico, ácido 1-amino-1,1-dimetiletanosulfónico, ácido 1,1-dimetil-2-amino-2-carboxi-etanosulfónico, ácido aminotrimetilenfosfónico, ácido 2-amino-5-fosfonopentanoico, diésteres del ácido aminoetilfosfónico, tales como éster dietílico, ácido 1-amino-1-metilenetanofosfónico, ácido 1-amino-2-metiletanofosfónico, ácido 1-amino-2-metilpropano-fosfónico, ácido leucina-fosfónico, ácido 4-amino-4-fosfonobutírico, ácido (±)-2-amino-5-fosfonoaléxico, ácido (+)-2-amino-5-fosfonoaléxico, ácido d,1-2-amino-3-fosfonopropiónico, ácido 2-amino-8-fosfonooctanoico, ácido alanina-borónico, ácido β-alanina-borónico o ácido leucina-borónico y sus sales.

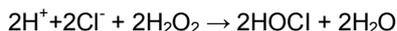
Estos materiales de partida se pueden usar en forma de sus ésteres o sales. Los ésteres de alquilo inferior de los ácidos fosfónicos son ésteres preferidos para preparar los ácidos dihalogeno-aminofosfónicos de la invención y sus derivados. El término halógeno como se usa en la presente memoria incluye flúor, cloro, bromo y yodo.

Los materiales de partida para los N-halogeno-aminoácidos son en general compuestos conocidos o se pueden preparar por métodos conocidos. Estos materiales se describen en *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, y por ejemplo, en la conferencia del premio Nobel Prof. R. Noyori "Asymmetric Catalysis: Science and Opportunities" del 8 de diciembre de 2001 ([www.nobel.se/chemistry/laureates/2001/noyori-lecture.pdt](http://www.nobel.se/chemistry/laureates/2001/noyori-lecture.pdt)).

Se conoce una serie de aminoácidos N-halogenados. Con respecto a estos aminoácidos, los autores de la invención proporcionan nuevas composiciones con propiedades bactericidas, antibacterianas, antiinfecciosas, antimicrobianas, antifúngicas y antivíricas.

## Antecedentes de la invención

Las células inmunitarias del cuerpo, los neutrófilos y macrófagos que son conocidos por su capacidad para eliminar la infección, pueden generar metabolitos de oxígeno reactivos que destruyen microorganismos y células anómalas o neoplásicas (cancerosas) y modular las respuestas inflamatorias. Los neutrófilos pueden ser activados como respuesta a estímulos inflamatorios, infección bacteriana y/u otros cambios de la membrana. Como resultado, producen radicales superóxido:  $\text{HOO}^\cdot$ ,  $\text{O}_2^\cdot$ , y  $\text{OH}^\cdot$ . En condiciones ácidas, el ion cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) en concentraciones fisiológicas de 100-150 mM es oxidado por el  $\text{H}_2\text{O}_2$ , lo cual es catalizado por la mieloperoxidasa (una enzima dentro de los neutrófilos) para formar ácido hipocloroso (HOCl), siguiendo la ecuación de la reacción (Weiss S.J., Klein R., Slivka A., Wei M. *J. Clin. Invest.* 1982, Sept.; 70(3): 598-607):



La generación fisiológica de HOCl está estrechamente regulada por la inhibición por retroalimentación por una red intrincada de señales bioquímicas. El HOCl es generado en una concentración de  $2 \times 10^{-7}$  M por  $10^6$  neutrófilos activados (Lapenna D., Cuccurullo F., *Gen. Pharmacol.* 1996 Oct.; 27(7): 1145-7). Se calcula que esta cantidad de HOCl destruye aproximadamente  $150 \times 10^6$  bacterias E. coli. Una vez producido el HOCl, se degrada rápidamente reaccionando con múltiples sustratos oxidables dentro del complejo sistema celular. Por lo tanto, se espera que las concentraciones de los metabolitos reactivos del oxígeno disminuyan a niveles indetectables en el espacio de horas. Sin embargo, se ha demostrado que los neutrófilos pueden usar su HOCl para generar grandes cantidades de oxidantes de vida bastante larga, tales como N-cloraminas. Estos oxidantes de larga vida son generados en forma de monocloraminas de taurina (NCT, o N-clorotaurina) y dicloroaminas de taurina (NNDCT, o N,N-diclorotaurina) dependiendo del pH del entorno. Estos oxidantes son poderosos antimicrobianos y tienen funciones clave en el sistema de defensa así como modulando las citoquinas y factores de crecimiento en el cuerpo del hospedante.

**Descripción de la técnica relacionada**

La solicitud de patente alemana 4041703 de W. Gottardi describe sales de metales alcalinos de N-clorotaurina. La solicitud menciona que no se ha podido aislar la N-clorotaurina como una sustancia pura, sino solo en forma de una disolución diluida cuando se prepara in situ. Un trabajo posterior establecía que la N-clorotaurina se podía preparar como se describe a continuación. La solicitud de patente alemana también describe la preparación de sales de metal alcalino de la N-clorotaurina puras en forma cristalina. También describe el uso de estas sales como desinfectantes y bactericidas en aplicaciones médicas para seres humanos. La solicitud alemana describe las preparaciones de sales de metal alcalino por reacción de taurina con una cloroamida de metal alcalino, tal como la N-clorobencenosulfonamida sódica (Cloramina-B) o N-cloro-4-metil-benceno-sulfonamida sódica (Cloramina-T). La Cloramina-B y la Cloramina-T están incluidas en el The Merck Index, Thirteenth Edition, 2001, Entradas 2084 y 2085 en la página 356.

El documento W00222118 de W. Gottardi et al. describe la N-clorotaurina, en particular en forma de su sal de sodio, como útil para el tratamiento de infecciones fúngicas, tales como la rinosinusitis aguda o crónica u otras infecciones fúngicas tales como la otitis, dermatitis, bronquitis, diversas formas de neumonía, tales como por *Pneumocystis carinii*, las infecciones fúngicas de órganos sexuales, tales como colpitis, endometritis, balanitis, infecciones fúngicas del tracto gastrointestinal, tales como estomatitis, esofagitis, enteritis, o infecciones fúngicas de la uretra tales como pielonefritis, ureteritis, cistitis o uretritis.

Recientemente, van Gelder et al. han sintetizado y aislado N,N-diclorotaurina en forma de un polvo (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). Su patente (patente de EE.UU. 6.451.761 B1 17 de septiembre, 2002, van Gelder y Bowers, "N,N'-dichlorinated omega-amino acids and uses thereof") describe el campo como aminoácidos modificadores para cruzar la barrera hematoencefálica para llegar al SNC. La N-clorotaurina (NCT) y N,N-diclorotaurina (NNDCT) se pueden identificar por sus espectros de UV. La NNDCT tiene un máximo de absorbancia a 302 nm con una absorptividad molar de 332,9 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>. Estos valores son de Gottardi, W.; Nagl, M. *Arch. Pharm. Med. Chem.* 2002, 9, 411-421. La NCT tiene un máximo de absorbancia a 252 nm con una absorptividad molar de 415 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>.

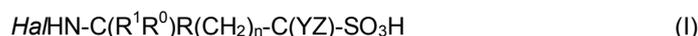
Juan M. Antelo et al., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2000, 2109-2114, describen la catálisis ácido-base general en la reacción de desproporción reversible de la N-clorotaurina. Los autores también describen la preparación de disoluciones de N,N-diclorotaurina por desproporción de N-clorotaurina a pH 2-2,5 y la estabilidad de la N,N-diclorotaurina a pH =1,88. La pérdida de N,N-diclorotaurina era menos de 5% después de 100 h.

La publicación de patente de EE.UU. 2004/0022871 de Mainnemare publicada el 5 de febrero de 2004, describe composiciones farmacéuticas que incluyen (i) al menos un compuesto halogenado y (ii) al menos un derivado N-halogenado de un compuesto seleccionado de compuestos de ion híbrido y/o aminoácidos. El compuesto halogenado es un hipoclorito de metal alcalino, preferiblemente hipoclorito sódico y el compuesto N-halogenado es un derivado N-halogenado de taurina. Los aminoácidos incluidos de acuerdo con la publicación de EE.UU. pueden ser aminoácidos naturales, derivados y análogos de estos últimos. La descripción de la publicación de patente de EE.UU. 2004/0022871 se incorpora en la presente memoria por referencia. Se ha descrito que las composiciones farmacéuticas de esta publicación de patente de EE.UU. tienen efecto antiinflamatorio, inmunomodulador y de estimulación de cicatrización de tejido, sin presentar estimulación sustancial de actividad de mieloperoxidasa en un mamífero. La valoración del hipoclorito de estas composiciones farmacéuticas está por debajo o es igual a 1 mol/litro de cloro disponible, en particular de un hipoclorito de un metal alcalino, en especial hipoclorito sódico. Su valoración mínima es mayor o igual a aproximadamente 1 picomol/litro. La valoración de la N-cloramina en estas composiciones es menor o igual a aproximadamente 5 moles/litro con un mínimo de 0,01 femtomoles/litro.

**Sumario de la invención**

Se entiende que cualquier aspecto o característica de la presente invención, sea caracterizada como preferida o no caracterizada como preferida, se puede combinar con cualquier aspecto o característica de la invención, ya sea dicha otra característica caracterizada como preferida o no caracterizada como preferida. Por ejemplo, una característica descrita como preferida, por ejemplo un intervalo de pH o un pH específico para una composición particular (por ejemplo, determinados N-halogeno-aminoácidos de una fórmula específica), se pueden combinar con otra composición (N-halogeno-aminoácidos de otra fórmula específica) sin desviarse de la presente invención. Esta afirmación también se aplica a cualquier combinación de sustituyentes. Por ejemplo, un sustituyente caracterizado como preferido se puede combinar con cualquier sustituyente no caracterizado como preferido. Los términos "incluye(n)" o "comprende(n)" se usan como términos abiertos intercambiables en el texto de esta memoria descriptiva. Por consiguiente, en un primer aspecto la presente invención proporciona una composición que comprende:

(a) un compuesto de fórmula (I)



en donde

	Hal	es Cl o Br;
	R	es un enlace sencillo o un radical divalente de cicloalquileo C <sub>3-6</sub> ;
	R <sup>1</sup>	es alquilo C <sub>1-6</sub> ;
	R <sup>0</sup>	es alquilo C <sub>1-6</sub> ;
5		o R <sup>1</sup> y R <sup>0</sup> junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo C <sub>3-6</sub> ;
	n	es 0 o un número entero de 1-13; y es ≤ 11 si R es un radical divalente de cicloalquileo C <sub>3-6</sub> ;
	Y	es H o alquilo C <sub>1-6</sub> ;
	Z	es H o alquilo C <sub>1-6</sub> ;

o uno de sus derivados, seleccionado de sales farmacéuticamente aceptables y ésteres con alcoholes C<sub>1-6</sub>; y

10 (b) un compuesto halogenado seleccionado de un ácido hipohalogenoso o una de sus sales.

También, como un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (IIA)



en donde

15	Hal	es Cl o Br;
	R <sup>1</sup>	es alquilo C <sub>1-6</sub> ;
	R <sup>0</sup>	es alquilo C <sub>1-6</sub> ;
		o R <sup>1</sup> y R <sup>0</sup> junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo C <sub>3-6</sub> ;
	n	es 0 o un número entero de 1-3;
20	Y	es H o alquilo C <sub>1-6</sub> ; y
	Z	es H o alquilo C <sub>1-6</sub> ;

o uno de sus derivados, seleccionado de sales farmacéuticamente aceptables y ésteres con alcoholes C<sub>1-6</sub>.

Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende cualquiera de las composiciones del primer y segundo aspectos anteriores y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 Aún más, la presente invención proporciona cualquiera de las composiciones del primer y segundo aspectos anteriores para usar en un método para prevenir o tratar una infección causada por una bacteria, un microbio, una espora, un hongo o actividad vírica en un mamífero.

Finalmente, la invención proporciona un método para controlar o prevenir el crecimiento de bacterias, microbios, esporas, hongos o virus o la proliferación de infecciones y la fuente de las infecciones, comprendiendo el método la aplicación de una cantidad eficaz de una composición del primer aspecto anterior a una zona, espacio o material que requieran dicho control o prevención.

30 Las realizaciones preferidas de la invención son como se detallan en la siguiente descripción así como en las reivindicaciones dependientes adjuntas.

35 Los derivados de los compuestos de fórmula I incluyen sales farmacéuticamente aceptables y ésteres con alcoholes con 1 a 6, preferiblemente 1 a 4 átomos de carbono.

En una realización preferida, R es un enlace sencillo carbono-carbono y n es 0 o un número entero de 1 a 7, más preferiblemente 0 o un número entero de 1 a 5, y lo más preferiblemente 0 o un número entero de 1 a 3, es decir 1, 2 ó 3.

40 Las composiciones de la invención se pueden usar a menudo en forma líquida, por ejemplo como disoluciones. En este caso, la concentración del N-halogeno-aminoácido o sus derivados será hasta 1 molar o hasta la concentración de saturación del N-halogeno-aminoácido o sus derivados. Como se usa en la presente memoria, las composiciones que además comprenden un disolvente pueden incluir agua para formar una composición acuosa, y el disolvente puede comprender disolventes acuosos y orgánicos y sus combinaciones. Una composición preferida de la invención comprende una composición que tiene una concentración del N-halogeno-aminoácido o su derivado entre

45 0,1 y 100 mM y un intervalo de pH aproximadamente de pH 2,0, de 3 a aproximadamente 4,8, de 3,0 a 4,5, o de 3,5 a 4,5, o de aproximadamente 3,5. El pH se puede ajustar fácilmente con diferentes sistemas de tampón conocidos en la técnica.

Otra composición tiene una concentración del N-halogeno-aminoácido o su derivado de 0,1 a 50 mM y un intervalo de pH de aproximadamente 2 a aproximadamente 7, de aproximadamente 3 a aproximadamente 6, de 3 a aproximadamente 4,8, de aproximadamente 3 a 4,5, o de 3,5 a 4,5, o de aproximadamente 3,5. Se pueden usar

50 sistemas de tampón para ajustar el pH al valor deseado.

Las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de fórmula (I) o (IIA) o sus derivados, incluyen sales con cationes farmacéuticamente aceptables. Las sales de los N-halogeno-aminoácidos incluyen sales de bases con el

grupo  $-\text{SO}_3\text{H}$ . Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales de amonio, metal alcalino, magnesio o calcio y cualquier sal de amina orgánica. Las sales de metales alcalinos, sales de Mg, Ca y Al son de interés. Son de interés particular las sales de metales alcalinos, en particular las sales de litio, sodio o potasio.

