



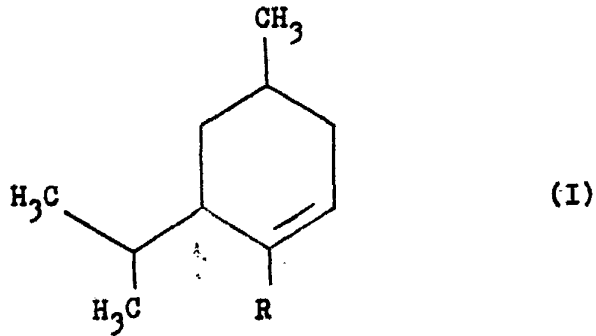
(15) ES	(11) NUMERO 444.322	(10) A1
	(21) FECHA DE PRESENTACION 15-1-76	

## PATENTE DE INVENCION

(16) EPICOPADOES (17) NUMERO 75 01 139	(18) FECHA 15 de enero de 1975	(19) PAIS Francia
(24) FECHA DE PUBLICIDAD	(25) CLASIFICACION INTERNACIONAL C07C//AGAK	(26) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
(27) TITULO DE LA INVENCION  Procedimiento de preparaci3n de derivados fen3licos de menteno.		
(28) SOLICITANTE (S) LES DERIVES RESINIQUES ET TERPENIQUES S.A. JOULLIE INTERNATIONAL		
(29) DOMICILIO DEL SOLICITANTE 30 Rue Gambetta, 40102 DAX , Francia 4, Rue Ybry - 92200 NEUILLY-SUR-SEINE, Francia		
(30) INVENTOR (ES) Bernard LAHOURCADE; Christiane HIRIGOYEN; Maurice JOULLIE; Gabriel MAILLARD; Lucien LAKAH; Christian WAROLIN		
(31) SOLICITANTE (ES)		
(32) REPRESENTANTE D. JAIME GOMEZ-ACEBO Y MODET		

La presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de nuevos derivados fenólicos de menteno utilizables en terapéutica.

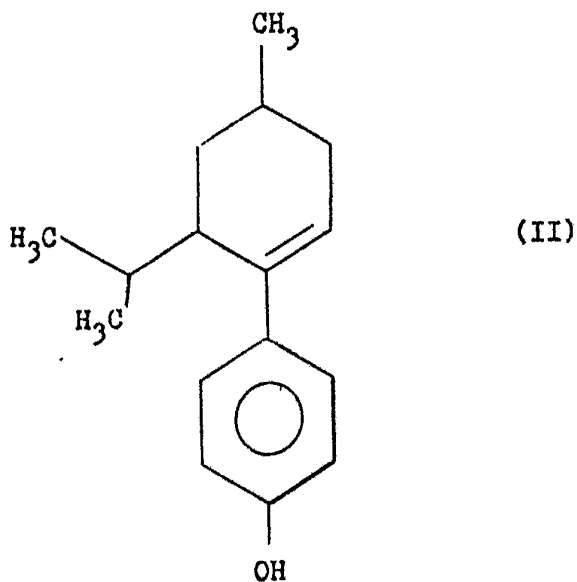
Los compuestos preparados según la invención son los compuestos de fórmula



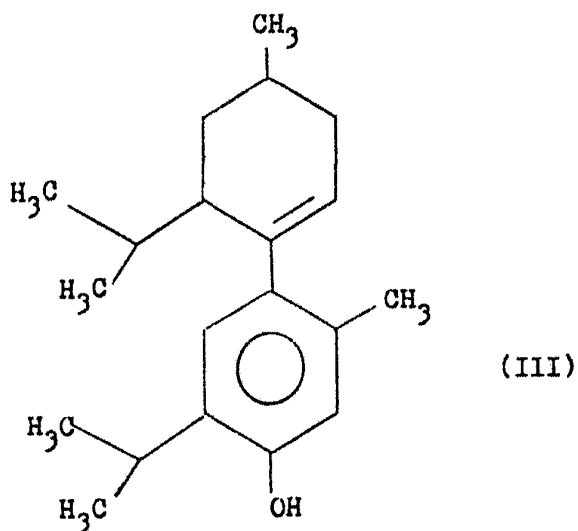
en la cual R representa un resto de fenol o de timol fijado en posición "para" del grupo hidroxilo, y sus derivados sulfonados.

