



375765

|                         |  |
|-------------------------|--|
| INDUSTRIAL PROPERTY     |  |
| PATENT OFFICE           |  |
| CUBA                    |  |
| REGISTRATION NO. 375765 |  |
| CLASSIFICATION: C 01    |  |
| SUBCLASS: C             |  |
| AGENCY: AGI             |  |
| REMARKS: K              |  |

P A T E N T E   D E   I N V E N C I O N

a favor de

LABORATORIOS LAFARQUIM, S.A., de nacionalidad española, residente en Madrid, Avda. de Aragón nº 18, por: "PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE UN NUEVO DERIVADO DEL CLORANFENICOL"

Memoria descriptiva

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro considerado en la actualidad como uno de los más efectivos en la terapéutica de las infecciones. Tiene sin embargo un serio inconveniente que dificulta su empleo, restringiéndola al tratamiento de las salmonelosis o de infecciones sen

5

375765



sibles al cloramfenicol y que no lo sean a otros antibióticos mas inocuos.

10 Este efecto secundario es su mielotoxicidad, que se manifiesta precozmente por su intensa vacuolización de las células eritro y mieloblásticas y que posteriormente puede conducir al desarrollo de una anemia aplastica que con elevada frecuencia tienen un fatal desenlace.

15 De los estudios efectuados en los Estados Unidos por Ingall y colab; Webster y colab., Woblfe y colab., parece inferirse que el mecanismo de acción primario de los efectos antibacterianos puede ser distinto al mecanismo de acción mielotóxica, secundario al mecanismo principal y que puede ser superado sin afectar sus efectos antibacterianos.

20 Experiencias efectuadas en los Estados Unidos en este sentido permitieron la recuperación de los efectos tóxicos del cloramfenicol sin menoscabo de su eficacia terapéutica.

25 Siguiendo esta línea de trabajo, las experiencias realizadas en el Centro de Investigación de Lafarquim, S.A. hanconducido a la obtención del ester fenilalanínico o l-amino-B-fenilpropiónico de cloramfenicol, compuesto dotado de una excelente tolerancia general en el que se ha obviado en fuerte proporción el serio inconveniente de la mielotoxicidad sin menoscabo de sus efectos antibióticos.

30 Este producto se absorbe por vía oral y rectal y se



375765

tolera perfectamente por vía parenteral.

35 Las experiencias clínicas efectuadas en 40 niños de 1-2 años de edad han confirmado la eficacia terapéutica del compuesto; por otra parte no solo no han aparecido síntomas de mielotoxicidad sino que han conseguido la desaparición de los síntomas precoces que se presentaron en los enfermos tratados con cloramfenicol.

40 El ester fenilalanínico del cloramfenicol se presenta en forma de agujas incoloras, de sabor amargo, soluble en agua y etanol. Su forma biológicamente activa es la levorrotatoria. Es extremadamente estable. No es afectado a un pH entre 2,0 y 9,0 y resiste la ebullición en agua. Tampoco es afectado por la luz.

45 El ester fenilalanínico de cloramfenicol conserva toda la actividad del cloramfenicol. Esta actividad antibacteriana "in vitro" no solo es igual cualitativa sino también cuantitativamente. Reproducimos a continuación un cuadro de experiencias "in vitro" en que aparecen las actividades comparativas de ambos compuestos frente a diversos gérmenes representativos.

50

C M I (mcg/ml)

|    | Germen        | Cloramfenicol | Ester de cloramfenicol expresado en cloranfenicol |
|----|---------------|---------------|---|
| 55 | K. pneumoniae | 15            | 15  |



| Germen                    | Cloramfenicol | Ester de cloramfenicol expresado en cloramfenicol |
|---------------------------|---------------|---|
| Staf. aureus OXFORD       | 5             | 5   |
| Haemophilus influenzae    | 1             | 1   |
| 60 8 cereys var. mycoides | 2,5           | 2,5 - 5   |
| 8 pumillus s.p.           | 1,25          | 1,25 - 2,5  |

"In vitro", el ester fenilalanínico de cloramfenicol tiene la misma actividad que el cloramfenicol. Las pruebas comparativas frente a gérmenes gram-positivos y gram-negativos son absolutamente concordantes a este respecto.

Como en el caso del cloramfenicol, algunas especies bacterianas pueden hacerse resistentes al ester fenilalanínico de cloramfenicol "in vitro" mediante cultivos seriados en concentraciones progresivamente ascendentes de la droga.