5 Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen, pero sin limitar, sales de ácidos minerales u orgánicos de restos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitar, hidrohaluros, sulfatos, metosulfatos, metanosulfatos, toluenosulfonatos, nitratos, fosfatos, maleatos, acetatos, lactatos y similares.

10 Se encuentran listas de sales adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 o The Merck Index, Thirteenth Edition, 2001, Published by Merck Research Laboratories Division of Merck & Co., Inc. en las páginas MISC-22 y MISC-23, cuyas descripciones se incorporan por referencia en la presente memoria en su totalidad.

Derivados adicionales de los compuestos de fórmulas (I) y (IIA) incluyen ésteres del grupo  $-\text{SO}_3\text{H}$  con alcoholes inferiores.

15 Derivados adicionales de los compuestos de fórmulas (I) y (IIa) incluyen N-halogeno-aminoácidos en los que determinados grupos de la molécula de aminoácido están protegidos por grupos protectores. "Grupo protector" significa un grupo químico que (a) evita que un grupo reactivo participe en una reacción química no deseada; y (b) se puede eliminar fácilmente cuando ya no se requiera la protección del grupo reactivo.

20 "Grupo protector de amino" significa un grupo protector que preserva un grupo amino reactivo que de lo contrario sería modificado por determinadas reacciones químicas. Los ejemplos no limitantes de grupos protectores de amino incluyen el grupo formilo o grupos alcanilo inferiores con 2 a 4 átomos de carbono, en particular el grupo acetilo o propionilo, los grupos tritilo o tritilo sustituido, tales como el grupo monometoxitritilo, grupos dimetoxitritilo tales como el grupo 4,4'-dimetoxitritilo o 4,4'-dimetoxitriifenilmetilo, trifluoroacetilo y el grupo N-(9-fluorenilmetoxicarbonilo) o "Fmoc", el grupo aliloxicarbonilo u otros grupos protectores derivados de halogenocarbonatos tales como carbonatos de alquilo inferior y arilo ( $\text{C}_6\text{-C}_{12}$ ) (tales como el grupo N-benciloxicarbonilo derivado de clorocarbonato de bencilo), tal como el benciloxicarbonilo (grupo CBZ), o derivado de halogenocarbonatos de bifenilalquilo, o halogenocarbonatos de alquilo terciario, tales como halogenocarbonatos de butilo terciario, en particular cloro-carbonato de terc-butilo, o dicarbonatos de dialquilo(inferior), en particular dicarbonato de di(t-butilo), y el grupo ftalilo.

30 La invención descrita en la presente memoria también incluye composiciones que comprenden N-monohalogeno-aminoácidos de la fórmula (IIA) como se ha definido antes.

En un aspecto particular de cada una de las composiciones anteriores, Hal en la fórmula (IIA) es bromo, cloro o yodo. En otro aspecto, Hal es bromo o cloro.

Los derivados de los compuestos de fórmula IIA incluyen sales farmacéuticamente aceptables y ésteres con alcoholes con 1 a 6, preferiblemente 1 a 4 átomos de carbono.

35 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (IIA) incluyen sales con cationes farmacéuticamente aceptables. Las sales de los N-halogeno-aminoácidos incluyen sales de bases con el grupo  $-\text{SO}_3\text{H}$ . Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales de amonio, metal alcalino, magnesio o calcio y cualquier sal de amina orgánica. Las sales de metales alcalinos, sales de Mg, Ca y Al también son de interés. Son de interés particular las sales de metales alcalinos, en particular las sales de litio, sodio o potasio.

40 Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen, pero sin limitar, sales de ácidos minerales u orgánicos de restos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitar, hidrohaluros, sulfatos, metosulfatos, metanosulfatos, toluenosulfonatos, nitratos, fosfatos, maleatos, acetatos, lactatos y similares.

45 Se encuentran listas de sales adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 o The Merck Index, Thirteenth Edition, 2001, Published by Merck Research Laboratories Division of Merck & Co., Inc. en las páginas MISC-22 y MISC-23, cuyas descripciones se incorporan por referencia en la presente memoria en su totalidad.

Derivados adicionales de los compuestos de fórmula (IIA) incluyen ésteres del grupo  $-\text{SO}_3\text{H}$  con alcoholes inferiores.

50 Derivados adicionales de los compuestos de fórmulas (IIA) también incluyen N-halogeno-aminoácidos en los que determinados grupos de la molécula de aminoácido están protegidos por grupos protectores. "Grupo protector" significa un grupo químico que (a) evita que un grupo reactivo participe en una reacción química no deseada; y (b) se puede eliminar fácilmente cuando ya no se requiera la protección del grupo reactivo. Los grupos protectores adecuados se han descrito antes en la presente memoria. Los N-halogeno-aminoácidos tales como el N-fluoro-aminoácido, se pueden preparar usando diferentes métodos conocidos en la técnica para la fluoración de aminas protegidas o no protegidas y sus derivados. Igualmente, los N,N-difluoroaminoácidos también se pueden preparar

usando métodos conocidos en la técnica. Véase por ejemplo, R. P. Singh and K. M. Shreeve, *Chem. Commun.*, 2001, 1196-1197 (2001), y 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, y referencias citadas en los mismos.

- 5 El término "composición" como se usa en la presente memoria, se refiere a diferentes formas de los compuestos o composiciones de la presente invención, incluyendo sólidos tales como polvos, mezclas de polvos y similares, emulsiones, suspensiones así como disoluciones.

En un aspecto, las composiciones y sus usos incluyen N-halogeno-aminoácidos conocidos o sus derivados. En otro aspecto, las composiciones y sus usos incluyen nuevos N-halogeno-aminoácidos o sus derivados. En cualquier caso, se prefiere que las composiciones se puedan mantener en forma ácida, es decir a un pH inferior a 7, por ejemplo a 6,8, es decir a un pH de aproximadamente 2 a aproximadamente 7, es decir a un intervalo de pH de 2,0 a 6,8, de 2,5 a 6,5, de 2,5 a 6,0, o de 2,5 a 5,0, o de 3,0 a 5,0, o a un pH de aproximadamente 3,5. En diferentes circunstancias, el pH se puede mantener por debajo de 5, es decir, a un intervalo de pH de aproximadamente 3 a 4,5, o de 3,5 a 4,5, o a un pH de aproximadamente 3,5. Aunque se prefieren composiciones en las que el pH de la composición es ácido, la selección del pH dependerá de muchos factores, incluyendo el uso específico del N-halogeno-aminoácido (si es in vitro o in vivo), el tipo de infección tratada (por ejemplo, si la infección es causada por bacterias, levaduras, hongos o virus), el sitio de la infección (por ejemplo, si es una infección del ojo, la laringe o la uretra o cualquier tejido u órgano diana), la gravedad de la infección, la sensibilidad del paciente, etc. Como se ha indicado antes, el pH deseado se puede conseguir fácilmente con la selección adecuada de sistemas de tampón bien conocidos para el experto en la técnica.

En algunos casos, para las composiciones de la invención puede ser adecuado un pH entre 7 y 9. En algunas variaciones, las composiciones se pueden mantener en una forma neutra, ligeramente básica o básica; es decir a un pH de aproximadamente 7, por ejemplo 7,2, o por ejemplo a un pH de aproximadamente 7 a aproximadamente 9, es decir a un intervalo de pH de 7,0 a 7,2, a un pH de aproximadamente 7,2 a aproximadamente 7,5, a un pH de aproximadamente 7,5 a aproximadamente 8, o a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 8,5, o a un pH de aproximadamente 8,5 a aproximadamente 9, o a un pH de aproximadamente 8. Otra vez, el pH requerido se puede lograr usando sistemas de tampón adecuados conocidos para el experto en la técnica. El pH deseado puede depender, en parte, de la estabilidad de los compuestos y composiciones así como de las aplicaciones a las que están destinadas.

- 30 En otro aspecto de la composición, las disoluciones de la invención contienen N-halogeno-aminoácidos en el intervalo de concentración de 0,1 a 100 milimolar (mM).

En un aspecto adicional, la composición será isotónica y estará fisiológicamente equilibrada.

Los N-halogeno-aminoácidos difieren significativamente del HOCl debido a que mantienen un potencial oxidante con actividades bactericidas significativas, y todavía son menos tóxicos que el HOCl. Los N-halogeno-aminoácidos también son suficientemente estables para difundirse cierta distancia antes de oxidar moléculas diana susceptibles. Los N-halogeno-aminoácidos de bajo peso molecular de la presente invención con n=0 o un número entero de hasta 5 son moléculas más hidrófilas.

Sorprendentemente, se ha encontrado que aunque los N-halogeno-aminoácidos de las composiciones de la invención son fuertes bactericidas, antibacterianos, antiinfecciosos, antimicrobianos, esporicidas, desinfectantes, antifúngicos y antivíricos, tienen baja citotoxicidad. Esto es especialmente cierto cuando las composiciones son ácidas. Por lo tanto, combinando los N-halogeno-aminoácidos con compuestos halogenados tales como un ácido hipohalogenoso (HOCl, HOBr o HOI) o una de sus sales, se puede mantener un nivel bajo de citotoxicidad de las composiciones binarias resultantes.

En un aspecto adicional, las composiciones de la invención están estabilizadas para cumplir el requisito de poder usarse como composiciones para prevenir o tratar infecciones o contaminaciones bacterianas, microbianas, de gérmenes, de esporas, fúngicas y víricas. En un aspecto, las composiciones descritas en la presente memoria se pueden preparar para que sean suficientemente estables, o para que las composiciones tengan estabilidad a largo plazo y vida larga en anaquel para las aplicaciones a las que están destinadas, durante al menos 2 semanas, preferiblemente al menos 1 mes, preferiblemente al menos 3 meses, más preferiblemente al menos 6 meses, más preferiblemente al menos 12 meses, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 24 meses. Dependiendo de la aplicación a la que están destinadas las composiciones descritas en presente memoria, la composición se puede almacenar a temperatura ambiente o a aproximadamente 25°C, o por debajo de la temperatura ambiente, tal como a aproximadamente 20°C, 15°C o a aproximadamente 10°C.

En otro aspecto, la estabilización de la composición se proporciona almacenando las composiciones en un recipiente que asegure suficiente estabilidad para el control de las infecciones o contaminaciones bacterianas, microbianas, de esporas, fúngicas y víricas

En otro aspecto, las composiciones descritas antes incluyen los siguientes compuestos o un derivado de los mismos; seleccionándose el derivado del grupo que consiste en sales farmacéuticamente aceptables y ésteres con alcoholes inferiores:

N-cloro-2,2-dimetiltaurina;

5 N-cloro-1,1,2,2-tetrametiltaurina;

N-bromo-2,2-dimetiltaurina;

N-bromo-1,1,2,2-tetrametiltaurina;

N-cloro-3,3-dimetilhomotaurina;

o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptable.

10 En otro aspecto, las composiciones descritas en la presente memoria que comprenden un monohalogeno-aminoácido de fórmula (I) o (IIA) o sus derivados, son aquellas en las que Hal es cloro y en el compuesto halogenado el halógeno es cloro. En otro aspecto más, las composiciones descritas en la presente memoria comprenden un monohalogeno-aminoácido de fórmula (I) o (IIA) o sus derivados en los que Hal es bromo o cloro y un compuesto halogenado en el que el halógeno es bromo o cloro.

15 En otro aspecto, las composiciones de la invención comprenden además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Otra vez, todas las propiedades, características e intervalos descritos para la invención, en cualquier aspecto, sean descritas como de interés o como particulares o no, se pueden combinar entre sí. Por ejemplo, un sustituyente de interés en las fórmulas descritas en la presente memoria, se puede combinar con otro sustituyente no destacado, definido de forma más amplia, descrito en la presente memoria. Por ejemplo, el sustituyente  $\text{SO}_3\text{H}$  se puede combinar con sustituyentes Y o Z distintos de hidrógeno.

20 Por lo tanto, la invención incluye composiciones farmacéuticas en las que los halogeno-aminoácidos de fórmulas (I) o (IIA), o sus derivados, se combinan con compuestos halogenados derivados de derivados de ácido hipohalogenoso o una fuente de un derivado de ácido hipohalogenoso. Dichos derivados hipohalogenosos incluyen un ácido hipohalogenoso o una fuente de ácido hipohalogenoso o una sal de un ácido hipohalogenoso, en particular hipoclorito sódico o potásico. Dichas composiciones farmacéuticas tienen efecto antiinflamatorio, inmunomodulador, bactericida, antibacteriano, antiinfeccioso, antimicrobiano, esporicida, desinfectante, antifúngico y antivírico, y de estimulación de cicatrización de tejidos, sin presentar estimulación sustancial de actividad de mieloperoxidasa en un mamífero. La valoración del hipoclorito de estas composiciones farmacéuticas está por debajo o es igual a 1 mol/litro de cloro disponible, en particular de un hipoclorito de un metal alcalino, en especial hipoclorito sódico. Su valoración mínima es mayor o igual a aproximadamente 1 picomol/litro. La valoración de la N-cloramina en estas composiciones es menor o igual a aproximadamente 5 moles/litro con un mínimo de 0,01 femtomoles/litro. Otra vez, entre los derivados hipohalogenosos, se prefieren los derivados de cloro, bromo y yodo. Los compuestos más preferidos son los derivados de cloro y bromo. Los más preferidos son los derivados de cloro.

Procedimientos para preparar N-halogeno-aminoácidos y sus derivados

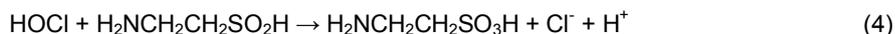
35 Los N-halogeno-aminoácidos y derivados se preparan por reacción del aminoácido o uno de sus derivados a partir del cual se producen los aminoácidos halogenados, con una fuente de halógeno en condiciones de reacción que conducen a la sustitución de un átomo de hidrógeno en el grupo amino del aminoácido por un átomo de halógeno, es decir átomo de fluro, cloro, bromo o yodo. Los procedimientos son conocidos para los químicos expertos en la técnica.

40 En un aspecto de la invención, los aminoácidos que se usan como materiales de partida incluyen el ácido 1-amino-1,1-dimetiletanosulfónico y otros. En otro aspecto, estos materiales de partida se pueden usar en forma de sus ésteres o sales. Todos estos materiales de partida son bien conocidos, están disponibles en el comercio o se pueden preparar por métodos de preparación bien conocidos. Una serie de materiales de partida están disponibles en el comercio, por ejemplo en Sigma-Aldrich.