10 Estos nuevos compuestos pueden existir bajo las formas "cis" y "trans", por lo que la invención comprende tanto la preparación de estas formas como diferentes mezclas de las mismas.

15 Los compuestos antedichos comprenden particularmente el 4-(3'-m.menten -4'-il)- fenol (llamado también m.menteno-fenol) de fórmula



y sus derivados sulfonados, así como el 4-(3'-m.menten-4'-il)-timol (llemado aquí, a continuación, m.menteno-timol) de fórmula

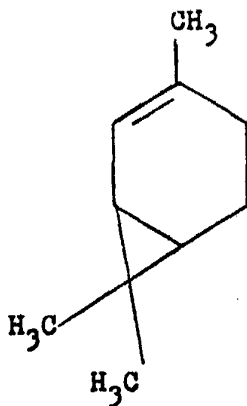


y sus derivados sulfonados.

La estructura particular de estos compuestos se ha establecido en particular utilizando los datos de la R.M.N.

con desacoplamiento, de Spin, y de la espectrografía de masa.

El procedimiento según la invención de preparación de los nuevos compuestos citados se caracteriza porque se hace reaccionar  $\Delta_2$ -careno de fórmula



con fenol o timol, obteniendo así un compuesto de fórmula (I) que se sulfona a continuación, si se desea.

Se efectúa la reacción ventajosamente en presencia de un complejo eterificado de trifluoruro de boro a una temperatura inferior a aproximadamente 50°C.

La sulfonación se efectúa de manera conocida en sí misma particularmente por una mezcla de ácido sulfúrico y anhídrido acético.

Esta reacción es completamente original, ya que no se podía pensar en llegar a tal configuración a partir de cualquier molécula terapénica simple. Por ejemplo, a partir del silvestreno que presenta una configuración meta-mentadieno, la fijación de un fenol da lugar a una adición en uno de los dobles enlaces o en los dos.

Los compuestos obtenidos por el procedimiento de la invención tienen particularmente una actividad antibacteriana-

na y antiviral.

Dada su mayor solubilidad en el agua, se utilizan de preferencia los derivados bajo la forma de sulfonato de metal alcalino, en particular de sodio.

Los ejemplos no limitativos siguientes se dan a título de ilustración del invento.

Ejemplo 1

Preparación del m.menteno-timol y de su 2-sulfonato sódico (LJ 2128)

1°) Se hacen reaccionar en un matraz de tres cuellos, bajo nitrógeno, 100 g de  $\triangle$  2-careno (pureza 95 % mínima) y 230 g de timol en presencia de 0,1 cm<sup>3</sup> de eterato de trifluoruro de boro.

Se mantiene la reacción exotérmica a 30-40°C, si es necesario dentro de un baño de agua helada, durante una hora.

Después de neutralizar por un ligero exceso de cales adicionadas de una tierra decolorante (5%), se filtra y se destila al vacío.

Se recupera así el exceso de timol, una pequeña fracción de éter (menos de 10 g) y aproximadamente 150 g de m.menteno-timol.

Este producto incoloro presenta un punto de ebullición de 150 g bajo 3 mm de mercurio y sus otras características son:

$n_D^{20} = 1,53$ ; densidad: 0,985 a 20°;  $\alpha_D^{20} = + 40^\circ$  aproximadamente, bajo 10 cm.

2°) Sobre este producto recién destilado, disuelto en una mezcla 50/50 anhídrido acético/ácido acético, se vierten 60 g de ácido sulfúrico concentrado, solubilizado en

200 g aproximadamente de ácido acético.

Se regula minuciosamente la reacción, muy exotérmica.

5 Se mantiene aproximadamente 20 horas, después se vierte en 800 cm<sup>3</sup> de agua y se extrae con un disolvente alifático, tal como esencia C, hexano esencia E, etc.

10 3º) La fase orgánica, después de saponificación mediante potasa acuosa a 10-15 % del acetato de m.menteno-timol presente, da por destilación al vacío de 80 a 100 g de m.menteno-timol recuperado.

15 4º) Se neutraliza la fase acuosa mediante una cantidad de hidróxido de sodio correspondiente a la cantidad de ácido sulfúrico aplicada, se destila la mayor parte del ácido acético, si es necesario mediante arrastre por vapor de agua, y se neutraliza hasta un valor pH de 7,5.

