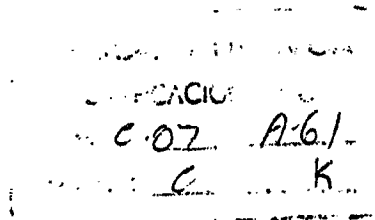


Int. Cl. C07CJ03/40 // A61K31/16.



380983



CERTIFICADO DE ADICION

a favor de

LABORATORIOS LAFARQUIM, S.A., de nacionalidad española, residente en Madrid, Avda. de Aragón, 18, por: "PERFECCIONAMIENTOS INTRODUCIDOS EN EL OBJETO DE LA PATENTE PRINCIPAL NUM. 375.765 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, restringiéndole al tratamiento de las salmonelosis o de infecciones sensibles al cloran

380983



fenicol y que no lo sean a otros antibióticos mas inócuos.

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 aplástica que con elevada frecuencia tienen un fatal desenlace.

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.

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

Siguiendo esta línea de trabajo, las experiencias - realizadas en el Centro de Investigación de Lafarquim, S.A. han conducido a la obtención del éster fenilalanínico o l-amino-B-fenilpropiónico de cloranfenicol, 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.

Este producto se absorbe por vía oral y rectal y se tolera perfectamente por vía parenteral.

Las experiencias clínicas efectuadas en 40 niños de

380983

23



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 tra-
 tados con cloranfenicol.

El ester fenilalanínico del cloranfenicol se present
 ta en forma de agujas incoloras, de sabor amargo, soluble en
 agua y etanol. Su forma biológicamente activa es la levorrotat
 oria. Es extremadamente estable. No es afectado a un pH en-
 tre 2,0 y 9,0 y resiste la ebullición en agua. Tampoco es -
 afectado por la luz.

El ester fenilalanínico de cloranfenicol conserva -
 toda la actividad del cloranfenicol. Esta actividad antibacter
 riana "in vitro" no solo es igual cualitativa sino tambien
 cuantitativamente. Reproducimos a continuación un cuadro de
 experiencias "in vitro" en que aparecen las actividades compar
 rativas de ambos compuestos frente a diversos gérmenes repre-
 sentativos.

C M I (mcg/ml)

	Germen	Cloranfenicol	Ester de cloranfe- nicol expresado en cloranfenicol
50	K ₁ pneumonias	15	15
	Staf. aureus OXFORD	5	5
	Haemophilus influenzae	1	1
55	B cereys var. mycoides	2,5	2,5 - 5

380983



C M I (mcg/ml)

Germen	Cloranfenicol	Ester de cloranfenicol expresado en cloranfenicol
B pumillus s.p.	1,25	1,25 - 2,5

60

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

65

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

70

Sin embargo, las experiencias clínicas con cloranfenicol 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.

75

El ester fenilalanínico de cloranfenicol parece inhibir, como el cloranfenicol, 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 alteraciones de los precursores de las células de las series eritrocítica y mielocítica que es lo que parece obviarse con el éster fenilalanínico de cloranfenicol.

80



Ejemplo 1.- Disolver 16,5 grs. de l-fenilalanina en 210 c.c. de ácido fórmico del 98% añadiendo gota a gota 70 c. c. de anhídrido acético, de forma que la temperatura se mantenga entre 5 y 15°. Terminada la adición manténgase la agitación una hora. Por recristalización se obtiene la N-formil-l-fenilalanina.

A una solución de 19,3 g. de N-formil-l-fenilalanina y 32,3 grs. de cloranfenicol en 100 ml de dimetilformamida y 50 ml de piridina, enfriada a 0°, se adiciona bajo agitación 20,6 g. de diciclohexilcarbodiimida. Se continua agitando durante una hora a 0°C y durante 5 horas a temperatura ambiente. Se separa por filtración la diciclohexilurea y evapora a vacío. El residuo formado por el N-formil-l-alaninato de cloranfenicol se disuelve a 200 c.c. de etanol, se adicionan 200 c.c. de HCL 2N en etanol y se somete a agitación durante 24 horas a 0°C. Se obtiene un precipitado del hidrocloreto del l-fenilalaninato de cloranfenicol que puede purificarse por recristalización de alcohol de 90%.

Ejemplo 2.- Enfriar en un baño de agua helada la solución de 16,52 g. de fenilalanina en 250 ml. de NaOH 4N, adicionar en porciones 17 g. de cloroformiato de bencilo y 25 ml. de NaOH 4N, manteniendo la agitación durante la operación. Terminada la adición se acidula con ácido clorhídrico con lo que se obtiene la N-carbobenzoxi-l-fenilalanina.