45 Las siguientes fuentes de halógeno no exclusivas se pueden usar para producir los N-halogeno-aminoácidos y sus derivados:  $\text{HOCl}$  o sus sales (por ejemplo,  $\text{NaOCl}$  o  $\text{KOCI}$ ), sales de N-halogenoarilsulfonamida, en donde el grupo arilo contiene de 6 a 15 átomos de carbono con 1 ó 2 anillos aromáticos, de 6 a 10, o de 6 a 8 átomos de carbono y un anillo aromático, tales como N-halogenobenceno-sulfonamida o N-halogeno-4-alquilbencenosulfonamida, en donde el grupo alquilo es alquilo inferior de 1 a 4 carbonos, metilo o etilo. Las N-halogenobenceno-sulfonamidas o N-halogeno-4-alquilbencenosulfonamidas se usan con frecuencia en forma de sus sales, por ejemplo, sales alcalinas, por ejemplo sus sales de sodio o potasio. Los reactivos usados con más frecuencia serán la N-clorobencenosulfonamida y N-cloro-4-metil-bencenosulfonamida en forma de sus sales de sodio, porque están fácilmente disponibles en el comercio. Otros agentes o fuentes de liberación de halógeno no limitantes pueden ser



El HOCl puede oxidar rápidamente la hipotaurina restante a taurina:



u oxidar la hipotaurina a N-clorohipotaurina:



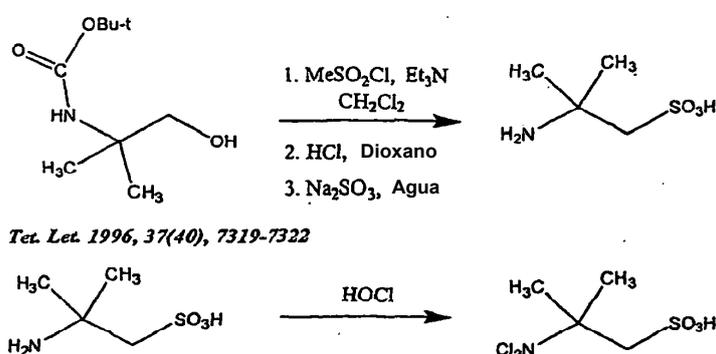
5 En condiciones muy ácidas, el HOCl oxida la N-clorohipotaurina a N,N-diclorotaurina.



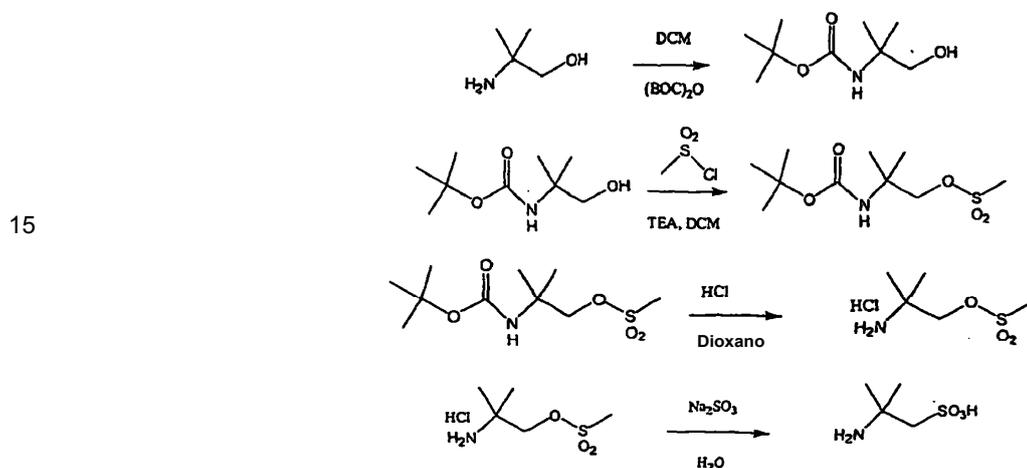
En condiciones menos ácidas la reacción se puede parar al nivel de la N-clorohipotaurina.

Los compuestos con al menos un grupo alquilo inferior unido al átomo de carbono al que está unido el grupo amino son aminoácidos mono y dihalogenados más estables.

10 Estos compuestos se pueden preparar como sigue:



Un ejemplo representativo de un método para preparar el ácido 2-amino-2-metilpropanosulfónico se muestra en el siguiente esquema de reacción:



En la sección experimental se proporciona un procedimiento representativo para preparar el compuesto ácido 2-amino-2-metilpropanosulfónico.

20 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención se pueden preparar haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica o mayor de la base o el ácido adecuados en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; en general, por ejemplo, medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol. Las sales de la invención también se pueden preparar, por ejemplo, por intercambio iónico.

25 Las sales también se pueden preparar haciendo reaccionar los N-halogeno- y aminoácidos de otras formas conocidas incluyendo un método análogo al método descrito en la solicitud de patente alemana 4041703 de W. Gottardi.

Las sales de sodio de los N-halogeno-aminoácidos se pueden convertir en ésteres de alquilo inferior haciendo reaccionar la sal sódica con un sulfato de dialquilo inferior, tal como sulfato de dimetilo o dietilo, en presencia de bicarbonato sódico.

Métodos de uso de las composiciones que comprenden N-halogeno-aminoácidos y derivados

- 5 Los N-halogeno-aminoácidos y sus derivados son agentes antimicrobianos que destruyen microbios en concentraciones relativamente bajas y pueden ser tolerados por células eucariotas en concentraciones significativamente altas. En los N-halogeno-aminoácidos preferidos, el halógeno es cloro, bromo o yodo. Esta variedad de actividad terapéutica y el índice terapéutico favorable es absolutamente crítico cuando se considera la función fisiológica de las cloraminas en la destrucción de patógenos in vivo. Para un producto antimicrobiano que se aplica a tejidos vitales, blandos y sensibles tales como el oftálmico, la piel o cualquier otra zona sensible, su seguridad y eficacia no pueden estar comprometidas. Por lo tanto, el uso de dicho o dichos productos en seres humanos para tratar infecciones está respaldado por los resultados positivos de los autores de la invención.

- 15 Las composiciones descritas en la presente memoria que comprenden compuestos de fórmula (I) o (IIA) y un compuesto halogenado, tienen las siguientes potenciales áreas de aplicación: limpiadores de lentes de contacto, inactivación bacteriana, aplicación oftálmica, preparación quirúrgica general incluyendo oncología, desinfección de instrumentos quirúrgicos, desinfección de instrumentos y dispositivos médicos, desinfección de instrumentos dentales y aplicación en higiene de los alimentos incluyendo desinfección de superficies. También son útiles en formulaciones de vacunas (como conservantes y potencialmente adyuvantes), como compuestos con efecto viricida, para la inactivación vírica tanto de clases de virus de ADN como de ARN incluyendo VIH, hepatitis A, virus sinticial respiratorio, adenovirus, virus del nilo occidental, HSV-1, HSV-2, SARS, virus influenza y para-influenza, picomavirus, y virus vaccinia (como modelo de poxvirus). Además, estos compuestos también son útiles para el tratamiento de infecciones fúngicas, tales como la rinosinusitis aguda o crónica u otras infecciones fúngicas tales como la otitis, dermatitis, bronquitis, neumonías tales como por *Pneumocystis carinii*, las infecciones fúngicas de órganos sexuales, tales como colpitis, endometritis, balanitis, infecciones fúngicas del tracto gastrointestinal, tales como estomatitis, esofagitis, enteritis, o infecciones fúngicas de la uretra tales como pielonefritis, ureteritis, cistitis, o uretritis. Además, las composiciones descritas en la presente memoria tienen actividad antimicrobiana contra muchos otros microorganismos, incluyendo *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactobacillus*, levaduras, enterococos resistentes a vancomicina, mohos y esporas, incluyendo esporas de ántrax y quistes de *Acanthamoeba*. En particular, las disoluciones de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de varias cepas diferentes de *Bacillus anthracis*. Las bacterias resistentes a vancomicina, MRSA y otras, son destruidas fácilmente por las composiciones de la presente invención. Los ejemplos de bacterias implicados en la enfermedad periodontal y destruidas por las composiciones de esta invención son *Bacteriodes gingivalis*, *B. intermedius*, *Actinomyces actinomycetemcomitans* y *B. forsythus*. Los ejemplos de bacterias implicadas en la mastitis (infección de ubre de vaca) y destruidas por las composiciones son *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus infantarius*. Las composiciones destruyen biopelículas y por lo tanto son eficaces contra el crecimiento de microbios tanto en forma planctónica como en biopelículas.

- 40 En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para tratar diferentes afecciones médicas seleccionadas de los grupos que consisten en promover la cicatrización, reducción de patógenos en heridas abiertas, descontaminación de heridas, irrigación/preparación del lecho de la herida, desinfección o descontaminación ocular, desinfección oral, terapia nasofaríngea, terapia antifúngica, aplicaciones oftálmicas, cirugía oral y odontología, aplicaciones en otología, reducción de patógenos en infecciones pulmonares, reducción de patógenos en quemaduras, lavado, reducción de la carga infecciosa en órganos para trasplante, reducción de la carga bacteriana en trasplante de tejido autólogo o artificial, desinfección oral, terapia antifúngica, tratamiento de biopelícula para la fibrosis quística u otras enfermedades que producen biopelículas, tratamiento de infecciones víricas, tratamiento de enfermedades de la piel y reparación y regeneración de tejido, cuyo método comprende usar la disolución de la invención aplicando la disolución en el sitio donde se requiere el tratamiento tal como en la cirugía pre y posoperatoria, cardiovascular, resección de tumores sólidos en oncología.

- 50 Como ejemplo, la dosificación para usar en heridas crónicas de un tamaño de aproximadamente 25 cm<sup>2</sup> puede estar en el intervalo de 30 ml de disolución que contienen de 2 a 200 mg de principio activo donde el principio activo es la NNDCT, y la disolución se puede aplicar de 1 a 10 veces al día o lo que se considere necesario para el tratamiento eficaz de la herida. En algunos casos, la composición puede contener de 0,1 a 100 mM de principio activo. Las dosificaciones en otras aplicaciones se ajustarán al área local dependiendo de donde se requiera la actividad antimicrobiana y de la gravedad de la infección.

Las composiciones de la invención

- 55 En un aspecto las composiciones en forma de disoluciones están osmóticamente equilibradas, y tienen citotoxicidad mínima. En otro aspecto, las composiciones no están osmóticamente equilibradas y tienen citotoxicidad mínima.

En otro aspecto las composiciones descritas en la presente memoria tienen un índice terapéutico de aproximadamente 1000 a aproximadamente 5.000, definido por la relación de su índice de citotoxicidad de la concentración inhibidora de 50% (CI<sub>50</sub>) después de 1 hora tanto frente a células epiteliales de pulmón de ratón L929

como a fibroblastos primarios humanos, a su concentración mínima bactericida contra *Escherichia coli* ATCC 11229 a 37°C durante 1 hora.

Debido a que las composiciones de la presente invención no son tóxicas y tienen propiedades antibacterianas, son útiles en cualquier aplicación en que sean deseables propiedades antimicrobianas. Dichas aplicaciones incluyen, sin limitación, tratamiento de heridas, quemaduras y aftas; irrigación; el tratamiento de diferentes infecciones fúngicas tales como onicomicosis (infecciones fúngicas de las uñas de manos y pies), limpieza de sitios de tejidos (p. ej., pre y posoperatorio); aplicaciones oftálmicas (p. ej., en disoluciones de limpieza de lentes de contacto o para la irrigación del ojo antes, durante o después de cirugía oftálmica); para aplicaciones dermatológicas, limpieza facial de infección microbiana, herpes labial, granos, psoriasis; y numerosas aplicaciones que son fácilmente apreciables para el experto en la técnica, tales como aplicaciones dentales incluyendo el tratamiento de gingivitis o periodontitis, y aplicaciones en salud animal (incluyendo el tratamiento de mastitis). Las aplicaciones también incluyen la eliminación o reducción de patógenos en superficies incluyendo equipamiento médico, instrumentos, conservación de órganos, desinfección en implantes, dispositivos o alimentos (sin limitar a carne, frutas, verduras) y superficies de contacto de los alimentos incluyendo la eliminación o reducción de biopelículas bacterianas. A diferencia de muchas composiciones antiinfecciosas usadas en aplicaciones similares, las composiciones de la invención no tienen o tienen efectos secundarios mínimos.

Las composiciones de la invención que comprenden N-halogeno-aminoácidos de las fórmulas (I) o (IIA) y sus derivados, y un compuesto halogenado seleccionado de ácido hipohalogenoso o una sal del mismo, se pueden incorporar en una variedad de aplicaciones, incluyendo vendas o apósitos para heridas. Las composiciones en forma de disoluciones ácidas fisiológicamente equilibradas se pueden usar en combinación con vendas especialmente diseñadas en un protocolo de tratamiento de heridas. Las vendas especializadas pueden incluir una abertura o "ventana" a través de la cual se pueden aplicar los materiales de tratamiento tópico tales como la disolución de la presente invención. Las composiciones también se pueden aplicar en aplicaciones (por ejemplo, tratamiento de quemaduras) en las que es conveniente mantener un entorno húmedo y estéril sin alterar el apósito. En uno de dichos ejemplos se coloca un tubo perforado entre el apósito y la venda o envuelta exterior. Periódicamente se pasa la composición por el tubo irrigando así el apósito con nueva disolución antimicrobiana.

También se describe en la presente memoria un artículo de fabricación que comprende la composición de la invención envasada en un recipiente. Las superficies del recipiente que están en contacto con la composición de la invención están hechas de material que no es reactivo con un agente oxidante.