20 Se saponifica la fase producida, durante 1 hora, hasta reflujo, mediante sosa diluida para eliminar los derivados acetilados presentes. Se lleva el producto a un valor pH inferior a 6 y después se neutraliza por una solución al 10 % de bicarbonato sódico hasta un pH 7,5. Se observa una producción del sulfonato que se trataba de conseguir.

25 Para purificarlo, se repite dos veces esta operación en una solución concentrada de cloruro sódico a razón de aproximadamente 100 g de sulfonato acuoso en 150 g de salmuera.

Finalmente, este producto derivado se destila por trampa de agua, en tolueno o hexano, para espulsar el agua y permitir a continuación que precipite el cloruro sódico, insoluble en caliente.

30 La solución, desprovista de la sal se pone a enfriar

y precipita así bajo la forma de un gel filtrable constituido por el sulfonato.

Un segundo tratamiento en el hexano permite, tras la evaporación del disolvente, recoger el m.menteno-timol-2-sulfonato sódico seco y puro.

Este producto se presenta bajo la forma de un polvo blanco, soluble en el suero fisiológico, dando una solución límpida.

La cromatografía en capa delgada sobre gel de sílice G (Eluyente: 3 partes de ácido acético/1 parte ciclohexano. Reveladores: pulverización de una solución de carbonato sódico y de una solución de permanganato potásico al 1% y de carbonato sódico) da una mancha a Rf: 0,57. La proporción en azufre es de 7,4 %.

#### Ejemplo 2

#### Preparación del m.menteno-fenol y de su 2- sulfonato sódico (LJ 2148)

1º) Se tratan, como en el ejemplo 1, 100 g de  $\triangle$  2-careno con 200 g de fenol.

El producto, filtrado rápidamente, ya que se colorea a la luz, se destila para recuperar una fracción importante de fenol que no ha reaccionado y es reutilizable.

El producto no destilado se vierte en una solución hidroalcohólica 80/20 a 5 % de hidróxido sódico para dar la sal sódica y permitir así la extracción por un disolvente alifático, tal como esencia E, hexano, etc...

La solución orgánica extraída, acidificada y neutralizada, después de lavados y destilación, permite recuperar aproximadamente 35 g de éter del fenol.

Se acidifica a su vez la fase hidroalcohólica, y se

lava el producto obtenido, con agua, se neutraliza y se destila.

Se consiguen aproximadamente 50 g de m.menteno-fenol.

Es un producto muy sensible a la luz y al aire, destilándose a 135° bajo 3 mm de mercurio, siendo las demás características:

$n_D^{25} = 1,539$ ; densidad: 0,978 a 25°;  $\alpha_D^{25} = + 14^\circ$  bajo 10 cm.

2°) Se sulfona el m.menteno-fenol como en el caso del derivado del timol (véase ejemplo 1).

La fase orgánica de extracción da productos indefinibles, sin interés.

La fase acuosa se neutraliza, se separa y se trata como en el ejemplo 1 con soluciones salinas saturadas.

Después de secar por destilación azeotrópicas por trampa de agua, se separa el producto de la sal por disolución en acetona y a continuación se precipita de su solución por adición de hexano o de pentano.

El m.menteno-fenol-2-sulfonato sódico se presenta como un polvo ligeramente teñido, soluble en el suero fisiológico.

Su cromatografía en capa delgada, efectuada como en el ejemplo 1, da una sola mancha a  $R_f: 0,55$ .

La proporción en azufre es de 7,7 %.

Daremos ahora los resultados de un estudio toxicológico y farmacológico que muestra principalmente la actividad antibacteriana y antiviral de los compuestos preparados según la invención.

#### I - Toxicidad

La toxicidad aguda se ha determinado por las vías in-

travenosa y oral, según el método de Karber y Behrens en el ratón hembra IFFA-CREDO de 20 g (10 ratones por dosis).

Los resultados obtenidos son los siguientes:

CUADRO I

DL<sub>50</sub> en mg/kg

Producto	Vía I.V.	Vía oral
LJ 2128	125	1925
LJ 2148	305	2900

II - Estudio farmacológico

1º) Determinación de la actividad antibacteriana

Se han realizado los ensayos según el método de las diluciones.