A una solución de 13,79 g. de N-carbobenzoxi-l-fenil



alanina y 19,38 g. de cloranfenicol en 50 ml de dimetilforma-
mida y 40 ml de piridina, enfriada a 0°C se añaden bajo agita-
ción 12,36 g. de dicitclohexilcarbodiimida. Se continúa la agi-
tación durante una hora a 0°C y cinco horas a temperatura am-
biente, se filtra la dicitclohexilurea precipitada y se vierte
110 la solución en 600 ml de agua helada. Se obtiene el N-carbo-
benzoxi-l-fenilalaninato de cloranfenicol que puede purificar
se por recristalización de alcohol-acetona.

Para eliminar el grupo "carbобенzoxi" pueden seguir
115 se dos procedimientos:

a) Disolver 3,02 g. de N-Carbобенzoxi-l-fenilalani-
nato de cloranfenicol en 250 ml. de metanol, añadir 1 g. de
paladio al 10% sobre carbón activo y adicionar 25 ml de HCL
2N en metanol. Se hace borbotear una corriente de hidrógeno -
120 durante una hora, se filtra el catalizador y se enfría a 0°C
durante unas horas, al cabo de las cuales precipita el clorhi-
drato de l-fenilalaninato.

b) 3,5 g de carbобенzoxi-l-fenilalaninato de cloran-
fenicol se disuelven en 5 ml de ácido trifluoroacético anhídrido,
125 se calienta a ebullición durante 20 minutos, se evapora el áci-
do trifluoroacético y el residuo se trata con eter etílico -
anhídrido.

El producto cristalino que se obtiene formado por
trifluoroacetato de l-fenilalaninato de cloranfenicol se di-
130 suelve en 10 ml de etanol y se añaden 10 ml de HCL 2N en éter



etílico. Después de dos horas a 0°C se filtra, obteniéndose el fenilalaninato de cloranfenicol.

135 Ejemplo 3.- A una solución de 4,6 g de N-carbobenzo
xi-l-fenilalanina y 2,8 g de trietilamina en 35 ml de dimetil-
formamida, enfriada a 15°C se añaden 2 cc de cloroformiato de
etilo. Manténgase la agitación 15 minutos a esta temperatura y
añadanse 6,46 g de cloranfenicol disueltos en 25 ml de piridi-
na y 10 ml de dimetilformamida y déjese 12 horas con agitación
y a temperatura ambiente. Verter el producto reaccionante sobre
140 250 ml. de agua helada con lo que se separará el N-carbobenzo
xi-l-fenilalaninato de cloranfenicol.

Para eliminar el grupo carbobenzoxi, se utilizan los procedimientos a) y b) del ejemplo 4.

REIVINDICACIONES

145 1) Perfeccionamientos introducidos en el objeto de
la patente principal núm. 375.765 por: "Procedimiento de obten-
ción de un nuevo derivado del cloranfenicol" caracterizados por
realizarse por bloqueo del grupo amino de la l-fenilalanina
mediante el grupo formilo, condensación de la N-formil-l-fenil
150 alanina con el cloranfenicol mediante la dicitclohexilcarbodi-
mida y eliminación del grupo formilo por hidrólisis con HCL 2N.

2) Perfeccionamientos introducidos en el objeto de
la patente principal núm. 375.765 por: "Procedimiento de obten-
ción de un nuevo derivado del cloranfenicol", caracterizados
155 por realizarse por bloqueo del grupo amino de la l-fenilalani



na con cloroformiato de bencilo, condensación de la N-carboben
zoxi-l-fenilalanina con el cloracloranfenicol vía dicitclohexil
carbodiimida y eliminación del grupo carbobenzoxilo con ácido
trifluoroacético o mediante hidrogenolisis con hidrógeno en
160 presencia de paladio como catalizador.

3) Perfeccionamientos introducidos en el objeto de
la patente principal núm. 375.765 por: "Procedimiento de obten
ción de un nuevo derivado del cloranfenicol" caracterizado por
realizarse por bloqueo del grupo amínico de la l-fenilalanina
165 con cloroformiato de bencilo, condensación de la N-carboben
zoxi-l-fenilalanina con el cloranfenicol mediante el clorofo
rmiato de etilo y posterior eliminación del grupo carbobenzoxi
lo con hidrógeno a presión ordinaria en presencia de paladio
como catalizador o con ácido trifluoroacético.

170 4) PERFECCIONAMIENTOS INTRODUCIDOS EN EL OBJETO DE
LA PATENTE PRINCIPAL Nº 375.765 POR: "PROCEDIMIENTO DE OBTEN
CION DE UN NUEVO DERIVADO DEL CLORANFENICOL"

Esta Memoria consta de 8 hojas foliadas y mecano-
grafiadas por un solo lado de sus caras.

Madrid, 20 de junio de 1970