La estabilidad de una disolución de N-halogeno-aminoácidos y sus derivados permite el uso de diferentes formas de envasado que serán prácticas para su uso por los pacientes. La disolución se puede envasar en varias botellas de vidrio transparente o ámbar, de un solo uso, de 20 a 40 ml o 30 ml, con tapones de rosca revestidos de Teflon y sellados con cinta para asegurar la estanqueidad a los gases. En un aspecto, la misma disolución se puede envasar en una botella de vidrio ámbar de 250 ml o en una botella de plástico no reactivo de 250 ml. Sin embargo, se pueden usar botellas de hasta 5 litros, porque dichos volúmenes grandes son prácticos para el tratamiento de quemaduras. El almacenamiento en estos receptáculos asegura la estabilidad a largo plazo requerida para los usos de las composiciones descritas en la presente memoria en detalle. Además, el envasado puede incluir un sistema de cámara doble donde el componente A se mezcla con el componente B para formar el producto final. Las composiciones se pueden usar en concentraciones adecuadas y en vehículos de suministro o excipientes que no son irritantes y son adecuados para suministrar el compuesto activo en el sitio de acción pretendido, tales como lociones, disoluciones, cremas, emulsiones, pomadas, bálsamos, pastas, pulverizadores, aerosoles, geles, parches, sólidos, barras, disoluciones acuosas, disolventes orgánicos u otras composiciones base. En general, los sistemas de excipientes se pueden describir como que son disoluciones, cremas, emulsiones, geles, sólidos y aerosoles. El suministro también puede incluir medios especiales de suministro, tales como un pesario o supositorio. Los compuestos también se pueden incorporar como agentes activos o precursores inactivos en o sobre dispositivos médicos, tales como catéteres, endoprótesis vasculares, marcapasos, agujas o tubos.

En un aspecto, las disoluciones de la presente invención se pueden almacenar en recipientes de un solo uso. En otro aspecto, las disoluciones de la invención se pueden almacenar en recipientes de un solo uso de diferentes tamaños, configuraciones y que tienen diferentes volúmenes adecuados para las aplicaciones deseadas como se describe en la presente memoria. En algunas aplicaciones, por ejemplo, la disolución de la invención se puede almacenar en recipientes de un solo uso de 30 ml, opcionalmente desechables. En un aspecto, la presente composición se puede almacenar en forma de polvo junto con excipientes farmacéuticamente aceptable con gas inerte a temperatura ambiente.

Las composiciones de la invención pueden incluir los siguientes excipientes farmacéuticamente aceptables: cloruro sódico para alcanzar la isotonicidad, tampones, estabilizantes, disolventes, agentes de sabor (en el caso de administración oral o nasofaríngea y en la industria alimentaria), agentes conservantes, diluyentes, aditivos y otras sustancias auxiliares o excipientes. Se describen ejemplos específicos de vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en 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), cuyas descripciones se incorporan en la presente memoria en su totalidad. En

general, pueden ser vehículos adecuados para las disoluciones el agua, un aceite adecuado, disolución salina, alcoholes inferiores y glicoles tales como propilenglicol o polietilenglicoles. En un aspecto, las disoluciones contienen el principio activo en una forma soluble en agua o soluble en medio acuoso, por ejemplo en forma de una sal, junto con agentes estabilizantes adecuados, y si es necesario sustancias tampón. Además, las disoluciones pueden

5 contener conservantes, tales como cloruro de benzalconio, metil o propilparabén y clorobutanol. Se describen vehículos farmacéuticos adecuados en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, el texto de referencia convencional en este campo identificado antes.

Las composiciones pueden comprender además otros principios activos, tales como antibacterianos, siempre que no interfieran con la estabilidad o la función de los N-halogeno-aminoácidos de la invención.

10 Las cantidades o concentraciones de N-halogeno-aminoácidos en las composiciones de la invención pueden variar en intervalos muy amplios. Por ejemplo, una composición puede contener de 0,001 a 100% en peso de la composición del N-halogeno-aminoácido. En el caso de 100%, las composiciones se pueden aplicar en forma de un polvo sin ninguna sustancia vehículo. Un intervalo típico de la composición incluirá de 0,1 a 95% en peso de la composición del N-halogeno-aminoácido, por ejemplo de 0,1 a 50%, o de 0,1 a 10%, por ejemplo de 0,5 a 5%. En

15 disoluciones, normalmente se aplicará una concentración menor del N-halogeno-aminoácido. Por ejemplo, en el caso de un lavado o pulverizador puede ser adecuada una concentración de 1 a 2%. En otro aspecto, la concentración del compuesto y la composición descritos en la presente memoria, puede ser de aproximadamente 0,01% a 20% en peso de la composición.

20 En el caso de aplicación nasofaríngea, se puede usar un catéter para la aplicación nasal que contiene de 0,5 a 5%, por ejemplo una disolución al 1% del N-halogeno-aminoácido o su sal, y un compuesto halogenado con un pH de 2-8, preferiblemente de 3,5 a 5, durante varias semanas usando aproximadamente de 5 a 50 ml, por ejemplo de 10 a 15 ml de la disolución para cada tratamiento. Después de cada tratamiento se aspirará la disolución de lavado.

25 La invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden (i) al menos un compuesto halogenado y (ii) al menos un derivado N-halogenado de al menos un compuesto seleccionado de aminoácidos descritos en la presente memoria. Más específicamente, dichas composiciones incluyen un derivado N-halogenado de fórmula (I) o (IIA), o un derivado del mismo. En un aspecto, el compuesto halogenado es un hipohaluro de metal alcalino tal como hipoclorito sódico, pero más preferiblemente un ácido hipohalogenoso, lo más preferiblemente ácido hipocloroso. Estas composiciones farmacéuticas binarias tienen efecto antiinflamatorio, inmunomodulador, bactericida, antibacteriano, antiinfeccioso, antimicrobiano, esporicida, desinfectante, antifúngico y antivírico, y de estimulación de cicatrización de tejidos, sin presentar estimulación sustancial de actividad de mieloperoxidasa en un mamífero. La valoración del hipoclorito de estas composiciones farmacéuticas está por debajo o es igual a 1 mol/litro de cloro disponible, en particular de un hipoclorito de un metal alcalino, en especial hipoclorito de sodio o ácido hipocloroso. Su valoración mínima es mayor o igual a aproximadamente 1 picomol/litro. La valoración de la N-cloramina o N,N-dicloramina en estas composiciones es menor o igual a aproximadamente 5 moles/litro con un mínimo de 0,01

35 femtomoles/litro.

Las composiciones binarias de la invención se pueden combinar con excipientes o vehículos que son adecuados para un uso particular. Los excipientes o vehículos adecuados se describen en la presente solicitud, pero también se pueden encontrar consultando libros de texto, tales como Remington. Para las composiciones líquidas el agua es un excipiente o vehículo preferido, aunque también se pueden usar otros vehículos compatibles no oxidables. Algunas

40 composiciones acuosas contendrán agua purificada osmótica (isotónica). Otras composiciones no requieren el equilibrio osmótico. Las composiciones acuosas también pueden contener diversos agentes que son compatibles con el compuesto halogenado y el derivado halogenado de al menos un compuesto seleccionado de los aminoácidos descritos en la presente memoria, así como compatibles con el uso que se dará a la composición. Si las composiciones están destinadas a un uso farmacéutico y a la administración a seres humanos o animales, los excipientes o vehículos deben ser farmacéuticamente aceptables, de modo que sean sustancialmente no tóxicos y no interfieran con el uso pretendido de las composiciones farmacéuticas. El experto en la técnica será consciente de que las características de la composición se pueden variar o modificar. Dicha modificación se puede realizar con respecto a la estabilidad, por ejemplo, incluyendo estabilizantes; con respecto al pH incluyendo agentes de ajuste del pH, tales como tampones, bases o ácidos; con respecto a la densidad mediante agentes que influyen en la

45 densidad, por ejemplo diluyentes que reducen la densidad o mediante agentes que aumentan la densidad que tienen una densidad mayor que el agua; con respecto a la solubilidad, añadiendo solubilizantes; con respecto a la viscosidad añadiendo agentes que afecten a la viscosidad, sea aumentándola, por ejemplo añadiendo polímeros biocompatibles, o reduciéndola añadiendo agentes que tengan un perfil de viscosidad bajo; con respecto a la coloración añadiendo colorantes o agentes colorantes compatibles que no son oxidados por los componentes halogenados binarios; con respecto a las propiedades humectantes añadiendo agentes tensioactivos o tensioactivos adecuados; con respecto a las propiedades olfatorias y gustativas de las composiciones binarias, añadiendo agentes que presentan un olor o sabor atractivo, por ejemplo, para facilitar el uso de las composiciones para determinados usos o usuarios.

La preparación de la composición binaria depende de su forma, de si está en forma sólida, líquida o gaseosa. Las

60 composiciones sólidas pueden ser en forma de un polvo o gel. Las composiciones semisólidas pueden estar en forma de una pomada o crema. Las composiciones líquidas pueden estar en forma de una disolución, emulsión o

suspensión o un aceite. Las composiciones gaseosas pueden estar en forma de un aerosol. Se pueden encontrar detalles para dichas preparaciones para usos farmacéuticos en Remington; se pueden encontrar productos de consumo en "The Chemical Formulary", H. Bennett Ed, Chemical Publishing Company (1998), vol. XXXIV.

Métodos específicos para usar las composiciones de la invención

- 5 En un aspecto, las composiciones de la invención se administran o usan por vía tópica.

Las disoluciones ácidas de la presente invención se pueden usar para tratar una serie de pacientes con heridas profundas, que no responden a la medicación y a los tratamientos aplicados localmente habituales. En un aspecto, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de diferentes afecciones médicas tales como promover la cicatrización, reducción de patógenos en heridas abiertas, descontaminación de heridas, desinfección o  
10 descontaminación ocular, desinfección oral, terapia antifúngica, aplicaciones oftálmicas, reducción de patógenos en infecciones pulmonares, reducción de patógenos en quemaduras, lavado, reducción de la carga infecciosa en órganos para trasplante, reducción de la carga bacteriana en trasplante de tejido autólogo o artificial, desinfección oral, terapia antifúngica, tratamiento de biopelícula para la fibrosis quística y enfermedades relacionadas, tratamiento de infecciones víricas, tratamiento de enfermedades de la piel, y reparación y regeneración de tejido, cuyo método  
15 comprende usar la disolución de la presente invención aplicando la disolución en el sitio donde se requiere el tratamiento. Los ejemplos no limitantes de biopelículas que se pueden tratar usando las disoluciones de la presente invención incluyen los citados en el artículo de revisión titulado "Is there a role for quorum signals in bacterial biofilms?" de S. Kjelleberg, and S. Molin, PMID: 12057677 (PubMed-indexed for MEDLINE).

Las disoluciones de la invención pueden ser eficaces para reducir la carga bacteriana mejorando así la cicatrización. Las disoluciones pueden ser bien toleradas, mejorar la granulación del tejido de la herida, reducir la necesidad de desbridamiento comparado con las disoluciones de la técnica anterior refiriendo los pacientes menos dolor durante su tratamiento y potencialmente pueden amortiguar la respuesta inflamatoria por regulaciones de citoquinas. Véase, Mainnemare 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. Revisión.

#### 25 Cuidado oral

La disolución ácida de la invención se puede usar para tratar aftas (úlceras bucales) o herpes labial mediante lavado de la zona afectada. Por ejemplo, la disolución se puede usar mojando el herpes labial 3-4 veces al día, cada vez con 2-3 aplicaciones, y poniendo la disolución en contacto con el herpes durante 20-30 segundos. La disolución también se puede usar como un lavado bucal para la higiene dental y bucal y para controlar la infección. En este caso, la disolución se puede usar como una disolución para hacer gárgaras para combatir la infección de garganta. La disolución se puede aplicar con ayuda de una torunda de algodón para zonas más específicas. La disolución se puede usar una o varias veces al día según las necesidades y la afección del paciente.

#### Cuidado del equipamiento dental

La elección de agentes específicos de limpieza o desinfección de la invención es en gran medida una cuestión de criterio, guiada por las especificaciones declaradas e instrucciones del producto y la normativa gubernamental. Una sola composición química líquida puede no satisfacer todos los requisitos de desinfección en una práctica o instalación dental dada. El uso realista de una composición líquida que contiene un N-halogeno-aminoácido junto con un compuesto hipohalogenoso inorgánico, depende de la consideración de múltiples factores, incluyendo el grado de destrucción microbiana requerida; la naturaleza y la composición de la superficie, artículo o dispositivo que se va a tratar; y el coste, seguridad y facilidad de uso de los agentes disponibles. Puede ser más conveniente la selección de un producto adecuado con un mayor grado de potencia para cubrir todas las situaciones.

En Estados Unidos, los germicidas químicos líquidos (desinfectantes) están regulados por la EPA y la FDA. En los centros sanitarios la EPA regula los desinfectantes que se usan en las superficies ambientales (mantenimiento de las instalaciones y superficies de contacto clínicas), y la FDA regula los esterilizantes/desinfectantes de alto nivel químicos líquidos usados en dispositivos de atención a pacientes críticos o semicríticos. Los desinfectantes destinados al uso en superficies de contacto clínicas (p. ej., mangos de las luces, cabezas de rayos radiográficas o tiradores de cajones) o superficies de las instalaciones (p. ej., suelos, paredes o fregaderos) son reguladas en el comercio interestatal por la División de antimicrobianos, Oficina de programas de plaguicidas, EPA, bajo la autoridad de la Ley Federal de insecticidas, fungicidas y roenticidas (FIFRA) de 1947, enmendada en 1996. Según la FIFRA cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinada a prevenir, destruir, repeler o mitigar cualquier plaga, incluyendo microorganismos, pero excluyendo aquellos en o sobre el hombre o animales vivos, debe registrarse antes de la venta o distribución. Para obtener un registro, un fabricante debe enviar los datos específicos relacionados con la seguridad y la eficacia de cada producto.

Las formulaciones de la invención se pueden ensayar usando métodos aceptados para la actividad, estabilidad y toxicidad microbiocida en animales y seres humanos. Estos datos deben presentarse a la EPA con el etiquetado propuesto. Si la EPA concluye que el producto se puede usar sin causar efectos adversos excesivos, se da al producto y su etiquetado un número de registro en la EPA, y el fabricante entonces puede vender y distribuir el producto en Estados Unidos. La FIFRA requiere que los usuarios del producto sigan las instrucciones del etiquetado

en cada producto de forma explícita. Aparece la siguiente declaración en todas las etiquetas de productos registrados por la EPA bajo el encabezamiento de las instrucciones de uso: "Es una violación de la ley federal usar este producto de manera que no sea la indicada en la etiqueta." Esto significa que las instalaciones de salud dental deben seguir las medidas de seguridad e instrucciones de uso de la etiqueta de cada producto registrado. El no seguir la dilución especificada, el tiempo de contacto, el método de aplicación o cualquier otra condición de uso, se considera un mal uso del producto.