Para el estudio de la actividad sobre el estafilococo, Proteus vulgaris, Klebsiella pneumoniae y Escherichia Coli, se ha utilizado un medio a base de bacto-peptone Difco y para el neumococo, el caldo T.

LJ 2128 y LJ 2148 son activos sobre los gérmenes gram positivo, como lo prueba el cuadro siguiente, siendo particularmente activo LJ 2148 sobre Diplococcus pneumoniae.

	<u>LJ 2128</u>	<u>LJ 2148</u>
Staphylococcus pyogenes		
aureus Oxford	140 Y/ml	28 Y/ml
Streptococcus pyogenes 5626	16 Y/ml	10 Y/ml
Diplococcus pneumoniae 692	12 Y/ml	3 Y/ml
Proteus vulgaris	> 1000 Y/ml	> 1000 Y/ml
Klebsiella pneumoniae	> 1000 Y/ml	> 1000 Y/ml
Escherichia Coli	> 1000 Y/ml	> 1000 Y/ml

2º) Determinación de la actividad antiviral sobre el virus gripal raza A<sub>2</sub>, Hong Kong

a) Estudio de la multiplicación del virus gripal por inoculación del huevo embrionado.

5 Se inoculan huevos de gallina Leghorn, de 11 días, por vía alantoidiana con 100 dosis 50 % infectantes de virus gripal A<sub>2</sub> Hong Kong.

10 Se puede determinar así la dosis umbral de producto que afecta a la multiplicación del virus, ya sea preventivamente, ya curativamente por titración según la técnica de la hemaglutinación.

15 Tras 48 horas de incubación a 34º, se regula el grado de multiplicación del virus mediante determinación del grado de hemaglutinación del líquido alantoico de los huevos tratados y de los huevos testigo.

Se efectúa la hemaglutinación con hematíes de embrión de pollo puestos en contacto con diluciones sucesivas de los líquidos alantoicos tomados estérilmente de cada huevo.

20 El líquido alantoico de los huevos que han recibido la suspensión viral testigo ha presentado, en una de las experiencias realizadas, una actividad hemaglutinante de una tritación media de 1/640.

25 Los líquidos alantoicos de los huevos que han recibido media hora antes la inyección de virus 0,5 mg de LJ 2128 ó 0,5 mg de LJ 2148 no aglutinaron los hematíes.

30 Los derivados LJ 2128 y LJ 2148 poseen pues una actividad inhibidora total de la multiplicación del virus gripal cuando se inyectan los productos antes de la inoculación viral. Esta actividad no es más que parcial si se realiza la inyección posteriormente a la inoculación viral.

b) Estudio de la actividad antiviral in vivo en el ratón

5 Cuando se produce una epidemia de influenza, el contagio de hombre a hombre se efectúa por inhalación de vesículas transportadas por vía aérea y que sirven de vehículo al virus gripal.

10 Las células superficiales del epitelio nasal son el asiento primario de multiplicación viral. Por eso está justificada la aplicación de una droga antiviral directamente en la cavidad nasal, ya sea por instilaciones, ya por inhalación de aerosol.

15 Uno de los métodos clásicos que permiten seleccionar los medicamentos activos in vivo sobre el virus gripal consiste en hacer inhalar a ratones un aerosol de virus y de tratarlos con el producto que se prueba por la misma vía y según las mismas modalidades experimentales.

Para determinar la eficacia de los productos que se trata de experimentar, se tienen en cuenta dos parámetros:

- El porcentaje de ratones supervivientes, después de un tiempo determinado (por ejemplo 12 días).
- 20 - El tiempo medio de supervivencia.

A esto, se añaden criterios tales como la observación del estado general de los ratones, la determinación de la multiplicación viral a nivel pulmonar, etc....

25 Se ha observado que la evolución de la curva ponderal de los ratones es un excelente reflejo de su estado general, y por tanto, un criterio complementario de la actividad de los productos en experimentación.

30 El dispositivo experimental utilizado comprende un aparato generador de aerosol y un recinto en el que se sitúan los ratones en lotes de 10. Los aerosoles de productos

que se trata de ensayar y de virus se administran simultáneamente. A este fin, se interpone en las canalizaciones de llegada al recinto un tubo en forma de Y.