Sin embargo, las experiencias clínicas con cloramfenicol en la terapéutica de la fiebre tifoidea, scoub typhus y otras infecciones sugieren que el desarrollo de resistencias "in vitro" no constituye un importante problema.

El ester fenilalanínico de cloramfenicol parece inhibir, como el cloramfenicol, la síntesis proteica de las bacterias, por interferencia con la utilización de la l-alanina. No parece interferir, en cambio, de una manera primaria sino secundaria, la utilización de la fenilalanina. Esta afectación secundaria parece ser responsable de las alte



375765

raciones de los precursores de las células de las series eritrocítica y mielocítica que es lo que parece obviarse con el ester fenilalanínico de cloramfenicol.

85 Ejemplo 12.- Se calientan en un matraz durante 6 - horas a reflujo 50 grs. de fenilalanina con 40 ml. de ácido acético. Terminada la calefacción, se procede a la eliminación al vacío del ácido acético, quedando como residuo la fenilalanina acetato.

90 Tómense 69 grs. de fenilalanina acetato y pónganse en un matraz con refrigerante de reflujo, por el que se agregarán 100 ml. de cloruro de tionilo, y caliéntese la mezcla a reflujo. Al cabo de, aproximadamente, 30 minutos en que cesa el desprendimiento de HCl y SO<sub>2</sub>, se elimina a vacío el exceso de cloruro de tionilo obteniéndose como residuo el cloruro de acetil-fenilalanina.

95 Se disuelven en piridina cantidades equivalentes del cloruro de acetil-fenilalanina y cloramfenicol y se agita durante 6 horas. A continuación se elimina la piridina por destilación a vacío, obteniéndose como residuo el ester fenilalanínico del cloramfenicol bruto. Cristalización fraccionada del producto bruto, proporciona el ester en estado puro.

100 Ejemplo 22.- A una solución de 17 gr. de l-fenilalanina en tetrahydrofurano, se añaden 33 gr. de cloramfenicol y 21 gr. de dicitclohexilcarbodiimida disueltos también en -

105



375765

tetrahidrofurano. Se mantiene la mezcla a 0° C; con agitación y se deja en reposo 24 h. en el refrigerador. Se separa por filtración la dicitohexilurea precipitada y se evapora el disolvente a vacío, procediéndose a una recristalización fraccionada del residuo anterior, empleando diversos disolventes y obteniéndose como producto final el l-fenilalaninato de cloramfenicol.

110

Ejemplo 32.- A una solución de 17 grs. de l-fenilalanina y 10,1 g. de trietilamina en cloroformo anhidro y exento de alcohol, enfriada a 5°C, se adicionan 10,5 ml. de cloroformiato de etilo. Se deja en reposo la mezcla durante 45 minutos y a la misma temperatura, se añade una suspensión de 40 grs. de cloramfenicol en cloroformo. Se agita durante 1 hora a 0° C y luego durante 3 horas a temperatura ambiente. Se mantiene en reposo la mezcla reaccionante una noche en refrigerador y al cabo de este tiempo, se filtra para separar el exceso de cloramfenicol que no ha reaccionado. El filtrado se lava con solución acuosa de bicarbonato sódico al 5% y luego con agua destilada. Por adición de éter etílico a la solución anterior, se consigue obtener cristalizado el ester fenilalanínico de cloramfenicol.

115

120

125

REIVINDICACIONES

1).- Procedimiento de obtención de un nuevo derivado del cloramfenicol caracterizado por conseguirse, mediante la acetilación de la l-fenilalanina y obtención del cloruro

130

375765



de ácido de la misma por reacción con el cloruro de tionilo y condensación de aquél con el cloramfenicol para obtener finalmente el ester fenilalanínico del cloramfenicol.

135 2).- Procedimiento de obtención de un nuevo derivado del cloramfenicol caracterizado por conseguirse por esterificación mediante diciclohexilcarbodimida y subsiguiente recristalización fraccionada.

140 3).- Procedimiento de obtención de un nuevo derivado del cloramfenicol caracterizado por conseguirse mediante la esterificación de la l-fenilalanina con cloroformiato de etilo y posterior reacción con el cloramfenicol, seguido de cristalización del fenilalaninato de cloramfenicol, realizándose ambos procesos a bajas temperaturas, lo cual tiene gran importancia para la estabilidad de los productos reaccionantes.

145

4).- "PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE UN NUEVO DERIVADO DEL CLORAMFENICOL"

Esta memoria consta de siete hojas foliadas y mecanografiadas por un solo lado de sus caras.

Madrid, 22 de enero de 1970

*(Handwritten signature)*