La FDA bajo la autoridad de la enmienda para dispositivos médicos de 1976, de la Ley de alimentos, medicamentos y cosméticos, regula los germicidas químicos si se anuncian y comercializan para usar en dispositivos médicos específicos (p. ej., conducto de agua de unidad dental o endoscopio flexible). Una composición química líquida de la invención comercializada para usar en un dispositivo específico se considera, para propósitos reguladores, en sí misma un dispositivo médico cuando se usa para desinfectar ese dispositivo médico específico. Además, esta autoridad reguladora de la FDA sobre un instrumento o dispositivo particular dicta que el fabricante está obligado a proporcionar al usuario instrucciones adecuadas para el uso seguro y eficaz de ese dispositivo. Estas instrucciones deben incluir métodos para limpiar y desinfectar o esterilizar el artículo si se va a comercializar como dispositivo médico reutilizable.

El Centro para el control de enfermedades CDC recomienda desinfectar superficies ambientales o esterilizar o desinfectar equipamiento médico, y los profesionales DHCP deben usar productos aprobados por la EPA y la FDA a menos que dichos productos no estén disponibles para usar contra algunos microorganismos o sitios. Sin embargo, si no están disponibles productos registrados o aprobados para un patógeno específico o situación de uso, se aconseja a los profesionales DHCP seguir la guía específica relacionada con los usos no registrados o no aprobados (p. ej. para indicaciones no autorizadas) para diferentes germicidas químicos. Por ejemplo, no hay productos antimicrobianos registrados para usar específicamente contra determinados patógenos emergentes (p. ej., virus Norwalk), potenciales agentes de terrorismo (p. ej., viruela mayor o *Yersinia pestis*), o agentes de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

Un punto que hay que aclarar es la diferencia de cómo clasifican la EPA y la FDA los desinfectantes. La FDA adoptó la misma terminología básica y esquema de clasificación del CDC para clasificar los dispositivos médicos (es decir, crítico, semicrítico y no crítico) y para definir la potencia antimicrobiana para el procesamiento de superficies (es decir, esterilización, desinfección de nivel alto, intermedio y bajo). La EPA registra los desinfectantes de superficies ambientales basándose en la actividad microbiológica que el fabricante declara cuando registra su desinfectante. Esta diferencia ha llevado a la confusión por parte de los usuarios porque la EPA no usa los términos de desinfectantes de nivel intermedio y bajo como se usa en las guías del CDC.

La potencia contra *Mycobacterium tuberculosis* se ha reconocido como una referencia sustancial. Sin embargo la declaración tuberculicida se usa solo como una referencia para medir la potencia germicida. La tuberculosis no es transmitida por las superficies ambientales sino más bien por la vía aérea. Por consiguiente, el uso de dichos productos en superficies ambientales tiene una función en la prevención de la propagación de la tuberculosis. Sin embargo, debido a que las micobacterias tienen de los niveles intrínsecos de resistencia más altos entre las bacterias vegetativas, virus y hongos, una composición de la invención cuando se designa con una especificación tuberculicida en la etiqueta, se considera que es capaz de inactivar un amplio espectro de patógenos, incluyendo los organismos menos resistentes tales como los patógenos transmitidos por la sangre (p. ej., VHB, VHC, VIH). Es esta capacidad de espectro amplio, más que la potencia específica del producto contra las micobacterias, lo que es la base para los protocolos y regulaciones que dictan el uso de productos químicos tuberculicidas para la desinfección de superficies.

La EPA también lista productos desinfectantes de acuerdo con su uso etiquetado contra esos organismos de interés como sigue:

- Lista B. Productos tuberculicidas eficaces contra especies de micobacterias.
- Lista C. Productos eficaces contra el virus VIH-1 humano.
- Lista D. Productos eficaces contra el virus VIH-1 humano y el VHB.
- Lista E. Productos eficaces contra especies de micobacterias, virus VIH-1 humano y VHB.
- Lista F. Productos eficaces contra el VHC.

Los microorganismos varían en su resistencia a la desinfección y esterilización, permitiendo la designación de la CDC de los desinfectantes como de nivel alto, intermedio y bajo comparado con el espectro de organismos designados por la EPA. Sin embargo, existen excepciones a esta guía general, y siempre deben seguirse las instrucciones y las especificaciones declaradas por el fabricante.

#### Cuidado e higiene dental

Enfermedad periodontal es una expresión general usada para describir enfermedades que afectan al tejido gingival y conjuntivo conectado al hueso y al diente en la mandíbula. Véase "Periodontal Disease", Ray Williams, *New England Journal of Medicine* 322: 373-382, 1990). La gingivitis (una etapa temprana de la enfermedad) y la periodontitis son causadas por bacterias específicas y la reacción del hospedante a la enfermedad. Por ejemplo, se ha implicado un

aumento en actinomyces y también la presencia de *Fusobacterium nucleatum*, especies de *Lactobacillus*, *Veillonella* y *Treponema* en causantes de la gingivitis. La periodontitis adulta está asociada con *Bacteriodes gingivalis*, *B. intermedius*, *Actinomyces actinomycetemcomitans* y *B. forsythus*. También pueden participar una serie de otras especies en la enfermedad periodontal activa.

5 Comúnmente considerada, la terapia antimicrobiana es el uso de antibióticos para ayudar a combatir la enfermedad periodontal (encías), que es causada por ciertas bacterias orales. Típicamente, los antibióticos se usan junto con el raspado y alisado radicular. Algunos dentistas usan la terapia antimicrobiana solo como último recurso, mientras que otros la usan con más frecuencia. En algunos casos, la terapia antimicrobiana puede eliminar la enfermedad periodontal. En otros, todavía es necesaria la cirugía periodontal. Sin embargo, el uso de las composiciones de esta invención formuladas para aplicaciones dentales, denominadas en la presente memoria como las "composiciones dentales" tienen la ventaja clave frente al uso de antibióticos, de que no inducen resistencia a antibióticos, molestias gastrointestinales o efectos alérgicos.

La mayoría de la gente con enfermedad periodontal no recibe terapia antimicrobiana. Esta forma de terapia en general se usa para determinadas situaciones, incluyendo:

- 15 • Gingivitis ulceronecrosante (GUN), una forma agresiva, rara, de enfermedad periodontal que ocurre principalmente en personas de 15 a 35 años
- Enfermedad periodontal de evolución rápida
- Enfermedad periodontal que no ha respondido a otros tipos de tratamiento
- Pacientes que tienen sistemas inmunitarios debilitados u otras afecciones médicas graves.

20 Sin embargo, debido a que el uso de las composiciones dentales de la invención no implica el tratamiento con un antibiótico, las composiciones dentales de la invención se pueden usar con más frecuencia para controlar infecciones microbianas o placa (la acumulación de bacterias que se produce en los dientes) que pueden ser la causa de caries dentales. Aunque la boca contiene muchas cepas bacterianas diferentes, parece que solo algunas cepas producen caries dental. Las composiciones dentales de la invención son eficaces contra el gran número de bacterias encontradas en la boca, en particular contra las bacterias productoras de ácido que son las que producen la caries dental, por ejemplo, *Streptococcus mutans*. Las composiciones de la invención son eficaces para controlar o prevenir caries de superficies lisas, caries de fosas y fisuras así como caries en el esmalte. En el caso de un paciente que tenga bacterias que producen caries especialmente activas en la boca, el dentista puede prescribir un lavado bucal que incluye las composiciones dentales de la invención durante varias semanas para destruir las bacterias que producen las caries dentales.

Las composiciones dentales de la invención también son útiles para el tratamiento simultáneo de la pulpitis, una inflamación dolorosa de la pulpa dental, para el tratamiento de un absceso periapical, que es una acumulación de pus o celulitis que se originan en una infección bacteriana. Las composiciones dentales de la invención se pueden usar junto con antibióticos.

35 Las composiciones dentales de la invención también son adecuadas para el tratamiento de enfermedades periodontales causadas por la acumulación de bacterias, tales como la gingivitis, gingivoestomatitis herpética causada por infección vírica, gingivitis en el embarazo causada por cambios hormonales, pericoronitis donde la encía se hincha sobre el diente que no ha salido completamente o gingivitis asociada a leucemia, o periodontitis, un tipo de gingivitis que se extiende a las estructuras de soporte del diente.

40 Las composiciones dentales de la invención se pueden usar junto con la higiene dental profesional realizada, bien sea durante la limpieza de los dientes o bolsas usando raspado o después de la atención profesional de los pacientes por higienistas dentales.

Antes de elegir las composiciones de la presente invención, un dentista puede decidir tomar una muestra de las bacterias y enviarla a un laboratorio. El laboratorio cultiva las bacterias, las identifica y determina que concentración o formulación de las composiciones de la invención funcionará mejor contra estas. El dentista o periodontista usará entonces esta información para prescribir la composición dental que es la más eficaz para la infección. Sin embargo, debido a que las composiciones dentales de la invención son tan eficaces para destruir las bacterias que producen las enfermedades dentales, con frecuencia se puede omitir esta etapa.

50 La terapia para la enfermedad periodontal se puede dar de forma sistémica o local. La terapia local se da en el sillón dental e implica poner la composición dental directamente en las partes afectadas de la boca. Hay varios tipos de terapia local, que incluyen:

- Gel - El dentista inyecta un gel que contiene las composiciones de la invención bajo las encías. La zona se sella y se cubre con una venda especial para evitar fugas. Después de 7 a 10 días, el dentista retira la venda y el gel que quede.
- 55 • Chip - El dentista coloca un chip que contiene una composición dental que contiene los N-halogeno- o N,N-dihalogeno-aminoácidos bajo las encías. El chip se disuelve a lo largo de 7 a 10 días.

- Polvo - El dentista echa un chorro de un polvo que contiene las composiciones de la invención bajo las encías. El polvo se disuelve a lo largo de un periodo de 3 semanas.

- Cinta - El dentista coloca una fibra de tipo hilo dental bajo las encías que libera lentamente los N-halogeno- o N,N-dihalogeno-aminoácidos. La cinta se retira después de aproximadamente 10 días.

5 • Microesferas - Las composiciones de la invención se formulan en materiales vehículo compatibles en forma de microesferas, micropartículas o microcápsulas bioerosionables o biodegradables, que se colocan en la bolsa de la encía, y liberan lentamente las composiciones. El polímero vehículo debe ser sustancialmente resistente frente a los N-cloro- o N,N-dihalogeno-aminoácidos y el compuesto halogenado y disolverse a lo largo del tiempo. Se pueden encontrar ejemplos de dichos polímeros en un artículo de J. C. Middleton, A. J. Tipton en *Medical Plastics and Biomaterials Magazine*, March 1998, p.30.

La terapia antimicrobiana normalmente dura de 1 a 2 semanas. Una vez el dentista ha decidido usar la composición que comprende N-halogeno-aminoácidos y un compuesto halogenado, por ejemplo, el paciente se someterá primero a raspado y alisado radicular. El procedimiento elimina placa y sarro de debajo de la línea de las encías y alisa cualquier protuberancia o zona irregular en las raíces de los dientes, donde la placa se puede acumular fácilmente. Después del raspado y alisado radicular, el dentista puede prescribir algún tipo de terapia antimicrobiana local.

#### Mantenimiento posterior

El dentista examinará nuevamente a un paciente después de 2 ó 3 meses, para ver si la terapia es eficaz. Si la enfermedad no responde al tratamiento con la composición que comprende los N-halogeno-aminoácidos y un compuesto halogenado, la siguiente etapa dependerá de varios factores, incluyendo la gravedad de la enfermedad. El dentista puede prescribir un antibiótico o programar una cirugía periodontal. Algunos pacientes pueden recibir varios ciclos de tratamiento con N-halogeno-aminoácidos y un compuesto halogenado antes de que su enfermedad responda. Otros necesitan una terapia con antibiótico a largo plazo para mantener su enfermedad controlada. Una vez que el paciente se ha sometido al tratamiento satisfactorio de la enfermedad periodontal, es importante ayudar a prevenir la recaída. También se puede usar hilo dental impregnado después de una visita al dentista para proporcionar contacto continuo de las zonas afectadas con las composiciones que contienen los N-halogeno-aminoácidos y un compuesto halogenado. La terapia de mantenimiento implica visitas regulares al dentista o periodontista; esto es normalmente cada dos a cuatro meses para las personas tratadas de periodontitis, y cada seis meses para las personas tratadas de gingivitis.

Las composiciones dentales de la invención tienen el beneficio de evitar los riesgos de la terapia antibiótica, tales como la resistencia a antibiótico o una reacción alérgica a la medicación con antibióticos o reacciones adversas (tales como erupción cutánea, urticaria o malestar estomacal). Como con otros tipos de infecciones, el uso inadecuado de antibióticos puede conducir a que los organismos se hagan resistentes a los efectos de estos medicamentos. Como parte de la terapia preventiva, el paciente puede usar las composiciones como una disolución para el lavado oral o aplicación directa a las encías (bolsas) usando un aplicador.

#### Cuidado oftálmico

La disolución ácida, fisiológicamente equilibrada de la invención se puede usar en lugar de una disolución salina para eliminar un cuerpo extraño, para lavar o para irrigar los ojos. También se pueden aplicar por vía tópica antes o después de cirugía para desinfectar un ojo y los tejidos de alrededor. La disolución se puede usar una o varias veces al día según las necesidades y la afección del paciente. La disolución se puede aplicar mediante gotas directamente en los ojos cuando sea necesario. También se puede aplicar empapando una gasa y aplicando la gasa saturada a los ojos durante uno o varios minutos. También se puede usar para limpiar los ojos pasando suavemente la gasa saturada por los ojos. La disolución también se puede verter en un pequeño lavador de ojos, después el lavador se invierte sobre el ojo y se abre y cierra el párpado varias veces.

La disolución ácida fisiológicamente equilibrada de la invención se puede usar para el tratamiento de la desinfección o descontaminación ocular. Además, se puede usar como sustituto del nitrato de plata en la desinfección de los ojos de los recién nacidos.

Las disoluciones de la presente invención se pueden usar para limpiar los ojos en adultos y en pediatría. Por ejemplo, se pueden tratar diferentes infecciones víricas, bacterianas o fúngicas, o agentes patógenos, eficazmente con la disolución de la presente invención. Los ejemplos no limitantes de agentes patógenos que se podrían tratar satisfactoriamente con la disolución de la presente invención incluyen Chlamydia tracomatis, gonorrea así como otras infecciones bacterianas, fúngicas y víricas. Las composiciones de la presente invención se pueden usar en especial para la desinfección pre y posoperatoria.