5 Según otras modalidades, se administra el producto en ensayo en períodos diferentes del tiempo de inoculación del virus: 1 h, 2 h, 6 h, 12 h, 24 h, 48 h y durante 5 días, ya sea antes, ya después de la administración del virus, a fin de evaluar un eventual efecto preventivo o curativo.

10 La producción del aparato es tal que se administra en cada sesión de aerosol de 10 minutos, aproximadamente 1/20 de la DL<sub>50</sub> intravenosa del producto en cada ratón.

La dosis infectante del virus mata como término medio un 90 % de los ratones en 12 días (DL<sub>90</sub>).

15 Se realizan testigos de tolerancia al producto en condiciones similares.

Se han efectuado, por otra parte testigos de actividad con sustancias antivirales tales como el clorhidrato de ciclooctilamina o el clorhidrato de amantadina,

20 Se han obtenido los resultados siguientes con los LJ 2128 y LJ 2148:

La administración simultánea de un aerosol de LJ 2128 o de LJ 2148 y de un aerosol de virus gripal impide el desarrollo de la neumonía viral en el ratón infectado por el virus gripal raza A<sub>2</sub> Hong Kong.

25 El efecto (véase cuadro II a continuación) todos los ratones infectados y tratados sobreviven, mientras que los grados de mortandad de los ratones infectados testigos son muy elevados y corresponden a una DL<sub>90</sub>.

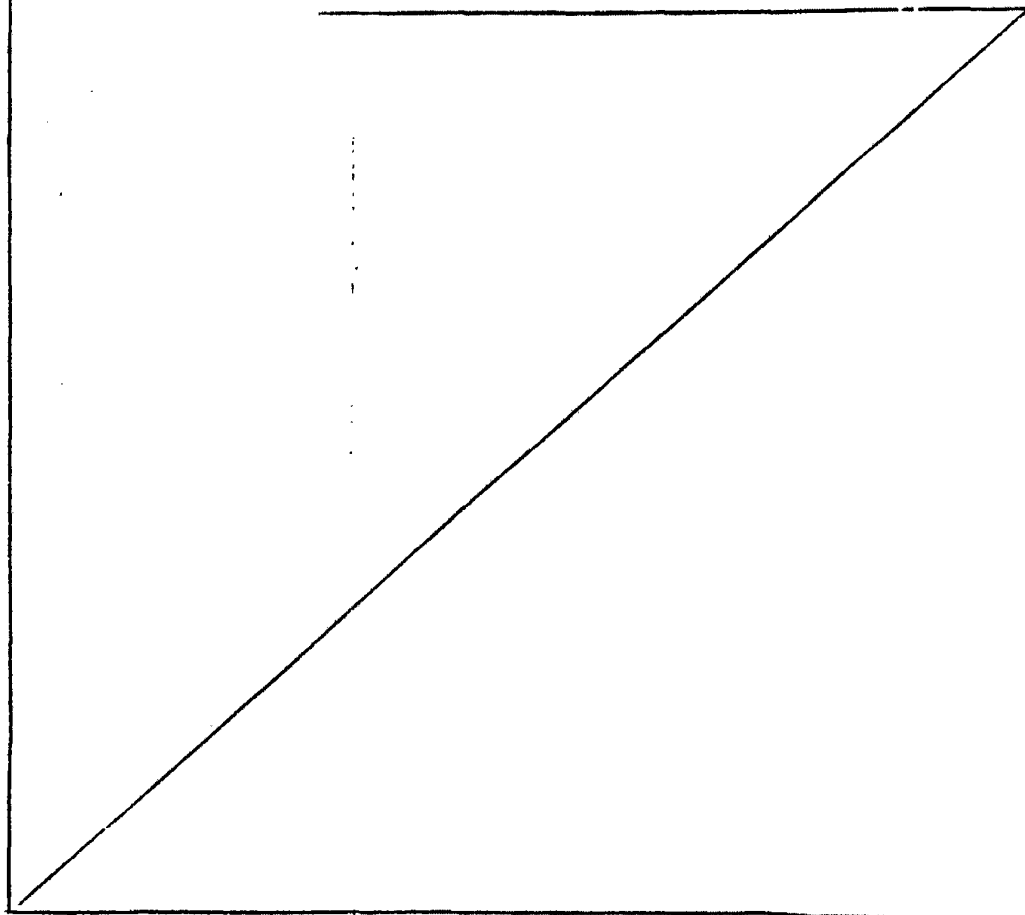
30 La evolución ponderal y el estado general de los ratones tratados por el LJ 2128 y LJ 2148 son mejores que en

el caso de los ratones que reciban la amantadina o la ciclooctilamina.

CUADRO II

5 Evolución ponderal y porcentaje de supervivencia de ratones tratados con aerosoles de LJ 2128 o de LJ 2148 administrados una sola vez y simultáneamente a un aerosol de virus gripal raza A<sub>2</sub> Hong Kong (dosis de cada producto próxima a 1/20 de la DL<sub>50</sub> intravenosa. Dosis de virus gripal próxima a DL<sub>90</sub>).

10 Este cuadro reproduce los pesos medios diarios en gramos de los lotes de ratones, indica el número de ratones muertos diariamente y el número de ratones supervivientes el 12º día siguiente a la inoculación viral.



	Testigo virus	LJ 2128 + virus	Testigo virus	LJ 2128 + virus	Testigo virus	LJ 2148 + virus
	20,5 g	20,5 g	20,5 g	20,5 g	20,3 g	20,4 g
	20,8 g	20,9 g	20,8 g	20,5 g	20,2 g	20,8 g
	19,7 g	20,4 g	20,4 g	20,6 g	15,6 g	19,3 g
	17,8 g	20,1 g	18,7 g	19,6 g	15,2 g	20,1 g
	17,8 g	20,1 g	18,7 g	20,6 g	14,1 g	19,5 g
	15,2 g (1 muerto)	17,9 g	16,2 g	19,6 g	13,5 g (4 muertos)	18,9 g
	15,7 g (7 muertos)	17,8 g	15,7 g (2 muertos)	19,7 g	15 g (5 muertos)	19,6 g
	16 g	18,4 g	17,5 g (6 muertos)	20,2 g	- (1 muerto)	20,4 g
	19,5 g (1 muerto)	19,1 g	18 g	20,3 g		21,3 g
	20 g	19,3 g	19,5 g	20,6 g		21,4 g
	20 g	19,3 g	20 g	21,4 g		21,6 g
	20,5 g	20,8 g	20 g	21,5 g		21,6 g
Ratones supervivientes al 12º día (lotes de 10 ratones)	1	10	2	10	0	10

III - Aplicaciones terapéuticas

5 Los compuestos preparados según la invención, considerando sus propiedades antimicrobiana y antiviral sobre el virus gripal, se pueden utilizar en el tratamiento local o general de las afecciones de las vías respiratorias del niño y del adulto.

10 Como son agentes anti-infecciosos, sus propiedades antimicrobianas se ejercen de manera selectiva sobre los gérmenes gram +, particularmente el estafilococo y el neumococo. Dada la asociación frecuente de la infección viral gripal y de la infección microbiana, las propiedades antivirales de los compuestos de la invención hacen de ellos un tratamiento de las afecciones de etiología mixta.

15 La actividad antibacteriana de estos compuestos justifica su empleo en la terapéutica de las afecciones agudas o subagudas de las vías respiratorias de naturaleza infecciosa y permite en muchos casos evitar tener que recurrir a la antibioterapia o abreviar su empleo.

Las indicaciones principales son:

20 - en neumología: la gripe, las bronquitis agudas y crónicas, bronco-neumopatías y neumopatías virales. En terapéutica infantil, el tratamiento de las complicaciones respiratorias de las enfermedades infecciosas de la infancia.

25 - en O.R.L.: las faringitis, rinofaringitis, laringitis, anginas, amigdalitis, estomatitis, sinusitis, las manifestaciones rinofaríngeas de las afecciones bacterianas o virales gripales.

30 Las vías de administración son las vías oral, rectal, nasal y parenteral.

La dosis terapéutica media diaria en el hombre está comprendida entre 0,75 g y 1,50 g. En el niño, la dosis diaria se calcula en función del peso sobre la base de 0,02 g por kilo aproximadamente.

5 Se pueden utilizar los compuestos bajo formas farmacéuticas variadas: comprimidos, gélulas, jarabes, supositorios, gotas nasales, aerosoles, soluciones inyectables, etc, estando asociado en principio activo a un vehículo terapéuticamente administrable.