El lector verá que la disolución de la invención tiene aplicaciones en el tratamiento de muchos tipos diferentes de heridas, incluyendo, sin limitación, úlceras diabéticas, gangrena, úlceras venosas, úlceras de decúbito, úlceras por presión, heridas debidas a picaduras, heridas por traumatismo agudo, heridas quirúrgicas y quemaduras. La composición de la invención también es útil como una disolución de irrigación, por ejemplo, durante procedimientos

dentales, periodontales y oftálmicos. La composición de la invención también se puede usar en la limpieza pre y posoperatoria de los sitios de los tejidos, y como disolución para hacer gárgaras para el tratamiento de aftas.

Métodos de uso de una disolución para la desinfección de la piel:

- 5 La disolución de la presente invención también se puede usar para tratar la piel que está infectada. En la piel de un paciente que presenta signos médicos de infección, la disolución de la presente invención se puede aplicar directamente a la zona de la piel que está infectada, Después de al menos una aplicación de la disolución sobre la piel infectada usando métodos convencionales de aplicación conocidos en la técnica, se pueden notar las propiedades desinfectantes de la disolución.

Reducción de patógenos en infecciones pulmonares:

- 10 La disolución de la presente invención se puede usar para reducir los patógenos en infecciones pulmonares. Por ejemplo, se pueden tratar diferentes infecciones víricas o bacterianas y fúngicas de forma eficaz con la disolución de la presente invención. Los ejemplos no limitados de infecciones que se pueden tratar de forma eficaz usando la disolución de la presente invención incluyen las de esporas de ántrax presentes en los pulmones, y la reducción de bacterias en los pulmones que causan neumonía, incluyendo bacterias estreptococos y similares.

- 15 Métodos de uso de las disoluciones de la invención en ginecología:

- 20 La composición de la presente invención se puede usar para tratar infecciones ginecológicas, tales como infecciones del tracto urinario y similares. Por ejemplo, se pueden tratar de forma eficaz diferentes microorganismos, levaduras (p. ej., *Monilia*, *Candida albicans*, etc.), infecciones bacterianas, VHS-2, VIH u otros agentes patógenos, con la disolución de la presente invención. Opcionalmente, la aplicación de las disoluciones de la presente invención, se puede usar con otros medicamentos para el tratamiento de infecciones ginecológicas. Por ejemplo, el uso como lavado de la vía de parto en pacientes mujeres embarazadas con presuntas enfermedades venéreas y potencialmente como disolución de baño y de limpieza en bebés justo después de nacer en las salas de parto de los hospitales o como desinfectantes de catéteres y comunicación arteriovenosa en sala de diálisis.

Método de uso como un tratamiento para infecciones tópicas

- 25 Los compuestos de la presente invención se pueden usar para tratar infecciones tópicas incorporándolos en cremas, pomadas o lociones para usar en dichas afecciones. Dichas cremas, pomadas o lociones se pueden usar en una amplia variedad de afecciones de la piel y pueden incorporar potenciadores de la penetración con el fin de suministrar la actividad antimicrobiana del compuesto a los microbios presentes bajo las capas exteriores (epidermis) de la piel.

- 30 Método de uso para prevenir infecciones en el sitio quirúrgico

- 35 Las disoluciones isotónicas de la presente invención se pueden usar como un irrigante durante la cirugía con el fin de prevenir el desarrollo de infecciones en el sitio de la cirugía, que con frecuencia conducen a hospitalizaciones prolongadas y, en ocasiones, a la muerte. El uso de una disolución de la presente invención en lugar de disolución salina podría reducir sustancialmente los riesgos de dichas infecciones, en especial en el caso de la cirugía gástrica y de operaciones prolongadas donde la tasa de infecciones puede ser tan alta como de 10%.

Método de uso para la desinfección de dispositivos médicos e instrumentos quirúrgicos

- 40 La disolución de la presente invención se puede usar para la reducción de patógenos en las superficies de dispositivos médicos e instrumentos quirúrgicos para prevenir la infección en el paciente en el que se usan los instrumentos y dispositivos, o en el que se implantan. La disolución también se puede usar para la reducción o eliminación de infecciones que se producen en los puertos de entrada de los catéteres y derivaciones que son particularmente propensos a dichas infecciones.

Método de uso para la desinfección de superficies

- 45 La disolución de la presente invención se puede aplicar directamente o mediante suministro por un dispositivo que crea una niebla (aerolización) a las superficies de una habitación, interior de vehículo u otro espacio en su mayor parte confinado, con el fin de reducir o eliminar patógenos infecciosos que se sospecha que puedan estar presentes. En dicha aplicación, se podría usar para descontaminar quirófanos donde se han detectado patógenos infecciosos o salas, vehículos y otras superficies donde se han dispersado agentes de guerra biológica.

Método de uso para mejorar la seguridad alimentaria

- 50 La disolución de la presente invención se puede usar para reducir patógenos en alimentos (incluyendo, sin limitación, carnes, frutas y verduras). La disolución se podría aplicar como un lavado o niebla al alimento o el alimento se podría sumergir en la disolución. La taurina sería el producto residual principal de dicha aplicación y la taurina es un nutriente esencial que se considera que es seguro en alimentos humanos.

La disolución de la presente invención también se puede aplicar a superficies e instrumentos usados en la preparación de alimentos para prevenir la transferencia de patógenos de dichas superficies e instrumentos al alimento.

Método de uso como un conservante antimicrobiano

- 5 Los compuestos de la presente invención se pueden usar como un medio para asegurar que los microbios no pueden sobrevivir en disoluciones destinadas a usar en inyección, infusión o para usar en los ojos, por incorporación de una cantidad adecuada de dicho compuesto en la disolución en el momento de la fabricación.

Método de uso como un antimicrobiano

- 10 La disolución de la presente invención se puede usar como medio para desinfectar de forma segura y rápida las manos de los cirujanos y enfermeras para reducir el riesgo de transportar agentes infecciosos al quirófano. Además, la disolución de la presente invención se puede usar para eliminar el agente infeccioso de la piel de los pacientes (pre y posoperatorio) en la zona de una incisión quirúrgica.

Método de cuidado de heridas

- 15 Los pacientes que padecen heridas prolongadas que no curan, deben tratarse con la composición ácida de la presente invención diariamente, normalmente de 1 a 2 veces al día.

- 20 La disolución de la invención se puede usar como sigue: un material de gasa o una almohadilla de gasa se empapa previamente con suficiente disolución para saturarlo y después se escurre apretando para eliminar el exceso de disolución. Esto elimina las especies presentes en la gasa que reaccionarían y reducirían la eficacia de la disolución de la invención. Después de este procedimiento la gasa está mojada, pero no empapada. Después se aplica disolución adicional para mojar completamente la gasa, que después se aplica inmediatamente a la herida. De forma alternativa, la gasa se puede aplicar a la herida y después aplicar disolución adicional. Típicamente, el sitio de la herida se comprime con la gasa empapada en disolución, y opcionalmente se puede aplicar una gasa Vaseline en la parte superior de la herida comprimida para mantenerla húmeda y exenta de gérmenes contaminantes. Después el sitio de la herida se envuelve con vendaje como es habitual en la técnica. La disolución también se puede usar para limpiar una herida echándola directamente en el sitio de la herida para eliminar cualquier tejido necrótico mediante un procedimiento mecánico, y también como un limpiador o irrigante.

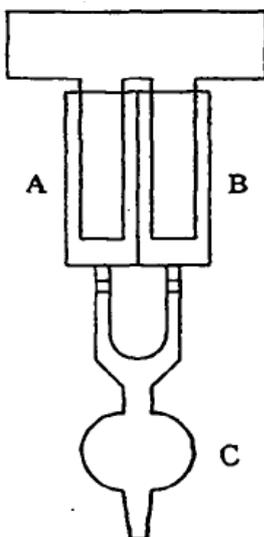
- 30 El paciente también puede usar un "kit de cuidado de heridas" proporcionado por NovaCal que permite al paciente echar periódicamente la disolución de la presente invención sobre el sitio de la herida sin tener que quitar el apósito. Este kit proporciona facilidad de uso, portabilidad y reduce notablemente la exposición de la herida a/de la reinfección. El kit de cuidado de heridas incluye un envase que contiene la disolución de la invención y material de venda. Con frecuencia el kit contiene un envase que contiene la disolución de la invención y una venda especializada para usar en combinación con la disolución. La venda especializada mantiene la piel alrededor de la herida seca mientras se trata la herida. Además, la venda la puede aplicar un médico o aplicar en el hospital, continuando el paciente el cuidado en casa; se puede aplicar y usar en casa siguiendo las instrucciones de un médico; o para lesiones menores, el kit de cuidado de heridas lo puede usar el paciente solo como un tratamiento "sin receta".

Envasado para algunos usos

- 40 En otro aspecto de la invención, las disoluciones de la presente invención se pueden envasar para contener la disolución en envases individuales de un solo uso. Los envases de un solo uso se pueden usar por ejemplo, para aplicar en cambios únicos de apósito o equivalentes de los mismos. Los envases de un solo uso de la presente invención se pueden usar conjuntamente con las vendas usadas habitualmente. En otro aspecto de la invención, un kit de cuidado de heridas puede comprender envases de un solo uso de las disoluciones de la presente invención con las vendas especializadas para diferentes aplicaciones.

- 45 En otro aspecto de la invención, las disoluciones de la presente invención se pueden producir en el sitio mediante el uso de un aparato o envase de doble cámara, tal como se muestra para la N,N-diclorotaurina (no es un compuesto de la invención) en la imagen con o sin una tercera cámara de mezclado.

### Cámara doble para preparar NNDCT en el sitio



La cámara doble puede consistir en dos jeringas o bolsas. Para hacer la disolución de NNDCT con una concentración de 3,2 mM a pH 3,5, por ejemplo, la cámara A se llena con disolución de NaOCl 12,8 mM, la cámara B se llena con taurina 3,3 mM disuelta en disolución salina acidificada al 1,8%. La acidez de la disolución en la cámara B se ajusta con HCl 1 M de modo que cuando las disoluciones de las dos cámaras se mezclan en un tubo de suministro común o en una cámara C de mezclado, la reacción dará la concentración de NNDCT y el valor de pH deseados. Puesto que la taurina es estable en disolución ácida, y el NaOCl es estable a temperatura ambiente, el uso del método de preparación en el sitio descrito antes, puede evitar el problema de estabilidad de la disolución de NNDCT.

#### 10 Aspectos de la invención

Los diferentes aspectos de la invención se resumen en la sección "Sumario de la invención" y se resumen con más detalle en la siguiente descripción.

Se pueden desarrollar diferentes métodos para preparar los compuestos de la presente invención. Los métodos representativos para preparar estos compuestos se proporcionan en los ejemplos. Sin embargo, los compuestos de la presente invención también se pueden sintetizar por otras rutas como conocen bien los expertos en química sintética.

Algunos de los compuestos presentes tienen centros quirales. La preparación de los compuestos de la presente invención puede dar como resultado la formación de mezclas de diferentes estereoisómeros (enantiómeros, diastereoisómeros). Salvo que se especifique una estereoquímica particular, se pretende que la designación de un compuesto abarque todos los diferentes estereoisómeros posibles.

Los compuestos de la presente invención también se pueden preparar en forma de una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de base también se pueden preparar haciendo reaccionar el ácido con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable.

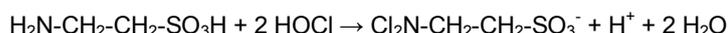
#### 25 Ejemplo 1

##### Método de preparación

Reactivos: Todas las disoluciones se hicieron con agua desionizada o Millipore. La disolución de NaOCl (6%) se adquirió en VWR. La taurina se adquirió en Sigma. El NaCl y HCl son de calidad reactivo.

Síntesis y caracterización de N,N-diclorotaurina (NNDCT) (Referencia, no es según la invención)

30 En este estudio, se preparó la NNDCT disolviendo la taurina en polvo en disolución de HCl (pH 3,5) con una relación de HOCl/Taurina de 2.



5 Para preparar 1 litro de NNDCT 1,6 mM en disolución de NaCl al 0,9% a pH 3,5, se añaden 8,6 g de NaCl en un matraz aforado de 1000 ml y después se añaden 500 ml de agua Millipore al matraz para disolver la sal. Se añaden 2 ml de HCl 1 M en la disolución de NaCl, seguido de la adición de 22 ml de NaOCl 0,158 M. Se mezcla la disolución. Después se añaden 0,267 g de taurina al matraz y se enrasa el matraz aforado con agua Millipore. Se agita la disolución durante 5 min.

La NNDCT tiene un máximo de absorbancia a 300 nm con una absortividad molar de  $370 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Cuando se añadía la disolución de  $\text{OCl}^-$  (pH 9,5) a la disolución de taurina, la N-clorotaurina (NCT) ( $\text{ClHN-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SO}_3^-$ ) era el único producto formado.



10 La NNDCT y NCT son distinguibles por espectrofotometría. La NCT tiene un máximo de absorbancia a 252 nm. El rendimiento de la NNDCT se calculó a partir de su absorbancia a 300 nm. Este método de preparación da un rendimiento de 91% de NNDCT. La valoración yodométrica da una relación de  $\text{I}_2/\text{NNDCT}$  de 2. Esto sugiere que la NNDCT retiene los dos equivalentes oxidantes de HOCl. Ambos restos de cloro en la NNDCT son capaces de oxidar el  $\text{I}^-$  a  $\text{I}_2$ . La NNDCT se descompone en disolución, pero es más estable a baja temperatura. Se llevó a cabo un estudio de estabilidad en la disolución de NNDCT (pH 3,5) a tres temperaturas, 4°C, temperatura ambiente y 40°C. 15 La disolución se selló en ampollas. La estabilidad de la NNDCT a tres temperaturas tiene el siguiente orden: 4°C > temperatura ambiente > 40°C. En 4 semanas se pierde 5,4% de NNDCT cuando se almacena en el refrigerador (4°C) ( $[\text{NNDCT}]_{\text{inicial}}=1,47 \text{ mM}$ ).

20 La N,N-diclorotaurina es muy soluble en agua en un intervalo de pH de 1 a 10. La N,N-diclorotaurina se puede identificar y determinar cuantitativamente por espectroscopía UV. La N,N-diclorotaurina tiene un máximo de absorbancia UV a 300 nm y una absortividad molar de  $370 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

La NNDCT no es volátil. Se llenaron dos botellas de vidrio con una disolución 1,47 mM en disolución salina al 0,9% a pH 3,5. Una botella se tapó herméticamente y la otra se tapó sin apretar. No había diferencia en la concentración de NNDCT en las dos botellas después de 4 semanas a temperatura ambiente.