10 Pueden asociarse en composiciones farmacéuticas con compuestos susceptibles de reforzar, modificar o completar la actividad terapéutica (asociación con antihistamínicos, antitusivos, antitérmicos, mucolíticos, etc).

15 A continuación damos ejemplos de composiciones farmacéuticas:

- Comprimidos

LJ 2148 0,200 g

Sacarosa 0,020 g

Almidón de maiz 0,030 g

20 Sílice coloidal 0,020 g

Estearato de magnesio 0,005 g

para un comprimido

terminado en 0,275 g

- Jarabe (adultos)

25 LJ 2148 2,5 g

Sacarosa 70 g

p-hidroxibenzoato

de metilo 0,15 g

perfume q.s.

30 Agua destilada q.s.p. 100 ml

- Supositorios niños

LJ 2128 0,150 g  
glicéridos semisintéticos q.s.p. 1 supositorio de 2 g

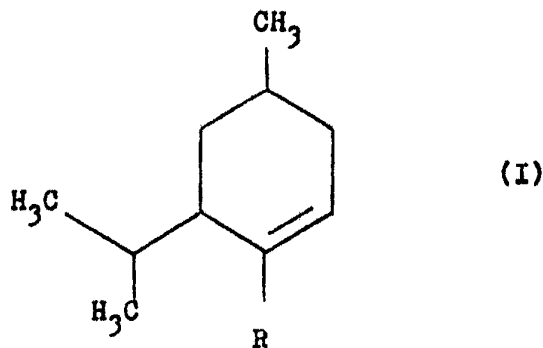
5

Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental.

10

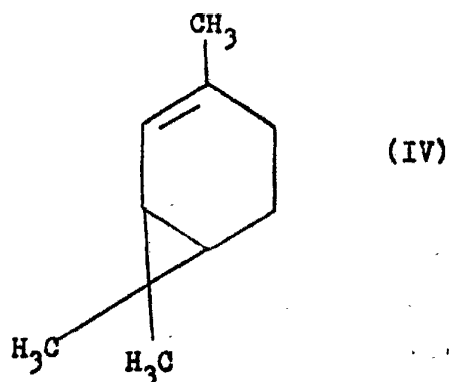
REIVINDICACIONES

1.-"Procedimiento de preparación de derivados fenólicos de menteno" de fórmula



15

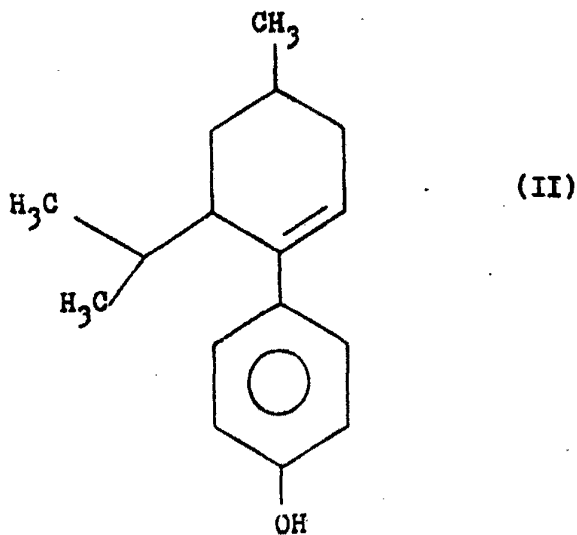
donde R representa un resto de fenol o de timol fijado en posición "para" del grupo hidroxilo, y sus derivados sulfonados, caracterizado porque se hace reaccionar  $\Delta$  2- careno de fórmula



con fenol o timol, obteniendo así un compuesto de fórmula (I) que se sulfona a continuación, si se desea.

5 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se efectúa la reacción en presencia de un complejo eterificado del trifluoruro de boro a una temperatura inferior a 50° C aproximadamente.

10 3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se prepara el 4-(3'-m.menten-4'-il)-fenol de fórmula



4.- Procedimiento de preparación de derivados fenólicos de menteno, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 19 hojas escritas a máquina por una sola cara.

5

Madrid, 14 MAYO 1976

LES DERIVES RESINIQUES ET TER-  
PENIQUES - S.A.JOULLIE INTER-  
NATIONAL.

*[Faint stamp and handwritten signature]*