25 El aislamiento de la forma en polvo pura de NNDCT y el almacenamiento en atmósfera inerte proporcionan una fuente más estable de NNDCT. Adicionalmente, la reformulación de la matriz sólida de NNDCT en formato de píldora ayuda a la estabilización de la NNDCT. Esta formulación de píldora se ha seleccionado para prevenir la descomposición mientras que se proporciona facilidad de uso en la aplicación farmacéutica a la que está destinada (desinfecciones de lentas de contacto, otras aplicaciones).

30 Ejemplo 2 (Referencia, no según la invención)

Actividad antimicrobiana

Actividad bactericida:

35 Para determinar la actividad bactericida, los autores de la invención usaron *Escherichia coli* (ATCC 11229). El cultivo bacteriano se diluyó en disolución salina estéril para preparar inóculos. Se transfirieron diferentes artículos de ensayo a tubos individuales que ya contenían de  $1,0 \times 10^5$  a  $2,0 \times 10^5$  unidades formadoras de colonia (UFC)/ml de bacterias y se mezclaron mediante mezcla vortical suave y después se incubaron a 37°C durante 1 ó 24 horas. Para intentar imitar en la media de lo posible las condiciones que se podrían producir in vivo si se usaran los artículos de ensayo como antisépticos, se llevó a cabo el cultivo bacteriano en una placa Petri inmediatamente después del tiempo de exposición designado sin la adición de un neutralizador, e independientemente con la adición de un neutralizador (como control). Así, se separaron 0,1 ml después de 1 ó 24 h de exposición y se cultivaron en placa. 40 Las placas se incubaron a 37°C y se contó el número de bacterias mediante recuento de colonia directo para determinar las bacterias supervivientes como UFC/ml. Los controles de crecimiento positivos se hicieron con disolución salina estéril al 0,9%. Todos los artículos de ensayo se ensayaron 3 veces. Los resultados se tabularon para mostrar la comparación del intervalo de eficacia antimicrobiana de HOCl,  $\text{OCl}^-$ , NNDCT y disolución salina al 0,9% a diferentes niveles de pH. A pH 3,5 la NNDCT mostró un intervalo de concentración antimicrobiana eficaz de 0,0149 a 1,49 mM a los 60 min, y un intervalo de concentración antimicrobiana eficaz de 0,000149 a 1,49 mM a las 24 h, mientras que el intervalo de concentración antimicrobiana eficaz del HOCl empezaba en 0,016 a los 60 min y en 0,0016 mM a las 24 h. A pH 3,5 la NNDCT era mejor o tan eficaz contra *E. coli* como el HOCl. 45

50 En estos estudios, por primera vez los autores de la invención han demostrado (en paralelo) los perfiles bactericidas y de toxicidad celular de las N-cloraminas comparadas con diferentes artículos de ensayo. Tanto la N-clorotaurina (NCT) como la N,N-diclorotaurina (NNDCT) se sintetizaron en concentración fisiológica de NaCl al 0,9% con pH controlado según los procedimientos descritos antes. Se ensayaron las propiedades fisicoquímicas de estas disoluciones antes de analizar sus actividades biológicas. Las disoluciones diluidas de NCT y NNDCT son incoloras e isotónicas y presentan actividad antimicrobiana excepcionalmente rápida. La producción de estos oxidantes parece que es dependiente del pH. La NCT se forma exclusivamente en pH alcalino, mientras que la NNDCT se forma en pH ácido. 55

Los ensayos antimicrobianos comparativos usando NNDCT en la disolución de la presente invención a pH 5,0 y 3,5 y NCT a pH 9,5 demostraron una eficacia bactericida (E. coli) aproximadamente 300 veces mayor para la NNDCT a pH 3,5 frente a la NNDCT a pH 5,0 y una eficacia bactericida 1000 veces mayor de la NNDCT a pH 3,5 comparado con la NCT a pH 9,5 en un espacio de tiempo de exposición de 60 min a 37°C (Tabla-1).

5 Tabla -1: Resumen de productos:

Producto	Color	pH	Tonicidad	Estado físico	CMB (µg/ml)
NCT	transparente	9,5	Isotónica	disolución	142,5
NNDCT	transparente	5,0	Isotónica	disolución	38,0
NNDCT	transparente	3,5	Isotónica	disolución	0,136

CMB es la concentración mínima bactericida

La actividad antimicrobiana y el tiempo de destrucción no solo dependían de la concentración sino que también aumentaba notablemente disminuyendo el pH. La NCT es menos antimicrobiana que la NNDCT en un factor de 1000 veces basándose en concentraciones iguales.

10 Ejemplo 3 (Referencia, no según la invención)

Ensayo de citotoxicidad:

La citotoxicidad se evaluó por un sistema de ensayo colorimétrico, descrito inicialmente por Scudiero et al., usando ácido 3'-(fenilamino-carbonil)-3,4-tetrazolio-bis(4-metoxi-6-nitro)benceno-sulfónico hidrato (XTT), ensayo de viabilidad celular ProCheck™ (evaluación de un ensayo de tetrazolio/formazán soluble para el crecimiento celular y la sensibilidad a fármacos en cultivo usando líneas celulares tumorales humanas y otras, descrito por Scudiero DA, Shoemaker RAH, Paul KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, SeniffD, Boyd MR. *Cancer Res.* 1988 Sep 1;48(17):4827-33). Otros investigadores usan procedimientos similares para determinar la viabilidad celular. Se usaron tres tipos de células: células epiteliales pulmonares de ratón (L929), fibroblastos dérmicos humanos primarios y células queratinocitos humanos primarios cultivados en media Eagle modificado por Dulbecco y medio definido para queratinocitos con los correspondientes factores de crecimiento más antibióticos. Las células se tripsinizaron y se contaron en el microscopio, y se sembraron de 1000 a 2000 células por pocillo en una placa de fondo plano de 96 pocillos. Las células se cultivaron durante la noche a 37°C. Al día siguiente, se separó el medio de cultivo tisular y las células se lavaron con medio de nueva aportación 1X y después se dejaron en 50 µl de medio de cultivo tisular. Los artículos de ensayo se prepararon como diluciones de 2 veces y se añadieron 200 µl en cada conjunto de 4 pocillos (volumen total por pocillo = 250 µl). Las células se expusieron a los artículos de ensayo durante 60 min a temperatura ambiente. Inmediatamente después del tiempo de exposición, se retiró el artículo de ensayo de cada pocillo y las células se alimentaron con 250 µl de medio de nueva aportación. Las placas se incubaron a 37°C durante 18-20 h. Al día siguiente se retiró el medio otra vez y se sustituyó por 100 µl/pocillo de medio de nueva aportación que contenía 10/100 µl de reactivo XTT. Las células se incubaron en condiciones de crecimiento (5% de CO<sub>2</sub> a 37°C, incubador humidificado), protegidas de la luz, hasta que se alcanzó el desarrollo de color. Se leyó la absorbancia a 450 nm con referencia a la longitud de onda a 750 nm usando un lector de placa ThermoMax de Molecular Device, tomando como referencia la placa con los pocillos de blanco de ensayo con solo medio. Las células no tratadas que recibían solo reactivos XTT servían como control positivo de proliferación celular.

Cuando se determinó el índice de toxicidad con la concentración inhibidora celular (CCI<sub>50</sub>) (medida como todavía están vivas 50% de las células), la CCI<sub>50</sub> de NNDCT era 7 mM y mostraba una viabilidad celular sustancialmente mayor de los fibroblastos dérmicos humanos primarios en el ensayo de XTT que para la Cl<sub>50</sub> de HOCl (Cl<sub>50</sub> = 0,8 mM), betadine (Cl<sub>50</sub> = 0,01 mM) o OCl<sup>-</sup> (Cl<sub>50</sub> = 0,66 mM). Se obtuvieron resultados similares en el ensayo de XTT realizado con células epiteliales pulmonares de ratón (L929), donde se observó una viabilidad mayor de 90% para la NNDCT con una concentración 7 mM frente a una viabilidad sustancialmente menor de 50% para OCl<sup>-</sup> en concentraciones 0,6 mM y betadine en concentraciones 0,02 mM.

Citotoxicidad e índice terapéutico

La NNDCT se ha sometido a ensayo de seguridad in vitro riguroso usando el ensayo celular de referencia de la Farmacopea de Estados Unidos (células epiteliales pulmonares de ratón, L929), así como células dérmicas humanas primarias. Los autores de la invención descubrieron que la NNDCT tiene una toxicidad celular muy baja en ambos tipos de células: Los fibroblastos humanos primarios y las células L929 comparados con otros artículos de ensayo antisépticos: HOCl y povidona yodada (véase a continuación). A diferencia de la povidona yodada donde la toxicidad celular era un problema importante, la NNDCT demostró que era compatible con las células con un perfil de toxicidad mucho más seguro. De hecho, el índice terapéutico (IT), que se define como la relación de una concentración tolerada por las células ensayadas (citotoxicidad in vitro o Cl<sub>50</sub>) frente a la concentración mínima

bactericida (CMB), para la NNDCT era aproximadamente 5.000 comparado con aproximadamente 300 y 7 para el HOCl y la povidona yodada, respectivamente (tabla 2).

Tabla-2 resumen de los datos de la concentración mínima bactericida (CMB) y el índice terapéutico

Producto	pH	CMB <sup>a</sup> (µg/ml)	Cl <sub>50</sub> (µg/ml)	I.T. <sup>b</sup> en HF <sup>c</sup>
NNDCT	3,5	0,29	1442	4972
HOCl	3,5	0,16	47	297
Povidona yodada	4,2	0,38	2,5	7

<sup>a</sup> Concentración mínima bactericida (CMB) para *Escherichia coli* (ATCC11229)

<sup>b</sup> Índice terapéutico y <sup>c</sup> células fibroblastos dérmicos humanos primarios.

5 La aplicación de la NNDCT como un desinfectante tópico más seguro, en particular en heridas oftálmicas crónicas que no curan y pacientes con quemaduras, podría ser una gran ventaja debido a que el uso de otros desinfectantes con efectos secundarios tóxicos importantes está muy desaconsejado por las autoridades sanitarias. Puesto que la seguridad alimentaria también es un problema de salud importante, la aplicación de la NNDCT como un desinfectante amplio se puede extender a la industria alimentaria.

10 Ejemplo 4 (Referencia, no según la invención)

Preparación de ácido 2-amino-2-metilpropanosulfónico:

Se puso el 2-amino-2-metil-1-propanol (Aldrich, 5,0 g, 56 mmol, 1,0 equiv.) en DCM (100 ml), se añadió anhídrido de BOC (14,6 g, 67 mmol, 1,2 equiv.) en porciones a 0°C y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La disolución se dejó calentar lentamente durante la noche sin retirar el baño de hielo. Se separó el disolvente por evaporación en rotavapor. Se añadió EtOAc (50 ml) seguido de agua (50 ml). La capa orgánica se separó y se lavó una vez más con agua y salmuera, y después se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró para dar 12 g del producto bruto.

A una disolución del aminoalcohol protegido con BOC (10,0 g, 52,5 mmol, 1,0 equiv.) en DCM (100 ml) se añadió trietilamina (TEA, 11 ml, 7,5 mmol, 1,5 equiv.). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota una disolución de cloruro de metanosulfonilo (4,4 ml, 58 mmol, 1,1 equiv.) en DCM (40 ml). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. No se observó material de partida por TLC. Se añadió agua y se separó el DCM. La capa orgánica se lavó con agua, disolución saturada de bicarbonato sódico y salmuera. Después la capa orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró para dar 12,6 g de producto bruto que se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar 6,35 g de producto bruto.

El BOC-aminosulfonato obtenido antes (6,35 g, 23,7 mmol, 1,0 equiv.) se añadió a un matraz RB, y se añadieron 30 ml de HCl 4 N en dioxano (30 ml, 118,5 mmol, 5 equiv.). Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, no se observó material de partida por TLC. Se separó el disolvente por evaporación en rotavapor, y se añadió DCM (10 ml) y después se evaporó. El sólido blanco se puso a vacío durante 30 min y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Se disolvió sulfito sódico (4,25 g, 33,7 mmol, 1,5 equiv.) en 33 ml de agua (disolución 1 M) y se añadió al hidrocloreto de la amina intermedia de partida (4,6 g, 22,5 mmol, 1,0 equiv.) a temperatura ambiente. Después de agitar durante la noche, el precipitado se recogió y se lavó varias veces con metanol para dar 4,2 g de un sólido blanco. Este material se disolvió en agua y se añadió etanol y se dejó a temperatura ambiente durante 6 h. Se recogió el precipitado y las aguas madres se evaporaron para dar 2,2 g de sólido blanco que se lavó con agua (2 x 5 ml) y se dejó a vacío para dar 1,2 g del producto puro deseado, en forma de la sal sódica. El producto deseado se identificó por análisis elemental.

Los N-monohalogeno-aminoácidos de la invención también se pueden preparar como se describe en la bibliografía: X. L. Armesto, M. Canle L., M. V. Garcia and J. A. Santaballa *Chemical Society Reviews*, 1998, volume 27, 453; Juan M. Antelo, Florencio Arce, Paula Calvo, Juan Crugeiras and Ana Ríos *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2000, (10), 2109-2114; J. M. Antelo; F. Arce, J. Crugeiras, M. Parajó *Journal of Physical Organic Chemistry*, Volume 10, Issue 8, Pages 631 - 636.

Ejemplo 5: (Referencia, no según la invención)

Como ejemplo, se describe el procedimiento para preparar el ácido N,N-dicloro-1,1-dimetiletanosulfónico como sigue:

Etapa 1: Síntesis del ácido 1,1-dimetiletanosulfónico (Braghiroli, D.; Bella, M. D. *Tetrahedron Letters*, 1996, 37, 7319-7322).

5 El ácido 1,1-dimetiletanosulfónico se prepara por reducción del 2-hidroxiisobutironitrilo (cianhidrina de acetona) al 1-amino-2-metil-2-propanol, seguido de protección con (Boc)<sub>2</sub>O. Después de mesilación y eliminación del grupo protector, el hidrocloreto obtenido se dejó reaccionar con sulfito sódico para dar el ácido 1,1-dimetiletanosulfónico.

Etapa 2: Cloración del ácido 1,1-dimetiletanosulfónico.

10 Para preparar 1 litro de ácido N,N-dicloro-1,1-dimetiletanosulfónico 1,6 mM (NNDC-DMESA) en disolución de NaCl al 0,9% a pH 3,5, se añaden 8,6 g de NaCl en un matraz aforado de 1000 ml y después se añaden 500 ml de agua Millipore al matraz para disolver la sal. Se añaden 2 ml de HCl 1 M a la disolución de NaCl, seguido de la adición de 22 ml de NaOCl 0,158 M. Se mezcla la disolución. Después se añaden 0,355 g de ácido 1,1-dimetiletanosulfónico al matraz y se enrasa el matraz aforado con agua Millipore. Se agita la disolución hasta que se ha completado la reacción, indicado, por ejemplo, por UV o RMN. Los autores de la invención han preparado ornitina N,N-clorada, N,N-dicloro-homotaurina y N,N-dicloro-alanina. Todos estos compuestos diclorados tienen espectros de UV muy similares ( $\lambda_{\text{máx}} \approx 300$  nm) y absorptividades molares muy similares.

15 Procedimiento para preparar los compuestos dicloro-aminoácidos

20 En una disolución de HOCl ácida, se añade una cantidad estequiométrica de aminoácido o su sal (polvo) (relación molar de HOCl:aminoácido = 2:1). Después la disolución de la mezcla se agita durante aproximadamente 15 min. El pH de la disolución resultante es menor que el pH de la disolución de HOCl de partida. Se identifica el producto y la terminación de la reacción se sigue por un espectrofotómetro de UV-vis. El pH de la disolución se ajusta con ácido clorhídrico o disolución de hidróxido sódico al valor de pH deseado. La concentración de la disolución se determina en el espectrofotómetro de UV usando la correspondiente absorptividad molar a la  $\lambda_{\text{máx}}$ . En el siguiente ejemplo se describe un procedimiento más detallado.

Ejemplo 6: (Referencia, no según la invención). Preparación de 1 litro de disolución de dicloro-homotaurina 0,05 M.

Etapa 1: Se prepara 1 litro de disolución de HOCl 0,1 M con un pH < 5.

25 Etapa 2: Se añaden 8,06 g de homotaurina sódica (3-amino-1-propanosulfonato sódico, PM = 161,13) en la disolución de HOCl de la etapa 1. Se agita la disolución durante aproximadamente 15 min. Etapa 3. Se toma una parte alícuota de la disolución de la etapa 2 y se hace una dilución de 100 veces. Se hace el espectro de UV de la disolución diluida para identificar el producto, que tiene  $\lambda_{\text{máx}}$  a 303 nm (véase la tabla adjunta). Etapa 4. Se ajusta el pH de la disolución resultante de la etapa 2 al pH deseado con NaOH o HCl. Etapa 5. Se repite el procedimiento en la etapa 3 para medir la concentración de la dicloro-homotaurina (la absorptividad molar es 329,0 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>, véase la tabla a continuación).

Tabla: Absorptividades molares de compuestos de N,N-dicloro- y N,N-dibromo-aminoácidos

Compuestos	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon$ (M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )
N,N-dicloro-taurina	302	332,9 <sup>a</sup>
N,N-dicloro-homotaurina	303	329,0 <sup>c</sup>
N,N-dicloro- $\beta$ -alanina	301	327,6 <sup>c</sup>
N,N,N',N'-tetracloro-ornitina	300 <sup>c,d</sup>	241 <sup>c,d</sup>
N,N-dibromo-taurina	241	2713 <sup>b</sup> , 2708 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Gottardi, W.; Nagl, M. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 2002, 9, 411-421.

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

<sup>c</sup> Determinado en este estudio.

<sup>d</sup> Basado en una relación molar 4:1 de agente de cloración a ornitina.

Ejemplo 7 (Referencia, no según la invención)

35 Los resultados de los descubrimientos de los autores de la invención apoyan la actividad antimicrobiana de la NNDCT en disolución salina al 0,9% a pH 3,5. Se determinó que estas actividades antimicrobianas eran considerables en un intervalo  $\mu$ M y aumentaban significativamente al aumentar la concentración y/o el tiempo de exposición. A diferencia de esto, la toxicidad celular se vio en un intervalo 1000 veces mayor en el intervalo mM. Los autores de la invención mostraron que las células tratadas con NNDCT eran capaces de tolerar el tratamiento y

podían pasar por los ciclos de proliferación celular normales comparado con células de control no tratadas, en los ensayos de XTT de los autores de la invención.

Ejemplo 8 (Referencia, no según la invención)

5 Se prepararon disoluciones de NNDCT con una concentración 1,49 mM a pH 3,0, 3,5, 4,0 y 5,0. Los espectros y las concentraciones de las disoluciones se midieron en el espectrómetro UV-vis. Los resultados mostraron que el espectro y la concentración de la disolución de NNDCT no cambiaban en el intervalo de pH de 3,0 a 5,0.

Preparación

10 Se añaden 8,8 g de NaCl, 2 ml de HCl 1,0 M y 0,278 g de taurina a un matraz aforado de 1000 ml, seguido de la adición de aproximadamente 800 ml de agua desionizada al matraz. Se agita el matraz para disolver los polvos de NaCl y taurina. Después se añaden 22 ml de la disolución de NaOCl 0,15 M al matraz. Se enrasa el matraz con agua desionizada. Se agita la disolución con una barra agitadora magnética durante 5 min. La concentración y el pH de la disolución resultante se midieron en un espectrómetro UV-vis y un medidor de pH Beckman recién calibrado. Esta disolución tiene una concentración 1,49 mM y un valor de pH de 3,85. Se añadieron mediante pipeta 100 ml de la disolución de NNDCT anterior (pH = 3,85) a un vaso de precipitados de 250 ml, se añadieron 0,09 ml de disolución de HCl 1,0 M a esta disolución y se agitó. El pH de esta disolución es 3,0. Se añadieron mediante pipeta 15 100 ml de disolución de NNDCT con pH 3,85 a un vaso de precipitados de 250 ml, se añadieron 0,003 ml de disolución de NaOH 5,0 M a esta disolución y se agitó. El pH final de esta disolución es 4,85.

Se prepararon de una forma similar disoluciones con diferentes valores de pH en un intervalo de pH de 3 a 5. Todas las disoluciones mostraron estabilidad si se almacenaban adecuadamente, como mostraban sus espectros de UV.

20 Procedimiento general para preparar compuestos monohalogeno-aminoácidos:

Se añade el aminoácido o la sal del aminoácido (polvo) a una disolución básica de  $OX^-$  ( $X = Cl, Br$ ) (pH >8) o una disolución de  $OX^-$  ( $X = Cl, Br$ ) en un tampón de fosfato, tal como a un pH de 7,4 con una relación molar de  $OX^-$ :aminoácido = 1:1. La disolución de la mezcla se agita durante aproximadamente 15 min. Se identifica el producto y la terminación de la reacción se sigue por un espectrofotómetro de UV-vis. El pH de la disolución se ajusta con disolución de ácido clorhídrico o hidróxido sódico al valor de pH deseado. La concentración de la disolución se determina en el espectrofotómetro de UV usando la correspondiente absorptividad molar a la  $\lambda_{m\acute{a}x}$ . En el siguiente ejemplo se describe un procedimiento más detallado.

Ejemplo 9 (Referencia, no según la invención) Preparación de 1 litro de disolución de monocloro-homotaurina 0,05 M.

30 Etapa 1: Se prepara 1 litro de disolución de NaOCl 0,05 M con un pH >8.

Etapa 2: Se añaden 8,06 g de homotaurina sódica (3-amino-1-propanosulfonato sódico, PM = 161,13) en la disolución de NaOCl de la etapa 1. Se agita la disolución durante aproximadamente 15 min.

35 Etapa 3: Se toma una parte alícuota de la disolución de la etapa 2 y se hace una dilución de 100 veces. Se hace el espectro de UV de la disolución diluida para identificar el producto, que tiene  $\lambda_{m\acute{a}x}$  a 252 nm (véase la tabla a continuación).

Etapa 4: Se ajusta el pH de la disolución resultante de la etapa 2 al pH deseado con NaOH o HCl.

Etapa 5: Se repite el procedimiento en la etapa 3 para medir la concentración de la monocloro-homotaurina (la absorptividad molar es  $386 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , véase la tabla a continuación).

Tabla: Absorptividades molares de compuestos monocloro-aminoácidos

Compuestos	$\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	$\epsilon$ ( $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )
N-Monocloro-aurina	252	415 <sup>a</sup>
N-Monocloro-homotaurina	252	386 <sup>b</sup>
N-Monocloro- $\beta$ -alanina	251	385 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Thomas EL.; Grisham MB, Jefferson MM. *Meth. Enzymol.* 1986, 132, 669-71.  
<sup>b</sup> Determinado en este estudio.

40

Siguiendo el procedimiento anterior y seleccionando los materiales de partida aminoácidos adecuados, se pueden preparar los siguientes N-halogeno-aminoácidos: N-cloro-2,2-dimetiltaurina, N-cloro-1,1,2,2-tetrametiltaurina, etc. (Véase la lista de compuestos representativos no exclusivos en el párrafo [0054]).

5 Ejemplo 10 (Referencia, no según la invención): Efecto antivírico sinérgico de una mezcla 1:1 de ácido hipocloroso isotónico y ácido N,N-dicloro-1,1-dimetiletanosulfónico.

10 Se mezcló un volumen igual de adenovirus humano de tipo 5 (cepa Ad5, McEwen) con cada una de las tres muestras listadas a continuación. La mezcla se incubó a 37°C durante 1 h y después se diluyó en medio de cultivo tisular (medio Eagle modificado por Dulbecco [DMEM] que contenía suero bovino fetal al 2% inactivado térmicamente). Después las mezclas se diluyeron en diluciones seriadas de 10 veces usando el mismo diluyente mencionado antes. Se inocularon 0,1 ml de cada mezcla diluida en una monocapa de células A549 cultivadas en placas de 12 pocillos (fuente celular, ATTC) y se dejaron adsorber durante 1 h. Se separó el inóculo y la monocapa se lavó con diluyente y se aplicó una capa de agarosa/DMEM. Las placas se incubaron a 37°C en atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% durante 6 días. Después las monocapas se fijaron, se tiñeron y se hizo el recuento en las placas.

Muestra	Disolución	Efecto en la monocapa						
		sin diluir 10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
control Ad5	Adenovirus de control	DESTR	DESTR	DESTR	DESTR	TNTC	37	7
1	NNDCDMES 37,5 mM, pH 3,5 isotónica	Reacción tóxica temprana al inóculo	28	17	3	3	3	9
2	HOCl 19 mM, pH 3,5 isotónica	14	9	3	1	4	4	1
3	mezcla isotónica 1:1 de NNDCDMES 37,5 mM con HOCl 9,5 mM	Monocapa pobre o mala	0	0	0	1	1	0
Disolución salina de control	Disolución salina estéril al 0,9%	DESTR	DESTR	DESTR	DESTR	TNTC	21	6

Abreviaturas: NNDCDMES: ácido N,N-dicloro-1,1-dimetiletanosulfónico  
 DESTR: Monocapa destruida  
 TNTC: Placas demasiado numerosas para el recuento

15 Los resultados para la muestra 3 muestran que, después de dilución, una mezcla isotónica 1:1 de ácido N,N-dicloro-1,1-dimetiletanosulfónico y ácido hipocloroso tiene efecto antivírico sinérgico contra el adenovirus, cuando se comparó contra el efecto antivírico del ácido hipocloroso (muestra 2) o el ácido N,N-dicloro-1,1-dimetiletanosulfónico solo.

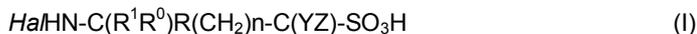
Ejemplo 11 (Referencia, no según la invención) Disolución para el tratamiento de heridas

20 HOCl (2 mM)  
 N,N-Dicloro-2,2-dimetiltaurina (20 mM)  
 NaCl (0,9%)  
 Agua (100 ml)

## REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:

(a) un compuesto de fórmula (I)



5 en donde

*Hal* es Cl o Br;

R es un enlace sencillo o un radical divalente de cicloalquileo C<sub>3-6</sub>;

R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>0</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>;

10 o R<sup>1</sup> y R<sup>0</sup> junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

n es 0 o un número entero de 1-13; y es ≤ 11 si R es un radical divalente de cicloalquileo C<sub>3-6</sub>;

Y es H o alquilo C<sub>1-6</sub>;

Z es H o alquilo C<sub>1-6</sub>;

o uno de sus derivados, seleccionado de sales farmacéuticamente aceptables y ésteres con alcoholes C<sub>1-6</sub>; y

15 (b) un compuesto halogenado seleccionado de un ácido hipohalogenoso o una de sus sales.

2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (IIA)



en donde

*Hal* es Cl o Br;

R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>0</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>;

o R<sup>1</sup> y R<sup>0</sup> junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

n es 0 o un número entero de 1-3;

Y es H o alquilo C<sub>1-6</sub>; y

25 Z es H o alquilo C<sub>1-6</sub>;

o uno de sus derivados, seleccionado de sales farmacéuticamente aceptables y ésteres con alcoholes C<sub>1-6</sub>.

3. La composición de la reivindicación 2, en la que en el compuesto de fórmula (IIA)

n es 0, 1 ó 2;

30 y el derivado del compuesto de fórmula (IIA) se selecciona de sales farmacéuticamente aceptables o ésteres con alcoholes C<sub>1-6</sub>.

4. La composición de la reivindicación 2 ó 3, en la que el compuesto de fórmula (IIA) se selecciona de

N-cloro-2,2-dimetiltaurina,

N-cloro-1,1,2,2-tetrametiltaurina,

N-bromo-2,2-dimetiltaurina,

35 N-bromo-1,1,2,2-tetrametiltaurina,

N-cloro-3,3-dimetilhomotaurina,

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

5. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que tiene un intervalo de pH de 2-7.

40 6. Una composición farmacéutica que comprende la composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

7. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para usar en un método para prevenir o tratar una infección causada por una bacteria, un microbio, una espora, un hongo o actividad vírica en un mamífero.

45 8. Un método para controlar o prevenir el crecimiento de bacterias, microbios, esporas, hongos o virus o la proliferación de infecciones y la fuente de las infecciones, comprendiendo el método la aplicación de una cantidad eficaz de una composición de la reivindicación 1 a una zona, espacio o material que requieren dicho control o prevención.

9. El método de la reivindicación 8, en el que el material que se va a tratar se selecciona de alimentos, alimentación animal, instrumentos quirúrgicos y dentales, equipamiento quirúrgico y dental, dispositivos y equipamiento médico usados para este propósito.